タピナロフ

第 2 部 CTD の概要（サマリー）
2.4 非臨床試験の概括評価

日本たばこ産業株式会社

目次

略号及び用語の定義一覧 4

2.4 非臨床試験の概括評価 7

2.4.1 非臨床試験計画概要 7

2.4.1.1 背景 7

2.4.1.2 薬理試験 8

2.4.1.3 薬物動態試験 8

2.4.1.4 毒性試験 9

2.4.1.5 処方 9

2.4.2 薬理試験 11

2.4.2.1 効力を裏付ける試験 11

2.4.2.2 安全性薬理試験 13

2.4.2.3 代謝物，光学異性体及び不純物の薬理作用 14

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用 14

2.4.3 薬物動態試験 15

2.4.3.1 分析方法 15

2.4.3.2 吸収 15

2.4.3.3 分布 16

2.4.3.4 代謝 17

2.4.3.5 排泄 17

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用 17

2.4.3.7 その他の薬物動態試験 18

2.4.4 毒性試験 19

2.4.4.1 単回投与毒性試験 19

2.4.4.2 反復投与毒性試験 19

2.4.4.3 遺伝毒性試験 27

2.4.4.4 がん原性試験 28

2.4.4.5 生殖発生毒性試験 30

2.4.4.6 局所刺激性及び光毒性 33

2.4.4.7 その他の毒性試験 34

2.4.5 総括及び結論 35

2.4.5.1 薬理作用 35

2.4.5.2 薬物動態 35

2.4.5.3 安全性 36

2.4.5.4 まとめ 43

2.4.6 参考文献 45

表目次

表 1　非臨床試験で投与されたタピナロフクリーム……10
表 2　タピナロフの薬理作用及び薬力学的作用を検討した試験の一覧表……47
表 3　タピナロフの安全性薬理試験一覧……49
表 4　タピナロフの ADME 及び薬物動態試験一覧……50
表 5　タピナロフの毒性試験一覧……56
表 6　タピナロフ経皮投与後の平均全身曝露量の比較評価……61
表 7　タピナロフ皮下投与後の平均全身曝露量の比較評価……63
表 8　ラット及びウサギ生殖発生並びに幼若動物毒性試験におけるタピナロフ皮下投与後の平均全身曝露量の比較評価……64

付表目次

付表 1　タピナロフのすべての非臨床試験の概要表……47
付表 2　非臨床試験全体を通しての全身曝露量の比較評価……61

略号及び用語の定義一覧

略号及び用語	定義
AAPH	2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride，2,2'-アゾビス（2-アミジノプロパン）二塩酸塩
AD	Atopic dermatitis，アトピー性皮膚炎
ADME	Adsorption, distribution, metabolism, and excretion，薬物の体内動態（吸収，分布，代謝，排泄）
AhR	Aryl hydrocarbon receptor，芳香族炭化水素受容体
ALT	Alanine aminotransferase，アラニンアミノトランスフェラーゼ
API	Active pharmaceutical ingredient，有効成分
ARNT	Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator，芳香族炭化水素受容体核内輸送体
AST	Aspartate aminotransferase，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the concentration-time curve，血漿中濃度－時間曲線下面積
BDC	Bile duct cannulated，胆管カニュレーション処置
BID	Twice daily，1 日 2 回
BSA	Body surface area，体表面積
BSEP	Bile salt export pump，胆汁酸塩排出ポンプ
C_{ave}	Average observed plasma concentration，平均血漿中濃度
CB	Cannabinoid receptor，カンナビノイド受容体
cGMP	Current Good Manufacturing Practice，現行の医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準
CL	Clearance，クリアランス
C_{max}	Maximum observed plasma concentration，最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450，チトクローム P450
DDI	Drug-drug interaction，薬物相互作用
DNA	Deoxyribonucleic acid，デオキシリボ核酸
DNFB	2,4-dinitrofluorobenzene，2,4-ジニトロフルオロベンゼン
EC; EC_{50}	Excitatory concentration; concentration causing half-maximal effect determined *in vitro*，興奮性濃度；*in vitro* 試験で最大の活性化作用又は最大作用の 50%を示す濃度
ECG	Electrocardiogram，心電図
FICZ	6-formylindolo(3-2-b)carbazole，6-ホルミルインドロ（3,2-b）カルバゾール
FLG	Filaggrin，フィラグリン
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
HaCaT	Immortalized human keratinocytes cell line，ヒト不死化角化細胞
HEK293 細胞	Human embryonic kidney cells 293，ヒト胎児腎細胞 293
hERG	Human ether-à-go-go related gene，ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HO-1，HMOX1	Heme oxygenase 1，ヘムオキシゲナーゼ-1
HRNR	Hornerin，ホルネリン

略号及び用語	定義
Hsp90	Heat shock protein 90，90kDa 熱ショック蛋白質
IC_{50}（IC_{25}，IC_{75}）	Half-maximal (50%) inhibitory concentration（25% or 75% inhibitory concentration），50%阻害濃度（25%，75%阻害濃度）
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use，医薬品規制調和国際会議
IL	Interleukin，インターロイキン
IMQ	Imiquimod，イミキモド
INV	Involucrin，インボルクリン
KLH	Keyhole limpet hemocyanin，キーホールリンペットヘモシアニン
LC-MS/MS	Liquid chromatography / tandem mass spectrometry，液体クロマトグラフィータンデムマススペクトロメトリー
LH	Lister-Hooded
LT	Leukotriene，ロイコトリエン
MAO-B	Monoamine oxidase B，モノアミンオキシダーゼ B
MATE	Multidrug and toxic compound extrusion，プロトン／有機カチオン逆輸送担体
MPCE	Micronucleated polychromatic erythrocyte，小核を有する多染性赤血球
mRNA	Messenger ribonucleic acid，メッセンジャー（伝令）リボ核酸
NK	Natural killer，ナチュラルキラー
NOAEL	No observed adverse effect level，無毒性量
NQO1	NAD(P)H:quinone dehydrogenase 1
Nrf2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
OAT	Organic anion transporter，有機アニオントランスポーター
OATP	Organic anion transporting polypeptide，有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	Organic cation transporter，有機カチオントランスポーター
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development，経済協力開発機構
PCE	Polychromatic erythrocyte，多染性赤血球
PDE	Phosphodiesterase，ホスホジエステラーゼ
pEC_{50}，pIC_{50}	Negative log of the EC_{50} value，Negative log of the IC_{50} value 50%効果濃度の負の対数で，刺激（EC）又は阻害（IC）作用を示す。
P-gp	p-glycoprotein ; Multidrug resistance protein，P 糖蛋白質；多剤耐性蛋白質
PHA	Phytohemagglutinin，フィトヘマグルチニン
PK	Pharmacokinetics，薬物動態
PMA	Phorbol myristate acetate，ホルボールミリステート酢酸塩
QOL	Quality of life，生活の質
QTc	Corrected QT interval，補正 QT 間隔
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography，定量的全身オートラジオグラフィー

略号及び用語	定義
ROS	Reactive oxygen species，活性酸素種
SAR	Structure-activity relationship，構造活性相関
SD	Sprague Dawley
SULT	Sulfotransferase，硫酸転移酵素
TCDD	2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin，2,3,7,8-テトラクロロジベンゾ-p-ジオキシン
TD_{50}	Toxic dose; dose at which toxicity occurs in 50% of cases，毒性量；症例の50%で毒性が発生する用量
TDAR	T-cell dependent antibody response，T細胞依存性抗体産生
TEWL	Transepidermal water loss，経皮水分蒸散量
Th	T helper，ヘルパーT
TK	Toxicokinetics，トキシコキネティクス
t_{max}	Time to the maximum observed plasma concentration，最高血漿中濃度到達時間
TNF	Tumor necrosis factor，腫瘍壊死因子
T_{reg}	Regulatory T，制御性T
TTC	Threshold of toxicological concern，毒性学的懸念の閾値
UDP	Uridine diphosphate，ウリジン二リン酸
UGT	UDP-glucuronosyltransferases，UDPグルクロン酸転移酵素
USP	United States Pharmacopeia，米国薬局方
UV	Ultraviolet，紫外線
V_{ss}	Steady state volume of distribution，定常状態における分布容積
WH	Wister Han

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概要

2.4.1.1 背景

尋常性乾癬は，慢性，再発性の皮膚疾患で[1]，乾癬患者の約 90%を占める。尋常性乾癬の主な症状は銀色の鱗屑で覆われた，境界の明瞭な紅斑及び紅斑性局面である。尋常性乾癬は，患者の生活の質（QOL）に対する影響が大きく，現在の治療選択肢に対する満足度も低く，医療費増加や生産性の低下により社会的に経済的な負担にもなっている[2, 3]。

尋常性乾癬は遺伝的，環境的及び免疫学的要因など複数の原因によって発症し，表皮角化細胞の過増殖及び分化異常，表皮及び真皮への炎症性浸潤及び皮膚血管系の変化を特徴とする[1]。皮膚の病変部では炎症性疾患の発症に主要な役割を果たしている活性化 T 細胞が増加している。尋常性乾癬の病態形成には炎症性サイトカイン［インターロイキン（IL）-17A，IL-23，腫瘍壊死因子アルファ（TNF-α）］が関与している[1]。

アトピー性皮膚炎（AD）は，増悪と寛解を繰り返す，そう痒のある湿疹を主病変とする疾患であり，患者の多くはアトピー素因を持つ[4]。AD では，持続性のある強い痒みによる睡眠不足や皮膚病変という目に見える症状に対する偏見などが QOL に多大な影響を及ぼす[5, 6]。

AD は多病因性の疾患であり，アトピー素因とバリア機能の脆弱性等に起因する皮膚の過敏を背景に，様々な病因が複合的に AD 病態形成に関与する[4]。AD 患者では皮膚バリア機能異常が認められ，皮膚角質層においては角質細胞の実質構成成分フィラグリン（FLG）の機能喪失型の遺伝子変異や炎症に伴う発現の低下が報告されている[7-9]。皮膚バリア機能の異常は非特異的刺激に対する皮膚の被刺激性を亢進させる他，抗原感作や炎症を促進する。また，AD 患者では T 細胞の活性化及びそれに伴う炎症が亢進しており，病変部位では IL-4，IL-5，IL-13 及び IL-31 の産生異常が認められる他，IL-17 や TNF-α 等のサイトカインの産生異常も認められている[10]。これらの免疫学的異常は，バリア機能の脆弱性及び掻痒の起点になると考えられている。

現在，尋常性乾癬及び AD ともに治癒をもたらす治療法はなく，疾患活動性を制御し，再発の頻度及び程度を抑えることが主な治療目標となる。このため，急性期の治療法と長期的な維持療法が求められている。通常，外用副腎皮質ステロイドが尋常性乾癬及び AD の急性期において標準的に用いられるが，外用副腎皮質ステロイドは長期使用により局所及び全身性の副作用を発現する可能性があるため，維持療法には適していない。したがって，高い有効性があり，治療期間に制限がなく広範な皮疹への適用が可能で，許容可能な安全性プロファイルを持つ新規の局所治療薬の開発が現在も望まれている。

タピナロフ［JTE-061 又は DMVT-505，旧名：GSK2894512A，GSK2894512，STI-1001 又は WBI-1001，（5-[(1*E*)-2-Phenylethen-1-yl]-2-(propan-2-yl)benzene-1,3-diol）］は天然物であるスチルベノイド誘導体の完全合成品である。タピナロフは細胞質に存在するリガンド依存性転写因子である芳香族炭化水素受容体（AhR）に対するアゴニスト作用を介して治療効果を発揮する非ステロイド性，低分子の AhR 調節薬である。

AhR はリガンドが結合すると核内に移行し，AhR 核内輸送体（ARNT）とヘテロ二量体を形成する[11]。AhR-ARNT ヘテロ二量体は，デオキシリボ核酸（DNA）との相互作用を介して，遺伝子転写を調節する[12]。タピナロフは AhR を活性化させることにより，IL-4 及び IL-17A などの炎症性サイトカイン産生を抑制する。また，FLG，ホルネリン（HRNR），インボルクリン（INV）などの皮膚バリア機能に関連する蛋白質の発現を増加させ，皮膚バリア機能改善作用を示す。さらに，タピナロフは，転写因子である nuclear factor erythroid 2-related factor 2（Nrf2）の活性化を介した抗酸化作用や化合物構造による直接的な抗酸化作用を示すと報告される[11, 13]。以上より，タピナロフは AhR を標的とすることで，既存薬とは異なる特徴的な作用機序を有する，新規の尋常性乾癬及び AD 治療薬となることが期待される。

タピナロフは本邦では日本たばこ産業株式会社及び鳥居薬品株式会社が，尋常性乾癬及び AD の外用剤として開発中である。なお，海外では Dermavant Sciences, Inc.（Dermavant 社）が 18 歳以上の尋常性乾癬患者に対する外用剤として 2022 年 5 月に米国でタピナロフクリーム 1%の承認を取得し，現在，小児尋常性乾癬及び AD の外用剤としても開発中である。タピナロフクリーム 0.5%又は 1%は，尋常性乾癬及び AD の皮膚病変への局所治療用の白色のクリームである。タピナロフクリームは，非臨床試験では 8%まで，臨床試験では 2%までの濃度が評価されている。

2.4.1.2 薬理試験

効力を裏付ける試験及び副次的薬理試験に関して，尋常性乾癬及び AD での有効性に関連する Dermavant 社米国申請資料並びに日本たばこ産業株式会社において新たに実施した *in vitro* 及び *in vivo* 試験により，タピナロフの作用機序及び薬理作用を評価した。さらに，安全性薬理試験として，ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネルアッセイ系を用いた *in vitro* 試験，並びに Sprague Dawley（SD）ラット，Dunkin Hartley モルモット及び Göttingen ミニブタへのそれぞれ皮下，経皮及び静脈内投与による *in vivo* 試験を実施した。

2.4.1.3 薬物動態試験

一連の *in vitro* 試験，並びに CD-1 マウス，SD ラット，Wistar Han（WH）ラット，New Zealand White ウサギ及び Göttingen ミニブタを用いた *in vivo* 試験により，タピナロフの薬物動態（PK），吸収，分布，代謝，排泄（ADME）及び薬物相互作用（DDI）を評価した。これらの試験で使用した動物種及び系統には，タピナロフの毒性評価に使用した動物種及び系統が含まれる。初期の試験では，タピナロフの非標識体又は標識体（[^{14}C]-タピナロフ）を経口，静脈内，皮下又は経皮投与した後の全身曝露量を評価した。その後の試験では，皮下又は経皮投与によってのみ評価を実施した。タピナロフ及び代謝物の全身曝露を最大化するために皮下投与を選択した。経皮投与毒性試験にはタピナロフのクリームを使用し，皮下投与毒性試験及び *in vitro* 毒性試験にはタピナロフの溶液を使用した。PK 及びトキシコキネティクス（TK）解析には，高感度で信頼性が高い生体試料分析法を使用した。生体試料分析法は，ガイダンスに従って，必要に応じてバリデーションを実施した。

タピナロフの分布，代謝及び排泄試験を実施した。ヒト，ミニブタ，ウサギ，ラット及びマウ

ス血漿，並びにヒト及びミニブタ皮膚を用いたタピナロフの *in vitro* 蛋白結合試験と，ラットを用いたタピナロフ皮下投与後の定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験を実施した。タピナロフの代謝経路を明らかにするために *in vitro* 代謝試験を実施した。また，タピナロフの代謝物組成分析を経皮投与後のヒト血漿，尿及び皮膚サンプル，皮下投与後のラット及びマウス試料で実施した。マウス及びラットそれぞれ 2 試験でタピナロフを皮下投与して排泄を検討し，別の 1 試験でミニブタに経皮投与して排泄を検討した。*In vitro* 及びミニブタ皮膚で，タピナロフの DDI を評価した。

2.4.1.4 毒性試験

ラット及びウサギの単回経皮投与毒性試験，並びにマウス及びラットの最長 13 週間，ウサギの最長 28 日間及びミニブタの最長 39 週間の反復経皮投与毒性試験を含む一連の毒性試験で，タピナロフの安全性を評価した。なお，これらの試験では複数の処方のタピナロフクリーム（処方 A～F）を使用した。高曝露条件下における毒性を評価する目的で，タピナロフを用いたラットの最長 26 週間の反復皮下投与毒性試験を実施した。皮下投与におけるラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験，ラットの受胎能に関する試験，並びにラットの出生前及び出生後の発生に関する試験を実施した。幼若ラットを用いて用量設定試験，10 週間反復投与試験及びタピナロフが腎臓に及ぼす影響を検討する試験を皮下投与により実施した。タピナロフの変異原性及び染色体異常誘発能を細菌及びほ乳類培養細胞を用いた *in vitro* 試験並びにマウス及びラットを用いた *in vivo* 小核試験で評価した。タピナロフの発がん性を，マウス経皮投与（処方 F）及びラット皮下投与によるがん原性試験で評価した。タピナロフの光毒性，皮膚感作性及び眼刺激性を評価する局所毒性試験を実施した。

2.4.1.5 処方

先行する非臨床試験及び臨床試験の多くは，タピナロフを含有する過去の外用クリーム処方（A，B，C，D 及び E）を使用して実施した。過去に検討されたこれらの処方は，現行の治験用タピナロフクリーム（処方 F）とは添加物組成が異なっていた。過去に使用した処方は，[redacted]として[redacted]でなく[redacted]及び[redacted]を含有した。その他の相違点としては，[redacted]の相違（[redacted]でなく[redacted]を使用），[redacted]の相違（[redacted]でなく[redacted]を使用），一部の処方（処方 A～C）で[redacted]及び[redacted]が使用されていないことなどもあった。経皮投与を行った試験では表 1 に示すように処方 A～F と表記される様々な処方のタピナロフクリームを使用した。

本製造販売承認申請に含まれる包括的な非臨床薬理，PK 及び毒性試験パッケージは，尋常性乾癬及び AD の局所治療にタピナロフクリーム 1%の 1 日 1 回塗布を使用することを支持するものである。

表 1　非臨床試験で投与されたタピナロフクリーム

タピナロフクリーム					
A	B	C	D	E	F
[redacted]					プロピレングリコール
					ジエチレングリコールモノエチルエーテル
					ポリソルベート 80
					中鎖脂肪酸トリグリセリド
					乳化ロウ*
					ポリオキシエチレン (2) ステアリルエーテル
					ポリオキシエチレン (20) ステアリルエーテル
					安息香酸
					ジブチルヒドロキシトルエン
					精製水
					クエン酸ナトリウム水和物
					クエン酸/クエン酸水和物
					エデト酸ナトリウム水和物

*　「乳化ロウ」表記は「[redacted]」を指す

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1 *In Vitro* 作用

2.4.2.1.1.1 AhR に対する作用

BioMAP 表現型アッセイシステムを用いて，タピナロフのプロファイルを解析した。タピナロフと類似するプロファイルを示した対照化合物が AhR の生理的リガンドと考えられている 6-formylindolo(3,2-b) carbazole（FICZ）であったことから，タピナロフの標的分子は AhR であると推定された。また，そのプロファイルは既存の抗炎症薬とは異なる可能性が示された。

芳香族炭化水素受容体である AhR は，細胞質に存在するリガンド依存性転写因子であり，リガンドの結合により，AhR 複合体から解離して核内に移行した後，AhR-ARNT ヘテロ二量体を形成して遺伝子発現を調節する[11, 13]。AhR に対するタピナロフの結合を AhR-ARNT ヘテロ二量体を用いて検討した。蛍光シグナルによる結合試験及び表面プラズモン共鳴法による速度論的試験により，タピナロフはヒト及びマウス AhR に直接結合することが示唆された。また，競合試験においてタピナロフは，既知の AhR リガンドである 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin（TCDD）とは異なる部位又はポケットに結合することが示唆された。

さらに，ヒト末梢血単核細胞を用いて，AhR の活性化の指標であるチトクローム P450（CYP）1A1 の mRNA 発現に対するタピナロフの作用を評価した。タピナロフは CYP1A1 の mRNA 発現を誘導し，タピナロフによる AhR 活性化作用が示された。

2.4.2.1.1.2 サイトカイン産生に対する作用

尋常性乾癬及び AD の病態形成には 17 型ヘルパーT（Th17）サイトカイン及び 2 型ヘルパーT（Th2）サイトカインが中心的な役割をそれぞれ果たしている[14, 15]。ヒト末梢血単核細胞を T 細胞刺激剤である phytohemagglutinin（PHA）及び phorbol myristate acetate（PMA）で処理し，Th17 サイトカイン（IL-17A）及び Th2 サイトカイン（IL-4）の産生に対するタピナロフの作用を評価した。タピナロフは刺激された末梢血単核細胞からの IL-17A 及び IL-4 産生を用量依存的に抑制した。

また，ヒト皮膚を Th17 誘導条件下で刺激し，IL-17A，IL-17F 及び IL-22 の mRNA 発現に対するタピナロフの作用を検討した。タピナロフは IL-17A の mRNA 発現を有意に抑制した。

以上の結果より，タピナロフは尋常性乾癬及び AD の病態に関与するサイトカインの産生を抑制することが示された。

2.4.2.1.1.3 抗酸化作用

ヒト末梢血単核細胞を用いて，タピナロフの抗酸化作用を抗酸化分子である NAD(P)H:quinone dehydrogenase 1（NQO1）の mRNA 発現を指標に評価した。タピナロフは NQO1 の mRNA 発現を誘導した。

また，ヒト初代角化細胞及びヒト不死化角化細胞株（HaCaT）を用いて，酸化的ストレスに対するタピナロフの抑制作用を活性酸素種（ROS）産生及び抗酸化分子の mRNA 発現を指標に検討した。タピナロフは，フリーラジカル発生剤であるアゾビス化合物［2,2'-azobis(2-amidinopropane)

dihydrochloride ; AAPH］により誘導されるROS産生を抑制した。また，タピナロフは抗酸化分子［ヘムオキシゲナーゼ-1（HO-1，HMOX1）及びNQO1］のmRNA発現を誘導した。

以上の結果より，タピナロフは抗酸化分子の遺伝子発現を誘導し，抗炎症作用を発現することが示唆された。

2.4.2.1.1.4 皮膚バリアに対する作用

ADにおいては免疫学的異常に加え，皮膚バリア機能異常が存在する[16]。ヒト初代角化細胞及び再構築ヒト表皮モデルを用いて，皮膚バリア機能に対するタピナロフの作用を皮膚バリア機能関連分子のmRNA発現を指標に検討した。

ヒト初代角化細胞において，タピナロフはCYP1A1のmRNA発現，皮膚バリア機能関連分子であるFLG，HRNR及びINVのmRNA発現を誘導した。再構築ヒト表皮モデルにおいても同様に，タピナロフはHRNR及びINVのmRNA発現を誘導した。

タピナロフは，皮膚バリア機能関連分子であるFLG，HRNR及びINVの遺伝子発現を誘導し，皮膚バリア機能を改善する可能性が示された。

2.4.2.1.2 *In Vivo* 作用

2.4.2.1.2.1 マウスIL-23誘発皮膚炎に対する作用（尋常性乾癬）

マウスIL-23誘発皮膚炎モデルを用いて，タピナロフを反復経皮投与した際の皮膚炎に対する作用を評価した。タピナロフは耳介腫脹及び耳介の病理組織学的変化を抑制した。投与後に採取した耳介において，タピナロフは尋常性乾癬の病態に関与しているIL-17A量を減少させた。さらに同部位において，タピナロフはAhR活性化の指標であるCYP1A1及び抗酸化分子であるNQO1のmRNA発現を誘導した。

