目次

略号一覧表 3
2.6.6 毒性試験の概要文 5
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 14
2.6.6.2.1 ラットを用いた maralixibat の単回経口投与毒性試験 14
2.6.6.2.2 ラットを用いた maralixibat の単回静脈内投与毒性試験 14
2.6.6.2.3 イヌを用いた maralixibat の単回カプセル経口投与毒性試験 15
2.6.6.2.4 イヌを用いた maralixibat の単回カプセル経口投与毒性試験 15
2.6.6.2.5 イヌを用いた maralixibat の単回静脈内投与毒性試験 16
2.6.6.3 反復投与毒性試験 17
2.6.6.3.1 rasH2 野生型マウス 強制経口投与 17
2.6.6.3.2 CD-1 マウス 強制経口投与 21
2.6.6.3.3 rasH2 Tg マウス又は CD-1 マウス 混餌及び強制経口投与 23
2.6.6.3.4 ラット 強制経口投与 29
2.6.6.3.5 ラット 混餌投与 39
2.6.6.3.6 イヌ カプセル経口投与 44
2.6.6.3.7 サル カプセル経口投与 50
2.6.6.4 遺伝毒性試験 50
2.6.6.4.1 細菌を用いた maralixibat の復帰突然変異試験 50
2.6.6.4.2 細菌を用いた maralixibat の復帰突然変異試験 51
2.6.6.4.3 チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた maralixibat の染色体異常試験 51
2.6.6.4.4 チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた maralixibat の染色体異常試験 52
2.6.6.4.5 ラットを用いた maralixibat の小核試験 52
2.6.6.5 がん原性試験 53
2.6.6.5.1 rasH2 Tg マウスを用いた maralixibat の 26 週間強制経口 投与がん原性試験（rasH2 野生型を用いた TK を含む） 53
2.6.6.5.2 ラットを用いた maralixibat の 104 週間混餌投与がん原性試験 55
2.6.6.5.3 ラットを用いた maralixibat の 104 週間がん原性試験 56
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 57
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 57
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 59
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 64
2.6.6.6.4 幼若ラットを用いた毒性試験 67
2.6.6.7 その他の毒性試験 73
2.6.6.7.1 局所刺激性試験 73
2.6.6.7.2 その他の毒性試験 75
2.6.6.7.3 潜在的不純物の遺伝毒性 76
2.6.6.8 考察及び結論 78

2.6.6.9 参考文献一覧 83

表

表 2.6.6.1-1 Maralixibat の毒性試験一覧 7
表 2.6.6.3-1 rasH2 野生型マウスに maralixibat を反復強制経口投与したときの TK パラメータ（Day 27） 17
表 2.6.6.3-2 rasH2 野生型マウスに maralixibat を反復強制経口投与したときの 体重及び体重増加量 18
表 2.6.6.3-3 rasH2 野生型マウスに maralixibat を反復強制経口投与したときの TK パラメータ（Day 27） 19
表 2.6.6.3-4 rasH2 Tg マウスに 4 週間混餌投与したときの TK パラメータ（Day 35） 26
表 2.6.6.3-5 マウスに 13 週間混餌投与したときの TK パラメータ 28
表 2.6.6.3-6 ラットに 13 週間強制経口投与したときの反復投与後（Day 78）の TK パラメータ 34
表 2.6.6.3-7 3 ヵ月間反復強制経口投与毒性試験における TK パラメータ 37
表 2.6.6.3-8 ラットに 13 週間反復強制経口投与したときの TK パラメータ 38
表 2.6.6.3-9 ラットに maralixibat を 13 週間反復強制経口投与したときの 器官重量への影響（投薬期間終了後の剖検例） 38
表 2.6.6.3-10 ラットに maralixibat を 13 週間反復強制経口投与したときの 器官重量への影響（回復期間終了後の剖検例） 39
表 2.6.6.3-11 ラットに maralixibat を 26 週間混餌投与したときの TK パラメータ 42
表 2.6.6.3-12 イヌ 6 ヵ月間／1 年間反復カプセル経口投与毒性試験における TK パラメータ 48
表 2.6.6.5-1 試験デザインの概要：マウスを用いた 26 週間強制経口投与がん原性試験 53
表 2.6.6.5-2 rasH2 Tg マウスにおける病理組織学的所見の発現率 55
表 2.6.6.5-3 試験デザインの要約：ラットがん原性試験 56
表 2.6.6.6-1 ラットの胚・胎児発生に関する用量設定試験における TK パラメータ 59
表 2.6.6.6-2 ラットの胚・胎児発生試験における TK パラメータ 60
表 2.6.6.6-3 ウサギの胚・胎児発生用量設定試験における TK パラメータ 61
表 2.6.6.6-4 TK の要約：ウサギの胚・胎児発生試験における TK パラメータ 63
表 2.6.6.6-5 死亡率及び瀕死率の要約－幼若ラットを用いた用量設定毒性試験 68
表 2.6.6.7-1 注射の概要：皮膚感作性試験 73

略号一覧表

略号	略していない表現又は説明	
	英語	日本語
ALGS	Alagille syndrome	アラジール症候群
ALP	alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
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_t	area under the concentration-time curve from time zero to time t	投与後 0 時間から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
CHO	Chinese hamster ovary	－
C_{max}	maximum observed concentration occurring at the time sampled during a dosing interval	最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450	チトクロ―ム P450
DMSO	dimethyl sulfoxide	－
ECG	electrocardiogram	心電図
fBA	fecal bile acid	糞便中胆汁酸
FCA	Freund’s Complete Adjuvant	－
FOB	Functional Observational Battery	機能観察総合評価法
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HDL	high-density lipoprotein	高比重リポ蛋白質
HMG-CoA	3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A	ヒドロキシメチルグルタリル CoA
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
LC-MS/MS	liquid chromatography with tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
LDL	low-density lipoprotein	低比重リポ蛋白質
LLOQ	lower limit of quantitation	定量下限
MC	methylcellulose	メチルセルロース
MNU	N-methyl-N-nitrosourea	－
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーRNA
MOS	margin of safety	安全域
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NOAEL	no-observed-adverse-effect level	無毒性量
NOEL	no-observed-effect level	無影響量
PCE	polychromatic erythrocyte	多染性赤血球
PD	pharmacodynamic	薬力学
PFIC	Progressive familial Intrahepatic Cholestasis	進行性家族性肝内胆汁うっ滞症
pH	power of hydrogen	水素イオン指数
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
pQCT	peripheral quantitative computed tomography	－
PT	prothrombin time	プロトロンビン時間
sBA	serum bile acid	血清胆汁酸
SDH	sorbitol dehydrogenase	ソルビトール脱水素酵素
Tg	transgenic	－
TK	toxicokinetic	トキシコキネティクス

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現又は説明	
	英語	日本語
UDPGT	UDP glucuronyl transferase	UDP グルクロニルトランスフェラーゼ
w/w	weight per weight	－
w/v	weight per volume	－
v/v	volume per volume	－

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

マラリキシバット塩化物（TAK-625、SD-5613、SHP625、SC-76663 又は LUM001、以下 maralixibat）は、アラジール症候群（ALGS）及び進行性家族性肝内胆汁うっ滞症（PFIC）を含む小児の希少な胆汁うっ滞性肝疾患に対する回腸胆汁酸トランスポーター（IBAT）の経口阻害剤として開発中である。単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖毒性試験、がん原性試験及び幼若ラットの毒性試験を含む、マウス、ラット、イヌ、ウサギ及びサルの一連の毒性試験を実施して maralixibat を評価した（表 2.6.6.1-1）。臨床予定適応における maralixibat の長期投与を裏付けるため、ラットで最長 6 ヵ月間、イヌで最長 1 年間の反復投与毒性試験を実施した。主な毒性試験の投与経路は、臨床で予定されている経口投与を選択した。

主要な非臨床毒性評価には、Sprague-Dawley ラット及びビーグル犬を使用した。これらの系統はラット及びイヌの主要な薬物動態（PK）試験（2.6.4）にも使用した系統である。毒性試験に用いる非げっ歯類の動物種(イヌ又はサル)に関して、難吸収性薬物の PK/薬力学(PD)及び用量／PD 関係を確立することは困難であるが、maralixibat の薬理作用に対する感受性がより高いと考えられたイヌを選択した。イヌの反復投与毒性試験（100 mg/kg/日）に加えて、アカゲザルの 50 mg/kg/日までの用量で 2 週間反復投与探索毒性試験（[redacted] 試験）を実施した。その結果、アカゲザルにおける maralixibat の忍容性は良好であり、特異的な毒性は認められず、投薬との関連が疑われる変化として便の性状に対する軽度の影響のみが認められた。

Maralixibat の塩化物塩を毒性試験に供したが、本項では、すべての濃度及び用量をフリー体換算値として表示する。各毒性試験に使用した原薬の一覧表を 2.6.7 に示す。不純物の管理方法及び規格の特定に関する詳細は、3.2.S.3.2 及び 3.2.S.4.5 に示す。

成熟マウス、ラット、ウサギ及びイヌにおける maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティは低かった（1%未満）。げっ歯類特異的に認められた主な毒性所見は、凝固時間の延長であり、凝固時間の延長は主に雄ラットで認められ、可逆的であった。ラット及びイヌでは血液生化学的検査における肝トランスアミナーゼの増加及び肝臓重量の減少が認められ、これらは maralixibat の薬理作用に関連すると考えられるが、いずれも可逆的な変化であった。イヌで主な用量制限毒性として嘔吐が認められた。イヌの単回経口投与では最高 200 mg/kg までの用量で忍容性は良好であった。

ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、500 及び 2000 mg/kg/日群で母動物あたりの平均黄体数、着床数及び生存胎児数に軽度の減少がみられた。750 mg/kg/日までの用量では、雄の授胎能に投薬に関連した影響は認められなかった。ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験では、それぞれ 1000 及び 250 mg/kg/日までの用量で胎児の発育又は発生に対する毒性所見は認められなかった。ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、750 mg/kg/日までの用量で影響は認められなかった。

雌雄幼若ラットに maralixibat を 50、100 及び 250 mg/kg/日の用量で 14 日間(生後 7～21 日)投与しても、明らかな毒性所見は認められなかった。また、雄に 50、100 及び 200 mg/kg/日、

雌に 250、500 及び 1000 mg/kg/日の用量で 43 日間（生後 21～63 日）投与したとき、明らかな毒性所見は認められなかった。

ラットの毒性試験の一部でケージペーパーに赤褐色又はピンク色の変色が認められた。この変色の原因は特定されなかったが、反復投与毒性試験で尿潜血は認められず、消化管の病理組織学的所見を含め、この所見に関連する毒性学的影響は認められていない。関連する臨床病理検査値（尿検査、血液生化学的検査又は血液学的検査）の変動は認められず、この着色に毒性学的な意義はないと考えられた。

Maralixibat は in vitro で変異原性を示さず、in vitro 及び in vivo で染色体異常誘発能を示さなかった。rasH2 Tg マウスのがん原性試験では、高用量 25 mg/kg/日を 1 日 1 回 26 週間強制経口投与した雄において、対照群と比較して統計学的に有意な早期死亡の増加及び細気管支肺胞腺腫の発現率増加が認められた。また、細気管支肺胞腺腫及び癌の複合発現率も 25 mg/kg/日群の雄で対照群と比較して統計学的に有意に高かった。しかしながら肺腫瘍は rasH2 マウスで報告されている自然発生腫瘍の中で最も高頻度にみられるものであり、本試験で認められた発現頻度は公表されている対照群の範囲内[1]であることから、maralixibat 投与と関連しない可能性が高いと考えられる。

雌雄 Sprague Dawley ラットのがん原性試験において、10、30 又は 100 mg/kg/日を最長 688 日間強制経口投与したところ、忍容性は良好であり、投薬による生存期間に対する影響は認められなかった。肺胞マクロファージの増加が 100 mg/kg/日群の雄及び 30 mg/kg/日以上を投与した雌で認められ、雌では肉眼所見との相関が認められたが、生存及び発がん性に対する影響は認められなかった。10 mg/kg/日以上を投与した雌雄で、肝臓に好塩基性変異肝細胞巣の発現頻度及び程度の増加が認められたが、生存又は発がん性に影響は認められなかった。これらの結果から、maralixibat 100 mg/kg/日は、生存又は発がん性に影響を及ぼさない用量と考えられた。

表 2.6.6.1-1 Maralixibat の毒性試験一覧

Study Type Study Number (GLP Compliance) 添付資料番号（区分）	Test System Sex Number/Sex/Group	Method of Administration Duration of Dosing	Concentration/ Dose (mg/kg)
Single-Dose Toxicity			
Acute Oral [redacted] (GLP) 4.2.3.1-1（評価）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: 5/sex/group Toxicokinetics: 6/sex/group	Oral gavage	1000, 2000
Acute IV [redacted] (GLP) 4.2.3.1-2（評価）	Rat/Sprague Dawley 6/sex/group	IV bolus dose (2 min at 3 mL/kg)	0.06, 0.6, 6
Acute Oral [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.1-3（参考）	Dog/Beagle 2/sex/group	Oral capsule	60, 100, 200
Acute Oral [redacted] (GLP) 4.2.3.1-4（評価）	Dog/Beagle 2/sex/group	Oral capsule	50, 200, 400, 600, 800, 1000
Acute IV [redacted] (GLP) 4.2.3.1-5（評価）	Dog/Beagle 2/sex/group	IV (2 min at 5 mL/kg)	1, 2.5, 5
Repeat-Dose Toxicity			
Mouse/rasH2-Wt, Oral Gavage			
28 Day [redacted]-[redacted] (GLP) 4.2.3.2-1（評価）	Mouse/rasH2-Wt Dose-range cohort: 5/sex/group Toxicology:10/sex/group Toxicokinetics: Group 1: 8/sex/group Groups 2, 3 & 4: 38/sex/group	Oral gavage Once daily Dose range: 5 days Toxicology: 28 days	Dose range: 125, 250, 500, 1000, 2000 Toxicology: 250, 1000, 2000
28 Day [redacted]-[redacted] (GLP) 4.2.3.2-2（評価）	Mouse/rasH2-Wt Toxicology: 10/sex/group Toxicokinetics: Group 1: 8/sex/group Groups 2, 3 & 4: 38/sex/group	Oral gavage Once daily 28 days	25, 75, 150
4 Week [redacted]-[redacted] (GLP) 4.2.3.2-3（評価）	Mouse/rasH2-Wt Toxicology: 10/sex/group Toxicokinetics: Group 1: 3/sex/group Groups 2, 3 & 4: 18/sex/group	Oral gavage 28 days	25, 75, 150

表 2.6.6.1-1 Maralixibat の毒性試験一覧（続き）

Study Type Study Number (GLP Compliance) 添付資料番号（区分）	Test System Sex Number/Sex/Group	Method of Administration Duration of Dosing	Concentration/ Dose (mg/kg)
Mouse CD-1 Oral Gavage			
13 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-4（評価）	Mouse/CD-1 Toxicology: 15/sex/group Toxicokinetics: 48/sex/group	Oral gavage 13 weeks	50, 150, 500, 1000
13 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-5（評価）	Mouse/CD-1 Toxicology: 15/sex/group Toxicokinetics: 36/sex/group	Oral gavage 13 weeks	50, 250, 750
Mouse/rasH2-Tg or Mouse/CD-1, Diet Admix and Gavage or Diet Admix			
2 Week [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.2-6（参考）	Mouse/CD-1 10/sex/group	Dietary admix 2 weeks	300, 600, 1000 (target doses)
2 Week [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.2-7（参考）	Mouse/CD-1 Toxicology: 15/sex/group Toxicokineyics: Oral gavage: 12/sex/group Dietary admix: 8/sex/group	Oral gavage and dietary admix 2 weeks	3, 30, 300 (target doses for dietary admix)
3 Week [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.2-8（参考）	Mouse/rasH2-Tg 7-10/sex/group	Dietary admix 3 weeks	5000, 10000 (target doses)
4 Week Dose Range-Finding [redacted] (GLP) 4.2.3.2-9（評価）	Mouse/rasH2-Tg Toxicology:19/sex/group Toxicokinetics:16/sex/group	Dietary admix 4 weeks	2000, 5000, 10000 (target doses)
4 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-10（評価）	Mouse/rasH2-Tg Toxicology: 10/sex/group Toxicokinetics: 12/sex/group	Dietary admix 4 weeks	75, 500, 1000, 2000 (target doses)
13 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-11（評価）	Mouse/CD-1 Toxicology: 15/sex/group Toxicokinetics: 24/sex/group	Dietary admix 13 weeks	50, 250, 750 (target doses)

表 2.6.6.1-1 Maralixibat の毒性試験一覧（続き）

Study Type Study Number (GLP Compliance) 添付資料番号（区分）	Test System SexNumber/Sex/Group	Method of Administration Duration of Dosing	Concentration/ Dose (mg/kg)
Rat			
2 Week [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.2-12（参考）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: 10/sex/group Toxicokinetics: 9/sex/group	Oral gavage 2 weeks	1, 5, 30, 150
4 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-13（参考）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: Groups 1 & 4: 25/sex/group Groups 2 & 3: 15/sex/group Toxicokinetics: 9/sex/group	Oral gavage 4 weeks with 4-week reversal	5, 30, 150
4 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-14（評価）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: Group 2: 5/sex/group	Oral gavage 4 weeks	100
13 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-15（評価）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: Groups 1, 4, 5: 25/sex/group Groups 2, 3: 15/sex/group Toxicokinetics: 9/sex/group	Oral gavage/ 13 weeks with 4-week reversal	Males: 5, 30, 75, 150 Females: 5, 30, 150, 500
13 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-16（評価）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: Group V, 2, 3: 25/sex/group Group 1: 15/sex/group Toxicokinetics: 18/sex/group	Oral gavage 13 week with 4 week reversal	150, 500, 1500
13 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-17（評価）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: 10/sex/group Toxicokinetics: Group 1A: 3/sex/group Groups 2A-5A: 9/sex/group	Oral gavage 13 weeks	Males: 5, 30, 75, 150 Females: 5, 30, 150, 500
13 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-18（評価）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: 15/sex/group Toxicokinetics: Group 1: 3/sex/group Groups 2, 3 & 4: 6/sex/group	Oral gavage 13 weeks with 4 week reversal	10, 300, 1000
2 Week [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.2-19（参考）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: 7/sex/group Toxicokinetics: 4/sex/group	Dietary admix 2 weeks	150, 500, 1000, 2000 (target doses)
13 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-20（評価）	Rat/Sprague Daley Toxicology: Groups N, 2, 3: 25/sex/group Group 1: 15/sex/group Toxicokinetics: 12/sex/group	Dietary admix 13 weeks with 4-week reversal	150, 750, 1500 (target doses)
26 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-21（評価）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: Groups N, 3: 25/sex/group Groups 1, 2: 15/sex/group Toxicokinetics: 12/sex/group	Dietary admix 26 weeks with 4-week reversal	Males: 30, 150, 750 [a] Females: 30, 500, 2000 [a] (target doses)

表 2.6.6.1-1 Maralixibat の毒性試験一覧（続き）

Study Type Study Number (GLP Compliance) 添付資料番号（区分）	Test System Sex Number/Sex/Group	Method of Administration Duration of Dosing	Concentration/ Dose (mg/kg)
Dog			
2 Week [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.2-22（参考）	Dog/Beagle 4/sex/group	Oral capsule 2 weeks	1, 4, 12, 30
4 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-23（評価）	Dog/Beagle Toxicology: Groups 1 & 4: 8/sex/group Groups 2 & 3: 4/sex/group	Oral capsule 4 weeks with 4-week reversal	5, 15, 50
4 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-24（評価）	Dog/Beagle 4/sex/group	Oral capsule 4 weeks	100, 300, 600
13 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.2-25（評価）	Dog/Beagle 4/sex/group	Oral capsule 13 weeks	5, 20, 100
6/12 Month [redacted] (GLP) 4.2.3.2-26（評価）	Dog/Beagle Toxicology: Groups 1, 6: 12/sex/group Groups 2, 7: 4/sex/group Groups 3, 4, 5: 8/sex/group	Oral capsule 6/12 months	1, 5, 20, 100
Monkey			
2 Week [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.2-27（参考）	Monkey/Rhesus Male 5/group	Oral capsule 2 weeks	5, 50
Genotoxicity			
Ames Assay [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.3.1-1（参考）	Salmonella typhimurium	In vitro	10 to 5000 µg/plate
Ames Assay [redacted] (GLP) 4.2.3.3.1-2（評価）	Salmonella typhimurium	In vitro	5 to 5000 µg/plate
Chromosomal Aberration [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.3.1-3（参考）	Chinese hamster ovary cells	In vitro	50 to 200 µg/mL

表 2.6.6.1-1 Maralixibat の毒性試験一覧（続き）

Study Type Study Number (GLP Compliance) 添付資料番号（区分）	Test System Sex Number/Sex/Group	Method of Administration Duration of Dosing	Concentration/ Dose (mg/kg)
Chromosomal Aberration [redacted] (GLP) 4.2.3.3.1-4（評価）	Chinese hamster ovary cells	In vitro	20 to 150 µg/mL
Rat Micronucleus [redacted] (GLP) 4.2.3.3.2-1（評価）	Rat/Sprague Dawley 5/sex/group	Oral gavage 24/48 hours	500, 1000, 2000
Carcinogenicity			
26 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.4.2-1（評価）	Mouse/rasH2-Tg: Carcinogenicity: 25/sex/group Mouse/rasH2-Wt Toxicokinetics: Group 1: 6/sex/group Groups 2, 3 & 4: 36/sex/group	Oral gavage 26 weeks	Males: 2.5, 7.5, 25 Female: 7.5, 25, 75
104 Week [redacted] (GLP) [b] 4.2.3.4.1-1（参考）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: 100/sex/group Toxicokinetics: 15/sex/group	Dietary admix 104 weeks	Males: 30, 100, 300 Females: 30, 300, 750: (target doses)
104 Week [redacted] (GLP) 4.2.3.4.1-2（評価）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: 70/sex/group	Oral gavage 104 Weeks	10, 30, 100
Reproductive and Developmental Toxicity			
Fertility and Early Embryonic Development [redacted] (GLP) 4.2.3.5.1-1（評価）	Rat/Sprague Dawley Males: 25 Treated females: 25/group Untreated females: 25/group	Dietary admix Females: 2 weeks prior to mating through GD 7 Males: 4 weeks prior to second mating and through second mating period	Males: 30, 150, 750 Females: 30, 500, 2000 (target doses)
Embryo Fetal Development Range-finder [redacted] (GLP) 4.2.3.5.2-1（参考）	Rat/Sprague Dawley Female Toxicology:10/group Toxicokinetics: 8/group	Dietary admix GD 6-17	250, 750, 2000 (target doses)
Embryo Fetal Development [redacted] (GLP) 4.2.3.5.2-2（評価）	Rat/Sprague Dawley Female Toxicology: 25/group Toxicokinetics: 8/group	Dietary admix GD 6-17	50, 250, 1000 (target doses)
Embryo Fetal Development Range-finder [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.5.2-3（参考）	Rabbit/New Zealand White Female 6/group	Oral gavage GD 7-18	50, 125, 250, 500

表 2.6.6.1-1 Maralixibat の毒性試験一覧（続き）

Study Type Study Number (GLP Compliance) 添付資料番号（区分）	Test System Sex Number/Sex/Group	Method of Administration Duration of Dosing	Concentration/ Dose (mg/kg)
Embryo Fetal Development [redacted] (GLP) 4.2.3.5.2-4（評価）	Rabbit/New Zealand White Female Toxicology: 25/group Toxicokinetics: 6/group	Oral gavage GD 7-18	25, 100, 250
Pre- and Postnatal Development Range-finder [redacted] (GLP) 4.2.3.5.3-1（参考）	Rat/Sprague Dawley Female 10/group	F_0: Dietary admix GD 6 - LD 21 F_1: Potential exposure in utero, through nursing during lactation and directly via the diet late in the lactation period, until changing to untreated diet on PND 21.	F_0: 250, 1000 (target doses)
Pre- and Postnatal Development [redacted]-[redacted] (GLP) 4.2.3.5.3-2（評価）	Rat/Sprague Dawley Female 25/group	F_0: Dietary admix GD 6 - LD 21 F_1: Potential exposure in utero, through nursing during lactation and directly via the diet late in the lactation period, until changing to untreated diet on PND 21	F_0: 50, 250, 750 (target doses)
Juvenile Toxicity			
Range-Finding Juvenile Toxicity [redacted]-[redacted] (Non-GLP) 4.2.3.5.4-1（参考）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: 6/sex/group Toxicokinetics: Group 1: 6/sex/group Groups 2, 3 & 4: 36/sex/group	Oral gavage PND 7-21	Males: 50, 100, 200 Females: 250, 500, 1000
Juvenile Toxicity [redacted]-[redacted] (GLP) 4.2.3.5.4-2（評価）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: 20/sex/group Toxicokinetics: Group 1: 9/sex/group Groups 2, 3 & 4: 54/sex/group	Oral gavage PND 7-21	50, 100, 250
Range-Finder and Toxicity Study in Juvenile Rats [redacted]-[redacted] (GLP) 4.2.3.5.4-3（評価）	Rat/Sprague Dawley Toxicology: Part 1B: 5/sex/group Part 2: 18/sex/group Toxicokinetics: Part 1A (PND 21/22): 18/group Part 1B (PND 28): 3/sex/group Part 2 (PND 56/57): 12/sex/group	Oral gavage - starting on PND 21 Part 1A: single dose Part 1B: QD for 8 days Part 2: QD for 43 days followed by a 35-day recovery period	Part 1A and 1B: Males: 25, 50, 100, 200 Females: 125, 250, 500, 1000 Part 2: Males: 50, 100, 200 Females: 250, 500, 1000

表 2.6.6.1-1 Maralixibat の毒性試験一覧（続き）

Study Type Study Number (GLP Compliance) 添付資料番号（区分）	Test System Sex Number/Sex/Group	Method of Administration Duration of Dosing	Concentration/ Dose (mg/kg)
Other Toxicity			
Local Tolerance			
Dermal Sensitization [redacted] (GLP) 4.2.3.6-1（評価）	Guinea pig/Hartley 10 males control; 20 males test group	Induction-intradermal and topical/single application by each route. Single topical challenge	Intradermal induction: 0.5% w/v mixture Topical induction and challenge: 40% w/w mixture
Dermal Irritation [redacted] (GLP) 4.2.3.6-2（評価）	Rabbit/New Zealand White 6 males per test group	Topical application/single	0.5 g/site moistened with distilled water
Eye Irritation [redacted] (GLP) 4.2.3.6-3（評価）	Rabbit/New Zealand White 6 females per test group	Conjunctival sac application/single	Approximately 19 mg
Others			
1-Week [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.7.7-1（参考）	Rat/Sprague Dawley 10 females/group	Oral gavage 1 week Sacrifice on Day 8 and reversal Days 3 and 8	150
2 Week Investigative [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.7.7-2（参考）	Rat/CD IGS 10 females/time point	Oral gavage 2 Weeks Sacrifice on Days 2, 5, 8 and 15	150
Genetic Toxicology – Potential Impurities			
Bacterial Reverse Mutation Assay [redacted] (GLP) 4.2.3.7.6-1（評価）	Salmonella typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537); Escherichia coli (WP2 uvrA)	In vitro	15.0 to 5000 µg/plate
Bacterial Reverse Mutation Assay [redacted] (GLP) 4.2.3.7.6-2（評価）	Salmonella typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537); Escherichia coli (WP2 uvrA)	In vitro	10.0 to 5000 µg/plate
Bacterial Reverse Mutation Assay [redacted] (GLP) 4.2.3.7.6-3（評価）	Salmonella typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537); Escherichia coli (WP2 uvrA)	In vitro	33.3 to 5000 µg/plate
Bacterial Reverse Mutation Assay: [redacted] (Non-GLP) 4.2.3.7.6-4（参考）	Salmonella typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537); Escherichia coli (WP2 uvrA)	In vitro	1 to 5000 µg/plate

GD：妊娠後の日数、GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、IV、静脈内投与、LD：授乳期、PND：生後、QD：1 日 1 回、Tg：transgenic、w/w：weight / weight、Wt：野生型

[a] 想定以上の死亡率のため、雄では 300 mg/kg/日、雌では 1500 mg/kg/日に減量した。

[b] 病理組織学的検査は中止したが、動物室試験中の評価及び剖検所見に関する最終報告書を作成済みである。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 ラットを用いた maralixibat の単回経口投与毒性試験

：**添付資料番号 4.2.3.1-1（評価）**

本試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適用下で実施し、雌雄の Sprague Dawley ラット〔主群：5 例／性／群、トキシコキネティクス（TK）群：6 例／性／群〕に、maralixibat を 0、1000 又は 2000 mg/kg の用量で単回強制経口投与した。

一般状態観察、体重、血液学的検査、血液生化学的検査及び血液凝固系検査にて評価した。Day 15 に剖検を実施した。0 及び 2000 mg/kg 群の直腸及び結腸の病理組織学的検査を実施した。なお、結腸は 3 断面で評価した。TK 群の動物から血液を採取し、血漿中 maralixibat 濃度を測定した。

試験期間中の maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティは、すべての用量で 0.2%未満であった。血漿中 maralixibat 濃度は用量にかかわらずすべての測定時点で低く、顕著な性差は認められなかった。1000 及び 2000 mg/kg 群の最高血漿中濃度（C_{max}）はそれぞれ 532 及び 569 ng/mL、投与後 0 時間から 24 時間までの AUC（AUC_{24}）はそれぞれ 1640 及び 2530 ng·hr/mL であった。

Maralixibat 投与に関連した作用として、一過性の水様便、軟便及び／又は粘液便、糞便の減少（1000 mg/kg 群以上）、全身の汚れ（1000 mg/kg 群以上）、流涎（1000 mg/kg 群以上、Day 1）、平均体重減少（2000 mg/kg 群、Day 2）及び体重増加量減少（1000 mg/kg 群以上、Day 2）が認められた。maralixibat の薬理作用に起因する変化として平均血清総胆汁酸値の減少（1000 mg/kg 群以上、Day 3）が認められた。これらの毒性所見は投与後 1 週間以内に回復した。

Maralixibat を 1000 又は 2000 mg/kg の用量で単回投与したとき、軽微な毒性所見が認められた。以上より、本試験における無毒性量（NOAEL）は求められなかった。

2.6.6.2.2 ラットを用いた maralixibat の単回静脈内投与毒性試験

：**添付資料番号 4.2.3.1-2（評価）**

本 GLP 適用試験では、ラットに maralixibat を単回静脈内投与したときの急性毒性を評価した。約 7 週齢の雌雄の Sprague Dawley ラット（6 例／性／群）に、maralixibat を 0、0.06、0.6 又は 6.0 mg/kg の用量で静脈内投与し、Day 3 及び Day 15 に 3 例／性／群を剖検した。Maralixibat は、pH 約 4.75 に調整したマンニトール 50 mg/mL 及び酢酸ナトリウム三水和物 0.82 mg/mL を含有する注射用水に溶解した。対照群には溶媒のみを投与した。

体重、摂餌量及び一般状態観察を実施した。剖検時（Day 3 又は 15）に血液を採取して臨床病理検査を行い、投与後 3 分の maralixibat の血漿中濃度を測定した。すべての動物に対して剖検を行い、対照群及び高用量群の病理組織学的検査を実施した。

Maralixibat を 0.06、0.6 又は 6 mg/kg の用量で投与後 3 分の maralixibat の平均血漿中濃度は、それぞれ 281、2260 及び 42600 ng/mL であった。

6 mg/kg 群の雄ラット 1 例で、投与後約 5 分に maralixibat に関連した死亡が認められた。その他の動物はすべて計画剖検時まで生存した。

体重、体重変化、摂餌量、臨床病理検査、剖検及び病理組織学的検査において、maralixibat に関連した変化は認められなかった。

6 mg/kg 群の投与後 10～15 分に、運動失調、活動性低下、筋緊張低下、振戦及び散瞳などの一過性の一般状態観察所見が認められた。

要約すると、maralixibat を 6 mg/kg の用量で静脈内投与したとき、maralixibat の血漿中濃度は極めて高く、死亡及び一過性の一般状態観察所見が認められた。

2.6.6.2.3 イヌを用いた maralixibat の単回カプセル経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.1-3（参考）

本 GLP 非適用試験では、反復投与毒性試験の用量設定のために嘔吐又はその他の一般状態観察所見を評価した。

試験開始時に約 6～8 ヵ月齢の雌雄ビーグル犬（2 例／性／群）に、ゼラチンカプセルに充てんした maralixibat を 60、100 又は 200 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与後約 30 分に給餌した。試験終了時の安楽殺は実施しなかった。

投与量算出のため、すべての動物で体重を 1 回測定した。投与前及び投与後約 1 及び 3 時間の計 3 回に一般状態観察を実施した。

本試験で死亡は認められなかった。イヌに maralixibat を 60、100 又は 200 mg/kg の用量で単回投与したとき、maralixibat に関連する毒性所見は認められなかった。本試験で投与したすべての用量で忍容性は良好であった。

2.6.6.2.4 イヌを用いた maralixibat の単回カプセル経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.1-4（評価）

本 GLP 適用試験では、ビーグル犬（2 例／性／群）に、ゼラチンカプセルに充てんした maralixibat を 0、50、200、400、600、800 又は 1000 mg/kg の用量で単回経口投与したときの maralixibat の急性毒性及び曝露量を検討した。

体重及び摂餌量を測定し、Day 1 の投与前、投与後約 1～2 時間、及びその後は 1 日 1 回、一般状態観察を実施した。臨床病理評価のために血液を採取した。Day 1 の投与後、約 1、2、3、5、8 及び 24 時間に maralixibat の血漿中濃度を測定した。Day 15 又は 16 にすべての動物を剖検した。

Maralixibat を 50、200、400、600、800 又は 1000 mg/kg の用量で投与したとき、平均 C_{max}（雌雄合算）はそれぞれ 56.8、130、170、237、206 及び 205 ng/mL であり、平均 AUC_{24} はそれぞれ 132、244、690、908、735 及び 637 ng·hr/mL であった。C_{max} は 50～600 mg/kg の用量範囲で用量依存的に増加した。しかし、600、800 及び 1000 mg/kg を投与したときの C_{max} は同程度であった。明らかな性差は認められなかった。AUC は 50～400 mg/kg の用量範囲で用量依存的に増加したが、400～1000 mg/kg の用量範囲で AUC は同程度であった。

