タピナロフ

第 2 部 CTD の概要（サマリー）
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.6 毒性試験の概要文

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

2.6.6 毒性試験の概要文 7

2.6.6.1 まとめ 7
2.6.6.2 単回投与試験 11
2.6.6.2.1 ラットの単回投与忍容性試験 13
2.6.6.2.2 ウサギの単回投与忍容性試験 14
2.6.6.3 反復投与試験（補助的な TK 評価を含む） 15
2.6.6.3.1 経皮投与 22
2.6.6.3.2 皮下投与 44
2.6.6.4 遺伝毒性試験 56
2.6.6.4.1 *In Vitro* 遺伝毒性試験 59
2.6.6.4.2 *In Vivo* 遺伝毒性試験 61
2.6.6.5 がん原性試験（補助的なトキシコキネティクス評価を含む） 63
2.6.6.5.1 経皮投与によるがん原性 65
2.6.6.5.2 皮下投与によるがん原性 67
2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 68
2.6.6.6.1 受胎能及び初期胚発生に関する影響 71
2.6.6.6.2 胚・胎児発生への影響 72
2.6.6.6.3 出生前及び出生後発生への影響 75
2.6.6.6.4 幼若動物を用いた試験 79
2.6.6.7 局所刺激性試験 83
2.6.6.7.1 *In Vitro* 局所刺激性試験 86
2.6.6.7.2 *In Vivo* 局所刺激性試験 87
2.6.6.8 その他の毒性試験 91
2.6.6.8.1 抗原性試験 91
2.6.6.8.2 免疫毒性試験 91
2.6.6.8.3 毒性発現の機序に関する試験 91
2.6.6.8.4 依存性試験 91
2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験 91
2.6.6.8.6 不純物の毒性試験 91
2.6.6.9 考察及び結論 91
2.6.6.9.1 非臨床安全性評価 91
2.6.6.9.2 動物／ヒトの曝露量比 98
2.6.6.9.3 結論 98
2.6.6.10 図表 106
2.6.6.11 参考文献 106

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....9
表 2 タピナロフの単回投与毒性試験一覧....12
表 3 単回投与毒性試験に使用したタピナロフのバッチ番号及び製剤処方....12
表 4 タピナロフの反復投与毒性試験一覧....16
表 5 反復投与毒性試験に使用したタピナロフのバッチ番号及び製剤処方....19
表 6 タピナロフの遺伝毒性試験一覧....57
表 7 遺伝毒性試験に使用したタピナロフのバッチ番号及び製剤処方....58
表 8 タピナロフのがん原性試験一覧....64
表 9 がん原性試験に使用したタピナロフのバッチ番号及び製剤処方....64
表 10 タピナロフの生殖発生毒性試験一覧....69
表 11 生殖発生毒性試験に用いたタピナロフのバッチ番号及び製剤処方....70
表 12 タピナロフの局所刺激性試験一覧....84
表 13 局所刺激性試験に使用したタピナロフのバッチ番号及び製剤処方....85
表 14 タピナロフ経皮投与後の曝露量の比較評価....100
表 15 タピナロフ皮下投与後の曝露量の比較評価....102
表 16 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曝露量の比較評価....103
表 17 ラット，ウサギ及びミニブタにおけるタピナロフ経皮投与後の主要毒性所見....104
表 18 ラットにおけるタピナロフ皮下投与後の主要毒性所見....105

略号及び用語の定義一覧

略号及び用語	定義
8-MOP	8-Methoxypsoralen，8-メトキシソラレン
AD	Atopic dermatitis，アトピー性皮膚炎
AGR	Albumin to globulin ratio，アルブミン／グロブリン比
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
ANOVA	Analysis of variance，分散分析
API	Active pharmaceutical ingredient，有効成分
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
BID	Twice daily，1 日 2 回
BSA	Body surface area，体表面積
C_{ave}	Average observed plasma concentration，平均血漿中濃度
CD4	Cluster of differentiation 4，分化抗原群 4
CD8	Cluster of differentiation 8，分化抗原群 8
cGMP	Current Good Manufacturing Practices，現行の医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準
C_{max}	Maximum observed plasma concentration，最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450，チトクローム P450
DB	Dutch-Belted
DMSO	Dimethyl sulfoxide，ジメチルスルホキシド
DRF	Dose-range finding，用量設定
ECG	Electrocardiogram，心電図
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid，エチレンジアミン四酢酸
ET-50	Exposure time needed to decrease viability by 50%，細胞生存率が 50%まで低下するのに必要な曝露時間
FLIM	Fluorescence-lifetime imaging microscopy，蛍光寿命イメージング顕微鏡
GD	Gestation day，妊娠日
GDH	Glutamate dehydrogenase，グルタミン酸デヒドロゲナーゼ
GHS	Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals，化学品の分類および表示に関する世界調和システム
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
Hb	Hemoglobin，ヘモグロビン
Hct	Hematocrit，ヘマトクリット
hERG	Human ether-à-go-go related gene，ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
IC_{50}	Inhibitory concentration; concentration causing half-maximal determined *in vitro*，阻害濃度；*in vitro* 試験で最大作用の 50%を示す濃度
IgG	Immunoglobulin G，免疫グロブリン G
IgM	Immunoglobulin M，免疫グロブリン M
KLH	Keyhole limpet hemocyanin，キーホールリンペットヘモシアニン
LD	Lactation day，授乳日

略号及び用語	定義
MALDI	Matrix-assisted laser desorption/ionization，マトリックス支援レーザー脱離イオン化法
MCT	Medium chain triglycerides，中鎖脂肪酸トリグリセリド
MCV	Mean corpuscular volume，平均赤血球容積
MF	Mutant frequency，突然変異頻度
MPCE	Micronucleated polychromatic erythrocyte，小核を有する多染性赤血球
MTD	Maximum tolerated dose，最大耐用量
MTT	(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide，3-（4,5-ジメチルチアゾール-2-イル）-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロミド
NCE	Novel chemical entity，新規化合物
NDA	New drug application，新薬承認申請書
NGAL	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin，好中球ゼラチナーゼ結合性リポカリン
NK	Natural killer，ナチュラルキラー
NOAEL	No observed adverse effect level，無毒性量
NOEL	No observed effect level，無影響量
Nrf2	Nuclear factor erythroid 2-related factor 2
NZW	New Zealand White
OD	Optical density，吸光度
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development，経済協力開発機構
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell，末梢血単核球細胞
PC	Post-coitus，交尾後
PCE	Polychromatic erythrocyte，多染性赤血球
PEG	Polyethylene glycol，ポリエチレングリコール
PES	Polyethersulfone，ポリエーテルスルホン
PMA	Phorbol 12-myristate 13-acetate，ホルボール 12-ミリステート 13-アセテート
PND	Post-natal day，出生後の日数
PXR	Pregnane X receptor，プレグナン X 受容体
QTc	Corrected QT interval，補正 QT 間隔
RBC	Red blood cell，赤血球
RHE	Reconstituted human epidermis，再構築ヒト表皮
RTG	Relative total growth，相対増殖率
S9-mix	Rat liver homogenate S9 fraction and coenzymes，ラット肝臓ホモジネート S9 画分及び補酵素
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
Th	Helper T，ヘルパーT
TK	Toxicokinetic，トキシコキネティクス
TLC	Thin layer chromatography，薄層クロマトグラフィー
t_{max}	Time to the maximum observed plasma concentration，最高血漿中濃度到達時間
T_{reg}	Regulatory T，制御性 T

略号及び用語	定義
TTC	Threshold of toxicological concern，毒性学的懸念の閾値
USP	United States Pharmacopeia，米国薬局方
UVB	Ultraviolet B，紫外線 B 波
UVR	Ultraviolet radiation，紫外線照射
WBC	White blood cell，白血球

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

タピナロフ（JTE-061 又は DMVT-505，旧名：GSK2894512A，GSK2894512，STI-1001 又は WBI-1001）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り，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，尋常性乾癬及びアトピー性皮膚炎（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 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，非臨床試験では最高 8%，治験では最高 2%の濃度が評価されている。

タピナロフは芳香族炭化水素受容体(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となった。タピナロフは AhR の活性化を介して，炎症性サイトカインの産生を抑制させる。また，タピナロフは，nuclear factor erythroid 2-related factor 2（Nrf2）経路の活性化作用も持ち，抗酸化遺伝子の発現を促進させ，細胞の酸化ストレスを減少させうる。さらに，皮膚バリア機能に関連する蛋白質の発現を調節する。タピナロフは AhR を標的とすることで，既存薬とは異なる作用機序を有しており，尋常性乾癬及び AD の新規治療薬となることが期待される。

タピナロフに関する一連の安全性薬理試験も完了しており，それらの試験については 2.6.2 項に示す。

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 週間の単回及び反復経皮投与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。主要な反復経皮投与毒性試験（マウス 13 週間試験，ミニブタ 28 日間及び 39 週間試験）は市販予定製剤であるタピナロフクリーム（処方 F）を用いて実施した。高い全身曝露条件下における毒性を評価する目的で，タピナロフ溶液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。

タピナロフの生殖毒性に対する影響（受胎能，胚・胎児発生，出生前及び出生後の発生等）をラット又はウサギの皮下投与により検討した。タピナロフのラットの皮下投与による幼若動物毒性試験として，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実施した。幼若動物試験では，生後 7 日から生後 32，56 又は 77 日までタピナロフを皮下投与した。

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。さらに，タピナロフのがん原性を，マウス経皮投与（処方 F）及びラット皮下投与（媒体：Captisol®）によるがん原性試験で評価した。

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，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，最高 8%の濃度で，マウス，モルモット又はウサギを用いて初期のタピナロフ経皮投与製剤（処方 A 又は D）を使用して実施した。

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への外挿性に有用となる背景病理データ及び様々な医薬品に対する反応に関する膨大なデータが利用可能であることを

考慮して選択した。主要な試験はいずれもGLP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。

GSK/Stiefel社又はDermavant社が実施又は委託した主要な非臨床毒性試験で使用したタピナロフの不純物プロファイルは，臨床で使用予定のタピナロフの不純物プロファイルを代表するものであった［2.3.S.4.4項参照］。Welichem社が実施又は委託した試験に関しては，試験で用いられたバッチの分析方法は，Welichem社及び／又はその委託先によって開発／バリデートされたものであり，以降の試験で使用した分析方法とは異なる。そのため，それらのバッチの不純物プロファイルと，後期非臨床試験又は臨床試験で使用したバッチの不純物プロファイルの比較は実施していない。

非臨床試験では，動物種及び投与経路（経皮又は皮下）ごとに無毒性量（NOAEL）を決定した。経皮及び皮下投与毒性試験で得られたタピナロフの動物でのNOAELにおける全身曝露［血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）］は，臨床試験でAD患者に対する予定臨床用量（タピナロフクリーム1%，1日1回）を投与したときのヒトでの平均$AUC_{0\text{-}24}$値（22.5 ng·hr/mL）に対する比が，それぞれマウスで最大23倍，ミニブタで最大4倍（経皮投与試験，雌雄平均値），ラットで最大146倍（皮下投与試験，雌雄平均値）であった。ヒトでの平均C_{max}（2.44 ng/mL）に対する動物での全身曝露（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570倍（雌雄平均，皮下投与）であった。適切な曝露量比が確保されていること，また，動物及びヒトに局所投与したときの全般的な安全性プロファイルが良好であることから，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を支持するものである。

毒性試験で使用した経皮製剤

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，現行の臨床試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。各経皮投与毒性試験で使用したタピナロフクリーム剤は，次項以降の試験の概要に明示する。使用したクリーム剤の成分を表1に示す。

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

タピナロフクリーム					
A	B	C	D	E	F
試験の種類（報告書番号）					
単回投与毒性 (20[redacted]N172052, 20[redacted]N163814) 反復投与毒性，DRF (20[redacted]N172054, 20[redacted]N172055) 反復投与毒性 (20[redacted]N163810, 20[redacted]N163815) 局所刺激 (20[redacted]N178086, 20[redacted]N235202, 20[redacted]N163830, 20[redacted]N163832, 20[redacted]N163834, 20[redacted]N163833)	反復投与毒性 (20[redacted]N163816)	反復投与毒性 (20[redacted]N163817)	反復投与毒性 (20[redacted]N163449, 20[redacted]N167695) 局所刺激 (20[redacted]N175961)	反復投与毒性 (20[redacted]N175734, 20[redacted]N175645, 20[redacted]N184562, 20[redacted]N204716, 20[redacted]N172520)	反復投与毒性 (20[redacted]N241812, 20[redacted]N221820, 20[redacted]N204716, 20[redacted]N221246, 20[redacted]N299302, DMVT-505-9001, DMVT-505-9003)

DRF＝用量設定
＊　「乳化ロウ」表記は「[redacted]」を指す

2.6.6.2 単回投与試験

タピナロフの単回投与時の毒性について検討するため，経皮，経口及び皮下投与による試験を実施した。実施した試験一覧を，モジュール 4 内の収載箇所及び GLP 適合性とともに，表 2 に示す。単回投与毒性試験に使用したタピナロフのバッチの一覧表を，製剤処方の情報とともに，表 3 に示す。

これらの試験での TK の結果は 2.6.4 項に示す。

表 2　タピナロフの単回投与毒性試験一覧

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	投与量又は投与濃度	投与期間	GLP	試験施設	報告書番号	CTD 番号
単回投与毒性	ラット（WH）	3M	経口，皮下	N/A	0, 10 mg/kg	単回	非適	GSK	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	[redacted]	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	[redacted]	20[redacted]N163814	4.2.3.1-3

試験施設：GSK = GlaxoSmithKline；[redacted] = [redacted]，Welichem 社が委託
M = 雄；F = 雌；NA = 該当なし；WH = Wistar Han [Crl:WI(Han)]；SD = Sprague Dawley［Crl:CD(SD)］；NZW = New Zealand White [Crl:KBL(NZW)BR]

表 3　単回投与毒性試験に使用したタピナロフのバッチ番号及び製剤処方

バッチ又はロット番号	試験の種類	動物種（系統）	投与期間	報告書番号（試験番号）	投与濃度	製剤処方
[redacted]*	単回投与毒性	ラット（WH）	単回	20[redacted]N158999	3.3 mg/mL	溶液
[redacted]**	単回投与毒性	ラット（SD）	単回	20[redacted]N172052	8%	クリーム剤（処方 A）
	単回投与毒性	ウサギ（NZW）	単回	20[redacted]N163814	8%	クリーム剤（処方 A）
[redacted]**	単回投与毒性	ラット（SD）	単回	20[redacted]N172052	8%	クリーム剤（処方 A）
	単回投与毒性	ウサギ（NZW）	単回	20[redacted]N163814	8%	クリーム剤（処方 A）

* 非臨床用バッチ及び予定臨床用バッチの合成経路は同じ。
** これらのバッチの合成経路は，3.2.S.2.2 項の図 1 に示した合成経路とは一致しない。これらのバッチの合成経路を今後の非臨床又は臨床バッチの合成に使用する予定はない。
WH = Wistar Han [Crl:WI(Han)]；SD = Sprague Dawley [Crl:CD(SD)]；NZW = New Zealand White [Crl:KBL(NZW)BR]

2.6.6.2.1 ラットの単回投与忍容性試験

タピナロフを経皮，皮下又は経口の投与経路でラットに単回投与したときの忍容性を評価する試験を実施した。方法及び結果を以降の項に詳述する。

2.6.6.2.1.1 ラットの急性経皮投与毒性試験（14 日間観察）［報告書番号 20[redacted]N172052］

（参考資料：CTD4.2.3.1-2）

雌雄各 6 匹の Sprague Dawley［Crl:CD(SD)］ラットを用いて限度試験を実施した（健常皮膚群と損傷皮膚群に雌雄各 3 匹）。被験物質であるタピナロフクリーム 8%（処方 A）を 6 mL/kg の容量で経皮投与した（投与量は 480 mg/kg）。タピナロフの用量は，体重に基づいて個体別に算出した。算出された用量分のタピナロフクリームを動物の皮膚に置き，手袋を装着した指で，指定した塗布部位に均一に塗布した。その後，長さ約 15 cm，両端の直径約 7 cm のゴムスリーブでラットの胴体を覆い，両端を粘着テープで固定した。動物をタピナロフクリームに 24 時間曝露した。投与期間の終了時，ゴムスリーブを外し，注射用滅菌水で皮膚を洗い流して洗浄した。

投与後 72 時間は詳細に観察し，以降は 14 日間の観察期間中，全身状態悪化の徴候及び局所皮膚反応の有無について，毎日 1 日 2 回観察した。

観察期間中，全身毒性の徴候は認められず，いずれの動物も投与後 14 日目まで体重が増加した。しかし，軽度の皮膚刺激性（かろうじて識別できる発赤）が 3/12 例（雄 2 例及び雌 1 例）で認められた。皮膚刺激性が認められたのは一過性であり，これら 3 例の曝露部位の皮膚は曝露後 2 日目までに正常に回復した。

臨床検査（血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査）を行うため，剖検前に全動物から血液及び尿を採取した。投与の影響と考えられる，又は臨床的／毒性学的意義があると判断される臨床検査値の変化は認められなかった。観察期間終了時に供試動物を安楽殺し剖検した。肉眼的異常所見は認められなかった。

上記の結果から，タピナロフクリーム 8%（処方 A）を Sprague Dawley ラットの皮膚に 6 mL/kg の容量（有効成分 480 mg/kg に相当）で 24 時間塗布したとき，軽度で一過性の皮膚刺激が認められたが，一般状態観察，臨床検査及び剖検において，全身毒性の徴候は認められなかった。したがって，本試験条件下において，タピナロフクリーム 8%は急性経皮曝露により毒性を示さないと判断された。また，損傷皮膚と健常皮膚での評価結果に明らかな差はみられなかった。

2.6.6.2.1.2 ラットを用いた単回経口及び皮下投与トキシコキネティクス及び忍容性試験［報告書番号 20[redacted]N158999］

（参考資料：CTD4.2.3.1-1）

本試験では，タピナロフをラット単回投与時の忍容性及び TK を検討することを目的として，5 種類の異なる媒体を用いて，タピナロフを Wistar Han［Crl:WI(Han)］ラットに単回経口あるいは単回皮下投与し，一般状態を観察するとともに，投与日に採取した試料を用いて TK を評価した。

タピナロフは，0.5%ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）/0.1% Tween™ 80 を媒体とした懸濁液，又はその他 4 種類の媒体を用いた溶液として，ラットに 10 mL/kg（経口）又は 2.5 mL/kg（皮下）の容量で投与した。タピナロフを 0（媒体）又は 10 mg/kg の用量で雄性ラット（各群 3 匹）

に単回投与した。

0.5% HPMC/0.1% Tween 80 を用いた処方で 10 mg/kg を経口投与したとき，タピナロフの濃度は大部分の血漿試料で定量下限未満であった(0.5 ng/mL 未満)。30% ポリエチレングリコール(PEG) 400 を用いた処方で 10 mg/kg を経口投与したとき，血漿中濃度は投与後 2 時間又は 8 時間まで定量可能であった。30% スルホブチルエーテル 7-β-シクロデキストリン（Captisol®）を用いた処方で 10 mg/kg を経口投与したとき，あるいは 10 mg/kg の用量で 2 種類の媒体のいずれかを使用して皮下投与したとき，血漿中濃度は投与後 8 時間又は 24 時間まで定量可能であった。

結論として，5 種類の媒体を用いて調製したタピナロフを 0（媒体）又は 10 mg/kg の用量で雄性ラット（各群 3 匹）に単回経口及び皮下投与したところ，使用した処方に関係なく，全身曝露量は，経口投与時に比べて皮下投与時で顕著に高値（約 40～95 倍）であった。いずれの処方においても忍容性は良好であった。

2.6.6.2.2 ウサギの単回投与忍容性試験

ウサギにタピナロフを単回経皮投与したときの忍容性を評価する試験を実施した。方法及び結果を以降の項に詳述する。

2.6.6.2.2.1 ウサギの急性経皮投与毒性試験（14 日間観察）［報告書番号 20[redacted]N163814］

（参考資料：CTD4.2.3.1-3）

雌雄各 6 匹の New Zealand White［Crl:KBL(NZW)BR］ウサギを用いて限度試験を実施した（健常皮膚群と損傷皮膚群に各 3 匹）。タピナロフクリーム 8%（処方 A）を 8 mL/kg の容量で経皮投与した（投与量は 640 mg/kg）。タピナロフの用量は，体重に基づいて個体別に算出した。算出された用量分のタピナロフクリームを動物の皮膚に置き，手袋を装着した指で，指定した塗布部位に均一に塗布した。その後，長さ約 30 cm，両端の直径約 15 cm のゴムスリーブでウサギの胴体を覆い，両端を粘着テープで固定した。タピナロフクリームに動物を 24 時間曝露した。投与期間の終了時，ゴムスリーブを外し，注射用滅菌水で皮膚を洗い流して洗浄した。

投与後 72 時間は動物を詳細に観察し，以降は 14 日間の観察期間中，全身状態悪化の兆候及び局所皮膚反応の有無について，毎日 1 日 2 回観察した。観察期間中，全身毒性の徴候を示した動物はおらず，いずれの動物も投与後 7 日及び 14 日まで体重が増加した。しかし，投与部位に軽度の皮膚刺激性（かろうじて識別できる発赤）が 8/12 例（雌雄各 4 例）で認められた。皮膚刺激性が認められたのは一過性であり，これら 8 例の皮膚は投与後 3 日までに正常に回復した。

臨床検査（血液学的検査及び血液生化学的検査）を行うため，剖検前に全動物から血液を採取した。投与の影響と考えられる臨床検査値の変化や臨床的／毒性学的に意義のある臨床検査値の変化は認められなかった。観察期間終了時に供試動物を安楽殺して剖検した。肉眼的異常所見は認められなかった。

以上の結果から，New Zealand White ウサギの皮膚にタピナロフクリーム 8%を 8 mL/kg の容量（640 mg/kg に相当）で 24 時間塗布したとき，タピナロフクリームは軽度かつ一過性の皮膚刺激を誘発したが，一般状態観察，臨床検査及び剖検において，全身毒性の徴候は認められなかった。

したがって，本試験の条件下では，タピナロフクリーム 8%（処方 A；640 mg/kg）は急性経皮曝

露により毒性を示さないと判断された。また，損傷皮膚と健常皮膚での評価結果に明らかな差はみられなかった。

2.6.6.3 反復投与試験（補助的な TK 評価を含む）

タピナロフの反復投与毒性を検討するため，経皮及び皮下投与による試験を実施した。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，皮下投与試験はラットのみで実施した。実施した試験一覧を，モジュール 4 における収載箇所及び GLP 適合性とともに，表 4 に示す。反復投与毒性試験に使用したタピナロフのバッチの一覧表を，製剤処方の情報とともに，表 5 に示す。

これらの試験で得られた TK の結果を 2.6.4 項に示す。主要な反復投与試験で得られた全身曝露量の比較評価については表 14 に示す。

表 4 タピナロフの反復投与毒性試験一覧

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	投与濃度及び／又は投与量（mg/kg/day）	投与期間	GLP	試験施設	報告書番号	CTD 番号
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%[a] (0.2 g/マウス)	7 日間	非適	GSK	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	[redacted]	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%** (0/0, 28/33, 56/65, **164/206** [M/F])	13 週間	適	[redacted]	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%[a] (0, 60, 240, 480)	7 日間	非適	[redacted]	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%[a] (0, 10, 20, 40)	7 日間	非適	GSK	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	[redacted]	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	[redacted]	DMVT-505-9003	4.2.3.2-7
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[a]	7～14 日間	非適	[redacted]	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%[a] (2 g/kg)	7 日間	非適	GSK	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	[redacted]	20[redacted]N163815	4.2.3.2-10

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	投与濃度及び／又は投与量（mg/kg/day）	投与期間	GLP	試験施設	報告書番号	CTD 番号
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%[a] (0, 20, 40, 80)	7 日間	非適	GSK	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%[a]	7 日間	非適	GSK	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	[redacted]	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	[redacted]	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%** BID (0, 10, 20, **60**)	28 日間	適	[redacted]	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%及び **4%** BID (0, 18～28, 36～56, **72～94**)	13 週間	非適	[redacted]	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% QD; 2%, **4%** BID (0, 0.9, 9.7, 38.4, **76.2**)	13 週間	適	[redacted]	20[redacted]N172520	4.2.3.2-17
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%** BID (0, 10, 20, **60**)	9 ヵ月	適	[redacted]	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[b]	7 日間	非適	GSK	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[b]	7 日間	非適	[redacted]	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[a]	7 日間	非適	GSK	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** （全身毒性に関する NOAEL）	28 日間	適	GSK	20[redacted]N166805	4.2.3.2-22

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	投与濃度及び／又は投与量（mg/kg/day）	投与期間	GLP	試験施設	報告書番号	CTD 番号
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 （全身毒性に関する NOAEL）	13 週間	非適	[redacted]	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** （全身毒性に関する NOAEL）	26 週間	適	[redacted]	20[redacted]N254469	4.2.3.2-24

a. 一部又はすべての群で毒性所見が認められなかったが，NOAEL は報告書に記載なし。
b. 実薬の全用量で毒性所見が認められた。
太字 ＝NOAEL
試験施設：[redacted] = [redacted]；[redacted] = [redacted]；[redacted] = [redacted]；[redacted] = [redacted]；GSK = GlaxoSmithKline；[redacted] = [redacted]；[redacted] = [redacted]；[redacted] = [redacted]
M＝雄；F＝ 雌；DRF＝用量設定；TK＝トキシコキネティクス；R＝回復；NA＝該当なし；NOAEL＝無毒性量；CD-1＝Crl:CD1®(ICR)；WH＝Wistar Han［Crl:WI(Han)］；SD＝Sprague Dawley［Crl:CD(SD) BR］；Hsd SD＝Harlan Sprague Dawley［Hsd:Sprague DawleySD］；NZW＝New Zealand White［Crl:KBL(NZW)BR］；DB＝Dutch Belted［Haz:(DB)SPF］

表 5 反復投与毒性試験に使用したタピナロフのバッチ番号及び製剤処方

バッチ又はロット番号	試験の種類	動物種（系統）／試験系	投与期間	報告書番号（試験番号）	投与濃度	製剤処方
[redacted]**	反復投与毒性	ウサギ（NZW）	28 日間	20[redacted]N163815	1%, 10 mg/mL 3%, 30 mg/mL 4%, 40 mg/mL 6%, 60 mg/mL	クリーム剤（処方 A）
	反復投与毒性（14 日間休薬）	Göttingen ミニブタ	28 日間	20[redacted]N163816	1%, 10 mg/mL 3%, 20 mg/mL 6%, 40 mg/mL	クリーム剤（処方 B）
	反復投与毒性（4 週間休薬）	Göttingen ミニブタ	13 週間	20[redacted]N163817	1%, 10 mg/g 2%, 20 mg/g 4%, 40 mg/g	クリーム剤（処方 C）
[redacted]*	反復投与毒性，DRF	ラット（WH）	7 日間	20[redacted]N164986	10 mg/mL	コーン油，ピーナッツ油，オリーブ油，30% Captisol®
	反復投与毒性及び骨髄小核	ラット（WH）	28 日間	20[redacted]N166805	0.33, 2, 10 mg/mL	30% Captisol®
	反復投与毒性及び刺激性	Göttingen ミニブタ	7 日間	20[redacted]N163449	1%, 10 mg/g 2%, 20 mg/g 4%, 40 mg/g	クリーム剤（処方 D）
[redacted]	反復投与毒性	マウス（CD-1）	14 日間	20[redacted]N184562	4%, 40 mg/mL 2%, 20 mg/mL 1%, 10 mg/mL	クリーム剤（処方 E）
[redacted]	反復投与毒性	マウス（CD-1）	13 週間	20[redacted]N241812	3%, 30 mg/mL 1%, 10 mg/mL 0.5%, 5 mg/mL	クリーム剤（処方 F）
[redacted]**	反復投与毒性，DRF	ラット（Hsd:SD）	7 日間	20[redacted]N163819	50, 125, 250 mg/mL	プロピレングリコール
	反復投与毒性（4 週間休薬）	ラット（Hsd:SD）	13 週間	20[redacted]N163820	3, 10, 40 mg/mL	プロピレングリコール
[redacted]*	反復投与毒性，DRF	ラット（WH）	7 日間	20[redacted]N160460	1, 3.3 又は 10 mg/mL	40%ポリエチレングリコール 400 水溶液

バッチ又はロット番号	試験の種類	動物種（系統）／試験系	投与期間	報告書番号（試験番号）	投与濃度	製剤処方
[redacted]*	反復投与毒性及び刺激性	マウス（CD-1）	7 日間	20[redacted]N175645	4%, 40 mg/mL 2%, 20 mg/mL 1%, 10 mg/mL	クリーム剤（処方 E）
	反復投与毒性	ラット（WH）	7 日間	20[redacted]N175734	4%, 40 mg/mL 2%, 20 mg/mL 1%, 10 mg/mL	クリーム剤（処方 E）
	反復投与毒性	Göttingen ミニブタ	28 日間	20[redacted]N167695	1% 2% 4%	クリーム剤（処方 D）
[redacted]及び[redacted]	反復投与毒性	Göttingen ミニブタ	13 週間	20[redacted]N172520	4%, 40 mg/mL 2%, 20 mg/mL 1%, 10 mg/mL 0.1%, 1 mg/mL	クリーム剤（処方 E）
[redacted]	反復投与毒性	Göttingen ミニブタ	7 日間	20[redacted]N204716	2%, 20 mg/mL	クリーム剤（処方 E、F）
[redacted]**	反復投与毒性	ラット（SD）	28 日間	20[redacted]N163810	8%, 80 mg/mL 4%, 40 mg/mL 1%, 10 mg/mL	クリーム剤（処方 A）
	反復投与毒性	ウサギ（NZW）	28 日間	20[redacted]N163815	1%, 10 mg/mL 3%, 30 mg/mL 4%, 40 mg/mL 6%, 60 mg/mL	クリーム剤（処方 A）
	反復投与毒性，DRF	ウサギ（NZW）	7～14 日間	20[redacted]N172055	8%, 80 mg/mL 4%, 40 mg/mL 1%, 10 mg/mL	クリーム剤（処方 A）
[redacted]**	反復投与毒性，DRF	ラット（SD）	7 日間	20[redacted]N172054	8%, 80 mg/mL 4%, 40 mg/mL 1%, 10 mg/mL	クリーム剤（処方 A）
	反復投与毒性	ラット（SD）	28 日間	20[redacted]N163810	8%, 80 mg/mL 4%, 40 mg/mL 1%, 10 mg/mL	クリーム剤（処方 A）
	反復投与毒性，DRF	ウサギ（NZW）	7～14 日間	20[redacted]N172055	8%, 80 mg/mL 4%, 40 mg/mL 1%, 10 mg/mL	クリーム剤（処方 A）

バッチ又はロット番号	試験の種類	動物種（系統）／試験系	投与期間	報告書番号（試験番号）	投与濃度	製剤処方
[redacted]	反復投与毒性	Göttingen ミニブタ	28 日間	20[redacted]N221246	3%, 30 mg/mL 1%, 10 mg/mL 0.5%, 5 mg/mL	クリーム剤（処方 F）
	反復投与毒性及び皮膚刺激性	ウサギ（DB）	7 日間	20[redacted]N221820	3%, 30 mg/mL 1%, 10 mg/mL 0.5%, 5 mg/mL	クリーム剤（処方 F）
[redacted]	反復投与毒性（6 週間休薬）	ラット（WH）	26 週間	20[redacted]N254469	0.33 mg/mL 2.0 mg/mL 10 mg/mL	30% Captisol®
	反復投与毒性（1 ヵ月間休薬）	Göttingen ミニブタ	9 ヵ月	20[redacted]N299302	3%, 30 mg/mL 1%, 10 mg/mL 0.5%, 5 mg/mL	クリーム剤（処方 F）
[redacted]	反復投与毒性	ラット（WH）	13 週間	DMVT-505-9003	3%, 30 mg/mL 1.5%, 10 mg/mL 0.5%, 5 mg/mL	クリーム剤（処方 F）

* 非臨床用バッチ及び予定臨床用バッチの合成経路は同じ。
** これらのバッチの合成経路は，3.2.S.2.2 項の図 1 に示した合成経路とは関連しないものである。この合成経路を今後の非臨床又は臨床バッチの合成に使用する予定はない。
DRF = 用量設定；WH = Han Wistar［Crl:WI(Han)］；SD = Sprague Dawley［Crl:CD(SD) BR］；Hsd SD = Harlan Sprague Dawley［Hsd:Sprague DawleySD］；NZW = New Zealand White［Crl:KBL(NZW)BR］；DB = Dutch Belted［Haz:(DB)SPF］

2.6.6.3.1 経皮投与

2.6.6.3.1.1 マウス反復投与毒性試験

2.6.6.3.1.1.1 マウスの 7 日間皮膚刺激性及び反復投与用量設定毒性試験［報告書番号 20[redacted]N175645］

（参考資料：CTD4.2.3.2-1）

雄性 CD-1 マウス（各群 4 匹）に濃度 0%（基剤対照），1%，2%又は 4%のタピナロフクリーム（処方 E）を 1 日あたり 0.2 g の投与容量で，1 日 1 回 23 時間，7 日間非閉塞条件下で体表面積（BSA）の 10%に経皮投与した。TK 評価のため，各用量群に 15 匹ずつ動物を追加した。高用量に設定したタピナロフクリーム 4%は，この処方のクリーム剤として投与可能な最高濃度であった。毒性試験群の評価項目／パラメータは，一般状態観察（Draize スコアの評価を含む），体重，血液学的検査及び血液生化学的検査値，肝重量，剖検及び病理組織学的検査であった。投与 7 日目に採取した試料を用いて，TK 評価を実施した。

全身曝露量（$AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max}）は，投与濃度を 1%から 2%に増量すると，用量にほぼ比例した増加を示し，投与濃度を 1%から 4 倍に増量すると，用量比を上回る増加を示した（C_{max} は 8 倍増加，$AUC_{0\text{-}t}$ は 11 倍増加）。

本試験では，タピナロフクリームに関連した病理組織所見は認められなかった。4%群の 1 例の片眼に，限局性でごく軽度な水晶体線維変性が認められた。本試験の他のマウスでは，この所見は認められなかった。無処置 CD-1 マウスでは，水晶体混濁は珍しい背景所見ではなく，水晶体の前部皮質における発生頻度は 13%である[1]。1 例のみの変化であること，無処置マウスで報告されている水晶体混濁の発生頻度が比較的高いことから，この所見はタピナロフの投与に関連しないと判断した。基剤対照群及び 4%群のいずれの皮膚でも，びまん性の表皮過形成が認められた。表皮過形成の程度は基剤対照群では 4%群と比較してやや強く，程度の平均指数はそれぞれ 1.75 及び 1.0 であった。基剤対照群では，真皮のごく軽度な多巣性／混合細胞性の炎症性細胞浸潤も認められた。

1%以上のタピナロフクリーム群では，全白血球数，リンパ球数及び大型非染色細胞数の平均値が，基剤対照群と比較して高値を示した（それぞれ最大 1.75 倍，1.92 倍及び 2.8 倍で，用量依存性なし）。4%群では，ヘマトクリット（Hct），ヘモグロビン（Hb）及び赤血球（RBC）の平均値が高値を示した（それぞれ 1.09 倍，1.08 倍及び 1.08 倍で，1 例に起因した高値）。4%群では，基剤対照群と比較して，総ビリルビン（1.91 倍），アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）活性（1.27 倍），グルタミン酸デヒドロゲナーゼ（GDH）活性（1.50 倍），尿素濃度（1.38 倍），トリグリセリド濃度（1.80 倍）も高値であり，ナトリウム濃度（0.91 倍）及びクロール濃度（0.91 倍）が低値であった。肝重量（絶対及び相対重量）が高値であったが，用量依存性を示さず，1%群で最も高値であった（それぞれ 1.21 倍及び 1.18 倍）。これらの臨床検査値及び肝重量の変化に関連する病理組織所見は認められなかった。

4%群の 1 例で，投与部位にごく軽度の紅斑が投与 4～7 日目に認められたものの，これに関連する病理組織所見は認められなかった。

結論として，雄性マウス（各群 4 匹）に 0%，1%，2%又は 4%のタピナロフクリーム（処方 E）を 1 日あたり 0.2 g の投与容量で，1 日 1 回 23 時間，7 日間非閉塞条件下で BSA の 10%に経皮投

与したところ，投与に関連した臨床検査値のごく軽度な変化として，1%以上の群で，全白血球数，リンパ球数及び大型非染色細胞数の平均値が高値を示し（用量依存性なし），4%群で赤血球系パラメータ（1 例のみ）が高値，総ビリルビン濃度，AST 活性，GDH 活性，尿素及びトリグリセリド濃度がごく軽度の高値，ナトリウム及びクロール濃度が低値を示した。用量依存性のない肝重量の増加が認められた。4%群の 1 例で，ごく軽度の紅斑が投与 4～7 日目に認められた。これらの変化に関連する病理組織所見は認められなかった。

2.6.6.3.1.1.2 マウスの 14 日間経皮投与毒性試験［報告書番号 20[redacted]N184562］

（評価資料：CTD4.2.3.2-2）

本試験は，FDA GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験は，タピナロフクリームをマウスに 14 日間経皮投与したときの毒性，刺激性及び TK を検討することを目的とした。

