ルプキネスカプセル 7.9 mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.6 毒性試験の概要文

大塚製薬株式会社

目次

目次 2

略号一覧 4

2.6.6 毒性試験の概要文 8

2.6.6.1 まとめ 10

2.6.6.2 単回投与毒性試験（参考資料） 14

2.6.6.2.1 ラットにおける単回静脈内投与毒性試験 14

2.6.6.2.2 イヌにおける最大耐量決定試験 15

2.6.6.3 反復投与毒性試験 15

2.6.6.3.1 ラットにおける mix-ISA247 の 4 週間反復経口投与毒性試験 15

2.6.6.3.2 ラットにおける mix-ISA247 の 13 週間反復経口投与毒性試験 17

2.6.6.3.3 ラットにおける mix-ISA247 及び CsA の 26 週間反復経口投与毒性試験 18

2.6.6.3.4 ブリッジング試験：mix-ISA247，シス型及びトランス型 ISA247 のラットにおける 13 週間反復経口投与比較毒性試験 20

2.6.6.3.5 ラットにおけるボクロスポリン製剤の 13 週間反復経口投与比較毒性試験 25

2.6.6.3.6 ラットにおける 2 バッチのボクロスポリンの 13 週間反復経口投与比較毒性試験 26

2.6.6.3.7 イヌにおける mix-ISA247 の 2 週間反復経口投与毒性試験 27

2.6.6.3.8 イヌにおける mix-ISA247 の 13 週間反復経口投与毒性試験 28

2.6.6.3.9 サルにおける mix-ISA247 の 13 週間反復経口投与毒性試験 30

2.6.6.3.10 サルにおける mix-ISA247 の 39 週間反復経口投与毒性試験 31

2.6.6.4 遺伝毒性試験 32

2.6.6.4.1 細菌を用いた mix-ISA247 の復帰突然変異試験 33

2.6.6.4.2 細菌を用いたボクロスポリンの復帰突然変異試験 33

2.6.6.4.3 細菌を用いたボクロスポリンバッチ [redacted] の復帰突然変異試験 33

2.6.6.4.4 哺乳類細胞を用いた mix-ISA247 の *in vitro* 染色体異常試験 34

2.6.6.4.5 哺乳類細胞を用いたボクロスポリンのバッチ [redacted] 及び [redacted] の *in vitro* 染色体異常試験 34

2.6.6.4.6 ラットを用いた骨髄小核試験 35

2.6.6.5 がん原性試験 35

2.6.6.5.1 マウスにおけるボクロスポリンの 104 週間反復経口投与がん原性試験 35

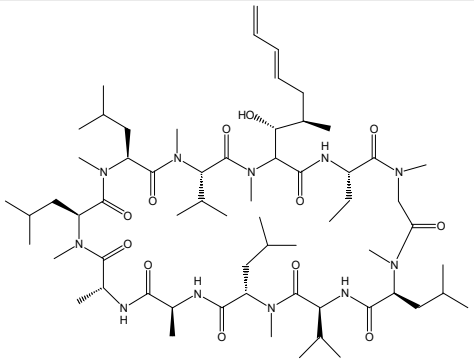
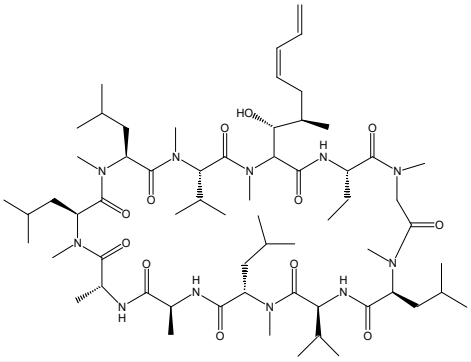
2.6.6.5.2 ラットにおけるボクロスポリンの 104 週間反復経口投与がん原性試験 38
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 42
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 42
2.6.6.6.2 胚及び胎児発生に関する試験 43
2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 46
2.6.6.6.4 幼若動物を用いた試験 48
2.6.6.7 局所刺激性試験 50
2.6.6.7.1 ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験 50
2.6.6.7.2 モルモットを用いた皮膚感作性試験 50
2.6.6.7.3 ウサギを用いた眼一次刺激性試験 50
2.6.6.8 その他の毒性試験 51
2.6.6.8.1 ラットを用いた 13 週間反復併用投与毒性試験 51
2.6.6.8.2 *In silico* による製造時関連不純物の遺伝毒性評価（参考資料） 54
2.6.6.8.3 *In silico* によるボクロスポリン合成に用いられる試薬の遺伝毒性評価（参考資料） 55
2.6.6.8.4 *In silico* によるボクロスポリン及び 3 種類の類縁物質の遺伝毒性評価（参考資料） 55
2.6.6.8.5 *In silico* による CsA-A1 の遺伝毒性評価（参考資料） 56
2.6.6.8.6 *In silico* による分解生成物 4 種の遺伝毒性評価（参考資料） 56
2.6.6.8.7 光毒性試験 56
2.6.6.8.8 添加物の安全性評価 56
2.6.6.9 考察及び結論 59
2.6.6.10 図表 72
2.6.6.11 参考文献 72

略号一覧

略号	省略していない表現
ADI	Acceptable daily intake　許容一日摂取量
AFC パネル	Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food　食品添加物・香料・加工助剤及び食品と接触する物質に関する科学パネル
ALP	Alkaline phosphatase　アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase　アラニンアミノトランスフェラーゼ
Ames	Bacterial reverse mutation assay　細菌を用いた復帰突然変異試験
APTT	Activated partial thromboplastin time　活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	Aspartate aminotransferase　アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the concentration-time curve　濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{4h}	投与後 0 時間から 4 時間までの濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{12h}	投与後 0 時間から 12 時間までの濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{24h}	投与後 0 時間から 24 時間までの濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{all}	投与後 0 時間から最終採血時点までの濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{last}	投与後 0 時間から最終測定可能時間までの濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{∞}	投与後 0 時間から無限大時間までの濃度 - 時間曲線下面積
BID	Twice daily　1 日 2 回
BUN	Blood urea nitrogen　血中尿素窒素
BW	Body weight　体重
[^{14}C]	Carbon-14　炭素 14
CHO	Chinese hamster ovary　チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	Maximum concentration　最高濃度
CPN	Chronic progressive nephropathy　慢性進行性腎症
CsA	Cyclosporine A　シクロスポリン A
DMSO	Dimethyl sulfoxide　ジメチルスルホキシド
DNCB	1-Chloro-2,4-dinitrobenzene　1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン
EFSA	European Food Safety Authority　欧州食品安全機関
EMA	European Medicines Agency　欧州医薬品庁
FAL	Final Advice Letter
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations　国際連合食糧農業機関
FDA	Food and Drug Administration　米国食品医薬品局
FOB	Functional observational battery　機能観察総合評価法
GI	Gastrointestinal　胃腸
GLP	Good Laboratory Practices　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
ICH	International Council for Harmonisation　医薬品規制調和国際会議
ICSAS	Informatics and Computational Safety Analysis Staff
ISA247, トランス型 ISA247	Isotechnika Pharma Inc. designation for voclosporin　Isotechnika Pharma Inc. によるボクロスポリンの呼称
Isotechnika	Isotechnika Pharma Inc.
LD_{50}	Lethal dose 50　半数致死量
LX211	Lux Biosciences, Inc. designation for voclosporin　Lux Biosciences, Inc.によるボクロスポリンの呼称
MCH	Mean corpuscular hemoglobin　平均赤血球ヘモグロビン
MCT	Medium chain triglyceride　中鎖トリグリセリド
MCV	Mean corpuscular volume　平均赤血球容積
MeLeu	Methyl-leucine　メチルロイシン
mix-ISA247, ($ISA_{TX}247$)	Formulation consisting of 45-50% *trans*- and 50-55% *cis*- isomers of ISA247 ISA247 のトランス異性体 45%～50%及びシス異性体 50%～55%により構成される薬剤
N	Number　例数
NOAEL	No observed adverse effect level　無毒性量
NOEL	No observed effect level　無影響量
NZW	New Zealand white (rabbit strain)　ニュージーランド白色（ウサギ系統）
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development　経済協力開発機構
PD	Pharmacodynamic(s)　薬力学
PEG	Polyethylene glycol　ポリエチレングリコール
PK	Pharmacokinetic(s)　薬物動態
PND	Postnatal day　出生後日数
QSAR	Quantitative structure-activity relationship　定量的構造活性相関
RBC	Red blood cell　赤血球
RRT	Relative retention time(s)　相対保持時間
SA	Scientific Advice　科学的助言
SD	Standard deviation　標準偏差
SD ラット	Sprague-Dawley rat(s)　SD 系ラット
SWFI	Sterile water for injection　注射用水
$t_{1/2}$	Elimination half-life　消失半減期
TK	Toxicokinetic(s)　トキシコキネティクス

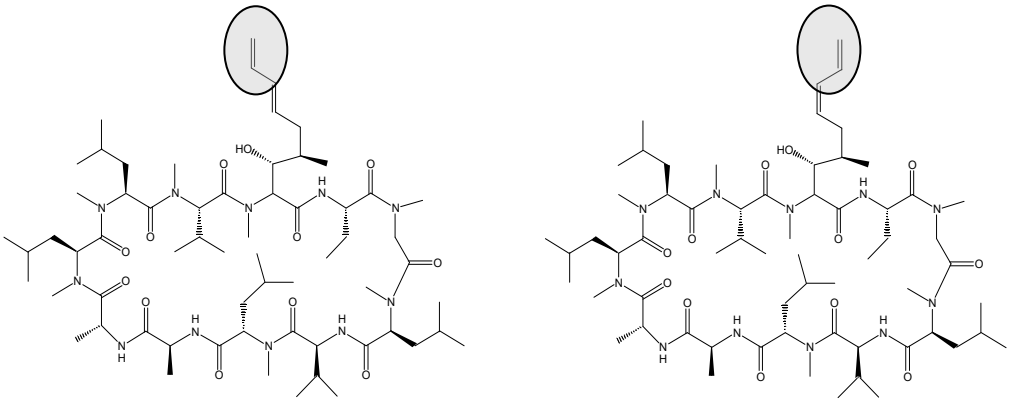
t_{max}	Time of maximum concentration　最高濃度到達時間
TPGS	D-alpha-tocopheryl-polyethylene glycol 1000 succinate　コハク酸 d-α-トコフェリルポリエチレングリコール
WBC	White blood cell　白血球
WHO	World Health Organization　世界保健機関

名称（由来）	構造式
ボクロスポリン（JAN）のトランス異性体	
ボクロスポリン（JAN）のシス異性体	

2.6.6　毒性試験の概要文

ボクロスポリンは，末端アミノ酸の修飾された官能基の向きに応じた，トランス異性体及びシス異性体という 2 種類の幾何異性体により構成される（図 2.6.6-1）。これまでに 2 種類の薬剤を開発している。1 つは初期試験で使用した，2 つの異性体の混合物（mix-ISA247：トランス異性体 45%～50%，シス異性体 50%～55%）であり，もう 1 つは現在使用している，トランス異性体を多く含有する薬剤（ボクロスポリン：トランス異性体 [redacted]%～[redacted]%）である。20[redacted] 年以降は，すべての非臨床試験及び臨床試験においてボクロスポリンを使用している。ボクロスポリンは，ループス腎炎患者の治療を適応とし，経口投与用の 7.9 mg ソフトゼラチンカプセルとして提供される。推奨用量は 23.7 mg BID である。体重を 60 kg と仮定すると，1 日臨床用量は 0.8 mg/kg となる。

図 2.6.6-1　　ボクロスポリンの異性体



トランス異性体　　シス異性体

ボクロスポリンは，その剤形及び開発元に応じて複数の名称で記載している。以下の取り決めにしたがって表記する：

- ボクロスポリン：有効成分名（国際一般名）であり，現在大塚製薬株式会社/Aurinia Pharmaceuticals Inc.（Aurinia）により開発が進められている，トランス異性体を [redacted]%～[redacted]% 含有する薬剤の名称。
- ISA247，トランス型 ISA247：過去に，固形臓器移植に対する拒絶反応の予防薬及び尋常性乾癬の治療薬として Isotechnika 社により開発された，トランス異性体を [redacted]%以上含有するボクロスポリンの薬剤。
- LX211：Lux Biosciences, Inc.により非感染性ぶどう膜炎の治療に使用されている，トランス異性体を [redacted]%以上含有するボクロスポリンの薬剤。
- Mix-ISA247，$ISA_{TX}247$：ボクロスポリンのトランス異性体 45%～50%及びシス異性体 50%～55%を含有。本書では確認しやすいよう，全文を通して「mix-ISA247」という用語を使用している。

CsA の末端アミノ酸残基における修飾により，ホスファターゼであるカルシニューリンに対す

るボクロスポリンの結合が変化し，CsA の主要な代謝部位である末端アミノ酸からの代謝部位が変化している。これにより CsA と比較して力価が改善し，代謝プロファイルも変化している。ボクロスポリンがもつ高い力価と代謝物プロファイルの変化という組み合わせにより，優れた PK/PD が予測可能となっている。

2 剤を用いたブリッジングプログラムは，以下のガイドラインを網羅している：FDA の Policy Statement for the Development of New Stereoisomeric Drugs[1]，欧州医薬品庁の Investigation of Chiral Active Substances Directive 75/318/EEC[2]及び Health Canada TPD の業界向けガイダンス「Stereochemical Issues in Chiral Drug Development」[3]。このブリッジングプログラムは，ラットを用いたボクロスポリンの 13 週間経口投与毒性試験及び最も高感度の動物種であるウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（ICH S5（R2）ガイドライン[4]）で構成された。20[redacted]年以降は，すべての非臨床試験及び臨床試験でボクロスポリンが使用されている。これまでに完了している全試験で，トランス異性体は mix-ISA247 の一部として広範に検討されている。被験物質及び主な毒性試験プログラムを表 2.6.6-1 に示す。20[redacted]年[redacted]月，[redacted]を含む[redacted]について EMA の SA を求めた（Procedure No.: [redacted]）。20[redacted]年[redacted]月[redacted]日に発行された FAL[5]において，[redacted]が，[redacted]を[redacted]とする[redacted]となるだろうという EMA の医薬品委員会（CHMP）の同意が示された。

表 2.6.6-1　　Mix-ISA247 及びボクロスポリンを用いた毒性試験プログラム

試験の種類及び期間（被験物質 [a]）	投与経路	動物種
単回投与毒性試験（ボクロスポリン又は mix-ISA247）	経口又は静脈内	ラット又はイヌ
反復投与毒性試験		
2 週間（mix-ISA247）	経口	イヌ
4 週間（mix-ISA247）	経口	ラット
13 週間（ボクロスポリン及び/又は mix-ISA247）	経口	ラット，イヌ及びサル
26 週間（mix-ISA247）	経口	ラット
39 週間（mix-ISA247）	経口	サル
遺伝毒性試験		
復帰突然変異（ボクロスポリン及び mix-ISA247）	*in vitro*	ネズミチフス菌
染色体異常（ボクロスポリン及び mix-ISA247）	*in vitro*	CHO 細胞
ラット骨髄小核（mix-ISA247）	経口	ラット
がん原性試験		
104 週間がん原性（ボクロスポリン）	経口	マウス及びラット
生殖発生毒性試験		
受胎能及び初期胚発生（mix-ISA247）	経口	ラット
胚・胎児発生（ボクロスポリン及び/又は mix-ISA247）	経口	ラット及びウサギ
出生前後（mix-ISA247）	経口	ラット
幼若動物を用いた毒性試験		
10 週間反復経口投与毒性（ボクロスポリン）	経口	ラット
局所刺激性試験		
皮膚一次刺激性	経皮	ウサギ

試験の種類及び期間（被験物質 [a]）	投与経路	動物種
皮膚感作性 眼一次刺激性	経皮 結膜嚢	モルモット ウサギ
その他の毒性試験 薬物相互作用：プレドニゾン併用（ボクロスポリン）	経口	ラット

a：20[redacted] 年以前に実施した試験では mix-ISA247 を，20[redacted] 年以降に実施した試験ではボクロスポリンを主に使用した。ブリッジングプログラムとして，ラット 13 週試験及びウサギ胚胎児試験においてボクロスポリンが使用された。

2.6.6.1 まとめ

ボクロスポリン/mix-ISA247 の毒性プロファイルは，*in vitro* 及び CD-1 マウス，SD ラット，NZW ウサギ，ビーグル犬，雑種犬及びカニクイザルを用いた *in vivo* において広範に検討されている。毒性試験の概要を，GLP の適合状況を含め，一覧表を 2.6.7.1 に示した。

特記なき限り，すべての毒性試験は，GLP の原則及び OECD GLP（ENV/MC/CHEM(98)17）に準拠して実施した。

ヒトにおける投与経路として経口を予定していることから，重要な試験では経口投与を行った。特記なき限り，経口投与毒性試験では，溶媒としてビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）を使用した。

単回投与毒性

SD ラットにボクロスポリンを 2.5 mg/kg まで単回静脈内投与したところ，忍容性は良好であった。ビーグル犬に mix-ISA247 を 75 mg/kg まで単回経口投与したところ，認められた影響は嘔吐のみであった。

反復投与毒性

Mix-ISA247 を用いた重要な反復経口投与毒性試験として，ラットを用いた 4，13 及び 26 週間試験，イヌを用いた 2 及び 13 週間試験，並びにサルを用いた 13 及び 39 週間試験を実施した。ラット，イヌ及びサルにおいて，胸腺，脾臓及びリンパ節でリンパ組織の萎縮が認められた。ラットにおいて，循環血中の好中球及びリンパ球の減少が認められた。これらの変化は可逆的であった。

ラットにおいて，白内障，腎臓への影響及び神経組織学的所見が認められた。腎臓への影響として，BUN 及びクレアチニンの増加，好塩基性尿細管，尿細管の変性/再生並びに皮髄の鉱質沈着が認められた。神経組織学的影響として，脳及び脊髄にグリオーシス及び血管周囲性細胞浸潤が認められた。

イヌにおいて，嘔吐及び逆流が頻繁に認められ，また，歯肉過形成も認められた。しかしながら，眼，腎臓又は神経への影響は認められなかった。嘔吐により PK が大きく変動したため，その後の試験では安全性評価対象動物種としてイヌは使用しなかった。

サルで認められた主な毒性学的所見は，免疫抑制作用と一致した歯肉増殖及びリンパ肉腫であった。

ラットを用いた 13 週間反復経口投与ブリッジング試験において，ボクロスポリンの毒性を mix-ISA247，シス型 ISA247 及び CsA の毒性と直接比較した。同一用量を経口投与した場合，ボクロスポリン又は CsA を投与したときの有害作用の発現頻度及び/又は重症度は，mix-ISA247 又

はシス型 ISA247 のいずれかを投与したときよりもわずかに高かった。これらの差は，CsA のバイオアベイラビリティが高いこと及びトランス異性体のバイオアベイラビリティがシス異性体より高いこと（約 2 倍）に関連する可能性が高いと考えられた。ボクロスポリンの曝露量（AUC）は，mix-ISA247 の曝露量（AUC：シス異性体及びトランス異性体の合計値）より高かった。また，CsA の曝露量はシス型 ISA247，トランス型 ISA247 又は mix-ISA247 より高かった。

ラットを用いた 13 週間反復経口投与による製剤比較試験において，ボクロスポリンの標準製剤（ビタミン E TPGS 配合）及びビタミン E TPGS 非配合製剤を比較した。両製剤の毒性プロファイルに意義のある差は認められなかったことから，毒性試験において，溶媒中のビタミン E 成分が mix-ISA247 又はボクロスポリンの肝臓への影響又はその他の影響をマスクしてしまう可能性は低いと考えられた。ラットを用いた 2 バッチのボクロスポリンの 13 週間反復経口投与毒性試験において，市販用に合成されたボクロスポリンのバッチと，初期に製造され過去の毒性試験で用いたバッチの影響を比較したところ，バッチ間に毒性学的に意義のある差は認められなかった。

Mix-ISA247 及び/又はボクロスポリンの反復投与毒性試験で用いた各動物種における代表的な試験の NOAEL を表 2.6.6.1-1 に示す。

表 2.6.6.1-1　　ボクロスポリン及び/又は mix-ISA247 の反復投与毒性試験における NOAEL

動物種	試験	NOAEL（mg/kg/日）
SD ラット	13 週間ブリッジング試験 （資料番号 4.2.3.2-09，報告書番号 ISA03-03）	2.5（ボクロスポリン，mix-ISA247）
SD ラット	13 週間製剤比較試験 （資料番号 4.2.3.2-10，報告書番号 ISA05-11）	2.5（ボクロスポリン，ビタミン E 配合/非配合の溶媒使用）
ビーグル犬	13 週間経口投与毒性試験 （資料番号 4.2.3.2-13，報告書番号 ISA01-01）	2.5（mix-ISA247）
カニクイザル	39 週間経口投与毒性試験 （資料番号 4.2.3.2-15，報告書番号 ISA02-01）	25（mix-ISA247）

遺伝毒性

ボクロスポリンは，細菌を用いた復帰突然変異試験において代謝活性化の有無にかかわらず，変異原性を示さなかった。また，CHO 細胞を用いた染色体異常試験においても代謝活性化の有無にかかわらず，染色体異常誘発性を示さなかった。Mix-ISA247 は，ICH ガイドラインに基づく標準的な組み合わせの遺伝毒性試験（Ames 試験，CHO 細胞を用いた染色体異常試験及び *in vivo* ラット骨髄小核試験）で遺伝毒性を示さなかった。

がん原性

マウスを用いた 2 年間のがん原性試験において，高用量である 30 mg/kg/日でボクロスポリン投与に関連した悪性リンパ腫の発現頻度が上昇した。本結果は，ボクロスポリンに関連する免疫抑制に続発したものと考えられる。ラットを用いた 2 年間のがん原性試験では，ボクロスポリンに関連するがん原性は認められなかった。

生殖発生毒性

ICH S5（R2）ガイドライン[4]に準拠した mix-ISA247 の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験，胚・胎児発生に関する試験，出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験が実施された。最も高感度の動物種であるウサギにおいて，mix-ISA247 の母動物及び胚・胎児発生に関する NOAEL は 2 mg/kg/日であった。

ボクロスポリンの胚・胎児発生への影響はウサギを用いた試験で評価され，母動物及び胚・胎児発生に関する NOAEL は 1 mg/kg/日と判断された。母動物毒性は，体重変化及び/又は乳腺腫脹であった。胎児への影響は，軽微だが統計学的に有意な体重減少とこれに関連した骨格変異が 5 及び 20 mg/kg/日の用量で認められた。ボクロスポリンの受胎能及び初期胚発生に関する試験，並びに出生前後試験は実施されていないが，最も高感度の動物種であるウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験において，バイオアベイラビリティがより高いトランス異性体を約 50%含有する mix-ISA247 の NOAEL は 2 mg/kg/日であり，ボクロスポリン（トランス異性体 90%以上）の NOAEL は 1 mg/kg/日であった。したがって，ボクロスポリンの生殖発生毒性は mix-ISA247 と同等と考えられた。

幼若動物の毒性

幼若ラットを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験において，幼若ラットにボクロスポリンを 4～14 週齢まで投与したところ，本試験で認められた毒性は，先に実施されている標準週齢（約 8 週齢）から投与を開始した経口投与毒性試験で認められた毒性と同様であった。性成熟又は行動/学習への影響は認められなかった。過去に実施した試験からラットの曝露量に性差があることが判明していたため，本試験では雄の用量を雌の半量とした。この用量調整により，低，中及び高用量の各用量における雌雄の曝露量は同程度となり，これらの曝露量は先に実施されている標準週齢ラットを用いた試験での曝露量と同程度であった。

Mix-ISA247 又はボクロスポリンの生殖発生毒性試験における NOAEL の要約を表 2.6.6.1-2 に示す。

表 2.6.6.1-2　　ボクロスポリン又は mix-ISA247 の生殖発生毒性試験における NOAEL の要約

動物種	試験	被験物質	NOAEL（mg/kg/日）
SD ラット	受胎能試験 （資料番号 4.2.3.5.1-01，報告書番号 ISA02-02）	Mix-ISA247	雌一般毒性：> 25 雌生殖：> 25 雄一般毒性：10 雄生殖：> 25
SD ラット	胚・胎児発生に関する試験 （資料番号 4.2.3.5.2-03，報告書番号 ISA01-12）	Mix-ISA247	母動物：10 胚・胎児：10
NZW ウサギ	胚・胎児発生に関する試験 （資料番号 4.2.3.5.2-04，報告書番号 ISA01-13）	Mix-ISA247	母動物：2 胚・胎児：2
NZW ウサギ	胚・胎児発生に関する試験 （資料番号 4.2.3.5.2-06，報告書番号 ISA04-05）	VCS	母動物：1 胚・胎児：1
SD ラット	出生前後試験 （資料番号 4.2.3.5.3-01，報告書番号 ISA02-03）	Mix-ISA247	F_0：10 F_1：> 25 F_2：> 25
SD ラット（幼若）	10 週間反復経口投与毒性試験 （資料番号 4.2.3.5.4-01，報告書番号 HVV00003）	VCS	雄：1.25 雌：2.5

F_0：親世代，F_1：子世代（出生児），F_2：孫世代（胎児），VCS：ボクロスポリン

局所刺激性

ボクロスポリンのモルモットを用いた皮膚感作性試験，ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験及びウサギを用いた眼一次刺激性試験を実施したところ，ボクロスポリンは皮膚に対して非感作性及び非刺激性であった。一方，ウサギにおいて眼への刺激性がわずかに認められたことから，ボクロスポリンはわずかな眼刺激性ありと判定された。

その他の毒性

ラットを用いたボクロスポリン及びプレドニゾンの 13 週間反復経口投与による毒性学的相互作用試験において，各被験物質の単独投与と比較して，ボクロスポリン及びプレドニゾンの併用投与により新たな毒性は生じないことが示された。

26 種類のボクロスポリン関連化合物又はボクロスポリン合成に用いた 8 種類の試薬について，ICH M7（R1）に準拠した *in silico* 構造解析を実施したところ，[redacted]及び[redacted]はクラス 2，その他の化合物はクラス 5 の化合物（「警告部分構造なし」）に分類された。

不純物の安全性確認

所定の不純物の量が最も多いバッチを用いて毒性試験を実施し，不純物の安全性確認を行ったところ，不純物に起因すると考えられる新たな毒性は認められなかった。これらの結果から，実施した非臨床安全性試験は，ボクロスポリンの各不純物に提案される安全性確認の必要な閾値及び関連物質の判定基準を十分に支持するものであると考えられた。

したがって，これらの結果はボクロスポリンの各不純物に提案される安全性確認の必要な閾値及び判定基準を十分に支持するものである。

添加物の安全性評価

本製剤の添加物として含まれるポリソルベート 40（Tween 40）について文献調査に基づき安全性を評価した結果，本製剤の臨床推奨用量までの使用に安全性上の懸念はないと考えられた。

Mix-ISA247 及びボクロスポリンの毒性学的プロファイルは全体として十分に明らかにされており，多くの所見は薬剤の薬理作用に起因する変化であった。イヌで催吐作用が認められたことから，ラット及びサルが毒性評価に最も適切な動物種であると判断した。認められた所見は，他の免疫抑制剤投与により認められた影響と一致していた。ラットを用いた 13 週間ブリッジング試験での NOAEL（2.5 mg/kg/日）におけるボクロスポリンの曝露量（AUC_{24h} = 716.2 ng·h/mL）は，ループス腎炎の治療のためのボクロスポリンの臨床用量（約 0.4 mg/kg BID 又は 0.8 mg/kg/日）における推定曝露量（AUC_{12h} を 2 倍して算出した AUC_{24h} = 888 ng·h/mL）の 0.8 倍であった。同様に，mix-ISA247 を用いたサル 39 週間反復経口投与毒性試験での NOAEL（25 mg/kg/日）における曝露量（AUC_{24h}）は，ボクロスポリンの臨床推定曝露量の 0.9 倍であった。したがって，実施された毒性試験データは，意図するループス腎炎患者集団へのボクロスポリンの使用を支持するものであると考えられた。

2.6.6.2 単回投与毒性試験（参考資料）

2.6.6.2.1 ラットにおける単回静脈内投与毒性試験

（概要表 2.6.7.5，報告書番号 ISA07-04）

SD ラット（雌雄各 6 例/群）に，PEG200/エタノール（98:2，v/v）を溶媒としてボクロスポリンを 0（溶媒），1 又は 2.5 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。また，TK 用サテライト群（溶媒投与群：雌雄各 3 例，ボクロスポリン投与群：雌雄各 6 例/群）を設定し，採血した。投与 1 日（Day 1）の投与後約 5 時間又は Day 15 に動物（雌雄各 3 例/群）を安楽死させた。検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量，臨床病理検査，TK，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査とした。

ボクロスポリン投与に関連する死亡は認められなかった。ボクロスポリンの 1 mg/kg 投与群の雄 1 例及び 2.5 mg/kg 投与群の雄 1 例で Day 1 にわずかな活動性低下が認められた以外は，いずれの検査項目にも影響は認められなかった。

したがって，ラットにボクロスポリンを単回静脈内投与したときの NOAEL は，本試験の最高用量である 2.5 mg/kg と判断された。

ボクロスポリンの全身曝露量（C_{max} 及び AUC_{24h}）は，雌雄共に用量増加に応じて増加した（表 2.6.6.2.1-1 参照）。いずれの用量も，雄の AUC_{24h} は雌の約 2 倍であった。用量が増加してもクリアランス（CL）及び分布容積（Vd）は一定であることから，ボクロスポリンの PK は一次線形であることが示唆された。

表 2.6.6.2.1-1 SD ラットにボクロスポリンを単回静脈内投与したときの TK

用量 (mg/kg)	性	t_{max} (h)	C_{max} Mean ± SD (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{24h} (ng·h/mL)	CL (mL/h/kg)	Vd (mL/kg)
1.0	雄	0.25	943.9 ± 200.0	5.5	4846.6	191	1528
	雌	0.25	808.4 ± 48.7	4.3	2217.2	418	2576
2.5	雄	0.25	2468.3 ± 77.1	6.0	11935.0	190	1653
	雌	0.25	1724.5 ± 43.2	4.7	5840.2	397	2718

N = 3

2.6.6.2.2　イヌにおける最大耐量決定試験

（概要表 2.6.7.5，報告書番号 ISA00-18）

ビーグル犬に mix-ISA247 を溶液として強制経口投与又は腸溶性カプセルとして経口投与したときの影響を検討した。雌雄各 1 例のイヌに溶媒及び mix-ISA247（8，10 及び 20 mg/kg の強制経口，並びに 20，30，50 及び 75 mg/kg のカプセル）を経口投与した。溶媒及び各用量は，別々の日に投与した。検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量，臨床病理検査及び剖検とした。

8 及び 10 mg/kg の強制経口投与後に嘔吐及び/又は逆流が認められたが，20 mg/kg 投与時には認められなかった。腸溶性カプセルとして 30，50 及び 75 mg/kg を投与時にケージトレー内に吐出されたカプセルの破片及び/又は物質が認められた。その他，いずれの検査項目においても毒性学的に意義のある影響は認められなかった。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

Mix-ISA247 の反復投与毒性試験を，ラット，イヌ及びサルを用いて実施した。ボクロスポリン及び mix-ISA247 について，ラットを用いた 13 週間反復投与ブリッジング試験で評価した（2.6.6.3.4 参照）。2 つのボクロスポリン製剤（ビタミン E TPGS 配合製剤及び非配合製剤）を比較するため，ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験を実施した（2.6.6.3.5 参照）。また，不純物の安全性を確認するため，ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験を実施してボクロスポリンの 2 バッチを比較した（2.6.6.3.6 参照）。

20[redacted] 年以降に実施した重要な試験において，モジュール 3 で述べたように，医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準に従って，被験物質の同一性，力価，純度，及び安定性が示された。申請する原薬の規格に含まれる個別規格設定不純物については，非臨床毒性試験で評価した。不純物の安全性確認に関する非臨床試験については 2.6.6.9 項で考察する。いずれの非臨床毒性試験においても，不純物に起因する新たな毒性又は予測できない毒性は認められなかった。

2.6.6.3.1　ラットにおける mix-ISA247 の 4 週間反復経口投与毒性試験

（概要表 2.6.7.7.1，報告書番号 ISA00-08）

SD ラットに mix-ISA247 を 0（溶媒），4.6，24.2 又は 80.0 mg/kg/日の用量で 4 週間強制経口投与した。群構成は，主試験群として雌雄各 10 例/群とし，溶媒対照及び高用量には回復群として雌雄各 5 例を追加した。また TK 群として雌雄各 6 例/群（溶媒投与群を除く）とした。回復期間は 2 週間に設定した。検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，臨床病理検査，TK，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査とした。

すべての動物は計画剖検時まで生存した。一般状態として，消化管への有害作用（軟便），脱毛及び皮膚発赤が，用量に関連して軽度に認められた。高用量群の雄で，体重増加量の減少が認められた。また，すべての群で摂餌量のわずかな減少が認められた。

高用量群の主に雄で，白内障及びそれに関連する病理組織学的所見（水晶体変性）が認められ，回復期間中に進行した傾向が認められた。これらの眼の所見は，同類薬に関連する動物種特異的な影響と考えられた。

被験物質と関連する血液学的影響として，中及び高用量群で，WBC，Hb 及び MCH の減少が認められた。高用量群の雄で，赤血球大小不同，小赤血球及び多染性赤血球などの赤血球の形態異常が認められた。これらの血液学的所見は，高用量群の雄（回復群）で認められた脾臓重量の増加と一致していた。血液学的所見に相関する病理組織学的変化として，中及び高用量群の雌雄で，胸腺髄質の萎縮，脾臓及びリンパ節の胚中心の消失が認められた。これらの所見は回復期間後に概ね回復した。

血液生化学的所見として，雄の主に高用量群で，コレステロール，クレアチニン，BUN 及び総ビリルビンの増加が，高用量群の雌で無機リン及びトリグリセリドの増加が認められた。中及び高用量群の雄で，尿中グルコースが用量依存的に増加した。これらの変化は，回復期間後には認められなかった。

高用量群の雄で，副腎，脳，心臓，肝臓，肺及び腎臓の相対重量が増加した。肝臓の相対重量の増加は，中用量群の雄でも認められた。中及び高用量群の雌で卵巣の相対重量の増加が，高用量群の雌で腎臓の相対重量の増加が認められた。回復群において，高用量群の雄の臓器重量は対照群と比較して増加したままであったが，雌では臓器重量増加は認められなかった。副腎重量の増加に関連する剖検又は病理組織学的所見は認められず，本所見はストレス性変化と考えられた。肝臓，脳，心臓，卵巣又は肺の重量増加に関連する病理組織学的所見は認められなかった。腎重量増加と関連する病理組織学的所見として，中及び高用量群の雄で，腎臓における皮髄の鉱質沈着及び両側性の好塩基性尿細管（軽微から中等度）が認められた。しかしながら，雌での病理組織学的所見は発現頻度が低く，軽微であったため，雌における腎重量増加との関連性は決定的ではなかった。これらの腎所見は回復期間後でも認められた。

本試験において，4.6 mg/kg/日投与群に影響は認められなかった。高用量群である 80.0 mg/kg/日で認められた影響は重篤ではなかった。白内障を除き，認められたすべての影響は回復期間終了時に完全に又はほぼ回復した。標的臓器は，消化管，皮膚，水晶体，リンパ系器官及び腎臓であり，WBC の減少も認められた。一方，24.2 mg/kg/日投与群において血液学的検査（WBC），腎臓及び BUN に影響は認められたが，その程度は軽微であった。したがって NOAEL は 24.2 mg/kg/日と考えられた。

TK データより，用量増加に応じた曝露が確認され，いずれの用量においても蓄積性は認められなかった（表 2.6.6.3.1-1 参照）。雄の C_{max} 及び AUC_{∞}は，概ね雌よりも高かった。

表 2.6.6.3.1-1　　ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験における mix-ISA247 の TK

用量（mg/kg/日）	採血時点 [a]	性	t_{max} (h)	C_{max} Mean ± SD (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{∞} (ng·h/mL)
4.6	28 日	雄	4	47.3 ± 17.3	5.4	492.0
		雌	4	84.2 ± 30.2	ID	ID
24.2	28 日	雄	4	808.3 ± 117.4	8.8	17250.0
		雌	4	670.4 ± 19.5	13.4	9162.6
80.0	28 日	雄	4	2021.7 ± 788.3	12.2	40691.2
		雌	4	1306.1 ± 613.3	5.9	16441.0

a：投与 1 日も測定したが，ここでは投与 28 日の結果のみ示す。
ID：データ不十分
N = 3

2.6.6.3.2　ラットにおける mix-ISA247 の 13 週間反復経口投与毒性試験

（概要表 2.6.7.7.2，報告書番号 ISA00-17）

SD ラットに mix-ISA247 を 0（生理食塩水），0（溶媒），2.5，10 又は 25 mg/kg/日の用量で 13 週間強制経口投与した。群構成は，主試験群として雌雄各 10 例/群，回復群として雌雄各 8 例/群とした。また，TK 群として雌雄各 6 例/群（生理食塩水及び溶媒投与群を除く）とした。回復期間は 4 週間に設定した。検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，TK，臨床病理検査，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査とした。

4 例を除いてすべての動物は計画剖検時まで生存した。生理食塩水対照群の雄 1 例及び低用量群の雄 1 例の死亡は，偶発的又は投与操作に関連したものであると考えられた。回復群の中用量の雄 1 例及び高用量の雄 1 例は，それぞれ回復 15 及び 2 日に瀕死状態に至ったため安楽死させた。これらの動物の一般状態として，立毛，自発運動の低下，低体温，身づくろいの欠如，脱水，蒼白，衰弱及び/又は尾部潰瘍が認められた。

一般状態として，中及び高用量群で，用量に関連した軽度な消化管への影響（軟便）が認められた。後述の神経病理学的所見と一致する一般状態所見として，立毛，活動性低下，自発運動の低下及び/又は体温上昇が中用量群の雄 1 例及び高用量群の雄 3 例にのみ認められた。その他の一般状態として，主に高用量群の雄で，身づくろいの欠如，脱水，円背位，削痩，衰弱，努力性/不整呼吸，右眼における斑点，皮下腫瘤及び/又は発声が認められた。

高用量群の雄で，被験物質に関連する体重及び体重増加量の減少と摂餌量の増加が認められた。

ラット 4 週間試験（2.6.6.3.1 項参照）と同様に，白内障及び水晶体変性が高用量群の雄で認められた。これらの所見は回復期間中にも可逆性を示さず，一部の動物では進行した傾向が認められた。

被験物質に関連する血液学的影響として，中及び高用量群で WBC（主にリンパ球及び好中球）の減少，高用量群の雄で，MCH，MCV 及び血小板の減少，並びに RBC の増加が認められた。高用量群の雄で，赤血球大小不同，小赤血球及び多染性赤血球などの赤血球の形態異常が認められた。これらの血液学的所見と一致して，高用量群の雄で，脾臓重量の増加が認められた。血液学的所見に関連する病理組織学的変化として，中及び高用量群の雌雄で，胸腺髄質の萎縮，リンパ球融解並びに脾臓及びリンパ節の胚中心の消失が認められた。これらの所見は回復期間中に概ね回復した。

血液生化学的所見として，高用量群の雄で，BUN，総ビリルビン及び血清グルコースの増加が認められた。尿検査では，高用量群の雄で，尿中グルコース及び比重の増加が認められた。血清グルコースの増加を除き，血液生化学的検査及び尿検査における変化は回復期間後には認められなかった。

高用量群の雄で，副腎，脾臓，腎臓及び肝臓の重量増加が認められた。副腎重量の増加に関連する剖検又は病理組織学的所見は認められず，本所見はストレス性の変化であると考えられた。脾臓重量の増加は，胚中心の消失と関連していた。肝重量増加に関連する病理組織学的所見は認

められなかった。腎重量の増加は，病理組織学的検査での腎臓における皮髄の鉱質沈着及び両側性好塩基性尿細管に関連していた。回復群において，臓器重量の増加は継続して認められ，腎所見は回復期間後でも認められた。

その他の病理組織学的検査において，中枢及び末梢神経系に関連した所見が認められた。脳及び脊髄における主な神経学的所見として，軽微から中等度のグリオーシス，血管及び血管周囲性の炎症細胞浸潤並びに神経網空胞化が認められた。脳及び脊髄の神経学的所見は，mix-ISA247 のすべての用量群で認められた。坐骨神経において，中用量群の雄及び高用量群の雌で，血管及び血管周囲性の炎症細胞浸潤（軽微又は軽度）が認められ，雄では軸索変性（軽微又は軽度）も認められた。これらの神経学的所見は，一般状態と関連している動物も認められた。類似した神経病理学的所見が回復群でも認められたが，発現頻度は低かった。

すべての投与群において脳及び脊髄に病理組織学的影響が生じたため，NOAEL は判定されなかった。中及び高用量群で認められた所見は，軟便及び軽度の血液学的変化であった。高用量群で特定された標的臓器は，脾臓，肝臓，腎臓，脳及び脊髄であった。

TK データより，用量増加に応じた曝露が確認され，いずれの用量においても蓄積性は認められなかった（表 2.6.6.3.2-1 参照）。雄の C_{max} 及び AUC_{∞}は，高用量群を除き，雌よりも高かった。

表 2.6.6.3.2-1　　ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験における mix-ISA247 の TK

用量（mg/kg/日）	採血時点 [a]	性	t_{max} (h)	C_{max} Mean ± SD (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{∞} (ng·h/mL)
2.5	90	雄	1	80.1 ± 9	5.2	880.7
		雌	1	66.4 ± 33	3.0	467.6
10	90	雄	1	774.2 ± 124[b]	8.7	10763.0
		雌	1	454.0 ± 94[b]	4.4	2837.4
25	90	雄	1	1544.9 ± 294	6.1	15691.3
		雌	4	1399.9 ± 722	6.9	17243.1

a：投与 1 及び 28 日にも測定したが，ここでは投与 90 日の結果のみ示す。

b：雌雄間における統計学的有意差（$p < 0.05$）

N = 3

2.6.6.3.3　　ラットにおける mix-ISA247 及び CsA の 26 週間反復経口投与毒性試験

（概要表 2.6.7.7.3，報告書番号 ISA01-18）

SD ラットに mix-ISA247 又は CsA を 0（溶媒），1.25，2.5 又は 10 mg/kg/日の用量で 26 週間強制経口投与した。群構成は，主試験群として雌雄各 20 例/群，投与 4，8，13 及び 17 週にそれぞれ中間屠殺群として雌雄各 10 例/群，回復群（4 週間の回復期間）として雌雄各 6 例/群，並びに TK 群として雌雄各 8 例/群（溶媒投与群を除く）とした。検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，FOB，TK，臨床病理検査，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査とした。

Mix-ISA247 の毒性プロファイルは，ラット 4 及び 13 週間（2.6.6.3.1 項及び 2.6.6.3.2 項参照）

試験で認められたものと同様であった。被験物質に関連する死亡は認められなかった。高用量群の雄で，摂餌量の増加及び体重増加量の減少が認められた。回復群でも，摂餌量の増加及び体重増加量の減少は継続して認められた。

4 及び 13 週間試験と同様に，主に高用量群の雄で，白内障が認められた。これらの所見は，回復期間中も可逆性を示さなかった。一方，被験物質に関連する明らかな血液学的影響は認められなかった。

血液生化学的所見として，高用量群の雄でのみ，溶媒投与群と比較して，BUN のわずかな増加，トリグリセリド，総ビリルビン，ALP，AST 及び ALT の増加，並びにマグネシウムの減少が認められた。尿検査では，高用量群の雄で尿中グルコースの増加が認められ，これは尿量の増加と関連していた。尿中グルコースの増加を除き，血液生化学的検査及び尿検査で認められた変化は，回復期間後には認められなかった。CsA 投与群でも同様の所見が認められた。

4 及び 13 週間試験と同様に，mix-ISA247 高用量群の雄で，副腎及び腎重量の増加が認められたが，肝重量の増加は認められなかった。また，mix-ISA247 高用量群の雄で，前立腺及び精巣重量が減少したが，これらの所見と関連する病理組織学的所見は認められなかった。副腎重量の増加に関連する剖検又は病理組織学的所見は認められず，本所見はストレス性変化であると考えられた。腎重量の増加は，病理組織学的検査での腎臓における尿細管の鉱質沈着等の所見と関連していた。CsA 投与群でも同様の臓器重量所見が認められた。回復群では，被験物質に関連する臓器重量の変化は認められなかった。

高用量群の雌及びすべての用量群の雄で，胸腺萎縮が認められた。本所見とは対照的に，高用量群の雌で，胸腺重量の統計学的に有意な増加が認められた。

腎臓の病理組織学的所見として，すべての mix-ISA247 投与群の雄で，腎臓における軽微から軽度の尿細管の変性/再生及び尿細管の鉱質沈着の発現頻度が増加した。CsA の高用量群の雄でも，同様だがわずかに重度な腎所見が認められた。腎所見は回復期間後でも認められた。

また，本試験では，中枢及び末梢神経系に関連する病理組織学的所見も認められた。脳及び脊髄の病理組織学的変化として，mix-ISA247 又は CsA の高用量群の雌雄で，亜急性炎症，神経線維変性，グリオーシス及び血管炎が認められた。Mix-ISA247 及び CsA 投与の中用量群の雄数例で，脊髄に所見が認められた。また，高用量群（mix-ISA247 又は CsA）の雄で，神経線維変性，グリオーシス及び/又はリンパ球浸潤が認められた。これらの神経病理学的所見は，回復期間後でも継続して認められた。これらの神経学的所見が一般状態へ及ぼす影響を評価するため，FOB を用いた評価を実施したが，FOB パラメータのいずれにも被験物質に関連する所見は認められなかった。

その他の病理組織学的所見として，mix-ISA247 及び CsA の高用量群の雌雄で，肺の亜急性炎症，肺胞マクロファージの集簇及び血管周囲/細気管支周囲性のリンパ組織過形成が認められた。これらの変化は回復期間後には明らかではなかった。

高用量群で特定された標的臓器は，眼の水晶体，腎臓及び神経系であった。本試験では 26 週間連日投与した際の毒性を評価したが，過去に実施した反復投与毒性試験の結果と比較して，新たな影響は認められなかった。中用量群（2.5 mg/kg/日）の雄数例で，脊髄に組織学的所見が認められたことから，本試験における NOAEL は 1.25 mg/kg/日と考えられた。

TK データより，用量増加に応じた曝露が確認され，いずれの用量においても蓄積性は認められなかった（表 2.6.6.3.3-1 参照）。CsA の曝露量は mix-ISA247 より高かった。雄に mix-ISA247 又は CsA を投与したときの C_{max} 及び AUC_{24h} は，概ね雌よりも高かった。

表 2.6.6.3.3-1　　ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験における mix-ISA247 及び CsA の TK

分析対象	用量（mg/kg/日）	採血時点 [a]	性	t_{max} (h)	C_{max} Mean ± SD (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{24h} (ng·h/mL)
Mix-ISA247	1.25	26 週	雄	4	21.9 ± 4.3[b]	10.3	272.5
			雌	1	12.8 ± 4.2[b]	7.7	77.1
	2.5	26 週	雄	1	51.6 ± 15.6	9.6	711.2
			雌	1	39.2 ± 9.7	5.1	275.4
	10	26 週	雄	4	522.2 ± 304.3	7.8	6399.2
			雌	1	313.7 ± 89.6	7.7	1893.3
CsA	1.25	26 週	雄	4	45.2 ± 5.9[b]	8.3	569.9
			雌	1	25.6 ± 7.7[b]	16.3	140.7
	2.5	26 週	雄	4	163.9 ± 47.3[b]	43.7	1799.0
			雌	1	71.5 ± 20.0[b]	13.2	474.3
	10	26 週	雄	4	935.3 ± 181.2	64.1	12985.8
			雌	4	754.4 ± 185.0	14.0	5367.1

a：投与 1 日，投与 4，8，13 及び 17 週にも測定したが，ここでは投与 26 週の結果のみ示す。
b：雌雄間における統計学的有意差（$p < 0.05$）
N = 3～4

2.6.6.3.4　　ブリッジング試験：mix-ISA247，シス型及びトランス型 ISA247 のラットにおける 13 週間反復経口投与比較毒性試験

（概要表 2.6.7.7.4，報告書番号 ISA03-03）

本試験は，開発初期に使用していた本薬のラセミ体である mix-ISA247 から，トランス体を多く含有する製剤への使用へのブリッジングを目的に実施された。

ラットを用いた 13 週間反復経口投与によるブリッジング毒性試験において，mix-ISA247，シス型 ISA247，トランス型 ISA247（ボクロスポリン）及び CsA を比較した。Mix-ISA247，シス型 ISA247，及びボクロスポリンを 0（溶媒），2.5，10 及び 25 mg/kg/日の用量で，CsA を 10 及び 25 mg/kg/日の用量で強制経口投与した。群構成は，主試験群として雌雄各 10 例/群，投与 4 週に中間屠殺する群として雌雄各 5 例/群，回復群（4 週間の回復期間）として雌雄各 5 例/群，及び TK 群として雌雄各 6 例/群（溶媒投与群を除く）とした。検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，TK，臨床病理検査，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査とした。TK データは異性体ごとに示し，mix-ISA247 の AUC_{24h} はシス型及びトランス型の合計値も示した。なお，CsA の用量として低用量（2.5 mg/kg/日）は設定していないが，所見に関する以下の記載において比較を容易にするため，10 及び 25 mg/kg/日をそれぞれ中及び高用量と表記した。

本試験で認められた結果は，mix-ISA247 を用いて実施した過去に実施したラット反復投与毒性試験（2.6.6.3.1 項，2.6.6.3.2 項及び 2.6.6.3.3 項参照）で認められた結果と一致しており，予期

しない毒性は認められなかった。被験物質に関連する死亡は認められなかった。主な一般状態として，ボクロスポリン，CsA 及び mix-ISA247（雄のみ）の高用量群，並びに CsA の中用量群（雄のみ）で，軟便が認められた。ボクロスポリン，CsA 及び mix-ISA247 の高用量群の一部の雄で，粗毛及び削痩が認められた。ボクロスポリン，CsA 及び mix-ISA247 の高用量群の雄，並びにボクロスポリンの中用量群の雄で，体重減少が認められた。ボクロスポリン，CsA（雄のみ）及び mix-ISA247（雄のみ）の高用量群で，摂餌量の増加が認められた。回復期間中に，体重及び摂餌量への影響は継続して認められ，ボクロスポリンの高用量群の雌でのみ摂餌量への影響が回復した。

眼科学的検査では，ボクロスポリン及び CsA の高用量群の雄で，角膜混濁が認められた。ボクロスポリン，CsA（雄のみ）及び mix-ISA247（雄のみ）の高用量群，並びにボクロスポリンの中用量群の雄で，外水晶体線維変性又は水晶体変性が認められた。

血液学的所見は，過去に mix-ISA247 を用いて実施した試験において認められた所見と同様であった。シス型 ISA247 は，他の被験物質と比較して血液学的パラメータへの影響が軽微であった。すべての血液学的所見は，回復期間中に回復したが，例外としてボクロスポリンの高用量群の雄でリンパ球数の減少が継続して認められた。

血液生化学的検査では，溶媒対照群と比較して，すべての被験物質投与群の主に中及び高用量群で変化が認められたが，低用量群でも認められることもあった。認められた変化は，雌雄における BUN 及び総ビリルビンの増加，マグネシウムの減少，主にボクロスポリン又は CsA 投与群におけるクレアチンキナーゼ，AST，ALT，ALP，グルタミン酸脱水素酵素及びγ-グルタミルトランスフェラーゼの増加，雌におけるナトリウム，カルシウム，カリウム，リン，クロール及びトリグリセリドの増加，並びに雄におけるアミラーゼの増加であった。mix-ISA247 及びシス型 ISA247 投与群で認められた影響が最も低く，一方でボクロスポリン及び CsA 投与群で認められた変化は同程度であった。概して，雄は雌よりも影響が大きかった。ほとんどの変化は回復期間中に回復した。

尿検査では，mix-ISA247，ボクロスポリン及び CsA の高用量群で，RBC 及びグルコースの増加，pH の低下，並びに浸透圧及びカリウム濃度の変化が認められた。ボクロスポリン又は CsA 投与群では，尿量増加及びクレアチニンの低下も認められた。回復期間中，pH の低下，尿量増加及びグルコースの増加は回復を示さなかったが，他の大半の変化は回復した。

剖検所見として，ボクロスポリン及び CsA の高用量群の雄で胸腺小型が，ボクロスポリン高用量群の一部の雄で十二指腸の肥厚，盲腸の拡張及び腎盂拡張が認められた。臓器重量の変化として，ボクロスポリン及び CsA の高用量群の雄で胸腺及び前立腺重量の減少，ボクロスポリン，CsA 又は mix-ISA247 の中及び高用量群の雌で下垂体重量の減少が認められた。前立腺重量又は下垂体重量の変化に関連する病理組織学的所見は認められなかった。

ボクロスポリン，CsA，mix-ISA247 及び/又はシス型 ISA247 の全ての投与群の雌雄で，胸腺髄質の萎縮が認められた。また，ボクロスポリン，CsA 及び mix-ISA247 の高用量群，CsA 及びシス型 ISA247 の中用量群，ボクロスポリン及びシス型 ISA247 の低用量群の雄及び/又は雌で，胸腺皮質の萎縮が認められた。ボクロスポリン，CsA，及び mix-ISA247 の高用量群，ボクロスポリン及び CsA の中用量群，並びにボクロスポリンの低用量群の雌雄で，下顎リンパ節の胚中心

萎縮が認められた。

ボクロスポリンの中及び高用量群の雌，CsA 高用量群の雌で，腎臓の皮質尿細管変性/再生が認められた。また，Mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリンの高用量群の雄，CsA 高用量群の雌で，皮髄の鉱質沈着が認められた。

雄で被験物質に関連する神経系病変（炎症，しばしば細胞変性及びグリオーシスを伴う）が認められたが，雌では認められなかった。影響を受けた動物数が最多であったのは，ボクロスポリン及び CsA の中用量群であった。シス型 ISA247 の中用量群又は CsA の高用量群の雄ラットでは，被験物質に関連する病変は認められなかった。病変の発生は散発的であるため，個体の感受性又はその他の因子に関連する可能性が考えられた。被験物質に関連する病変はいずれの被験物質でも低用量群では認められなかった（CsA の低用量群はなかったため比較することはできなかった）。

本試験結果に基づき，mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリンの NOAEL は 2.5 mg/kg/日であった。本用量で認められたいくつかの影響は，孤発性及び/又は本質的に軽度なものであり，適応性反応及び/又は化合物の薬理作用に起因するものと考えられた。ボクロスポリン，mix-ISA247 及びシス型 ISA247 の毒性プロファイルは，CsA の毒性プロファイルと類似しており，ボクロスポリンは CsA の TK 及び毒性プロファイルに最も近似していた。

TK データより，用量増加に応じた曝露が確認され，いずれの用量においても蓄積性は認められなかった。雄の曝露量は雌よりも一様に高く，これは雄で雌よりも被験物質に関連した影響が大きく認められたことを支持するものであった（表 2.6.6.3.4-1 参照）。ISA247 の異性体のうち，ボクロスポリン（トランス体）はすべての用量において AUC_{24h} が最も高く，次いで mix-ISA247（シス及びトランス体の合計），シス型 ISA247 の順であった。さらに，mix-ISA247 を投与した場合，トランス体の曝露量がシス体の曝露量よりも一様に高かった（1.2～1.9 倍）。これらの TK データは，シス型 ISA247 投与群の曝露量が少ないため，シス型 ISA247 の毒性所見がボクロスポリン，CsA 又は mix-ISA247 投与群よりも少ないという結果と一致するものであった。ラットにおける CsA への曝露量はシス型 ISA247，ボクロスポリン及び mix-ISA247 より高かった。

表 2.6.6.3.4-1　　ラットを用いた CsA，mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリン（トランス型）の 13 週間反復経口投与比較毒性試験における TK

被験物質	分析対象	用量（mg/kg/日）	採血時点 [a]	性	t_{max} (h)	C_{max} ± SD (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{24h} (ng·h/mL)	
ボクロスポリン	トランス型	2.5	13 週	雄	4	82.48 ± 38.58	189.0[b]	933.6	
				雌	1	68.17 ± 40.40	5.3	498.9	
		10		雄	1	504.33 ± 183.31	4.9	5204.5	
				雌	2	427.75 ± 146.16	6.4	3320.0	
		25		雄	1	1610.80 ± 527.05	5.1	15479.3	
				雌	2	2350.12 ± 145.91	5.6	17662.0	
シス型 ISA247	シス型	2.5	13 週	雄	4	45.08 ± 5.00	6.6	452.9	
				雌	1	44.31 ± 4.65	17.2	212.4	
		10		雄	4	264.82 ± 15.18	13.3	2989.1	
				雌	2	261.51 ± 130.57	7.7	1169.1	
		25		雄	2	992.52 ± 455.55	17.8	8464.0	
				雌	2	914.81 ± 125.04	5.4	5905.4	
Mix-ISA247	トランス型	2.5	13 週	雄	4	33.58 ± 2.01	6.3	410.4	合計：
	シス型			雄	4	23.87 ± 1.88	6.0	268.1	678.4
	トランス型			雌	2	35.28 ± 6.72	6.8	216.2	合計：
	シス型			雌	2	23.35 ± 5.19	6.6	126.3	342.5
	トランス型	10		雄	2	283.55 ± 151.83	7.8	3582.4	合計：
	シス型			雄	2	180.41 ± 93.85	16.8	1875.7	5458.1
	トランス型			雌	2	125.05 ± 22.29	4.5	1150.5	合計：
	シス型			雌	1	71.02 ± 3.59	4.4	618.8	1769.3
	トランス型	25		雄	1	1211.26 ± 106.12	12.7	7797.2	合計：
	シス型			雄	1	750.69 ± 134.28	8.9	4431.2	12228.3
	トランス型			雌	2	811.87 ± 462.61	6.0	6538.7	合計：
	シス型			雌	2	546.85 ± 387.93	6.3	4056.0	10594.7

表 2.6.6.3.4-2　ラットを用いた CsA，mix-ISA247，シス型 ISA247 及びボクロスポリン（トランス型）の 13 週間反復経口投与比較毒性試験における TK（続き）

被験物質	分析対象	用量（mg/kg/日）	採血時点 [a]	性	t_{max} (h)	C_{max} ± SD (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{24h} (ng·h/mL)
CsA	CsA	10	13 週	雄	4	1727.16 ± 90.03	36.0	18107.6
				雌	2	691.56 ± 130.31	3.7	8358.0
		25		雄	12	2967.21 ± 1762.81	4.4	52803.3
				雌	1	3534.02 ± 1466.47	26.5	50458.7

a：投与 1 日，投与 4～8 週の間にも測定したが，ここでは投与 13 週（投与 86 日）の結果のみ示す。

b：当該パラメータは，投与 24 時間後の血中濃度が高く，別動物から採血された投与 12 時間後の血中濃度とほとんど違いがなかったことに起因する。

N = 2 又は 3

2.6.6.3.5　ラットにおけるボクロスポリン製剤の 13 週間反復経口投与比較毒性試験

（概要表 2.6.7.7.5，報告書番号 ISA05-11）

溶媒中のビタミン E TPGS が，生じ得る肝毒性をマスクする可能性について検討するため，13 週間反復経口投与毒性試験を実施した。標準溶媒［ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w/w）］を用いた ISA247（ボクロスポリン）（以下，参照物質と称する）及びビタミン E TPGS を配合しない溶媒［MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]，w/w/w）］を用いたボクロスポリン（以下，被験物質と称する）の 2 種類の異なる製剤を用いて，ボクロスポリンの毒性を比較した。

2 つの製剤を SD ラットに 13 週間強制経口投与した。用量は，被験物質については 0（ビタミン E 非配合溶媒），2.5，10 又は 25 mg/kg/日，参照物質については 10 又は 25 mg/kg/日とした。群構成は，主試験群として雌雄各 10 例/群，回復群（4 週間の回復期間）として雌雄各 5 例/群，及び TK 群として雌雄各 9 例/群（溶媒投与群を除く）とした。検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量，TK，臨床病理検査，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査とした。

被験物質又は参照物質に関連する死亡は認められなかった。10 及び 25 mg/kg/日投与群での一般状態として，雄で軟便，削痩及び体重増加量の減少，並びに雌雄で過剰な歯肉組織が認められた。これらの影響は，被験物質及び参照物質投与群で同様であった。被験物質の 10 及び 25 mg/kg/日投与群並びに参照物質の 25 mg/kg/日投与群で，摂餌量の高値が認められた。

投与 13 週時点での血液学的検査で，対照群と比較して，主に 10 及び/又は 25 mg/kg/日投与群で影響が認められ，被験物質及び参照物質投与群のラットで同様のパターンを示した。RBC 及び Hb に統計学的有意差が認められたが，その程度は小さく，パターンに一貫性がなかった。25 mg/kg/日投与群の雌で WBC がわずかに低かった。リンパ球（相対値）がすべてのボクロスポリン投与群で低下する傾向が認められ，それに対応して好中球（相対値）の増加が認められた。被験物質の 10 及び 25 mg/kg/日投与群の雄で，血小板がわずかに減少した。血液生化学的影響として，アルブミン，総タンパク及びマグネシウムの低下，並びに BUN の増加が認められた。また，一部の動物で，ALT 及び AST，グルコース，カルシウム及びリンの散発的な増加が認められた。尿検査では，10 及び 25 mg/kg/日投与群の雄で尿中グルコース及び尿量の増加が認められた。尿中クレアチニン及びカリウム）の減少は，尿量増加を反映するものであった。

病理組織学的所見が，腎臓，胸腺，眼及び切歯に認められ，被験物質及び参照物質投与群との間に差は認められなかった。被験物質及び参照物質の 10 及び 25 mg/kg/日投与群で認められた腎臓の変化は腎症と一致していた。胸腺髄質の萎縮が，用量反応的に認められ，可染体マクロファージの増加と関連していた。眼に関して，被験物質の 10 及び 25 mg/kg/日投与群並びに参照物質の 25 mg/kg/日投与群で，軽度から中等度の水晶体変性が認められた。本試験のすべての被験物質及び参照物質投与群で，げっ歯類に自然発生する切歯の異形成が，用量反応的に認められた。本試験の回復期間により，胸腺での所見は完全に回復し，腎臓，眼及び歯での所見は，投与終了時に認められた程度及び発現頻度よりも低かった。