これらの結果より，タピナロフはAhR活性化作用，抗炎症作用及び抗酸化作用を示し，皮膚炎を抑制することが示された。

2.4.2.1.2.2 マウスIMQ誘発皮膚炎に対する作用（尋常性乾癬，メカニズム解析）

マウスイミキモド（IMQ）誘発皮膚炎モデルを用いて，タピナロフを反復経皮投与した際の皮膚炎に対する作用を検討した。タピナロフは，表皮肥厚を抑制し，皮膚のサイトカイン（IL-17A，IL-17F，IL-19，IL-22及びIL-23A）の遺伝子発現を抑制した。

また，AhR欠損マウスを用いて，タピナロフの作用メカニズム解析を行った。AhR発現対照マウスにおいて，タピナロフはイミキモドにより誘発される皮膚炎（表皮肥厚，サイトカイン発現）を抑制した。一方，タピナロフのこれらの作用は，AhR欠損マウスでは認められなかった。

これらの結果より，タピナロフは皮膚炎を抑制し，その作用はAhRを介したものであることが示唆された。

2.4.2.1.2.3 マウスDNFB誘発皮膚炎に対する作用（AD）

マウス2,4-ジニトロフルオロベンゼン（DNFB）誘発皮膚炎モデルを用いて，タピナロフを反復経皮投与した際の皮膚炎に対する作用を評価した。タピナロフは耳介腫脹及び耳介の病理組織学

的変化を抑制した。また，耳介において，タピナロフはADの病態に関与しているIL-4量を減少させ，CYP1A1及びNQO1のmRNA発現を誘導した。さらに，タピナロフは耳介において，皮膚バリア機能の指標である経皮水分蒸散量（TEWL）の増加を抑制した。

これらの結果より，タピナロフはAhR活性化作用，抗炎症作用及び抗酸化作用を示し，皮膚炎及びバリア機能の低下を抑制することが示された。

2.4.2.1.3 副次的薬理試験

副次的薬理スクリーニングの結果，タピナロフはほとんどの標的分子に対して作用を示さなかったか，弱い作用しか示さなかった。AhRの他にタピナロフが作用（50%作用濃度が1 μmol/L以下）を示した標的分子は，Nrf2，カンナビノイド受容体（CB）2，モノアミンオキシダーゼB（MAO-B），CYP2C9，CYP2D6及びCYP1A2であり，Nrf2（pEC_{50} = 7.8）及びCB2（pEC_{50} = 6.8）に対しては活性化，MAO-B（pIC_{50} = 6.1），CYP2C9（pIC_{50} = 7.5），CYP2D6（pIC_{50} = 6.1）及びCYP1A2（pIC_{50} = 6.0）については阻害活性を示した。

また，ヒト末梢血単核細胞，ヒトpan T細胞，ヒト$CD4^+$ T細胞，ヒト表皮角化細胞など複数の細胞種において，タピナロフは3 μmol/L若しくは10 μmol/Lの濃度で生細胞数を減少させた。

2.4.2.2 安全性薬理試験

タピナロフの安全性薬理学的影響を検討するため，一連の*in vitro*及び*in vivo*試験を実施した。心血管系に及ぼす影響を，hERG電流評価を用いた*in vitro*試験，テレメーターを装着したDunkin Hartleyモルモット及びGöttingenミニブタに経皮又は静脈内投与した*in vivo*試験で検討した。SDラットを用いた試験で，皮下投与による中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響を検討した。

*In vitro*試験として，hERGチャネルアッセイでは，一連の濃度範囲のタピナロフを検討した。媒体処理細胞と比較して，タピナロフはhERGチャネルテール電流を濃度依存的に阻害することが示された。阻害作用のIC_{25}，IC_{50}及びIC_{75}値はそれぞれ1.72，4.02及び9.37 μmol/L（0.44，1.02及び2.38 μg/mL）と推定された。IC_{50}値は，臨床での最高血漿中濃度（C_{max}: 2.44 ng/mL，DMVT-505-2104試験）における血漿中非結合型タピナロフ濃度（0.017 ng/mL，*in vitro*ヒト血漿蛋白結合率の99.3%を基に算出）の60,000倍であった。hERGチャネル電流阻害のIC_{50}値に対して，30倍超の安全域が得られたことから，臨床で補正QT間隔（QTc）延長を引き起こす可能性は低いと考えられた[17]。

*In vivo*試験として，モルモットへのタピナロフの経皮投与，並びにミニブタへのタピナロフの静脈内投与で検討した。テレメーターを装着したモルモット（雌雄4匹ずつ）にタピナロフクリーム0%，1%，4%又は6%を皮膚に塗布した。6%までのタピナロフを経皮投与したとき，心血管系に対する特記すべき影響は認められなかった。テレメーターを装着した雄ミニブタにタピナロフを0，1，3及び10 mg/kgの用量で単回静脈内投与した。1 mg/kg以上の用量で投与0.8～4時間後に平均動脈圧の可逆的な低下（8～16 mmHg又は7%～13%）が認められた。また，3 mg/kg以上の用量で投与2～4時間後にPR間隔の可逆的な短縮（3～8 msec又は3%～6%）が認められた。1，3及び10 mg/kgの単回静脈内投与で，本薬投与に関連すると考えられる心拍数，脈圧，QA間隔，体温，QRS幅，QT間隔及びQTcに対する影響，並びに心電図の波形異常及び不整脈は認め

られなかった。1 及び 10 mg/kg 投与時の推定 C_{max} 値はそれぞれ 335 及び 5130 ng/mL であり（2.6.4.3.2.2.2.1 項，報告書番号：20[redacted]N163550），臨床試験でのヒト C_{max} 実測値 2.44 ng/mL と比較するとそれぞれ 137 倍及び 2102 倍であった。さらに，ミニブタの 28 日間，13 週間及び 9 ヵ月間経皮投与毒性試験においても QT 間隔に対する影響は認められなかった。以上のことから，タピナロフが QTc の延長及び多形性心室頻拍（Torsades de Pointes）を誘発する可能性は低いと考えられた。

雄性 SD ラットにタピナロフを単回皮下投与し，中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響を評価した。中枢神経系の安全性薬理試験で 10 mg/kg で認められた筋緊張の低下（本薬に関連した変化と考えられた）及び異常行動（左斜頸：1 例のみ）を除いて，タピナロフを 10 mg/kg までの用量で皮下投与した SD ラットでは中枢神経系及び呼吸系に及ぼす重大な影響は認められなかった。これらの安全性薬理試験の結果，モルモットへの 6%クリームの経皮投与，ミニブタへの 10 mg/kg までの静脈内投与及びラットへの 10 mg/kg までの皮下投与で，タピナロフは心血管系，呼吸系及び中枢神経系に重大な影響を及ぼさないことが示された。

2.4.2.3 代謝物，光学異性体及び不純物の薬理作用

実施せず。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用

実施せず。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析方法

マウス，ラット，ウサギ及びミニブタ血漿サンプル中のタピナロフ又はタピナロフの硫酸抱合体は，液液抽出又は除蛋白後に液体クロマトグラフィータンデムマススペクトロメトリー（LC-MS/MS）により測定した。GLP 試験を実施するためにバリデートし使用したすべての分析法は，バリデーション試験内で検討した濃度範囲で十分な精度及び真度を有することが示された。タピナロフの定量範囲は，マウスについては 0.3～750 ng/mL，ラットについては 0.3～750 ng/mL，0.1～250 ng/mL，5～1000 ng/mL，1～500 ng/mL 又は 0.1～100 ng/mL であった。ウサギについては 0.5～1250 ng/mL 又は 2～1000 ng/mL，ミニブタについては 0.3～750 ng/mL，0.04～40 ng/mL，0.1～250 ng/mL 又は 0.1～50 ng/mL であった。タピナロフの硫酸抱合体の定量範囲はラットについては 0.02～20 ng/mL であった。

2.4.3.2 吸収

単回投与の PK 及びトキシコキネティクス（TK）試験では，経口，静脈内，皮下又は経皮投与後のタピナロフの全身曝露を比較した。経皮投与にはタピナロフクリームの処方 A 及び E を使用した（表 1）。タピナロフの全身曝露を最大化するためにラット試験では皮下投与（媒体：Captisol®）した。皮下投与期間は非 GLP 試験で 4～7 日間，GLP 試験の毒性及び TK 試験で 7 日間，28 日間，13 週間，26 週間及び 83 週間であった。複数のタピナロフクリーム（処方 A から F）を連日塗布した後の全身曝露を評価するための反復投与試験を，ラット，マウス，ウサギ及びミニブタで実施した。マウス（13 週間及びがん原性試験）及びミニブタ（28 日間及び 39 週間試験）における主要な反復経皮投与毒性試験及び TK 試験では，最終的な臨床試験用製剤である処方 F を用いた。タピナロフの ADME，薬物相互作用及び構造異性化等を評価するための *in vitro* 及び *in vivo* 試験も実施した。

1 及び 10 mg/kg の用量でミニブタに単回静脈内投与したときのタピナロフの固有の PK パラメータを算出した。全身クリアランス（CL）は，1 mg/kg の投与後に高く，肝血漿流量と同程度であり，投与量を 10 mg/kg に増やすと 40%減少した。タピナロフの定常状態での分布容積（V_{ss}）は総体液量よりも大きく，全身循環を超えた広範な分布を示唆した。

細胞単層膜を用いた *in vitro* 膜透過性試験では，タピナロフは高い受動的膜透過性を示した。中鎖脂肪酸トリグリセリドクリーム（処方 F）を用いた *in vitro* ヒト皮膚浸透／透過試験では，用量に比例してタピナロフの浸透量及び透過量が増加した（0.5%～2.0%の濃度範囲）。

タピナロフのラット及びミニブタでの経口投与時の全身曝露量は低かった。ミニブタにおける経口投与時の絶対バイオアベイラビリティは 5%未満であった。ラットでの全身曝露量［C_{max} 及び濃度時間曲線下面積（AUC）］は，使用した製剤処方に関係なく，経口投与時と比較して皮下投与時の方が著しく高かった（約 40～95 倍）。

ラット皮下投与における全身曝露量は用量増加に伴って増加し，概ね用量比例性を示した。タピナロフの TK 試験を最大 26 週間反復皮下投与（1 日 1 回投与）で評価した。タピナロフの C_{max} 到達時間（t_{max}）は，雌雄ともに概して 0.5～2 時間であった。最終相の消失半減期（$t_{1/2}$）に明らかな性差はみられなかったが，低用量群及び中用量群よりも高用量群で長くなる傾向があった。C_{max}

及びAUCは概して用量増加に伴って増加し，AUCは3～40 mg/kg/day（13週間），1～30 mg/kg/day（26週間）及び0.1～1 mg/kg/day（がん原性試験）の用量範囲で概ね用量比例性を示した。反復投与によるタピナロフの蓄積はなかった。低用量域で反復投与すると曝露量の減少が認められたが，30 mg/kg/day以上では明らかではなかった。ラット単回又は反復皮下投与でタピナロフのPK／TKに明らかな性差はみられなかった。

タピナロフの経皮投与後の全身曝露量を，ラット（60～480 mg/kg/day，最大28日間），ウサギ（80～480 mg/kg/day，最大28日間），ラット（10～60 mg/kg/day，最大13週間），マウス（22～160 mg/kg/day，最大26週間；がん原性試験），並びにミニブタ（10～60 mg/kg/day，最大9ヵ月間）で評価した。マウス及びラット13週間，並びにミニブタ9ヵ月間投与試験では，最終的な臨床試験用製剤である処方Fを使用した。反復投与は原則として，1日1回又は2回，半密閉又は密閉条件，除毛し優しく洗浄した皮膚に6～24時間塗布した。概して全身曝露は塗布後1～2時間でピークに達したが，遅れて塗布後6時間でピークに達する場合もあった。全般的にマウス，ラット及びミニブタの経皮投与時の全身曝露量は同一サンプリング日ではいずれも用量増加に伴って増加した。また，投与1日目と比較して以降の時点で全身曝露量は同程度かわずかに高かったが，ウサギのTK試験では明らかな傾向はみられなかった。処方Fでは，マウス及びラットのC_{max}及びAUCは用量比以上に増加したが，9ヵ月間試験の投与最終週でのミニブタのC_{max}及びAUCはほぼ用量に比例して増加した。概して全身曝露量では性差はみられず，蓄積もみられなかった。

2.4.3.3 分布

マウス，ラット，ウサギ，ミニブタ及びヒト血漿を用いたタピナロフの*in vitro*蛋白結合試験を平衡透析法により実施した。タピナロフの血漿蛋白結合率は極めて高く（99.1%超），種差はなく，明らかな濃度依存性を示さなかった（20～1000 ng/mL）。ミニブタ及びヒト皮膚を用いてタピナロフの*in vitro*蛋白結合率を検討した。ミニブタ及びヒトの皮膚ホモジネートでのタピナロフの*in vitro*蛋白結合率はそれぞれ90.7%及び92.7%であった。タピナロフの蛋白結合率は高濃度域でタピナロフの濃度上昇に伴い，緩やかに低下した。

ラットを用いた皮下投与後のQWBA試験で組織分布を評価した。雄性有色ラットに[^{14}C]-タピナロフを2 mg/kgの用量で単回皮下投与したときのQWBAによると，放射能は速やかに広く全身に分布した。いずれの組織でも投与後1時間までに放射能濃度が定量可能となった。ほとんどの組織でt_{max}は1時間であった。放射能濃度は投与後3時間から72時間にかけて概ね低下したが，投与後72時間の時点でも放射能はすべての組織で定量可能であった。放射能濃度が概して相対的に高かった組織は，投与部位皮膚，膀胱壁，副腎皮質，小腸壁，肝臓，褐色脂肪及び腎皮質であった。放射能濃度が相対的に低かった組織は，皮膚（非投与部位），包皮腺，大腸壁及び骨表面であった。組織／全血比において，ほとんどの組織では，[^{14}C]-タピナロフに由来する放射能濃度が全血中濃度よりも高値を示した。同様に，排泄バランス試験では，肝臓／血漿比は，マウスで4.0～13，ラットで7.1～10.5の範囲であった。

39週間の経皮投与及び1ヵ月間の休薬後に最終屠殺した雌雄ミニブタから採取した皮膚サンプルのタピナロフの濃度は，真皮下部よりも表皮／真皮上部で高かった。タピナロフは概して用量の増加に応じて平均皮膚中濃度は増加した。1ヵ月休薬後でも，高用量群（60 mg/kg/day）の皮膚

でタピナロフは測定可能であった。

2.4.3.4 代謝

タピナロフの代謝経路を *in vitro* 代謝試料及び *in vivo* 試料の組成分析をすることで明らかにした。タピナロフの代謝物組成分析を経皮投与後のヒト血漿，尿及び皮膚サンプル，皮下投与後のラット及びマウス血漿，糞，尿及び胆汁（ラットのみ）サンプルで実施した。タピナロフの代謝には CYP による酸化，UDP-グルクロン酸転移酵素（UGT）によるグルクロン酸抱合及び硫酸転移酵素（SULT）による硫酸抱合が寄与することが明らかになった。

マウス，ラット，ウサギ，ミニブタ及びヒトの肝細胞において，[^{14}C]-タピナロフは 4 時間で大部分が代謝された。ヒト肝細胞におけるタピナロフの代謝様式はグルクロン酸抱合又は硫酸抱合，並びにそれらと酸化の組み合わせであった。非臨床試験で使用した動物種とヒトの代謝プロファイルは概して同じであり，ヒトで認められた代謝物はいずれも動物で確認され，ヒト特有の代謝物は認められなかった。

[^{14}C]-タピナロフを皮下投与したマウス及びラットの試料［血漿，糞，尿及び胆汁（ラットのみ）］を用いて，代謝物組成分析及び構造解析を行った。主な代謝様式は酸化，水和，グルクロン酸抱合及びそれらの組み合わせであった。血漿中の主要成分は未変化体（ラット），M1（酸化 + グルクロン酸抱合体）及び M2（グルクロン酸抱合体）であった。M1 及び M2 は胆汁中（ラット）及び尿中（両種）の主要成分で，M8（水和 + グルクロン酸抱合体）もラット尿中に認められた。糞中では，未変化体及び M5（酸化体）が主要成分であった。

2.4.3.5 排泄

マウス及びラットに[^{14}C]-タピナロフを皮下投与し，排泄経路を検討した。放射能は主に糞中に検出され（約 76%：投与量に対する割合），次いで尿中であった（約 14%）。また，胆管カニュレーション処置（BDC）ラットでは，胆汁中への放射能の排泄率は 73%であった。したがって，非経口投与後の主な排泄経路は，胆汁を介した糞中排泄と考えられた。

ミニブタに[^{14}C]-タピナロフを含むタピナロフクリーム 1%（処方 F；10 mg/kg）を単回経皮投与し，排泄経路及び排泄率を検討した。放射能の大部分（投与量の 82.5%）は，経皮投与後 10 時間の投与部位の拭き取りで回収された。最終時点の肝臓試料中放射能は定量可能な濃度ではなかった。投与された放射能の 1%未満が試験期間中に排泄物（尿及び糞）に回収され，放射性試験物質の吸収が極めて限定的であることが示唆された。放射能の血中及び血漿中濃度は，汚染の可能性がある 1 つの血液サンプルを除いて，すべての動物のすべての時点で検出限界を下回った。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

各種選択的な組換え CYP，UGT 及び SULT 発現系を用いて，タピナロフの酸化及び抱合（グルクロン酸抱合及び硫酸抱合）反応の寄与酵素を明らかにする目的で検討を行った。肝臓におけるタピナロフの酸化的代謝には主に CYP1A2 及び CYP3A4 が寄与し，CYP2C9，CYP2C19 及び CYP2D6 の寄与はわずかであった。主要な肝外組織の分子種は CYP1A1 であり，CYP1B1 の寄与はわずかであった。グルクロン酸抱合は UGT1A9，硫酸抱合は SULT1A1，SULT1A3 及び SULT1E1

が主に関与していた。タピナロフの生体内分解に複数の酵素が関与していることが示唆されることから，これらの経路のいずれかを阻害しても，タピナロフの曝露量が有意に増加する可能性は低いと考えられた。

トランスポーター発現細胞を用いた *in vitro* 試験の結果，タピナロフは乳癌耐性蛋白（BCRP）を阻害［最高濃度（100 nmol/L）での阻害率 48.8%］したが，AD 患者に局所塗布した際の C_{max} の約 1000 倍の濃度であり，実臨床における影響は低いと考えられた。

他のトランスポーター［P 糖蛋白質（P-gp），胆汁酸塩排出ポンプ（BSEP），有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1，OATP1B3，有機アニオントランスポーター（OAT）1，OAT3，有機カチオントランスポーター（OCT）1，OCT2，プロトン／有機カチオン逆輸送担体（MATE）1 又は MATE2-K］に対してタピナロフは阻害作用を示さなかった。またタピナロフは P-gp, BCRP, OATP1B1 及び OATP1B3 の基質でないことが示された。

ヒト及びミニブタ皮膚でタピナロフは，その薬理作用による AhR の活性化により CYP1A1 mRNA の発現を誘導した。同様にヒト肝細胞では，AhR により制御される CYP1A2 mRNA 発現も誘導し，最大誘導作用の 50%を示す濃度（EC_{50}）は 0.09～0.58 μmol/L，最大誘導倍率は 48～68 倍であった。CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA の発現量に顕著な上昇は認められなかった。

ヒトで市販予定製剤（1%）を局所塗布したときの臨床で認められている血漿中 C_{max} が低いため（DMVT-505-2104 試験），臨床的に問題となる薬物相互作用を引き起こす可能性は極めて低いと判断された。これらの算出結果の臨床的意義については 2.7.2 項で詳述する。

2.4.3.7 その他の薬物動態試験

実施せず。

2.4.4 毒性試験

複数の処方のタピナロフクリームの局所塗布又はタピナロフ溶液の皮下投与により，タピナロフの安全性プロファイルを複数の動物種及び系統を用いて詳細に検討した。単回及び反復投与毒性試験をラット，マウス，ウサギ及びミニブタで実施し，経皮投与試験をこれらのすべての動物種で実施し，反復皮下投与試験をラットのみで実施した。タピナロフの心血管系への影響，呼吸系への影響及び中枢神経系への影響を評価するため，安全性薬理試験を実施した。ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験，ラット及びウサギ胚胎児・発生に関する試験，ラット出生前及び出生後の発生に関する試験，ラット幼若動物を用いた 3 試験の毒性試験により，皮下投与時のタピナロフの影響を評価した。標準的組み合わせの遺伝毒性試験を実施し，タピナロフクリームの局所刺激性及び光毒性試験を実施し，がん原性試験 2 試験を実施した。

マウス及びラットの最長 13 週間，ウサギの最長 28 日間，ミニブタの最長 39 週間の反復経皮投与毒性試験でタピナロフを評価した。なお，これらの試験では複数の処方のタピナロフクリーム（処方 A～F）を使用した。主要な反復経皮投与毒性試験（マウス及びラット 13 週間，ミニブタ 4 及び 39 週間試験）は，市販予定製剤である処方 F で実施した。高曝露条件下における毒性を評価する目的で，タピナロフを用いたラットの最長 26 週間の反復皮下投与毒性試験を実施した。投与液には媒体としてプロピレングリコール又は 30% Captisol®水溶液を用いた。さらに，タピナロフの経皮投与並びに全身曝露による発がん性をマウス経皮投与がん原性試験（処方 F）及びラット皮下投与がん原性試験により評価した。タピナロフの安全性薬理試験を実施した。タピナロフの安全性薬理試験については，2.4.2.2 で簡単に説明し，2.6.2 項で詳述する。

毒性試験に用いた動物種及び系統は，各所見の評価及びその所見のヒトとの関連性の外挿に有用となる病理背景データ及び様々な医薬品に対する反応に関する十分なデータが得られているために選択した。主要な試験はいずれも GLP の規則を完全に遵守して実施し，予備試験については GLP 原則に準拠して実施した。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

タピナロフをラットに単回皮下，経口及び経皮投与した時，及びウサギに単回経皮投与した時の忍容性を評価した。経皮投与は，タピナロフクリーム（処方 A）で実施した。各試験の概要については，2.6.6 項で詳述する。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

2.4.4.2.1 経皮投与

タピナロフクリーム（処方 A～E）の反復経皮投与試験はラット，マウス，ウサギ及びミニブタで実施した。市販予定製剤（処方 F）を用いた主要な反復経皮投与毒性試験は，マウス（13 週間），ラット（13 週間）及びミニブタ（7 日間，28 日間及び 39 週間）で実施した。旧処方を用いた試験から得られた補助的なデータについては，以下に簡潔に記載し，2.6.6 項で詳述する。