タピナロフはクリーム剤（処方 E）として調製した。CD-1 マウスにタピナロフのクリーム剤を 0.2 mL の投与容量で 1 日 23 時間，非閉塞条件下で経皮投与した。

CD-1 マウス（雌雄各 10 匹）に 0%（基剤対照），1%，2%又は 4%のタピナロフクリーム（処方 E）を 1 日 1 回約 23 時間，投与 1～14 日目に経皮投与した（推定投与量はタピナロフとしてそれぞれ 0，60～80，110～160 又は 220～330 mg/kg/day）。本試験には各 TK 日に，TK サテライト群として，基剤対照群に雌雄各 6 匹，タピナロフの各用量群に雌雄各 30 匹を投与 1 及び 14 日目に設定した。毒性試験の評価項目／パラメータは，一般状態観察，皮膚スコア，体重，体重増加量，摂餌量，血液学的検査及び血液生化学的検査値，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査であった。投与 1 及び 14 日目に採取した試料を用いて，TK 評価を実施した。

タピナロフの全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-t}）は用量増加に伴って増加した。投与 1 及び 14 日目の実際の投与量（mg/kg/day）に基づく全身曝露の増加は，概ね用量比を上回っていた。投与濃度を 1%から 2%に約 2 倍上昇させると，C_{max} 及び AUC_{0-t} はそれぞれ最大 5.7 倍及び 4.4 倍に上昇した。投与濃度を 2%から 4%に約 2 倍に上昇させると，C_{max} 及び AUC_{0-t} はそれぞれ最大 3.6 倍及び 4.7 倍に上昇した。

1%又は 2%の投与濃度で投与した雄の C_{max} 及び AUC_{0-t} は雌の値と比較して概ね低値を示したが（約 16%～76%），平均体重に基づく投与量（mg/kg/day）は雌の方がわずかに高値であった。4%の投与濃度で投与したときの C_{max} 及び AUC_{0-t} は概ね同程度であった。

雄では，投与 14 日目の C_{max} 及び AUC_{0-t} は投与 1 日目と比較して概ね同程度であり，差は 35%未満であった。雌では，投与 14 日目の C_{max} 及び AUC_{0-t} は，1%の投与濃度で投与したときには投与 1 日目と比較して概ね同程度であったが（差は 30%未満），2%及び 4%の投与濃度で投与したときの方では低値を示した（約 41%～71%）。なお，投与量（mg/kg/day）は投与 14 日目の方が投与 1 日目に比べわずかに低値であった。

試験期間を通じて，タピナロフクリームに関連する死亡，一般状態の異常，皮膚刺激性は認められず，また，体重，摂餌量，臨床検査値（血液学的検査値，赤血球形態及び血液生化学的検査値），剖検所見，病理組織所見又は臓器重量に対する影響は認められなかった。

結論として，CD-1 マウスに 0%，1%，2%又は 4%のタピナロフクリーム（処方 E；投与量はタ

ピナロフとして，それぞれ 0，60～80，110～160 又は 220～330 mg/kg/day）を 1 日 1 回，14 日間経皮投与したところ，死亡，一般状態の異常，皮膚刺激性，体重又は摂餌量に対する影響，臨床検査値の変化，臓器重量の変化，剖検所見及び病理組織所見は認められなかった。したがって，本試験における NOAEL はタピナロフクリーム 4%（処方 E；220～330 mg/kg/day）であり，NOAEL における AUC_{0-t} は 838 ng·hr/mL，C_{max} は 197 ng/mL であった（投与 14 日目の値に基づく雌雄の平均）。

2.6.6.3.1.1.3 マウスを用いた 13 週間経皮投与毒性試験［報告書番号 20[redacted]N241812］

（評価資料：CTD4.2.3.2-3）

本試験は，FDA GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験は，タピナロフクリームをマウスに 13 週間経皮投与したときの毒性，刺激性及び TK を検討することを目的とした。設定濃度（w/w）として 0%（基剤対照），0.5%，1%又は 3%のタピナロフクリーム剤を調製し（処方 F），0.2 mL の一定容量で，CD-1 マウス（各群雌雄各 12 匹）の除毛した背部の健常皮膚（BSA の約 10%）に 1 日 1 回（約 23 時間），投与 1～91/92 日目に非閉塞条件下で経皮投与した。タピナロフクリーム 0%，0.5%，1%又は 3%を投与されたマウスの推定投与量は，雄でそれぞれ 0, 28, 56 又は 164 mg/kg/day，雌でそれぞれ 0, 33, 65 又は 206 mg/kg/day と算出された。

本試験には TK サテライト群として，基剤対照群に雌雄各 3 匹，タピナロフの各用量群に雌雄各 18 匹を設定した。毒性試験群の評価項目／パラメータは，一般状態観察，皮膚スコア，体重，体重変化，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査及び血液生化学的検査値，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査であった。投与 91 日目に採取した試料を用いて，TK 評価を実施した。

本試験では，タピナロフクリームに関連する死亡は認められなかった。TK サテライト群でタピナロフクリーム 1%を投与された雄 1 例が，本試験の投与 31 日目に死亡した状態で発見された。剖検所見は左腎の表面不整のみであった。本例では，死亡前に一般状態の異常は認められず，体重及び体重増加量に対する影響も認められなかった。具体的な死因は特定されなかったが，3%群で死亡が認められなかったことから，この早期の死亡はタピナロフ投与に関連しないと判断された。

タピナロフ投与に関連した一般状態変化，皮膚刺激性，体重，体重増加量及び摂餌量への影響，眼科学的変化，血液学的検査又は血液生化学的検査値への影響，臓器重量の変化，剖検所見又は病理組織所見は，試験期間中あるいは解剖時に認められなかった。

安定化された血漿中タピナロフ濃度は，雌雄ともに投与 91 日目には，すべての用量群で投与後 8 時間まで定量下限を上回ったが，投与後 24 時間では定量下限を上回ったのは高用量群（雄 164 mg/kg/day，雌 206 mg/kg/day）の雌雄各 1 例のみであった。投与 91 日目における雄の t_{max} は 28 mg/kg/day 群で投与後 2 時間，56 及び 164 mg/kg/day 群では投与後 1 時間であった。雌の t_{max} はすべての用量群で投与後 1 時間であった。全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-t}）は，用量増加に伴って概ね用量比を上回って増加した。基剤を投与した動物から投与後 2 時間で安定化された血漿試料を採取し，タピナロフ濃度を分析したところ，すべての試料においてタピナロフ濃度は，定量下限（0.300 ng/mL）未満であった。

結論として，0%（基剤対照），0.5%，1%又は 3%のタピナロフクリーム（処方 F）を，0.2 mL の容量で，CD-1 マウス（各群雌雄各 12 匹）の除毛した背部表面（BSA の約 10%）に 1 日約 23 時間，13 週間経皮投与した（推定投与量は，雄でそれぞれ 0，28，56 及び 164 mg/kg/day，雌でそれぞれ 0，33，65 又は 206 mg/kg/day）ところ，評価したいずれの製剤濃度でも，タピナロフ投与に関連した皮膚刺激性の所見は認められなかった。いずれのタピナロフクリーム群でもタピナロフの全身曝露が認められたにもかかわらず，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 NOAEL は特定できなかったが，タピナロフの NOAEL は本試験において評価した最高濃度である 3%以上と判断された（推定投与量は雄及び雌でそれぞれ 164 及び 206 mg/kg/day）。投与 91 日目のタピナロフクリーム 3%投与群の 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。

2.6.6.3.1.2 ラット反復投与毒性試験

2.6.6.3.1.2.1 ラットの 7 日間反復経皮投与用量設定毒性試験［報告書番号 20[redacted]N172054］

（参考資料：CTD4.2.3.2-4）

本試験では，最高 8%のタピナロフクリーム（処方 A）をラットに 7 日間反復経皮投与したときの局所（皮膚）及び全身の忍容性を評価した。本試験で得られたデータをラットの 28 日間反復投与試験の用量設定に使用した。

4 群（試験群 3 群，基剤対照群 1 群）を設定した。各試験群及び基剤対照群には，雌雄各 4 匹の Sprague Dawley［Crl:CD(SD) BR］ラットを割り付けた。0%（基剤対照），1%，4%又は 8%のタピナロフクリーム（処方 A）を経皮投与した。基剤対照群には基剤クリームを 6.0 mL/kg の容量で投与した。試験群にも同じく 6.0 mL/kg の一定容量で投与し，各群の投与用量はそれぞれ 0，60.0，240.0 又は 480.0 mg/kg/day であった。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。タピナロフクリームを閉塞条件下で皮膚と接触させて固定し，ラットを毎日 6 時間曝露させた。

全動物で毎日の一般状態観察，並びに摂餌量及び摂水量の測定を行った。詳細な一般状態観察を，投与前期間（初回評価）及び試験終了前に実施した。標準的な Draize 評価系を用いて，曝露部位の皮膚の外観（紅斑及び浮腫の徴候）を毎日スコア化した。

投与期間終了時に臨床検査用の血液を採取した後，動物を安楽死させて剖検に供した。

毎日の一般状態観察では，基剤対照群及び 3 つの試験群のいずれにおいても，タピナロフ投与に関連した経皮毒性及び全身毒性は認められなかった。タピナロフは曝露部位に皮膚刺激性を示さなかった。損傷皮膚と健常皮膚での評価結果に差は認められなかった。

投与期間終了時の平均体重は，中間用量群（雌雄）及び高用量群（雌）で基剤対照群及び低用量群と比較して軽度に低値であった。

臨床検査では，中間用量群及び高用量群でわずかな白血球数増加（基剤対照群との比較）が認められた。これらの増加は用量依存性を示さなかった。

中間用量群及び高用量群で認められた平均体重の低値及び白血球数増加がタピナロフ投与に関連する可能性は否定できないが，これらの変化はごく軽度であったため，生物学的及び臨床的意

義のあるものでなかった。

投与期間終了時の剖検では，試験群及び基剤対照群のいずれにも肉眼的異常所見は認められなかった。

一般状態観察，臨床検査，剖検などで得られたすべてのデータを解析したところ，最高 8%のタピナロフクリームを 6.0 mL/kg/day の投与容量（有効成分として最大 480.0 mg/kg/day に相当）で 7 日間経皮投与したラットでは，タピナロフ又は投与に関連した重篤な全身毒性は認められなかった。タピナロフクリームは皮膚刺激性を示さなかった。

上記の結果から，タピナロフクリーム 8%（処方 A）は，投与容量が 6.0 mL/kg/day（用量が 480 mg/kg/day）までのラット 28 日間反復投与毒性試験に使用するのに適切であることが確認された。

2.6.6.3.1.2.2 ラットの 7 日間経皮投与毒性試験［報告書番号 20[redacted]N175734］

（参考資料：CTD4.2.3.2-5）

本試験では，タピナロフを雄性 Wistar Han［Crl:WI(Han)］ラットに 7 日間反復経皮投与したときの毒性及び TK を評価することを目的とした。タピナロフはクリーム剤に調製されて供給された。0%（基剤対照），1%，2%又は 4%のタピナロフクリーム剤（処方 E）を，雄性ラット（各群 4 匹）の健常皮膚に 1 日約 23 時間，7 日間塗布した。TK 評価のため，各用量群に雄 3 匹を追加した。クリーム剤の投与重量は 1 g/kg/day とし，各群のタピナロフとしての投与量はそれぞれ 0, 10, 20 又は 40 mg/kg/day であった。

経皮投与部位は BSA の 10%とした。BSA は投与開始前日の平均体重に基づいて決定した。基剤又は対応する濃度のタピナロフクリームを投与部位に均一に直接塗布し，コットンガーゼパッチで覆った。投与部位が半閉塞状態となるように，非刺激性のテープ及びチューブ包帯を用いてパッチを皮膚に固定した。曝露期間終了時，包帯及びパッチを除去し，逆浸透処理した温水及びコットンガーゼで投与部位を拭いた。用量はクリーム剤での最大溶解度に基づいて決定した。

評価項目／パラメータは，一般状態観察，皮膚刺激性（Draize 法を用いたスコア化），体重，血液学的検査及び血液生化学的検査値，肝重量，剖検及び病理組織学的検査であった。投与 1 及び 7 日目に採取した試料を用いて，TK 評価を実施した。

投与 1 日目の全身曝露量（AUC_{0-t} 及び C_{max} の平均値）は，用量を 10 mg/kg/day から 20 mg/kg/day に増量した際，用量増加に伴って概ね用量比どおり増加した。用量を 20 mg/kg/day から 40 mg/kg/day に増量した場合，全身曝露量に増加は認められなかった。

投与 7 日目の全身曝露量の増加は用量比を下回った。用量を 10 mg/kg/day から 20 mg/kg/day まで 2 倍増加させたとき，平均 C_{max} は上昇しなかったが，平均 AUC_{0-t} は約 40%上昇した。用量を 10 mg/kg/day から 40 mg/kg/day まで 4 倍増加させたとき，全身曝露量は約 2 倍上昇した。

20 mg/kg/day の投与 7 日目の投与後における AUC_{0-t} 及び C_{max} の平均値は，投与 1 日目に比べてそれぞれ 40%及び 61%低かった。10 又は 40 mg/kg/day の投与 7 日目の投与後における全身曝露量は投与 1 日目と同程度であった。

タピナロフ投与に関連した病理組織所見が認められたのは，タピナロフクリーム 4%（40 mg/kg/day）群の副腎のみであった。4 例中 3 例で副腎束状帯のごく軽度のびまん性肥大が認

められた。血清トリグリセリドが，全用量群で基剤対照群と比較して高値であった（最大 1.58 倍，用量依存性あり）。

基剤対照群及びタピナロフ投与群の皮膚（投与部位）で，ごく軽度の表皮過形成及びごく軽度～軽度の表皮過角化が認められた。程度は全用量群で同等であった。皮膚に認められた表皮の変化は，本試験で用いられた様々な製剤のごく軽度の刺激による二次的な変化である可能性が高いと考えられる。

結論として，雄性ラットに 0%（基剤対照），1%，2%又は 4%のタピナロフクリーム（処方 E）を 1 g/kg/day の投与重量で，7 日間反復経皮投与した（タピナロフとして 0, 10, 20, 40 mg/kg/day）。4%（40 mg/kg/day）群で，ごく軽度の副腎束状帯のびまん性肥大が認められた。血清トリグリセリドが，全用量群で用量依存的にごく軽度～軽度の高値を示した。投与 7 日目には，用量を 10 mg/kg/day から 20 mg/kg/day まで 2 倍増加させたとき，平均 C_{max} は上昇しなかったが，平均 AUC_{0-t} は約 40%上昇した。用量を 10 mg/kg/day から 40 mg/kg/day まで 4 倍増加させたとき，全身曝露量が約 2 倍上昇した。

2.6.6.3.1.2.3 ラットの 28 日間反復経皮投与毒性試験［報告書番号 20[redacted]N163810］

（参考資料：CTD4.2.3.2-6）

本試験では，タピナロフをラットに 28 日間反復経皮投与したときの経皮毒性及び全身毒性の有無を評価した。4 群（試験群 3 群，基剤対照群 1 群）を設定した。試験群及び基剤対照群は，それぞれ雌雄各 10 匹の Sprague Dawley［Crl:CD(SD) BR］ラットから構成した。試験群の動物には 1%，4%又は 8%のタピナロフクリーム（処方 A）を経皮投与した。基剤対照群には基剤クリーム（0%）を 6.0 mL/kg の容量で投与した。すべての試験群についても同じく 6.0 mL/kg の一定容量で投与し，各群の投与量はそれぞれ 0，60，240 又は 480 mg/kg であった。各用量群の半数の動物（各群雌雄各 5 匹）の皮膚を投与前に注射針で損傷させた。タピナロフクリームを閉塞条件下で皮膚と接触させて固定し，ラットを毎日 6 時間，曝露させた。投与 1 及び 28 日目におけるタピナロフの TK 評価のため，基剤対照群に雌雄各 8 匹，各試験群に雌雄各 16 匹の動物を追加した。

投与による一般状態変化の有無をモニタリングしたほか，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，臨床検査，臓器重量測定及び剖検を実施した。高用量群及び基剤対照群の全動物から種々の臓器を採取し，病理組織学的評価を実施した。低用量群及び中間用量群の試験部位（投与部位）についても評価した。低用量群及び中間用量群では，剖検で認められた一部の肉眼的病変部位についても病理組織学的評価を実施した。

投与期間中，雄 3 例（低用量群 2 例及び中間用量群 1 例）が死亡した。剖検及び病理組織所見として，複数の臓器に点状出血が認められた。肉眼及び組織所見はいずれも，強い保定拘束に起因する急性呼吸停止の典型的な所見であったため，これらの死亡は偶発的なもの（タピナロフ投与に関連しないもの）と判断された。

毎日の一般状態観察及び投与期間終了前に実施した詳細一般状態観察では，3 つの試験群（低，中間及び高用量群）及び基剤対照群のいずれにおいても，雌雄にかかわらず，タピナロフ投与に関連した全身毒性は認められなかった。基剤対照群の雄の平均体重増加量は，中間用量群の雄と比較して約 19 g 高値であった。基剤対照群の雄と低用量群及び高用量群の雄の間では，体重増加

量に差は認められなかった。試験終了時の体重は，基剤対照群の雄において試験群の雄と比較して高値であったが，これらの群間差は統計学的に有意（ANOVA, P=0.01）なものでなく，用量依存性を示さなかった。基剤対照群の雌と試験群の雌との間では，体重増加量及び体重の差はわずかであり，統計学的に有意ではなかった。

中間用量群及び高用量群では，タピナロフの投与部位に皮膚反応が認められた。これらの皮膚反応（乾燥，紅斑，過角化及び散発的な亀裂）の発現頻度及び程度は，高用量群よりも中間用量群において高かった。雄よりも雌で強い皮膚反応が認められた。いずれの皮膚反応も軽度と判断された。

高用量群よりも中間用量群において皮膚反応の程度が強かった原因は，高用量群のタピナロフクリームが他の群と比較して外観が異なり不均一であったためと推察された。

皮膚反応の程度は投与 3 週目にピークに達し，その後これらの反応は軽快したことから，試験操作及びタピナロフに対する皮膚の適応が示された。

投与開始前及び投与期間の最終週に実施した眼科学的検査において，タピナロフ投与に起因する可能性がある眼毒性は認められなかった。

統計学的解析において，高用量群の Hb 値及び Hct 値は基剤対照群の雄と比較して有意に低値であった。中間用量群及び高用量群の雌の Hb 値及び Hct 値，並びに中間用量群の雌の RBC 数は，基剤対照群の雌と比較して有意に低値であった。RBC 数，Hb 値及び Hct 値の低値（基剤対照群との比較）は投与に関連する可能性があるが，これらの変化の程度は小さく，臨床的又は毒性学的な懸念はないと判断された。

白血球数及び白血球分画は，中間用量群及び高用量群（雌雄）で基剤対照群と比較して軽度に高値を示した。中間用量群及び高用量群では，好中球増加及び単球増加の発現頻度も軽度に高かった（基剤対照群との比較）。これらの増加は高用量群よりも中間用量群でより顕著であった。軽度の白血球増加，好中球増加及び単球増加は，一般状態観察及び病理組織学的検査で認められた皮膚反応及び炎症（すなわち，限局性表皮壊死及び線維素性化膿性滲出物）の結果であった。その他の血液学的検査値，血液凝固検査値，血清生化学的検査値及び尿検査値は，投与による影響を受けなかったと判断された。

いずれの用量の経皮投与後も，タピナロフは高い吸収性を示した。いずれの用量でも雌の方が血漿中濃度は概して高かったが，雌雄ラットに投与したときの血漿中濃度推移には大きな性差は認められなかった。概して，投与 28 日目の血漿中濃度は投与 1 日目に比べて高かった。投与 28 日目の投与前血漿試料にタピナロフが認められたことから，タピナロフは 24 時間以内に完全には消失しないことが示された。投与 1 日目の C_{max} は，低用量群では塗布後 0.5～1 時間に到達し，中間用量群及び高用量群では塗布後 6 時間に到達した。6 時間の曝露期間後の終末相における血漿中タピナロフ濃度は，投与 28 日目では投与 1 日目と比較して高く，消失能が低下した可能性が示された。血漿中濃度から，投与 28 日目の AUC 値は投与 1 日目に比べて上昇し，タピナロフの軽度の蓄積が示された。低用量群を除き，投与 1 日目に比べて投与 28 日目に C_{max} の上昇は認められなかった。3 群とも，タピナロフの血漿中濃度は二相性を示した。この結果は，腸管での再吸収，又は偶発的経口摂取（曝露期間後にタピナロフを十分に除去して洗浄したが，少量残留したタピナロフが身づくろいの際に摂取されたことは否定できなかった）によるものと考えられる。

投与期間終了時に定期解剖した動物の剖検では，投与に関連する所見は認められなかった。ただし例外として，高用量群の肝重量が基剤対照群と比較して軽度に高値であった。高用量群の組織学的検査で，基剤対照群と比較して肝脂質の増加が認められており，肝重量増加の原因と考えられた。

病理組織学的検査では，投与部位の皮膚反応のほとんどが反応性の表皮過形成で，ときに限局性表皮壊死及び線維素性化膿性滲出物を伴っていた。これらの所見は，中間用量群で発現頻度及び程度が最も高かったが，低用量群及び高用量群でも認められた。基剤対照群では，3/20 例に反応が認められたにすぎず，その程度はいずれもごく軽度と判定された。また，所見の程度はタピナロフ投与前に損傷を加えた投与部位でより高かった。

リンパ節及び脾臓のリンパ濾胞胚中心数により評価した増殖反応，並びに所見の程度は基剤対照群と高用量群で同程度であり，タピナロフは供試動物に免疫反応を誘発しなかったことが示された。しかし，一部の動物では過形成による腋窩リンパ節の肥大がみられたが，これらの変化は皮膚壊死，炎症及び二次的な細菌感染と関連した変化と考えられた。胸腺皮質の軽度のリンパ球枯渇が高用量群の 5/20 例にみられたが，基剤対照群では 1/20 例に認められたにすぎなかった。この反応は，投与操作に関連したストレス及び炎症反応に起因したと考えられた。

高用量群の肝臓では，中間用量群及び基剤対照群と比較して，肝細胞内の脂肪空胞の増加が認められた。この変化は，肝細胞内の正常なトリグリセリド輸送に高用量投与が直接的又は間接的な影響を及ぼすことを示唆している可能性がある。

得られたすべてのデータ（一般状態観察，臨床検査値，剖検，病理組織学的評価など）を解析した結果，タピナロフクリーム 1%及び 4%を 28 日間経皮投与したラットで，タピナロフ投与に関連した重篤な全身毒性は認められなかった（すなわち，中間用量群で認められた体重増加量の減少及び皮膚反応はごく軽度と判断された）。

高用量群（タピナロフクリーム 8% ; 480 mg/kg/day）では，毒性学的に意義のあると考えられるいくつかの所見が認められた。肝重量増加及び肝細胞内の脂肪空胞の増加は，肝細胞の機能変化の早期徴候である可能性がある。

タピナロフ投与は軽度の皮膚反応（乾燥，紅斑，過角化及び亀裂）を誘発する可能性があり，これらの皮膚反応は投与最終週にある程度の回復性を示したものの，病理組織学的検査では，これらは反応性の表皮過形成で，ときに限局性表皮壊死及び線維素性化膿性滲出物を伴っていた。皮膚反応のグレードは，損傷を加えた塗布部位でより高かった。

以上，0%（基剤対照），1%，4%又は 8%のタピナロフクリーム（処方 A ; 投与量はそれぞれ 0，60，240 又は 480 mg/kg/day）をラットに 28 日間経皮投与した本試験の条件下では，タピナロフクリームの NOEL は明らかに 1%（処方 A ; 60 mg/kg/day）であった。本試験では，一般状態変化及び体重への影響が重度でなかったものの，高用量群（タピナロフクリーム 8% ; 480 mg/kg/day）よりも中間用量群（タピナロフクリーム 4% ; 240 mg/kg/day）でより明らかであったため，NOAEL の判定が困難であった。高用量よりも中間用量での影響が大きかった原因として考えられるのは，高用量群に投与されたクリーム剤の不均一性である。高用量クリーム中に認められた暗色の粒は均一に分散していたが，中間用量クリーム中にこのような粒は認められなかった。したがって，高用量クリーム中に認められた暗色の粒がタピナロフであった場合，同様の粒が視認されなかっ

た中間用量クリーム中に微細に分散するタピナロフと比較して，その表面積は小さいはずである。そのため，中間用量群と高用量群の間でタピナロフへの反応に差が認められたことは，中間用量群の経皮曝露量が高用量群と比較して高かったことによって説明がつくものと推測される。TK データから，投与 1 日目の $AUC_{0\text{-}obs}$ に予測どおりの差が認められた。中間用量群と高用量群の $AUC_{0\text{-}obs}$ の差は投与 28 日目までに明らかでなくなり，おそらくこの用量で $AUC_{0\text{-}obs}$ が飽和に達したと判断された。したがって，28 日間の試験期間中に明らかな毒性が認められなかったことに基づき，本試験におけるタピナロフクリームの NOAEL は，4%（処方 A；240 mg/kg/day）と判断された。

2.6.6.3.1.2.4 ラットの 13 週間反復経皮投与毒性試験［報告書番号 DMVT-505-9003］

（評価資料：CTD4.2.3.2-7）

本試験は，FDA GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験では，タピナロフクリーム剤（処方 F）を雌雄 Wistar Han［Crl:WI(Han)］ラットに 13 週間反復経皮投与したときの毒性を検討することと，タピナロフ及びタピナロフの硫酸抱合体の TK 特性を評価することを目的とした。

0%（基剤対照），0.5%，1.5%又は 3%（この製剤処方で投与可能な最高濃度）のタピナロフクリーム（処方 F）を経皮投与した。基剤対照群には，基剤対照クリームを 2.0 mL/kg の容量で投与した。すべてのタピナロフ群についても同じく 2.0 mL/kg の一定容量で投与し，各群の投与量はそれぞれ 0，10，30 及び 60 mg/kg/day であった。投与物質は，BSA の 10%に相当する投与部位に均一な層になるように皮膚に直接塗布した。タピナロフクリームを多孔性のガーゼで覆うことによりタピナロフクリームと皮膚との接触を保持した。タピナロフクリームの除去や摂取は，塗布部位を被覆材でさらに覆い，粘着テープで固定することにより防止した。被覆材は 6 時間 ±30 分間貼付した。曝露期間（22 時間 ±2 時間）終了後，投与部位を逆浸透水に浸したガーゼで拭いた後，続いて乾燥したガーゼで投与部位を拭いた。主試験群はそれぞれ雌雄各 12 匹の Wistar Han ラットから構成した。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。

本試験における評価パラメータ及び評価項目は，一般状態観察，体重及び体重増加量，摂餌量，眼科学的検査，臨床検査（血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査及び尿検査），剖検，臓器重量，病理組織学的検査及び TK パラメータであった。

0.5%群では，タピナロフは投与後 8 時間まで概ね定量可能であった。1.5%群及び 3%群では，平均血漿中濃度は投与 29 及び 91 日目の投与前時点を含む投与 1，29 及び 91 日目の 24 時間の各採血期間を通して概ね定量可能であった。タピナロフの t_{max} は，投与 1 日目が投与後 1 又は 2 時間，投与 29 日目が投与後 1 又は 8 時間，投与 91 日目が投与後 0.5～8 時間であった。全身曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ 値）には，顕著な性差（2 倍超）は概して認められなかった。$AUC_{0\text{-}t}$ 値は，タピナロフクリームの 0.5%から 1.5%への用量増加に伴って概ね用量比を上回って上昇し，1.5%から 3%への用量増加時にはばらつきが認められた。反復経皮投与したときの全身曝露量（C_{max}）は，投与 29 日目と投与 1 日目でほとんど差がなく，投与 91 日目には投与 1 日目に比べて雄ではばらつきがみられ，雌では低かった。タピナロフの硫酸抱合体の血漿中濃度は概して定量下限未満であった。投与 91 日目のタピナロフの硫酸抱合体の $AUC_{0\text{-}t}$ は 3%群の雄のみで推定することができ，同代謝

物の曝露量はタピナロフに比べて大幅に少なく，AUC_{0-t}の代謝物／未変化体比は 0.0484 であった。

投与初期に主試験群の雌 3 例，TK サテライト群の雄 2 例が死亡した。タピナロフクリーム 1.5%群の雌 2 例が死亡状態で発見（投与 21 日目）又は切迫解剖され（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。主試験群で死亡状態で発見され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からくる複合要因であった。これらの動物ではタピナロフ投与に関連する一般状態の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，高用量群で報告さ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。

タピナロフ投与に関連する一般状態変化及び皮膚刺激性，並びにタピナロフ投与に関連する体重，体重増加量，眼科学的検査所見及び臨床検査値に群間差は認められなかった。試験期間を通して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，体重には影響は認められなかった。

タピナロフ投与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～軽度の混合細胞による炎症の発現頻度が，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臓所見の原因は，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，0%（基剤対照），0.5%，1.5%又は 3%のタピナロフクリーム（処方 F；投与量はそれぞれ 0，10，30 又は 60 mg/kg/day）を雌雄 Wistar Han ラットに 1 日 1 回，13 週間経皮投与したところ，いずれの濃度も良好な忍容性を示し，タピナロフクリームに関連した早期の死亡，一般状態変化，並びにタピナロフクリームに関連した眼科学的検査所見，臨床検査値，剖検所見，臓器重量及び病理組織所見の変化は認められなかった。基剤対照群とタピナロフクリーム群の両者でごく軽度の皮膚刺激性が認められ，この所見はタピナロフ投与に関連しないと判断された。これらの結果に基づき，タピナロフクリームの NOAEL は雌雄ともに 3%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，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。

2.6.6.3.1.3 ウサギ反復投与毒性試験

2.6.6.3.1.3.1 ウサギの 7 日間反復経皮投与用量設定毒性試験［報告書番号 20[redacted]N172055］

（参考資料：CTD4.2.3.2-8）

本試験では，タピナロフをウサギに 7 又は 14 日間反復経皮投与したときの局所（皮膚）及び全身の忍容性を評価した。本試験で得られたデータをウサギの 28 日間反復投与試験の用量設定に使用した。

4 群（試験群 3 群，基剤対照群 1 群）を設定した。試験群及び基剤対照群は，それぞれ雌雄各 2 匹の New Zealand White［Crl:KBL(NZW)BR，Charles River Canada］ウサギから構成した。0%（基剤対照），1%，4%又は 8%のタピナロフクリーム（処方 A）を経皮投与した。基剤対照群には基

剤対照クリームを 8.0 mL/kg の容量で投与した。試験群にも同じく一定容量 8.0 mL/kg で投与し，各群の投与量はそれぞれ 0，80，320 又は 640 mg/kg/day であった。半数の動物（各群雌雄各 1 匹）の皮膚を投与前に注射針で損傷させた。閉塞条件下でタピナロフクリームを皮膚と接触させて固定し，ウサギを毎日 6 時間，タピナロフに曝露した。投与 7 日目までに中用量群の一部の動物及び高用量群の全動物の皮膚に毒性反応（皮膚亀裂）が認められたため，これらの 2 つの群では，閉塞包帯を用いない非閉塞下でのタピナロフの投与期間を 7 日間延長した。

全動物について毎日の一般状態観察，並びに摂餌量及び摂水量測定を行った。詳細な一般状態観察を，投与前期間及び 7 日間反復投与の終了前に実施した。標準的な Draize 評価系を用いて，曝露された皮膚の外観について紅斑及び浮腫の程度を毎日判定した。各投与期間終了時に臨床検査用の血液を採取した後，動物を安楽殺し，肉眼検査による剖検に供した。

毎日の一般状態観察（投与期間中及び投与期間終了直後の綿密なモニタリング）及び 7 日間の投与期間終了時の詳細な一般状態観察では，基剤対照群及び 3 つの試験群にタピナロフ投与に関連した全身毒性は認められなかった。雌 1 例（高用量群）を除く全動物の体重は，投与期間終了時（基剤対照群及び低用量群では投与 7 日目，中用量群及び高用量群では投与 14 日目）まで変化が認められなかったか軽度に増加した。高用量群の雌 1 例では，体重が 300 g 減少した。

基剤対照群を含む全群で，皮膚の弾性低下（皮膚の乾燥）が認められた。この所見は投与開始の約 4～5 日後に明らかになり，投与期間終了時まで持続した。基剤対照群及び低用量群では，投与に対するその他の皮膚反応は認められなかった。中用量群の 3/4 例で皮膚刺激性（紅斑：かろうじて識別できる発赤）が認められ，同群の雌 1 例で皮膚亀裂（皮膚のひび割れ）が発現した。高用量群では，全例（雌雄）で皮膚刺激性（紅斑：かろうじて識別できる発赤）及び皮膚亀裂が認められ，一部の動物では，亀裂の深部が乾燥した血液により暗赤色であった。皮膚刺激性は試験終了時まで持続した。雄 2 例では，投与約 11 日目までに亀裂が治癒した一方，雌では投与期間終了時まで亀裂が継続して認められた。

中用量群及び高用量群で，閉塞包帯を用いない非閉塞下での投与を投与 7 日目以降に継続したところ，皮膚病変の進行が遅くなり，一部の動物では皮膚病変が退縮したことから，非閉塞条件下での投与は有益な影響をもたらしたと考えられた。

いくつかの血液学的検査項目及び血清生化学的検査項目に投与手技の影響があったと判断された。例数（2 例）が少なかったため，認められた変化を正確に考察することは難しかった。さらに，中用量群及び高用量群では，基剤対照群及び低用量群と比較して投与期間が 7 日間延長されたため，基剤対照群及び低用量群で得られた臨床検査値を，中用量群及び高用量群の検査値と適切に比較することができなかった。

高用量群の 3 例を除き，基剤対照群，低用量群及び中用量群では，剖検所見は特に認められなかった。

雄 2 例及び雌 1 例（高用量群）で，肝肥大及び脆弱性が認められた。2 例では，肝の小葉構造が明瞭となり，肝実質内に白色線条が多数認められた。これらの所見はアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）活性の高値と同時に認められた。

一般状態観察，臨床検査，剖検などで得られたデータを解析した結果，タピナロフクリーム 4%を最大 8.0 mL/kg/day の容量（有効成分 320 mg/kg/day に相当）で 14 日間反復経皮投与したウサギ

では，タピナロフ投与に関連した重篤な全身毒性は認められなかった。高用量（タピナロフクリーム 8% ; 640 mg/kg/day）では，タピナロフ投与によって肝細胞の膜透過性が変化し，肝細胞逸脱酵素である ALT が血中に漏出した可能性が考えられた。

基剤クリームを含む被験物質は皮膚を乾燥させ，高用量では皮膚のひび割れ（亀裂）を誘発することが示された。4%及び 8%（320 及び 640 mg/kg/day）群では，投与部位の皮膚に軽度の発赤も認められ，8%群では，一部の亀裂の深部が明らかに暗赤色に変色していた。損傷皮膚と健常皮膚での評価結果に明らかな差はみられなかった。

当初計画したタピナロフクリームの臨床試験では，投与部位の皮膚を閉塞する予定であったため，続くウサギ 28 日間毒性試験でも閉塞経皮投与を使用すべきと判断した。しかし，上記の結果から，タピナロフクリーム 8%（処方 A）の閉塞経皮投与は 28 日間毒性試験で忍容性を示さない可能性が高いと判断された。そのため，28 日間毒性試験には，タピナロフクリーム 1%，4%及び 6%を使用することに決定した。

2.6.6.3.1.3.2 ウサギの 7 日間皮膚刺激性及びトキシコキネティクス試験［報告書番号 20[redacted]N221820］

（参考資料：CTD4.2.3.2-9）

本試験では，タピナロフを雌性 Dutch Belted［Haz:(DB)SPF］ウサギに 7 日間反復経皮投与したときの忍容性（皮膚刺激性など）及び TK を評価することを目的とした。

タピナロフは濃度 0%（基剤対照），0.5%，1%又は 3%のクリーム剤（処方 F）に事前に調製されたものが供給された。タピナロフクリームをウサギ（各群雌 3 匹）の健常皮膚に 2 g/kg の投与重量で 1 日 1 回（約 23 時間，半閉塞），7 日間塗布した。経皮投与部位は BSA（全動物の平均体重に基づき算出）の 10%とした。タピナロフクリームの濃度，投与重量（2 g/kg）及び投与面積（BSA の約 10%）に基づき算出した各群の投与量は，それぞれ 0，0.12，0.23～0.24 又は 0.70～0.73 mg/cm^2 であった。

タピナロフ投与に関連した所見として，表皮過形成，表皮過角化，真皮上層の浮腫などが認められた。表皮過形成が基剤対照群の 1/3 例（ごく軽度）に認められた。タピナロフクリーム群では，この所見の発現頻度及び／又は程度が基剤対照群より高く，0.5%群で 2/3 例（ごく軽度），1%群で 3/3 例（ごく軽度～軽度），3%群で 3/3 例（軽度～中等度）であった。真皮浮腫（ごく軽度～中等度）及び表皮過角化（ごく軽度～軽度）は基剤対照群では認められず，用量増加に伴って程度が増悪した。タピナロフクリーム 3%群の 1 例で，中等度の真皮浮腫を伴う限局性の軽度皮膚潰瘍が認められた。真皮上層へのびまん性の炎症性細胞浸潤（混合細胞型）（ほとんどの場合，ごく軽度）が基剤対照群及びタピナロフ投与群で認められ，除毛及び／又は基剤投与に起因したと判断される。皮下組織のごく軽度～中等度の皮筋の変性／再生が基剤対照群及びタピナロフ投与群で認められ，投与操作の一部として実施した被覆に起因した可能性がある。