本試験で死亡は認められなかった。また、体重、体重増加量又は摂餌量に群間差は認められなかった。一般状態観察ではすべての投薬群で投与日に白色又は黄色の泡沫状の嘔吐物及び白色粒子状物質（maralixibat と判断）を含む嘔吐が認められた。400 mg/kg 群以上では褐色粒子状物質（飼料）を含む嘔吐も観察された。Maralixibat を投与した動物では水様便又は粘液便が散発的に認められ、200、400 及び 600 mg/kg 群では糞便に白色の微粒子が認められた。臨床病理検査パラメータに変化は認められなかった。剖検時に maralixibat に関連する肉眼所見は認められなかった。

以上から、嘔吐は 50 mg/kg 以上の用量で認められ、400 mg/kg 以上の用量で重度と判断された。糞便の異常は 200 mg/kg 以上の用量で認められた。50 mg/kg 群では、嘔吐は投与直後のみに認められ、糞便の変化も認められなかったことから、本試験の NOAEL は 50 mg/kg と考えられた。400 mg/kg 以上の用量で maralixibat 曝露量の飽和がみられたが、吸収の飽和によるものか嘔吐による maralixibat の損失によるものかは判断できなかった。

2.6.6.2.5 イヌを用いた maralixibat の単回静脈内投与毒性試験

：**添付資料番号 4.2.3.1-5（評価）**

本 GLP 適用試験では、イヌに静脈内投与したときの maralixibat の急性毒性を評価した。

試験開始時に約 6～7 ヵ月齢の雌雄のビーグル犬（2 例／性／群）に、maralixibat を 0、1、2.5 又は 5 mg/kg の用量で静脈内投与し、Day 15 に安楽殺した。Maralixibat は、pH 4.75±0.5 に調整したマンニトール 50 mg/mL 及び酢酸ナトリウム三水和物 0.82 mg/mL を含有する注射用水に溶解した。対照群には溶媒のみを投与した。

体重を投与前及び Day 14 の 2 回測定した。摂餌量は被験薬投与前及び試験の各週の連続する 2 日間に測定した。一般状態は Day 1 の投与前、投与後約 30 分及び 1 時間、その後は 1 日 1 回評価した。

投与前、Day 3 及び 15 に臨床病理評価のために採血した。さらに、溶血の評価のため、Day 1 の投与後 1 時間に採血した。Maralixibat の血漿中濃度は、Day 1 の投与後約 3 分、30 分、1 時間及び 24 時間に測定した。Day 15 にすべての動物を剖検した。

Maralixibat を 1、2.5 及び 5 mg/kg の用量で投与したときの平均 C_{max}（雌雄合算）はそれぞれ 16700、44000 及び 82900 ng/mL、平均 AUC_{24} はそれぞれ 8330、31100 及び 103000 ng·hr/mL であった。

本試験で死亡は認められなかった。また、体重、体重増加量又は摂餌量に異常は認められなかった。一般状態観察では 5 mg/kg 群の雌雄各 1 例で、投与後 30 分に軽度の振戦及び筋硬直が認められた。このうち雌では、投与後 30 分に嗜眠、投与後 1 時間に活動亢進が認められた。さらに、5 mg/kg 群の別の雄では、投与後 1 時間に軽度の嗜眠が認められた。5 mg/kg を投与した別の雌は、いずれの観察時点において異常は認められなかった。本試験では、剖検時に臨床病理検査パラメータ及び maralixibat に関連する肉眼所見は認められず、maralixibat に関連する病理組織学的変化も認められなかった。

結論として、maralixibat を 5 mg/kg の用量で静脈内投与したイヌでは、投与後 30～60 分に軽度の嗜眠、振戦及び筋硬直の一般状態の一過性の変化が認められた。無影響量（NOEL）は 2.5 mg/kg であった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 rasH2 野生型マウス 強制経口投与

2.6.6.3.1.1 rasH2 野生型マウスを用いた maralixibat の 5 日間用量設定予備試験及び 28 日間反復強制経口投与毒性試験（トキシコキネティクスを含む）

：添付資料番号 4.2.3.2-1（評価）

本 GLP 適用試験では、rasH2 Tg マウスのがん原性試験の用量設定のために、同マウスの背景系統である rasH2 野生型マウスに maralixibat を反復強制経口投与したときの毒性を評価した。

5 日間の予備試験では、雌雄マウス（5 例／群）に溶媒（蒸留水）又は 125、250、500、1000 若しくは 2000 mg/kg/日の maralixibat を溶媒に溶解して投与し、動物の生死、一般状態、体重及び体重増加量を評価した。

5 日間の投与後に死亡は認められず、体重又は体重増加量に maralixibat に関連した変化は認められなかった。一般状態観察では、500 mg/kg/日群で虚脱及び努力性呼吸、1000 及び／又は 2000 mg/kg/日群で下痢、自発運動の低下及び／又は円背位並びに被毛の乱れが認められた。

上記の結果に基づき 28 日間反復経口投与毒性試験では、溶媒（蒸留水）又は溶媒に溶解した maralixibat を 250、1000 又は 2000 mg/kg/日にて 10 mL/kg の投与液量で 1 日 1 回強制経口投与した。本試験は、1 群あたり雌雄各 10 例からなる主群及び 1 群あたり雌雄各 38 例（溶媒対照群は雌雄各 8 例の）の TK 群で構成された。毒性は、死亡、一般状態観察、体重、体重増加量、摂餌量、器官重量、剖検、臨床病理検査及び病理組織学的検査に基づき評価した。

Day 27 における maralixibat の TK パラメータの要約を表 2.6.6.3-1 に示した。Maralixibat の C_{max} 及び AUC_{24} は、Day 27 では AUC_{24} が用量比を上回って増加したものの、Day 1 及び 27 では概ね用量比例的に増加した。Day 27 における AUC_{24} は、Day 1 と比較してわずかに高かった。

表 2.6.6.3-1 rasH2 野生型マウスに maralixibat を反復強制経口投与したときの TK パラメータ（Day 27）

Sex	Treatment Description (mg/kg/day)	AUC_{24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (h)	$t_{½}$ (h)	AR
Male	250	912 ± 175	192 ± 122	1.0	4.74	1.46
	1000	5234 ± 952	599 ± 145	4.0	NC	0.82
	2000	24180 ± 9512	2070 ± 375	4.0	2.78	2.21
Female	250	1642 ± 549	530 ± 353	2.0	5.78	1.11
	1000	5765 ± 941	877 ± 156	1.0	7.42	0.47
	2000	21220 ± 6518	1750 ± 55.0	2.0	9.91	2.12
Combined	250	1277 ± 305	289 ± 191	2.0	5.23	1.21
	1000	5501 ± 620	615 ± 155	1.0	NC	0.59
	2000	23141 ± 5031	1720 ± 310	4.0	6.79	2.21

出典：4.2.3.2-1 Text Table 2

AR：蓄積係数、AUC_{24}：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、NC：消失相の評価ポイントが不十分のため算出せず、$t_{1/2}$：消失半減期、TK：トキシコキネティクス、t_{max}：最高血漿中濃度到達時間
1 時点につき 3 例のマウスより採血した。
各パラメータの平均値（±標準誤差）を示した。

主群及び TK 群のほぼすべての投薬群で死亡発見又は瀕死安楽例が認められた。主群の雌 1 例（1000 mg/kg/日群）を除き、いずれの投薬群においても投与過誤の徴候は認められなかった。その他の死亡又は瀕死安楽殺された動物の死因を、剖検（主群及び TK 群）及び病理組織学的検査（主群）の結果から特定することはできなかった。

250 mg/kg/日群の雌並びに 1000 及び 2000 mg/kg/日群の雌雄で自発運動の低下が認められた。また、1000 及び 2000 mg/kg/日群の一部の雌雄では、被毛の乱れ及び／又は円背位、努力性呼吸及び／又は下痢が認められた。これらの徴候の一部は早期に死亡した数例の動物で認められた。2000 mg/kg/日群の雄で摂餌量の増加が認められたが、1000 及び／又は 2000 mg/kg/日群の雌雄では対照群と比較して概して体重及び／又は体重増加量の減少が認められた（表 2.6.6.3-2）。

表 2.6.6.3-2　rasH2 野生型マウスに maralixibat を反復強制経口投与したときの体重及び体重増加量

	Males				Females			
		Dose (mg/kg/day)				Dose (mg/kg/day)		
	Control	250	1000	2000	Control	250	1000	2000
BW, Day 29	25.39 g	-2.95%	-5.12%	-3.03%	20.99 g	-2.95%	-5.57%	-4.42%
Absolute BWG, Days 1–29	1.45 g	-22.8%	-90.3%	-51.7%	1.83 g	-44.8%	-45.4%	-25.7%

出典：4.2.3.2-1　p14
BW：体重、BWG：体重増加量

Day 29 の血液学的検査の結果、投薬に関連する所見として、1000 及び 2000 mg/kg/日群の雄に平均総白血球数及びリンパ球数の減少が、2000 mg/kg/日群の雌に平均好中球数の増加が認められた。本試験では、maralixibat に関連した肉眼病変は認められなかった。胃病変として、胃の非腺部の過形成及び／又は過角化、並びに胃の腺部の空胞化が認められた。これらの所見の程度は軽微から軽度であり、いずれかの所見が 2000 mg/kg/日群の雄及びすべての maralixibat 群の雌に認められた。鼻腔所見として粘膜上皮の変性／壊死を特徴とする滲出性炎症性病変がすべての投薬群の雌雄で認められた。腎臓では、250 mg/kg/日群の雄を除くすべての投薬群で尿細管の拡張が認められた。2000 mg/kg/日群の雄では、精巣の変性及び精巣上体の細胞残屑が認められた。1000 及び 2000 mg/kg/日群の雌では、乳腺の萎縮、卵巣の黄体数減少並びに膣の発情休止期及び粘液分泌が認められ、すべての投薬群で子宮の萎縮が認められた。

結論として、雌雄の死亡、一般状態及び病理組織学的所見並びに雄の体重及び摂餌量への影響に基づき、rasH2 野生型マウスに 28 日間連日反復経口投与したときの maralixibat の最大耐量（MTD）は 250 mg/kg/日未満であると考えられた。

2.6.6.3.1.2 rasH2 野生型マウスを用いた maralixibat の 28 日間反復強制経口投与毒性試験（トキシコキネティクスを含む）

：添付資料番号 4.2.3.2-2（評価）

本 GLP 適用試験では、rasH2 野生型マウスに maralixibat を反復強制経口投与したときの毒性を評価した。

マウスに溶媒（蒸留水）又は 25、75 若しくは 150 mg/kg/日の maralixibat を溶媒に溶解して 10 mL/kg の投与液量で 1 日 1 回強制経口投与した。本試験は、1 群あたり雌雄各 10 例からなる主群（主要コホート）と、群雌雄各 8 例の溶媒対照群及び 1 群あたり雌雄各 38 例の maralixibat 群からなる TK 群で構成された。

毒性は、死亡、一般状態観察、体重、体重増加量、摂餌量、器官重量、剖検、臨床病理検査及び病理組織学的検査に基づき評価した。

すべての動物が試験終了時まで生存した。すべての投薬群の雌雄に認められた毒性徴候は、自発運動の低下、円背位及び／又は被毛の乱れであった。被毛の乱れはほぼすべての投薬群の雌雄において数例に認められたが、75 及び 150 mg/kg/日群の雄で最も早期に認められた。試験期間を通して、75 及び 150 mg/kg/日群の雌雄で、概して平均体重及び体重増加量の減少が認められた。Day 1～29 に 150 mg/kg/日群の雄では平均体重の減少がみられ、Day 1～29 における 150 mg/kg/日群の雌の体重増加量は溶媒対照群と比較して約 1/3 であった。また、摂餌量は 150 mg/kg/日群の雌雄で減少し、75 mg/kg/日群ではわずかに減少した。

本試験では、臨床病理検査データおよび肉眼所見に maralixibat に関連する変化は認められなかった。器官重量測定では、25、75 及び 150 mg/kg/日群において卵巣重量の減少がみられ、75 及び 150 mg/kg/日群では体重減少及び後述の黄体数の減少に関連すると考えられた。75 及び 150 mg/kg/日群の雌では、卵巣に黄体数減少が認められた。すべての投薬群の雌雄で粘膜上皮の変性／壊死を特徴とする鼻腔の滲出性炎症がみられたが、その発現頻度及び／又は程度は 75 及び 150 mg/kg/日群で高かった。

Day 27 における TK パラメータの要約を表 2.6.6.3-3 に示した。

表 2.6.6.3-3　rasH2 野生型マウスに maralixibat を反復強制経口投与したときの TK パラメータ（Day 27）

Sex	Treatment Description (mg/kg/day)	AUC_t (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	t_{max} (hr)
Male	25	182	25.2	2.0
	75	514	51.0	4.0
	150	1196	128	4.0
Female	25	356	70.2	0.5
	75	876	474	0.5
	150	1228	563	0.5
Combined	25	269	39.9	2.0
	75	695	251	0.5
	150	1212	308	0.5

出典：4.2.3.2-2　Text Table 1
AUC_t：投与後 0 時間から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、TK：トキシコキネティクス、t_{max}：最高血漿中濃度到達時間
1 時点につき 3 例のマウスより採血した。
各パラメータの平均値を示した。

Maralixibat を 1 日 1 回単回又は反復投与したときの曝露量は、雄と比較して雌で高かった。Day 27 における曝露量は、雌雄ともに Day 1 と比較して同程度又は減少した。Day 1 及び 27 の曝露量は、雌雄とも概ね用量比例的に増加した。

結論として、75 及び 150 mg/kg/日群の雌雄における一般状態観察及び病理組織学的所見、並びに体重、体重増加量及び摂餌量に対する影響に基づき、rasH2 野生型マウスに maralixibat を 28 日間 1 日 1 回経口投与したときの MTD は 25 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.3.1.3 rasH2 野生型マウスを用いた maralixibat の 4 週間反復強制経口投与用量設定毒性試験（トキシコキネティクスを含む）

：添付資料番号 4.2.3.2-3（評価）

本 GLP 適用試験は、rasH2 野生型マウスに maralixibat を 28 日間反復強制経口投与したときの毒性及び TK を評価し、rasH2 Tg マウスの 26 週間がん原性試験の用量を決定するために実施した。

マウス（主群：10 例／性／群、TK 群：対照群は 3 例／性／群、投薬群は 18 例／性／群）に maralixibat を 25、75 又は 250 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 28 日間強制経口投与した。投与液量は 5 mL/kg とし、対照群には蒸留水を投与した。

毒性は、死亡、一般状態観察、体重、体重変化、摂餌量、臨床病理検査及び病理組織学的検査に基づき評価した。TK 評価用の血液検体を Day 1 及び 28 に採取した。

Maralixibat の C_{max} 及び AUC_{24} に明確な性差は認められなかった。C_{max} 及び AUC_{24} は、25～250 mg/kg/日の用量範囲で用量の増加に伴って増加した。しかし、血漿中濃度に大きなばらつき（全体的に 40%を超える CV%）が認められたため、結果の解釈にはこのばらつきを考慮する必要がある。C_{max} 及び AUC_{24} は概ね用量比例的に増加した。反復投与後に C_{max} 及び AUC_{24} に蓄積は認められなかった。

すべての動物が計画安楽殺時まで生存した。

投薬に関連した一般状態観察所見として、250 mg/kg/日群の雄で立毛が認められた。25 mg/kg/日以上の雄では、対照群と比較して投薬に関連する平均体重の減少及び平均体重増加量の減少が用量依存的に認められた。これらの変化は毒性ではないと考えられた。動物の健康状態は良好であり、250 mg/kg/日までの用量において投薬に起因した平均摂餌量の変化は認められなかった。雌では 250 mg/kg/日群の平均体重及び平均体重増加量に軽微な減少が認められたが、統計学的に有意ではなかった。平均体重増加量の変化は、平均摂餌量と相関しなかった。

25 mg/kg/日では、投薬起因の臨床病理学的所見は認められなかった。Day 29 に血液生化学的所見として、75 mg/kg/日群以上の雄で総蛋白及びアルブミンの軽微な減少、75 mg/kg/日群以上の雄及び 250 mg/kg/日群の雌で AST 及び ALT の軽微な増加が認められた。

投薬起因の病理組織学的所見が鼻甲介、肝臓及び腎臓に認められた。鼻甲介では、25 mg/kg/日群以上の雄及び 75 mg/kg/日群以上の雌で上皮変性／壊死及び内腔細胞残屑が、25 mg/kg/日群以上の雌雄で内腔滲出液が、250 mg/kg/日群の雄で単核細胞炎症が認められた。

肝臓では、25 mg/kg/日群以上の雌雄で肝細胞肥大が認められた。

腎臓では、250 mg/kg/日群の雄で髄質外層に尿細管細胞肥大及び腎臓重量の減少が認められた。腎臓重量の減少は 75 mg/kg/日群以上の雌においても認められた。

以上から、雌雄の rasH2 野生型マウスに maralixibat を 25、75 又は 250 mg/kg/日の用量で 28 日間強制経口投与したとき、毒性と考えられる一般状態観察所見、並びに平均体重及び摂餌量の変化は認められなかった。75 mg/kg/日群以上の雄及び 250 mg/kg/日群の雌では、軽微

な臨床病理検査値の変化（総蛋白及びアルブミン、AST 及び／又は ALT）が認められた。病理組織学的所見が、鼻甲介（上皮変性／壊死、内腔細胞残屑／滲出液、及び／又は単核細胞炎症）、肝臓（肝細胞肥大）及び腎臓（尿細管細胞肥大）に認められた。25 mg/kg/日群以上でみられた鼻甲介の変化は毒性変化と考えられた。250 mg/kg/日までの用量で忍容性が認められ、死亡は認められず、平均体重の変化は軽微であった。以上の結果から、MTD は 250 mg/kg/日と判断した。Maralixibat を本用量で 28 日間反復投与したときの C_{max} 及び AUC_{24} は、雄でそれぞれ 64.5 ng/mL 及び 436 ng·hr/mL、雌でそれぞれ 83.9 ng/mL 及び 1510 ng·hr/mL であった。

2.6.6.3.2 CD-1 マウス 強制経口投与

2.6.6.3.2.1 マウスを用いた maralixibat の 13 週間反復強制経口投与試験

：**添付資料番号 4.2.3.2-4（評価）**

本 GLP 適用試験の目的は、溶媒で溶解した maralixibat を 13 週間強制経口投与したときの CD-1 マウスにおける毒性及び TK を評価することであった。

雌雄 CD-1 マウス（15 例／性／群）に、0、50、150、500 又は 1000 mg/kg/日の maralixibat 水溶液を最長 94 日間強制経口投与した。主群とは別に TK 群を設定し、Day 1 及び 86 に TK を評価した。

Week 4、8 及び 12 に採取した検体を用いて糞便中胆汁酸（fBA）排泄量を測定した。試験終了時に血液学的検査、血液生化学検査及び血液凝固系検査用の血液検体を採取した。投与期間終了時の計画剖検時（week 14）に器官重量を測定し、病理組織学的検査を実施した。

Maralixibat の C_{max} 及び AUC_{24} は、用量の増加に伴って増加した。絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.5%未満であった。

500 及び 1000 mg/kg/日群では死亡が認められ、そのほとんどは、消化管のガス膨満又は投与中の投与液の誤嚥を示唆する所見を伴っており、呼吸窮迫による死亡と考えられた。

500 及び 1000 mg/kg/日群でみられた軽度の摂餌量減少及び体重減少は毒性と考えられた。

1000 mg/kg/日の雄で投薬に関連した白血球数の増加が認められ、肺の炎症性変化による二次的変化と考えられた。

雄の投薬各群で投薬に関連した凝固時間の延長がみられた。しかし、これらの延長は出血と関連していなかったため、毒性ではないと考えられた。

1000 mg/kg/日群の雄に血清中胆汁酸（sBA）濃度の減少並びにコレステロール及び高比重リポ蛋白質（HDL）の増加が認められた。また、すべての投薬群の雌雄に fBA 排泄量の増加が認められ、maralixibat の薬理作用に起因するものと考えられた。

500 及び 1000 mg/kg/日群の雌雄で盲腸及び／又は結腸／直腸の重量増加（対照群の 105%～231%）が認められた。このような大腸重量の増加は、maralixibat のような難吸収性物質を大量に経口投与したときによくみられる所見であり、病理組織学的変化を伴わないことから毒性学的な意義はないと考えられる。

1000 mg/kg/日群の雄に脾臓重量の減少、500 及び 1000 mg/kg/日群の雌に胸腺重量の減少がみられ、これらの動物における体重増加量の減少に関連している可能性がある。病理組織学的検査を含めその他の検査に関連する変化が認められなかったことから、これらの器官重量変化は毒性学的に意義のある変化ではないと考えられた。

150、500 及び 1000 mg/kg/日群の多くの動物（死亡例又は瀕死安楽殺例を含む）の肺に多数の病理組織学的病変が認められた。1000 mg/kg/日群の雄及び 500 mg/kg/日群の雌で肺の相対重量の増加がみられ、病理組織学的検査で観察された肺の変化に関連すると考えられた。肺の変化はいずれも投与液の誤嚥に起因するものであり、maralixibat の全身毒性を示唆するするものではないと考えられた。

50 及び 150 mg/kg/日群では、雌雄ともに毒性所見が認められなかったことから、本試験における NOAEL は 150 mg/kg/日と考えられ、この用量における C_{max} は雄で 52.3 ng/mL、雌で 107 ng/mL、AUC_{24} は雄で 566 ng·hr/mL、雌で 478 ng·hr/mL であった（Day 86）。NOAEL における AUC_{24} の健康成人への 45 mg の単回投与における AUC_{∞} の 2 倍値（臨床試験で得られた PK データのうち、PFIC に対する最高用量である 600 µg/kg BID に最も近い条件）に対する安全域（MOS）は雄で 47 倍、雌で 40 倍であった。

2.6.6.3.2.2 マウスを用いた maralixibat の 13 週間反復強制経口投与（懸濁投与）毒性試験：添付資料番号 4.2.3.2-5（評価）

本 GLP 適用試験では、雌雄 CD-1 マウス（15 例／性／群）に maralixibat を 0、50、250 又は 750 mg/kg/日の用量で 13 週間強制経口投与した。主群とは別に TK 群（36 例／性／群）に maralixibat を 50、250 又は 750 mg/kg/日の用量で 13 週間強制経口投与し、Day 1 及び 80 に TK 評価用の血液を採取した。この試験では、強制経口投与時の誤嚥を減らすため、懸濁液中のメチルセルロース（MC）濃度を一般的に使用される 0.5%（w/v）から 1.5%（w/v）に変更し、懸濁液の粘度を高くした。

詳細な一般状態観察を行い、体重及び摂餌量を週 1 回測定した。Week 4 及び 12 に糞便を採取し fBA 濃度を測定した。試験終了時に血液学的検査及び血液生化学的検査用の血液検体を採取した。投与期間終了時の計画剖検時（week 14）に器官重量を測定し、主群の組織を保存した。試験早期に死亡又は瀕死安楽殺した動物の肺について病理組織学的検査を実施した。

Day 1 及び 80 の血漿中 C_{max} 及び AUC_{24} の平均値は、いずれも用量比を下回って増加した。絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.5%未満であった。Day 1 及び 80 の C_{max} 及び AUC_{24} の平均値は同程度であった。

250 及び 750 mg/kg/日群の雄で体重増加量の減少がみられ、投薬に起因する毒性変化と考えられた。

750 mg/kg/日群の雌ではヒトで予想されるコレステロールの低下とは反対に、コレステロールの増加が認められた。Maralixibat を投与したその他のマウス毒性試験でも同様の増加が認められている。

250 及び 750 mg/kg/日群の雄並びにすべての投薬群の雌で盲腸重量の増加がみられた。250 及び 750 mg/kg/日群の雄並びに 750 mg/kg/日群の雌で結腸重量の増加が認められた。このような大腸重量の増加は、maralixibat のような難吸収性物質を大量に経口投与したときにみられる所見であり、毒性学的な意義はないと考えられる。

試験早期に死亡又は瀕死安楽殺した動物 8 例の肺を病理組織学的に検査した。いくつかの肺病変（フィブリン沈着、炎症性細胞浸潤、壊死、出血）は、強制経口投与操作による外傷又は微量の懸濁液の誤嚥に起因したもので、maralixibat の全身曝露に関連するものではないと考えられた。

試験期間全体で、0、50、250 及び 750 mg/kg/日群でそれぞれ 5、6、10 及び 16 例の途中死亡が認められた。これらの死亡のほとんどは、強制経口投与時の外傷、懸濁液の誤嚥又は消化管のガス膨満による呼吸窮迫によるものであった。ガスの膨満は、難吸収性の maralixibat の大量投与に伴う腸内容物及び／又は腸内細菌叢の限局性変化、及び／又は maralixibat 投与後の腸内胆汁酸濃度の上昇に伴う下剤作用に起因すると考えられた。

試験早期に死亡又は瀕死安楽殺した一部のマウスの肺に組織学的変化が認められたことから、MC 濃縮懸濁液を用いて投与調製液の粘度を高めても、強制経口投与中の偶発的な誤嚥は防止できないことが示された。

結論として、本試験における高濃度 MC 懸濁液（1.5%）の強制経口投与は、投与検体（maralixibat 製剤）の誤嚥が高頻度で起こり、その後肺への影響が生じたため、許容できない溶媒及び投与経路であると考えられた。

2.6.6.3.3 rasH2 Tg マウス又は CD-1 マウス 混餌及び強制経口投与

2.6.6.3.3.1 マウスを用いた maralixibat の 2 週間投与予備毒性試験（混餌投与及び強制経口投与）

：**添付資料番号 4.2.3.2-7（参考）**

本 GLP 非適用試験では、CD-1 マウスに maralixibat を混餌投与することの実施可能性を評価した。強制経口投与又は混餌投与により投与した maralixibat の毒性を評価した。2 つの投与方法の fBA を測定し薬理活性を評価した。強制経口投与及び混餌投与後の TK を評価した。

試験開始時に約 8 週齢の雌雄 CD-1 マウス（主群：15 例／性／群、TK 群：12 又は 8 例／性／群）に、maralixibat を 0、3、30 又は 300 mg/kg/日の用量で強制経口投与又は混餌投与した（混餌投与は目標用量）。

強制経口投与に用いた懸濁液は、maralixibat を 0.5% MC（w/v）及び 0.1%ポリソルベート 80（v/v）を含有する蒸留水に 0.3、3 及び 30 mg/mL の濃度で懸濁した。投与液量は 10 mL/kg とした。

混餌投与では、高速混合器を用いて maralixibat を PMI Certified Rodent Chow #5002（飼料）と混合した。対照群には maralixibat を含まない飼料を与えた。

強制経口投与群では 3 mg/kg/日以上の投与群で、混餌投与群では 30 mg/kg/日以上の投与群で、maralixibat の曝露が認められた。Maralixibat の血漿中濃度に性差は認められなかった。Maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティはいずれの投与方法でもすべての用量で 0.5%未満であった。Maralixibat の C_{max} 及び AUC_{24} は用量の増加に伴って増加した。300 mg/kg の AUC_{24} は、混餌投与（707 ng·hr/mL）と比較して強制経口投与（1690 ng·hr/mL）で高かった。

3 mg/kg/日以上の用量では、混餌投与及び強制経口投与ともに fBA 排泄量（μmol/kg/日）の用量依存的な増加が認められた。fBA 排泄量は、30 及び 300 mg/kg/日では混餌投与と強制経口投与で同程度であったが、3 mg/kg/日では強制経口投与と比較して混餌投与で高かった。

本試験では投薬に関連した死亡は認められなかった。

30 及び 300 mg/kg/日群の混餌投与の雄では体重増加量が軽度に減少したが、変化の程度が弱いため毒性学的意義はないと考えられた。

毒性学的に意義のある一般状態観察所見、血液学的又は血液生化学的所見は認められなかった。

投薬に関連した剖検所見は認められなかった。Maralixibat に起因すると考えられる統計学的に有意な器官重量（絶対値及び器官／体重比）の変化として、300 mg/kg/日群で盲腸重量の増加（強制経口投与の雌雄及び混餌投与の雌）及び結腸重量の増加（強制経口投与の雌雄）が認められた。

混餌投与の高用量群では、小葉周辺性肝細胞空胞変性の発現頻度が統計学的に有意に増加したが、毒性学的な意義はないと考えられた。Maralixibat を強制経口投与したすべての群で、投薬に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

結論として、マウスにおける 2 週間反復投与試験における強制経口投与及び混餌投与による NOAEL は 300 mg/kg/日であった。絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.5%未満であったが、本試験の結果から、混餌投与と比較して強制経口投与（特に 300 mg/kg/日投与）したときの maralixibat の全身曝露量は高いことが示された。

2.6.6.3.3.2 マウスを用いた maralixibat の 2 週間用量設定試験

：**添付資料番号 4.2.3.2-6（参考）**

本 GLP 非適用試験では、混餌投与経路の妥当性を評価し、長期試験の用量設定のために CD-1 マウスに maralixibat を 2 週間混餌投与したときの毒性及び全身曝露量を評価した。

雌雄 CD-1 マウス（10 例／性／群）に、maralixibat を 0、300、600 又は 1000 mg/kg/日を目標用量として混餌投与した。主群とは別に TK 群（8 例／性／群）を設定し、Day 11 又は 12 に TK を評価した。

体重及び摂餌量データに基づき算出した実際の用量は、雄ではそれぞれ 263、529 及び 885 mg/kg/日、雌ではそれぞれ 271、504 及び 876 mg/kg/日であり、目標用量に近い投与量であった。

体重及び摂餌量を週 2 回測定した。試験終了時に血液検体を採取し、血液生化学的検査を実施した。試験終了時に結腸（直腸を含む）、肺及び肝臓の重量を測定した。対照群及び高用量群の結腸及び直腸、並びにすべての動物の肺を病理組織学的に検査した。

Maralixibat への曝露はすべての用量で認められたが、極めて低かった。絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.2%未満であり、C_{max} 及び AUC は概ね用量比例性を示した。いずれの TK パラメータにも性差は認められなかった。

投薬開始直後に全投薬群の雄並びに中用量群及び高用量群の雌に一過性の摂餌量減少がみられ、投薬期間初期における飼料中の maralixibat に対する嗜好性低下に起因するものと考えられた。摂餌量減少に伴う体重増加抑制が認められた。

血液生化学的検査では血清コレステロール及び血清トリグリセリドの軽微から軽度の増加が認められた。高用量群の雌雄に結腸／直腸重量の増加がみられ、maralixibat の低吸収性に起因するものと考えられた。

いずれの投与群においても毒性学的に意義のある変化は認められなかった。したがって、本試験の NOAEL は 1000 mg/kg/日（目標用量として、摂餌量から算出した実際の用量は雄で 885 mg/kg/日、雌で 876 mg/kg/日）であった。

2.6.6.3.3.3 rasH2 Tg マウスを用いた maralixibat の 3 週間経口投与忍容性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-8（参考）

本 GLP 非適用試験では、rasH2 Tg マウスに maralixibat を 5000 又は 10000 mg/kg/日〔それぞれ飼料の 2.5%及び 5%（w/w）〕の目標用量で、4 週間混餌投与した。投与期間は、当初 3 週間とする計画であったが、maralixibat の忍容性を評価するため 1 週間延長した。

雄 9 例及び雌 7 例に 2.5%（5000 mg/kg/日）、雄 10 例及び雌 8 例に 5%（10000 mg/kg/日）の maralixibat を投与した。Maralixibat 投与開始の前の週に、標準飼料（PMI#5002）の摂餌量を測定した。試験開始後 2 週間（投薬開始前後の 1 週間ずつ）について、それぞれ 1 週のうち最初の 3 日間は毎日摂餌量を測定し、その後 4 日間は 1 日あたりの平均摂餌量を算出した。投薬期間の week2 以降の試験期間について、摂餌量及び体重を週 1 回測定し、それぞれ投与開始前（ベースライン）の値と比較した。目標用量で 4 週間曝露した後、動物を安楽殺した。

試験期間中、体重及び摂餌量にベースライン値からの有意な変化が認められた。投与後 1 週に 5%群の雄でベースラインの 13%～14%の体重減少がみられ、摂餌量は最大でベースライン値の 42%まで減少した。5%群の雄のベースライン値からの体重減少は、試験期間を通してみられた。5%群の雄の摂餌量は、投与後 1 週以降はベースライン値付近まで回復したが、その後は再び減少し、試験終了時にはベースライン値の 71%であった。5%群の雌では雄より影響が少なく、体重はベースライン値より 4%～9%、摂餌量はベースライン値より 8%～29%減少した。5%群の雌では試験終了まで体重が徐々に減少し、剖検時にはベースライン値より 8%低かった。しかし、これらの雌の摂餌量は試験終了時に回復傾向を示した。2.5%群の雄では、体重は試験期間中にベースライン値より 3%～8%減少し、試験終了時にはベースライン値の 96%で安定しているようであった。これらの雄の摂餌量は、投与後 1 週にはベースライン値の 79%であったが、試験終了時にはベースライン値をわずかに上回る値に回復した。2.5%群の雌では雄より影響が少なく、体重は試験期間を通してベースライン値よりわずかに増加した。2.5%群の雌の摂餌量は試験終了時にベースライン値まで回復した。Maralixibat の曝露に関連すると考えられた一般状態観察所見は糞便の減少及び軟便のみであり、両投与群において雄でより高頻度に認められた。

結論として、2.5%又は 5%の maralixibat を添加した飼料で混餌投与したとき、maralixibat に起因する体重及び摂餌量の減少が認められた。雌雄の体重及び摂餌量に対する影響は、2.5%投与では回復又は安定するが、5%投与では持続すると考えられた。5%群の忍容性を考慮すると、より長期の毒性試験を実施する場合は 5%以下の低濃度の飼料を用いる必要がある。

2.6.6.3.3.4 rasH2 Tg マウスを用いた maralixibat の 4 週間反復混餌投与用量設定毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-9（評価）

本 GLP 適用試験では、雌雄 rasH2 Tg マウスに maralixibat を 0、2000、5000 又は 10000 mg/kg/日〔それぞれ飼料の 0、1、2.5 及び 5%（w/w）〕の目標用量で、4 週間混餌投与した。主群は雌雄各 19 例／群、TK 群は雌雄各 16 例／群であった。試験早期の飼料中の maralixibat に対する嗜好性低下による摂餌不良（曝露不足）を回避するために、最初の 1 週間（用量馴化週）は、目標濃度に達するまで飼料中の maralixibat 濃度を徐々に増加させた。飼料中の maralixibat 濃度を 6 日間で目標値まで漸増し、その後 4 週間はその濃度を維持した。

糞便を採取し、fBA を測定した。試験終了時に、血液生化学的検査、血液学的検査、血液凝固系検査、剖検及び病理組織学的検査並びに maralixibat の血漿中濃度解析を実施した。