ビタミン E 配合の有無にかかわらず，25 mg/kg/日投与群の毒性所見は同様であった。一方，被験物質の 10 mg/kg/日投与群で認められた所見は，参照物質の 10 mg/kg/日投与群で認められた所見より程度が強かったが，10 mg/kg/日投与群の TK 分析により，被験物質のボクロスポリンの

曝露量が参照物質の約 2 倍（統計学的に有意）であることが示されたことから（表 2.6.6.3.5-1 参照），曝露量の差が原因と考えられた。

以上の結果から，ボクロスポリンの毒性プロファイルは，製剤中のビタミン E TPGS の有無による影響を受けず，ビタミン E TPGS が肝毒性をマスクする可能性は低いと考えられた。NOAEL は 2.5 mg/kg/日と判断された。

表 2.6.6.3.5-1　　ラットを用いたボクロスポリン製剤の 13 週間反復経口投与毒性試験における TK

製剤	用量（mg/kg/日）	採血時点 [a]	性	t_{max} (h)	C_{max} ± SD (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{24h} (ng·h/mL)
被験物質	2.5	13 週	雄	2	356.18 ± 102.68	6.7	2621.4
			雌	2	148.84 ± 32.27	4.1	863.4
	10	13 週	雄	2	877.98 ± 82.84	4.5	7762.4
			雌	2	806.93 ± 94.16	11.5	5195.2
	25	13 週	雄	1	1740.76 ± 623.49	6.6	13116.5
			雌	2	1481.25 ± 355.82	8.1	9533.6
参照物質	10	13 週	雄	2	557.65 ± 36.96	7.0	4824.0
			雌	2	450.07 ± 103.81	5.1	2735.0
	25	13 週	雄	2	1506.63 ± 80.35	6.2	13461.2
			雌	1	1503.53 ± 189.29	4.6	10276.5

a：投与 1 日にも測定したが，ここでは投与 13 週の結果のみ示す。
N = 3

2.6.6.3.6　　ラットにおける 2 バッチのボクロスポリンの 13 週間反復経口投与比較毒性試験

（概要表 2.6.7.7.6，報告書番号 ISA09-21）

被験物質の開発を通じて特性分析された不純物プロファイルを代表するバッチ（バッチ [redacted]：被験物質 1）及び本試験実施時点で新規製造されたバッチ［バッチ [redacted]（[redacted] を 0.27% w/w 含有）：被験物質 2］を用いて，ボクロスポリンの潜在的毒性及び TK プロファイルを検討するため，13 週間反復投与比較毒性試験を実施した。SD ラットに 0（溶媒），被験物質 1 及び 2 を 25 mg/kg/日の用量で，13 週間強制経口投与した。群構成は，主試験群として雌雄各 10 例/群，回復群（4 週間の回復期間）として雌雄各 5 例/群及び TK 群として雌雄各 6 例/群（溶媒投与群は雌雄各 3 例）とした。検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量，TK，眼科学的検査，臨床病理検査，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査とした。

被験物質 1 の投与群において，雄 1 例及び雌 1 例がそれぞれ投与 77 及び 82 日に瀕死状態を呈したため，計画剖検前に安楽死させた。死亡前に認められた一般状態は，活動性低下，削痩，振戦，身ぶるい，眼脂，脱水，泌尿・生殖器周囲の被毛の汚れ，皮膚の褪色，及び/又は陰茎の粥状物質であった。病理組織学的検査では，両動物で，大脳/小脳/頚部脊髄の血管周囲性細胞浸潤及びグリオーシス（いずれも軽度～中等度）が認められた。これらの所見は，雄で認められた大脳/小脳の軽度な神経組織の変性，血管周囲の限局性単核細胞浸潤及び坐骨神経の軸索変性と関連しており，これらの動物で認められた一般状態不良の原因であると考えられた。被験物質 2 の

投与群でも同様の所見が認められたが，安楽死処分には至らなかった。

被験物質に関連する一般状態として，被験物質 1 又は 2 の投与群の雄で，主に身づくろいの低下及び脱毛（前肢部）が認められた。被験物質 1 及び 2 の投与群の雄では，体重減少及び摂餌量増加が認められた。

投与期間終了時及び回復期間終了時に投与群のすべての雄で，また投与期間終了時に被験物質 2 の投与群の雌 1 例で，両側性の白内障が認められた。白内障の発症は，雌の回復期間終了時には認められなかった。

臨床病理検査における変化は，被験物質 1 又は 2 のいずれかの投与群の雄に主に認められたが，重症度に明らかな差は認められなかった。認められた変化は，RBC，Hb，Hct，ALT，AST，ALP，総ビリルビン，グルコース，尿素及びリンの増加，並びに APTT，MCV，MCH，血小板，コレステロール，トリグリセリド，総タンパク及びアルブミンの減少であった。尿検査では，グルコースの増加及び潜血が被験物質 1 及び 2 の投与群の雄で認められた。回復期間終了時，RBC，Hb，Hct，APTT，ALT，AST，ALP，グルコース，尿素及びアルブミンには継続して影響が認められた。

臓器重量の変化として，被験物質 1 及び 2 の投与群の雄で，副腎及び腎臓の絶対重量の増加，並びに前立腺及び胸腺の絶対重量の減少が認められた。剖検では，被験物質 1 及び 2 の投与群の雄で，胸腺，脾臓，リンパ節，腎臓，膀胱，前立腺，陰茎，下顎唾液腺，消化管及び胃に変化が認められた。

被験物質に関連する病理組織学的所見の明らかな変化として，被験物質 1 及び 2 の投与群で，神経組織（びまん性グリオーシスに関連する血管周囲性単核細胞浸潤及び/又は空胞変性を伴う又は伴わない神経組織の変性），眼の水晶体（水晶体変性を特徴とする眼の白内障），膵島（細胞空胞化との関連が多く認められる萎縮），腎臓（尿細管変性/再生，皮髄の鉱質沈着，腎盂拡張及び/又は腎盂炎）及びリンパ組織（萎縮及び/又は形質細胞増多）が認められた。神経組織，膵島及びリンパ組織の病変は雌雄に認められたが，水晶体及び腎臓の所見は雄にのみ認められた。

TK データより，2 つのバッチのボクロスポリンを投与した時の全身曝露量（AUC_{24h}）は同等であった。

以上の結果から，両バッチのボクロスポリンを経口投与した時，概して毒性学的に関連する所見の多くは雄に認められたが，認められた影響の発現頻度又は重症度に明らかな差は認められなかった。

2.6.6.3.7　イヌにおける mix-ISA247 の 2 週間反復経口投与毒性試験

（概要表 2.6.7.7.7，報告書番号 ISA00-09）

ビーグル犬に mix-ISA247 を 0（溶媒），2.5，10 又は 51.5 mg/kg/日の用量で 2 週間強制経口投与した。群構成は，主試験群として雌雄各 3 例/群並びに溶媒対照群及び高用量群の回復群（2 週間の回復期間）として雌雄各 2 例とした。検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，心電図，TK，臨床病理検査，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査とした。

Mix-ISA247 の忍容性は概ね良好であり，死亡は認められなかった。主な一般状態として，溶媒対照群を含むすべての投与群で嘔吐及び/又は逆流が認められ，高用量群でより重度及び/又は高頻度であった。また，高用量群の雄で糞便に変化（色調変化や軟便等）が認められた。高用量

群の雄 2 例で，衰弱及び/又は状態不良の徴候（活動性低下，削痩及び蒼白等）が認められ，これらの徴候は重度の嘔吐と関連すると考えられた。高用量群の雌雄で，体重及び摂餌量の減少が認められた。これらの影響は回復期間中に回復した。

被験物質に関連する眼所見，心電図又は心拍数への影響は認められなかった。

血液学的検査では，すべての mix-ISA247 投与群の雌及び高用量群の雄で，大型非染色細胞の減少が認められた。中用量群の雄及び高用量群の雌雄で，好酸球数の減少が認められた。また，高用量群の雄では好塩基球数の減少も認められた。血液生化学的検査では，高用量群の雄でアルブミン，カルシウム及び総タンパクのわずかな減少が認められた。これらの変化は回復期間中には認められなかった。尿検査では，被験物質に関連する変化は認められなかった。

剖検所見では，高用量群で脾臓の小型及び胸腺の小型が認められた。これらの所見は，当該臓器重量の減少及び病理組織学的所見（胸腺萎縮及び脾臓の胚中心消失）と関連していた。また，中及び高用量群で大腿骨の骨髄細胞減少が認められた。これらの影響は，mix-ISA247 のクラスエフェクト（免疫抑制作用）に起因するものであった。

中用量以上で骨髄細胞減少が認められたことから，本試験における Mix-ISA247 の NOAEL は 2.5 mg/kg/日と考えられた。

TK データより，用量増加に応じた全身曝露量が認められた（表 2.6.6.3.7-1 参照）。雌雄いずれにおいても蓄積性の一貫した傾向は認められず，また明らかな性差はないと考えられた。散発的な嘔吐及び逆流により TK データにばらつきが認められたが，各動物の TK プロファイルから，mix-ISA247 はビーグル犬に相当量，吸収及び全身曝露されたことが示された。

表 2.6.6.3.7-1　　イヌを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験における mix-ISA247 の TK

用量（mg/kg/日）	採血時点 [a]	性	t_{max} (h)	C_{max} ± SD (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{∞} ± SD (ng·h/mL)
2.5	14 日	雄	4	27.0 ± 10.2	13.1	187.0 ± 53.8
		雌	3	42.9 ± 12.5	3.7	225.4 ± 75.6
10	14 日	雄	9	256.8 ± 86.6	6.0	2915.9 ± 1105.6
		雌	5	181.1 ± 108.3	7.0	2725.4 ± 1214.2
51.5	14 日	雄	5	973.4 ± 376.9	8.8	11108.5 ± 1774.5
		雌	4	950.9 ± 622.1	8.0	11404.3 ± 6163.3

a：投与 1 日にも測定したが，ここでは投与 14 日の結果のみ示す。
N = 3 又は 5

2.6.6.3.8　　イヌにおける mix-ISA247 の 13 週間反復経口投与毒性試験

（概要表 2.6.7.7.8，報告書番号 ISA01-01）

ビーグル犬に mix-ISA247 を 0（生理食塩水），0（溶媒），2.5，10 又は 35 mg/kg/日の用量で 13 週間強制経口投与した。群構成は，主試験群として雌雄各 3 例/群並びに対照群（生理食塩水群及び溶媒群）及び高用量群の回復群（4 週間の回復期間）として雌雄各 3 例とした。検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，血圧，心電図，TK，臨床病理検査，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査とした。

MIX-ISA247 に関連する死亡は認められなかった。本試験で認められた一般状態所見（高用量群での軟便/液状便及び嘔吐）は，2 週間試験（2.6.6.3.7 参照）で認められた所見と同様であった。さらに，中及び高用量群では，歯肉腫脹が用量に関連して認められた。これらの一般状態は，雄での歯肉腫脹を除いて，回復期間中には認められなかった。高用量群の雄で体重増加量の減少が認められたが，回復性を示した。摂餌量に影響は認められなかった。

眼科学的検査，血圧，心電図，心拍数，血液学的検査及び尿検査に関して，被験物質に関連する影響は認められなかった。

血液生化学的検査では，高用量群でアルブミンの減少及びグロブリンの増加（アルブミン/グロブリン比の減少）が認められた。これらの影響は，回復期間終了時にもわずかではあるが継続して認められた。

中及び高用量群で，剖検時に歯肉肥厚が認められ，病理組織学的変化として歯肉過形成（軽微～中等度）が認められた。回復期間終了時にも雄で歯肉腫脹が継続して認められたが，剖検においてこれらの腫脹の程度は軽微であると判断し，病理組織学的検査のための歯肉採取は実施しなかった。その他の病理組織学的変化として，高用量群で脾臓の胚中心消失，中及び高用量群で胸腺髄質の萎縮（軽微～中等度）が認められた。これらの影響は，mix-ISA247 のクラスエフェクトに起因するものであった。剖検及び病理組織学的検査で認められた影響はすべて回復性を示した。

嘔吐以外の所見は，大半が mix-ISA247 の薬理作用に関連するものであった。以上の結果から，本試験における NOAEL は 2.5 mg/kg/日と考えられた。

TK データより，用量増加に応じた全身曝露量が認められた（表 2.6.6.3.8-1 参照）。雌雄いずれにおいても蓄積性の一貫した傾向は認められなかった。高用量群の雄の全身曝露量（C_{max}，AUC_{∞}）は雌より高かった。散発的な嘔吐及び逆流により TK データにばらつきが認められたが，各動物の TK プロファイルから，mix-ISA247 はビーグル犬に相当量，吸収及び全身曝露されたことが示された。

表 2.6.6.3.8-1　　イヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験における mix-ISA247 の TK

用量（mg/kg/日）	採血時点 [a]	性	t_{max} (h)	C_{max} ± SD (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{∞} ± SD (ng·h/mL)
2.5	90 日	雄	2.0	35.4 ± 14.4	ID	135.3 ± 83.5[b]
		雌	1.7	39.5 ± 20.3	ID	92.1 ± 72.5[b]
10	90 日	雄	1.3	466.0 ± 153.4	5.1	3071.9 ± 2207.5
		雌	1.0	383.1 ± 230.1	4.4	2195.3 ± 1247.2
35	90 日	雄	1.5	1568.4 ± 734.8	6.3	11161.6 ± 3335.1
		雌	1.1	1043.0 ± 523.8	6.5	7284.0 ± 2558.5

a：投与 1 及び 28 日にも測定したが，ここでは投与 90 日の結果のみ示す。

b：AUC_{24h}

ID：データ不十分

N = 3 又は 6

2.6.6.3.9　サルにおける mix-ISA247 の 13 週間反復経口投与毒性試験

（概要表 2.6.7.7.9，報告書番号 ISA01-05）

カニクイザルに mix-ISA247 を 0（生理食塩水），0（溶媒），25，75 又は 150/300 mg/kg/日の用量で 13 週間強制経口投与した。150 mg/kg/日を最高用量として選択したが，投与開始から 7 週間，本用量での忍容性が良好であったため，最高用量群で毒性を示すことを目的に投与 50 日から 300 mg/kg/日に増量した）。群構成は，主試験群として雌雄各 3 例/群及び回復群（4 週間の回復性）として雌雄各 3 例（低及び中用量群は除く）とした。検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量（食欲），眼科学的検査，血圧，心電図，TK，臨床病理検査，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査とした。

本試験において，mix-ISA247 の忍容性は概ね良好であり，死亡は認められなかった。体重，摂餌量，眼科学的検査，血圧，心電図，臨床病理検査又は臓器重量に関して，被験物質に関連する明らかな影響は認められなかった。

Mix-ISA247 投与群及び溶媒対照群において軟便～液状便及び便の暗色化といった糞便変化が認められた。糞便変化は高用量群でより重度であった。その他の一般状態として，高用量群の雌 1 例で，不定期な摂餌量の減少，削痩，振戦及びうずくまりが認められた。

主に中及び高用量群で歯肉腫脹が認められた。イヌ 13 週間試験（2.6.6.3.8 参照）と同様に，歯肉腫脹は剖検時の歯肉肥厚と関連していたが，病理組織学的検査では炎症を伴う歯肉上皮過形成は溶媒対照群の雌及び中用量群でも認められたことから，明らかな用量関連性は認められなかった。

その他のクラスエフェクトと予測される病理組織学的所見として，すべての用量群で，腸間膜リンパ節の胚中心消失，脾臓における濾胞性胚中心の数及び大きさの減少，並びに胸腺髄質の萎縮が認められた。これらの所見の発現頻度及び重症度には，用量関連性が認められた。これらの所見は回復期間中に回復したと考えられた。

以上の結果から，すべての用量において歯肉に変化が生じ，病理組織学的所見（脾臓，胸腺及びリンパ節におけるリンパ組織萎縮）が認められたことから，本試験において NOAEL は判定されなかった。

C_{max} 及び AUC_{∞} は，150 mg/kg/日までは用量に関連して増加したが，150 mg/kg/日から 300 mg/kg/日へ用量を増加しても曝露量は増加しなかった（表 2.6.6.3.9-1 参照）。また，一貫した性差及び蓄積性は認められなかった。

表 2.6.6.3.9-1　　サルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験における mix-ISA247 の TK

用量（mg/kg/日）	採血時点	性	t_{max} (h)	C_{max} ± SD (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{∞} ± SD (ng·h/mL)
25	90 日 [a]	雄	2.7	97.0 ± 56.7	6.5	1000.5 ± 629.6
25	90 日 [a]	雌	4.0	72.9 ± 25.1	7.5	886.2 ± 312.3
75	90 日 [a]	雄	4.0	223.7 ± 96.6	10.8	2089.5 ± 146.6
75	90 日 [a]	雌	3.3	527.5 ± 184.0	4.8	4,082.9 ± 1936.2
150	28 日 [b]	雄	2.2	732.5 ± 63.2	5.2	5899.6 ± 1212.6
150	28 日 [b]	雌	2.2	608.9 ± 182.3	5.9	4403.6 ± 2729.2
150→300	90 日 [c]	雄	2.5	625.8 ± 227.5	8.1	5262.2 ± 1309.4
150→300	90 日 [c]	雌	1.5	524.4 ± 90.9	7.0	3486.7 ± 699.2

a：投与 1，28 及び 50 日にも測定したが，ここでは投与 90 日の結果のみ示す。
b：投与 1 日にも測定したが，ここでは投与 28 日の結果のみ示す。
c：投与 50 日にも測定したが，ここでは投与 90 日の結果のみ示す。
N = 3 又は 6

2.6.6.3.10　サルにおける mix-ISA247 の 39 週間反復経口投与毒性試験

（概要表 2.6.7.7.10，報告書番号 ISA02-01）

カニクイザルに mix-ISA247 を 0（生理食塩水），0（溶媒），25，75 又は 150 mg/kg/日の用量で 39 週間強制経口投与した。群構成は，主試験群として雌雄各 5 例/群及び回復群（中用量群は除く）として雌雄各 3 例とした。回復期間は 4 週間とした。検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量（食欲），眼科学的検査，血圧，心電図，TK，PD（カルシニューリン阻害），免疫毒性，臨床病理検査，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査とした。

体重，摂餌量（食欲），眼科学的検査，血圧，心電図，臨床病理検査及び臓器重量に関して，被験物質に関連する明らかな影響は認められなかった。Mix-ISA247 の忍容性は概ね良好であった。リンパ肉腫に起因して死亡した高用量群の雌 1 例を除き，被験物質に関連する死亡は認められなかった。認められた一般状態は，mix-ISA247 投与群及び溶媒対照群での軟便～液状便及び便の淡色化といった糞便変化，並びに主に中及び高用量群での歯肉腫脹のみであった。

歯肉腫脹は，剖検時の歯肉肥厚及び病理組織学的検査における歯肉リンパ球浸潤といった所見と関連していた。投与終了時及び回復期間終了時に認められた歯肉肥厚，乳頭間突起形成，及びリンパ球浸潤の発現頻度及び/又は重症度は用量依存的であった。

脾臓リンパ組織過形成（未発達のリンパ組織及び分化したリンパ球を含む）の発現頻度は，中及び高用量群で用量依存的であった。これらの所見は回復期間中に回復したと考えられた。

高用量群の雄 1 例及び雌 4 例のサルでリンパ肉腫が認められた。これらの雌のうち 1 例は，投与 132 日に当該腫瘍のために死亡した。雄及び死亡した雌で，腹部，胸部及び末梢組織の複数の臓器に極めて広範囲で浸潤性の腫瘍が認められた。リンパ肉腫を示した残りの雌 3 例のうち，1 例は鼠径リンパ節に転移した大きな浸潤性の皮下腫瘍を，1 例は脾臓に限局した腫瘍を，もう 1 例は胃及び小腸にそれぞれ 1 つずつ，2 つの腫瘍を有していた。

免疫系に対して予測されたクラスエフェクトが，中及び高用量群で認められた。末梢血で，$CD2^+$及び $CD2^+/CD4^+$細胞が統計学的に有意に減少したのに対し，$CD20^+$細胞は統計学的に有意に増加した。これらの所見は，回復期間中にすべて回復した。

本試験では，サルの血液を用いて *in vitro* アッセイを実施し，カルシニューリン阻害能を測定した。投与 1 日，投与 13，24 及び 39 週に，血液を規定の間隔で投与 12 時間まで採血した。25，75 及び 150 mg/kg/日投与群の C_{max} における全カルシニューリン阻害率の平均値（すべての曝露期間から得た雌雄のプールデータ）は，それぞれ 42 ± 20%，74 ± 16%，及び 87 ± 7%であった。新規腎移植患者にボクロスポリンを投与した Isotechnika 社による第 II 相試験［ISA05-01 試験（参考資料）］において，臓器移植片拒絶反応の抑制は，C_{max} でカルシニューリン阻害率が約 50%あれば達成できることが示されている。カルシニューリン阻害の最大効果到達時間は C_{max} と同程度であることから，C_{max} と最大 PD 効果との間に時間差はほとんど又は全くないことが示された（概要文 2.6.2.2.1 項参照）。したがって，直接的な PD 効果は薬物濃度と相関する可能性が示唆された。

すべての曝露期間から得られた雌雄のプールデータを用い，動物でカルシニューリン阻害率が 50%超であった時間の長さを計算して，免疫抑制の程度を概算した。雄に 25，75 及び 150 mg/kg/日を連日投与したときに，カルシニューリン阻害率が 50%超であった時間は，それぞれ 1.2，5.5，及び 7.5 時間/日であった。雌に 25，75，及び 150 mg/kg/日を連日投与したときに，カルシニューリン阻害率が 50%超であった時間は，それぞれ 1.9，7.0，及び 8.8 時間/日であった。以上の結果から，用量の増加に伴い，カルシニューリン阻害率が 50%超となる時間の長さは有意に増加した。したがって，カルシニューリン阻害作用及び免疫系への影響が認められたことから，サル 39 週間反復経口投与毒性試験では，中及び高用量群の雌雄で，強い免疫抑制が示されたと結論づけた。

以上の結果から，本試験における NOAEL は 25 mg/kg/日であった。本用量で認められた主な影響は，薬物誘発性ではなく，溶媒対照群及びすべての投与群でも認められた変化（糞便変化）又はクラスエフェクトとして既知の変化であった。

C_{max} 及び AUC_{24h} は用量増加に関連して増加した（表 2.6.6.3.10-1 参照）。性差に関しては，高用量群の雌の曝露量が雄と比較して高かったことを除き，一貫した傾向は認められなかった。また，蓄積性は認められなかった。

表 2.6.6.3.10-1　サルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験における mix-ISA247 の TK

用量（mg/kg/日）	採血時点 [a]	性	t_{max} (h)	C_{max} ± SD (ng/mL)	$t_{1/2}$ (h)	AUC_{24h} ± SD (ng·h/mL)
25	39 週	雄	4.5	86.0 ± 43.4	7.1	781.1 ± 343.2
		雌	3.3	106.9 ± 52.4	7.8	782.8 ± 398.2
75	39 週	雄	3.2	395.4 ± 188.0	5.7	3232.0 ± 1960.6
		雌	3.6	406.0 ± 102.8	4.9	3316.3 ± 955.2
150	39 週	雄	2.3	650.5 ± 63.4	6.4	3858.0 ± 772.4
		雌	4.0	763.9 ± 63.1	5.5	6548.1 ±1166.1

a：投与 1 日，投与 13 及び 24 週にも測定したが，ここでは投与 39 週の結果のみ示す。
N = 5～8

2.6.6.4 遺伝毒性試験

Mix-ISA247 の一連の遺伝毒性試験を，ICH-S2A 及び S2B ガイドライン［試験終了後，ICH-S2A 及び S2B は S2（R1）[6]に移行］，並びに OECD の各ガイドラインに準拠して実施した。また，ボクロスポリンを用いて細菌を用いた復帰突然変異試験及び哺乳類細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験を実施した。

2.6.6.4.1 細菌を用いた mix-ISA247 の復帰突然変異試験

（概要表 2.6.7.8.1，報告書番号 ISA99-05）

Mix-ISA247 の遺伝子突然変異誘発性を検討するため，ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535 及び TA1537）並びに大腸菌（WP2*uvrA*）を用い，SD ラット肝 9000×g 上清による代謝系（S9）の添加（+S9）又は非添加（−S9）の条件下，プレート法で復帰突然変異試験を実施した。各処理は 3 枚を用い，37°C ± 2°C で 48～72 時間培養した。陰性対照としては，溶媒の DMSO を用いた。

用量設定試験の結果に基づき，本試験では mix-ISA247 を 15，50，150，400 及び 1200 µg/plate の用量で各試験菌を処理したが，陽性反応は認められなかった。また，すべての試験菌株において，400 µg/plate 以上の用量（TA100 では 1200 µg/plate でのみ）で背景細菌叢の検出を妨げない析出物が認められた。

Mix-ISA247 は，代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。したがって，mix-ISA247 は細菌を用いた復帰突然変異試験において陰性と判定された。

2.6.6.4.2 細菌を用いたボクロスポリンの復帰突然変異試験

（概要表 2.6.7.8.2，報告書番号 AC33TS.503.BTL）

ボクロスポリンの遺伝子突然変異誘発性を検討するため，ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535 及び TA1537）並びに大腸菌（WP2*uvrA*）を用い，+S9 又は−S9 の条件下，プレート法で復帰突然変異試験を実施した。各処理は 3 枚を用い，37°C ± 2°C で 48～72 時間培養した。陰性対照としては，溶媒の DMSO を用いた。

用量設定試験の結果に基づき，本試験ではボクロスポリンを 50，150，500，1500 及び 5000 µg/plate の用量で各試験菌を処理したが，陽性反応は認められなかった。5000 µg/plate で背景細菌叢の検出を妨げる析出物が認められた。

ボクロスポリンは，代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。したがって，ボクロスポリンは細菌を用いた復帰突然変異試験において陰性と判定された。

2.6.6.4.3　細菌を用いたボクロスポリンバッチ [redacted] の復帰突然変異試験

（概要表 2.6.7.8.3，報告書番号 ISA09-30）

非臨床試験で過去に検討していないボクロスポリンのバッチについて，不純物の安全性を確認するため，ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535 及び TA1537）並びに大腸菌（WP2*uvrA*）を用い，+S9 又は−S9 の条件下，プレート法で復帰突然変異試験を実施した。各処理は 3 枚を用い，37°C ± 2°C で 48～72 時間培養した。陰性対照としては，溶媒の DMSO を用いた。

用量設定試験の結果に基づき，本試験ではボクロスポリンを 50，150，500，1500 及び 5000 µg/plate の用量で各試験菌を処理したが，陽性反応は認められなかった。5000 µg/plate で背景細菌叢の検出を妨げる析出物が認められた。

ボクロスポリンは，代謝活性化の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。したがって，ボクロスポリンの本バッチは細菌を用いた復帰突然変異試験において陰性と判定された。

2.6.6.4.4　哺乳類細胞を用いた mix-ISA247 の *in vitro* 染色体異常試験

（概要表 2.6.7.8.4，報告書番号 ISA99-04）

+S9 又は−S9 の条件下，CHO 細胞を用いて mix-ISA247 の染色体異常誘発性を評価した。被験物質の曝露は，−S9 では 4 及び 20 時間，+S9 では 4 時間とした。陰性対照としては溶媒の DMSO を用いた。

用量設定試験及び染色体異常評価の初回試験において細胞毒性又は析出が認められたことから，染色体異常評価に選択した用量は，−S9 の 4 時間曝露群では 50，100 及び 150 µg/mL，+S9 の 4 時間曝露群では 37.5，75 及び 150 µg/mL，並びに−S9 の 20 時間曝露群では 2.5，5 及び 10 µg/mL とした。処理開始から 20 時間後にすべての細胞を評価に用いた。

−S9 又は+S9 の 4 時間曝露群，又は−S9 の 20 時間連続曝露群において，用量にかかわらず，溶媒対照と比較して統計学的に有意な染色体の構造異常及び数的異常の増加は認められなかった。

したがって，mix-ISA247 は CHO 細胞における染色体の構造異常及び数的異常の誘発に対して陰性であると判定された。

2.6.6.4.5　哺乳類細胞を用いたボクロスポリンのバッチ [redacted] 及び [redacted] の *in vitro* 染色体異常試験

（概要表 2.6.7.8.5，報告書番号 ISA09-29）

ボクロスポリンの 2 つのバッチについて不純物の安全性を確認するため，+S9 又は−S9 の条件下，CHO 細胞を用いて染色体異常誘発性を評価した。被験物質の曝露は，−S9 では 4 及び 20 時間，+S9 では 4 時間とした。陰性対照としては溶媒の DMSO を用いた。

用量設定試験及び染色体異常評価の初回試験で細胞毒性又は析出が認められたことから，バッチ [redacted] の染色体異常評価に選択した用量は，−S9 の 4 時間曝露群では 100，500 及び 1000 µg/mL，

+S9 の 4 時間曝露群では 100，500 及び 1000 μg/mL，並びに−S9 の 20 時間曝露群では 5，15 及び 250 μg/mL とした。バッチ [redacted] の染色体異常評価に選択した用量は，−S9 の 4 時間曝露群では 100，500 及び 2500 μg/mL，+S9 の 4 時間曝露群では 50，100 及び 500 μg/mL，並びに−S9 の 20 時間曝露群では 5，15 及び 50 μg/mL とした。処理開始から 20 時間後にすべての細胞を評価に用いた。

−S9 又+S9 の 4 時間曝露群，又は−S9 の 20 時間連続曝露群において，バッチ及び用量にかかわらず，溶媒対照と比較して統計学的に有意な染色体の構造異常及び数的異常の増加は認められなかった。

したがって，ボクロスポリンのバッチ [redacted] 及び [redacted] は CHO 細胞における染色体の構造異常及び数的異常の誘発に対して陰性であると判定された。

2.6.6.4.6　ラットを用いた骨髄小核試験

（概要表 2.6.7.9.1，報告書番号 ISA00-22）

In vivo における mix-ISA247 の染色体損傷誘発性を検討するため，SD ラットを用いて骨髄の小核試験を実施した。

予備試験において高用量の 2000 mg/kg に忍容性が認められたため，雌雄の SD ラットに mix-ISA247 を 0（溶媒：コーン油），500，1000 又は 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。群構成は，投与 24 時間後採取群として雌雄各 5 例/群，投与 48 時間後採取群として溶媒対照及び高用量群の雌雄各 5 例とした。

いずれの用量群においても死亡又は有害な一般状態所見は認められなかった。投与 24 時間後（全用量）及び 48 時間後（溶媒対照及び高用量のみ）に採取した骨髄細胞を顕微鏡下で観察し，小核を有する多染性赤血球を計数した。一部の被験物質投与群において，総赤血球数に対する多染性赤血球の比率が溶媒対照群と比較して平均最大 11%減少した。投与 24 又は 48 時間後において，被験物質投与群の雌雄いずれにおいても，溶媒対照群と比較して小核を有する多染性赤血球の有意な増加は認められなかった。

したがって，mix-ISA247 はラット骨髄小核試験において陰性であると判定された。

2.6.6.5　がん原性試験

ICH-S1A，S1B 及び S1C ガイドライン[7,8,9]に準拠して，CD-1 マウス及び SD ラットを用いた 2 年間のボクロスポリンのがん原性試験を実施した。

2.6.6.5.1　マウスにおけるボクロスポリンの 104 週間反復経口投与がん原性試験

（概要表 2.6.7.10.2，報告書番号 ISA06-01）

雌雄各 65 例/群の CD-1 マウスに ISA247（ボクロスポリン）を 0（0.9%生理食塩水），0（溶媒），3，10 又は 30 mg/kg/日の用量で最長 89 週間強制経口投与した。また，TK 用サテライト群として，生理食塩水及び溶媒投与群に雌雄各 5 例，並びにボクロスポリン投与群に雌雄各 20 例/群を設定した。検査項目は，死亡，一般状態，触知による腫瘤確認，体重，摂餌量，眼科学的検査，TK，剖検及び病理組織学的検査とした。

13 週間の用量設定試験（概要表 2.6.7.10.1，資料番号 4.2.3.4.1-01）の結果に基づき，本試験の

高用量は 104 週間投与した場合の最大耐量と予測した。試験デザインを途中で修正し，高用量群の投与を中止して早期に試験を終了させた。30 mg/kg/日投与群の雌雄について，投与 60 週に投与を中止した。また，3 及び 30 mg/kg/日投与群の雄の生存率が低下したため，これらの群で生存していた雄をそれぞれ投与 82 及び 80 週に安楽死させた。溶媒対照群の生存率が低下したため，投与 88～89 週に試験全体を終了した。

生理食塩水対照群及び溶媒対照群の双方と比較して，雄での生存率が統計学的に有意に，また用量に関連して低下する傾向が認められた。試験終了時までの生存データを，表 2.6.6.5.1-1 に示す。Pairwise 比較では，3 及び 30 mg/kg/日投与群の生存率は，両対照群の雄よりも有意に低かった。雌では，生理食塩水対照群及び溶媒対照群間で生存率に統計学的有意差が認められた。ボクロスポリン投与群の雌の生存率は，生理食塩水対照群の雌と比較して，統計学的に有意に，また用量に関連して低下する傾向が認められたが，溶媒対照群の雌との間に差は認められなかった。Pairwise 比較では，10 及び 30 mg/kg/日投与群の雌の生存率は，生理食塩水対照群と比較して有意に低かった。

表 2.6.6.5.1-1　　CD-1 マウスを用いたボクロスポリンのがん原性試験における計画剖検時の生存状況（偶発死亡を補正した生存動物数及び生存率）

用量	雄					雌				
（mg/kg/日）	0[a]	0[b]	3	10	30[c]	0[a]	0[b]	3	10	30[c]
計画	33/65	20/56	15/54	20/54	15/60	41/64	26/59	24/50	22/55	20/54
剖検[d]	51%	36%	28%	37%	25%	64%	44%	48%	40%	37%

a：生理食塩水対照群

b：溶媒対照群

c：生存率の低下により投与 60 週に投与を中止した。

d：計画剖検は，投与 80 週（30 mg/kg/日投与群の雄），投与 82 週（3 mg/kg/日投与群の雄），投与 88 週（溶媒対照群及び 10 mg/kg/日投与群の雌雄，3 及び 30 mg/kg/日投与群の雌）及び投与 89 週（生理食塩水対照群の雌雄）に実施した。

一般状態，触知可能な腫瘤の発現頻度，体重，摂餌量，眼科学的検査所見，剖検所見又は病理組織学的な非腫瘍性所見に対して，被験物質に関連する影響は認められなかった。

腫瘍発現頻度について統計学的に傾向検定を実施した結果，生理食塩水対照群及び溶媒対照群の双方と比較して，雌雄で悪性リンパ腫の発現頻度が用量に関連して用量依存的ではないものの有意に上昇した（表 2.6.6.5.1-2 参照）。統計学的な Pairwise 比較の解析は，不統一な結果であった。30 mg/kg/日投与群の雄では，生理食塩水対照群と比較した場合には統計学的有意差が認められたが（$p = 0.0070$），溶媒対照群と比較した場合には有意差は認められなかった（$p = 0.0349$）。30 mg/kg/日投与群の雌では，溶媒対照群と比較した場合には統計学的有意差が認められたが（$p = 0.002$），生理食塩水対照群と比較した場合には有意差は認められなかった（$p = 0.0115$）。また，Pairwise 比較において，中又は低用量群の雌雄では，いずれの対照群と比較した場合にも有意差は認められなかった。これらの結果から，傾向検定で統計学的有意差が認められたのは，高用量群でのみ発現頻度が上昇したためであり，3 又は 10 mg/kg/日投与群ではリンパ腫の発現頻度に被験物質の影響はなかったことが示唆される。

関連する開発業務受託機関のデータベースにおいて，マウスのリンパ腫に関する発現頻度の対照データから，本試験の高用量群で認められた発現頻度は，背景値の範囲内ではあったが，その上限に近いことが示されている。当該試験の実施施設（[redacted]）において，悪性リンパ腫の発現頻度の背景値（2.4 m1 版）は，雄で 6.56%，雌で 17.76%であった。Charles River Laboratories 社の CD-1 マウスにおける悪性リンパ腫の平均発現頻度の背景値（20[redacted]年[redacted]月）[10]は，雄で 4.5%（最低発現頻度：1.45%，最高発現頻度：21.67%），雌で 9.93%（1.67%～50.0%）であった。さらに過去の公表データ[11]では，本試験と同程度の発現頻度（雄で 8.8%，雌で 22%）が示されている。

表 2.6.6.5.1-2　CD-1 マウスを用いたボクロスポリンのがん原性試験における腫瘍性所見の発現頻度

用量（mg/kg/日）	雄					雌				
	0[a]	0[b]	3	10	30	0[a]	0[b]	3	10	30
悪性リンパ腫[*]	2/65 3.1%	3/65 4.6%	0/65 0.0%	2/65 3.1%	7/65[**] 10.8%	8/65 12.3%	3/65 4.6%	7/65 10.8%	2/65 3.1%	13/65[***] 20.0%

a：生理食塩水対照群
b：溶媒対照群
*p ≤ 0.005（傾向検定），**p ≤ 0.01（生理食塩水対照群に対する Pairwise 比較），***p < 0.01（溶媒対照群に対する Pairwise 比較）

いずれか又は双方の対照群と比較して統計学的有意差を示した他の腫瘍は，肺の細気管支肺胞上皮腺腫のみであり，10 mg/kg/日投与群の雌において，溶媒対照群の雌と比較して細気管支肺胞上皮腺腫及び細気管支肺胞上皮癌を併発した細気管支肺胞上皮腺腫の発現頻度の上昇が認められた。しかしながら，用量反応性は認められず，また生理食塩水対照群の雌と同一の発現頻度であったことから，これらの変化は被験物質とは関連しない偶発的変化であると考えられた。

CD-1 マウスにボクロスポリンを 60～89 週間連日強制経口投与したところ，溶媒と関連して死亡例が増加したが，これらの影響は溶媒の特性（溶媒中に脂質や界面活性剤を含む）や投与操作あるいは投与過誤による死亡が関連している可能性が考えられた。また，死亡が認められたため，30 mg/kg/日投与群の雌雄への投与は投与 60 週に中止した。明らかな用量反応性は認められなかったが，30 mg/kg/日投与群の雄では生理食塩水投与群に比べて悪性リンパ腫の発現頻度が上昇し（溶媒投与群との差はなし），30 mg/kg/日投与群の雌では溶媒投与群に比べて悪性リンパ腫の発現頻度が上昇した（生理食塩水投与群との差はなし）。

以上の結果より，CD-1 マウスにボクロスポリンを約 89 週間強制経口投与したときのがん原性及び一般毒性に関する無影響量は 10 mg/kg/日であった。

TK データより，全身曝露量は用量に伴って増加することが示された（表 2.6.6.5.1-3 参照）。雌の曝露量は，雄よりもわずかに高かった。

表 2.6.6.5.1-3　　CD-1 マウスを用いたがん原性試験におけるボクロスポリンの TK

分析対象	用量（mg/kg/日）	採血時点	性	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{12h} (ng·h/mL)[a]
ボクロスポリン	3	26 週	雄	2	18.2	107.5
			雌	4	18.8	139.7
	10	26 週	雄	4	52.1	405.9
			雌	2	137.7	612.1
	30	26 週	雄	2	418.0	3876.0
			雌	4	776.3	5559.7

a：動物死亡により AUC_{24h} の算出に影響を与えたため，AUC_{12h} を代用した。
N = 3

2.6.6.5.2　　ラットにおけるボクロスポリンの 104 週間反復経口投与がん原性試験

（概要表 2.6.7.10.3，報告書番号 ISA04-08）

雌雄各 65 例/群の SD ラットにボクロスポリンを雄には 0.05，0.25 又は 1.25 mg/kg/日，雌には 0.1，0.5 又は 2.5 mg/kg/日の用量で少なくとも 96 週間強制経口投与した。2 つの対照群には，0.9%生理食塩水又は溶媒のいずれかを投与した。また，TK 用サテライト群として，生理食塩水及び溶媒投与群に雌雄各 4 例，並びにボクロスポリン投与群に雌雄各 11 例/群を設定した。検査項目は，死亡，一般状態，触知による腫瘍確認，体重，摂餌量，臨床病理検査，TK，剖検及び病理組織学的検査とした。

用量は，mix-ISA247 のラット 26 週間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.3 項）及びラット 13 週間ブリッジング試験（2.6.6.3.4 項）に基づいて設定した。本試験で設定したボクロスポリンの高用量は 104 週間投与した場合の最大耐量と予測した。

被験物質投与により，生存率に影響は認められなかった。しかしながら，溶媒対照群の雄で生存率が低下したため，試験全体を投与 104 週に達する前に終了した。すべての雄は投与 95～96 週に，すべての雌は投与 95～97 週（少なくとも 96 週間の投与）に安楽死させた。投与 79 週（80 週間の被験物質投与）まで，すべての群の生存率は 50%以上であった。22 か月間（投与 95 週の試験終了まで）の生存状況を，表 2.6.6.5.2-1 に示す。

表 2.6.6.5.2-1　　SD ラットを用いたボクロスポリンのがん原性試験における投与 94 週の生存状況（偶発死亡を補正した生存動物数及び生存率）

用量（mg/kg/日）	雄					雌				
	0[a]	0[b]	0.05	0.25	1.25	0[a]	0[b]	0.1	0.5	2.5
投与 94 週の生存状況	27/64 42%	22/64 34%	20/65 31%	24/64 38%	22/64 34%	23/65 35%	22/65 34%	33/65 51%	25/65 38%	32/64 50%

a：生理食塩水対照群
b：溶媒対照群

Kaplan-Meier 生存曲線の統計学的評価により，1.25 mg/kg/日投与群の雄の生存率に，生理食塩水対照群の雄と比較して，統計学的に有意な用量関連性の傾向及び有意差が認められた。溶媒対

照群の生存率はすべてのボクロスポリン投与群の雄（1.25 mg/kg/日投与群を含む）と同程度であり，それらの生存率は生理食塩水対照群より低かったことから，投与に関連する明らかな死亡増加は溶媒によるものであり，被験物質の直接的な影響ではないと考えられた。しかしながら，溶媒に関連する死亡への影響に関して，統計学的エビデンスは不確かであり，雄の 2 つの対照群間における死亡率の差が偶然以外の因子によるものであると確実に結論づけることはできなかった。雄の被験物質に関連する死亡増加に関して傾向検定を行ったところ，ボクロスポリン投与群を生理食塩水対照群と比較した場合，統計学的に有意（$p \leq 0.05$）であったが，溶媒対照群と比較した場合は有意な差は認められなかった。同様に，高用量群の死亡は，生理食塩水対照群より統計学的に有意に増加したが（$p \leq 0.05$），溶媒対照群との間に有意差は認められなかった。しかしながら，Pairwise 比較では，生理食塩水対照群の雄と溶媒対照群の雄における死亡に統計学的有意差は認められなかった。

雌では，Pairwise 比較及び傾向検定のいずれにおいても，群間死亡に統計学的有意差は認められなかった。

被験物質に関連する一般状態の変化は認められなかった。触知可能な腫瘤の発現頻度，体重，摂餌量，血液学的検査及び血清生化学的検査に関して，被験物質に関連する影響は認められなかった。

尿検査では，雌雄の尿量が用量に関連して増加する傾向が認められたが，統計学的有意差は認められなかった。当該変化は，尿中のナトリウム（雌雄）及びクロール（雌のみ）の減少に関連しており，これらの変化は 2.5 mg/kg/日投与群の雌で統計学的に有意であった。被験物質に関連する雌雄の尿中ナトリウム排泄の減少は，自然発症性の CPN 又は一般的な腎機能障害とは関連しないと考えられたため，有害ではないと考えられた。したがって，尿中ナトリウム及びクロールの減少に関して，毒性学的意義は不明であった。

雄において，1.25 mg/kg/日投与群での膵島細胞腫瘍の発現（発現頻度：8 例/65 例）が，溶媒対照群（膵腫瘍の発現頻度が低く認められた群，発現頻度：2 例/65 例）と比較して統計学的に有意に上昇した。1.25 mg/kg/日投与群におけるこれらの腫瘍の発現頻度は，生理食塩水対照群（7 例/65 例）と比較して統計学的な差は認められなかった（表 2.6.6.5.2-2 参照）。ラットにおいて，膵島細胞腫瘍は一般的な腫瘍に分類される。したがって，傾向検定の統計学的有意性は $p \leq 0.005$ 及び対比較の統計学的有意性は $p \leq 0.01$ とした。雄での膵島細胞腫瘍の発現頻度は，溶媒対照群と比較して，膵島細胞腺腫及び膵島細胞癌が併発した場合のみ統計学的に有意であったが（$p = 0.0086$），有意な用量関連性は認められなかった。本所見に対する傾向検定はすべて陰性であった。生理食塩水対照群からの有意な変動がないこと，統計学的に有意な用量関連傾向が認められなかったこと，及び雌で同様の影響が認められなかったことから，1.25 mg/kg/日投与群の雄で認められた膵島細胞腫瘍は，自然発生的に生じた偶発所見であると考えられた。

雌において，子宮頚部の良性顆粒細胞腫が 0.5 mg/kg/日投与群で生理食塩水対照群と比較して統計学的に有意に増加した。子宮頚部の良性顆粒細胞腫が腟の良性顆粒細胞腫を併発した場合，0.5 及び 2.5 mg/kg/日投与群の雌での発現が，生理食塩水対照群と比較して有意に増加した（表 2.6.6.5.2-3 参照）。顆粒細胞腫に対する傾向検定では有意差は認められなかった。溶媒対照群とボクロスポリン投与群との間の発現頻度は同程度（4.6%～9.2%）であり，統計学的に有意な用量

反応性は認められなかったことから，投与の影響は被験物質単独によるものではないと考えられた。0.5 及び 2.5 mg/kg/日群で用量反応性が認められなかったことから，被験物質投与，溶媒投与又は被験物質と溶媒の併用効果とは関連しない偶発的変化であることが示唆される。

表 2.6.6.5.2-2　　SD ラットを用いたボクロスポリンのがん原性試験における特定の腫瘍性所見の発現頻度

用量（mg/kg/日）	雄					雌				
	0[a]	0[b]	0.05	0.25	1.25	0[a]	0[b]	0.1	0.5	2.5
膵臓[c]：	65	64	65	65	65	65	65	65	65	65
腺腫，膵島細胞	5	1	1	1	3	2	0	2	1	1
癌，膵島細胞	2	1	3	5	5	1	2	2	0	1
合計	**7**	**2**	**4**	**6**	**8***	**3**	**2**	**4**	**1**	**2**
雌の生殖組織[c]：	NA	NA	NA	NA	NA	65	65	65	65	65
顆粒細胞腫，子宮頚部（良性）	NA	NA	NA	NA	NA	1	4	2	6**	5
顆粒細胞腫，腟（良性）	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	0	1
合計	NA	NA	NA	NA	NA	**1**	**4**	**2**	**6****	**6****

a：生理食塩水対照群
b：溶媒対照群
c：各群で評価した組織数
*p ≤ 0.01（溶媒対照群に対する Pairwise 比較），**p ≤ 0.05（生理食塩水対照群に対する対比較）
NA = 該当せず

顆粒細胞腫は一般的な腫瘍ではない。起始細胞は，雌の生殖器系の壁にある子宮腺に由来すると考えられている。老齢ラットでは，顕微鏡下でこれらの細胞が結節状に集合していることが視認できることから，新生物ではなく，脱落膜反応である可能性が示唆されている。本試験では，子宮頚部及び腟に顆粒細胞の集簇が認められており，これらを子宮頚部及び腟の顆粒細胞腫瘍の発現数と合算しても，増殖性顆粒細胞病変の発現数の合計値に明らかな群間差は認められない（表 2.6.6.5.2-3 参照）。

表 2.6.6.5.2-3　　SD ラットを用いたボクロスポリンのがん原性試験における顆粒細胞の集簇の発現頻度

用量（mg/kg/日）	生理食塩水対照群	溶媒対照群	0.1	0.5	2.5
顆粒細胞腫，子宮頚部及び腟	1	4	2	6	6
顆粒細胞の集簇，子宮頚部	1	5	3	1	4
顆粒細胞の集簇，腟	4	3	3	1	1
影響を受けた動物数：顆粒細胞腫及び/又は顆粒細胞の集簇	**6**	**10**	**7**	**7**	**10**

顕微鏡下で視認できる顆粒細胞の集簇を腫瘍性病変又は非腫瘍性病変に分類することは，議論の余地があり，また不確かである。このような病変をすべて脱落膜の非腫瘍性反応とした場合，このラットを用いたがん原性試験において，影響はないこととなる。しかしながら，非腫瘍性の顆粒細胞の集簇と顆粒細胞腫を区別した場合，データから，良性の顆粒細胞の集簇の発現は偶発的影響であることが示唆される。ラット生殖器系における顆粒細胞腫増加の臨床的意義は不明である。

非腫瘍性変化（表 2.6.6.5.2-4 参照）に関して，CPN の発現頻度は雄のすべての群並びに雌の溶媒対照群及びボクロスポリン投与群において同程度であった。しかしながら，CPN の重症度は高用量群の雄でわずかに増加した。

表 2.6.6.5.2-4　　SD ラットを用いたボクロスポリンのがん原性試験における CPN の発現頻度

用量			雄					雌		
（mg/kg/日）	0[a]	0[b]	0.05	0.25	1.25	0[a]	0[b]	0.1	0.5	2.5
腎臓[c]	65	65	65	65	65	65	65	65	65	65
CPN	59	58	59	56	58	25	40	36	38	42
軽微	31	35	29	25	26	23	32	35	35	30
軽度	15	10	20	18	15	1	3	1	2	6
中等度	11	11	6	10	9	0	4	0	1	4
重度	2	2	4	3	8	1	1	0	0	2

a：生理食塩水対照群
b：溶媒対照群
c：各群で評価した組織数

SD ラットにボクロスポリンを少なくとも 96 週間連日強制経口投与したところ，雌雄いずれにおいても，生存率に影響は認められず，がん原性を示さなかった（しかしながら，雄の生存率は溶媒に関連して低下した可能性があった）。血液学的検査，血清生化学的検査，剖検，及び病理組織学的検査において，雌雄いずれにおいても毒性は認められなかった。

全身曝露量（AUC_{24h}）は，用量増加に伴い増加した（表 2.6.6.5.2-5 参照）。雄ラットは，2 倍量のボクロスポリン（mg/kg/日ベース）を投与された雌ラットと同程度の曝露量を一様に示した。

表 2.6.6.5.2-5　　SD ラットを用いたがん原性試験におけるボクロスポリンの TK

分析対象	用量（mg/kg/日）	採血時点 [a]	性	t_{max} (h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24h} (ng·h/mL)
ボクロスポリン	0.05	26 週	雄	2	0.80	11.44
	0.1	26 週	雌	2	14.22	22.63
	0.25	26 週	雄	4	4.21	53.61
	0.5	26 週	雌	2	6.86	48.06
	1.25	26 週	雄	4	28.53	395.24
	2.5	26 週	雌	2	63.57	366.21

a：投与 1 日にも測定したが，ここでは投与 26 週の結果のみ示す。
N = 3

2.6.6.6　　生殖発生毒性試験

Mix-ISA247 の生殖発生毒性試験は ICH-S5 ガイドライン [4] に準拠して実施された。SD ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験，SD ラット及び NZW ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験，SD ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施した。発生毒性に最も高感度の動物種はウサギであると判断したため，ブリッジング試験としてウサギを用いたボクロスポリンの胚・胎児発生に関する試験を実施した。

2.6.6.6.1　　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

（概要表 2.6.7.12，報告書番号 ISA02-02）

雌雄各 25 例/群の SD ラットに mix-ISA247 を 2.5，10 又は 25 mg/kg/日の用量で強制経口投与した。雄への投与は，交配（最大同居日数 15 日間）の 49 日前から開始し，剖検前日まで継続した（投与期間は 69 日間以上）。雌への投与は，交配の 15 日前から開始し，妊娠 7 日まで継続した。対照群として 2 群（雌雄各 25 例）を設け，0.9%生理食塩水又は溶媒のいずれかを同様に投与した。TK 用にサテライト群（雌雄各 6 例/群）を設定し，mix-ISA247 を 2.5，10 又は 25 mg/kg/日の用量で投与した。

検査項目は，生存性，一般状態，体重，摂餌量，TK，剖検，雄生殖器の臓器重量，交配，受胎能及び帝王切開に関するパラメータとした。雄は安楽死後，精子検査を行った。雌は妊娠 13 日に帝王切開を行った。特記なき限り，統計学的比較は，生理食塩水対照群に対する比較とした。

試験期間中，被験物質に関連しない死亡が以下に示す 4 例で認められた：溶媒対照群の雌 1 例（投与 7 日に死亡，投与過誤），10 mg/kg/日投与群の雄 1 例（投与 46 日に死亡，死因の詳細は不明だが被験物質に関連しないと判断），25 mg/kg/日投与群の雌 1 例（投与 17 日に安楽死，投与過誤による瀕死）及び 25 mg/kg/日投与群の雄 1 例（投与 57 日に安楽死，状態悪化を示す一般状態所見を伴う歯の咬合異常）。

雄において，被験物質投与群で軟便又は液状便の発現頻度が，すべての被験物質投与群及び溶媒対照群で過度な流涎の発現頻度が上昇又は有意に上昇した。25 mg/kg/日投与群で，鼻部の腫脹，四肢の脱毛（局所），前肢指の腫脹及び腹部被毛の尿汚れが有意に増加した。雌において，被験物質に関連する一般状態所見は認められなかった。

25 mg/kg/日投与群の雄で，体重（投与 8～64 日及び剖検時）及び体重増加量（全試験期間）の

減少が認められた。10 mg/kg/日投与群の雄で，全試験期間にわたって体重増加量が増加した。雌の体重及び体重増加量には，いずれの用量においても影響は認められなかった。

雄の 25 mg/kg/日投与群で投与初期に摂餌量の減少が認められたが，それを除くと，雄の 10 及び 25 mg/kg/日投与群では全試験期間にわたって絶対及び相対摂餌量が増加した。雌の絶対及び相対摂餌量には，いずれの用量においても影響は認められなかった。

被験物質に関連する剖検所見は，雌雄ともに認められなかった。しかしながら，25 mg/kg/日投与群で，左精巣上体尾部，左右の精巣上体，精嚢（精嚢液含有の有無問わず）及び前立腺に関して，絶対及び相対臓器重量が減少した。また，25 mg/kg/日投与群では，左右の精巣絶対重量も減少したが相対重量は生理食塩水対照群の値と同等であった。

交配及び受胎能に関するすべてのパラメータ，精子検査のパラメータ（運動性，数及び濃度），14 日間あたりの発情期回数，及び帝王切開に関するパラメータに，被験物質による影響は認められなかった。

以上の結果から，雄の一般毒性に関する NOAEL は 10 mg/kg/日，雌の一般毒性に関する NOAEL は 25 mg/kg/日であった。また，雌雄の生殖に関する NOAEL は 25 mg/kg/日であった。

TK データより，全身曝露量に用量関連性が認められた（表 2.6.6.6.1-1 参照）。

表 2.6.6.6.1-1　　ラットを用いた受胎能試験における mix-ISA247 の TK

用量（mg/kg/日）	採血時点	性	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24h} (ng·h/mL)
2.5	投与 70 日	雄	55.3	631.5
	妊娠 7 日	雌	471.3	922.5
10	投与 70 日	雄	373.5	4556.1
	妊娠 7 日	雌	750.5	5500.7
25	投与 70 日	雄	897.0	13622.7
	妊娠 7 日	雌	862.4	7669.0

N = 3

2.6.6.6.2　　胚及び胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1　ラットにおける mix-ISA247 の胚・胎児発生に関する試験

（概要表 2.6.7.13.1，報告書番号 ISA01-12）

妊娠 SD ラット（24 又は 25 例/群）に，mix-ISA247 を 2.5，10 又は 25 mg/kg/日の用量で妊娠 6～17 日まで強制経口投与した。さらに対照群（24 例）には溶媒を同様に投与した。また，TK 用のサテライト群を設け，妊娠ラット（6 例/群）に mix-ISA247 を 2.5，10 又は 25 mg/kg/日の用量で投与した。妊娠 21 日に帝王切開を実施し，胚・胎児発生に及ぼす影響を評価した。

検査項目は，生存性，一般状態，体重，摂餌量，剖検（胸部，腹部及び骨盤臓器），臓器重量（脳，肝臓，腎臓，副腎，卵巣，及び心臓）及び帝王切開のパラメータとした。胎児については，体重測定，性別判定及び外形検査を実施し，胎盤重量を測定した。また，各同腹児の約半数について内臓検査を，残りの胎児について骨格検査を実施した。

すべての群の動物に死亡は認められなかった。被験物質に関連する一般状態として，

2.5 mg/kg/日以上の投与群で少量便，過度な流涎，腹部被毛の尿汚れ及び脱毛の発現頻度が上昇した。25 mg/kg/日投与群で口周囲に赤色物が認められた。剖検では，被験物質に関連する影響は認められなかった。

25 mg/kg/日投与群で，絶対及び相対摂餌量，体重増加量，体重，剖検時体重，子宮重量，両側卵巣重量，並びに相対卵巣重量が減少し，脳及び副腎の相対重量が増加した。

25 mg/kg/日投与群で，吸収胚を有する母動物数，総吸収胚数，1 腹あたりの死亡又は吸収胚の割合，並びに早期吸収胚数及び後期吸収胚数の総数が増加した。また，同腹児数，生存胎児数，胎盤重量及び胎児体重の減少も認められた。

いずれの用量群でも，胎児の外形，内臓及び骨格検査に異常は認められなかった。25 mg/kg/日投与群で，中足骨の化骨数減少が認められたが，本所見は胎児体重の減少に関連する可逆的な骨化遅延であると考えられた。

以上の結果から，mix-ISA247 の母動物及び胚・胎児発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日であった。

TK データより，全身曝露量に用量関連性が認められた（表 2.6.6.6.2.1-1 参照）。

表 2.6.6.6.2.1-1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験における mix-ISA247 の TK

用量（mg/kg/日）	採血時点	性	C_{max} (ng/mL)	AUC_{∞} (ng·h/mL)
2.5	妊娠 17 日	雌	58.5	589.5[a]
10			474.3	6240.3
25			1058.0	12852.6

a：AUC_{all}

N = 3

2.6.6.6.2.2　ウサギにおける mix-ISA247 の胚・胎児発生に関する試験

（概要表 2.6.7.13.2，報告書番号 ISA01-13）

妊娠 NZW ウサギ（17 又は 20 例/群）に mix-ISA247 を 2，10 又は 20 mg/kg/日の用量で妊娠 6～18 日まで強制経口投与した。溶媒対照群（17 例）を設け，溶媒を同様に投与した。また，TK 用サテライト群（6 例/群）には，mix-ISA247 を 2，10 又は 20 mg/kg/日の用量で同様に投与した。妊娠 29 日に帝王切開を実施し，胚・胎児発生に及ぼす影響を評価した。。

検査項目は，生存性，一般状態，体重，摂餌量，TK（妊娠 18 日），剖検（胸部，腹部及び骨盤臓器），臓器重量（脳，肝臓，腎臓，副腎，卵巣及び心臓）及び帝王切開のパラメータとした。胎児については，体重測定，性別判定及び外形検査を実施し，胎盤重量を測定した。また，各胎児について内臓及び骨格検査を実施した。

試験期間中，2 mg/kg/日投与群の 1 例が妊娠 17 日に投与過誤のため死亡した。用量に関連した流産が 3 例に認められた（10 mg/kg/日投与群の 1 例：妊娠 21 日，20 mg/kg/日投与群の 2 例：妊娠 21 及び 24 日）。これらの動物では，流産に先立ち，一般状態観察時にケージトレー内に赤色物及び/又は胎児が認められていた。溶媒対照群を含むすべての群で，被毛の身繕い不良及び/又は軟便～液状便が認められたが，mix-ISA247 投与群では軟便～液状便の発現頻度が上昇した。

いずれの群においても，その他の有害な一般状態所見は認められなかった。

20 mg/kg/日投与群において，剖検時体重が増加した。10 及び 20 mg/kg/日投与群において，妊娠子宮重量が減少した。そのため，両群の補正体重（妊娠 29 日の体重 − 妊娠子宮重量）及び補正体重増加量は増加した。10 mg/kg/日以上の投与群で，絶対及び相対摂餌量が減少した。20 mg/kg/日投与群で両側卵巣重量が減少した。

20 mg/kg/日投与群で，吸収胚を有する母動物数，総吸収胚数，1 腹あたりの死亡胚又は吸収胚の割合，並びに早期吸収胚数及び後期吸収胚数の総数が増加し，同腹児数及び生存胎児数が減少した。10 mg/kg/日以上の投与群で，胎盤重量及び胎児体重が減少した。

いずれの用量群でも，胎児の外形，内臓及び骨格検査に異常は認められなかった。20 mg/kg/日投与群で，中手骨の化骨数減少が認められたが，本所見は胎児体重の減少に関連する可逆的な骨化遅延であると考えられた。

以上の結果から，mix-ISA247 の母動物及び胚・胎児発生に関する NOAEL は 2 mg/kg/日であった。

TK データより，全身曝露量に用量関連性が認められた（表 2.6.6.6.2.2-1 参照）。

表 2.6.6.6.2.2-1　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験における mix-ISA247 の TK

用量（mg/kg/日）	採血時点	性	C_{max} (ng/mL)	AUC_{∞} (ng·h/mL)
2	妊娠 18 日	雌	NC	NC
10			47.7	280.2
20			161.0	1641.9