ごく軽度又は境界明瞭な紅斑が，基剤対照群及び各タピナロフ投与群のそれぞれ 2/3 例及び 1/3 例に早期（投与 2 日目）から認められた。皮膚刺激性の平均累積スコアは，すべてのタピナロフ投与群間で同程度であり（0.5%，1%及び 3%群でそれぞれ 8.3，8.0 及び 8.3），基剤対照群でやや低かった（6.3）。1%群及び 3%群では，タピナロフクリームを塗布した皮膚で早期（投与 5 日目）

に乾燥及び／又は剥離（軽度）が認められた。

結論として，タピナロフクリーム 0%（基剤対照），0.5%，1%又は 3%（処方 F）をウサギ（各群雌 3 匹）の健常皮膚（BSA の約 10%）に，2 g/kg の重量で 1 日 1 回（約 23 時間，半閉塞），7 日間塗布した（投与量はそれぞれ 0.12，0.23～0.24 又は 0.70～0.73 mg/cm^2）ところ，タピナロフクリーム 0.5%，1%又は 3%の経皮投与により，真皮浮腫，表皮過形成及び表皮過角化が用量依存的に増加した。ごく軽度あるいは明瞭な紅斑が，基剤対照群及び各タピナロフ投与群で認められた。皮膚刺激性の平均累積スコアは 0.5%，1%及び 3%群で同程度であったが，基剤対照群と比較してやや高かった。投与部位における皮膚の乾燥及び／又は剥離が，1%群及び 3%群で認められた。タピナロフの全身曝露量は概して用量比を上回る増加を示した。比較可能な評価時点における全身曝露量は，すべての用量群で投与 7 日目では投与 1 日目と比較して低かった。

2.6.6.3.1.3.3 ウサギの 28 日間反復経皮投与毒性試験［報告書番号 20[redacted]N163815］

（参考資料：CTD4.2.3.2-10）

本試験では，0%（基剤対照），1%，4%（a），4%（b）又は 6%のタピナロフクリーム（処方 A）として，タピナロフをウサギに 28 日間反復経皮投与したときの経皮毒性及び全身毒性を評価した。5 群（試験群 4 群，基剤対照群 1 群）を設定した。試験群及び基剤対照群は，それぞれ雌雄各 4 匹の New Zealand White［Crl:KBL(NZW)BR］ウサギから構成した。動物に，タピナロフクリーム 1%，4%（a）又は 6%（cGMP 適用の新規バッチ使用）及びタピナロフクリーム 4%（b）（cGMP 非適用の旧バッチ使用）を経皮投与した。中用量群の新規バッチ［4%（a）cGMP 適用製造バッチ］及び中用量群の旧バッチ［4%（b）GMP 非適用製造バッチ］は，新規バッチが cGMP 適合条件下で製造された点を除き，同一であることを示すために設定した。これらの 2 群は，本試験に先行して実施したウサギ用量設定試験を旧バッチで実施したため，比較の目的で使用した。しかし，タピナロフクリーム 4%（a）（cGMP 適用 API）のタピナロフ含量は，目標とする含量の 70%であった（以下，タピナロフクリーム 3%として記載）。基剤対照群には基剤クリームを 8.0 mL/kg の容量で投与した。すべての試験群にも同じく一定容量 8.0 mL/kg で投与したため，本試験における投与量は，タピナロフクリーム 0%，1%，3%又は 6%バッチ（cGMP 適用 API）でそれぞれ 0，80，225 及び 480 mg/kg/day，追加のタピナロフクリーム 4%バッチ（cGMP 非適用 API）で 320 mg/kg/day となった。各用量群の半数の動物（各群雌雄各 2 匹）の皮膚を投与前に注射針で損傷させた。閉塞条件下でタピナロフクリームを皮膚と接触させて固定し，ウサギを毎日 6 時間，タピナロフクリームに曝露した。

投与 1 日目の TK 測定のため，基剤対照群に雌雄各 2 匹，2～4 群（cGMP 適用群）に雌雄各 4 匹を追加し，試料採取終了後に安楽殺した。投与 28 日目に，主試験群のすべての動物を TK 評価に供した。

投与 1 及び 28 日目の TK 測定の結果，いずれの群でもタピナロフの吸収は 6 時間の曝露期間全体にわたって認められ，一貫した性差は認められなかった。新規バッチのクリームでは，血漿中濃度（C_{max} 及び AUC）に用量依存性が認められた。C_{max} は曝露開始後 0.5～6 時間と推定された。各群内の血漿中濃度には大きな個体間変動が認められた。

一般状態観察，体重及び摂餌量の測定，眼科学的検査，臨床検査，臓器重量の測定及び剖検を

実施した。高用量群及び基剤対照群の全動物から種々の臓器を採取し，病理組織学的検査を実施した。試験部位（投与部位）については低用量群及び中用量群についても評価した。剖検で低用量群及び中用量群で認められた肉眼的病変についても病理組織学的評価を実施した。高用量群で肝臓に病理所見が認められたため，全群で肝臓を評価した。毎日の一般状態観察及び週 1 回の詳細な一般状態観察では，低用量群及び 2 つの中用量群（cGMP 適用製造バッチを使用したクリームの投与群及び GMP 非適用製造バッチを使用したクリームの投与群）において，タピナロフに関連した重篤な全身毒性は認められなかった。

2 つの中用量（タピナロフクリーム 3%及び 4%）群で投与部位の軽度の皮膚反応（紅斑／浮腫，過角化及び散発的な亀裂），高用量（タピナロフクリーム 6%）群で軽度～中等度の反応が認められ，また，皮膚の乾燥及び弾性低下が他の皮膚所見（亀裂及び紅斑）の前に認められた。乾燥及び弾性低下は投与開始後 4～5 日で明らかになった。Draize 評価系を用いて皮膚刺激性を評価したところ，紅斑（皮膚発赤）及び浮腫のスコアは，雄（3% ; 225 mg/kg/day）及び雌（1% ; 80 mg/kg/day 及び 4% ; 320 mg/kg/day）で 1 と判定された一方，雌（3%及び 6% ; 225 及び 480 mg/kg/day）及び雄（3% ; 225 mg/kg/day）で 1～2 と判定された。高用量群の雄では，発赤のスコアが 2～3（境界明瞭～中等度）と判定された。皮膚所見の頻度及び程度に大きな性差はなく，投与部位の損傷皮膚と健常皮膚による差もないと考えられた。皮膚所見の程度は投与 2～3 週目にピークに達し，その後，これらの反応は軽快し，処置及びタピナロフに対する皮膚の適応が示された。

高用量群では，投与に関連した毒性所見が中等度の全身毒性及び局所（皮膚）毒性として認められた。低用量群及び 2 つの中用量群では，一般状態観察，眼科学的検査，剖検及び臨床検査において認められた所見以外に，全身毒性の徴候はみられなかった。2 つの中用量群では，一部の動物が一過性の体重減少を示したが，いずれの動物も投与期間終了時までに回復した。

4%（320 mg/kg/day）群の半数を超える動物で，肝臓に多巣性壊死，胆管増生及び線維化，並びに肝細胞肥大及び再生を特徴とする変化が発生した。血中の肝機能パラメータの上昇が認められなかったことから，これらの所見は軽度と判断された。高用量群（タピナロフクリーム 6% ; 480 mg/kg/day）では，全身毒性の様々な徴候［体重増加量の顕著な減少，血小板増加，高脂血症，ALT 活性及び総ビリルビン濃度の高値，肝重量高値，門脈周囲域（zone 1）における肝細胞の散在性のアポトーシスや貪食細胞の反応を伴う壊死を随伴する肝細胞の肥大，局所的な胆管増生など］が認められた。

旧バッチ又は cGMP 適用製造バッチを使用したタピナロフクリーム 3%又は 4%（それぞれ 225 又は 320 mg/kg/day）の投与群間には，明らかな差はみられなかった。タピナロフは，2 つの中用量群で軽度の皮膚反応，高用量［6%（480 mg/kg/day）］群で軽度～中等度の反応を誘発する作用があった。認められた皮膚反応は，皮膚の乾燥，紅斑，弾性の低下，亀裂などであった。

損傷皮膚と健常皮膚でのタピナロフの毒性に明らかな差はみられなかった。

以上より，本試験で得られたすべてのデータ（一般状態観察，臨床検査値，剖検，病理組織学的評価など）を解析したところ，タピナロフクリーム 1%（80 mg/kg/day）の 28 日間経皮投与群で，タピナロフ投与に関連した重篤な全身毒性は認められなかった。同群では 1 例の肝臓で，肝細胞の壊死，炎症及び再生が認められたが，血中の肝機能パラメータの上昇を伴わなかったことからごく軽度な変化と判断した。これらの変化は軽度で臨床的に懸念されるものでなかった。したが

って，0%（基剤対照），1%，3%，4%又は 6%のタピナロフクリーム（処方 A；投与量はそれぞれ 0，80，225，320 又は 480 mg/kg/day）として，タピナロフをウサギに 28 日間経皮投与した本試験の条件下では，投与期間中に 1%群で明らかな毒性が認められず，タピナロフクリームの NOAEL は 1%（80 mg/kg/day）と判断された。

2.6.6.3.1.4 ミニブタ反復投与毒性試験

2.6.6.3.1.4.1 ミニブタの 7 日間経皮投与毒性及び皮膚刺激性試験［報告書番号 20[redacted]N163449］

（参考資料：CTD4.2.3.2-11）

本試験では，雌雄 Göttingen ミニブタに 7 日間反復経皮投与したときのタピナロフの毒性，皮膚刺激性及び TK を検討することを目的とした。評価項目は，毎日の一般状態観察及び皮膚刺激性スコア判定（Draize 法による紅斑及び浮腫の評価），体重，血液学的検査及び血液生化学検査値，肝重量，並びに肉眼及び病理組織学的検査であった。投与 1 及び 7 日目に採取した血漿を用いて TK 評価を実施した。

0%（基剤対照），1%，2%又は 4%のタピナロフクリーム（処方 D；0，10，20 及び 40 mg/g）を，Göttingen ミニブタ（各群雌雄各 1 匹）に約 2 g/kg（クリーム 0%，1%及び 2%）の重量又は 2 mL/kg（クリーム 4%）の容量で 1 日 1 回（約 23 時間），7 日間経皮投与した（各群の投与量はそれぞれ 0，20，40 又は 80 mg/kg/day）。初回投与の 7 日前及び約 24 時間前，並びに試験期間中の必要な時点に，各動物の背部及び側腹部の毛を除毛した（電気バリカン）。投与開始前に体重を測定し，本試験の全供試動物の平均体重を用いて投与面積を算出した。各ミニブタの投与部位は体表面積の約 10%に相当し，投与前に投与部位を油性マーカーでマーキングした。基剤又はタピナロフクリームをワックスペーパー（タピナロフクリーム 0%，1%及び 2%）又は 50 cc シリンジ及びガラス棒（タピナロフクリーム 4%）を用いて，投与部位に直接塗布し，塗布部位をコットンガーゼパッチで覆った。投与部位が半閉塞状態となるように，非刺激性のテープを用いてコットンガーゼパッチを皮膚に固定し，その上からミニブタの首に装着したカラーに固定されたフレキシブルネットで覆った。約 23 時間の投与期間の終了時，コットンガーゼパッチ及びネットを除去し，刺激性スコアの判定の約 1 時間前に逆浸透処理した温水及びガーゼで拭いた。

4%のタピナロフクリーム群の投与 7 日目の $AUC_{0\text{-}t}$ に雌雄差はなく，雄では投与 1 日目と 7 日目の $AUC_{0\text{-}t}$ は同等であった。投与 7 日目の $AUC_{0\text{-}t}$ は，タピナロフクリームの投与濃度を 2%から 4%に上昇させた際，雄では用量増加に伴って用量比通りに増加した。投与濃度を上昇させても，C_{max} は必ずしも上昇しなかった。C_{max} に対する一貫性のある雌雄差は認められなかった。t_{max} は 2～8 時間であり，投与濃度，投与日又は性別による t_{max} に対する一貫した影響は認められなかった。タピナロフに関連した皮膚刺激性（紅斑又は浮腫），その他の一般状態変化，並びに体重，臨床検査値，肝重量及び皮膚の病理組織所見に変化は認められなかった。

結論として，Göttingen ミニブタ（各群雌雄各 1 匹）に 0%（基剤対照），1%，2%又は 4%のタピナロフクリーム（処方 D；0，10，20，40 mg/g）を，2 g/kg の重量又は 2 mL/kg の容量で 1 日 1 回（約 23 時間），7 日間経皮投与した（投与量はそれぞれ 0，20，40 又は 80 mg/kg/day）。タピナロフに関連した皮膚刺激性の所見（紅斑又は浮腫），その他の一般状態変化，並びに体重，臨床検査値，肝重量及び皮膚の病理組織所見の変化は認められなかった。

2.6.6.3.1.4.2 ミニブタの7日間皮膚刺激性試験［報告書番号 20[redacted]N204716］

（参考資料：CTD4.2.3.2-12）

本試験は，雄性 Göttingen ミニブタに 7 日間反復経皮投与したときのタピナロフの 3 種類の製剤の皮膚刺激性及び TK を評価することを目的とした。本試験の皮膚刺激性評価を実施する前に，3 種類の基剤の最大投与容量（2 mL/kg）又は投与重量（2 g/kg）の投与実行可能性を評価した。タピナロフは，0%（基剤対照）及び 2%（w/w）のクリーム（処方 E，F 及びミグリオール／Kolliwax 配合処方）で事前に調製されたものが供給された。

タピナロフの各クリーム剤をミニブタ（各群雄 3 匹）の健常皮膚に 1 日 1 回（約 23 時間），2%の濃度で 7 日間塗布した。これらの群の経皮投与部位は BSA の 10%とした。投与開始前に実施した製剤化のフィージビリティ試験（上記の各投与群の 1 例目のミニブタの BSA の 10%に目的に沿って適切な基剤を約 23 時間塗布した）で決定したとおり，投与量は 2 g/kg/day とした。

先行して実施した旧処方又は処方 A を用いたミニブタ経皮投与試験では，濃度 2%（w/w）のタピナロフクリームを使用していた。

ミニブタ 1 匹の健常皮膚に，すべての 0%（基剤対照）製剤を，投与部位あたり 4 g の重量［タピナロフ投与群と同じ製剤重量（g）／皮膚面積（cm^2）比］で 1 日約 23 時間，7 日間経皮投与した。各動物に 8 × 11 cm の投与部位を 4 ヵ所設定した（1 ヵ所は無投与）。投与開始の 14 日前，7 日前及び 1 日前，並びに試験期間中の必要時に，各動物の背部及び側腹部の毛を除毛した。
適用部位をテープ及びチューブネットで所定の位置に保持されたガーゼパッチで半閉塞状態とした。曝露期間終了時，ネット及びパッチを除去し，逆浸透処理した温水及びコットンガーゼですべての投与部位を拭いた。

評価項目／パラメータは，一般状態観察，皮膚刺激性（Draize 法を用いたスコア化），体重，並びに肉眼及び病理組織学的検査（投与皮膚及び非投与皮膚）であった。投与 1 及び 7 日目に採取した試料を用いて，TK 評価を実施した。

探索的バイオマーカー及びタピナロフ濃度の測定，並びにマトリックス支援レーザー脱離イオン化法（MALDI）及び蛍光寿命イメージング顕微鏡法（FLIM）による解析のため，皮膚試料を採取した。また，さらなる研究のために血漿を採取した。これらの分析はいずれも，別の試験計画書の下で実施した。

製剤化のフィージビリティ試験では，3 種類の基剤はいずれも 2 g/kg の重量で，BSA の 10%に約 23 時間投与可能であることが確認された。ミグリオール／Kolliwax 配合処方は他の基剤と比較して，曝露期間終了時に除去しにくかった。除去後 1 時間の時点で，いずれの基剤についても皮膚刺激性は認められなかった。

投与 1 及び 7 日目のタピナロフの全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-t} の平均値）は，処方 F での投与時に最も低値であった。処方 E 及びミグリオール／Kolliwax 配合処方での投与時のタピナロフの平均 C_{max} 値は，処方 F での投与時と比較して約 15%～75%高かった。処方 E 及びミグリオール／Kolliwax 配合処方での投与時のタピナロフの平均 AUC_{0-t} 値は，処方 F での投与時と比較して約 1.5～2.7 倍高かった。ミグリオール／Kolliwax 配合処方での投与時と処方 E での投与時のタピナロフの全身曝露は同等（35%以内の差）であった。

無処置皮膚と比較して，3 ヵ所の投与部位すべてでごく軽度な真皮浮腫が認められた。さらに，ミグリオール／Kolliwax 配合処方での投与時に血管周囲の炎症性細胞浸潤の増加が認められた。基剤が異なる 3 種類のタピナロフクリーム 2%を投与した各群の 2 例又は 3 例に，ごく軽度な表皮肥厚／過形成を伴うごく軽度～軽度の真皮浮腫が認められた。ミグリオール／Kolliwax 配合処方のタピナロフクリーム 2%を投与した 1 例で，真皮の血管周囲に炎症性細胞浸潤の増加が認められた。ミグリオール／Kolliwax 配合処方のタピナロフクリーム 2%を投与した 1 例で，表皮に多巣性の好中球浸潤が認められたが，この所見は偶発的（タピナロフ又は製剤処方に無関係）なものと判断された。

結論として，3 種類の基剤を用いたタピナロフクリーム 2%（処方 E，F 及びミグリオール／Kolliwax 配合処方）を雄性 Göttingen ミニブタ（各群 3 匹）の BSA の 10%に 1 日約 23 時間，7 日間経皮投与し，皮膚刺激性を評価し，さらに，ミニブタ 1 匹の皮膚に面積のより小さい投与部位を設定し，投与部位あたり 4 g の重量［タピナロフ投与群と同じ製剤重量（g）／皮膚面積（cm^2）比に設定］で基剤を塗布した。その結果，病理組織学的検査では，3 種類の基剤すべて（試験物質含有の有無を問わない）の投与部位でごく軽度～軽度の真皮浮腫が認められた。さらに，ミグリオール／Kolliwax 配合処方での投与時に血管周囲の炎症性細胞浸潤の増加が認められた。基剤が異なる 3 種類すべてのタピナロフクリーム 2%の投与により，ごく軽度の表皮肥厚／過形成が認められた。

2.6.6.3.1.4.3 ミニブタの 28 日間経皮投与毒性試験及び 14 日間回復性試験［報告書番号 20[redacted]N163816］

（参考資料：CTD4.2.3.2-13）

本試験は，タピナロフをミニブタに 1 日 6 時間，非閉塞条件下で 28 日間反復経皮投与したときの毒性及び TK プロファイルを評価すること，並びに認められた毒性の回復性を 14 日間の回復期間後に評価することを目的とした。

雌雄各 16 匹の Göttingen ミニブタを 4 つの投与群に無作為に割り付けた。全動物に 0%（基剤対照），1.5%，3%又は 6%のタピナロフクリーム（処方 B）を 1 日 6 時間として 28 日間反復経皮投与（非閉塞条件）し，その後，動物を安楽殺し剖検に供した（主試験群は投与 30 日目，回復試験群は投与 43 日目）。投与容量は基剤対照群を含むいずれの群も 1.5 mL/kg とし，各群の投与量はそれぞれ 0，23，44 及び 87 mg/kg/day であった。

本試験の評価パラメータは，死亡の有無，一般状態観察，Draize 評価系を用いた皮膚投与部位の評価，体重，摂餌量，眼科学的検査及び心電図（ECG）検査であった。投与開始前，投与 30 及び 43 日目（回復期間終了時）に 1 回ずつ，全動物の臨床検査（血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学検査及び尿検査）を実施した。さらに，投与 1 及び 28 日目にすべての動物から一連の血液試料を採取し，タピナロフの血漿中濃度を分析した。28 日間の投与期間終了時に主試験群を安楽殺し（投与後 36 時間の TK 評価時点を設けたため，投与 30 日目に安楽殺），剖検及び臓器重量の測定に供した。回復試験群については投与期間終了後さらに 14 日間観察した後，剖検及び臓器重量の測定に供した。その後，全動物から採取した組織試料を病理組織学的検査に供した。

6%（87 mg/kg/day）まで，タピナロフ投与に起因する可能性がある死亡，並びに体重，摂餌量，

眼科学的及びECG所見，臨床検査値及び臓器重量の変化は認められなかった。

タピナロフクリーム6%（87 mg/kg/day）群では，投与部位の皮膚発赤（軽度の赤色斑又は軽度の皮膚発赤と報告）の発生率及び頻度が，基剤対照群と比較して軽度に高かった。タピナロフクリーム群のいずれの動物でも，回復期間中に皮膚投与部位の発赤は認められなかった。

タピナロフクリーム3%（44 mg/kg/day）群では，ごく軽度の紅斑が投与22及び30日目に雄各1/3例で認められたほか，雌1/3例で投与22日目のみに認められた。タピナロフクリーム6%（87 mg/kg/day）群でも，ごく軽度の紅斑が雄1/5例で投与15，22及び30日目に，雌3/5例で投与22日目に，雌1/5例で投与30日目に認められた。タピナロフクリーム6%（87 mg/kg/day）群では，軽度～中等度の紅斑も，3/5例で投与15日目のみに認められた。さらにタピナロフクリーム6%（87 mg/kg/day）群では，投与部位の中等度の鱗屑が雌1例で投与19日目のみに認められた。回復期間中，いずれの動物でも皮膚への影響は認められなかった。

6%（87 mg/kg/day）まで，タピナロフクリーム投与に起因する可能性がある剖検所見は認められなかった。病理組織学的検査では，投与部位のごく軽度の表皮過角化（正角化性）が，0%（基剤対照），1.5%，3%又は6%（それぞれ0，23，44又は87 mg/kg/day）のそれぞれ0/6，5/6，2/6及び5/6例で認められた。さらに，投与部位のごく軽度の表皮過角化は，2週間の回復期間終了時にも，6%（87 mg/kg/day）の3/4例で認められた。この所見は表皮及び真皮のその他の変化を伴わなかったことから，毒性学的意義のない変化と判断された。

結論として，0%（基剤対照），1.5%，3%又は6%のタピナロフクリーム（処方B；投与量0，23，44及び87 mg/kg/day）をGöttingenミニブタに1日6時間として28日間反復経皮投与（非閉塞条件）したとき，良好な忍容性を示し，3%及び6%（44及び87 mg/kg/day）の一部の動物にごく軽度な一般状態変化（主として経皮投与部位の軽度の紅斑）が認められたのみであった。これらの所見は回復期間中には認められず，完全な回復性が示された。したがって，タピナロフクリームのNOAELは6%（87 mg/kg/day）と判断された。

2.6.6.3.1.4.4 ミニブタの28日間経皮投与毒性試験［報告書番号20[redacted]N167695］

（参考資料：CTD4.2.3.2-14）

本試験は，0%（基剤対照），1%，2%又は4%のタピナロフクリーム（処方D）をGöttingenミニブタ（各群雌雄各3匹）の背部皮膚（約500 cm^2，BSAの約10%）に，投与容量の初期設定値を2 mL/kgとして28日間反復経皮投与したときの毒性及びTKを検討することを目的とした（投与量はそれぞれ0，17，36又は74 mg/kg/day）。評価パラメータは，一般状態観察，皮膚の観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学検査及び尿検査（投与開始前及び投与4週目），眼科学的検査，ECG検査（投与開始前及び投与4週目），臓器重量，並びに剖検及び病理組織学的検査とした。投与1及び28日目に採取した試料を用いて，TK評価を実施した。

各投与日の投与後，投与部位を約23 ± 1時間にわたって半閉塞状態とし，その後，次回投与前に優しく洗浄した。投与部位で投与容量が異常に多いことが確認されたことから，雄では投与15日目，雌（投与10日目の基剤対照群の交換用の雌を除く）では投与14日目から試験終了時まで，容量を1 mL/kgに減らした。その結果，1～4群の用量は0，9，18及び37 mg/kg/dayに減量となった。

雌におけるタピナロフの全身曝露量（C_{max}及びAUC_{0-t}の平均値）は，概して雄に比べて顕著に高値であった（約2～7倍）。投与28日目のC_{max}の平均値は投与1日目と概ね同程度であったが，AUC_{0-t}の平均値は投与14又は15日目に用量を50%減量したにもかかわらず，投与1日目に比べて概ね同程度であったか，又は約3倍も高かった。全身曝露量は概して用量増加に伴って増加したが，一貫した用量比例性は認められなかった。

全例が予定剖検日まで生存した。投与部位皮膚の評価，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。

結論として，0%（基剤対照），1%，2%又は4%のタピナロフクリーム（処方D；投与量はそれぞれ0，9/17，18/36又は37/74 mg/kg/day）をミニブタの皮膚（約500 cm^2，BSAの約10%）に1日1回，28日間経皮投与したとき，3用量すべてで投与1及び28日目にタピナロフへの全身曝露が認められた。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4%（74/37 mg/kg/day）と判断され，NOAELでのAUC_{0-t}及びC_{max}の雌雄平均値はそれぞれ26.3 ng·hr/mL（範囲：9.31～68.6 ng·hr/mL）及び2.69 ng/mL（範囲：1.06～5.70 ng/mL）であった。

2.6.6.3.1.4.5 ミニブタの28日間経皮投与毒性試験［報告書番号20[redacted]N221246］

（評価資料：CTD4.2.3.2-15）

本試験は，FDA GLP及びOECD GLPに従って実施した。

本試験は，0%（基剤対照），0.5%，1%又は3%のタピナロフクリーム（処方F）をGöttingenミニブタ（各群雌雄各3匹）の背部皮膚（BSAの約10%）に1日2回（10±1時間間隔）28日間経皮投与したときの経皮投与毒性，皮膚刺激性及びTKを検討することを目的とした。基剤対照及びタピナロフクリームの投与重量はいずれも1 g/kg/回（2 g/kg/day）に設定したため，投与量はそれぞれ0，10，20又は60 mg/kg/dayであった。各投与日の投与後，投与部位を1回目投与から約20±1時間にわたって半閉塞状態とし，その後，次回投与前に洗浄した。

反復投与期間中の評価パラメータは，一般状態観察，皮膚の観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学検査及び尿検査（投与開始前及び投与4週目），眼科学的検査，ECG検査［投与開始前（投与開始2及び1週間前）及び投与4週目］，臓器重量，皮膚の定量的解析，並びに剖検及び病理組織学的検査とした。投与1及び28日目に採取した試料を用いて，TK評価を実施した。

全例が定期解剖日まで生存した。投与部位の皮膚の評価では，タピナロフ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，毒性を示唆する変化は認められなかった。

0.5%（10 mg/kg/day）で投与28日目の2時点（1回目投与の3及び24時間後）の血漿中濃度が雌各1例で定量可能であったが，これを除き，0.5%及び1%（10及び20 mg/kg/day）では，投与1及び28日目におけるタピナロフの血漿中濃度は定量下限未満であった。3%（60 mg/kg/day）では，投与1及び28日目におけるタピナロフの血漿中濃度が，投与（1又は2回目投与）後3時間まで定量可能であった。3%（60 mg/kg/day）の投与1及び28日目のt_{max}は投与（1又は2回目投与）後1～3時間であった。C_{max}は雌雄とも0.306～1.81 ng/mLであった。概して，濃度値の大部分が

定量下限未満であったため，AUC_{0-t}は算出できなかった。

タピナロフの濃度は，雌雄とも，真皮下層に比べて表皮／真皮上層で概して高かった。剖検時の皮膚中濃度の雌雄平均値は 3%（60 mg/kg/day）群で最も高く，表皮／真皮上層では 8265 ng/g，真皮下層では 1832 ng/g であった。投与 28 日目の 24 時間の血漿中濃度が定量下限未満であったため，皮膚中濃度と血漿中濃度の比を評価することはできなかった。

結論として，0%（基剤対照），0.5%，1%又は 3%のタピナロフクリーム（処方 F；投与量はそれぞれ 0，10，20 及び 60 mg/kg/day）をミニブタ（各群雌雄各 3 匹）の皮膚（BSA の約 10%）に 1 日 2 回，28 日間経皮投与したとき，皮膚刺激性及び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%（60 mg/kg/day）と判断された。タピナロフの皮膚中平均最高濃度（表皮／真皮上層）はタピナロフクリーム 3%群（60 mg/kg/day）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。

2.6.6.3.1.4.6 ミニブタの 13 週間経皮投与毒性及びトキシコキネティクス試験，並びに 4 週間回復性試験［報告書番号 20[redacted]N163817］

（参考資料：CTD4.2.3.2-16）

本試験では，0%（基剤対照），1%，2%又は 4%のタピナロフクリーム（処方 C；それぞれ 0，10，20 又は 40 mg/g，1 匹あたりの投与重量 17～22.7 g/回）をミニブタの背部皮膚に 1 日 2 回，少なくとも 13 週間経皮投与したときの毒性を評価して TK を検討し，認められた変化の回復性，持続性及び遅発性について 4 週間の回復期間後に評価した。雌雄 Göttingen ミニブタを 4 群［各群雌雄各 5 匹（各群雌雄各 2 匹を 4 週間回復性試験に使用）］に割り付け，1 日 2 回経皮投与した。各群に，投与製剤を 37.8 mg/cm^2 の重量（BSA に応じて，1 匹あたり重量 17～22.7 g/回に相当）で塗布し，投与量は約 0，18～28，36～56 又は 72～94 mg/kg/day であった。

死亡の有無，一般状態，体重，摂餌量，皮膚刺激性スコア評価，眼科学的検査，ECG 検査，臨床検査及び病理学的検査に基づき，毒性を評価した。TK 評価のため，血液試料を採取した。

t_{max}の個別値は用量及び試料採取日によって幅広い値を示し，投与前から投与後 24 時間までの範囲であった。各用量の雌雄のデータを併合したところ，t_{max}は 2～10 時間の範囲であった。3 つのそれぞれの採取日から算出した終末消失半減期は 3.6～38.4 時間と範囲が広かったが，投与 91 日目の半減期は 4.6～8.8 時間であった。終末相消失半減期に明らかな性差及び用量依存性は認められなかった。全身曝露（C_{max}及びAUC_{0-24}）は用量依存的に増加した。いずれの投与群でも，投与 28 日目の曝露量は投与 1 及び 91 日目に比べて高かった。AUC データに基づくと，4%(40 mg/g)までの濃度で調製したタピナロフクリームを 22.7 g まで 1 日 2 回 3 ヵ月間経皮投与したときには全身へのタピナロフの蓄積は認められなかった。

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）の朝にタピナロフクリーム 4%（40 mg/g）を投与した雌 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，臨床的及び病理学的に意義のある影響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判断した。

臨床的な影響（一般状態，体重及び摂餌量，皮膚刺激性スコア，眼科学的検査及び ECG 検査）

は，基剤対照群を含む全群でみられた可逆的かつごく軽度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 週の間に全群で同様の所見がみられた。皮膚の変化は最大で投与部位の皮膚の変色，乾燥及び用量依存的かつ低頻度の境界明瞭な紅斑にまで進行した。皮膚の変化は，基剤対照及び／又はタピナロフクリームの影響，投与部位への処置，又は被験物質の残屑の蓄積によるものと考えられた。タピナロフクリーム 4%の雄で好中球数のごく軽度の高値，雌で単球及び好酸球数のごく軽度の低値がタピナロフ投与に関連した可逆的な変化として認められた。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，いずれの変化も毒性学的意義は低いと考えられた。

タピナロフクリームの塗布によって，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。

結論として，0%（基剤対照），1%，2%又は 4%のタピナロフクリーム（処方 C；それぞれ 0，10，20 又は 40 mg/g）を雌雄 Göttingen ミニブタに 37.8 mg/cm^2 の重量（1 匹あたりの投与重量 17～22 g/回）で 1 日 2 回 13 週間（91 日間）経皮投与した（投与量は約 0，18～28，36～56 又は 72～94 mg/kg/day）。投与の影響としては，ごく軽度かつ可逆的な皮膚所見が全群で認められ，臨床検査においてごく軽度かつ可逆的な影響が 4%（40 mg/g）でのみ認められた。本試験の結果に基づくタピナロフクリームの NOAEL は，4%の 1 日 2 回投与（40 mg/g；36～47 mg/kg/回）と判断された。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。

2.6.6.3.1.4.7 ミニブタの 13 週間経皮投与毒性試験［報告書番号 20[redacted]N172520］

（評価資料：CTD4.2.3.2-17）

本試験は，FDA GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験は，0%（基剤対照），0.1%，1%，2%又は 4%のタピナロフクリーム（処方 E）を Göttingen ミニブタ（各群雌雄各 4 匹）の背部皮膚（BSA の約 10%）に 91 日間反復経皮投与［タピナロフクリーム 0%，0.1%又は 1%の 1 日 1 回投与；タピナロフクリーム 2%及び 4%の 1 日 2 回投与（約 10 時間間隔）］したときの毒性及び TK を検討することを目的とした。試験製剤を 1 mL/kg/回の容量で投与し，各群の投与量はそれぞれ 0，0.9，9.7，38.4 又は 76.2 mg/kg/day であった。各投与日の投与後，投与部位を約 23 ± 1 時間にわたって半閉塞状態とし，その後，次回投与前に洗浄した。

評価パラメータは，タピナロフの血漿中濃度，一般状態観察，皮膚の観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学検査及び尿検査［投与開始前（投与開始 1 週間前），投与 4 及び 13 週目］，眼科学的検査，ECG 検査［投与開始前（投与開始 1 週間前）及び投与 12 週目］，臓器重量，並びに剖検及び病理組織学的検査とした。投与 1 日目，投与 4 及び 13 週目に採取した試料を用いて，TK 評価を実施した。

投与 1 日目の雌の全身曝露（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ の平均値）は概ね雄と同程度であったが，投与 4 週目の雌の全身曝露量は雄の 2～10 倍高かった。投与 13 週目の全身曝露は，0.1%及び 1%の雌で雄の 2～18 倍高かったが，2%及び 4%では雌雄で同程度（30%以内の差）であった。概して，投与 13 週目の全身曝露量は，雌では用量にほぼ比例した増加を示したが，雄では用量比を上回る増加

を示した。雄では，投与 4 週目の全身曝露は概ね投与 1 日目と同程度であった。投与 13 週目までに，全身曝露は投与 1 日目に比べて概ね 3～7 倍高くなった。雌では，投与 4 週目の全身曝露は概ね投与 1 日目に比べて顕著に高かった（約 2～25 倍）。投与 13 週目の全身曝露は，投与 1 日目に比べて概ね 2～12 倍高かった。

全例が定期解剖日まで生存した。投与部位皮膚の評価，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。

結論として，0%（基剤対照），0.1%，1%，2%又は 4%のタピナロフクリーム（投与量はそれぞれ 0，0.9，9.7，38.4 又は 76.2 mg/kg/day）をミニブタの背部皮膚（BSA の約 10%）に 1 日 1 回又は 1 日 2 回，13 週間経皮投与したとき，タピナロフ投与に関連した皮膚刺激性及び全身毒性の徴候は認められなかった。1%以上（9.7 mg/kg/day 以上）の用量では，投与 1，4 及び 13 週目にタピナロフの全身曝露が認められ，0.1%以上（0.9 mg/kg/day 以上）の用量では，投与 13 週目にタピナロフの全身曝露が認められた。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 4%の 1 日 2 回投与（76.2 mg/kg/day）と判断され，NOAEL の投与 13 週目における $AUC_{0\text{-}t}$ 及び C_{max} の雌雄平均値はそれぞれ 36.1 ng·hr/mL（範囲：11.1～55.5 ng·hr/mL）及び 7.14 ng/mL（範囲：1.27～20.7 ng/mL）であった。

2.6.6.3.1.4.8 ミニブタの 9 ヵ月間経皮投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験［報告書番号 20[redacted]N299302］

（評価資料：CTD4.2.3.2-18）

本試験は，FDA GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験は，0%（基剤対照），0.5%，1%又は 3%のタピナロフクリーム（処方 F）を Göttingen ミニブタ（各群雌雄各 4 匹）の背部皮膚（BSA の約 10%）に 1 g/kg/回の重量で 1 日 2 回（10 ± 1 時間間隔）9 ヵ月間経皮投与したときの経皮投与毒性，皮膚刺激性及び TK を検討することを目的とした（投与量はそれぞれ 0，10，20 又は 60 mg/kg/day）。基剤対照群及び高用量群に各群雌雄各 2 匹を追加し，9 ヵ月間の投与期間後に 4 週間休薬させた。各投与日の投与後，投与部位を 1 回目投与から約 20 ± 1 時間にわたって半閉塞状態とし，その後，次回投与前に洗浄した。

評価項目／パラメータは，一般状態観察，体重，目視による摂餌量の推定，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学検査及び尿検査，眼科学的検査，ECG 検査，臓器重量，皮膚の定量的解析（非 GLP），並びに剖検及び病理組織学的検査とした。投与 5，26 及び 39 週目に採取した試料を用いて，TK 評価を実施した。