試験期間中（3 例）に雌動物の死亡が認められた。中用量群の 1 例が瀕死安楽殺され、中用量群及び高用量群の各 1 例が死亡した。すべての投薬群で摂餌量の変化を伴う用量依存的な糞便の減少が認められた。すべての投薬群の雄で用量馴化週以降に対照群と比較して体重の減少がみられ、中用量群及び高用量群で試験期間を通じて持続した。この減少は用量依存的であった。高用量群の雌では目標用量を 1 週間投与した後に体重減少が始まり、試験期間を通じて持続した。高用量群の雌雄で毒性学的に意義のある摂餌量の減少が体重変化と同時期に認められた。中用量群及び低用量群の雌雄では、摂餌量の減少は一過性であった。

rasH2 Tg マウスにおける maralixibat の血漿中濃度又は TK パラメータに、すべての用量で明らかな性差は認められなかった。すべての用量で maralixibat の血漿中濃度は低く、絶対的バイオアベイラビリティは 0.2%未満と低値であった。C_{max} 及び AUC_{24} の平均値は用量の増加に伴って増加した（表 2.6.6.3-4）。C_{max} 及び AUC_{24} の平均値は、2000～5000 mg/kg/日の用量範囲では概ね用量比例性に増加したが、5000～10000 mg/kg/日の用量範囲では用量比を上回って増加した。

表 2.6.6.3-4　rasH2 Tg マウスに 4 週間混餌投与したときの TK パラメータ（Day 35）

Sex	N	Dose (mg/kg/day)	AUC_{24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)
Male	4	2000	3510	227
	4	5000	7250	448
	4	10000	26000	1480
Female	4	2000	3670	191
	2	5000	10900	541
	3	10000	31500	1440
Combined	8	2000	3590	209
	6	5000	8870	434
	7	10000	28600	1470

出典：4.2.3.2-9　Appendix 9　Table1.3、1.4、2 及び 3
AUC_{24}：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、TK：トキシコキネティクス
投与量は目標用量。各パラメータの平均値を示した。

中用量群の雄及び高用量群の雄並びに高用量群の雌で、軽度から中等度のプロトロンビン時間（PT）の延長が認められた。高用量群の雄で中等度の活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の延長が認められた。高用量群の雌雄で中等度の白血球数減少がみられ、これは主にリンパ球の顕著な減少によるものであった。

すべての投薬群の雄で軽度から中等度の ALT 及び AST の増加がみられた。高用量群の雌では ALT の増加のみが認められた。高用量群の雄では軽度のコレステロール減少がみられた。すべての投薬群の雌雄で対照群と比較して fBA が 2～3 倍増加したが、その増加に用量依存性は認められなかった。

投薬起因の病理組織学的変化が、盲腸（すべての投薬群の雄並びに中用量群及び高用量群の雌）、脾臓及び胸腺（高用量群の雄並びに中用量群及び高用量群の雌）、並びに卵巣、子宮及び膣（中用量群及び高用量群の雌）に認められた。これらの変化は剖検時に測定した器

官重量の変化と相関していた。盲腸重量はすべての投薬群の雌雄で増加した。盲腸粘膜上皮のびまん性過形成は、高用量群、中用量群及び低用量群の雄でそれぞれ 9/10 例、3/10 例及び 1/10 例、高用量群及び中用量群の雌でそれぞれ 9/10 例及び 5/10 例に認められた。

すべての投薬群の雄及び高用量群の雌で脾臓重量の減少がみられた。中用量群の雌及び高用量群の雌雄では赤脾髄を主座とする脾臓の低形成が認められた。

高用量群の雄 4/10 例及び雌 2/10 例では、胸腺が肉眼的及び／又は病理組織学的に確認できず、胸腺組織の重度の萎縮によるものと考えられた。胸腺組織が認められた動物のうち、高用量群の雄 6/10 例及び雌 5/10 例、中用量群の雌 2/10 例に病理組織学的検査で胸腺萎縮が認められた。中用量群及び高用量群の雄並びに高用量群の雌で胸腺重量の減少が認められた。雌の生殖器官の変化として、高用量群の全例及び中用量群の 2/10 例に卵巣周期の停止を示唆する所見が認められた。これらのマウスの卵巣では黄体形成が認められなかった。子宮内膜及び膣粘膜は、ホルモン刺激の欠如と一致する病理組織学的特徴が認められた。

結論として、トランスジェニック（rasH2 Tg）マウスに maralixibat を 4 週間混餌投与したときの MTD は、5%（w/w、高用量）で体重及び摂餌量の減少が認められたことから、雌雄ともに 2.5%（w/w、中用量）と考えられた（摂餌量から算出した実際の用量：雄 4400 mg/kg/日、雌 5500 mg/kg/日）。

2.6.6.3.3.5 rasH2 Tg マウスを用いた maralixibat の 4 週間経口投与用量設定試験

：添付資料番号 4.2.3.2-10（評価）

本 GLP 適用試験では、rasH2 Tg マウスに maralixibat を約 1 ヵ月間混餌投与したときの毒性及び TK を評価した。

Maralixibat を 0、75、500、1000 又は 2000 mg/kg/日の目標用量で混餌投与し、week 1 及び 4 に分析した。ケージ周囲からの観察を 1 日 1 回、詳細な一般状態観察を週 1 回行った。体重及び摂餌量は、試験開始前に 2 回、その後は週 1 回記録した。投与終了時には 4 時点で TK 解析用の血液検体を採取した。剖検前に血液凝固系検査を含む臨床病理評価のための血液検体を採取した。剖検時に器官重量を測定した。本試験では忍容性が良好であったため、病理組織学的検査は実施しなかった。

すべての用量で血漿中に maralixibat が検出され、明らかな性差は認められなかった。Day 28 の曝露量（AUC 及び C_{max}）は概ね用量依存的に増加した。Maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.05%未満であった。

1000 mg/kg/日群の雄 1 例が Day 21 に死亡したが、用量依存性が明確でなく投薬との関連はないと考えられた。一般状態観察、並びに体重及び摂餌量に投薬起因変化は認められなかった。

剖検では maralixibat に関連した異常は認められなかった。2000 mg/kg/日群の雌雄で盲腸重量の有意な増加がみられたが、2000 mg/kg/日群の雌では、心臓、脾臓及び腎臓重量が対照群と比較して減少した。

血液学的パラメータは maralixibat 投与の影響を受けなかった。凝固時間では、1000 mg/kg/日群以上の雄で PT 及び APTT の軽微な延長が認められた。Maralixibat の投薬に起因する血液生化学的パラメータの変化が以下の通り認められた。ヒトで予想されるコレステロールの低下とは反対に、げっ歯類では 75 mg/kg/日以上の雌でコレステロール及び HDL

の増加が認められた。また、500 及び 2000 mg/kg/日群の雄ではコレステロールの増加が、2000 mg/kg/日群の雄では HDL の増加が認められた。75 mg/kg/日以上の雌で sBA の増加が認められた。2000 mg/kg/日の雌でソルビトール脱水素酵素（SDH）及び AST の増加が認められた。

本試験では MTD は示されなかった。最も顕著な変化は盲腸重量の増加であったが、毒性ではないと考えられた。したがって、本試験における NOAEL は 2000 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.3.6 マウスを用いた maralixibat の 13 週間混餌投与試験

：添付資料番号 4.2.3.2-11（評価）

本 GLP 適用試験では、雌雄の CD-1 マウス（15 例／性／群）に maralixibat を 0、50、250 又は 750 mg/kg/日の目標用量で 13 週間混餌投与した。主群とは別に TK 群（24 例／性／群）に maralixibat を 50、250 又は 750 mg/kg/日の用量で混餌投与し、Day 2 及び 80 に TK 評価用の血液を採取した。

詳細な一般状態観察を行い、体重及び摂餌量を週 1 回測定した。Week 4 及び 12 に fBA 濃度を測定した。試験終了時に血液学的検査、血液生化学的検査及び血液凝固系検査用の血液検体を採取した。投与期間終了時の計画剖検時（week 14）に器官重量を測定した。また、対照群及び高用量群について病理組織学的検査を実施した。

用量又は投与期間にかかわらず、マウスにおける maralixibat の血漿中濃度又は TK パラメータに明らかな性差は認められなかった（表 2.6.6.3-5）。

表 2.6.6.3-5　マウスに 13 週間混餌投与したときの TK パラメータ

Day	Sex	Dose (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24} (ng·h/mL)	BA (%)
2	Male	50	2.08	43.8	0.0452
		250	10.5	223	0.0461
		750	23.8	482	0.0332
	Female	50	4.25	66.4	0.0686
		250	12.3	250	0.0516
		750	34.3	694	0.0478
	Combined	50	2.95	55.1	0.0569
		250	10.5	236	0.0487
		750	26.8	580	0.0399
80	Male	50	2.37	49.0	0.0506
		250	11.9	206	0.0425
		750	28.7 (21.2)	511 (429)	0.0352 (0.0295)
	Female	50	4.19	70.3	0.0726
		250	10.9	205	0.0423
		750	22.5	474	0.0326
	Combined	50	3.41	60.8	0.0628
		250	10.2	203	0.0419
		750	22.6 (21.9)	493 (453)	0.0339 (0.0312)

出典：4.2.3.2-11　Table 4、Appendix 29　Table 1 及び 2
AUC_{24}：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、BA：絶対的バイオアベイラビリティ、C_{max}：最高血漿中濃度、TK：トキシコキネティクス
各パラメータの平均値を示した。
統計学的に異常値と評価された外れ値を除外した平均値を括弧内に示した。

すべての用量で maralixibat の血漿中曝露が認められたが、絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.1%未満であった。Day 2 及び 80 の血漿中 C_{max} 及び AUC_{24} の平均値は、いずれも用量比を下回って増加し、Day 2 及び 80 の C_{max} 及び AUC_{24} の平均値は同程度であった。

すべての投薬群の雌雄に、投薬に関連した統計学的に有意な体重及び／又は体重増加量の減少が認められた。これら減少の程度は小さく、関連する一般状態観察所見もみられなかったことから、毒性学的な意義はないと考えられた。

すべての投薬群の雄で PT と APTT が有意に延長した。雌では凝固時間に変化は認められなかった。雄でみられた凝固時間の延長は、出血性の変化を伴わなかったことから、毒性変化ではないと考えられた。

すべての投薬群の雌雄のすべての時点で平均 fBA 濃度が増加したが、明らかな用量反応性は認められなかった。fBA 濃度の増加は、maralixibat の薬理作用から予想される結果である。

250 及び 750 mg/kg/日群の雄で盲腸の絶対及び相対重量の増加がみられた。すべての投薬群の雄で結腸及び直腸の体重比重量は増加した。

結論として、本試験において毒性学的に意義のある所見は認められなかった。したがって、雌雄ともに NOAEL は最高用量の 750 mg/kg/日（目標用量として、投与期間を通じた平均投与量は雄 736 mg/kg/日、雌 742 mg/kg/日）と判断された。

2.6.6.3.4 ラット 強制経口投与

2.6.6.3.4.1 強制経口投与毒性試験

（1）ラットを用いた maralixibat の 2 週間反復強制経口投与用量設定試験

：添付資料番号 4.2.3.2-12（参考）

本 GLP 非適用試験は、Sprague Dawley ラットに maralixibat を 2 週間強制経口投与したときの毒性を評価するとともに、長期投与試験の用量設定のための情報を得ることを目的として実施した。fBA、肝酵素、肝内 mRNA、肝及び十二指腸チトクローム P450（CYP）mRNA 並びに fBA 組成の分析を行った。約 5～6 週齢の雌雄の Sprague Dawley ラット（主群：10 例／性／群 、TK 群：9 例／性／群）に、maralixibat を 0、1、5、30 又は 150 mg/kg/日の用量で強制経口投与した。

Maralixibat は、0.5% MC（w/v）及び 0.1%ポリソルベート 80（v/v）を含有する蒸留水を用いて調製した。投与液量は 10 mL/kg とし、1 日 1 回強制経口投与した。一般状態観察を実施し、Day 1 及び 14 に TK 解析用の血液検体を採取した。剖検前に臨床病理検査用の尿及び血液を採取した。各群 5 例について、Day 8～10 の 48 時間にわたって糞便を採取し、fBA 濃度を測定した。対照群及び高用量群について、糞便中の胆汁酸組成を分析した。剖検時（Day 15 又は 16）に組織を採取し、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。剖検時に採取した肝組織中のコレステロール及びヒドロキシメチルグルタリル CoA（HMG-CoA）還元酵素活性、並びに、HMG-CoA 還元酵素、コレステロール 7-α ヒドロキシラーゼ及び低比重リポ蛋白質（LDL）受容体の mRNA 発現濃度を測定し、さらに、主要な CYP アイソザイム並びにフェノバルビタール誘導性 UDP グルクロニルトランスフェラーゼ（UDPGT）レベルを評価した。また、十二指腸組織中の CYP3A1 の mRNA 発現濃度を測定した。

Maralixibat の血漿中濃度は、用量又は血液採取のタイミングにかかわらず、すべての時点で低かった。1 及び 5 mg/kg/日群では、定量下限〔LLOQ、（2.38 ng/mL）〕を上回る血漿中濃度はごくわずかであった。Maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.5%未満であった。Maralixibat の血漿中濃度には、血液採取時刻による日内差又は性差はみられなかった。150 mg/kg/日群における、Day 14 の C_{max} 及び AUC_{24} はそれぞれ 19.3 ng/mL 及び 129 ng·hr/mL であった。

動物の生死、体重、体重増加量及び摂餌量に maralixibat に関連した影響は認められなかった。150 mg/kg/日の 20 例中 18 例にケージペーパーにピンク色の変色が認められた。この所見は Day 7 に初めて認められ、投与終了時まで持続した。同変化に関連するその他の所見は認められず、毒性学的意義は低いと考えられた。その他に投薬起因の一般状態観察所見は認められなかった。30 及び 150 mg/kg/日群の雌に中等度の血清コレステロールの増加が認められた。この増加は maralixibat 投与に関連するものであるが、程度の弱い変化であり、毒性学的な意義はないと考えられた。血液学的検査、血液生化学的検査、血液凝固系検査又は尿検査の結果、maralixibat に関連するその他の明らかな変化は認められなかった。剖検では、maralixibat に関連した肉眼的変化は認められなかった。

Maralixibat に関連した病理組織学的変化として結腸杯細胞の粘液減少が雄 7 例（1 mg/kg/日群の 1 例、5 mg/kg/日群の 2 例、30 mg/kg/日群の 1 例、150 mg/kg/日群の 3 例）及び雌 5 例（150 mg/kg/日群の 5 例）に認められた。これらのうち雄 4 例（1 mg/kg/日群の 1 例、5 mg/kg/日群の 1 例、150 mg/kg/日群の 2 例）及び雌 2 例（150 mg/kg/日群の 2 例）では、結腸粘膜の粘膜固有層に浮腫が認められ、浮腫及び粘液減少の程度は一致し、両所見の間に関連性が認められた。Maralixibat の投与により fBA 濃度が上昇すること、また、これまでにジヒドロキシ胆汁酸を結腸に灌流した実験モデルで同様の組織学的変化が認められていることから、これらの組織学的変化は結腸内腔の胆汁酸濃度の上昇に関連すると考えられた。

1、5、30 及び 150 mg/kg/日群の平均 fBA 濃度（μmol/kg/日）は、対照群の平均 fBA 濃度のそれぞれ 2.1、2.2、2.8 及び 2.9 倍であった。fBA 組成に対する顕著な性差はなかった。また、fBA に含まれるジヒドロキシ胆汁酸ケノデオキシコール酸の割合は、150 mg/kg/日群で 136 倍に増加した。肝組織中のコレステロール濃度及び HMG-CoA 還元酵素活性、並びに HMG-CoA 還元酵素、コレステロール 7-α ヒドロキシラーゼ及び LDL 受容体の mRNA 発現に対する投薬に関連した影響は認められなかった。肝組織中の CYP アイソザイム及びフェノバルビタール誘導性 UDPGT 濃度並びに十二指腸組織中の CYP3A1 の mRNA 発現に、maralixibat に関連した明らかな影響は認められなかった。150 mg/kg/日群の雌雄に盲腸の絶対及び相対重量の統計学的に有意な増加が認められた。これらの盲腸重量の増加に関連する病理組織学的所見は認められず、maralixibat の吸収不良に起因するものと考えられ、毒性学的な意義はないと考えられた。

結論として、150 mg/kg/日までの用量では、動物の生死、体重、体重増加量又は摂餌量に maralixibat に関連した影響は認められなかった。血漿中濃度に明らかな反復投与後の影響及び性差は認められなかった。高用量（150 mg/kg/日）群における、Day 14 の C_{max} 及び AUC_{24} はそれぞれ 19.3 ng/mL 及び 129 ng·hr/mL であった。Maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティは 0.5%未満であった。Maralixibat の投与により、すべての用量で fBA 濃度が上昇した。

結腸粘膜固有層の浮腫を伴う／伴わない結腸杯細胞の粘液減少が、雄のすべての maralixibat 群及び雌の 150 mg/kg/日群で認められた。

（2）ラットを用いた maralixibat の 4 週間反復強制経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-13（参考）

本 GLP 適用試験では、ラットに maralixibat を 4 週間強制経口投与したときの毒性を評価した。

約 7～8 週齢の雌雄の Sprague Dawley ラット〔主群：15 例／性／群 、回復群：10 例／性／群（対照群及び 150 mg/kg/日群）、TK 群：9 例／性／群〕に、maralixibat を 0、5、30 又は 150 mg/kg/日の用量で強制経口投与した。動物の生存及び瀕死状態を少なくとも 1 日 1 回観察した。一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床病理学的検査〔血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査（予定された剖検前）〕、剖検、器官重量及び病理組織学的検査を実施した。Day 13～15 及び Day 20～22 に 48 時間にわたって糞便を採取し、fBA 濃度を測定した（雌雄各 5 例／群）。

Maralixibat の血漿中濃度は、用量又は検体採取日にかかわらず、すべての測定時点で低かった。初回及び反復投与後において maralixibat の血漿中濃度に明らかな連投後の影響又は性差は認められなかった。試験期間中の maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティは、すべての用量で 0.1%未満であった。150 mg/kg/日群における、Day 22 の C_{max} 及び AUC_{24} はそれぞれ 38.9 ng/mL 及び 144 ng·hr/mL であった。

動物の生死、体重、体重増加量及び摂餌量に maralixibat に関連した影響は認められなかった。毒性試験の動物 4 例が試験中に死亡したが、これらの死亡は強制経口投与時の事故によるものであり、maralixibat の投薬に関連するものではなかった。ケージペーパーにピンク色の変色が、30 mg/kg/日群の雄 15 例中 9 例及び雌 15 例中 3 例、並びに 150 mg/kg/日群の雄 25 例中 23 例及び雌 25 例中 24 例に認められた。同変化は、回復期間 Day 8 において 150 mg/kg/日群で認められたが、回復期間 Day 15 には認められなかった。これに伴う血液学的検査、血液生化学的検査又は尿検査の変化は認められなかった。したがって、この変色は臨床的にも毒性学的にも重要ではないと考えられる。

150 mg/kg/日群の雌雄で好中球数の増加が認められ、軽度の炎症性変化を反映している可能性がある。しかし、病理組織学的評価では関連する明確な変化は認められなかった。回復群では好中球絶対数の増加は認められなかった。すべての投薬群の雄では、PT の延長が用量依存的に認められた。30 及び 150 mg/kg/日群の雄では、APTT の延長が用量依存的に認められた。これらの軽度の PT 及び APTT の延長は雌では認められず、回復群の雄にも認められなかった。これらの軽度の凝固時間の延長は、出血を伴わず、毒性学的な意義はないと考えられた。

Maralixibat を投薬した全群の雌雄で、軽度から中等度の血清コレステロールの増加が用量依存的に認められた。雄ではすべての投薬群において血清トリグリセリドの増加を伴っていたが、統計学的に有意な増加が認められたのは 150 mg/kg/日群のみであった。血清コレステロール増加は maralixibat 投与に関連するものであるが、程度の弱い変化であり、毒性学的な意義はないと考えられた。血清及び尿中の電解質値に軽度から中等度の変化が数件認められたが（血液生化学的検査における Cl、K 及び P の増加、Ca の低下、並びに Na の増加又は低

下、尿検査における Na、K、Ca、Cl 及び P の濃度及び／又は排泄量の増加）、いずれも用量依存性が明確でなく、特定の組織障害を示唆する所見も認められなかったことから、maralixibat 投与との関連性は不明であった。

150 mg/kg 日群の雄では、統計学的に有意な軽度の盲腸の絶対及び相対重量の増加が認められた。さらに、30 及び 150 mg/kg 日群の雌では、統計学的に有意な軽度の盲腸の絶対重量の増加が用量依存的に認められ、投薬各群の雌では、統計学的に有意な盲腸の相対重量の増加が用量依存的に認められた。これらの変化に関連する病理組織学的変化はみられず、maralixibat の盲腸粘膜に対する直接作用ではないと考えられる。これらの器官重量の変化は、難吸収性物質である maralixibat の投与に関連した非特異的な作用と考えられる。回復群では盲腸重量の増加は認められなかった。

すべての maralixibat 群で、結腸及び直腸に maralixibat に関連した病理組織学的変化が認められたが、4 週間の回復期間後には認められなかった。これらの変化として、杯細胞の粘液減少、並びに結腸及び直腸粘膜の粘膜固有層における浮腫が認められた。この浮腫は、杯細胞の粘液減少と関連して高頻度に観察され、浮腫の程度は粘液減少の程度と一致しているようであり、これら 2 つの変化の関連性が示唆された。Maralixibat の投与により fBA 濃度が上昇するため、これらの組織学的変化は胆汁酸による粘液分泌促進の結果と考えられる。その他、細胞内粘液の量及び染色性の変化並びに陰窩細胞の密度増加を特徴とする粘膜上皮変化が認められ、一部で粘膜の軽度の肥厚を伴っていた。これらの変化に明らかな用量依存性は認められなかったが、maralixibat 投与に起因すると考えられた。これらの病理組織学的変化は、maralixibat 投与後の結腸及び直腸内胆汁酸濃度の上昇に関連すると考えられる。消化管の他の部位には同様の変化が認められなかったことから、これらは結腸及び直腸粘膜に対する maralixibat の直接的な毒性を示すものではないと考えられる。

Maralixibat 群（5、30 及び 150 mg/kg/日群）の雄における平均 fBA 濃度（µmol/kg/日）は、Day 13～15 ではそれぞれ対照群の平均値の 10.3 倍、10.4 倍及び 10.5 倍であり、Day 20～22 ではそれぞれ対照群の平均値の 6.4 倍、6.9 倍及び 2.2 倍であった。Maralixibat 群（5、30 及び 150 mg/kg/日群）の雌における平均 fBA 濃度（µmol/kg/日）は、Day 13～15 ではそれぞれ対照群の平均値の 8.1 倍、10.5 倍及び 11.7 倍であり、Day 20～22 ではそれぞれ対照群の平均値の 10.8 倍、10.9 倍及び 8.2 倍であった。Day 13～15 の fBA 濃度は、雄では低用量、雌では高用量でプラトーに達したと考えられた。すべての投与群の雄及び高用量群の雌では、Day 20～22 の fBA 濃度は Day 13～15 と比較して減少したことから、体内の総胆汁酸量が減少した可能性が示され、これらの動物における胆汁酸欠乏状態が裏付けられた。

結論として、動物の生死、体重、体重増加量及び摂餌量に maralixibat に関連した影響は認められなかった。Maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティは 0.1%未満であった。すべての用量で、Day 13～15 に fBA が増加した。雄では 5 mg/kg/日以上、雌では 150 mg/kg/日において Day 20～22 の fBA 濃度は Day 13～15 と比較して減少したことから、これらの用量では体内の総胆汁酸量が減少した可能性が示された。凝固時間（PT 及び APTT）の延長が認められ、ビタミン K 欠乏症を反映している可能性がある。凝固時間の延長は出血を伴っていなかったことから毒性学的意義はないと考えられた。

観察された結腸及び直腸の病理組織学的変化は maralixibat による直接影響ではなく、maralixibat 投与によりラット大腸における胆汁酸排泄が増加したことに起因するものと考えられた。

（3）ラットを用いた maralixibat の 4 週間反復強制経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-14（評価）

本 GLP 適用試験では、雌雄 Sprague Dawley ラット（5 例／性／群）に maralixibat を 1 日 1 回 4 週間、0 又は 100 mg/kg/日の用量で強制経口投与した。

一般状態観察、体重、摂餌量、臨床病理検査〔血液学的検査、血液生化学的検査、血液凝固系検査及び尿検査（計画剖検前）〕、剖検、器官重量及び病理組織学的検査により評価した。

Maralixibat に関連する死亡は認められなかった。Maralixibat に関連した一般状態観察所見として、ケージペーパーへの頭部の潜伏及び流涎過多が認められた。対照群と比較して、maralixibat に関連した体重、体重増加量又は摂餌量の有意な変化は認められなかった。

計画安楽殺例では、血液学的検査、血液生化学的検査、血液凝固系検査及び尿検査の結果に maralixibat に関連した影響は認められなかった。Maralixibat に関連した器官重量の変化、剖検所見及び病理組織学的所見は認められなかった。

結論として、雌雄ラットに maralixibat 投与を 100 mg/kg/日で 1 日 1 回 4 週間強制経口投与したときに毒性学的に意義のある所見は認められなかった。したがって、本試験における maralixibat の NOAEL は 100 mg/kg/日であった。

（4）ラットを用いた maralixibat の 13 週間反復強制経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-15（評価）

本 GLP 適用試験では、Sprague Dawley ラットに maralixibat を 1 日 1 回 13 週間連続強制経口投与した。主群に各群雌雄各 15～25 例、TK 群に各群雌雄各 9 例の動物を割り付けた。雄には 0、5、30、75 又は 150 mg/kg/日、雌には 0、5、30、150 又は 500 mg/kg/日の maralixibat を連日投与した。13 週間の投与期間後、対照群及び高用量群（雌雄各 10 例）で 4 週間の回復期間を設定した。Day 1 及び Week 12 に maralixibat の血漿中濃度を測定した。

一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査を実施した。また、糞便中の fBA を測定した。

すべての用量で maralixibat の血漿中曝露が認められたが、試験期間中の絶対的バイオアベイラビリティは 0.1%未満であった。血漿中濃度に顕著な性差は認められなかった。投与 12 週間後の血漿中濃度を表 2.6.6.3-6 に示した。

表 2.6.6.3-6 ラットに 13 週間強制経口投与したときの反復投与後（Day 78）の TK パラメータ

Dose (mg/kg/day)	Sex	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24} (ng·hr/mL)
5	Male	5.8	11.1
	Female	0.0 [a]	NA [a]
	Combined	3.20	5.52
30	Male	4.75	11.4
	Female	3.95	12.4
	Combined	4.35	11.7
75	Male	5.71	61.4
150	Male	28.3	141
	Female	22.2	124
	Combined	24.1	132
500	Female	62.9	470

出典：4.2.3.2-15 Toxicokinetic Report Table 3 及び Table 1.3

AUC_{24}：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、NA：該当せず、TK：トキシコキネティクス

[a] すべての測定値が定量下限（4.75 ng/.mL）未満であった。

5 mg/kg/日以上の用量で maralixibat を投与したときの平均 fBA 濃度（µmol/kg/日）は 4～8.7 倍に増加したが、一貫した用量差、日間差又は性差は認められず、糞中の fBA 量増加は 5 mg/kg/日の用量で定常状態になることが示された。

試験期間中、maralixibat を投与した数例が強制経口投与時の事故及び投与液の誤嚥により死亡した。難吸収性の maralixibat の誤嚥により、肺の相対重量の増加（5 mg/kg/日以上）及び肺の細気管支周囲における組織学的変化〔両染性の不定形物質を伴う肺胞組織球症（30 mg/kg/日以上）及び肺胞上皮化を伴う間質性線維症（5 mg/kg/日以上）〕が認められた。

Maralixibat に関連すると考えられるいくつかの可逆的な変化が認められた。軽度の血清コレステロール増加及び血清 HDL 増加（5 mg/kg/日以上の雄）及び肝臓由来と考えられる酵素の軽微な上昇〔AST（30 mg/kg/日以上の雄、5 mg/kg/日以上の雌）、ALT（5 mg/kg/日以上の雄）及び SDH（30 mg/kg/日以上の雌）〕が認められた。また、軽度かつ用量依存性の明確でない PT の延長（30 mg/kg/日以上の雄、500 mg/kg/日の雌）及び APTT の延長（75 mg/kg/日以上の雄、150 mg/kg/日以上の雌）が認められたが、出血はみられず毒性学的意義はないと考えられた。病理組織学的所見を伴わない軽度から中等度の用量依存性の明確でない肝臓の絶対及び相対重量の減少（5 mg/kg/日以上の雄で 11%～20%の変動）、結腸及び直腸粘膜に杯細胞の粘液減少及び粘膜固有層の浮腫（5 mg/kg/日以上の雌雄）が認められた。

その他の maralixibat 関連の変化として、軽度の血清 Cl 値の増加（5 mg/kg/日以上の雌雄）及び尿中 Cl 排泄量の増加（75 mg/kg/日以上の雄、150 mg/kg 以上の雌）、用量依存的な総尿中 Ca 排泄量の増加（5 mg/kg/日以上の雄、500 mg/kg/日の雌）、軽度から中等度の盲腸の相対及び／又は絶対重量の増加（30 mg/kg/日以上の雄、150 mg/kg/日以上の雌）、並びにケージペーパーのピンク色の変色（30 mg/kg/日以上の雌雄）が認められた。

結論として、この 13 週間強制経口投与試験では、すべての用量で maralixibat の曝露が認められたが、絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.1%未満であった。Maralixibat に関連した臨床病理検査、器官重量及び病理組織学的所見は概して軽微から軽度の変化であ

った。本試験では、maralixibat に関連した毒性と考えられる所見は認められなかった。したがって、NOAEL は最高用量（雄 150 mg/kg/日、雌 500 mg/kg/日）であった。

（5）ラットを用いた maralixibat（懸濁投与液）の 13 週間反復強制経口投与試験

：添付資料番号 4.2.3.2-16（評価）

本 GLP 適用試験では、雌雄 Sprague Dawley ラット（15～25 例／性／群）に maralixibat を 0、150、500 又は 1500 mg/kg/日の用量で 13 週間強制経口投与した。主群とは別に TK 群として雌雄ラット（18 例／性／群）に maralixaibt を 150、500 又は 1500 mg/kg/日の用量で 13 週間強制経口投与し、Day 1 及び 80 に TK 評価用の血液を採取した。

この試験では、強制経口投与時の投与液の誤嚥を減らす目的で、投与液の粘度を高めるために媒体として 1.5%(w/v)MC を用いた。Day 92～94 に動物を計画剖検した。回復期間(Day 92 に開始）の計画剖検は、Day 122～123 に行った。

一般状態観察を行い、体重及び摂餌量を週 1 回測定した。眼科学的検査は Week 12 に実施した。臨床病理検査を Week 7、投与期間終了時及び回復期間終了時に実施した。Week 4 及び 12 に採取した糞便試料を用い fBA 濃度を測定した。投与期間終了時及び回復期間終了時の計画剖検時に器官重量を測定した。病理組織学的検査は、試験早期に死亡又は瀕死安楽殺した動物の肺のみ実施した。

Maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.4%未満であった。血漿中 C_{max} 及び AUC_{24} の平均値は、Day 1 及び 80 のいずれも用量比を下回る増加を示した。C_{max} 及び AUC_{24} の平均値は、概ね Day 80 の方が Day 1 よりも低かった。

500 mg/kg/日群の雄 3 例、1500 mg/kg/日群の雄 15 例及び 1500 mg/kg/日群の雌 8 例が死亡発見又は瀕死により安楽殺された。そのほとんどが maralixibat 投与に起因する出血又は腸管内ガス膨満によるものであった。

すべての用量の雌雄で歯打ち呼吸音（rattling respiratory sounds）の発現頻度の用量依存的な増加が認められた。同呼吸音は投与用懸濁液の誤嚥に起因するものと考えられた。すべての用量の雌雄でケージペーパーに赤褐色の変色が観察された。このようなケージペーパーの変色は、maralixibat の他の毒性試験でも認められている。この変色の原因は明らかにされていないが、複数回の尿検査で尿潜血ではないことが示されており、毒性学的意義は低いと考えらえれる。

統計学的に有意な摂餌量減少がすべての投薬群の雄で高頻度に認められた。その程度は小さく、毒性学的意義は低いと考えられた。すべての投薬群の雄及び 1500 mg/kg/日群の雌で体重増加量の減少が認められたが（13 週間の平均累積体重増加量は対照群の 65%～87%）、毒性学的意義はないと考えられた。

すべての用量の雄及び 1500 mg/kg/日の雌で PT 及び APTT の延長が認められた。500 mg/kg/日群の雄及び 1500 mg/kg/日群の雌雄では致死的な出血事象を伴っていたことから、毒性変化と考えられた。これらの変化のうち、回復期間終了時に持続していたのは 1500 mg/kg/日群の雄の PT 延長のみであった。投薬各群において、maralixibat の薬理作用に起因すると考えられる雌の HDL の減少、雌雄の総胆汁酸の減少及び雌雄の fBA の増加が認められ、また、雌雄の血清トリグリセリドの増加及び／又は減少が認められた。投薬各群の雄及び 1500 mg/kg/日群の雌にみられた ALT 及び／又は AST の増加、投薬各群の雄にみられ

た肝臓重量の減少、並びに投薬各群の雌雄にみられた総蛋白、アルブミン及び／又はグロブリンの減少は、全体的な肝活性（特に胆汁酸及び脂質代謝）の変化に間接的に関連している可能性がある。血清中 Na 及び／又は Cl の軽度の増加も、すべての投薬群の雄並びに 500 及び 1500 mg/kg/日群の雌で認められた。

すべての用量の雌雄で盲腸重量の増加が、全ての用量の雄及び 500 及び 1500 mg/kg/日群の雌で結腸重量の増加が認められた。これは、難吸収性化合物の大量投与に起因する二次的変化であり、毒性変化ではないと考えられた。これらの所見は、回復期間終了時にも持続していた。

500 及び 1500 mg/kg/日群の雄のほとんど、並びに 1500 mg/kg/日群の雌の一部で、凝固時間の延長と相関した出血が観察され、死亡または瀕死安楽殺された。死亡又は瀕死安楽殺された 1500 mg/kg/日群の雌のほとんど及び雄の一部で腸管内のガス膨満が観察された。この所見は maralixibat 及び胆汁酸の作用による腸管内の腸内細菌叢の変化に起因した可能性が推察された。