2.4.4.2.1.1 マウスの 13 週間反復経皮投与毒性試験

CD-1 マウスを用いて TK 測定を含む経皮投与毒性試験（GLP 試験）を実施した。CD-1 マウス

(主試験群は各群雌雄各 12 匹, TK サテライト群は各群雌雄各 3～18 匹)に 0%(基剤対照), 0.5%, 1%又は 3%のタピナロフクリーム(処方 F ; 雄では 0, 28, 56 及び 164 mg/kg/day, 雌では 0, 33, 65 及び 206 mg/kg/day)を 1 日 1 回約 23 時間, 13 週間非閉塞条件下で体表面積(BSA)の 10%に経皮投与した。基剤対照を含めていずれの用量群でも, タピナロフクリームに関連した皮膚刺激性の所見は認められなかった。また, いずれのタピナロフクリーム群でも, タピナロフが全身で曝露されていたにもかかわらず, 全身毒性を示唆する所見は認められなかった。したがって, 本試験では無毒性量(NOAEL)を特定することはできなかったが, タピナロフの NOAEL は評価した最高濃度の 3%以上(雌雄とも)と考えられた(推定投与量は雄及び雌でそれぞれ 164 及び 206 mg/kg/day)。NOAEL における投与 91 日目の AUC_{0-t} の平均値は雄及び雌でそれぞれ 498 及び 518 ng· hr/mL であり, C_{max} の平均値は雄及び雌でそれぞれ 151 及び 152 ng/mL であった。

2.4.4.2.1.2 ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験

0%(基剤対照), 0.5%, 1.5%及び 3%のタピナロフクリームを雌雄 Wistar Han ラットに 13 週間経皮投与したときのタピナロフの曝露量を評価した(処方 F ; 0, 10, 30 又は 60 mg/kg/day を BSA の約 10%に 22 時間処置, うち投与後 6 時間までは半閉塞処置)。主試験の試験群及び基剤対照群にはそれぞれ雌雄各 12 匹を設定した。本試験の TK サテライト群として, 雌雄各 3 匹を基剤対照群, 雌雄各 6 匹を各タピナロフクリーム群に設定し, 投与 1, 29 及び 91 日目に採血した。

投与初期に主試験群の雌 3 例が, TK サテライト群の雄 2 例が死亡した。1.5%群の雌 2 例が死亡状態で発見(投与 21 日目)又は切迫殺され(投与 28 日目), 基剤対照群の雌 1 例が投与 62 日目に死亡状態で発見された。主試験群で死亡した雌の死因は不明であった。切迫解剖された 1.5%群の雌 1 例は, 剖検時に腹水及び肝臓被膜表面の大型の血腫が認められ, 瀕死状態となった原因は肝破裂による出血であることが示唆された。TK サテライト群の雄の死因は採血操作の影響であった。これらの動物ではタピナロフに関連する一般状態変化が観察されなかったこと, また, 投与初期の死亡が基剤対照群及びタピナロフクリームの中間用量群で認められ, 高用量群で認められなかったことから, これらの死亡例は経皮投与の被覆固定処置に関連する可能性が最も高く, タピナロフ投与に直接関連しないと判断された。

タピナロフに関連する一般状態変化及び皮膚刺激性, 並びに体重, 体重増加量, 眼科学的検査所見及び臨床検査値への影響は認められなかった。試験期間中にタピナロフクリーム群で摂餌量の軽度な減少が認められたが, 体重変化は認められなかった。

タピナロフに関連する剖検所見及び臓器重量の変化は認められなかった。ごく軽度の肝細胞壊死及び/又は線維化, 並びにごく軽度～軽度の炎症性細胞浸潤(混合細胞型)の頻度が, タピナロフクリーム群で基剤対照群と比較してわずかに高かった。試験期間中に認められた肝病変の原因は, 投与時に実施した被覆固定処置であり, タピナロフクリーム投与の直接的な影響ではなかった。

結論として, タピナロフクリーム 0%(基剤対照), 0.5%, 1.5%及び 3%(処方 F ; 10, 30 及び 60 mg/kg/day)を雌雄 Wistar Han ラットに 1 日 1 回, 13 週間経皮投与した結果, NOAEL は雌雄ともに 3%(評価した最高濃度であり, 投与可能な最高濃度)と判断された。NOAEL における投与 91 日目のタピナロフの C_{max} の平均値は雄雌それぞれ 1510 及び 983 pg/mL, タピナロフの AUC_{0-24}

の平均値は雄雌それぞれ 11,300 及び 10,600 pg· hr/mL であった。

2.4.4.2.1.3 ウサギの 28 日間反復経皮投与毒性試験

28 日間反復投与試験では，New Zealand White ウサギ（各群雌雄各 4 匹）に 0%（基剤対照），1%，3%，4%又は 6%のタピナロフクリーム（処方 A；0，80，225，320 及び 480 mg/kg/day）を 8 mL/kg の容量で，1 日 6 時間，BSA の 10%以上に対して閉塞経皮投与した。各用量群の半数の動物（各群雌雄各 2 匹）の皮膚を投与前に皮下注射針で損傷させた。投与 1 日目の TK 測定のため，基剤対照群に雌雄各 2 匹を追加で設定し，1%，3%，4%及び 6%群に雌雄各 4 匹を追加した。主試験群の動物は投与 28 日目の TK 測定に用いた。

4%のタピナロフ［cGMP 非適用品質の有効成分（API）］を含有するクリームを投与した追加群は，同じ含量の cGMP 適用 API の比較対照として設定した。これは，先行するウサギ 7 日間試験では cGMP 非適用 API で製造されたクリームを使用したため，4%を投与するこれらの群は比較の目的で設定することとした。しかし，cGMP 適用 API のタピナロフクリーム 4%におけるタピナロフの含量は目標の 70%であったため，本製剤は 3%のタピナロフを含有するクリームとして評価を行った。cGMP 適用 API の 4%バッチ（すなわち 3%）を除き，いずれのクリームの含量も目的とする濃度の ± 10%であった。したがって，本試験の用量は 0%，1%，3%及び 6%バッチ（cGMP 適用 API）でそれぞれ 0，80，225 及び 480 mg/kg/day，追加の 4%バッチ（cGMP 非適用 API）で 320 mg/kg/day となった。

毎日のケージサイドでの一般状態観察及び毎週の詳細な一般状態観察の結果，1% (80 mg/kg/day) 群及び 2 つの中用量群でタピナロフ投与に関連する重篤な全身毒性は認められなかった。

しかし，タピナロフは，3%及び 4%クリーム群（それぞれ 225 及び 320 mg/kg/day）で投与部位の軽度の皮膚反応（皮膚の乾燥，紅斑／浮腫，過角化及び散発的な亀裂），6%クリーム (480 mg/kg/day) 群で軽度～中等度の皮膚反応を誘発した。4～5 日間の反復投与後，皮膚の乾燥／弾性低下が認められ，それに続いて投与部位の紅斑／浮腫，過角化及び散発的な亀裂が認められた。基剤対照群には皮膚反応は認められなかった。皮膚反応の頻度及び程度に明らかな性差はなく，投与部位の損傷皮膚と健常皮膚による差も認められなかった。さらに，認められた皮膚反応の程度は投与 2～3 週目にピークに達した後，これらの反応は軽快した。タピナロフクリーム 1%，3%及び 4%（それぞれ 80，225 及び 320 mg/kg/day）群での病理組織学的検査の結果，肝臓における壊死性及び炎症性／増殖性の変化［それぞれ 1/8 例（13%），6/8 例（75%）及び 4/8 例（50%）］が認められたが，これらの所見は臨床検査パラメータの変化を伴わず，毒性学的意義は低いと考えられた。

タピナロフクリーム 6% (480 mg/kg/day) 群における重篤な毒性学的所見として，局所皮膚反応（皮膚乾燥，弾性低下，軽度～中等度の皮膚発赤及び皮膚亀裂）が認められ，病理組織所見としては過形成，過角化及び場合によっては不全角化として現れた。タピナロフ投与に対する皮膚反応として，線維芽細胞又は好中球の小集簇巣から，局所的な小炎症巣，浮腫及びフィブリン滲出に至るまで認められた。8 例中 2 例（25%）のウサギには 28 日間の試験期間中に体重増加が認められなかった。1 例で体重減少が認められ，試験終了時には元気消失が認められた。体重増加抑制（雌雄とも）は基剤対照群と比較して統計学的に有意であった。剖検時，雌雄ともに肝重量増加（絶

対値及び相対値）が認められた。肝臓の組織学的所見として，多巣性壊死／炎症，肝細胞肥大／再生及び胆管増生が認められた。タピナロフクリーム 6%（480 mg/kg/day）を投与した動物で胸腺萎縮が認められ，ストレスに起因する反応と考えられた。

タピナロフクリーム 1%（80 mg/kg/day）の 28 日間投与では，肝臓のごく軽度な変化（肝細胞壊死／炎症及び肝細胞肥大／再生）が認められた 1 例を除き，タピナロフ投与に関連する重篤な全身毒性は認められなかった。臨床検査パラメータの変化を伴わなかったことから，タピナロフクリームの NOAEL は 1%（80 mg/kg/day）と推定された（投与 28 日目の値に基づき，$AUC_{0\text{-}t}$ は雄及び雌でそれぞれ 422 及び 2118 ng· hr/mL，C_{max} は雄及び雌でそれぞれ 34 及び 216 ng/mL）。

2.4.4.2.1.4 ミニブタの 7 日間反復経皮投与毒性試験

忍容性及び TK を評価するために，Göttingen ミニブタに最大 2%のタピナロフを各種処方の異なるクリーム製剤として 1 日 1 回投与する予備的な 7 日間反復経皮投与毒性試験を実施した。臨床試験用クリーム製剤（処方 F）を反復投与したときのタピナロフの表皮及び真皮への皮膚浸透性は，他の製剤よりも良好であり，より長期の毒性試験では処方 F を選択された。

2.4.4.2.1.5 ミニブタの 28 日間反復経皮投与毒性試験

Göttingen ミニブタ（各群雌雄各 3 匹）の皮膚（面積 400 cm^2）に，0%（基剤対照），1.5%，3%及び 6%のタピナロフクリーム（処方 B；0，23，44 及び 87 mg/kg/day）を 1.5 mL/kg の容量で 1 日 6 時間として 28 日間，非閉塞条件下で経皮投与した。タピナロフ投与に関連する影響について 14 日間の休薬による回復性を評価するため，0%（基剤対照）及び 6%のタピナロフクリーム（0 及び 87 mg/kg/day）群に雌雄各 2 匹を追加した。

本試験で実施したタピナロフクリームの非閉塞経皮塗布は忍容性が良好で，一般状態の観察によるごく軽度な皮膚の変化として主に 3%及び 6%のクリーム（44 及び 87 mg/kg/day）を投与した動物の一部で投与部位の軽度の紅斑が認められた。本試験のタピナロフクリームの NOAEL は 6%（87 mg/kg/day）と判断された。NOAEL の投与終了時における C_{max} は，雄及び雌でそれぞれ 6.79 及び 3.76 ng/mL であり，$AUC_{0\text{-}t}$ はそれぞれ 91.83 及び 75.56 ng· hr/mL であった。

別の 28 日間試験では，Göttingen ミニブタ（各群雌雄各 3 匹）の皮膚（BSA の約 10%）に，0%（基剤対照），1%，2%及び 4%のタピナロフクリーム（処方 D；雄及び雌でそれぞれ 0，17/9，36/18 及び 74/37 mg/kg/day）を 1～2 mL/kg の容量で 1 日 24 時間として 28 日間，半閉塞条件下で経皮投与した。タピナロフ投与に関連した皮膚刺激性及び全身毒性は認められず，タピナロフクリームの NOAEL は評価した最高用量の 4%（74/37 mg/kg/day）であった。NOAEL での $AUC_{0\text{-}t}$ の雌雄の平均値は 26.3 ng· hr/mL（範囲：9.31～68.6 ng· hr/mL），C_{max} の雌雄の平均値は 2.69 ng/mL（範囲：1.06～5.70 ng/mL）であった。

さらに別の 28 日間試験では，Göttingen ミニブタ（各群雌雄各 3 匹）に，0%（基剤対照），0.5%，1%及び 3%のタピナロフクリーム（処方 F；それぞれ 0，10，20 及び 60 mg/kg/day）を 1 mL/kg の容量で 1 日約 20 時間（10 ± 1 時間ずつ 2 回）28 日間，半閉塞条件下で経皮投与（BSA の約 10%）した。全例が定期解剖日まで生存した。タピナロフクリームに関連した皮膚刺激性及び全身毒性は認められず，タピナロフクリームの NOAEL は評価した最高用量の 3%（60 mg/kg/day）であっ

た。タピナロフの皮膚中平均最高濃度（表皮／真皮上層）は3%群では8265 ng/gであったが，血漿中濃度はすべての投与群で皮膚中濃度と比較して，大幅に低値（多くの測定時点において定量下限未満）であった。

2.4.4.2.1.6 ミニブタの13週間反復経皮投与毒性試験

13週間試験では，Göttingenミニブタ（各群雌雄各3匹）の皮膚に0%（基剤対照），1%，2%及び4%のタピナロフクリーム（処方C；それぞれ0，10，20及び40 mg/g，1日あたり1匹につき17～22 g）を37.8 mg/cm^2［1匹あたりの用量はBSA（450～600 cm^2）によって17.0～22.7 g］となるよう1日2回，13週間閉塞経皮投与した。タピナロフ投与の影響について4週間の休薬による回復性を評価するため，各群雌雄各2匹を追加した。

タピナロフ投与に関連した死亡は認められなかった。投与44日目（投与期間中）の朝に4%の雌1例が死亡した状態で発見された。死因は不明であったが，毒性学的意義のある臨床所見や病理所見が認められなかったことから，タピナロフ投与に関連した死亡ではないと考えられた。

各種臨床検査（一般状態，体重及び摂餌量，皮膚刺激性スコア，眼科学的及びECG検査）では，基剤対照群を含む全群で，ごく軽度かつ可逆的な皮膚所見がみられたのみであった。ごく軽度の紅斑が数例で投与2日目よりみられ，投与1週目の間に全群で同様の所見がみられた。

基剤対照群を含む全群で，最も進行した皮膚の変化は投与部位の皮膚の退色，乾燥及び用量依存的かつ低頻度の明瞭な紅斑であった。観察された皮膚所見は基剤及び／あるいはタピナロフ含有クリームの影響，投与部位への処置，又は試験製剤の残留物の蓄積によるものと考えられた。タピナロフ投与に関連した可逆的な変化として2%以上の雄で好中球数のごく軽度の増加，雌で単球及び好酸球数のごく軽度の減少が認められた。皮膚所見が非常にごく軽度であったこと，並びに臨床検査，剖検及び病理組織学的検査でタピナロフ投与による毒性所見がみられなかったことから，これらの変化はいずれも毒性学的意義は低いと考えられた。

タピナロフの経皮投与によって，PR，QRS，QT，QTc及びRR間隔並びに心拍数に定量的な影響は認められず，定性的評価でも洞調律やECGの異常は認められなかった。本試験結果より，タピナロフクリームのミニブタへの1日2回，13週間経皮投与におけるNOAELは4%であった。NOAELの投与13週目におけるC_{max}は，雄及び雌でそれぞれ7.77及び6.48 ng/mLであり，$AUC_{0\text{-}24}$はそれぞれ100.93及び96.76 ng· hr/mLであった。

別の13週間試験では，Göttingenミニブタ（各群雌雄各4匹）に，0%（基剤対照），0.1%，1%（QD），2%及び4%［1日2回（BID）］のタピナロフクリーム［処方E；それぞれ0，0.9，9.7，38.4（19.2），76.2（38.1）mg/kg/day］を1 mL/kgの投与容量で13週間，半閉塞経皮投与（BSAの約10%）した。全例が予定剖検日まで生存した。投与部位の皮膚の評価，一般状態観察，ECG及び眼科学的検査，体重，摂餌量，臨床検査，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査の結果，タピナロフ投与に関連した皮膚刺激性及び全身毒性は認められなかった。全群（基剤対照群を含む）のすべての動物で軽度～中等度の紅斑が用量に相関することなく認められた。これら所見はミニブタの投与部位を半閉塞状態にしたことによる偶発的な変化及び／又は基剤のもつわずかな刺激性によるものと考えられ，タピナロフ投与とは関連がないと考えられた。

本試験結果より，タピナロフクリームをミニブタに1日2回13週間経皮投与したときのNOAEL

は，評価した最高用量の 4%（処方 E；76.2 mg/kg/day）であり，投与 13 週目の全身曝露量（雌雄平均値）は，AUC_{0-t} が 36.1 ng· hr/mL（範囲：11.1～55.5 ng· hr/mL），C_{max} が 7.14 ng/mL（範囲：1.27～20.7 ng/mL）であった。

2.4.4.2.1.7 ミニブタの 39 週間反復経皮投与毒性試験

ミニブタ（各群雌雄各 3 匹）に 0%（基剤対照），0.5%，1%及び 3%のタピナロフクリーム（処方 F；0，10，20 及び 60 mg/kg/day）を 1 日 2 回，39 週間経皮投与（BSA の約 10%）したところ，皮膚刺激性及び全身毒性は認められなかった。投与部位の皮膚の肉眼及び病理組織学的検査では，タピナロフ投与に関連した皮膚刺激性は認められなかった。一般状態観察，ECG 及び眼科学的検査，体重，摂餌量，臨床検査，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査の結果，タピナロフ投与に関連する剖検及び病理組織所見又は全身毒性は認められなかった。したがって，タピナロフクリームの皮膚刺激性又は全身毒性に関する NOAEL は，評価した最高用量の 3%（処方 F；60 mg/kg/day）であった。NOAEL の投与 39 週目におけるタピナロフの皮膚中最高濃度（表皮／真皮上層）の雌雄平均値は 77,150 ng/g であった。一方，全身曝露量（雌雄平均値）は相対的に低く，AUC_{0-t} が 5.09 ng· hr/mL（範囲：2.61～11.9 ng· hr/mL），C_{max} が 0.686 ng/mL（範囲：0.244～3.34 ng/mL）であった。3%クリーム（60 mg/kg/day）群のタピナロフの皮膚中濃度は，雌雄ともに，1 ヵ月間の休薬後も依然として定量可能であった。

2.4.4.2.2 皮下投与

タピナロフの反復皮下投与試験はラットのみで実施し，主要な毒性試験として，28 日間，13 週間及び 26 週間試験を実施した。

2.4.4.2.2.1 ラットの 28 日間反復皮下投与毒性試験

28 日間試験では，Wistar Han ラット（各群雌雄各 10 匹）に 0（30% Captisol®），1，6 及び 30 mg/kg/day のタピナロフを 3 mL/kg の容量で 1 日 1 回皮下投与した。さらに，ラット骨髄の多染性赤血球（PCE）を用いてタピナロフの *in vivo* 染色体構造異常及び異数性誘発能を評価した（2.4.4.3 項）。TK 評価のために各用量群に雌雄各 3 匹を追加した。媒体対照群を含む全群の投与部位に病理組織学的変化が認められたことから，これらの変化は媒体及び投与操作に関連した変化と考えられ，タピナロフの投与によって増強した。タピナロフ投与に関連した所見が最も多く認められたのは投与物質が滞留した皮下組織であり，1 mg/kg/day 以上の群で，ごく軽度～高度の炎症性細胞浸潤の発現頻度及び／又は程度の増加がみられ，しばしば肉眼所見の赤色化に一致したごく軽度～中等度の出血／浮腫が皮下組織でみられた。これらの変化に関連し，6 mg/kg/day 以上の群において，用量依存性のないごく軽度の血液学的変化（白血球及び網状赤血球数の高値並びにヘモグロビン濃度及び好酸球数の低値）が認められた。

皮下組織ほど高頻度ではなかったが，タピナロフ投与に関連した表皮及び真皮を含む投与部位の病理組織学的変化が 30 mg/kg/day 群の雄及び／又は雌で認められた。これらの変化は同時にみられることが多く，ときに針刺し痕と共に認められたことから，投与時の物理的外傷による二次的な影響と媒体及び／又はタピナロフの曝露の影響が相まって発現した変化であると考えられた。

これらの所見には，ごく軽度～中等度の滲出物を伴う表皮過形成並びにごく軽度～軽度の表皮の潰瘍及び真皮の炎症性細胞浸潤（混合細胞型）が含まれた。

30 mg/kg/day 群の雌雄で肝重量の中等度の高値（最大 1.13 倍），6 又は 30 mg/kg/day 群の雌雄で胸腺重量の低値（最大 0.82 倍）がみられたが，病理組織学的な変化がみられなかったため，毒性学的意義の低い変化と考えられた。30 mg/kg/day 群の雄で尿量の増加，pH の高値，尿比重の低値がみられたが，ごく軽度の変化であり，腎臓に関連する病理組織学的変化は認められず，毒性学的意義の低い変化と考えられた。

精子形成ステージにタピナロフの投与に起因した変化は認められなかった。

本試験における全身毒性に関する NOAEL は 30 mg/kg/day であった［投与 28 日目における雌雄の平均曝露は $AUC_{0\text{-}t}$ で 2602 ng· hr/mL（1830～3480 ng· hr/mL），C_{max} で 888 ng/mL（623～1640 ng/mL）］。タピナロフは *in vivo* で遺伝毒性を示さなかった。

2.4.4.2.2.2 ラットの 13 週間反復皮下投与毒性試験

13 週間試験では，SD ラット（各群雌雄各 10 匹）に 0（媒体対照，プロピレングリコール：米国薬局方グレード），3，10 及び 40 mg/kg/day のタピナロフを 1 mL/kg の容量で 1 日 1 回皮下投与した。TK 評価のため，媒体対照群に雌雄各 3 匹，各用量群に雌雄各 9 匹（TK サテライト群）を追加した。投与期間終了後，0，10 及び 40 mg/kg/day 群の雌雄各 5 匹について 4 週間の回復期間を設け，タピナロフ投与により認められた変化の回復性を評価した。

3 mg/kg/day 群では全例が剖検日まで生存した。10 mg/kg/day 群の雄 1 例及び 40 mg/kg/day 群の雄 1 例を切迫解剖したが，その原因はタピナロフ投与に関連しない所見であった。投与期間中に 40 mg/kg/day 群の雌雄各 2 例をタピナロフに関連した皮膚病変のために切迫解剖した。40 mg/kg/day 群の雄 1 例は，投与部位の皮膚病変に基づくストレスで自発運動の低下及び呼吸不整が認められた後，死亡した状態で発見された。

一般状態及び投与期間終了時の剖検においてタピナロフ投与に関連した毒性所見として，すべての投与群の雌雄複数例で皮膚及び被毛に，痂皮，変色（赤，黒又は白色），肥厚，隆起，擦過創，硬化及び潰瘍が用量依存的に認められた。タピナロフ投与に関連した毒性所見の発現頻度及び程度は用量依存的であったが，媒体対照群においても皮膚病変が低頻度ながら認められたことから，媒体自体にも原因があることが示された。変色及び痂皮は回復期間終了時でも雌雄で低頻度ながら認められ，タピナロフ投与に関連した剖検所見は完全には回復しなかった。

10 及び 40 mg/kg/day 群の雄で平均体重増加量の減少が用量依存的に認められたが（それぞれ媒体対照群の 89.0%及び 90.0%），体重は全例で増加しており，体重増加量の減少と直接関連する全身状態の変化も認められなかったことから，これらは毒性学的意義のない変化と考えられた。

3 及び 10 mg/kg/day 群では，全身曝露は投与 1～14 日目から投与 91 日目にかけ，反復投与によって減少した。タピナロフの全身への蓄積性は認められなかった。

血液学的検査では，40 mg/kg/day 群で投与 93 日目に赤血球数及びヘモグロビン濃度のごく軽度な低値（媒体対照群の 89%～95%）が認められた。雌ではヘマトクリット値の軽度な減少（媒体対照群の 94%）も認められた一方，雄では網状赤血球数及び平均赤血球容積の軽度の高値（最大 1.41 倍）が認められた。40 mg/kg/day 群で総白血球及び好中球数の軽度な高値が認められた。