タピナロフの血漿中濃度は用量，採血時期及び性別にかかわらず，各 TK 評価日の 1 回目投与後 24 時間まで検出されたが，例外として，0.5%（10 mg/kg/day）の雌雄ではそれぞれ投与 39 及び 5 週目の血漿中タピナロフが 1 回目投与後 13 時間まで検出された。投与 26 週目の全身曝露（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ の雌雄平均値）は，0.5%～1%（10～20 mg/kg/day）の範囲では用量比を上回る増加を示し，1%～3%（20～60 mg/kg/day）の範囲では用量比を下回る増加を示した。投与 5 及び 39 週目の全身曝露は，0.5%～3%（10～60 mg/kg/day）の範囲で概ね用量に比例して増加した。投与 26 週目の全身曝露は投与 5 週目と比較して 0.711～1.5 倍の差を示し，投与 39 週目の全身曝露は投与 5

週目と比較して 0.665～1.4 倍の差を示した。概して，試験全体の様々な時期の曝露に顕著な差（2 倍超）は認められなかった。

39 週間の経皮投与及び 1 ヵ月間の休薬後に安楽殺した雌雄ミニブタから採取した皮膚中のタピナロフの濃度は，真皮下層よりも表皮／真皮上層で高かった。タピナロフの平均皮膚中濃度は，概して用量の増加に応じて上昇した。タピナロフクリーム 4%（60 mg/kg/day）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検出された。

3%の雌 1 例が投与 35 日目の投与後 1 時間の TK 評価用採血後に死亡した状態で発見されたが，それ以外の全例は定期解剖日まで生存した。死因は採血手技に関連するもので，タピナロフ投与に関連しないと判断された。

タピナロフ投与に関連のある剖検所見又は病理組織所見は認められなかった。投与部位の皮膚の観察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。また，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，全身毒性は認められなかった。

結論として，0%（基剤対照），0.5%，1%又は 3%のタピナロフクリーム（処方 F；投与量はそれぞれ 0，10，20 及び 60 mg/kg/day）をミニブタの皮膚（BSA の約 10%）に 1 日 2 回，9 ヵ月間経皮投与したとき，皮膚刺激性及び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（処方 F）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%（60 mg/kg/day）と判断された。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（血漿）の雌雄平均値は相対的に低く，$AUC_{0\text{-}t}$ 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。タピナロフクリーム 3%群では，雌雄ともに 1 ヵ月間の休薬後も皮膚中にタピナロフが検出された。

2.6.6.3.2 皮下投与

2.6.6.3.2.1 ラット反復投与毒性試験

2.6.6.3.2.1.1 ラットの 7 日間皮下投与用量設定毒性試験［報告書番号 20[redacted]N160460］

（参考資料：CTD4.2.3.2-19）

本試験では，用量設定のため Wistar Han［Crl:WI(Han)］ラットにタピナロフを 7 日間反復皮下投与し，タピナロフの毒性及び TK を検討した。評価項目／パラメータとして，一般状態観察，体重，血液学的検査，血液生化学検査，肝臓，心臓及び脳重量，剖検，病理組織学的検査及び肝臓の遺伝子発現解析を実施した。投与 1 及び 7 日目に採取した試料を用いて，TK 評価を実施した。

40%ポリエチレングリコール（PEG）400 含有注射用滅菌水（v/v）を媒体として濃度 0（媒体対照），1，3.3 及び 10 mg/mL のタピナロフ投与液を調製し，ラット（各群雌雄各 4 匹）に 0（媒体対照），3，10 及び 30 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 6 又は 7 日間皮下投与した（投与容量 3 mL/kg）。TK 評価のため，各用量群に雌雄各 3 匹を追加した。低用量の投与液は溶液，中用量及び高用量の投与液は懸濁液として扱った。投与液量が不足したため，投与 7 日目に主試験群の高用量群（30 mg/kg/day）は雄 1 匹のみに投与したが，TK 群の動物は全個体とも投与 7 日目まで投与を実施した。

最初の投与液を調製した際，高用量の投与液（濃度 10 mg/mL）中に黒色／油状／薄片状の粒子が認められた。この投与液を投与開始の 4 日前に遠心ろ過したが，投与 2 日目の投与時に，4 mg/mL（10 mg/mL の投与液から希釈調製）及び 10 mg/mL の投与液中に黒色の粒子が認められた。投与液調製時及び投与時に認められた浮遊粒子は不純物と考えられた。これら投与液の汚染が本試験の結果に与えた影響は不明であった。投与液から試料を分取し，濃度分析に供した。

投与液の分析結果

試料	濃度（mg/mL）	予測濃度（mg/mL）
1 群	0.00	0.00
2/5 群	1.15	1.00
3/6 群	3.76	3.30
4/7 群	10.14	10.00

平均 $AUC_{0\text{-}t}$ は，投与 1 及び 7 日目では雌雄ともに概ね用量比どおりに上昇した。用量が 3 mg/kg/day から 3.3 倍又は 10 倍増加するにつれ，平均 $AUC_{0\text{-}t}$ はそれぞれ 2.2～5.2 倍又は 6.0～12 倍上昇した。しかし，平均 C_{max} の増加の程度は用量比を下回った。用量が 3 mg/kg/day から 3.3 倍又は 10 倍に増加するにつれ，平均 C_{max} はそれぞれ 1.2～3.5 倍又は 1.4～5.9 倍上昇した。

剖検所見として，投与部位の赤色化，痂皮，びらん又は肥厚が媒体対照群及びタピナロフ投与群で認められ，発現頻度はタピナロフ投与群でわずかに高かった。

タピナロフに関連した病理組織所見が，皮膚（投与部位），胸腺及び肝臓で認められた。

タピナロフ投与群の雌雄では，投与部位の真皮（皮下組織）における炎症の程度（中等度～高度）が媒体群（ごく軽度～軽度）と比較して強かった。同様に，タピナロフ投与群では，投与部位の真皮（皮下組織）における細菌感染の発現頻度も媒体群と比較して高かった。真皮（皮下組織）の細菌感染は，反復皮下投与による表皮細菌の侵入又は（細菌）汚染された投与液（媒体／タピナロフ）の投与によって二次的に発生した可能性がある。

30 mg/kg/day 群の雄で，ごく軽度の胸腺の細胞密度低下が認められた。タピナロフ投与群の雌では，肝細胞の微小空胞の発現頻度が増加した。小葉辺縁部の肝細胞空胞化の程度（ごく軽度）に群間で差はみられなかった。

媒体対照群と比較し，3 mg/kg/day 群以上の雄及び雌で，好中球数（それぞれ最大 2.3 倍及び 2.0 倍）及び血小板数が高値（それぞれ最大 1.25 倍及び 1.46 倍）であった。3 mg/kg/day 群以上の雌では，単球数及び大型非染色細胞数が高値であった（それぞれ最大 2.2 倍及び 2.7 倍）。3 mg/kg/day 群以上の雄では，好酸球数が低値であった（最大 0.39 倍）。10 mg/kg/day 群以上の雄及び雌では，総白血球数が高値であった（それぞれ最大 1.37 倍及び 1.72 倍）。10 mg/kg/day 群の雄及び 10 mg/kg 群以上の雌では，リンパ球数が高値であった。血小板数の高値を除き，これらの血液学的検査値の変化に用量依存性はなかった。

GDH 活性は，3 mg/kg/day 群以上の雌（最大 4.9 倍）及び 10 mg/kg/day 群の雄（1.71 倍，1 例の高値に起因）で高値であった。3 mg/kg/day 群以上の雌で，AST 活性（最大 1.50 倍）及びリン濃度（最大 1.35 倍）が高値であった。10 mg/kg/day 群以上の雌で，ALT 活性（最大 1.35 倍）及びカリウム濃度（最大 1.21 倍）が高値であり，アルブミン濃度（最大 0.88 倍）が低値であった。10 mg/kg/day 群の雌で，アルカリホスファターゼ活性（1.44 倍）が高値であった。ALT 活性及びカリウム濃度

の変化を除き，これらの血液生化学検査値の変化の程度は，10 mg/kg/day 群の雌で最も大きく，用量依存性を示さなかった。

一般状態観察では，投与 2 日目以降，媒体対照群を含む全群で，投与部位周囲に軽度の腫脹及び痂皮が認められた。10 mg/kg/day 群の雌 1 例では，投与 8 日目に中等度の腫脹が認められた。投与部位周囲の発赤が 10 mg/kg/day 群の雌で認められたが，その他の群ではみられなかった。30 mg/kg/day 群では，雌雄ともに平均体重増加量が試験期間を通して低値であった（投与 7 日目における体重増加量：媒体対照群で雄 11.70 g，雌 8.7 g に対し，30 mg/kg/day 群で雄 5.22 g，雌で –3.20 g）。

本試験では，タピナロフを雌雄ラットに 0（媒体），3，10 及び 30 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 6 又は 7 日間皮下投与した。投与液量が不足したため，投与 7 日目では主試験群の高用量群の雄 1 匹に投与したが，TK 群の動物は投与 7 日目まで全個体に投与した。真皮／皮下組織における炎症の程度は媒体対照群と比較し，全投与群の雌雄で高く，炎症を示す全身所見（血中の白血球数及び血小板数の高値，アルブミンの低値など）も認められた。タピナロフ投与群では，投与部位の真皮（皮下組織）における細菌感染の発現頻度が媒体群と比較して高かった。細菌感染は，反復皮下投与による表皮細菌の侵入又は汚染された投与液の投与によって二次的に発生した可能性が考えられた。30 mg/kg/day 群の雄で，ごく軽度の胸腺の細胞密度低下が認められた。全投与群の雌で，小葉辺縁部の肝細胞のごく軽度の微小空胞化が認められた。3 mg/kg/day 以上の群の雌で，GDH 活性，AST 活性，ALT 活性及び／又はアルカリホスファターゼ活性が高値であった。血液生化学検査値のほとんどの変化の程度は，10 mg/kg/day 群の雌で最も大きかった。媒体対照群を含む全群で，投与部位周囲に軽度の腫脹及び痂皮が認められた。10 及び 30 mg/kg/day 群の投与液中に黒色／油状／薄片状の粒子が認められた。これら投与液の汚染が本試験の結果に与えた影響は不明である。$AUC_{0\text{-}t}$ の平均値は，投与 1 及び 7 日目で雌雄ともに用量比どおりに増加した。

2.6.6.3.2.1.2 ラットの 7 日間皮下投与用量設定試験［報告書番号 20[redacted]N163819］

（参考資料：CTD4.2.3.2-20）

本試験では，タピナロフをラットに少なくとも 7 日間反復皮下投与したときの毒性及び TK を評価することを目的とした。

雌雄の Sprague Dawley［Hsd:Sprague DawleySD］ラットを 4 群（各群雌雄各 5 匹）に割り付け，タピナロフを 0［媒体対照（プロピレングリコール［USP］）］，200，500 又は 1000 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 4 mL/kg 投与した。TK 評価のため，200，500 及び 1000 mg/kg/day の追加の群（各群雌雄各 6 匹）を設定した。

死亡の有無，一般状態，体重，摂餌量，皮膚刺激性スコア，臨床検査及び病理学的検査を実施し，毒性を評価した。なお，TK 評価のため，血液試料を採取した。

一般状態，皮膚刺激性スコア及び獣医学的な観察において，全群でタピナロフ投与に関連した毒性が認められ，それらは主として投与部位の皮膚への影響に関連するものであった。タピナロフ投与に関連した一般状態所見として，皮膚の変色（黒又は褐色）及び肥厚，びらん／痂皮，筋緊張低下，蒼白，浮腫，紅斑／発赤，擦創，亀裂，被毛の赤色化及び粗毛，ハンドリング時の発声などが認められた。全投薬群で様々な一般状態所見が認められた一方，媒体対照群で認められた

所見の数及び発現頻度はタピナロフ投与群よりも少なかった。

平均体重増加量は投与 1～7 日目まで，タピナロフの全投与群の雄で媒体対照群と比較して統計学的に有意に低値であった。タピナロフ投与群の平均体重増加量は媒体対照群の 76.3%～81.6%であった。しかし，体重は増加していたことや，体重増加量の低値に関連した変化はその他のパラメータに認められなかったことから，毒性学的意義は低いと判断した。タピナロフ投与に関連した摂餌量の変化は認められなかった。

タピナロフの血漿中濃度は，投与 1 日目には 3 用量群とも投与後 2～4 時間に最高濃度に達したが，投与 7 日目では投与後 0.5 時間に最高濃度に達した。血漿中濃度はいずれの用量でも雌に比べて雄でわずかに低かったが，血漿中濃度及び $AUC_{0\text{-}10}$ のいずれも投与 1 又は 7 日目に顕著な性差は認められなかった。全身曝露は用量比どおりには増加せず，用量あたりの AUC は用量に対して対数関数的に増加した。投与 7 日目では，投与 1 日目に比べて C_{max} は高かったが，$AUC_{0\text{-}10}$ はわずかに低かった。投与 1 日目の終末相における消失半減期は 4.4～10.4 時間であり，用量依存性又は性差は認められなかった。投与 7 日目の半減期は 3.2～4.3 時間であり，投与 1 日目に比べて短かった。

雌雄のデータを併合したところ，投与 1 又は 7 日目のいずれの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}10}$ にも，中用量群（500 mg/kg）と高用量群（1000 mg/kg）で明らかな差は認められなかった。吸収はほぼ飽和状態に達したと判断された。同一の用量群で比較すると，投与 7 日目には投与 1 日目に比べて，C_{max} は 1.6～1.9 倍に上昇したが，$AUC_{0\text{-}10}$ はわずかに低下した。全身曝露低下の原因は不明であった。剖検では，媒体対照群を含む雌雄全用量群において，皮膚刺激性が複数例に認められた。皮下投与部位の肥厚及び／又は痂皮を含む皮膚刺激性を示す変化が，タピナロフの吸収に影響を及ぼした可能性がある。若しくは，投与液が高濃度であったため，タピナロフが皮下に析出及び／又は皮下組織に結合し，同じ部位にその後投与されたタピナロフの分散及び吸収が低下した可能性もある。本試験の AUC データに基づくと，全身へのタピナロフの経日的な蓄積はないと考えられた。

タピナロフの全投与群で，炎症を示唆する臨床検査値の変化として，好中球数及びグロブリンの軽度高値，アルブミン及びアルブミン／グロブリン比の軽度低値などが認められた。全投与群で認められた赤血球系パラメータ（RBC，Hb 及び Hct）及び網状赤血球数の軽度低値は炎症による二次的な変化であった可能性がある。これら臨床検査値に明確な用量依存性は認められなかった。

1000 mg/kg/day を投与された TK 群及び主試験群の雄各 1 例が，それぞれ投与 2 及び 3 日目に死亡した。TK 群の死亡例では，特記すべき剖検所見は認められなかった。主試験群の死亡例で剖検時に認められた剖検所見は，皮下投与部位の肥厚のみであった。これら 2 例の死亡はタピナロフの投与に関連した可能性が考えられた。

投与期間終了時の剖検では，全投与群の雌雄でタピナロフに関連した平均肝重量（絶対及び相対）の明らかな高値がみられた。肉眼所見として，媒体対照群を含む全群の雌雄の複数例で，皮下投与部位の肥厚及び／又は痂皮が認められた。皮下投与部位の痂皮及び肥厚の発現頻度に関して，タピナロフ投与群と媒体対照群で明らかな差はみられなかったことから，これらの病変は少なくとも部分的には媒体に起因すると考えられた。

投与期間終了時の剖検では，200 mg/kg/day 群の肝臓のみについて病理組織学的検査を実施した。200 mg/kg/day 群で認められた小葉辺縁部の肝細胞空胞化及びそれと相関する平均肝重量の高値は，タピナロフ投与に関連する可能性が高かった。

結論として，雌雄 Sprague Dawley ラットにプロピレングリコールを媒体とするタピナロフ投与液を 1 日 1 回 7 日間，0（媒体対照），200，500 又は 1000 mg/kg/day を 4 mL/kg の容量で皮下投与したところ，タピナロフ投与に関連した投与部位の皮膚所見として，全投与群の複数例で，皮膚の肥厚及び変色，びらん／痂皮，筋緊張低下，蒼白，浮腫，紅斑，擦創及び／又は亀裂が認められた。媒体対照群の投与部位でも程度及び頻度は低いものの皮膚病変が認められたことから，媒体対照物質もある程度の影響を及ぼし，タピナロフに関連する所見を悪化させた可能性が高いことが示唆された。小葉辺縁部の肝細胞空胞化はタピナロフに関連する可能性が高く，雄よりも雌で発現頻度が高かった。以上の結果より，本試験条件下ではタピナロフは良好な忍容性を示さず，NOAEL を判定できなかった。

2.6.6.3.2.1.3 ラットの 7 日間皮下投与媒体探索試験［報告書番号 20[redacted]N164986］

（参考資料：CTD4.2.3.2-21）

本試験では，雄性 Wistar Han ラットを用いる 7 日間皮下投与媒体探索試験としてタピナロフの忍容性及び TK を検討することを目的とした。主試験群の評価項目／パラメータは，一般状態観察，体重，肝重量，並びに剖検及び病理組織学的検査（投与部位，腎臓，胸腺）であった。投与 1 及び 7 日目に採取した試料を用いて，TK 評価を実施した。

コーン油，ピーナッツ油，オリーブ油及び 30% Captisol®水溶液の 4 種類をそれぞれ媒体として，タピナロフの 0 及び 10 mg/mL 溶液を調製した。

いずれの溶液も，3 mL/kg の容量でラットに投与した。タピナロフを雄性ラット（各群 3 匹）に 0（媒体）又は 30 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 7 日間皮下（背部）投与した。TK 評価のため，各タピナロフ投与液（30 mg/kg/day）に対して雄 3 匹を追加した。媒体への溶解限界（10 mg/mL）及び皮下投与容量（3 mL/kg）に基づき，投与可能な最高濃度を設定した。

投与 1 及び 7 日目のタピナロフの全身曝露（平均 C_{max} 及び平均 AUC_{0-t}）は，30% Captisol®を媒体とする皮下投与群で，コーン油，オリーブ油又はピーナッツ油を媒体とする投与群と比較し高かった。30% Captisol®を媒体とする投与群では，他の媒体と比較して平均 C_{max} 及び平均 AUC_{0-24} がそれぞれ 8～16 倍高値及び 2～4 倍高値であった。30% Captisol®を媒体としてタピナロフを投与した場合の t_{max} の中央値は 0.5 時間であり，油系の製剤で投与した場合（1～4 時間）に比べて早かった。使用媒体に関係なく，タピナロフの全身曝露は投与 7 日目と投与 1 日目とで同等であった。

媒体の種類及びタピナロフの有無にかかわらず，投与部位の反応が全例で認められた。Captisol®又はオリーブ油を媒体単独で皮下投与した群では，ごく軽度～軽度の出血及び浮腫が認められ，肉眼所見である赤色領域と一致した。Captisol®単独群の 1 例で，投与部位の皮筋にごく軽度の壊死が認められた。Captisol®媒体のタピナロフ投与群及びオリーブ油媒体のタピナロフ投与群では，媒体単独群と比較して，皮下出血及び浮腫の程度がわずかに上昇し（軽度～中等度），筋壊死の発現頻度及び程度がわずかに増加した（Captisol®媒体のタピナロフ投与群のみ）。タピナロフの有

無にかかわらず，Captisol®及びオリーブ油の投与群で認められた皮下組織中マクロファージの色素沈着（ヘモジデリン）は，赤血球貪食の結果と考えられた。タピナロフの有無にかかわらず，オリーブ油又はコーン油の投与群の各 1 例でごく軽度の皮下浮腫が認められた。油系媒体の投与群の全例で真皮／皮下に細胞外空胞形成が認められ，肉眼所見で認められた肥厚と一致した。この所見は大型で境界明瞭な空胞を特徴とし，空胞により皮下組織が顕著に膨張していた。細胞外空胞は，皮下及び真皮組織内に存在していた大きな球状の油が，標本作製の過程で溶剤により除去された後に残った大きな嚢胞状の間隙であると考えられた。空胞形成の量及び特徴に，油系媒体の種類（コーン油，オリーブ油，ピーナッツ油）及びタピナロフの有無による差はみられなかった。ごく軽度～中等度の組織球性炎症性細胞浸潤が投与部位の主に皮下組織に認められ，より程度は低いが真皮でも認められた。この所見の発現頻度及び程度は媒体の種類間で差はなく媒体対照群とタピナロフ投与群でも差はなかった。

タピナロフ投与に関連した変化として，ごく軽度の胸腺皮質のリンパ球密度低下が，オリーブ油媒体のタピナロフ投与群の 3 例，ピーナッツ油媒体のタピナロフ投与群の 2 例，コーン油媒体のタピナロフ投与群及び Captisol®媒体のタピナロフ投与群の各 1 例で認められた。本所見は，媒体単独群ではみられなかった。腎近位尿細管のごく軽度～中等度の空胞化が，Captisol®投与群（Captisol®媒体のタピナロフ投与群及び Captisol®単独群）の全例で認められた。タピナロフ投与により，空胞化の程度及び／又は発現頻度がわずかに上昇した。Captisol®等のシクロデキストリン系媒体は，腎尿細管に可逆的な空胞化を引き起こすことが知られている[3]。

媒体対照群と比較して，Captisol®媒体のタピナロフ投与群及びオリーブ油媒体のタピナロフ投与群の平均肝重量はわずかに高値であった（それぞれ 1.14 倍及び 1.17 倍）。

一般状態観察では，タピナロフの有無にかかわらず油系媒体を投与された全例で，背部被毛の濡れが観察された。本所見は，皮下腔に滞留した油が移行したことに由来すると考えられた。

結論として，30% Captisol®を媒体とする投与群では，投与 1 及び 7 日目におけるタピナロフの全身曝露が，コーン油，オリーブ油又はピーナッツ油を媒体とする投与群と比較して約 2～4 倍高かった。タピナロフ投与に関連した病理組織所見として，ごく軽度の胸腺皮質のリンパ球密度低下が全媒体のタピナロフ投与群で認められたほか，肝重量（絶対及び相対）のごく軽度の増加が，Captisol®媒体のタピナロフ投与群及びオリーブ油媒体のタピナロフ投与群で認められた。Captisol®媒体のタピナロフ投与群及びオリーブ油媒体のタピナロフ投与群では，それぞれの媒体単独群と比較して，真皮／皮下出血及び浮腫の発現頻度及び程度がわずかに上昇し，Captisol®媒体のタピナロフ投与群では，皮筋の壊死の発現頻度及び程度がわずかに上昇した。以下の媒体に関連したほとんどの所見はごく軽度～軽度であった；皮下組織の出血及び浮腫（Captisol®及びオリーブ油），皮筋の壊死（Captisol®），皮下組織中マクロファージのヘモジデリン沈着（Captisol®及びオリーブ油），皮下浮腫（コーン油及びオリーブ油），真皮及び／又は皮下組織における細胞外空胞形成（コーン油，オリーブ油又はピーナッツ油），皮下組織における組織球性炎症性細胞浸潤（すべての媒体），腎近位尿細管の空胞化（Captisol®）。いずれの所見もタピナロフとともに投与したとき，発現頻度及び／又は程度がわずかに上昇した。一般状態として観察されたのは，油系媒体を投与されたラット背部被毛の濡れのみであった。

2.6.6.3.2.1.4 ラットの 4 週間皮下投与毒性試験及び骨髄小核試験［報告書番号 20[redacted]N166805］

（評価資料：CTD4.2.3.2-22）

本試験は，FDA GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験では，Wistar Han［Crl:WI(Han)］ラットにタピナロフを反復皮下投与した際の毒性及び TK を検討することを目的とした。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。

Captisol®を 30%の濃度で逆浸透膜処理水と混合したものを媒体としてタピナロフ溶液を調製（pH 7.2± 0.6）し，3 mL/kg の容量でラットに投与した。ラット（各群雌雄各 10 匹）に 0（媒体対照），1，6 又は 30 mg/kg/day のタピナロフを 1 日 1 回 4 週間皮下投与した。TK 評価のため，各用量群に雌雄各 3 匹を追加した。

主試験群の評価項目／パラメータは，一般状態観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学検査，尿検査，眼科学的検査，臓器重量，並びに剖検及び病理組織学的検査（精子形成ステージの評価を含む）とした。投与 1 及び 28 日目に採取した試料を用いて，TK 評価を実施した。大腿骨の骨髄塗抹標本を評価，%PCE 及び PCE 2000 個中の小核を有する多染性赤血球（MPCE）数を計数した（結果は 2.6.6.4.2.2 項に要約）。

雌における全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-t} の平均値）は雄とほぼ同等であった（10%～39%雌で低値）。ただし，1 mg/kg/day 群の投与 1 日目及び 6 mg/kg/day 群の投与 28 日目における平均 C_{max} は，雌で雄と比較して約 50%～60%低値であった。投与 28 日目における全身曝露は投与 1 日目と同等であった（44%低値～37%高値の範囲）。全身曝露は用量増加に伴って増加した。増加の程度はほぼ用量比どおり又は用量比をわずかに上回った。用量を 1 mg/kg/day から 6 倍又は 30 倍に増加させると，全身曝露はそれぞれ 4～10 倍又は 24～58 倍に上昇した。

媒体対照群を含む全群の投与部位に病理組織所見が認められたことから，これらの変化は媒体あるいは投与操作に関連した変化と考えられたが，これらの変化は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 以上の投与群で，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 Hb 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所見が 30 mg/kg/day 群の雄及び雌で認められた。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）が，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所見は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。

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。

結論として，ラットに 0（媒体対照），1，6 又は 30 mg/kg/day のタピナロフを 1 日 1 回 4 週間皮下投与したところ，投与部位に認められたタピナロフ投与に関連した毒性所見は，1 mg/kg/day 群以上の皮下組織における炎症性細胞浸潤及び出血／浮腫，30 mg/kg/day 群における滲出物を伴う表皮過形成，表皮の潰瘍，真皮の炎症性細胞浸潤（混合細胞型）などであった。媒体対照群でも同様の病変がタピナロフ投与群よりも低い発現頻度及び程度で認められたことから，媒体の影響がタピナロフによって増強されたことが示唆された。全身毒性は認められなかった。以上のことから，本試験における全身毒性に関する NOAEL は 30 mg/kg/day と判断された（投与 28 日目における雌雄の平均曝露は $AUC_{0\text{-}t}$ で 2600 ng·hr/mL [1830～3480 ng·hr/mL]，C_{max} で 888 ng/mL [623～1640 ng/mL]）。

2.6.6.3.2.1.5 ラットの 13 週間皮下投与毒性及びトキシコキネティクス試験，並びに 4 週間回復性試験［報告書番号 20[redacted]N163820］

（参考資料：CTD4.2.3.2-23）

本試験では，タピナロフをラットに 13 週間反復皮下投与したときの毒性及び TK を評価し，認められた変化の回復性，持続性及び遅発性について 4 週間の回復期間後に評価した。

雄雌 Sprague Dawley［Hsd:Sprague Dawley®™SD®™］ラットを各群雌雄各 10 匹割り付けた。さらに，媒体対照群，中用量群及び高用量群には各群雌雄各 5 匹を追加し，TK サテライト群には各群雌雄各 3～9 匹を追加した。各群にタピナロフを，0［プロピレングリコール（USP）媒体対照］，3，10 又は 40 mg/kg/day の用量で 1 mL/kg 投与した。注射部位の皮膚反応を抑制するため，背部の皮下投与部位を最大 8 ヵ所に分け，ローテーション投与した。死亡の有無，一般状態，摂餌量，皮膚刺激性スコア，眼科学的検査，臨床検査及び病理検査を実施し，毒性を評価した。TK 並びに抗キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）IgM 及び IgG 抗体価の評価のため，血液試料を採取した。

投与 1，14 及び 91 日目の血漿中タピナロフ濃度は，雌雄 3 用量群とも投与後 0.5～2 時間（t_{max}）に最高濃度に達した。終末相の消失半減期（$t_{1/2}$）に明らかな性差は認められなかったが，高用量群（範囲 9.2～16.4 時間）では低用量群（範囲：1.7～6.7 時間）及び中用量群（範囲：2.8～4.2 時間）に比べて長く，用量依存的であった。全身曝露（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$）は，3～40 mg/kg/day で直線かつ用量依存的に増加した。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は認められなかった。

投与期間中 10 mg/kg/day 群の雄 1 例，並びに 40 mg/kg/day 群の雄 4 例及び雌 2 例が，死亡若しくは切迫解剖された。10 mg/kg/day 群の雄 1 例及び 40 mg/kg/day 群の雄の 1 例が切迫解剖に至った原因はタピナロフ投与に関連しないものと判断された。40 mg/kg/day 群の雄 1 例が死亡，並びに 40 mg/kg/day の雄 2 例及び雌 2 例が切迫解剖に至った原因は，投与部位の状態（1 ヵ所若しくは複数ヵ所）に基づいたものであり，タピナロフ投与に関連したものと判断された。

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，全投

薬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。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所見が低頻度で認められたことから，媒体自体にも影響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。

全投薬群の複数の動物で，投与部位の腫脹，皮膚の変色（赤，黒又は白色），硬化及び／又はびらん又は痂皮が認められた。

10 及び 40 mg/kg/day 群の雄で平均体重増加量の低値が認められたが（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，毒性学的意義のない変化と考えられた。

3 mg/kg/day 群の雌雄では，体重及び体重増加量にタピナロフ投与の影響は認められなかった。媒体対照群と比較し，タピナロフ投与群の摂餌量に，明らかな差はみられなかった。

特筆すべき眼科学的所見はみられなかった。

血液学的検査では，40 mg/kg/day 群で投与 93 日目に RBC 数及び Hb 濃度のごく軽度の低値が認められた。雌では Hct 値のごく軽度減少も認められた一方，雄では網状赤血球絶対数及び平均赤血球容積（MCV）のごく軽度な高値が認められた。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 群以上の雄及び 10 mg/kg/day 群以上の雌で好酸球数のごく軽度の低値が認められた。10 及び 40 mg/kg/day 群では，いずれの血液学的変化も回復 29 日目には回復していた。

投与 93 日目に血液生化学検査値で変化が認められたのは 40 mg/kg/day 群の雌で認められた，アルブミン及びアルブミン／グロブリン比（A/G 比）のごく軽度の低値，並びにコレステロールのごく軽度の高値のみであった。これらの変化は回復 29 日目までに回復した。

切迫解剖例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（RBC，Hb 及び／又は Hct）の低値及び網状赤血球数の高値，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，A/G 比及びコレステロールの低値であった。

3 mg/kg/day 群の雄，10 mg/kg/day 群の雌雄及び 40 mg/kg/day 群の雄では，投与期間中に抗 KLH-IgM 抗体価が検出限界未満（BDL）の動物数が増加し，この結果は，10 mg/kg/day 群の雄で，投与 64 及び 71 日目の抗 KLH-IgM 抗体価の平均値が統計学的に有意かつ中等度の低値を示したことと一致した。一方，3 及び 40 mg/kg/day 群の雄，並びに 3，10 及び 40 mg/kg/day 群の雌では，媒体対照群と比較して，統計学的に有意な抗 KLH-IgM 抗体価の変動は認められず，抗 KLH-IgM 抗体価の反応は用量依存的ではなかった。回復期間では抗 KLH-IgM 抗体価は媒体対照群と同等であった。

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～中等度に高値であり，多くは統計学的に有意であった。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り，統計学的に有意であった。

投与群及び雌雄にかかわらず，投与期間又は回復期間終了時の剖検時体重の平均値に，タピナロフ投与に関連した変化は認められなかった。

投与期間終了時では，10 又は 40 mg/kg/day 群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。

投与期間終了時の剖検では，全投与群の雌雄の投与部位において，タピナロフ投与に間接的又は直接的に関連すると判断された肉眼所見として，痂皮，変色，肥厚，隆起，擦過創，硬化及び潰瘍が認められた。タピナロフ投与に関連した変色及び痂皮は回復期間終了時の剖検でも雌雄で低頻度ながら認められ，完全には回復しなかった。

投与期間中あるいは終了時の解剖例（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，40 mg/kg/day 群の雌雄で，皮下組織の壊死及び皮筋の変性／壊死を除き，タピナロフ投与に関連した投与部位の病理組織所見が継続してみられた。

投与群及び雌雄にかかわらず，遅発性の剖検所見若しくは病理組織所見は認められなかった。

結論として，雌雄 Sprague Dawley ラットにプロピレングリコールを媒体とするタピナロフ投与液を 1 mL/kg の容量で 0（媒体対照），3，10 又は 40 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 13 週間皮下投与したところ，40 mg/kg/day 群でタピナロフ投与に関連した死亡が認められた。タピナロフ投与に関連した皮膚病変として，全用量群の複数例で，腫脹，皮膚の変色，硬化及び／又は真皮のびらん又は痂皮が認められた。媒体対照群の投与部位でも程度及び発現頻度は低いものの同様の皮膚病変が認められたことから，媒体自体もある程度の影響を及ぼし，タピナロフ投与に関連した所見を修飾したと考えられた。3 mg/kg/day 群では，タピナロフ投与に関連する全身毒性はみられなかった。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。

2.6.6.3.2.1.6 ラットの26週間皮下投与毒性試験及び6週間回復性試験[報告書番号20[redacted]N254469]

（評価資料：CTD4.2.3.2-24）

本試験は，FDA の GLP 規制によって許容された OECD GLP に従って実施し，本試験の一部（生体試料分析及び TK 評価）は FDA GLP に従って実施した。

本試験では，タピナロフをラットに 1 日 1 回 26 週間皮下投与したときの毒性及び TK を検討することを目的とした。6 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。

投与期間の評価項目／パラメータは，一般状態観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学検査及び尿検査，眼科学的評価，イムノフェノタイピング［総 T 細胞，ヘルパーT（Th）細胞，細胞傷害性 T 細胞，B 細胞，ナチュラルキラー（NK）細胞及び制御性 T（T_{reg}）細胞，ホルボール 12-ミリステート 13-アセテート（PMA）／イオノマイシン刺激後の末梢血単核球（PBMC）中の Th17 細胞］，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査とした。回復期間中の評価項目／パラメータは，一般状態観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学検査（トリグリセリド値のみ），イムノフェノタイピング（上記と同様），臓器重量，剖検及び病理組織学的検査と

した。投与 13 及び 26 週目に採取した試料を用いて，タピナロフの TK 評価を実施した。

Captisol®を 30%の濃度で注射用滅菌水と混合したものを媒体としてタピナロフ投与液（最終 pH 7.2±0.5）を調製し，Wistar Han［Crl:WI(Han)］ラット（各群雌雄各 12 匹）に 0（媒体対照），1，6 又は 30 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回 26 週間皮下投与した（投与容量 3 mL/kg）。媒体対照群，中用量群及び高用量群に雌雄各 10 匹を追加し，26 週間の投与期間後に 6 週間休薬させ，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。さらに，TK 評価のため，各用量群に雌雄各 6 匹を追加した。本試験では，経皮投与時より高い全身曝露下で評価を実施するため，投与経路として皮下投与を選択した。

媒体対照群（0 mg/kg/day）の雄 1 例を，偶発的な頸椎骨折のため投与 16 日目に安楽死させた。さらに，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（回復期間）に死亡発見された。この悪性線維性組織球腫は，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。

いずれの用量でも投与 13 及び 26 週目のタピナロフの全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-t}）には 2 倍を超えるような顕著な性差は認められなかった。したがって，雌雄併せた C_{max} 及び AUC_{0-t} の平均値を評価に使用した。C_{max} 及び AUC_{0-t} は，1 mg/kg/day から 30 mg/kg/day までほぼ用量比どおりに増加した。全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-t}）は投与 13 週目と投与 26 週目で同等であり，反復投与によるタピナロフの血漿中への蓄積は認められなかった。

タピナロフ投与に関連した病理組織所見が，胸腺及び投与部位で認められた。胸腺では，リンパ球密度低下（ごく軽度～軽度）が 30 mg/kg/日群の雌雄で投与期間終了時に認められ，同用量群で胸腺重量が低値であったことと一致した。投与部位の炎症反応に応答した血中リンパ球数の増加が全採血時点で認められていることから，胸腺のリンパ球密度低下は毒性学的な意義の低い変化と判断された。回復期間終了時には，胸腺のリンパ球密度低下及び血中リンパ球数の増加は認められず，完全な回復性が示された。

投与期間終了時の剖検では，投与部位の慢性炎症，毛包萎縮及び出血が，媒体対照群を含む全例で認められた。タピナロフ投与群では，炎症及び毛包萎縮の発現頻度／程度が用量依存的に増加した。鉱質沈着を伴う又は伴わない壊死が 30 mg/kg/day 群の投与部位で認められ，表皮肥厚及び表皮潰瘍も，タピナロフ投与群（特に 30 mg/kg/day 群の雌）で認められた。肉眼所見として認められた投与部位の肥厚は病理組織学的には慢性炎症と，脱毛は毛包萎縮と，痂皮は潰瘍又は表皮肥厚と，凝血塊及び暗色巣は出血と，淡色巣は鉱質沈着と一致した。6 週間の回復期間後における投与部位の所見から，媒体及びタピナロフに関連する投与部位の変化は回復に時間を要すると考えられた。肉眼的には，投与部位の肥厚，脱毛，痂皮，凝血塊及び暗色巣が回復性を示し，病理組織学的には，潰瘍及び出血は消失し，毛包萎縮及び表皮肥厚の発現頻度及び程度は減少した。肉眼的に淡色巣として認められた鉱質沈着は，その程度に減弱はみられず，依然として認められた。投与部位の慢性炎症は回復期間中も，媒体対照群を含むすべての試験群で依然として認められ，その程度に減弱はみられなかった。さらに，30 mg/kg/day 群の雄 1 例（死亡発見）の投与部位及び 6 mg/kg/day 群の雄 1 例の皮下組織／投与部位にそれぞれ悪性線維性組織球腫及び線維肉腫が認められた。本所見は，げっ歯類で報告されている[2]，長期間の反復皮下投与後に生じた慢性皮下炎症反応の二次的な変化と判断された。