試験早期に死亡又は瀕死安楽殺した動物 15 例の肺を病理組織学的に検査した。いくつかの肺病変（フィブリン沈着、炎症性細胞浸潤、壊死、及び出血）は、強制経口投与操作による外傷又は微量の懸濁液の誤嚥に起因したもので、maralixibat の全身曝露に関連するものではないと考えられた。

試験早期の死亡又は瀕死安楽殺された動物で肺病変が認められたことから、メチルセルロース濃度を増加させ投与検体の粘度を高めても、強制経口投与による肺への投与検体の吸引を防止できないことが示された。

結論として、投与液の媒体に高濃度のメチルセルロース溶液（1.5 %）を用いた場合に、投与液の肺への吸引による肺組織への影響を避けることは困難であることが示された。

（6）ラットを用いた maralixibat の 3 ヵ月間反復強制経口投与試験

：添付資料番号 4.2.3.2-17（評価）

本 GLP 適用試験では、Sprague Dawley ラットに maralixibat を 3 ヵ月間強制経口投与したときの毒性及び TK プロファイルを評価した。

ラット（主群 : 10 例／性／群 、TK 群 : 3 又は 9 例／性／群）に、maralixibat を雄に 0、5、30、75 又は 150 mg/kg/日、雌に 0、5、30、150 又は 500 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、反復強制経口投与した。対照群には溶媒（蒸留水）を投与した。投与液量はいずれの群も 5 mL/kg とした。91 日間投与した後、主群のすべての動物を計画安楽殺した。最後の採血（Day 91）の後、TK 群のすべての動物を計画安楽殺した。

すべての動物の死亡及び瀕死状態を 1 日 2 回観察した。一般状態観察は毎日実施した。体重及び摂餌量を毎週記録した。眼科学的検査を Week -2 及び Week 12 に実施した。計画剖検日（Week 13）にすべての動物の臨床病理検査（血液学的検査、血液生化学的検査、血液凝固系検査及び尿検査）を実施した。計画剖検時に器官重量を測定し、病理組織学的検査を実施した。

すべての動物が計画剖検時まで生存した。血液凝固系検査において 150 mg/kg/日の雄に軽微な PT の延長が認められた。その他、maralixibat に関連した一般状態観察所見、並びに体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査及び器官重量に対する影響は認められな

かった。眼科学的検査、剖検及び病理組織学的検査において、maralixibat に関連した所見は認められなかった。

TK パラメータの要約を表 2.6.6.3-7 に示す。

表 2.6.6.3-7　3 ヵ月間反復強制経口投与毒性試験における TK パラメータ

Dosage (mg/kg/day)	AUC_{24} (ng·hr/mL)		C_{max} (ng/mL)		t_{max} (hr)	
	Day 1	Day 91	Day 1	Day 91	Day 1	Day 91
Males						
5	14.8 [1]	13.7	11.5	1.60	1.0	24.0
30	35.3	16.7	7.19	2.34	1.0	3.0
75	13.9 [1]	13.7	3.32	2.07	1.0	3.0
150	45.2	21.6	4.42	3.03	1.0	3.0
Females						
5	6.91 [1]	4.45 [1]	3.74	1.34	1.0	3.0
30	9.73 [1]	17.9	2.35	2.21	1.0	1.0
150	45.8	37.4	7.53	6.16	2.0	1.0
500	51.8	210	6.38	24.0	3.0	2.0

出典：4.2.3.2-17　Text Table 1

AUC_{24}：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、TK：トキシコキネティクス、t_{max}：最高血漿中濃度到達時間

[1]　AUC_8 を示した。

Maralixibat の曝露量は用量比を下回って増加した。曝露量の傾向に性差の一貫性はなく、雌の最高用量を除き、全体として反復投与による蓄積は認められなかった。

本試験の結果に基づくと、Sprague Dawley ラットに maralixibat を雄では 5、30、75 及び 150 mg/kg/日、雌では 5、30、150 及び 500 mg/kg/日の用量で 91 日間経口投与したときの忍容性は良好であり、毒性所見は認められなかった。したがって、NOAEL は、検討した最高用量である雄で 150 mg/kg/日、雌で 500 mg/kg/日と判断された。

（7）ラットにおける maralixibat の 13 週間反復強制経口投与（トキシコキネティクスを含む）及び 4 週間回復試験

：添付資料番号 4.2.3.2-18（評価）

本 GLP 適用試験では、雌雄 Sprague Dawley ラット（主群：15 例／性／群、TK 群：3 又は 6 例／性／群）に、maralixibat を 0、10、300 又は 1000 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、91 日間反復強制経口投与し、毒性及び TK を評価し、4 週間の回復期間後の回復性を評価した。

投与液量はいずれも 10 mL/kg とした。91 日間の投与後、主群の各群雌雄各 10 例を安楽殺した。4 週間の回復期間終了後、主群の残りの動物（5 例／群）を安楽殺した。TK 群の動物は最終採血（Day 91）後に安楽殺した。

すべての動物の死亡及び瀕死状態を 1 日 2 回観察した。一般状態観察を毎日実施した。体重と摂餌量を毎週記録した。眼科学的検査は投薬開始前及び Week 13 に実施した。すべての動物で、計画剖検日である Week 13 又は 17 に臨床病理検査（血液学的検査、血液生化学的検査、血液凝固系検査及び尿検査）を実施した。すべての動物で剖検を実施し、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

TK パラメータの要約を表 2.6.6.3-8 に示す。

表 2.6.6.3-8　ラットに 13 週間反復強制経口投与したときの TK パラメータ

Dosage (mg/kg/day)	AUC_{24} (ng·hr/mL)		C_{max} (ng/mL)		t_{max} (hr)	
	Day 1	Day 91	Day 1	Day 91	Day 1	Day 91
			Male			
10	8.08	11.4	1.03	1.07	4.0	2.0
300	81.9	154	12.3	10.1	4.0	4.0
1000	614	484	45.7	29.5	2.0	4.0
			Female			
10	9.32	13.0	1.34	1.27	0.5	4.0
300	176	202	13.1	26.2	6.0	0.5
1000	603	771	43.4	68.2	6.0	4.0
			Male and Female Combined			
10	8.70	12.2	1.06	1.16	4.0	2.0
300	129	178	9.76	17.4	4.0	0.5
1000	609	627	43.1	48.9	6.0	4.0

出典：4.2.3.2-18　Appendix 9.5　Table 8.1 及び 8.2
AUC_{24}：投与後 0 時間から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、TK：トキシコキネティクス、t_{max}：最高血漿中濃度到達時間
1 時点につき 3 例のラットより採血した。
各パラメータの平均値を示した。

Maralixibat の血漿中 C_{max} 及び AUC_{24} の増加は、10 から 300 mg/kg/日の用量範囲では用量比を下回ったが、300～1000 mg/kg/日では概ね用量比に従って増加した。C_{max} 及び AUC_{24} に明確な性差はなく、全体として反復投与による蓄積は認められなかった。

すべての動物が計画剖検時まで生存した。Maralixibat に関連した一般状態観察所見、並びに体重、摂餌量、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査に対する影響は認められなかった。眼科学的検査、剖検及び病理組織学的検査において、maralixibat に関連した所見は認められなかった。

投薬期間終了後の安楽殺例では、雄の 1000 mg/kg/日群において maralixibat に関連する肝臓重量の減少が認められたが、関連する病理学的所見は認められなかった（表 2.6.6.3-9）。

表 2.6.6.3-9　ラットに maralixibat を 13 週間反復強制経口投与したときの器官重量への影響（投薬期間終了後の剖検例）

Dose Level (mg/kg/day)	Males				Females			
	0	10	300	1000	0	10	300	1000
	g	% of control			g	% of control		
Mean Terminal Body Weight (g)	519	107	102	98	319	98	97	97
Liver								
Absolute Weight (g)	11.3331	108	97	86 *	7.6727	94	96	90
Body Weight Ratio (%)	2.1880	101	94	88 *	2.4101	96	98	92
Brain Weight Ratio (%)	528.9943	108	95	86 *	372.8652	96	98	92

出典：4.2.3.2-18　Text Table 4.2
Maralixibat 投与群の体重、肝臓重量、組織重量／体重比、組織重量／脳重量比は対照群の平均値との比（%）を示した。
*$p<0.05$ 対対照群の平均値

表 2.6.6.3-10 に示すように、回復期間終了後の剖検例では、300 mg/kg/日以上の雄で maralixibat に関連した肝臓重量の減少（関連する病理組織学的所見なし）が認められ、投薬期間終了後の剖検例と比較して変化の程度が増大した。回復期間終了時、1000 mg/kg/日群の

雄で肝臓の相対重量（体重比）に明確な用量反応性が認められず、1000 mg/kg/日群の雄で平均最終体重が減少したためと考えられた。

表 2.6.6.3-10　ラットに maralixibat を 13 週間反復強制経口投与したときの器官重量への影響（回復期間終了後の剖検例）

Dose Level (mg/kg/day)	Males				Females			
	0	10	300	1000	0	10	300	1000
	g	% of control			g	% of control		
Mean Terminal Body Weight (g)	581	101	97	91	333	103	91	98
Liver								
Absolute Weight (g)	14.0180	90	83*	82*	7.8257	103	88	93
Body Weight Ratio (%)	2.4148	89*	86*	90*	2.3409	101	96	96
Brain Weight Ratio (%)	635.3710	94	83*	81*	385.4921	102	90	96

出典：4.2.3.2-18　Text Table 4.3
Maralixibat 投与群の体重、肝臓重量、組織重量／体重比、組織重量／脳重量比は対照群の平均値との比（%）を示した。
*p<0.05 対対照群の平均値

本試験の結果に基づくと、Sprague Dawley ラットに maralixibat を 10、300 及び 1000 mg/kg/日の用量で 91 日間反復経口投与したときの忍容性は良好であり、毒性所見は認められなかった。したがって、NOAEL は雌雄ともに 1000 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.5 ラット 混餌投与

2.6.6.3.5.1 ラットを用いた maralixibat の 2 週間用量設定試験

：添付資料番号 4.2.3.2-19（参考）

本 GLP 非適用試験では、Sprague Dawley ラット（7 例／性／群）に maralixibat を目標用量を 0、150、500、1000 又は 2000 mg/kg/日として 2 週間混餌投与した。主群とは別に TK 群として雌雄ラット（4 例／性／群）に maralixibat を目標用量 150、500、1000 又は 2000 mg/kg/日として混餌投与し、Day 13～14 に maralixibat の血漿中濃度を評価した。

体重及び摂餌量を週 2 回測定した。試験終了時に血液検体を採取し、血液生化学的パラメータを評価した。結腸、直腸、肺及び肝臓の重量を測定した。対照群及び高用量群の肝臓並びにすべての動物の結腸、直腸及び肺を病理組織学的に検査した。

すべての用量で maralixibat の曝露が認められたが、絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.04%未満であった。C_{max} 及び AUC は投与量の増加に伴って増加する傾向が認められ、いずれの TK パラメータも性差は認められなかった。

死亡は認められず、投薬に関連した剖検所見は認められなかった。

すべての投薬群の雌雄で投与開始後の数日間に摂餌量の減少がみられた、飼料中の maralixibat に対する嗜好性低下に起因するものと考えられた。摂餌量の減少に関連して体重増加抑制及び糞便の減少の発現頻度の増加が認められた。

すべての投薬群の雄及び 2000 mg/kg/日群の雌で、投薬に関連した肝酵素増加及び／又は肝臓重量減少が認められた。病理組織学的に関連する変化は認められず、毒性学的に意義のある変化ではないと考えられた。

すべての投薬群で、結腸及び／又は直腸の杯細胞の粘液減少及び／又は粘膜固有層における浮腫が散発的に認められ、fBA 増加による二次的変化と考えられた。

2000 mg/kg/日群の雌で結腸重量の増加が認められ、maralixibat の吸収不良に起因するものと考えられた。

毒性学的に意義のある所見は認められなかった。したがって、本試験の NOAEL は最高用量の 2000 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.5.2 ラットを用いた maralixibat の 13 週間混餌投与試験

：添付資料番号 4.2.3.2-20（評価）

本 GLP 適用試験では、雌雄 Sprague Dawley ラット（15～25 例／性／群）に maralixibat を、目標用量を 0、150、750 又は 1500 mg/kg/日として 13 週間混餌投与した。主群とは別に TK 群として雌雄ラット（12 例／性／群）に 150、750 又は 1500 mg/kg/日の目標用量で混餌投与し、Day 2、73（高用量群のみ）及び 80 に TK 評価用の血液を採取した。

動物の死亡がみられたため 1500 mg/kg/日群の雄を Day 78 に安楽殺した。1500 mg/kg/日群の雄を除き、主群の動物を Day 92～94 に安楽殺した。対照群の雌雄、750 mg/kg/日群の雌雄、及び 1500 mg/kg/日群の雌に回復群を設定し、Day 122～123 に計画安楽殺した。

一般状態観察を毎日実施し、体重及び摂餌量を週 1 回測定した。眼科学的検査は week 12 に実施した。血液学的検査及び血液生化学的検査を Week 7、14 及び 18 に、血液凝固系検査を Week 7、12（1500 mg/kg/日群の雄のみ）、14 及び 18 に実施した。血清ビタミン（A、D、E）及び肝臓ビタミン（A、E）濃度を Week 14 に測定した。Week 4 及び 12 に fBA 濃度及び胆汁酸組成を評価した。投与期間終了時の計画剖検時（Week 14 及び 18）に器官重量を測定した。主群及び回復群について病理組織学的検査を実施した。

Maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.4%未満であった。AUC_{24} 及び C_{max} は、Day 2 では用量比をやや下回り、Day 80 では概ね用量比例性を示した。750 及び 1500 mg/kg/日では、Day 2～80 にかけて曝露量が約 2 倍に増加した。

750 mg/kg/日群の雄 1 例及び 1500 mg/kg/日群の雄 18 例が Day 17 から発現した全身性の出血により死亡した。

750 mg/kg/日群の雄及びすべての投薬群の雌で、ケージペーパーに赤褐色への変色が認められた。この変色の原因は明らかにされていないが、複数回の尿検査で尿潜血は認められず、毒性学的意義はないと考えられた。

750 及び 1500 mg/kg/日群の雄並びに 1500 mg/kg/日群の雌で、投薬に関連した体重増加量の減少が認められた。

投薬各群の雄で PT 及び APTT が延長した。これらの変化のうち、750 及び 1500 mg/kg/日では出血に起因する動物の死亡に関連し、毒性変化と考えられた。これらの変化はいずれも回復期間終了時には認められなかった。

Maralixibat の薬理作用に起因すると考えられる変化として、750 及び 1500 mg/kg/日群の雌雄では sBA の減少が、すべての投薬群の雌雄では fBA の増加が認められた。また、1500 mg/kg/日群の雄ではコレステロールの増加がみられた。すべての用量の雌雄で認められた血清 Na 及び／又は Cl の増加は、fBA 濃度の増加による腸管透過性の亢進が原因と推察された。

すべての投薬群の雄でみられた血清 ALT 及び／又は AST の増加並びに血清総蛋白及び／又はグロブリンの減少は、全体的な肝活性（特に胆汁酸及び脂質代謝）の変化と間接的に関

連している可能性がある。血清ビタミン測定において 750 及び 1500 mg/kg/日群の雌雄でビタミン D の低下が認められたが、関連する病理組織学的変化が認められなかったため毒性学的意義はないと考えられた。

150 及び 750 mg/kg/日群の雄並びにすべての投薬群の雌で盲腸重量が、750 及び 1500 mg/kg/日群の雌で結腸／直腸重量が増加した。このうち、750 mg/kg/日群の雄及び 1500 mg/kg/日群の雌における盲腸重量の増加は回復期間終了時に持続して認められた。これらの重量変化に毒性学的な意義はないと判断された。

150 及び 750 mg/kg/日群の雌では、結腸及び直腸粘膜において可逆性の杯細胞の粘液減少及び粘膜固有層の浮腫が認められた。これらの変化は結腸におけるケノデオキシコール酸濃度の増加に起因するものであり、毒性学的な意義はないと考えられた。

結論として、この 13 週間混餌投与試験では、すべての用量で maralixibat の曝露が認められたが、絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.4%未満であった。雄における maralixibat に関連した毒性所見として、750 mg/kg/日群で出血（凝固時間延長）による死亡及び体重増加抑制が認められた。Maralixibat 投与に関連したその他の臨床病理検査値、器官重量及び病理組織学的変化は概ね軽微から軽度であった。本試験の雌では毒性所見は認められなかった。

したがって、NOAEL は雄で 150 mg/kg/日、雌で最高用量の 1500 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.5.3 ラットを用いた maralixibat の 26 週間混餌投与及び 4 週間回復試験

：添付資料番号 4.2.3.2-21（評価）

本 GLP 適用試験では、Sprague Dawley ラット（主群：15～25 例／性／群、TK 群：12 例／性／群）に maralixibat を、目標用量を雄で 30、150 又は 750 mg/kg/日、雌で 30、500 又は 2000 mg/kg/日として 26 週間混餌投与し、maralixibat の用量依存的な毒性の有無を検討するとともに、4 週間の回復期間における回復性を評価した。TK 群から Day 2 及び 168 に TK 評価用の血液を採取した。

体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査及び眼科学的検査を実施した。血清ビタミン（A、D 及び E）、肝臓ビタミン（A 及び E）及び fBA 解析のための検体を採取した。ビタミン K の評価の代替指標として血液凝固系検査を実施した。動物を剖検し、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

Day 2 及び 168 のすべての用量で maralixibat の曝露が認められたが、絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.1%未満であった。C_{max} 及び AUC は、用量比を下回って増加した。

試験デザインの概要及び Day 168 における TK パラメータの要約を表 2.6.6.3-11 に示した。

表 2.6.6.3-11　ラットに maralixibat を 26 週間混餌投与したときの TK パラメータ

Group	Target Dose (mg/kg/day) at Study Start	Target Dose (mg/kg/day) at Study End	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24} (ng·hr/mL)
Male	30	30	2.60	20.8
Male	150	150	5.42	108
Male	750	300	14.8	279
Female	30	30	1.73	28.3
Female	500	500	13.5	241
Female	2000	1500	53.5	940

出典：4.2.3.2-21　Table 7 及び Table 8
AUC_{24}：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、TK：トキシコキネティクス
Day 168 における TK パラメータの平均値を示した。

Maralixibat に関連した死亡は雌雄ともに高用量群で認められた。750 mg/kg/日群の雄 37 例中 15 例が Day 87 までに死亡又は瀕死安楽殺されたため、Day 88 から高用量群の雄の目標用量を 300 mg/kg/日に減量した。高用量群の別の雄 1 例が Day 89 に死亡した。
また、2000 mg/kg/日群の雌 37 例中 7 例が Day 95 までに瀕死安楽殺されたため、Day 102 から高用量群の雌の目標用量を 1500 mg/kg/日に減量した。高用量群の雌では、新たな途中死亡は認められなかった。高用量群の主な死因は多臓器における出血であった。頻度は低いが、腸管ガス状の膨満及び／又は嵌入が認められた。

投薬に関連した一般状態観察所見として、高用量群の雄で皮膚及び粘膜の蒼白、高用量群の雌で足及び四肢の局所的な脱毛、投薬各群の雌雄でケージペーパーに赤褐色の変色が認められた。高用量群の雄でみられた蒼白化は、出血に続発したものと考えられた。高用量群の雌では局所的な脱毛が認められたが、その原因は不明であった。これまでに実施されたラットを用いた maralixibat のほとんどの試験で、ケージペーパーの赤褐色の変色が認められている。この変色の原因は特定されていないが、尿検査で尿潜血のような関連する所見は認められず、毒性学的な意義は低いと考えられた。

投薬各群の雄並びに中及び高用量群の雌で、maralixibat に関連した体重増加量及び群平均体重の減少が試験期間を通して認められた。これらの減少に用量依存性は認められなかった。本試験の投薬期間終了時、変化がみられた群における体重増加量は対照群の 85%～90%であった。Maralixibat に関連した摂餌量の変化は認められなかった。

本試験の回復期間には、maralixibat 群の雌雄で対照群と比較して体重増加量が高値を示し、体重の回復傾向が認められた。

血液学的検査では、いずれの測定時点でも投薬に関連した変化は認められなかった。

血液凝固系検査ではすべての投薬群の雄及び高用量群の雌で、maralixibat に関連した PT 及び APTT の延長が認められた。これらの増加は雄では明確な用量依存性は認められなかった。回復期間終了時には、高用量群の雄で PT の軽度の増加のみが認められた。これらの凝固時間の延長はビタミン K 欠乏に起因する可能性が考えられ、高用量群では雌雄ともに致死的な出血事象を伴っており毒性と考えられた。

血液生化学的検査において毒性学的に意義のある変化は認められなかった。すべての投薬群の雌雄で血清 HDL 及び胆汁酸の減少が、及び投薬各群の雄で血清コレステロールの減少が認められた。これらの変化は maralixibat の薬理作用に起因するものと考えられた。投薬各

群の雄並びに中及び高用量群の雌で血清トリグリセリドの減少が認められた。中及び高用量群の雄における HDL 及びコレステロールの減少、高用量群の雄における血清トリグリセリドの減少は、一部の動物で回復期間を通して持続した。投薬各群の雌雄で ALT 及び AST の変化（上昇又は減少）及び／又は血清総蛋白、アルブミン及び／又はグロブリンの減少が認められ、これらは全体的な肝活性（特に胆汁酸及び脂質代謝）の変化に間接的に関連している可能性がある。低用量群の雄でみられた軽微な Ca の減少及び中用量群及び高用量群の雌雄でみられた軽微なリンの増加は、血清蛋白濃度の変化による二次的変化と考えられた。投薬各群の雌雄でごく軽度の血清 Na 及び／又は Cl の増加がみられ、maralixibat の薬理作用の結果として腸管内腔の胆汁酸濃度が増加し、腸管透過性が亢進した可能性が考えられた。

尿検査では毒性学的に意義のある変化は認められなかった。Maralixibat に関連した尿生化学検査値の変化として、投薬各群の雌雄で尿中 Na 及び／又は Cl の増加が認められた。これらの変化は軽度の血清 Na 及び Cl 濃度の上昇による二次的変化と考えられた。中及び高用量群の雌雄で尿中 Ca 濃度の増加が認められた。これらの増加は後述する盲腸、結腸及び結腸の所見によって、Ca の腸吸収及び腎排泄が増加した結果である可能性が考えられた。

高用量群の雌では、投薬に関連した血清ビタミン D、血清ビタミン E（血清コレステロールに対する比）及び肝臓ビタミン A の減少が認められた（平均で対照群の 16%～23%）。回復期間終了時には、これらの減少は認められなかった。これらの変化は、腸管からの吸収の変化に起因するものであり、ビタミン濃度の変化に関連する臨床所見、剖検所見及び病理組織学的所見が認められなかったことから、生物学的な意義はないと考えられた。すべての投薬群の雌雄で盲腸及び結腸の絶対及び／又は相対重量の増加が認められた。病理組織学的検査で認められた盲腸粘膜下の浮腫も盲腸重量の増加に寄与した可能性がある。投薬各群の雄で肝臓の絶対及び相対重量の減少がみられ、maralixibat 投与に伴う胆汁酸及び脂質代謝の変化に起因すると考えられた。

Maralixibat に起因すると考えられる剖検所見は高用量群の死亡発見又は瀕死安楽殺された雌雄に認められた。最も高頻度に認められた所見は、種々の体腔及び中空器官における暗色の血液様物質の存在、組織の暗色化及び蒼白化であった。これらの所見は、投与後の胆汁酸欠乏状態によるビタミン K 欠乏に起因すると考えられ、致死的な出血事象の結果であることから、毒性と判断された。腸管のガス貯留による腸管拡張が低頻度に認められた。腸管のガス貯留は、難吸収性の maralixibat の投与に関連した腸内容物及び／又は微生物叢の限局性変化、及び／又は腸内胆汁酸濃度増加による下剤作用に起因した。

計画安楽殺前に死亡発見又は瀕死安楽殺された高用量群の動物の病理組織学的所見として、複数の組織に出血及びヘモジデリン沈着が認められ、剖検所見と一致していた。また、複数の組織でストレスに起因すると考えられるリンパ球壊死及び胃粘膜のびらん／潰瘍／壊死が散見された。

試験期間終了時に安楽殺した動物では、結腸及び直腸に粘膜固有層の浮腫を伴う杯細胞の粘液減少が認められた。盲腸でも同様の所見がみられたが、浮腫は粘膜固有層から粘膜下層に及んでいた。盲腸に粘膜／粘膜下層の非化膿性炎症も認められた。これらの所見は、投薬各群の雌雄で高頻度に認められた。全体として、病変の程度はすべての投薬群で同程度であった。しかし、これらの変化は高用量よりも低及び中用量で高頻度に発現する傾向が認めら

れた。これらの病変は、回復期間終了時に回復していた。これらの所見は、大腸内腔の胆汁酸濃度増加による二次的変化と考えられた。

結論として、毒性学的に意義のある所見は致死的な出血事象に関連したものであり、750 mg/kg/日群の雄及び 2000 mg/kg/日群の雌でのみ認められた。これらの所見は投与量の減量後には認められなかった。したがって、本試験における NOAEL は中用量（目標用量として雄 150 mg/kg/日、雌 500 mg/kg/日、実際の投与量平均値として雄 139 mg/kg/日、雌 474 mg/kg/日）と考えられた。NOAEL における AUC_{24} の健康成人への 45 mg の単回投与における AUC_{∞} の 2 倍値（臨床試験で得られた PK データのうち、PFIC に対する最高用量である 600 µg/kg BID に最も近い条件）に対する MOS は雄で 9 倍、雌で 20 倍であった。

2.6.6.3.6 イヌ カプセル経口投与

2.6.6.3.6.1 イヌを用いた maralixibat の 2 週間反復カプセル経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-22（参考）

本 GLP 非適用試験では、maralixibat の投薬後に一般状態観察、臨床病理検査及び病理検査による毒性評価及び TK 評価を実施した。

試験開始時に約 8～9 ヵ月齢の雌雄のビーグル犬（4 例／性／群）に、ゼラチンカプセルに充てんした maralixibat を 0、1、4、12 又は 30 mg/kg/日の用量で 13 日間反復経口投与し、Day 14～16 に安楽殺した。

体重及び摂餌量を測定し、一般状態観察を実施した。臨床病理評価のため、投与前、Day 2 及び 13 に採血した。尿は投与前に 1 回、投与期間中（Week 2）に 1 回採取した。投与前及び Week 2 に糞便を採取し、fBA を測定した。Day 1 及び Week 2 に血液を採取し、maralixibat の血漿中濃度を測定した。

投薬期間終了後に剖検を実施し、主要な組織及び器官並びに肉眼的病変を採取した。肝臓、十二指腸、空腸及び回腸並びに胆嚢及びその内容物を採取した。肝臓では CYP1A、2B、3A 及び 4A の mRNA 発現を、十二指腸では CYP3A の発現を評価した。さらに、肝臓のコレステロールレベル、HMG-CoA 還元酵素活性、コレステロール 7-α ヒドロキシラーゼ活性、並びに HMG-CoA 還元酵素、コレステロール 7-α ヒドロキシラーゼ、及び LDL 受容体の mRNA 発現を評価した。胆嚢内容物（胆汁）の胆汁酸組成を分析した。

Maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティは、すべての用量で 0.2%未満であった。血漿中濃度又は TK パラメータに明らかな性差は認められなかった。12 及び 30 mg/kg/日では、C_{max} 及び AUC_{24} の平均値は概ね用量の増加に伴って増加した。反復投与による maralixibat の血漿中濃度の顕著な変化は認められなかったが、12 及び 30 mg/kg/日を投与したときの平均 C_{max} は、Day 1 よりも Day 13 の方がわずかに高かった。Day 1 及び 13 における 30 mg/kg/日群の平均 C_{max} 値はそれぞれ 12.1 及び 46.1 ng/mL であり、平均 AUC_{24} 値はそれぞれ 37.0 及び 113 ng·hr/mL であった。

本試験で死亡は認められなかった。体重及び体重増加量並びに摂餌量に群間差は認められなかった。30 mg/kg 群では Day 13 に軽度のコレステロール減少が認められた。その他の臨床病理検査パラメータ、器官重量、剖検及び病理組織学的検査に、maralixibat に関連した変化は認められなかった。

Day 12～14 の平均 fBA 濃度（μmol/体重 kg/日）は、1、4、12 及び 30 mg/kg/日群ではそれぞれ対照群平均の 1.6、2.4、2.6 及び 2.9 倍であった。糞便中のコール酸とケノデオキシコール酸の比は約 2：1 であり、対照群と maralixibat 群で同様であった。胆汁の分析結果から、ビーグル犬では、胆汁酸は主にコリルタウリン、デオキシコリルタウリン及びケノデオキシコリルタウリンからなることが示された。Maralixibat を投与したとき、いずれの用量でもケノデオキシコリルタウリンのモル%がわずかに増加したのみであったことから、maralixibat 投与後に一次胆汁酸（コリルタウリン及びケノデオキシコリルタウリン）の肝内合成に大きな変動がないことが示された。

Week 2 では、肝コレステロール値、HMG-CoA 還元酵素 mRNA 又は LDL 受容体 mRNA の発現に変化は認められなかった。maralixibat の投薬各群で、肝臓 HMG-CoA 還元酵素活性（約 2.3～7.6 倍）及びコレステロール 7-α ヒドロキシラーゼ活性（約 1.3～4.4 倍）が用量依存的に増加した。また、すべての maralixibat 群でコレステロール 7-α ヒドロキシラーゼの mRNA 発現も増加した。肝 CYP4A の mRNA 発現量は、30 mg/kg/日群の雌で対照群の約 4 倍に増加したが、雌の 12 mg/kg/日以下の用量又は雄では肝 CYP4A の mRNA 発現に変化は認められなかった。CYP2B 及び 3A の mRNA 発現には、maralixibat に関連した変化は認められなかった。

結論として、ビーグル犬に 30 mg/kg/日以下の用量で maralixibat を 2 週間経口投与したとき、maralixibat に関連した毒性所見は認められなかった。Maralixibat に関連した変化（血清コレステロールの減少及び胆汁酸排泄の増加）は maralixibat の薬理作用に関連したものであり、関連する病理組織学的変化を伴わなかったことから、毒性学的な意義はないと考えられた。本試験の NOAEL は 30 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.6.2 イヌを用いた maralixibat の 4 週間反復カプセル経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-23（評価）

本 GLP 適用試験では、イヌに maralixibat を 1 日 1 回 4 週間カプセル投与したときの毒性及びその回復性並びに TK を評価した。

試験開始時に約 7～9 ヵ月齢の雌雄のビーグル犬（主群及び回復群に各 4 例／性／群）に、maralixibat を 0、5、15 又は 50 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 4 週間経口投与し、Day 29～30 に主群の動物を、Day 58 に回復群（対照群及び 50 mg/kg/日群）の動物を計画安楽殺した。体重及び摂餌量を測定し、一般状態観察を実施した。眼科学的検査は投与前及び Week 4 に実施した。心電図（ECG）を投与前、Week 2 及び 4 に測定した。糞便を投与前に 1 回、Week 2、4 及び 5（回復群のみ）に 1 回採取し、fBA 量を測定した。

Day 1 及び Week 4 の投与後に TK 解析用の血液検体を採取した。Day 4、11、28 及び 57（Week 1、2、4 及び 8）に臨床病理評価のために採血した。また、Week 3 にコレステロール測定用の採血を行った。すべてのイヌから Week 2 及び 4 に尿を採取し、回復群については回復期間終了時に 1 回採取した。剖検時に、器官重量を測定し、病理組織学的検査を実施した。すべての動物から肝臓を採取し、HMG-CoA 還元酵素、コレステロール 7-α ヒドロキシラーゼ及び肝臓コレステロールを分析した。

Maralixibat の TK に顕著な性差は認められなかった。Day 1 及び 22 の絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.2%未満であった。反復投与による maralixibat の血漿中濃度に顕著な変化は認められなかったが、15 及び 50 mg/kg/日群の C_{max} 及び AUC_{24} は Day 1 よりも

Day 22 の方が高かった。50 mg/kg/日群における Day 1 及び 22 の C_{max} の平均値はそれぞれ 36.8 及び 62.4 ng/mL、AUC_{24} の平均値はそれぞれ 100 及び 265 ng·hr/mL であった。

Day 10～12 及び Day 23～25 の fBA 濃度の平均値は、すべての maralixibat 群で対照群よりも高かった（約 2～5 倍）。fBA 濃度は Day 10～12 に比較し Day 23～25 が高かったが、すべての maralixibat 投薬群間で fBA 濃度の程度に明確な違いは認められなかった。回復群では、fBA 濃度は投与中止後 1 週間以内にベースライン値に戻った。

死亡はみられず、摂餌量及び体重に変化は認められなかった。50 mg/kg/日群の 7 例（雄 3 例、雌 4 例）及び 15 mg/kg/日群の雌 1 例に、maralixibat とみられる白色粒子状物質を含む吐物が 1～7 回認められた。その他の臨床的異常は認められなかった。眼科学的検査及び ECG 検査で異常は認められなかった。

Week 1、2 及び 4 に測定した血液学的検査、尿検査及び尿生化学検査パラメータには、maralixibat に関連した変化は認められなかった。血液生化学的検査では、5 mg/kg/日群以上の雌雄で試験期間（Week 1、2、3 及び 4）を通して用量依存的に血清コレステロールの減少が認められたが、maralixibat に関連したその他の変化は認められなかった。50 mg/kg/日群の血清コレステロール濃度は投薬期間終了 4 週間後に対照群と同じレベルに回復した。

肝臓 HMG-CoA 還元酵素と肝臓コレステロール 7-α ヒドロキシラーゼの活性は用量依存的に増加した。これらの活性は、50 mg/kg/日群では投薬期間終了 4 週間後にベースライン値に回復した。Maralixibat 群の肝臓コレステロール値は対照群と同様であった。

Maralixibat 群のすべての動物で、maralixibat に関連した器官重量の変化、剖検所見及び病理組織学的所見は認められなかった。特に、消化管に投薬起因の病理組織学的変化は認められなかった。結論として、本試験における maralixibat の NOAEL は 50 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.6.3 イヌを用いた maralixibat の 4 週間反復カプセル経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-24（評価）

本 GLP 適用試験では、雌雄ビーグル犬（4 例／性／群）に maralixibat を 0、100、300 又は 600 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、4 週間連日経口カプセル投与した。600 mg/kg/日群の動物では、maralixibat の投与液を含む嘔吐が連日認められたため、Day 11 以降の投与及び検査を中止した。