NC：すべての測定値が定量下限未満（25 ng/mL）であったため，算出不可。

N = 3

2.6.6.6.2.3　ウサギにおけるボクロスポリンの胚・胎児発生に関する試験

（概要表 2.6.7.13.3，報告書番号 ISA04-05）

妊娠 NZW ウサギ（21 又は 22 例/群）にボクロスポリンを 1，5 又は 20 mg/kg/日の用量で妊娠 6～18 日まで強制経口投与した。対照群（20 又は 22 例/群）には，0.9%生理食塩水又は溶媒のいずれかを同様に投与した。TK 用サテライト群（4 例/群）には，ボクロスポリンを 1，5 及び 20 mg/kg/日の用量で同様に投与した。妊娠 29 日に帝王切開を実施し，胚・胎児発生に及ぼす影響を評価した。

検査項目は，生存性，一般状態，体重，摂餌量，TK（妊娠 6 及び 18 日），剖検（胸部，腹部及び骨盤臓器）及び帝王切開のパラメータとした。胎児については，体重測定，性別判定及び外形検査を実施した。また，各胎児について内臓及び骨格検査を実施した。特記なき限り，統計学的比較は，溶媒対照群に対する比較とした。

被験物質に関連しない死亡が以下に示す 3 例に認められた：生理食塩水対照群の雌 2 例（1 例は原因不明だが妊娠 22 日に死亡，1 例は毛髪胃石形成により瀕死状態となり妊娠 22 日に安楽死），20 mg/kg/日投与群の雌 1 例（投与過誤により妊娠 12 日に死亡）。

溶媒投与群及びすべてのボクロスポリン投与群で，軟便及び被毛上の乾燥又は湿性褐色物が認

められ，20 mg/kg/日投与群では生理食塩水対照群と比較して発現頻度が上昇した。本所見は，溶媒の親油性に起因するものであった。剖検時に 5 mg/kg/日以上の投与群で乳腺腫脹が認められた。その他の有害な一般状態所見は認められなかった。

20 mg/kg/日投与群で，被験物質投与期間中及び投与後に体重増加量が増加した。この増加により，本用量群では正味の体重及び体重変化量（妊娠子宮重量を減算）も増加した。20 mg/kg/日投与群で，胎児体重が減少したことにより，妊娠子宮重量が減少した。また，投与期間の後半に被験物質に関連する摂餌量の減少が認められた。

5 及び 20 mg/kg/日投与群で，胎児体重の減少（雄，雌及び雌雄合算）が用量依存的に認められた。いずれの群でも，被験物質に関連する外形，内臓及び骨格の異常，外形及び内臓の変異は認められなかった。被験物質に関連する骨格変異として，5 及び 20 mg/kg/日投与群で第 5 及び/又は第 6 胸骨の未骨化が，20 mg/kg/日投与群では舌骨体及び/又は舌骨弓の未骨化が認められた。これらの変化は，胎児体重の減少と関連していた。

以上の結果から，ボクロスポリンの母動物及び胚・胎児発生に関する NOAEL は 1 mg/kg/日であった。

TK データより，全身曝露量に用量関連性が認められた（表 2.6.6.6.2.3-1 参照）。

表 2.6.6.6.2.3-1　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験においてボクロスポリンを投与したときのトランス異性体の TK

用量（mg/kg/日）	採血時点 [a]	性	C_{max} (ng/mL)	AUC_{all} (ng·h/mL)
1	妊娠 18 日	雌	1.1	8.1
5			13.4	105.0
20			59.9	516.7

投与製剤におけるシス異性体含量は 3%であったため，20 mg/kg/日投与群でのみ定量下限値（1 ng/mL）に近い値として検出された。

a：妊娠 6 日にも測定したが，ここでは妊娠 18 日の結果のみ示す。

N = 3 又は 4

2.6.6.6.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

（概要表 2.6.7.14，報告書番号 ISA02-03）

妊娠 SD ラット（23 又は 24 例/群）に mix-ISA247 を 2.5，10 又は 25 mg/kg/日の用量で，妊娠 7 日～分娩 22 日まで，又は非妊娠ラットに関しては剖検日まで 1 日 1 回強制経口投与した。さらに，2 つの対照群（21 又は 23 例/群）を設定し， 0.9%生理食塩水又は溶媒のいずれかを同様に投与した。TK 用サテライト群（6 例/群）には，2.5，10 又は 25 mg/kg/日の用量で同様に投与した。

F_0 世代のラットについて，生存性，一般状態（流産，早産及び死産を含む），体重及び摂餌量を評価した。2.5 及び 10 mg/kg/日投与群の TK 分析は，投与最終日（分娩 20 日）に実施した。25 mg/kg/日投与群の TK 分析も分娩 20 日に実施したが，瀕死状態のため安楽死させた母動物 2 例については安楽死当日の妊娠 31 日に実施した。分娩期間中，F_0 ラットの妊娠期間，同腹児数及び出生時生存児数について観察した。授乳期間中，母体の行動及び生存児数，出生児の一般状

態，1 腹あたりの出生児数及び出生児の体重を評価した。分娩 21 日後，生存していた F_0 雌ラットを安楽死させ，胸部，腹部及び骨盤臓器について剖検を実施した。離乳後の評価用に選抜されなかったすべての出生児を分娩 21 日に安楽死させ，剖検を実施した。

F_1 世代の雌雄ラットについて，生存性，一般状態，体重，摂餌量，腟開口及び亀頭包皮の分離について評価した。分娩 21 日に，可能であれば 1 腹につき雌雄各 1 例の出生児を選抜し，出生児雌雄各 25 例/群とした。分娩後 24 日（± 1 日）から，可能であれば 1 腹につき雌雄各 1 例について受動的回避試験を行い，学習，短期記憶及び長期記憶について評価した。分娩後約 70 日から，水迷路を用いて遊泳能力，学習及び記憶について評価した。

90 日齢で，各群内の F_1 世代ラットを最大 15 日間交配させた（兄弟交配は除外した）。F_1 雌について妊娠 21 日に帝王切開を行い，剖検（胸部，腹部及び骨盤臓器）を実施した。各胎児について，体重測定，性別判定及び外形検査を実施した。F_1 雄ラットは，交配期間が終了した時点で安楽死させ，剖検を実施した。精巣及び精巣上体を摘出し，両側の臓器重量を記録した。なお，特記なき限り，統計学的比較は，生理食塩水対照群に対する比較とした。

F_0 世代の雌において，妊娠 0～20 日に死亡は認められなかった。しかしながら，25 mg/kg/日投与群では，妊娠 27～31 日の間に不完全分娩のため分娩中に安楽死させた母動物数が増加した。2.5 mg/kg/日投与群の雌 1 例が，分娩 2 日に投与過誤により死亡した。

F_0 世代の雌において，被験物質に関連する一般状態として，25 mg/kg/日投与群で腟及び/又は腟周囲領域の赤色及び/又は褐色物，粘膜蒼白，軟便又は液状便，脱水，並びに痩削の発現頻度が上昇した。2.5 及び 10 mg/kg/日投与群では有意な発現頻度の変化は認められなかった。さらに 25 mg/kg/日投与群でのみ，過度な流涎，腹部膨満，腹部被毛の尿汚れ，運動失調，正向反射障害及び自発運動量の低下が認められた。これら所見は，同群の 12 例で認められた分娩期間の延長と関連していた。剖検では，分娩延長が認められたすべての母動物に，子宮の癒着，右子宮角の破裂，右子宮角における子宮壁の肥厚及び腫瘤，腹腔内の褐色液体，ゼラチン状の膵臓，並びに顎下及び唾液腺リンパ節周囲におけるゼラチン状物質が認められた。

10 及び 25 mg/kg/日投与群において，妊娠期間中に体重増加量の減少が認められた。授乳期間中の体重及び体重増加量には各群間で有意差は認められなかった。25 mg/kg/日投与群において，妊娠期間中に絶対及び相対摂餌量の減少が認められた。授乳期間中の体重，体重増加量及び摂餌量に影響は認められなかった。

不完全分娩のため安楽死させた 25 mg/kg/日投与群の 12 例を除き，他のすべての妊娠ラットは完全に分娩した。25 mg/kg/日投与群で，総出生児数，並びに 1 腹あたりの出生児数及び生存児数が減少した。25 mg/kg/日投与群で，同腹児数の減少に伴い，授乳期間中の出生児体重が増加した。本用量において，分娩時及び離乳前の期間に評価した他のパラメータに有害な影響は認められなかった。

F_1 世代では被験物質に関連する死亡は認められなかった。生理食塩水及び 10 mg/kg/日投与群の母動物から出生した雌 2 例について，離乳後 52 及び 71 日に口蓋裂のため安楽死させた。離乳後の期間中，一般状態，剖検，体重，体重増加量，絶対及び相対摂餌量並びに雄生殖器重量に，F_0 母動物への被験物質投与に関連する有害な影響は認められなかった。また，F_1 ラットに関して，腟開口，亀頭包皮の分離，受動的回避試験及び水迷路試験についても影響は認められなかっ

た。

F_1 ラットに関して，交配及び受胎能パラメータに影響は認められなかった。すべての F_2 に関しても，帝王切開パラメータ及び胎児の外形検査に影響は認められなかった。

以上の結果から，mix-ISA247 の F_0 世代の母動物に関する NOAEL は 10 mg/kg/日であった。F_1 世代の発生に関する NOAEL は 10 mg/kg/日，一般毒性に関する NOAEL は 25 mg/kg/日であった。F_2 世代に関する NOAEL は 25 mg/kg/日であった。

全用量群において，mix-ISA247 の全身曝露が示された（表 2.6.6.6.3-1 参照）。

表 2.6.6.6.3-1　　ラットを用いた出生前/出生後試験において mix-ISA247 を投与したときの TK

用量（mg/kg/日）	採血時点	性	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24h} (ng·h/mL)
2.5	分娩 20 日 [a]	雌	49.3	379.6[b]
10			376.8	2392.4
25			1145.9	14504.3

a：25 mg/kg/日投与群は分娩 20 日又は妊娠 31 日に実施。

b：外挿値，検体が測定可能であった最終時点は投与後 12 時間であった。

N = 2 又は 3

2.6.6.6.4　　幼若動物を用いた試験

2.6.6.6.4.1　幼若ラットを用いたボクロスポリンの 10 週間反復経口投与毒性試験

［（概要表 2.6.7.15.1，報告書番号 HVV00003（ISA09-27）］

本試験は，幼若 SD ラットにボクロスポリンを 1 日 1 回，約 10 週間経口投与したときの潜在的な毒性及び投与期間中に認められた変化が可逆性を示すかどうかを評価することを目的に実施された。また，本試験は，幼若期から成熟期への発達期間中に曝露されたときの神経学的機能毒性をスクリーニングする目的で計画された。

初回サテライト試験では，ボクロスポリンを PND 7～14 の授乳期ラットに強制経口投与した。その結果，乳汁及び胃内容物と溶媒及び/又はボクロスポリンとの有害な相互作用が生じたことで多数の死亡が認められたため，初回サテライト試験は中止した。そこで主試験では，未処置の離乳ラットを用いて，PND 28 から投与を開始し，10 週間継続して投与した。また，本試験には TK 用サテライト群も設け，同様に投与した。

主試験用に，雌雄ラットを 5 群（雌雄各 10 例/群）に割付け，さらに TK 群として雌雄各 15 例/群（ただし，溶媒対照群は雌雄各 6 例）を割付けた。過去にラットを用いて実施した試験（2.6.6.3.4 項等を参照）より全身曝露量に性差が認められたことから，幼若ラットの雄にはボクロスポリンを 0（対照物質：注射用水），0（溶媒），1.25，2.50 及び 5.00 mg/kg/日の用量で，雌には 0（対照物質），0（溶媒），2.50，5.00 及び 10.0 mg/kg/日の用量で投与した。投与容量は 2 mL/kg とし，すべての用量は最新体重に合わせて調整した。主試験ラットを，投与期間終了時（雌雄各 5 例/群，PND 102）又は 5 週間の回復期間終了時（雌雄各 5 例/群，PND 137）に安楽死させた。TK 用サテライト群の動物は，PND 63 又は最終採血後に安楽死させた。

検査項目は，生存性，一般状態，体重，体重増加量，離乳後の発達に関するパラメータ（性成熟，モリス水迷路，自発運動量及び FOB），眼科学的検査，臨床病理検査（尿検査，血液学的検査，血液生化学的検査），TK，剖検，臓器重量及び病理組織学的検査とした。

被験物質に関連する死亡は認められず，一般状態，体重，体重増加量，性成熟，学習及び記憶，眼科学的検査，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検及び臓器重量に有害な影響は認められなかった。

尿検査においてボクロスポリンに関連する影響は認められなかった。溶媒投与群で，統計学的に有意な血尿増加（わずか～中等度，雌雄）及び比重増加（雌）が認められたが，剖検及び病理組織学的検査において関連する変化は認められず，毒性学的に重要でない変化と考えられた。

病理組織学的検査において，雄の 2.50 mg/kg/日以上の投与群及び雌の 5.00 mg/kg/日以上の投与群で，胸腺にボクロスポリンに関連する変化が認められた。また，雌の 10.0 mg/kg/日投与群で，腎臓における皮髄境界部の鉱質沈着の発現頻度が上昇した。10.0 mg/kg/日投与群のみに神経病変が認められた［脳における神経網の軽度の空胞化（雌 1 例）及び座骨神経への軽度の多巣性リンパ球浸潤（雌 1 例）］。雌雄の他の投与群においては，神経系における変化は認められなかった。回復期間終了時には，胸腺の変化はほとんど認められず，回復性が示された。腎臓の鉱質沈着に回復性は認められなかった。投与期間終了時に認められた脳及び坐骨神経の変化は，発現頻度が低かったことから，これらの変化の回復性については結論を出すことはできなかった。

胸腺，腎臓，脳及び坐骨神経で認められた変化は，成熟ラットにボクロスポリンを投与した過去の試験での所見と同様であり，幼若ラットで新たに認められた所見ではなかった。

過去に実施した標準週齢ラットを用いた経口投与毒性試験の所見と比較して，幼若ラットを用いた本試験では，新たな毒性又は予測できない毒性は認められなかった。したがって，本試験における NOAEL は，雄で 1.25 mg/kg/日，雌で 2.50 mg/kg/日であった。

PND 63 の幼若ラットにおけるボクロスポリンの TK パラメータを表 2.6.6.6.4-1 に示す。全身曝露量は用量の増加に応じて増加し，同一用量では雄の曝露量が雌の約 2 倍であった。また，これらのデータから，幼若ラットにおける曝露量は成熟ラットと同等であることが示唆される（表 2.6.4.9-1）。

表 2.6.6.6.4-1　　幼若ラットにボクロスポリンを反復経口投与したときの PND 63 の TK

用量 (mg/kg/日)	性	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24h} (ng·h/mL)
1.25	雄	25.6	301.55
2.50	雌	44.3	379.1
2.50	雄	69.6	812.4
5.00	雌	88.6	791.85
5.00	雄	129.7	1686.6
10.0	雌	341.5	2879.5

N = 3

2.6.6.7　局所刺激性試験

2.6.6.7.1　ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

（概要表 2.6.7.16，報告書番号 ISA08-10）

NZW ウサギを用いたボクロスポリンの皮膚一次刺激性試験を実施した。雄ウサギ 3 例を用いて，毛刈りした体幹背部の健常な皮膚（5 × 5 cm）にボクロスポリン（500 mg の粉末を 0.5 mL の生理食塩水で湿潤させたもの）を 4 時間閉塞塗布した。パッチ除去 30～60 分後，並びに 24，48 及び 72 時間後に Draize 法により皮膚刺激性をスコア化した。

いずれの時点においても，すべての動物に紅斑又は浮腫は認められなかった。

以上の結果から，ボクロスポリンの一次刺激性指数は 0.0 であり，ウサギ皮膚に対して非刺激性と判断された。

2.6.6.7.2　モルモットを用いた皮膚感作性試験

（概要表 2.6.7.16，報告書番号 ISA08-12）

モルモットを用いたボクロスポリンの Buehler 法[12]による皮膚感作性試験を実施した。感作段階では，生理食塩水で湿潤させたボクロスポリン粉末を Hartley モルモット（雌雄各 10 例/群）に週 1 回，計 3 回皮膚に閉塞塗布（300 mg）し，最終感作の 14 日後に異なる部位にボクロスポリン及び生理食塩水を塗布して惹起した。用量は，用量設定試験においてボクロスポリンを粉末として投与したときに刺激性が認められなかったことを考慮して選択した。生理食塩水対照群（雌雄各 5 例）については，被験物質投与群と同一スケジュールで経皮的に生理食塩水で感作し，その後，異なる部位にボクロスポリン及び生理食塩水を塗布して惹起した。陽性対照群（雌雄各 3 例）については，80%エタノールに溶解させた 0.3%の DNCB で経皮的に感作し，その後，異なる部位にアセトンに溶解させた 0.2%の DNCB を塗布して惹起した。各貼付 24 及び 48 時間後に試験部位の皮膚反応（紅斑及び浮腫）をスコア化した。

DNCB で感作及び惹起した陽性対照群において，予測された反応が惹起時に認められ，有効な試験モデルであることが示された。生理食塩水で感作した動物では，生理食塩水又はボクロスポリンのいずれかで惹起した部位において，いずれの時点でも皮膚反応は認められなかった。さらに，ボクロスポリンで感作した動物では，生理食塩水又はボクロスポリンのいずれかで惹起した部位において，皮膚反応は認められなかった。

ボクロスポリン粉末はモルモットに遅延型接触過敏反応を誘発しなかった。したがって，ボクロスポリンは非感作性であると考えられた。

2.6.6.7.3　ウサギを用いた眼一次刺激性試験

（概要表 2.6.7.16，報告書番号 ISA08-11）

NZW ウサギ雌 3 例を用いてボクロスポリンの眼一次刺激性試験を実施した。各動物の麻酔済み右眼の結膜嚢にボクロスポリンを適用した（100 mg 粉末/眼）。左眼は未処置の対照とした。両眼について，投与前，投与 1，24，48，及び 72 時間後に刺激性を Draize 法によりスコア化し，Kay and Calandra の眼粘膜刺激分級法に従い評価した。

ボクロスポリンを適用した眼において，投与 1 時間後に 3 例中 2 例で虹彩炎が，3 例中 3 例で

結膜発赤，結膜浮腫及び眼脂が認められた。投与 24 及び 48 時間後に 3 例中 2 例で非陽性（陽性と考えられる最下位グレード以下）の結膜発赤及び/又は眼脂が認められた。投与 72 時間後には，いずれの動物にも刺激性の徴候は認められなかった。また，角膜への刺激性は認められなかった。

以上の結果から，ボクロスポリンはわずかな眼刺激性ありと判定された。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 ラットを用いた 13 週間反復併用投与毒性試験

［概要表 2.6.7.17.1，報告書番号 70881（ISA09-09）］

SD ラットの各投与群にボクロスポリン及び/又はプレドニゾンを以下の表の通り，13 週間強制経口投与した（表 2.6.6.8.1-1 参照）。

表 2.6.6.8.1-1　　ラットを用いた 13 週間併用投与毒性試験の試験デザイン

群番号	被験物質 [a]	用量（mg/kg/日）（VCS + プレドニゾン）	投与液濃度（mg/mL）（VCS + プレドニゾン）	毒性評価用動物 主試験群 雄	主試験群 雌	回復群 雄	回復群 雌	TK 用動物 [b] 雄	TK 用動物 [b] 雌
1	VCS プラセボ及び注射用水	0 + 0	0 + 0	10	10	5	5	12	12
2	VCS プラセボ及びプレドニゾン	0 + 0.5	0 + 1.0	10	10	5	5	12	12
3	VCS 低用量及びプレドニゾン	2.5 + 0.5	2.5 + 1.0	10	10	5	5	12	12
4	VCS 中用量及びプレドニゾン	10.0 + 0.5	10.0 + 1.0	10	10	5	5	12	12
5	VCS 高用量及びプレドニゾン	25.0 + 0.5	25.0 + 1.0	10	10	5	5	12	12
6	VCS 高用量及び注射用水	25.0 + 0	25.0 + 0	10	10	5	5	12	12

a：すべての投与群において，注射用水又はプレドニゾンの投与は，VCS 又は VCS プラセボの投与前とした。
b：投与 1 日及び投与 13 週の採血後，それぞれ雌雄各 6 例/群の TK 用動物を安楽死させた。
VCS：ボクロスポリン

検査項目は，死亡，一般状態，体重，摂餌量，摂水量，眼科学的検査，臨床病理検査，TK，臓器重量，剖検及び病理組織学的検査とした。

計画剖検前に 5 例が死亡した。死亡は，1 群（2 例，投与 38 及び 92 日に死亡），4 群（1 例，投与 60 日に安楽死処分）及び 5 群［2 例，1 例は投与 36 日に死亡，もう 1 例は投与 94 日（回復 3 日）に安楽死処分］に認められた。4 及び 5 群で認められた死亡は，被験物質の直接的な影響ではなく，被験物質の免疫抑制作用に関連しており，免疫抑制により二次感染が引き起こされたと考えられた。

一般状態として，4，5 及び 6 群の雄で，泌尿・生殖器領域の被毛の濡れ，陰茎の腫脹及び白色物，振戦，脱水並びに削痩が認められ，回復期間中に部分的に回復した。5 及び 6 群の雌雄で，体重及び摂餌量が減少し，5 及び 6 群の雄で摂水量が増加した。

主に雄の 4，5 及び 6 群で，白内障とそれに伴い病理組織学的検査で水晶体線維の変性が認められた。白内障の発現頻度を表 2.6.6.8.1-2 に示す。雄ラットでは皮質白内障が最も多く認められた。5 及び 6 群の大半に白内障が認められ，発現頻度は群間でほぼ均等であった。4 及び 5 群において，白内障の発現頻度は用量及び投与期間に関連していた。投与 13 週及び回復 4 週の時点において，白内障発症の発現頻度は，5 及び 6 群でほぼ同一であった。13 週間の投与期間中及び 4 週間の回復期間終了時に，いずれの群においてもその他の眼所見は認められなかった。

表 2.6.6.8.1-2　　皮質白内障の群別及び時点別の発現頻度

観察時点	動物数	4 群		5 群		6 群	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与前	15	0	0	0	0	0	0
投与 4 週	15	0	0	0	0	0	0
投与 8 週	15	2	0	9[a]	1[b]	6	0
投与 13 週	15	4[a]	0	14[a]	1	13	0
回復 4 週	5	1	0	3[c]	0	5	0

1，2 及び 3 群では白内障は認められなかった。

a：群内の動物数 ＝14 例

b：核性白内障が 1 例で認められたが，認められた部位が皮質ではなく核性であること及び投与 8 週から 13 週まで進行が認められなかったことから，被験物質投与とは関連しないと考えられた。

c：群内の動物数 ＝3 例

被験物質に関連する血液学的影響として，5 及び 6 群の雄で，RBC，Hct，Hb 及び WBC が増加し，血小板及び網状赤血球（絶対数及び相対数）が減少した。これらのパラメータは，回復期間終了後，完全に回復した。

血液生化学的検査では，4，5 及び 6 群の雄で，ALT，AST，ALP，尿素，総ビリルビン及びグルコースが増加した。尿素及び総ビリルビンの増加は，4，5 及び 6 群の雌でも認められた。これらの変化は回復傾向を示した。

尿検査において，4，5，及び 6 群の雄で，糖尿，血尿，及び尿中酵母菌増加が認められた。これらの変化は回復期間中にも認められたが，その発現頻度は低く，回復傾向にあることが示された。

4，5 及び 6 群の雄で，脳，腎臓，肝臓，肺/気管支，脾臓及び精巣の相対重量が増加した。回復群において，臓器重量の増加は継続して認められた。腎臓及び脾臓の重量変化は，剖検時に認められた所見と関連していた。

剖検所見に関して，一般に雌よりも雄での発現頻度が高かったが，全発現頻度は 5 及び 6 群で最も高かった。認められた所見は，副腎小型，腎盂拡張，脾臓大型，胸腺小型及びリンパ節大型であった。これらの所見は，脾臓を除き，回復期間終了後でも認められた。

病理組織学的変化が，リンパ組織（リンパ組織過形成，形質細胞増多，組織球症），骨髄（骨髄性細胞過形成，脂肪浸潤），腎臓（尿細管変性/壊死，好塩基性尿細管，尿細管拡張，間質の線維化及び/又は皮髄の鉱質沈着及び腎盂上皮の過形成併発を伴う又は伴わない腎盂における尿路結石），神経系組織（炎症性変化），肺（肺胞腔内のマクロファージ集簇），骨（髄質過骨症）

及び副腎（皮質萎縮）に認められた。リンパ組織の変化は，ボクロスポリンとプレドニゾンの併用作用に起因するものであった。骨髄，腎臓，神経組織及び肺に認められたいくつかの病理組織学的所見はボクロスポリンを投与した群でのみ認められ，骨髄，腎臓及び副腎に認められたいくつかの病理組織学的所見はプレドニゾンを投与した群で認められた。ボクロスポリン投与に関連する病理組織学的変化の発現頻度及び/又は重症度は，用量反応性を示した。萎縮/壊死に関連するリンパ組織の変化の発現頻度は，プレドニゾンの有無にかかわらずボクロスポリン高用量群で同程度であったことから，併用投与しても，これらの臓器に対する影響の重症度に変わりはないことが示された。これらの所見は，4 週間の回復期間中に回復する傾向が認められた。

以上の結果より，ラットにボクロスポリン及びプレドニゾンを併用投与しても，各被験物質を単独で投与したときと比較して新たな毒性作用は生じないことが示された。白内障発症の発現頻度は，ボクロスポリンを単独投与しても，プレドニゾンと併用投与しても同程度であった。

TK データより，ボクロスポリンの曝露量（AUC_{24h}，C_{max}）は用量依存的に増加した。ボクロスポリンの AUC_{24h} は投与 13 週の 5 群を除き，概ね雄で雌より高かった。また，ボクロスポリンの曝露量に蓄積性は認められなかった。プレドニゾン/プレドニゾロンの TK データより，すべての投与群（2～5 群）で曝露量（$AUC_{0\text{-last}}$，C_{max}）が同程度であることが確認されたが，投与 77 日の 5 群の雄は，他のプレドニゾン投与群及び投与 1 日データと比較して例外であった（表 2.6.6.8.1-3 参照）。この結果から，ボクロスポリン（25 mg/kg） + プレドニゾン（0.5 mg/kg）を 77 日間投与したことで，雄でプレドニゾン/プレドニゾロンが蓄積した可能性が示唆された。他の群では，ボクロスポリンを最大 10 mg/kg/日まで併用投与しても，プレドニゾン/プレドニゾロンの曝露には影響を及ぼさないと考えられた。

表 2.6.6.8.1-3　　ラットを用いた 13 週間反復併用投与毒性試験におけるボクロスポリン及びプレドニゾン/プレドニゾロンの TK

分析対象	群	採血時点（日）[c]	性	t_{max}（h）	C_{max}（ng/mL）	AUC_{last}（ng·h/mL）
ボクロスポリン[a]	3	91	雄	4.0	92.5	1246.7（AUC_{24h}）
	4			2.0	846.1	8490.7（AUC_{24h}）
	5			2.0	861.9	9956.6（AUC_{24h}）
	6			2.0	1477.7	15606.5（AUC_{24h}）
	3		雌	2.0	65.4	474.6（AUC_{24h}）
	4			2.0	567.0	3879.2（AUC_{24h}）
	5			2.0	1957.4	15017.5（AUC_{24h}）
	6			2.0	1394.6	11861.8（AUC_{24h}）
プレドニゾン[b]	2	77	雄	0.5	1.8	2.5（AUC_{4h}）
	3			0.5	1.5	2.2（AUC_{4h}）
	4			0.5	1.7	3.3（AUC_{4h}）
	5			1.0	2.2	14.0（AUC_{12h}）
	2		雌	0.5	22.7	35.7（AUC_{12h}）
	3			0.5	25.4	28.5（AUC_{4h}）
	4			0.5	21.1	27.6（AUC_{4h}）
	5			1.0	13.1	37.7（(AUC_{12h}）

分析対象	群	採血時点（日）[c]	性	t_{max}（h）	C_{max}（ng/mL）	AUC_{last}（ng·h/mL）
プレドニゾロン[b]	2	77	雄	0.5	7.1	10.5（AUC_{4h}）
	3			0.5	5.9	8.7（AUC_{4h}）
	4			0.5	8.0	25.0（AUC_{12h}）
	5			1.0	8.5	61.7（AUC_{12h}）
	2		雌	0.5	8.8	20.3（AUC_{12h}）
	3			0.5	7.6	12.9（AUC_{4h}）
	4			0.5	6.2	11.8（AUC_{4h}）
	5			1.0	6.9	22.3（AUC_{12h}）

a：1 及び 2 群の TK パラメータは測定値が定量下限未満だったため算出されなかった。
b：1 及び 6 群の TK パラメータは測定値が定量下限未満だったため算出されなかった。
c：投与 1 日にも測定したが，ここでは投与 77 又は 91 日の結果のみ示す。
N = 3

2.6.6.8.2 *In silico* による製造時関連不純物の遺伝毒性評価（参考資料）

（概要表 2.6.7.17.2，報告書番号 AUR-VDS-20[redacted]-01）

[redacted]（20[redacted]）は，FDA により検証された in silico QSAR ソフトウェアプログラムであり，専門的経験に基づくルールベース及び統計ベースの 2 つのモデルを含んでいる。本試験では，[redacted] を使用して，ICH M7（R1）で実施が望まれている事項に準拠して，ボクロスポリン関連不純物及びそれら異性体を含む 20 種類の構造について潜在的変異原性を評価した。評価対象構造として，[redacted] を含めた。その他の評価対象構造は，[redacted]，[redacted]，[redacted]

満（0.12～0.24 mg/人/日）という許容限度に収まる。ICH M7（R1）及び本試験の評価結果から，さらなる遺伝毒性試験の必要性はないと判断された。

なお，20[redacted] 年 [redacted] 月に，[redacted] と呼んでいた不純物が[redacted] であると同定した。[redacted] と呼んでいた不純物が[redacted] 及び[redacted]のエピマーの混合物であると同定した。本同定作業については，Lonza MF 3.2.S.3.2 に詳細に記述されている。[redacted] で[redacted] 及び [redacted] を評価した結果，陰性であり，他の 20 種類のボクロスポリン関連化合物と同様に，これらもクラス 5 の化合物であり，非変異原性不純物として扱うことができる。したがって，評価した 22 種類すべての化合物が非変異原性不純物であると判断された。

2.6.6.8.3 *In silico* によるボクロスポリン合成に用いられる試薬の遺伝毒性評価（参考資料）

（概要表 2.6.7.17.2，報告書番号 AUR-VDS-20[redacted]-02）

本試験では，2.6.6.8.2 項と同様，[redacted] を使用して，ICH M7（R1）で実施が望まれている事項に準拠して，ボクロスポリンの合成に用いられる 8 種類の試薬について潜在的変異原性を評価した。さらに，各試薬について文献調査を実施し，最終的な ICH M7（R1）遺伝毒性分類の決定に役立つような各化合物の遺伝毒性データが利用できるかどうか調査した。

本評価では，[redacted]及び[redacted]を除くすべての評価対象化合物が，いずれのモデルにおいても陰性であることが確認された。入手可能な文献又は信頼できる機関の要約（欧州化学物質庁の調査書類等）に基づき，[redacted]及び[redacted]は，ICH M7（R1）ガイドラインで変異原性の有無を評価する主要試験である細菌を用いた復帰突然変異試験において変異原性はないと考えられた。[redacted]，[redacted]，[redacted]及び[redacted]について，警告構造及び遺伝毒性試験の結果は見つからなかった。したがって，6 種類の試薬（[redacted]，[redacted]，[redacted]，[redacted]，[redacted]及び[redacted]）は，FDA/ICH ガイドラインにおけるクラス 5 の化合物（「警告構造を有しない」）に分類され，非変異原性不純物として扱うことができる。[redacted]について，細菌を用いた復帰突然変異試験において変異原性が報告されているが，発がん性物質に分類するほどの十分なデータはない。このため，クラス 2 の化合物に分類され，発がん性が不明の既知の変異原性物質として扱うことができる。[redacted]については，文献にて変異原性及びがん原性（吸入曝露による）の不統一な結果が報告されており，ICH M7（R1）QSAR 結果も陽性であった。したがって，[redacted]については，安全性を確保するためにクラス 2 の化合物に分類するが，このような活性酸素種が合成から最終製剤まで残る可能性は低いと考えられる。

2.6.6.8.4 *In silico* によるボクロスポリン及び 3 種類の類縁物質の遺伝毒性評価（参考資料）

（概要表 2.6.7.17.2，報告書番号 ISA09-28）

ボクロスポリン及び 3 種類の関連不純物［[redacted]，[redacted]（[redacted]

[redacted]）及び[redacted]］の遺伝毒性及び染色体異常誘発性をコンピュータにより評価した。遺伝毒性用に構築された MC4PC モジュール（Ashby アラートモジュール及び FDA の GeneTox セット）に対して化合物を評価した。本評価は ICH M7（R1）に準拠したものではないが，完全性のために情報提供する。各構造については，2.6.6.8.2 項において再評価された。

[redacted]，[redacted]，[redacted]及びボクロスポリンをコンピュータ解析（上記 2 セットのモジュール及び ICSAS 手法のエキスパートコールを採用）した結果，これらの化合物が警告構造を有するというエビデンスはないと結論付けられた。

2.6.6.8.5 *In silico* による CsA-A1 の遺伝毒性評価（参考資料）

（概要表 2.6.7.17.2，報告書番号 ISA10-02）

[redacted] の遺伝毒性及び染色体異常を誘発する可能性をコンピュータにより評価した。2.6.6.8.4 項と同様，MC4PC モジュール（Ashby アラートモジュール及び FDA の GeneTox セット）に対して化合物を評価した。本評価は ICH M7（R1）に準拠したものではないが，完全性のために情報提供する。[redacted] については，2.6.6.8.2 項で再評価した。

[redacted] をコンピュータ解析（上記 2 セットのモジュール及び ICSAS 手法のエキスパートコールを採用）した結果，本化合物が警告構造を有するというエビデンスはないと結論付けられた。

2.6.6.8.6 *In silico* による分解生成物 4 種の遺伝毒性評価（参考資料）

（概要表 2.6.7.17.2，報告書 ICH M7 Report for [redacted]～[redacted]）

ボクロスポリンの分解生成物 4 種（[redacted]～[redacted]）について，in silico QSAR ソフトウェアプログラム（[redacted] 及び [redacted]）を用い，ICH M7（R1）で実施が望まれている事項に準拠して，潜在的変異原性をコンピュータにより評価した。

専門的経験に基づくルールベース及び統計ベースの 2 つのモデルを用いて解析した結果，分解生成物 4 種はいずれのプログラムにおいても陰性であることが確認された。したがって，これらの分解生成物はクラス 5 の化合物（「警告構造を有しない」）に分類され，非変異原性不純物として扱うことができると考えられた。

2.6.6.8.7 光毒性試験

ボクロスポリンは 290～700 nm の波長の光を吸収しないため，光毒性評価を実施しなかった。

2.6.6.8.8 添加物の安全性評価

本製剤の添加物のうち，ポリソルベート 40（Tween 40，1 日摂取量： [redacted] mg）は経口投与における使用実績の 1 日最大使用量（5.9 mg）を超え，新添加物に該当するため，文献調査に基づき安全性評価を行った。ポリソルベート 40 については，EFSA の AFC パネルの科学的意見 [13] において報告されている毒性試験成績を引用するとともに，構造及び薬物動態的に類似している他のポリソルベート類の毒性試験成績を基に安全性評価を行った。なお，他のポリソルベート類の毒性試験は数多く実施されているため，上述の論文において信頼性が十分と見なされている成績を主に抜粋した。また，FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議の評価による食品添加物としてのポリソルベート 40 の ADI を参考にした。

2.6.6.8.8.1　単回投与毒性試験

（概要表 2.6.7.17.3，公表論文 [13]）

ラットにポリソルベート 40 を単回経口投与したところ，LD_{50} は 38 g/kg 超であった。

他のポリソルベート類に関して，ポリソルベート 20 の経口投与による LD_{50} はマウス及びラットで 20 及び 30 g/kg 超，ポリソルベート 80 の経口投与による LD_{50} はマウスで 11 及び 25 g/kg 超，ラットで 11 g/kg 超，ポリソルベート 60 及び 65 の経口投与による LD_{50} は 38 g/kg 超であった。

2.6.6.8.8.2　反復投与毒性試験

(1)　ポリソルベート 80 のマウスにおける 13 週間反復混餌投与毒性試験

（概要表 2.6.7.17.3，公表論文 [13]）

ポリソルベート 80 が 0，0.31，0.62，1.25，2.5 及び 5%含まれた飼料を，各群雌雄 10 例のマウスに 13 週間反復混餌投与したが，ポリソルベート 80 による影響はみられなかった。無毒性量は雌雄ともに 5%（雌雄共に 10000 mg/kg/日に相当）と判断された。

(2)　ポリソルベート 60 のラットにおける 13 週間反復混餌投与毒性試験

（概要表 2.6.7.17.3，公表論文 [13]）

ポリソルベート 60 が 0，1.0，2.0 及び 5.0%含まれた飼料を，雌雄のラットに 13 週間反復混餌投与した（0%投与群は雌雄 48 例，被験物質投与群は 24 例）。5.0%投与群において，下痢，摂水量の増加，盲腸大型化及び軽度の Hb 減少が認められた。無毒性量は雌雄ともに 2.0%（雌雄合算で 1460 mg/kg/日に相当）と判断された。

2.6.6.8.8.3　遺伝毒性試験

(1)　ポリソルベート 80 の細菌を用いた復帰突然変異試験

（概要表 2.6.7.17.3，公表論文 [13]）

ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535，TA1537）を用い，代謝活性化の有無の両条件下で，プレインキュベーション法により復帰突然変異試験を実施した。

10 mg/plate までの用量で各試験菌を処理したが，復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

(2)　ポリソルベート 60 のハムスター胚細胞を用いた形質転換試験

（概要表 2.6.7.17.3，公表論文 [13]）

ゴールデンハムスターの胚初代細胞を用いた *in vitro* 形質転換試験を実施した。0.01～0.3 mg/mL の用量で処理したが，ポリソルベート 60 はゴールデンハムスターの胚初代細胞において形質転換を誘発しなかった。

2.6.6.8.8.4　がん原性試験

(1)　ポリソルベート 80 のマウスにおける 103 週間反復混餌投与がん原性試験

（概要表 2.6.7.17.3，公表論文 [13]）

ポリソルベート 80 が 0，2.5 及び 5%（0，3750 及び 7500 mg/kg/日に相当）含まれた飼料を，各群雌雄 60 例のマウスに 103 週間反復混餌投与した。5%投与群では，雌雄で前胃に非腫瘍性病変（扁平上皮の過形成及び慢性炎症）の増加が，さらに雌で体重減少（最終体重：%投与群比で 11%）及び前胃潰瘍の増加が認められたが，被験物質投与に関連した腫瘍性病変は認められなかった。したがって，無毒性量は雌雄共に 2.5%（3750 mg/kg/日に相当）と判断された。

(2)　ポリソルベート 80 のラットにおける 103 週間反復混餌投与がん原性試験

（概要表 2.6.7.17.3，公表論文 [13]）

ポリソルベート 80 が 0，2.5 及び 5%（0，1250 及び 2500 mg/kg/日に相当）含まれた飼料を，各群雌雄 60 例のラットに 103 週間反復混餌投与した。5%投与群では，雄で生存率の低下が認められたが，加齢とともに発生することが知られている腫瘍性病変に関連した変化であるため被験物質による影響ではないと判断された。また，副腎髄質に過形成を伴わない良性褐色細胞腫のわずかな増加が認められたが，ヒトに対する意義はないと判断された。したがって，無毒性量は雌雄共に 5%（2500 mg/kg/日に相当）と判断された。

2.6.6.8.8.5　生殖発生毒性試験

(1)　ポリソルベート 20 のラットにおける胚・胎児発生に関する試験

（概要表 2.6.7.17.3，公表論文 [13]）

ポリソルベート 20 を 0，500 及び 5000 mg/kg/日の用量で，各群 22～24 例の妊娠ラットに妊娠 6～15 日の期間経口投与し，母動物及び胚・胎児発生に及ぼす影響を検討した。母動物に関しては，5000 mg/kg/日で体重増加量の減少及び摂水量の増加が認められた。胚・胎児発生に関しては，ポリソルベート 20 投与に関連した変化は認められなかった。したがって，無毒性量は母動物に関しては 500 mg/kg/日，胚・胎児発生に関しては 5000 mg/kg/日と判断された。

(2)　ポリソルベート 60 のラットにおける胚・胎児発生に関する試験

（概要表 2.6.7.17.3，公表論文 [13]）

ポリソルベート 60 が 0，0.1，1 及び 10%含まれた飼料（約 0，100，1000 及び 7700 mg/kg/日に相当）を，各群 10～12 例の妊娠ラットに妊娠 7～14 日の期間混餌投与し，母動物及び胚・胎児発生に及ぼす影響を検討した。母動物及び胚・胎児発生に関して，ポリソルベート 60 投与に関連したと考えられる変化は認められず，無毒性量は母動物及び胚・胎児発生ともに 10%（約 7700 mg/kg/日に相当）と判断された。

(3)　ポリソルベート 80 のラットにおける胚・胎児発生に関する試験

（概要表 2.6.7.17.3，公表論文 [13]）

ポリソルベート 80 を 0，500 及び 5000 mg/kg/日の用量で，各群 19～23 例の妊娠ラットに妊娠

6～15 日の期間経口投与し，母動物及び胚・胎児発生に及ぼす影響を検討した。母動物に関しては，500 mg/kg/日以上で用量反応性のない軽微な肝臓重量の増加が，5000 mg/kg/日で摂餌量の減少が認められた。胚・胎児発生に関しては，ポリソルベート 80 投与に関連した変化は認められなかった。したがって，母動物に関する最小毒性量は 500 mg/kg/日，胚・胎児発生に関する無毒性量は 5000 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.9　考察及び結論

単回投与毒性試験：ラットにボクロスポリンを 2.5 mg/kg まで単回静脈内投与したところ，忍容性は良好であった。イヌに mix-ISA247 を 75 mg/kg まで単回経口投与したところ，認められた影響は嘔吐のみであった。

反復投与毒性試験：マウス，ラット，イヌ及びサルを用いた反復経口投与毒性試験においても，mix-ISA247 及びボクロスポリンの忍容性は良好であり，すべての動物種で認められた影響は免疫抑制と一致するものであった。Mix-ISA247/ボクロスポリンの毒性評価には，ラット及びサルが最も適切な動物種であると考えられた。

ラットにおける毒性：ラットで認められた主な有害作用は，白内障発症，腎臓への影響及び神経組織学的所見であった。白内障発症は，CsA 投与時にも認められており [14,15,16,17]，動物種特異的なクラスエフェクトと考えられた。腎臓への影響として，BUN 及びクレアチニンの増加，好塩基性尿細管及び変性/再生並びに皮髄の鉱質沈着が認められた。これらの所見は，長期の反復投与毒性試験の概ね 2.5 mg/kg/日以上の用量で認められた。認められた病理組織学的な腎臓における変化のスペクトラムが，雄ラットの腎臓で特に加齢に伴って自然発生的に生じることがあるため，これらの腎所見が，被験物質に直接関連したものなのか又は mix-ISA247，ボクロスポリン又は CsA への曝露により正常な生体反応が増悪した結果なのかは明らかではない。

ラット 13 週ブリッジング試験において，10 及び 25 mg/kg/日の用量で血清マグネシウムの軽微な減少が認められた。この変化は，カルシニューリン阻害剤のクラスエフェクトである。CsA は，ヒト及び動物で血清マグネシウムの減少を引き起こすことが知られている [18]。尿中マグネシウム値は増加することから，血清マグネシウム減少の原因は，腎臓からのマグネシウム喪失の増加であることが分かる。その原因は，CsA による腎尿細管上皮内のマグネシウムの細胞内再分布と考えられているが，正確なメカニズムは不明である。血清マグネシウム値は，CsA 投与中止後，速やかに正常値に回復する。毒性試験で認められたボクロスポリンの血清マグネシウムに対する影響は，CsA で認められる影響と同様であった。

ラットにおいて，神経組織学的な影響として，脳及び脊髄にグリオーシス及び血管周囲性細胞浸潤が認められた。これらの変化は，イヌ及びサルを用いた mix-ISA247 の反復投与毒性試験では認められなかったことから，動物種特異的な影響と考えられる。特に，CsA を比較対照としたラット 13 週間ブリッジング試験において，CsA は神経病理組織学的所見と関連していた。したがって，CsA 又はボクロスポリンを投与されたラットで認められた神経学的所見は類似していることから，これらの変化はカルシニューリン阻害剤のクラスエフェクトであると考えられた。

CsA は，患者に神経学的な有害事象を引き起こすことが長年知られている。移植患者における発現頻度は 25%から高くて 59%までと報告されている。白質の低密度及び脳浮腫は，MRI で検出可能であり，それらの発現頻度及び重症度は，用量及び曝露依存性である。CsA 療法に関連す

る有害な神経学的徴候は，一般に，CsA 投与中止後，後遺症を残すことなく速やかに回復する。CsA が神経毒性を引き起こすメカニズムは明らかになっていない[19,20]。

ラット 13 週間ブリッジング試験では，検討した用量において，ボクロスポリンを投与したときの有害作用の発現頻度及び/又は重症度は，mix-ISA247 又はシス型 ISA247 のいずれかを投与したときよりも概ねわずかに高かった。これらの差は，ボクロスポリンの全身曝露量がシス型 ISA247 よりも高いことから，バイオアベイラビリティの差に起因するものと考えられた。CsA に対する曝露量は，シス型 ISA247，ボクロスポリン及び mix-ISA247 よりも高かった。

ラットを用いた 13 週間製剤比較試験では，毒性試験で用いた標準製剤（ビタミン E TPGS 配合製剤）中のボクロスポリンとビタミン E TPGS 非配合製剤中のボクロスポリンの間に毒性学的意義のある差は認められなかった。したがって，毒性試験において，溶媒中のビタミン E 成分が mix-ISA247 又はボクロスポリンの肝臓への影響又はその他の影響をマスクしてしまう可能性は低いと考えられた。

消化管への影響：ラット，イヌ及びサルを用いた毒性試験，並びにウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験において，軟便又は液状便が認められた。イヌ，サル及びウサギを用いた多くの試験で，これらの影響はボクロスポリン投与群だけでなく，溶媒投与群にも認められたが，ボクロスポリン投与群の方が頻度及び/又は重症度が高かった。ボクロスポリンに関連する消化管に及ぼす影響のメカニズムは明らかになっていない。本剤が消化管運動に対して薬理学的に作用する可能性は低い。消化管で認められた徴候は反復投与後にのみ現れ，他の臓器では薬理作用に基づく消化管運動の増加を示すような相関作用は認められていない。ボクロスポリン及び類似構造を有するマクロライド系免疫抑制剤は抗菌活性を有する。これらの薬剤により生じる消化管への軽度の副作用は，この抗菌活性に関連する消化管細菌叢の破壊の結果である可能性が考えられた。病理組織学的な影響は認められず，投与中止後に一貫して回復することから，生じ得る消化管刺激性は軽度であると考えられた。

イヌにおける毒性：イヌにおいて，催吐作用及び歯肉過形成が認められたが，眼，腎臓及び神経系への影響は認められなかった。この系統の化合物で歯肉過形成が生じることは既に知られている。また，イヌに免疫抑制剤を使用すると，消化管毒性が認められることが知られている[21,22,23,24]。イヌの糸球体腎炎の治療に対する CsA の使用について検討した報告[23]では，CsA を投与したイヌで，食欲低下，下痢，嘔吐及び体重減少などの一般状態が，プラセボを投与したイヌよりもより顕著に認められた。CsA を投与されたヒトでも，消化管毒性が認められている。サンディミュン[25]又はネオーラル[26]の使用に伴い，腹痛，悪心，嘔吐，食欲不振及び下痢を特徴とする副作用が高頻度で生じる。雑種犬，ラット及びサルを用いた mix-ISA247 の他の経口投与毒性試験では嘔吐は報告されていないことから，ビーグル犬で認められた催吐作用は動物種特異的な影響である可能性が示唆される。

サルにおける毒性：サル 39 週間反復投与毒性試験における主要な毒性学的所見は，高用量群でのリンパ肉腫であった。本試験では，カルシニューリン阻害データから，中及び高用量群のサルが強く免疫抑制されていることが確認されている。Mix-ISA247/ボクロスポリンを用いた試験において，高用量群の動物は，ループス腎炎の臨床治療に必要なカルシニューリン阻害率を上回る（80%超）過剰な免疫抑制状態であったと考えられた。免疫抑制されたサルは，特にウイルス

関連の悪性腫瘍を発現する危険性がある。免疫抑制療法を受けたカニクイザルにおいて，リンパ肉腫の発現が著明に増加したことが報告されている[27,28,29]。リンパ腫の発現頻度の上昇は，CsA やタクロリムスでも知られており，免疫抑制剤のクラスエフェクトと考えられる。以上のことを考慮すると，サルにおけるリンパ肉腫は予測できない所見ではなく，他の免疫抑制剤と比較して安全性上のさらなる懸念を引き起こすものではない。同様に，75 及び 150 mg/kg/日投与群で認められた脾臓での過形成及び歯肉における所見は，薬理作用に関連する変化であると考えられた。

遺伝毒性試験：ボクロスポリン/mix-ISA247 が遺伝毒性を有するというエビデンスは認められなかった。

がん原性試験：ラットにボクロスポリンを少なくとも 96 週間反復経口投与したところ，がん原性のエビデンスは得られなかった。マウスにボクロスポリンを 60～89 週間連日強制経口投与したところ，30 mg/kg/日投与群の雄では生理食塩水対照群に比べて悪性リンパ腫の発現頻度が上昇し（溶媒対照群との差はなし），30 mg/kg/日投与群の雌では溶媒投与群に比べて悪性リンパ腫の発現頻度が上昇した（生理食塩水対照群との差はなし）。

生殖発生毒性試験：Mix-ISA247 を用いた受胎能試験，胚・胎児発生に関する試験及び出生前後試験を実施した。ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験において，主として母動物への有害作用に関連する胎児所見に基づき，mix-ISA247 の生殖発生毒性試験全体の NOAEL は 2 mg/kg/日であった（ウサギ胚胎児試験における母動物及び胚・胎児発生に関する NOAEL）。最も高感度の動物種であるウサギを用いたボクロスポリンの胚・胎児発生に関するブリッジング試験の結果，NOAEL は 1 mg/kg/日であった。ブリッジング試験の結果から，ボクロスポリンの生殖発生毒性は，mix-ISA247（バイオアベイラビリティがより高いトランス異性体を約 50%含有）と同等であると考えられた。

幼若動物を用いた試験：幼若ラットを用いた 10 週間反復経口投与毒性試験において，幼若ラットにボクロスポリンを 4～14 週齢（PND 28～101）まで投与したところ，本試験で認められた毒性及び全身曝露量は，標準週齢（約 8 週齢）から投与を開始した過去のラット経口投与毒性試験で認められた結果と同様であった。

併用投与毒性試験：ボクロスポリン及びプレドニゾンの 13 週間併用投与毒性試験では，ラットにボクロスポリン及びプレドニゾンを併用投与しても，各被験物質を単独で投与したときと比較して新たな毒性作用は生じないことが示された。

不純物及びボクロスポリン合成時使用試薬の遺伝毒性評価：ボクロスポリン関連不純物 26 種類の専門的経験に基づくルールベース及び統計ベースの 2 つのモデルに基づく *in silico* 評価により，これらの化合物が遺伝毒性を有するというエビデンスはないと結論付けられた。同様に，ボクロスポリンの合成に用いられる 8 種類の試薬について実施した *in silico* 評価では，[redacted]及び[redacted]はクラス 2 に分類され，[redacted]，[redacted]，[redacted]，[redacted]，[redacted]及び[redacted]は 2 つのモデルにおいて陰性であることが確認された。また，予定している市販用合成法で生産したボクロスポリンを用いて不純物の安全性確認試験を実施したところ，遺伝毒性を示すエビデンスは認められなかった。

不純物の安全性評価：個別規格設定不純物の安全レベルは，開発の過程で製造されたボクロス

ポリンバッチを用いた非臨床毒性試験から決定された。これらの非臨床毒性試験を表 2.6.6.9-1 に示す。個別規格設定不純物ごとに，その不純物を評価した非臨床毒性試験及び決定した安全性レベルを示した。ICH Q3A（R2）ガイドラインに述べられている原則に従い，これらの非臨床安全性試験は，それぞれで所定の不純物の量が最も多いバッチを評価していたため，不純物の安全性確認に最適である試験として選択した。各不純物がその判定基準のレベルで製剤中に存在すると想定し，経口投与後の各不純物の曝露量を，臨床用量（23.7 mg BID 又は 0.8 mg/kg/日）の経口投与により得られると考えられるヒト曝露量と比較した（表 2.6.6.9-2）。データの要約を以下に示す。

[redacted]（[redacted]）はボクロスポリン製造工程（Step 3）で生成する中間体である。本不純物の毒性学的評価については，[redacted] が 0.23% w/w の量で含まれていた [redacted] バッチを用い，ラット 13 週間ブリッジング試験において評価した（2.6.6.3.4 項）。当該ロットにおける [redacted] 含量は，[redacted]% w/w（予定規格値上限）を下回っていた。本試験では各被験物質（mix-ISA247，ボクロスポリン，シス型 ISA247）を 2.5，10 及び 25 mg/kg/日で投与した。表 2.6.6.9-2 に示すように，ヒトで想定しているボクロスポリン 1 日投与量（0.8 mg/kg）と比較すると，ラットにおける NOAEL（2.5 mg/kg/日）投与時に，[redacted] が予定規格値上限である [redacted]% w/w で存在した場合，この不純物の投与量は [redacted] 倍となる。これらのデータは，[redacted] が，予定規格値（≤ [redacted]% w/w）において安全であることを支持している。

[redacted]（[redacted]）はボクロスポリンの脱水生成物である。本不純物は製造工程の Step 3 及び 4 において，塩基性条件下の酢酸塩除去により生成される。本不純物の毒性学的評価については，[redacted] が 1.4% w/w の量で含まれていた [redacted] バッチを用い，ラット 13 週間ブリッジング試験において評価した（2.6.6.3.4 項）。当該ロットにおける [redacted] 含量は，予定規格値上限である [redacted]% w/w を上回る。本試験では各被験物質（mix-ISA247，ボクロスポリン，シス型 ISA247）を 2.5，10 及び 25 mg/kg/日で投与した。表 2.6.6.9-2 に示すように，ヒトで想定しているボクロスポリン 1 日投与量（0.8 mg/kg）と比較すると，ラットにおける NOAEL（2.5 mg/kg/日）投与時に，[redacted] の投与量が予定規格値上限である [redacted]%で存在した場合，この不純物の投与量は [redacted] 倍となる。これらのデータは，[redacted] が，予定規格値（≤ [redacted]% w/w）において安全であることを支持している。

[redacted]（[redacted]）は，ボクロスポリン合成を通じて生成される CsA の不純物である。本不純物の毒性学的評価については，[redacted] が 0.55% w/w の量で含まれていた [redacted] バッチを用い，ラット 26 週間経口投与毒性試験において評価した（2.6.6.3.3 項）。当該ロットにおける [redacted] 含量は，予定規格値上限である [redacted]% w/w を上回る。本試験で検討した用量は 1.25，2.5 及び 10 mg/kg/日であり，すべての用量群の雄で，軽微な好塩基性腎尿細管及び胸腺萎縮が生じたことから，本試験において無影響量（NOEL）は設定されなかった。ただしこれらの所見は原薬（API）に起因するものであり，NOAEL は 1.25 mg/kg/日と判断された。表 2.6.6.9-2 に示すように，NOAEL 投与時では，予定規格値の上限で算出したヒト投与量と比較して，[redacted] 倍の不純物投与量となる。未知の所見及び本不純物の存在に起因する所見が認められなかったことから，検討した最高用量（10 mg/kg/日）

に対して算出した場合，[redacted] 倍の不純物投与量となる。これらのデータは，[redacted] が，予定規格値（≤ [redacted]% w/w）において安全であることを支持している。

表 2.6.6.9-1　　毒性試験で使用されたバッチにおける不純物の分析

毒性試験 報告書番号	バッチ番号	不純物［予定規格値（% w/w）］							
		[redacted] (≤[redacted])	[redacted] (≤[redacted])	[redacted] (≤[redacted])	[redacted] (≤[redacted])	[redacted] (≤[redacted])	[redacted] ([redacted]) (≤[redacted])	[redacted] (≤[redacted])	[redacted] ([redacted]) (≤[redacted])
ISA03-03	[redacted]	**0.23**	**1.4**	0.23	0.35	ND	0.21	0.2	ND
	[redacted]	<0.1	0.1	0.3	**0.59**	**0.13**	ND	ND	ND
ISA01-18	[redacted]	<0.1	ND	**0.55**	0.53	0.12	ND	ND	ND
ISA09-21	[redacted] IE-001, バッチ [redacted]	<0.1	<0.1	<0.1	ND	0.10	ND	0.09	0.08
	[redacted] IE-001, バッチ [redacted]	<0.1	<0.1	0.1	ND	ND	**0.27**	0.08	ND
ISA04-08	[redacted] IE-001, バッチ [redacted]	0.2	0.4	0.0	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	**0.20**
70881 （ISA09-09）	[redacted] IE-001, バッチ [redacted]	<0.1	0.1	0.1	0.11	ND	ND	**0.16**	ND

太字は，毒性試験に使用したバッチ全体で認められた不純物の最高濃度を示す。

ND：検出せず，RRT：相対保持時間

ISA03-03：ISA247（混合物），シス型 ISA247 及びトランス型 ISA247：CD ラットを用いた 13 週間（強制）経口投与比較毒性試験

ISA01-18：SD ラットを用いた $ISA_{TX}247$ 及び CsA の 26 週間反復経口投与毒性試験

ISA09-21：SD ラットを用いた 2 バッチのボクロスポリンの 13 週間経口投与比較毒性試験及び 4 週間回復試験

ISA04-08：ラットを用いた ISA247 の 104 週間（強制）経口投与によるがん原性試験

70881（ISA09-09）：ボクロスポリン（LX211）及びプレドニゾン：SD ラットを用いたボクロスポリンの 13 週間経口併用投与毒性試験及び 4 週間回復試験

表 2.6.6.9-2　　個別規格設定不純物の確認に使用した毒性試験の概要及び予定規格値

個別規格設定不純物	予定規格値（% w/w）	不純物含量及び毒性試験に使用したボクロスポリンロット		試験番号	各不純物のヒトでの経口投与量に対するラットでの経口投与量の比（計算値）			
		（% w/w）	ボクロスポリンロット[a]		ヒトにおける不純物の経口投与量（mg/kg/日）[b]	毒性試験における NOAEL 又は最低用量（mg/kg/日）[c]	ラットにおける NOAEL での不純物の経口投与量（mg/kg/日）	予定規格値で不純物が含まれる場合の，ヒトに対するラットの経口投与量比
[redacted]	≤[redacted]	0.23	[redacted]（トランス異性体 45%～50%とシス異性体 50%～55%の混合物）	ISA03-03	0.0032	2.5	0.00575	[redacted]
[redacted]	≤[redacted]	1.4	[redacted]（トランス異性体 45%～50%とシス異性体 50%～55%の混合物）	ISA03-03	0.0040	2.5	0.035	[redacted]
[redacted]	≤[redacted]	0.55	[redacted]（トランス異性体 45%～50%とシス異性体 50%～55%の混合物）	ISA01-18	0.0032	1.25	0.00688[d]	[redacted][d]
[redacted]	≤[redacted]	0.59	[redacted]（トランス異性体 45%～50%とシス異性体 50%～55%の混合物）	ISA03-03	0.0024	2.5	0.0148	[redacted]
[redacted]	≤[redacted]	0.13	[redacted]（トランス異性体 45%～50%とシス異性体 50%～55%の混合物）	ISA03-03	0.0024	2.5	0.00325	[redacted]
[redacted]	≤[redacted]	0.27	[redacted] IE-001，バッチ [redacted] 及びバッチ [redacted]（トランス異性体を [redacted]%以上含有）	ISA09-21	0.004	25	0.0675[e]	[redacted][e]
[redacted]	≤[redacted]	0.16	[redacted] IE-001，バッチ [redacted]（トランス異性体を [redacted]%以上含有）	70881（ISA09-09）	0.0024	2.5[f]	0.004	[redacted]
[redacted]	≤[redacted]	0.20	[redacted] IE-001，バッチ [redacted]	ISA04-08	0.0032	1.25（雄）[g] 2.5（雌）[g]	0.0025[g] 0.005[g]	[redacted][g] [redacted][g]

ISA03-03：ISA247（混合物），シス型 ISA247 及びトランス型 ISA247：CD ラットを用いた 13 週間（強制）経口投与比較毒性試験

ISA01-18：SD ラットを用いた $ISA_{TX}247$ 及び CsA の 26 週間反復経口投与毒性試験

ISA09-21：SD ラットを用いた 2 バッチのボクロスポリンの 13 週間経口投与比較毒性試験及び 4 週間回復試験

ISA04-08：ラットを用いた ISA247 の 104 週間（強制）経口投与によるがん原性試験

70881（ISA09-09）：ボクロスポリン（LX211）及びプレドニゾン：SD ラットを用いたボクロスポリンの 13 週間経口併用投与毒性試験及び 4 週間回復試験

a：ボクロスポリンの開発段階では本原薬に対し，各開発企業による様々な名称が次のように割り当てられていた：[redacted] 社では IE-001/IE-001-E/IE-001-*trans*，Isotechnika 社では ISA247，[redacted]