媒体対照群を含む全群の雌雄で，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。投与部位の慢性炎症と同様，肝臓及び脾臓の髄外造血亢進も，回復期間終了時で発現頻度及び程度の低下なく認められた。

上記の投与部位の変化以外に，媒体（Captisol®）に関連した病理組織所見（空胞化）が，腎臓（尿細管の空胞化；肉眼所見の淡色化及び腫大と一致），膀胱（尿路上皮の空胞化），大腿骨（滑膜の空胞化），前立腺（上皮の空胞化），顎下及び腸間膜リンパ節（マクロファージの空胞化）及び大動脈（マクロファージの空胞化）で認められた。これらの変化の発現頻度及び程度は全投与群で同程度であり，シクロデキストリンを媒体として用いた公表文献とも矛盾はなかった[3, 4]。6 週間の回復期間終了時には，投与期間終了時と比較して，腎臓の腫大及び淡色化の肉眼所見が消失／減少し，尿細管の空胞化の程度が低下したことから，本媒体に関連した腎臓の変化は回復傾向があった。

6 及び 30 mg/kg/day 群で認められた用量依存的な投与部位の炎症と関連して，血液学的検査値の変化が認められた。好中球数の高値が 30 mg/kg/day 群の雄で投与 4 及び 13 週目に，6 mg/kg/day 群以上の雄で投与 26 週目に，30 mg/kg/day 群の雌で投与 13 週目に認められた。単球数の高値が 30 mg/kg/day 群の雄で投与 26 週目に認められた。リンパ球数の高値が 30 mg/kg/day 群の雄で投与 4，13 及び 26 週目に，6 mg/kg/day 群以上の雌で投与 4 及び 13 週目に，30 mg/kg/day 群の雌で投与 26 週目に認められた。

30 mg/kg/day 群の雌雄で認められた，総リンパ球数の増加（媒体対照群の 1.28～1.37 倍）に関連する変化として，総 T 細胞数（1.27～1.43 倍），Th 細胞数（1.14～1.37 倍），細胞傷害性 T 細胞数（1.54～1.64 倍）及び T_{reg} 細胞数（最大 1.33 倍）の軽度高値が認められた。6 mg/kg/day 群以上の雄で，タピナロフ投与に関連した B 細胞数の高値（1.46～1.50 倍）が認められた。総 T 細胞数，Th 細胞数，細胞傷害性 T 細胞数，T_{reg} 細胞数及び B 細胞数の変化は，回復期間終了時には消失した。1 mg/kg/day 群以上の雌雄で，NK 細胞比率及び数が用量依存的に低値（それぞれ 0.44～0.85 倍及び 0.49～0.83 倍）を示したが毒性学的意義のない変化と考えられた。本変化は，回復期間終了時に回復傾向を示した。30 mg/kg/day 群の雄及び雌では，刺激後の PBMC 中の Th17 細胞数の増加の程度が媒体対照群と比較して低かった（それぞれ 0.68 倍及び 0.63 倍の変化）が，休薬期間終了時には回復した。

赤血球系パラメータの低値が，30 mg/kg/day 群の雄で投与 4 及び 13 週目に，6 mg/kg/day 以上の群の雄で投与 26 週目に認められた。Hb 及び Hct の低値が，30 mg/kg/day 群の雌で投与 13 及び 26 週目に認められた。網状赤血球数の高値が，30 mg/kg/day 群の雄で投与 13 及び 26 週目に認められた。

血液生化学検査値の変化として，トリグリセリド高値が 6 mg/kg/day 以上の群の雄で投与 13 及び 26 週目に認められた。これらの血液学的及び血液生化学的パラメータの変動は，回復期間終了時には認められなかった。

本試験では，ラット（各群雌雄各 12 匹）に 0（媒体対照），1，6 又は 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。定

期解剖前に 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，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。30 mg/kg/day 群の胸腺でタピナロフ投与に関連した可逆的なリンパ球密度低下が認められたが，毒性学的な意義は無いと判断された。

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，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ていた。さらに，回復期間に，30 mg/kg/day 群の雄 1 例（死亡発見）及び 6 mg/kg/day 群の雄 1 例で投与部位及び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パラメータの変動（主に 6 mg/kg 以上の群：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，Hb 及び Hct 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，Th 細胞，細胞傷害性 T 細胞及び T_{reg} 細胞（30 mg/kg/day）並びに B 細胞（6 mg/kg/day 以上）の高値，NK 細胞（1 mg/kg/day 以上；部分的回復）及び刺激後の Th17 細胞（30 mg/kg/day）の低値）］が認められた。

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）。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

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。遺伝毒性試験として，細菌を用いる *in vitro* 試験，哺乳類培養細胞を用いる *in vitro* 試験，及び腹腔内投与又は皮下投与によるげっ歯類小核試験を実施した。実施した試験一覧を，モジュール 4 内の記載箇所及び GLP 適合性とともに，表 6 に示す。遺伝毒性試験に使用したタピナロフのバッチの一覧表を，製剤処方の情報とともに，表 7 に示す。

表 6 タピナロフの遺伝毒性試験一覧

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	投与量又は投与濃度	投与期間	GLP	試験施設	報告書番号（試験番号）	CTD 番号
遺伝毒性：Ames 試験	*S. typhimurium* *E. coli*	NA	*in vitro*	0.76～190 µg/plate	NA	非適	[redacted]	20[redacted]N163822	4.2.3.3.1-1
遺伝毒性：Ames 試験	*S. typhimurium* *E. coli*	NA	*in vitro*	5～5000 µg/plate	NA	適	[redacted]	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*	1.25～20 µg/mL	NA	非適	[redacted]	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*	5～100 µg/mL	NA	適	[redacted]	20[redacted]N173392	4.2.3.3.1-4
遺伝毒性：小核	マウス（CD-1）	7M	腹腔内	0, 7.8, 15.6, 31.3 mg/kg	単回	非適	[redacted]	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）	10M/10F	皮下	0, 1, 6, 30 mg/kg/day	28 日間	適	GSK	20[redacted]N166805	4.2.3.3.2-2

試験施設：GSK = GlaxoSmithKline；[redacted] = [redacted] 社；[redacted] = [redacted]
Ames 試験 = 復帰突然変異試験；NA = 該当なし；CHO = チャイニーズハムスター卵巣細胞；CD-1 = Crl:CD1(ICR)；WH = Wistar Han［Crl:WI(Han)］

表 7　遺伝毒性試験に使用したタピナロフのバッチ番号及び製剤処方

バッチ又はロット番号	動物種・試験種類	動物種（系統）／試験系	投与期間	報告書番号	投与濃度	製剤処方
[redacted]*	Ames 試験	*S. typhimurium* *E. coli*	NA	20[redacted]N170816	0.05～50 mg/mL	DMSO
	マウスリンフォーマ	L5178Y $TK^{+/-}$ 細胞	NA	20[redacted]N173392	0, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 80, 100 µg/mL	DMSO
	小核試験	ラット（WH）	28 日間	20[redacted]N166805	0.3, 2, 10 mg/mL	30% Captisol®
[redacted]**	Ames 試験	*S. typhimurium* *E. coli*	NA	20[redacted]N163822	20, 50 又は 62 mg/mL	DMSO
	染色体異常試験	培養 CHO 細胞	NA	20[redacted]N163824	0, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 40 µg/mL	DMSO
	小核試験	マウス（CD-1）	単回	20[redacted]N163826	2.6, 5.2, 10.4 mg/mL	DMSO

* 非臨床用バッチ及び予定臨床用バッチの合成経路は同じ。

** これらのバッチの合成経路は，3.2.S.2.2 項の図 1 に示した合成経路とは関連しないものである。この合成経路を今後の非臨床又は臨床バッチの合成に使用する予定はない。

NA = 該当なし；CHO = チャイニーズハムスター卵巣細胞；DMSO = ジメチルスルホキシド；CD-1 = Crl:CD1(ICR)；WH = Wistar Han［Crl:WI(Han)］

2.6.6.4.1 *In Vitro* 遺伝毒性試験

いずれの試験も，ラット肝臓ホモジネート S9 画分及び補酵素（S9-mix）の非存在下及び存在下で実施した。それぞれの試験には適切な媒体及び陽性対照物質を使用した。*in vitro* 試験におけるタピナロフの最高濃度は，規制上の許容限度，毒性あるいは沈殿を基に設定した。

2.6.6.4.1.1 非哺乳類細胞を用いた試験系

2.6.6.4.1.1.1 細菌を用いる復帰突然変異試験［報告書番号 20[redacted]N163822］

（参考資料：CTD4.2.3.3.1-1）

細菌を用いる復帰突然変異試験を実施し，タピナロフの *S. typhimurium* TA98，TA100，TA1535，TA1537 及び *E. coli* WP2 *uvrA* における点突然変異誘発能を評価した。試験デザインは，OECD 試験ガイドライン-471「細菌復帰突然変異試験」（1997 年）に従った。

処理溶液は各試験の当日にジメチルスルホキシドを用いて調製した。試験操作を通して，タピナロフの目視可能な沈殿物は観察されなかった。

S9（Aroclor 1254 を投与したラットの肝ミクロソーム画分）の存在下及び非存在下で，2 つの試験を実施し，タピナロフの変異原性を評価した。試験 1 はプレート法，試験 2 はプレインキュベーション法で実施した。各用量につき 3 枚のプレートを用いた。*S. typhimurium* の各菌株はタピナロフの生育阻害作用に対する感受性が比較的高かったため，これらの株に対する曝露濃度は *E. coli* 株に対する曝露濃度よりも低く設定し（0，0.77，2.3，6.9，21 及び 62 μg/plate），*E. coli* WP2 *uvrA* に対する曝露濃度は *S. typhimurium* の各株に対する曝露濃度よりも高く設定した（0，2.3，6.9，21，62 及び 190 μg/plate）。代謝活性化系の非存在下での *E. coli* WP2 *uvrA* に対する曝露濃度には 0.76 μg/plate を追加した。

プレート法，プレインキュベーション法のいずれを用いた試験でも，S9 の有無にかかわらずタピナロフは試験菌株のプレートあたりの復帰変異コロニー数を増加させなかった。3 枚のプレートにおける復帰変異コロニー数の平均値は，明らかに陰性対照群の平均±標準偏差の 2 倍の範囲内に収まり，いずれの平均値も各菌株の陰性対照の背景値の上限を下回った。

以上より，タピナロフは本試験条件下で，*S. typhimurium* TA98，TA100，TA1535，TA1537 及び *E. coli* WP2 *uvrA* に対して変異原性を示さなかったと結論付けた。

2.6.6.4.1.1.2 細菌（*Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli*）を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）［報告書番号 20[redacted]N170816］

（評価資料：CTD4.2.3.3.1-2）

本試験は，OECD GLP に従って実施した。

本試験は，*S. typhimurium*（TA98，TA100，TA1535，TA1537）及び *E. coli* WP2 *uvrA*（pKM101）におけるタピナロフの遺伝子突然変異（塩基対置換及びフレームシフト突然変異）誘発能を *in vitro* で評価することを目的とした。

各試験菌株につき標準的なプレート法（Ames 試験）1 試験をラット肝 S9-mix 存在下及び非存在下で実施し，適切な媒体対照及び陽性対照を同時に評価した。媒体対照及び最高濃度の被験液から試料を分取し，タピナロフ濃度を分析した。

媒体対照群の値は施設背景値から設定した許容範囲内であった。陽性対照は復帰変異コロニー数の明確な増加を誘発した。したがって，媒体対照及び陽性対照の成績から試験成立と判断した。

最高試験濃度は，現行ガイドラインに準拠した最高濃度である 5000 μg/plate とした。S9-mix の存在下及び非存在下のいずれにおいても，細菌に対する毒性（背景細菌叢の減少，復帰変異コロニー数の減少など）の結果をもとに，解析対象とする最高濃度は 500 μg/plate とした。被験液の分析結果から，タピナロフ濃度は予定濃度の 100%±10%範囲内であり，被験液を試験に用いても問題ないことが示された。

本試験で評価したいずれの濃度においても，S9-mixの有無にかかわらずTA98, TA100, TA1535, TA1537 及び WP2 *uvrA*（pKM101）においてタピナロフ処理に関連した復帰変異コロニー数の増加は認められず，陰性結果であることが示された。

結論として，タピナロフは，細菌を用いる復帰突然変異試験で，S9-mix の有無にかかわらず変異原性を示さなかった。S9-mix の存在下及び非存在下のいずれにおいても，細菌に対する毒性（背景細菌叢及び／又は復帰変異コロニー数の減少）の結果をもとに解析対象とする最高濃度は 500 μg/plate とした。

2.6.6.4.1.2 哺乳類細胞を用いた試験系

2.6.6.4.1.2.1 培養チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いる染色体異常試験［報告書番号 20[redacted]N163824］

（参考資料：CTD4.2.3.3.1-3）

In vitro 染色体異常試験を実施し，タピナロフの染色体構造異常誘発能をチャイニーズハムスター卵巣細胞 WB_L を用いて評価した。試験デザインは，OECD 試験ガイドライン-473「哺乳類の *in vitro* 染色体異常試験」（1997 年）に従った。

3 つの試験を実施した。試験 1 及び 2 では，それぞれ S9 非存在下及び存在下でタピナロフを培養細胞に 3 時間曝露した。S9 はフェノバルビタール及びベンゾフラボンを併用で前投与したラットから調製した。通常の細胞周期の長さの約 1.5 倍に相当する 18 時間後に細胞を採取した。試験 3 では，S9 非存在下で曝露時間を細胞採取時点（処理開始 18 時間後）まで延長した。相対細胞増殖率及び相対分裂指数の濃度依存的な低下が認められた。各試験の最高曝露濃度で細胞毒性パラメータの 50%を超える抑制が認められた。このような細胞毒性のため，タピナロフを高濃度で曝露した培養細胞では染色体損傷を解析できなかった。評価対象曝露濃度は，試験 1 では 0，5，10 及び 20 μg/mL，試験 2 では 0，2.5，5，10 及び 14 μg/mL，試験 3 では 0，1.25，2.5 及び 5 μg/mL であった。試験 1 の 20 μg/mL で処理した 1 系列，試験 2 の 14 μg/mL で処理した 1 系列及び試験 3 の 5 μg/mL で処理した 1 系列で非常に低い背景レベルの染色体異常が認められたことを除き，3 試験すべてにおいて他のタピナロフ又は陰性対照処理培養群のスライドに異常染色体は検出されなかった。

以上より，本試験条件下では，タピナロフは培養チャイニーズハムスター卵巣細胞 WB_L で染色体異常を誘発しなかった。

2.6.6.4.1.2.2 マウスリンフォーマ L5178Y 細胞の TK 遺伝子座における *In Vitro* 突然変異試験［報告書番号 20[redacted]N173392］

（評価資料：CTD4.2.3.3.1-4）

本試験は，英国の GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験は，マウスリンフォーマ L5178Y（$TK^{+/-}$）細胞を用いて，タピナロフの細胞死に至らない遺伝子突然変異誘発能及び染色体損傷誘発能を *in vitro* で評価することを目的とした。

予備的な細胞毒性試験の後，3 つの独立した突然変異試験を実施した。2 つの試験では，ラット肝 S9-mix 存在下及び非存在下で細胞を 3 時間処理し，1 つの試験では，S9-mix 非存在下で細胞を 24 時間処理した。いずれの試験でも適切な媒体及び陽性対照物質を使用した。媒体対照及び被験液から試料を分取し，タピナロフ濃度を分析した。

媒体対照及び陽性対照の値は試験成立基準を満たした。したがって，媒体対照及び陽性対照の成績から試験成立と判断した。

3 時間処理では，毒性のため最高試験濃度が S9-mix 存在下及び非存在下でそれぞれ 80 及び 100 μg/mL に制限され，これらの濃度では相対総増殖率（RTG）がそれぞれ 19%及び 17%まで低下した。24 時間処理では，毒性のため最高試験濃度が 30 μg/mL に制限され，この濃度では RTG が 14%まで低下した。

各試験濃度における突然変異頻度（MF）はいずれも媒体対照の平均 MF と総合的評価ファクター（global evaluation factor）の合計を下回り，結果は陰性であることが示された。

被験液の分析結果から，タピナロフの濃度は予定濃度の 100%±10%の範囲内であり，被験液を試験に用いても問題ないことが示された。

結論として，タピナロフは，マウスリンフォーマ L5178Y $TK^{+/-}$細胞を用いた試験で，S9-mix の有無にかかわらず遺伝毒性を示さなかった。毒性のため 3 時間処理の最高試験濃度は S9-mix 存在下及び非存在下でそれぞれ 80 及び 100 μg/mL に制限され，24 時間処理の試験の最高試験濃度は S9-mix 非存在下で 30 μg/mL に制限された。

2.6.6.4.2 *In Vivo* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.2.1 マウスの *In Vivo* 小核試験［報告書番号 20[redacted]N163826］

（参考資料：CTD4.2.3.3.2-1）

タピナロフのマウス小核試験は，試験計画書番号 WBV152195 及び OECD 試験ガイドライン 474（OECD，1997 年）に従って実施した。

5 群（試験群：低，中及び高用量群；陰性対照群；陽性対照群）を評価した。各群あたり雄性 CD-1 マウス 21 匹を使用した。3 つの試験群にジメチルスルホキシド（DMSO）で希釈したタピナロフを 7.8，15.6 及び 31.3 mg/kg の用量で投与した。これらの 3 用量は予備的な用量設定試験の結果に基づき設定した。31.3 mg/kg は予備的な試験で最大耐用量（MTD）と判定した。陰性対照物質は DMSO とした。陽性対照群にはシクロホスファミド 40 mg/kg を投与した。各群にタピナロフ又は対照物質を単回腹腔内投与した。投与後 24，36 及び 48 時間に各群 7 例を安楽殺した。各評価時点に全例の両側大腿骨から骨髄を採取した。骨髄塗抹標本を作製・固定後，（May Grunwald/Giemsa）染色し評価に供した。1 例あたり多染性赤血球（PCE）2000 個を観察し小核の

有無を評価した。さらに，PCE 2000 個あたりの小核を有する正染性赤血球数を計数し，PCE／正染性赤血球比も算出した。小核の有無は，陽性対照群及びタピナロフ高用量群で投与後 24 時間に作製したスライドの DNA 特異的染色（Feulgen 染色）によっても確認した。

MPCE 数を一覧表に示すとともに，Kruskal-Wallis の順位検定を用いて統計学的有意差の有無を（有意水準 $p = 0.05$ として）解析した。各用量について各 3 評価時点の解析を実施した。

得られたデータの統計解析では，陽性対照群の投与後 24, 36 及び 48 時間における MPCE 数は，陰性対照群及び全 3 用量のタピナロフ投与群（低用量群の投与後 24 時間を除く）との統計学的な有意差を示した（$p \leq 0.05$）。タピナロフ投与群（全 3 用量）の MPCE 数は，陰性対照群との統計学的有意差を示さず，用量依存性な反応（MPCE 数の増加）を示さなかった。

上記の結果から，タピナロフはマウス小核試験において 31.3 mg/kg までの用量の腹腔内投与により小核を誘発しなかった。タピナロフは染色体異常を誘発せず，有糸分裂紡錘体との相互作用を示さなかった。

2.6.6.4.2.2 ラットの 4 週間皮下投与毒性試験及び骨髄小核試験［報告書番号 20[redacted]N166805］

（評価資料：CTD4.2.3.3.2-2）

本試験は，FDA GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験では，Wistar Han［Crl:WI(Han)］ラットを用いる反復皮下投与試験におけるタピナロフの毒性及びタピナロフの全身曝露を検討することを目的とした（2.6.6.3.2.1 項に要約）。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／又は異数性誘発能を評価した。

Captisol®を 30%の濃度で逆浸透膜処理水と混合したものを媒体として pH 7.2（± 0.6）のタピナロフ溶液を調製し，3 mL/kg の投与容量でラットに投与した。ラット（各群雌雄各 10 匹）に 0（媒体対照），1，6 又は 30 mg/kg/day のタピナロフを 1 日 1 回 4 週間皮下投与した。タピナロフの全身曝露を評価するため，各用量群に雌雄各 3 匹を追加した。

毒性試験群の評価項目／パラメータは，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学検査及び尿検査，眼科学的評価，臓器重量，並びに肉眼及び病理組織学的検査（精子形成ステージの評価を含む）とした。投与 1 及び 28 日目に採取した試料を用いて，タピナロフの全身曝露を評価した。各群雄 5 匹から採取した大腿骨の骨髄塗抹標本を評価し，%PCE 及び PCE 2000 個中の MPCE 数を計数した。

全赤血球中の多染性赤血球の割合（%PCE）の群平均値は，媒体対照群と比較して 1 及び 6 mg/kg/day 群でわずかな高値を示した［媒体対照群の 42%に対し，1 及び 6 mg/kg/day 群でそれぞれ 46%及び 49%であり，最大増加率は 17%に相当（6 mg/kg/day 群）］。これらの値は施設背景値（%PCE の範囲：34%～54%）の範囲内であった。

1，6 及び 30 mg/kg/day を投与した雄性ラットの PCE 2000 個中の MPCE 数の群平均値（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。

したがって，1 日 1 回 28 日間皮下投与ラット骨髄小核試験の結果に基づき，タピナロフは *in vivo* において遺伝毒性を示さなかった。

2.6.6.5 がん原性試験（補助的なトキシコキネティクス評価を含む）

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。実施した試験一覧を，モジュール 4 内の記載箇所及び GLP 適合性とともに，表 8 に示す。がん原性試験に使用したタピナロフのバッチの一覧表を，製剤処方の情報とともに，表 9 に示す。

表 8 タピナロフのがん原性試験一覧

試験の種類	動物種（系統）	例数／性別／群	投与方法	投与量又は投与濃度（mg/kg/day）	投与期間	GLP	試験施設	報告書番号（試験番号）	CTD 番号
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	0% (UC), 0% (VC), 0.5%, 1.5%, 3% (0/0, 0/0, 22.3/26.5, 64.6/74.3, 133.5/159.7 [M/F])	100～102 週間；98 週間	適	[redacted]	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[a]	皮下	0 (SC), 0 (VC), 0.1, 0.3, 1.0 mg/kg/day	60 週間；82～83 週間	適	[redacted]	DMVT-505-9002	4.2.3.4.1-2

a. 媒体を 10% Captisol®とした投与条件で追加の TK 試験を実施するため，タピナロフ投与群に雌 6 匹を追加した。
試験施設： [redacted]＝[redacted]
UC＝無処置対照；VC＝媒体/基剤対照；SC＝生理食塩水対照；TK＝トキシコキネティクス；CD-1＝Crl:CD1®(ICR)；WH＝Wistar Han [Crl:WI(Han)]

表 9 がん原性試験に使用したタピナロフのバッチ番号及び製剤処方

バッチ又はロット番号	動物種・試験種類	動物種（系統）／試験系	投与期間	報告書番号（試験番号）	投与濃度又は投与量（mg/mL）	処方[a]
[redacted]	経皮投与によるがん原性	マウス（CD-1）	100～102 週間（雄）；98 週間（雌）	DMVT-505-9001	0.5%, 1.5%, 3%	処方 F
[redacted]	皮下投与によるがん原性	ラット（WH）	60 週間（雄）；82～83 週間（雌）	DMVT-505-9002	0.03, 0.10, 0.33	30% Captisol®/10% Captisol®

a. Captisol®濃度は投与 372 日目から 10% Captisol®（w/v）に下げた。
CD-1＝Crl:CD1®（ICR）；WH＝Wistar Han［Crl:WI(Han)］

2.6.6.5.1 経皮投与によるがん原性

2.6.6.5.1.1 マウスの2年間経皮投与がん原性試験［報告書番号 DMVT-505-9001］

（評価資料：CTD4.2.3.4.1-1）

本試験は，FDA GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験は，無処置対照，0%（基剤対照），0.5%，1.5%及び3%のタピナロフクリーム（処方 F）を雌雄 CD-1［Crl:CD1 (ICR)］マウス（各群雌雄各 60 匹）の背部皮膚（BSA の約 10%）に 0.2 mL/kg の投与容量で 1 日 1 回，生涯にわたり経皮投与したときのがん原性を検討することを目的とした（投与量は雄及び雌でそれぞれ 0/0，0/0，22.3/26.5，64.6/74.3，133.5/159.7 mg/kg/day）。本試験には，その他に無処置（偽処置）対照群（雌雄各 60 匹）も設けた。サテライト群（基剤対照群：各群雌雄各 6 匹，タピナロフ群：各群雌雄各 30 匹）を追加し，投与開始後から投与 26 週の期間において TK 測定を実施した。

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，剖検及び病理組織学的検査とした。また，投与 28 及び 182 日目に採取した試料を用いて，TK 測定を実施した。

投与 28 日目及び投与 182 日目の両日とも，タピナロフクリーム 0.5%及び 1.5%群では投与後 8 時間まで，3%群では投与後 24 時間まで，タピナロフの血漿中濃度が定量可能であった。いずれの用量でも投与 28 日目の全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-t}）には一貫した性差は認められなかった。投与 182 日目には，0.5%群の雌で雄と比較して C_{max} 及び AUC_{0-t} 値がそれぞれ 7.4 倍及び 7.1 倍高値であったことを除き，概して曝露量に顕著な性差（2 倍超）は認められなかった。雌で投与 182 日目の全身曝露量が低用量と高用量の間で用量比を下回る増加を示したことを除き，投与 28 及び 182 日目の全身曝露量は，雌雄ともに，0.5%～3%の範囲でほぼ用量比を上回る増加を示した。雄では，投与 28 日目の全身曝露量が投与 182 日目と比較して 1.7～6.4 倍高値であった。雌では，投与 182 日目の推定投与量が投与 28 日目と比較して低かったにもかかわらず，0.5%群の C_{max} 及び AUC_{0-t} 値，並びに 1.5%群の AUC_{0-t} 値は，投与 28 日目と比較して投与 182 日目で 1.7～3.5 倍高値であった。しかし，1.5%群の C_{max} 値，並びに 3%群の C_{max} 及び AUC_{0-t} 値は，投与 28 日目と比較して投与 182 日目で 2.9 分の 1 であった。

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。雄では，基剤対照群と対比較したとき，タピナロフクリーム 1.5%群及び 3%群の死亡率が統計学的に有意に高く，この死亡率上昇はタピナロフクリームに関連する非腫瘍性皮膚病変による二次的なものと判断された。

タピナロフクリームに関連した体重，体重増加量，摂餌量及び眼科学的所見の変化はみられなかった。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／赤芽球系比の上昇，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，塗布部位の皮膚で認められた所見による二次的な変化と判断された。

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頻度の増加のみであった。雌では，タピナロフクリーム群で皮膚の丘疹の発

生率及び頻度の増加が認められた。雌雄ともに，皮膚発赤及び痂皮は早期（投与 2 週目）に認められた一方，皮膚病変及び丘疹はそれぞれ投与 4 ヵ月目及び 5 ヵ月目から認められた。これらの所見の程度は，雌雄いずれにおいても，投与 1～180 日目よりも投与 181～360 日目で高く，投与 181～360 日目よりも投与 361～540 日目で高かった。また，丘疹の頻度は，投与 541 日目から試験終了時にかけて低下した。皮膚発赤の発生率及び頻度の増加が，0.5%以上の用量群の雄及び 1.5%以上の用量群の雌でみられ，痂皮の頻度の増加が，0.5%以上の用量群の雄及び 1.5%以上の用量群の雌で認められた。皮膚病変の発生率及び頻度が，0.5%以上の用量群で用量依存的に増加し，ときに分泌物が認められた。雄では，丘疹の発生率及び頻度が基剤対照群で最も高かったが，雌では，丘疹の発生率及び頻度が 1.5%群で最も高かった。投与期間中に一般状態観察で認められた丘疹 69 例のうち，16 例のみが病理組織学的に良性扁平上皮乳頭腫であったことから，多くの丘疹は実際には腫瘍とは一致しなかった。

タピナロフ塗布部皮膚において発生率及び程度が相対的に高かった非腫瘍性の病理組織所見は，タピナロフクリーム 0.5%以上の群で認められた表皮過形成（ごく軽度～中等度），炎症性細胞浸潤（混合細胞型）（ごく軽度～軽度），びらん／潰瘍（ごく軽度～中等度），痂皮（ごく軽度～中等度）及び皮膚線維化（ごく軽度～軽度）であり，タピナロフクリーム 1.5%以上の群で特に高かった。同様の所見は，塗布部位以外の無処置皮膚（鼠径部）及び無処置対照群の大腿部／臀部皮膚でも認められた。雌雄いずれの基剤対照群における表皮過形成の発生率は，無処置対照群と比較して高かった。同様に，基剤対照群の無処置皮膚（鼠径部）における表皮過形成の重篤度は，タピナロフ塗布群と同程度であり（ただし，タピナロフ塗布群より低頻度），基剤自体に皮膚刺激性があることが示唆された。

一般状態観察で触知可能な腫瘤は，概して腫瘍ではなかった。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認めら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。タピナロフ投与に関連する良性の腫瘍性病変は，皮膚（処置及び無処置）のみで認められ，タピナロフクリーム塗布に関連して，1.5%以上の群の雄及び 3%群の雌で扁平上皮乳頭腫の発生率が増加した。傾向検定では，雌の塗布部位の皮膚における乳頭腫及び雄の乳頭腫（塗布部位及び塗布部位以外の皮膚）において，統計学的に有意な増加が認められた。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，皮膚の一般状態変化，肉眼所見及び非腫瘍性の病理組織所見が増加したことから，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なく，媒体クリーム及びタピナロフクリーム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%（基剤対照），0.5%，1.5%及び 3%のタピナロフクリーム（処方 F）（投与量は雄／雌でそれぞれ 0/0，22.3/26.5，64.6/74.3 及び 133.5/159.7 mg/kg/day）を 1 日 1 回，最長 101 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）ところ，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。タピナロフクリームに関連する良性の腫瘍性病変は，皮膚（処置及び無処置）のみで認められ，タピナロフクリーム塗布に関連して，1.5%以上の群の雄及び 3%群の雌で扁平上皮乳頭腫の発生率が増加した。扁平上皮乳頭腫の発生は，基剤クリーム及びタピナロフクリーム

に関連す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でないと判断された。タピナロフクリームに関連する非腫瘍性の病理組織所見のうち，雌雄の処置皮膚で発生率及び程度が相対的に高かった所見は，0.5%以上の群で認められた表皮過形成，炎症性細胞浸潤（混合細胞型），びらん／潰瘍，痂皮及び皮膚線維化であった。

2.6.6.5.2 皮下投与によるがん原性

2.6.6.5.2.1 ラットの2年間皮下投与がん原性試験［報告書番号 DMVT-505-9002］

（評価資料：CTD4.2.3.4.1-2）

本試験は，FDA GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験は，Wistar Han［Crl:WI(Han)］ラット（各群雌雄各 60 匹）に 0（媒体対照；30% Captisol®），0.1，0.3 及び 1 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ときのがん原性を評価することを目的とした。サテライト群（各群雌雄各 9 匹）を追加し，投与開始後から 26 週の期間において TK 測定を実施した。試験期間中に 0.1，0.3 及び 1 mg/kg/day 群にサテライト群（各群雌 6 匹）を追加し，投与 372 日目の媒体濃度変更後のみの TK 測定も実施した。

タピナロフ投与液及び媒体対照（生理食塩水及び 30% Captisol®水溶液）を，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，各投与部位の投与回数が同じになるようローテーション（1 ヵ所／日）で投与した。

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，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 日目に採取した試料を用いて，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。媒体である Captisol®の濃度を 30%から 10%に下げた場合の影響についての TK 測定を追加で実施するため，0.1，0.3 及び 1 mg/kg/day 群にサテライト群（各群雌 6 匹）を追加し，媒体濃度変更後 28 日目に解析を実施した。

主試験の TK 群（投与 28 及び 182 日目）及び追加の TK 群（雌）（投与 28 日目のみ）では，タピナロフの血漿中濃度は，0.1 mg/kg/day 群では投与後 2 時間まで定量可能であり，0.3 及び 1 mg/kg/day 群では投与後 4 時間まで概ね定量可能であった。いずれの用量でも投与 28 及び 182 日目の全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-t}）には顕著な性差（2 倍超）は認められなかった。したがって，C_{max} 及び AUC_{0-t} の雌雄平均値を主試験の解釈に使用した。投与 28 日目の全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-t}）は，主試験の TK 群の雌と追加した TK 群（雌）の間で顕著な差（2 倍超）を示さなかったが，追加した TK 群（雌）では，0.1 mg/kg/day 群の AUC_{0-t} 値を算出できなかった。主試験群の投与 28 及び 182 日目の全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{0-t}）は，0.1～1 mg/kg/day の用量で概ね用量に比例した増加を示したことから，タピナロフは血漿中に蓄積しなかったと判断された。追加した TK 群（雌）における C_{max} は，0.1～1 mg/kg/day の用量で概ね用量に比例した増加を示し，AUC_{0-t} は，0.3～1 mg/kg/day の用量でほぼ用量に比例した増加を示した。

タピナロフ投与群において，生存率，体重，摂餌量，一般状態観察，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，シクロデキストリン媒体（Captisol® ; 30 又は 10% w/v）投与群（媒体対照群）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投与群）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生じた。媒体（Captisol®）対照群の雄の生存例数が 20 例に達したため，雄性動物については投与 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 例に達したため，雌性動物について投与 82～83 週目に終了した。

シクロデキストリン媒体（Captisol®）に起因する非腫瘍性の病理組織所見が雌雄で認められ，腎臓尿細管上皮，上皮小体主細胞，投与部位における皮下常在マクロファージなどの細胞質空胞化を特徴とした。また，前立腺上皮細胞の細胞質空胞化が，雄で認められた。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[3]，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。投与部位の腫瘍と同様，腎臓，上皮小体又は皮下マクロファージの非腫瘍性変化においても，媒体対照（Captisol®）群とタピナロフ投与群との間で意義のある相違はみられなかった。

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，最終的に試験の早期終了に至った。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。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）において，病変発生率が同程度であったことから，腫瘍性病変及び非腫瘍性病変の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れた。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の影響の増悪はみられなかった。

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 及び 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，眼科学的所見，非腫瘍性病変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。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

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。試験詳細の一覧をモジュール 4 内の記載箇所及び GLP 適合性とともに以下表 10 に示した。また，生殖発生毒性試験に使用したタピナロフのバッチを製剤処方の情報とともに以下表 11 に示した。

表 10 タピナロフの生殖発生毒性試験一覧

試験の種類	動物種（系統）／試験系	例数／性別／群	投与方法	投与量 (mg/kg/day)	投与期間	GLP	試験施設	報告書番号（試験番号）	CTD 番号
雌受胎能及び初期胚発生	ラット（WH）	22F	皮下	0, 1, 6, 30	35 日間（妊娠 6 日まで）	適	[redacted]	20[redacted]N211242	4.2.3.5.1-1
胚・胎児発生	ラット（WH）	22F	皮下	0, 1.2, 6.9, 34	妊娠 6～17 日	適	GSK	20[redacted]N166695	4.2.3.5.2-1
胚・胎児発生（用量設定試験）	ウサギ（NZW）	2-4F	皮下	0, 2, 4, 10, 30	妊娠 7～19 日	非適	[redacted]	20[redacted]N178148	4.2.3.5.2-2
胚・胎児発生	ウサギ（NZW）	22F	皮下	0, 0.3, 1, 3	妊娠 7～19 日	適	[redacted]	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）	0, 1, 2, 3	妊娠 7～19 日	適	[redacted]	20[redacted]N244027	4.2.3.5.2-4
出生前及び出生後発生	ラット（WH）	24-26F	皮下	0, 1, 6, 30	妊娠 6 日～哺育 20 日	適	[redacted]	20[redacted]N368233	4.2.3.5.3-1
幼若動物毒性（用量設定試験）	ラット（WH）	16M/16F	皮下	0, 0.7/1, 10/15, 20/30	生後 7～32 日	非適	[redacted]	20[redacted]N182130	4.2.3.5.4-1
幼若動物毒性	ラット（WH）	40M/60F	皮下	0, 1/1.5, 10/15, 20/30	生後 7～77 日	適	[redacted]	20[redacted]N211697	4.2.3.5.4-2
幼若動物毒性（検討試験）	ラット（WH）	30M/30F	皮下	0, 20/30	生後 7～56 日	非適	GSK	20[redacted]N278677	4.2.3.5.4-3

試験施設；[redacted] = [redacted]；[redacted] = [redacted]；GSK = GlaxoSmithKline
F = 雌；M = 雄；WH = Wistar Han［Crl:WI(Han)］；NZW = New Zealand White（Hra[NZW]SPF）