3 mg/kg/day 以上の群の雄及び 10 mg/kg/day 以上の群の雌で好酸球数のごく軽度の低値が認められた。いずれの血液学的変化も毒性学的意義の低い変化と考えられ，回復 29 日目には回復した。投与 93 日目に 40 mg/kg/day 群の雌でアルブミン濃度及びアルブミン／グロブリン比のごく軽度の低値，並びにコレステロール濃度のごく軽度の高値が認められたが，これらの変化は回復 29 日目までに回復した。瀕死動物の多くで認められたタピナロフ投与の影響と考えられる臨床検査値の変化は，10 又は 40 mg/kg/day 群の多数例で認められた赤血球系パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリット）の低値及び網状赤血球絶対数の高値，40 mg/kg/day 群の多数例で認められた総白血球及び好中球数の高値，40 mg/kg/day 群の主に雌で認められたアルブミン，アルブミン／グロブリン比の低値及びコレステロールの高値であった。

10 mg/kg/day 群の雄では，投与 64 及び 71 日目（投与期間中）に抗キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）IgM 抗体価が検出限界未満の動物数が増加し，抗体価の減少は統計学的に有意かつ中等度の変化であった。同用量群の雌の抗 KLH-IgM 抗体価は媒体対照群と同程度であった。3 及び 40 mg/kg/day 群では抗 KLH-IgM 抗体価に統計学的に有意な減少はみられなかった。回復期間では全投薬群における抗 KLH-IgM 抗体価は媒体対照群と同等であった。一方，3 mg/kg/day 以上の群では抗 KLH-IgG 抗体価の平均値が媒体対照群と比較して軽度～中等度に高値であった（多くは統計学的に有意）。回復期間においては 10 mg/kg/day 以上の群で抗 KLH-IgG 抗体価が媒体対照群と比較して著しく高値であった（統計学に有意）。これらの変化に関連した血液学的検査値の変化はなく，用量依存性並びに雌雄における一貫性もみられなかったことから，毒性学的意義の低い変化と考えられた。

投与期間終了時では，10 mg/kg/day 群以上の雌雄でタピナロフ投与に関連した胸腺の絶対及び相対重量（剖検時体重又は脳重量に対する相対値）の低値，並びに肝臓及び肺の絶対及び相対重量の高値が認められた。タピナロフ投与に関連した肺の絶対及び相対重量の高値は 40 mg/kg/day 群の雌で回復期間終了時にも認められたことから，この用量群では回復性なしと判断された。

投与期間の解剖例（死亡例及び切迫解剖例を含む）では，タピナロフ投与に関連する病理組織所見が 10 又は 40 mg/kg/day 群の胸腺（リンパ球枯渇）及び 3，10 又は 40 mg/kg/day 群の全投与部位に認められ，これらは毒性所見と考えられた。投与部位の所見として慢性／慢性活動性炎症，皮下組織の壊死，皮筋の変性／壊死，表皮肥厚，びらん／潰瘍，皮膚滲出物，出血，褐色色素沈着，鉱質沈着，表皮内小胞がみられた。回復期間の解剖例では，皮下組織の壊死及び皮筋の変性／壊死を除き，40 mg/kg/day 群の雌雄において，タピナロフ投与に関連した投与部位の病理組織所見がみられ，この用量群では回復性なしと判断された。

以上の結果より本試験条件下での NOAEL を推定することはできなかった。しかし，タピナロフ投与に関連した全身毒性は 3 mg/kg/day 群で認められず，そのときの全身曝露は投与 91 日目の雌雄平均値で $AUC_{0\text{-}24}$ が 99.0 ng· hr/mL，C_{max} が 31.6 ng/mL であった。

2.4.4.2.2.3 ラットの 26 週間反復皮下投与毒性試験

ラット（各群雌雄各 12 匹）に 0（媒体，Captisol®を 30%の濃度で注射用滅菌水と混合したもの），1，6 及び 30 mg/kg/day のタピナロフを 1 日 1 回 26 週間皮下投与した。追加のラット（各群雌雄各 10 匹）を 0，6 及び 30 mg/kg/day に組み入れ，タピナロフ投与により認められた変化の回復性

を 6 週間の休薬により評価した。剖検前に 2 例が死亡した。1 例の死亡（0 mg/kg/day 群の雄）は偶発的なものと判断された。もう 1 例の死亡（30 mg/kg/day 群の雄，投与 219 日目に死亡発見）は，長期皮下投与によって生じた投与部位の炎症の二次的変化である悪性線維性組織球腫が原因と判断された。

1 mg/kg/day 以上の群で，投与部位にタピナロフ投与に関連する変化（慢性炎症，潰瘍，毛包萎縮，表皮肥厚，壊死及び鉱質沈着）が用量依存的に認められ，投与部位の剖検及び一般状態所見と一致した。炎症及び毛包萎縮は媒体対照群の投与部位でも認められたが，頻度及び／又は程度は低かった。投与部位の所見は 6 週間の回復期間終了時に部分的に回復した。さらに，回復期間に，30 mg/kg/day 群の雄 1 例（投与 219 日目に死亡発見）及び 6 mg/kg/day 群の雄 1 例で投与部位及び／又は皮下組織に肉腫が認められた。本所見は，長期間の反復皮下投与によって生じた慢性皮下炎症反応の二次的な変化と判断された。

ごく軽度かつ可逆的な臨床検査の変動（主に 6 mg/kg 群以上：好中球数，単球数，リンパ球数，総白血球数及び網状赤血球数の高値，ヘモグロビン及びヘマトクリットの低値，トリグリセリド値の高値）及びイムノフェノタイピングのパラメータ変動［総 T 細胞，ヘルパーT 細胞，細胞傷害性 T 細胞及び制御性 T（T_{reg}）細胞（30 mg/kg/day）並びに B 細胞（6 mg/kg/day 以上）の高値，ナチュラルキラー（NK）細胞（1 mg/kg/day 以上；部分的回復）及びホルボール 12-ミリステート 13-アセテート／イオノマイシン刺激後の末梢血単核球中 Th17 細胞（30 mg/kg/day）の低値］が認められた。30 mg/kg/day 群の胸腺でタピナロフ投与に関連したリンパ球密度低下が認められたが，この変化は休薬期間終了時に回復した。本変化の毒性学的意義は低いと考えられた。

30 mg/kg/day 群の投与部位に認められた病理組織所見（タピナロフ投与に関連した壊死，鉱質沈着，表皮肥厚及び／又は潰瘍）の頻度及び程度，並びに 6 mg/kg/day 以上の用量群で肉腫発生及び白血球数の高値が認められたことに基づき，局所毒性に関する NOAEL は 1 mg/kg/day と判断された。しかし，タピナロフ投与に関連する全身性の毒性所見は認められなかったため，本試験では，全身毒性に関する NOAEL は 30 mg/kg/day と判断された（30 mg/kg/day の投与 26 週における全身曝露の雌雄平均値は，C_{max} が 1330 ng/mL，AUC_{0-t} が 3300 ng· hr/mL）。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

2.4.4.3.1 遺伝毒性

タピナロフの遺伝毒性を一連の *in vitro* 及び *in vivo* 試験で検討した。細菌を用いた復帰突然変異試験，染色体異常試験及びマウスリンフォーマ試験において，タピナロフは変異原性及び染色体構造異常誘発能を有さないと判断された。

ラット 28 日間皮下投与毒性試験及び骨髄小核試験で，タピナロフは *in vivo* 遺伝毒性を示さなかった。雄性 Wistar Han ラット（各群 5 匹）に 1，6 及び 30 mg/kg/day の用量でタピナロフを 28 日間皮下投与した結果，染色体異常を示す所見は認められなかった。C_{max} に雌雄差は認められなかったため，本試験では雄性ラットの標本のみを検査に使用した。1，6 及び 30 mg/kg/day を投与した雄性ラットにおいて，PCE2000 個中の小核を有する多染性赤血球（MPCE）の群平均値（それぞれ 1.19，1.78 及び 1.38）は，媒体対照群の値（2.55）を超える増加を示さず，施設背景値（0.2～3.16）の範囲内であった。ラット骨髄小核試験では，タピナロフを 30 mg/kg までの用量で 28 日

間投与した結果，*in vivo* 染色体構造異常誘発作用は認められなかった。

2.4.4.4 がん原性試験

タピナロフを経皮投与及び皮下投与したときのがん原性を評価した。

2.4.4.4.1 経皮投与によるがん原性

雌雄 CD-1 マウスの背部皮膚（BSA の約 10%）に，0%，0.5%，1.5%及び 3%のタピナロフクリーム（処方 F；雄／雌でそれぞれ 22.3／26.5，64.6／74.3 及び 133.5／159.7 mg/kg/day）を 1 日 1 回，生涯にわたり投与した。評価項目／パラメータは，一般状態観察，皮膚の観察（投与 1～3 日目），腫瘍発生率，体重，体重増加量，摂餌量，眼科学的評価，並びに剖検及び病理組織学的検査とした。投与 28 及び 182 日目に採取した検体を用いて，TK 測定を実施した。

基剤対照群及びタピナロフ群の生存動物数が減少したため，雌では投与期間を投与 681 日目までとし，投与 98 週目で試験を終了した。雄では投与期間を投与 707 日目までとし，投与 100～102 週目に試験を終了した。雌では，死亡率に統計学的に有意な傾向は認められず，死亡率の対比較でも統計学的な有意差は認められなかった。0.5%以上の群の雌雄では，タピナロフクリームに関連する二次的な非腫瘍性変化として，脾臓造血亢進，骨髄中の骨髄球系／赤芽球系比の増加，下顎リンパ節及び腸間膜リンパ節の形質細胞増加等が認められた。

タピナロフクリームに関連する一般状態変化は，雌雄ともに，主として皮膚発赤，皮膚病変及び痂皮の発生率及び／又は頻度の増加のみであった。タピナロフ群の皮膚で頻度及び／又は程度が相対的に高かった非腫瘍性の病理組織学的変化は，0.5%以上の群で認められたごく軽度～中等度の表皮過形成，ごく軽度～軽度の炎症性細胞浸潤（混合細胞型），ごく軽度～中等度のびらん／潰瘍，ごく軽度～中等度の滲出物を伴う痂皮及びごく軽度～軽度の皮膚線維化であり，頻度及び／又は程度は 1.5%以上の群で特に高かった。表皮過形成の頻度は，雌雄いずれでも，基剤対照群で無処置対照群と比較して高かった。同様に，表皮過形成の程度は，基剤対照群の塗布部位以外（鼠径部）から採取した無処置皮膚でタピナロフ群と同程度であり（ただし，タピナロフ群より低頻度），基剤対照自体に皮膚刺激性があることが示唆された。

記録された触知可能な腫瘤は，概して腫瘍を予測するものでなかった。1 つ以上の触知可能な腫瘤が観察されても，腫瘍に一致することはまれであった（129 例中 25 例）。各タピナロフクリーム群で記録された触知可能な腫瘤の総数は，無処置対照群及び基剤対照群と比較して少なかった。タピナロフに関連する良性の腫瘍性変化が認められたのは皮膚のみであり，タピナロフクリーム塗布に伴い，1.5%以上の群の雄及び 3%群の雌で扁平上皮乳頭腫の頻度が増加した。以上より，タピナロフクリーム塗布後に塗布部位及び塗布部位以外の皮膚で，皮膚の一般状態所見，剖検所見及び非腫瘍性の病理組織所見が増加した。このことから，扁平上皮乳頭腫の発生が，タピナロフの直接的ながん原性ではなく，媒体及びタピナロフによる皮膚刺激性に伴う二次的なものであることが示唆された。

結論として，雌雄 CD-1 マウスに 0%，0.5%，1.5%及び 3%のタピナロフクリーム（処方 F）を 1 日 1 回，最長 102 週間経皮投与した（3%は本処方で投与可能なタピナロフの最高濃度）。いずれの用量群でも，タピナロフクリームに関連する生存率への悪影響又は直接的ながん原性は認めら

れなかった。タピナロフに関連する良性の腫瘍性変化は皮膚（処置及び無処置）のみに発生し，タピナロフクリームによる扁平上皮乳頭腫の頻度が増加したのは，1.5%以上の群の雄及び 3%群の雌であった。良性扁平上皮乳頭腫の発生は，基剤及びタピナロフ投与による皮膚刺激性に付随する二次的な変化であり，タピナロフの直接的ながん原性によるものでないと判断された。

2.4.4.4.2 皮下投与によるがん原性

Wistar Han ラットに，0（媒体；30% Captisol®水溶液），0.1，0.3 又は 1.0 mg/kg/day のタピナロフを 1 日 1 回，生涯にわたり皮下投与した。タピナロフ及び媒体対照（生理食塩水及び 30% Captisol® 水溶液）は，肩甲部及び背部中央に 3 mL/kg の容量で 1 日 1 回投与し，刺激を最小限に抑えるため，投与部位を 4 ヵ所設け，各投与部位を毎日ローテーションした（1 ヵ所／日）。評価項目／パラメータは，一般状態観察，腫瘍発生率，体重，体重増加量，摂餌量，眼科学的評価，並びに剖検及び病理組織学的検査とした。TK 群の動物から投与 28 及び 182 日目に採取した検体を用いて，TK 測定を実施した。

媒体対照群で投与部位に腫瘍が認められたため，投与 342 日目に雄の投与を中断し，媒体の濃度を下げて（10% Captisol®水溶液），投与 372 日目に投与を再開した。雌においても，投与 372 日目から媒体の濃度を下げ（10% Captisol®水溶液），投与を行った。生存率，体重及び摂餌量に対する影響，並びにタピナロフ投与に起因する一般状態変化，剖検及び病理組織学的検査（腫瘍性及び非腫瘍性病変）について，投薬の影響を示唆する変化は認められなかった。しかし，媒体（Captisol®；30%又は 10% w/v）対照群及び各用量のタピナロフ投与群でも，投与部位に肉腫が高頻度に発生し，これらの媒体に関連する投与部位の腫瘍により，予想外に全群（媒体対照群及びタピナロフ群）の死亡率が高く，生存率が低下した。そのため，試験を早期に終了する必要があった。媒体（Captisol®）対照群の雄の生存例数が 20 例となったため，雄の試験を投与 60 週目に終了した。媒体（Captisol®）対照群の雌の生存例数が投与 82 週目に 20 例となったため，雌の試験を投与 82～83 週目に終了した。

媒体（Captisol®）の皮下投与に伴い，投与部位に皮下肉腫（主に多形性線維肉腫及び線維肉腫）が発生し，すべての雄の試験を投与 60 週目に早期終了し，雌の試験を投与 82～83 週目に早期終了した。媒体対照群及びタピナロフ投与群では，皮下組織の肉腫発生に加えて，いくつかの組織（腎臓，上皮小体，前立腺及び皮下マクロファージ）で細胞質空胞化が認められたほか，投与部位の腫瘍増大に伴う組織損傷を原因とする二次的変化が認められた。これらの組織で認められた細胞質空胞化は，他のシクロデキストリン媒体に関する研究でも報告されており[18]，本試験で認められた組織学的所見は，過去の研究で報告された所見と概ね一致した。媒体を投与された全群（媒体対照群及びタピナロフ投与群）で頻度が同程度であったことから，腫瘍性所見及び非腫瘍性所見はいずれもシクロデキストリン媒体（Captisol®）投与に起因する変化と考えらえた。いずれの病理組織所見からも，タピナロフ単独による腫瘍性変化，標的臓器毒性及びタピナロフによるシクロデキストリン媒体に起因する変化への影響はみられなかった。

結論として，雌雄 Wistar Han ラットに 0（生理食塩水対照），0（媒体対照；Captisol®），0.1，0.3 又は 1 mg/kg/day のタピナロフを 1 日 1 回皮下投与（雄で最長 60 週間，雌で最長 83 週間）したとき，生存率，体重，摂餌量，一般状態観察及び眼科学的所見，非腫瘍性所見及びがん原性に

関して，タピナロフ投与に関連した変化はいずれの用量でも認められなかった。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

タピナロフの生殖能及び発生毒性に及ぼす影響を評価するため，ラット又はウサギを用いて一連の皮下投与試験を実施した。また，これらの試験には幼若動物におけるタピナロフの安全性プロファイル検索も含めた。

2.4.4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する影響

2.4.4.5.1.1 雌ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験

0（30% Captisol®），1，6 及び 30 mg/kg/day のタピナロフを雌 Wistar Han ラット（各群 22 匹）に交配開始前の 15 日間，無処置雄ラットとの交配期間中（最長 14 日間），妊娠 6 日まで 1 日 1 回皮下投与した。雌ラット及びその胎児は妊娠 20 日に安楽殺した。F_0 母動物では，生死，一般状態，体重，摂餌量，性周期，交尾，受胎能，剖検時肉眼検査，黄体及び子宮重量を評価し，F1 胎児では，着床数，吸収胚数，生存及び死亡胎児数，胎児重量，性別，胎盤及び胎児の外表形態を評価した。タピナロフ投与に関連した投与部位反応が 1 mg/kg/day 以上で認められたが，いずれの用量でもタピナロフ投与に関連した交尾，受胎能及びその他の生殖パラメータへの影響は認められなかった。これらの結果に基づき，ラットの雌受胎能及び初期胚発生に対する NOAEL は最高用量の 30 mg/kg/day と判断された。

2.4.4.5.2 胚・胎児発生への影響

2.4.4.5.2.1 ラットにおける胚・胎児発生に関する試験

0（30% Captisol®），1.2，6.9 及び 34 mg/kg/day（予定投与用量：0，1，6 及び 30 mg/kg/day）のタピナロフを妊娠 Wistar Han ラット（各群 22 匹）の妊娠 6～17 日に，3 mL/kg の投与容量で皮下投与した。妊娠 21 日まで生存した雌ラットでは，生死，一般状態，体重，摂餌量，剖検，子宮重量及び黄体数を評価し，胎児では着床数，吸収胚数，生存及び死亡胎児数，胎児体重，性別，胎盤及び胎児形態（外表，内臓及び骨格）を評価した。いずれの用量においても母動物の平均体重増加量及び平均摂餌量に影響はみられなかった。6.9 及び 34 mg/kg/day の投与部位で痂皮の発現頻度が用量依存的に増加した。タピナロフ投与に関連した奇形はいずれの用量でもみられず，タピナロフは催奇形性を有さないと考えられたが，発生毒性として統計学的に有意な平均胎児体重の低値及び胎児における骨格変異（鼻骨不完全骨化）の頻度増加が 34 mg/kg/day で認められた。したがって，ラットにおける胚・胎児発生に対する NOAEL は 6.9 mg/kg/day であった。

2.4.4.5.2.2 ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験

0（30% Captisol®），0.3，1 及び 3 mg/kg/day のタピナロフを妊娠 New Zealand White ウサギ（各群 22 匹）の妊娠 7～19 日に 1 日 2 回（約 6 時間の投与間隔），3 mL/kg の投与容量で皮下投与した。F_0 母動物では生死，一般状態，体重，摂餌量，タピナロフの血漿中濃度（妊娠 11 及び 12 日），剖検，妊娠子宮重量及び黄体数を評価し，F_1 胎児では着床数，吸収胚数，生存及び死亡胎児数，胎児体重，性別，胎盤及び胎児形態（外表，内臓及び骨格）を評価した。3 mg/kg/day の母動物 1

例は 9 日間連続で餌をほとんど又は全く食べず，体重減少がみられたため，人道的理由で妊娠 20 日に安楽死させた。母動物毒性を示唆する変化（体重増加量の低値）が最高用量（3 mg/kg/day）群で認められた。着床後死亡（胎児死亡）及び胎児骨格変異（頭頂骨及び頭頂間骨の過剰縫合線）の増加が 3 mg/kg/day で認められたため，本試験条件下でのウサギにおける胚・胎児発生における NOAEL は 1 mg/kg/day と判断された。1 mg/kg/day 投与時の AUC_{0-t} の平均値は 128 ng· hr/mL，C_{max} の平均値は 122 ng/mL であった。

別の試験では，0（30% Captisol®），1，2 及び 3 mg/kg/day のタピナロフを妊娠 New Zealand White ウサギ（各群 22 匹）の妊娠 7～19 日に 0.25 mL/kg/時間で 24 時間皮下に持続投与した。F_0 母動物では生死，一般状態，体重，摂餌量，タピナロフの血漿中濃度（妊娠 11 及び 12 日），剖検，妊娠子宮重量及び黄体数を評価し，F_1 胎児では着床数，吸収胚数，生存及び死亡胎児数，胎児体重，性別，胎盤及び胎児形態（外表，内臓及び骨格）を評価した。いずれの用量群においても母動物毒性を示唆する明らかな変化は認められず，胚胎児死亡率，胎児の発育及び形態に対する影響も認められなかった。これらの結果から，本試験条件下でのウサギにおける胚・胎児発生に対する NOAEL は 3 mg/kg/day であった。なお，3 mg/kg/day における AUC_{0-24} は 159 ng· hr/mL，C_{ave} は 6.64 ng/mL であった。

2.4.4.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能への影響

2.4.4.5.3.1 ラットにおける出生前及び出生後の発生に関する試験

妊娠 F_0 雌ラット（各群 24～26 匹）に 0（30% Captisol®），1，6 又は 30 mg/kg/day のタピナロフを妊娠 6 日から哺育 20 日まで 1 日 1 回反復皮下投与した。F_0 母動物では，生死，一般状態，体重，摂餌量，分娩，授乳及び哺育行動の評価，子宮検査（着床状態）及び剖検を行い，無処置雌では，生死，一般状態，体重，性周期，生殖能の評価，子宮検査及び剖検（骨盤内検査のみ）を行った。F_1 児では，生存性，性別，外表形態，一般状態，体重，出生児における乳汁を介したタピナロフの血漿中曝露量（生後 10 日）の評価，腎臓の形態及び成熟度の判別又は評価，性成熟の身体的指標（雌では膣開口，雄では陰茎亀頭からの包皮分離），神経行動機能（聴覚性驚愕反応，自発運動，モリス水迷路を用いた学習及び記憶の評価），性周期，生殖能，分娩，哺育行動の評価，子宮検査及び剖検を行い，腎臓の病理組織学的評価も行った。F_2 児では，生存性，性別，外表形態，一般状態及び体重の判別又は評価を行った。タピナロフ投与に関連する一般状態所見として，妊娠及び哺育期間中にタピナロフのすべての投与群で投与部位の痂皮形成が用量依存的に増加し，それに付随して背部に疎毛が認められた。30 mg/kg/day の F_0 雌で，妊娠／哺育期間中に母動物毒性を示唆する変化（体重増加量及び摂餌量の減少）が認められた。F_0 雌では，いずれの用量群においても妊娠期間，分娩及び哺育に対する影響が認められなかったが，F_1 児では 6 及び 30 mg/kg/day で生存率及び生存能力にタピナロフ投与に関連した低下が認められ，その結果として出生児数及び生後 1 週の出生児体重が低値を示したが，生後 2 週以降ではこれらの低値が認められなかった。F_1 児の腎臓の形態及び成熟度に対する影響は認められなかった。同様の所見は 1.0 mg/kg/day では認められなかった。F_1 児の身体的発育及び機能発達（体重，性成熟，神経行動機能，生殖能等）及び F_2 児の生存性，身体的発育及び機能発達に対してタピナロフ投与に関連する影響はみられなかった。これらの結果から，タピナロフのラットの出生前及び出生後の発生に