では RO4543856/ISA$_{TX}$247/トランス型 ISA247。ISA247（混合物）はシス/トランスの 50/50 混合物に相当する。

b：ボクロスポリンの 1 日臨床用量は 23.7 mg BID。体重 60 kg と想定すると 0.8 mg/kg/日（0.4 mg/kg BID）となる。

c：検討した全用量で不純物に起因する所見は確認されていない

d：試験の最低用量（1.25 mg/kg/日）に基づいて算出した値。最高用量（10 mg/kg/日）の投与まで不純物に起因する影響は認められていない。

e：本試験では単一用量（25 mg/kg/日）のみ投与したため，当該投与量に基づき算出した値。当該用量では不純物に起因する影響は認められていない。

f：本試験では，ボクロスポリンとプレドニゾン 0.5 mg/kg を併用投与した。

g：上段は雄，下段は雌に関する値。

個別規格を設定する構造未知の不純物（[redacted]）は，ボクロスポリンと同一の質量であり，4 つの L-MeLeu 残基の 1 つが D-MeLeu にエピマー化していたことが示されている。4 つのエピマーが生じると考えられることから，これらの不純物は[redacted]，[redacted]，[redacted] 及び[redacted] と命名されている。個別規格を設定する構造未知の不純物（[redacted]）の毒性学的評価については，本不純物が 0.59% w/w の量で含まれていた[redacted] バッチ[redacted] を用い，ラット 13 週間ブリッジング試験において評価した（2.6.6.3.4 項）。当該ロットにおけるこの不純物の含量は，予定規格値上限である[redacted]% w/w を上回る。表 2.6.6.9-2 に示すように，ヒトで想定しているボクロスポリン 1 日投与量（0.8 mg/kg）と比較すると，NOAEL（2.5 mg/kg/日）投与時に，当該不純物が予定規格値上限（[redacted]% w/w）で存在した場合，この不純物投与量は[redacted] 倍となる。これらのデータは，[redacted] という個別規格を設定する構造未知の不純物及びそのエピマーが，予定規格値（≤[redacted]% w/w）において安全であることを支持している。

個別規格を設定する構造未知の不純物（[redacted]）は，共溶出した関連物質 2 種の混合物である。

- 1 つめの共溶出関連物質は，既知の不純物である上述の[redacted]と同一の質量であり，4 つの L-MeLeu 残基の 1 つが D-MeLeu にエピマー化していたことが示されている。これらの結果は，当該不純物が，[redacted]のエピマーであることを示唆している。したがって，4 つのエピマーが生じると考えられることから，これらの不純物は[redacted]，[redacted]，[redacted] 及び[redacted] と命名されている。
- 2 つめの共溶出した関連物質は[redacted] と決定された。これは[redacted] から生じると考えられる不純物であり，7 番目のアミノ酸でメチル側鎖がエチル側鎖に置換されている（CsA と比較すると，7 番目のアミノ酸が Ala から Abu アミノ酸に置換されている）。[redacted] は CsA 中に存在し，ボクロスポリンの合成に持ち込まれたと考えられる。この合成段階で[redacted] は CsA と同様に反応し，原薬中には対応するボクロスポリン誘導体が生じると予想することができる。

個別規格を設定する構造未知の不純物（[redacted]）の毒性学的評価については，これらの不純物が 0.13% w/w の量で含まれていた[redacted] バッチ[redacted] を用い，ラット 13 週間ブリッジング試験において評価した（2.6.6.3.4 項）。当該ロットにおけるこの不純物の含量は，予定規格値上限である[redacted]% w/w を下回る。本試験では各被験物質（mix-ISA247，ボクロスポリン，シス型 ISA247）を 2.5，10 及び 25 mg/kg/日で投与した。表 2.6.6.9-2 に示すように，ヒトにおけるボクロスポリン 1 日総投与量（0.8 mg/kg）と比較すると，NOAEL（2.5 mg/kg/日）投与時に，当該不純物が，予定規格値の上限（[redacted]%）で存在した場合，これらの不純物投与量は[redacted] 倍となる。これらのデータは，[redacted] という個別規格を設定する構造未知の不純物及びそれに関連するエピマーが，予定規格値（≤[redacted]% w/w）において安全であることを支持している。

[redacted]（[redacted]，別名：[redacted]）は[redacted] から生じる不純物と考えられ，不飽和アミノ酸に隣接する 2 番目のアミノ酸でエチル側鎖が n-プロピル側鎖に置換されている（CsA と比較すると，2 番目のアミノ酸が Abu から Nva アミノ酸に置換されている）。[redacted] は CsA 中に存在し，ボクロスポリンの合成に持ち込まれたと考え

られる。この合成段階で[redacted]は CsA と同様に反応し，原薬中には対応するボクロスポリン誘導体が生じると予想することができる。本不純物の毒性学的評価については，[redacted]が 0.27% w/w の量で含まれていたロットを用い，ラットにボクロスポリンを 25 mg/kg/日の用量で投与した 13 週間 2 バッチ比較毒性試験において評価した（2.6.6.3.6 項）。本試験は，ボクロスポリンの 2 つのバッチ（バッチ[redacted]：被験物質の開発を通じて特性分析された不純物プロファイルを代表するバッチ，バッチ[redacted]：[redacted]を 0.27% w/w 含有する新規製造バッチ）を比較することを目的に実施された。いずれのバッチのボクロスポリンを経口投与しても，認められた影響の発現頻度及び重症度に明らかな差は認められなかったことから，検討した 25 mg/kg/日では不純物に起因する影響は認められなかった。表 2.6.6.9-2 に示すように，ヒトにおけるボクロスポリン 1 日総投与量（0.8 mg/kg）と比較すると，2.5 mg/kg/日投与時に，予定規格値上限（[redacted]%/w）で当該不純物が存在した場合，当該不純物の経口投与量は[redacted]倍となる。これらのデータは，[redacted]が，予定規格値（≤[redacted]%/w）において安全であることを支持している。

個別規格を設定する構造未知の不純物（[redacted]）は，既知の不純物である上述の[redacted]と同一の質量であり 4 つの L-MeLeu 残基の 1 つが D-MeLeu にエピマー化していたことが示された。これらの結果は，当該不純物が，[redacted]のエピマーであることを示唆している。当該不純物には，異なる 4 つの位置のいずれかで L-MeLeu に代わり D-MeLeu が含まれるため，4 つのエピマーが生じると考えられることから，これらの不純物は[redacted]，[redacted]，[redacted]及び[redacted]と命名されている。個別規格を設定する構造未知の不純物（[redacted]）の毒性学的評価については，本不純物が 0.16% w/w の量で含まれていたバッチ[redacted]を用い，ボクロスポリンとプレドニゾンを併用投与して薬物相互作用を評価したラット 13 週間毒性試験において評価した（2.6.6.8.1 項）。本試験において NOAEL は特定されなかった。ただし，ボクロスポリンを 2.5 mg/kg/日の用量で投与したとき（プレドニゾン 0.5 mg/kg/日も併用投与），不純物の存在に起因する新たな又は未知の毒性は認められなかった。表 2.6.6.9-2 に示すように，この投与量では，予定規格値上限（[redacted]%w/w）でヒトに投与した時と比較して，[redacted]倍となる。これらのデータは，[redacted]という個別規格を設定する構造未知の不純物が，予定規格値（≤[redacted]% w/w）において安全であることを支持している。

[redacted]（[redacted]）は[redacted]から生じる不純物と考えられ，2 番目のアミノ酸のエチル側鎖がイソプロピル側鎖に置換されている（CsA と比較すると，2 番目のアミノ酸が Abu から Val アミノ酸に置換されている）。[redacted]は CsA 中に存在し，ボクロスポリンの合成に持ち込まれたと考えられる。この合成段階で[redacted]は CsA と同様に反応し，原薬中には対応するボクロスポリン誘導体が生じると予想することができる。[redacted]（[redacted]）の毒性学的評価については，ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験に使用した 2 つの原薬バッチのうち，本不純物が 0.20% w/w の量で含まれていた 1 バッチ（Batch [redacted]）を用いて評価した。このバッチは本試験のほぼ前半で使用されたと考えられる（2.6.6.5.2 項）。投与量は雄ラットで 0.05，0.25 及び 1.25 mg/kg/日，雌ラットで 0.1，0.5 及び 2.5 mg/kg/日であった。本試験においてボクロスポリンの投与により雌雄いずれにおいても，生存率に影響は認められず，がん原性のエビデンスは得られなかった（しかしながら，雄の生存率

は溶媒に関連して低下した可能性があった）。血液学的検査，血清生化学的検査，剖検及び病理組織学的検査において，雌雄いずれにおいても毒性を示すエビデンスは認められなかった。したがって，投与した高用量（雄：1.25 mg/kg/日，雌：2.5 mg/kg/日）を本不純物の安全レベルの評価に使用した。表 2.6.6.9-2 に示すように，この不純物が予定規格値上限（[redacted]% w/w）で存在した場合，ラットにおける投与量は，ヒトでの投与量の [redacted] 倍（雄ラット）又は [redacted] 倍（雌ラット）であった。雌ラットにはより高用量を投与していたことから，本不純物の安全性確認のためには [redacted] 倍が適切な比較値である。これらのデータは，[redacted]（[redacted]）が，予定規格値（≤ [redacted]% w/w）において安全であることを支持している。

したがって，これらの結果はボクロスポリンの各不純物に提案される安全性確認の必要な閾値及び判定基準を十分に支持するものである。

添加物の安全性評価：FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議において，ポリソルベート類は構造及び薬物動態的に類似していることから，グループ化合物として許容一日摂取量（0～25 mg/kg/日）が設定されている[30]。そのため，ポリソルベート 40 の毒性試験成績に関する文献調査の結果，ポリソルベート 40 に関する毒性情報は限られていたが，構造及び薬物動態的に類似している他のポリソルベート類の毒性試験成績は数多くあり，それらを基に安全性評価を行った。

ポリソルベート 40 及び他のポリソルベート類に単回投与毒性及び遺伝毒性は認められなかった。反復投与毒性試験では，ポリソルベート 80 をマウスに 13 週間反復混餌投与しても毒性は認められず，無毒性量は雌雄共に 5%（10000 mg/kg/日）であった。ポリソルベート 60 のラットにおける 13 週間反復混餌投与毒性試験では，5.0%投与群で下痢，摂水量の増加，盲腸大型化及び軽度のヘモグロビン減少が認められたものの，基質的変化は伴わず，無毒性量は雌雄共に 2.0%（1460 mg/kg/日）であった。がん原性試験では，ポリソルベート 80 をマウスに 103 週間反復経口投与しても腫瘍性病変は認められず，無毒性量は雌雄共に 2.5%（3750 mg/kg/日）であった。一方，ポリソルベート 80 のラットにおけるがん原性試験では，5%投与群で副腎髄質に過形成を伴わない良性褐色細胞腫のわずかな増加が認められたが，ヒトに対する意義はないと判断されており，無毒性量は雌雄共に 5%（2500 mg/kg/日）であった。生殖発生毒性試験では，ポリソルベート 20，60 及び 80 のラットにおける胚・胎児発生に関する試験が実施されたが，いずれも胚・胎児発生に対する影響は認められなかったため，無毒性量はそれぞれ 5000，7700 及び 5000 mg/kg/日であった。また，ボクロスポリン又は mix-ISA247 の各種毒性試験における溶媒（ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノールの [redacted] 重量比溶液）対照群では，軟便等の軽度な消化器系への影響以外に特筆すべき変化は認められなかった。

当該製剤の服用者が体重 60 kg と仮定した時のポリソルベート 40 の 1 日摂取量は [redacted] mg/kg/日（ポリソルベート 40 の 1 日摂取量：[redacted] mg）であり，ポリソルベート類で最小の無毒性量であったポリソルベート 60 のラット 13 週間反復投与毒性試験の無毒性量（1460 mg/kg/日）の約 [redacted] 分の 1 であった。また，当該製剤服用によるヒトでの 1 日摂取量（[redacted] mg/kg/日）は FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議において定められた食品添加物の許容一日摂取量（25 mg/kg/日）を超えないことから，本製剤の添加物として含まれるポリソルベート 40 を摂取することによるヒトでの安全性上の懸念はないと考えられた。

TK に関して：毒性試験に用いたすべての動物種において，mix-ISA247（シス及びトランス異性体の混合物）の全身曝露量（C_{max} 及び AUC）は用量関連性を示した。しかしながら，サルでは，150 mg/kg/日の反復投与で最大全身曝露量に到達した。いずれの動物種においても，反復投与による蓄積は認められなかった。T_{max} は一般に 1～4 時間であり，検討した動物種全体で一貫した結果となった。ラットの 4，13 及び 26 週間試験で性差が認められ，雄の C_{max} 及び AUC がはより高かった。

ラットにおけるトランス異性体の TK データも用量関連性を示した。C_{max} 及び AUC_{24h} のデータから，ボクロスポリンの曝露量はシス型 ISA247 よりも高いことが示唆された。全用量における曝露量（AUC_{24h}）を比較すると，CsA > ボクロスポリン > mix-ISA247 > シス型 ISA247 の順であった。

最も高感度の動物種であるラットを用いた毒性試験において，ボクロスポリン及び CsA を同程度の用量で投与したときの毒性プロファイルは類似していた（2.6.6.3.4 項）。ラットにおける CsA の全身曝露量は，ボクロスポリンを同一用量で経口投与したときの全身曝露量よりも高かったことから，等モルレベルでのボクロスポリンは CsA よりも毒性が強い可能性が示唆された。しかしながら，各種試験により，同じ有効性を得るために必要な用量は，ボクロスポリンの方が CsA よりも低用量であることも示されている。したがって，相対的な毒性については，活性及び有効性を達成するために必要な用量/薬物濃度を考慮しなければならない。これらのデータから，ボクロスポリンの毒性は CsA と比較して等モルレベルでは明らかに増加するものの，ボクロスポリンの高い有効性とリスク・ベネフィットを考慮すると，ボクロスポリンの治療マージンの改善につながると考えられる。

予定臨床治療用量である 0.4 mg/kg BID での推定曝露量（AUC_{24h} = 888 ng·h/mL）に対するラット及びサルの反復投与毒性試験における NOAEL での曝露マージンを表 2.6.6.9-3 に示す。NOAEL は，ボクロスポリンの薬理学的に予測される免疫系に対するクラスエフェクト（軽度）又は腎臓への影響（腎毒性は CsA の既知の重篤な有害作用の 1 つである）により判定された。

表 2.6.6.9-3　　曝露マージン

試験，被験物質	NOAEL（mg/kg/日）	平均 AUC_{24h}（ng·h/mL）	推定治療 AUC_{24h} (ng·h/mL)	曝露マージン [a]
ラット 13 週ブリッジング試験（2.6.6.3.4 項），ボクロスポリン	2.5[b,c]	716.2[d]	888[e]	0.8
ラット 26 週（2.6.6.3.3 項），mix-ISA247	1.25	199.0[d]	888[e]	0.2
サル 39 週（2.6.6.3.10 項），mix-ISA247	25[b]	781.9[d]	888[e]	0.9
	150[c]	5113.4[d]	888[e]	5.8
マウスがん原性（2.6.6.5.1 項），ボクロスポリン	10	雄 405.9[f,g] 雌 612.1[f,g]	888[e]	雄 0.5 雌 0.7
ラットがん原性（2.6.6.5.2 項），ボクロスポリン	雄 1.25[h] 雌 2.5[h]	雄 395.24[g] 雌 366.21[g]	888[e]	雄 0.4 雌 0.4
ラット胚胎児（2.6.6.6.2.1 項），mix-ISA247	10	6240.3[i]	888[e]	7.0
ウサギ胚胎児（2.6.6.6.2.3 項），ボクロスポリン	1	8.1[j,k]	888[e]	0.01

a：ヒト曝露量に対する動物曝露量のマージンは，動物の定常状態 AUC_{24h}（各用量）を，ヒトに 0.4 mg/kg BID 投与後の平均定常状態 AUC_{12h}（444 ng·h/mL）を 2 倍して算出した AUC_{24h}（888 ng·h/mL）で除して算出した。
b：試験の NOAEL
c：腎臓所見に関する NOAEL
d：雌雄合算
e：0.4 mg/kg BID で投与した薬物相互作用試験のボクロスポリンデータを合算データ［AUC_{12h} = 444 ng·h/mL，LX211-06（N = 24）及び LX211-07（N = 20）］の 2 倍値。
f：AUC_{12h} を代用
g：採血は 26 週時点
h：がん原性に関する無影響量
i：採血は妊娠 17 日時点
j：AUC_{all} を代用
k：採血は妊娠 18 日時点

Mix-ISA247 及びボクロスポリンの毒性学的プロファイルは全体として十分に明らかにされており，大半の所見は薬剤の薬理作用に起因する変化であった。イヌで催吐作用が認められたことから，ラット及びサルが最も適切な動物種であると判断し，毒性試験を実施した。認められた所見は，系統薬である他の免疫抑制剤で認められた影響と一致していた。ラットを用いた 13 週間ブリッジング試験での NOAEL（2.5 mg/kg/日）におけるボクロスポリンの曝露量（AUC_{24h}）は，ループス腎炎の治療のためのボクロスポリンの治療用量での推定血中濃度の 0.8 倍であった。同様に，mix-ISA247 を用いたサル 39 週間試験での NOAEL（25 mg/kg/日）における曝露量

（AUC_{24h}）は，ボクロスポリンの治療用量での推定血中濃度の 0.9 倍であった。なお，毒性試験で使用した各動物種におけるヒト主要代謝物（IM9）の曝露を評価した結果，いずれの動物種においても臨床曝露と同等以上の曝露であったことが確認されており，実施済みの毒性試験で評価可能であると考えられた（表 2.6.4.9-3 及び概要表 2.6.5.10 参照）。

以上の毒性試験及び TK データは，意図するループス腎炎患者集団に対する治療薬としてボクロスポリンを予定最大臨床用量である 23.7 mg BID で使用できることを支持するものである。

2.6.6.10　図表

本文中に記載した。

2.6.6.11　参考文献

1 Food and Drug Administration [Internet]. Silver Spring (MD): Policy statement for the development of new stereoisomeric drugs. 1992 May 1. Available from: http://www.fda.gov/drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm122883.htm.（参考文献番号 4.3-15）

2 EMA Investigation of chiral active substances. Final guidance. 1994 Apr. Report No.: Directive 75/318/EEC as amended.（参考文献番号 4.3-16）

3 Health Canada. Therapeutic Products Programme Guidance For Industry: Stereochemical issues in chiral drug development. Final guidance. 2000.（参考文献番号 4.3-17）

4 ICH Harmonised Tripartite Guideline. S5(R2): Detection of toxicity to reproduction for medicinal products & toxicity to male fertility. Final guidance. 2000 Nov 9. Updated 2005a Nov.（参考文献番号 4.3-14）

5 [redacted]. EMA Scientific Advice sought on LN development programme; Final Advice Letter issued [redacted] 20[redacted].（参考文献番号 4.3-37）

6 ICH Harmonised Tripartite Guideline. S2(R1): Guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use. Final guidance. 2011 Nov 9.（参考文献番号 4.3-10）

7 ICH Harmonised Tripartite Guideline. S1A: Guideline on the need for carcinogenicity studies of pharmaceuticals. Final guidance. 1995 Nov 29.（参考文献番号 4.3-11）

8 ICH Harmonised Tripartite Guideline. S1B: Testing for carcinogenicity of pharmaceuticals. Final guidance. 1997 Jul 16.（参考文献番号 4.3-12）

9 ICH Harmonised Tripartite Guideline. S1C(R2): Dose selection for carcinogenicity studies of pharmaceuticals. Final guidance. 2008 Mar 11.（参考文献番号 4.3-13）

10 Giknis MLA, Clifford CB. Spontaneous neoplastic lesions in the Crl:CD-1(ICR) mouse in control groups from 18 month to 2 year studies. Final report. Charles River Laboratories; 20[redacted].（参考文献番号 4.3-46）

11 Maita K, Hirano M, Harada T, Mitsumori K, Yoshida A, Takahashi K, et al. Mortality, major cause of moribundity, and spontaneous tumors in CD-1 mice. Toxicol Pathol. 1988;16(3):340-9.（参考文献番号 4.3-47）

12 OECD Guideline For Testing of Chemicals. Skin Sensitisation. 1992 Jul 17.（参考文献番号 4.3-48）

[13] Aguilar F, Crebelli R, Domenico AD, Dusemund B, Frutos MJ, Galtier P, et al. Scientific Opinion on the re-evaluation of polyoxyethylene sorbitan monolaurate (E 432), polyoxyethylene sorbitan monooleate (E 433), polyoxyethylene sorbitan monopalmitate (E 434), polyoxyethylene sorbitan monostearate (E 435) and polyoxyethylene sorbitan tristearate (E 436) as food additives. EFSA J. 2015;13(7):4152 (1-74).（参考文献番号 4.3-44）

[14] Avery R, Jabs DA, Wingard JR, Vogelsang G, Saral R, Santos G. Optic disc edema after bone marrow transplantation. Possible role of cyclosporine toxicity. Ophthalmology. 1991;98(8):1294-301.（参考文献番号 4.3-23）

[15] Bernauer W, Gratwohl A, Keller A, Daicker B. Microvasculopathy in the ocular fundus after bone marrow transplantation. Ann Intern Med. 1991;115(12):925-30.（参考文献番号 4.3-24）

[16] O'Riordan JM, FitzSimon S, O'Connor M, McCann SR. Retinal microvascular changes following bone marrow transplantation: the role of cyclosporine. Bone Marrow Transplant. 1994;13(1):101-4.（参考文献番号 4.3-25）

[17] Cruz OA, Fogg SG, Roper-Hall G. Pseudotumor cerebri associated with cyclosporine use. Am J Ophthalmol. 1996;122(3):436-7.（参考文献番号 4.3-09）

[18] Ledeganck KJ, De Winter BY, Van den Driessche A, Jürgens A, Bosmans JL, Couttenye MM, et al. Magnesium loss in cyclosporine-treated patients is related to renal epidermal growth factor downregulation. Nephrol Dial Transplant. 2014;29(5):1097-102. Epub 2013 Dec 18.（参考文献番号 4.3-26）

[19] Schwartz RB, Bravo SM, Klufas RA, Hsu L, Barnes PD, Robson CD, et al. Cyclosporine neurotoxicity and its relationship to hypertensive encephalopathy: CT and MR findings in 16 cases. AJR Am J Roentgenol. 1995;165(3):627-31.（参考文献番号 4.3-35）

[20] Serkova NJ, Christians U, Benet LZ. Biochemical mechanisms of cyclosporine neurotoxicity. Mol Interv. 2004;4(2):97-107.（参考文献番号 4.3-34）

[21] Ochiai T, Sakamoto K, Gunji Y, Hamaguchi K, Isegawa N, Suzuki T, et al. Effects of combination treatment with FK506 and cyclosporine on survival time and vascular changes in renal-allograft-recipient dogs. Transplantation. 1989;48(2):193-7.（参考文献番号 4.3-27）

[22] Ochiai T, Gunji Y, Nagata M, Komori A, Asano T, Isono K. Effects of rapamycin in experimental organ allografting. Transplantation. 1993;56(1):15-9.（参考文献番号 4.3-28）

[23] Collier DS, Calne R, Thiru S, Lim S, Pollard SG, Barron P, et al. Rapamycin in experimental renal allografts in dogs and pigs. Transplant Proc. 1990;22(4):1674-5.（参考文献番号 4.3-29）

[24] Vaden SL, Breitschwerdt EB, Armstrong PJ, Correa MT, Brown C, Polzin DJ, et al. The effects of cyclosporine versus standard care in dogs with naturally occurring glomerulonephritis. J Vet Intern Med. 1995;9(4):259-66.（参考文献番号 4.3-30）

[25] Sandimmun® Concentrate for Solution for Infusion, soft gelatin capsules, oral solution, SmPC's. Last accessed 13 July 2020 :
https://www.medicines.org.uk/emc/product/1036/smpc
https://www.medicines.org.uk/emc/product/11093/smpc
https://www.medicines.org.uk/emc/product/11092/smpc

[26] Neoral® soft Capsule and Oral solution SmPCs. Last accessed 13 July 2020:
https://www.medicines.org.uk/emc/product/1034/smpc
https://www.medicines.org.uk/emc/product/5300/smpc

[27] Gaschen L, Schuurman HJ. Ultrasound detection on non-Hodgkin's lymphoma in three cynomolgus monkeys after renal transplantation and cyclosporine immunosuppression. J Med Primatol. 2001;30(2):88-93.（参考文献番号 4.3-31）

[28] Schmidtko J, Wang R, Wu CL, Mauiyyedi S, Harris NL, Della Pelle P, et al. Posttransplant lymphoproliferative disorder associated with an Epstein-Barr-related virus in cynomolgus monkeys. Transplantation. 2002;73(9):1431-9.（参考文献番号 4.3-32）

[29] McInnes EF, Jarrett RF, Langford G, Atkinson C, Horsley J, Goddard MJ, et al. Posttransplant lymphoproliferative disorder associated with primate gamma-herpesvirus in cynomolgus monkeys used in pig-to-primate renal xenotransplantation and primate renal allotransplantation. Transplantation. 2002;73(1):44-52.（参考文献番号 4.3-33）

[30] WHO. Toxicological evaluation of certain food additives with a review of general principles and of specifications. Seventeenth report of the joint FAO-WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Tech Rep Ser. 1974;539:1-40.（参考文献番号 4.3-45）

ルプキネスカプセル 7.9 mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.7 毒性試験概要表

大塚製薬株式会社

目次

目次 2

2.6.7.1 毒性試験：一覧表 3

2.6.7.2 トキシコキネティクス： トキシコキネティクス試験の一覧表 13

2.6.7.3 トキシコキネティクス： トキシコキネティクス試験成績の一覧 16

2.6.7.4 毒性試験： 被験物質一覧 22

2.6.7.5 単回投与毒性試験 26

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験 27

2.6.7.7 反復投与毒性試験： 重要な試験 30

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 116

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 131

2.6.7.10 がん原性試験： 重要な試験 133

2.6.7.11 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験 138

2.6.7.12 生殖発生毒性試験： 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 140

2.6.7.13 生殖発生毒性試験： 胚・胎児発生に関する試験 144

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 155

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験： 重要な試験 161

2.6.7.16 局所刺激性試験 164

2.6.7.17 その他の毒性試験 165

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

2.6.7.1　毒性試験　一覧表（1）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
単回投与毒性試験								
［ボクロスポリン］	ラット/SD	静脈内	単回	0（溶媒），1，2.5	適 [a]	[redacted]	ISA07-04	4.2.3.1-01（参考資料）
［mix-ISA247］	イヌ/ビーグル	強制経口，経口カプセル	単回	強制経口：0（溶媒），8，10，20 カプセル：20，30，50，75	適	[redacted]	ISA00-18	4.2.3.1-02（参考資料）
反復投与毒性試験								
［mix-ISA247］	ラット/SD	強制経口	7 日間	0（溶媒），30，75，100，120	適	[redacted]	ISA99-08	4.2.3.2-01（参考資料）
［mix-ISA247，CsA］	ラット/SD	強制経口	4 週間	0（溶媒），25，80	不適	[redacted]	ISA00-11	4.2.3.2-02（参考資料）
［mix-ISA247］	ラット/SD	強制経口	4 週間 ＋ 2 週間の回復期間	0（溶媒），4.6，24.2，80.0	適	[redacted]	ISA00-08	4.2.3.2-06
［mix-ISA247］	ラット/SD	強制経口	13 週間＋4 週間の回復期間	0（生理食塩水），0（溶媒），2.5，10，25	適	[redacted]	ISA00-17	4.2.3.2-07
［mix-ISA247，ボクロスポリン，シス型 ISA247，CsA］	ラット/SD	強制経口	13 週間＋4 週間の回復期間	0（溶媒），2.5，10，25	適	[redacted]	ISA03-03	4.2.3.2-09

2.6.7.1　　毒性試験　　一覧表（2）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
反復投与毒性試験								
［ボクロスポリン，溶媒中にビタミン E 配合/非配合］	ラット/SD	強制経口	13 週間＋4 週間の回復期間	0（溶媒），2.5，10，25	適	[redacted]	ISA05-11	4.2.3.2-10
［ボクロスポリン－不純物の安全性確認用の 2 バッチ］	ラット/SD	強制経口	13 週間＋4 週間の回復期間	0（溶媒），25	適	[redacted]	ISA09-21	4.2.3.2-11
［mix-ISA247, CsA］	ラット/SD	強制経口	26 週間＋4 週間の回復期間	0（溶媒），1.25，2.5，10	適	[redacted]	ISA01-18	4.2.3.2-08
［mix-ISA247］	イヌ/ビーグル	強制経口（腸溶性カプセル）	14 日間＋14 日間の回復期間	0（溶媒），2.5，10，51.5	適	[redacted]	ISA00-09	4.2.3.2-12
［mix-ISA247］	イヌ/ビーグル	強制経口	14 日間	0（溶媒），2.5，10，35	適	[redacted]	ISA00-19	4.2.3.2-03（参考資料）
［mix-ISA247］	イヌ/雑種	強制経口	14 日間	不明	不適	Isotechnika	ISA99-06	4.2.3.2-04（参考資料）
［mix-ISA247］	イヌ/ビーグル	強制経口	13 週間＋4 週間の回復期間	0（生理食塩水），0（溶媒），2.5，10，35	適	[redacted]	ISA01-01	4.2.3.2-13

2.6.7.1　　毒性試験　　一覧表（3）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
反復投与毒性試験								
［mix-ISA247］	サル/カニクイ	強制経口	7 日間	0（溶媒），50，100，200	適	[redacted]	ISA00-20	4.2.3.2-05（参考資料）
［mix-ISA247］	サル/カニクイ	強制経口	13 週間 ＋4 週間の回復期間	0（生理食塩水），0（溶媒），25，75，150/300（投与 50 日に 150 mg/kg/日から 300 mg/kg/日に増量）	適	[redacted]	ISA01-05	4.2.3.2-14
［mix-ISA247］	サル/カニクイ	強制経口	39 週間 ＋4 週間の回復期間	0（生理食塩水），0（溶媒），25，75，150	適	[redacted]	ISA02-01	4.2.3.2-15
遺伝毒性試験								
復帰突然変異試験［mix-ISA247］	ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535，TA1537）及び大腸菌（WP2uvrA）	*in vitro*	±S9：48～72 時間プレート法	0，15～1200 μg/plate	適	[redacted]	ISA99-05	4.2.3.3.1-01
復帰突然変異試験［ボクロスポリン］	ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535，TA1537）及び大腸菌（WP2uvrA）	*in vitro*	±S9：48～72 時間プレート法	0，50～5000 μg/plate	適	[redacted]	AC33TS.503.BTL	4.2.3.3.1-02
復帰突然変異試験［ボクロスポリン，バッチ [redacted]］	ネズミチフス菌（TA98，TA100，TA1535，TA1537）及び大腸菌（WP2uvrA）	*in vitro*	±S9：48～72 時間プレート法	0，50～5000 μg/plate	適	[redacted]	ISA09-30	4.2.3.3.1-03

2.6.7.1　　毒性試験　　一覧表（4）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
遺伝毒性試験								
染色体異常試験［mix-ISA247］	CHO 細胞	*in vitro*	±S9：4 時間 −S9：20 時間	−S9（4 時間）：0（DMSO），50～150 μg/mL +S9（4 時間）：0（DMSO），37.5～150 μg/mL −S9（20 時間）：0（DMSO），2.5～10 μg/mL	適	[redacted]	ISA99-04	4.2.3.3.1-04
染色体異常試験［ボクロスポリン，バッチ [redacted] 及び [redacted]］	CHO 細胞	*in vitro*	±S9：4 時間 −S9：20 時間	−S9（4 時間）：0（DMSO），100～1000 μg/mL（バッチ [redacted] は 100～2500 μg/mL まで） +S9（4 時間）：0（DMSO），100～1000 μg/mL（バッチ [redacted] は 50～500 μg/mL まで） −S9（20 時間）：0（DMSO），5～250 μg/mL（バッチ [redacted] は 5～50 μg/mL まで）	適	[redacted]	ISA09-29	4.2.3.3.1-05
小核試験［mix-ISA247］	ラット/SD	強制経口	単回	0（溶媒），500，1000，2000	適	[redacted]	ISA00-22	4.2.3.3.2-01

2.6.7.1　　毒性試験　　一覧表（5）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
がん原性試験								
用量設定試験［ボクロスポリン］	マウス/CD-1	強制経口	14 日間	0（生理食塩水），0（溶媒），15，30，60，125，250	適	[redacted]	ISA05-16	4.2.3.4.1-01（参考資料）
用量設定試験［ボクロスポリン］	マウス/CD-1	強制経口	13 週間	0（生理食塩水），0（溶媒），5，30，125	適	[redacted]	ISA05-17	4.2.3.4.1-02（参考資料）
104 週間がん原性試験［ボクロスポリン］	マウス/CD-1	強制経口	89 週間	0（生理食塩水），0（溶媒），3，10，30	適	[redacted]	ISA06-01	4.2.3.4.1-03
104 週間がん原性試験［ボクロスポリン］	ラット/SD	強制経口	97 週間	M：0（生理食塩水），0（溶媒），0.05，0.25，1.25 F：0（生理食塩水），0（溶媒），0.1，0.5，2.5	適	[redacted]	ISA04-08	4.2.3.4.1-04

2.6.7.1　　毒性試験　　一覧表（6）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
生殖発生毒性試験								
受胎能及び初期胚発生に関する試験［mix-ISA247］	ラット/SD（雌雄）	強制経口	雄：交配開始 49 日前～剖検前日まで（69 日間） 雌：交配開始 15 日前～妊娠 7 日まで	0（生理食塩水），0（溶媒），2.5，10，25	適	[redacted]/	ISA02-02	4.2.3.5.1-01
胚・胎児発生に関する用量設定試験［mix-ISA247］	ラット/SD（雌）	強制経口	妊娠 6～17 日	0（生理食塩水），0（溶媒），20，40，80，150	適	[redacted]/	ISA00-23	4.2.3.5.2-01（参考資料）
胚・胎児発生に関する試験［mix-ISA247］	ラット/SD（雌）	強制経口	妊娠 6～17 日	0（溶媒），2.5，10，25	適	[redacted]/	ISA01-12	4.2.3.5.2-03
胚・胎児発生に関する用量設定試験［mix-ISA247］	ウサギ/NZW（雌）	強制経口（胃管）	妊娠 6～18 日	0（生理食塩水），0（溶媒），20，40，80，150	適	[redacted]/	ISA00-24	4.2.3.5.2-02（参考資料）
胚・胎児発生に関する試験［mix-ISA247］	ウサギ/NZW（雌）	強制経口（胃管）	妊娠 6～18 日	0（溶媒），2，10，20	適	[redacted]/	ISA01-13	4.2.3.5.2-04
胚・胎児発生に関する用量設定試験［ボクロスポリン］	ウサギ/NZW（雌）	強制経口（胃管）	妊娠 6～18 日	0（生理食塩水），0（溶媒），2，10，20，40，60	適	[redacted]	ISA04-04	4.2.3.5.2-05（参考資料）

2.6.7.1　　毒性試験　　一覧表（7）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
生殖発生毒性試験								
胚・胎児発生に関する試験［ボクロスポリン］	ウサギ/NZW（雌）	強制経口（胃管）	妊娠 6～18 日	0（生理食塩水），0（溶媒），1，5，20	適	[redacted]	ISA04-05	4.2.3.5.2-06
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［mix-ISA247］	ラット/SD（雌）	強制経口	妊娠 7 日～分娩 22 日	0（生理食塩水），0（溶媒），2.5，10，25	適	[redacted]	ISA02-03	4.2.3.5.3-01
幼若動物を用いた試験								
幼若ラットを用いた反復投与毒性試験［ボクロスポリン］	ラット/SD（雌雄）	強制経口	10 週間 ＋5 週間の回復期間	M：0（注射用水），0（溶媒），1.25，2.50，5.00 F：0（注射用水），0（溶媒），2.50，5.00，10.0	適	[redacted]	HVV00003 (ISA09-27)	4.2.3.5.4-01

2.6.7.1　　毒性試験　　一覧表（8）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
局所刺激性試験								
皮膚一次刺激性試験［ボクロスポリン］	ウサギ/NZW（雄）	経皮（閉塞）	単回	500 mg	適	[redacted]	ISA08-10	4.2.3.6-01
皮膚感作性試験（Buehler 法）［ボクロスポリン］	モルモット/Hartley（雌雄）	経皮（閉塞）	感作：1 週間間隔で 3 回閉塞適用（6 時間） 惹起：最終感作終了後 14 日に閉塞適用（6 時間）	生理食塩水，300 mg	適	[redacted]	ISA08-12	4.2.3.6-02
眼一次刺激性試験［ボクロスポリン］	ウサギ/NZW（雌）	結膜嚢に適用	単回	100 mg	適	[redacted]	ISA08-11	4.2.3.6-03

2.6.7.1　　毒性試験　　一覧表（9）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
その他の試験								
薬物相互作用試験［ボクロスポリン，プレドニゾン］	ラット/SD（雌雄）	強制経口	13 週間 + 4 週間の回復期間	ボクロスポリン + プレドニゾン：0（プラセボ） + 0（注射用水），0（プラセボ） + 0.5，2.5 + 0.5，10.0 + 0.5，25.0 + 0.5，25.0 + 0（注射用水）	適	[redacted]	70881 (ISA09-09)	4.2.3.7.7-01
In silico によるボクロスポリン製造時に生成される可能性のある不純物の遺伝毒性評価［ボクロスポリン関連不純物及びそれらの異性体を含む 22 種類の構造］	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし	不適	[redacted]	AUR-VDS-20[redacted]-01	4.2.3.7.7-02（参考資料）

2.6.7.1　　毒性試験　　一覧表（10）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
その他の試験								
In silico によるボクロスポリン合成時の試薬に対する遺伝毒性評価［[redacted]］	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし	不適	[redacted]	AUR-VDS-20[redacted]-02	4.2.3.7.7-03（参考資料）
In silico による遺伝毒性評価［[redacted]，ボクロスポリン］	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし	不適	[redacted]	ISA09-28	4.2.3.7.7-04（参考資料）
In silico による遺伝毒性評価［[redacted]］	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし	不適	[redacted]	ISA10-02	4.2.3.7.7-05（参考資料）
In silico による分解生成物 4 種の遺伝毒性評価［[redacted]］	該当なし	該当なし	該当なし	該当なし	不適	[redacted]	該当なし	4.2.3.7.7-06～4.2.3.7.7-09（参考資料）

a：血清マグネシウムの分析は GLP に準拠して実施されなかった。

[redacted]，Isotechnika：Isotechnika Inc.，[redacted]，[redacted]，[redacted]，[redacted]，[redacted]（[redacted]），[redacted]，[redacted]

F：雌，M：雄，S9：SD ラット肝 9000×g 上清による代謝系，+S9：S9 の添加，−S9：S9 の非添加

2.6.7.2　トキシコキネティクス：　トキシコキネティクス試験の一覧表

2.6.7.2　トキシコキネティクス　トキシコキネティクス試験の一覧表（1）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与量（mg/kg）	GLP適用	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
反復投与毒性試験						
4 週間［mix-ISA247］	ラット/SD	強制経口	0（溶媒），4.6，24.2，80	適	ISA00-08	4.2.3.2-06
13 週間［mix-ISA247］	ラット/SD	強制経口	0（生理食塩水），0（溶媒），2.5，10，25	適	ISA00-17	4.2.3.2-07
26 週間［mix-ISA247，CsA］	ラット/SD	強制経口	0（溶媒），1.25，2.5，10	適	ISA01-18	4.2.3.2-08
13 週間［mix-ISA247，シス型 ISA247，ボクロスポリン，CsA］	ラット/SD	強制経口	0（溶媒），2.5，10，25	適	ISA03-03	4.2.3.2-09
13 週間［ボクロスポリン，溶媒中にビタミン E 配合/非配合］	ラット/SD	強制経口	0（溶媒），2.5，10，25	適	ISA05-11	4.2.3.2-10
13 週間［ボクロスポリン，不純物の安全性確認用の 2 バッチ］	ラット/SD	強制経口	0（溶媒），25	適	ISA09-21	4.2.3.2-11
2 週間［mix-ISA247］	イヌ/ビーグル	強制経口（カプセル）	0（溶媒），2.5，10，51.5	適	ISA00-09	4.2.3.2-12
13 週間［mix-ISA247］	イヌ/ビーグル	強制経口	0（生理食塩水），0（溶媒），2.5，10，35	適	ISA01-01	4.2.3.2-13

（続く）

2.6.7.2　　トキシコキネティクス　　トキシコキネティクス試験の一覧表（2）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与量（mg/kg）	GLP適用	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
反復投与毒性試験						
13 週間［mix-ISA247］	サル/カニクイ	強制経口	0（生理食塩水），0（溶媒），25，75，150/300	適	ISA01-05	4.2.3.2-14
39 週間［mix-ISA247］	サル/カニクイ	強制経口	0（生理食塩水），0（溶媒），25，75，150	適	ISA02-01	4.2.3.2-15
がん原性試験						
13 週間（用量設定試験）［ボクロスポリン］	マウス/CD-1	強制経口	0（生理食塩水），0（溶媒），5，30，125	適	ISA05-17	4.2.3.4.1-02（参考資料）
104 週間がん原性［ボクロスポリン］	マウス/CD-1	強制経口	0（生理食塩水），0（溶媒），3，10，30	適	ISA06-01	4.2.3.4.1-03
104 週間がん原性［ボクロスポリン］	ラット/SD	強制経口	0（生理食塩水），0（溶媒） 0.05，0.25，1.25（雄） 0.1，0.5，2.5（雌）	適	ISA04-08	4.2.3.4.1-04
生殖発生毒性試験						
受胎能及び着床までの初期胚発生［mix-ISA247］	妊娠ラット/SD	強制経口	0（生理食塩水），0（溶媒），2.5，10，25	適	ISA02-02	4.2.3.5.1-01
胚・胎児発生［mix-ISA247］	妊娠ラット/SD	強制経口	0（溶媒），2.5，10，25	適	ISA01-12	4.2.3.5.2-03
胚・胎児発生［mix-ISA247］	妊娠ウサギ/NZW	強制経口	0（溶媒），2，10，20	適	ISA01-13	4.2.3.5.2-04
胚・胎児発生［ボクロスポリン］	妊娠ウサギ/NZW	強制経口	0（生理食塩水），0（溶媒），1，5，20	適	ISA04-05	4.2.3.5.2-06
出生前/出生後［mix-ISA247］	妊娠ラット/SD	強制経口	0（生理食塩水），0（溶媒），2.5，10，25	適	ISA02-03	4.2.3.5.3-01
幼若動物を用いた試験						
10 週間反復経口投与毒性［ボクロスポリン］	幼若ラット/SD	強制経口	0（注射用水），0（溶媒），1.25，2.50，5.00，10.0	適	HVV00003 (ISA09-27)	4.2.3.5.4-01

（続く）

2.6.7.2　　トキシコキネティクス　　トキシコキネティクス試験の一覧表（3）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

試験の種類［被験物質/対照物質］	動物種/系統	投与方法	投与量（mg/kg）	GLP適用	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
その他の試験						
13 週間薬物相互作用［ボクロスポリン，プレドニゾン］	ラット/SD	強制経口	ボクロスポリン + プレドニゾン： 0（プラセボ）＋0（注射用水），0（プラセボ）＋0.5，2.5＋0.5，10.0＋0.5，25.0＋0.5，25.0＋0（注射用水）	適	70881 (ISA09-09)	4.2.3.7.7-01

これらの試験は，GLP 及び OECD GLP（ENV/MC/CHEM（98）17）に準拠して実施した。

2.6.7.3　トキシコキネティクス：　トキシコキネティクス試験成績の一覧

2.6.7.3　トキシコキネティクス試験成績の一覧（1）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

被験物質	投与量（mg/kg/日）	採血時の投与時点	TK パラメータ				報告書番号
			定常状態の AUC_{∞}（ng·h/mL）		C_{max}（ng/mL）		
			雄	雌	雄	雌	
CD-1 マウス							
ボクロスポリン	5	12 週（投与 86 日）	107.7[a]	123.7[a]	38.7	52.1	ISA05-17[c]（参考資料）
	30		1560.0[a]	1597.0[a]	523.5	508.9	
	125		2824.1[a]	6082.9[a]	2574.3[g]	2476.5[g]	
ボクロスポリン	3	26 週	107.5[b]	139.7[b]	18.2	18.8	ISA06-01
	10		405.9[b]	612.1[b]	52.1	137.7	
	30		3876.0[b]	5559.7[b]	418.0	776.3	
SD ラット							
Mix-ISA247	4.6	4 週	492.0	ID	47.3	84.2	ISA00-08
	24.2		17250.0	9162.6	808.3	670.4	
	80		40691.2	16441.0	2021.7	1306.1	
Mix-ISA247	2.5	13 週	880.7	467.6	80.1	66.4	ISA00-17
	10		10763.0	2837.4	774.2	454.0	
	25		15691.3	17243.1	1544.9	1399.9	

（続く）

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧（2）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

被験物質/対照物質	投与量（mg/kg/日）	採血時の投与時点	TK パラメータ				報告書番号
			定常状態の AUC_{∞}（ng·h/mL）		C_{max}（ng/mL）		
			雄	雌	雄	雌	
Mix-ISA247	2.5	13 週（投与 86 日）	Cis：268.1[d] Trans：410.4[d]	Cis：126.3[d] Trans：216.2[d]	Cis：23.9 Trans：33.6	Cis：23.3 Trans：35.3	ISA03-03
	10		Cis：1875.7[d] Trans：3582.4[d]	Cis：618.8[d] Trans：1150.5[d]	Cis：180.4 Trans：283.6	Cis：71.0 Trans：125.1	
	25		Cis：4431.2[d] Trans：7797.2[d]	Cis：4056.0[d] Trans：6538.7[d]	Cis：750.7 Trans：1211.3	Cis：546.8 Trans：811.9	
シス型 ISA247	2.5		Cis：452.9[d]	Cis：212.4[d]	Cis：45.1	Cis：44.3	
	10		Cis：2989.1[d]	Cis：1169.1[d]	Cis：264.8	Cis：261.5	
	25		Cis：8464.0[d]	Cis：5905.4[d]	Cis：992.5	Cis：914.8	
ボクロスポリン	2.5		Trans：933.6[d]	Trans：498.9[d]	Trans：82.5	Trans：68.2	
	10		Trans：5204.5[d]	Trans：3320.0[d]	Trans：504.3	Trans：427.7	
	25		Trans：15479.3[d]	Trans：17662.0[d]	Trans：1610.8	Trans：2350.1	
ボクロスポリン（ビタミン E 非配合の溶媒中）	2.5	13 週	2621.4[d]	863.4[d]	356.2	148.8	ISA05-11
	10		7762.4[d]	5195.2[d]	878.0	806.9	
	25		13116.5[d]	9533.6[d]	1740.8	1481.2	
ボクロスポリン（ビタミン E 配合の溶媒中）	10		4824.0[d]	2735.0[d]	557.6	450.1	
	25		13461.2[d]	10276.5[d]	1506.6	1503.5	

（続く）

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧（3）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

被験物質/対照物質	投与量（mg/kg/日）	採血時の投与時点	TK パラメータ				報告書番号
			定常状態の AUC_{∞}（ng·h/mL）		C_{max}（ng/mL）		
			雄	雌	雄	雌	
ボクロスポリン バッチ [redacted]	25	13 週	10802.9[d]	10609.3[d]	1258.4	1180.6	ISA09-21
ボクロスポリン バッチ [redacted]	25		13051.6[d]	10291.0[d]	1681.3	1564.2	
ボクロスポリン（+ プレドニゾン）	2.5 （+ 0.5）	13 週	1246.7[d]	474.6[d]	92.5	65.4	70881 (ISA09-09)
	100（+ 0.5）		8490.7[d]	3879.2[d]	846.1	567.0	
	25（+ 0.5）		9956.6[d]	15017.5[d]	861.9	1957.4	
	25		15606.5[d]	11861.8[d]	1477.7	1394.6	
Mix-ISA247	1.25	26 週	272.5[d]	77.1[d]	21.9	12.8	ISA01-18
	2.5		711.2[d]	275.4[d]	51.6	39.2	
	10		6399.2[d]	1893.3[d]	522.2	313.7	
ボクロスポリン	0.05	26 週	11.44		0.80		ISA04-08
	0.25		53.61		4.21		
	1.25		395.24		28.53		
	0.1			22.63		14.22	
	0.5			48.06		6.86	
	2.5			366.21		63.57	

（続く）

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧（4）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

被験物質/対照物質	投与量（mg/kg/日）	採血時の投与時点	TK パラメータ				報告書番号
			定常状態の AUC_{∞}（ng·h/mL）		C_{max}（ng/mL）		
			雄	雌	雄	雌	
雄又は妊娠/授乳雌 SD ラット							
Mix-ISA247	2.5	妊娠 17 日		589.5[e]		58.5	ISA01-12
	10			6240.3[d]		474.3	
	25			12852.6[d]		1058.0	
Mix-ISA247	2.5	雄：投与 70 日 雌：妊娠 7 日	631.5[d]	922.5[d]	55.3	471.3	ISA02-02
	10		4556.1[d]	5500.7[d]	373.5	750.5	
	25		13622.7[d]	7669.0[d]	897.0	862.4	
Mix-ISA247	2.5	分娩 20 日又は妊娠 31 日		379.6[d]		49.3	ISA02-03
	10			2392.4[d]		376.8	
	25			14504.3[d]		1145.9	
幼若 SD ラット							
ボクロスポリン	1.25	5 週	301.55[d]		25.6		HVV00003 (ISA09-27)
	2.50		812.4[d]	379.1[d]	69.6	44.3	
	5.00		1686.6[d]	791.85[d]	129.7	88.6	
	10.0			2879.5[d]		341.5	

（続く）

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧（5）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

被験物質/対照物質	投与量（mg/kg/日）	採血時の投与時点	TK パラメータ				報告書番号
			定常状態の $AUC_{0-\infty}$（ng·h/mL）		C_{max}（ng/mL）		
			雄	雌	雄	雌	
妊娠雌 NZW ウサギ							
Mix-ISA247	2	妊娠 18 日		NC		< 25	ISA01-13
	10			280.2[d]		47.7	
	20			1641.9[d]		161.0	
ボクロスポリン	1	妊娠 18 日		8.1[d]		1.1	ISA04-05
	5			105.0[d]		13.4	
	20			516.7[d]		59.9	
ビーグルイヌ							
Mix-ISA247	2.5	14 日	187.0	225.4	27.0	42.9	ISA00-09
	10		2915.9	2725.4	256.8	181.1	
	51.5		11108.5	11404.3	973.4	950.9	
Mix-ISA247	2.5	13 週	135.3[d]	92.1[d]	35.4	39.5	ISA01-01
	10		3071.9	2195.3	466.0	383.1	
	35		11161.6	7284.0	1568.4	1043.0	

（続く）

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧（6）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

被験物質/対照物質	投与量（mg/kg/日）	採血時の投与時点	TK パラメータ				報告書番号
			定常状態の $AUC_{0-\infty}$（ng·h/mL）		C_{max}（ng/mL）		
			雄	雌	雄	雌	
カニクイザル							
Mix-ISA247	25	13 週	1000.5[d]	866.2[d]	97.0	72.9	ISA01-05
	75		2089.5[d]	4082.9[d]	223.7	527.5	
	150/300[f]		5262.2[d]	3486.7[d]	625.8	524.4	
Mix-ISA247	25	39 週	781.1[d]	782.8[d]	86.0	106.9	ISA02-01
	75		3232.0[d]	3316.3[d]	395.4	406.0	
	150		3858.0[d]	6548.1[d]	650.5	763.9	

これらの試験は，GLP 及び OECD GLP（ENV/MC/CHEM(98)17）に準拠して実施した。代謝物データは表 2.6.4.3-9 及び概要表 2.6.5.10 に示す。

Cis = シス型 ISA247，Trans = トランス型 ISA247，ID：データ不十分，NC：測定値が定量下限（25 ng/mL）未満であるため未算出

a：125 mg/kg/日投与群で動物が早期に死亡し，得られているデータも限定的であったため，比較のために AUC_{4h} を使用した。

b：AUC_{12h}

c：報告書番号 ISA05-17 では，全血中の代謝物（IM1-Diol-1，IM4，IM4n 及び IM9）の薬物動態を，バリデートされたエレクトロスプレーイオン化法による液体クロマトグラフィー/質量分析（LC/ESI/MS）法により測定した。高用量群で動物が死亡したため，用量比較に使用可能な AUC はプールされた AUC_{4h} 値のみであった。IM1-Diol-1 の AUC_{4h} は，125 mg/kg/日投与群（27.0 ng·h/mL）でのみ測定することができた。IM4 の AUC_{4h} は，30 mg/kg/日（48.6 ng·h/mL）及び 125 mg/kg/日（299.6 ng·h/mL）投与群でのみ測定することができた。IM4n の AUC_{4h} は，5，30，及び 125 mg/kg/日の投与群で，それぞれ 11.4，144.8，及び 769.9 ng·h/mL であった。IM9 の AUC_{4h} は，5，30，及び 125 mg/kg/日の投与群で，それぞれ 120.6，3412.6，及び 4484.3 ng·h/mL であった。

d：AUC_{24h}

e：AUC_{all}

f：投与 50 日に 150 mg/kg/日から 300 mg/kg/日に増量した。

g：動物死亡のため，投与 2 時間後の全血中濃度を使用した。

2.6.7.4　毒性試験：　被験物質一覧

2.6.7.4.1　毒性試験　　使用ロット（1）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247）

原薬バッチ番号 [a]	製剤ロット番号	報告書番号	試験の種類
[redacted]	NA	ISA99-04	［mix-ISA247］哺乳類細胞を用いた染色体異常
		ISA99-05	［mix-ISA247］細菌を用いた復帰突然変異
入手不可	入手不可	ISA99-06	［mix-ISA247］イヌ 13 日間
[redacted]	NA	ISA99-08	［mix-ISA247］ラット 7 日間
[redacted]	NA	ISA00-08	［mix-ISA247］ラット 28 日間
[redacted]	NA	ISA00-09	［mix-ISA247］イヌ 14 日間
入手不可	入手不可	ISA00-11	［mix-ISA247］ラット 28 日間
[redacted]	NA	ISA00-18	［mix-ISA247］イヌ最大耐量
[redacted]	[redacted]	ISA00-17	［mix-ISA247］ラット 13 週間
	[redacted]	ISA00-19	［mix-ISA247］イヌ催吐作用
[redacted]	[redacted]	ISA00-20	［mix-ISA247］サル 7 日間
	NA	ISA00-22	［mix-ISA247］ラット小核
	[redacted]	ISA01-01	［mix-ISA247］イヌ 13 週間
[redacted]	[redacted]	ISA00-23	［mix-ISA247］ラット胚・胎児発生（用量設定）
		ISA00-24	［mix-ISA247］ウサギ胚・胎児発生（用量設定）
[redacted]	[redacted]	ISA01-05	［mix-ISA247］サル 13 週間

2.6.7.4.1　　毒性試験　　使用ロット（2）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247）

原薬バッチ番号 [a]	製剤ロット番号	報告書番号	試験の種類
[redacted]	[redacted]	ISA01-12	［mix-ISA247］ラット胚・胎児発生
[redacted]	[redacted]	ISA01-13	［mix-ISA247］ウサギ胚・胎児発生
[redacted]	[redacted]	ISA01-18	［mix-ISA247］ラット 26 週間
[redacted]	[redacted]	ISA02-01	［mix-ISA247］サル 39 週間
[redacted]	[redacted]	ISA02-02	［mix-ISA247］ラット受胎能及び一般生殖
[redacted]	[redacted]	ISA02-03	［mix-ISA247］ラット出生前/出生後生殖
[redacted]	[redacted]	ISA03-03	［mix-ISA247，ボクロスポリン］ラット 13 週間
[redacted]	[redacted]	ISA04-04	［ボクロスポリン］ウサギ胚・胎児発生（用量設定）
[redacted]	[redacted]	ISA04-05	［ボクロスポリン］ウサギ胚・胎児発生
バッチ [redacted] ([redacted]) バッチ [redacted] ([redacted])	[redacted]	ISA04-08	［ボクロスポリン］ラット 2 年間がん原性
バッチ [redacted] ([redacted])	[redacted]	ISA05-11	［ボクロスポリン，溶媒中にビタミン E 配合/非配合］ラット 13 週間
バッチ [redacted] ([redacted])	[redacted]	ISA05-16	［ボクロスポリン］マウス 14 日間（用量設定）
バッチ [redacted] ([redacted])	[redacted]	ISA05-17	［ボクロスポリン］マウス 13 週間（用量設定）
バッチ [redacted] ([redacted]) バッチ [redacted] ([redacted])	[redacted]	ISA06-01	［ボクロスポリン］マウス 2 年間がん原性
バッチ [redacted] ([redacted])	[redacted]	70881 (ISA09-09)	［ボクロスポリン］ラット 13 週間ボクロスポリン/プレドニゾン併用毒性

2.6.7.4.1　　毒性試験　　使用ロット（3）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247）

原薬バッチ番号 [a]	製剤ロット番号	報告書番号	試験の種類
バッチ [redacted]	NA	ISA07-04	［ボクロスポリン］ラット単回静脈内
バッチ [redacted]	NA	ISA08-10	［ボクロスポリン］ウサギ皮膚一次刺激性
バッチ [redacted]	NA	ISA08-11	［ボクロスポリン］ウサギ眼刺激性
バッチ [redacted]	NA	ISA08-12	［ボクロスポリン］モルモット皮膚感作性
バッチ [redacted]	NA	AC33TS.503.BTL	［ボクロスポリン］細菌を用いた復帰突然変異
バッチ [redacted]	NA	ISA09-29	［ボクロスポリン］哺乳類細胞を用いた染色体異常
バッチ [redacted]	[redacted]	ISA09-21	［ボクロスポリン］ラット 13 週間
バッチ [redacted]	NA	ISA09-30	［ボクロスポリン］細菌を用いた復帰突然変異
バッチ [redacted]	NA	ISA09-29	［ボクロスポリン］哺乳類細胞を用いた染色体異常
バッチ [redacted]	[redacted]	ISA09-21	［ボクロスポリン］ラット 13 週間
バッチ [redacted]	[redacted]	HVV00003 (ISA09-27)	［ボクロスポリン］幼若ラット 10 週間

a：使用された原薬バッチに関するさらなる情報は，Lonza MF 3.2.S.4.4 に記載する。

NA：該当なし

2.6.7.4.2　毒性試験で使用されたバッチにおける不純物の分析

毒性試験 報告書番号	バッチ番号	不純物［予定規格値（% w/w）］							
		[redacted]（≤[redacted]）	[redacted]（≤[redacted]）	[redacted]（≤[redacted]）	[redacted]（≤[redacted]）	[redacted]（≤[redacted]）	[redacted]（[redacted]）（≤[redacted]）	[redacted]（≤[redacted]）	[redacted]（[redacted]）（≤[redacted]）
ISA03-03	[redacted]	**0.23**	**1.4**	0.23	0.35	ND	0.21	0.2	ND
	[redacted]	<0.1	0.1	0.3	**0.59**	**0.13**	ND	ND	ND
ISA01-18	[redacted]	<0.1	ND	**0.55**	0.53	0.12	ND	ND	ND
ISA09-21	[redacted] IE-001, バッチ [redacted]	<0.1	<0.1	<0.1	ND	0.10	ND	0.09	0.08
	[redacted] IE-001, バッチ [redacted]	<0.1	<0.1	0.1	ND	ND	**0.27**	0.08	ND
ISA04-08	[redacted] IE-001, バッチ [redacted]	0.2	0.4	0.0	<0.10	<0.10	<0.10	<0.10	**0.20**
70881 （ISA09-09）	[redacted] IE-001, バッチ [redacted]	<0.1	0.1	0.1	0.11	ND	ND	**0.16**	ND

太字は，毒性試験に使用したバッチ全体で認められた不純物の最高濃度を示す。

ND：検出せず，RRT：相対保持時間

ISA03-03：ISA247（混合物），シス型 ISA247 及びトランス型 ISA247：CD ラットを用いた 13 週間（強制）経口投与比較毒性試験

ISA01-18：SD ラットを用いた $ISA_{TX}247$ 及び CsA の 26 週間反復経口投与毒性試験

ISA09-21：SD ラットを用いた 2 バッチのボクロスポリンの 13 週間経口投与比較毒性試験及び 4 週間回復試験

ISA04-08：ラットを用いた ISA247 の 104 週間（強制）経口投与によるがん原性試験

70881（ISA09-09）：ボクロスポリン（LX211）及びプレドニゾン：SD ラットを用いたボクロスポリンの 13 週間経口併用投与毒性試験及び 4 週間回復試験

2.6.7.5　単回投与毒性試験

2.6.7.5 単回投与毒性試験　　重要な試験以外の試験

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

<table>
<tr><th>動物種/系統</th><th>投与方法（溶媒/投与形態）</th><th>投与量（mg/kg）</th><th>性別及び一群の動物数</th><th>最大非致死量（mg/kg）</th><th>概略の致死量（mg/kg）</th><th>特記すべき所見</th><th>報告書番号</th><th>CTD の記載箇所（資料番号）</th></tr>
<tr><td>ラット/SD</td><td>静脈内（98:2 v/v PEG 200/エタノール/溶液）</td><td>0（溶媒），1，2.5</td><td>雌雄各 3</td><td>2.5</td><td>＞2.5</td><td>1 mg/kg 以上：活動性低下
<table><tr><th rowspan="2">投与量 (mg/kg)</th><th>雄</th><th>雌</th></tr><tr><th colspan="2">ボクロスポリン AUC_{24h}（ng·h/mL）</th></tr><tr><td>1.0</td><td>4846.6</td><td>2217.2</td></tr><tr><td>2.5</td><td>11935.0</td><td>5840.2</td></tr></table>ボクロスポリンの全身曝露量は用量に比例し，雄の方が雌より高かった。</td><td>ISA07-04</td><td>4.2.3.1-01（参考資料）</td></tr>
<tr><td>イヌ/ビーグル</td><td>強制経口（[redacted] w/w/w/w ビタミン E TPGS，MCT 油，Tween 40，95%エタノール/溶液又は腸溶性カプセル）</td><td>溶媒：0（Day 1，10），
強制経口：8（Day 9，11，12），10（Day 4，7，8），20（Day 13）
経口（カプセル）：20（Day 14），30（Day 16），50（Day 18，20），75（Day 21）</td><td>雌雄各 1</td><td>75</td><td>＞75</td><td>強制経口：
8 及び 10 mg/kg 投与時に嘔吐及び/又は逆流。