表 11 生殖発生毒性試験に用いたタピナロフのバッチ番号及び製剤処方

バッチ又はロット番号	試験の種類	動物種（系統）／試験系	投与期間	報告書番号（試験番号）	投与濃度（mg/mL）	製剤処方
[redacted]**	幼若動物毒性（用量設定試験）	ラット（WH）	生後 7～32 日	20[redacted]N182130	0.23, 0.33, 3.33, 5, 6.67, 10	30% Captisol®
	胚・胎児発生	ラット（WH）	妊娠 6～17 日	20[redacted]N166695	0.4, 2.3, 11.2	30% Captisol®
	胚・胎児発生（用量設定試験）	ウサギ（NZW）	妊娠 7～19 日	20[redacted]N178148	0.67, 1.33, 3.33, 10	30% Captisol®
	胚・胎児発生	ウサギ（NZW）	妊娠 7～19 日	20[redacted]N189059	0.1, 0.33, 1	30% Captisol®
[redacted]	雌受胎能及び初期胚発生	ラット（WH）	35 日間（妊娠 6 日まで）	20[redacted]N211242	0.33, 2, 10	30% Captisol®
	幼若動物毒性	ラット（WH）	生後 7～77 日	20[redacted]N211697	0.33/0.5, 3.33/5, 6.67/10	30% Captisol®
[redacted]	胚・胎児発生	ウサギ（NZW）	妊娠 7～19 日	20[redacted]N244027	0.167, 0.333, 0.5	30% Captisol®
[redacted]†	幼若動物毒性（検討試験）	ラット（WH）	生後 7～56 日	20[redacted]N278677	6.67, 10	30% Captisol®
[redacted]†	出生前及び出生後発生	ラット（WH）	妊娠 6 日～哺育 20 日	20[redacted]N368233	0.33, 2, 10	30% Captisol®

**. 当非臨床試験用バッチと予定臨床試験用バッチの合成経路は同じであった。
†. 本バッチの合成経路である合成経路 C は市販用バッチの合成経路と同じであり，その合成工程は 3.2.S.2.2 項の図 1 に概説した。
WH = Wistar Han［Crl:WI(Han)］；NZW = New Zealand White（Hra[NZW]SPF）

2.6.6.6.1 受胎能及び初期胚発生に関する影響

2.6.6.6.1.1 ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1.1 雌性ラットを用いた皮下投与試験［報告書番号 20[redacted]N211242］

（評価資料：CTD4.2.3.5.1-1）

本試験は，FDA GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験は，雌性 Wistar Han［Crl:WI(Han)］ラットにタピナロフを皮下投与したときの交尾能及び受胎能，並びに着床までの初期胚発生に対する影響を評価することを目的とした。30%（w/v）Captisol®を媒体とするタピナロフ溶液を調製し，ラットに 3 mL/kg の容量で投与した。各群 22 匹の雌性 Wistar Han ラットに，対照物質（媒体）又はタピナロフを，0（媒体対照），1，6 及び 30 mg/kg/day の用量で，交配開始前の 15 日間，無処置雄性ラットとの交配期間中（最長 14 日間），妊娠 6 日まで皮下投与した。雌性ラット及びその胎児は妊娠 20 日に安楽殺した。

母動物（F_0）では生死，一般状態，体重，摂餌量，性周期，交尾能，受胎能，剖検，黄体及び子宮重量を評価した。F_1 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。

いずれの群のラットについても計画解剖時点まで生存した。タピナロフ投与に関連する一般状態所見が 1 mg/kg/day 以上の用量で認められた。交配前期間中，タピナロフ投与に関連する一般状態所見として，30 mg/kg/day で投与部位／背部の痂皮（媒体対照群で各 0 件の発現に対し，それぞれ 9 例に 44 件及び 2 例に 7 件）及び背部の疎毛（媒体対照群で 0 件の発現に対し，2 例に 19 件）が認められた。妊娠期間中のタピナロフ投与に関連する一般状態所見として，すべての用量群で背部の疎毛（媒体対照群で 0 件に対し，1，6 及び 30 mg/kg/day でそれぞれ 2 例に 22 件，7 例に 106 件及び 19 例に 297 件），30 mg/kg/day で投与部位の痂皮（媒体対照群で 0 件に対し，15 例に 202 件）が認められた。

いずれの用量群においても体重，体重増加量及び摂餌量にタピナロフ投与に関連する影響は認められなかった。

最高用量（30 mg/kg/day）群において，性周期，交尾能及び受胎能，黄体数，着床数，吸収胚数又は 1 腹あたりの生存及び死亡胎児数，性比，胎児体重，妊娠子宮重量，胎児の外表及び胎盤の形態にタピナロフ投与に関連する影響は認められなかった。

結論として，雌性ラットに，0（媒体対照），1，6 及び 30 mg/kg/day のタピナロフを交配開始前の 15 日間，交配期間中，妊娠 6 日まで皮下投与したところ，タピナロフ投与に関連した一般状態変化が 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能，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。したがって，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。NOAEL30 mg/kg/day における C_{max} 及び AUC_{0-t} 値は，GLP 試験であるラット 28 日間皮下投与毒性試験（20[redacted]N166805 試験）の雌の投与 28 日目における値に基づき，それぞれ約 673 ng/mL 及び 2140 ng·hr/mL であった。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生への影響

2.6.6.6.2.1 ラットにおける胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1.1 ラットを用いた皮下投与試験［報告書番号 20[redacted]N166695］

（評価資料：CTD4.2.3.5.2-1）

本試験は，FDA GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験は，雌性 Wistar Han［Crl:WI(Han)］ラットの妊娠 6～17 日にタピナロフを皮下投与したときの妊娠及び胚・胎児発生に対する影響を評価することを目的とした。30% Captisol®を媒体とするタピナロフ溶液を調製し，雌性ラットに 3 mL/kg の容量で投与した。

各群 22 匹の交配した雌に，媒体又はタピナロフを，0（媒体対照），1，6 又は 30 mg/kg/day で，妊娠 6～17 日に 1 日 1 回皮下投与する予定であったが，投与期間中の実際の投与量はそれぞれ 0，1.2，6.9 又は 34 mg/kg/day であった。雌性ラット及びその胎児は妊娠 21 日に安楽殺し，胎児の検査を実施した。妊娠 21 日まで生存した雌性ラットは，生死，一般状態観察，体重，摂餌量，剖検，子宮重量及び黄体数を評価し，胎児は着床数，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。

本試験においてタピナロフ投与に関連した死亡は認められなかった。0，1.2 及び 6.9 mg/kg/day の各 1 例が自然分娩したが，34 mg/kg/day に自然分娩例はなかった。自然分娩は，妊娠 21 日の剖検及び帝王切開を実施する前に認められた。

タピナロフ投与に関連して認められた一般状態所見は投与部位の痂皮のみであった。6.9 及び 34 mg/kg/day では，痂皮の発現頻度が用量依存的に増加した。投与部位の軽度～中等度の痂皮が，6.9 mg/kg/day の 5 例及び 34 mg/kg/day の 20 例で認められた。

いずれの用量群においても，母動物の平均体重，平均体重増加量及び平均摂餌量へのタピナロフ投与に関連する影響は認められなかった。34 mg/kg/day で雄及び雌胎児の平均体重に統計学的に有意な減少が認められた（媒体対照群の平均値のそれぞれ 0.96 倍及び 0.95 倍）。

34 mg/kg/day で胎児骨格変異（鼻骨不完全骨化，胎児 31 例／7 腹）のタピナロフ投与に関連する統計学的に有意な増加［媒体対照群（0 例）］がみられた。

結論として，妊娠ラットに，0（媒体対照），1.2，6.9 及び 34 mg/kg/day のタピナロフを妊娠 6～17 日に皮下投与したところ，いずれの用量群においても母動物の体重増加量及び摂餌量に影響はみられなかった。6.9 及び 34 mg/kg/day では投与部位で痂皮の発現頻度が用量依存的に増加した。34 mg/kg/day では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）の頻度増加が認められた。ラット胚・胎児発生に対する NOAEL は，34 mg/kg/day で胎児体重の低値及び鼻骨不完全骨化が認められたことから，6.9 mg/kg/day と判断された。この NOAEL6.9 mg/kg/day における全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-t}）は，GLP 試験として実施されたラット 28 日間皮下投与毒性試験（20[redacted]N166805 試験）の 6 mg/kg/day の雌で得られた投与 28 日目の値である約 132 ng/mL（C_{max}）及び 358 ng·hr/mL（AUC）と推定された。

2.6.6.6.2.2 ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.2.1 ウサギを用いた皮下投与用量設定試験［報告書番号 20[redacted]N178148］

（参考資料：CTD4.2.3.5.2-2）

本試験は，妊娠雌性ウサギ［Hra:(NZW)SPF］にタピナロフを皮下投与したときの母動物及び胚・胎児の忍容性，並びに母動物の血漿中 TK を評価することを目的とした。

30% Captisol®水溶液を媒体とするタピナロフ溶液（最終 pH 7.2±0.6）を調製し，ウサギに 3 mL/kg の容量で投与した。各群 2 匹（媒体対照群）又は 4 匹（タピナロフ投与群）の交尾確認済みの雌性ウサギに，対照物質又は 4 及び 30 mg/kg/day（実験 1）若しくは 2 及び 10 mg/kg/day（実験 2）のタピナロフを 1 日 1 回，妊娠 7～19 日に投与した。生存雌性ウサギ及びその胎児は妊娠 29 日に安楽殺した。母動物（F_0）では生死，一般状態観察，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，胎児（F_1）では着床数，吸収胚数，生存及び死亡胎児数，胎児体重，性比，胎盤及び胎児外表形態を評価した。

4 mg/kg/day 以上の用量群では，過度な母動物毒性により流産に至った母動物があった。4 mg/kg/day では，1 例が妊娠 19 日に流産したため安楽死した。この母動物の一般状態所見として，ケージ内に赤色物（妊娠 16 日及び 18～19 日），膣周囲の被毛に赤色物付着（妊娠 18 日）及びケージの受け皿に組織片（妊娠 19 日）が認められた。この母動物の剖検において毒性所見は認められなかった。この母動物の投与開始前の体重増加量［試験施設到着日（妊娠 1 日）から投与開始日（妊娠 7 日）までの期間で 0.1 kg］は，この繁殖ロットの他の雌性動物の体重増加量（0.07～0.23 kg）と同程度であった。しかしながら，この母動物では投与開始後に体重増加がほとんど又は全く認められず，同じ群の他の 3 例では妊娠 7～19 日に体重増加を示した（0.23～0.40 kg）のに対し，本個体では体重減少を示した（妊娠 7～18 日に 0.01 kg 減少）。顕著な母動物毒性が妊娠 19 日の流産の原因と考えられた。

10 mg/kg/day の 1 例は，初回投与後から摂餌量が徐々に減少し（0～54 g），その結果妊娠 7～20 日の間に体重が 310 g 減少したため，妊娠 21 日に安楽死させた。30 mg/kg/day の 2 例は，摂餌量減少（それぞれ 0～26 g 及び 0～76 g）及び体重減少（それぞれ 270 g 及び 110 g）に続き，流産がそれぞれ妊娠 20 及び 27 日にみられたため安楽死した。30 mg/kg/day の他の全例は妊娠 27 日に剖検を行った。

タピナロフ投与に関連する一般状態所見として，10 mg/kg/day 以上の用量群で投与部位の変色，痂皮及び腫脹が認められた。実験 1 では媒体対照群に妊娠動物がいなかったこと，実験 2 の媒体対照群の妊娠動物は 1 例のみであったことから，媒体対照群としての体重のデータは限られていた。10 mg/kg/day 以上の用量群ではタピナロフ投与に関連した体重への影響として，投与期間を通して体重増加量の抑制（妊娠 7～20 日で 0.01～0.16 kg）が認められ，これらの用量では摂餌量の減少（妊娠 7～20 日で 84.6～85.5 g）も認められた。

10 mg/kg/day では，媒体対照群 1 例（0%）と比較して早期及び後期胚吸収の増加に伴って着床後胚胎児死亡率が高く（15.2%），試験施設の背景値の範囲の上限又はそれ以上であることから，この着床後胚胎児死亡率の高値はタピナロフ投与に関連した変化と判断された。

いずれの用量群においてもタピナロフ投与に関連した母動物の剖検所見並びに胎児の奇形及び変異は認められなかった。

結論として，妊娠ウサギに，0（媒体対照），2，4，10 及び 30 mg/kg/day のタピナロフを妊娠 7～19 日に 1 日 1 回皮下投与したところ，4 mg/kg/day 以上では母動物毒性を示唆する変化（摂餌量減少，体重減少，流産）が認められ，10 mg/kg/day では発生毒性への影響（胎児死亡）が認められ

た。

2.6.6.6.2.2.2 ウサギを用いた皮下投与試験［報告書番号 20[redacted]N189059］

（評価資料：CTD4.2.3.5.2-3）

本試験は，FDA GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験は，雌性 New Zealand White［Hra:(NZW)SPF］ウサギにタピナロフを皮下投与したときの血漿中 TK，並びに妊娠及び胚・胎児発生に対する影響を評価することを目的とした。

30% Captisol®（w/v）水溶液を媒体とするタピナロフ溶液（最終 pH 7.2±0.6）を調製し，ウサギに 1 回 1.5 mL/kg（3 mL/kg/day）の容量で投与した。各群 22 匹の交尾確認済みの雌性ウサギに，対照物質又はタピナロフ溶液を，0（媒体対照），0.3，1.0 又は 3.0 mg/kg/day の用量で 1 日 2 回，妊娠 7～19 日に皮下投与した。雌性ウサギ及びその胎児は妊娠 29 日に安楽死させた。母動物（F_0）では生死，一般状態観察，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，胎児（F_1）では着床数，吸収胚数，生存及び死亡胎児数，胎児体重，性比，胎盤及び胎児形態（外形，内臓及び骨格）を評価した。

3 mg/kg/day 群の 1 例が妊娠 13～20 日にほとんど又は全く摂餌せず，体重減少（妊娠 11～20 日に 0.22 kg の減少）を示したため，人道的理由で妊娠 20 日に安楽死させた。この雌の死亡はタピナロフ投与に関連したものと判断された。媒体対照群の 1 例は摂餌しなくなり体重減少を示したため，早期に安楽死させた。1 mg/kg/day の 1 例は体重減少を示したため早期に安楽死させた。この動物の摂餌量及び体重の減少は投与期間終了後にみられたため，タピナロフ投与に関連しないと判断された。0.3 mg/kg/day の 1 例は流産したため安楽死させた。この雌の摂餌量及び体重には流産当日まで影響がみられず，また，これより高い用量である 3 mg/kg/day では流産は発生しなかったことから，この雌の流産はタピナロフ投与に関連しないと判断された。

3 mg/kg/day では，妊娠 7～10 日の平均体重が媒体対照群（0.03 kg）と比較して増加を示さず，妊娠 7～20 日の平均体重増加量が媒体対照群と比較して低値（媒体対照群の平均体重増加量の 0.75 倍）であった。

一般状態，摂餌量及び母動物の剖検所見へのタピナロフ投与に関連する影響は認められなかった。さらに，黄体数，着床数，胚・胎児生存率，胎盤の形態，性比，胎児体重及び妊娠子宮重量においてもタピナロフ投与に関連する影響は認められなかった。

3 mg/kg/day でタピナロフ投与に関連した着床後胚・胎児死亡率の上昇が認められた（媒体対照群の平均 3.8%に対し，8.0%）。

いずれの用量群においてもタピナロフ投与に関連した胎児奇形は認められず，1 mg/kg/day までタピナロフ投与に関連した胎児変異は認められなかった。3 mg/kg/day ではタピナロフ投与に関連した胎児骨格変異（頭頂骨及び頭頂間骨の過剰縫合線）が認められた（媒体対照群で 0 例に対し，3 mg/kg/day 群でそれぞれ胎児 3 例／2 腹及び 5 例／3 腹）。

結論として，0（媒体対照），0.3，1 及び 3 mg/kg/day のタピナロフを妊娠 7～19 日に 1 日 2 回（約 6 時間の投与間隔），皮下（ボーラス）投与したところ，3 mg/kg/day の母動物 1 例で 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，妊娠 20 日に安楽死させた。母動物毒性を示唆する体重増加量の減少が 3 mg/kg/day 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，ウサギ胚・胎児発生における NOAEL は 1 mg/kg/day と判断された。1 mg/kg/day におけるタピナロフの全身曝露は $AUC_{0\text{-}t}$ が 128 ng·hr/mL，C_{max} が 122 ng/mL であった。

2.6.6.6.2.2.3 ウサギを用いた皮下持続投与試験［報告書番号 20[redacted]N244027］

（評価資料：CTD4.2.3.5.2-4）

本試験は，OECD GLP に従って実施した［本試験の一部（生体試料分析／TK 評価及び胎児骨格標本のピアレビュー及び保管）は FDA GLP に従って実施］。

本試験は，妊娠雌性ウサギの妊娠 7～19 日にタピナロフを皮下に 24 時間持続投与したときの妊娠及び胚・胎児発生に対する毒性及び TK を評価することを目的とした。

30% Captisol®を媒体とするタピナロフ溶液を調製し，New Zealand White［Hra:(NZW)SPF］ウサギに 0.25 mL/kg/hr の容量で投与した。各群 22 匹の交尾確認済みの雌性ウサギに媒体又はタピナロフを，0（媒体対照），1，2 又は 3 mg/kg/day の用量で妊娠 7～19 日に 24 時間皮下に持続投与した。雌性ウサギ及びその胎児は妊娠 29 日に安楽死させた。母動物（F_0）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，胎児（F_1）では着床数，吸収胚数，生存及び死亡胎児数，胎児体重，性比，胎盤及び胎児形態（外表，内臓及び骨格）を評価した。

死亡，一般状態，体重及び母動物の剖検所見にタピナロフ投与に関連する影響は認められなかった。媒体対照群及びタピナロフ投与群のいずれにおいても，多数例で注入部位の腫脹及び軟化が認められたほか，少数例で皮膚所見（青色化，赤色化，乾燥，病変，痂皮）が認められ，媒体（30% Captisol®）に関連するものと判断された。

投与期間中の摂餌量に関し，総括して見ればタピナロフ投与の影響はなかったが，個別に見た場合は，摂餌量が少ない若しくは全く摂餌しなかった日が 1 日以上あった動物の割合が 3 mg/kg/day で媒体対照群と比較しわずかに高かった。

黄体数，着床数，胚・胎児生存率，性比，胎児体重，妊娠子宮重量及び胎盤の形態にタピナロフ投与に関連する影響は認められず，投薬に関連した胎児奇形及び変異もみられなかった。

結論として，妊娠ウサギに 0（媒体対照），1，2 又は 3 mg/kg/day のタピナロフを妊娠 7～19 日に持続皮下注入したところ，明らかな母動物毒性は認められず，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，本試験条件下での胚・胎児発生に対する NOAEL は 3 mg/kg/day と判断された。なお，3 mg/kg/day における $AUC_{0\text{-}24}$ は 159 ng·hr/mL，C_{ave} は 6.64 ng/mL であった。

2.6.6.6.3 出生前及び出生後発生への影響

2.6.6.6.3.1 ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.6.6.3.1.1 ラットを用いた皮下投与試験［報告書番号 20[redacted]N368233］

（評価資料：CTD4.2.3.5.3-1）

本試験は FDA GLP 及び OECD GLP に従って実施した。

本試験は，雌性ラット（F_0）に妊娠 6 日から哺育 20 日まで（着床から離乳まで）タピナロフを

皮下投与し，血漿中タピナロフ濃度及びタピナロフの毒性ポテンシャルを評価することを目的とした。妊娠及び哺育期間中における有害作用は遅延性の場合があることから，F_1 児の発達は性成熟完了まで評価した。評価項目は，F_0 雌性ラットの妊娠，分娩，授乳及び哺育行動，F_1 児における血漿中濃度，F_1 児の身体発育及び機能発達（腎臓の構造的成熟度，神経行動発達，生殖能）等とした。

Captisol®が 30%（w/v）濃度となるように逆浸透水を媒体にしてタピナロフ溶液（最終 pH 7.2 ± 0.6）を調製し，3 mL/kg の容量でラットに 1 日 1 回皮下投与した。交尾確認済みの雌性 Wistar Han［Crl:WI(Han)］ラット（F_0）を各群 24 匹又は 26 匹とし，対照物質（媒体）又はタピナロフを 0（媒体対照），1，6 又は 30 mg/kg/day の用量で，分娩した母動物は妊娠 6 日から哺育 20 日まで，分娩しなかった母動物は妊娠 6 日から 23 日まで，1 日 1 回皮下投与した。投与容量は 3 mL/kg とした。

F_0 雌では，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血漿中曝露量（出生後 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，一般状態及び体重について判別又は評価を行った。

F_0 雌は自然分娩させ，分娩完了日を F_0 雌の哺育 1 日，並びに F_1 児及び F_2 児の出生後 1 日とした。本試験に先立って実施した試験ではタピナロフを 30 mg/kg/day の用量で出生後 7 日から投与した幼若ラットに腎臓の変化が認められたことから，妊娠後期及び新生児時期における腎臓の発達への影響を評価するために本試験にて F_1 児の腎臓の病理組織学的検査を実施した。哺育 7 日に媒体対照群及び 30 mg/kg/day の F_1 児（各群 20 匹）を安楽死させ，腎臓の病理組織学的検査を実施した。出生後 21 日の離乳時に離乳後評価に用いる雌雄 F_1 児を選択し，2 つの検査サブセット群に割り付けた（サブセット群 1 又は 2，可能であれば 1 腹あたり雌雄各 1 匹）。両サブセット群とも，性成熟を示す身体的発達指標（雌では膣開口，雄では陰茎亀頭からの包皮分離）を，雌では出生後 27 日に，雄では出生後 40 日に評価した。2 つの異なる日齢［出生後 27～29 日（サブセット群 2）及び出生後 60～62 日（サブセット群 1）］で聴覚驚愕反応を評価した。サブセット群 2 では，自発運動（出生後 54～61 日）並びにモリス水迷路を用いた学習及び記憶の評価（出生後 65～85 日）も行った。

さらに，サブセット群 1 の雌では性周期を評価した（出生後 66～70 日又はその前後より評価）。しかしながら，実験室内照明の作動不良の発生で全用量群の雌で性周期異常が生じたため，評価期間を延期して（出生後 76～80 日又はその前後から評価開始），計 31 日間で評価を行った。その後，サブセット群 1 の雄（非同腹）については父動物として生殖能を評価した。出生後 96～103 日から，サブセット群 1 の F_1 雄と F_1 雌を 1：1 で最長 11 日間同居させた。しかしながら，全用量群で妊娠が確認された例数が少なかったため（同居前に発生した照明トラブルの潜在的影響に起因するもの。後述），性周期を 10 日以上評価した後に 2 回目の同居期間を設けた（出生後 160～164 日に開始）。交配後の F_1 雌（交尾確認日を妊娠 0 日とする）は自然分娩させ，F_2 児を出生後

7 日まで評価した。

F_1 動物より得られた血漿サンプルのうち，タピナロフ濃度が定量可能であったサンプルは限られており（66 サンプル中の 8 サンプル），6 mg/kg/day でタピナロフ濃度が定量可能であったのは投与後 3 時間の雄 1 例（0.362 ng/mL）及び 8 時間の雌 1 例（0.506 ng/mL）のみで，30 mg/kg/day では投与後 3～22 時間にタピナロフ濃度が定量可能であり 0.301～0.985 ng/mL の範囲であった。1 mg/kg/day 群ではいずれもタピナロフ濃度は定量下限未満であった。以上，タピナロフ濃度データが限られていたため F_1 児の TK 評価は行わなかった。

F_0 雌では，タピナロフ投与に関連した死亡及び剖検時の異常所見はなかった。なお 30 mg/kg/day の F_0 雌 1 例で妊娠 18～19 日に一般状態の変化（自発運動の低下，流涙，眼瞼下垂，皮膚の弾力判定に基づく重度の脱水，円背位，膣周囲の赤色物，体重 10%減少など）が認められ妊娠 19 日に安楽死した。剖検所見として脾臓の大型化（1.05 g）が認められたが，他の臓器には異常はみられなかった。よって，この雌における変化は 1 例のみの変化であり，他の F_0 雌に死亡はみられなかったことから，本変化はタピナロフ投与に関連しないと判断された。

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全用量群で投与部位の痂皮形成が用量依存的に発現増加し（媒体対照群で 1 例に対し，1，6 及び 30 mg/kg/day でそれぞれ最大 5，9 及び 21 例），それに付随して背部に疎毛が認められた（媒体対照群で 0 例に対し，1，6 及び 30 mg/kg/day でそれぞれ最大 8，14 及び 18 例）。

30 mg/kg/day では，F_0 雌の平均体重増加量が妊娠／哺育期間を通して媒体対照群と比較し低値であった（妊娠 6～21 日：媒体対照群の 0.94 倍，哺育 1～21 日：媒体対照群の 0.81 倍）。1 及び 6 mg/kg/day では，F_0 雌の平均体重増加量へのタピナロフ投与に関連した影響は妊娠（それぞれ媒体対照群の 0.99 倍及び 1.00 倍）及び哺育（それぞれ媒体対照群の 1.51 倍及び 1.26 倍）の両期間ともに認められなかった。

妊娠期間中の F_0 雌の平均摂餌量にタピナロフ投与に関連する影響は認められなかった。しかしながら，30 mg/kg/day では哺育期間中の F_0 雌の平均摂餌量が，哺育 1～14 日の全 4 回の各測定時点において媒体対照群と比較し明らかな低値を示し（平均値の範囲：媒体対照群の 0.59～0.78 倍），本変化は同期間中に認められた平均体重増加量の低値と合致した。1 及び 6 mg/kg/day では F_0 雌の摂餌量は哺育期間を通して媒体対照群と同程度であった。

いずれの用量群においてもタピナロフ投与に関連する分娩への影響はみられなかった。F_0 雌の自然分娩に関する項目（妊娠期間 [範囲：22.4～23.0 日]，分娩に要する時間 [児娩出時間の平均：9.9～13.0 分／児]，性比 [同腹児あたりの雄の比率：44.2%～54.5%] 及び着床数 [9.4～10.3 個]）は，いずれも各群間で同程度であった。6 及び 30 mg/kg/day では，F_1 児の出生時死亡率（死産率が媒体対照群で 0.4%に対し，それぞれ 4.3%及び 8.9%）及び出生後初期の死亡率（媒体対照群で出生後 1～4 日の死亡率が 0.04%以下に対し，6 mg/kg/day で出生後 2～4 日に 13.9%；30 mg/kg/day で出生後 1 日に 6.7%，2～4 日に 39.9%）が上昇し，タピナロフ投与に関連した用量依存的な F_1 児の生存率の低下が認められた。出生後初期の死亡率増加の結果として，出生後 1～4 日における F_1 児の生存率がタピナロフ投与に関連して統計学的に有意に低下したほか（媒体対照群で 99.6%に対し 6 及び 30 mg/kg/day でそれぞれ 85.3%及び 56.1%），出生後 1 及び 4 日の生存同腹児数が明らかに減少した（出生後 1 日：媒体対照群で 9.4 例／腹に対し 30 mg/kg/day で 7.5 例／腹，出生後

4 日：媒体対照群で 9.4 例／腹に対し 30 mg/kg/day で 4.2 例／腹）。F_0 雌に，6 及び 30 mg/kg/day で認められた F_1 児の早期死亡数増加を裏付けるような哺乳及び授乳行動の異常を示唆する所見はみられなかった。6 及び 30 mg/kg/day では，出生後 4 日以降に，F_1 児の生存率及び同腹児数へのタピナロフ投与に関連した影響は認められなかった。1 mg/kg/day では F_1 児の生存性に対する影響はみられなかった。なお，30 mg/kg/day では出生後初期の F_1 児死亡率が高かったため，離乳後の評価に使用できる F_1 児の数が大幅に減少した（媒体対照群で雌雄各 48 例に対し，30 mg/kg/day 群で雌雄各 30～32 例）。

6 及び 30 mg/kg/day の F_1 児では，出生日～出生後 7 日の平均体重が明らかな低値（6 mg/kg/day で媒体対照群の 0.87 倍，30 mg/kg/day で媒体対照群の 0.83 倍）を示し，F_1 児の身体的発育へのタピナロフ投与に関連する影響が認められた。その後は，6 及び 30 mg/kg/day の F_1 児の出生後 14 及び 21 日における体重は媒体対照群の体重を上回った。この急激な体重増加はこれらの群の同腹児数が少なかったことに起因すると考えられた（出生後 21 日の同腹児数：媒体対照群で 8.6 例／腹に対し，6 及び 30 mg/kg/day でそれぞれ 6.8 及び 2.9 例／腹）。一般的に，同腹児数が少ない出生児では同腹児数が多い出生児と比較し哺乳期間全体での身体的発育速度が速く，同腹児数と出生児の離乳前の成長が逆相関関係を示す[5, 6]。死亡又は安楽死に至った F_1 児では，タピナロフ投与に関連する肉眼所見は認められず，出生後初期の死亡児では，脱水，接触時冷感及び蒼白が確認された。病理組織学的検査では，生後 7 日に生存していた離乳前の児の腎臓（特に皮質，髄質，腎乳頭及び腎盂）の成熟度に関し媒体対照群と 30 mg/kg/day の間に差はみられなかった。

F_0 雌（母動物）へのタピナロフの皮下投与後に生後 10 日の F_1 児の血漿中でタピナロフが検出されたことから，タピナロフが乳汁中に移行することが確認された。出生後 10 日の F_1 児の血漿中濃度は，母動物への投与後 3～22 時間において 6 mg/kg/day で 0.326～0.506 ng/mL，30 mg/kg/day で 0.301～0.985 ng/mL であった。1 mg/kg/day では，F_1 児の血漿中薬物濃度は定量下限未満であった。

6 及び 30 mg/kg/day の F_1 児で認められた上述の体重への影響を除き，妊娠及び哺乳期間中のタピナロフの曝露により F_1 児の離乳後の体重，性成熟，神経行動発達及び生殖能に対する影響は誘発されなかった。膣開口時日齢の群平均値（媒体対照群で 32.1 日齢に対し，32.1～32.5 日齢），陰茎亀頭からの包皮分離時日齢の群平均値（媒体対照群で 45.6 日齢に対し，44.9～46.7 日齢），平均発情回数（第 1 回目同居前の約 30 日間における発情回数：媒体対照群で 7.29 回に対し 6.24～7.21 回，第 2 回目同居前の 10 日間における発情回数：媒体対照群で 2.50 回に対し 2.50～2.83 回）及び交尾所要日数（第 1 回目同居：媒体対照群で 2.0 日に対し 1.7～2.9 日，第 2 回目同居：雌で媒体対照群 3.2 日に対し 2.2～3.1 日，雄で媒体対照群 3.3 日に対し 2.3～3.8 日）は，各群間で同程度であった。

いずれの用量群においても F_1 動物の交尾行動及び受胎能にタピナロフ投与に関連する明らかな影響はみられなかった。なお，実験室の照明を制御するタイマーが，同居開始前の約 5 日間（132 時間）にわたり動作不良を起こして白色光に連続して曝されたことにより，媒体対照群を含む全群で性周期が乱れ（性周期の不規則化や発情間期又は発情期の延長），受胎能に二次的な影響を及ぼしたが，F_1 動物の第 1 及び 2 回目同居後の自然分娩パラメータ（妊娠期間 [22.5～23.0 日間]，分娩速度 [児娩出時間の平均：7.9～13.0 分／児]，着床数／腹 [10.4～13.3 個] 及び性比 [同腹児

あたりの雄の比率：40.3%～62.3%] ）は各群間で同程度であった。また，F_2 児の平均体重（出生後 1 日：5.5～6.1 g；7 日：11.3～14.6 g）及び生存率（出生後 1～4 日：95.2%～100.0%）に媒体対照群との明らかな差がみられなかったことから，F_2 児の生存性，身体的発育へのタピナロフ投与に関連する影響は認められなかった。

結論として，妊娠雌性ラット（F_0）に，0（媒体対照），1，6 又は 30 mg/kg/day のタピナロフを妊娠 6 日から哺育 20 日まで皮下投与したところ，タピナロフ投与に関連する一般状態変化として妊娠及び哺育期間中に全用量群で投与部位の痂皮形成の所見が用量依存的に発現増加し，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 雌では妊娠／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出生後 1 週の出生児体重が低値を示したが，出生後 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 mg/kg/day では認められなかった。F_1 児の離乳後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 と判断された。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 で 0.301～0.985 ng/mL），タピナロフが母乳に移行することが確認された。

2.6.6.6.4 幼若動物を用いた試験

2.6.6.6.4.1 ラットの幼若動物毒性試験

2.6.6.6.4.1.1 ラットの皮下投与による幼若動物忍容性／用量設定試験[報告書番号 20[redacted]N182130]

（参考資料：CTD4.2.3.5.4-1）

本試験は，幼若 Wistar Han ラットの生後 7～32 日に，媒体 Captisol®を単独で反復皮下投与したときの忍容性を評価した後，タピナロフを反復皮下投与したときの忍容性及び TK を評価することを目的とした。高い全身曝露条件とするため，Captisol®を 30%の濃度で超純水と混合したものを媒体としてタピナロフ溶液を調製し，0.22 µm ポリエーテルスルホン（PES）メンブレンフィルターでろ過した後，3 mL/kg の容量で皮下投与した。評価項目は，生存率確認，一般状態観察，体重，肉眼的観察（用量設定フェーズのみ），並びに生後 13 及び 21 日（忍容性フェーズ 2）と生後 13，22 及び 32 日（用量設定フェーズ）における TK 評価（プロファイルのコンポジット解析）とした。

本試験は 3 つのフェーズで構成した。2 つの忍容性フェーズ（サブセット 1 及び 2）及び用量設定フェーズ（サブセット 3）であった。忍容性フェーズ 1 及び 2 では，それぞれ 5 匹及び 12 匹の交配済み（Wistar Han）母動物を Charles River Kingston（米国ニューヨーク州ストーンリッジ）から入手した。用量設定フェーズでは，Charles River Kingston（米国ニューヨーク州ストーンリッジ）から入手した非妊娠雌性ラット（Wistar Han）20 匹を試験施設で交配させ，妊娠 0 日に本試験に

組み入れた。各用量群への割付け前に，同腹児数を目標とする雌雄各 4 匹／腹に調整するため，同腹児の間引き及び最小限の里子哺育を行った。忍容性フェーズ 1 では，Captisol®を 30%の濃度で超純水と混合したものを 1，2 又は 3 mL/kg/day の容量で，それぞれ 1 同腹児（雌雄各 4 匹）の生後 7～21 日に投与し，媒体の忍容性及び至適な投与容量を評価した。忍容性フェーズ 2 では，1，10 及び 30 mg/kg/day のタピナロフ溶液をそれぞれ 3 同腹児（雌雄各 4 匹／腹）の生後 7～21 日に，忍容性フェーズ 1 で忍容性が確認された最大容量（3 mL/kg）で投与した。忍容性試験 2 では，出生児の日齢が進むにつれ，全身曝露量が著しく減少したため，用量設定フェーズでは，投与期間全体を通して全身曝露量を同程度に保つため，用量を漸増した。すなわち，用量設定フェーズでは，各 4 同腹児（雌雄各 4 匹／腹）に対し，0 mg/kg/day（媒体対照）を生後 7～32 日に投与したほか，タピナロフを 0.7，10 及び 20 mg/kg/day の用量で生後 7～21 日に投与後，用量を増量しそれぞれ 1，15 及び 30 mg/kg/day の用量で生後 22～32 日に投与した。本報告書では，これらの群をそれぞれ 0，0.7/1，10/15 及び 20/30 mg/kg/day 群と表記した。

媒体（Captisol®を 30%の濃度で超純水と混合したもの）を生後 7～21 日に反復皮下投与したところ，3 mL/kg/day 以下の容量で良好な忍容性を示した（忍容性フェーズ 1）。

雌雄の動物にタピナロフを 1, 10 及び 30 mg/kg/day の用量で生後 7～21 日（忍容性フェーズ 2），又はタピナロフを 0.1/1, 10/15 及び 20/30 mg/kg/day の用量で生後 7～32 日に反復皮下投与した（用量設定フェーズ）。用量設定フェーズでは，全身曝露量をより一定に保つため，用量を漸増した。すなわち，最初に設定した用量を生後 7～21 日，次に設定した用量を生後 22～32 日に投与した。

離乳後に 20/30 mg/kg/day 群で体重増加量の軽度の低値及び投与部位（腰部）の薄毛が認められたが，全用量とも良好な忍容性を示した。媒体対照群に対し，すべてのタピナロフ投与群では皮下投与部位で暗色巣の発現頻度の増加が認められたが，用量依存性はみられなかった。20/30 mg/kg/day 群の雌では，平均胸腺重量が低値であり，雌 1 例では肉眼的に，胸腺の小型化が認められた。10/15 mg/kg/day 以上の用量群で，腎盂拡張の発現頻度が用量依存的に増加したが，腎盂拡張は媒体対照群でも認められた。