対する NOAEL は 1 mg/kg/day と考えられた。6 及び 30 mg/kg/day では出生後 10 日にタピナロフの血漿中濃度が検出された F_1 児の割合がそれぞれ 18 例中 2 例及び 12 例中 6 例であり（6 mg/kg/day で 0.326～0.506 ng/mL，30 mg/kg/day 群で 0.301～0.985 ng/mL），タピナロフが乳汁中に移行することが確認された。

2.4.4.5.4 幼若動物を用いた試験

雌雄の幼若ラットに 0（30% Captisol®），1/1.5，10/15 及び 20/30 mg/kg/day のタピナロフを 3 mL/kg の容量で，生後 7～77 日（最初に記載されている用量を生後 7～21 日に投与し，次に記載されている用量を生後 22～77 日に投与）に皮下投与した後，4 週間の休薬期間を設けた。生存率，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，TK，性成熟の身体指標観察（雌では膣開口，雄では亀頭包皮分離），眼科学的検査，行動学的検査（自発運動量，聴覚性驚愕反応，シンシナティ水迷路），性周期及び雄生殖能検査，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学検査，尿検査，尿生化学検査，T 細胞依存性抗体産生（TDAR），血液，胸腺及び Th17 細胞のイムノフェノタイピング，精細管精子形成ステージ分類，臓器重量及び骨長測定，並びに肉眼及び病理組織学的検査を実施し評価した。

10/15 mg/kg/day 以上の用量群の雌雄において，病理組織学的検査で腎盂拡張がみられ，雄では可逆的な尿中グルコース及び蛋白総排泄量の高値を伴った。休薬期間終了後でも数例で腎盂拡張が認められた。タピナロフ投与に関連した変化が胸腺重量，胸腺細胞密度（低下），胸腺 T 細胞の細胞分画の比率にみられたが，T 細胞機能（TDAR により評価）に影響が認められなかったことから，これらの変化の毒性学的意義は低いと考えられた。また，タピナロフに関連した変化が血液（NK 細胞及び細胞傷害性 T 細胞）及び胸腺（T_{reg} 細胞）でみられたが，それらの値の多くが媒体対照群のバラツキの範囲内であったため，毒性学的意義は低いと考えられた。以上のことから，幼若ラットにおける NOAEL は 1/1.5 mg/kg/day（生後 77 日の $AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max} の雌雄平均値はそれぞれ 86.4 ng· hr/mL 及び 73.1 ng/mL）と推定された。

幼若動物毒性試験で認められた腎盂拡張を検討するため，雌雄ラット［各群雌雄各 30 匹（6 腹／用量群；1 腹につき雌雄各 5 匹）］に 20 又は 30 mg/kg/day のタピナロフ又は媒体（30% Captisol® 水溶液）を，生後 7～56 日の様々な時期に皮下投与した。タピナロフ投与に関連する病理組織所見として，ごく軽度～中等度の腎盂拡張又は水腎症の頻度増加（最大 58%）が認められ，肉眼所見である腎陥凹巣と一致した。20/30 mg/kg/day 群では，媒体対照群と比較して，体重及び体重増加量が軽度の低値（媒体対照群の平均値の 0.84 倍）を示し，タピナロフ投与に関連した変化と考えた。ラットにタピナロフを生後 15～21 日及び生後 7～42 日に投与したとき，タピナロフ投与に関連する変化が認められ，それに付随して尿中の腎障害バイオマーカーである好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリンが高値を示した（媒体対照群の平均値の 11 倍）。タピナロフ投与を生後 32 日以降に開始したとき（生後 32～42 及び生後 32～56 日），腎盂拡張／水腎症の頻度は媒体対照群と同程度であった。生後 32～42 日又は生後 32～56 日にタピナロフ投与に関連した変化が認められなかったことから，感受期は生後 32 日より前，特に生後 15～21 日（ラットで腎尿細管の解剖学的成熟及び腎発生が生じる時期）であった。媒体投与に伴う腎尿細管の空胞化は，本試験に用いたほぼ全例（媒体対照群を含む）に認められ，ごく軽度の限局性の腎尿細管変性をしばしば

伴っていた。

2.4.4.6 局所刺激性及び光毒性

タピナロフの局所刺激性，光毒性及び溶血性を検討するため，経皮投与及び点眼投与による試験を実施した。*In vivo* 試験は，タピナロフクリームの旧剤型である処方 A 及び D を使用して実施した。

2.4.4.6.1 モルモットの皮膚感作性試験

雄モルモット（20 匹）を用いて，8%タピナロフクリーム（処方 A）の皮膚感作性試験を，ビューラー法により実施した。剃毛した左側腹部に陽性対照物質［1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン（DNCB）］，基剤対照又はタピナロフクリームを投与 0，6 及び 13 日目に 6 時間経皮投与した。投与 27 日目に剃毛した右側腹部にそれぞれの惹起物質を投与した。惹起期間後，タピナロフクリームを投与したいずれの動物でも局所皮膚刺激性の徴候は認められなかった。惹起 24 及び 48 時間後の皮膚反応の評価に基づき，タピナロフはモルモットで皮膚感作性を示さないと判断された。DNCB（陽性対照）の結果から試験成立と判断され，本試験のデザインにより皮膚感作性物質を検出できることが示された。

2.4.4.6.2 ウサギの皮膚刺激性試験

3 匹の雌 New Zealand White ウサギの背部を剃毛し，損傷皮膚部位／健常皮膚部位及び対照皮膚部位に区分けし，8%タピナロフクリーム（処方 A，0.5 mL/部位）を 24 時間閉塞貼付した。OECD の化学物質の試験に関するガイドライン（TG404）に基づいて皮膚を評価し，その後一次刺激指数が 0.0 と算出された結果，8%のタピナロフクリーム塗布に対する皮膚反応は損傷皮膚部位及び健常皮膚部位の両方で無視できる程度であり刺激性が低いことが確認された。

2.4.4.6.3 マウスの局所リンパ節試験

雌 CBA/CaCrl マウス（各群 5 匹）を用いて，1%，2%及び 4%のタピナロフクリーム（処方 D）の感作性を評価した。陽性対照物質（α-ヘキシルシンナムアルデヒド），陰性対照物質，タピナロフの 0%（基剤対照），1%，2%及び 4%クリームを耳介背部へ投与 1，2 及び 3 日目に 1 日 1 回経皮投与した。投与 6 日にマウスに 20 μCi の[^{3}H]-メチルチミジンを静脈内投与した。約 5 時間後にそれぞれのマウスから耳介リンパ節を採取し，各個体の耳介リンパ節をプールし，放射能を測定した。リンパ節への[^{3}H]-メチルチミジン取り込みの評価に基づき，本試験条件下では，タピナロフは皮膚感作性物質ではないと判断された。陽性対照物質により陽性反応が得られたことから，本試験の結果の妥当性が確認された。

2.4.4.6.4 マウスの光毒性試験

Crl:SKH1-hr ヘアレスマウス（各群雄 6 匹）に 0%（基剤対照），1%，4%及び 8%のタピナロフクリーム（処方 A）を単回経皮投与し，その後，キセノンランプ照射（擬似太陽光）したときの一次刺激性及び光毒性を評価した。光毒性の評価では，タピナロフを陽性対照物質の 8-メトキシソ

ラレンと比較した。最高 8%のタピナロフクリームの単回経皮投与及びその後の単回紫外線(UV)照射は，光毒性を示唆する皮膚反応を誘発しなかった。陽性対照物質（8-メトキシソラレン）の結果から試験成立と判断された。

2.4.4.6.5 ウサギの眼刺激性試験

3 匹の雌 New Zealand White ウサギの片眼の結膜嚢に 8%のタピナロフクリーム（処方 A）0.1 mL を投与した。投与 1 時間後に全例にわずかな眼脂が観察されたが，投与 24 時間後までに全例が正常に回復した。以上の結果より，8%のタピナロフクリームにはほとんど眼刺激性はない(practically nonirritating）と判定された。

2.4.4.7 その他の毒性試験

2.4.4.7.1 抗原性試験

実施せず。

2.4.4.7.2 免疫毒性試験

実施せず。

2.4.4.7.3 毒性発現の機序に関する試験

実施せず。

2.4.4.7.4 依存性試験

実施せず。

2.4.4.7.5 代謝物の毒性試験

実施せず。

2.4.4.7.6 不純物の毒性試験

実施せず。

2.4.5 総括及び結論

タピナロフの完了した非臨床試験の全一覧を付表 1 に示す。

2.4.5.1 薬理作用

尋常性乾癬は，慢性に増悪・寛解を繰り返し，皮膚における厚い鱗屑と境界が明確な紅斑を特徴とする疾患である。尋常性乾癬の根本的な原因や病態はいまだ明らかではないが，生物学的製剤の臨床成績から IL-17A や IL-23 等のサイトカインを中心に病態の理解が進んでいる。一方，AD は，増悪・寛解を繰り返す，そう痒のある湿疹を主病変とする疾患である。AD の病態形成には，免疫学的異常と皮膚バリア機能異常が存在すると考えられている。

タピナロフは AhR 経路を活性化する非ステロイド性の AhR 調節薬である。タピナロフは尋常性乾癬及び AD の病態形成に重要な IL-17A 及び IL-4 の産生抑制及び抗酸化分子の発現誘導によって，抗炎症作用及び抗酸化作用を示し，さらに INV，HRNR 及び FLG の皮膚バリア機能関連分子の発現を誘導することによって，皮膚バリア機能を改善することが示唆された。

タピナロフは尋常性乾癬の特徴を有するマウス IL-23 誘発皮膚炎モデル及びマウス IMQ 誘発皮膚炎モデルにおいて，皮膚での炎症を抑制した。また，AD の特徴を有するマウス DNFB 誘発皮膚炎モデルにおいて，皮膚での炎症及びバリア機能低下を抑制した。

以上より，タピナロフは抗炎症作用，抗酸化作用及び皮膚バリア機能改善作用を有することから，抗炎症作用を主作用とする既存の外用剤とは異なる特長を持った尋常性乾癬や AD の治療薬になることが期待される。

2.4.5.2 薬物動態

タピナロフの経皮投与後の全身曝露量は概して用量依存的に増加したか，又は用量以上に増加した。マウス，ラット及びミニブタでは反復投与後の曝露量は同程度か又はわずかに増加したが，ウサギでは明らかな傾向はみられなかった。概して，ラット，ウサギ及びミニブタの全身曝露量は雄と雌で同程度であった。成熟ラットに最長 26 週間，幼若ラットに最長 10 週間，胚・胎児発生に関する試験で妊娠ウサギに最長 13 日間皮下投与したときの全身曝露量は，概ね用量増加に伴って増加したが，必ずしも用量比例性を示さなかった。

マウス，ラット，ウサギ，ミニブタ及びヒトでのタピナロフの血漿蛋白結合率は極めて高く（99.1%以上），濃度に依存しなかった。皮膚ホモジネートでのタピナロフの *in vitro* 蛋白結合率も高かった（ヒトで 92.7%，ミニブタで 90.7%）。

タピナロフの代謝様式は，酸化，グルクロン酸抱合，水和又は硫酸抱合及びそれらの組み合わせであった。マウス及びラットを用いた排泄試験では，皮下投与した放射能は主に糞中に検出され（投与量の約 76%），次いで尿中であった（投与量の約 14%）。さらに詳細な検討の結果，BDC ラットでは，胆汁中への放射能の排泄率は投与量の 73%であった。したがって，非経口投与後の主な排泄経路は，胆汁を介した糞中排泄と考えられた。ミニブタに経皮投与したとき，放射能の大部分は，投与部位の拭き取りで回収された。放射能の血中及び血漿中濃度は 1 検体を除くすべての検体で検出限界未満であった。投与された放射能の 1%未満が試験期間中に排泄物（尿及び糞）に回収され，経皮投与後に放射性試験物質の吸収が極めて限定的であることが示唆された。

In vitro 試験では，局所投与したときにタピナロフは代謝に基づく薬物相互作用（DDI）を引き起こす可能性が低いことが示された。CYP 酵素活性に対する直接的，時間依存的又は代謝依存的阻害作用はほとんど認められず，供試最高濃度である 100 nmol/L［臨床で認められた C_{max}（2.44 ng/mL）から算出されたヒトでのタピナロフの遊離型（非結合型）濃度の約 1000 倍］までの結果では IC_{50} 値は算出できなかった。

トランスポーターを用いた検討で，検討したタピナロフの最高濃度（100 nmol/L）では BCRP に対して最大 48.8%の阻害率が確認された。この濃度は臨床で患者に局所塗布した際に予測される最高血漿中濃度の約 1000 倍であるため，臨床的には問題とならない。タピナロフは，P-gp，BSEP，OATP1B1，OATP1B3，OAT1，OAT3，OCT1，OCT2，MATE1 及び MATE2-K に対して阻害作用を示さなかった。

ヒト及びミニブタ皮膚でタピナロフは，その薬理作用による AhR の活性化により CYP1A1 の発現を誘導した。同様に，CYP1A2（AhR により制御される）発現も顕著に誘導された。ヒトで最高含量の製剤（1%）を局所塗布したときの臨床で認められている血漿中 C_{max} が低いため，DDI リスク評価に関する規制ガイダンスを考慮すると，タピナロフが CYP 酵素の阻害又は誘導を介して臨床的に問題となる全身性の DDI を引き起こす可能性は極めて低いと判断された。

2.4.5.3 安全性

マウス及びラットの最長 13 週間，ウサギの 28 日間，ミニブタの最長 39 週間の単回及び反復経皮投与毒性試験でタピナロフを評価した。なお，これらの試験では複数の処方のタピナロフクリーム（処方 A～F）を使用した。主要な反復経皮投与試験（マウス 13 週間試験，並びにミニブタ 28 日間及び 39 週間試験）は，市販予定製剤である処方 F を用いて最大 3%（本処方で投与可能なタピナロフの最高濃度）までの濃度で実施した。高曝露条件下における毒性を評価する目的で，ラットの最長 26 週間の反復皮下投与毒性試験も実施した。ラット又はウサギの皮下投与により，受胎能，胚・胎児発生，出生前及び出生後の発生等を含む生殖発生毒性に対するタピナロフの影響を検討した。ラットを用いた幼若動物毒性試験として，用量設定試験，10 週間反復皮下投与試験，生後 7 日から生後 32 日，56 日又は 77 日まで皮下投与したときのタピナロフが腎臓に及ぼす影響を検討する試験を実施した。タピナロフの変異原性及び染色体異常誘発性を，細菌及びほ乳類培養細胞を用いた *in vitro* 試験並びにマウス及びラットを用いた *in vivo* 小核試験で評価した。タピナロフの安全性薬理試験を実施した。局所刺激性試験として，*in vitro* 溶血性試験，局所リンパ節試験，皮膚感作性及び刺激性試験，皮膚刺激性試験，眼刺激性試験，光毒性試験を実施した。これらの試験は，マウス，モルモット又はウサギを用いて実施し，初期の経皮投与製剤（処方 A 又は D）を使用して実施した。がん原性試験は，タピナロフをラットに皮下投与する試験及びタピナロフクリーム（処方 F）をマウスに経皮投与する試験の 2 試験を実施した。

2.4.5.3.1 作用機序

タピナロフは，AhR との直接的な結合や AhR の下流分子である CYP1A1 の発現誘導から，AhR に対する調節作用を有する化合物であることが明らかになった。また，タピナロフは Nrf2 経路活性化作用を持ち，抗酸化遺伝子の発現促進及び細胞の酸化ストレス減少が期待される。

2.4.5.3.2 死亡／一般状態の変化

タピナロフクリーム（処方 F）のラット 13 週間経皮投与毒性試験では，雌 3 例が死亡（投与 21 及び 62 日目）あるいは切迫解剖された（投与 28 日目）。投与 28 日目に切迫解剖されたタピナロフクリーム 1.5%群の雌 1 例では，剖検時に暗色の腹水が認められたほか，肝臓被膜表面に大型の腫瘤が観察され，病理組織学的検査により血腫であることが確認された。以上の所見から，瀕死状態となった原因は肝破裂による大量出血であることが示唆された。投与 21 日目（タピナロフクリーム 1.5%群 1 例）及び投与 62 日目（基剤対照群 1 例）に死亡した雌の死因は，肉眼及び病理組織学的検査により明らかにならなかった。タピナロフ投与に関連する一般状態変化が観察されなかったこと，また，基剤対照群及び中用量群での早期の死亡であったことから，これらの死亡例は実験処置の被覆操作に起因する可能性が最も高く，タピナロフ投与に関連しないと考えられた。

ミニブタ 13 週間経皮投与毒性試験の投与 44 日目に，タピナロフクリーム 4%（処方 C）を投与した雌 1 例が死亡した。本例で死亡前にみられた一般状態変化は，投与 43 日目の嘔吐（1 回）及び投与部位皮膚の変色（頻回）であった。皮膚刺激性は投与 8～43 日目に明瞭な紅斑として最も認められた。臨床検査又は病理組織所見は本例では認められなかった。その原因は不明であり，タピナロフ投与に関連したものではないと考えられた。

ラット 13 週間皮下投与毒性試験では，3 mg/kg/day 群の全例が定期解剖時まで生存した。投与期間中に 40 mg/kg/day 群の雄 1 例が死亡，雌雄各 2 例が切迫解剖となったが，その原因はタピナロフ投与に関連した投与部位の病変によると考えられた。ラット 26 週間皮下投与毒性試験では，30 mg/kg/day 群の雄 1 例が投与部位の悪性線維性組織球腫のため，投与 219 日目に死亡した。本所見は，げっ歯類で媒体（Captisol®；β-シクロデキストリン）の反復皮下投与時に認められている慢性皮下炎症反応による二次的な変化と考えられた。

2.4.5.3.3 肝臓への影響

ラット試験では，4%以上のタピナロフクリーム（処方 A；240 mg/kg/day）を最長 28 日間経皮投与した群及び 10 mg/kg/day 以上を最長 13 週間皮下投与した群で，タピナロフ投与に関連した肝臓への影響として，肝重量の増加（基剤対照群の 1.09～1.38 倍）が認められたが，毒性学的意義の低い変化と考えられた。肝細胞脂質空胞化が 28 日間試験のタピナロフクリーム 8%（処方 A；480 mg/kg/day）を経皮投与した群のラットで認められた。これらの試験で，関連した血液生化学的検査値［アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）又はアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）］に変化はなく，肝重量増加も 4 週間の休薬後には認められなかった。ラット 13 週間経皮投与毒性試験（処方 F）では，ごく軽度の肝細胞壊死及び／又は線維化，並びにごく軽度～軽度の炎症性細胞浸潤（混合細胞型）の頻度が，タピナロフクリーム群で基剤対照群と比較してわずかに高かった。しかし，肝臓への影響は基剤対照群でも低頻度ながら認められ，観察された肝臓所見が用量反応性を示さなかったことから，その原因はタピナロフの直接的な影響でなく，実験処置の被覆操作に起因した変化と考えられた。ラット 26 週間皮下投与毒性試験では，タピナロフの全用量（1，6 及び 30 mg/kg/day）群及び媒体対照群の雌雄で，肝臓及び／又は脾臓に髄外

造血亢進が認められた。これらの所見の頻度／程度は，投与部位の炎症性変化の程度に概ね相関していたことから，これらの所見は投与部位の炎症による二次的変化と考えられた。

ウサギ試験では，3%（処方 A；225 mg/kg/day）以上のタピナロフクリームを 28 日間経皮投与した群で，肝細胞肥大／再生，壊死／炎症及び胆管増生が認められた。これらの変化は，肝重量の増加（最高 1.87 倍）を伴っていた。血液生化学的検査で，最高用量（28 日間経皮投与毒性試験：6%）では基剤対照群に比較して ALT（最高 1.5 倍），総ビリルビン（最高 1.48 倍），トリグリセリド（1.68～6.94 倍）及びコレステロール（1.24～3.00 倍）の増加を含む臨床検査パラメータの変化が認められた。ミニブタでは，4 週間，13 週間及び 9 ヵ月間経皮投与毒性試験で最高 4%のタピナロフクリームを 1 日 2 回投与したが，肝臓に所見は認められなかった。マウスでは，最高 4%のタピナロフクリーム（処方 F）を最長 13 週間投与したが，肝臓に所見は認められなかった。

タピナロフは，*in vitro* で，AhR アゴニスト，PXR アゴニスト及びヒト肝細胞の CYP1A2 誘導剤としての作用をもつことが示されており，それらの作用が，高曝露条件下で実施したウサギの毒性試験で観察された肝所見の発現に関与している可能性が考えられた。ラットでみられた肝重量の増加及び肝細胞空胞化は毒性学的意義の低い変化と考えられたため，肝臓所見に対する NOAEL はタピナロフクリーム 1%（処方 A；80 mg/kg/day）を用いたウサギ 28 日間経皮投与試験に基づいて推定され，そのときのヒト曝露量に対する全身曝露量比は，AD を対象とした最大使用試験で報告されたヒトの平均 AUC 値（22.5 ng· hr/mL；DMVT-505-2104 試験）に対して雄雌それぞれ 19 倍及び 94 倍であった。

2.4.5.3.4 皮膚への影響

各動物種（ラット，ウサギ及びミニブタ）及び複数の処方のタピナロフクリーム（処方 A～F）を用いた反復経皮投与毒性試験では，局所的な影響は主に軽度～中等度の可逆的な皮膚反応（皮膚の弾性低下／乾燥，発赤／紅斑，表皮過形成／過角化，炎症及び皮膚亀裂）であることが示されている。ラット及びウサギの 28 日間経皮投与毒性試験で，基剤対照及び 1%以上のタピナロフクリーム（処方 A）群で表皮過形成が認められた。皮膚乾燥／皮膚の弾性低下は，1%のタピナロフクリーム（処方 A；80 mg/kg/day）を投与したウサギ及び 4%のタピナロフクリーム（処方 A；240 mg/kg/day）を投与したラットで認められた。4%以上のタピナロフクリームの投与によって過角化（投与 2 週の間に発現），ごく軽度～高度の表皮過形成，紅斑及び皮膚の乾燥が認められた。ラットでこれらの皮膚所見は雌及び損傷皮膚でより重度であった。ラット及びウサギに 8%のタピナロフクリーム（処方 A）を単回で 24 時間以上にわたり経皮投与し，その後 14 日間観察したとき，軽度の皮膚刺激（かろうじて識別できる紅斑）が認められ，損傷皮膚と健常皮膚で所見に明確な差はみられなかった。マウスの反復経皮投与毒性試験では，最高 4%のタピナロフクリーム（処方 E，14 日間）及び最高 3%のタピナロフクリーム（処方 F，13 週間）を投与したとき，所見は認められなかった。ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験では，最高 3%のタピナロフクリーム（処方 F）を投与したとき，ごく軽度かつ一過性の皮膚刺激性が基剤対照群及びタピナロフクリーム群の両方に認められ，発現率及び程度が同程度であったことから，タピナロフ投与に関連した変化でないと判断した。