カプセル：
30，50 及び 75 mg/kg 投与時にケージトレー内に吐出されたカプセルの破片及び/又は物質。</td><td>ISA00-18</td><td>4.2.3.1-02（参考資料）</td></tr>
</table>

v/v：体積比，w/w/w/w/：重量比，Day：投与日

2.6.7.6　反復投与毒性試験：　重要な試験以外の試験

2.6.7.6 反復投与毒性試験　　重要な試験以外の試験（1）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

動物種/系統	投与方法［被験物質］[a]	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び一群の動物数	無毒性量（mg/kg/日）	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
ラット/SD	強制経口［mix-ISA247］	7 日間	0（溶媒），30，75，100，120	雌雄各 2	ND	溶媒群を含むすべての群で軟便，体重増加量及び摂餌量の減少，消化管内に暗色便物質。	ISA99-08	4.2.3.2-01（参考資料）

2.6.7.6 反復投与毒性試験　　重要な試験以外の試験（2）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

動物種/系統	投与方法［被験物質］[a]	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び一群の動物数	無毒性量（mg/kg/日）	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
ラット/SD	強制経口［mix-ISA247，CsA］	28 日間	0（溶媒），25，80	雌雄各 10（回復群：雌雄各 5） 追加群 mix-ISA247 25 mg/kg/日：雄 2（回復群：雄 1）， 80 mg/kg/日：雌雄各 1 CsA 25 mg/kg/日：雄 1（回復群：雌 1）， 80 mg/kg/日：雄 2，雌 1	ND	死亡例又は安楽殺例が mix-ISA247 の 25 mg/kg/日群の雄 3 例，80 mg/kg/日群の雌雄各 1 例，CsA の 25 mg/kg/日群の雄 1 例，80 mg/kg/日群の雄 6 例及び雌 1 例に認められた。また，CsA 25 mg/kg/日群において投与 8 日に試験中止例（雌 1 例）が認められた。これらの動物の内，4 例は呼吸器系の一般状態及び肺の病理組織学的所見に基づき，投与検体吸入による死亡の可能性が高いと考えられた。 CsA 群 BUN 及びクレアチニン増加， 80 mg/kg/日群では体重減少。 mix-ISA247 群及び CsA 群 肺及び腎臓に病理組織学的変化 （肺：血管平滑筋の過形成，血管周囲性及び間質性の炎症性細胞集簇。 腎臓：皮髄の間質及び尿細管の鉱質沈着，反応性尿細管上皮。対照群を設定しなかったため，腎臓所見の毒性学的意義は不明。）。	ISA00-11	4.2.3.2-02（参考資料）

2.6.7.6 反復投与毒性試験　　重要な試験以外の試験（3）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（及び/又は mix-ISA247，シス型 ISA247）

動物種/系統	投与方法［被験物質］[a]	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び一群の動物数	無毒性量（mg/kg/日）	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
イヌ/ビーグル	強制経口：投与 1～7 日，経口（腸溶性カプセル）：投与 8～14 日［mix-ISA247］	14 日間	0（溶媒），2.5，10，35	雌雄各 1	ND	2.5 mg/kg/日（強制経口及びカプセル）以上：嘔吐。明らかな用量反応性なし。 35 mg/kg/日：体重及び摂餌量減少，不定期な嗜眠。	ISA00-19	4.2.3.2-03（参考資料）
イヌ/雑種	強制経口［mix-ISA247］	13 日間	不明	雌雄各 2	ND	特筆すべき所見なし。	ISA99-06	4.2.3.2-04（参考資料）
サル/カニクイ	強制経口［mix-ISA247］	7 日間	0（溶媒），50，100，200	雌雄各 1	100[b]	全群（溶媒対照群も含む）：溶媒に関連すると考えられる軟便及び/又は暗色便。 200 mg/kg/日：体重及び摂餌量減少。	ISA00-20	4.2.3.2-05（参考資料）

a：溶媒：特記なき限り，重量比 [redacted] のビタミン E TPGS，MCT 油，Tween 40，95%エタノール溶液。

b：NOAEL は試験報告書には記載されていない。NOAEL は，毒性学者がレビューし解釈した結果，200 mg/kg/日投与群で体重減少及び摂餌量減少が認められたことに基づき決定された。

ND：未判定

2.6.7.7　反復投与毒性試験：　重要な試験

2.6.7.7.1　ラットにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（2 週間回復性）

被験物質：Mix-ISA247

報告書の題名：　$ISA_{TX}247$: A 28-Day Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats Followed by a 14-Day Recovery Period
動物種/系統：　ラット/SD　　投与期間：　4 週間　　報告書番号：ISA00-08
試験開始週齢：　7～9 週齢　　休薬期間：　2 週間　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-06
初回投与年月日：　19[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：　強制経口　　GLP 適用：適
溶媒/投与形態：　ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液
特記事項：無毒性量は報告書に記載されていない。24.2 mg/kg/日における WBC，BUN 及び腎臓の変化は軽微と判断された。

無毒性量：　24.2 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）			0（溶媒）		4.6		24.2		80.0	
動物数		主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10 + 5	雌 10 + 5
		TK 群			雄 6	雌 6	雄 6	雌 6	雄 6	雌 6
TK										
Mix-ISA247	C_{max}	投与 1 日	NA	NA	45.7	24.5	806.2	492.0	2812.7	1332.0
	(ng/mL)	投与 28 日	NA	NA	47.3	84.2	808.3	670.4	2021.7	1306.1
	AUC_{∞}	投与 1 日	NA	NA	418.8	509.7	11192.8	5304.4	49901.3	38085.6
	(ng·h/mL)	投与 28 日	NA	NA	492.0	ID	17250.0	9162.6	40691.2	16441.0
死亡及び切迫屠殺動物数			0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	軟便・液状便		+	−	+	+	+	+	+	+
	脱毛		−	−	+	−	+	+	+	+
	発赤（耳，四肢）		−	−	+	−	+	+	+	+
体重（%）[a]		投与 28 日	435 g	254 g	−1	−2	−4	+2	−9*	+2
摂餌量（%）[a]		投与 22～28 日	205 g	139 g	0	−4	+5	−2	+16	+11

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		4.6		24.2		80.0	
動物数　　主試験群 + 回復群		雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10 + 5	雌 10 + 5
血液学的検査									
WBC（$\times 10^9$/L）		11.83	6.03	10.95	5.96	7.00*	4.39*	6.20*	4.00*
Hb（g/L）		159	156	157	156	158	153	153*	147*
MCH（pg）		19.1	19.5	19.0	19.2	18.5	19.0	18.2*	18.7*
MCV（fL）		54.1	54.6	54.2	53.6	52.5*	53.7	52.4*	53.0
Hct（L/L）		0.45	0.43	0.45	0.44	0.45	0.44	0.44	0.41*
細胞形態 [b]	有棘赤血球	1	0	1	0	1	0	3	0
	多染性赤血球	1	0	2	0	5	0	4	1
	小赤血球	0	0	0	0	0	0	1	0
	赤血球大小不同	0	0	0	0	0	0	1	0
	大型血小板	0	0	0	0	0	0	0	1
血液生化学的検査									
コレステロール（mmol/L）		1.31	1.28	1.34	1.40	1.72*	1.40	1.89*	1.60
BUN（mmol/L）		5.1	4.7	5.5	4.3	6.5*	4.5	8.5*	5.4
総ビリルビン（μmol/L）		3.6	2.9	3.5	2.5	4.4	3.6	6.4*	3.8
クレアチニン（μmol/L）		45	50	48	48	45	50	53#	48
リン（mmol/L）		2.79	2.55	2.78	2.69	2.90	2.74	2.95	2.91*
トリグリセリド（mmol/L）		0.76	0.25	0.69	0.26	0.71	0.34	0.75	0.49#
尿検査									
クロール（mmol/L）		50	63	48	51	27	26#	59	23#
グルコース（陽性発現例数）		0	0	0	0	2	0	7	0
眼科学的検査 [b]									
白内障		0	0	0	0	0	0	1	1
水晶体前嚢/嚢下混濁		0	0	0	0	0	0	1	0
剖検		–	–	–	–	–	–	–	–

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		4.6		24.2		80.0	
動物数　主試験群 + 回復群		雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10 + 5	雌 10 + 5
臓器重量（%）[a]									
副腎	絶対重量	0.0550 g	0.0674 g	−7	−5	+6	+1	+24	−1
	相対重量	0.0134%	0.0280%	−5	0	+13	+4	+40*	+4
脳	絶対重量	2.070 g	1.887 g	−2	−1	−1	0	−1	0
	相対重量	0.507%	0.785%	0	+4	+5	+3	+11*	+5
心臓	絶対重量	1.411 g	0.929 g	−2	−2	−2	+2	−2	−1
	相対重量	0.345%	0.386%	0	+3	+4	+5	+10*	+3
腎臓	絶対重量	3.019 g	1.662 g	−5	0	+3	+1	0	+3
	相対重量	0.739%	0.689%	−4	+6	+10	+4	+13*	+8*
肝臓	絶対重量	12.392 g	6.865 g	−3	−5	+3	−3	+1	−2
	相対重量	3.021%	2.849%	−3	0	+10*	0	+13*	+2
肺（気管を含む）	絶対重量	1.438 g	1.082 g	−3	−2	−3	+1	−2	−1
	相対重量	0.352%	0.450%	−2	+4	+3	+4	+11*	+3
卵巣	絶対重量		0.0871 g		+1		+17		+19
	相対重量		0.0361%		+7		+21*		+24*
病理組織学的検査									
眼：両側水晶体変性		0	0	0	0	1	0	1	0
胸腺：髄質の萎縮		0	0	0	0	10	10	10	10
脾臓：被膜炎症		0	0	0	0	0	0	2	0
脾臓：胚中心の消失		1	4	1	4	9	8	10	9
腸間膜リンパ節：胚中心の消失		4	1	1	6	9	8	9	10
下顎リンパ節：胚中心の消失		1	0	0	0	2	1	10	6
腎臓：好塩基性尿細管		4	2	2	0	8	1	10	4
腎臓：皮髄の鉱質沈着		0	3	0	3	10	3	10	6

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		4.6		24.2		80.0	
動物数	回復群	雄 5	雌 5	雄 0	雌 0	雄 0	雌 0	雄 5	雌 5
回復性の評価									
一般状態		−	−	NA	NA	NA	NA	−	−
体重（%）[a]	回復 15 日	434 g	235 g	NA	NA	NA	NA	−7	+14[$]
摂餌量（%）[a]	回復 15 日	194 mg	139 mg	NA	NA	NA	NA	+22	+13
血液学的検査									
MCH（pg）		18.5	19.4	NA	NA	NA	NA	17.6[$]	18.7
平均赤血球ヘモグロビン濃度（g/L）		349	355	NA	NA	NA	NA	339[$]	347
RBC		8.54	7.96	NA	NA	NA	NA	8.86	8.57[$]
血液生化学的検査		−	−	NA	NA	NA	NA	−	−
尿検査		−	−	NA	NA	NA	NA	−	−
眼科学的検査									
白内障		0	0	NA	NA	NA	NA	3	1
剖検		−	−	NA	NA	NA	NA	−	−
臓器重量（%）[a]									
腎臓	絶対重量	2.972 g	1.659 g	NA	NA	NA	NA	+7	+10
	相対重量	0.688%	0.704%	NA	NA	NA	NA	+14[$]	−3
肝臓	絶対重量	11.721 g	6.523 g	NA	NA	NA	NA	+12	+19[$]
	相対重量	2.703%	2.767%	NA	NA	NA	NA	+20	+5
肺（気管を含む）	絶対重量	1.407g	1.080 g	NA	NA	NA	NA	+6	+6
	相対重量	0.325%	0.461%	NA	NA	NA	NA	+13	−8
脾臓	絶対重量	0.786 g	0.483 g	NA	NA	NA	NA	+13	+16
	相対重量	0.181%	0.205%	NA	NA	NA	NA	+22	+2

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（溶媒）		4.6		24.2		80.0	
動物数　　回復群	雄 5	雌 5	雄 0	雌 0	雄 0	雌 0	雄 5	雌 5
病理組織学的検査								
眼：両側水晶体変性	0	0	NA	NA	NA	NA	3	0
腎臓：好塩基性尿細管	0	0	NA	NA	NA	NA	4	1
腎臓：皮髄の鉱質沈着	1	0	NA	NA	NA	NA	4	2

＋：所見あり，－：特記すべき所見なし，NA：該当なし
*$p < 0.05$（Dunnett の検定）
$^{\$}p < 0.05$（Student の t 検定）
$^{\#}p < 0.05$（Dunn の検定）
ID：データ不十分
a：溶媒対照群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。
b：発現頻度の記録であり，いずれもわずかであった。

2.6.7.7.2　ラットにおける 13 週間反復経口投与毒性試験（4 週間回復性）

被験物質：Mix-ISA247

報告書の題名：　$ISA_{TX}247$: A 13-Week Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats Followed by a 28-Day Recovery Period
動物種/系統：　ラット/SD　　投与期間：　13 週間　　報告書番号：ISA00-17
試験開始週齢：　9 週齢　　休薬期間：　4 週間　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-07
初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：　強制経口　　GLP 適用：適
溶媒/投与形態：　ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液
特記事項：無毒性量は報告書に記載されていない。すべての被験物質投与群で脳及び脊髄に病理組織学的所見が認められた。

無毒性量：　< 2.5 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）			0（生理食塩水）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数　主試験群 + 回復群			雄 10 + 8	雌 10 + 8	雄 10 + 8	雌 10 + 8	雄 10 + 8	雌 10 + 8	雄 10 + 8	雌 10 + 8	雄 10 + 8	雌 10 + 8
TK 群							雄 6	雌 6	雄 6	雌 6	雄 6	雌 6
TK												
Mix-ISA247	C_{max} (ng/mL)	投与 1 日	NA	NA	NA	NA	72.2	53.2	583.7	455.6	1157.9	1089.1
		投与 28 日	NA	NA	NA	NA	64.2	64.4	662.4	407.7	1532.3	1284.9
		投与 90 日	NA	NA	NA	NA	80.1	66.4	774.2	454.0	1544.9	1399.9
	AUC_{∞} (ng·h/mL)	投与 1 日	NA	NA	NA	NA	848.8	374.3[a]	7686.4	3151.6	13439.3	13813.7
		投与 28 日	NA	NA	NA	NA	844.5	335.6	9871.4	3644.3	16477.9	16526.3
		投与 90 日	NA	NA	NA	NA	880.7	467.6	10763.0	2837.4	15691.3	17243.1
死亡及び切迫屠殺動物数			1[b]	0	0	0	1[b]	0	0	0	0	0
一般状態												
軟便			−	+	+	+	+	+	+	+	+	+
運動機能障害（協調運動障害/活動性低下）			−	−	−	−	−	−	−	−	+	−
衰弱			−	−	−	−	−	−	−	−	+	−

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（生理食塩水）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数　主試験群 + 回復群		雄 10 + 8	雌 10 + 8	雄 10 + 8	雌 10 + 8	雄 10 + 8	雌 10 + 8	雄 10 + 8	雌 10 + 8	雄 10 + 8	雌 10 + 8
一般状態											
体温上昇		−	−	−	−	−	−	−	−	+	−
発声		−	−	−	−	−	−	−	−	+	−
努力性・不整呼吸		−	−	−	−	−	−	−	−	+	−
身づくろいの欠如		−	−	−	−	−	−	−	−	+	−
立毛		−	−	−	−	−	−	−	−	+	−
円背位		+	−	−	−	−	−	−	−	+	−
脱水		−	−	−	−	−	+	−	−	+	−
体重（%）[c]　投与 91 日		532 g	306 g	0	−5	−3	+6	−2	+6	−16*	+2
摂餌量（%）[c]　投与 85〜91 日		172 g	126 g	+2	−5	+1	−2	−1	+2	+42#	+2
血液学的検査											
MCV（fL）		50.9	53.7	50.8	52.6	49.5	53.2	49.8	52.8	47.4*	52.5
MCH（pg）		17.7	18.8	17.7	18.3	17.2	18.7	17.1	18.4	16.7*	18.3
RBC（× 10^{12}/L）		8.62	8.17	8.75	8.14	8.67	8.15	8.48	8.09	9.48#	8.10
血小板（× 10^{9}/L）		980	953	954	966	956	922	973	965	809*	942
WBC（× 10^{9}/L）		6.08	5.45	6.64	5.05	6.55	5.36	3.71*	3.53	5.15	3.61
リンパ球（× 10^{9}/L）		4.51	4.35	5.22	3.99	5.08	4.18	2.73	2.60	3.79	2.74
好中球（× 10^{9}/L）		1.20	0.76	1.09	0.78	1.13	0.89	0.74	0.67	0.92	0.56
細胞形態 [d]	赤血球大小不同	3	0	0	0	3	0	3	0	5	0
	小赤血球	3	0	0	0	3	0	3	0	5	0
	多染性赤血球	1	0	2	1	4	0	5	0	3	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（生理食塩水）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数　　主試験群 + 回復群		雄 10 + 8	雌 10 + 8	雄 10 + 8	雌 10 + 8	雄 10 + 8	雌 10 + 8	雄 10 + 8	雌 10 + 8	雄 10 + 8	雌 10 + 8
血液生化学的検査											
グルコース（mmol/L）		7.0	6.8	7.7	7.6	7.6	7.6	7.5	8.1	8.7	7.1
総ビリルビン（µmol/L）		3.0	3.2	3.2	2.8	3.4	2.6	4.5*	2.5	4.9*	3.2
BUN（mmol/L）		5.4	4.6	5.2	4.9	5.2	4.2	5.8	4.2	9.7#	5.2
尿検査											
グルコース [e]		0	0	0	0	0	0	0	0	9	0
尿比重		1.022	1.022	1.025	1.024	1.018	1.022	1.017	1.019	1.033	1.024
眼科学的検査											
前嚢下/皮質の白内障		0	0	0	0	0	0	0	0	14	0
剖検		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
臓器重量（%）[c]											
副腎	絶対重量	0.0495 g	0.0651 g	+9	−3	−4	+1	+9	−1	+41#	+1
	相対重量	0.0099%	0.0228%	+8	+3	−1	−4	+11	−6	+74#	0
腎臓	絶対重量	3.026 g	1.787 g	+3	−3	−3	+6	+18	+4	+12	+5
	相対重量	0.6040%	0.6250%	+3	+3	−1	+1	+20	−2	+37#	+3
肝臓	絶対重量	12.477 g	6.951 g	−1	−3	+4	+6	+4	+6	+8	+7
	相対重量	2.4657%	2.4325%	0	+3	+6	+1	+7	0	+33*	+5
脾臓	絶対重量	0.840 g	0.534 g	−4	−5	−3	0	−5	+1	+10	+4
	相対重量	0.1663%	0.1873%	−3	+1	−1	−4	−2	−4	+36#	+2
病理組織学的検査											
脳：グリオーシス		0	0	0	0	0	0	3	0	3	2
脳：空胞化		0	0	0	0	8	9	9	9	2	2
脳：血管/血管周囲性の炎症細胞浸潤		0	1	0	0	0	0	5	0	4	5
脊髄：グリオーシス		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（生理食塩水）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数　　主試験群 ＋ 回復群		雄 10＋8	雌 10＋8	雄 10＋8	雌 10＋8	雄 10＋8	雌 10＋8	雄 10＋8	雌 10＋8	雄 10＋8	雌 10＋8
病理組織学的検査											
脊髄：空胞化		0	0	0	0	0	0	4	0	2	2
脊髄：血管/血管周囲性の炎症細胞浸潤		0	0	0	0	0	0	4	0	3	3
坐骨神経：血管/血管周囲性の炎症細胞浸潤		0	0	0	0	0	0	3	0	0	2
坐骨神経：軸索変性		0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
腎臓：好塩基性尿細管		3	2	4	0	3	0	2	0	9	1
腎臓：皮髄の鉱質沈着		0	2	0	3	0	1	1	2	9	5
胸腺：髄質の萎縮		0	0	0	0	0	0	10	8	10	9
胸腺：リンパ球融解		0	0	0	0	0	0	9	1	6	9
下顎リンパ節：胚中心の消失		1	1	0	2	0	1	2	1	6	5
脾臓：胚中心の消失		1	3	2	3	2	1	7	2	4	7
眼：水晶体変性		0	0	0	0	0	0	0	0	9	0
回復性の評価											
死亡及び切迫屠殺動物数		0	0	0	0	0	0	1[f]	0	1[f]	0
一般状態	軟便	−	−	−	−	−	−	−	−	＋	−
	活動性低下	−	−	−	−	−	−	＋	−	＋	−
	立毛	−	−	−	−	−	−	＋	−	＋	−
	削痩	−	−	−	−	−	−	＋	−	＋	−
	衰弱	−	−	−	−	−	−	＋	−	＋	−
	協調運動不良	−	−	−	−	−	−	＋	−	＋	−
	身づくろいの欠如	−	−	−	−	−	−	＋	−	−	−
	脱水	−	−	−	−	−	−	＋	−	＋	−

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（生理食塩水）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	回復群	雄 7	雌 8	雄 8	雌 8	雄 7	雌 8	雄 8	雌 8	雄 8	雌 8
回復性の評価											
体重（%）[c]	回復 28 日	570 g	302 g	+4	+9	+2	+7	+1	+10	−9	+11
摂餌量（%）[c]	回復 22～28 日	190 g	128 g	−2	+5	0	+5	+3	+4	+34	+9
血液学的検査											
MCV（fL）		50.1	53.9	50.3	53.8	49.8	55.8	49.4	53.3	49.3	51.8
RBC（$\times 10^{12}$/L）		8.37	7.57	8.50	7.82	8.50	7.81	8.67	8.05*	9.04	8.48*
Hb（g/L）		146	141	148	145	146	151	147	149	153	153#
Hct（L/L）		0.42	0.41	0.43	0.42	0.42	0.44	0.43	0.43	0.44	0.44#
血液生化学的検査											
グルコース（mmol/L）		8.3	8.3	8.9	8.4	8.3	9.5	9.0	8.6	10.7	9.0
尿検査											
グルコース[e]		0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
眼科学的検査											
前嚢下/皮質の白内障		0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
臓器重量（%）[c]											
副腎	絶対重量	0.0499 g	0.0628 g	+11	+6	+14	+11	+13	+12	+25	+15
	相対重量	0.0092%	0.0223%	+8	−1	+13	+4	+13	+3	+47	+5
腎臓	絶対重量	3.174 g	1.795 g	−1	+5	+6	+9	+1	+9	+9	+15
	相対重量	0.5885%	0.6403%	−4	−3	+4	+3	0	−2	+25	+3
肝臓	絶対重量	13.559 g	7.189 g	+10	+5	+9	+4	+11	+6	+4	+7
	相対重量	2.4916%	2.5583%	+6	−3	+7	−2	+9	−4	+20	−3
脾臓	絶対重量	0.787 g	0.503 g	+14	+15	+18	+10	+28*	+6	+22*	+10
	相対重量	0.1465%	0.1783%	+9	+7	+15	+4	+26#	−4	+38#	−1

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（生理食塩水）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	回復群	雄 7	雌 8	雄 8	雌 8	雄 7	雌 8	雄 7	雌 8	雄 8	雌 8
回復性の評価											
剖検	眼：前眼房の混濁及び淡色領域	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
病理組織学的検査											
脳：グリオーシス		0	0	0	0	0	0	2	0	1	0
脳：空胞化		0	0	0	0	1	2	4	3	4	2
脳：血管/血管周囲性の炎症細胞浸潤		0	0	0	2	0	0	3	1	4	2
脊髄：空胞化		0	1	0	1	0	0	1	0	4	1
脊髄：血管/血管周囲性の炎症細胞浸潤		0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
坐骨神経：血管/血管周囲性の炎症細胞浸潤		0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
坐骨神経：軸索変性		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
腎臓：好塩基性尿細管		1	0	4	0	2	0	1	1	4	0
腎臓：皮髄の鉱質沈着		0	2	0	1	0	0	0	1	6	1
眼：水晶体変性		0	0	0	0	0	0	0	0	5	0
下顎リンパ節：胚中心の消失		0	0	0	2	3	0	1	1	1	3
脾臓：胚中心の消失		0	1	1	1	3	4	1	4	1	2

+：所見あり，−：特記すべき所見なし，NA：該当なし

*$p < 0.05$（Dunnett の検定）

#$p < 0.05$（Dunn の検定）

a：AUC_{24h}

b：生理食塩水投与群の 1 例は投与 59 日，2.5 mg/kg/日群の 1 例は投与 23 日にそれぞれ死亡が確認された。いずれの動物の死亡も，偶発又は試験操作に関連していると判断された。

c：陰性対照（生理食塩水）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。

d：動物 5002A から得られた血液学的検査のデータは，他の動物と一致しない白血球数の異常な増加及び貧血が認められたため，統計解析から除外した。

e：発現頻度の記録であり，いずれもわずかであった。

f：10 mg/kg/日群の 1 例は回復 15 日，25 mg/kg/日群の 1 例は回復 2 日に状態悪化のため安楽死させた。

2.6.7.7.3 ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験（4 週間回復性）

被験物質：Mix-ISA247，CsA

報告書の題名：　26-Week Repeat Dose Oral Toxicity Study of $ISA_{TX}247$ and Cyclosporine A in Sprague-Dawley Rats

動物種/系統：　ラット/SD　　投与期間：　26 週間　　報告書番号：ISA01-18

試験開始週齢：　5 週齢（受領時）　　休薬期間：　4 週間　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-08

初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：　強制経口　　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：　ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液

特記事項：被験物質として mix-ISA247 及び CsA を使用した。投与 4，8，13 及び 17 週に雌雄各 10 例/群の中間屠殺群を設定。当該表では投与終了後屠殺時（投与 26 週）及び休薬期間終了後屠殺時のデータを提示した。無毒性量は報告書に記載されていない。無毒性量の判断は 2.5 mg/kg/日で脊髄に神経変性が認められたことに基づく。

無毒性量：　1.25 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）			0（溶媒）		1.25		2.5		10	
動物数	主試験群 ＋ 回復群		雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6
	TK 群				雄 8	雌 8	雄 8	雌 8	雄 8	雌 8
TK										
Mix-ISA247	C_{max}	投与 1 日	NA	NA	51.7	15.5	35.6	41.7	429.8	292.1
	(ng/mL)	投与 26 週	NA	NA	21.9	12.8	51.6	39.2	522.2	313.7
	AUC_{24h}	投与 1 日	NA	NA	302.1	81.9	334.1	265.9	4061.4	1742.6
	(ng·h/mL)	投与 26 週	NA	NA	272.5	77.1	711.2	275.4	6399.2	1893.3
CsA	C_{max}	投与 1 日	NA	NA	49.0	20.7	81.2	61.3	603.5	484.6
	(ng/mL)	投与 26 週	NA	NA	45.2	25.6	163.9	71.5	935.3	754.4
	AUC_{24h}	投与 1 日	NA	NA	354.2	130.1	835.0	390.3	6004.0	3369.6
	(ng·h/mL)	投与 26 週	NA	NA	569.9	140.7	1799.0	474.3	12985.8	5367.1
死亡及び切迫屠殺動物数 [a]										
Mix-ISA247			2	2	2	1	2	0	5	2
CsA					5	0	0	1	8	2
一般状態			–	–	–	–	–	–	–	–

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		1.25		2.5		10	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6
体重（%）[b]	投与 26 週								
Mix-ISA247		630.2 g	316.7 g	+2	+3	+5	+1	−10**	+7
CsA				−2	+5	+1	+5	−15**	+1
摂餌量（%）[b]	投与 26 週								
Mix-ISA247		25.20 g/日	18.27 g/日	+5	+7	+8	+1	+45**	+10
CsA				+5	+6	+4	+5	+62**	−3
FOB		–	–	–	–	–	–	–	–
血液学的検査		–	–	–	–	–	–	–	–
血液生化学検査									
BUN（mg/dL）	Mix-ISA247	14.9	15.4	14.6	15.5	14.6	15.1	26.1*	16.3
	CsA			14.5	15.8	15.1	14.7	26.8**	16.9
総ビリルビン（mg/dL）	Mix-ISA247	0.16	0.21	0.15	0.19	0.17	0.21	0.20	0.21
	CsA			0.16	0.24	0.18	0.21	0.25**	0.31**
トリグリセリド（mg/dL）	Mix-ISA247	84.7	51.5	85.1	45.1	88.3	46.6	90.1	60.8
	CsA			83.6	66.5	92.6	52.1	73.6	64.0
マグネシウム（mEq/L）	Mix-ISA247	2.48	2.70	2.59	2.72	2.51	2.76	2.27	2.51*
	CsA			2.47	2.70	2.52	2.72	2.35	2.59
ALP（U/L）	Mix-ISA247	81.2	38.7	85.4	37.5	85.0	40.6	188.1*	44.1
	CsA			78.8	43.0	95.0	49.3	256.9**	44.1
AST（U/L）	Mix-ISA247	86.1	71.4	96.3	100.8	78.6	79.6	169.1	83.3
	CsA			90.9	162.0	75.9	111.0	158.1*	75.3
ALT（U/L）	Mix-ISA247	46.9	36.7	49.9	53.2	37.1	46.7	95.5	45.2
	CsA			60.7	79.1	37.1	67.5	106.8*	41.4
グルコース（mg/dL）	Mix-ISA247	111.4	106.2	127.3	98.4	124.3	102.8	143.5	100.6
	CsA			109.6	101.4	108.3	106.8	131.7	96.5

（続く）

投与量（mg/kg/日）			0（溶媒）		1.25		2.5		10	
動物数		主試験群 ＋ 回復群	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6
尿検査										
グルコース[c]		Mix-ISA247	5	1	1	3	2	3	13	3
		CsA			2	3	2	1	14	0
尿量（mL）		Mix-ISA247	4.84	6.83	4.37	5.05	5.26	10.88	17.78**	5.11
		CsA			7.12	7.83	6.28	8.28	15.12**	10.76
眼科学的検査：白内障		Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	10	0
		CsA			0	0	0	0	10	0
剖検			–	–	–	–	–	–	–	–
臓器重量（%）[b]										
副腎	絶対重量	Mix-ISA247	56 mg	76 mg	+2	−1	+14	+5	+23	+5
		CsA			+2	+8	+11	+7	+14	+1
	相対重量	Mix-ISA247	9.0% × 10^3	25.0% × 10^3	+3	−3	+12	+6	+46**	0
		CsA			+8	+5	+14	+6	+44**	+2
腎臓	絶対重量	Mix-ISA247	4.46 g	2.52 g	+4	0	+7	−2	+19*	+4
		CsA			+3	+4	+3	+1	+16**	−1
	相対重量	Mix-ISA247	7.30% × 10	8.22% × 10	+5	−1	+3	−1	+36**	+1
		CsA			+7	+2	+4	0	+43**	0
胸腺	絶対重量	Mix-ISA247	0.24 g	0.17 g	−8	+18	+4	0	−17	+47**
		CsA			0	+29*	−4	+6	−46*	+24
	相対重量	Mix-ISA247	0.39% × 10	0.54% × 10	−8	+20	+3	+6	−5	+46**
		CsA			+3	+30	−5	+9	−36	+31*
前立腺	絶対重量	Mix-ISA247	0.73 g	NA	−14	NA	+3	NA	−25*	NA
		CsA			−3	NA	−14	NA	−37**	NA
	相対重量	Mix-ISA247	1.20% × 10	NA	−14	NA	−3	NA	−16	NA
		CsA			−2	NA	−13	NA	−23	NA

（続く）

投与量（mg/kg/日）			0（溶媒）		1.25		2.5		10	
動物数		主試験群 + 回復群	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6
臓器重量（%）[b]										
精巣	絶対重量	Mix-ISA247	3.75 g	NA	−2	NA	−5	NA	−7*	NA
		CsA			−1	NA	−5	NA	−2	NA
	相対重量	Mix-ISA247	6.16% × 10	NA	−2	NA	−8	NA	+6	NA
		CsA			+3	NA	−3	NA	+21**	NA
病理組織学的検査										
腎臓：尿細管の変性/再生		Mix-ISA247	4	3	12	4	12	3	16	5
		CsA			5	3	9	4	14	1
腎臓：リンパ球浸潤		Mix-ISA247	2	4	8	5	9	0	8	3
		CsA			0	3	6	3	8	3
腎臓：硝子円柱		Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	0	0
		CsA			0	0	1	0	8	0
腎臓：尿細管の鉱質沈着		Mix-ISA247	0	5	0	3	0	7	3	2
		CsA			0	2	1	3	4	9
腎臓：尿細管拡張		Mix-ISA247	0	1	0	0	0	0	4	0
		CsA			1	0	4	0	14	0
眼：白内障		Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	11	0
		CsA			0	0	0	1	8	0
脳：神経線維変性		Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	3	0
		CsA			0	0	0	0	1	1
脳：亜急性炎症		Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	3	0
		CsA			0	0	0	0	1	1
脳：グリオーシス		Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	5	0
		CsA			0	0	0	0	0	1

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		1.25		2.5		10	
動物数　　主試験群 ＋ 回復群		雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6
病理組織学的検査									
脊髄（頸部）：亜急性炎症	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	6	0
	CsA			0	0	0	0	1	1
脊髄（頸部）：神経線維変性	Mix-ISA247	0	0	0	2	1	2	7	4
	CsA			0	2	2	2	7	1
脊髄（頸部）：グリオーシス	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	2	0
	CsA			0	0	0	0	0	1
脊髄（胸部）：神経線維変性	Mix-ISA247	0	4	0	4	3	5	8	11
	CsA			0	6	5	6	7	7
脊髄（胸部）：亜急性炎症	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	4	0
	CsA			0	0	0	0	0	0
脊髄（胸部）：グリオーシス	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	3	0
	CsA			0	0	0	0	0	0
脊髄（腰部）：亜急性炎症	Mix-ISA247	0	0	0	0	2	0	9	0
	CsA			0	0	2	0	6	2
脊髄（腰部）：神経線維変性	Mix-ISA247	1	1	0	1	3	0	8	2
	CsA			1	0	5	0	5	5
脊髄（腰部）：グリオーシス	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	1	0
	CsA			0	0	0	0	0	0
神経（脳）：リンパ球浸潤	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	7	0
	CsA			0	0	0	0	6	0
神経（脳）：神経線維変性	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	5	0
	CsA			0	0	0	0	6	0
神経（坐骨）：神経線維変性	Mix-ISA247	0	0	0	1	0	1	8	0
	CsA			0	0	1	0	6	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		1.25		2.5		10	
動物数　主試験群 ＋ 回復群		雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6	雄 20 + 6	雌 20 + 6
病理組織学的検査									
神経（坐骨）：グリオーシス	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	2	0
	CsA			0	0	0	0	0	0
神経（坐骨）：亜急性炎症	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	7	0
	CsA			0	0	0	0	7	0
肺：亜急性炎症	Mix-ISA247	3	2	0	0	0	0	10	4
	CsA			0	0	0	0	10	4
肺：肺胞マクロファージ	Mix-ISA247	4	4	0	0	0	0	11	9
	CsA			0	0	0	0	13	7
胸腺：髄質の萎縮	Mix-ISA247	1	0	18	0	18	0	20	17
	CsA			0	0	18	1	17	16
回復性の評価									
一般状態		–	–	–	–	–	–	–	–
体重（%）[b]　回復 4 週									
Mix-ISA247		641.3 g	318.6 g	+2	+2	+4	+5	−10	+8
CsA				−1	+5	+2	+8	−17**	−1
摂餌量（%）[b]　回復 4 週									
Mix-ISA247		26.38 g	20.23 g	+17	0	+7	+1	+28	+3
CsA				+2	−2	+4	+2	+19	−6
FOB		–	–	–	–	–	–	–	–
血液学的検査		–	–	–	–	–	–	–	–
血液生化学的検査									
BUN（mg/dL）	Mix-ISA247	14.0	14.0	14.3	14.3	13.3	13.7	15.5	14.0
	CsA			15.3	14.3	14.0	13.7	25.3	12.7

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		1.25		2.5		10	
動物数　回復群	Mix-ISA247	雄 6	雌 5	雄 5	雌 6	雄 6	雌 6	雄 4	雌 6
	CsA			雄 6	雌 6	雄 6	雌 6	雄 6	雌 6
回復性の評価									
血液生化学的検査									
ALP（U/L）	Mix-ISA247	80.7	30.0	79.0	29.0	66.7	35.7	67.0	63.0*
	CsA			55.3	35.3	59.0	37.0	227.3	38.3
AST（U/L）	Mix-ISA247	64.3	83.0	89.7	69.3	93.0	84.7	75.5	93.0
	CsA			68.0	97.3	66.3	146.3	158.0*	124.3
ALT（U/L）	Mix-ISA247	35.3	43.0	53.0	33.0	39.7	45.7	35.5	59.0
	CsA			31.3	54.0	42.3	74.3	108.0*	71.0
グルコース（mg/dL）	Mix-ISA247	96.7	100.0	127.3	104.7	138.7	114.0	118.5	120.0
	CsA			119.3	100.3	108.7	114.7	271.0	145.3
尿検査									
尿量（mL）	Mix-ISA247	3.92	3.80	5.30	3.50	4.87	5.17	13.75	6.42
	CsA			3.42	5.58	6.67	6.67	22.92**	8.42
眼科学的検査：白内障	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	1	0
	CsA			1	0	0	0	1	0
病理組織学的検査									
腎臓：尿細管の変性/再生	Mix-ISA247	3	1	3	0	5	0	3	1
	CsA			1	1	3	0	6	1
眼：白内障	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	1	1	0
	CsA			0	0	0	0	2	0
脳：神経線維変性	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	1	0
	CsA			0	0	0	0	1	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		1.25		2.5		10	
動物数　回復群	Mix-ISA247	雄 6	雌 5	雄 5	雌 6	雄 6	雌 6	雄 4	雌 6
	CsA			雄 6	雌 6	雄 6	雌 6	雄 6	雌 6
回復性の評価									
病理組織学的検査									
脳：亜急性炎症	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	0	0
	CsA			0	0	0	0	1	0
脳：グリオーシス	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	1	0
	CsA			0	0	0	0	1	0
脊髄（頸部）：亜急性炎症	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	0	0
	CsA			0	0	0	0	1	0
脊髄（頸部）：神経線維変性	Mix-ISA247	1	1	2	0	2	0	1	0
	CsA			1	1	3	0	2	0
脊髄（胸部）：亜急性炎症	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	2	0
	CsA			0	0	0	0	1	0
脊髄（胸部）：神経線維変性	Mix-ISA247	0	0	1	0	4	1	2	1
	CsA			1	1	2	2	5	1
脊髄（腰部）：亜急性炎症	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	0	0
	CsA			0	0	0	0	1	0
脊髄（腰部）：神経線維変性	Mix-ISA247	1	1	0	2	1	0	2	0
	CsA			3	1	1	2	3	0
神経（脳）：リンパ球浸潤	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	2	0
	CsA			0	0	0	0	3	0
神経（脳）：神経線維変性	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	2	0
	CsA			0	0	0	0	3	0
神経（坐骨）：亜急性炎症	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	3	0
	CsA			0	0	0	0	4	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		1.25		2.5		10	
動物数　回復群	Mix-ISA247	雄 6	雌 5	雄 5	雌 6	雄 6	雌 6	雄 4	雌 6
	CsA			雄 6	雌 6	雄 6	雌 6	雄 6	雌 6
回復性の評価									
病理組織学的検査									
神経（坐骨）：神経線維変性	Mix-ISA247	0	0	0	0	3	0	3	0
	CsA			0	0	0	0	4	0
胸腺：髄質の萎縮	Mix-ISA247	1	0	1	0	0	0	1	1
	CsA			1	1	1	0	2	0

－：特記すべき所見なし，NA：該当なし

*p < 0.05，**p < 0.01（Dunnett の検定）

a：死亡数には，中間屠殺群，投与終了後屠殺群，及び回復期間終了後屠殺群のすべての動物を含む。

b：対照（溶媒）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。

c：当該所見が認められた動物数で示す。

2.6.7.7.4 ブリッジング試験：ラットにおける 13 週間反復経口投与比較毒性試験（4 週間回復性）

被験物質：Mix-ISA247，シス型 ISA247，ボクロスポリン（JAN），CsA

報告書の題名： ISA247 (mixture), cis-ISA247, trans-ISA247: 13-Week Oral (Gavage) Comparative Toxicity Study in the CD Rat

動物種/系統： ラット/SD　　投与期間： 13 週間　　報告書番号：ISA03-03

試験開始週齢： 6 週齢（受領時）　　休薬期間： 4 週間　　CTD における記載箇所（資料番号）： 4.2.3.2-09

初回投与年月日： 20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法： 強制経口　　GLP 適用：適

溶媒/投与形態： ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液

特記事項：CsA 投与群は 10 及び 25 mg/kg/日のみ設定した。投与 28 日目に雌雄各 5 例/群を中間屠殺した（データ提示なし）。投与終了後屠殺時（投与 13 週）及び休薬期間終了後屠殺時のデータを提示した。

無毒性量： 2.5 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
	TK 群			雄 6	雌 6	雄 6	雌 6	雄 6	雌 6
TK　投与 13 週（投与 86 日）									
Mix-ISA247	C_{max} (ng/mL)	NA	NA	57.5	58.6	464.0	196.1	1961.9	1358.7
	AUC_{24h} (ng·h/mL)	NA	NA	678.4	342.5	5458.1	1769.3	12228.3	10594.7
シス型 ISA247	C_{max} (ng/mL)	NA	NA	45.1	44.3	264.8	261.5	992.5	914.8
	AUC_{24h} (ng·h/mL)	NA	NA	452.9	212.4	2989.1	1169.1	8464.0	5905.4
ボクロスポリン	C_{max} (ng/mL)	NA	NA	82.5	68.2	504.3	427.7	1610.8	2350.1
	AUC_{24h} (ng·h/mL)	NA	NA	933.6	498.9	5204.5	3320.0	15479.3	17662.0
CsA	C_{max} (ng/mL)	NA	NA			1727.2	691.6	2967.2	3534.0
	AUC_{24h} (ng·h/mL)	NA	NA			18107.6	8358.0	52803.3	50458.7
死亡及び切迫屠殺動物数 [a]	Mix-ISA247	2	2	2	0	5	0	0	2
	シス型 ISA247			3	1	1	1	0	1
	ボクロスポリン			0	1	1	1	1	0
	CsA					0	1	1	2

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5
一般状態									
軟便	Mix-ISA247	−	−	−	−	−	−	＋	−
	シス型 ISA247			−	−	−	−	−	−
	ボクロスポリン			−	−	−	−	＋	＋
	CsA					＋	−	＋	＋
粗毛	Mix-ISA247	＋	−	−	−	＋	−	＋	−
	シス型 ISA247			−	−	−	−	−	−
	ボクロスポリン			−	−	＋	−	＋	−
	CsA					−	−	＋	−
削痩	Mix-ISA247	−	−	−	−	−	−	＋	−
	シス型 ISA247			−	−	−	−	＋	−
	ボクロスポリン			−	−	−	−	＋	−
	CsA					＋	−	＋	−
体重（%）[b] 投与 13 週	Mix-ISA247	507 g	319 g	+3	−5	−5	−2	−13*	+1
	シス型 ISA247			+10	−1	+3	−7	−1	−4
	ボクロスポリン			−2	−1	−11	+1	−36**	+6
	CsA					−6	−3	−32**	−4
摂餌量（%）[b] 投与 13 週	Mix-ISA247	24.4 g	21.4 g	+7	−7	+5	−5	+44**	−1
	シス型 ISA247			+11	0	+6	−11	+9	−10
	ボクロスポリン			−3	−9	+18	0	+48**	+9
	CsA					0	−8	+46**	+4

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
血液学的検査									
RBC（T/L）	Mix-ISA247	8.779	8.035	8.714	8.136	8.828	7.969	9.623**	8.272
	シス型 ISA247			8.734	8.119	8.975	8.365	9.202*	8.358
	ボクロスポリン			8.975	7.991	9.247	8.182	9.996**	8.583**
	CsA					9.085	8.220	9.551	8.097
Hb（mmol/L）	Mix-ISA247	9.68	9.33	9.48	9.29	9.56	9.19	10.15	9.22
	シス型 ISA247			9.45	9.28	9.65	9.35	9.54	9.28
	ボクロスポリン			9.56	9.25	9.70	9.23	10.68**	9.37
	CsA					9.65	9.13	10.05	8.96
Hct（相対値）	Mix-ISA247	0.4615	0.4438	0.4533	0.4437	0.4580	0.4353	0.4833*	0.4375
	シス型 ISA247			0.4509	0.4464	0.4567	0.4481	0.4527	0.4464
	ボクロスポリン			0.4560	0.4400	0.4608	0.4423	0.5042*	0.4479
	CsA					0.4587	0.4331	0.4775	0.4246*
MCV（fL）	Mix-ISA247	52.60	55.25	52.08	54.51	51.92	54.67	50.21**	52.85**
	シス型 ISA247			51.64	54.98	50.97*	53.51	49.13**	53.47
	ボクロスポリン			50.85*	55.18	49.83**	54.03	50.49**	52.10**
	CsA					50.53*	52.76**	50.02*	52.54**
赤血球容積分布幅（相対値）	Mix-ISA247	0.1278	0.1176	0.1322	0.1166	0.1302	0.1185	0.1312	0.1152
	シス型 ISA247			0.1273	0.1238*	0.1276	0.1193	0.1335	0.1206
	ボクロスポリン			0.1351	0.1175	0.1371*	0.1182	0.1393**	0.1254
	CsA					0.1348	0.1154	0.1392**	0.1256
MCH（fmol）	Mix-ISA247	1.105	1.164	1.087	1.143	1.083	1.155	1.055**	1.115**
	シス型 ISA247			1.082	1.144	1.075	1.116*	1.039**	1.111**
	ボクロスポリン			1.064*	1.161	1.050**	1.128	1.070	1.093**
	CsA					1.063*	1.111**	1.055*	1.109**

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
血液学的検査									
網状赤血球（絶対値，G/L）	Mix-ISA247	169.5	226.3	187.4	178.0	176.3	191.1	172.5	168.2*
	シス型 ISA247			175.1	243.7	182.9	246.4	178.9	251.6
	ボクロスポリン			223.3	193.8	232.4	218.5	238.9	234.4
	CsA					203.4	171.5	189.8	235.5
網状赤血球（相対値）	Mix-ISA247	0.0194	0.0282	0.0215	0.0220	0.0201	0.0241	0.0180	0.0204*
	シス型 ISA247			0.0200	0.0301	0.0206	0.0296	0.0191	0.0303
	ボクロスポリン			0.0250	0.0243	0.0253	0.0269	0.0239	0.0723
	CsA					0.0227	0.0209	0.0203	0.0292
ヘモグロビン濃度分布幅（mmol/L）	Mix-ISA247	1.659	1.448	1.671	1.391	1.560	1.365	1.571	1.548
	シス型 ISA247			1.645	1.610	1.622	1.548	1.629	1.579
	ボクロスポリン			1.930**	1.520	1.901**	1.549	1.852**	1.641**
	CsA					1.715	1.521	1.622	1.617
低蛍光網状赤血球比率（相対値）	Mix-ISA247	0.4669	0.4784	0.4357	0.5213	0.4831	0.4986	0.5031	0.5813**
	シス型 ISA247			0.4555	0.5029	0.4769	0.5186	0.4779	0.4941
	ボクロスポリン			0.5281	0.4362	0.5360	0.4863	0.5703**	0.4739
	CsA					0.5032	0.4618	0.5164	0.4369
中蛍光網状赤血球比率（相対値）	Mix-ISA247	0.3466	0.3379	0.3497	0.3002	0.3353	0.3135	0.3455	0.3062
	シス型 ISA247			0.3542	0.3390	0.3584	0.3686	0.3609	0.3889**
	ボクロスポリン			0.3788	0.3354	0.3507	0.3343	0.3381	0.3358
	CsA					0.3691	0.3287	0.3473	0.3167
高蛍光網状赤血球比率（相対値）	Mix-ISA247	0.1864	0.1838	0.2148	0.1786	0.1815	0.1877	0.1515	0.1103
	シス型 ISA247			0.1904	0.1579	0.1651	0.1128	0.1613	0.1169
	ボクロスポリン			0.0929**	0.2284	0.1136**	0.1795	0.0917**	0.1902
	CsA					0.1276*	0.2096	0.1365	0.2467

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
血液学的検査									
WBC（絶対値, G/L）	Mix-ISA247	9.311	4.909	9.788	4.140*	6.659**	3.511**	7.530*	3.135**
	シス型 ISA247			10.001	4.222	8.139	3.984*	8.308	3.381**
	ボクロスポリン			8.289	4.142	7.480	3.352**	8.364	5.671
	CsA					7.895	3.820*	12.683	4.514
単球（絶対値, G/L）	Mix-ISA247	0.265	0.136	0.283	0.115	0.253	0.119	0.316	0.127
	シス型 ISA247			0.327	0.131	0.307	0.118	0.304	0.119
	ボクロスポリン			0.269	0.115	0.258	0.129	0.356	0.316**
	CsA					0.265	0.167	0.702**	0.323**
単球（相対値）	Mix-ISA247	0.0285	0.0276	0.0296	0.0277	0.0375	0.0333	0.0403*	0.0411**
	シス型 ISA247			0.0332	0.0319	0.0381**	0.0301	0.0362*	0.0342
	ボクロスポリン			0.0322	0.0284	0.0349	0.0385	0.0424**	0.0534**
	CsA					0.0341	0.0450**	0.0532**	0.0706**
好中球（絶対値, G/L）	Mix-ISA247	1.463	1.078	1.377	0.863	1.074	0.965	1.107	0.715**
	シス型 ISA247			1.561	0.951	1.304	0.848	1.546	0.882
	ボクロスポリン			1.525	0.815	2.031	0.795	3.167*	1.534
	CsA					1.465	0.971	2.457	1.139
好中球（相対値）	Mix-ISA247	0.1560	0.2175	0.1412	0.2066	0.1628	0.2774*	0.1485	0.2327
	シス型 ISA247			0.1582	0.2296	0.1597	0.2194	0.1902	0.2599
	ボクロスポリン			0.1876	0.2011	0.2637*	0.2378	0.3640**	0.2669
	CsA					0.1757	0.2572	0.1876	0.2538
リンパ球（絶対値, G/L）	Mix-ISA247	7.238	3.486	7.838	2.985	5.119**	2.267**	5.831*	2.148**
	シス型 ISA247			7.787	2.964	6.248	2.857*	6.175	2.216**
	ボクロスポリン			6.141	3.058	4.852**	2.286**	4.591**	3.595
	CsA					5.890	2.476**	9.183	2.888

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
血液学的検査									
リンパ球（相対値）	Mix-ISA247	0.7784	0.7120	0.7986	0.7222	0.7675	0.6437*	0.7742	0.6793
	シス型 ISA247			0.7756	0.6954	0.7675	0.7098	0.7390	0.6586
	ボクロスポリン			0.7375	0.7335	0.6572*	0.6801	0.5650**	0.6401
	CsA					0.7545	0.6424	0.7317	0.6389
大型非染色細胞（絶対値，G/L）	Mix-ISA247	0.182	0.065	0.136	0.045	0.097	0.035**	0.117	0.032**
	シス型 ISA247			0.152	0.058	0.131	0.065	0.115	0.049
	ボクロスポリン			0.204	0.034*	0.216	0.033*	0.144	0.059
	CsA					0.139	0.045	0.151	0.042
好酸球（絶対値，G/L）	Mix-ISA247	0.138	0.127	0.136	0.120	0.093*	0.117	0.127	0.102
	シス型 ISA247			0.148	0.116	0.126	0.095	0.143	0.108
	ボクロスポリン			0.126	0.109	0.106	0.101	0.087	0.146
	CsA					0.116	0.147	0.127	0.103
血小板（絶対値，G/L）	Mix-ISA247	1043.5	995.5	1025.3	1024.5	1051.9	1013.7	933.1	1039.4
	シス型 ISA247			1049.4	1121.8	997.9	1107.5	985.9	1160.6
	ボクロスポリン			1019.7	1088.0	921.5	1079.2	821.5**	1020.6
	CsA					1021.4	1026.8	865.3*	902.8
プロトロンビン時間（相対値）	Mix-ISA247	0.768	0.879	0.721	0.855	0.748	0.835	0.769	0.847
	シス型 ISA247			0.677	0.849	0.715	0.823	0.755	0.858
	ボクロスポリン			0.718	0.805	0.808	0.801	0.872*	0.874
	CsA					0.680	0.819	0.791	0.860
APTT（秒）	Mix-ISA247	18.42	15.53	17.84	16.23	17.77	17.51**	16.96**	17.28*
	シス型 ISA247			19.90	15.62	21.20**	15.35	21.40**	16.03
	ボクロスポリン			17.46	16.34	16.68*	17.25	15.14**	16.63
	CsA					18.79	16.55	18.06	18.10**

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
血液学的検査									
フィブリノゲン（g/L）	Mix-ISA247	2.85	2.29	2.81	2.14	2.79	2.08*	2.60*	2.08*
	シス型 ISA247			2.85	2.06	2.84	1.99	2.99	2.11
	ボクロスポリン			2.74	2.04*	2.92	1.98*	2.83	2.37
	CsA					2.73	2.09	2.83	2.35
血液生化学的検査									
クレアチニン（μmol/L）	Mix-ISA247	22.29	27.49	22.04	30.39*	21.85	30.87*	22.37	28.65
	シス型 ISA247			22.25	27.88	21.43	27.13	20.93	26.07
	ボクロスポリン			21.75	27.20	20.64	27.71	25.19	26.35
	CsA					22.23	27.49	28.03*	28.33
尿素（mmol/L）	Mix-ISA247	4.841	6.186	4.799	6.791	5.204	7.056	9.157**	7.467**
	シス型 ISA247			4.663	6.262	4.749	6.240	5.114	6.263
	ボクロスポリン			4.737	6.072	6.958*	6.621	15.848**	9.160**
	CsA					5.906	6.881	19.391**	9.313*
総ビリルビン（μmol/L）	Mix-ISA247	2.092	2.974	1.958	2.740	2.626*	2.871	3.058**	3.514
	シス型 ISA247			1.981	2.946	2.412	3.082	2.761*	3.644*
	ボクロスポリン			2.033	2.970	2.159	3.131	3.883**	4.297
	CsA					4.333*	3.766	8.069*	7.497**
トリグリセリド（mmol/L）	Mix-ISA247	0.611	0.491	0.501	0.369	0.523	0.411	0.601	0.598*
	シス型 ISA247			0.640	0.363	0.556	0.373	0.870	0.412
	ボクロスポリン			0.607	0.390	0.613	0.419	0.606	1.210**
	CsA					0.699	0.366	0.781	1.036**

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
血液生化学的検査									
リン脂質（mmol/L）	Mix-ISA247	1.316	1.765	1.168	1.739	1.272	1.895	1.261	1.970
	シス型 ISA247			1.182	1.695	1.215	1.708	1.453	1.885
	ボクロスポリン			1.156	1.784	1.279	1.718	1.271	1.935
	CsA					1.275	1.853	1.205	1.900
AST（U/L）	Mix-ISA247	83.58	86.02	80.09	92.60	109.60	96.85	142.26	118.74
	シス型 ISA247			79.29	96.71	75.07	125.11	90.27	103.19
	ボクロスポリン			82.87	87.10	96.54	102.75	270.36**	125.49
	CsA					94.03	96.11	210.36*	116.17
ALT（U/L）	Mix-ISA247	38.01	33.85	38.25	34.99	47.49	36.86	89.33	47.43
	シス型 ISA247			41.73	35.23	38.11	48.58	47.21	37.28
	ボクロスポリン			39.01	31.47	53.94	42.51	177.21**	67.91
	CsA					48.75	38.71	150.91**	60.85
ALP（U/L）	Mix-ISA247	78.44	30.42	77.95	28.02	74.75	25.29	109.92	28.05
	シス型 ISA247			71.97	28.10	74.79	27.73	77.31	29.18
	ボクロスポリン			81.47	25.61	84.42	27.24	135.23*	35.27
	CsA					91.48	27.95	192.94**	32.07
アミラーゼ（U/L）	Mix-ISA247	1,847	1,459	1931	1300	1939	1309	2488**	1435
	シス型 ISA247			1918	1491	1895	1319	2199*	1539
	ボクロスポリン			1789	1435	2284	1595	2369*	1573
	CsA					1906	1107	2513**	1587
クレアチンキナーゼ（U/L）	Mix-ISA247	179.16	123.18	140.67	114.02	209.77	120.18	247.49	236.87
	シス型 ISA247			166.43	137.63	118.18	192.96	139.49	189.41
	ボクロスポリン			118.76	151.65	152.95	182.13*	345.12**	203.75**
	CsA					131.55	139.28	284.33*	185.34**

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5
血液生化学的検査									
乳酸脱水素酵素（U/L）	Mix-ISA247	246.67	173.97	178.26	152.23	289.03	136.59	274.70	206.48
	シス型 ISA247			167.29	236.73	145.46*	299.20	206.15	345.69**
	ボクロスポリン			142.35*	210.09	187.28	239.06	272.77	225.01
	CsA					147.67*	200.79	154.94	177.04
γ-グルタミルトランスフェラーゼ（U/L）	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	2.72	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	0	0
	ボクロスポリン			0.20	0	0.27	0	10.69**	0.52
	CsA					0	0	5.59**	0.77
グルタミン酸脱水素酵素（U/L）	Mix-ISA247	12.07	11.86	12.04	24.91	54.79	20.10	149.08	54.99
	シス型 ISA247			12.74	13.26	11.95	58.56	22.34	20.92
	ボクロスポリン			12.25	13.71	31.32	23.91	245.12**	63.67
	CsA					21.77	24.19	162.64**	40.56
ナトリウム（mmol/L）	Mix-ISA247	141.27	140.94	142.20	140.20	142.44**	140.17	143.29**	140.61
	シス型 ISA247			142.10	142.71**	142.91**	143.25**	143.33**	143.22**
	ボクロスポリン			141.97	143.11*	142.58	143.27*	145.16**	143.17*
	CsA					142.28	141.89	140.61	142.63*
カリウム（mmol/L）	Mix-ISA247	3.670	2.976	3.759	3.108	3.757	3.095	3.581	3.293
	シス型 ISA247			3.783	3.277	3.735	3.471**	3.627	3.542**
	ボクロスポリン			3.737	3.337*	3.721	3.380**	3.820	3.417**
	CsA					3.843	3.389**	4.216**	3.415**
カルシウム（mmol/L）	Mix-ISA247	2.634	2.634	2.633	2.642	2.605	2.667	2.635	2.715*
	シス型 ISA247			2.627	2.723*	2.643	2.782**	2.657	2.796**
	ボクロスポリン			2.661	2.691	2.675	2.691	2.569	2.729**
	CsA					2.641	2.673	2.544	2.864

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
血液生化学的検査									
クロール（mmol/L）	Mix-ISA247	102.45	102.61	103.66	104.17*	103.37	104.55**	102.13	104.52**
	シス型 ISA247			103.61	101.02	104.15**	102.12	103.63*	101.86
	ボクロスポリン			103.75	103.12	103.04	103.49	102.43	99.41*
	CsA					104.52	103.84	102.70	101.47
リン（mmol/L）	Mix-ISA247	1.894	1.498	1.947	1.391	2.043	1.405	2.323**	1.618
	シス型 ISA247			1.921	1.418	1.980	1.462	1.977	1.528
	ボクロスポリン			1.955	1.607	2.094	1.623	2.614**	1.638
	CsA					2.180**	1.635	2.356**	1.740
マグネシウム（mmol/L）	Mix-ISA247	0.808	0.868	0.779	0.872	0.711**	0.810*	0.657**	0.701**
	シス型 ISA247			0.786	0.884	0.753**	0.865	0.720**	0.809*
	ボクロスポリン			0.745	0.869	0.654**	0.780*	0.649**	0.597**
	CsA					0.675**	0.823	0.595**	0.629**
タンパク（g/L）	Mix-ISA247	65.819	63.998	64.959	64.103	64.718	66.959*	61.155**	62.917
	シス型 ISA247			64.875	65.233	64.811	65.269	67.295	65.118
	ボクロスポリン			65.049	64.683	65.308	64.062	58.679**	62.021
	CsA					64.300	64.741	60.204**	60.869*
アルブミン（g/L）	Mix-ISA247	40.948	43.757	40.072	44.013	39.640	44.477	39.106	43.464
	シス型 ISA247			40.183	44.491	40.033	45.094	40.807	44.389
	ボクロスポリン			40.081	45.198	38.830	44.747	36.181**	42.085
	CsA					39.227	43.475	35.890**	41.029*
グロブリン（g/L）	Mix-ISA247	24.871	20.241	24.886	20.089	25.078	22.483*	22.049*	19.453
	シス型 ISA247			24.692	20.743	24.777	20.175	26.489	20.728
	ボクロスポリン			24.969	19.485	26.478	19.315	22.496	19.937
	CsA					25.073	21.286	24.314	19.840

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5
血液生化学的検査									
グルコース（mmol/L）	Mix-ISA247	5.649	4.910	5.565	5.427	6.053	5.667	5.351	5.560
	シス型 ISA247			6.149	3.917	5.726	4.443	5.968	4.162
	ボクロスポリン			6.155	4.595	6.881	5.457	6.585	5.365
	CsA					6.468	5.135	10.571	5.144
尿検査									
尿量（mL）	Mix-ISA247	6.06	6.34	5.85	5.89	5.37	5.92	7.91	4.69
	シス型 ISA247			6.58	5.52	5.73	5.89	5.67	5.25
	ボクロスポリン			7.37	5.28	10.21	6.46	20.47##	13.38#
	CsA					8.14	8.61	14.15##	8.45
浸透圧（mosm/kg）	Mix-ISA247	1543.9	1305.8	1604.2	1411.1	1738.3	1358.1	1515.2	1648.4#
	シス型 ISA247			1460.5	1467.3	1641.3	1414.7	1590.4	1424.9
	ボクロスポリン			1463.0	1261.7	1199.6#	1242.4	1059.8##	943.1#
	CsA					1416.2	1013.1	1164.0#	1104.3
pH	Mix-ISA247	7.50	6.38	7.04	6.40	6.77##	6.40	6.43##	6.07
	シス型 ISA247			6.90#	6.14	7.47	6.73	6.90	6.73
	ボクロスポリン			7.37	6.87	6.97	6.53	6.54##	6.33
	CsA					7.27	6.80	6.18##	6.27
グルコース（mmol/L）	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	19.1##	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	0.4	0
	ボクロスポリン			0	0	15.1	0	52.4##	15.7#
	CsA					3.7	0	52.2##	13.1#