試験期間中の絶対的バイオアベイラビリティは、すべての用量で 0.2%未満であった。血漿中曝露量に明らかな性差は認められなかった。100 及び 300 mg/kg/日投与時の C_{max} 及び AUC_{24} は、Day 1 よりも Day 24 の方が約 2～3 倍高かった。Maralixibat の血漿中曝露量に個体間変動が大きかったが、これは maralixibat 群のすべての動物で認められた嘔吐によるものと考えられる。

本試験では死亡例は認められなかった。Maralixibat 群のすべての動物で認められた嘔吐は、白色微粒子（maralixibat と考えられる）及び褐色微粒子（飼料と考えられる）を伴う又は伴わない白色泡状嘔吐であった。嘔吐の発現頻度は対照群と比較してそれぞれ約 3 倍（100 mg/kg/日）及び約 6 倍（300 mg/kg/日）まで増加した。摂餌量は、投薬各群で投与開始後の Week1 に 30%～50%、Week2 に約 20%減少した。平均体重に統計学的に有意な群間差は認められなかったが、4 週間の試験期間中の体重増加量は、100 mg/kg/日群で 61%（雄）及び 32%（雌）、300 mg/kg/日群 75%（雄）及び 76%（雌）減少した。

眼科学的検査、ECG 検査、血液学的検査及び尿検査のパラメータに、maralixibat に関連した変化は認められなかった。血清コレステロールは 100 及び 300 mg/kg/日群でそれぞれ 32%及び 40%減少した。fBA は、100 mg/kg/日群（対照値の 4～7 倍）及び 300 mg/kg/日群（対照値の 6～8 倍）のいずれも有意に増加した。

剖検、器官重量及び病理組織学的検査に maralixibat に関連した変化はみられなかった。

結論として、すべての maralixibat 群で、明らかな maralixibat 関連物質を伴う吐物を伴う用量依存的な嘔吐が体重増加量の減少を伴って認められた。したがって、本試験において NOAEL は 100 mg/kg/日未満と考えられた。

2.6.6.3.6.4 イヌを用いた maralixibat の 13 週間反復カプセル経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-25（評価）

本 GLP 適用試験では、6～7 ヵ月齢の雌雄ビーグル犬（4 例／性／群）に maralixibat を 0、5、20 又は 100 mg/kg の用量で 1 日 1 回、13 週間連続経口投与した。

Day 1 及び 91 に maralixibat の血漿中濃度を評価した。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、ECG 検査及び眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査、器官重量測定、剖検並びに病理組織学的検査を実施した。胆汁酸の組成及び濃度分析のために糞便を採取した。

Day 1 及び 91 のすべての投薬群で maralixibat の曝露が認められたが、絶対的バイオアベイラビリティは 0.2%未満であった。Maralixibat の血漿中濃度に明らかな性差は認められなかった。C_{max} 及び AUC_{24} は、100 mg/kg/日群では Day 1 に比較し Day 91 が約 2 倍高かったが、5 及び 20 mg/kg/日群では Day 1 と 91 の値に差は認められなかった。Day 91 の C_{max} は、20 及び 100 mg/kg/日群でそれぞれ 23.8 及び 140 ng/mL、Day 91 の AUC_{24} はそれぞれ 50.8 及び 503 ng·hr/mL であった。

fBA 濃度（µmol/kg/日）の平均値は、すべての投薬群で対照群と比較して増加したが、5 及び 20 mg/kg/日群の雌では統計学的に有意な増加ではなかった。胆汁組成を分析した結果、対照群及び 5 mg/kg/日群では、デオキシコール酸が主であったが、20 及び 100 mg/kg/日群では、コール酸の割合が対照群に比較し統計学的に有意に増加し、デオキシコール酸の割合は低下した。この結果から、結腸内腔の胆汁酸濃度の増加とともに腸内細菌によるコール酸の 7-脱ヒドロキシル化効率が低下することが示された。ケノデオキシコール酸及びリトコール酸の割合は、maralixibat 投与の影響を受けなかった。

死亡はみられず、体重、摂餌量、眼科学的検査及び ECG 検査に投薬に関連した影響は認められなかった。投薬に関連した変化として、100 mg/kg/日群では毒性と考えられる嘔吐（明らかな maralixibat 関連物質を含む吐物を伴う）の頻度増加が認められた。

Maralixibat の薬理作用に関連すると考えられる変化として、20 mg/kg/日群以上で血清コレステロール及び HDL の減少、すべての用量で血清トリグリセリドの減少傾向、Week 13 で軽度の血清 Na（20 mg/kg/日群以上の雌雄）及び Cl（すべての投薬群の雄及び 20 mg/kg/日群以上の雌）の増加が認められた。その他の血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査では、maralixibat に関連した変化は認められなかった。

本試験では、投薬に関連した剖検及び病理組織学的所見は認められなかった。

結論として、この 13 週間強制経口投与試験において、maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティは 0.2%未満であった。100 mg/kg/日群では、maralixibat 投与に関連した嘔吐の増加が認められた。投与に伴う血液生化学的検査値及び fBA の変化は、maralixibat の薬理作用に関連するものであった。本試験の NOAEL は 20 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.6.5 イヌを用いた maralixibat の 6 ヵ月間／1 年間反復カプセル経口投与及び 4 週間／8 週間回復試験

：添付資料番号 4.2.3.2-26（評価）

本 GLP 適用試験では、ビーグル犬（4 例／性／群）に maralixibat を 0、1、5、20 又は 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 6 ヵ月間又は 12 ヵ月間反復経口投与した。6 ヵ月間投与終了後 4 週間及び 1 年間投与終了後 8 週間の回復性を評価した。対照群及び 100 mg/kg/日群の雌雄各 4 例が回復期間に移行した。Day 1、Week 26 及び 52 に maralixibat の血漿中濃度を測定した。

一般状態観察、体重及び摂餌量測定、ECG 検査及び眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿化学的検査及び尿検査、器官重量測定並びに剖検を実施した。糞便及び胆汁を採取し、胆汁酸の組成及び濃度を分析した。血漿及び肝臓を採取し、血漿中ビタミン（A、D 及び E）並びに肝臓中ビタミン（A 及び E）を分析した。Week 27 及び Week 53 の剖検時に採取したすべての組織、並びに 1 年間投与後 8 週間回復群の動物の胃について病理組織学的検査を実施した。

試験期間中の maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.5%未満であったが、1 mg/kg/日の用量では、多数の動物で血漿中濃度が LLOQ（1 ng/mL）未満であった。Maralixibat の血漿中濃度に明らかな性差は認められなかった。

Day 176 の C_{max} 及び AUC_{24} は、Day 1 と比較して高い傾向が認められ、Day 176 及び 358 では同程度であった。TK パラメータの要約を表 2.6.6.3-12 に示した。

表 2.6.6.3-12　イヌ 6 ヵ月間／1 年間反復カプセル経口投与毒性試験における TK パラメータ

		C_{max} (ng/mL)			AUC_{24} (ng·hr/mL)		
Dose	Sex	Day 1	Day 176	Day 358	Day 1	Day 176	Day 358
1	Male	10.9 (1.23)	13.0	2.10	27.1 (2.84)	14.9	4.99
5		24.6 (2.06)	4.68	3.81	62.8 (6.17)	11.9	16.1 (16.3)
20		6.10	17.4	18.2	23.3	46.9	56.5
100		9.17	93.6	98.6	44.5	348	389
1	Female	0.575	0.734	1.86	2.37	1.20	4.62
5		3.03	2.06	2.12	7.63	4.48	10.8
20		5.58	22.9	18.7	19.7	64.0	58.9
100		11.2	131	77.2	58.4	562	294
1	Combined	5.73 (0.903)	6.87	1.98	14.7 (2.61)	8.04	4.80
5		13.8 (2.55)	3.37	2.97	35.2 (6.90)	8.20	13.5 (13.6)
20		5.84	20.2	18.5	21.5	55.4	57.7
100		10.2	113	87.9	51.5	455	342

出典：4.2.3.2-26　Appendix 12　Table 2、Table 4 及び Table 5

AUC_{24}：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、TK：トキシコキネティクス

統計学的に異常値と評価された外れ値を除外した平均値を括弧内に示した。

Maralixibat の全身曝露量は用量依存的に増加した。Day 1 では用量比を下回る増加傾向、Day 176 及び 358 では用量比を上回る増加傾向が認められた。

本試験で死亡は認められなかった。体重、摂餌量、眼科学的検査及び ECG 検査に投薬に関連した影響は認められなかった。5 mg/kg/日群の雌並びに 20 及び 100 mg/kg/日群の雌雄では、試験期間を通して対照群と比較して軽度の体重増加抑制が認められた。

投薬に関連した所見として、100 mg/kg/日群で被験物質を含むと考えられる嘔吐の頻度増加が認められた。主に 100 mg/kg/日群で被毛のピンク色～褐色への変色が認められた。この所見は低用量群及び少数の対照群で散発的に認められた。20 及び 100 mg/kg/日群並びに回復群（Week 59）の雌では、中等度かつ用量依存的な尿中リン排泄量の増加、及び用量反応性は明確でないものの、同変化に関連すると考えられる軽度の血清無機リンの減少が認められた。8 週間の回復期間後には尿中リン排泄量の増加に回復性が示された。また、すべての投薬群の雄で Week 53 に軽微な血清 ALP の減少が認められた。いずれも関連する病理変化は認められず、毒性学的意義は低いと考えられた。

その他の投薬に関連した軽微な臨床病理検査値の変化として、100 mg/kg/日群で軽微な PT の延長、100 mg/kg/日群の雄で血清蛋白、グロブリン及びアルブミンの軽微な低下並びに軽微なアルブミン／グロブリン比の増加、すべての投薬群の雌で軽微かつ用量非依存的な血清 Cl の増加、5、20 及び 100 mg/kg/日群の雄で軽微な Cl 及び Na の増加が認められた。いずれも回復群では認められなかったことから、これらの変化は完全かつ速やかに回復することが示された。また、変化の程度が小さかったことから、生物学的な意義は低く、毒性学的な意義はないと判断された。

Maralixibat の薬理作用に関連すると考えられる変化として、すべての投薬群で軽度から中等度かつ用量依存的な血清コレステロール及び血清 HDL の減少が認められた。これらの変化には回復性が認められた。軽微かつ用量に依存しない血清 AST の増加が、Week 39 にはすべての投薬群の雌で、Week 51 には 5、20 及び 100 mg/kg/日群の雌で認められた。また、Week 8 の回復期間後も同様の AST 増加が雌で認められた。これらの血清トランスアミナーゼのわずかな増加は、maralixibat 投与後に生じる肝活性（特に胆汁酸及び脂質代謝に関連する）の軽度の変化を反映していると考えられる。fBA 濃度（μmol/kg/日）の平均値は、すべての maralixibat 群で対照群と比較して増加した。8 週間の回復期間終了時には、雌雄ともに対照群と同程度であった。

剖検では、Maralixibat 投与に関連した皮膚変色が Week 53 に 100 mg/kg/日群で認められた。投薬に関連した器官重量の変化は認められなかった。病理組織学的検査では Week 53 に胃において 100 mg/kg/日群で胃底部壁細胞の好酸性低下、5、20 及び 100 mg/kg/日群で胃幽門部細胞の細胞質空胞化が認められた。これらの病変は、Week 61（1 年間投与後 8 週間の回復期間終了時）の剖検時にも認められた。

結論として、この 1 年間反復カプセル経口投与試験では、maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 0.5%未満であった。100 mg/kg/日群では投薬に関連した嘔吐の増加が認められた。Maralixibat 投与に伴う血液生化学的検査値及び fBA の変化は、maralixibat の薬理作用と一致していた。本試験の NOAEL は 20 mg/kg/日であった。NOAEL における AUC_{24} の健康成人への 45 mg の単回投与における AUC_{∞} の 2 倍値（臨床試験で得ら

れた PK データのうち、PFIC に対する最高用量である 600 µg/kg BID に最も近い条件）に対する MOS は雌雄ともに 5 倍であった。

2.6.6.3.7 サル カプセル経口投与

2.6.6.3.7.1 アカゲザルを用いた maralixibat の 2 週間カプセル経口投与毒性試験

：添付資料番号 4.2.3.2-27（参考）

本 GLP 非適用試験では、アカゲザルに maralixibat を 1 日 1 回 14 日間連日カプセル経口投与したときの薬理活性及び毒性を評価した。

試験開始時に 2.1～4.2 歳の投与歴のない雄アカゲザル（5 例／群）に、ゼラチンカプセルに充てんした maralixibat を 0、5 又は 50 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、2 週間経口投与した。なお、50 mg/kg/日群の 1 例は、食道裂傷のため Day 9 に安楽殺し、試験から除外した。

動物の一般状態及び行動の観察（摂餌量の定性的評価を含む）を、初回投与の 7 日前から試験期間を通じて 1 日 2 回実施した。体重は初回投与前及びその後週 1 回測定した。血液学的検査、血液生化学的検査及び血液凝固系検査のために初回投与前、一晩絶食後の Day 8 及び 15 にすべての動物から血液を採取した。

雄アカゲザルに 5 又は 50 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 14 日間カプセル経口投与したときの忍容性は良好であった。50 mg/kg/日群で水様便又は液状便の発現頻度の軽微な増加が認められたが、maralixibat との関連は不明であった。投薬に関連したその他の一般状態観察所見は認められなかった。体重、摂餌量、血液学的検査、血液凝固系検査及び尿検査パラメータに投与による影響は認められなかった。50 mg/kg/日群では、Day 8 にごく軽度な LDL コレステロールの減少及びそれに伴う総コレステロール及びコレステロール／HDL 比の軽度な減少が認められた。

投与操作に起因して認められた食道裂傷のため Day 9 に安楽殺した 50 mg/kg/日群の 1 例を除く全動物を Day 15 に剖検し、器官重量を測定した。投薬に関連すると判断された剖検所見はなかった。50 mg/kg/日群では、脾臓、盲腸及び結腸重量のわずかな増加が認められた。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

Maralixibat は in vitro の Ames 試験及び染色体異常試験（代謝活性化系存在下及び非存在下）、並びに in vivo のラット小核単回投与試験において変異原性及び染色体異常誘発性を示さなかった。

2.6.6.4.1 細菌を用いた maralixibat の復帰突然変異試験

：添付資料番号 4.2.3.3.1-1（参考）

本 GLP 非適用試験では、サルモネラ菌株（TA97a、TA98、TA100、TA102 及び TA1535）を用いた Ames 試験により maralixibat の変異原性を検討した。S9 の存在下又は非存在下で、10～5000 µg/プレートの濃度の maralixibat とサルモネラ菌株をともにインキュベートするプレート法で検討した。5000 µg/プレートでは処理開始時に沈殿物が認められたが、2 日間のインキュベーション後にはいずれのプレートにも沈殿物は認められなかった。S9 の存在下及び非存在下のいずれにおいても、5000 µg/プレートでは生育阻害作用により、すべての菌株でコロニー及び細菌叢が全く認められなかった。代謝活性化系の非存在下では、TA100、TA102、

TA1535 では 1000 μg/プレートで、TA97a では 500 μg/プレートから、細菌叢の減少が認められた。S9 の存在下では、TA100 及び TA102 では 1000 μg/プレートで、TA97a は 500 μg/プレートから、細菌叢の減少が認められた。溶媒対照群と比較して復帰変異コロニー数の有意な増加は認められなかった。

本試験系の条件下では maralixibat は変異原性を示さなかった。

2.6.6.4.2 細菌を用いた maralixibat の復帰突然変異試験

：添付資料番号 4.2.3.3.1-2（評価）

本 GLP 適合試験では、サルモネラ菌株（TA97a、TA98、TA100、TA102 及び TA1535）を用いた Ames 試験により maralixibat の変異原性を検討した。S9 の存在下又は非存在下で、5～5000 μg/プレートの濃度の maralixibat とサルモネラ菌株をともにインキュベートするプレート法で検討した。5000 μg/プレートでは処理開始時に沈殿物が認められたが、インキュベーション後にはいずれの寒天プレートにも沈殿物は認められなかった。

TA97a（S9 非存在下）及び TA100 では 500 μg/プレートから、TA97a（S9 存在下）、TA102 及び TA1535 は 1000 μg/プレートから、TA98 は 5000 μg/プレートで細菌叢の減少が認められた。TA100 の評価について、S9 存在下での溶媒対照値及び S9 系非存在下での陽性対照値が試験施設の背景値の範囲外であったため、TA100 のみを用いて再検討した。その結果、溶媒及び陽性対照の結果は背景値の範囲内であった。S9 存在下及び非存在下で、500 μg/プレートから細菌叢の減少が認められた。いずれの試験においても、陰性対照と比較して、復帰変異コロニー数の平均値の有意な増加は認められなかった。陰性及び陽性対照からのデータより、S9 存在下及び非存在下で変異原性物質を検出するための本試験系の妥当性及び感度が確認された。これらの結果は探索的試験（2.6.6.4.1）の結果と同様であった。

本試験系の条件下では maralixibat は変異原性を示さなかった。

2.6.6.4.3 チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた maralixibat の染色体異常試験

：添付資料番号 4.2.3.3.1-3（参考）

本 GLP 非適用試験では、ラット S9 存在下又は非存在下で Chinese hamster ovary（CHO）細胞に対する maralixibat の染色体異常誘発能を評価した。予備検討結果では、50～5000 μg/mL の濃度範囲で maralixibat による細胞毒性（推奨される 50%を大幅に上回る）のため評価に用いることのできる濃度が得られなかった。この結果を踏まえ、本試験では染色体異常試験の濃度として、S9 非存在下／4 時間処理では 50、75、80、90 及び 95 μg/mL、S9 存在下／4 時間処理では 75、100、150、175 及び 200 μg/mL、S9 非存在下／24 時間処理では 20、30、40、50 及び 60 μg/mL を設定した。各群に溶媒対照群〔dimethyl sulfoxide（DMSO）〕及び陽性対照群（マイトマイシン C 及びシクロホスファミド）を含めた。

S9 存在下及び非存在下で 4 時間処理した場合、いずれも高濃度の 3 群で細胞毒性が認められた。このたため、S9 非存在／4 時間処理では 50 及び 75 μg/mL、S9 存在下／4 時間処理では 75 及び 100 μg/mL を解析対象とした。また、S9 非存在下／24 時間処理では、20、30 及び 40 μg/mL を解析対象とした。分裂中期細胞 100 個について、各濃度及び溶媒対照群の染色体異常を解析した。Maralixibat は染色体異常の有意な増加を誘発しなかった。

これらの結果から、本試験条件下では maralixibat は染色体異常を誘発しないことが示された。

2.6.6.4.4 チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた maralixibat の染色体異常試験

：添付資料番号 4.2.3.3.1-4（評価）

本 GLP 適用 in vitro 試験では、S9 の存在下又は非存在下で、CHO 細胞における maralixibat の染色体異常誘発能を評価した。

Maralixibat 溶液は DMSO で調製し、希釈後速やかに使用した。Maralixibat 添加後の DMSO 濃度はいずれも 1%（10.0 µL/mL）であり、溶媒対照も DMSO を 10.0 µL/mL で添加した。

S9 非存在下では、25.0、50.0、60.0、65.0、70.0、75.0、80.0、85.0、100 及び 125 µg/mL で 3 時間、又は、20.0、30.0、35.0、40.0、45.0、50.0、60.0、70.0、80.0 及び 90.0 µg/mL で 17.9 時間培養した。S9 存在下では、25.0、50.0、60.0、70.0、80.0、90.0、100、110、125 及び 150 µg/mL で 3 時間培養し、すべての細胞を処理開始後 20 時間に回収した。

染色体異常の評価は、S9 非存在下／3 時間では 50.0、60.0、65.0 及び 70.0 µg/mL、S9 非存在下／17.9 時間では 30.0、35.0、40.0 及び 45.0 µg/mL について、並びに S9 存在下／3 時間では 80.0、90.0、100 及び 110 µg/mL について実施した結果、染色体異常、倍数性又は核内倍加を有する細胞の増加は認められなかった。

本試験条件下において、maralixibat は S9 存在下及び非存在下にかかわらず染色体異常を誘発しないと考えられた。

2.6.6.4.5 ラットを用いた maralixibat の小核試験

：添付資料番号 4.2.3.3.2-1（評価）

本 GLP 適用試験では、Sprague Dawley ラット骨髄中の多染性赤血球（PCE）を対象として小核を測定し、in vivo での maralixibat の染色体異常及び異数性誘発能を評価した。

小核試験では、8～10 週齢の雌雄ラットに maralixibat を 500、1000 又は 2000 mg/kg の用量で強制経口投与し、各群各採取時点で 5 例の動物を評価した。投与後 24 時間にすべての投薬群、溶媒対照群及び陽性対照群から骨髄を採取した。また、溶媒対照群及び高用量群の雌雄については、投与後 48 時間に骨髄を採取した。各群で骨髄細胞のスライドを作製し、小核を有する PCE 及び PCE／総赤血球比をスコア化した。

2000 mg/kg を投与した雄 15 例中 5 例が投与後 24 時間以内に死亡した。一般状態観察所見として、すべての投薬群の雌雄で投与後 1 時間以内に流涎が認められ、1000 mg/kg 群以上の雌雄で自発運動低下、軟便又は赤色便が認められた。2000 mg/kg 群の雌雄では、投与後 24 及び 48 時間に肛門周囲の糞便の汚れも観察され、投与後 48 時間に数例の雌で糞便の減少が認められた。

PCE／総赤血球比に統計学的に有意な減少は認められず、maralixibat が骨髄に対して細胞毒性を示さないことが示された。Maralixibat は、いずれの用量においても小核を有する PCE の発現頻度に統計学的に有意な増加は認められなかった。

Maralixibat はラットの骨髄において死亡を引き起こす用量まで染色体異常を誘発しないことが示された。

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 rasH2 Tg マウスを用いた maralixibat の 26 週間強制経口投与がん原性試験（rasH2 野生型を用いた TK を含む）

：添付資料番号 4.2.3.4.2-1（評価）

本 GLP 適用試験では、maralixibat を rasH2 Tg マウスに 26 週間反復経口投与したときのがん原性及び rasH2 野生型マウスに反復経口投与したときの maralixibat の TK を評価した。

雌雄マウスを表 2.6.6.5-1 に示した 5 つの投与群に割り当てた。第 1～4 群の動物には、maralixibat 又は溶媒を 5 mL/kg の投与液量で最長 26 週間 1 日 1 回強制経口投与した。第 5 群の動物には、陽性対照〔N-methyl-N-nitrosourea（MNU）〕を、Day 1 に 10 mL/kg の投与液量で 1 回腹腔内投与した。陰性対照群の溶媒には蒸留水、陽性対照物質には酸性生理食塩水（1N 塩酸で pH 4.5±0.1 に調整した 150 mM 塩化ナトリウム及び 15 mM クエン酸ナトリウム溶液）を用いた。

表 2.6.6.5-1　試験デザインの概要：マウスを用いた 26 週間強制経口投与がん原性試験

Group	Subgroup	No. of Animals Male	No. of Animals Female	Dose Level (mg/kg/day) Male/Female	Dose Concentration (mg/mL) Male/Female
1 (Negative control) [a]	1 (Carcinogenicity)	25	25	0	0
	2 (Toxicokinetic)	6	6		
2 (Low)	1 (Carcinogenicity)	25	25	2.5/7.5	0.5/1.5
	2 (Toxicokinetic)	36	36		
3 (Mid)	1 (Carcinogenicity)	25	25	7.5/25	1.5/5
	2 (Toxicokinetic)	36	36		
4 (High)	1 (Carcinogenicity)	25	25	25/75 [c]	5/15
	2 (Toxicokinetic)	36	36		
5 (Positive Control) [b]	1 (Carcinogenicity)	10	10	75/75	7.5/7.5

出典：4.2.3.4.2-1　Study Design

[a] 第 1 群には溶媒を投与した。

[b] 第 5 群には、Day 1 に MNU を 1 回腹腔内投与した。使用した動物ががん遺伝子を発現し、発がん傷害に適切に反応することを確認するための陽性対照である。

[c] 75 mg/kg/日群の Day 165～178 の投与検体の実測濃度は設定値より低く実投与量は 57 mg/kg/日であった。Day 180 に TK 採血を行った。

がん原性は、動物の生存率、一般状態観察、体重、摂餌量、臨床病理学的検査、剖検及び病理組織学的検査に基づいて評価した。TK 評価のため血液検体を採取した。

0.5、1.5、5 及び 15.0 mg/mL 投与検体濃度及び均一性の評価結果は、以下を除いてすべての期間で許容範囲内であった。Week 26 の 15.0 mg/mL の投与検体の濃度は設定値の 76%であり、判定基準を満たさなかった。Week 26 の投与検体は Day 165～178 に投与され、この期間中、高用量群の雌に投与された用量は設定した 75 mg/kg/日ではなく 57 mg/kg/日であった。Week 26 の 15.0 mg/mL 製剤は規格外であったが、試験期間の約 92%にわたって予定された用量が投与されており、Week 26 までに曝露量は定常状態に達していたこと、また、最大 75 mg/kg/日まで投与した雌に毒性所見又は発がん作用は認められなかったことから、安全性の評価又はデータの全体的な解釈に影響を及ぼさないものと考えられた。

Maralixibat の C_{max} 及び AUC_{24} に顕著な性差が認められた。Maralixibat を 7.5 及び 25 mg/kg/日の用量で投与したときの Day 1 における C_{max} 及び AUC_{24} は、雄マウスに比べ雌マ

ウスで高かった。雄マウスの C_{max} 及び AUC_{24} は、Day 1 では 2.5～25 mg/kg/日の範囲で用量に比例して増加し、Week 26 では 7.5～25 mg/kg/日の範囲で用量比を上回って増加した。雌マウスにおける C_{max} 及び AUC_{24} は Day 1 では 7.5～75 mg/kg/日、Week 26 では 7.5～75 mg/kg/日で用量比を下回って増加した。

2.5 mg/kg/日群の雄 1 例、25 mg/kg/日群の雄 5 例、7.5 mg/kg/日群の雌 3 例、25 mg/kg/日群の雌 2 例及び 75 mg/kg/日群の雌 2 例（TK 群の 1 例含む）の計 13 例が死亡又は瀕死安楽殺された。25 mg/kg/日群の雄では、陰性対照群と比較して早期死亡率が統計学的に有意に増加した。用量依存性が認められ、一般状態観察所見が瀕死動物と生存動物の間で類似していたことから、雄の早期死亡率の上昇は maralixibat に関連すると考えられた。瀕死安楽殺した 5 例中 3 例に剖検所見及び病理組織学的所見は認められず、残り 2 例の死因は maralixibat と関連のない血管腫（皮膚／脾臓）に起因するものであった。死亡又は瀕死安楽殺された動物の一般状態観察では、立毛、削痩、自発運動の低下、低姿勢、液状便、肩の腫脹、円背位、異常な体色／尾色、触知可能な腫瘤及び全身冷感が認められた。

雌では、早期死亡率に統計学的に有意な差は認められなかった。雌における早期死亡には、用量反応性がみられず、剖検及び病理組織学的所見に一貫性が認められなかったこと、並びに生存動物に maralixibat に関連する同様の所見が認められなかったことから、maralixibat に関連しないと考えられた。

一般状態観察では生存例において maralixibat の投薬各群で、立毛、削痩、自発運動の低下、円背位及び／又は異常呼吸が認められた。

投与終了時、7.5 及び 25 mg/kg/日群の雄における体重増加量は、対照群と比較してそれぞれ 28.8%及び 50%減少した。また、投与終了時の 25 及び 75 mg/kg/日群の雌における体重増加量は、対照群と比較してそれぞれ 28.5%及び 7%減少した。これらの平均体重増加量の減少は maralixibat に関連するものと考えられたが、程度が小さかったことから毒性変化ではないと考えられた。また、摂餌量に maralixibat に関連する変化は認められなかった。

Maralixibat に関連した剖検所見は認められなかった。

Maralixibat に関連した非腫瘍性の病理組織学的所見は認められなかった。75 mg/kg/日群の雌で maralixibat に関連した脾臓重量の減少が認められたが、関連する剖検所見及び病理組織学的所見は認められなかった。

血液学的データから maralixibat 誘発性の白血病を示唆する変化は認められなかった。

25 mg/kg/日群の雄で細気管支肺胞腺腫及び癌の発現率が高かった。細気管支肺胞腺腫の発生率は対比較及び傾向検定ともに統計学的に有意であり、細気管支肺胞腺腫と細気管支肺胞上皮癌の複合発生率も同様であった。雄で細気管支肺胞腺腫及び癌の発現率は対照群と比較して統計学的に有意に高かったが、以下の通り maralixibat 投与と関連がない可能性が考えられた。RasH2 Tg マウスで報告されている自然発生腫瘍で最も多いのは肺腫瘍、すなわち細気管支肺胞腺腫及び癌であり、本試験で maralixibat の 25 mg/kg/日を投与した雄における発現率（それぞれ 24%及び 4%）は、公表されている対照群の範囲内であった[1]。25 mg/kg/日群の雄にみられた細気管支肺胞腺腫及び癌は、単一の腫瘍として認められ、細気管支肺胞過形成から腺腫及び癌への一連の進行を示す所見は認められなかった。また、細気管支肺胞腺腫及び癌はこの系統の雌で最も一般的な自然発生腫瘍であり、背景対照データでは雄と同様の発現率を示すにもかかわらず、本試験の雌ではこれらの腫瘍の発現上昇は観察されなかった。

したがって、25 mg/kg/日群の雄で認められた細気管支肺胞腺腫及び癌の統計学的に有意な発現上昇は、maralixibat 投与と関連していない可能性が高い。

陽性対照では明らかな発がん性反応が認められた。

試験施設における試験の肺腫瘍発現率に関する背景対照データを表 2.6.6.5-2 に示す。本試験で 25 mg/kg/日群の雄でみられた腫瘍の発現率は、試験施設の対照データの範囲外であるが、本系統のより多くの動物で公表されている対照データの範囲内であった[1]。

表 2.6.6.5-2 rasH2 Tg マウスにおける病理組織学的所見の発現率

	26-Week Studies [a,b]			
	Males		Females	
	Total Incidence (%)	Range [c] (%)	Total Incidence (%)	Range [c] (%)
Lung				
B-Adenoma, bronchiolo-alveolar	32/674 (4.8)	0.0 – 16.0	13/675 (1.9)	0.0 – 8.0
M-Carcinoma, bronchiolo-alveolar	11/674 (1.63)	0.0 – 12.5	3/675 (0.4)	0.0 – 4.0

出典：Paranjpe et al[1]

[a] 20[redacted] から 20[redacted] まで [redacted] で実施された 20 試験の結果。

[b] GLP に準拠したデータではない。

[c] Range（%）は各試験における発現率の最低及び最高を示す。

以上から、雌雄の rasH2 Tg マウスに溶媒対照物質又は maralixibat を 2.5/7.5、7.5/25 又は 25/75 mg/kg/日の用量（雄／雌）で 1 日 1 回 26 週間強制経口投与した結果、25 mg/kg/日群の雄では、陰性対照群と比較して早期死亡率が統計学的に有意に増加した。この事象は、瀕死状態及び生存動物における用量反応性及び／又は臨床所見の類似性により maralixibat に起因すると考えられた。25 mg/kg/日群の瀕死安楽殺した雄 5 例中 3 例には剖検及び病理組織学的所見は認められず、残りの 2 例の死因は maralixibat と関連しない血管腫（皮膚／脾臓）に起因するものであった。雌では、早期死亡率に統計学的有意差は認められなかった。

7.5 mg/kg/日群以上の雄及び 25 mg/kg/日群以上の雌では、陰性対照群と比較して、平均体重及び／又は平均体重増加量の低値が認められた。雌ではいずれの用量においてもがん原性は認められなかった。25 mg/kg/日群の雄における細気管支肺胞上皮腺腫の発現頻度及び傾向は統計学的に有意に高く、細気管支肺胞上皮腺腫と細気管支肺胞上皮癌を合わせた発現頻度も同様であったが、maralixibat 投与との関連性は低いと考えられる。非発がん用量である 25/75 mg/kg/日群（雄／雌）における AUC_{24} の健康成人への 45 mg の単回投与における AUC_{∞} の 2 倍値（臨床試験で得られた PK データのうち、PFIC に対する最高用量である 600 µg/kg BID に最も近い条件）に対する MOS は雄で 124 倍、雌で 33 倍であった。

2.6.6.5.2 ラットを用いた maralixibat の 104 週間混餌投与がん原性試験

：添付資料番号 4.2.3.4.1-1（参考）

本 GLP 適用試験の目的は、ラットに maralixibat を 104 週間混餌投与したときの maralixibat のがん原性を評価することであった。試験実施当時の試験依頼者による開発優先順位の低下により、本試験の病理組織学的評価は中止され、病理組織学的検査標本類は廃棄された。し

たがって、この試験では完全にがん原性の評価を行うことはできず、剖検までに得られた結果をもとに評価した。

雌雄の Sprague Dawley ラットを、がん原性評価群（4 群）及び TK 群（3 群）に割り付けた。飼料中の maralixibat 濃度は、目標投与量をそれぞれ雄では 0、30、100 又は 300 mg/kg/日、雌では 0、30、300 又は 750 mg/kg/日となるよう設定した。

投薬群における試験期間中の生存率は、雄で対照群と同程度又はわずかに高かった。一般状態観察では高用量群の雄で無形便の発現頻度が増加し、高用量群の雌雄で黄色被毛の発現頻度が増加した。触診可能な腫瘤の発生頻度に明らかな影響は認められなかった。雌では、腹部（左右）腫瘤の発現頻度は対照群よりも高用量群で低かった。しかし、剖検時に高用量群の雌で乳腺腫瘤数に同様の減少はみられなかった。

雄では、maralixibat 投与による体重への影響は認められなかった。高用量群の雌の平均体重は、試験期間を通してわずかに低かった（概して対照値の 90%～95%）。Maralixibat の投与により、すべての用量の雄で 26 及び Week 52 の APTT が軽度に延長した。剖検では maralixibat に関連した肉眼所見は認められなかった。

ラットに maralixibat を 104 週間以上混餌投与したとき、生存率及び肉眼的所見に影響は認められなかった。予想された血液凝固系パラメータへの影響は軽度であり、毒性所見はみられなかった。本試験では病理組織学的検査によるがん原性評価を実施しなかったため、新たに 104 週間がん原性試験を実施した（2.6.6.5.3）。