ミニブタの 28 日間及び 13 週間経皮投与毒性試験では，基剤対照及び最高 6%のタピナロフク

リーム（処方 B 及び C）の投与により紅斑が認められた。28 日間経皮投与毒性試験において，一過性に 3%以上のタピナロフクリーム群（処方 B；44 mg/kg/day）でごく軽度の紅斑が，最高用量の 6%のタピナロフクリーム群（処方 B；87 mg/kg/day）で軽度～中等度の紅斑が認められ，13 週間試験（91 日間の 1 日 2 回投与）では明瞭な紅斑が投与期間の最終判定時に認められた。その後実施された 28 日間試験では，最高 4%のタピナロフクリーム（処方 D）の投与によって，病理組織所見を伴わない一過性の軽度の紅斑が認められたのみであった。最高 4%のタピナロフクリーム（処方 E）を 1 日 2 回投与した 13 週間試験では，軽度～中等度の紅斑が基剤対照群を含む全群で数例を除く全例で用量とは無関係に認められた。ミニブタの追加 28 日間経皮投与毒性試験及び慢性（39 週間）経皮投与毒性試験では，最高 3%のタピナロフクリーム（処方 F）を 1 日 2 回投与した結果，忍容性は良好でタピナロフ投与に関連した所見は認められなかった。

最高 8%の濃度のタピナロフクリーム（処方 A）を用いてモルモットに投与及び惹起した結果，タピナロフクリームの皮膚感作性は陰性であった。マウスの局所リンパ節試験でも，最高 4%のタピナロフクリーム（処方 D）を経皮投与後，流入領域リンパ節のリンパ球増殖に基づき，感作作用はみられなかった。タピナロフは紫外／可視吸収領域の光を吸収することが知られている（吸収極大波長 λ_{max} は 315 nm）。ヘアレスマウスに最高 8%のタピナロフクリーム（処方 A）を投与して皮膚光毒性試験を実施した結果，単回経皮投与及びこれに続く単回 UV 照射後に皮膚反応はみられなかった。

ラット皮下投与試験では，媒体対照群を含む全用量群の投与部位で，病理組織学的な毒性所見（炎症性細胞浸潤，出血／浮腫，壊死，鉱質沈着，表皮肥厚及び／又は潰瘍）が認められたことから，これらの変化は媒体及び／あるいは投与操作に関連した変化と考えられるが，タピナロフ投与による増強もみられた。さらに，26 週間皮下投与毒性試験では，休薬期間終了時に，30 mg/kg/day 群の雄 1 例（死亡した状態で発見）及び 6 mg/kg/day 群の雄 1 例で投与部位及び／又は皮下組織に肉腫が認められた。これらの変化は長期間の反復皮下投与後の慢性皮下炎症反応による二次的な変化と考えられた。

2.4.5.3.5 臨床検査に対する所見

タピナロフのラット 13 週間皮下投与毒性試験で，40 mg/kg/day 群で白血球及び好中球数の高値（1.27～2.6 倍），3 mg/kg/day 以上の群で好酸球数の低値（0.36～0.57 倍）が認められた。ラットの雌雄いずれか又は両性で赤血球系パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン又はヘマトクリット）のごく軽度の低値，網状赤血球数及び平均赤血球容積の高値が認められた。40 mg/kg/day 群の雌ラットでアルブミン及びアルブミン／グロブリン比のごく軽度の低値，コレステロールのごく軽度の高値が認められた。いずれの血液学的変化も休薬期間の 29 日目には回復しており，毒性学的意義の低い変化と考えられた。同様の血液学的検査値の変化はラット 28 日間皮下投与毒性試験の 6 mg/kg/day 以上の群でみられた。

4%以上のタピナロフクリームをラット及びウサギ（処方 A；ラットで 240 mg/kg/day 以上，ウサギで 320 mg/kg/day 以上）に 28 日間経皮投与した結果，基剤対照群と比べて白血球（1.03～1.83 倍）及び好中球数（1.27～4.09 倍）の軽度の高値が認められた。また，ラットの 4%以上では，基剤対照群と比べて単球数（2.13～4.25 倍）の軽度な高値及び赤血球系パラメータ（赤血球数，ヘモ

グロビン及びヘマトクリット）の軽度な低値（0.90～0.94 倍）が認められた。

ウサギの 7 日間反復経皮投与試験でも，4%以上のタピナロフクリーム（処方 A；320 mg/kg/day）で同様の変化が認められ，さらに網状赤血球及び血小板数の高値（1.13～1.86 倍）を伴った。これらの臨床検査パラメータに明確な用量相関性はなく，皮膚反応及び炎症に付随した変化であると考えられた。

2%以上のタピナロフクリーム（処方 C；18～28 mg/kg/day）をミニブタに 1 日 2 回 13 週間経皮投与した結果，好中球数のごく軽度の高値（基剤対照群の 1.94～2.05 倍），単球／好酸球数のごく軽度の低値（基剤対照群の 0.43～0.17 倍）が認められたが，リンパ球数に変化はみられなかった。これらの所見は休薬期間の 32 日目には回復していた。

成熟ラットの 26 週間皮下投与試験では，6 mg/kg/day 以上のタピナロフ群で，好中球数，単球数，リンパ球数，総白血球数及び網状赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリット（低値），トリグリセリド（高値）及びイムノフェノタイピングのパラメータのごく軽度かつ可逆的な変化が認められた。これらの変化は休薬期間終了時に回復しており，毒性学的意義は低いと考えられた。幼若ラットにタピナロフを 10 週間反復皮下投与した結果，雄の 10/15 mg/kg/day 以上でごく軽度かつ可逆的な尿中グルコース及び蛋白排泄量の高値が認められた。

2.4.5.3.6 免疫系への影響

ラットにおいて 4 週間経皮投与試験の 8%のタピナロフクリーム（処方 A；480 mg/kg/day）群で軽度の，最長 26 週間の皮下投与試験の 10 mg/kg/day 以上の群でごく軽度～中等度の胸腺皮質細胞の枯渇が認められた。胸腺皮質細胞の枯渇はウサギ 28 日間経皮投与試験でも，6%のタピナロフクリーム（処方 A；480 mg/kg/day）群で胸腺皮質の萎縮として認められた。ラット 13 週間及び 26 週間皮下投与試験でみられた本所見は，4 週間の休薬後に回復した。ラット皮下投与における NOAEL は 30 mg/kg/day であり，そのときの曝露量比としてはヒトの平均 AUC 値（22.5 ng· hr/mL）の 147 倍に相当する。

ラット 26 週間皮下投与試験では，臨床検査パラメータ（主に 6 mg/kg 以上の用量群：好中球数，単球数，リンパ球数，総白血球数及び網状赤血球数の高値，ヘモグロビン及びヘマトクリットの平均値の低値，平均トリグリセリド値の高値）及びイムノフェノタイピングのパラメータ［総 T 細胞，ヘルパーT 細胞，細胞傷害性 T 細胞及び T_{reg} 細胞（30 mg/kg/day）及び B 細胞（6 mg/kg/day 以上）の高値，NK 細胞（1 mg/kg/day 以上；回復傾向）及び刺激後の Th17 細胞（30 mg/kg/day）の低値］にごく軽度かつ可逆的な変化が認められた。

幼若ラットにタピナロフの最高 20/30 mg/kg/day を生後 7～77 日に皮下投与した結果，タピナロフ投与に関連した変化が胸腺重量，胸腺細胞密度（低下），胸腺 T 細胞の細胞分画の比率にみられたが，T 細胞機能（TDAR により評価）に影響が認められていないことから，これらの変化の毒性学的意義は低いと考えられた。また，タピナロフ投与に関連した変化が血液（NK 細胞及び細胞傷害性 T 細胞）及び胸腺（T_{reg} 細胞）でみられたが，その値の多くが媒体対照群のばらつきの範囲内であったため，毒性学的意義は低いと考えられた。

2.4.5.3.7 心血管系への影響

タピナロフは hERG チャネルテール電流を濃度依存的に阻害した。阻害作用の IC_{25}，IC_{50} 及び IC_{75} 値はそれぞれ 1.72，4.02 及び 9.37 μmol/L（0.44，1.02 及び 2.38 μg/mL）と推定された。ヒトでの C_{max} 値（2.44 ng/mL）におけるタピナロフの血漿中非結合型濃度は 0.017 ng/mL である（*in vitro* ヒト血漿蛋白結合率の 99.3%を基に算出）。IC_{50} 値は 1.02 μg/mL であり，臨床での C_{max} 値におけるタピナロフの血漿中非結合型濃度の 60,000 倍である。IC_{50} 値に対して 30 倍超の安全域が得られたことから，臨床で QTc 延長を引き起こす可能性は低いと考えられた[17]。

テレメーターを装着した雌雄モルモットに 6%までのタピナロフを経皮投与した結果，心血管系に対する特記すべき影響は認められなかった。雄ミニブタの覚醒下テレメトリー試験で，1，3 及び 10 mg/kg を単回静脈内投与した結果，1 mg/kg 以上の用量で平均動脈圧の低下，3 mg/kg 以上の用量で PR 間隔の短縮が認められたが，いずれも可逆的な変化であった。10 mg/kg までの単回静脈内投与は心拍数，脈圧，QA 間隔及び PR 間隔以外の心電図パラメータに対して影響を及ぼさず，心電図波形の異常又は不整脈の所見も認められなかった。1 及び 10 mg/kg 投与時の推定 C_{max} 値はそれぞれ 335 及び 5130 ng/mL であり，臨床試験でのヒト C_{max} 実測値 2.44 ng/mL と比較するとそれぞれ 137 倍及び 2102 倍であった。さらに，ミニブタの 28 日間，13 週間及び 9 ヵ月間経皮投与毒性試験においても QT 間隔に対する影響は認められなかった。以上のことから，タピナロフが QTc の延長及び多形性心室頻拍（Torsades de Pointes）を誘発する可能性は低いと考えられた。

2.4.5.3.8 遺伝毒性及びがん原性

In vitro において，タピナロフは細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）で変異原性を示さず，マウスリンフォーマ L5178Y $TK^{+/-}$試験及びチャイニーズハムスター卵巣細胞試験で遺伝毒性を示さなかった。マウス及びラットを用いた *in vivo* 骨髄小核試験では，マウスに最高 31.3 mg/kg/day，ラットに最高 30 mg/kg/day を 4 週間反復投与した結果，小核誘発能は認められなかった。したがって，証拠の重み付けに基づき，タピナロフのヒトにおける遺伝毒性リスクは低いことが示唆された。

げっ歯類（マウス及びラット）を用いた 2 つの *in vivo* がん原性試験では，タピナロフをクリーム剤として経皮投与したときと，皮下投与したときのがん原性を評価した。マウスの 98 週間（雌）～102 週間（雄）反復経皮投与群，及びラットの 60 週間（雄）～83 週間（雌）反復皮下投与群を媒体対照群と比較したとき，タピナロフの生存率に対する直接的な影響及びがん原性は認められなかった。各試験で得られた平均全身曝露量及び現時点で得られている臨床適用時の全身曝露量データ（ヒトでの平均 AUC 値：22.5 ng· hr/mL）に基づくと，マウス経皮投与がん原性試験では，ラット皮下投与がん原性試験と比較して，全身曝露量及び安全域（動物／ヒト）が大きかった［マウスでの AUC の平均値（3%のタピナロフクリーム）の比がヒトでの曝露量の約 16 倍であったのに対し，ラットでの AUC の平均値（1 mg/kg/day；30%/10% Captisol®水溶液媒体）の比はヒトでの曝露量の約 3 倍］。

2.4.5.3.9 生殖発生に関する所見

タピナロフの 0（媒体），1.2，6.9 及び 34 mg/kg/day を妊娠ラットに皮下投与したところ，

34 mg/kg/day 群で統計学的に有意な平均胎児体重の低値，胎児骨格変異の増加及び鼻骨不完全骨化の増加がみられた。これらの所見に基づいて，皮下投与におけるラット胚・胎児発生に対する NOAEL は 6.9 mg/kg/day であった。28 日間皮下投与毒性試験で雌ラットに 6 mg/kg/day を投与したときの C_{max} の平均値は 132 ng/mL，$AUC_{0\text{-}t}$ は 358 ng· hr/mL であり，このデータを用いて 6.9 mg/kg/day 投与時の全身曝露量を外挿した。外挿して求めた AUC の平均値が 412 ng· hr/mL となり，安全域は臨床平均曝露量（AUC）22.5 ng· hr/mL と比較して 18 倍であった。妊娠ウサギにタピナロフを 1 日 2 回（約 6 時間間隔）皮下投与した結果，母動物毒性（体重増加量の低値）が 3 mg/kg/day 群で認められた。着床後死亡（胎児死亡）及び胎児骨格変異（頭頂骨及び頭頂間骨の過剰縫合線）の増加が 3 mg/kg/day 群で認められたため，ウサギ胚・胎児発生における NOAEL は 1 mg/kg/day であった。そのときの $AUC_{0\text{-}t}$ が 128 ng· hr/mL，C_{max} が 122 ng/mL であり，安全域は臨床平均曝露量（22.5 ng· hr/mL）の 5.7 倍に相当した。ウサギの皮下持続投与による胚・胎児発生に関する試験では，1，2 及び 3 mg/kg/day の投与により影響は認められず，NOAEL 投与時の曝露量は，$AUC_{0\text{-}24}$ が 159 ng· hr/mL，C_{ave} が 6.6 ng/mL［臨床平均曝露量（AUC）22.5 ng· hr/mL と比較して 7.1 倍］であった。タピナロフの 30 mg/kg/day までラットの雌雄受胎能に影響は認められなかった。タピナロフを妊娠 F_0 雌ラットに皮下投与したとき，30 mg/kg/day 群で母動物毒性が認められた。6 及び 30 mg/kg/day 群で F_1 児の生存率及び生存能力にタピナロフ投与に関連する低下が認められ，その結果として，出生児数及び生後 1 週の出生児体重が低値を示した。これらの結果から，ラット児動物の出生前及び出生後の発生に対する NOAEL は 1 mg/kg/day であった。6 及び 30 mg/kg/day 群の F_1 児においてタピナロフの曝露量が定量可能であり（範囲：6 mg/kg/day 群で 0.326～0.506 ng/mL，30 mg/kg/day 群で 0.301～0.985 ng/mL），タピナロフが乳汁中に移行することが確認された。

雌雄の幼若ラットにタピナロフの 1/1.5，10/15 及び 20/30 mg/kg/day を 10 週間皮下投与した結果，病理組織学的な毒性所見として雌雄で腎盂拡張がみられ，雄では 10/15 mg/kg/day 以上の群で可逆的な尿中総グルコース及び蛋白排泄量の高値を伴った。休薬期間終了後でも数例で腎盂拡張が認められた。NOAEL（1/1.5 mg/kg/day）における C_{max} は雄及び雌でそれぞれ 79.5 及び 66.7 ng/mL，$AUC_{0\text{-}t}$ は雄及び雌でそれぞれ 89.3 及び 83.5 ng· hr/mL であった。これにより，臨床平均曝露量（AUC）22.5 ng· hr/mL と比較して少なくとも 3.7 倍の安全域が確保される。ラットを用いた探索的試験では，生後 32 日より前の短い感受期（具体的には生後 15～21 日）に水腎症のリスクが増加することが示唆された。この時期には，ラットで腎尿細管の解剖学的成熟及び腎形成が起こる[19-21]。しかし，ヒトでは腎尿細管形態及び腎臓は出生前に完全に形成される[19, 21]ため，ヒトに対する外挿性はないと考えられた。出生前及び出生後の発生に関する試験では，F_1 児の腎形態及び成熟に対する影響は認められなかった。

以下の評価を踏まえると，1%のタピナロフクリームを経皮投与された男性の女性パートナーへの曝露のリスクは低いと考えられる。臨床で認められている C_{max} は 2.44 ng/mL である。精液（1 回 5 mL で 1 日 2 回の射精を仮定）を介した妊娠中のパートナーへのタピナロフの 1 日曝露量は，精液中への移行が血液中と同様であると仮定した場合，24.4 ng（得られる曝露量の範囲内の最大値を使用）と推定される。タピナロフのヒト分布容積を 3 L と仮定すると，女性パートナーの体内でのタピナロフ濃度は約 0.008 ng/mL と推定される。胚・胎児発生に関する試験における NOAEL

は，妊娠ウサギで1 mg/kg/day（AUC_{0-t}及びC_{max}の平均値はそれぞれ128 ng· hr/mL及び122 ng/mL），妊娠ラットで6.9 mg/kg/day（AUC_{0-t}及びC_{max}の平均値はそれぞれ412 ng· hr/mL及び152 ng/mL）であり，算出には，ウサギのデータ（2つのNOAELのうち低い方）を用いた。

以上のデータに基づき，精液中に含まれる24.4 ngのタピナロフが100%吸収されると仮定すると，その精液を介した曝露量（0.008 ng/mL）はウサギの皮下投与による胚・胎児発生に関する試験のNOAELにおける曝露量（122 ng/mL）の約15,250分の1と予想された。したがって，1%のタピナロフクリームを経皮投与された男性から女性パートナーへの曝露による胚・胎児発生毒性のリスクは極めて低いと考えられた。

2.4.5.3.10 局所刺激性及び光毒性

最高8%のタピナロフクリーム（処方A）は単回経皮投与後に明らかな刺激性を示さず（ラット及びウサギ），感作性（モルモット）及び光毒性（ヘアレスマウス）も認められなかった。最高4%のタピナロフクリーム（処方D）はマウスで感作性を示さなかった。8%のタピナロフクリーム（処方A）を，ウサギの眼に投与したところ，眼に対する刺激性はほとんど認められなかった。

2.4.5.3.11 安全性薬理試験

雄性SDラットにタピナロフを単回皮下投与し，中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響を評価した。中枢神経系の安全性薬理試験で10 mg/kgで認められた筋緊張の低下及び異常行動（左斜頸）を除いて，タピナロフを10 mg/kgまでの用量で皮下投与したSDラットでは中枢神経系及び呼吸系に及ぼす重大な影響は認められなかった。これらの安全性薬理試験及び心血管系の評価（2.4.5.3.7 ）の結果から，タピナロフは心血管系，呼吸系及び中枢神経系に重大な影響を及ぼさないことが示された。

2.4.5.3.12 動物／ヒトの曝露量比

タピナロフの経皮及び皮下投与試験における全身曝露量を付表 2に示した。臨床試験でBSAの最大43%に投与したときの，ヒトでの平均AUC_{0-24}値（22.5 ng· hr/mL）に対して，タピナロフのNOAELを動物に投与したときの全身曝露量（AUC）の比は，マウスで最大23倍，ミニブタで最大4倍（経皮投与可能な最高濃度及び塗布面積により決定された最大評価用量での雌雄平均），ラットで最大146倍（雌雄平均，皮下投与）であった。臨床におけるヒトでの平均C_{max}（2.44 ng/mL）に対して，動物での全身曝露量（C_{max}）の比は，マウス及びミニブタでそれぞれ最大62倍及び3倍（経皮投与で評価した最高用量での雌雄平均），ラットで最大570倍（雌雄平均，皮下投与）であった。適切な安全域が確保されていることから，これらの結果は，尋常性乾癬及びADを適応としてタピナロフクリーム1%の1日1回局所投与の承認を求める本製造販売承認申請の提出を支持するものである。

2.4.5.4 まとめ

非臨床試験で動物種ごとに，経皮又は皮下投与におけるタピナロフのNOAELを決定した。毒性試験で決定したNOAELにおけるタピナロフの全身曝露量をヒト局所投与（タピナロフクリー

ム 1%）時の全身曝露量と比較した場合，適度（経皮投与試験）から大きい（皮下投与試験）安全域があると考えられた。反復経皮及び皮下投与毒性試験の結果，タピナロフ投与に関連した所見が主に肝臓，皮膚，腎臓及び胸腺に認められ，さらに二次的な関連する臨床検査パラメータ（血液学的検査及び血液生化学的検査）の変化も認められた。ヒトにタピナロフクリームを局所投与した場合の曝露量がラットの皮下投与試験で NOAEL を投与した場合の曝露量を超える可能性は低いと考えられた。

全体として，非臨床試験パッケージ（薬理，ADME 及び毒性データ）は，尋常性乾癬及び AD の局所治療を適応として申請するタピナロフクリーム 1%の 1 日 1 回塗布という用法・用量を支持している。タピナロフは非ステロイド性，低分子の AhR 調節薬であり，既存薬とは異なる特徴的な作用機序を有することが薬理試験により示されている。これまでに実施された非臨床試験及び臨床試験で経皮投与後に認められた曝露量が低かったことから，タピナロフの局所投与後に CYP 酵素が全身性に誘導される可能性は低いことが，ADME データパッケージから示唆される。本製造販売承認申請に含まれる非臨床安全性パッケージは，尋常性乾癬及び AD の局所治療を適応としてタピナロフクリーム 1%の 1 日 1 回塗布の承認を申請することを支持するものである。

2.4.6 参考文献

1. Nestle FO, Kaplan DH, Barker J. Psoriasis. N Engl J Med. 2009 Jul 30;361(5):496-509.

2. Krueger G, Koo J, Lebwohl M, Menter A, Stern RS, Rolstad T. The impact of psoriasis on quality of life: results of a 1998 National Psoriasis Foundation patient-membership survey. Arch Dermatol. 2001 Mar;137(3):280-4.

3. Bickers DR, Lim HW, Margolis D, Weinstock MA, Goodman C, Faulkner E, et al. American Academy of Dermatology Association, Society for Investigative Dermatology. The burden of skin diseases: 2004 a joint project of the American Academy of Dermatology Association and the Society for Investigative Dermatology. J Am Acad Dermatol. 2006 Sep;55(3):490-500.

4. 佐伯秀久，大矢幸弘，古田淳一，荒川浩一，市山進，勝沼俊雄ほか．アトピー性皮膚炎診療ガイドライン 2021．日本皮膚科学会雑誌. 2021;131(13):2691-777.

5. Carroll CL, Balkrishnan R, Feldman SR, Fleischer AB Jr, Manuel JC. The burden of atopic dermatitis: impact on the patient, family, and society. Pediatr Dermatol. 2005 May-Jun;22(3):192-9.

6. Lewis-Jones S. Quality of life and childhood atopic dermatitis: the misery of living with childhood eczema. Int J Clin Pract. 2006 Aug;60(8):984-92.

7. Cabanillas B, Novak N. Atopic dermatitis and filaggrin. Curr Opin Immunol. 2016 Oct;42:1-8.

8. Kono M, Nomura T, Ohguchi Y, Mizuno O, Suzuki S, Tsujiuchi H, et al. Comprehensive screening for a complete set of Japanese-population-specific filaggrin gene mutations. Allergy. 2014 Apr;69(4):537-40.

9. Kim BE, Leung DY. Epidermal barrier in atopic dermatitis. Allergy Asthma Immunol Res. 2012 Jan;4(1):12-6.

10. Huang IH, Chung WH, Wu PC, Chen CB. JAK-STAT signaling pathway in the pathogenesis of atopic dermatitis: An updated review. Front Immunol. 2022 Dec 8;13:1068260.

11. Smith SH, Jayawickreme C, Rickard DJ, Nicodeme E, Bui T, Simmons C, et al. Tapinarof is a natural AhR agonist that resolves skin inflammation in mice and humans. J Invest Dermatol. 2017 Oct; 137(10):2110-9.

12. Rothhammer V, Quintana FJ. The aryl hydrocarbon receptor: an environmental sensor integrating immune responses in health and disease. Nat Rev Immunol. 2019 Mar;19(3):184-97.

13. Furue M, Hashimoto-Hachiya A, Tsuji G. Aryl hydrocarbon receptor in atopic dermatitis and psoriasis. Int J Mol Sci. 2019 Oct 31; 20(21):5424.