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5
尿検査									
ビリルビン（μmol/L）	Mix-ISA247	1.3	0	6.1	0	10.2#	2.3	9.1#	7.9##
	シス型 ISA247			4.5	1.2	6.8	5.7	9.1	3.4
	ボクロスポリン			5.7	3.4	0	5.7	1.2	2.3
	CsA					6.8	0	4.9	5.7
赤血球（/μL）	Mix-ISA247	8.1	3.1	11.8	4.0	12.3	5.7	19.0##	5.3
	シス型 ISA247			12.0	4.6	23.7	4.7	10.3	4.7
	ボクロスポリン			4.7	2.0	4.7	12.7	17.5#	15.0
	CsA					8.3	0.7	18.6#	6.3
クレアチニン（μmol/L）	Mix-ISA247	16,097	9,541.7	17,258	11,515	20,368	10,230	12,980	15,148
	シス型 ISA247			17,263	10,984	16,924	10,617	17,026	11,019
	ボクロスポリン			14,757	11,716	9,536.6#	11,815	3,837.5##	5,788.3#
	CsA					13,339	7,679.8	4,845.9##	7,147.9
ナトリウム（mmol/L）	Mix-ISA247	65.20	67.18	62.31	75.43	62.45	68.99	53.66	66.74
	シス型 ISA247			58.85	68.71	62.74	73.81	47.85*	57.80
	ボクロスポリン			64.09	71.66	57.21	55.43	57.39	55.34
	CsA					46.25	60.62	46.58	56.18
カリウム（mmol/L）	Mix-ISA247	200.63	139.91	233.40	153.78	261.71	152.85	156.67	204.49##
	シス型 ISA247			216.65	152.86	209.05	165.95	248.59	175.39
	ボクロスポリン			193.36	151.77	135.34	151.07	73.21##	99.83
	CsA					190.28	128.31	79.09##	130.03

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
眼科学的検査									
角膜混濁 [c]	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	2	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	0	1
	ボクロスポリン			0	0	0	0	5*	0
	CsA					1	0	4	0
剖検									
十二指腸：肥厚	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	0	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	0	0
	ボクロスポリン			0	0	1	0	4	1
	CsA					0	0	1	0
盲腸：拡張	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	0	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	0	0
	ボクロスポリン			0	0	1	0	5	1
	CsA					0	0	1	0
腎臓：腎盂拡張	Mix-ISA247	0	0	0	0	1	0	2	0
	シス型 ISA247			0	0	1	0	0	0
	ボクロスポリン			0	0	1	0	3	0
	CsA					0	0	4	0
胸腺：小型	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	2	0
	シス型 ISA247			1	0	0	0	0	0
	ボクロスポリン			0	0	0	0	7	0
	CsA					0	0	5	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
臓器重量（%）[b]									
前立腺（絶対重量）	Mix-ISA247	1.20 g	NA	+11	NA	+8	NA	−28	NA
	シス型 ISA247			+24	NA	+8	NA	−8	NA
	ボクロスポリン			+1	NA	−10	NA	−52**	NA
	CsA					−8	NA	−46**	NA
前立腺（相対重量）	Mix-ISA247	0.26%	NA	0	NA	+8	NA	−19	NA
	シス型 ISA247			+12	NA	−4	NA	−12	NA
	ボクロスポリン			0	NA	−4	NA	−35*	NA
	CsA					−12	NA	−27	NA
下垂体（絶対重量）	Mix-ISA247	0.013 g	0.017 g	0	−12	0	−18*	−15	−24**
	シス型 ISA247			0	−12	0	−18	−15	−12
	ボクロスポリン			−15	0	−23	−18*	−31**	−24**
	CsA					−15	−24**	−31**	−35**
下垂体（相対重量）	Mix-ISA247	0.003%	0.006%	0	−17	0	−17**	0	−33**
	シス型 ISA247			0	−17**	0	−17*	−33	−17**
	ボクロスポリン			−33	−17	−33	−17**	0	−33**
	CsA					−33	−33**	0	−33**
胸腺（絶対重量）	Mix-ISA247	0.26 g	0.31 g	+15	−19	+8	−13	−31	−16
	シス型 ISA247			+4	−19	−8	−23	+12	−16
	ボクロスポリン			−8	−6	−15	−13	−58**	−16
	CsA					+23	0	−62**	−19
胸腺（相対重量）	Mix-ISA247	0.05%	0.11%	+20	−18	+20	−18	−20	−18
	シス型 ISA247			0	−27	0	−27	+20	−27
	ボクロスポリン			0	−18	0	−27	−40*	−27
	CsA					+40	−9	−40*	−27

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
病理組織学的検査									
検査例数 [d]	Mix-ISA247	10	10	12	10	13	10	10	10
	シス型 ISA247			13	10	10	11	10	10
	ボクロスポリン			10	10	10	10	10	10
	CsA					10	10	10	12
腎臓：尿細管の変性/再生	Mix-ISA247	7	0	4	0	3[$]	1	10	1
	シス型 ISA247			4	0	3	1	7	0
	ボクロスポリン			4	1	9	4[$]	9	7[$$]
	CsA					9	1	10	9[$$]
腎臓：皮髄の鉱質沈着	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	2	10[$$]	1
	シス型 ISA247			0	1	0	3	2	1
	ボクロスポリン			0	0	0	1	6[$$]	4[$]
	CsA					0	2	0	6[$]
胸腺：髄質の萎縮	Mix-ISA247	0	0	0	0	12[$$]	10[$$]	8[$$]	10[$$]
	シス型 ISA247			0	0	10[$$]	4	10[$$]	10[$$]
	ボクロスポリン			2	0	10[$$]	10[$$]	9[$$]	10[$$]
	CsA					10[$$]	10 [$$]	9[$$]	12 [$$]
胸腺：可染体マクロファージ	Mix-ISA247	0	0	0	1	9[$$]	8[$$]	6[$$]	9[$$]
	シス型 ISA247			0	0	3	1	6[$$]	5[$]
	ボクロスポリン			1	0	9[$$]	9[$$]	2	9[$$]
	CsA					10[$$]	7[$$]	7[$$]	9[$$]
胸腺：皮質の萎縮	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	2	1
	シス型 ISA247			0	0	0	3	0	1
	ボクロスポリン			2	0	0	0	6[$$]	1
	CsA					0	2	3	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
病理組織学的検査									
下顎リンパ節：胚中心の萎縮	Mix-ISA247	0	0	0	0	1	3	10$^{\$\$}$	5$^{\$}$
	シス型 ISA247			0	1	1	3	0	0
	ボクロスポリン			3	1	5$^{\$}$	3	9$^{\$\$}$	10$^{\$\$}$
	CsA					3	1	10$^{\$\$}$	9$^{\$\$}$
下顎リンパ節：胚中心の活性化	Mix-ISA247	0	0	0	0	1	0	0	0
	シス型 ISA247			1	0	0	0	6$^{\$\$}$	10$^{\$\$}$
	ボクロスポリン			0	0	1	0	0	0
	CsA					0	0	0	0
眼：外水晶体線維変性	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	3	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	0	0
	ボクロスポリン			0	0	2	0	3$^{\$}$	0
	CsA					0	0	5$^{\$}$	0
眼：水晶体変性	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	0	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	0	0
	ボクロスポリン			0	0	0	0	3	1
	CsA					0	0	3	0
脳：血管周囲炎	Mix-ISA247	0	0	0	0	1	0	2	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	1	0
	ボクロスポリン			0	0	5$^{\$}$	0	2	0
	CsA					4$^{\$}$	0	0	0
脳：ミクログリア増生	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	1	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	0	0
	ボクロスポリン			0	0	0	0	0	0
	CsA					0	0	0	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
病理組織学的検査									
脳：空胞化	Mix-ISA247	0	0	0	0	1	0	0	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	1	0
	ボクロスポリン			0	0	3	0	3	0
	CsA					4[$]	0	0	0
脳：細胞変性	Mix-ISA247	0	0	0	0	1	0	0	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	0	0
	ボクロスポリン			0	0	0	0	0	0
	CsA					0	0	0	0
坐骨神経：神経線維変性	Mix-ISA247	0	0	0	0	7[$$]	1	2	0
	シス型 ISA247			0	1	0	2	2	0
	ボクロスポリン			0	4	3	1	0	0
	CsA					3	1	0	0
坐骨神経：炎症	Mix-ISA247	0	0	0	0	3	0	1	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	2	0
	ボクロスポリン			0	0	3	1	2	0
	CsA					3	0	0	0
回復性の評価									
一般状態									
軟便	Mix-ISA247	−	−	−	−	−	−	+	−
	シス型 ISA247			−	−	−	−	−	−
	ボクロスポリン			−	−	−	−	+	+
	CsA					+	−	+	+

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数　回復群	Mix-ISA247	雄 4	雌 4	雄 5	雌 5	雄 3	雌 5	雄 5	雌 3
	シス型 ISA247			雄 5	雌 4	雄 5	雌 5	雄 5	雌 4
	ボクロスポリン			雄 5	雌 5	雄 4	雌 5	雄 5	雌 5
	CsA					雄 5	雌 4	雄 5	雌 5
回復性の評価									
一般状態									
粗毛	Mix-ISA247	−	−	−	−	−	−	+	−
	シス型 ISA247			−	−	−	−	−	−
	ボクロスポリン			−	−	+	−	+	−
	CsA					−	−	+	−
削痩	Mix-ISA247	−	−	−	−	−	−	+	−
	シス型 ISA247			−	−	−	−	+	−
	ボクロスポリン			−	−	−	−	+	−
	CsA					+	−	+	−
体重（%）[b] 回復 4 週	Mix-ISA247	550 g	346 g	−12	−10	−7	−5	−15	−1
	シス型 ISA247			+15	−5	0	−13	+5	−13
	ボクロスポリン			−2	−5	−11	−4	−37**	−8
	CsA					−6	−9	−29**	−18
摂餌量（%）[b] 回復 4 週	Mix-ISA247	24.8 g	18.2 g	−8	+2	−4	+13	+33	+16
	シス型 ISA247			+17	+18	0	−7	+9	+1
	ボクロスポリン			−2	+3	+13	+5	+30	+5
	CsA					−4	+6	+45	+3

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数　回復群	Mix-ISA247	雄 4	雌 4	雄 5	雌 5	雄 3	雌 5	雄 5	雌 3
	シス型 ISA247			雄 5	雌 4	雄 5	雌 5	雄 5	雌 4
	ボクロスポリン			雄 5	雌 5	雄 4	雌 5	雄 5	雌 5
	CsA					雄 5	雌 4	雄 5	雌 5
回復性の評価									
血液学的検査									
WBC（絶対値, G/L）	Mix-ISA247	8.852	3.673	8.934	4.564	8.430	3.616	7.250	4.403
	シス型 ISA247			8.248	2.932	9.002	3.842	8.680	4.367
	ボクロスポリン			8.418	3.910	7.593	3.022	6.206	4.198
	CsA					8.382	2.700	6.728	4.704
リンパ球（絶対値, G/L）	Mix-ISA247	6.655	2.583	6.978	3.418	5.675	2.522	5.214	3.117
	シス型 ISA247			5.630	1.977	6.907	2.732	6.556	2.938
	ボクロスポリン			6.140	2.824	6.130	2.132	3.862*	2.580
	CsA					6.498	1.883	5.078	3.404
網状赤血球（絶対値，G/L）	Mix-ISA247	155.0	105.7	148.8	113.8	127.0	119.4	132.4	126.0
	シス型 ISA247			186.4	105.8	152.3	95.2	163.6	109.3
	ボクロスポリン			149.8	104.2	141.3	127.6	79.0	77.6
	CsA					145.2	106.0	84.8*	114.4
網状赤血球（相対値）	Mix-ISA247	0.0175	0.0133	0.0176	0.0140	0.0145	0.0146	0.0144	0.0180
	シス型 ISA247			0.0216	0.0132	0.0172	0.0118	0.0192	0.0137
	ボクロスポリン			0.0174	0.0130	0.0155	0.0158	0.0092	0.0088
	CsA					0.0166	0.0133	0.0088*	0.0140
低蛍光網状赤血球比率（相対値）	Mix-ISA247	0.4633	0.5087	0.4818	0.6072	0.5565	0.4986	0.5928*	0.5357
	シス型 ISA247			0.4224	0.5452	0.4787	0.5352	0.4472	0.5060
	ボクロスポリン			0.4716	0.5170	0.5332	0.5550	0.7260*	0.6582
	CsA					0.5372	0.4960	0.7316**	0.5990

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数　回復群	Mix-ISA247	雄 4	雌 4	雄 5	雌 5	雄 3	雌 5	雄 5	雌 3
	シス型 ISA247			雄 5	雌 4	雄 5	雌 5	雄 5	雌 4
	ボクロスポリン			雄 5	雌 5	雄 4	雌 5	雄 5	雌 5
	CsA					雄 5	雌 4	雄 5	雌 5
回復性の評価									
血液学的検査									
高蛍光網状赤血球比率（相対値）	Mix-ISA247	0.1647	0.1697	0.1812	0.0786	0.1010	0.1578	0.1156	0.1260
	シス型 ISA247			0.2250	0.1140	0.1475	0.1290	0.1868	0.1472
	ボクロスポリン			0.1512	0.1442	0.1235	0.1218	0.0672	0.0510
	CsA					0.1098	0.1213	0.0458**	0.0906
血液生化学的検査									
クレアチンキナーゼ（U/L）	Mix-ISA247	173.93	116.20	176.36	111.66	121.70	136.34	222.38	123.40
	シス型 ISA247			220.76	119.20	143.46	135.64	220.26	129.18
	ボクロスポリン			122.38	141.70	241.25	258.64**	276.26	247.56**
	CsA					174.88	169.35	223.62	167.42
乳酸脱水素酵素（U/L）	Mix-ISA247	264.15	141.40	275.18	160.44	208.10	191.68	286.76	187.53
	シス型 ISA247			414.76	171.75	160.56	206.88	442.40	197.88
	ボクロスポリン			369.10	249.42	485.38	395.06**	500.66	387.42**
	CsA					353.98	322.92**	308.24	220.10
ALT（U/L）	Mix-ISA247	44.10	28.92	37.82	33.30	45.93	35.10	80.30	43.27
	シス型 ISA247			49.86	40.58	48.04	41.46	63.48	43.85
	ボクロスポリン			37.72	42.36	51.53	55.70	127.36	39.58
	CsA					44.44	40.75	56.36	53.60

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数　回復群	Mix-ISA247	雄 4	雌 4	雄 5	雌 5	雄 3	雌 5	雄 5	雌 3
	シス型 ISA247			雄 5	雌 4	雄 5	雌 5	雄 5	雌 4
	ボクロスポリン			雄 5	雌 5	雄 4	雌 5	雄 5	雌 5
	CsA					雄 5	雌 4	雄 5	雌 5
回復性の評価									
血液生化学的検査									
ALP（U/L）	Mix-ISA247	63.28	23.98	76.70	25.34	66.33	22.02	127.88	25.07
	シス型 ISA247			67.90	30.83	64.06	21.94	70.02	25.45
	ボクロスポリン			69.80	24.46	69.00	25.14	165.48*	31.66
	CsA					79.00	26.40	132.32	36.06
γ-グルタミルトランスフェラーゼ（U/L）	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	3.58	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	0	0
	ボクロスポリン			0	0	0.70	0	38.34	0.40
	CsA					0	0	0.74	0
カルシウム（mmolL）	Mix-ISA247	2.745	2.697	2.678	2.808*	2.640	2.804*	2.658	2.753
	シス型 ISA247			2.798	2.697	2.714	2.804	2.672	2.793
	ボクロスポリン			2.168	2.958**	2.783	2.924**	2.594	2.916**
	CsA					2.500	2.775	2.304	2.732
タンパク（g/L）	Mix-ISA247	69.402	66.845	67.250	70.434*	68.303	72.800**	65.252	66.257
	シス型 ISA247			69.172	68.675	68.688	70.288	68.422	70.480
	ボクロスポリン			72.646	76.132**	74.205	76.194**	66.772	77.854**
	CsA					75.122	71.338	69.228	69.818
グロブリン（g/L）	Mix-ISA247	26.653	20.975	25.326	20.986	27.977	23.854*	24.692	18.927
	シス型 ISA247			26.424	20.882	27.226	20.560	26.630	21.290
	ボクロスポリン			32.814	24.288	32.605	23.016	29.522	30.846**
	CsA					32.786	23.400	35.296	24.250

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数　回復群	Mix-ISA247	雄 4	雌 4	雄 5	雌 5	雄 3	雌 5	雄 5	雌 3
	シス型 ISA247			雄 5	雌 4	雄 5	雌 5	雄 5	雌 4
	ボクロスポリン			雄 5	雌 5	雄 4	雌 5	雄 5	雌 5
	CsA					雄 5	雌 4	雄 5	雌 5
回復性の評価									
尿検査									
アルブミン/グロブリン比	Mix-ISA247	1.610	2.195	1.682	2.378	1.447	2.054	1.662	2.517
	シス型 ISA247			1.626	2.295	1.528	2.438	1.576	2.315
	ボクロスポリン			1.312	2.136	1.295	2.318	1.310	1.572**
	CsA					1.064	2.060	1.148	1.888
尿量（mL）	Mix-ISA247	8.35	5.97	7.38	8.06	10.23	7.58	16.16	7.67
	シス型 ISA247			9.28	8.27	9.18	7.24	8.04	6.30
	ボクロスポリン			8.26	6.60	8.82	6.32	23.76**	7.60
	CsA					6.06	7.80	18.78*	14.54
グルコース（mmolL）	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	22.4	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	0	0
	ボクロスポリン			0	0	14.0	0	56.0#	0
	CsA					0	0	44.8	3.4
pH	Mix-ISA247	8.50	6.13	8.00	6.00	7.67	6.00	6.60##	6.00
	シス型 ISA247			7.20	6.00	7.80	6.00	7.20	6.00
	ボクロスポリン			7.30	6.10	6.75	6.10	6.30##	6.30
	CsA					7.20	6.25	6.60#	6.00
ナトリウム（mmol/L）	Mix-ISA247	66.05	41.55	61.80	60.78	64.10	46.58	64.20	42.83
	シス型 ISA247			47.88	56.15	52.48	50.44	31.18**	50.63
	ボクロスポリン			55.04	67.16*	60.97	72.58*	82.76	72.24*
	CsA					62.22	68.20*	57.76	41.94

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数　回復群	Mix-ISA247	雄 4	雌 4	雄 5	雌 5	雄 3	雌 5	雄 5	雌 3
	シス型 ISA247			雄 5	雌 4	雄 5	雌 5	雄 5	雌 4
	ボクロスポリン			雄 5	雌 5	雄 4	雌 5	雄 5	雌 5
	CsA					雄 5	雌 4	雄 5	雌 5
回復性の評価									
尿検査									
カリウム（mmol/L）	Mix-ISA247	38.80	49.70	72.88	46.72	73.27	62.84	63.02	30.93
	シス型 ISA247			80.56*	57.00	76.64*	68.08	101.52**	78.40**
	ボクロスポリン			168.94**	123.12**	133.65*	120.16**	64.36	105.94**
	CsA					154.50**	92.10*	67.18	78.84
クレアチニン（μmol/L）	Mix-ISA247	3,472.5	8,070.5	6266.0	7919.6	6161.7	6225.0	6019.6	5039.7
	シス型 ISA247			5258.4	6924.0	7885.6**	7604.6	8358.4**	7288.5
	ボクロスポリン			13553*	7740.8	9480.8	8809.0	3305.2	6916.2
	CsA					14361	7315.0	4192.6	5587.6
眼科学的検査	Mix-ISA247	–	–	–	–	–	–	–	–
	シス型 ISA247			–	–	–	–	–	–
	ボクロスポリン			–	–	–	–	–	–
	CsA					–	–	–	–
剖検									
結腸：拡張	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	0	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	0	0
	ボクロスポリン			0	0	0	0	4	0
	CsA					0	0	0	1
臓器重量		–	–	–	–	–	–	–	–

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		25	
動物数　回復群	Mix-ISA247	雄 4	雌 4	雄 5	雌 5	雄 3	雌 5	雄 5	雌 3
	シス型 ISA247			雄 5	雌 4	雄 5	雌 5	雄 5	雌 4
	ボクロスポリン			雄 5	雌 5	雄 4	雌 5	雄 5	雌 5
	CsA					雄 5	雌 4	雄 5	雌 5
回復性の評価									
病理組織学的検査									
眼：水晶体変性	Mix-ISA247	0	1	0	0	0	0	1	1
	シス型 ISA247			0	0	0	0	0	0
	ボクロスポリン			0	0	0	0	3	0
	CsA					0	0	4$	1
腎臓：皮質の尿細管変性/再生	Mix-ISA247	1	1	0	0	1	0	4	1
	シス型 ISA247			0	0	1	1	0	1
	ボクロスポリン			2	0	4	1	3	4
	CsA					1	0	5$	5$
腎臓：皮髄の鉱質沈着	Mix-ISA247	0	0	0	0	2	1	1	0
	シス型 ISA247			0	0	0	0	3	0
	ボクロスポリン			0	1	3	1	0	4$
	CsA					0	0	2	5$$
下顎リンパ節：胚中心活性化	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	0	5$$	0
	シス型 ISA247			0	0	4$	0	5$$	3
	ボクロスポリン			0	0	3	3	1	3
	CsA					5$$	0	2	4$
腋窩リンパ節：胚中心活性化	Mix-ISA247	0	0	0	0	0	2	0	1
	シス型 ISA247			0	0	0	0	2	0
	ボクロスポリン			0	0	1	0	0	0
	CsA					4$	0	1	3

+：所見あり，−：特記すべき所見なし，NA：該当なし

*p < 0.05，**p < 0.01（Dunnett の検定）
#p < 0.05，##p < 0.01（Kruskal-Wallis 検定又は Kruskal-Wallis + Dunn 検定）
$p < 0.05，$$p < 0.01（Fisher の検定）
a：死亡数には，中間屠殺群，投与終了後屠殺群，及び回復期間終了後屠殺群のすべての動物を含む。
b：対照（溶媒）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。
c：当該所見が認められた動物数で示す。
d：主試験群の動物に死亡例が散見されたため，TK 群の動物の一部を病理組織学的検査に供した。

2.6.7.7.5　ラットにおける 13 週間反復経口投与比較毒性試験（4 週間回復性）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）

報告書の題名：　A 13-Week Repeat Dose Oral Gavage Toxicity Study of ISA247 Formulations in Rats Followed by a 28-Day Recovery Period
動物種/系統：　ラット/SD　　投与期間：　13 週間　　報告書番号：ISA05-11
試験開始週齢：　約 9 週齢　　休薬期間：　4 週間　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-10
初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：　強制経口　　GLP 適用：適
溶媒/投与形態：　MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）又はビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液
特記事項：被験物質はビタミン E 非配合溶媒中のボクロスポリン（nVE ボクロスポリン），参照物質はビタミン E 配合溶媒中のボクロスポリン（VE ボクロスポリン）。参照物質は 10 及び 25 mg/kg/日群のみ設定した。

無毒性量：　2.5 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）			0（溶媒，nVE）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群		雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5
	TK 群				雄 9	雌 9	雄 9	雌 9	雄 9	雌 9
TK										
nVE ボクロスポリン	C_{max} (ng/mL)	投与 1 日	NA	NA	188.5	94.3	1313.6	819.9	2637.4	1761.0
		投与 13 週	NA	NA	356.2	148.8	878.0	806.9	1740.8	1481.2
	AUC_{24h} (ng·h/mL)	投与 1 日	NA	NA	1490.5	621.1	12741.7	8666.7	25891.4	12287.6
		投与 13 週	NA	NA	2621.4	863.4	7762.4	5195.2	13116.5	9533.6
VE ボクロスポリン	C_{max} (ng/mL)	投与 1 日	NA	NA			548.1	559.5	2180.7	1453.6
		投与 13 週	NA	NA			557.6	450.1	1506.6	1503.5
	AUC_{24h} (ng·h/mL)	投与 1 日	NA	NA			5697.5	2610.2	22342.3	11160.7
		投与 13 週	NA	NA			4824.0	2735.0	13461.2	10276.5
死亡及び切迫屠殺動物数 [a]	nVE ボクロスポリン		0	0	0	0	1	0	1	0
	VE ボクロスポリン						4	1	2	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒，nVE）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5
一般状態									
削痩	nVE ボクロスポリン	−	−	＋	−	＋	−	＋	−
	VE ボクロスポリン					＋	−	＋	−
軟便	nVE ボクロスポリン	＋	＋	−	−	＋	−	＋	−
	VE ボクロスポリン					＋	−	＋	−
皮膚弛緩	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	＋	−	＋	−
	VE ボクロスポリン					＋	−	＋	−
鼻周囲赤色物	nVE ボクロスポリン	−	＋	＋	＋	＋	−	＋	−
	VE ボクロスポリン					＋	−	−	−
口周囲赤色物 [d]	nVE ボクロスポリン	−	−	＋	−	＋	−	＋	−
	VE ボクロスポリン					＋	＋	＋	−
腹部体幹周辺の赤色物 [d]	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	−	−	＋	−
	VE ボクロスポリン					＋	−	＋	−
泌尿・生殖器領域周辺の赤色物 [d]	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	＋	−	＋	＋
	VE ボクロスポリン					＋	−	＋	−
肛門性器領域周辺の赤色物 [d]	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	＋	−	＋	＋
	VE ボクロスポリン					＋	−	＋	−
後肢周辺の赤色物	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	−	−	＋	−
	VE ボクロスポリン					＋	−	−	−
前肢周辺の赤色物	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	＋	＋	＋	−
	VE ボクロスポリン					＋	−	−	−
切歯破損/歯列不整（上下顎の延例数）	nVE ボクロスポリン	−	−	−	＋	−	＋	＋	＋
	VE ボクロスポリン					＋	−	＋	＋
過剰な歯肉組織	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	＋	＋	＋	＋
	VE ボクロスポリン					＋	＋	＋	＋

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒，nVE）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5
一般状態									
歯肉発赤	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	＋	＋	＋	＋
	VE ボクロスポリン					−	−	＋	＋
泌尿・生殖器領域周辺の黄色物 [d]	nVE ボクロスポリン	−	−	＋	＋	＋	＋	＋	＋
	VE ボクロスポリン					＋	＋	＋	＋
肛門性器領域周辺の黄色物 [d]	nVE ボクロスポリン	−	−	−	＋	＋	＋	＋	＋
	VE ボクロスポリン					＋	＋	＋	＋
腹部体幹周辺の黄色物 [d]	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	＋	＋	＋	−
	VE ボクロスポリン					−	−	＋	＋
後肢周辺の黄色物 [d]	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	＋	＋	＋	＋
	VE ボクロスポリン					−	−	＋	＋
体重（%）[b] 投与 13 週	nVE ボクロスポリン	549 g	315 g	+1	+5	−17**	+2	−22**	−2
	VE ボクロスポリン					−11*	0	−22**	+2
摂餌量（%）[b] 投与 13 週	nVE ボクロスポリン	31g	22 g	−6	+5	+87**	+9	+71**	+41**
	VE ボクロスポリン					+6	+5	+84**	+27
血液学的検査									
RBC（10^6/μL）	nVE ボクロスポリン	8.97	8.36	8.90	8.06	9.68*	8.16	9.70*	8.41
	VE ボクロスポリン					9.55	8.04	9.86**	8.03
WBC（10^3/μL）	nVE ボクロスポリン	8.88	5.72	7.47	4.57	6.57	4.44	8.74	4.08*
	VE ボクロスポリン					6.26	4.47	7.41	3.91*
Hb（g/dL）	nVE ボクロスポリン	15.8	15.4	15.1	14.8	16.4	14.8	16.2	14.9
	VE ボクロスポリン					15.3	14.5*	16.4	14.4**
血小板（10^3/μL）	nVE ボクロスポリン	927	1000	986	967	714**	908	706**	866
	VE ボクロスポリン					930	859	773	884

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒，nVE）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
血液学的検査									
APTT（秒）	nVE ボクロスポリン	20.6	17.1	21.7	16.6	17.1*	17.0	15.9**	16.9
	VE ボクロスポリン					19.7	16.5	16.0**	16.1
好中球（相対値）	nVE ボクロスポリン	13.8	13.2	23.5	20.0	28.0*	16.4	28.5**	20.6
	VE ボクロスポリン					21.6	23.2**	37.7**	21.4**
リンパ球（相対値）	nVE ボクロスポリン	81.7	82.6	71.2	74.9	67.1*	77.6	65.6**	74.1
	VE ボクロスポリン					72.7	71.0**	56.2**	72.2*
血清生化学的検査									
アルブミン（g/dL）	nVE ボクロスポリン	4.3	5.3	4.1	5.2	3.7**	5.1	3.5**	4.7*
	VE ボクロスポリン					4.1	5.0	3.4**	4.9
総タンパク（g/dL）	nVE ボクロスポリン	7.0	8.3	6.8	8.0	6.3**	7.6*	6.2**	7.4**
	VE ボクロスポリン					7.2	7.7	6.5*	7.3**
マグネシウム（mEq/L）	nVE ボクロスポリン	2.4	2.8	2.2	2.6	2.1*	2.2**	1.8**	1.9**
	VE ボクロスポリン					2.1*	2.5*	1.9**	2.1**
ALP（U/L）	nVE ボクロスポリン	94	37	85	41	213	55	216	65
	VE ボクロスポリン					106	47	383**	54
BUN（mg/dL）	nVE ボクロスポリン	14.3	16.3	16.6	17.4	38.2**	21.5	50.5**	26.1**
	VE ボクロスポリン					19.8	19.7	51.2**	22.1
γ-グルタミルトランスフェラーゼ（U/L）	nVE ボクロスポリン	0.7	1.0	0.8	1.2	5.7	0.8	3.5	1.5
	VE ボクロスポリン					0.8	1.4	7.1	1.4
グルコース（mg/dL）	nVE ボクロスポリン	124	123	123	121	252*	119	199	117
	VE ボクロスポリン					131	120	242*	114
カルシウム（mg/dL）	nVE ボクロスポリン	10.9	11.6	10.8	11.6	10.7	11.6	10.6	11.4
	VE ボクロスポリン					10.9	11.5	10.3**	11.5

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒，nVE）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
血清生化学的検査									
クロール（mmol/L）	nVE ボクロスポリン	105	105	105	106	99**	106	101	103
	VE ボクロスポリン					103	107	98**	106
リン（mg/dL）	nVE ボクロスポリン	7.0	6.9	7.4	6.9	9.1**	7.3	8.4**	7.3
	VE ボクロスポリン					7.7	6.9	8.7**	7.2
ALT（U/L）	nVE ボクロスポリン	46	39	44	50	217**	46	86	85**
	VE ボクロスポリン					73	46	182*	49
AST（U/L）	nVE ボクロスポリン	91	91	90	118	350*	85	134	144
	VE ボクロスポリン					127	84	293	90
尿検査									
pH	nVE ボクロスポリン	7.0	6.7	6.9	6.8	6.5	6.8	6.3	6.1*
	VE ボクロスポリン					6.9	6.8	6.5	6.8
カリウム（mEq/L）	nVE ボクロスポリン	171.91	118.03	177.72	179.16	70.73**	135.04	74.07**	132.30
	VE ボクロスポリン					128.89	160.53	66.80**	130.25
クレアチニン（mg/dL）	nVE ボクロスポリン	127.5	75.6	152.0	112.9	40.0**	81.9	49.3**	70.7
	VE ボクロスポリン					85.9	93.4	41.9**	79.2
グルコース [c]	nVE ボクロスポリン	0	0	0	0	10	1	9	4
	VE ボクロスポリン					6	0	10	1
尿量（mL）	nVE ボクロスポリン	11.3	9.1	9.9	5.3	35.6**	9.4	22.7	11.5
	VE ボクロスポリン					19.1	8.0	26.1*	15.7

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒，nVE）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
剖検									
腎臓：表面粗造	nVE ボクロスポリン	0	0	0	0	1	0	4	0
	VE ボクロスポリン					0	0	3	0
歯：歯列不整	nVE ボクロスポリン	0	0	0	0	0	1	3	1
	VE ボクロスポリン					1	0	1	0
歯：破折	nVE ボクロスポリン	0	0	0	0	0	0	2	0
	VE ボクロスポリン					0	0	0	0
胸腺：小型	nVE ボクロスポリン	0	0	0	0	0	0	0	0
	VE ボクロスポリン					0	0	4	0
臓器重量（%）[b]									
腎臓：絶対重量	nVE ボクロスポリン	3.57 g	2.19 g	−1	−2	+28**	+5	+15	+12
	VE ボクロスポリン					+6	−5	+15	+8
腎臓：相対重量	nVE ボクロスポリン	0.694%	0.741%	−6	−5	+57**	+1	+50**	+17**
	VE ボクロスポリン					+15	−4	+58**	+6
胸腺：絶対重量	nVE ボクロスポリン	0.2236 g	0.2279 g	+27	+19	−24	+35	−16	+3
	VE ボクロスポリン					+36	+24	−51**	+22
胸腺：相対重量	nVE ボクロスポリン	0.043%	0.078%	+23	+14	−7	+28	+12	+5
	VE ボクロスポリン					+51*	+24	−33	+18
病理組織学的検査									
腎臓：尿細管再生	nVE ボクロスポリン	1	1	3	2	10	1	10	5
	VE ボクロスポリン					8	1	10	9
腎臓：硝子円柱	nVE ボクロスポリン	2	1	1	0	1	0	1	1
	VE ボクロスポリン					1	0	3	2

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒，nVE）		2.5		10		25	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5	雄 10＋5	雌 10＋5
病理組織学的検査									
腎臓：慢性進行性腎症	nVE ボクロスポリン	1	0	0	0	0	0	0	0
	VE ボクロスポリン					0	0	0	0
腎臓：鉱質沈着	nVE ボクロスポリン	0	9	0	7	10	9	10	10
	VE ボクロスポリン					8	9	10	10
腎臓：尿細管上皮空胞化	nVE ボクロスポリン	0	0	0	0	9	0	10	3
	VE ボクロスポリン					2	0	10	4
腎臓：尿細管変性	nVE ボクロスポリン	0	0	0	0	2	0	3	0
	VE ボクロスポリン					0	0	0	0
腎臓：糸球体硬化症	nVE ボクロスポリン	0	0	1	0	3	0	1	0
	VE ボクロスポリン					1	0	7	1
胸腺：萎縮	nVE ボクロスポリン	0	0	2	0	10	9	10	10
	VE ボクロスポリン					10	7	9	10
胸腺：可染体マクロファージ	nVE ボクロスポリン	0	0	2	1	7	9	9	10
	VE ボクロスポリン					9	8	3	10
眼：水晶体変性	nVE ボクロスポリン	0	0	0	0	1	0	8	3
	VE ボクロスポリン					0	0	8	0
歯：切歯異形成	nVE ボクロスポリン	1	0	5	1	5	1	6	3
	VE ボクロスポリン					3	1	6	5
回復性の評価									
一般状態									
軟便	nVE ボクロスポリン	＋	－	－	－	＋	－	－	－
	VE ボクロスポリン					－	－	－	－
過剰な歯肉組織	nVE ボクロスポリン	－	－	－	－	＋	－	－	－
	VE ボクロスポリン					－	－	＋	－

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒，nVE）		2.5		10		25	
動物数　回復群	nVE ボクロスポリン	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
	VE ボクロスポリン					雄 1	雌 4	雄 3	雌 5
回復性の評価									
一般状態									
削痩	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	+	−	−	−
	VE ボクロスポリン					−	−	−	−
皮膚弛緩	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	+	−	−	−
	VE ボクロスポリン					−	−	−	−
口周囲赤色物	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	+	−	−	−
	VE ボクロスポリン					−	−	−	−
腹部体幹周辺の赤色物	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	+	−	−	−
	VE ボクロスポリン					−	−	−	−
泌尿・生殖器領域周辺の赤色物 [d]	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	+	−	−	−
	VE ボクロスポリン					−	−	+	−
肛門性器領域周辺の赤色物	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	+	−	−	−
	VE ボクロスポリン					−	−	−	−
肛門性器領域周辺の黄色物	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	−	−	−	−
	VE ボクロスポリン					−	−	+	−
前肢周辺の赤色物	nVE ボクロスポリン	−	−	−	−	+	−	−	−
	VE ボクロスポリン					−	−	−	−
体重（%）[b]	nVE ボクロスポリン	598 g	319 g	−7	+9	−21**	−2	−28**	−2
回復 4 週	VE ボクロスポリン					−14	+4	−21**	+3
摂餌量（%）[b]	nVE ボクロスポリン	32 g	22 g	−9	+9	NA	+5	+103	+18
回復 4 週	VE ボクロスポリン					−6	+9	NA	+9

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒，nVE）		2.5		10		25	
動物数　回復群	nVE ボクロスポリン	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
	VE ボクロスポリン					雄 1	雌 4	雄 3	雌 5
回復性の評価									
血液学的検査									
WBC（10^3/μL）	nVE ボクロスポリン	9.78	7.23	8.61	5.52	10.08	5.24	8.47	6.56
	VE ボクロスポリン					7.37	5.20	6.91	6.39
RBC（10^6/μL）	nVE ボクロスポリン	9.13	8.41	9.31	8.43	9.96	8.78	9.92	9.10*
	VE ボクロスポリン					9.03	8.91	9.76	9.11*
Hb（g/dL）	nVE ボクロスポリン	15.7	15.5	16.1	15.6	16.9	15.9	17.4*	16.2
	VE ボクロスポリン					15.7	16.3	16.6	16.0
血小板（10^3/μL）	nVE ボクロスポリン	856	1092	786	1114	801	870	676	941
	VE ボクロスポリン					1092	834	782	965
APTT（秒）	nVE ボクロスポリン	18.9	16.6	17.6	17.7	16.9	15.9	16.0	17.2
	VE ボクロスポリン					17.8	18.2	16.0	16.5
好中球（相対値）	nVE ボクロスポリン	22.8	20.5	16.9	16.9	41.0	19.1	31.9	20.4
	VE ボクロスポリン					14.3	17.2	37.1	15.6
リンパ球（相対値）	nVE ボクロスポリン	72.3	74.4	77.3	77.5	53.3	74.5	62.6	74.1
	VE ボクロスポリン					82.3	76.7	57.3	78.6
血清生化学的検査									
アルブミン（g/dL）	nVE ボクロスポリン	4.3	5.1	4.3	5.5	3.8*	5.5	4.0	4.9
	VE ボクロスポリン					4.6	5.2	3.8**	5.4
総タンパク（g/dL）	nVE ボクロスポリン	7.3	7.9	7.2	8.3	6.7*	8.2	7.1	8.0
	VE ボクロスポリン					7.7	7.9	6.8	8.1
マグネシウム（mEq/L）	nVE ボクロスポリン	2.6	2.7	2.6	3.0	2.5	2.6	2.5	2.9
	VE ボクロスポリン					2.7	2.8	2.4	2.8

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒，nVE）		2.5		10		25	
動物数　回復群	nVE ボクロスポリン	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
	VE ボクロスポリン					雄 1	雌 4	雄 3	雌 5
回復性の評価									
血清生化学的検査									
ALP（U/L）	nVE ボクロスポリン	105	35	82	37	259	50	329**	66**
	VE ボクロスポリン					105	42	192	43
BUN（mg/dL）	nVE ボクロスポリン	14.3	19.4	16.8	15.8	33.5**	18.7	39.8**	20.8
	VE ボクロスポリン					13.7	18.5	31.5**	17.8
γ-グルタミルトランスフェラーゼ（U/L）	nVE ボクロスポリン	NA	NA	NA	NA	0.9	0.5	2.2	0.4
	VE ボクロスポリン					NA	0.2	6.6	0.4
グルコース（mg/dL）	nVE ボクロスポリン	124	107	116	106	139	113	224	108
	VE ボクロスポリン					136	105	267	113
カルシウム（mg/dL）	nVE ボクロスポリン	11.1	11.5	11.0	11.5	10.0*	11.6	10.8	11.4
	VE ボクロスポリン					11.5	11.6	10.3	11.3
クロール（mEq/L）	nVE ボクロスポリン	102	103	103	102	99	104	98	103
	VE ボクロスポリン					103	104	99	104
リン（mg/dL）	nVE ボクロスポリン	7.8	6.1	7.4	6.3	8.6	6.1	8.3	7.0
	VE ボクロスポリン					8.3	6.6	7.6	6.1
ALT（U/L）	nVE ボクロスポリン	67	58	47	66	140	44	75	43
	VE ボクロスポリン					44	44	150	44
AST（U/L）	nVE ボクロスポリン	131	119	101	103	254*	94	157	103
	VE ボクロスポリン					96	95	236*	95
尿検査									
pH	nVE ボクロスポリン	7.1	6.8	6.7	6.3	7.0	6.2	6.4	6.6
	VE ボクロスポリン					7.0	7.0	6.8	6.5

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒，nVE）		2.5		10		25	
動物数　回復群	nVE ボクロスポリン	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
	VE ボクロスポリン					雄 1	雌 4	雄 3	雌 5
回復性の評価									
尿検査									
カリウム（mEq/L）	nVE ボクロスポリン	212.33	168.24	216.96	154.87	57.28*	217.57	75.65*	189.92
	VE ボクロスポリン					259.00	153.52	57.36*	210.31
クレアチニン（mg/dL）	nVE ボクロスポリン	156.6	97.5	185.4	91.9	34.3*	126.3	38.6*	116.2
	VE ボクロスポリン					141.8	97.9	36.3*	120.7
グルコース（mmol/L）[c]	nVE ボクロスポリン	0	0	0	0	3	0	4	2
	VE ボクロスポリン					0	1	3	1
尿量（mL）	nVE ボクロスポリン	8.0	5.8	7.2	7.2	36.3**	4.4	22.3	4.6
	VE ボクロスポリン					7.0	4.3	36.3**	4.2
剖検									
腎臓：表面粗造	nVE ボクロスポリン	0	0	0	0	0	0	1	0
	VE ボクロスポリン					0	0	0	0
臓器重量（%）[b]									
腎臓：絶対重量	nVE ボクロスポリン	3.66 g	2.22 g	−3	0	+32**	0	+25*	+9
	VE ボクロスポリン					+5	0	+29*	+4
腎臓：相対重量	nVE ボクロスポリン	0.646%	0.741%	+4	−5	+78**	+3	+82**	+12*
	VE ボクロスポリン					+20	−4	+70**	+1
胸腺：絶対重量	nVE ボクロスポリン	0.1783 g	0.2015 g	+38	−20	−19	+20	−34	+21
	VE ボクロスポリン					+12	−1	−24	+45*
胸腺：相対重量	nVE ボクロスポリン	0.031%	0.067%	+45	−24	+13	+24	−3	+25
	VE ボクロスポリン					+29	−3	0	+42*

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒，nVE）		2.5		10		25	
動物数　回復群	nVE ボクロスポリン	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
	VE ボクロスポリン					雄 1	雌 4	雄 3	雌 5
回復性の評価									
病理組織学的検査									
腎臓：尿細管再生	nVE ボクロスポリン	2	0	2	1	3	1	4	3
	VE ボクロスポリン					1	0	3	1
腎臓：硝子円柱	nVE ボクロスポリン	1	0	0	0	2	0	0	1
	VE ボクロスポリン					0	1	0	2
腎臓：鉱質沈着	nVE ボクロスポリン	0	5	0	3	3	5	4	5
	VE ボクロスポリン					1	4	3	5
腎臓：尿細管上皮空胞化	nVE ボクロスポリン	0	0	0	0	3	0	4	0
	VE ボクロスポリン					0	0	3	0
腎臓：糸球体硬化症	nVE ボクロスポリン	1	0	0	0	1	0	0	1
	VE ボクロスポリン					0	0	0	0
胸腺：萎縮	nVE ボクロスポリン	0	0	0	0	0	0	0	0
	VE ボクロスポリン					0	0	1	0
眼：水晶体変性	nVE ボクロスポリン	0	0	0	0	2	0	2	0
	VE ボクロスポリン					0	0	2	0
歯：切歯異形成	nVE ボクロスポリン	0	0	1	2	0	0	1	1
	VE ボクロスポリン					0	1	2	0

+：所見あり，−：特記すべき所見なし，NA：該当なし

*p < 0.05，**p < 0.01（Dunnett の検定）

a：死亡数には，主試験群及び回復試験群のすべての動物を含む。

b：対照（溶媒）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。

c：当該所見が認められた動物数で示す。

d：乾燥及び湿潤付着物の延例数。

2.6.7.7.6　ラットにおける 13 週間反復経口投与 2 バッチ比較毒性試験（4 週間回復性）

被験物質：ボクロスポリン（JAN）

報告書の題名：　A 13-week Comparative Oral Toxicity Study of Two Batches of Voclosporin Followed by a 4-Week Recovery Period in Sprague-Dawley Rats

動物種/系統：　ラット/SD　　投与期間：　13 週間　　報告書番号：ISA09-21

投与開始週齢：　8 週齢　　休薬期間：　4 週間　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-11

初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：　強制経口　　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：　ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液

特記事項：被験物質に 2 バッチのボクロスポリンを使用した（バッチ [redacted] 及び [redacted]）。

無毒性量：　該当なし

投与量（mg/kg/日）			0（溶媒）		25	
動物数	主試験群 + 回復群		雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
	TK 群		雄 3	雌 3	雄 6	雌 6
TK						
バッチ [redacted]	C_{max} (ng/mL)	投与 1 日	NA	NA	1310.6	1480.9
		投与 13 週	NA	NA	1258.4	1180.6
	AUC_{24h} (ng·h/mL)	投与 1 日	NA	NA	16861.4	10487.8
		投与 13 週	NA	NA	10802.9	10609.3
バッチ [redacted]	C_{max} (ng/mL)	投与 1 日	NA	NA	1639.2	1638.8
		投与 13 週	NA	NA	1681.3	1564.2
	AUC_{24h} (ng·h/mL)	投与 1 日	NA	NA	17081.4	15867.6
		投与 13 週	NA	NA	13051.6	10291.0
死亡及び切迫屠殺動物数 [a]	バッチ [redacted]		0	0	1	1
	バッチ [redacted]				0	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数　　主試験群 ＋ 回復群		雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
一般状態					
被毛湿潤	バッチ[redacted]	−	−	＋	＋
	バッチ[redacted]			＋	−
被毛の汚れ	バッチ[redacted]	−	−	＋	＋
	バッチ[redacted]			＋	＋
皮膚の褪色	バッチ[redacted]	−	−	＋	＋
	バッチ[redacted]			＋	−
腫脹	バッチ[redacted]	−	−	＋	＋
	バッチ[redacted]			＋	−
乾燥物質	バッチ[redacted]	＋	＋	＋	＋
	バッチ[redacted]			＋	＋
粥状物質	バッチ[redacted]	−	−	＋	−
	バッチ[redacted]			＋	−
脱毛	バッチ[redacted]	＋	＋	＋	＋
	バッチ[redacted]			＋	＋
体重（%）[b]　　投与 13 週	バッチ[redacted]	606 g	345 g	−22***	−3
	バッチ[redacted]			−25***	−1
摂餌量（%）[b]　　投与 13 週	バッチ[redacted]	151 g	162 g	+105***	+13
	バッチ[redacted]			+96***	+48
血液学的検査					
RBC（10^{12}/L）	バッチ[redacted]	8.20	7.68	9.40***	7.94
	バッチ[redacted]			9.37***	7.83
Hb（g/L）	バッチ[redacted]	143	143	155***	144
	バッチ[redacted]			158***	140

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
血液学的検査					
Hct（L/L）	バッチ [redacted]	0.43	0.41	0.46***	0.42
	バッチ [redacted]			0.46***	0.41
MCV（fL）	バッチ [redacted]	52.0	53.9	48.9**	52.7
	バッチ [redacted]			49.6*	52.3
MCH（pg）	バッチ [redacted]	17.5	18.6	16.5**	18.1
	バッチ [redacted]			16.9	17.9*
平均赤血球ヘモグロビン濃度（g/L）	バッチ [redacted]	336	345	338	344
	バッチ [redacted]			340	343
血小板（10^9/L）	バッチ [redacted]	1,052	1,005	891*	934
	バッチ [redacted]			774***	929
網状赤血球率（%）	バッチ [redacted]	2.37	1.93	2.31	1.84
	バッチ [redacted]			1.73*,$	1.76
網状赤血球（10^{12}/L）	バッチ [redacted]	0.193	0.148	0.217	0.146
	バッチ [redacted]			0.161$	0.137
白血球（10^9/L）	バッチ [redacted]	9.59	6.30	14.17	3.89*
	バッチ [redacted]			9.43	4.98
好中球（10^9/L）	バッチ [redacted]	1.66	1.11	3.71**	0.96
	バッチ [redacted]			2.40	0.99
リンパ球（10^9/L）	バッチ [redacted]	7.07	4.61	9.14	2.55**
	バッチ [redacted]			6.13	3.50
単球（10^9/L）	バッチ [redacted]	0.36	0.27	0.82**	0.21
	バッチ [redacted]			0.46$	0.27
好酸球（10^9/L）	バッチ [redacted]	0.16	0.10	0.14	0.07
	バッチ [redacted]			0.10	0.09

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
血液学的検査					
好塩基球（10^9/L）	バッチ[redacted]	0.04	0.03	0.08	0.01
	バッチ[redacted]			0.05	0.02
大型非染色細胞（10^9/L）	バッチ[redacted]	0.30	0.18	0.26	0.09
	バッチ[redacted]			0.29	0.11
プロトロンビン時間（秒）	バッチ[redacted]	14.9	14.7	15.6*	15.0
	バッチ[redacted]			16.3***,#	15.2
APTT（秒）	バッチ[redacted]	19.2	18.7	15.3***	17.6
	バッチ[redacted]			16.0***	18.0
血液生化学的検査					
ALT（U/L）	バッチ[redacted]	29	50	54**	37
	バッチ[redacted]			83***	36
AST（U/L）	バッチ[redacted]	137	124	170	150
	バッチ[redacted]			247***,$	126
ALP（U/L）	バッチ[redacted]	57	29	80*	36*
	バッチ[redacted]			78	38
総ビリルビン（μmol/L）	バッチ[redacted]	2.6	2.5	3.8**	3.5***
	バッチ[redacted]			4.4***	3.9***
総コレステロール（mmol/L）	バッチ[redacted]	2.30	2.03	1.45***	2.23
	バッチ[redacted]			1.50***	2.19
トリグリセリド（mmol/L）	バッチ[redacted]	0.88	0.49	0.68	0.63
	バッチ[redacted]			0.50***	0.70
グルコース（mmol/L）	バッチ[redacted]	6.9	7.5	8.6	7.0
	バッチ[redacted]			9.7**	7.8

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
血液生化学的検査					
総タンパク（g/L）	バッチ [redacted]	67	75	60**	69*
	バッチ [redacted]			61**	73
アルブミン（g/L）	バッチ [redacted]	41	49	33***	46
	バッチ [redacted]			34***	48
グロブリン（g/L）	バッチ [redacted]	27	26	26	24
	バッチ [redacted]			28	25
アルブミン/グロブリン比	バッチ [redacted]	1.5	1.9	1.3	2.0
	バッチ [redacted]			1.3*	2.0
尿素（mmol/L）	バッチ [redacted]	4.8	4.5	10.8***	5.8**
	バッチ [redacted]			12.4***	5.6**
クレアチニン（µmol/L）	バッチ [redacted]	28	36	26	31
	バッチ [redacted]			30#	32
カルシウム（mmol/L）	バッチ [redacted]	2.54	2.63	2.36***	2.59
	バッチ [redacted]			2.44*	2.69$
無機リン（mmol/L）	バッチ [redacted]	2.17	1.94	2.68***	2.22*
	バッチ [redacted]			2.50**	2.27*
ナトリウム（mmol/L）	バッチ [redacted]	144	144	144	144
	バッチ [redacted]			144	143
カリウム（mmol/L）	バッチ [redacted]	4.9	4.4	5.2	4.9
	バッチ [redacted]			5.1	4.7
クロール（mmol/L）	バッチ [redacted]	101	102	100	103
	バッチ [redacted]			101	101

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
尿検査 [c]					
グルコース	バッチ [redacted]	0	0	8	0
	バッチ [redacted]			10	0
潜血	バッチ [redacted]	2	1	6	0
	バッチ [redacted]			4	0
眼科学的検査：白内障	バッチ [redacted]	0	0	14	0
	バッチ [redacted]			15	1
剖検					
胸腺：小型	バッチ [redacted]	1	0	2	0
	バッチ [redacted]			1	0
脾臓：淡色，膨隆領域	バッチ [redacted]	0	0	2	1
	バッチ [redacted]			2	0
腸骨リンパ節：大型	バッチ [redacted]	0	0	4	0
	バッチ [redacted]			4	0
腎リンパ節：暗色領域	バッチ [redacted]	0	0	1	0
	バッチ [redacted]			0	0
腎リンパ節：暗色変化	バッチ [redacted]	0	0	0	0
	バッチ [redacted]			0	1
腎リンパ節：大型	バッチ [redacted]	0	1	3	0
	バッチ [redacted]			1	0
下顎リンパ節：暗色巣	バッチ [redacted]	2	1	0	1
	バッチ [redacted]			0	2
下顎リンパ節：暗色変化	バッチ [redacted]	1	0	1	2
	バッチ [redacted]			0	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数　　主試験群 + 回復群		雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
剖検					
下顎リンパ節：大型	バッチ[redacted]	3	1	5	4
	バッチ[redacted]			5	2
腎：変形，腎盂拡張，斑点形成，淡色巣，不規則な表面，及び/又は大型	バッチ[redacted]	1	0	6	0
	バッチ[redacted]			8	1
膀胱：肥厚	バッチ[redacted]	0	0	2	0
	バッチ[redacted]			4	0
前立腺：硬化，腫瘤，斑点形成，淡色領域/褪色	バッチ[redacted]	0	NA	2	NA
	バッチ[redacted]			3	NA
陰茎：肥厚	バッチ[redacted]	0	NA	5	NA
	バッチ[redacted]			2	NA
下顎腺：ゼラチン状物質	バッチ[redacted]	0	0	0	0
	バッチ[redacted]			2	0
胃：暗色巣/領域，膨隆領域，肥厚，拡張	バッチ[redacted]	0	0	5	0
	バッチ[redacted]			4	0
十二指腸/回腸/空腸/盲腸/結腸：拡張及び/又は肥厚	バッチ[redacted]	0	0	2	0
	バッチ[redacted]			2	0
臓器重量（%）[b]					
副腎：絶対重量	バッチ[redacted]	0.0578 g	0.0787 g	+47***	−11
	バッチ[redacted]			+51***	−12
副腎：相対重量	バッチ[redacted]	0.0099%	0.0236%	+99***	−3
	バッチ[redacted]			+105***	−8

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数	主試験群 + 回復群	雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
臓器重量（%）[b]					
脳：絶対重量	バッチ[redacted]	2.1866 g	2.1083 g	+3	−2
	バッチ[redacted]			0	−1
脳：相対重量	バッチ[redacted]	0.3728%	0.6388%	+40***	+6
	バッチ[redacted]			+36***	+3
腎臓：絶対重量	バッチ[redacted]	3.3759 g	2.1098 g	+18**	−9
	バッチ[redacted]			+10	−1
腎臓：相対重量	バッチ[redacted]	0.5744%	0.6361%	+61***	−1
	バッチ[redacted]			+50***	+3
前立腺：絶対重量	バッチ[redacted]	1.2811 g	NA	−27**	NA
	バッチ[redacted]			−45***	NA
前立腺：相対重量	バッチ[redacted]	0.2185%	NA	−4	NA
	バッチ[redacted]			−26*	NA
脾臓：絶対重量	バッチ[redacted]	0.9481 g	0.5993 g	+1	+2
	バッチ[redacted]			+6	+9
脾臓：相対重量	バッチ[redacted]	0.1616%	0.1803%	+36**	+9
	バッチ[redacted]			+43***	+14
胸腺：絶対重量	バッチ[redacted]	0.2020 g	0.1992 g	−35*	+8
	バッチ[redacted]			−24	+22
胸腺：相対重量	バッチ[redacted]	0.0350%	0.0606%	−15	+15
	バッチ[redacted]			0	+25
病理組織学的検査 [d]					
脳：萎縮，血管周囲性細胞浸潤，変性，脳室拡張，グリオーシス，鉱質沈着	バッチ[redacted]	1	1	3	5
	バッチ[redacted]			2	3

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数　主試験群 + 回復群		雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
病理組織学的検査 [d]					
脊髄（頸部）：萎縮，血管周囲性細胞浸潤，軸索変性，グリオーシス，及び/又はうっ血/出血	バッチ [redacted]	0	0	3	4
	バッチ [redacted]			0	2
坐骨神経：限局性細胞浸潤，軸索変性	バッチ [redacted]	0	0	1	4
	バッチ [redacted]			3	0
眼：水晶体の白内障（両側性）	バッチ [redacted]	0	0	9	0
	バッチ [redacted]			10	0
膵臓：膵島萎縮，空胞化	バッチ [redacted]	0	0	9	4
	バッチ [redacted]			10	5
腎臓：尿細管の変性/再生	バッチ [redacted]	0	0	9	0
	バッチ [redacted]			10	0
腎臓：皮髄の鉱質沈着	バッチ [redacted]	0	9	9	7
	バッチ [redacted]			10	8
腎臓：腎盂拡張	バッチ [redacted]	1	0	2	0
	バッチ [redacted]			7	3
腎臓：腎盂炎	バッチ [redacted]	0	1	3	0
	バッチ [redacted]			3	2
脾臓：リンパ組織の萎縮	バッチ [redacted]	0	0	5	1
	バッチ [redacted]			9	3
胸腺：萎縮	バッチ [redacted]	0	1	8	2
	バッチ [redacted]			7	1
腸骨リンパ節：形質細胞増多	バッチ [redacted]	0	0	4	0
	バッチ [redacted]			4	0
下顎リンパ節：形質細胞増多	バッチ [redacted]	3	1	8	5
	バッチ [redacted]			5	8

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数　　主試験群 ＋ 回復群		雄 10 + 5	雌 10 + 5	雄 10 + 5	雌 10 + 5
病理組織学的検査 [d]					
腎リンパ節：形質細胞増多	バッチ [redacted]	0	0	2	0
	バッチ [redacted]			0	0
胃：うっ血	バッチ [redacted]	1	0	1	0
	バッチ [redacted]			0	0
胃：びらん	バッチ [redacted]	0	0	1	0
	バッチ [redacted]			1	0
胃（腺胃）：びらん	バッチ [redacted]	0	0	0	0
	バッチ [redacted]			3	0
胃：上皮びまん性過形成	バッチ [redacted]	0	0	3	0
	バッチ [redacted]			2	0
胃：炎症	バッチ [redacted]	0	0	0	0
	バッチ [redacted]			1	0
胃：動脈壁における鉱質沈着	バッチ [redacted]	0	0	0	0
	バッチ [redacted]			1	0
胃：筋肉における鉱質沈着	バッチ [redacted]	0	0	0	0
	バッチ [redacted]			0	1
胃：上皮の再生	バッチ [redacted]	1	0	0	0
	バッチ [redacted]			0	0
胃：潰瘍	バッチ [redacted]	0	0	0	0
	バッチ [redacted]			1	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）			0（溶媒）		25	
動物数		回復群	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
回復性の評価						
一般状態		バッチ[redacted]	–	–	–	–
		バッチ[redacted]			–	–
体重（%）[b]	回復 4 週	バッチ[redacted]	627 g	341 g	−17*	+4
		バッチ[redacted]			−27***	+1
摂餌量（%）[b]	回復 4 週	バッチ[redacted]	155 g	142 g	+87***	−4
		バッチ[redacted]			+92***	−6
血液学的検査						
RBC（10^{12}/L）		バッチ[redacted]	8.54	7.86	9.20*	7.44
		バッチ[redacted]			9.23*	8.02
Hb（g/L）		バッチ[redacted]	146	144	154	135
		バッチ[redacted]			154	145$
Hct（L/L）		バッチ[redacted]	0.44	0.42	0.46	0.40
		バッチ[redacted]			0.46	0.43$
プロトロンビン時間（秒）		バッチ[redacted]	15.4	14.6	16.6*	15.2
		バッチ[redacted]			16.5	15.9**,#
APTT（秒）		バッチ[redacted]	19.4	18.8	17.3	18.7
		バッチ[redacted]			16.1**	19.3
血液生化学的検査						
ALT（U/L）		バッチ[redacted]	41	43	54	42
		バッチ[redacted]			58	28$
AST（U/L）		バッチ[redacted]	124	108	211*	127
		バッチ[redacted]			195	127
ALP（U/L）		バッチ[redacted]	66	21	95	26
		バッチ[redacted]			125**	33*