2.6.6.6.4.1.2 ラットの皮下投与による幼若動物毒性試験［報告書番号 20[redacted]N211697］

（評価資料：CTD4.2.3.5.4-2）

本試験は，OECD GLP に従って実施した［本試験の一部（生体試料分析／TK 評価及び病理ピアレビュー）は FDA GLP に従って実施］。

本試験は，幼若ラット［Wistar Han 系，Charles River Kingston（米国ニューヨーク州ストーンリッジ）から入手］にタピナロフを生後 7 日から 10 週間反復皮下投与したときの毒性，TK，並びに成長及び発達に影響を及ぼす可能性を評価することを目的とした。

生存率確認，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，並びに剖検及び病理組織学的検査を実施した。

各群 100 匹（雄 40 匹及び雌 60 匹）の雌雄幼若 Wistar Han ラットに，媒体（Captisol®を 30%の濃度で注射用滅菌水（USP）と混合したもの）又はタピナロフを，0（媒体対照），1/1.5，10/15 又は 20/30 mg/kg/day の用量で 1 日 1 回投与した。最初に設定した用量を生後 7～21 日，次に設定した用量を生後 22～77 日に投与した。この用量増量は，先行するラット幼若動物忍容性／用量設定試験において動物の成熟に伴い曝露量が減少したため，投与期間を通じて全身曝露量を一定に維持する目的であった。投与容量を 3 mL/kg/day として皮下投与した。各群雌雄各 10 例を投与期間終了時（生後 78 日），各群雌雄各 10 例を休薬期間終了時（生後 106 日）に剖検に供し，病理学的評価を行った。4 週間の休薬期間を設けた。媒体群及びタピナロフ投与群では，その他の評価として，行動学的評価，並びに免疫系の発育，雌の性周期，雄の交尾能，受胎能及び雄への影響を介した発生毒性の評価を実施した。生後 13，22，32 及び 77 日に TK 評価（3 匹／性／群／採血ポイント）を実施した。生後 21 日の投与後 1 時間にも，各群雌雄各 3 匹から血漿中薬物濃度分析に用いる血液を採取した。

生後 13，22，32 及び 77 日の全身曝露量の雌雄平均値は用量増加に伴い増加し，生後 22，32 及び 77 日の全身曝露量の増加は概ね用量比通りであった。生後 13 日の全身曝露量の増加は，10～20 mg/kg/day の範囲で概ね用量比通りであったが，1～10 mg/kg/day（10 倍の増加）の範囲では，C_{max} 及び AUC_{0-t} 値が用量比を上回る 18～22 倍の増加を示した。1/1.5 mg/kg/day 群では，生後 22 日より用量を増加させたにもかかわらず，生後 22 日の全身曝露量は生後 13 日と差がなかった。10/15 及び 20/30 mg/kg/day 群では，生後 22 日の曝露量が生後 13 日と比較して減少した。その後の反復投与により，全用量群で曝露量が生後 77 日まで増加したため，生後 13 日と 77 日の曝露量は同程度であった。雌雄における生後 77 日の C_{max} 及び AUC_{0-t} の平均値は，生後 22 日のそれぞれの値よりも 1.38～2.34 倍高かった。

タピナロフ投与に関連した死亡，眼科学的変化，体重，摂餌量，行動機能，性成熟の身体指標，骨長測定値，性周期及び雄生殖能への影響，並びに雄への影響を介した発生毒性はみられなかった。タピナロフ投与に起因する精巣の病理組織学的変化及び精子形成サイクルへの影響は認められなかった。タピナロフ投与は，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学検査及び尿検査項目，並びに TDAR に影響を及ぼさなかった。

10/15 mg/kg/day 以上の用量群の雌雄では，病理組織学的検査で腎盂拡張の発現頻度の増加が認められた。10/15 mg/kg/day 以上の用量群の雄で，ごく軽度かつ可逆的な尿中グルコース及び蛋白総排泄量の高値が認められた。腎盂拡張は 4 週間の休薬期間後に回復を示さなかったため，毒性学的に意義のある所見と判断された。

すべてのタピナロフ投与群で投与部位の薄毛の発現頻度増加が認められ，20/30 mg/kg/day 群で媒体対照群と比較して痂皮の発現頻度増加が認められた。20/30 mg/kg/day 群では，皮下投与部位の病理組織所見（出血，炎症及び／又は壊死）の程度が相対的に強く，4 週間の休薬期間終了時には部分的な回復のみ確認された。これらの影響は実験操作により二次的に生じたものと判断されたが，20/30 mg/kg/day 群で増悪が認められた。これらの影響は部分的～完全な回復を示したため，毒性学的意義は低いと判断された。

投与期間終了時（生後 78 日）において，末梢血中 NK 細胞（絶対数及び相対比率）の用量依存的な減少が 10/15 mg/kg/day 以上の用量群の雌雄で認められた。休薬期間終了時（生後 106 日）に

は，20/30 mg/kg/day 群の雌の NK 細胞の絶対数を除き，回復性が確認された。投与期間終了時において，末梢血中の細胞傷害性 T 細胞（絶対数及び相対比率）の軽度増加が 10/15 mg/kg/day 以上の用量群の雌雄で認められた。休薬期間終了時には，10/15 mg/kg/day 以上の用量群における細胞傷害性 T 細胞の絶対数（雄）及び相対比率（雌）を除き，回復性が確認された。投与期間終了時，胸腺重量の低値が 10/15 mg/kg/day 以上の用量群の雌雄で認められた。この減少は病理組織学的な細胞密度の低下と相関した。しかし，胸腺重量減少及び細胞密度低下はいずれも，完全な回復性を示した。20/30 mg/kg/day 群の雌雄で，投与期間終了時に総リンパ球数（TLC）（胸腺 1 g あたりの細胞数及び 1 胸腺あたりの細胞数）の減少が認められ，これらの群で胸腺成熟 T 細胞（CD4 単独陽性，CD4/CD8a 二重陽性及び CD4/CD8a 二重陰性の胸腺細胞）の絶対数減少と相関した。CD4/CD8a 二重陽性の胸腺細胞は相対比率も減少し，影響が最も大きく，雌よりも雄でより影響が大きかった。20/30 mg/kg/day 群の雌雄では，胸腺 T_{reg} 細胞の絶対数の軽度減少も認められ，他の胸腺 T 細胞集団も雌雄で減少していたことを勘案すると，タピナロフ投与に関連した変化と判断された。TLC 及びすべての胸腺 T 細胞集団の数は休薬期間終了時に回復した。タピナロフ投与に関連した変化が血液及び胸腺の細胞集団でみられたが，それらの値の多くが主試験及び回復期間における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。さらに，タピナロフ投与に関連した変化が胸腺重量，胸腺細胞集団の病理組織所見（細胞密度低下）及び胸腺成熟 T 細胞集団にみられたが，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。

本試験における結論を以下に記載する。雌雄の幼若ラットにタピナロフを 0（媒体対照），1/1.5，10/15 及び 20/30 mg/kg/day の用量で，生後 7～77 日に反復皮下投与した（最初の設定用量を生後 7～21 日に投与し，次の設定用量を生後 22～77 日に投与）。4 週間の休薬期間を設けた。行動，免疫系の発育，性周期（雌）及び受胎能（雄）への影響を評価した。病理組織学的検査で，10/15 mg/kg/day 以上の雌雄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），胸腺成熟 T 細胞の細胞分画の比率にみられたが，T 細胞機能に関連する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，その値の多くが主試験群及び休薬群の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。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 $AUC_{0\text{-}t}$ の雌雄平均値は 86.4 ng·hr/mL）と判断された。

2.6.6.6.4.1.3 ラットの皮下投与による幼若動物探索的試験［報告書番号 20[redacted]N278677］

（参考資料：CTD4.2.3.5.4-3）

本試験は，幼若ラットにタピナロフを生後 7，15，22 又は 32 日から最長で生後 56 日まで反復皮下投与したときに腎臓に及ぼす影響を詳細に検討することを目的とした。

30%Captisol®水溶液を媒体としてタピナロフ溶液を調製し，雌雄の幼若ラットに対し，投与当日の体重に基づき 3 mL/kg の容量で皮下投与した。雌雄ラットの生後 7～56 日の様々な期間に，20 又は 30 mg/kg/day のタピナロフ又は媒体を皮下投与した。

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上昇（最大 58%）が認められ，肉眼所見である腎表面陥没と一致した。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な減少（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（NGAL）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 日及び生後 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腎臓の発達時期）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尿細管変性をしばしば伴っていた。

2.6.6.7 局所刺激性試験

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，*in vitro* 試験及び *in vivo* 経皮投与及び点眼投与による試験を実施した。実施した試験一覧を，モジュール 4 内の記載箇所及び GLP 適合性とともに，表 12 に示す。局所刺激性試験に使用したタピナロフのバッチの一覧表を，製剤処方の情報とともに，表 13 に示す。

表 12 タピナロフの局所刺激性試験一覧

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	投与量又は投与濃度	投与期間	GLP	試験施設	報告書番号	CTD 番号
***In Vitro* 試験**										
局所刺激：溶血性	Göttingen ミニブタ血液	NA	*in vitro*	NA	1.38 及び 4.15 mg/mL	*in vitro*	非適	GSK	20[redacted]N162009	4.2.3.6-1
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	STFL	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	STFL	20[redacted]N235202	4.2.3.6-3
***In Vivo* 試験**										
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 又は 20M	経皮	A	1%, 4%, 8%	0，6，13 及び 27 日	非適	[redacted]	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	[redacted]	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	[redacted]	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	[redacted]	20[redacted]N163834	4.2.3.6-7
局所刺激：急性眼刺激性／腐食性試験	ウサギ（NZW）	3F	眼	A	8%	単回	非適	[redacted]	20[redacted]N163833	4.2.3.6-8

試験施設： [redacted] = [redacted]；[redacted] = [redacted]；[redacted] = [redacted]，Welichem 社が委託；STFL = Stiefel（GSK の子会社）
F = 雌；M = 雄；NA = 該当なし；NZW = New Zealand White [Crl:KBL(NZW)BR]

表 13 局所刺激性試験に使用したタピナロフのバッチ番号及び製剤処方

バッチ又はロット番号	試験の種類	動物種（系統）／試験系	投与期間	報告書番号	投与濃度	製剤処方
[redacted]*	皮膚刺激性	再構築ヒト表皮 EpiDerm	2, 6, 24 時間	20[redacted]N178086	0.5%	クリーム剤（処方 D）
[redacted]**	溶血性	Göttingen ミニブタ血液	*in vitro*	20[redacted]N162009	4.15, 1.38 mg/mL	30% Captisol®
[redacted]**	局所リンパ節試験	マウス（CBA/CaCrl）	3 日間	20[redacted]N175961	1%, 2%, 4%	クリーム剤（処方 D）
[redacted]	皮膚刺激性	再構築ヒト表皮 EpiDerm	2, 6, 24 時間	20[redacted]N235202	0.5%, 1%, 2%	複数の製剤
[redacted]*	光毒性	ヘアレスマウス（Crl:SKH1-hr）	単回	20[redacted]N163834	1%, 4%, 8%	クリーム剤（処方 A）
	皮膚感作性試験（ビューラー法）	モルモット（Crl:HA(BR)）	0, 6, 13 及び 27 日	20[redacted]N163830	1%, 4%, 8%	クリーム剤（処方 A）
	急性皮膚刺激性	ウサギ（NZW）	単回	20[redacted]N163832	8%	クリーム剤（処方 A）
	急性眼刺激性／腐食性試験	ウサギ（NZW）	単回	20[redacted]N163833	8%	クリーム剤（処方 A）
[redacted]*	皮膚感作性試験（ビューラー法）	モルモット（Crl:HA(BR)）	0, 6, 13 及び 27 日	20[redacted]N163830	1%, 4%, 8%	クリーム剤（処方 A）
	急性皮膚刺激性	ウサギ（NZW）	単回	20[redacted]N163832	8%	クリーム剤（処方 A）
	急性眼刺激性／腐食性試験	ウサギ（NZW）	単回	20[redacted]N163833	8%	クリーム剤（処方 A）
	光毒性	ヘアレスマウス（Crl:SKH1-hr）	単回	20[redacted]N163834	1%, 4%, 8%	クリーム剤（処方 A）
[redacted]	皮膚刺激性	再構築ヒト表皮 EpiDerm	2, 6, 24 時間	20[redacted]N235202	0.5%, 1%, 2%	複数の製剤

* これらのバッチの合成経路は，3.2.S.2.2 項の図 1 に示した合成経路とは関連しないものである。この合成経路は，非臨床，臨床及び市販バッチの合成に現在では使用されていない。
** このバッチの合成に用いた合成経路は，非臨床バッチ及び臨床バッチの合成にも使用した。
NZW = New Zealand White [Crl:KBL(NZW)BR]

2.6.6.7.1 *In Vitro* 局所刺激性試験

2.6.6.7.1.1 ミニブタ血液を用いた SBE β-シクロデキストリン，プロピレングリコール及びポリエチレングリコール（PEG400）を含有する媒体の *In Vitro* 溶血性試験［報告書番号 20[redacted]N162009］

（参考資料：CTD4.2.3.6-1）

本試験は，Göttingen ミニブタの赤血球に対するタピナロフ静脈内投与媒体の溶血性を，*in vitro* 全血アッセイで評価することを目的とした。

EDTA で抗凝固処理したミニブタ血液（400 µL）を，0.9%塩化ナトリウム（陰性対照），10 mg/mL サポニン（陽性対照），30% Captisol®（媒体）単独又は 30% Captisol®を用いて調製したタピナロフ溶液（濃度 8.3 及び 2.76 mg/mL），それぞれ 400 µL とともにインキュベーションした。インキュベーション（37°C で 10 分間）及び遠心後，各上清中の Hb 濃度をシアンメトヘモグロビン法（Sigma Diagnostics）により測定した。

前日に採取したミニブタ血液（約 4°C で保存）を室温とし，タピナロフを含有しない媒体，20%プロピレングリコール又は 40%PEG400 の溶血性評価に使用した。上述と同じ容量及び手順で溶血性評価を実施した。

各評価物質とともにインキュベーションしたときの溶血率を評価した。溶血率が 2%以下の場合に陰性と判断した。

30% Captisol®を用いて調製したタピナロフ溶液（全血中濃度 4.15 及び 1.38 mg/mL）及び 30% Captisol®単独は，ミニブタ全血で溶血性を示さなかった。媒体のうち 2 種類［20%プロピレングリコール及び 40%PEG400 の脱イオン／逆浸透水（DI/RO）溶液］が溶血性を示した（それぞれ 88.4%及び 9.9%）。

2.6.6.7.1.2 プロジェクト初期の製剤の刺激性（ET-50），Round 1［報告書番号 20[redacted]N178086］

（参考資料：CTD4.2.3.6-2）

本試験は，プロジェクト初期の製剤の皮膚刺激性を評価することを目的とした。様々なタピナロフクリーム剤を終濃度 0.5%で評価した。供給者の推奨に従って，再構築ヒト表皮 EpiDerm をタピナロフに 37°C/5% CO_2 で 2，6 及び 24 時間曝露した。陰性対照への曝露時間は 5 時間，陽性対照への曝露時間は 3 及び 7 時間とした。インキュベーション時間終了時に培地を採取し，–20°C で保存した後，IL-1α 濃度を ELISA により評価した。イソプロパノールをブランクとして，570 nm における吸光度を測定した［測定値からバックグラウンド（650 nm）の吸光度を減じた］。細胞生存率を，100×［OD（試料）／OD（陰性対照）］として算出した。ET-50 とは，細胞生存率が 50%まで低下するのに必要な曝露時間と定義する。ET-50 値に基づき，*in vivo* 皮膚刺激性のグレードを判定した。

MTT アッセイでは，1% Triton X-100 で処理した試料の ET-50 が 4.8 時間であり，アッセイの妥当性が確認された。1% Triton X-100 による ET-50 の許容範囲は 3.7～7 時間である。

いずれのタピナロフクリーム剤においても 24 時間まで，IL-1α 放出量は Triton X-100 で 7 時間処理した試料の IL-1α 放出量を下回った。本試験から，いずれのタピナロフクリーム剤も非刺激性であると予想された。媒体の選択は浸透効果によって決定されるだろう。

2.6.6.7.1.3 プロジェクト初期の製剤の刺激性（ET-50），Round 4［報告書番号 20[redacted]N235202］

（参考資料：CTD4.2.3.6-3）

本試験は，プロトタイプのタピナロフ製剤の刺激性を評価することを目的とした。研究・開発への動物使用に対して全世界でなされている倫理的配慮に従って，本試験はウサギ試験（Draize 法）の *in vitro* 代替モデルを用いて実施した。MatTek 社の EpiDerm（EPI-200）*in vitro* 皮膚モデルは，Draize 法の代替法として設計された。EpiDerm モデルは，正常ヒト由来表皮角化細胞から構成されており，専用の細胞培養用インサート上で無血清培地を用いて培養することによって，多層からなる高度に分化したヒト皮膚モデルとして構築されたものである。

皮膚刺激性の指標として，タピナロフ製剤への経皮曝露後の EpiDerm モデルの細胞生存率及び IL-1α 放出量を経時的にモニターした。細胞生存率は MTT アッセイを用いてモニターした。MTT アッセイは，生細胞のミトコンドリアによる黄色のテトラゾリウム成分（MTT）から不溶性で紫色のホルマザンへの還元を測定する比色法である。紫色の濃淡は生細胞数と正比例する。ET-50 は，組織生存率が 50%まで低下するのに必要な曝露時間と定義される。培地中の IL-1α 濃度を ELISA により評価した。

再構築ヒト表皮（RHE）を用いた皮膚刺激性試験は，新規化学物質（NCE）及びプロトタイプの経皮製剤の毒性を評価すること，また，NCE 及び製剤の開発を進めるべきか否かを判断することを目的として，ルーチンとして実施されている。本試験では，濃度 0.5%，1%又は 2%の様々なタピナロフクリーム剤［10% MCT（Polawax）を基剤とするクリームを含む］を，RHE（EpiDerm）モデルに 37°C/5% CO_2 で 2，6 及び 24 時間適用した。細胞生存率［3-（4,5-ジメチルチアゾール-2-イル）-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロミドを使用］及び IL-1α（急性刺激のバイオマーカー）の放出量を指標として，ヒト皮膚刺激性を予測した。評価したいずれの製剤［10% MCT（Polawax）を基剤とする製剤を含む］も，ヒト皮膚に対して非刺激性と予測された。

2.6.6.7.2 *In Vivo* 局所刺激性試験

2.6.6.7.2.1 モルモットの皮膚感作性試験（ビューラー法）［報告書番号 20[redacted]N163830］

（参考資料：CTD4.2.3.6-4）

本試験では，試験 0，6 及び 13 日目に，タピナロフクリーム 8%（処方 A）を 2.5 × 2.5 cm 大のガーゼパッチに塗布した後，モルモット 20 匹の剃毛した左側腹部に 6 時間貼付し経皮投与した（予備試験では，評価した最高濃度である 8%のタピナロフクリームが非刺激性であることが示されたため，本試験の感作期及び惹起期の使用濃度として設定した）。タピナロフクリーム 0%（基剤対照）をモルモット 10 匹に同じ時点で同様に経皮投与した。試験 0，6 及び 13 日目の経皮投与が本試験の感作期に相当した。感作期の最終投与後 14 日目（試験 27 日目）に，被験物質群，基剤対照群及び陰性対照群の剃毛した右後側腹部にタピナロフクリームを 6 時間経皮投与した（本試験の惹起投与に相当）。試験 27 日目には，被験物質群，基剤対照群及び陰性対照群の剃毛した右前側腹部にタピナロフクリーム 0%も 6 時間経皮投与した。

偽処置対照群（5 匹で構成）を陰性対照群として使用した。感作期に各動物の左側腹部を剃毛した。試験 27 日目（惹起期）に，剃毛した右側腹部の別々の部位に被験物質（タピナロフクリーム

8%）及び基剤対照物質を 6 時間経皮投与した。

陽性対照群（5 匹で構成）には，陽性対照物質（1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン）を参照物質として投与することを除き，上記の試験群（感作期）と同じ処置を行った。惹起期に，陽性対照群の剃毛した右側腹部に陽性対照物質を経皮投与した。各投与終了後 24 及び 48 時間の時点で皮膚反応を評価・記録した。

惹起後，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反応は認められなかった。これらの結果から，タピナロフクリーム 8%はビューラー法を用いたモルモットの皮膚感作性試験で非感作性であることが確認された。

2.6.6.7.2.2 ウサギの急性皮膚刺激性／腐食性試験［報告書番号 20[redacted]N163832］

（参考資料：CTD4.2.3.6-5）

最初に動物 1 匹を用いてタピナロフクリーム 8%（処方 A）を評価した。各試験部位（健常皮膚部位及び損傷皮膚部位）へのパッチ貼付により，タピナロフクリーム 0.5 mL を経皮投与した。半密閉性の包帯材により，タピナロフクリームと皮膚との接触を 24 時間保持した。無投与対照皮膚部位を同時に設けた。

最初の動物で腐食作用が認められなかったため，新たな 2 匹で確認試験を実施した。同じ投与手順に従った。

最初の動物では，曝露期間終了直後，1，24，48 及び 72 時間後に試験皮膚部位を評価した。確認試験では，曝露期間終了の 1，24，48 及び 72 時間後に試験皮膚部位を評価した。曝露期間終了後に刺激性の所見は認められなかった。

健常及び損傷皮膚部位両方のスコア判定結果及び一次刺激指数（0.0）から，Dermal Classification System に基づき，タピナロフクリーム 8%の刺激性は無視できる程度であり刺激性が低いことが確認された

2.6.6.7.2.3 マウスの局所リンパ節試験［報告書番号 20[redacted]N175961］

（評価資料：CTD4.2.3.6-6）

本試験は，OECD GLP に従って実施した。

本試験では，タピナロフクリーム 1%，2%又は 4%（処方 D）を用いて，マウスにおける皮膚感作性を評価した。各群 5 匹の雌性 CBA/CaCrl マウスの耳介背部に，陽性対照物質（α-ヘキシルシンナムアルデヒド），タピナロフクリーム 0%（媒体対照及び基剤対照）又はいずれかの濃度のタピナロフクリームを 1 日 1 回，投与 1，2 及び 3 日目に経皮投与した。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た。各個体の対の耳介リンパ節をプールし，各個体のリンパ節細胞成分の懸濁液を 5% w/v のトリクロロ酢酸溶液で調製後，シンチレーションカウンターで測定した。

試験結果は，刺激指数（基剤対照群の平均シンチレーションカウントに対する試験群の平均シンチレーションカウントの比）を用いて表した。皮膚感作性陽性とみなす刺激指数の閾値を 3.0 とした。

陽性対照物質の刺激指数が 11.97 であったことから，アッセイの性能に問題ないことが確認さ

れた。最高 4%のタピナロフクリーム（処方 D）をマウス両耳介へ 3 日間反復経皮投与したとき，本試験条件下で皮膚感作性を示さなかった。

2.6.6.7.2.4 ヘアレスマウスへの局所塗布による光毒性のスクリーニング試験［報告書番号 20[redacted]N163834］

（参考資料：CTD4.2.3.6-7）

本試験は，Crl:SKH1-hr ヘアレスマウスに 0%（基剤対照），1%，4%又は 8%のタピナロフクリーム（処方 A；100 μL／匹）を経皮投与後，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することを目的とした。光毒性の評価では，タピナロフクリーム製剤を 8-メトキシソラレン（8-MOP）と比較した。

試験期間中，生存率を 1 日 2 回以上確認し（到着日と安楽殺日は 1 回），馴化期間中，各例の外観を週 1 回観察した。

一次刺激性試験では，雄性マウス 12 匹を 4 つの投与群（1～4 群，各群 3 匹）に無作為に割り付けた。各群のマウスに 0%，1%，4%又は 8%のタピナロフクリーム（100 μL／匹）を単回経皮投与した。皮膚反応の評価を含む一般状態観察を，クリーム投与前，投与直後，投与の 1，2 及び 3 日後に実施した。投与日（試験 1 日目）の投与前及び解剖日（試験 4 日目）に体重測定を行った。

1～4 群で認められた皮膚反応は，1）発現が一過性であったこと，2）発現がタピナロフ濃度に依存性を示さなかったこと，また，3）発現した反応が軽度であったことから，強い一次刺激性を示唆するものでないと考えられた。認められた皮膚反応は，一過性・散在性の白色小隆起領域，背部の一過性・散在性の赤色領域，グレード 1 の紅斑（かろうじて識別できる発赤），グレード 1 の剥離（かろうじて識別できる鱗屑），しわなどであった。皮膚反応の所見以外に一般状態変化は認められず，平均体重及び平均体重増加量は 1～4 群で同程度であった。この試験で強い一次刺激性及びタピナロフ投与に関連する悪影響を示唆する所見がみられなかったことから，タピナロフクリーム 1%，4%及び 8%を用いて光毒性試験を実施した。

光毒性試験では，雄性マウス 36 匹を 6 つの投与群（5～10 群，各群 6 匹）に無作為に割り付けた。5 群は無投与群とした。6 群には，陽性対照物質（0.1%の 8-MOP）を単回経皮投与した（100 μL／匹）。7，8，9 及び 10 群には，それぞれ 0%（基剤対照），1%，4%又は 8%のタピナロフクリーム（100 μL／匹）を単回経皮投与した。全例を軽く麻酔した後，マスキングテープで覆ったプラスチック製のチューブ状の保定器内に固定した。紫外線照射（UVR）前に各例の全身を直径約 1.3 cm（1.3 cm^2）の穴を 1 つ開けたアルミ箔で遮蔽した。遮蔽物の穴は背部中央に位置するようにした。UVR 時は，マウスを UVR 用光源から約 1.2 m の距離に配置し，投与完了の約 45±15 分後から約 30 分間照射した。中緯度地域の夏季の太陽光を再現するため，6.5 kW の水冷式キセノンロングアークランプを照射源として使用した。フィルター1 枚（Schott WG 320，ドープガラス，厚さ 1 mm）を用いて，中波長域の紫外線（UVB）照射量を低減した。検出器を用いて入射 UVR 量をモニターし，光源から約 0.5 MED（0.5 最小紅斑線量）を 30 分間照射した。5 群にも同様に UVR を行ったが，無投与とした。

光毒性試験では，投与／UVR 当日の一般状態の観察時点は，投与直前及び直後の各 1 回，UVR 中（常時）及び UVR 終了直後とした。UVR 後に 1 日 1 回 3 日間，毒性所見の有無を観察した。

投与日及び解剖日を含め週1回，体重測定を行った。試験終了時（各試験の試験4日目）に，二酸化炭素による窒息によってマウスを安楽殺し，詳細な評価を行わずに屍体を廃棄した。組織は保存しなかった。

タピナロフクリームの経皮投与及び擬似太陽光の照射を受けたマウスで観察された皮膚反応は，光毒性を示唆するものでないと判断された。タピナロフクリーム1%，4%及び8%群のそれぞれ2，1及び1例で，UVR部位にグレード1の紅斑が発現した。タピナロフクリーム8%群の1例で，UVRの3日後，UVR部位にグレード1の剥離が発現した。これらの皮膚反応は，1）発現がタピナロフ濃度に依存性を示さなかったこと，2）発現が一過性であったこと，また，3）発現が単発的であったことから，光毒性を示唆するものでないと判断された。

陽性対照物質 8-MOP の経皮投与群で観察された皮膚反応は皮膚光毒性を明確に示唆するものであった。8-MOP群では，光毒性を示唆する皮膚所見として，グレード1の紅斑及びグレード1の浮腫（軽度で膨隆が1 mm未満）が全例（6例），グレード2の紅斑（明らかな紅斑）が1例，グレード1の剥離が3例で認められた。

一次刺激性試験及び光毒性試験のいずれにおいても，全例が定期解剖まで生存した。皮膚反応以外に発生した一般状態変化は，単回光毒性試験の6群の1例に認められた左前肢足蹠の腫脹のみであった。

一次刺激性試験では，平均体重及び平均体重増加量が1～4群で同程度であった。光毒性試験では，7群を除くすべての試験群で試験1～4日目に体重減少が発生した。この種の試験では体重減少が高頻度にみられ，UVRに際しての動物への操作・拘束が原因と考えられた。

結論として，雄性ヘアレスマウス（Crl:SKH1-*hr*）に0%（基剤対照），1%，4%又は8%のタピナロフクリームを単回経皮投与したとき，強い一次刺激性を示唆する皮膚反応は誘発されなかった。0%，1%，4%又は8%のタピナロフクリームを単回経皮投与し，その後，キセノンランプを単回照射（擬似太陽光）したとき，光毒性を示唆する皮膚反応は誘発されなかった。陽性対照物質である8-MOPを単回経皮投与した後，擬似太陽光を単回照射したとき，光毒性を示唆する紅斑，浮腫，剥離などの皮膚反応が誘発された。

2.6.6.7.2.5 ウサギの急性眼刺激性／腐食性試験［報告書番号 20[redacted]N163833］

（参考資料：CTD4.2.3.6-8）

最初にNZWウサギ1匹を用いて評価した。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。もう一方の眼を無処置対照とした。24時間の曝露期間中，眼を洗浄しなかった。最初の動物で腐食作用が認められなかったため，新たな2匹を用いて，同様の方法で確認試験を実施した。タピナロフクリームの投与1，24，48及び72時間後に刺激性を評価した。

投与1時間後に全例に眼脂（スコア：1）が観察された。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，タピナロフクリーム 8%にはほとんど眼刺激性はない（practically nonirritating）と判定された。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性試験

実施せず。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

実施せず。

2.6.6.8.3 毒性発現の機序に関する試験

実施せず。

2.6.6.8.4 依存性試験

実施せず。

2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験

実施せず。

2.6.6.8.6 不純物の毒性試験

実施せず。

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 非臨床安全性評価

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毒性試験（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 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。高い全身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を実施した。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 週間反復試験，生後 7 日から生後 32，56 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，染色体異常誘発性及びがん原性を，細菌及びほ乳類培養細胞を用いた *in vitro* 試験，げっ歯類を用いた *in vivo* 小核試験，並びにマウス及びラットを用いた経皮投与及び皮下投与によるがん原性試験で評価した。タピナロフの安全性薬理試験が完了しており，結果は 2.6.2 項を参照のこと。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，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，タピナロフのラット皮下投与試験及びタピナロフクリーム（処方 F）のマウス経皮投与試験の 2 試験を実施した。

2.6.6.9.1.1 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 調節作用を有する化合物であることが確認されている。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。

2.6.6.9.1.2 死亡／一般状態の変化

市販予定製剤である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 日目に安楽死させ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（基剤クリーム群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，基剤クリーム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）を投与した雌性ミニブタ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 日目に最大で明瞭な紅斑として認められた。臨床検査又は組織学的所見は本例では認められなかった。死因は不明であるが，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（高用量）群の雄1 例が死亡，雌雄各2 例が切迫解剖となったが，その原因は基剤に関連した投与部位の病変によるもので，この病変はタピナロフにより増悪する可能性があると考えられた。ラット26 週間皮下投与毒性試験では，30 mg/kg/day（高用量）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®）の反復皮下投与時に報告さ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。

2.6.6.9.1.3 肝臓への影響

ラットでは，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（ALT 又は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，観察された肝病変が用量反応性を示さなかったことから，肝病変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する可能性が最も高いと考えられた。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，これらの所見は媒体（Captisol®）に関連する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，肝細胞肥大／再生，壊死／炎症及び胆管増生が 28 日間経皮投与後に 3%（処方 A；225 mg/kg/day）以上のタピナロフクリーム群で認められた。肝重量の増加（最高 1.87 倍）を伴った。血液生化学的検査で，最高用量（7 日間経皮投与毒性試験で 8%のタピナロフクリーム，28 日間経皮投与毒性試験で 6%のタピナロフクリーム）では基剤対照群に比較して ALT（最高 1.5 倍），総ビリルビン（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，これらの作用が，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，ヒト最大推奨用量における最大使用時の臨床曝露量の平均 AUC 値（22.5 ng·hr/mL）に対して雄及び雌でそれぞれ 19 倍及び 94 倍であった［DMVT-505-2104］。

2.6.6.9.1.4 皮膚への影響

各種動物（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，基剤クリーム及び 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症であった。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クリーム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された。

ミニブタの 28 日間及び 13 週間経皮投与毒性試験では，基剤クリーム及び最高 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，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 週間経皮投与毒性試験では，軽度～中等度の紅斑が基剤対照群を含む全群で数例を除いて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）経皮投与毒性試験を実施し，最高 3%の市販予定製剤であるタピナロフクリーム（処方 F）の 1 日 2 回投与を評価した結果，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）を耳介に経皮投与後，耳介リンパ節のリンパ球増殖を測定した結果，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 B）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，媒体群を含む全用量群の投与部位で，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（Captisol®）及び投与操作に関連した変化と考えられるが，タピナロフの投与による増強の可能性が高い。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，媒体の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。

2.6.6.9.1.5 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方で赤血球系パラメータ（RBC，Hb 又は Hct）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 群の雌性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毒性学的意義は低いと考えられ，休薬期間の 29 日目には回復していた。同様の血液学的変化はラット 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（ウサギ：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（RBC，Hb 及び Hct）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の変化に明確な用量相関性は，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，Hb 及び Hct（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。

2.6.6.9.1.6 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%のクリーム（処方 A；480 mg/kg/day）群で軽度，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～中等度の細胞枯渇が胸腺皮質で認められた。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。これらの試験でみられた本所見は毒性所見でないと判断され，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 26 週間皮下投与毒性試験における全身毒性に関する NOAEL は 30 mg/kg/day であり，そのときの曝露量比はヒトの最大 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，Hb 及び Hct 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［総 T 細胞，Th 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），胸腺成熟 T 細胞の細胞分画の比率にみられたが，T 細胞機能（T 細胞依存性抗体産生）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る。また，タピナロフ投与に関連した軽度の変化が血液（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個体間差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。

2.6.6.9.1.7 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} 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[7]。

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。雄性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。

2.6.6.9.1.8 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 を単回腹腔内投与，ラットに最高 30 mg/kg/day を 4 週間反復皮下投与した結果，小核誘発能は認められなかった。これらのデータに基づいて評価した結果，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，タピナロフを最終的な臨床試験用製剤である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；DMVT-505-2104）

に基づくと，マウスの経皮投与がん原性試験では，ラットの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 値（タピナロフクリーム 3%）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 値（1 mg/kg/day ; 30%/10% Captisol®媒体）はヒトでの曝露量の約 3 倍］。

2.6.6.9.1.9 生殖発生に関する所見

タピナロフの 0（媒体対照），1.2，6.9 又は 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 と判断された。28 日間皮下投与毒性試験で雌性ラットに 6 mg/kg/day を投与したときの平均 C_{max} は 132 ng/mL，平均 AUC_{0-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 と判断された。そのときの AUC_{0-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（AUC）22.5 ng· hr/mL と比較して 5.7 倍に相当した。ウサギの 24 時間持続皮下投与による胚・胎児発生に関する試験では，1，2 又は 3 mg/kg/day の投与により影響は認められず，NOAEL における曝露量は，AUC_{0-24} が 159 ng·hr/mL，C_{ave} が 6.64 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。タピナロフの最高 30 mg/kg/day の皮下投与でラットの雌雄受胎能に影響は認められなかった。タピナロフを妊娠ラット（F_0）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，ラットの出生前及び出生後の発生に対する NOAEL は 1 mg/kg/day と判断された。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 又は 20/30 mg/kg/day を 10 週間皮下投与した結果，病理組織学的検査で，雌雄で腎盂拡張がみられ，雄では 10/15 mg/kg/day 以上で可逆的な尿中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少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-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）にラットで水腎症のリスクが上昇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[8-10]。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[8,10]。さらに，出生前及び出生後の発生に関する試験では，F_1 児の腎臓の形態及び成熟に対する影響は認められなか

った。したがって，以上のデータ及び文献から，幼若ラットで認められた腎臓へのこれらの影響がもたらす安全性の懸念はほとんどないことがさらに裏付けられ，ヒトに対する外挿性はないと考えられた。

以下の評価を踏まえると，タピナロフクリーム 1%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平均 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 における曝露量よりも約 15,250 倍低値と予想された（122 ng/mL / 0.008 ng/mL）。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。

2.6.6.9.2 動物／ヒトの曝露量比

タピナロフの経皮及び皮下投与毒性試験における全身曝露量を表 14，表 15 及び表 16 に示した。臨床試験で BSA の平均 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。

2.6.6.9.3 結論

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）安全性マージンがあると考えられた。反復経皮及び皮下投与毒性試験では，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，さらに関連する二次的な臨床検査パラメータの変化も認められた。経皮及び皮下投与試験で認められた主な所見の要約を，表 17 及び表 18 に示す。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。したがって，本製造販売承認申請に含まれる非臨床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 14　タピナロフ経皮投与後の曝露量の比較評価

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% (56)	M	27.5	53.0	11	2.4
	1% (65)	F	20.5	92.8	8.4	4.1
	3% (164)	M	151	498	62	22
	3% (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% (134)	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	34.1	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
ミニブタ・28 日間[a] 処方 B	1.5% (23)	M	1.1	11.1	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	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

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・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	100.9	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	2.0	0.1	0.1
		F	1.2	4.4	0.5	0.2
	2% (38.4)	M	2.9	17.9	1.2	0.8
		F	2.1	18.8	0.9	0.8
	4% (76.2) NOAEL	M	6.5	34.4	2.7	1.5
		F	7.8	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. 基剤対照群の血漿試料で最高血漿中濃度の一部が認められた。その原因として，基剤対照群の試料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，$AUC_{0\text{-}24}$：22.5 ng· h/mL*，DMVT-505-2104 試験）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）

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試料中の濃度は 0.1～0.3 ng/mL 未満）；Wk = Week

表 15 タピナロフ皮下投与後の曝露量の比較評価

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 日間反復	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*，DMVT-505-2104 試験）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 16 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	5.7	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	16.5	NR	6.8	NA
		F	13.1	NR	5.4	NA
	10/15	M	251	NR	103	NA
		F	304	488	125	22
	20/30	M	613	988	251	44
		F	557	939	228	42
幼若ラット [f]	**1/1.5 NOAEL**	M	79.5	89.3	33	4.0
		F	66.7	83.5	27	3.7
	10/15	M	777	1340	318	60
		F	680	1300	279	58
	20/30	M	1860	3610	762	160
		F	1540	2850	631	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。投与終了時の TK パラメータは生後 77 日の平均血漿中濃度から算出した。
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*，DMVT-505-2104 試験）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

表 17 ラット，ウサギ及びミニブタにおけるタピナロフ経皮投与後の主要毒性所見

所見	ラット		ウサギ		ミニブタ	
	影響量及び投与量 (mg/kg/day)	NOAEL 及び投与量 (mg/kg/day)	影響量及び投与量 (mg/kg/day)	NOAEL 及び投与量 (mg/kg/day)	影響量及び投与量 (mg/kg/day)	NOAEL 及び投与量 (mg/kg/day)
死亡	NO	8% (480)	NO	6% (480)	NO	4% (40)[a]
肝臓						
肝細胞空胞化	8% (480)	4% (240)	NO	6% (480)	NO	4% (40)
肝重量高値	4% (240)	1% (60)	6% (480)	4% (320)	NO	4% (40)
肝酵素高値	NO	8% (480)	6% (480)	4% (320)	NO	4% (40)
肝細胞肥大，壊死／炎症，胆管増生及び線維化	NO	8% (480)	1% (80)	ND[b]	NO	4% (40)
皮膚						
弾性低下／乾燥	4% (240)	1% (60)	1% (80)	ND	NO	4% (40)
発赤／紅斑	4% (240)	1% (60)	1% (80)	ND	0%（基剤対照）	ND
皮膚亀裂	4% (240)	1% (60)	4% (225)	1% (80)	NO	4% (40)
表皮過形成	0%（基剤対照）	ND	0%（基剤対照）	ND	NO	4% (40)
過角化	4% (240)	1% (60)	0%（基剤対照）	ND	1.5%	ND
胸腺						
リンパ球枯渇	8% (480)	4% (240)[c]	6% (480)	4% (320)[c]	NO	4% (40)

a. 13 週間経皮投与毒性試験（処方 C）の投与 44 日目に雌 1 例が死亡。死因は不明であるが，タピナロフクリーム 4%（1 日 2 回）の投与は関連していないと考えられる。
b. 1%（80 mg/kg/day）での所見の毒性学的意義は低いと判断した。
c. 低用量では評価せず
ND = 確定せず；NO = 認められず；NOAEL = 無毒性量

表 18 ラットにおけるタピナロフ皮下投与後の主要毒性所見

所見	ラット 28 日間		ラット 13 週間		ラット 26 週間		幼若ラット 10 週間	
	影響量 (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)	影響量 (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)	影響量 (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)	影響量 (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)
死亡	NO	30	40	10	NO	30	NO	20/30
肝臓 肝重量高値	30	6	10	3	NO	30	NO	20/30
腎臓 腎盂拡張	NO	30	NO	40	NO	30	10/15	1/1.5
胸腺 胸腺重量の低値	6	1	10	3	30	6	10/15	1/1.5
胸腺のリンパ球枯渇	NO	30	10	3	30	6	10/15	1/1.5

NO = 認められず ; NOAEL = 無毒性量

2.6.6.10 図表

文章中に記載した。

2.6.6.11 参考文献

1. Hubert MF, Gerin G, Durand-Cavagna G. Spontaneous ophthalmic lesions in young Swiss mice. Lab Anim Sci. 1999;49(3):232-40.