14. Song A, Lee SE, Kim JH. Immunopathology and Immunotherapy of Inflammatory Skin Diseases. Immune Netw. 2022 Feb 14;22(1):e7.

15. Guttman-Yassky E, Krueger JG. Atopic dermatitis and psoriasis: two different immune diseases or one spectrum? Curr Opin Immunol. 2017 Oct;48:68-73.

16. Yang G, Seok JK, Kang HC, Cho YY, Lee HS, Lee JY. Skin Barrier Abnormalities and Immune Dysfunction in Atopic Dermatitis. Int J Mol Sci. 2020 Apr 20;21(8):2867.

17. Redfern WS, Carlsson L, Davis AS, Lynch WG, MacKenzie I, Palethorpe S, et al. Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development. Cardiovasc Res. 2003 Apr 1; 58(1):32-45.

18. Stella VJ. Cyclodextrins. Toxicol Pathol. 2008; 36:30-42.

19. Cappon GD, Hurtt ME. Developmental toxicity of the kidney. In: Kapp RW, Yyl L, editors. Reproductive Toxicology, Target Organ Series, 3rd edition. New York:Informa Healthcare, 2010; 193-204.

20. Frazier KS, Seely, JC. Urinary system. In: Sahota PS, Popp JA, Hardisty JF, Gopinath C, editors. Toxicologic Pathology: Nonclinical Safety Assessment. CRC Press, 2013; 421-84.

21. Zoetis T and Hurtt ME. Species comparison of anatomical and functional renal development. Birth Defects Res. (Part B). 2003; 68:111-20.

付表 1　タピナロフのすべての非臨床試験の概要表

表 2　タピナロフの薬理作用及び薬力学的作用を検討した試験の一覧表

試験の種類	動物種（系統）／ 試験系	投与方法	GLP	報告書番号/ CTD 番号
***In vitro* における AhR に対する作用**				
BioMAP 表現型アッセイシステムを用いたプロファイル解析	ヒト初代培養細胞アッセイ	*in vitro*	非適	20[redacted]N177130/ 4.2.1.1-1
AhR に対する結合作用	マウス及びヒト AhR-ARNT ヘテロ二量体	*in vitro*	非適	20[redacted]N258742/ 4.2.1.1-2
AhR 活性化に対する作用	ヒト末梢血単核細胞	*in vitro*	非適	JTE061-PH-001/ 4.2.1.1-3
***In vitro* におけるサイトカイン産生に対する作用**				
サイトカイン産生に対する作用	ヒト末梢血単核細胞	*in vitro*	非適	JTE061-PH-002/ 4.2.1.1-4
サイトカインの遺伝子発現に対する作用	ヒト皮膚	*in vitro*	非適	20[redacted]N233731_01/ 4.2.1.1-5
***In vitro* における抗酸化作用**				
抗酸化分子の遺伝子発現に対する作用	ヒト末梢血単核細胞	*in vitro*	非適	JTE061-PH-001/ 4.2.1.1-3
抗酸化関連遺伝子の発現に対する作用	ヒト表皮角化細胞	*in vitro*	非適	20[redacted]N229880_01/ 4.2.1.1-6
抗酸化遺伝子発現における Nrf2 及び AhR の寄与（メカニズム解析）	ヒト気管支上皮細胞	*in vitro*	非適	20[redacted]N231554_01/ 4.2.1.1-7
***In vitro* における皮膚バリア遺伝子の発現に対する作用**				
皮膚バリア関連遺伝子の発現に対する作用	ヒト初代角化細胞及び再構築ヒト表皮	*in vitro*	非適	20[redacted]N330920/ 4.2.1.1-8
***In vivo* における皮膚炎に対する作用**				
IL-23 誘発皮膚炎に対する作用（尋常性乾癬）	マウス（C57BL/6J）／皮膚炎	*in vivo*	非適	JTE061-PH-004/ 4.2.1.1-9
IMQ 誘発皮膚炎に対する作用（尋常性乾癬）	マウス（Balb/c）／皮膚炎	*in vivo*	非適	20[redacted]N230720_01/ 4.2.1.1-10

試験の種類	動物種（系統）／ 試験系	投与方法	GLP	報告書番号/ CTD 番号
IMQ 誘発皮膚炎に対する作用（尋常性乾癬，メカニズム解析）	マウス（AhR 欠損）／皮膚炎	*in vivo*	非適	20[redacted]N297549/ 4.2.1.1-11
DNFB 誘発皮膚炎に対する作用（AD）	マウス（Balb/c）／皮膚炎	*in vivo*	非適	JTE061-PH-003/ 4.2.1.1-12
副次的薬理試験				
スクリーニング及び化合物プロファイリング（SCP）パネルアッセイ	様々な受容体，トランスポーター，キナーゼ，酵素，イオンチャネルの活性，ヌクレオチド結合，蛋白質間相互作用，転写及び細胞毒性を測定する 127 種類のアッセイ	*in vitro*	非適	20[redacted]N176987/ 4.2.1.2-1
Enhanced X-screen Profiling（eXP）パネル試験	eXP	*in vitro*	非適	20[redacted]N176990/ 4.2.1.2-2
選択した標的及びパネル	LTA4 加水分解酵素，CB1 及び CB2 受容体，317 種類のキナーゼのパネル，22 種類の核内受容体のパネル，皮膚黒色素胞アッセイ	*in vitro*	非適	20[redacted]N177110/ 4.2.1.2-3
選択した標的及びパネル	AhR に対する各種アッセイ（アゴニスト作用，アンタゴニスト作用，リガンド競合性及び結合性），コシャペロン Hsp90 結合アッセイ，Th17 細胞を用いた IL-17 及び IL-22 産生アッセイ，末梢血単核細胞を用いた LTB4 アッセイ，17 種類の PDE パネル	*in vitro*	非適	20[redacted]N233675_01/ 4.2.1.2-4
細胞生存率	ヒト末梢血単核細胞，ヒト pan T 細胞， ヒト $CD4^+$ T 細胞，ヒト表皮角化細胞 ／生細胞数	*in vitro*	非適	JTE061-PH-002/ 4.2.1.1-4 20[redacted]N163776/ 4.2.1.2-5 20[redacted]N175756/ 4.2.1.2-6 20[redacted]N230011_01/ 4.2.1.2-7 20[redacted]N230308_01/ 4.2.1.2-8

Hsp90 = heat shock protein 90；LT = ロイコトリエン；PDE = ホスホジエステラーゼ

表 3　タピナロフの安全性薬理試験一覧

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	投与量又は投与濃度	投与期間	GLP	報告書番号/CTD 番号
安全性薬理試験：*in vitro*							
hERG	HEK293 細胞	NA	*in vitro*	100.0, 200.0, 660.0, 2000.0 ng/mL	NA	非適	20[redacted]N163780/4.2.1.3-1
hERG	HEK293 細胞	NA	*in vitro*	0.03, 0.09, 0.29, 0.88, 2.94, 8.83 μg/mL	NA	適	20[redacted]N170846/4.2.1.3-2
安全性薬理試験：*in vivo*							
中枢神経系	ラット（SD）	6M	皮下	1, 3, 10 mg/kg	単回	適	20[redacted]N163789/4.2.1.3-3
呼吸系	ラット（SD）	8M	皮下	1, 3, 10 mg/kg	単回	適	20[redacted]N163787/4.2.1.3-4
心血管系	モルモット（Dunkin Hartley）	4M/F	経皮	1%, 4%, 6%	単回[a]	非適	20[redacted]N163784/4.2.1.3-5
心血管系	ミニブタ（Göttingen）	4M	静脈内（ボーラス）	1, 3, 10 mg/kg	単回	適	20[redacted]N170119/4.2.1.3-6

a. 各濃度群を 6 時間連続モニタリング
F＝雌；GLP＝ 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準 ；HEK293 細胞＝ヒト胎児腎細胞 293；hERG＝ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子；NA＝該当せず；M＝雄；SD＝Sprague Dawley

表 4　タピナロフの ADME 及び薬物動態試験一覧

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	製剤処方	投与濃度又は投与量（mg/kg/day）	投与期間（検体採取時期）	GLP	報告書番号/ CTD 番号
吸収：*in vitro* 試験								
In vitro 皮膚透過性	*Ex vivo* ヒト皮膚	NA	経皮	C, E, F	0.5%	NA	非適	20[redacted]N242423/ 4.2.2.2-1
受動的膜透過性	MDCKII-MDR1 細胞	NA	NA	NA	NA	NA	非適	20[redacted]N294348/ 4.2.2.2-2
吸収：単回経皮投与試験								
In vivo 皮膚薬物動態（パイロット試験）	ラット（SD）	9M/9F	経皮	A	8% (480)	単回	非適	20[redacted]N163805/ 4.2.2.2-4 20[redacted]N163801/ 4.2.2.2-3
薬物動態	Göttingen ミニブタ	2M	経皮	E	1%	単回	非適	20[redacted]N239357/ 4.2.2.2-5
薬物動態	Göttingen ミニブタ	2M	経皮	E	1%	単回	非適	20[redacted]N239441/ 4.2.2.2-6
吸収：単回経口，静脈内及び皮下投与試験								
トキシコキネティクス及び忍容性	ラット（WH）	3M	経口 皮下	NA	10	単回	非適	20[redacted]N158999/ 4.2.3.1-1
薬物動態	Göttingen ミニブタ	3F	静脈内，経口	NA	25; 1, 10	単回	非適	20[redacted]N163550/ 4.2.2.2-8
薬物動態	Göttingen ミニブタ	2M（IV） 3M（PO，経皮）	静脈内，経口，経皮	E	1; 5, 10	単回	非適	20[redacted]N239356/ 4.2.2.2-9

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	製剤処方	投与濃度又は投与量（mg/kg/day）	投与期間（検体採取時期）	GLP	報告書番号/CTD 番号
吸収：反復経皮投与試験								
薬物動態	マウス（CD-1）	3M	経皮	F	0.5%, 1.5%, 3%	4 日間	非適	20[redacted]N350320/ 4.2.2.2-10
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	マウス（CD-1）	10M/10F 6-30M/6-30F[TK]	経皮	E	0%, 1%, 2%, 4% (0.2 mL/マウス)	14 日間	適	20[redacted]N184562/ 4.2.3.2-2
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	マウス（CD-1）	12M/12F 3-18M/ 3-18F[TK]	経皮	F	0%, 0.5%, 1%, 3% (0.2 mL/マウス)	13 週間	適	20[redacted]N241812/ 4.2.3.2-3
経皮投与によるがん原性	マウス（CD-1）	60M/60F 6-30M/6-30F[TK]	経皮	F	0%, 0.5%, 1.5%, 3%	100～102 週間；98 週間[a]	適	DMVT-505-9001/ 4.2.3.4.1-1
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	ラット（WH）	4M 3M[TK]	経皮	E	0%, 1%, 2%, 4% (0, 10, 20, 40)	7 日間	非適	20[redacted]N175734/ 4.2.3.2-5
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	ラット（SD）	10M/10F 8-16M/8-16F[TK]	経皮	A	0%, 1%, 4%, 8% (0, 60, 240, 480)	28 日間	非適	20[redacted]N163810/ 4.2.3.2-6
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	ラット（WH）	12M/12F 3-6M/3-6F[TK]	経皮	F	0%, 0.5%, 1%, 3% (0, 10, 30, 60)	13 週間	適	DMVT-505-9003/ 4.2.3.2-7
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	ウサギ（NZW）	4M/4F 2-4M/2-4F[TK]	経皮	A	0%, 1%, 3%, 4%, 6% (0, 80, 225, 320, 480)	28 日間	非適	20[redacted]N163815/ 4.2.3.2-10 20[redacted]N163809 / 4.2.2.2-17
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	Göttingen ミニブタ	1M/1F	経皮	D	0%, 1%, 2%, 4% (0, 20, 40, 80)	7 日間	非適	20[redacted]N163449/ 4.2.3.2-11
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	Göttingen ミニブタ	3M	経皮	E, F	0%, 2%	7 日間	非適	20[redacted]N204716/ 4.2.3.2-12 20[redacted]N239358 / 4.2.2.2-21
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	Göttingen ミニブタ	3M/3F 2M/2F[R]	経皮	B	0%, 1.5%, 3%, 6% (0, 23, 44, 87)	28 日間	適	20[redacted]N163816/ 4.2.3.2-13
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	Göttingen ミニブタ	3M/3F	経皮	D	0%, 1%, 2%, 4% (0, 17/9, 36/18, 74/37)	28 日間	非適	20[redacted]N167695/ 4.2.3.2-14

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	製剤処方	投与濃度又は投与量（mg/kg/day）	投与期間（検体採取時期）	GLP	報告書番号/ CTD 番号
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	Göttingen ミニブタ	3M/3F	経皮	F	0%, 0.5%, 1%, 3% (0, 10, 20, 60)	28 日間	適	20[redacted]N221246/ 4.2.3.2-15
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	Göttingen ミニブタ	5M/5F	経皮	C	0%, 1%, 2%, 4% (0, 18～24, 36～56, 72～94)	13 週間	非適	20[redacted]N163817/ 4.2.3.2-16
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	Göttingen ミニブタ	4M/4F	経皮	E	0%, 0.1%, 1%, 2%, 4% (0, 0.9, 9.7, 38.4, 76.2)	13 週間	適	20[redacted]N172520/ 4.2.3.2-17
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	Göttingen ミニブタ	4M/4F	経皮	F	0%, 0.5%, 1%, 3% (0, 10, 20, 60)	9 カ月	適	20[redacted]N299302/ 4.2.3.2-18
吸収：反復皮下投与試験								
薬物動態	ラット（WH）	6M	皮下	NA	1, 6, 20	4 日間	非適	20[redacted]N315793/ 4.2.2.2-28
反復投与毒性，DRF	ラット (Hsd:SD)	5M/5F 6M/6F^{TK}	皮下	NA	0, 200, 500, 1000	7 日間	非適	20[redacted]N163819/ 4.2.3.2-20
反復投与毒性，DRF	ラット（WH）	4M/4F 3M/3F^{TK}	皮下	NA	0, 3, 10, 30	7 日間	非適	20[redacted]N160460/ 4.2.3.2-19
媒体の検討	ラット（WH）	3M	皮下	NA	0, 30	7 日間	非適	20[redacted]N164986/ 4.2.3.2-21
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	ラット (Hsd:SD)	10M/10F 5M/5F^{R} 3-9M/3-9F^{TK}	皮下	NA	0, 3, 10, 40	13 週間	非適	20[redacted]N163820/ 4.2.3.2-23
反復投与毒性及びトキシコキネティクス	ラット（WH）	12M/12F 10M/10F^{R} 10M/10F^{TK}	皮下	NA	0, 1, 6, 30	26 週間	適	20[redacted]N254469/ 4.2.3.2-24
皮下投与によるがん原性	ラット（WH）	60M/60F 9M/ 9F^{TK}/6F[b]	皮下	NA	0, 0.1, 0.3, 1.0	60 週間；82～83 週間[a]	適	DMVT-505-9002/ 4.2.3.4.1-2
分布：*in vitro* 試験								
血漿蛋白結合率	ラット ミニブタ，ヒト	NA	*in vitro*	NA	20, 50, 100, 500, 1000 ng/mL	NA	非適	20[redacted]N176703/ 4.2.2.3-1
血漿蛋白結合率	マウス，ウサギ	NA	*in vitro*	NA	20, 50, 100, 500, 1000 ng/mL	NA	非適	20[redacted]N233123/ 4.2.2.3-2

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	製剤処方	投与濃度又は投与量（mg/kg/day）	投与期間（検体採取時期）	GLP	報告書番号/CTD 番号
血漿及び皮膚蛋白結合率	ミニブタ，ヒト	NA	*in vitro*	NA	300, 1500, 3000 ng/mL	NA	非適	20[redacted]N242613/4.2.2.3-3
分布：*in vivo* 試験								
QWBA	ラット（LH）	7M	皮下	NA	2	単回	適	20[redacted]N243602/4.2.2.3-4
代謝：*in vitro* 試験								
肝細胞を用いた代謝物プロファイルの検討	マウス，ラット，ウサギ，ミニブタ，ヒト	NA	*in vitro*	NA	10 µmol/L	NA	非適	20[redacted]N212859/4.2.2.4-1
肝細胞を用いた代謝物プロファイルの検討	マウス，ラット，ヒト	NA	*in vitro*	NA	0.1, 1, 10 µmol/L	NA	非適	20[redacted]N353927/4.2.2.4-2
肝細胞を用いた代謝物プロファイルの検討	ラット，ウサギ，ミニブタ，ヒト	NA	*in vitro*	NA	10 µmol/L	NA	非適	20[redacted]N163811/4.2.2.4-3
酸化的代謝に寄与する分子種の検討	ヒト	NA	*in vitro*	NA	5 µmol/L	NA	非適	20[redacted]N216849/4.2.2.4-4
グルクロン酸抱合に寄与する分子種の検討	ヒト	NA	*in vitro*	NA	1, 5 µmol/L	NA	非適	20[redacted]N311114/4.2.2.4-5
硫酸抱合に寄与する分子種の検討	ヒト	NA	*in vitro*	NA	1, 5 µmol/L	NA	非適	20[redacted]N324065/4.2.2.4-6
代謝：*in vivo* 試験								
代謝物組成分析	マウス（CD-1）	30M	皮下	NA	2	単回	非適	20[redacted]N375928/4.2.2.4-7
代謝物組成分析	ラット（WH）	20M	皮下	NA	2	単回	非適	20[redacted]N375949/4.2.2.4-8
代謝物組成分析	ヒト	NA	経皮	F	1%, 2%	単回又は21 日間	非適	20[redacted]N284870/5.3.3.2-1
排泄：*in vivo* 試験								
排泄	マウス（CD-1）	33M	皮下	NA	2	単回	適	20[redacted]N243607/4.2.2.5-1

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	製剤処方	投与濃度又は投与量（mg/kg/day）	投与期間（検体採取時期）	GLP	報告書番号/ CTD 番号
排泄	マウス（CD-1）	30M	皮下	NA	2	単回	非適	20[redacted]N389035/ 4.2.2.5-2
排泄	ラット（WH）	22M	皮下	NA	2	単回	適	20[redacted]N243603/ 4.2.2.5-3
排泄	ラット（WH）	21M	皮下	NA	2	単回	非適	20[redacted]N389055/ 4.2.2.5-4
排泄	Göttingen ミニブタ	3M	経皮	F	10	単回	非適	20[redacted]N389316/ 4.2.2.5-5
薬物動態学的薬物相互作用								
スクリーニング及び化合物プロファイリングアッセイ（SCP）	*In vitro* アッセイ（127 回）	NA	*in vitro*	NA	0.0007～40 µmol/L	NA	非適	20[redacted]N176987/ 4.2.1.2-1
薬物相互作用	ヒト肝細胞	NA	*in vitro*	NA	0.001～10 µmol/L	NA	非適	20[redacted]N228896/ 4.2.2.6-2
薬物相互作用	Göttingen ミニブタ	2M	経皮	E	10 mg/kg	単回	非適	20[redacted]N239440[c]/ 4.2.2.6-3
薬物相互作用	ヒト肝ミクロソーム	NA	*in vitro*	NA	0.1～100 nmol/L	NA	非適	DMVT-505-9004/ 4.2.2.6-4
薬物相互作用	膜小胞，Caco-2 細胞，MDCK 細胞，HEK293 細胞	NA	*in vitro*	NA	0.01 及び 0.1 µmol/L（阻害） 0.5 及び 5 µmol/L（基質）	NA	非適	DMVT-505-9005/ 4.2.2.6-5
その他の PK 試験								
異性体変換	*In vitro*，生体マトリックス，緩衝液	NA	NA	NA	NA	NA	非適	20[redacted]N361131/ 4.2.2.7-1
反復投与試験の生体試料分析	マウス血漿（プール）	NA	経皮	F	0.5%, 1.5%, 3%	28，182 日間	非適	20[redacted]N342907/ 4.2.2.7-2
	ラット血漿（プール）	NA	皮下	NA	0.1, 0.3, 1.0 mL/kg	28，182 日間	非適	

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	製剤処方	投与濃度又は投与量（mg/kg/day）	投与期間（検体採取時期）	GLP	報告書番号/CTD 番号

a. TK 評価用検体の最終採取時点は Week 26。
b. 群を追加し（10% Captisol®；基剤濃度減量），Day 28 に TK 評価時点を追加。
c. 本試験については集計データが入手できていないため，本モジュールで本試験については触れていない。
注：製剤処方 A～F について，表 1 に示した。
Caco-2＝ヒト結腸上皮細胞株；CD-1 [Crl:CD1®/(ICR)]；DRF＝用量設定；F＝雌；GLP＝医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；IV＝ 静脈内；LH＝Lister Hooded；M＝雄；MDCK＝Madin-Darby イヌ腎臓細胞株；MDCKII-MDR1＝ABCC1（ヒト多剤耐性蛋白 1）を安定的に発現させた Madin Darby イヌ腎臓細胞；NA＝該当せず；NZW＝New Zealand White [Crl:KBL(NZW)BR]；PO＝ 経口；QWBA＝定量的全身オートラジオグラフィー；R＝回復群の動物；SD＝Sprague Dawley［Crl:CD(SD)BR］，Hsd:SD＝Harlan Sprague Dawley［Hsd:Sprague Dawley SD］；TK＝トキシコキネティクス群の動物；WH＝ Wistar Han [Crl:WI(Han)]

表 5 タピナロフの毒性試験一覧

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	製剤処方	投与濃度又は投与量（mg/kg/day）	投与期間	GLP	報告書番号/CTD 番号
単回投与毒性試験								
単回投与毒性	ラット（WH）	3M	皮下，経口	NA	0, 10 mg/kg	単回	非適	20[redacted]N158999/4.2.3.1-1
単回投与毒性	ラット（SD）	6M/6F	経皮	A	8%（480 mg/kg）	単回	非適	20[redacted]N172052/4.2.3.1-2
単回投与毒性	ウサギ（NZW）	6M/6F	経皮	A	8%（640 mg/kg）	単回	非適	20[redacted]N163814/4.2.3.1-3
マウス反復経皮投与毒性試験								
反復投与毒性，DRF	マウス（CD-1）	4M 15M[TK]	経皮	E	0%, 1%, 2%, 4%（0.2 g/マウス）	7 日間	非適	20[redacted]N175645/4.2.3.2-1
反復投与毒性	マウス（CD-1）	10M/10F 6-30M/6-30F[TK]	経皮	E	0%, 1%, 2%, 4%（約 0, 60～80, 110～160, 220～330）	14 日間	適	20[redacted]N184562/4.2.3.2-2
反復投与毒性	マウス（CD-1）	12M/12F 3-18M/3-18F[TK]	経皮	F	0, 0.5, 1, 3%（0.2 mL/マウス）	13 週間	適	20[redacted]N241812/4.2.3.2-3
ラット反復経皮投与毒性試験								
反復投与毒性，DRF	ラット（SD）	4M/4F	経皮	A	0%, 1%, 4%, 8%（0, 60, 240, 480）	7 日間	非適	20[redacted]N172054/4.2.3.2-4
反復投与毒性	ラット（WH）	4M 3M[TK]	経皮	E	0%, 1%, 2%, 4%（0, 10, 20, 40）	7 日間	非適	20[redacted]N175734/4.2.3.2-5
反復投与毒性	ラット（SD）	10M/10F 8-16M/ 8-16F[TK]	経皮	A	0%, 1%, 4%, 8%（0, 60, 240, 480）	28 日間	非適	20[redacted]N163810/4.2.3.2-6
反復投与毒性	ラット（WH）	12M/12F 3-6M/3-6F[TK]	経皮	F	0%, 0.5%, 1.5%, 3%（0, 10, 30, 60）	13 週間	適	DMVT-505-9003/4.2.3.2-7