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数	回復群	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
回復性の評価					
血液生化学的検査					
グルコース（mmol/L）	バッチ[redacted]	8.4	9.7	11.6	8.7
	バッチ[redacted]			13.9**	9.6
アルブミン（g/L）	バッチ[redacted]	39	51	34**	48
	バッチ[redacted]			33***	47
アルブミン/グロブリン比	バッチ[redacted]	1.6	2.2	1.3*	1.9
	バッチ[redacted]			1.3*	2.0
尿素（mmol/L）	バッチ[redacted]	5.4	4.9	9.0**	5.5
	バッチ[redacted]			9.9**	5.3
カルシウム（mmol/L）	バッチ[redacted]	2.62	2.74	2.50*	2.67
	バッチ[redacted]			2.48*	2.66
ナトリウム（mmol/L）	バッチ[redacted]	145	144	143	145
	バッチ[redacted]			143	147*,$
カリウム（mmol/L）	バッチ[redacted]	4.9	4.5	5.1	4.7
	バッチ[redacted]			5.4**,$	4.7
クロール（mmol/L）	バッチ[redacted]	101	101	99	104*
	バッチ[redacted]			99	105**
尿検査 [c]					
グルコース	バッチ[redacted]	0	0	4	0
	バッチ[redacted]			5	0
潜血	バッチ[redacted]	2	2	2	2
	バッチ[redacted]			3	1
眼科学的検査：白内障	バッチ[redacted]	0	0	5	0
	バッチ[redacted]			5	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数	回復群	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
回復性の評価					
剖検 [d]					
胸腺：小型	バッチ[redacted]	0	0	2	0
	バッチ[redacted]			2	0
脾臓：淡色，膨隆領域，大型	バッチ[redacted]	0	0	1	0
	バッチ[redacted]			3	0
腸骨リンパ節：大型	バッチ[redacted]	0	0	1	0
	バッチ[redacted]			2	0
腎リンパ節：暗色変化	バッチ[redacted]	0	0	1	0
	バッチ[redacted]			1	0
腎リンパ節：大型	バッチ[redacted]	0	0	0	0
	バッチ[redacted]			1	0
下顎リンパ節：暗色巣	バッチ[redacted]	0	0	1	1
	バッチ[redacted]			1	0
下顎リンパ節：大型	バッチ[redacted]	0	0	1	0
	バッチ[redacted]			1	1
縦隔リンパ節：暗色変化	バッチ[redacted]	0	0	0	0
	バッチ[redacted]			1	0
縦隔リンパ節：大型	バッチ[redacted]	0	0	0	0
	バッチ[redacted]			1	0
腋窩リンパ節：大型	バッチ[redacted]	0	0	0	0
	バッチ[redacted]			1	0
膀胱：肥厚	バッチ[redacted]	0	0	1	0
	バッチ[redacted]			3	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数	回復群	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
回復性の評価					
剖検 [d]					
腎臓：腎盂拡張，肥大，淡色領域，及び/又は不規則な表面	バッチ [redacted]	1	0	3	1
	バッチ [redacted]			1	1
前立腺：硬化，腫瘤，斑点形成，淡色領域/褪色	バッチ [redacted]	0	NA	1	NA
	バッチ [redacted]			3	NA
精嚢：小型及び/又は淡色領域	バッチ [redacted]	0	NA	1	NA
	バッチ [redacted]			2	NA
胃：暗色巣/領域，膨隆領域，肥厚，拡張	バッチ [redacted]	1	1	4	2
	バッチ [redacted]			4	0
十二指腸/回腸/空腸/盲腸/結腸：拡張及び/又は肥厚	バッチ [redacted]	0	0	1	0
	バッチ [redacted]			2	0
臓器重量（%） [b]					
副腎：絶対重量	バッチ [redacted]	0.0495 g	0.0772 g	+66**	+2
	バッチ [redacted]			+55**	+8
副腎：相対重量	バッチ [redacted]	0.0082%	0.0243%	+106**	−1
	バッチ [redacted]			+122**	+7
腎臓：絶対重量	バッチ [redacted]	3.4359 g	2.0338 g	+19	+3
	バッチ [redacted]			+14	+4
腎臓：相対重量	バッチ [redacted]	0.5687%	0.6353%	+47***	+1
	バッチ [redacted]			+63***	+4
前立腺：絶対重量	バッチ [redacted]	1.2973 g	NA	−13	NA
	バッチ [redacted]			−21	NA
前立腺：相対重量	バッチ [redacted]	0.2164%	NA	+8	NA
	バッチ [redacted]			+11	NA

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数	回復群	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
回復性の評価					
臓器重量（%）[b]					
胸腺：絶対重量	バッチ[redacted]	0.1660 g	0.1177 g	−45	+64*
	バッチ[redacted]			−26	+91**
胸腺：相対重量	バッチ[redacted]	0.0277%	0.0369%	−35	+62*
	バッチ[redacted]			+3	+89**
病理組織学的検査[d]					
脳：血管周囲性細胞浸潤，変性，脳室拡張，グリオーシス，鉱質沈着	バッチ[redacted]	0	0	1	3
	バッチ[redacted]			1	2
頚部脊髄：血管周囲性細胞浸潤，軸索変性，グリオーシス，及び/又はうっ血/出血	バッチ[redacted]	0	0	0	1
	バッチ[redacted]			1	1
坐骨神経：限局性細胞浸潤，軸索変性	バッチ[redacted]	0	0	0	2
	バッチ[redacted]			0	2
眼：水晶体の白内障（両側性）	バッチ[redacted]	0	0	5	0
	バッチ[redacted]			5	0
膵臓：膵島萎縮，細胞浸潤	バッチ[redacted]	0	0	5	0
	バッチ[redacted]			5	1
腎臓：尿細管の変性/再生	バッチ[redacted]	0	0	5	0
	バッチ[redacted]			4	0
腎臓：皮髄の鉱質沈着	バッチ[redacted]	0	5	5	2
	バッチ[redacted]			5	3
腎臓：腎盂拡張	バッチ[redacted]	1	0	1	1
	バッチ[redacted]			1	0
腎臓：腎盂炎	バッチ[redacted]	1	0	1	1
	バッチ[redacted]			1	2

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		25	
動物数	回復群	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
回復性の評価					
病理組織学的検査 [d]					
脾臓：リンパ組織の萎縮	バッチ[redacted]	0	0	0	0
	バッチ[redacted]			2	0
胸腺：萎縮	バッチ[redacted]	0	0	2	0
	バッチ[redacted]			2	0
腸骨リンパ節：形質細胞増多，リンパ組織過形成	バッチ[redacted]	0	0	1	0
	バッチ[redacted]			2	0
下顎リンパ節：形質細胞増多，リンパ組織過形成	バッチ[redacted]	0	0	1	0
	バッチ[redacted]			1	1
縦隔リンパ節：リンパ組織過形成	バッチ[redacted]	0	0	0	0
	バッチ[redacted]			1	0
腎リンパ節：形質細胞増多	バッチ[redacted]	0	0	0	0
	バッチ[redacted]			1	0

+：所見あり，−：特記すべき所見なし，NA：該当なし
*p < 0.05，**p < 0.01，***p < 0.001（Dunnett の検定）
#p < 0.05（Dunnett 検定 ＋Wilcoxon 検定，バッチ間の比較）
$p < 0.05（Dunnett 検定 ＋t 検定，バッチ間の比較）
a：死亡数には，主試験群及び回復試験群のすべての動物を含む。
b：対照（溶媒）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。
c：当該所見が認められた動物数で示す。
d：被験物質投与群において，薬物関連作用ではなく，免疫反応の低下に続発したと考えられるその他の所見が低発現頻度で認められている。それら所見については試験報告書に示す。

2.6.7.7.7　イヌにおける 2 週間反復経口投与毒性試験（2 週間回復性）

被験物質：Mix-ISA247

報告書の題名：　$ISA_{TX}247$: A 14-Day Oral Toxicity Study in Beagle Dogs Followed by a 14-Day Recovery Period
動物種/系統：　イヌ/ビーグル　　投与期間：　2 週間　　報告書番号：ISA00-09
試験開始月齢：　7 か月齢　　休薬期間：　2 週間　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-12
初回投与年月日：　19[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：　経口（カプセル）　　GLP 適用：適
溶媒/投与形態：　ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液
特記事項：無毒性量は報告書に記載されていない。無毒性量の判断は 10 mg/kg/日で軽微な骨髄細胞減少が認められたことに基づく。

無毒性量：　2.5 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）			0（溶媒）		2.5		10		51.5	
動物数		主試験群 + 回復群	雄 3 + 2	雌 3 + 2	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 3 + 2	雌 3 + 2
TK										
Mix-ISA247	C_{max} (ng/mL)	投与 1 日	NA	NA	37.8	32.5	212.2	193.19	1635.0	1474.9
		投与 14 日	NA	NA	27.0	42.9	256.8	181.1	973.4	950.9
	AUC_{∞} (ng·h/mL)	投与 1 日	NA	NA	252.9	284.2	2172.8	2151.2	15471.9	13074.9
		投与 14 日	NA	NA	187.0	225.4	2915.9	2725.4	11108.5	11404.3
死亡及び切迫屠殺動物数			0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	嘔吐/逆流		+	+	+	+	+	+	+	+
	軟便/液状便		−	+	+	−	−	+	+	+
	活動性低下		−	−	−	−	−	−	+	−
	削痩		−	−	−	−	−	−	+	−
	蒼白		−	−	−	−	−	−	+	−
体重（%）[a]		投与 14 日	8.6 kg	8.1 kg	+1	−9	+2	−11	−16*	−17
摂餌量（%）[a]		投与 14 日	203 g	251 g	+11	−6	+7	−22	−7	−24
眼科学的検査			−	−	−	−	−	−	−	−
心電図			−	−	−	−	−	−	−	−

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（溶媒）		2.5		10		51.5	
動物数　　主試験群 ＋ 回復群	雄 3 + 2	雌 3 + 2	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 3 + 2	雌 3 + 2
血液学的検査								
大型非染色細胞（×10^9/L）	0.03	0.06	0.02	0.01#	0.03	0.02#	0.01*	0.02
好酸球数（×10^9/L）	0.16	0.24	0.13	0.16	0.04*	0.08	0.08*	0.05*
好塩基球数（×10^9/L）	0.03	0.03	0.02	0.01	0.02	0.02	0.01#	0.03
血液生化学的検査								
アルブミン（g/L）	35	33	34	35	35	33	28*	29
カルシウム（mmol/L）	2.77	2.75	2.75	2.78	2.85	2.74	2.48*	2.58
総タンパク（g/L）	58	55	55	55	56	51	49*	48
尿検査	–	–	–	–	–	–	–	–
剖検								
脾臓：小型	0	0	0	0	0	0	1	1
胸腺：小型	0	0	0	0	0	0	1	2
臓器重量（%）[a]								
脾臓：絶対重量	37.9 g	53.0 g	+34	−35	+34	−44	+7	−45
脾臓：相対重量	0.474%	0.663%	+21	−31	+27	−37	+12	−39
胸腺：絶対重量	7.21 g	6.14 g	−1	−15	−18	−21	−56	−47
胸腺：相対重量	0.086%	0.074%	−2	−1	−21	−5	−47	−39
前立腺：絶対重量	3.99 g	NA	+17	NA	−29	NA	−72	NA
前立腺：相対重量	0.050%	NA	+6	NA	−34	NA	−70	NA
病理組織学的検査								
大腿骨及び骨髄：骨髄細胞減少	0	0	0	0	0	2	1	3
リンパ節（腸間膜）：胚中心の消失	0	0	0	0	0	0	2	2
リンパ節（下顎）：胚中心の消失	0	0	0	0	0	0	1	1
リンパ節：うっ血/赤血球貪食	1	2	2	1	2	1	1	1
脾臓：胚中心の消失	0	0	0	0	0	0	1	2

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）		2.5		10		51.5	
動物数	主試験群 ＋ 回復群	雄 3 + 2	雌 3 + 2	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 3 + 2	雌 3 + 2
病理組織学的検査									
胸腺：萎縮		0	0	0	0	0	0	2	2
回復性の評価									
一般状態		–	–	–	–	–	–	–	–
体重（%）[a]	回復 14 日	9.4 kg	7.8 kg	NA	NA	NA	NA	−14	−9
摂餌量（%）[a]	回復 14 日	400 g	324 g	NA	NA	NA	NA	−12	+6
眼科学的検査		–	–	–	–	–	–	–	–
心電図		–	–	–	–	–	–	–	–
血液学的検査		–	–	–	–	–	–	–	–
血液生化学的検査		–	–	–	–	–	–	–	–
尿検査		–	–	–	–	–	–	–	–
剖検									
胸腺：小型		1	0	NA	NA	NA	NA	2	2
臓器重量		–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査									
胸腺：萎縮		0	0	NA	NA	NA	NA	1	1
リンパ節：うっ血/赤血球貪食		1	2	NA	NA	NA	NA	2	2

＋：所見あり，－：特記すべき所見なし，NA：該当なし

*$p < 0.05$（（Dunnett の検定）

#$p < 0.05$（Dunn の検定）

a：対照（溶媒）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。

2.6.7.7.8　イヌにおける 13 週間反復経口投与毒性試験（4 週間回復性）

被験物質：Mix-ISA247

報告書の題名：　$ISA_{TX}247$: A 13-Week Oral Toxicity Study in Beagle Dogs Followed by a 28-Day Recovery Period
動物種/系統：　イヌ/ビーグル　　投与期間：　13 週間　　報告書番号：ISA01-01
試験開始月齢：　6 か月齢　　休薬期間：　4 週間　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-13
初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：　強制経口　　GLP 適用：適
溶媒/投与形態：　ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液
特記事項：無毒性量は報告書に記載されていない。無毒性量の判断は 2.5 mg/kg/日で有害作用が認められなかったことに基づく。

無毒性量：　2.5 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）			0（生理食塩水）		0（溶媒）		2.5		10		35	
動物数		主試験群 + 回復群	雄 3 + 3	雌 3 +3	雄 3 + 3	雌 3 +3	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 3 + 3	雌 3 +3
TK												
Mix-ISA247	C_{max} (ng/mL)	投与 1 日	NA	NA	NA	NA	40.7	40.2	418.3	408.5	1751.6	1184.3
		投与 28 日	NA	NA	NA	NA	89.6	46.3	753.5	392.8	1731.2	1102.6
		投与 90 日	NA	NA	NA	NA	35.4	39.5	466.0	383.1	1568.4	1043.0
	AUC_{∞} (ng·h/mL)	投与 1 日	NA	NA	NA	NA	159.6[a]	110.3[a]	2084.9	2746.2	13638.2	8248.9
		投与 28 日	NA	NA	NA	NA	459.0[a]	186.3[a]	4543.7	2125.6	14069.8	7888.2
		投与 90 日	NA	NA	NA	NA	135.3[a]	92.1[a]	3071.9	2195.3	11161.6	7284.0
死亡及び切迫屠殺動物数			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	軟便/液状便		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	嘔吐		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	歯肉腫脹		−	−	−	−	−	−	+	+	+	+
体重（%）[b]		投与 13 週	9.9 kg	8.0 kg	+8	+8	−1	+5	−6	−3	−3	+1
摂餌量（%）[b]		投与 13 週	382 g	296 g	−13	+1	+4	−7	−4	+19	−4	−5
眼科学的検査			−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
心電図・血圧			−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（生理食塩水）		0（溶媒）		2.5		10		35	
動物数　　主試験群 + 回復群	雄 3 + 3	雌 3 +3	雄 3 + 3	雌 3 +3	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 3 + 3	雌 3 +3
血液学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
血液生化学的検査										
アルブミン/グロブリン比	1.6	1.8	1.5	2.1	1.6	1.7	1.4	1.8	0.9*	1.3*
アルブミン（g/L）	35	36	34	38	34	33	31	35	28*	31*
グロブリン（g/L）	23	20	23	18	21*	20	23	20	32	25
尿検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
剖検										
口腔：歯肉肥厚	0	0	0	0	0	0	1	1	2	3
臓器重量	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査										
脾臓：胚中心の消失	0	1	0	1	1	0	0	0	1	3
胸腺：髄質の萎縮	0	0	0	0	0	0	2	2	3	3
口腔：歯肉過形成	0	0	0	0	0	0	1	1	2	3
回復性の評価										
一般状態：歯肉腫脹	–	–	–	–	NA	NA	NA	NA	+	–
体重（%）[b]　　回復 4 週	10 kg	8.7 kg	+5	+10	NA	NA	NA	NA	−4	−8
摂餌量（%）[b]　　回復 4 週	390 g	251 g	−12	+12	NA	NA	NA	NA	+3	+24
眼科学的検査	–	–	–	–	NA	NA	NA	NA	–	–
血液学的検査	–	–	–	–	NA	NA	NA	NA	–	–
血液生化学的検査										
アルブミン/グロブリン比	1.6	1.8	1.6	2.2	NA	NA	NA	NA	1.0*	1.5
アルブミン（g/L）	35	37	33	37	NA	NA	NA	NA	29*	34*
グロブリン（g/L）	21	20	20	17	NA	NA	NA	NA	29*	23
尿検査	–	–	–	–	NA	NA	NA	NA	–	–
剖検	–	–	–	–	NA	NA	NA	NA	–	–

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（生理食塩水）		0（溶媒）		2.5		10		35	
動物数　回復群	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 0	雌 0	雄 0	雌 0	雄 3	雌 3
回復性の評価										
臓器重量	−	−	−	−	NA	NA	NA	NA	−	−
病理組織学的検査	−	−	−	−	NA	NA	NA	NA	−	−
剖検	−	−	−	−	NA	NA	NA	NA	−	−

＋：所見あり，−：特記すべき所見なし，NA：該当なし

*p < 0.05（（Dunnett の検定）

a：AUC_{24h}

b：対照（生理食塩水）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。

2.6.7.7.9　サルにおける 13 週間反復経口投与毒性試験（4 週間回復性）

被験物質：Mix-ISA247

報告書の題名：　$ISA_{TX}247$: A 13-Week Oral Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys Followed by a 28-Day Recovery Period
動物種/系統：　サル/カニクイ　　投与期間：　13 週間　　報告書番号：ISA01-05
試験開始年齢：　2～4 歳齢　　休薬期間：　4 週間　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-14
初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：　強制経口　　GLP 適用：適
溶媒/投与形態：　ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液
特記事項：なし

無毒性量：　< 25 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）			0（生理食塩水）		0（溶媒）		25		75		150/300[a]	
動物数		主試験群 + 回復群	雄 3 + 3	雌 3 +3	雄 3 + 3	雌 3 +3	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 3 + 3	雌 3 +3
TK												
Mix-ISA247	C_{max} (ng/mL)	投与 1 日	NA	NA	NA	NA	93.8	36.4	260.6	374.2	849.4	631.2
		投与 28 日	NA	NA	NA	NA	90.8	50.5	379.4	604.3	732.5	608.9
		投与 50 日	NA	NA	NA	NA	155.2	71.1	305.1	533.1	758.5	749.3
		投与 90 日	NA	NA	NA	NA	97.0	72.9	223.7	527.5	625.8	524.4
	AUC_{∞} (ng·h/mL)	投与 1 日	NA	NA	NA	NA	1016.2	480.3	3083.9	4148.4	10546.9	7165.8
		投与 28 日	NA	NA	NA	NA	886.5	710.7	2987.7	4477.2	5899.6	4403.6
		投与 50 日	NA	NA	NA	NA	1178.5	794.6	1899.4	4768.3	5620.4	5333.7
		投与 90 日	NA	NA	NA	NA	1000.5	886.2	2089.5	4082.9	5262.2	3486.7
死亡及び切迫屠殺動物数			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	軟便/液状便/暗色化		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	歯肉腫脹		+	−	+	−	+	−	+	+	+	+
	削痩		−	−	−	−	−	−	−	+	−	+
	振戦		−	−	−	−	−	−	−	−	−	+
	うずくまり		−	−	−	−	−	−	−	−	−	+

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（生理食塩水）		0（溶媒）		25		75		150/300[a]	
動物数　主試験群 + 回復群	雄 3 + 3	雌 3 +3	雄 3 + 3	雌 3 +3	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 3 + 3	雌 3 +3
体重（%）[b]　投与 13 週	3.0 kg	2.7 kg	−10	0	−3	−4	−17	−7	−13	−4
摂餌量	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
眼科学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
心電図・血圧	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
血液学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
血液生化学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
尿検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
剖検										
歯肉肥厚	0	0	1	0	1	0	1	2	1	0
臓器重量	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査										
歯肉：炎症	0	0	0	3	2	0	3	3	1	0
歯肉：上皮過形成	0	0	0	3	0	0	2	1	0	0
腸間膜リンパ節：胚中心の消失	0	0	0	0	1	1	3	2	1	2
脾臓：胚中心数の減少	0	1	0	0	0	1	0	1	3	2
胸腺：髄質の萎縮	0	0	0	0	1	0	2	1	3	2
回復性の評価										
一般状態	–	–	–	–	NA	NA	NA	NA	–	–
体重（%）[b]　回復 4 週	3.0 kg	2.9 kg	0	−10	NA	NA	NA	NA	−7	−10
摂餌量	–	–	–	–	NA	NA	NA	NA	–	–
眼科学的検査	–	–	–	–	NA	NA	NA	NA	–	–
血液学的検査	–	–	–	–	NA	NA	NA	NA	–	–
血液生化学的検査	–	–	–	–	NA	NA	NA	NA	–	–
尿検査	–	–	–	–	NA	NA	NA	NA	–	–
剖検	–	–	–	–	NA	NA	NA	NA	–	–

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（生理食塩水）		0（溶媒）		25		75		150/300[a]	
動物数　回復群	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 0	雌 0	雄 0	雌 0	雄 3	雌 3
回復性の評価										
臓器重量	−	−	−	−	NA	NA	NA	NA	−	−
病理組織学的検査	−	−	−	−	NA	NA	NA	NA	−	−

＋：所見あり，−：特記すべき所見なし，NA：該当なし

a：150 mg/kg/日は忍容性があったため，投与 50 日目から用量を 300 mg/kg/日に増量した。

b：対照（生理食塩水）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。

2.6.7.7.10　サルにおける 39 週間反復経口投与毒性試験（4 週間回復性）

被験物質：Mix-ISA247

報告書の題名：　$ISA_{TX}247$: A 39-Week Oral Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys Followed by a 28-Day Recovery Period
動物種/系統：　サル/カニクイ　　投与期間：　39 週間　　報告書番号：ISA02-01
試験開始年齢：　不明（若年成獣）　　休薬期間：　4 週間　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.2-15
初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：　強制経口　　GLP 適用：適
溶媒/投与形態：　ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液
特記事項：なし

無毒性量：　25 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）			0（生理食塩水）		0（溶媒）		25		75		150	
動物数		主試験群 + 回復群	雄 5 + 3	雌 5 +3	雄 5 + 3	雌 5 +3	雄 5 + 3	雌 5 +3	雄 5	雌 5	雄 5 + 3	雌 5 +3
TK												
Mix-ISA247	C_{max} (ng/mL)	投与 1 日	NA	NA	NA	NA	122.0	145.1	398.9	416.1	733.2	721.2
		投与 13 週	NA	NA	NA	NA	85.6	110.8	446.0	374.0	565.3	830.9
		投与 24 週	NA	NA	NA	NA	102.1	116.0	345.3	397.8	521.5	638.9
		投与 39 週	NA	NA	NA	NA	86.0	106.9	395.4	406.0	650.5	763.9
	AUC_{24h} (ng·h/mL)	投与 1 日	NA	NA	NA	NA	1093.1	1022.5	3728.4	4561.1	7272.5	7471.3
		投与 13 週	NA	NA	NA	NA	761.8	747.9	3146.8	2510.1	3761.3	4710.0
		投与 24 週	NA	NA	NA	NA	793.8	899.3	2439.1	2636.1	3277.9	4306.9
		投与 39 週	NA	NA	NA	NA	781.1	782.8	3232.0	3316.3	3858.0	6548.1
死亡及び切迫屠殺動物数			1[a]	0	1	0	0	0	0	0	0	1
一般状態	軟便/液状便		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	便の淡色化		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	歯肉腫脹		−	−	−	−	−	−	+	+	+	+
体重（%）[b]		投与 39 週	3.9 kg	2.7 kg	−10	0	−8	0	−3	+7	−13	−4
摂餌量（食欲）[c]			0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（生理食塩水）		0（溶媒）		25		75		150	
動物数　　主試験群 + 回復群	雄 5 + 3	雌 5 +3	雄 5 + 3	雌 5 +3	雄 5 + 3	雌 5 + 3	雄 5	雌 5	雄 5 +3	雌 5 + 3
眼科学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
心電図・血圧	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
血液学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
血液生化学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
尿検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
免疫毒性（フェノタイピング）										
$CD2^+$（%）	74.83		72.81		68.93		60.70*		61.91*	
$CD2^+/CD4^+$（%）	38.02		35.19		29.61		25.54*		24.22*	
$CD20^+$（%）	23.65		25.07		28.13		36.58*		35.55*	
PD：カルシニューリン阻害率（%）[d]	NA		NA		42.1		73.9		87.1	
剖検										
歯肉：肥厚	0	0	0	0	1	0	1	3	4	5
リンパ節：肥大	0	0	1	0	0	0	1	0	2	1
虫垂：結節	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
盲腸：結節	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0
結腸：結節	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
精巣上体：結節	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
腸間膜リンパ節：腫瘤	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
小腸，空腸：結節	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
骨格筋：結節	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
皮膚及び皮下組織：腫瘤	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
精巣：結節	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
臓器重量	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（生理食塩水）		0（溶媒）		25		75		150	
動物数　　主試験群 + 回復群	雄 5 + 3	雌 5 +3	雄 5 + 3	雌 5 +3	雄 5 + 3	雌 5 + 3	雄 5	雌 5	雄 5 +3	雌 5 + 3
病理組織学的検査										
検査数	5	5	6[e]	5	5	5	5	5	5	6[e]
リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3[f]
腹腔：リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
胸腔：リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
末梢組織：リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
鼠径リンパ節：転移性/浸潤性のリンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
脾臓：リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
胃：リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
歯肉：乳頭間突起形成	5	5	6	5	5	5	5	5	5	5
歯肉：リンパ球浸潤	1	1	0	1	0	0	1	3	4	5
脾臓：未発達なリンパ組織	5	5	6	5	5	5	5	5	5	6
脾臓：リンパ組織過形成	0	0	0	0	2	1	3	4	5	4
回復性の評価										
一般状態：歯肉腫脹	−	−	−	−	−	−	NA	NA	+	+
体重（%）[b]　　回復 4 週	4.0 kg	2.7 kg	+8	+7	−5	0	NA	NA	−15	0
摂餌量（食欲）[c]	0	0	0	0	0	0	NA	NA	0	0
眼科学的検査	−	−	−	−	−	−	NA	NA	−	−
血液学的検査	−	−	−	−	−	−	NA	NA	−	−
血液生化学的検査	−	−	−	−	−	−	NA	NA	−	−
尿検査	−	−	−	−	−	−	NA	NA	−	−
免疫毒性（フェノタイピング）	−		−		−		NA		−	
剖検										
小腸，回腸：結節	0	0	0	0	0	1	NA	NA	0	1

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（生理食塩水）		0（溶媒）		25		75		150	
動物数　回復群	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雌 0	雄 0	雄 3	雌 3
回復性の評価										
剖検										
歯肉：肥厚	0	0	0	0	0	0	NA	NA	0	2
病理組織学的検査										
リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	NA	NA	0	1
歯肉：乳頭間突起形成	3	3	2	3	3	3	NA	NA	3	2
歯肉：リンパ球浸潤	2	2	0	0	1	0	NA	NA	2	2
小腸：リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	NA	NA	0	1
胃：リンパ肉腫	0	0	0	0	0	0	NA	NA	0	1

＋：所見あり，－：特記すべき所見なし，NA：該当なし

*$p < 0.05$（Dunnett の検定）

a：投与 18 日目に死亡例が認められたため，代わりの動物を補充した。

b：対照（生理食塩水）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。

c：摂餌量の減少が認められた発現頻度を群ごとに示す。

d：すべての曝露期間から得た雌雄のプールデータ。

e：投与終了剖検時の動物 5 例及び死亡した動物を含む。

f：投与 132 日目に 1 例が当該腫瘍により死亡した。

2.6.7.8　*In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1　報告書の題名：Bacterial Reverse Mutation Assay

被験物質：Mix-ISA247

試験の種類：細菌を用いた復帰突然変異試験
菌株：ネズミチフス菌（TA98, TA100, TA1535, TA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*）
代謝活性化系：Arochlor 1254 誘導ラット肝 S9
溶媒：被験物質及び陽性対照物質ともに DMSO
処理：プレート法，48～72 時間（37°C ± 2°C）
細胞毒性：なし
遺伝毒性：なし

独立して実施した試験数：2[a]
培養系列数：用量設定試験：1，本試験：3
分析細胞数/培養：該当せず

報告書番号：ISA99-05
CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.3.1-01
実施施設：[redacted]
GLP 適用：適

処理年月日：　19[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日～[redacted] 月 [redacted] 日

代謝活性化	被験物質	用量 (µg/plate)	用量設定試験：復帰コロニー数				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	DMSO（溶媒）	0.05 mL/plate	15	109	8	8	20
	Mix-ISA247	6.7	10	101	8	11	15
		10	11	116	10	10	11
		33	12	99	8	13	17
		67	10	101	4	13	16
		100	13	102	6	10	14
		333	10	125	5	9	11
		667[b]	11	105	9	13	10
		1000[b]	16	113	4	5	19
		3333[c]	11	129	9	9	11
		5000[c]	9	118	10	8	9

（続く）

2.6.7.8.1　　ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験　　報告書番号：ISA99-05（続き 1）

代謝活性化	被験物質	用量（μg/plate）	用量設定試験：復帰コロニー数				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化あり	DMSO（溶媒）	0.05 mL/plate	13	157	10	12	21
	Mix-ISA247	6.7	17	133	11	17	16
		10	12	139	7	10	14
		33	10	136	9	15	15
		67	13	147	5	16	13
		100	12	143	10	12	10
		333	15	136	14	10	13
		667	15[b]	141[b]	7[b]	11[b]	15[b]
		1000	13[b]	131[b]	8[b]	8[b]	10[b]
		3333	11[c]	121[c]	9[c]	15[c]	5[c]
		5000	14[c]	103[c]	11[c]	13[c]	12[c]

代謝活性化	被験物質	用量（μg/plate）	本試験：復帰コロニー数（平均値 ± SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	DMSO（溶媒）	0.05 mL/plate	14 ± 11	123 ±13	9 ± 1	4 ±1	13 ± 4
	Mix-ISA247	15	20 ± 6	136 ± 3	12 ± 3	5 ± 1	11 ± 4
		50	17 ± 4	115 ± 14	5 ± 0	6 ± 3	17 ± 5
		150	16 ± 4	136 ± 22	8 ± 2	3 ± 3	14 ± 5
		400	17 ± 2[b]	127 ± 15	10 ± 3[b]	4 ± 2[b]	12 ± 3 [b]
		1200	12 ± 5[b]	116 ± 20[b]	11 ± 2[b]	3 ± 1[b]	12 ± 4 [b]
	2-NF[d]	1.0	289 ± 22	NA	NA	NA	NA
	SA[d]	1.0	NA	593 ± 28	272 ± 23	NA	NA
	9-AA[d]	75	NA	NA	NA	396 ± 52	NA
	MM[d]	1000	NA	NA	NA	NA	132 ± 25

（続く）

代謝活性化	被験物質	用量（μg/plate）	本試験：復帰コロニー数（平均値 ± SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化あり	DMSO（溶媒）	0.05 mL/plate	19 ± 5	154 ±12	7 ± 3	5 ±5	12 ± 1
	Mix-ISA247	15	19 ± 7	136 ± 9	6 ± 3	7 ± 4	14 ± 3
		50	22 ± 8	134 ± 9	11 ± 3	4 ± 2	12 ± 3
		150	17 ± 1	123 ± 13	13 ± 1	7 ± 4	11 ± 4
		400	21 ± 4[b]	120 ± 7	11 ± 6[b]	6 ± 2[b]	17 ± 6[b]
		1,200	18 ± 1[b]	124 ± 18[b]	8 ± 5[b]	6 ± 1[b]	19 ± 4[b]
	2-AA[d]	1.0	262 ± 41	632 ± 48	41 ± 18	34 ± 10	NA
		10	NA	NA	NA	NA	43 ± 10

各処理系列で復帰変異コロニー数が対照群の 2 倍（TA98，TA100 及び WP2*uvrA*）あるいは 3 倍（TA1535 及び TA1537）以上であり，かつ復帰変異コロニー数の増加に用量依存性が認められた場合を陽性と判定。

2-NF：2-nitrofluorene，SA：Sodium azide，9-AA：9-aminoacridine，MM：Methyl methanesulfonate，2-AA：2-aminoanthracene，S9：ラット肝 9000 g 上清，

NA：該当なし

a：初回の変異原性試験において，陽性対照値が許容できない結果を示したため，S9 活性化の有無にかかわらず，当該試験では試験菌株 TA100 の評価は実施しなかった。2 回目の変異原性試験で再評価した。

b：背景細菌叢の検出を妨げない析出

c：背景細菌叢の検出を妨げる析出

d：陽性対照

2.6.7.8.2　報告書の題名：Bacterial Reverse Mutation Assay

被験物質：ボクロスポリン（JAN）

試験の種類：細菌を用いた復帰突然変異試験
菌株：ネズミチフス菌（TA98, TA100, TA1535, TA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*）
代謝活性化系：Arochlor 1254 誘導ラット肝 S9
溶媒：被験物質及び陽性対照物質ともに DMSO
処理：プレート法，48～72 時間（37°C ± 2°C）
細胞毒性：なし
遺伝毒性：なし

独立して実施した試験数：2
培養系列数：用量設定試験：2，本試験：3
分析細胞数/培養：該当せず

報告書番号：AC33TS.503.BTL
CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.3.1-02
実施施設：[redacted]
GLP 適用：適

処理年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日～[redacted] 日

代謝活性化	被験物質	用量 (µg/plate)	用量設定試験：復帰コロニー数（平均値 ± SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	DMSO（溶媒）	0.05 mL/plate	24 ± 3	83 ± 4	17 ± 5	5 ± 1	27 ± 4
	ボクロスポリン	1.5	21 ± 3	90 ± 4	11 ± 2	4 ± 1	32 ± 4
		5.0	18 ± 3	90 ± 1	5 ± 5	4 ± 4	29 ± 0
		15	25 ± 1	86 ± 1	12 ± 4	7 ± 1	28 ± 5
		50	25 ± 4	75 ± 10	10 ± 1	5 ± 1	32 ± 5
		150	21 ± 1	81 ± 18	7 ± 0	5 ± 1	35 ± 5
		500	17 ± 3	82 ± 3	11 ± 0[b]	4 ± 1[b]	24 ± 8[b]
		1500	17 ± 0[c]	86 ± 7[c]	9 ± 5[c]	3 ± 1[c]	20 ± 1[c]
		5000	13 ± 2[c]	82 ± 13[c]	7 ± 3[c]	4 ± 0[c]	18 ± 1[c]
	2-NF[a]	1.0	173 ± 19	NA	NA	NA	NA
	SA[a]	1.0	NA	408 ± 18	470 ± 31	NA	NA
	9-AA[a]	75	NA	NA	NA	505 ± 163	NA
	MM[a]	1000	NA	NA	NA	NA	408 ± 46

（続く）

代謝活性化	被験物質	用量（µg/plate）	用量設定試験：復帰コロニー数（平均値 ± SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化あり	DMSO（溶媒）	0.05 mL/plate	25 ± 7	87 ± 13	10 ± 2	4 ± 1	35 ± 1
	ボクロスポリン	1.5	27 ± 3	91 ± 5	11 ± 4	3 ± 3	39 ± 1
		5.0	30 ± 2	84 ± 8	8 ± 0	4 ± 1	41 ± 0
		15	25 ± 0	97 ± 1	5 ± 2	3 ± 0	40 ± 3
		50	23 ± 6	76 ± 0	10 ± 6	5 ± 4	36 ± 6
		150	22 ± 1	88 ± 1	12 ± 2	4 ± 2	45 ± 8
		500	20 ± 6	95 ± 13	7 ± 5	5 ± 4	42 ± 3
		1500	27 ± 1[c]	93 ± 4[c]	10 ± 4[c]	6 ± 2[c]	44 ± 6[c]
		5000	15 ± 3[c]	86 ± 4[c]	6 ± 1[c]	4 ± 1[c]	27 ± 3[c]
	2-AA[a]	1.0	520 ± 14	NA	51 ± 5	45 ± 16	NA
		2.0	NA	1064 ± 35	NA	NA	NA
		10	NA	NA	NA	NA	150 ± 17

（続く）

代謝活性化	被験物質	用量（μg/plate）	本試験：復帰コロニー数（平均値 ± SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	DMSO（溶媒）	0.05 mL/plate	31 ± 3	95 ± 12	18 ± 4	11 ± 1	30 ± 3
	ボクロスポリン	50	30 ± 4	96 ± 12	23 ± 3	9 ± 3	38 ± 6
		150	26 ± 3	86 ± 8	19 ± 2	6 ± 4	26 ± 2
		500	31 ± 6	91 ± 5	15 ± 2	7 ± 3	38 ± 6
		1500	34 ± 3	105 ± 11	15 ± 3	6 ± 1	32 ± 1
		5000	28 ± 1[c]	105 ± 8[c]	17 ± 2[c]	8 ± 1[c]	27 ± 8[c]
	2-NF[a]	1.0	251 ± 51	NA	NA	NA	NA
	SA[a]	1.0	NA	586 ± 67	465 ± 20	NA	NA
	9-AA[a]	75	NA	NA	NA	430 ± 128	NA
	MM[a]	1000	NA	NA	NA	NA	405 ± 9

代謝活性化	被験物質	用量（μg/plate）	本試験：復帰コロニー数（平均値 ± SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化あり	DMSO（溶媒）	0.05 mL/plate	43 ± 4	122 ± 6	11 ± 4	5 ± 2	42 ± 7
	ボクロスポリン	50	46 ± 2	112 ± 8	12 ± 3	5 ± 2	38 ± 8
		150	46 ± 4	116 ± 6	11 ± 6	5 ± 3	46 ± 8
		500	43 ± 7	109 ± 15	11 ± 6	6 ± 1	47 ± 5
		1500	44 ± 2	120 ± 20	15 ± 5	6 ± 4	36 ± 2
		5000	39 ± 2[c]	111 ± 7[c]	13 ± 2[c]	6 ± 1[c]	36 ± 3[c]
	2-AA[a]	1.0	573 ± 72	NA	67 ± 17	43 ± 10	NA
		2.0	NA	1174 ± 343	NA	NA	NA
		10	NA	NA	NA	NA	162 ± 20

各処理系列で復帰変異コロニー数が対照群の 2 倍（TA98，TA100 及び WP2*uvrA*）あるいは 3 倍（TA1535 及び TA1537）以上であり，かつ復帰変異コロニー数の増加に用量依存性が認められた場合を陽性と判定。

2-NF：2-nitrofluorene，SA：Sodium azide，9-AA：9-aminoacridine，MM：Methyl methanesulfonate，2-AA：2-aminoanthracene，S9：ラット肝 9000 g 上清，NA：該当なし

a：陽性対照

b：背景細菌叢の検出を妨げない析出

c：背景細菌叢の検出を妨げる析出

2.6.7.8.3　報告書の題名：Bacterial Reverse Mutation Assay of Voclosporin Batch [redacted]

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（バッチ [redacted]）

試験の種類：細菌を用いた復帰突然変異試験
菌株：ネズミチフス菌（TA98, TA100, TA1535, TA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*）
代謝活性化系：Arochlor 1254 誘導ラット肝 S9
溶媒：被験物質及び陽性対照物質ともに DMSO
処理：プレート法，48～72 時間（37°C ± 2°C）
細胞毒性：なし
遺伝毒性：なし

独立して実施した試験数：2
培養系列数：用量設定試験：2，本試験：3
分析細胞数/培養：該当せず

報告書番号：ISA09-30
CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.3.1-03
実施施設：[redacted]
GLP 適用：適

処理年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日～[redacted] 日

代謝活性化	被験物質	用量 (µg/plate)	用量設定試験：復帰コロニー数（平均値 ± SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	DMSO（溶媒）	0.05 mL/plate	17 ± 10	101 ± 7	13 ± 4	6 ± 4	35 ± 4
	ボクロスポリン	1.5	21 ± 4	111 ± 13	11 ± 3	4 ± 1	27 ± 4
		5.0	19 ± 2	102 ± 18	14 ± 6	6 ± 3	44 ± 10
		15	25 ± 2	95 ± 3	13 ± 7	2 ± 2	37 ± 1
		50	20 ± 2	100 ± 11	12 ± 4	4 ± 1	23 ± 1
		150	18 ± 0	102 ± 5	11 ± 3	2 ± 2	41 ± 1
		500	18 ± 0	108 ± 1	14 ± 6	4 ± 1	31 ± 11
		1500	24 ± 5	110 ± 17[b]	15 ± 0	9 ± 0	37 ± 1[b]
		5000	6 ± 1[c]	115 ± 6[c]	14 ± 0[c]	5 ± 0[c]	29 ± 3[c]
	2-NF[a]	1.0	293 ± 13	NA	NA	NA	NA
	SA[a]	1.0	NA	715 ± 55	543 ± 5	NA	NA
	9-AA[a]	75	NA	NA	NA	352 ± 52	NA
	MM[a]	1000	NA	NA	NA	NA	528 ± 47

（続く）

代謝活性化	被験物質	用量（μg/plate）	用量設定試験：復帰コロニー数（平均値 ± SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化あり	DMSO（溶媒）	0.05 mL/plate	27 ± 2	115 ± 2	11 ± 1	7 ± 6	44 ± 11
	ボクロスポリン	1.5	28 ± 1	123 ± 11	14 ± 8	11 ± 0	38 ± 3
		5.0	26 ± 1	117 ± 3	15 ± 0	6 ± 3	23 ± 8
		15	28 ± 11	118 ± 11	13 ± 3	9 ± 8	27 ± 1
		50	31 ± 4	111 ± 4	19 ± 6	4 ± 1	38 ± 5
		150	33 ± 6	155 ± 23	17 ± 3	5 ± 1	39 ± 4
		500	20 ± 4	163 ± 20	12 ± 4	10 ± 5	40 ± 4
		1500	17 ± 6	142 ± 5	25 ± 4	5 ± 1	37 ± 4
		5000	9 ± 3[c]	146 ± 3[c]	22 ± 6[c]	4 ± 1[c]	33 ± 12[c]
	2-AA[a]	1.0	253 ± 43	NA	86 ± 18	31 ± 13	NA
		2.0	NA	1108 ± 47	NA	NA	NA
		10	NA	NA	NA	NA	176 ± 65

（続く）

代謝活性化	被験物質	用量（μg/plate）	本試験：復帰コロニー数（平均値 ± SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	DMSO（溶媒）	0.05 mL/plate	20 ± 4	119 ± 8	15 ± 4	10 ± 2	43 ± 5
	ボクロスポリン	50	19 ± 10	109 ± 19	19 ± 3	8 ± 2	44 ± 2
		150	16 ± 1	130 ± 12	19 ± 6	8 ± 4	39 ± 10
		500	21 ± 8	126 ± 28	17 ± 4	8 ± 4	43 ± 10
		1500	18 ± 2	135 ± 10	24 ± 1	7 ± 2	44 ± 6
		5000	18 ± 3[c]	140 ± 22[c]	21 ± 11[c]	7 ± 4[c]	56 ± 13[c]
	2-NF[a]	1.0	247 ± 22	NA	NA	NA	NA
	SA[a]	1.0	NA	941 ± 39	725 ± 43	NA	NA
	9-AA[a]	75	NA	NA	NA	650 ± 62	NA
	MM[a]	1000	NA	NA	NA	NA	629 ± 16

代謝活性化	被験物質	用量（μg/plate）	本試験：復帰コロニー数（平均値 ± SD）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化あり	DMSO（溶媒）	0.05 mL/plate	34 ± 8	164 ± 12	15 ± 5	11 ± 3	54 ± 11
	ボクロスポリン	50	27 ± 7	171 ± 10	18 ± 4	12 ± 5	61 ± 5
		150	27 ± 6	188 ± 15	18 ± 3	11 ± 2	56 ± 9
		500	20 ± 6	173 ± 10	17 ± 2	12 ± 7	51 ± 12
		1500	23 ± 2	176 ± 12	19 ± 4	9 ± 2	31 ± 15
		5000	30 ± 9[c]	177 ± 31[c]	20 ± 4[c]	9 ± 4[c]	36 ± 6[c]
	2-AA[a]	1.0	601 ± 102	NA	223 ± 126	64 ± 5	NA
		2.0	NA	1,162 ± 106	NA	NA	NA
		10	NA	NA	NA	NA	402 ± 133

各処理系列で復帰変異コロニー数が対照群の 2 倍（TA98，TA100 及び WP2*uvrA*）あるいは 3 倍（TA1535 及び TA1537）以上であり，かつ復帰変異コロニー数の増加に用量依存性が認められた場合を陽性と判定。

2-NF：2-nitrofluorene，SA：Sodium azide，9-AA：9-aminoacridine，MM：Methyl methanesulfonate，2-AA：2-aminoanthracene，S9：ラット肝 9000 g 上清，NA：該当なし

a：陽性対照

b：背景細菌叢の検出を妨げない析出

c：背景細菌叢の検出を妨げる析出

2.6.7.8.4　報告書の題名：*In vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test

被験物質：Mix-ISA247

試験の種類：哺乳類細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験
細胞種：CHO 細胞
代謝活性化系：Arochlor 1254 誘導ラット肝 S9
溶媒：被験物質及び陽性対照物質ともに DMSO
独立して実施した試験数：3
培養系列数：2
分析細胞数/培養：100
報告書番号：ISA99-04
CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.3.1-04
実施施設：[redacted]
GLP 適用：適
処理年月日：　19[redacted]年[redacted]月[redacted]日～[redacted]月[redacted]日

処理：被験物質を S9 非存在下（−S9）で 4 及び 20 時間，S9 存在下（+S9）で 4 時間処理。4 時間処理後は，16 時間回復培養 [a]。
細胞毒性：
【用量設定試験】4 時間−S9：なし，20 時間−S9：50～1500 μg/mL で 50%以上の細胞増殖抑制，5000 μg/mL で 41%の細胞増殖抑制，4 時間+S9：500 μg/mL 以上の用量で 50%以上の細胞増殖抑制。
【初回試験】以下の最高濃度まで 50%以上の細胞増殖抑制なし：4 時間−S9：150 μg/mL，20 時間−S9：該当なし（分裂中期細胞数が不十分であったため評価しなかった），4 時間+S9：150 μg/mL
【2 回目試験】染色体異常を評価した用量のうち 50%未満の細胞増殖抑制であった最高用量：4 時間−S9：200 μg/mL，20 時間−S9：150 μg/mL，4 時間+S9：全用量。2 回目の 20 時間−S9 再試験：10 μg/mL（染色体異常を評価した最高用量）で有糸分裂阻害。
遺伝毒性：なし

代謝活性化 / 曝露時間	被験物質	用量（μg/mL）	分裂指数	計数細胞	細胞あたりの異常数 [c]（平均 ± SD）	異常細胞（%）	
						数的異常	構造異常
代謝活性化なし/4 時間曝露	DMSO（溶媒）	（10 μL/mL）	11.1	200	0.000 ± 0.000	1.5	0.0
	Mix-ISA247	50	8.2	200	0.000 ± 0.000	2.5	0.0
		100	8.4	200	0.000 ± 0.000	1.5	0.0
		150	7.5	200	0.000 ± 0.000	1.5	0.0
	MMC[b]	0.2	10.3	200	0.235 ± 0.868	2.0	14.0**

（続く）

代謝活性化 / 曝露時間	被験物質	用量（μg/mL）	分裂指数	計数細胞	細胞あたりの異常数[c]（平均 ± SD）	異常細胞（%）	
						数的異常	構造異常
代謝活性化あり/4 時間曝露	DMSO（溶媒）	（10 μL/mL）	9.6	200	0.000 ± 0.000	2.0	0.0
	Mix-ISA247	37.5	8.8	200	0.005 ± 0.071	0.0	0.5
		75	7.9	200	0.000 ± 0.000	2.0	0.0
		150	6.4	200	0.005 ± 0.071	2.0	0.5
	CP[b]	10	6.7	200	0.395 ± 1.160	1.5	22.0**

代謝活性化 / 曝露時間	被験物質	用量（μg/mL）	分裂指数	計数細胞	細胞あたりの異常数[c]（平均 ± SD）	異常細胞（%）	
						数的異常	構造異常
代謝活性化なし/20 時間曝露	DMSO（溶媒）	（10 μL/mL）	3.8	200	0.005 ± 0.071	0.5	0.5
	Mix-ISA247	2.5	3.3	200	0.015 ± 0.122	0.0	0.5
		5	2.4	200	0.035 ± 0.210	0.5	3.0
		10	1.7	200	0.020 ± 0.140	0.0	1.5
	MMC[b]	0.1	1.8	200	0.385 ± 1.321	1.0	18.5**

**p < 0.01（Fisher の正確確率検定）
CP：Cyclophosphamide，MMC：Mitomycin C，S9：ラット肝 9000 g 上清
a：すべての処理条件において，処理開始から 20 時間後に細胞を採取した。
b：陽性対照
c：重度損傷細胞は異常数を 10 として計数した。

2.6.7.8.5　**報告書の題名**：*In vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test of Voclosporin Batch [redacted] and Batch [redacted]

被験物質：ボクロスポリン（JAN）（バッチ [redacted] 及びバッチ [redacted]）

試験の種類：哺乳類細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験
細胞種：CHO 細胞
代謝活性化系：Arochlor 1254 誘導ラット肝 S9
溶媒：被験物質及び陽性対照物質ともに DMSO
独立して実施した試験数：3
培養系列数：2
分析細胞数/培養：100
報告書番号：ISA09-29
CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.3.1-05
実施施設：[redacted]
GLP 適用：適
処理：被験物質を S9 非存在下（−S9）で 4 及び 20 時間，S9 存在下（+S9）で 4 時間処理。4 時間処理後は，16 時間回復培養 [a]。
処理年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日～[redacted] 月 [redacted] 日

バッチ [redacted] の細胞毒性：
【用量設定試験】4 時間−S9：1500 及び 5000 µg/mL で 50%以上の細胞増殖抑制，20 時間−S9：50～1500 µg/mL で 50%以上の細胞増殖抑制，4 時間+S9：150，1500，及び 5000 µg/mL で 50%以上の細胞増殖抑制。
【初回試験】染色体異常を計数した最高用量での抑制率：4 時間−S9：1000 µg/mL で 59%，20 時間−S9：250 µg/mL で 63%，4 時間+S9：1,000 µg/mL で 55%。
バッチ [redacted] の細胞毒性：
【用量設定試験】4 時間−S9：1500 µg/mL で 50%以上の細胞増殖抑制，20 時間−S9：50 µg/mL 以上の用量で 50%以上の細胞増殖抑制，4 時間+S9：500 µg/mL 以上の用量で 50%以上の細胞増殖抑制。
【初回試験】染色体異常を計数した最高用量での抑制率：4 時間−S9：2500 µg/mL で 53%，20 時間−S9：50 µg/mL で 50%。
【2 回目試験】染色体異常を計数した最高用量での抑制率：4 時間+S9：500 µg/mL で 54%。
遺伝毒性：なし

代謝活性化 / 曝露時間	被験物質	用量（µg/mL）	分裂指数	計数細胞（数的及び構造的）	細胞あたりの異常数 [c]（平均 ± SD）	異常細胞（%）	
						数的異常	構造異常
代謝活性化なし/ 4 時間曝露	DMSO（溶媒）	（10 µL/mL）	10.1	200	0.010 ± 0.100	0.5	1.0
	ボクロスポリン バッチ [redacted]	100	10.2	200	0.005 ± 0.071	2.0	0.5
		500	7.8	200	0.020 ± 0.140	0.0	2.0
		1000	6.4	200	0.015 ± 0.122	1.5	1.5
	MMC[b]	0.2	6.2	200（構造に関しては 50）	0.300 ± 0.544	1.5	26.0**

（続く）

2.6.7.8.5　　CHO 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験　　報告書番号：ISA09-29（続き 1）

代謝活性化 / 曝露時間	被験物質	用量（μg/mL）	分裂指数	計数細胞（数的及び構造的）	細胞あたりの異常数[c]（平均 ± SD）	異常細胞（%）	
						数的異常	構造異常
代謝活性化あり/4 時間曝露	DMSO（溶媒）	（10 μL/mL）	11.6	200	0.025 ± 0.186	1.0	2.0
	ボクロスポリン バッチ [redacted]	100	8.8	200	0.020 ± 0.140	0.5	2.0
		500	6.5	200	0.085 ± 0.735	1.5	3.5
		1000	5.1	200	0.010 ± 0.100	1.0	1.0
	CP[b]	10	3.5	200（構造に関しては 50）	0.560 ± 1.473	0.5	34.0**

代謝活性化 / 曝露時間	被験物質	用量（μg/mL）	分裂指数	計数細胞（数的及び構造的）	細胞あたりの異常数[c]（平均 ± SD）	異常細胞（%）	
						数的異常	構造異常
代謝活性化なし/20 時間曝露	DMSO（溶媒）	（10 μL/mL）	7.6	200	0.015 ± 0.122	1.0	1.5
	ボクロスポリン バッチ [redacted]	5	8.5	200	0.025 ± 0.157	0.5	2.5
		15	6.1	200	0.020 ± 0.140	2.0	2.0
		250	4.7	200	0.015 ± 0.122	0.5	1.5
	MMC[b]	0.1	3.9	200（構造に関しては 50）	0.480 ± 0.735	1.5	34.0**

（続く）

2.6.7.8.5　　CHO 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験　　報告書番号：ISA09-29（続き 2）

代謝活性化 / 曝露時間	被験物質	用量（μg/mL）	分裂指数	計数細胞（数的及び構造的）	細胞あたりの異常数[c]（平均 ± SD）	異常細胞（%）	
						数的異常	構造異常
代謝活性化なし/4 時間曝露	DMSO（溶媒）	（10 μL/mL）	9.0	200	0.010 ± 0.100	2.5	1.0
	ボクロスポリン バッチ [redacted]	100	9.3	200	0.000 ± 0.000	0.5	0.0
		500	8.4	200	0.000 ± 0.000	1.5	0.0
		2500	7.1	200	0.010 ± 0.100	0.5	1.0
	MMC[b]	0.2	6.2	200（構造に関しては 50）	0.360 ± 0.598	1.5	30.0**

代謝活性化 / 曝露時間	被験物質	用量（μg/mL）	分裂指数	計数細胞（数的及び構造的）	細胞あたりの異常数[c]（平均 ± SD）	異常細胞（%）	
						数的異常	構造異常
代謝活性化あり/4 時間曝露	DMSO（溶媒）	（10 μL/mL）	10.2	200	0.025 ± 0.157	1.5	2.5
	ボクロスポリン バッチ [redacted]	50	8.1	200	0.030 ± 0.198	2.0	2.5
		100	7.0	200	0.030 ± 0.171	1.0	3.0
		500	5.0	200	0.025 ± 0.157	3.5	2.5
	CP[b]	10	3.7	200（構造に関しては 50）	0.540 ± 1.501	2.5	28.0**

（続く）

2.6.7.8.5　　CHO 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験　　報告書番号：ISA09-29（続き 3）

代謝活性化 / 曝露時間	被験物質	用量（μg/mL）	分裂指数	計数細胞（数的及び構造的）	細胞あたりの異常数[c]（平均 ± SD）	異常細胞（%）	
						数的異常	構造異常
代謝活性化なし/20 時間曝露	DMSO（溶媒）	（10 μL/mL）	9.8	200	0.010 ± 0.100	2.5	1.0
	ボクロスポリン バッチ [redacted]	5	8.7	200	0.000 ± 0.000	1.0	0.0
		15	7.4	200	0.015 ± 0.122	2.0	1.5
		50	7.1	200	0.0150 ± 0.122	4.0	1.5
	MMC[b]	0.1	6.0	200（構造に関しては 100）	0.170 ± 0.378	1.5	17.0**

**p < 0.01（Fisher の正確確率検定）
CP：Cyclophosphamide，MMC：Mitomycin C，S9：ラット肝 9000 g 上清
a：すべての処理条件において，処理開始から 20 時間後に細胞を採取した。
b：陽性対照
c：重度損傷細胞は異常数を 10 として計数した。

2.6.7.9　*In Vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1　報告書の題名：Mammalian Erythrocyte Micronucleus Assay

被験物質：Mix-ISA247

試験の種類：ラットを用いた骨髄小核試験
動物種/系統：ラット/SD
週齢：6～8 週齢
評価した細胞：多染性赤血球
分析細胞数/動物：2000

投与期間：単回
骨髄採取時間：投与 24 及び 48 時間後

投与方法：強制経口
媒体/投与形態：コーン油/溶液又は懸濁液

報告書番号：ISA00-22
CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.3.2-01
実施施設：[redacted]
GLP 適用：適
投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日

特記事項：なし
毒性/細胞毒性：なし
遺伝毒性：なし
曝露証明：あり［被験物質投与群の全動物における骨髄試料中に mix-ISA247 の曝露を確認（GLP 適用：不適）］

被験物質	投与量（mg/kg）	時間（h）	動物数	性別	PCE/総赤血球（平均 ± SD）	PCE/総赤血球の対照値からの変化（%）	小核を有する PCE	
							数/1000 PCEs（平均 ± SD）	計測した PCE あたりの数
コーン油（10 mL/kg）	0	24	5	雄	0.768 ± 0.01	NA	0.3 ± 0.45	3 / 10000
		24	5	雌	0.714 ± 0.04	NA	0.2 ± 0.27	2 / 10000
Mix-ISA247	500	24	5	雄	0.732 ± 0.03	−5	0.1 ± 0.22	1 / 10000
		24	5	雌	0.715 ± 0.04	0	0.3 ± 0.27	3 / 10000
	1000	24	5	雄	0.718 ± 0.02	−7	0.2 ± 0.27	2 / 10000
		24	5	雌	0.715 ± 0.05	0	0.4 ± 0.42	4 / 10000
	2000	24	5	雄	0.756 ± 0.02	−2	0.4 ± 0.42	4 / 10000
		24	5	雌	0.697 ± 0.05	−2	0.6 ± 0.42	6 / 10000
シクロホスファミド[a]	40	24	5	雄	0.464 ± 0.03	−40	12.3 ± 2.08	123* / 10000
		24	5	雌	0.528 ± 0.03	−26	18.0 ± 3.30	180* / 10000

（続く）

2.6.7.9.1　　ラットを用いた骨髄小核試験　　報告書番号：ISA00-22（続き 1）

被験物質	投与量（mg/kg）	時間（h）	動物数	性別	PCE/総赤血球（平均 ± SD）	PCE/総赤血球の対照値からの変化（%）	小核を有する PCE	
							数/1000 PCEs（平均 ± SD）	計測した PCE あたりの数
コーン油（10 mL/kg）	0	48	5	M	0.723 ± 0.04	NA	0.1 ± 0.22	1 / 10000
		48	5	F	0.754 ± 0.04	NA	0.3 ± 0.27	3 / 10000
Mix-ISA247	2000	48	5	M	0.686 ± 0.03	−5	0.0 ± 0.00	0 / 10000
		48	5	F	0.672 ± 0.04	−11	0.1 ± 0.22	1 / 10000

NA：該当なし，PCE：多染性赤血球

a：陽性対照

b：*$p < 0.05$（Kastenbaum-Bowman の検定）

2.6.7.10　がん原性試験： 重要な試験

2.6.7.10.1　重要な試験以外の試験

被験物質：ボクロスポリン（JAN）

動物種/系統	投与方法[a]	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び一群の動物数	無毒性量（mg/kg/日）	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
マウス/CD-1	強制経口	14 日間	0（生理食塩水），0（溶媒），15，30，60，125，250	雌雄各 10	30[b]	30 mg/kg/日以上の雄及び 125 mg/kg/日以上の雌：コレステロール増加。60 mg/kg/日以上：軟便（雄），WBC 及びリンパ球減少，総ビリルビン増加，マグネシウム減少。250 mg/kg/日：体重増加量及び摂餌量減少，網状赤血球及び BUN 増加。雄でトリグリセリド増加，雌で Hb 及び Hct 減少。被験物質に関連する肉眼所見なし。	ISA05-16	4.2.3.4.1-01（参考資料）
マウス/CD-1	強制経口	13 週間	0（生理食塩水），0（溶媒），5，30，125	雌雄各 14	30	5 mg/kg/日以上：軟便。30 mg/kg/日以上：ケージ底の過剰物（糞，毛及び餌），リンパ球減少，マグネシウム減少，胸腺及びリンパ節におけるリンパ球枯渇。125 mg/kg/日：被験物質に関連した早期の死亡（3 例），体重減少，摂餌量増加，脾重量増加，心臓の鉱質沈着。雄でグルコース及び ALP 増加，副腎重量増加。雌でコレステロール増加，肝重量増加，卵巣重量減少，肝細胞の水腫性空胞化，卵巣黄体数減少。	ISA05-17	4.2.3.4.1-02（参考資料）

a：溶媒：特記なき限り，重量比 [redacted] のビタミン E TPGS，MCT 油，Tween 40，95%エタノール溶液。

b：NOAEL は試験報告書には記載されていない。NOAEL は，毒性学者がレビューし解釈した結果，WBC の変化から決定された。

2.6.7.10.2　マウスにおけるがん原性試験

被験物質：ボクロスポリン（JAN）

報告書の題名：　A 104-Week Oral Gavage Toxicity Study in Mice with ISA247
動物種/系統：　マウス/CD-1　　投与期間：　60～89 週間　　報告書番号：ISA06-01
投与開始週齢：　約 7 週齢　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.4.1-03
初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：　強制経口　　GLP 適用：適
溶媒/投与形態：　ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液
高用量の設定根拠：毒性指標による。マウスの 13 週間反復経口投与毒性試験結果（資料番号 4.2.3.4.1-02）から，125 mg/kg/日は致死量であることが確認されている。
特記事項：TK 評価のため，雌雄各 5 例/群（生理食塩水及び溶媒対照群）及び雌雄各 20 例/群（被験物質投与群）を追加し，26 週間投与した。30 mg/kg/日投与群の雌雄について，投与 60 週に投与を中止した。3 及び 30 mg/kg/日投与群の雄の生存率が低下したため，これらの群で生存していた雄をそれぞれ投与 82 及び 80 週に安楽死処分した。溶媒対照群の生存率が低下したため，投与 88～89 週に試験全体を終了した。