2.6.6.5.3 ラットを用いた maralixibat の 104 週間がん原性試験

：添付資料番号 4.2.3.4.1-2（評価）

本 GLP 適用試験では、Sprague Dawley ラットに maralixibat を 104 週間強制経口投与したときの毒性及びがん原性を評価した。

雌雄ラット（9 週齢）を表 2.6.6.5-3 に示す 4 群に割り付けた。本試験の用量は 10、30 又は 100 mg/kg/日とし、10 mL/kg の投与液量で雄は 688 日、雌は 629 日間強制経口投与した。対照群には蒸留水を同様に投与した。

表 2.6.6.5-3　試験デザインの要約：ラットがん原性試験

	Number of Animals		Dose Levels [b]	Dose Concentration
Group	Male	Female	(mg/kg/day)	(mg/mL)
1 (Control) [a]	70	70	0	0
2 (Low)	70	70	10	1
3 (Mid)	70	70	30	3
4 (High)	70	70	100	10

出典：4.2.3.4.1-2　Study Design

[a] 第 1 群には溶媒を投与した。

[b] 投与検体の濃度は各ロットの純度及び maralixibat chloride/maralixibat 比で補正した。補正係数は 1.06 を用いた

がん原性は、生存率、一般状態観察（腫瘤観察を含む）、体重、摂餌量、剖検及び病理組織学的検査に基づき評価した。

Maralixibat の発がん性を適切に評価するのに十分な数の動物ががん原性の評価可能な期間まで生存した。Maralixibat に関連する死亡及び生存期間への影響は認められなかったが、対

照群を含めた全群で生存率の低下がみられ、予定していた 104 週間の投与期間を満了する前に最終剖検を実施した。また、maralixibat に関連した体重、体重変化量又は摂餌量の変化及び触知可能な腫瘤の増加は認められなかった。

Maralixibat に関連した臨床所見として、呼吸音、脱毛及び／又は頭部の痂皮が認められた。10 mg/kg/日群の雄及び 30 mg/kg/日以上の雌では、対照群と比較して呼吸音の発現頻度の上昇が認められたが、ラットの生存率に影響を及ぼさず、肉眼所見又は病理所見と相関しなかった。10 mg/kg/日以上の雌では、脱毛及び／又は頭部の痂皮の発現頻度が対照群と比較して増加したが、生存率に影響を及ぼさなかった。

病理組織学的検査において投薬に起因する腫瘍の発生は認められなかった。非腫瘍性増殖所見として肝臓において 10 mg/kg/日以上の雌雄で好塩基性変異肝細胞巣の発現頻度及び程度の増加が認められた。

100 mg/kg/日群の雄及び 30 mg/kg/日以上の雌では、maralixibat 投与に関連した非増殖性の肺胞マクロファージの増加が認められ、これは 30 mg/kg/日以上の雌の剖検で認められた肺組織の変色と相関していた。

結論として、雌雄ラットに 10、30、又は 100 mg/kg/日を最長 688 日間強制経口投与したところ、忍容性は良好であり、生存期間に対する影響は認められなかった。100 mg/kg/日の雄及び 30 mg/kg/日以上の雌では肺胞マクロファージの増加が認められ剖検で認められた変色（雌）との相関が認められた。10 mg/kg/日以上を投与した雌雄で、肝臓に好塩基性変異肝細胞巣が認められた。これらの非腫瘍性病変が認められた組織も含めて、投薬起因の腫瘍発生は認められなかった。これらの結果から、100 mg/kg/日の用量は、生存又は発がん性に影響を及ぼさない用量と考えられた。非発がん用量である 100 mg/kg/日群で想定される AUC_{24}〔ラット 13 週間強制経口投与毒性試験（添付資料番号 4.2.3.2-18）の 300 mg/kg 投与時の AUC の 1/3 値である雄の 51 ng·hr/mL、雌の 67 ng·hr/mL を外挿〕の健康成人への 45 mg の単回投与における AUC_{∞}の 2 倍値（臨床試験で得られた PK データのうち、PFIC に対する最高用量である 600 µg/kg BID に最も近い条件）に対する MOS は雄で 4 倍、雌で 6 倍であった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1 雌雄ラットを用いたmaralixibatの混餌投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

：添付資料番号 4.2.3.5.1-1（評価）

本 GLP 適用試験では、雌雄の Sprague Dawley ラットに maralixibat を混餌投与して受胎能及び着床までの初期胚発生に及ぼす影響を評価した。雌ラット（25 例／群）に maralixibat を 30、500 又は 2000 mg/kg/日の目標用量で交配前 14 日間、無処置の雄との交配期間（最長 15 日間）及び妊娠 7 日まで投与した。交配後、雄ラット（25 例／群）に maralixibat を 30、150 又は 750 mg/kg/日の目標用量で、2 回目の交配の 28 日前から無処置の雌との 2 回目の交配期間中混餌投与した。

一般状態観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査及び血液生化学的検査（雄のみ）、器官重量測定、生殖パラメータ評価並びに剖検（雌は妊娠 15 日、雄は 2 回目の交配期間終了時）を実施した。

Maralixibat 投薬群の雌における実投与量は、交配前投与期間では 30、500 及び 2000 mg/kg/日群でそれぞれ 30、498 及び 2015 mg/kg/日、妊娠投与期間（妊娠 0～7 日）ではそれぞれ 40、729 及び 2866 mg/kg/日であった。Maralixibat 群の雄（Day 31～73）における実投与量は、30、150 及び 750 mg/kg/日群でそれぞれ 30、153 及び 761 mg/kg/日であった。

2000 mg/kg/日群の雌 1 例が Day 34 に死亡した。死亡前に嗜眠がみられ、体表の様々な部位に赤色物質が認められた。750 mg/kg/日群の雄 1 例が Day 69 に死亡したが、顕著な一般状態観察所見及び剖検所見は認められなかった。両動物の死因は不明であった。

摂餌量は、雄（30 mg/kg/日群以上）及び雌（500 mg/kg/日群以上）で投与後 4 日間に有意に減少した。この摂餌量の減少は、飼料中の maralixibat に対する嗜好性に関連すると考えられる。摂餌量の減少により、すべての投薬群の雄及び高用量群の雌で体重増加量の減少がみられ、試験期間を通して持続した。

卵巣重量は 500 及び 2000 mg/kg/日群で減少した（それぞれ 6.7%及び 11.7%減少。2000 mg/kg/日群で統計学的に有意に減少した）。500 及び 2000 mg/kg/日群では、統計学的に有意ではないものの黄体数減少が認められた（9.1%及び 11.4%減少）。500 及び 2000 mg/kg/日群の母動物あたりの平均着床数及び生存胎児数は、黄体数減少と同様に減少した。これらの群における着床数及び生存胎児数の減少は、投薬に関連した排卵減少によるものと考えられた。

すべての用量で、雌雄の生殖能に maralixibat 投与による影響は認められなかった。また、すべての用量で、精子形成の評価項目（精巣及び精巣上体の精子数、精子産生率、精子運動性及び精子形態）に maralixibat 投与による影響は認められなかった。

Maralixibat 群の雄では、maralixibat に関連した PT（対照群及び 750 mg/kg/日群でそれぞれ 13.4 及び 22.2 秒）及び APTT（対照群及び 750 mg/kg/日群でそれぞれ 19.1 及び 34.8 秒）の延長が認められた。750 mg/kg/日群の雄では、軽度のヘマトクリット減少がみられた（対照群及び 750 mg/kg/日群でそれぞれ 43.6%及び 41.1%）。これらの変化は他のラットを用いた試験の所見と一致しており、maralixibat の薬理作用と関連するビタミン K 欠乏による可能性が考えられた。

Maralixibat 投薬群の雄では、器官重量に maralixibat に関連した変化は認められなかった。

本試験の結果に基づくと、雄親動物の毒性に関する NOAEL は 150 mg/kg/日であった。母動物の毒性の NOAEL は 500 mg/kg/日であった。雄の生殖毒性の NOEL は 750 mg/kg/日、雌の生殖毒性の NOEL は 30 mg/kg/日であった。NOAEL で想定される AUC_{24}〔雄は 13 週間混餌投与毒性試験（添付資料番号 4.2.3.2-20）、雌は 26 週間混餌投与毒性試験（添付資料番号 4.2.3.2-21）で得られた AUC_{24} を外挿〕の健康成人への 45 mg の単回投与における AUC_{∞}の 2 倍値（臨床試験で得られた PK データのうち、PFIC に対する最高用量である 600 µg/kg BID に最も近い条件）に対する MOS は 2 倍（雄親動物の毒性）、20 倍（雌親動物の毒性）、15 倍（雄の生殖発生毒性）及び 2 倍（雌の生殖発生毒性）であった。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 ラット

（1）ラットを用いた maralixibat の胚・胎児発生に関する用量設定試験

：添付資料番号 4.2.3.5.2-1（参考）

本 GLP 適用試験では、胚・胎児発生試験の用量設定を目的に妊娠 Sprague Dawley ラットに maralixibat を混餌投与し、あわせて TK を評価した。妊娠ラットを主群（10 例／群）及び TK 群（8 例／群）に割り付け、maralixibat を 250、750 又は 2000 mg/kg/日の用量で妊娠 6～17 日に混餌投与した。対照群の動物（10 例）には飼料のみを与えた。すべての動物について、動物の生死確認及び一般状態観察を毎日実施し、母動物の体重及び摂餌量を評価した。妊娠 20 日に主群の動物を計画安楽殺し、帝王切開した後に胎盤を検査し、黄体数、着床数、吸収胚数、生存又は死亡胎児数を記録した。すべての胎児の体重を測定し、外表検査を実施した。また、妊娠 7 及び 17 日に TK を評価した。

2000 mg/kg/日群の雌 2 例を妊娠 13 及び 14 日に、重度の体重減少及び摂餌量減少のため安楽殺した。2000 mg/kg/日群では、妊娠 6～10 日に母動物の平均体重増加量及び摂餌量が統計学的に有意に減少した。試験終了時には、2000 mg/kg/日群で妊娠 14～16 日及び妊娠 18～20 日に統計学的に有意な摂餌量の増加が認められたが、これは maralixibat の味への慣れ及び／又は無添加飼料に戻ったことに関連すると考えられる。2000 mg/kg/日群では、一般状態観察所見として糞便の減少、粘液便（赤色物質を含む／含まない）、前肢及び／又は後頭部及び口周囲の乾燥赤色物質、並びに尿生殖器領域に乾燥又は湿潤した黄色及び／又はオレンジ色の物質が認められた。2000 mg/kg/日群で認められた一般状態観察所見は、飼料中の maralixibat に対する嗜好性低下に起因する摂餌量の減少に関連する可能性が高かった。250 及び 750 mg/kg/日群では、maralixibat に関連した所見は認められなかった。

すべての用量で maralixibat の曝露が認められたが、maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティは 1%未満であった。表 2.6.6.6-1 に示したとおり、Day 17 における C_{max} 及び AUC は概ね用量比例性を示した。

表 2.6.6.6-1　ラットの胚・胎児発生に関する用量設定試験における TK パラメータ

Day	Dose (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24} (ng·hr/mL)
7	250	7.34	138
	750	35.6	388
	2000	852 (18.0) [a]	5400 (371) [a]
17	250	8.15	123
	750	23.9	371
	2000	59.2	1270

出典：4.2.3.5.2-1　Table 2

AUC_{24}：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、TK：トキシコキネティクス

各パラメータの平均値を示した。

[a] 統計学的に異常値と評価された外れ値を除外した平均値を括弧内に示した。

妊娠 20 日の雌の生殖状態の検査では、すべての投薬群で、着床前及び着床後胚死亡率、平均黄体数、着床数、吸収胚数、生存又は死亡胎児数に対する maralixibat 投与に関連した影響は認められなかった。

いずれの用量でも maralixibat による平均胎児体重への影響は認められなかった。いずれの用量でも胎児の外表所見は認められなかった。

結論として、2000 mg/kg/日で飼料中の maralixibat に対する嗜好性低下に関連する摂餌量減少、体重増加抑制及び死亡がみられたことから、母動物の NOEL は 750 mg/kg/日と判断された。本試験における発生毒性の NOEL は 2000 mg/kg/日である。

（2）ラットを用いた maralixibat の混餌投与による胚・胎児発生に関する試験

：添付資料番号 4.2.3.5.2-2（評価）

本 GLP 適用試験では、胚・胎児発生に及ぼす影響を検討するため、Sprague Dawley ラットに妊娠 6～17 日まで maralixibat を混餌投与した。妊娠ラット（25 例／群）に 50、250 又は 1000 mg/kg/日を目標用量として混餌投与した。動物は投与開始時に約 12 週齢であり、妊娠 0 日の体重は 207～290 g であった。主群とは別に TK 群の妊娠ラット（8 例／群）に同用量を混餌投与し、妊娠 7 及び 17 日に TK 評価採取した。

一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を実施した。妊娠 20 日に主群の動物を計画安楽殺し、剖検を実施して帝王切開し、生殖パラメータを記録した。胎児の体重を測定し、性別を判定し、外表、内臓及び骨格の異常の有無を検査した。

投与期間全体の平均実投与量は、50、250 及び 1000 mg/kg/日群でそれぞれ 49、245 及び 953 mg/kg/日であった。

妊娠 7 及び 17 日の母動物の血漿中に maralixibat が検出された。Maralixibat の TK 結果を表 2.6.6.6-2 に示す。

表 2.6.6.6-2　ラットの胚・胎児発生試験における TK パラメータ

Day	Dose (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24} (ng·hr/mL)
7	50	6.42	107
	250	8.97	182
	1000	68.7	709
17	50	14.0	169 (154) [a]
	250	23.8	459
	1000	169	2020

出典：4.2.3.5.2-2　Table 2

AUC_{24}：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、TK：トキシコキネティクス

[b] 統計学的に異常値と評価された外れ値を除外した平均値を括弧内に示した。

いずれの TK 評価時点においても、すべての動物で maralixibat の血漿中曝露が認められた。妊娠ラットにおける maralixibat の C_{max} 及び AUC_{24} は用量の増加に伴って増加した。妊娠 17 日の曝露量はすべての投薬群で妊娠 7 日よりも高かった。

動物の生死、母動物の体重及び一般状態観察に投薬に関連した影響は認められなかった。投与開始時にすべての投薬群で軽度かつ一過性ではあるが統計学的に有意な摂餌量の減少が認められた（すべての投薬群で Day 6～8、250 及び 1000 mg/kg/日群で Day 6～10）。これらの変化は飼料中の maralixibat に対する嗜好性低下に関連すると考えられ、母動物の体重に影響を及ぼさなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。計画安楽殺時には、投薬

に関連した内臓所見は認められなかった。子宮内の胎児の成長及び生存に maralixibat 投与の影響はみられず、投薬に関連した胎児異常はなかった。

以上から、ラットの胚・胎児発生試験において、50～1000 mg/kg/日の用量で血漿中から maralixibat が検出され、maralixibat に関連する毒性学的に意味のある所見は認められなかった。したがって、母動物及び発生に対する NOAEL はいずれも 1000 mg/kg/日であった。NOAEL における AUC_{24} の健康成人への 45 mg の単回投与における AUC_{∞} の 2 倍値（臨床試験で得られた PK データのうち、PFIC に対する最高用量である 600 µg/kg BID に最も近い条件）に対する MOS は 169 倍であった。

2.6.6.6.2.2 ウサギ

（1）ウサギを用いた maralixibat の経口投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験

：添付資料番号 4.2.3.5.2-3（参考）

本 GLP 非適用試験は胚・胎児発生に関する試験であり、妊娠 New Zealand White ウサギ（6 例／群）に maralixibat を 50、125、250 又は 500 mg/kg/日の用量で妊娠 7～18 日まで 1 日 1 回強制経口投与した。6 例の動物を対照群に割り付け、maralixibat 投与動物と同じ投与レジメンで溶媒〔0.5% MC（w/v）及び 0.1%ポリソルベート 80（w/v）〕を投与した。投与液量は 5 mL/kg/日であった。すべての動物について、外観、行動及び一般状態観察を 1 日 2 回実施した。血液学的検査（血液生化学的検査、血液凝固系検査及び TK 評価を含む）のため、妊娠 7 及び 18 日に各生存動物から血液検体を採取した。母動物の体重及び摂餌量パラメータを評価した。

TK 評価のための血液検体を妊娠 7 及び 18 日に血液検体を採取した。トキシコキネティクスの結果を表 2.6.6.6-3 に示した。

表 2.6.6.6-3　ウサギの胚・胎児発生用量設定試験における TK パラメータ

Gestation Day	Dose (mg/kg/day)	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24} (ng·hr/mL)
7	50.0	NA [a]	NA [a]	NA [a]
	125	3.0	20.5	131
	250	NA [a]	NA [a]	NA [a]
	500	3.0	0.664	4.98
18	50.0	1.0	78.0	212
	125	3.0	48.6	316
	250	5.0	24.5	300
	500 [b]	NA	NA	NA

出典：4.2.3.5.2-3　Toxicokinetic Report　Table 2

AUC_{24}：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、NA：該当せず、TK：トキシコキネティクス、t_{max}：最高血漿中濃度到達時間

[a] すべての測定値が定量下限（1.00 ng/.mL）未満であった。

[b] すべての動物が妊娠 18 日までに死亡した。

妊娠ウサギに maralixibat を 50 又は 250 mg/kg/日の用量で経口投与したとき、妊娠 7 日（Day 1）に採取したすべての試料で血漿中濃度は LLOQ 未満であった。

妊娠 7 日に採取した 125 及び 500 mg/kg/日群の試料は定量可能であり、妊娠 18 日（Day 12）ではすべての用量で maralixibat の曝露が検出されたが、いずれも低濃度であった。

50～500 mg/kg/日の用量範囲において、妊娠 7 日の血漿中濃度のほぼすべてが LLOQ（1 ng/mL）未満であったため、用量依存性を評価することはできなかった。50、125 及び 250 mg/kg/日を投与したときの妊娠 18 日における C_{max} は用量比に伴って増加せず、AUC_{24} の増加は用量比を下回った。

妊娠 29 日に全生存動物に対して剖検及び帝王切開を実施し、子宮、卵巣及び胎盤を検査した。胎児数、早期及び後期吸収胚数、総着床数及び黄体数を記録した。

各群の妊娠子宮重量から母動物の正味体重の変化を算出した。胎児体重を測定し、外表検査を実施した後、安楽殺した。

500 mg/kg/日群の全例が妊娠 7～15 日に瀕死安楽殺又は死亡した。この群では、一般状態所見として糞便の減少又は無便、軟便、小型便、排尿減少、腹部及び／又は肛門生殖器／泌尿生殖器領域に褐色物質がみられ、嗜眠及びロッキング（揺れ動き）、歩行中のよろめき又はふらつきがあり、妊娠 7～13 日の体重減少及び摂餌量減少があった。

125 mg/kg/日以上の群で認められた投薬に関連した一般状態観察及び体重の変化は、125 及び 250 mg/kg/日群における糞便の減少、並びに投薬期間の大部分における体重減少又は体重増加抑制であった。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、投薬に関連した毒性所見は認められなかった。500 mg/kg/日群における妊娠 18 日の血液学的検査及び血液生化学的検査パラメータは、瀕死状態及び死亡により評価できなかった。血清コレステロールの平均値は、50、125 及び 250 mg/kg/日群で減少した。血清コレステロール値の低下は、maralixibat の薬理活性と一致する。これらの減少は統計学的に有意ではない軽微な変化であったことから、毒性ではないと考えられた。

500 mg/kg/日群の死亡又は瀕死安楽殺例のうち、2 例で誤嚥に一致する肺の斑状変化、3 例で胃の暗赤色領域、暗赤色内容物及び／又は粘膜発赤が認められた。

50、125 及び 250 mg/kg/日群の胎児の成長及び生存に maralixibat 投与の影響は認められなかった。胎児に投薬に関連した外表奇形及び発育への影響は認められなかった。
500 mg/kg/日群の胎児の外表形態を含む子宮内パラメータは、母動物の死亡により評価できなかった。

以上から、500 mg/kg/日群で母動物毒性が認められ、死亡、一般状態の悪化、体重減少及び摂餌量減少が認められた。

125 及び 250 mg/kg/日の用量で母動物毒性がみられ、体重減少、体重増加抑制及び／又は摂餌量減少が認められた。

500 mg/kg/日の用量では、母動物の死亡により発生毒性を評価できなかった。50、125 及び 250 mg/kg/日では発生毒性は認められなかった。本試験の結果に基づくと、母動物毒性の NOEL は 50 mg/kg/日、発生毒性の NOEL は 250 mg/kg/日であった。

（2）ウサギを用いた maralixibat の経口投与による胚・胎児発生に関する試験

：添付資料番号 4.2.3.5.2-4（評価）

本 GLP 適用試験は胚・胎児発生に関する試験であり、溶媒〔0.5% MC（w/v）及び 0.1%ポリソルベート 80（w/v）〕に溶解した maralixibat を、妊娠 New Zealand White ウサギ（25 例／群）に maralixibat を 0、25、100 又は 250 mg/kg/日の用量で、妊娠 7～18 日に 1 日 1 回強制

経口投与した。対照群（0 mg/kg/日）には溶媒を投与した。投与液量は 5 mL/kg/回とした。各投与群に TK 群（6 例／群）を設定し、妊娠 7 及び 18 日に血液を採取し、maralixibat の血漿中濃度を測定した。

主群の動物について、妊娠状態、生存、一般状態観察、体重及び摂餌量を評価した。妊娠 29 日に主群の動物を計画安楽殺し、肉眼的病理検査を実施し、帝王切開して生殖パラメータを記録した。胎児の体重、性別、発育異常及び変異の有無を検査した。妊娠 19 日に TK 群の動物を計画安楽殺し、子宮を肉眼で観察して妊娠状態を観察した。

本試験における maralixibat の C_{max} 及び AUC_{24} 曝露量は極めて低く、いずれの検体採取日においても絶対的バイオアベイラビリティはすべての用量で 1%未満であった。試験終了時の曝露量は試験開始時よりも高かった。TK パラメータの要約を表 2.6.6.6-4 に示した。

表 2.6.6.6-4　TK の要約：ウサギの胚・胎児発生試験における TK パラメータ

Gestattion Day	Dose (mg/kg/day)	t_{max} (hr)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{24} (ng·hr/mL)
7	25	2.0	1.89	1.89
	100	NA[a]	NA [a]	NA [a]
	250	2.0	4.02	21.1
18	25	1.0	2.32	3.49
	100	1.0	6.19	51.5
	250	2.0	62.7	766

出典：4.2.3.5.2-4　Toxicokinetic Report　Table 2

AUC_{24}：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積、C_{max}：最高血漿中濃度、NA：該当せず、TK：トキシコキネティクス、t_{max}：最高血漿中濃度到達時間

[a]　すべての測定値が定量下限（1.00 ng/.mL）未満であった。

投薬に関連した死亡は認められなかった。雌 1 例（100 mg/kg/日）が誤投与により死亡した。25 mg/kg/日群において 1 例の流産が認められたが、背景データの範囲内であり、母動物に一般状態観察所見は認められなかったため、投薬に起因するものではないと考えられた。250 mg/kg/日群の雌 2 例が妊娠 25～29 日に流産した。同群では体重及び摂餌量の減少が同時に認められたことから、250 mg/kg/日群の流産は投薬に関連したものと考えられた。一般状態観察では投薬起因変化として 250 mg/kg/日群で妊娠 9～29 日までに糞便の減少、小型便及び無便が認められた。

100 mg/kg/日以上の用量で投薬に関連した母動物の所見が認められ、1）投薬期間を通して 100 mg/kg/日以上の用量で認められた体重増加量の減少、2）250 mg/kg/日群の妊娠 7～10 日に認められた母動物の体重減少、3）250 mg/kg/日群で妊娠期間中に顕著な摂餌量減少が認められた。100 mg/kg/日以上の用量で認められた平均体重増加量の減少は投与終了後に対照群と同等の値まで回復した。25 mg/kg/日群でも平均体重増加量の減少が認められたが、投与開始時（妊娠 7～9 日）のみの軽度かつ一過性の減少であり、毒性変化ではないと考えられた。

Maralixibat 投与による子宮内の胎児の成長及び生存への影響は認められなかった。

結論として、妊娠 18 日においてすべての用量で maralixibat が低濃度で検出された。100 又は 250 mg/kg/日の用量では、母動物毒性として平均体重増加量の減少、平均体重減少及び摂餌量減少が認められた。いずれの用量においても発生毒性は認められなかった。本試験における発生毒性の NOEL は 250 mg/kg/日であった。NOAEL における AUC_{24} の健康成人への 45 mg の単回投与における AUC_{∞} の 2 倍値（臨床試験で得られた PK データのうち、PFIC に

対する最高用量である 600 µg/kg BID に最も近い条件）に対する MOS は 0.3 倍（母動物の毒性）、及び 64 倍（発生毒性）であった。

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

2.6.6.6.3.1 ラットを用いたmaralixibatの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に及ぼす影響に関する用量設定試験

：**添付資料番号 4.2.3.5.3-1（参考）**

本 GLP 適用試験は、妊娠ラットにおける maralixibat の毒性を評価し、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の用量設定のために実施した。

Sprague Dawley 雌ラット（10 例／群）に、妊娠 6 日から授乳期 21 日まで maralixibat を混餌投与した。250 及び 1000 mg/kg/日の目標用量は、過去の試験から推定された体重及び妊娠及び授乳期間の摂餌量に基づいて選択した。対照群（10 例／群）には、maralixibat を添加していない同一配合の飼料（無添加飼料）を与えた。すべての動物について、一般状態観察、体重及び摂餌量を評価した。すべての雌を分娩させ、授乳期 21 日まで出生児を哺育させた。F_1 出生児は授乳期を通じて母動物の乳汁を介し、授乳期後期は maralixibat 含有飼料の摂取を介して被験物質に曝露した。生後 21 日から 1 週間、無添加飼料を与えた。生後 28 日に出生児を計画安楽殺し、剖検に供した。

生後 4 日に、250 及び 1000 mg/kg/日群の児数調整で除外されたすべての出生児及び対応する母動物から血液検体を採取した。さらに、生後 28 日に F_1 出生児の全生存例から血液検体を採取した。

妊娠期間（妊娠 6～20 日）における maralixibat の実投与量は、250 及び 1000 mg/kg/日群でそれぞれ 254 及び 1119 mg/kg/日であった。授乳期間（授乳期 1～21 日）における実投与量は、250 及び 1000 mg/kg/日群でそれぞれ 267 及び 894 mg/kg/日であった。Maralixibat の混餌投与は F_0 雌の生死に影響を及ぼさなかった。妊娠率及び妊娠期間はすべての投与群で同程度であった。難産の徴候は認められなかった。F_0 又は F_1 動物の計画剖検では、maralixibat に関連した内臓所見は認められなかった。

Maralixibat に関連した変化として、250 及び 1000 mg/kg/日群で、F_0 雌の淡色便、混餌投与の最初の 2 又は 3 日間における F_0 雌の糞便の減少、妊娠 6～10 日における F_0 雌の体重増加量及び摂餌量の減少がみられ、1000 mg/kg/日群で授乳期 1～4 日における F_0 雌の体重増加量の減少、授乳期間中における F_0 雌の摂餌量の減少、生後 0～1 日における出生後生存率の低下、出生後期間を通じて F_1 出生児の体重の低値が認められた。

250 及び 1000 mg/kg/日群で認められた一般状態観察所見の淡色便は、投薬に関連した変化と考えられたが、毒性を示す変化ではないと判断された。250 及び 1000 mg/kg/日群で妊娠 6～10 日にみられた平均体重増加量及び摂餌量の減少は、飼料中の maralixibat に対する嗜好性低下に関連すると考えられた。1000 mg/kg/日群でみられた哺育期間中の F_0 摂餌量の減少は、F_1 出生児の児数調整前の死亡率が高く、母動物に対する授乳要求量が低下したことと関連すると考えられた。

結論として、maralixibat を 1000 mg/kg/日までの用量で混餌投与したとき、F_0 雌の生死に影響は認められなかった。投薬に関連した影響として、1000 mg/kg/日で体重及び摂餌量の減少

が認められた。妊娠率及び妊娠期間はすべての投与群で同程度であった。難産の徴候は認められなかった。F_0 又は F_1 動物の計画剖検時に投薬に関連した内臓所見は認められなかった。

2.6.6.6.3.2 ラットを用いたmaralixibatの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する経口投与試験

：**添付資料番号 4.2.3.5.3-2（評価）**

本GLP適用試験では、着床から離乳までの maralixibat への母動物の曝露が、母動物の妊娠、分娩及び授乳に及ぼす影響を検討した。F_1 世代の成長、生存、発達及び生殖能力を評価し、F_2 新生児の生後 4 日までの成長及び生存も評価した。また、母動物及び F_1 出生児における maralixibat の血漿中濃度を評価した。

妊娠雌 Sprague Dawley ラット（25 例／群）に、maralixibat を 0、50、250 又は 750 mg/kg/日を目標用量として妊娠 6 日から授乳期 21 日まで混餌投与した。曝露期間は合計 36～38 日間であった。分娩できなかった雌は、交配後 Day 25 まで合計 19 日間曝露された。F_0 動物は曝露開始時に約 14 週齢であった。

すべての動物の生死、一般状態観察、体重及び摂餌量を評価した。すべての F_0 雌を分娩させ、授乳期 21 日まで出生児を哺育させた。F_1 出生児について一般状態観察、体重及び性別を記録した。同腹児間のばらつきを抑えるため、生後 4 日目に 1 腹当たり 8 例（可能な場合は雌雄各 4 例）を無作為に児数調整した。妊娠 17 日及び授乳期 4 日に TK を評価した。また、生後 4 日に各群の母動物 5 例の児数調整で除外された同腹児 2 例／性から血液検体を採取した。身体的及び機能的発達の評価のために F_1 出生児（1 腹当たり雌雄各 2 例）を無作為に選択した。これらの各同腹児から雌雄各 1 例を選択し（可能であれば各群合計 25 例／性）、生後 21 及び 61 日目の運動機能、生後 20 及び 60 日目の聴覚性驚愕反応、生後 62 日目からの学習及び記憶の評価を行った。各同腹児の残りの雌雄 1 例で生後 22 日から学習及び記憶を評価した。これらの行動評価のために選択されなかったすべての F_1 動物を生後 21 日に安楽殺して剖検した。生後 22 日目からの学習及び記憶評価のために選択された F_1 動物を離乳後の発達指標到達後に剖検した。各群の F_1 動物（同腹で雌雄最大各 1 例）について、同胞交配を避けて交配させた。すべての F_1 雌は出産し、生後 4 日まで出生児を哺育させた。F_2 出生児の一般状態観察、体重及び性別を記録した。生存している F_1 雌全例を授乳期 4 日又は交配後 25 日に剖検した。雌の最終剖検後に F_1 雄を剖検した。F_2 出生児のすべての死亡例を剖検した。残りの F_2 出生児は生後 4 日にすべて安楽殺した。

目標用量である 50、250 及び 750 mg/kg/日の各群における実際の平均用量は妊娠期間中において、それぞれ 56、309 及び 903 mg/kg/日、授乳期間中において、それぞれ 54、269 及び 762 mg/kg/日に相当する。Maralixibat 群では、ラットが飼料容器から飼料を掻き出したため大量の飼料がこぼれた。このため、主に妊娠初期及び授乳期における摂餌量データの欠落又は、見かけ上の摂餌量増加及び maralixibat の投与量過大評価に関連していた。

いずれの用量においても、F_0 母動物及び F_1 成熟雌雄に投薬に関連した死亡又は瀕死状態は認められなかった。F_0 雌では、すべての用量で maralixibat に関連した鼻周囲の赤色物質の発現頻度の増加が認められた。しかし、他に関連する毒性所見が認められなかったことから、これらの所見に毒性学的意義はないと考えられた。F_1 の雌雄では、maralixibat に関連した一般状態観察所見は認められなかった。

妊娠期間中及び授乳期間中の F_0 母動物の平均体重、体重増加量、摂餌量及び摂餌効率は、下記を除いて概して対照群と同程度であった。授乳期 1～4 日にすべての用量で平均体重増加量の増加及び関連する変化として摂餌量及び摂餌効率の増加が認められ、その結果、概して授乳期間を通してこれらの雌の平均体重が増加した。体重増加に関連した所見は認められず、明らかな用量依存性が認められなかったことから、これらの結果は投薬に関連するが毒性ではないと考えられた。

F_0 母動物の妊娠期間及び分娩過程に異常は認められなかった。いずれの用量においても、F_0 母動物に投薬に関連した剖検所見は認められなかった。

F_0 母動物へ F_1 出生児の生後 1～17 日に maralixibat を投与したとき、F_1 出生児の体重及び体重増加量に影響は認められなかった。しかし、出生児が母動物用飼料の摂取を開始し、maralixibat に直接曝露されると考えられる生後 17 日から 21 日にかけて、50、250 及び 750 mg/kg/日群の F_1 出生児の平均体重増加量の減少が用量依存的に認められた。その結果、生後 21 日における雌雄の平均体重は、対照群と比較して 250 及び 750 mg/kg/日群でわずかに低かった（5.0%～6.5%）。これらの結果は、平均体重への影響の程度が小さく一過性であり、対応する臨床所見や生存期間への影響が認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。離乳後の F_1 出生児の体重及び体重増加量は、残りの試験期間を通して対照群と同程度であった。

50、250 及び 750 mg/kg/日群の F_1 及び F_2 出生児の出生後の生存率並びに F_2 出生児の体重及び体重増加量は、F_0 母動物への maralixibat 投与による影響を受けなかった。

いずれの用量においても、F_2 及び F_1 出生児数（同腹児数）、出生時の雌雄の割合及び F_1 又は F_2 出生児の全身健康状態に maralixibat に関連した影響は認められなかった。

F_1 出生児における雌の膣開口及び雄の亀頭包皮分離の平均日齢は、いずれの用量においても F_0 母動物への maralixibat 投与の影響を受けなかった。F_1 出生児では、いずれの用量でも、驚愕反応、自発運動、学習及び記憶（ビール迷路試験）に対する maralixibat に関連した影響は認められなかった。

F_1 世代の生殖パラメータ（雌雄の交尾及び受胎能、雄の交尾、並びに雌の受胎率）、発情周期、交配所要日数、妊娠期間及び分娩過程には、F_0 母動物の maralixibat 投与の影響は認められなかった。

いずれの用量においても、F_1 出生児、F_1 成熟雌雄及び F_2 出生児に maralixibat に関連した剖検所見は認められなかった。

妊娠中及び授乳中の母動物における maralixibat の曝露量は、飼料中濃度の増加に伴って増加した。すべての投薬群の生後 4 日の出生児の血漿中にも maralixibat が認められた。