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	製剤処方	投与濃度又は投与量（mg/kg/day）	投与期間	GLP	報告書番号/CTD 番号
ウサギ反復経皮投与毒性試験								
反復投与毒性，DRF	ウサギ（NZW）	2M/2F	経皮	A	0, 80, 320, 640	7～14 日間	非適	20[redacted]N172055/4.2.3.2-8
反復投与毒性及び刺激性	ウサギ（DB）	3F	経皮	F	0%, 0.5%, 1%, 3%（2 g/kg）	7 日間	非適	20[redacted]N221820/4.2.3.2-9
反復投与毒性	ウサギ（NZW）	4M/4F 2-4M/2-4F^{TK}	経皮	A	0%, 1%, 3%, 4%, 6%（0, 80, 225, 320, 480）	28 日間	非適	20[redacted]N163815/4.2.3.2-10
ミニブタ反復経皮投与毒性試験								
反復投与毒性及び刺激性	Göttingen ミニブタ	1M/1F	経皮	D	0%, 1%, 2%, 4%（0, 20, 40, 80）	7 日間	非適	20[redacted]N163449/4.2.3.2-11
反復投与毒性及び刺激性	Göttingen ミニブタ	3M	経皮	E, F	0, 2%	7 日間	非適	20[redacted]N204716/4.2.3.2-12
反復投与毒性（14 日間休薬）	Göttingen ミニブタ	3M/3F 2M/2F^{R}	経皮	B	0%, 1.5%, 3%, 6%（0, 23, 44, 87）	28 日間	非適	20[redacted]N163816/4.2.3.2-13
反復投与毒性	Göttingen ミニブタ	3M/3F	経皮	D	0%, 1%, 2%, 4%（0, 17/9, 36/18,74/37）	28 日間	非適	20[redacted]N167695/4.2.3.2-14
反復投与毒性	Göttingen ミニブタ	3M/3F	経皮	F	0%, 0.5%, 1%, 3%（0, 10, 20, 60）	28 日間	適	20[redacted]N221246/4.2.3.2-15
反復投与毒性（4 週間休薬）	Göttingen ミニブタ	3M/3F 2M/2F^{R}	経皮	C	0%, 1%, 2%, 4%（0, 18～28, 36～56, 72～94）	13 週間	非適	20[redacted]N163817/4.2.3.2-16
反復投与毒性	Göttingen ミニブタ	4M/4F	経皮	E	0%, 0.1%, 1%, 2%, 4%（0, 0.9, 9.7, 38.4, 76.2）	13 週間	適	20[redacted]N172520/4.2.3.2-17

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	製剤処方	投与濃度又は投与量 (mg/kg/day)	投与期間	GLP	報告書番号/ CTD 番号
反復投与毒性（1 ヵ月間休薬）	Göttingen ミニブタ	4M/4F	経皮	F	0%, 0.5%, 1%, 3% (0, 10, 20, 60)	9 ヵ月	適	20[redacted]N299302/ 4.2.3.2-18
ラット反復皮下投与毒性試験								
反復投与毒性，DRF	ラット（WH）	4M/4F 3M/3F^{TK}	皮下	NA	0, 3, 10, 30	7 日間	非適	20[redacted]N160460/ 4.2.3.2-19
反復投与毒性，DRF	ラット (Hsd:SD)	5M/5F 6M/6F^{TK}	皮下	NA	0, 200, 500, 1000[a]	7 日間	非適	20[redacted]N163819/ 4.2.3.2-20
反復投与毒性及び媒体の検討	ラット（WH）	3M	皮下	NA	0, 30	7 日間	非適	20[redacted]N164986/ 4.2.3.2-21
反復投与毒性及び骨髄小核	ラット（WH）	10M/10F 3M/3F^{TK}	皮下	NA	0, 1, 6, 30	28 日間	適	20[redacted]N166805/ 4.2.3.2-22
反復投与毒性（4 週間休薬）	ラット (Hsd:SD)	10M/10F 5M/5F^{R} 3-9M/3-9F^{TK}	皮下	NA	0, 3, 10, 40	13 週間	非適	20[redacted]N163820/ 4.2.3.2-23
反復投与毒性（6 週間休薬）	ラット（WH）	12M/12F 10M/10F^{R} 6M/6F^{TK}	皮下	NA	0, 1, 6, 30	26 週間	適	20[redacted]N254469/ 4.2.3.2-24
***In vitro* 遺伝毒性試験**								
遺伝毒性：復帰突然変異試験	*S. typhimurium* *E. coli*	NA	*in vitro*	NA	0.76～ 190 μg/plate	NA	非適	20[redacted]N163822/ 4.2.3.3.1-1
遺伝毒性：復帰突然変異試験	*S. typhimurium* *E. coli*	NA	*in vitro*	NA	5～ 5000 μg/plate	NA	適	20[redacted]N170816/ 4.2.3.3.1-2
遺伝毒性：染色体異常試験	培養 CHO 細胞	NA	*in vitro*	NA	1.25～20 μg/mL	NA	非適	20[redacted]N163824/ 4.2.3.3.1-3
遺伝毒性：マウスリンフォーマ TK	L5178Y TK$^{+/-}$ 細胞	NA	*in vitro*	NA	5～100 μg/mL	NA	適	20[redacted]N173392/ 4.2.3.3.1-4
***In vivo* 遺伝毒性試験**								
遺伝毒性：小核	マウス [Crl:CD-1$^{®}$ (ICR)]	7M	腹腔内	NA	0, 7.8, 15.6, 31.3 mg/kg	単回	非適	20[redacted]N163826/ 4.2.3.3.2-1
反復投与毒性及び遺伝毒性：小核	ラット（WH）	5M	皮下	NA	0, 1, 6, 30	28 日間	適	20[redacted]N166805/ 4.2.3.3.2-2

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	製剤処方	投与濃度又は投与量（mg/kg/day）	投与期間	GLP	報告書番号/CTD 番号
がん原性試験								
経皮投与によるがん原性	マウス（CD-1）	60M/60F 30M/30F[TK]	経皮	F	0%, 0.5%, 1.5%, 3%	100～102 週間；98 週間[b]	適	DMVT-505-9001/ 4.2.3.4.1-1
皮下投与によるがん原性	ラット（WH）	60M/60F 9M/9F[TK]/6F[c]	皮下投与	NA	0, 0.1, 0.3, 1.0	60 週間；82～83 週間[b]	適	DMVT-505-9002/ 4.2.3.4.1-2
生殖発生毒性試験								
雌受胎能及び初期胚発生	ラット（WH）	22F	皮下	NA	0, 1, 6, 30	35 日間（妊娠 6 日まで）	適	20[redacted]N211242/ 4.2.3.5.1-1
胚・胎児発生	ラット（WH）	22F	皮下	NA	0, 1.2, 6.9, 34	妊娠 6～17 日	適	20[redacted]N166695/ 4.2.3.5.2-1
胚・胎児発生，DRF	ウサギ（NZW）	2-4F	皮下	NA	0, 2, 4, 10, 30	妊娠 7～19 日	非適	20[redacted]N178148/ 4.2.3.5.2-2
胚・胎児発生	ウサギ（NZW）	22F	皮下	NA	0, 0.3, 1, 3	妊娠 7～19 日	適	20[redacted]N189059/ 4.2.3.5.2-3
胚・胎児発生	ウサギ（NZW）	22F	皮下（持続投与）	NA	0, 1, 2, 3	妊娠 7～19 日	適	20[redacted]N244027/ 4.2.3.5.2-4
出生前及び出生後の発生	ラット（WH）	24-26F	皮下	NA	0, 1, 6, 30	妊娠 6 日～哺育 20 日	適	20[redacted]N368233/ 4.2.3.5.3-1
幼若動物毒性，DRF	ラット（WH）	16M/16F	皮下	NA	0, 0.7/1, 10/15, 20/30	生後 7～32 日	非適	20[redacted]N182130/ 4.2.3.5.4-1
幼若動物毒性	ラット（WH）	40M/60F	皮下	NA	0, 1/1.5, 10/15, 20/30	生後 7～77 日	適	20[redacted]N211697/ 4.2.3.5.4-2
幼若動物毒性（探索的試験）	ラット（WH）	30M/30F	皮下	NA	0, 20/30	生後 7～56 日	非適	20[redacted]N278677/ 4.2.3.5.4-3
局所刺激性試験								
局所刺激：溶血性	Göttingen ミニブタ血液	NA	*in vitro*	NA	1.39, 4.15 mg/mL	*in vitro*	非適	20[redacted]N162009/ 4.2.3.6-1

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	製剤処方	投与濃度又は投与量（mg/kg/day）	投与期間	GLP	報告書番号/CTD 番号
局所刺激：皮膚刺激性	再構築ヒト表皮 EpiDerm	NA	*in vitro*	A	0.5%	2，6，24 時間	非適	20[redacted]N178086/4.2.3.6-2
局所刺激：皮膚刺激性	再構築ヒト表皮 EpiDerm	NA	*in vitro*	A	0.5%, 1%, 2%	2，6，24 時間	非適	20[redacted]N235202/4.2.3.6-3
局所刺激：皮膚感作性試験（ビューラー法）	モルモット [Crl:HA(BR)]	4 or 20M	経皮	A	1%, 4%, 8%	0, 6, 13 及び 27 日	非適	20[redacted]N163830/4.2.3.6-4
局所刺激：急性皮膚刺激性	ウサギ (NZW)	3F	経皮	A	8%	単回	非適	20[redacted]N163832/4.2.3.6-5
局所刺激：局所リンパ節試験	マウス (CBA/CaCrl)	5F	経皮	D	1%, 2%, 4%	3 日間	適	20[redacted]N175961/4.2.3.6-6
局所刺激：光毒性	ヘアレスマウス (Crl:SKH1-hr)	6M	経皮	A	1%, 4%, 8%	単回	非適	20[redacted]N163834/4.2.3.6-7
局所刺激：単回眼刺激	ウサギ (NZW)	3F	眼	A	8%	単回	非適	20[redacted]N163833/4.2.3.6-8

a. 実薬の全用量で毒性所見が認められた。
b. TK 評価用検体の最終採取時点は Week 26。
c. 群を追加し（10% Captisol®；基剤濃度減量），Day 28 に TK 評価時点を追加。
注：処方 A～F の詳細は表 1 に示す。
GLP＝医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；M＝雄；F＝雌；DRF＝用量設定；TK＝トキシコキネティクス；R＝回復群；NA＝該当なし；WH＝ Wistar Han [Crl:WI(Han)] ；SD＝Sprague Dawley[Crl:CD(SD)BR 又は Hsd:Sprague Dawley SD]；NZW＝New Zealand White [Crl:KBL(NZW)BR]；DB＝Dutch Belted [Haz: (DB)]

付表 2　非臨床試験全体を通しての全身曝露量の比較評価

表 6　タピナロフ経皮投与後の平均全身曝露量の比較評価

動物種・試験種類	投与濃度及び投与量 (mg/kg/day)	性別	投与終了時		曝露量比（動物／ヒト）	
			C_{max} (ng/mL)	AUC (ng· hr/mL)	C_{max}	AUC
マウス 13 週間 処方 F	0.5% (28)	M	4.5	22.4	1.8	1.0
	0.5% (33)	F	11.1	34.5	4.5	1.5
	1.0% (56)	M	27.5	53.0	11	2.4
	1.0% (65)	F	20.5	92.8	8.4	4.1
	3.0% (164)	M	151	498	62	22
	3.0% (206) NOAEL	F	152	518	62	23
マウスがん原性 処方 F（Wk 26 の TK データ）	0.5% (22)	M	3.7	14.1	1.5	0.6
	0.5% (27)	F	31.9	117	13-	5.2
	1.5% (65)	M	31.6	96.5	13	4.3
	1.5% (74)	F	46.2	255	19	11
	3% (133)	M	66.4	259	27	12
	3% (160)	F	95.7	444	39	20
ラット・28 日間 反復 処方 A	1% (60)	M	49.8	194	20	8.6
		F	198	1122	81	50
	4% (240) NOAEL	M	182	1544	75	69
		F	241	2633	99	117
	8% (480)	M	152	2411	62	107
		F	98.4	1840	40	82
ラット・13 週間 反復 処方 F	0.5% (10)	M	0.3	3.7	0.1	0.2
		F	0.2	1.0	0.1	NM
	1.5% (30)	M	1.8	7.6	0.7	0.3
		F	0.5	3.7	0.2	0.2
	3% (60) NOAEL	M	1.5	11.3	0.6	0.5
		F	1.0	10.6	0.4	0.5
ウサギ 28 日間 処方 A	**1% (80) NOAEL**	M	34	422	14	19
		F	216	2118	89	94
	3% (225)	M	114	1898	47	84
		F	121	2026	50	90
	4% (320)	M	746	9728	306	432
		F	200	2366	82	105
	6% (480)	M	179	3930	73	175
		F	3499	22,043	1434	980

動物種・試験種類	投与濃度及び投与量 (mg/kg/day)	性別	投与終了時		曝露量比（動物／ヒト）	
			C_{max} (ng/mL)	AUC (ng· hr/mL)	C_{max}	AUC
ミニブタ 28 日間[a] 処方 B	1.5% (23)	M	1.1	11.0	0.5	0.5
		F	1.2	6.4	0.5	0.3
	3% (44)	M	3.8	33.6	1.6	1.5
		F	3.0	30.8	1.2	1.4
	6% (87) NOAEL	M	6.8	91.8	2.8	4.1
		F	3.8	75.6	1.6	3.4
ミニブタ 28 日間 処方 D（Day 14 の TK データ）	1% (17/9)	M	0.5	2.2	0.2	0.1
		F	0.3	4.0	0.1	0.2
	2% (36/18)	M	0.5	4.1	0.2	0.2
		F	1.5	9.5	0.6	0.4
	4% (74/37) NOAEL	M	1.4	11.5	0.6	0.5
		F	4.0	41.0	1.6	1.8
ミニブタ 28 日間 処方 F	0.5% (10)	M	NQ	NR	NC	NC
		F	NQ	NR	NC	NC
	1% (20)	M	NQ	NR	NC	NC
		F	0.4	NR	0.2	NC
	3% (60) NOAEL	M	0.8	NR	0.3	NC
		F	0.8	4.8	0.3	0.2
ミニブタ 13 週間 処方 C	1% (18-28)	M	0.8	12.7	0.3	0.6
		F	2.2	16.8	0.9	0.7
	2% (36-56)	M	2.1	22.8	0.9	1.0
		F	1.7	16.8	0.7	0.7
	4% (72～94) NOAEL	M	7.8	101	3.2	4.5
		F	6.5	96.8	2.7	4.3
ミニブタ 13 週間 処方 E	0.1% (0.9)	M	0.2	0.2	0.1	NM
		F	0.5	3.8	0.2	0.2
	1% (9.7)	M	0.3	2.03	0.1	0.1
		F	1.2	4.40	0.5	0.2
	2% (38.4)	M	2.87	17.9	1.2	0.8
		F	2.05	18.8	0.9	0.8
	4% (76.2) NOAEL	M	6.48	34.4	2.7	1.5
		F	7.79	37.7	3.2	1.7
ミニブタ・39 週間処方 F	0.5% (10)	M	0.1	0.4	NM	NM
		F	0.2	1.2	0.1	0.1
	1% (20)	M	0.2	1.7	0.1	0.1
		F	0.3	1.8	0.1	0.1
	3% (60) NOAEL	M	0.5	4.7	0.2	0.2
		F	1.0	5.6	0.4	0.2
ヒト[b] （平均値）	1%	NA	2.44	22.5	NC	

注：影付きの試験は，JT がタピナロフの非臨床安全性の詳細評価の際に主要な試験とみなした毒性試験を示す。

a. 基剤対照群の血漿検体で最高血漿中濃度の一部が認められた。その原因として，基剤対照群の検体へのコンタミネーションが *ex vivo* で生じた可能性がある。

b. タピナロフクリーム 1%を BSA の平均 43%（SD 15%）に 1 日 1 回 28 日間塗布；DMVT-505-2104 試験の平均値（C_{max}：2.44 ng/mL，AUC_{0-24}：22.5 ng· h/mL*）と比較，*：当該試験で得られた AUC_{0-5} 値（4.69 ng· h/mL）を基に 1 時間当たりの曝露量を計算し，これに 24 を乗じた（4.69 / 5 (hr) x 24 (hr) = 22.5）

C_{max} = 最高血漿中濃度；AUC = 濃度－時間曲線下面積；BSA = 体表面積；M = 雄；F = 雌；NOAEL = 無毒性量；NC = 算出せず；NM = マージンなし（比 0.1 未満）；NR = パラメータ算出のためのデータ不足のため報告せず；NQ = 未検出（タピナロフの各血漿検体中の濃度は 0.1～0.3 ng/mL 未満）；Wk = Week

表 7　タピナロフ皮下投与後の平均全身曝露量の比較評価

動物種・試験種類	投与量 (mg/kg/day)	性別	投与終了時		曝露量比（動物／ヒト）	
			C_{max} (ng/mL)	AUC (ng· hr/mL)	C_{max}	AUC
ラット・28 日間	1	M	27.5	54.4	11	2.4
		F	24.4	48.0	10	2.1
	6	M	278	543	114	24
		F	132	358	54	16
	30 NOAEL	M	1100	3060	452	136
		F	673	2140	276	95
ラット 13 週間	**3 NOAEL**[a]	M	30.6	104	13	4.6
		F	32.7	94.4	13	4.2
	10	M	71.4	335	29	15
		F	83.6	300	34	13
	40	M	296	2453	121	109
		F	264	2209	108	98
ラット 26 週間	1	M	37.2	66.0	15	2.9
		F	38.0	60.0	16	2.7
	6	M	389	677	159	30
		F	229	401	94	18
	30 NOAEL	M	1270	3830	520	170
		F	1510	2730	619	121
ラットがん原性（Wk 26 の TK データ）	0.1	M	3.1	4.4	1.3	0.2
		F	3.2	3.9	1.3	0.2
	0.3	M	9.6	21.0	3.9	0.9
		F	11.5	18.9	4.7	0.8
	1	M	37.7	73.1	15	3.2
		F	39.7	63.9	16	2.8
ヒト（平均値）[b]	1%	NA	2.44	22.5	NC	

注：影付きの試験は，JT がタピナロフの非臨床安全性の詳細評価の際に主要な試験とみなした毒性試験を示す。

a. タピナロフ投与に関連する全身毒性が認められなかったため NOAEL と判断。

b. タピナロフクリーム 1%を BSA の平均 43%（SD 15%）に 1 日 1 回 28 日間塗布；DMVT-505-2104 試験の平均値（C_{max}：2.44 ng/mL，AUC_{0-24}：22.5 ng· h/mL*）と比較，*：当該試験で得られた AUC_{0-5} 値（4.69 ng· h/mL）を基に 1 時間当たりの曝露量を計算し，これに 24 を乗じた（4.69 / 5 (hr) x 24 (hr) = 22.5）

C_{max} = 最高血漿中濃度；AUC = 濃度－時間曲線下面積；BSA =体表面積；M = 雄；F = 雌；NOAEL = 無毒性量；TK = トキシコキネティクス；NA = 該当なし；NC = 算出せず；Wk = Week

表 8　ラット及びウサギ生殖発生並びに幼若動物毒性試験におけるタピナロフ皮下投与後の平均全身曝露量の比較評価

動物種・試験種類	投与量 (mg/kg/day)	性別	投与終了時		曝露量比 (動物／ヒト)	
			C_{max} (ng/mL)	AUC (ng· hr/mL)	C_{max}	AUC
ラット胚･胎児発生 [a]	1.2	F	29	58	12	2.6
	6.9 NOAEL	F	152	412	62	18
	34	F	763	2425	313	108
ウサギ胚･胎児発生用量設定	2	F	151	403	62	18
	4 NOAEL	F	477	1080	195	48
	10	F	1780	3970	730	176
	30	F	5840	15,000	2393	667
ウサギ胚･胎児発生 [b, c]	0.3	F	5.65	16.5	2.3	0.7
	1.0 NOAEL	F	122	128	50	5.7
	3.0	F	56.8	239	23	11
ウサギ胚･胎児発生 [d]	1.0	F	1.1[h]	26.2	0.5	1.2
	2.0	F	2.6[h]	63.8	1.1	2.8
	3.0 NOAEL	F	6.6[h]	159	2.7	7.1
ラット出生前-及び出生後-の発生	**1.0 NOAEL（F1 動物）**	M, F	NR	NA	NA	NA
	6.0	M, F	0.3～0.5	NA	NA	NA
	30	M, F	0.3～1.0	NA	NA	NA
幼若ラット用量設定 [e]	0.7/1	M F	16.5 13.1	NR NR	6.8 5.4	NA NA
	10/15	M F	251 304	NR 488	103 125	NA 22
	20/30	M F	613 557	988 939	251 228	44 42
幼若ラット [f]	**1/1.5 NOAEL**	M F	79.5 66.7	89.3 83.5	33 27	4.0 3.7
	10/15	M F	777 680	1340 1300	318 279	60 58
	20/30	M F	1860 1540	3610 2850	762 631	160 127
ヒト（平均値）[g]	1%	NA	2.44	22.5	NC	

a. ラット 28 日間皮下投与毒性試験の値より算出
b. 交尾後の投与開始から 5 日後の値
c. 約 6 時間でそれぞれ 0.15，0.5 及び 1.5 mg/kg を 1 日 2 回投与した（0.3，1.0 及び 3.0 mg/kg/day）。
d. 1，2 及び 3 mg/kg/day を 0.25 mL/kg/時の速度で 24 時間皮下注入した。
e. 結果は複合的な結果である（n＝2/時点/群）。投与は生後 7 日に開始し，生後 22 日から用量を増量した。
f. 複合的な TK パラメータを生後 13 日（Day 1 の値）の平均血漿中濃度から算出した。経時的な TK パラメータを算出し，生後 77 日目（試験終了時の値）の平均血漿中濃度を提示した。
g. タピナロフクリーム 1%を BSA の平均 43%（SD 15%）に 1 日 1 回 28 日間塗布；DMVT-505-2104 試験の平均値（C_{max}：2.44 ng/mL，$AUC_{0\text{-}24}$：22.5 ng· h/mL*）と比較，*：当該試験で得られた $AUC_{0\text{-}5}$ 値（4.69 ng· h/mL）を基に 1 時間当たりの曝露量を計算し，これに 24 を乗じた（4.69 / 5 (hr) x 24 (hr) = 22.5）
h. 24 時間皮下注入中の平均血漿中濃度
注：影付きの試験は，JT がタピナロフの非臨床安全性の詳細評価の際に主要な試験とみなした毒性試験を示す。
C_{max}＝最高血漿中濃度；AUC＝濃度－時間曲線下面積；BSA＝体表面積；M＝雄；F＝雌；NOAEL＝無毒性量；TK＝トキシコキネティクス；NC＝算出せず； NA＝該当なし；NR＝パラメータ算出のためのデータ不足のため報告せず