投与量（mg/kg/日）		0（生理食塩水）		0（溶媒）		3		10		30	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
TK　投与 26 週											
ボクロスポリン	C_{max}（ng/mL）	NA	NA	NA	NA	18.2	18.8	52.1	137.7	418.0	776.3
	AUC_{12h}（ng·h/mL）[a]	NA	NA	NA	NA	107.5	139.7	405.9	612.1	3876.0	5559.7
動物数											
開始時		65	65	65	65	65	65	65	65	65	65
死亡/瀕死による屠殺		32	24	45	39	50	41	45	43	50	45
最終剖検例数		33	41	20	26	15	24	20	22	15	20
生存率（%）		51	63	31	40	23	37	31	34	23	31
体重（%）[b]	投与 26 週	40.8 g	31.0 g	0	−3	0	−3	−1	−3	−1	0
摂餌量（%）[b]	投与 26 週	6.7 g	6.4 g[*c]	−4	−6	−4	−9	+3[*c]	−6	0	0[*c]

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（生理食塩水）		0（溶媒）		3		10		30	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
腫瘍性病変を有する動物数										
検査動物数	65	65	65	65	65	65	65	65	65	65
悪性リンパ腫$^{\$\$}$	2	8	3	3	0	7	2	2	$7^{\#d}$	$13^{\#c}$
特記すべき所見	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
剖検所見	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査－非腫瘍性病変	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

－：特記すべき所見なし，NA：該当なし

$^{*}p < 0.05$（Dunnett の検定）

$^{\$\$}p < 0.005$（傾向検定）

$^{\#}p < 0.01$（pairwise 比較）

a：30 mg/kg/日群の動物の死亡により，AUC_{24h} の算出に影響を及ぼしたため，群間の曝露量の比較には AU_{12h} を用いた。

b：対照（生理食塩水）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。

c：溶媒対照群と比較

d：生理食塩水対照群と比較

2.6.7.10.3　ラットにおけるがん原性試験

被験物質：ボクロスポリン（JAN）

報告書の題名：　A 104-Week Oral Gavage Carcinogenicity Study in Rats with ISA247
動物種/系統：　ラット/SD　　投与期間：　96 週間 [a]　　報告書番号：ISA04-08
投与開始週齢：　約 8 週齢　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.4.1-04
初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：　強制経口　　GLP 適用：適
溶媒/投与形態：　ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液

高用量の設定根拠：毒性指標による。ラットの 13 及び 26 週間反復経口投与毒性試験結果（資料番号 4.2.3.2-07 及び 4.2.3.2-08）から，1.25 mg/kg/日以上は致死量であることが確認されている。

特記事項：TK 評価のため，雌雄各 4 例/群（生理食塩水及び溶媒対照群）及び雌雄各 11 例/群（被験物質群）を追加し，26 週間投与した。溶媒対照群の生存率が低下したため，投与 95～97 週に試験全体を終了した。

投与量（mg/kg/日）		0（生理食塩水）		0（溶媒）		0.05	0.25	1.25	0.1	0.5	2.5
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雄	雄	雌	雌	雌
TK　投与 26 週											
ボクロスポリン	C_{max}（ng/mL）	NA	NA	NA	NA	0.80	4.21	28.53	14.22	6.86	63.57
	AUC_{24h}（ng·h/mL）	NA	NA	NA	NA	11.44	53.61	395.24	22.63	48.06	366.21
動物数											
開始時		65	65	65	65	65	65	65	65	65	65
死亡/瀕死による屠殺		39	42	45	44	46	44	49	35	44	35
最終剖検例数		26	23	20	21	19	21	16	30	21	30
生存率（%）		40	35	31	32	29	32	25	46	32	46
体重（%）[b]	投与 26 週	659 g	342 g	−4	−1	−3	−2	−1	0	+1	+3
摂餌量（%）[b]	投与 26 週	34 g	24 g	−3	0	−3*	−3	+6*	0	+8**	−4

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（生理食塩水）		0（溶媒）		0.05	0.25	1.25	0.1	0.5	2.5
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雄	雄	雌	雌	雌
腫瘍性病変を有する動物数										
検査動物数	65	65	65	65	65	65	65	65	65	65
膵臓：膵島細胞腺腫	5	2	1	0	1	1	3	2	1	1
膵臓：膵島癌	2	1	1	2	3	5	5	2	0	1
子宮頚部：顆粒細胞腫	NA	1	NA	4	NA	NA	NA	2	6	5
腟：顆粒細胞腫	NA	0	NA	0	NA	NA	NA	0	0	1
特記すべき所見	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
剖検所見	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査－非腫瘍性病変										
検査数	65	65	65	65	65	65	65	65	65	65
腎臓：慢性進行性腎症	59	25	58	40	59	56	58	36	38	42

–：特記すべき所見なし，NA：該当なし

$^{*}p < 0.05$，$^{**}p < 0.01$（Dunnett の検定）

a：雄は投与 95 及び 96 週に，すべての雌は投与 95～97 週に安楽死処分した。

b：対照（生理食塩水）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：　重要な試験以外の試験

被験物質：Mix-ISA247，ボクロスポリン（JAN）

動物種/系統	投与方法［被験物質］[a]	投与期間	投与量（mg/kg/日）	一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
ラット/SD	強制経口［mix-ISA247］	妊娠 6～17 日	0（生理食塩水），0（溶媒），20，40，80，150	妊娠雌 7～8	20 mg/kg/日以上：流涎，同腹児数及び生存胎児数の減少，並びに総吸収胚数，早期吸収胚数，後期吸収胚数，1 腹あたりの死亡胚又は吸収胚の割合及びいずれかの吸収胚を有する母動物数の増加。 40 mg/kg/日以上：母動物における体重増加量及び摂餌量の減少，剖検時体重の減少による相対臓器重量の増加，並びに胎児体重の減少。	ISA00-23	4.2.3.5.2-01（参考資料）
ウサギ/NZW	強制経口［mix-ISA247］	妊娠 6～18 日	0（生理食塩水），0（溶媒），20，40，80，150	妊娠雌 3～5	20 mg/kg/日：死亡（1 例：被毛の身繕い不良，軟便/液状便/少量便，体重及び摂餌量の減少，胃に赤色小斑点及び潰瘍）。 20 mg/kg/日以上：被毛の身繕い不良，軟便/液状便/少量便，摂餌量減少，同腹児数，生存胎児数及び胎児体重の減少，総吸収胚数，早期吸収胚数，後期吸収胚数及びいずれかの吸収胚を有する母体数の増加（80 mg/kg/日以上では生存胎児なし）。 40 mg/kg/日以上：流産（40 及び 150 mg/kg/日：各 1 例，80 mg/kg/日：2 例，ただし生理食塩水群にも 1 例），膣周囲赤色物及び/又はケージトレー内に赤色物。 150 mg/kg/日：体重減少又は体重増加量の減少。	ISA00-24	4.2.3.5.2-02（参考資料）

（続く）

2.6.7.11　　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

動物種/系統	投与方法［被験物質］[a]	投与期間	投与量（mg/kg/日）	一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
ウサギ/NZW	強制経口［ボクロスポリン］	妊娠 6～18 日	0（溶媒），0（生理食塩水），2，10，20，40，60	妊娠雌 4～5	溶媒に関連すると考えられる影響：状態悪化又は流産による安楽死例（溶媒対照：2 例，2 mg/kg/日：1 例，10 mg/kg/日：1 例，40 mg/kg/日：1 例及び 60 mg/kg/日：2 例），状態悪化，体重，体重増加量及び摂餌量の減少。 2 mg/kg/日以上：胎児体重の減少。 40 mg/kg/日以上：着床後胚死亡の高値，妊娠子宮重量の減少。 60 mg/kg/日：被験物質の影響と考えられる母動物の体重，体重増加量及び摂餌量の減少。	ISA04-04	4.2.3.5.2-05（参考資料）

a：溶媒：特記なき限り，重量比 [redacted] のビタミン E TPGS，MCT 油，Tween 40，95%エタノール溶液。

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

被験物質：Mix-ISA247

報告書の題名：Oral (Gavage) Fertility and General Reproduction Toxicity Study of $ISA_{TX}247$ in Rats

試験計画：ICH 4.1.1：適

投与期間：　雄：交配 49 日前から剖検前日まで（69～73 日間）
雌：交配 15 日前から妊娠 7 日まで

報告書番号：ISA02-02

動物種/系統：SD ラット

交尾成立日：妊娠 0 日

CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.5.1-01

試験開始週齢：　約 10 週齢

帝王切開日：妊娠 13 日

初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日

投与方法：強制経口

GLP 適用：適

溶媒/投与形態：ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液

無毒性量：

F_0 雄　：10 mg/kg/日
F_0 雌　：> 25 mg/kg/日
F_1 胚　：> 25 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）		0（生理食塩水）	0（溶媒）	2.5	10	25
F0 雄						
TK[a]　投与 70 日						
Mix-ISA247	C_{max}（ng/mL）	NA	NA	55.3	373.5	897.0
	AUC_{24h}（ng·h/mL）	NA	NA	631.5	4556.1	13622.7
評価動物数		25	25	25	25	25
死亡及び切迫屠殺動物数		0	0	0	1[b]	1[c]

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（生理食塩水）	0（溶媒）	2.5	10	25
F0 雄						
一般状態（総所見数/所見を有する動物数）						
軟便又は液状便		3/3	46/11	80/15$^{\$\$}$	154/20$^{\$\$}$	553/25$^{\$\$}$
過度な流涎		12/6	48/16$^{\$\$}$	126/24$^{\$\$}$	48/22$^{\$\$}$	144/22$^{\$\$}$
鼻部の腫脹		8/1	0/0	0/0	0/0	545/21$^{\$\$}$
四肢の脱毛（局所）		45/1	32/2	0/0	47/1	320/20$^{\$\$}$
前肢指，1 指以上の腫脹		0/0	0/0	9/1	14/1	138/8$^{\$\$}$
腹部被毛の尿汚れ		0/0	0/0	0/0	0/0	115/8$^{\$\$}$
体重（%）$^{d, e}$	剖検時	526.2 g	+1.1	+1.4	+4.0^{g}	−9.4^{**g}
体重増加量（%）$^{d, f}$	投与 1 日～剖検時	175.5 g	+2.7	+4.4	+13.4^{*g}	−27.7^{**g}
摂餌量（%）$^{d, h}$	絶対値	26.2 g/日	−1.5	0^{i}	+5.3$^{*g, i}$	+6.5**
投与 1～49 日	相対値	60.8 g/kg/日	−1.6	−0.7^{i}	+3.5$^{*g, i}$	+12.3**
剖検		–	–	–	–	–
臓器重量（%）^{d}						
左精巣上体尾部	絶対重量	0.3610 g	+0.8	+3.5^{j}	−4.5^{j}	−23.3**
	相対重量	0.069%	−1.4	+1.4^{j}	−10.1^{*j}	−15.9**
左精巣上体	絶対重量	0.7348 g	+2.3	+2.1^{j}	−2.2^{j}	−19.0**
	相対重量	0.141%	+0.7	−0.7^{j}	−7.1^{j}	−12.1**
右精巣上体	絶対重量	0.7469 g^{j}	+4.3	+1.4	−1.2	−18.2**
	相対重量	0.142%^{j}	+3.5	0	−4.9	−9.9**
左精巣	絶対重量	1.7490 g	+1.4	+1.8^{j}	−1.0^{j}	−7.6**
	相対重量	0.333%	+0.6	−0.3^{j}	−4.8^{j}	+2.1
右精巣	絶対重量	1.7295 g^{j}	+3.7	+2.9^{j}	−0.6	−6.5*
	相対重量	0.328%^{j}	+3.7	+1.5^{j}	−3.7	+3.7
精嚢（精嚢液含む）	絶対重量	1.8006 g^{j}	+1.2	+11.0*	+7.0^{j}	−21.0^{**j}
	相対重量	0.342%^{j}	+0.6	+10.2	+3.5^{j}	−12.6^{*j}

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（生理食塩水）	0（溶媒）	2.5	10	25
F0 雄						
臓器重量（%）[d]						
精嚢（精嚢液含まない）	絶対重量	0.9162 g	+3.3	+9.9[*]	+2.6	−11.6[*]
	相対重量	0.174%	+1.7	+9.2	−1.1	−2.3
前立腺	絶対重量	1.2807 g	−0.2	−3.6	−4.4	−36.5[**j]
	相対重量	0.242%	−0.4	−4.1	−7.9	−29.8[**j]
平均交配所要日数（日）		2.1	2.1	2.6	2.1	2.0
交尾動物数		25	24	25	24	24
授胎動物数		22	21	24	23	20
精子検査（運動性，数，濃度）		–	–	–	–	–
F0 雌						
TK[a]　妊娠 7 日						
Mix-ISA247	C_{max}（ng/mL）	NA	NA	471.3	750.5	862.4
	AUC_{24h}（ng·h/mL）	NA	NA	922.5	5500.7	7669.0
評価動物数		25	25	25	25	25
死亡及び切迫屠殺動物数		0	1[k]	0	0	1[k]
一般状態		–	–	–	–	–
体重（%）[d]						
交配前体重：投与 15 日		263.4 g	+1.3[g]	+1.5	+1.8	+2.5
交配前体重増加量：投与 1～15 日		15.7 g	+10.2	−1.9	+26.1	+19.1
妊娠期体重：妊娠 13 日		334.0 g	−0.4	+1.1	+1.1	+1.0
妊娠期体重増加量：妊娠 0～13 日		70.0 g	−5.3	−1.1	−1.1	−1.4
摂餌量（%）[d] 妊娠 0～13 日	絶対値 相対値	24.4 g/日 82.4 g/kg/日	−3.3 −3.8	−1.2 −3.2	−1.2[i] −2.4[i]	+2.9 +1.2
剖検		–	–	–	–	–
平均発情期回数（回/14 日間）		3.2	3.0	3.0	2.9	2.9

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（生理食塩水）	0（溶媒）	2.5	10	25
F0 雌					
平均交配所要日数（日）	2.1	2.1	2.8	3.0	2.2
交尾確認雌動物数	25	24	25	25	24
交尾率（%）	100	100	100	100	100
妊娠動物数	22	20	24	24	21
受胎率（%）	88.0	83.3	96.0	96.0	87.5
平均黄体数	16.5	16.8	17.1	17.6	16.4
平均着床数	15.2	14.9	15.2	15.5	14.3
平均生存胚数	14.0	14.2	14.2	15.0	13.0

－：特記すべき所見なし，NA：該当なし

*p ≤ 0.05，**p ≤ 0.01（Dunnett の検定又は Dunn の検定）

$$p ≤ 0.01（二項分布の均質性に関する分散検定）

a：TK 群として，ラット雌雄各 6 例/群を追加し，各群の動物に 2.5，10 又は 25 mg/kg/日の用量で投与した。

b：投与 46 日に雄 1 例が死亡した。死因の詳細は不明であったが，被験物質に関連した死亡ではないと判断された。

c：雄 1 例で歯の異常による状態悪化が認められたため，当該動物を投与 57 日に切迫屠殺した。

d：対照（生理食塩水）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。

e：25 mg/kg/日投与群で，投与 8 日から 64 日及び剖検時の体重が有意に減少した。

f：25 mg/kg/日投与群で，全試験期間において体重増加量が有意に減少した。10 mg/kg/日投与群で，全試験期間において体重増加量が有意に増加した。

g：切迫屠殺又は死亡例の値を除く。

h：25 mg/kg/日投与群で，摂餌量の絶対値及び/又は相対値が試験初期の 2 週間（投与 1～15 日）は有意に減少したが，以降の大半の測定時点及び試験期間全体では有意に増加した。10 mg/kg/日投与群で，全試験期間において摂餌量の絶対値及び相対値が有意に増加した。

i：誤って記録されたと思われる値，及びこぼれた又は湿った/汚れた食餌に関連する値を除く。

j：重量に影響するため，異常臓器又は臓器に損傷があった動物の値を除く。

k：溶媒群の 1 例が投与 7 日に死亡，25 mg/kg/日群の 1 例が投与 17 日に切迫屠殺された。いずれも投与過誤と推定された。

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：　胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1　ラットにおける胚・胎児発生に関する試験　　被験物質：Mix-ISA247

報告書の題名：Oral (Gavage) Developmental Toxicity Study of $ISA_{TX}247$ in Rats
試験計画：ICH 4.1.3：適　　投与期間：　妊娠 6～17 日　　報告書番号：ISA01-12

動物種/系統：SD ラット　　交尾成立日：妊娠 0 日　　CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.5.2-03
試験開始週齢：約 10 週齢　　帝王切開日：妊娠 21 日
初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：強制経口　　GLP 適用：適
溶媒/投与形態：ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液

特記事項：なし
無毒性量：
F_0 雌　　：10 mg/kg/日
F_1 胎児　　：10 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）	2.5	10	25
F_0 雌					
TK[a]　妊娠 17 日					
Mix-ISA247	C_{max}（ng/mL）	NA	58.5	474.3	1058.0
	AUC_{∞}（ng·h/mL）	NA	589.5[b]	6240.3	12852.6
妊娠動物数		24	24	24	25
死亡及び切迫屠殺動物数		0	0	0	0
流産，早産あるいは全胚吸収母動物数		0	0	0	0
一般状態（総所見数/所見を有する動物数）	少量便	59/13	116/22[$$]	118/21[$$]	151/22[$$]
	過度な流涎	0/0	4/3	7/5	32/19[$$]
	腹部被毛の尿汚れ	1/1	2/2	4/3	19/12[$$]
	脱毛（局所）	0/0	2/1	57/4	19/4
	口周囲赤色物	0/0	0/0	0/0	4/4[$$]

（続く）

投与量（mg/kg/日）			0（溶媒）	2.5	10	25
F_0 雌						
体重（%）[c]	妊娠 17 日		342.6 g	+0.1	+2.0	−3.8*
	妊娠 21 日		420.2 g	+0.3	+3.1	−4.9*
体重増加量（%）[c]	妊娠 6～18 日		87.2 g	+0.1	+3.7	−19.5**
	妊娠 0～21 日		181.3 g	+0.5	+6.8	−11.7**
摂餌量（%）[c]	妊娠 15～18 日	絶対値	28.2 g/日 [d]	−6.4[d]	−4.6	−12.1**[d]
		相対値	83.8 g/kg/日 [d]	−7.5[d]	−6.4	−9.3**[d]
臓器重量（%）[c]						
脳	絶対重量		2.19 g	+0.5	+2.3	+0.5
	脳重量に対する相対重量		NA	NA	NA	NA
	最終体重に対する相対重量		0.521%	+0.6	−0.8	+6.3**
副腎（両側）	絶対重量		0.082 g	+1.2	+3.7	+6.1
	脳重量に対する相対重量		3.75%	+0.8	+1.9	+5.9
	最終体重に対する相対重量		0.020%	0	0	+10.0*
卵巣（両側）	絶対重量		0.158 g	−1.3	0	−13.9*
	脳重量に対する相対重量		7.24%	−2.1	−1.5	−14.5*
	最終体重に対する相対重量		0.037%	0	−2.7	−10.8
子宮（妊娠）			108.6 g[e]	−1.2	+2.6	−21.2**
胎盤			0.54 g	−7.4*	0	−11.1**
剖検			–	–	–	–
平均黄体数			18.0	18.6	18.6	18.1
平均着床数			15.8	15.7	15.7	15.6
F_1 胎児						
評価母動物数			24	24	24	25
生存胎児総数			352	355	361	292

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）	2.5	10	25
F_1 胎児					
平均生存胎児数		14.7	14.8	15.0	11.7*
性比（雄の割合%）		51.6	54.2	49.2	52.6
平均吸収胚数		1.1	0.9	0.7	3.8**
平均早期吸収胚数		1.0	0.8	0.6	3.3**
平均後期吸収胚数		0.1	0.0	0.0	0.5
死亡胎児数		0	1	0	2
吸収胚が認められた母動物数		13	12	10	24**
1 腹あたりの死亡又は吸収胚の割合（%）		7.6	5.8	4.1	26.1**
死亡胎児を有する母動物数		0	1	0	1
平均胎児体重（g）	雌雄	5.27	5.35	5.30	5.05*
	雄	5.45	5.46	5.43	5.23
	雌	5.07	5.22	5.18	4.87
外形異常		–	–	–	–
内臓異常		–	–	–	–
内臓変異		–	–	–	–
骨格異常		–	–	–	–
骨格変異		–	–	–	–
影響（異常及び/又は変異）がみられた胎児数（%）		10（2.8）	7（2.0）	8（2.2）	7（2.4）
1 腹当たりの影響がみられた平均胎児（%）		3.3	2.0	2.2	3.4
影響がみられた胎児を有する母動物数（%）		8（33.3）	7（29.2）	7（29.2）	6（24.0）
骨化					
骨化数：後肢 中足骨		4.74	4.78	4.78	4.53*

–：特記すべき所見なし，NA：該当なし

*$p \leq 0.05$，**$p \leq 0.01$（Dunnett の検定，Dunn の検定又は Fisher の直接確率検定）

$$p \leq 0.01$（二項分布の均質性に関する分散検定）

a：TK 群として，ラット雌 6 例/群を追加し，各群の動物に 2.5，10，又は 25 mg/kg/日の用量で投与した。

b：AUC_{all}

c：対照（溶媒）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。
d：餌こぼしに関連する値を除く。
e：記録されなかった値を除く。

2.6.7.13.2　ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験　　被験物質：Mix-ISA247

報告書の題名：Oral (Stomach Tube) Developmental Toxicity Study of $ISA_{TX}247$ in Rabbits
試験計画：ICH 4.1.3：適　　投与期間：　妊娠 6～18 日　　報告書番号：ISA01-13

動物種/系統：ウサギ/NZW　　交尾成立日：妊娠 0 日　　CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.5.2-04
試験開始月齢：約 5～6 か月齢　　帝王切開日：妊娠 29 日
初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：強制経口　　GLP 適用：適
溶媒/投与形態：ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液

特記事項：最終報告書では NOAEL を 10 mg/kg/日としたが，2 mg/kg/日に引き下げた。この決定は，10 mg/kg/日で認められた胎児体重の減少及びそれに伴う骨化遅延は有害であり，ボクロスポリンのウサギ胚・胎児発生に関する試験（2.6.7.13.3）において NOAEL を決定した考え方と一致するものである。
無毒性量：
F_0 雌　　：2 mg/kg/日
F_1 胎児　　：2 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）	2	10	20
F_0 雌					
TK[a]　妊娠 18 日					
Mix-ISA247	C_{max}（ng/mL）	NA	< 25	47.7	161.0
	AUC_{∞}（ng·h/mL）	NA	NC	280.2	1641.9
妊娠動物数		17	20	17	20
死亡及び切迫屠殺動物数		0	1[b]	0	0
流産，早産あるいは全胚吸収母体数		0	0	1[c]	2[c]
一般状態[d]	ケージトレー内に赤色物	0	0	1	2
	ケージトレー内に胎児	0	0	0	1
体重（%）[e]	妊娠 19 日	3.89 kg	+0.8[f]	+2.3	+1.3
	妊娠 29 日	4.10 kg	+0.2[f]	+3.2[f]	+5.9[f]
	妊娠 29 日（補正体重）[g]	3.56 kg	+0.6[f]	+6.2[f,h]	+12.6[**f]

（続く）

投与量（mg/kg/日）			0（溶媒）	2	10	20
F_0 雌						
体重増加量（%）[e]	妊娠 6～29 日		+0.44 kg	−6.8[f]	+11.4[f]	+50.0[**f]
	妊娠 6～29 日（補正体重）[g]		−0.11 kg	−9.1	+145.5[*f,h]	+400.0[**f]
	妊娠 0～29 日		+0.48 kg	−2.1[f]	+22.9[f]	+47.9[**f]
	妊娠 0～29 日（補正体重）[g]		−0.06 kg	0[f]	+350.0[**f,h]	+716.7[**f]
摂餌量（%）[e]	妊娠 6～19 日	絶対値	140.5 g/日[i]	+5.1[f]	−7.8	−20.6[*]
		相対値	37.5 g/kg/日[i]	+2.9[f]	−9.9	−22.7[*]
	妊娠 6～29 日	絶対値	143.0 g/日	+2.9[f]	−0.1[f]	−3.1[f,i]
		相対値	37.0 g/kg/日	+1.9[f]	−2.7[f]	−6.2[f,i]
臓器重量（%）[e]						
卵巣（両側）	絶対重量		0.890 g	+2.8	−13.7	−16.1[*]
	脳重量に対する相対重量		8.50%	+2.9	−11.2	−17.8[*]
	最終体重に対する相対重量		0.020%	+10.0	−5.0	−15.0
子宮（妊娠）			546.0 g	−2.5	−20.4[**f,h]	−38.5[**f]
胎盤			4.92 g/腹	+0.6	−7.7	−9.3
剖検			–	–	–	–
平均黄体数			11.0	11.3	10.2	9.9
平均着床数			9.7	9.7	8.6	8.3
F_1 胎児						
評価母動物数			17	19	16	18
生存胎児総数			155	171	128	114
平均生存胎児数			9.1	9.0	8.0	6.3[*]
性比（雄の割合%）			48.7	53.8	37.8	53.0
平均吸収胚数			0.6	0.7	0.6	1.9
早期吸収胚数			3	5	4	20

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）	2	10	20
F_1 胎児					
後期吸収胚数		7	9	5	15
死亡胎児数		0	0	1	0
平均着床後死亡率（%）		0.6	0.7	0.6	1.9
吸収胚が認められた母動物数		7	9	6	12
1 腹あたりの死亡又は吸収胚の割合（%）		5.8	7.3	6.5	23.3
死亡胎児を有する母動物数		0	0	1	0
平均胎児体重（g）	雌雄	42.92	42.02	37.89*	36.30**
	雄	43.41	43.39	39.54	36.49**
	雌	42.40	40.40	37.16*	35.48**
外形異常		–	–	–	–
内臓異常・変異		–	–	–	–
骨格異常・変異		–	–	–	–
影響（異常及び/又は変異）がみられた胎児数（%）		7（4.5）	11（6.4）	10（7.8）	20（17.5）**
1 腹当たりの影響がみられた胎児数（平均%）		4.4	6.5	7.0	14.5
影響がみられた胎児を有する母動物数（%）		5（29.4）	8（42.1）	5（31.2）	9（50.0）
骨化					
骨化数：前肢 中手骨		5.00	4.99	4.94	4.79**

–：特記すべき所見なし，NA：該当なし，NC：測定値が定量下限（25 ng/mL）未満であるため未算出
*p ≤ 0.05，**p ≤ 0.01（Dunnett の検定，Dunn の検定又は Fisher の直接確率検定）
a：TK 群として，6 例/群を追加し，各群の動物に 2，10 又は 20 mg/kg/日の用量で投与した。
b：2 mg/kg/日群の 1 例が妊娠 17 日に死亡した。原因は投与過誤であると考えられた。
c：10 mg/kg/日群の 1 例が妊娠 21 日に，20 mg/kg/日群の 2 例が妊娠 21 又は 24 日に流産した。
d：これらの所見は，流産動物でのみ認められた。
e：対照（溶媒）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。
f：死亡又は流産した雌の値を除く。
g：補正体重 = 妊娠 29 日の体重から妊娠子宮重量を減算した値。
h：記録されなかった値を除く。
i：餌こぼし又は汚れた餌に関連する値を除く。

2.6.7.13.3　ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験　　被験物質：ボクロスポリン（JAN）

報告書の題名：A Study of the Effects of *Trans*-ISA247 on Embryo/Fetal Development in Rabbits
試験計画：ICH 4.1.3：適　　投与期間：　妊娠 6～18 日　　報告書番号：ISA04-05

動物種/系統：ウサギ/NZW　　交尾成立日：妊娠 0 日　　CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.5.2-06
試験開始月齢：約 5.5 か月齢　　帝王切開日：妊娠 29 日
初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：強制経口　　GLP 適用：適
溶媒/投与形態：ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液

特記事項：なし
無毒性量：
F_0 雌　　：1 mg/kg/日
F_1 胎児　　：1 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）	0（生理食塩水）	1	5	20
F_0 雌						
TK[a]　ボクロスポリン						
C_{max}（ng/mL）	妊娠 6 日	NA	NA	1.3	8.7	55.6
	妊娠 18 日	NA	NA	1.1	13.4	59.9
AUC_{all}（ng·h/mL）	妊娠 6 日	NA	NA	6.9	65.9	404.1
	妊娠 18 日	NA	NA	8.1	105.0	516.7
妊娠動物数		20	22	21	22	22
死亡及び切迫屠殺動物数		0	2[b]	0	0	1[c]
流産，早産あるいは全胚吸収母体数		0	0	0	0	0

（続く）

投与量（mg/kg/日）			0（溶媒）	0（生理食塩水）	1	5	20
F_0 雌							
一般状態							
軟便			13	4	10	15	20
乾燥褐色物		泌尿・生殖器領域	5	1	3	3	17
		肛門性器領域	7	4	5	8	18
		尾起始部	9	5	3	8	13
湿性褐色物		泌尿・生殖器領域	1	1	1	2	5
		肛門性器領域	4	3	0	4	13
		尾起始部	2	2	2	2	4
体重（%）[d]		妊娠 18 日	3809 g	−0.8	−1.8	−1.1	+2.7
		妊娠 29 日	4024 g	−0.1	−1.9	+0.2	+7.9**
体重増加量（%）[d]		妊娠 6～19 日	355 g	−0.3	+4.8	+4.5	+58.0**
		妊娠 6～29 日	558 g	+6.1	−0.4	+11.6	+72.0**
摂餌量（%）[d]	絶対値	妊娠 6～19 日	167 g/日	+3.0	+3.6	0	−13.8*
		妊娠 6～29 日	161 g/日	+4.3	+2.5	+1.9	−5.6
	相対値	妊娠 6～19 日	45 g/kg/日	+4.4	+6.7	+2.2	−13.3**
		妊娠 6～29 日	42 g/kg/日	+7.1	+4.8	+4.8	−7.1
臓器重量（%）[d]							
子宮（妊娠）			517.8 g	+2.4	−6.9	+1.1	−16.9**
剖検	乳腺腫脹		−	−	−	8	18
平均黄体数			10.1	9.7	9.7	10.5	10.5
平均着床数			8.8	9.2	8.3	9.5	9.9
平均着床前死亡率（%）			12.6	5.7	14.1	9.6	6.3

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（溶媒）	0（生理食塩水）	1	5	20
F_1 胎児						
評価母動物数		20	20	21	22	21
生存胎児総数		166	177	161	203	189
平均生存胎児数		8.3	8.9	7.7	9.2	9.0
性比（雌の割合%）		38.3	44.8	49.9	53.5	49.5
早期吸収胚数		6	4	9	5	8
後期吸収胚数		4	2	4	0	10
死亡胎児数		0	0	0	0	0
平均着床後死亡率（%）		5.9	3.2	7.2	2.5	8.4
死亡胎児を有する母動物数		0	0	0	0	0
平均胎児体重（g）	雌雄	44.6	43.5	45.0	40.8**	32.0**
	雄	44.8	44.1	45.5	41.4*	32.3**
	雌	44.0	42.6	44.5	40.3*	31.7**
外形異常・変異		–	–	–	–	–
内臓異常・変異		–	–	–	–	–
骨格異常		–	–	–	–	–
骨格変異						
評価胎児数		166	177	161	203	189
骨格変異を有する胎児の割合（平均%/腹）		64.3	57.3	67.3	64.9	77.5
第 5 及び/又は第 6 胸骨分節の未骨化						
異常児数（平均%）		7（4.4）	15（7.6）	14（8.3）	25（11.6）	58（30.8）**
異常児を有する母動物数（%）		6（30.0）	8（40.0）	11（52.4）	10（45.5）	14（66.7）
舌骨体及び/又は舌骨弓の未骨化						
異常児数（平均%）		0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	1（0.5）	12（7.2）*
異常児を有する母動物数（%）		0（0.0）	0（0.0）	0（0.0）	1（4.5）	6（28.6）

–：特記すべき所見なし，NA：該当なし

*p < 0.05，**p < 0.01（Dunnett の検定又は Mann-Whitney の U 検定）

a：TK 群として，4 例/群を追加し，各群の動物に 1，5 又は 20 mg/kg/日の用量で投与した。
b：妊娠 22 日に 1 例が死亡した。死因は特定できなかった。妊娠 22 日に 1 例を状態悪化のため安楽死させた。剖検の結果，毛髪胃石が認められた。
c：妊娠 12 日に 1 例が投与過誤のため死亡した。
d：対照（溶媒）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。

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

被験物質：Mix-ISA247

報告書の題名：Oral (Gavage) Developmental and Perinatal/Postnatal Reproduction Toxicity Study of $ISA_{TX}247$ in Rats, Including a Postnatal Behavioral/Functional Evaluation

試験計画：ICH 4.1.2：適
動物種/系統：SD ラット
試験開始週齢：約 9 週齢

投与期間：　妊娠 7 日～分娩 22 日
交尾成立日：妊娠 0 日
投与方法：強制経口
溶媒/投与形態：ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液
同腹児数の調整/非調整：非調整。分娩後 21 日に雌雄各 25 例/群を選択。

報告書番号：ISA02-03
CTD における記載箇所（資料番号）：4.2.3.5.3-01
GLP 適用：適

初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
特記事項：なし
無毒性量：
F_0 雌　　：10 mg/kg/日
F_1 雌雄　　：＞ 25 mg/kg/**日**，10 mg/kg/日（発生）
F_2 胎児　　：＞ 25 mg/kg/**日**

投与量（mg/kg/日）		0（生理食塩水）	0（溶媒）	2.5	10	25
F_0 雌						
TK　最終投与日 [a]						
Mix-ISA247	C_{max}（ng/mL）	NA	NA	49.3	376.8	1145.9
	AUC_{24h}（ng·h/mL）	NA	NA	379.6[b]	2392.4	14504.3
妊娠動物数		21	23	24	23	23
死亡及び切迫屠殺動物数		0	0	1[c]	0	12[$$d]
流産あるいは全胚吸収数		0	0	0	0	0
一般状態（総所見数/所見を有する動物数）	膣：赤色又は褐色物	0/0	0/0	3/3	4/3	13/10[$$]
	腟周囲に赤色及び/又は褐色物	0/0	0/0	0/0	1/1	9/5[$$]
	粘膜蒼白	0/0	0/0	0/0	0/0	11/4[$$]
	軟便又は液状便	0/0	0/0	0/0	0/0	7/4[$$]
	脱水	0/0	0/0	1/1	0/0	12/7[$$]

（続く）

投与量（mg/kg/日）		0（生理食塩水）	0（溶媒）	2.5	10	25
F_0 雌						
一般状態（総所見数/所見を有する動物数）	痩削	0/0	0/0	0/0	0/0	10/3[$$]
	過度な流涎[e]	0/0	0/0	0/0	0/0	4/2
	腹部膨満[e]	0/0	0/0	0/0	0/0	2/2
	腹部被毛の尿汚れ[e]	0/0	0/0	0/0	0/0	3/1
	運動失調[e]	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
	正向反射障害[e]	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
	自発運動の低下[e]	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
体重（%）[f]	妊娠 20 日	376.0 g	−0.3	−0.1	−1.4	−4.0
	分娩 21 日	330.7 g	−3.4	−3.0	+1.3	+3.2
体重増加量（%）[f]	妊娠 7～20 日[g]	+107.6 g	−3.0	−0.6	−2.0	−15.4[**]
	分娩 1～21 日	+46.4 g	−30.4[*]	−19.6	+8.8	+25.9
摂餌量（%）[f] 絶対値	妊娠 7～20 日[h]	23.9 g/日	−2.1	−1.7	−2.9	−8.4[**]
	分娩 1～14 日	49.6 g/日	−3.0	+0.8	−3.0	+2.6[j]
相対値	妊娠 7～20 日[i]	77.3 g/kg/日	−1.9	−1.4	−1.2	−6.6[**]
	分娩 1～14 日	161.0 g/kg/日	−2.7	+1.9	−2.7	+2.7[j]
剖検[k]						
子宮：癒着		0	0	0	0	7[$$]
子宮：右子宮角の破裂		0	0	0	0	2
子宮：壁の肥厚		0	0	0	0	2
子宮：右子宮角における腫瘤（ピンク色）		0	0	0	0	1
腹腔内に褐色の液体		0	0	0	0	1
膵臓：ゼラチン状		0	0	0	0	1
顎下及び唾液腺リンパ節周囲にゼラチン状物質		0	0	0	0	1

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（生理食塩水）	0（溶媒）	2.5	10	25
F_0 雌					
平均妊娠期間（日）	22.7	22.6	22.6	22.5	22.9
異常分娩：不完全分娩	0	0	0	0	12
F1 出生児（離乳前）					
評価 F0 母動物数	21	23	24	23	11
平均着床数	16.0	16.5	16.4	14.5	15.1
平均出産児数	15.0	14.7	15.6	14.0	12.5*
平均出生児数	15.0	14.6	15.6	13.9	12.5*
死産児を有する母体数	0	1	0	1	0
出生 4 日後生存率（%）[m]	99.0	99.1	98.6	99.1	98.6
離乳時生存率[n]	97.4	96.1	99.2*	99.0*	99.3*
性比（%雄/全出産児）	52.6	50.2	51.5	49.6	48.0
体重（%）[f] 出生時	6.1 g	0	−1.6	−1.6	+16.4**
離乳時	34.6 g	−0.6	−4.6[l]	+3.2	+18.5*
一般状態：臍ヘルニア	0/0	0/0	0/0	8/1	54/3[$$]
離乳時剖検	–	–	–	–	–
F1 雄（離乳後）					
評価動物数	25	25	25	25	25
死亡及び切迫屠殺動物数	0	0	0	0	0
一般状態	–	–	–	–	–
体重（%）[f] 生後 64 日	448.6 g	−1.9	−0.6	+0.6	−1.7
体重変化（%）[f] 生後 1 日～交配期	439.0 g	−0.8	+0.1	+0.6	−3.9
摂餌量（%）[f] 絶対値 生後 1～交配期	26.4 g/日 [o]	−0.4[o]	+0.4[o]	+0.4	+0.4[o]
亀頭包皮分離（認められた生後日数）[p]	47.0	47.6	46.7	46.6	45.4

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（生理食塩水）	0（溶媒）	2.5	10	25
F1 雄（離乳後）					
行動・学習検査					
受動的回避反応	–	–	–	–	–
水迷路	–	–	–	–	–
離乳時剖検	–	–	–	–	–
生殖機能検査					
評価動物数	24	25	25	24	25
平均交配所要日数	3.1	3.4	2.8	2.6	3.5
交尾動物数	23	25	25	24	25
交尾率（%）	95.8	100.0	100.0	100.0	100.0
授胎動物数	23	24	25	22	25
授胎率（%）	100.0	96.0	100.0	91.7	100.0
剖検	–	–	–	–	–
F1 雌（離乳後）					
評価動物数	25	25	25	25	25
死亡及び切迫屠殺動物数	1[q]	0	0	1[q]	0
一般状態	–	–	–	–	–
体重（%）[f]　生後 64 日	261.9 g	−0.5	−9.2**	−5.3*	−3.4
体重変化（%）[f]　生後 1 日～交配期	234.2 g[r]	−0.7	−10.2**	−7.3**	−7.3**
妊娠 0～21 日	176.0 g	−0.2	−2.3[s]	+0.2	−2.9
摂餌量（%）[f]　絶対値　生後 1～64 日	19.4 g/日 [r,t]	−1.0[t]	−6.2[t]	−4.1[t]	−2.1[t]
妊娠 0～21 日	27.6 g/日	0	−6.5[u]	−4.0	−2.9
膣開口（認められた生後日数）	33.3	33.3	32.8	33.5	31.8

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（生理食塩水）	0（溶媒）	2.5	10	25
F1 雌（離乳後）					
行動・学習検査					
受動的回避反応	–	–	–	–	–
水迷路	–	–	–	–	–
離乳時剖検	–	–	–	–	–
生殖機能検査					
評価動物数	24	25	25	24	25
平均交配所要日数	3.1	3.4	2.8	2.6	3.5
交尾動物数	23	25	25	24	25
交尾率（%）	95.8	100.0	100.0	100.0	100.0
妊娠動物数	23	24	25	22	25
受胎率（%）	100.0	96.0	100.0	91.7	100.0
剖検	–	–	–	–	–
平均黄体数	17.6	19.2	18.6	17.7	18.9
平均着床数	15.7	16.2	15.7	15.5	15.9
F2 胎児					
平均着床後死亡数	0.6	0.3	0.7	0.4	0.6
平均生存胎児数/腹	15.1	15.8	15.0	15.0	15.3
1 腹あたりの死亡胚又は吸収胚の割合（%）	3.7	2.2	4.6	3.2	3.9
胎児体重（g）　雌雄	5.02	4.99	5.02	5.01	5.06
雄	5.17	5.13	5.12	5.12	5.20
雌	4.86	4.84	4.88	4.88	4.94
性比（%雄）	53.5	49.2	52.6	52.8	48.1
胎児の外形異常	–	–	–	–	–

–：特記すべき所見なし，NA：該当なし

*P ≤ 0.05，**p ≤ 0.01（Dunnett の検定，Dunn の検定又は Fisher の直接確率検定）

$$p ≤ 0.01（二項分布の均質性に関する分散検定）

a：TK 群として，6 例/群を追加し，各群の動物に 2.5，10 又は 25 mg/kg/日の用量を投与した。投与最終日（2.5 及び 10 mg/kg/日投与群は分娩 20 日，25 mg/kg/日投与群は妊娠 31 日又は分娩 20 日）に採血した。
b：外挿値，検体が測定可能であった最終時点は投与後 12 時間であった。
c：分娩 2 日に死亡した。原因は投与過誤と推定された。
d：不完全分娩のため切迫屠殺した。その他，TK 群については，妊娠 26 日に 1 例が死亡し，妊娠 28 又は 31 日に 3 例を切迫屠殺した。
e：25 mg/kg 投与群でのみ認められ，分娩期間延長と関連していた所見。
f：対照（生理食塩水）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。
g：表に示さなかった有意な体重増加抑制は次の通り；溶媒群：妊娠 7～10 日（−27.6%*）；10 mg/kg/日群：妊娠 7～8 日（−112.5%**）；25 mg/kg/日群：妊娠 7～8 日（−145.0%**），妊娠 7～10 日（−46.3%**），妊娠 12～15 日（−30.8%**），妊娠 0～20 日（−11.2%**）。
h：表に示さなかった有意な摂餌量（絶対値）の減少は次の通り；10 mg/kg/日群：妊娠 7～10 日（−6.8%*）；25 mg/kg/日群：妊娠 7～10 日（−14.4%**），妊娠 15～18 日（−9.4%*）。
i：表に示さなかった有意な摂餌量（相対値）の減少は次の通り；25 mg/kg/日群：妊娠 7～10 日（−13.1%**），妊娠 15～18 日（−6.9%*）。
j：餌こぼし又は汚れた餌に関連する値を除く。
k：すべての剖検所見は分娩延長が発生した母動物で認められた。
l：授乳 2 日に死亡した母体の同腹児データは除く（投与過誤による死亡と推定）。
m：（生後 4 日の生存児数/出生日の生存児数） × 100
n：（生後 21 日の生存児数/生後 4 日の生存児数） × 100
o：誤って記録されたと思われる値，餌こぼし又は汚れた餌に関連する値を除く。
p：亀頭包皮の分離が認められた平均生後日数。
q：対照（生理食塩水）群の 1 例及び 10 mg/kg/日群の 1 例は，口蓋裂のため離乳後 52 及び 71 日にそれぞれ切迫屠殺した。
r：離乳後 52 日に切迫屠殺した動物の値を除く。
s：水へのアクセス遮断に関連する値を除く。
t：餌こぼし又は汚れた餌，水又は餌へのアクセス遮断に関連する値を除く。
u：餌こぼし又は水へのアクセス遮断に関連する値を除く。

2.6.7.15　幼若動物を用いた試験：　重要な試験

2.6.7.15.1　28 日齢ラットにおける 10 週間反復経口投与毒性試験（5 週間回復性）

被験物質：ボクロスポリン（LX211）（JAN）

報告書の題名：　Voclosporin (LX211): A 10-Week Oral (Gavage) Repeated-Dose Toxicity Study in Juvenile Sprague-Dawley Rats Followed by a 5-Week Recovery Period

動物種/系統：　ラット/SD　　投与期間：　10 週間（PND28～101）　　報告書番号：HVV00003（ISA09-27）

投与開始日齢：　28 日齢　　休薬期間：　5 週間　　CTD における記載箇所（資料番号）：　4.2.3.5.4-01

初回投与年月日：　20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　　投与方法：　強制経口　　GLP 適用：適

溶媒/投与形態：　ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液

特記事項：なし

無毒性量：　雄：1.25 mg/kg/日，雌：2.50 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）		0（注射用水）		0（溶媒）		1.25	2.50	2.50	5.00	5.00	10.0
動物数　主試験群 + 回復群		雄 5 + 5	雌 5 + 5	雄 5 + 5	雌 5 + 5	雄 5 + 5	雌 5 + 5	雄 5 + 5	雌 5 + 5	雄 5 + 5	雌 5 + 5
TK 群				雄 6	雌 6	雄 15	雌 15	雄 15	雌 15	雄 15	雌 15
TK　投与 10 週											
ボクロスポリン	C_{max}（ng/mL）	NA	NA	NA	NA	25.6	44.3	69.6	88.6	129.7	341.5
	AUC_{24h}（ng·h/mL）	NA	NA	NA	NA	301.55	379.1	812.4	791.85	1686.6	2879.5
死亡及び切迫屠殺動物数		0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
一般状態		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
体重（%）[a]　投与 10 週		534.0 g	302.7 g	+8.4**	−0.9	+1.4	−4.195.9	+3.2	−3.7	+5.8	−6.0
FOB　投与 9 週		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
性成熟											
亀頭包皮分離（認められた生後日数）		47.0	NA	45.8	NA	46.6	NA	47.0	NA	47.5	NA
膣開口（認められた生後日数）		NA	32.4	NA	32.0	NA	33.0	NA	32.7	NA	32.7

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（注射用水）		0（溶媒）		1.25	2.50	2.50	5.00	5.00	10.0
動物数　主試験群 + 回復群	雄 5 + 5	雌 5 + 5	雄 5 + 5	雌 5 + 5	雄 5 + 5	雌 5 + 5	雄 5 + 5	雌 5 + 5	雄 5 + 5	雌 5 + 5
行動・学習検査										
自発運動量	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
水迷路	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
眼科学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
血液学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
血液生化学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
尿検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
剖検	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
臓器重量	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査										
胸腺：皮質の多巣性空胞化	0	0	0	0	0	0	1	2	2	4
腎臓：皮髄境界部の鉱質沈着（両側，広汎性）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
腎臓：皮髄境界部の鉱質沈着（片側，多巣性）	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
脳：神経網の空胞化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
坐骨神経：多巣性リンパ球浸潤	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
回復性の評価										
一般状態	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
体重（%）[a]　回復 5 週	651.6 g	334.5 g	+3.5	−4.3	−4.8	−1.3	+1.6	−4.4	+2.4	−4.5
眼科学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
血液学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
血液生化学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
尿検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
剖検	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

（続く）

投与量（mg/kg/日）	0（注射用水）		0（溶媒）		1.25	2.50	2.50	5.00	5.00	10.0
動物数　回復群	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
回復性の評価										
臓器重量	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査										
胸腺：皮質の多巣性空胞化	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
腸間膜リンパ節：リンパ球枯渇	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
腎臓：皮髄境界部の鉱質沈着（両側，広汎性）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
腎臓：皮髄境界部の鉱質沈着（片側，広汎性）	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

–：特記すべき所見なし，NA：該当なし
$^{**}p < 0.01$［対照（注射用水）群と溶媒群との比較］
a：対照（注射用水）群は平均値，その他の群は対照群との差を%で示した。統計学的有意差検定は実測値に基づく。

2.6.7.16　局所刺激性試験

被験物質：ボクロスポリン（JAN）

動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
皮膚一次刺激性試験							
ウサギ/NZW	経皮（閉塞）	単回（4 時間）	500 mg	雄 3	Draize 法により皮膚反応を判定した結果，パッチ除去 30～60 分後，並びに 24，48 及び 72 時間後に，紅斑又は浮腫は認められなかった。一次刺激性指数は 0.0 であり，ボクロスポリンは非刺激性と判定された。	ISA08-10	4.2.3.6-01
皮膚感作性試験							
モルモット/Hartley	経皮（閉塞）	感作：1 週間間隔で 3 回閉塞適用（6 時間） 惹起：最終感作終了後 14 日に閉塞適用（6 時間）	媒体群 感作：生理食塩水 惹起：生理食塩水，300 mg 被験物質群 感作：300 mg 惹起：生理食塩水，300 mg 陽性対照：DNCB 感作 0.3%，惹起 0.2%	雌雄 10（媒体対照による感作群は雌雄 5，陽性対照群は雌雄 3）	Buehler 法により検討した。 感作及びそれに続く惹起後に皮膚反応はみられず，皮膚感作性は認められなかった。ボクロスポリンは非感作性物質であると考えられた。	ISA08-12	4.2.3.6-02
眼一次刺激性試験							
ウサギ/NZW	結膜嚢に適用	単回	左眼：未処置対照， 右眼：100 mg	雌 3	Draize 法により眼刺激性反応を判定した結果，投与 1 時間後で 2 例に虹彩炎，3 例に結膜発赤，結膜浮腫及び眼脂が認められた。投与 72 時間後には刺激性は認められなかった。Kay and Calandra の眼粘膜刺激分級法に従い評価した結果，ボクロスポリンはわずかな眼刺激性ありと判定された。	ISA08-11	4.2.3.6-03

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17.1　その他の毒性試験：　重要な試験

被験物質：ボクロスポリン（JAN）

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
ラットを用いた 13 週間併用投与毒性試験							
ラット/SD	強制経口［プラセボ：ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液］	13 週間 + 4 週間の回復期間	ボクロスポリン + プレドニゾン 1 群：0（プラセボ） + 0（注射用水）， 2 群：0（プラセボ） + 0.5， 3 群：2.5 + 0.5， 4 群：10.0 + 0.5， 5 群：25.0 + 0.5， 6 群：25.0 + 0（注射用水）	雌雄 10 + 回復群雌雄 5	死亡： 1 群の 2 例（雄：投与 38 日，雌：投与 92 日に死亡），4 群の雄 1 例（投与 60 日に安楽死），5 群の雄 2 例［投与 36 日に死亡又は投与 94 日（回復 3 日）に安楽死］。4 及び 5 群で認められた死亡は，病理組織学的検査の結果から，被験物質の免疫抑制作用が関連した二次的感染によると考えられた。 一般状態： 4，5 及び 6 群の雄で，泌尿・生殖器領域の被毛の濡れ，陰茎の腫脹及び白色物，振戦，脱水，及び削痩。 体重，摂餌量及び摂水量： 5 及び 6 群で，体重及び摂餌量減少，摂水量増加。 眼科学的検査： 4，5 及び 6 群の主に雄で皮質白内障。5 及び 6 群の大半の動物で白内障。	70881（ISA09-09）	4.2.3.7.7-01

（続く）

2.6.7.17.1　　その他の毒性試験：　重要な試験（続き 1）

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
ラットを用いた 13 週間併用投与毒性試験							
ラット/SD	強制経口［プラセボ：ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液］	13 週間 + 4 週間の回復期間	ボクロスポリン + プレドニゾン 1 群：0（プラセボ） + 0（注射用水）， 2 群：0（プラセボ） + 0.5， 3 群：2.5 + 0.5， 4 群：10.0 + 0.5， 5 群：25.0 + 0.5， 6 群：25.0 + 0（注射用水）	雌雄 10 + 回復群雌雄 5	血液学的検査： 5 及び 6 群の雄で，RBC，Hct，Hb 及び WBC の増加，血小板及び網状赤血球の減少。 血液生化学的検査： 4，5，及び 6 群の雌雄で尿素及び総ビリルビンの増加，雄で，ALT，AST，ALP 及びグルコースの増加。これら変化は可逆的であった。 尿検査： 4，5 及び 6 群の雄で，グルコース，潜血及び尿中酵母の増加。 臓器重量： 4，5 及び 6 群の雄で，脳，腎臓，肝臓，肺/気管支，脾臓及び精巣重量の増加。 剖検： 発現頻度は雌より雄で高く，発現頻度が最も高かったのは 5 及び 6 群であった。認められた所見は次の通り：副腎小型，腎盂拡張，脾臓大型，胸腺小型，下顎及び腸間膜リンパ節大型。回復群でも副腎小型，腎盂拡張，胸腺小型，下顎及び腸間膜リンパ節大型が認められた。	70881（ISA09-09）	4.2.3.7.7-01

（続く）

2.6.7.17.1　　その他の毒性試験：　重要な試験（続き 2）

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
ラットを用いた 13 週間併用投与毒性試験							
ラット/SD	強制経口［プラセボ：ビタミン E TPGS/MCT 油/Tween 40/95%エタノール（[redacted]）/溶液］	13 週間 + 4 週間の回復期間	ボクロスポリン + プレドニゾン 1 群：0（プラセボ） + 0（注射用水）， 2 群：0（プラセボ） + 0.5， 3 群：2.5 + 0.5， 4 群：10.0 + 0.5， 5 群：25.0 + 0.5， 6 群：25.0 + 0（注射用水）	雌雄 10 + 回復群雌雄 5	病理組織学的検査： リンパ組織，腎臓，神経系組織，肺，骨及び副腎に認められた。変化の発現頻度は，雄でより高かった。 リンパ組織の変化は，ボクロスポリンとプレドニゾンの併用作用に起因するものであった。骨髄，腎臓，神経組織及び肺に認められたいくつかの病理組織学的所見はボクロスポリン投与群でのみ認められた。一方，骨髄，腎臓及び副腎においてプレドニゾン投与群でのみ認められた所見もあった。 2 群を除き，すべての投与群で水晶体線維変性が認められた。 結論： ボクロスポリン単独投与と比較して，プレドニゾン併用により新たな毒性作用は認められなかった。	70881（ISA09-09）	4.2.3.7.7-01

2.6.7.17.2　その他の毒性試験：　重要な試験以外の試験

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
In silico による不純物の遺伝毒性評価							
NA	NA	NA	NA	NA	*In silico* 評価として [redacted]（20[redacted]）を用いてボクロスポリン製造時に関連する不純物（潜在的及び実質的）の潜在的遺伝毒性を評価した。22 種類のボクロスポリン製造工程関連化合物について評価した結果，専門的経験に基づくルールベース及び統計ベースの 2 つのモデルにおいて陰性であった。評価対象構造は以下に示す：[redacted] 及び HPLC 法において各不純物が溶出する RRT によって部分的に特定された類縁化合物（[redacted]）。	AUR-VDS-20[redacted]-01	4.2.3.7.7-02（参考資料）

（続く）

2.6.7.17.2　　その他の毒性試験：　重要な試験以外の試験（続き 1）

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
In silico によるボクロスポリン合成時に用いられる試薬の遺伝毒性評価							
NA	NA	NA	NA	NA	[redacted]（20[redacted]）を用いて，ボクロスポリンの合成に用いられる 8 種類の試薬について潜在的遺伝毒性を評価した。評価対象試薬は，[redacted]，[redacted]，[redacted]，[redacted]，[redacted]，[redacted]，[redacted]，[redacted]，[redacted]及び[redacted]とした。[redacted]及び[redacted]を除くすべての評価対象化合物が，専門的経験に基づくルールベース及び統計ベースの 2 つのモデルにおいて陰性であった。[redacted]及び[redacted]はクラス 2 の化合物に分類された。	AUR-VDS-20[redacted]-02	4.2.3.7.7-03（参考資料）
In silico によるボクロスポリン及び 3 種類の類縁物質の遺伝毒性評価							
NA	NA	NA	NA	NA	[redacted]，[redacted]，[redacted] 及びボクロスポリンを遺伝毒性用に構築された MC4PC（Ashby アラートモジュール及び FDA の GeneTox セット）及び ICSAS 手法のエキスパートコールを用いてコンピュータ解析した結果，これらの化合物がヒトに対して遺伝毒性を有するというエビデンスは得られなかった。	ISA09-28	4.2.3.7.7-04（参考資料）

（続く）

2.6.7.17.2　　その他の毒性試験：　重要な試験以外の試験（続き 2）

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
In silico による [redacted] の遺伝毒性評価							
NA	NA	NA	NA	NA	[redacted] を遺伝毒性用に構築された MC4PC（Ashby アラートモジュール及び FDA の GeneTox セット）及び ICSAS 手法のエキスパートコールを用いてコンピュータ解析した結果，本化合物がヒトに対して遺伝毒性を有するというエビデンスは得られなかった。	ISA10-02	4.2.3.7.7-05
In silico による分解生成物 4 種の遺伝毒性評価							
NA	NA	NA	NA	NA	ボクロスポリンの分解生成物 4 種（[redacted]～[redacted]）について，*in silico* QSAR ソフトウェアプログラム（[redacted] 及び [redacted]）を用いて潜在的変異原性をコンピュータにより評価した。 専門的経験に基づくルールベース及び統計ベースの 2 つのモデルにおいて，分解生成物 4 種はいずれのプログラムにおいても陰性であることが確認された。したがって，これらの分解生成物はクラス 5 の化合物（「警告構造を有しない」）に分類され，非変異原性不純物として扱うことができると考えられた。	NA	4.2.3.7.7-06～4.2.3.7.7-09

NA：該当なし
HPLC：高速液体クロマトグラフィー

2.6.7.17.3　その他の毒性試験：　添加物の毒性試験

動物種/系統	投与方法（被験物質/溶媒/投与形態）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
単回投与毒性試験							
マウス	経口（ポリソルベート 20）	単回	20 g/kg[a]	記載なし	LD_{50} > 20 g/kg	参考文献	4.3-44
マウス	経口（ポリソルベート 80）	単回	11 g/kg[a]	記載なし	LD_{50} > 11 g/kg		
ラット	経口（ポリソルベート 20）	単回	30 g/kg[a]	記載なし	LD_{50} > 30 g/kg		
ラット	経口（ポリソルベート 40, 60 及び 65）	単回	38 g/kg[a]	記載なし	LD_{50} > 38 g/kg		
ラット	経口（ポリソルベート 80）	単回	11 g/kg[a]	記載なし	LD_{50} > 11 g/kg		
反復投与毒性試験							
マウス/B6C3F1	経口（ポリソルベート 80/混餌）	13 週間	0%，0.31%，0.62%，1.25%，2.5%，5%	雌雄 10	ポリソルベート 80 による影響はなかった。 NOAEL：5%（10000 mg/kg/日に相当）	参考文献	4.3-44
ラット	経口（ポリソルベート 60/混餌）	13 週間	0%，1.0%，2.0%，5.0%	雌雄 24（0%群は雌雄 48）	5.0%：下痢，摂水量の増加，盲腸大型化及び軽度のヘモグロビン減少。 NOAEL：2.0%（雌雄合算で 1460 mg/kg/日に相当）		

（続く）

2.6.7.17.3　　その他の毒性試験：　添加物の毒性試験（続き 1）

動物種/系統	投与方法（被験物質/溶媒/投与形態）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
遺伝毒性試験							
ネズミチフス菌（TA98, TA100, TA1535, TA1537）	*in vitro*（ポリソルベート 80/buffer）	記載なし	0.1～10 mg/plate	NA	10 mg/plate の用量まで各試験菌を処理したが，代謝活性化の有無の両条件下で復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。	参考文献	4.3-44
ゴールデンハムスター胚初代細胞	*in vitro*（ポリソルベート 60/DMSO）	記載なし	0.01～0.3 mg/mL	NA	代謝活性化の有無の両条件下で，細胞毒性が認められた 0.3 mg/mL の用量まで形質転換を誘発しなかった。		
がん原性試験							
マウス /B6C3F1	経口（ポリソルベート 80/混餌）	103 週間	0%，2.5%，5%	雌雄 60（7～10 例は投与 15 か月後に中間屠殺）	5%：雌雄で前胃に非腫瘍性病変（扁平上皮の過形成及び慢性炎症）の増加，雌で体重減少（最終体重：%投与群比で 11%）及び前胃潰瘍の増加。腫瘍性病変は認められなかった。 NOAEL：2.5%（3750 mg/kg/日に相当）	参考文献	4.3-44

（続く）

2.6.7.17.3　　その他の毒性試験：　添加物の毒性試験（続き 2）

動物種/系統	投与方法（被験物質/溶媒/投与形態）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
がん原性試験							
ラット/F344/N	経口（ポリソルベート 80/混餌）	103 週間	0%，2.5%，5%	雌雄 60（7～10 例は投与 15 か月後に中間屠殺）	5%：雄で生存率の低下（加齢性の腫瘍性病変に関連した変化であるため被験物質による影響ではないと判断），副腎髄質に過形成を伴わない良性褐色細胞腫のわずかな増加（ヒトに対する意義はないと判断）。 NOAEL：5%（2500 mg/kg/日に相当）	参考文献	4.3-44
生殖発生毒性試験							
ラット/SD	強制経口（ポリソルベート 20）	妊娠 6～15 日	0，500，5000 mg/kg/日	妊娠雌 22～24	5000 mg/kg/日：母動物における体重増加量の減少及び摂水量の増加。 NOAEL： 母動物：500 mg/kg/日， 胚・胎児発生：5000 mg/kg/日	参考文献	4.3-44
ラット/Wistar	経口（ポリソルベート 60/混餌）	妊娠 7～14 日	0%，0.1%，1%，10%（0，100，1000，7700 mg/kg/日に相当）	妊娠雌 10～12	ポリソルベート 60 投与に関連したと考えられる変化なし。 NOAEL： 母動物及び胚・胎児発生：10%（7700 mg/kg/日に相当）		

（続く）

2.6.7.17.3　　その他の毒性試験：　添加物の毒性試験（続き 3）

動物種/系統	投与方法（被験物質/溶媒/投与形態）	投与期間	投与量	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	報告書番号	CTD の記載箇所（資料番号）
生殖発生毒性試験							
ラット/SD	強制経口（ポリソルベート 80）	妊娠 6～15 日	0，500，5000 mg/kg/日	妊娠雌 19～23	500 mg/kg/日以上：母動物に用量反応性のない軽微な肝臓重量の増加。 5000 mg/kg/日：体重に影響のない摂餌量の減少。 胚・胎児発生に関しては，ポリソルベート 80 投与に関連した変化は認められなかった。 最小毒性量： 母動物：500 mg/kg/日 NOAEL： 胚・胎児発生：5000 mg/kg/日	参考文献	4.3-44

NA：該当なし
a：他の投与量情報はなし