結論として、一般状態観察所見（鼻周囲の赤色物質）並びに平均体重増加量、摂餌量及び摂餌効率の増加が、すべての用量で授乳期 1～4 日の F_0 雌に認められ、いずれも毒性学的意義は低いと考えられた。また、F_1 出生児では、母動物用飼料の摂取を開始し maralixibat に直接曝露されると考えられる生後 17～21 日に、すべての用量で投薬に関連した平均体重増加量の減少が認められた。しかし、これらの変化は軽度かつ一過性であったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。いずれの用量でも毒性所見が認められなかったことから、妊娠及び授乳期間中に F_0 世代の雌 Sprague Dawley ラットに maralixibat を混餌投与したときの F_0 母動物の全身毒性、F_1 新生児の発生毒性、F_1 動物の全身毒性、F_1 動物の生殖毒性及び F_2 動物の

新生児毒性に対する NOAEL は、評価した最高用量の 750 mg/kg/日と考えられた。妊娠中及び授乳中の母動物における maralixibat の曝露量は飼料中濃度の増加に伴って増加し、生後 4 日の出生児の血漿中にも認められた。NOAEL における AUC_{24}〔13 週間混餌投与毒性試験（添付資料番号 4.2.3.2-20）で得られた AUC_{24} を外挿〕の健康成人への 45 mg の単回投与における AUC_{∞}の 2 倍値（臨床試験で得られた PK データのうち、PFIC に対する最高用量である 600 µg/kg BID に最も近い条件）に対する MOS は 10 倍であった。

2.6.6.6.4 幼若ラットを用いた毒性試験

2.6.6.6.4.1 幼若ラットを用いた maralixibat の反復強制経口投与用量設定試験

：添付資料番号 4.2.3.5.4-1（参考）

本 GLP 非適用試験では、雌雄幼若 Sprague Dawley ラットに maralixibat を生後 7～21 日まで投与したときの新生児の成長及び発達に対する maralixibat の毒性を評価した。

生後 7～21 日の雌雄幼若ラット（6 例／性／群）に maralixibat を雄には 0、50、100 又は 200 mg/kg/日の用量で、雌には 0、250、500 又は 1000 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回強制経口投与した。主群とは別に TK 群として雌雄幼若ラット（36 例／群、溶媒群は 6 例／群）に主群と同一用量で 1 日 1 回強制経口投与した。

本試験では、一般状態観察、体重、体重増加量、臨床病理検査、TK パラメータ、剖検所見、器官重量及び病理組織学的検査を評価した。

生後 7～17 日に、TK 群の 100 mg/kg/日群の雄 2 例、200 mg/kg/日群の雄 1 例、500 mg/kg/日群の雌 3 例及び 1000 mg/kg/日群の雌 4 例を死亡又は瀕死状態のため安楽殺した。主群では、1000 mg/kg/日群の雌 1 例を生後 17 日に瀕死状態のため安楽殺した。

本試験で認められた死亡及び瀕死状態を表 2.6.6.6-5 に要約する。

表 2.6.6.6-5 死亡率及び瀕死率の要約－幼若ラットを用いた用量設定毒性試験

Animal	Dosage Level (mg/kg/day)	Sex	Day of Death/ Euthanasia (PND)	Remarkable Body Weight Changes	Remarkable Clinical Observations	Macroscopic Findings (Cause of Death)
Toxicokinetic Phase						
3081-04	100	M	12 FD (18 minutes postdosing)	NA	Gasping (4 minutes postdosing)	Red discoloration of lungs and lungs not fully collapsed (possibly related to dosing)
3081-06	100	M	13 FD (49 minutes postdosing)	NA	NA	Lungs not fully collapsed (possibly related to dosing)
3078-04	200	M	17 FD	NA	Cool body and yellow material on urogenital area (1 hour postdosing)	NA (unknown)
3060-13	500	F	13 EE	-27.2%	Thin and cool body	NA (possibly test article-related)
3060-14	500	F	12 FD (47 minutes postdosing)	NA	NA	Lungs firm and not fully collapsed (possibly related to dosing)
3071-09	500	F	7 FD (1 hour 44 minutes postdosing)	NA (animal replaced)	NA	NA (unknown)
3052-09	1000	F	10 FD (5 hours 51 minutes postdosing)	NA	NA	NA (unknown)
3074-14	1000	F	12 FD (27 minutes postdosing)	NA	NA	Lungs not fully collapsed (possibly related to dosing)
3078-10	1000	F	14 EE	-22.8%	Thin body, shallow respiration and cool body	Small thymus (possibly test article-related)
3078-11	1000	F	14 EE	-17.7%	Thin body, shallow respiration, cool body and decreased respiration rate	NA (possibly test article-related)
Main Study Phase						
3047-10	1000	F	17 EE	-30.2%	Thin body and swollen abdominal area	Distended and gas-filled cecum, colon, duodenum, ileum and jejunum and dark red areas in the stomach (possibly test article-related)

出典：4.2.3.5.4-1 Text Table 3
FD：死亡後に発見、EE：瀕死状態における安楽殺、NA：該当せず

死亡した TK 群の動物のうち、100 mg/kg/日群の雄 2 例、500 mg/kg/日群の雌 1 例及び 1000 mg/kg/日群の雌 1 例は投与後まもなく死亡し（18～49 分）、剖検時に肺の暗赤色化及び／又は部分的な虚脱が認められた。したがって、死因は投与手技に起因する可能性がある。500 mg/kg/日群の雌 1 例は初回投与後 2 時間以内に死亡したが、顕著な一般状態観察所見及び剖検所見が認められなかったこと、高用量群では 1 回投与後に死亡例が認められなかったことから、死因は投与手技に関連する可能性がある。

投与 9 日後に死亡が確認された 200 mg/kg/日群の雄 1 例では、死亡前の投与後を除き、一般状態観察及び体重への影響は認められなかった。200 mg/kg/日群の他の雄では、試験期間全体を通して一般状態観察及び体重の変化は認められなかったことから、死因は投与手技に関連した可能性が考えられた。500～1000 mg/kg/日群で死亡又は瀕死安楽殺した残りの 4 例の雌のうち、1 例では死亡前に顕著な一般状態観察所見又は体重変化は認められず。死因は不明である。他の 3 例では瀕死安楽殺前に一般状態観察所見及び重度の体重減少が認められた。これらの死亡は maralixibat に関連している可能性が高い。他の TK 試験の動物はすべて計画安楽殺時点まで生存した。

主群では、1000 mg/kg/日群の雌 1 例で体重減少（30.2%）が 5 日間認められ、生後 17 日に安楽殺した。この雌では、削痩（生後 16 日）及び腹部膨満（生後 17 日）が認められ、剖検では盲腸、結腸、十二指腸、回腸及び空腸の拡張及びガス充満並びに胃の暗赤色領域が認められた。気道、消化管、リンパ系器官及び膀胱に病理組織学的所見が認められた。この雌の消化管に認められた病理組織学的所見の程度及び肺に所見が認められなかったこと、並びに 1000 mg/kg/日群の TK 評価期間中に雌 4 例が死亡したことを考慮すると、このラットの衰弱及びその後の安楽殺は maralixibat 投与に関連すると考えられた。その他の動物はすべて計画剖検時まで生存した。

500 及び 1000 mg/kg/日群の雌では、一般状態観察で泌肛門性器周辺の黄色物質及び低体長の発現頻度が増加した。雄では一般状態観察で、いずれの用量においても投薬に起因する一般状態観察所見は認められなかった。また、雌雄ともに投与 1～2 時間後に顕著な一般状態観察所見は認められなかった

雄の平均体重及び体重増加量には maralixibat 投与の影響はみられなかったが、500 及び 1000 mg/kg/日群の雌では、投与期間を通して対照群と比較して平均体重／体重増加量の減少が認められた（生後 7～22 日、それぞれ最大 18.8%及び 28.0%）。

血液学的検査及び血液凝固系検査では、maralixibat に関連した明らかな変化は認められなかった。Maralixibat に関連した血液生化学的検査値の変化は雌のみで認められ、1000 mg/kg/日群では平均 ALP 値及びトリグリセリド値の軽微な増加、250、500 及び 1000 mg/kg/日群ではアルブミン／グロブリン比の増加を伴う平均グロブリン値の軽微から軽度の減少が認められた。

いずれの用量でも、計画剖検時まで生存した雌雄において maralixibat に関連した剖検所見、器官重量の変化又は病理組織学的所見は認められなかった。

以上から、500 及び 1000 mg/kg/日群の雌で maralixibat 投与に関連すると考えられる死亡及び瀕死が認められた。500 及び 1000 mg/kg/日群の雌で一般状態観察所見（低体長及び肛門性器周辺の黄色物質）及び体重／体重増加量の減少が認められた。Maralixibat に関連した血液生化学的検査値の変化として、平均 ALP 値及びトリグリセリド値の増加が 1000 mg/kg/日群の雌に、アルブミン／グロブリン比の増加を伴う平均グロブリン値の減少が 250、500 及び 1000 mg/kg/日群の雌に認められた。

2.6.6.6.4.2 幼若ラットを用いた maralixibat の反復強制経口投与（トキシコキネティクスを含む）及び回復試験

：添付資料番号 4.2.3.5.4-2（評価）

本 GLP 適用試験の目的は、幼若 Sprague Dawley ラットに maralixibat を生後 7～21 日に投与し、その後 28 日間休薬（回復期間）したときの全身への影響及び TK プロファイルを評価することであった。

生後 7～21 日の雌雄幼若ラット（20 例／性／群）に maralixibat を 0、50、100 又は 250 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回最長 14 日間強制経口投与した。主群とは別に TK 群として雌雄幼若ラット（54 例／群、溶媒群は 15 例／群）に主群と同一の用量で 1 日 1 回強制経口投与した。本試験では、死亡、一般状態観察、体重、摂餌量、性成熟、臨床病理パラメータ（血液学的検査、血液生化学的検査及び血液凝固系検査）、骨長及び骨密度測定、TK パラメータ、剖検所見、器官重量及び病理組織学的検査を評価した。評価したいずれの用量においても、動物の生死、一般状態観察所見、体重、摂餌量、性成熟、臨床病理検査及び病理組織学的検査に対する maralixibat の影響は認められなかった。

主群では 250 mg/kg/日群の雄 3 例の死亡又は瀕死安楽殺が認められ、病理組織学的検査で敗血症と判断された。主群の 100 mg/kg/日群の雌 1 例は瀕死状態のため安楽殺したが、剖検及び病理組織学的検査で瀕死状態の原因は明らかではなかった。主群の 250 mg/kg/日群の雌 1 例が投与過誤により死亡した。TK 群の雄では 50 mg/kg/日の 1 例及び 100 mg/kg/日の 2 例が死亡した。TK 群の雌では、50 mg/kg/日の 4 例、100 mg/kg/日の雌 2 例及び 250 mg/kg/日の雌 1 例が投与後に死亡した。これらの主群及び TK 群の動物の死因は不明であった。しかし、剖検時の所見は軽微であり、用量反応性が認められなかったことから、これらの死亡と maralixibat 投与との明らかな関連性は認められなかった。

100 mg/kg/日群以上の雄及び 250 mg/kg/日群の雌で大腿骨遠位骨幹端の骨量及び骨密度の増加が認められた。これらの変化は、その程度が限定的であること、骨成長の抑制はみられなかったこと、並びに大腿骨骨幹及び骨長への影響がみられなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。50 mg/kg/日群の雄、50 及び 100 mg/kg/日群の雌では、大腿骨長及び大腿骨 peripheral quantitative computed tomography（pQCT）パラメータ（遠位骨幹端及び骨幹端）に maralixibat に関連した変化は認められなかった。28 日間の休薬（回復期間）後、50 mg/kg/日群以上の雌雄いずれにおいても、maralixibat に関連した大腿骨長及び大腿骨 pQCT パラメータ（遠位骨幹端及び骨幹端）の変化は認められなかった。

250 mg/kg/日では、雌雄ともに脾臓重量が有意に増加した。同変化に関連する病理組織学的所見は認められず、この所見の毒性学的意義は不明である。

Marallixibat の血漿中濃度に性差は認められなかった。C_{max} 及び AUC_{24} は用量にかかわらず、ほぼ同程度であり、投与日数の経過にしたがって減少した。C_{max} 及び AUC_{24} ともに、生後 7 日が最も高値であり、生後 14 及び 21 日に顕著に減少した。生後 7 日における絶対的バイオアベイラビリティは約 17%であり、生後 21 日では 1%未満に低下した。

Maralixibat の他の非臨床試験とは対照的に、本試験では比較的大きな全身曝露が認められ、検討した最高用量（250 mg/kg/日）での投与初日（生後 7 日）の平均 AUC は 13900 ng·hr/mL であった。血漿中 AUC は用量増加に伴う有意な増加を示さず、最低用量（50 mg/kg/日）での吸収の飽和が示された。したがって、絶対的バイオアベイラビリティも最低用量の投与初

日が最も高かった（約 17%）。絶対的バイオアベイラビリティは試験期間中に有意に低下し、生後 7 日の約 17%から生後 14 日には約 6%に低下し、生後 21 日の最終投与後にはすべての用量で 1%未満に低下した。したがって、maralixibat の吸収は最も若い出生児で最も高かったが、生後 21 日における絶対的バイオアベイラビリティは、成熟動物で認められた絶対的バイオアベイラビリティと同程度であった。これは、新生児期の幼若ラットにおいて消化管の透過性が高く、その後消化管が急速に成熟したためと考えられた。幼若ラットでは血漿中濃度が高かったにもかかわらず、maralixibat の忍容性は良好であり、明らかな毒性徴候は認められず、動物の生死、一般状態観察所見、体重、摂餌量、性成熟、臨床病理検査又は病理組織学的検査に影響は認められなかった。本試験では、最も若齢のラット出生児で検討した最高用量 250 mg/kg/日はヒト出生児では約 60000 µg/kg/日に相当し、ALGS に対する予定臨床用量（400 µg/kg/日）の約 150 倍及び PFIC に対する予定臨床用量（1200 µg/kg/日）の約 50 倍広い MOS が確認された。以上のことから、ヒトの乳幼児における毒性のリスクは極めて低いと予測される。

生後 7 日のラットにおける絶対的バイオアベイラビリティ増加の臨床的意義は低いと考えられた。生後 7 日におけるラット出生児は、動物全体の発達の観点からは一般にヒト早産児に相当する。特に消化管に関しては、新生児ラットは非常に未熟でほとんど分化していない組織からなり、高分子に対する粘膜のバリア機能は非常に小さい[2]。一方、出生後におけるヒトの新生児の消化管は非常に成熟しており、経口摂取に反応して生後数日以内に高分子は透過できなくなる[3]。試験期間中にラットの絶対的バイオアベイラビリティが劇的に変化したことは、生後 7 日ではラットの消化管は未熟であるが、わずか数週間で組織が大きく変化することで maralixibat 分子が通過しにくくなっていることを示している。ヒトでは出生時の消化管が相対的に成熟していることを考慮すると、出生後のヒト新生児における maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティは低いと考えられ、生後 7 日のラット出生児における比較的高いバイオアベイラビリティはヒトの出生児における絶対的バイオアベイラビリティを予測するものではないと考えられる。

本試験の溶媒対照群 6 例及び投与前の動物 2 例で、LLOQ を超える maralixibat が検出された。この所見を受けて広範な調査を実施したが、明らかな原因は特定されなかった。溶媒対照群の投与溶液中に maralixibat は認められなかったことから、採血後に溶媒対照群の血液検体にコンタミネーションが生じた可能性が考えられる。Maralixibat は吸収される量が少ないため、血漿中の薬物を検出するために高感度の液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）法を開発した。本剤の毒性試験に使用した投与溶液濃度は非常に高く〔LLOQ の 100 万倍〕、例えば大気エアロゾルのような非常に小さなレベルの汚染でもナノモル以下の分析感度を有する LC-MS/MS 法を用いると LLOQ 以上の結果になる可能性がある。しかしながら、本試験では毒性所見が認められなかったため、一部の血液検体へのコンタミネーションは本試験の解釈に影響しない。

要約すると、生後 7～21 日の幼若ラットに maralixibat を経口投与したときの忍容性は 250 mg/kg/日までの用量で良好であった。同用量における AUC_{24} の健康成人への 45 mg の単回投与における AUC_{∞} の 2 倍値（臨床試験で得られた PK データのうち、PFIC に対する最高用量である 600 µg/kg BID に最も近い条件）に対する MOS は雄で 40 倍、雌で 39 倍であった。

2.6.6.6.4.3 幼若ラットを用いた maralixibat の反復強制経口投与用量設定（予備的トキシコキネティクスを含む）及び 43 日間回復試験

：添付資料番号 4.2.3.5.4-3（評価）

本 GLP 適用試験の第 1 相試験では、生後 21～28 日の幼若 Sprague Dawley ラットに maralixibat を 8 日間反復強制経口投与したときの忍容性を評価し、さらに単回及び反復投与後の TK を検討した。

本試験の第 2 相試験では、生後 21～63 日の幼若ラットに maralixibat を 43 日間反復強制経口投与したときの成長及び発達に及ぼす影響を評価した。さらに、回復性を評価し、TK 特性を測定した。

第 1A 相試験では、雌雄幼若ラット（18 例／性／群）に maralixibat を雄には 0、25、50、100 又は 200 mg/kg、雌には 0、125、250、500 又は 1000 mg/kg の用量で、生後 21 日に単回強制経口投与し TK 評価を実施した。

第 1B 相試験では、雌雄幼若ラット（5 例／性／群）に maralixibat を生後 21～28 日に強制経口投与した。生後 28 日の投与後 3 時間（推定 t_{max}）に雌雄各 3 例から TK 評価用の血液を採取した。TK 評価用の血液を採取後、すべての動物を安楽殺し、消化管の肉眼的検査を実施した。残りの動物（1 群雌雄各 2 例）はすべて安楽殺し、消化管の肉眼的検査を実施した。

本試験の第 1A 相及び第 1B 相試験では、動物の生死、一般状態観察、体重、摂餌量及び消化管の剖検（第 1B 相のみ）を評価した。

第 2 相試験では、雌雄幼若ラット（18 例／性／群）に maralixibat を、雄では 0、50、100 及び 200 mg/kg/日、雌では 0、250、500 及び 1000 mg/kg/日の用量で、生後 21～63 日に投与した。投与期間終了時に、各群 12 例を安楽殺して剖検した。残りの動物は 35 日間の回復期間後に安楽殺して剖検した。生後 56 日及び回復期間終了時（生後 99 日）に、TK 評価用の血液を採取した。動物の生死、一般状態観察、眼科学的検査、体重、摂餌量、臨床病理検査〔投与終了時（生後 64 日）及び回復期間終了時（生後 99 日）〕、運動量、機能観察総合評価法（FOB）、性成熟、器官重量、剖検及び病理組織学的検査を評価した。

Maralixibat の血漿中濃度の個体間変動が比較的大きく、TK の明確な評価が困難であった。しかし、これらのデータから、強制経口投与毒性試験では、生後 21 日に単回投与又は生後 28 日に 8 日間連続投与した雄では 25～200 mg/kg、雌では 125～1000 mg/kg、生後 56 日に 36 日間連続投与した雄では 50～200 mg/kg/日、雌では 250～1000 mg/kg/日の用量範囲において、C_{max} 及び AUC は用量比を上回る増加を示すと考えられた。

一般状態観察、体重、摂餌量、自発運動量、FOB、眼科学的パラメータ、性成熟、血液学的検査、血液生化学的検査、血液凝固系検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査に、maralixibat に関連した影響は認められなかった。

回復期間中又は回復期間終了時においても maralixibat 投薬群に投薬起因の変化は認められなかった。

結論として、本試験条件下では最高用量まで毒性所見は認められず、NOAEL は雄で 200 mg/kg/日、雌で 1000 mg/kg/日であった。NOAEL における AUC_{24} の健康成人への 45 mg の単回投与における AUC_{∞} の 2 倍値（臨床試験で得られた PK データのうち、PFIC に対する最高用量である 600 µg/kg BID に最も近い条件）に対する MOS は雄で 11 倍、雌で 215 倍であった。

2.6.6.7 その他の毒性試験

2.6.6.7.1 局所刺激性試験

2.6.6.7.1.1 モルモットを用いた maralixibat の皮膚感作性試験（最大化試験）

：添付資料番号 4.2.3.6-1（評価）

本 GLP 適用試験では、モルモットに maralixibat を皮内投与及び局所投与したときの皮膚感作性を評価した。

刺激性スクリーニング試験では、雄 Hartley モルモット（4 例／群）に 0.5、1.0、2.0 又は 5.0% w/v の maralixibat（媒体：滅菌水）0.1 mL を皮内投与した（4 部位／動物）。投与後 24 及び 48 時間に皮膚反応を評価した。別の刺激性スクリーニング群（4 例）に 0.1 mL の Freund's Complete Adjuvant（FCA）と滅菌水の 1：1 希釈液を両肩に 2 か所皮内投与した。皮内投与後 7 日に、maralixibat を 10、20、30 及び 40% w/w の濃度で含有するワセリンを、各動物（4 部位／動物）の皮膚に塗刷し。試験部位をパッチで 24 時間閉塞し、パッチ除去後 24 及び 48 時間に皮膚刺激性を評価した。

刺激性スクリーニング試験の後、皮膚感作性を Magnusson and Kligman の方法を用いて評価した。刺激性スクリーニング試験の結果に基づき、0.5% w/v の maralixibat（媒体：蒸留水又は FCA を含む蒸留水）を皮内注射（感作）し、その後の経皮投与による感作及び惹起のために maralixibat／ワセリン 40% w/w 混合物（以下、maralixibat／ワセリン混合物）を投与した。

雄モルモットを maralixibat 試験群（20 例／群）及び対照群（10 例/群）に割り付けた。Day 1 に、被験群及び対照群の動物の両肩に 0.1 mL を感作処置のため皮内投与した（表 2.6.6.7-1.）。

表 2.6.6.7-1　注射の概要：皮膚感作性試験

	Test Group	Control Group
Anterior Sites	1:1 dilution of FCA in sterile water	
Medial Sites	0.5% w/v suspension of test material in sterile water	Vehicle (sterile water)
Posterior Sites	0.5% w/v suspension of test material in FCA in sterile water	1:1 dilution of sterile water in FCA

出典：4.2.3.6-1
FCA：Freund's Complete Adjuvant

Day 7 に被験群及び対照群の動物の毛を剃り、投与予定部位に 10% w/w ラウリル硫酸ナトリウムワセリン懸濁液を感作処置のため局所塗布した。Day 8 に、試験群では、maralixibat／ワセリン混合物を、対照群にはワセリンを塗布し、塗布部位を 48 時間閉塞した。

局所塗布の 2 週間後に、惹起のための経皮投与を行った。Maralixibat／ワセリン混合物を被験群及び対照群の各動物の右側に、対照物質（ワセリン）を左側に塗布した。被験部位及び対照部位を 24 時間閉塞後、清拭した。パッチ除去から 24 時間後及び 48 時間後に惹起部位の皮膚反応を評価した。皮膚感作性の判定は、惹起後に反応を示した動物数に基づき評価した。一般状態観察は、試験期間を通して毎日行った。

試験期間中、被験群及び対照群のいずれにおいても一般状態観察所見は認められなかった。

被験群及び対照群のいずれにおいても、maralixibat 及び対照物質の惹起に対して皮膚反応は認められなかった。

以上から、Magnusson and Kligman のマキシマイゼーション法により、maralixibat は、モルモットにおいて感作性を示さないと考えられた。

2.6.6.7.1.2 ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

：**添付資料番号 4.2.3.6-2（評価）**

本 GLP 適用試験では、雄 New Zealand White ウサギ（6 例／群）を用いて、半密閉下で maralixibat を 4 時間曝露し、一次皮膚刺激性を評価した。

Maralixibat 0.5 g を約 0.4 mL の蒸留水と混合し、各ウサギの剃毛した無傷の部位に 1 回塗布し（おおよその曝露面積 6.25cm^2）、パッチを用いて半密閉下で覆った。塗布後 4 時間にパッチを除去、皮膚を洗浄し、30～60 分後に Draize スコアによる皮膚刺激性の初期観察を行った。さらに、塗布後 24、48 及び 72 時間に観察し、同一個体の無処置部分の皮膚と比較した。

Maralixibat はごく軽度の皮膚刺激性を示した。皮膚一次刺激性指数は 0.08（軽度刺激性と考えられる）であった。

結論として、本試験条件下において、maralixibat はウサギの皮膚組織に軽度の刺激性を示すと考えられる。

2.6.6.7.1.3 ウサギを用いた眼一次刺激性試験

：**添付資料番号 4.2.3.6-3（評価）**

本 GLP 適用試験では、雌の New Zealand White ウサギ（処置眼を洗浄しない 3 例、処置眼を点眼後 30 秒で洗浄した 3 例）の眼に maralixibat を点眼したときの一次眼刺激性を評価した。

Maralixibat（原末）約 19 mg（0.1 mL 重量換算）を右眼の下眼瞼に適用した。各ウサギの左眼を非投与対照とした。第 1 群では、ウサギの眼を試験物質の点眼直後に洗浄しなかった。第 2 群では、ウサギの眼を試験物質滴下の約 30 秒後から約 1 分間水で洗い流した。

投与後 1、24、48、72 及び 96 時間、並びに投与後 7 及び 14 日に観察を行った。照明源としてペンライトを用いて刺激性を Draize 法にて評価した。角膜損傷の可能性を明らかにするため、maralixibat の投与前日、投与後 24、48、72 及び 96 時間の観察時点又は陰性反応が得られるまで、フルオレセインナトリウム検査を実施した。

Maralixibat を投与後洗浄しなかった眼に角膜混濁（3 例中 2 例）、虹彩刺激及び重度の結膜刺激（3/3 例）が認められた。これらは Day 14 までにすべて正常な外観に回復し、同時点で刺激性は認められなかった。強い眼球刺激性（角膜混濁又は虹彩刺激のスコア 1.0 以上、又は結膜発赤又は結膜浮腫のスコア 2.0 以上と定義）は、投与後洗浄しなかった全例で認められ、Day 7 の観察までにすべての動物で消失した。

Maralixibat 点眼後に洗浄した眼では、虹彩刺激（2/3 例）及び中等度の結膜刺激（3/3 例）が認められた。これらはすべて Day 14 までに正常な外観に戻った。投与後に眼洗浄を実施した 3 例全例でも強い眼球刺激性が認められたが、投与後 48 時間の観察までに全例で消失した。

点眼後に洗浄した眼で認められた虹彩及び結膜刺激の程度は、洗浄しなかった眼で認められたものよりも弱かった。

結論として、Kay 及び Calandra の分類に基づくと、maralixibat は点眼後に洗浄しなかったウサギの眼では中等度の刺激性を示し、点眼後に洗浄したウサギの眼では軽度の刺激性を示すと考えられる。

2.6.6.7.2 その他の毒性試験

2.6.6.7.2.1 雌ラットの 7 日間反復経口投与及び 3 及び 7 日間回復試験

：**添付資料番号 4.2.3.7.7-1（参考）**

本 GLP 非適用試験では、Sprague Dawley 雌ラットに maralixibat を 7 日間反復強制経口投与し、結腸及び直腸の杯細胞粘液減少の程度を絶食動物と非絶食動物で比較した。動物を 6 投与群（10 例／群）に割り付け、maralixibat を 0（1 及び 2 群）又は 150 mg/kg/日（3、4、5 及び 6 群）の用量で 1 日 1 回 7 日間反復強制経口投与した。

約 8 週齢のラットに 7 日間の投与終了後、第 5 群及び第 6 群の動物にはそれぞれ 3 及び 7 日間の回復期間を設けた。

一般状態観察及び体重測定を記録した。糞便中胆汁酸（fBA）濃度を試験前、投与及び回復期間中に測定した。動物を Day 8（第 1、2、3 及び 4 群）、回復期間 Day 4（第 5 群）及び回復期間 Day 8（第 6 群）に安楽殺した。第 2、4、5 及び 6 群の動物は安楽殺の 22 時間以上前に絶食したが、第 1 及び 3 群の動物は絶食しなかった。器官重量測定として盲腸重量を記録した。全動物の直腸及び結腸の 3 部位（前部、中部及び後部）について病理組織学的検査を実施した。

動物の生死、体重及び体重変化量に maralixibat に関連した影響は認められなかった。本化合物のげっ歯類の過去の試験でみられたように、maralixibat を投与した雌でケージペーパーにピンク色の変色が認められた。この所見に毒性学的意義はないと考えられた。

Maralixibat の投与により fBA 濃度が増加した（3.4 倍）。回復期間中も fBA 濃度は投与前値より高かったが、経時的に低下した（3 及び 7 日間の回復期間に 2.5 及び 1.9 倍）。Maralixibat を投与したラットで、絶食下及び非絶食下にかかわらず、盲腸の絶対及び相対重量に軽度かつ可逆的な増加が認められた。盲腸重量の増加は、fBA 濃度がベースライン値に戻る前に回復したことから、盲腸重量の増加は盲腸内の胆汁酸濃度の増加ではなく、難吸収性の maralixibat が盲腸内に滞留することと関連する可能性が考えられた。

剖検前に絶食した動物では、病理組織学的変化として、結腸及び直腸の杯細胞の粘液減少及び結腸及び直腸の粘膜固有層の浮腫が認められた。同様の変化は、剖検前に絶食しなかった動物では認められなかった。したがって、結腸及び直腸の杯細胞の粘液減少及び結腸及び直腸の粘膜固有層の浮腫は絶食に関連しており、これらの動物の結腸及び直腸内腔における非結合型胆汁酸濃度の増加に関連している可能性がある。一方、非絶食動物ではこれらの結腸の変化は認められなかったが、これは胆汁酸に結合し、増加した胆汁酸濃度を不活化する作用を有する結腸及び直腸の有機物質（糞粒）に関連している可能性がある。回復期間におけるこれらの組織学的変化の発現頻度及び程度の低下は、fBA 濃度の進行性の低下と関連していた。

結論として、結腸及び直腸における杯細胞の粘液減少及び浮腫は絶食時に特異的に認められる急性の投薬起因変化であり、結腸及び直腸の管腔における非結合型 fBA 濃度の増加と関連している可能性が考えられた。これらの変化は毒性とは考えられない。

2.6.6.7.2.2 雌ラットの杯細胞変化の発現までの期間に関する 2 週間強制経口投与試験

：添付資料番号 4.2.3.7.7-2（参考）

本 GLP 非適用試験は、maralixibat を 150 mg/kg/日の用量で投与したときの結腸の変化（多巣性の杯細胞の粘液減少及び粘膜固有層の浮腫）の発現時期を特定するために実施した。

約 5～6 週齢で体重 100～150 g の雌 Sprague Dawley ラット（10 例／群）に、Day 1 から投与を開始し、Day 2、5、8 及び 15 に剖検を実施した。一般状態観察を毎日実施した。体重は投与期間中に週 1 回測定した。絶食後に実施した各剖検時に、病理組織学的評価のため全動物から結腸を採取した。試験動物ごとに結腸全長を等間隔に標本作製し、検査した。各結腸の全長を緩衝 10%ホルマリンで固定後に測定して 7 分割し、結腸の近位端から結腸全長の 1/7 の間隔ごとに横断切片を採取して、一動物あたり 6 枚の横断結腸切片を作成した。

体重に投薬起因の変化は認められなかった。また、一般状態観察では Day 3 以降にケージペーパーにピンク色への変色が認められた。

Day 2 に剖検した動物の結腸に病理組織学的変化は認められなかった。Day 5、8 又は 15 に剖検したラットでは、maralixibat に関連した結腸の変化として、多巣性の結腸杯細胞の粘液減少が認められた（Day 5 に 6/10 例、Day 8 及び 15 に 8/10 例）。結腸粘膜の粘膜固有層に浮腫も認められ（Day 5 に 5/10 例、Day 8 に 7/10 例、Day 15 に 9/10 例）、一般に結腸杯細胞の粘液減少を伴っていた。これらの変化は結腸の遠位部でより広範に観察された。浮腫と粘液減少の程度には関連性が認められた。Maralixibat の 5 日間投与後に、結腸杯細胞の粘液減少及び結腸粘膜固有層の浮腫の両方が検出された。Day 5～8 にかけて発現率がわずかに上昇したが、その後は発生頻度に有意な変化は認められなかった。

結論として、maralixibat を 150 mg/kg/日の用量で反復経口投与したところ、4 日間の投与以降で結腸杯細胞の粘液枯渇及び粘膜固有層の浮腫の両方が、主に大部分のラットの結腸遠位部で認められた。これらの変化は、投薬に関連した結腸胆汁酸の増加による二次的変化と考えられ、イヌ及びマウスのいずれでも認められなかったラット特有の変化であった。

2.6.6.7.3 潜在的不純物の遺伝毒性

医薬品規制調和国際会議（ICH）M7 ガイドラインにしたがった潜在的な遺伝毒性不純物の管理戦略を確立するために遺伝毒性試験を実施した。警告構造、変異原性試験評価対象不純物、管理方法及び規格の特定に関する詳細は、3.2.S.3.2（不純物）及び 3.2.S.4.5（規格の妥当性）に示す。

2.6.6.7.3.1 細菌を用いた不純物 [redacted] の復帰突然変異試験

：添付資料番号 4.2.3.7.6-1（評価）

本 GLP 適用試験では、潜在的不純物 [redacted]（[redacted]）の復帰突然変異誘発能を、サルモネラ菌株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌 WP2 uvrA 株を用いて代謝活性化系（S9）の存在下及び非存在下で評価した。媒体には DMSO を用いた。

予備試験を 6.67、10.0、33.3、66.7、100、333、667、1000、3333 及び 5000 µg/プレートの濃度で行った結果、生育阻害は認められなかった。333 又は 667 µg/プレート以上で沈殿が認められた。これらの結果に基づき、5000 µg/プレートを変異原性試験の最高濃度に設定した。

変異原性試験は、15.0、50.0、150、500、1500 及び 5000 μg/プレートで検討した。生育阻害は認められなかった。S9 存在下及び非存在下のいずれにおいても、500 μg/プレート以上で沈殿が認められた。S9 の有無にかかわらず、いずれの試験菌株においても変異原性の陽性反応は認められなかった。

以上の結果から、[redacted] は、評価したサルモネラ菌及び大腸菌株において復帰突然変異誘発能が陰性であることが示された。

2.6.6.7.3.2 細菌を用いた不純物 [redacted] の復帰突然変異試験

：**添付資料番号 4.2.3.7.6-2（評価）**

本 GLP 適用試験では、[redacted]（[redacted]、別名 [redacted]）の復帰突然変異誘発能をサルモネラ菌株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌 WP2 uvrA 株を用いて代謝活性化系（S9）の存在下及び非存在下で評価した。媒体には DMSO を用いた。