2. Bartholomew PM, Kreeger JM, Morton D. Injection-site malignant fibrous histiocytomas in a pegvisomant carcinogenicity study in SD rat. Toxicol Pathol. 2014 Oct;42(7):1082-91.

3. Stella VJ, He Q. Cyclodextrins. Toxicol Pathol. 2008; 36:30-42.

4. Luke DR, Tomaszewski K, Damle B, Schlamm HT. Review of the basic and clinical pharmacology of sulfobutylether-beta-cyclodextrin (SBECD). J Pharm Sci. 2010 Aug;99(8):3291-301.

5. Chahoud I, Paumgartten F. Influence of litter size on the postnatal growth of rat pups: Is there a rationale for litter-size standardization in toxicity studies? Environ Res. 2009 Nov; 109(8):1021-7.

6. Romero A, Villamayor F, Grau MT, Sacristán A, Ortiz JA. Relationship between fetal weight and litter size in rats: application to reproductive toxicology studies. Repro Toxicol. 1992; 6(5):453-6.

7. 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.

8. 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.

9. 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.

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

タピナロフ

第 2 部 CTD の概要（サマリー）
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.7 毒性試験の概要表

日本たばこ産業株式会社

目次

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary 4
2.6.7.1 Toxicology: Overview 4
2.6.7.1.1 Summary of Toxicology Studies Conducted with Tapinarof 4
2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies 9
2.6.7.2.1 Summary of Toxicokinetic Studies Conducted with Tapinarof 9
2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data 12
2.6.7.3.1 Comparative Assessment of Mean Systemic Exposure Following Dermal Administration of Tapinarof 12
2.6.7.3.2 Comparative Assessment of Mean Systemic Exposure Following Subcutaneous Administration of Tapinarof 14
2.6.7.3.3 Comparative Assessment of Mean Systemic Exposure Following Subcutaneous Administration of Tapinarof in Rat and Rabbit Reproductive, Developmental, and Juvenile Toxicology Studies 15
2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance 16
2.6.7.4.1 List of Tapinarof Batches Used in Nonclinical Toxicology Studies 16
2.6.7.5 Toxicology: Single-Dose Toxicity 20
2.6.7.5.1 Non-Pivotal Single Dose Studies 20
2.6.7.6 Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Nonpivotal Studies) 21
2.6.7.6.1 Non-Pivotal Dermal Administration Studies 21
2.6.7.6.2 Non-Pivotal Subcutaneous Administration Studies 23
2.6.7.7 Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Pivotal Studies) 24
2.6.7.7.1 Dermal Administration 24
2.6.7.7.2 Subcutaneous Administration 42
2.6.7.8 Genotoxicity: *In Vitro* 57
2.6.7.8.1 Bacterial Reverse Mutation Test of WBI-1001 [Report 20[redacted]N163822] 57
2.6.7.8.2 Bacterial Reverse Mutation Assay (Ames Test) with *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* [Report 20[redacted]N170816] 59
2.6.7.8.3 Chromosome Aberration Test of WBI-1001 in Cultured Chinese Hamster Ovary Cells [Report 20[redacted]N163824] 61
2.6.7.8.4 *In Vitro* Mutation Assay with L5178Y Mouse Lymphoma Cells at the TK Locus [Report 20[redacted]N173392] 63
2.6.7.9 Genotoxicity: *In Vivo* 64
2.6.7.9.1 *In Vivo* Mouse Micronucleus Test of WBI-1001 [Report 20[redacted]N163826] 64
2.6.7.9.2 4-Week Subcutaneous Toxicity Study and Bone Marrow Micronucleus Assay in Rats [Report 20[redacted]N166805] 65
2.6.7.10 Carcinogenicity 66

2.6.7.10.1 Dermal Administration 66
2.6.7.10.2 Systemic Administration 70
2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity 74
2.6.7.11.1 Non-Pivotal Studies 74
2.6.7.11.2 Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development to Implantation (Pivotal) 75
2.6.7.11.3 Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Embryo-Fetal Development (Pivotal) 77
2.6.7.11.4 Reproductive and Developmental Toxicity: Effect on Prenatal and Postnatal Development, Including Maternal Function (Pivotal) 82
2.6.7.12 Studies on Juvenile Animals 87
2.6.7.12.1 Subcutaneous Juvenile Toxicity Study in Rats [Report 20[redacted]N211697] 87
2.6.7.13 Local Tolerance 93
2.6.7.13.1 Summary of Local Tolerance Studies - tapinarof 93

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary

Tapinarof (JTE-061) is referred to as DMVT-505, GSK2894512A, GSK2894512 or WBI-1001 in some study reports.

2.6.7.1 Toxicology: Overview

2.6.7.1.1 Summary of Toxicology Studies Conducted with Tapinarof

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Dermal Formulation	Concentration or Dose (mg/kg/day)	Duration of Dosing	GLP	Report No. / Location in CTD
Single-Dose Toxicity Studies								
Single-Dose Toxicity	Rat (WH)	3M	Oral, Subcutaneous	NA	0, 10 mg/kg	Single	No	20[redacted]N158999/ 4.2.3.1-1
Single-Dose Toxicity	Rat (SD)	6M/6F	Dermal	A	8% (480 mg/kg)	Single	No	20[redacted]N172052/ 4.2.3.1-2
Single-Dose Toxicity	Rabbit (NZW)	6M/6F	Dermal	A	8% (640 mg/kg)	Single	No	20[redacted]N163814/ 4.2.3.1-3
Repeat-Dose Dermal Toxicity Studies in Mouse								
Repeat-Dose Toxicity DRF	Mouse (CD-1)	15MTK	Dermal	E	0%, 1%, 2%, 4% (0.2 g/mouse)	7-Day	No	20[redacted]N175645/ 4.2.3.2-1
Repeat-Dose Toxicity	Mouse (CD-1)	10M/10F 6-30M/6-30F^{TK}	Dermal	E	0%, 1%, 2%, 4% (0, 60-80, 110-160, 220-330)	14-Day	Yes	20[redacted]N184562/ 4.2.3.2-2
Repeat-Dose Toxicity	Mouse (CD-1)	12M/12F 3-18M/3-18F^{TK}	Dermal	F	0%, 0.5%, 1%, 3% (0.2 mL/mouse)	13-Week	Yes	20[redacted]N241812/ 4.2.3.2-3
Repeat-Dose Dermal Toxicity Studies in Rat								
Repeat-Dose Toxicity DRF	Rat (SD)	4M/4F	Dermal	A	0%, 1%, 4%, 8% (0, 60, 240, 480)	7-Day	No	20[redacted]N172054/ 4.2.3.2-4
Repeat-Dose Toxicity	Rat (WH)	4M 3M^{TK}	Dermal	E	0%, 1%, 2%, 4% (0, 10, 20, 40)	7-Day	No	20[redacted]N175734/ 4.2.3.2-5
Repeat-Dose Toxicity	Rat (SD)	10M/10F 8-16M/8-16F^{TK}	Dermal	A	0%, 1%, 4%, 8% (0, 60, 240, 480)	28-Day	No	20[redacted]N163810/ 4.2.3.2-6
Repeat-Dose Toxicity	Rat (SD)	12M/12F 3-6M/3-6F^{TK}	Dermal	F	0%, 0.5%, 1.5%, 3% (2 mL/kg/day; estimated doses of ~0, 10, 30, 60)	13-Week	Yes	DMVT-505-9003/ 4.2.3.2-7

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Dermal Formulation	Concentration or Dose (mg/kg/day)	Duration of Dosing	GLP	Report No. / Location in CTD
Repeat-Dose Dermal Toxicity Studies in Rabbit								
Repeat-Dose Toxicity DRF	Rabbit (NZW)	2M/2F	Dermal	A	0%, 1%, 4%, 8% (0, 80, 320, 640)	7 to 14 Day	No	20[redacted]N172055/ 4.2.3.2-8
Repeat-Dose Toxicity and Irritation	Rabbit (DB)	3F	Dermal	F	0%, 0.5%, 1%, 3% (2 g/kg)	7-Day	No	20[redacted]N221820/ 4.2.3.2-9
Repeat-Dose Toxicity	Rabbit (NZW)	4M/4F 2-4M/2-4F^{TK}	Dermal	A	0%, 1%, 3%, 4%, 6% (0, 80, 225, 320, 480)	28-Day	No	20[redacted]N163815/ 4.2.3.2-10
Repeat-Dose Dermal Toxicity Studies in Minipig								
Repeat-Dose Toxicity and Irritation	Göttingen Minipig	1M/1F	Dermal	D	0%, 1%, 2%, 4% (0, 20, 40, 80)	7-Day	No	20[redacted]N163449/ 4.2.3.2-11
Repeat-Dose Toxicity and Irritation	Göttingen Minipig	3M	Dermal	E, F	0%, 2%	7-Day	No	20[redacted]N204716/ 4.2.3.2-12
Repeat-Dose Toxicity with a 14-Day Recovery	Göttingen Minipig	3M/3F 2M/2F^{R}	Dermal	B	0%, 1.5%, 3%, 6% (0, 23, 44, 87)	28-Day	No	20[redacted]N163816/ 4.2.3.2-13
Repeat-Dose Toxicity	Göttingen Minipig	3M/3F	Dermal	D	0%, 1%, 2%, 4% (0, 17/9, 36/18, 74/37)	28-Day	No	20[redacted]N167695/ 4.2.3.2-14
Repeat-Dose Toxicity	Göttingen Minipig	3M/3F	Dermal	F	0%, 0.5%, 1%, 3% (0, 10, 20, 60)	28-Day	Yes	20[redacted]N221246/ 4.2.3.2-15
Repeat-Dose Toxicity with a 4-Week Recovery	Göttingen Minipig	3M/3F 2M/2F^{R}	Dermal	C	0%, 1%, 2% and 4% (0, 18-28, 36-56, 72-94)	13-Week	No	20[redacted]N163817/ 4.2.3.2-16
Repeat-Dose Toxicity	Göttingen Minipig	4M/4F	Dermal	E	0%, 0.1%, 1%, 2%, 4% (0, 0.9, 9.7, 38.4, 76.2)	13-Week	Yes	20[redacted]N172520/ 4.2.3.2-17
Repeat-Dose Toxicity with a 1-Month Recovery	Göttingen Minipig	4M/4F	Dermal	F	0%, 0.5%, 1%, 3% BID (0, 10, 20, 60)	9-Month	Yes	20[redacted]N299302/ 4.2.3.2-18
Repeat-Dose Subcutaneous Toxicity Studies in Rat								
Repeat-Dose Toxicity DRF	Rat (WH)	4M/4F 3M/3F^{TK}	Subcutaneous	NA	0, 3, 10, 30	7-Day	No	20[redacted]N160460/ 4.2.3.2-19

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Dermal Formulation	Concentration or Dose (mg/kg/day)	Duration of Dosing	GLP	Report No. / Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity DRF	Rat (Hsd:SD)	5M/5F 6M/6F^{TK}	Subcutaneous	NA	0, 200, 500, 1000[a]	7-Day	No	20[redacted]N163819/ 4.2.3.2-20
Repeat-Dose Toxicity DRF	Rat (WH)	3M	Subcutaneous	NA	0, 30	7-Day	No	20[redacted]N164986/ 4.2.3.2-21
Repeat-Dose Toxicity and Bone Marrow Micronucleus	Rat (WH)	10M/10F 3M/3F^{TK}	Subcutaneous	NA	0, 1, 6, 30	28-Day	Yes	20[redacted]N166805/ 4.2.3.2-22
Repeat-Dose Toxicity with a 4-Week Recovery	Rat (Hsd:SD)	10M/10F 5M/5F^{R} 3-9M/3-9F^{TK}	Subcutaneous	NA	0, 3, 10, 40	13-Week	No	20[redacted]N163820/ 4.2.3.2-23
Repeat-Dose Toxicity with a 6-Week Recovery	Rat (WH)	12M/12F 10M/10F^{R} 6M/6F^{TK}	Subcutaneous	NA	0, 1, 6, 30	26-Week	Yes	20[redacted]N254469/ 4.2.3.2-24
Genotoxicity Studies								
Genotoxicity: Ames test	*S. typhimurium* *E. coli*	NA	*In vitro*	NA	0.76 to 190 µg per plate	NA	No	20[redacted]N163822/ 4.2.3.3.1-1
Genotoxicity: Ames test	*S. typhimurium* *E. coli*	NA	*In vitro*	NA	5 to 5000 µg per plate	NA	Yes	20[redacted]N170816/ 4.2.3.3.1-2
Genotoxicity: Chromosome Aberration Test	Cultured CHO Cells	NA	*In vitro*	NA	1.25 to 20 µg/mL	NA	No	20[redacted]N163824/ 4.2.3.3.1-3
Genotoxicity: Mouse lymphoma	L5178Y TK$^{+/-}$ cells	NA	*In vitro*	NA	5 to 100 µg/mL	NA	Yes	20[redacted]N173392/ 4.2.3.3.1-4
Genotoxicity: Micronucleus	Mouse (Crl:CD-1™ (ICR))	7M	Intraperitoneal	NA	0, 7.8, 15.6, 31.3 mg/kg	Single	No	20[redacted]N163826/ 4.2.3.3.2-1
Repeat-Dose Toxicity and Genotoxicity: Micronucleus	Rat (WH)	5M	Subcutaneous	NA	0, 1, 6, 30	28-Day	Yes	20[redacted]N166805/ 4.2.3.3.2-2

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Dermal Formulation	Concentration or Dose (mg/kg/day)	Duration of Dosing	GLP	Report No. / Location in CTD
Carcinogenicity Studies								
2-Year Carcinogenicity	Mouse (CD-1)	60M/60F 6-30M/6-30F[TK]	Dermal	F	0%, 0%, 0.5%, 1%, 3% (0.2 mL/mouse) [0/0, 0/0, 22.3/26.5, 64.6/74.3, 133.5/159.7 M/F]	100-102 Wks (M); 98 Wks (F)[b]	Yes	DMVT-505-9001/ 4.2.3.4.1-1
2-Year Carcinogenicity	Rat (WH)	60M/60F 9M/9F[TK]/6F[c]	Subcutaneous	NA	0, 0, 0.1, 0.3, 1	60 Wks (M); 82-83 Wks (F)[b]	Yes	DMVT-505-9002/ 4.2.3.4.1-2
Reproductive and Developmental Toxicity Studies								
Female Fertility and Early Embryonic Development	Rat (WH)	22F	Subcutaneous	NA	0, 1, 6, 30	35 days (through Day 6 pc)	Yes	20[redacted]N211242/ 4.2.3.5.1-1
Embryofetal Development	Rat (WH)	22F	Subcutaneous	NA	0, 1.2, 6.9, 34	Days 6 to 17 pc	Yes	20[redacted]N166695/ 4.2.3.5.2-1
Embryofetal Development DRF	Rabbit (NZW)	2-4F	Subcutaneous	NA	0, 2, 4, 10, 30	Days 7 to 19 pc	No	20[redacted]N178148/ 4.2.3.5.2-2
Embryofetal Development	Rabbit (NZW)	22F	Subcutaneous	NA	0, 0.3, 1, 3	Days 7 to 19 pc	Yes	20[redacted]N189059/ 4.2.3.5.2-3
Embryofetal Development	Rabbit (NZW)	22F	Subcutaneous Infusion	NA	0, 1, 2, 3	GD 7 to 19	Yes	20[redacted]N244027/ 4.2.3.5.2-4
Pre- and Postnatal Development	Rat (WH)	24-26F	Subcutaneous	NA	0, 1, 6, 30	GD 6 to LD 20	Yes	20[redacted]N368233/ 4.2.3.5.3-1
Juvenile Toxicity DRF	Rat (WH)	16M/16F	Subcutaneous	NA	0, 0.7/1, 10/15, 20/30	PND 7 to 32	No	20[redacted]N182130/ 4.2.3.5.4-1
Juvenile Toxicity	Rat (WH)	40M/60F	Subcutaneous	NA	0, 1/1.5, 10/15, 20/30	PND 7 to 77	Yes	20[redacted]N211697/ 4.2.3.5.4-2
Juvenile Toxicity (Investigative)	Rat (WH)	30M/30F	Subcutaneous	NA	0, 20/30	PND 7 to 56	No	20[redacted]N278677/ 4.2.3.5.4-3
Local Tolerance Studies								
Local Tolerance: Hemolysis	Göttingen Minipig Blood	NA	*In vitro*	NA	1.39, 4.15 mg/mL	*In vitro*	No	20[redacted]N162009/ 4.2.3.6-1

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Dermal Formulation	Concentration or Dose (mg/kg/day)	Duration of Dosing	GLP	Report No. / Location in CTD
Local Tolerance: Skin Irritation	EpiDerm Culture	NA	*In vitro*	A	0.5%	2, 6, 24 hours	No	20[redacted]N178086/ 4.2.3.6-2
Local Tolerance: Skin Irritation	EpiDerm Culture	NA	*In vitro*	A	0.5%, 1%, 2%	2, 6, 24 hours	No	20[redacted]N235202/ 4.2.3.6-3
Local Tolerance: Skin Sensitization Study (Beuhler Test Method)	Guinea Pig (Crl:HA(BR))	4 or 20M	Dermal	A	1%, 4%, 8%	Days 0, 6, 13 and 27	No	20[redacted]N163830/ 4.2.3.6-4
Local Tolerance: Acute Dermal Irritation	Rabbit (NZW)	3F	Dermal	A	8%	Single	No	20[redacted]N163832/ 4.2.3.6-5
Local Tolerance: Local Lymph Node Assay	Mouse (CBA/CaCrl)	5F	Dermal	D	1%, 2%, 4%	3 Days	Yes	20[redacted]N175961/ 4.2.3.6-6
Local Tolerance: Phototoxicity	Mouse (Crl:SKH1-hr hairless)	6M	Dermal	A	1%, 4%, 8%	Single	No	20[redacted]N163834/ 4.2.3.6-7
Local Tolerance: Acute Eye Irritation/Corrosion	Rabbit (NZW)	3F	Ocular	A	8%	Single	No	20[redacted]N163833/ 4.2.3.6-8

a. Adverse findings were observed at all active dose levels.
b. Last TK sampling at Week 26.
c. Additional TK timepoint at Day 28 with added group (10% Captisol®; reduced vehicle concentration).
DB = Dutch Belted; DRF = dose-range finding; F = female; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; WH = Wistar Han [Crl:WI(Han)]; LD = lactation day; M = male; NA = not applicable; NZW = New Zealand White [Crl:KBL(NZW)BR]; pc = post-coitum; PND = post-natal day; SD = Sprague Dawley; R = recovery; TK = toxicokinetic

2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies

2.6.7.2.1 Summary of Toxicokinetic Studies Conducted with Tapinarof

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Dermal Formulation	Concentration or Dose (mg/kg/day)	Duration of Dosing	GLP	Report No. / Location in CTD
Absorption: Single Dose Oral, Intravenous, and Subcutaneous Studies								
Toxicokinetic and Tolerability	Rat (WI)	3M	Oral Subcutaneous	NA	10 mg/kg/day	Single	No	20[redacted]N158999/ 4.2.3.1-1
Absorption: Repeat-Dose Dermal Studies								
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Mouse (CD-1)	10M/10F 6-30M/ 6-30F^{TK}	Dermal	E	0%, 1%, 2%, 4% (0.2 mL/mouse)	14-Day	Yes	20[redacted]N184562/ 4.2.3.2-2
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Mouse (CD-1)	12M/12F 3-18M/ 3-18F^{TK}	Dermal	F	0%, 0.5%, 1%, 3% (0.2 mL/mouse)	13-Week	Yes	20[redacted]N241812/ 4.2.3.2-3
Carcinogenicity and Toxicokinetics	Mouse (CD-1)	60M/60F 6-30M/6-30F^{TK}	Dermal	F	0%, 0%, 0.5%, 1%, 3% (0.2 mL/mouse) [0/0, 0/0, 22.3/26.5, 64.6/74.3, 133.5/159.7 M/F]	100-102 weeks; 98 weeks[a]	Yes	DMVT-505-9001/ 4.2.3.4.1-1
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Rat (WH)	4M 3M^{TK}	Dermal	E	0%, 1%, 2%, 4% (0, 10, 20, 40)	7-Day	No	20[redacted]N175734/ 4.2.3.2-5
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Rat (SD)	10M/10F 8-16M/8-16F^{TK}	Dermal	A	0%, 1%, 4%, 8% (0, 60, 240, 480)	28-Day	No	20[redacted]N163810/ 4.2.3.2-6
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Rat (SD)	12M/12F 3-6M/3-6F^{TK}	Dermal	F	0%, 0.5%, 1.5%, 3% (2 mL/kg/day; estimated doses ~0, 10, 30, 60)	13-Week	Yes	DMVT-505-9003/ 4.2.3.2-7
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Rabbit (NZW)	4M/4F 2-4M/2-4F^{TK}	Dermal	A	0%, 1%, 3%, 4%, and 6% (0, 80, 225, 320, 480)	28-Day	No	20[redacted]N163809/ 4.2.2.2-17 20[redacted]N163815/ 4.2.3.2-10
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Göttingen Minipig	1M/1F	Dermal	D	0%, 1%, 2%, 4% (0, 20, 40, 80)	7-Day	No	20[redacted]N163449/ 4.2.3.2-11

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Dermal Formulation	Concentration or Dose (mg/kg/day)	Duration of Dosing	GLP	Report No. / Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Göttingen Minipig	3M	Dermal	E, F	0%, 2%	7-Day	No	20[redacted]N204716/ 4.2.3.2-12 20[redacted]N239358/ 4.2.2.2-21
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Göttingen Minipig	3M/3F	Dermal	B	0%, 1.5%, 3%, 6% (0, 23, 44, 87)	28-Day	No	20[redacted]N163816/ 4.2.3.2-13
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Göttingen Minipig	3M/3F	Dermal	D	0%, 1%, 2%, 4% (0, 17/9, 36/18, 74/37)	28-Day	No	20[redacted]N167695/ 4.2.3.2-14
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Göttingen Minipig	3M/3F	Dermal	F	0%, 0.5%, 1%, 3% (0, 10, 20, 60)	28-Day	Yes	20[redacted]N221246/ 4.2.3.2-15
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Göttingen Minipig	5M/5F	Dermal	C	0%, 1%, 2% and 4% (0, 10, 20, 40)	13-Week	No	20[redacted]N163817/ 4.2.3.2-16
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Göttingen Minipig	4M/4F	Dermal	E	0%, 0.1%, 1%, 2% and 4% (0, 0.9, 9.7, 38.4, 76.2)	13-Week	Yes	20[redacted]N172520/ 4.2.3.2-17
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Göttingen Minipig	4M/4F	Dermal	F	0%, 0.5%, 1%, 3% (0, 10, 20, 60)	9-Month	Yes	20[redacted]N299302/ 4.2.3.2-18
Absorption: Repeat-Dose Subcutaneous Studies								
Repeat-Dose Toxicity DRF	Rat (SD)	6M/6F composite	Subcutaneous	NA	0, 200, 500, 1000[b]	7 day	No	20[redacted]N163819/ 4.2.3.2-20
Repeat-Dose Toxicity DRF	Rat (WI)	4M/4F 3M/3F^{TK}	Subcutaneous	NA	0, 3, 10, 30	7-day	No	20[redacted]N160460/ 4.2.3.2-19
Vehicle Investigative	Rat (WI)	3M	Subcutaneous	NA	0, 30	7-day	No	20[redacted]N164986/ 4.2.3.2-21
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Rat (WH)	5M	Subcutaneous	NA	0, 1, 6, 30	28-day	Yes	20[redacted]N166805/ 4.2.3.2-22
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Rat (SD)	10M/10F 5M/5F^{R} 3-9M/3-9F^{TK}	Subcutaneous	NA	0, 3, 10, 40	13-Week	No	20[redacted]N163820/ 4.2.3.2-23
Repeat-Dose Toxicity and Toxicokinetics	Rat (WH)	12M/12F 10M/10F^{R} 10M/10F^{TK}	Subcutaneous	NA	0, 1, 6, 30	26-Week	Yes	20[redacted]N254469/ 4.2.3.2-24

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Dermal Formulation	Concentration or Dose (mg/kg/day)	Duration of Dosing	GLP	Report No. / Location in CTD
Carcinogenicity and Toxicokinetics	Rat (WH)	60M/60F 9M/9F[TK]/6F[c]	Subcutaneous	NA	0, 0, 0.1, 0.3, 1	60 weeks; 82-83 weeks[a]	Yes	DMVT-505-9002/ 4.2.3.4.1-2
Absorption: Reproduction and Developmental Toxicity Subcutaneous Studies								
Embryofetal Development DRF	Rabbit (NZW)	2-4F	Subcutaneous	NA	0, 2, 4, 10, 30	Days 7 to 19 pc	No	20[redacted]N178148/ 4.2.3.5.2-2
Embryofetal Development	Rabbit (NZW)	22F	Subcutaneous	NA	0, 0.3, 1, 3	Days 7 to 19 pc	Yes	20[redacted]N189059/ 4.2.3.5.2-3
Embryofetal Development	Rabbit (NZW)	22F	Subcutaneous Infusion	NA	0, 1, 2, 3	GD 7 to 19	Yes	20[redacted]N244027/ 4.2.3.5.2-4
Pre- and Post-natal Development	Rat (WH)	24-26F (TK on 3/sex/grp F1 offspring on LD 10)	Subcutaneous	NA	0, 1, 6, 30	GD 6 to LD 20	Yes	20[redacted]N368233/ 4.2.3.5.3-1
Juvenile Toxicity DRF	Rat (WH)	16M/16F	Subcutaneous	NA	0, 0.7/1, 10/15, 20/30	PND 7 to 32	No	20[redacted]N182130/ 4.2.3.5.4-1
Juvenile Toxicity	Rat (WH)	40M/60F	Subcutaneous	NA	0, 1/1.5, 10/15, 20/30	PND 7 to 77	Yes	20[redacted]N211697/ 4.2.3.5.4-2
Juvenile Toxicity (Investigative)	Rat (WH)	30M/30F	Subcutaneous	NA	0, 20/30	PND 7 to 56	No	20[redacted]N278677/ 4.2.3.5.4-3

a. Last TK sampling in Week 26.
b. Adverse findings were observed at active dose levels.
c. Additional TK timepoint on Day 28 with added group (10% Captisol®; reduced vehicle concentration).
DRF = dose-range finding; F = female; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; WH = Wistar Han [Crl:WI(Han)]; LD = lactation day; M = male; NA = not applicable; NZW = New Zealand White [Crl:KBL(NZW)BR]; pc = post-coitum; PND = post-natal day; SD = Sprague Dawley; R = recovery; TK = toxicokinetic

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Data

2.6.7.3.1 Comparative Assessment of Mean Systemic Exposure Following Dermal Administration of Tapinarof

Study Type	Concentration (%) and Dose (mg/kg/day)	Sex	End of Study		Ratio of Animal to Human Exposure	
			C_{max} (ng/mL)	AUC (ng.h/mL)	C_{max}	AUC
Mouse 13 Week Formulation 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% (56)	M	27.5	53.0	11	2.4
	1% (65)	F	20.5	92.8	8.4	4.1
	3% (164)	M	151	498	62	22
	3% (206) NOAEL	F	152	518	62	23
Mouse Carcinogenicity Formulation F (Wk 26 TK Data)	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
	3.0% (134)	M	66.4	259	27	12
	3.0% (160)	F	95.7	444	39	20
Rat 28 Day Formulation 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
Rat 13 Week Formulation 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
Rabbit 28 Day Formulation 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
Minipig 28 Day[a] Formulation B	1.5% (23)	M	1.1	11.1	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
Minipig 28 Day Formulation D (Day 14 TK Data)	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

Study Type	Concentration (%) and Dose (mg/kg/day)	Sex	End of Study		Ratio of Animal to Human Exposure	
			C_{max} (ng/mL)	AUC (ng.h/mL)	C_{max}	AUC
Minipig 28 Day Formulation 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
Minipig 13 Week Formulation 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
Minipig 13 Week Formulation 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	2.0	0.1	0.1
		F	1.2	4.4	0.5	0.2
	2% (38.4)	M	2.9	17.9	1.2	0.8
		F	2.1	18.8	0.9	0.8
	4% (76.2) NOAEL	M	6.5	34.4	2.7	1.5
		F	7.8	37.7	3.2	1.7
Minipig 39 Week Formulation 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
Human mean)[b]	1%	NA	2.44	22.5	NC	

a. Control plasma samples were found to contain some of the highest plasma concentrations due to possible *ex vivo* contamination of the samples

b. Mean systemic exposure observed in the atopic dermatitis maximum use study (DMVT-505-2104) following once daily application of tapinarof cream, to 43% BSA for 28 days.

Note: Shaded studies denote the toxicology studies that JT considers pivotal in the detailed evaluation of the nonclinical safety of tapinarof.

AUC = area under the concentration time curve; BSA = body surface area; C_{max} = maximum observed concentration; NC = not calculated; NM = no margin provided (ratio < 0.1); NOAEL = no observed adverse effect level; NR = not reported due to insufficient data to calculate parameter; NQ - not quantifiable, the concentration of tapinarof was NQ (< 0.1-0.3 ng/mL) in each plasma sample; TK = toxicokinetic; Wk = Week

2.6.7.3.2 Comparative Assessment of Mean Systemic Exposure Following Subcutaneous Administration of Tapinarof

Study Type	Dosage (mg/kg/day)	Sex	End of Study		Ratio of Animal to Human Exposure	
			C_{max} (ng/mL)	AUC (ng.h/mL)	C_{max}	AUC
Rat 28 Day	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
Rat 13 Week	**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
Rat 26 Week	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
Rat Carcinogenicity (Wk 26 TK Data)	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
Human (observed mean)[b]	1%	NA	2.44	22.5	NC	

a. NOAEL based upon absence of systemic test article-related adversity.
b. Mean systemic exposure observed in the atopic dermatitis maximum use study (DMVT-505-2104) following once daily application of tapinarof cream, to 43% BSA (SD 15%) for 28 days.
Note: Shaded studies denote the toxicology studies that JT considers pivotal in the detailed evaluation of the nonclinical safety of tapinarof.
AUC = area under the concentration-time curve; BSA= body surface area; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; M = male; NA = not applicable; NC = not calculated; NOAEL = no observed adverse effect level; TK = toxicokinetic; WK= Week

2.6.7.3.3 Comparative Assessment of Mean Systemic Exposure Following Subcutaneous Administration of Tapinarof in Rat and Rabbit Reproductive, Developmental, and Juvenile Toxicology Studies

Study Type	Dosage (mg/kg/day)	Sex	End of Study		Ratio of Animal to Human Exposure	
			C_{max} (ng/mL)	AUC (ng.h/mL)	C_{max}	AUC
Rat Embryofetal Development[a]	1.2	F	29	58	12	2.6
	6.9 NOAEL	F	152	412	62	18
	34	F	763	2425	313	108
Rabbit Embryofetal Development Dose-Ranging	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
Rabbit Embryofetal Development[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
Rabbit Embryofetal Development (SC Infusion Administration)[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	F	6.6[h]	159	2.7	7.1
Rat Pre- and Postnatal Development	**1.0 NOAEL (for F1)**	M, F	NR	NA	NA	NA
	6.0	M, F	0.3 to 0.5	NA	NA	NA
	30	M, F	0.3 to 1.0	NA	NA	NA
Juvenile Rat Dose-Ranging[e]	0.7/1	M	16.5	NR	6.8	NA
		F	13.1	NR	5.4	NA
	10/15	M	251	NR	103	NA
		F	304	488	125	22
	20/30	M	613	988	251	44
		F	557	939	228	42
Definitive Juvenile Rat[f]	**1/1.5 NOAEL**	M	79.5	89.3	33	4.0
		F	66.7	83.5	27	3.7
	10/15	M	777	1340	318	60
		F	680	1300	279	58
	20/30	M	1860	3610	762	160
		F	1540	2850	631	127
Human (observed mean)[g]	1%	NA	2.44	22.5	NC	

a. Extrapolated from 28-day rat study.
b. pc (Dose Day 5).
c. Doses of 0.3, 1.0, and 3.0 mg/kg/day were administered as 0.15, 0.5, and 1.5 mg/kg, respectively, twice daily, approximately 6 hours.
d. Doses of 1, 2, and 3 mg/kg/day were administered by subcutaneous infusion at a dosage rate of 0.25 mL/kg/h over 24 hours.
e. Results are composite (n = 2/time point/group); dosing was initiated on PND 7; starting on PND 22 dose was escalated.
f. Composite TK parameters were derived from mean plasma concentration data on PND 13 (Day 1 values). Serial TK parameters were derived, and the mean TK parameters presented for PND 77 (end of study values).
g. Mean systemic exposure observed in the atopic dermatitis maximum use study (DMVT-505-2104) following once daily application of tapinarof cream, to 43% BSA (SD 15%) for 28 days.
h. C_{ave} over 24-hour infusion.
Note: Shaded studies denote the toxicology studies that JT considers pivotal in the detailed evaluation of the nonclinical safety of tapinarof.
AUC = area under the concentration time curve; BSA = body surface area; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; M = male; NC = not calculated; NOAEL = no observed adverse effect level; NA = not applicable; NR = not reported; pc = postcoitum; PND = postnatal day; SC = subcutaneous; TK = toxicokinetic