予備試験を、6.67、10.0、33.3、66.7、100、333、667、1000、3333 及び 5000 μg/プレートの濃度で行った結果、5000 μg/プレートで沈殿が認められた。生育阻害が 667、1000 又は 3333 μg/プレート以上で認められた。対照群と比較して平均復帰突然変異体の用量依存的な増加が認められ、その範囲は 1.7～7.3 倍であり、S9 活性化の有無にかかわらず TA98、TA100 及び WP2 uvrA で顕著な増加が認められた。これらの結果に基づき、試験菌株 TA98（S9 存在下及び非存在下）及び TA1537（S9 存在下）では 5000 μg/プレート、試験菌株 TA100、TA1535、WP2 uvrA（S9 存在下及び非存在下）及び TA1537（S9 非存在下）では 3333 μg/プレートを変異原性試験の最高濃度に設定した。

変異原性試験では、TA98（S9 存在下及び非存在下）及び TA1537（S9 存在下）で 33.3、100、333、1000、3333 及び 5000 μg/プレート、試験菌株 TA100、TA1535 及び WP2 uvrA（S9 活性化の存在下及び非存在下）並びに TA1537（S9 活性化の非存在下）で 10.0、33.3、100、333、1000 及び 3333 μg/プレートで評価した。5000 μg/プレートで沈殿が認められた。生育阻害は 1000 又は 3333 μg/プレートで認められた。試験菌株 TA98、TA100 及び WP2 uvrA では、S9 存在下及び非存在下のいずれにおいても変異原性の陽性反応（3.0～8.4 倍の範囲、最大増加）が認められた。

これらの結果から、[redacted] が、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、サルモネラ菌株及び大腸菌株を用いた復帰突然変異試験で陽性と判断され、変異原性を持つことが示された。

2.6.6.7.3.3 細菌を用いた不純物 [redacted] の復帰突然変異試験

：**添付資料番号 4.2.3.7.6-3（評価）**

本 GLP 適用試験では、潜在的不純物 [redacted]（[redacted]、[redacted]）の復帰突然変異誘発能を、サルモネラ菌株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌 WP2 uvrA 株を用いて代謝活性化系（S9）の存在下及び非存在下で評価した。媒体には DMSO を用いた。

予備試験を、6.67、10.0、33.3、66.7、100、333、667、1000、3333 及び 5000 μg/プレートの濃度で行った結果、いずれの濃度でも沈殿は認められなかった。TA98、TA1535 及び TA1537（S9 非存在下）、並びに TA1535（S9 存在下）では、5000 μg/プレートで毒性が認められた。TA98、TA100 及び WP2 uvrA（S9 存在下及び非存在下）、並びに TA1535（S9 存在下）で変

異頻度（12.2～30.2 倍、最大増加）の用量依存的な増加が認められた。これらの結果に基づき、5000 µg/プレートを変異原性試験の最高濃度に設定した。

変異原性試験では、33.3、100、333、1000、3333 及び 5000 µg/プレートの濃度で検討した。沈殿は認められなかった。TA98 及び TA1535（S9 非存在下）では、3333 又は 5000 µg/プレートで生育阻害が認められた。S9 存在下では TA98、TA100、TA1535 及び WP2 uvrA で、S9 非存在下では TA98、TA100 及び WP2 uvrA で対照と比較して 4.3～14.3 倍の変異原性陽性反応が認められた。その他の条件では最大 2.2～2.6 倍の増加が認められた。これらの増加はわずかに用量反応性を示し、反応のピーク時の細胞数はこれらの背景データの 95%値を超えていたことから、変異原性活性を示すと考えられた。

これらの結果から、[redacted] は、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、サルモネラ菌株及び大腸菌株を用いた復帰突然変異試験で陽性と判断され、変異原性を持つことが示された。

2.6.6.7.3.4 細菌を用いた不純物 [redacted] の復帰突然変異試験

：添付資料番号 4.2.3.7.6-4（参考）

本 GLP 非適用試験では、潜在的不純物である [redacted] の復帰突然変異誘発能を、サルモネラ菌株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌 WP2 uvrA 株を用いて外因性代謝活性化系（S9）の存在下及び非存在下で評価した。媒体には DMSO を用いた。

TA98 及び TA1537 株（代謝活性化系の存在下及び非存在下）では、5000 µg/プレートで生育阻害が認められた。いずれの処理においても沈殿物は観察されなかった。溶媒対照と比較して WP2 uvrA 株では S9 の非存在下の 50 µg-mL/プレート以上及び存在下の 100 µg/プレート以上で、TA100 株では S9 の存在下及び非存在下の 500 µg/プレート以上で復帰変異コロニー数の増加が認められた。さらに、試験菌株 TA1535 では S9 の存在下で 500 及び 1000 µg/プレートで復帰変異コロニー数の増加が認められた。これらの結果から、[redacted] は本スクリーニングの条件下で変異原性を示すと考えられた。

2.6.6.8 考察及び結論

非臨床薬理試験において、maralixibat は作用機序から予測される胆汁酸再吸収の阻害作用（ラット、イヌ又はサルを用いた薬理試験）及び血清総コレステロールの低下作用（イヌを用いた薬理試験）を示した（2.6.2）。In vivo 薬理試験において、maralixibat をイヌに単回経口投与したとき、用量依存的な食後の sBA 濃度上昇抑制作用が認められた。また、malalixibat をラット、イヌ又はサルに単回又は反復投与（最長 4 週間）したとき、用量依存的な胆汁酸排泄増加作用が認められた。Maralixibat はイヌにおいて肝臓コレステロール 7-α ヒドロキシラーゼ及び HMG-CoA 還元酵素の活性を増加させ、これは胆汁酸再吸収の阻害と一致する。

成熟マウス、ラット、ウサギ及びイヌにおける maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティは極めて低かった（1%未満）。経口投与後の maralixibat の曝露量（C_{max} 及び AUC）は低かったが、反復投与又は用量の増加に伴って増加した。Maralixibat の血漿中濃度に顕著な性差は認められなかった。

げっ歯類で認められた主な毒性所見は凝固時間の延長であり、凝固時間の延長は、可逆的で主に雄ラットで認められた。これまでの毒性試験成績から、凝固時間の延長はげっ歯類特異的な作用であることが示唆されている。

非臨床試験ではビタミン K 濃度を測定しなかったが、ラットで認められた血液凝固系の異常がビタミン K 欠乏に起因するとの仮説が立てられた。イヌを用いた毒性試験では血液凝固系の異常は認められなかったことから、この種特異性に対する仮説として、ラットでは、ビタミン K の供給を糞食及び結腸内の細菌による産生に依存していることが考えられる。糞便の味の変化又は糞便中に大量の未吸収薬物が存在することにより糞食が阻害され、高用量で投与された難吸収性の maralixibat がビタミン K 欠乏症の原因となる可能性がある。また、健康なラットにおいて胆汁酸排泄量が長期間にわたって増加した後に胆汁酸プールが枯渇すると、小腸における脂溶性ビタミンの吸収が低下する可能性がある。これは、胆汁うっ滞の患者では、ベースライン時の胆汁酸プールが大幅に増加していることから、胆汁流量が大幅に減少した胆汁うっ滞患者には関連しないと考えられる。

この影響には毒性試験間のばらつきが認められたが、その原因は明らかでなかった。上記の仮説を考慮すると、この変動は、ラットの異なるコロニー間における糞食習慣又は腸内細菌叢の違い、又は試験開始時に利用可能なビタミン K のベースライン値（試験中に利用可能な予備量）の違いに起因する可能性がある。臨床開発プログラムでは脂溶性ビタミン値及び血液凝固機能をモニタリングしており、臨床試験では maralixibat の投与によるビタミン欠乏及び血液凝固時間の延長は認められていない。

イヌでは用量制限毒性として嘔吐が認められた。一方、ラット及びサルの反復経口投与毒性試験において、嘔吐又は下痢といった投薬起因の徴候は認められなかった。

ラット及びイヌにおけるこれらの主要な毒性所見（凝固時間の延長及び嘔吐）は、ヒトの治療用量を超えると予想される高用量で発現することから、ヒトに対する重大な危険性を示唆する所見ではないと考えられる。臨床試験において嘔吐及びビタミン欠乏に関連する重大な有害事象は認められていない（2.7.4 ALGS 及び 2.7.4 PFIC）。

ラット及びイヌで認められたその他のいくつかの可逆的な変化は、maralixibat の薬理活性に関連すると考えられる。血清中肝トランスアミナーゼ（AST 及び ALT）の軽微な増加並びに肝臓重量の軽度から中等度の減少が認められた。一方で、病理組織学的検査では、治療用量と比較して極めて高用量の maralixibat をラット及びイヌに長期投与しても肝障害を示す病理組織学的所見は認められなかった。Maralixibat による胆汁酸再循環の阻害を介した胆汁酸プールの減少は、健康な動物（特に胆汁うっ滞が認められない動物）において、コレステロールが胆汁酸産生に必要な基質であることから、代償的な胆汁酸合成の増加及び肝コレステロール値の低下をもたらすと考えられる。肝トランスアミナーゼの一過性の上昇は、コレスチラミンやスタチンなどの肝コレステロールを低下させる他の薬剤により認められるが[4][5][6]、数十年にわたる大規模な集団を対象とした試験で薬剤誘発性の肝毒性や肝不全のリスク上昇は認められていない。

Maralixibat は in vitro で変異原性を示さず、in vitro 及び in vivo で染色体異常誘発能を示さなかった。

マウスがん原性試験において、雄の rasH2 マウスに高用量 25 mg/kg/日を 1 日 1 回 26 週間強制経口投与したところ、陰性対照と比較して早期死亡率が統計学的に有意に増加した。早期死亡率の増加は、用量依存性が認められたこと及び／又は瀕死動物と生存動物の間で一般状態所見が類似していることから、maralixibat に関連すると考えられた。25 mg/kg/日群の瀕死状態の雄 5 例のうち 3 例には剖検及び病理組織学的所見は認められず、残りの 2 例の死因

は maralixibat と関連のない血管腫（皮膚／脾臓）に起因するものであった。25 mg/kg/日群の雄における細気管支肺胞上皮腺腫の発現頻度及び傾向は統計学的に有意に高く、細気管支肺胞上皮腺腫及び肺胞上皮腺腫の合計発現頻度も統計学的に同様の結果であった。対照群と比較して統計学的に有意に高い程度ではあるが、肺腫瘍は rasH2 Tg マウスで報告されている自然発生腫瘍の中で最も高頻度にみられるものであり、maralixibat の 25 mg/kg/日を投与した雄における発現率（細気管支肺胞腺腫及び癌の発現頻度はそれぞれ 24%及び 4%）は公表されている対照群における発生頻度の範囲内であることから[1]、25 mg/kg/日を投与した雄における細気管支肺胞腺腫及び癌の発現率上昇は maralixibat 投与と関連しない可能性が高い。
25 mg/kg/日の maralixibat を投与した雄にみられた細気管支肺胞腺腫及び癌は単一の腫瘍として発現し、細気管支肺胞過形成から腺腫及び癌への一連の進行を示す所見は認められなかった。また、このような肺腫瘍はこの系統の雌でも最も一般的な自然発生腫瘍であるが、雌において細気管支肺胞腺腫及び癌の発生頻度増加は認められなかった。

Sprague Dawley ラットのがん原性試験において、10、30 又は 100 mg/kg/日を最長 688 日間強制経口投与したところ、忍容性は良好であり、投薬に起因する生存期間に対する影響は認められなかった。100 mg/kg/日群の雄及び 30 mg/kg/日以上を投与した雌において肺胞マクロファージの増加が認められ、雌では肉眼所見との相関が認められたが、生存及び発がん性に影響は認められなかった。10 mg/kg/日以上を投与した雌雄で、肝臓に好塩基性変異肝細胞巣の発現頻度及び程度の増加が認められたが、生存又は発がん性に影響は認められなかった。これらの結果から、maralixibat の 100 mg/kg/日は、生存又は発がん性に影響を及ぼさない用量と考えられた。

ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、500 及び 2000 mg/kg/日群で母動物あたりの平均黄体数、着床数及び生存胎児数がわずかに減少した。いずれの用量でも雄の授胎能に投薬に関連した影響は認められず、雌雄ともに交尾に対する影響は認められなかった。ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験でそれぞれ 1000 及び 250 mg/kg/日までの用量を投与した結果、胎児の成長又は発生に対する毒性所見は認められなかった。また、幼若ラットの毒性試験として生後 21～63 日に投与した結果、評価した最高用量で毒性所見は認められなかった。750 mg/kg/日までの用量を投与し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では、妊娠中及び授乳中の F_0 世代の雌ラットに maralixibat を混餌投与したとき、母体毒性（F_0）、F_1 世代の発生／新生児毒性、F_1 世代の親動物としての毒性、F_1 世代の生殖毒性及び F_2 世代の新生児毒性を示唆する所見は認められなかった。

幼児における maralixibat の使用は、幼若ラットに maralixibat を 43 日間（生後 21～63 日）又は 15 日間（生後 7～21 日）投与した毒性試験により担保される。幼若ラットを用いた GLP 適用試験を生後 21 日に開始したが、これは動物の発達全体からみると 2 歳の小児に相当する。一方で、生後 21 日のラット出生児の消化管は、12 ヵ月齢のヒトの消化管と発達的に類似しており、機能的に成熟していると考えられる[2][7]。本試験及び他の複数の試験で示されているように、maralixibat はごくわずかしか吸収されない薬剤であることから、消化管が機能的に成熟していたと考えられる週齢に投与を開始したことは特記すべき点である。検討した最高用量である 200 mg/kg/日の雄及び 1000 mg/kg/日の雌では、出生後の成長及び出生児の発達に対する毒性は認められなかった。

他の 2 試験では、消化管の発達の早期段階で曝露を可能にするため、生後 7～21 日に maralixibat を投与した。GLP 非適用の用量設定試験では、雄ラットに maralixibat を 0、50、100 及び 200 mg/kg/日の用量で、雌ラットに 0、250、500 及び 1000 mg/kg/日の用量で投与した。いずれの用量でも計画剖検時まで生存した雌雄において、maralixibat に関連した剖検所見、器官重量の変化又は病理組織学的所見は認められなかった。しかし、500 及び 1000 mg/kg/日群の雌では、maralixibat 投与に関連すると考えられる死亡及び瀕死が認められた。これらの群では一般状態観察所見（低体長及び肛門性器周辺の黄色物質）及び体重／体重増加量の減少が認められた。Maralixibat に関連した血液生化学的検査値の変化として、1000 mg/kg/日群の雌で平均 ALP 値及びトリグリセリド値の増加、250、500 及び 1000 mg/kg/日群の雌でアルブミン／グロブリン比の増加を伴う平均グロブリン値の減少がみられた。

雌雄の幼若 Sprague Dawley ラットに生後 7～21 日に 0、50、100 及び 250 mg/kg/日の maralixibat を投与した最終的な GLP 幼若ラット試験では、すべての用量で maralixibat の忍容性は良好であった。評価したいずれの用量においても、動物の生死、一般状態観察、体重、摂餌量、性成熟、臨床病理検査及び病理組織学的検査に対する maralixibat の影響は認められなかった。100 mg/kg/日群以上の雄及び 250 mg/kg/日群の雌で大腿骨遠位骨幹端の骨量及び骨密度の増加が認められたが、これらの変化は毒性変化ではないと考えられた。50 mg/kg/日群の雄、50 及び 100 mg/kg/日群の雌では、大腿骨長及び大腿骨 pQCT パラメータ（遠位骨幹端及び骨幹端）に maralixibat に関連した特記すべき変化は認められなかった。

Maralixibat の他の非臨床試験とは対照的に、幼若ラットを用いた生後 7～21 日間投与試験（GLP 適用）では顕著な全身曝露が認められた。但し、血漿中 AUC は用量増加に伴う有意な増加を示さず、最低用量（50 mg/kg/日）での吸収の飽和が示され、推定された経口バイオアベイラビリティも最低用量の投与初日が最も高かった（約 17%）。推定された絶対的バイオアベイラビリティは試験期間中に有意に低下し、生後 7 日の約 17%から生後 14 日の約 6%に低下し、生後 21 日の最終投与後にはすべての用量で 1%未満に低下した。したがって、maralixibat の吸収は週齢が幼若なラットほど高かったが、生後 21 日の試験終了時の推定された絶対的バイオアベイラビリティは成熟動物と同程度であった。これは、新生児ラットの幼若消化管粘膜における高い透過性及び生後 7～21 日の間のラットにおける消化管の急速な成熟によるものと考えられる。このように血漿中曝露量が高かったにもかかわらず、本試験における maralixibat の忍容性は良好であり、明らかな毒性徴候は認められず、評価したいずれの用量でも動物の生死、一般状態観察所見、体重、摂餌量、性成熟、臨床病理検査又は病理組織学的検査に影響は認められなかった。本試験では広い MOS が確立され〔最も若齢のラット出生児で検討した最高用量 250 mg/kg/日はヒト出生児では約 60000 µg/kg/日に相当し、ALGS に対する予定最高臨床用量（400 µg/kg/日）の約 150 倍、PFIC に対する予定臨床用量（1200 µg/kg/日）の約 50 倍であった〕、ヒト乳幼児における毒性のリスクは極めて低いと予測される。

生後 7 日のラットにおける絶対的バイオアベイラビリティ増加の臨床的意義は低いと考えられる。生後 7 日における幼若ラットの消化管発達はヒトの早産児に相当すると考えられる。ラット新生児の消化管は非常に未熟でほとんど分化していない組織であり、高分子に対するバリア機能は非常に小さい[2]。これとは対照的に、出生直後のヒト新生児では、消化管は比

較的成熟しており、経口摂取開始の数日以内に高分子は透過できなくなる[3]。ラットの試験期間中に絶対的バイオアベイラビリティが劇的に変化したことは、ラットで消化管が未成熟な状態である生後 7 日から数週間の間に発達し、その組織学的変化が maralixibat の粘膜通過に対する障壁となっていることを示している。出生時のヒト消化管の相対的な成熟度を考慮すると、出生直後のヒト新生児では maralixibat の絶対的バイオアベイラビリティが低いと考えられ、生後 7 日のラット出生児で確認された比較的高い絶対的バイオアベイラビリティはヒトの出生児における絶対的バイオアベイラビリティを予測するものではないと考えられる。以上の幼若ラットを用いた毒性試験結果は、新生児を対象とした臨床試験における maralixibat の安全性を担保するものである。

不純物の規格及び不純物プロファイルの安全性を裏付けるための毒性試験も実施した。不純物又は潜在的不純物を細菌を用いる復帰突然変異試験で評価したところ、[redacted]、[redacted] 及び [redacted] は、陽性（変異原性）を示した。不純物の評価の詳細を 3.2.S.3.2（不純物）及び 3.2.S.4.5（規格及び試験方法の妥当性）に示す。

以上から、maralixibat をラットに最長 6 ヵ月間、イヌに 1 年間反復経口投与したとき、臨床病理学的パラメータ、眼科学的検査、ECG 検査（イヌ）、剖検及び病理組織学的検査パラメータ等にヒトへの直接的な毒性所見を示唆する所見は認められなかった。さらに、maralixibat に遺伝毒性は認められず、rasH2 Tg マウスの 26 週間及びラットの 2 年間がん原性試験でがん原性は認められなかった。新生児期に投与した幼若ラットの maralixibat に対する忍容性は良好であり、小児集団における maralixibat の臨床使用が担保されている。

2.6.6.9 参考文献一覧

[1] Paranjpe MG, Belich JL, Mann PC, McKeon ME, Elbekai RH, Brown CM, et. al. A comparison of spontaneous tumors in Tg.rasH2 mice in 26-week carcinogenicity studies conducted at a single test facility during 2004 to 2012 and 2013 to 2018. Toxicol Pathol 2019; 47:18-25.（添付なし）

[2] Walthall K, Cappon GD, Hurtt ME, Zoetis T. Postnatal development of the gastrointestinal system: a species comparison. Birth Defects Res B. Dev Reprod Toxicol 2005;74:132–56.（添付なし）

[3] Neal-Kluever A, Fisher J, Grylack L, Kakiuchi-Kiyota S, Halpern W. Physiology of the neonatal gastrointestinal system relevant to the disposition of orally administered medications. Drug Metab Dispos 2019;47:296–313.（添付なし）

[4] Tolman KG. The liver and lovastatin. Am J Cardiol 2002;89:1374–80.（添付なし）

[5] Singhal R, Harrill AH, Menguy-Vacheron F, Jayyosi Z, Benzerdjeb H, Watkins PB. Benign elevations in serum aminotransferases and biomarkers of hepatotoxicity in healthy volunteers treated with cholestyramine. BMC Pharmacol Toxicol 2014;15:42-8.（添付なし）

[6] Herzog E, Pragst I, Waelchli M, Gille A, Schenk S, Mueller-Cohrs J, et al. Reconstituted high-density lipoprotein can elevate plasma alanine aminotransferase by transient depletion of hepatic cholesterol: role of the phospholipid component. J Appl Toxicol 2016;36:1038-47.（添付なし）

[7] 「小児用医薬品開発の非臨床安全性試験ガイドライン」について（薬生薬審発 0330 第 1 号）．2024 年 2 月 1 日閲覧．https://www.pmda.go.jp/files/000240053.pdf（添付なし）

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 2
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験：一覧表 10
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表 13
2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧 19
2.6.7.5 単回投与毒性試験 23
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 25
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 27
2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験 91
2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験 104
2.6.7.10 がん原性試験 105
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 111
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 112
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚－胎児発生に関する試験 118
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 124
2.6.7.15 新生児を用いた試験 131
2.6.7.16 局所刺激性試験 142
2.6.7.17 その他の毒性試験 143

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：Maralixibat

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	添付資料番号	区分
Single-Dose Toxicity									
Acute Oral	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Once	0, 1000, 2000	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1-1	評価
Acute IV	Rat/Sprague Dawley	IV bolus dose	Once	0, 0.06, 0.6	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1-2	評価
Acute Oral Capsule	Dog/Beagle	Oral, capsule	Once	60, 100, 200	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1-3	参考
Acute Oral Capsule	Dog/Beagle	Oral, capsule	Once	0, 50, 200, 400, 600, 800, 1000	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1-4	評価
Acute IV	Dog/Beagle	IV over 2 min.	Once	0, 1, 2.5, 5	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1-5	評価
Repeat-Dose Toxicity									
28-Day	Mouse/rasH2-Wt	Oral gavage	28 days	Dose range: 0, 125, 250, 500, 1000, 2000 Toxicology: 0, 250, 1000, 2000	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-1	評価
28-Day	Mouse/rasH2-Wt	Oral gavage	28 days	0, 25, 75, 150	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-2	評価
28-Day	Mouse/rasH2-Wt	Oral gavage	28 days	0, 25, 75, 250	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-3	評価

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：Maralixibat

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	添付資料番号	区分
13-Week	Mouse/CD-1	Oral gavage	13 weeks	0, 50, 150, 500, 1000	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-4	評価
13-Week	Mouse/CD-1	Oral gavage	13 weeks	0, 50, 250, 750	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-5	評価
2-Week	Mouse/CD-1	Oral, diet admix	2 weeks	0, 300, 600, 1000 (target doses)	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-6	参考
2-Week	Mouse/CD-1	Oral gavage and dietary admix	2 weeks	0, 3, 30, 300 (target doses for dietary admix)	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-7	参考
4-Week	Mouse/rasH2-Tg	Oral, diet admix	4 weeks	5,000, 10,000 (target doses)	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-8	参考
4-Week	Mouse/rasH2-Tg	Oral, diet admix	4 weeks	0, 2000, 5000, 10000 (target doses)	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-9	評価
4-Week	Mouse/rasH2-Tg	Oral, diet admix	4 weeks	0, 75, 500, 1000, 2000 (target doses)	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-10	評価
13-Week	Mouse/CD-1	Oral, diet admix	13 weeks	0, 50, 250, 750 (target doses)	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-11	評価
2-Week	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	2 weeks	0, 1, 5, 30, 150	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-12	参考
4-Week	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	4 weeks	0, 5, 30, 150	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-13	参考

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：Maralixibat

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	添付資料番号	区分
4-Week	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	4 weeks	0, 100	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-14	評価
13-Week	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	13 weeks	Males: 0, 5, 30, 75, 150 Females: 0, 5, 30, 150, 500	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-15	評価
13-Week	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	13 weeks	0, 150, 500, 1500	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-16	評価
3-Month	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	13 weeks	Males: 0, 5, 30, 75, 150 Females: 0, 5, 30, 150, 500	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-17	評価
13-Week	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	13 weeks	0, 10, 300, 1000	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-18	評価
2-Week	Rat/Sprague Dawley	Oral, diet admix	2 weeks	0, 150, 500, 1000, 2000 (target doses)	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-19	参考

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：Maralixibat

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	添付資料番号	区分
13-Week	Rat/Sprague Dawley	Oral, diet admix	13 weeks	0, 150, 750, 1500 (target doses)	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-20	評価
26-Week	Rat/Sprague Dawley	Oral, diet admix	26 weeks	Males: 0, 30, 150, 750 Females: 0, 30, 500, 2000 (target doses)	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-21	評価
2-Week	Dog/Beagle	Oral, capsule	2 weeks	0, 1, 4, 12, 30	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-22	参考
4-Week	Dog/Beagle	Oral, capsule	4 weeks	0, 5, 15, 50	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-23	評価
4-Week	Dog/Beagle	Oral, capsule	4 weeks	0, 100, 300, 600	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-24	評価
13-Week	Dog/Beagle	Oral, capsule	13 weeks	0, 5, 20, 100	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-25	評価
52-Week	Dog/Beagle	Oral, capsule	52 weeks	0, 1, 5, 20, 100	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-26	評価
2-Week	Monkey/Rhesus	Oral, capsule	2 weeks	0, 5, 50	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-27	参考
Genotoxicity									
Ames Assay	*Salmonella typhimurium*	In vitro	48 hours	10 to 5000 µg/plate	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.1-1	参考
Ames Assay	*Salmonella typhimurium*	In vitro	48 hours	5 to 5000 µg/plate	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.1-2	評価
Chromosomal Aberration	Chinese Hamster Ovary Cells	In vitro	4/24 hours	50 to 5000 µg/mL	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.1-3	参考
Chromosomal Aberration	Chinese Hamster Ovary Cells	In vitro	3/20 hours	20 to 150 µg/mL	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.1-4	評価
Rat Micronucleus	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	48 hours	500, 1000, 2000 mg/kg	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.2-1	評価

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：Maralixibat

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	添付資料番号	区分
Carcinogenicity									
26-Week	Mouse/rasH2-Tg	Oral gavage	26 weeks	Male: 0, 2.5, 7.5, 25 Female: 0, 7.5, 25, 75	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.4.2-1	評価
104-Week	Rat/Sprague Dawley	Oral, diet admix	104 weeks	Male: 0, 30, 100, 300 Female: 0, 30, 300, 750	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.4.1-1	参考
104-Week	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	104 weeks	0, 10, 30, 100	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.4.1-2	評価
Reproductive and Developmental Toxicity									
Fertility and Early Embryonic Development	Rat/Sprague Dawley	Oral, diet admix	Females: 2 weeks prior to mating through GD 7 Males: 4 weeks prior to second mating and through second mating period	Males: 0, 30, 150, 750 Females:0, 30, 500, 2000	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.1-1	評価
Dose Range-Finding Embryo/fetal Development	Rat/Sprague Dawley	Oral, diet admix	GD 6-17	0, 250, 750, 2000	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-1	参考
Embryo/fetal Development	Rat/Sprague Dawley	Oral, diet admix	GD 6-17	0, 50, 250, 1000	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-2	評価

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：Maralixibat

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	添付資料番号	区分
Dose Range-Finding Embryo/fetal Development	Rabbit/New Zealand White	Oral gavage	GD 7-18	0, 50, 125, 250, 500	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-3	参考
Embryo/fetal Development	Rabbit/New Zealand White	Oral gavage	GD 7-18	0, 25, 100, 250	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-4	評価
Dose Range-Finding Pre- and Postnatal Development	Rat/Sprague Dawley	Oral, diet admix	GD 6-LD 21	0, 250, 1000	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.3-1	参考
Pre- and Postnatal Development	Rat/Sprague Dawley	Oral, diet admix	GD 6-LD 21	0, 50, 250, 750	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.3-2	評価
Juvenile Toxicity									
Dose Range-Finding Juvenile Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	PND 7-21	Males: 0, 50, 100, 200 Females: 0, 250, 500, 1000	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.4-1	参考
Juvenile Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	PND 7-21	0, 50, 100, 250	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.4-2	評価

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：Maralixibat

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	添付資料番号	区分
Dose Range-Finding Juvenile Toxicity	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Starting on PND 21 Part 1A: single dose Part 1B: QD for 8 days (PND 21-28) Part 2: QD for 43 days (PND 21-63) followed by a 35- day recovery period	Part 1A and 1B: Males: 0, 25, 50, 100, and 200 Females: 0, 125, 250, 500, and 1000 Part 2: Males:0, 50, 100, and 200 Females: 0, 250, 500, and 1000	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.4-3	評価
Other Toxicity Studies									
Local Tolerance									
Dermal sensitization	Guinea pig / Hartley	Induction-intradermal and topical/single application by each route. Single topical challenge	Single application by each route. Single topical challenge	Topical induction: Freund's complete adjuvant (0.1 mL) Topical challenge: Test article/control (40% w/w) in petrolatum Injection: 0.1 mL	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.6-1	評価
Dermal irritation	Rabbit/New Zealand White	Topical application	once	0.5g/site	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.6-2	評価
Eye irritation	Rabbit/New Zealand White	Conjunctival sac application	once	19 mg (0.1 mL weight eq)	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.6-3	評価
1-Week	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	1 week	0, 150	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.7-1	参考

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：Maralixibat

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	添付資料番号	区分
Acute									
2-Week	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	2 weeks	150	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.7-2	参考
Genetic Toxicology - Impurities									
Ames Assay	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	In vitro	48 hours	15 to 5000 µg/plate	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.6-1	評価
Ames Assay	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	In vitro	48 hours	10 to 5000 µg/plate	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.6-2	評価
Ames Assay	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	In vitro	48 hours	33.3 to 5000 µg/plate	Y	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.6-3	評価
Ames Assay	*Salmonella typhimurium, Escherichia coli*	In vitro	48 hours	1.0 to 5000 µg/plate	N	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.6-4	参考

GD: Gestation Day; GLP: Good Laboratory Practices; LD: Lactation Day; N: no; PND: Post Natal Day; Y: yes.

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験：一覧表

被験物質：Maralixibat

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Study No.	添付資料番号
Single dose	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	0, 1000, 2000	Yes	[redacted]	4.2.3.1-1
Single dose	Rat/Sprague Dawley	Intravenous	0, 0.06, 0.6, 6	Yes	[redacted]	4.2.3.1-2
Single dose	Dog, Beagle	Oral, capsule	0, 50, 200, 400, 600, 800, 1000	Yes	[redacted]	4.2.3.1-4
Single dose	Dog, Beagle	Intravenous	0, 1, 2.5, 5	Yes	[redacted]	4.2.3.1-5
Single dose – PND21	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Males: 0, 25, 50, 100, 200 Females: 0, 125, 250, 500, 1000	Yes	[redacted]	4.2.3.5.4-3
Repeat Dose – 2 weeks	Mouse/ CD-1	Oral, diet admix	0, 300, 600, 1000 (target doses)	No	[redacted]	4.2.3.2-6
Repeat dose – 2 weeks	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	0, 1, 5, 30, 150	No	[redacted]	4.2.3.2-12
Repeat dose – 4 weeks	Mouse/rasH2-Wt	Oral gavage	0, 250, 1000, 2000	Yes	[redacted]	4.2.3.2-1
Repeat dose – 4 weeks	Mouse/rasH2-Wt	Oral gavage	0, 25, 75, 150	Yes	[redacted]	4.2.3.2-2
Repeat dose – 4 weeks	Mouse/rasH2-Wt	Oral gavage	0, 25, 75, 250	Yes	[redacted]	4.2.3.2-3
Repeat dose – 4 weeks	Mouse/rasH2-Tg	Oral, diet admix	0, 2000, 5000, 10000 (target doses)	Yes	[redacted]	4.2.3.2-9
Repeat dose – 4 weeks	Mouse/rasH2-Tg	Oral, diet admix	0, 75, 500, 1000, 2000 (target doses)	Yes	[redacted]	4.2.3.2-10
Repeat dose – 4 weeks	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	0, 5, 30, 150	Yes	[redacted]	4.2.3.2-13

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験：一覧表（続き）

被験物質：Maralixibat

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Study No.	添付資料番号
Repeat dose – 13 weeks	Mouse/CD-1	Oral gavage	0, 50, 150, 500, 1000	Yes	[redacted]	4.2.3.2-4
Repeat dose – 13 weeks	Mouse/CD-1	Oral, diet admix	0, 50, 250, 750 (target doses)	Yes	[redacted]	4.2.3.2-11
Repeat dose – 13 weeks	Mouse/CD-1	Oral gavage	0, 50, 250, 750	Yes	[redacted]	4.2.3.2-5
Repeat dose – 13 weeks	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Males: 0, 5, 30, 75, 150 Females: 0, 5, 30, 150, 500	Yes	[redacted]	4.2.3.2-15
Repeat dose – 13 weeks	Rat/Sprague Dawley	Oral, diet admix	0, 150, 750, 1500 (target doses)	Yes	[redacted]	4.2.3.2-20
Repeat dose – 13 weeks	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	0, 10, 300, 1000	Yes	[redacted]	4.2.3.2-18
Repeat dose – 26 weeks	Mouse/rasH2-Wt	Oral gavage	Male: 0, 2.5, 7.5, 25 Female: 0, 7.5, 25, 75	Yes	[redacted]	4.2.3.4.2-1
Repeat dose – 26 weeks	Rat/Sprague Dawley	Oral, diet admix	Males: 0, 30, 150, 750 (300)[b] Females: 0, 30, 500, 2000 (1500) [c] (target doses)	Yes	[redacted]	4.2.3.2-21
Repeat dose – 2 weeks	Dog, Beagle	Oral, capsule	0, 1, 4, 12, 30	No	[redacted]	4.2.3.2-22
Repeat dose – 4 weeks	Dog, Beagle	Oral, capsule	0, 5, 15, 50	Yes	[redacted]	4.2.3.2-23
Repeat dose – 4 weeks	Dog, Beagle	Oral, capsule	0, 100, 300, 600	Yes	[redacted]	4.2.3.2-24
Repeat dose – 13 weeks	Dog, Beagle	Oral, capsule	0, 5, 20, 100	Yes	[redacted]	4.2.3.2-25
Repeat dose – 6 months/1 year	Dog, Beagle	Oral, capsule	0, 1, 5, 20, 100	Yes	[redacted]	4.2.3.2-26
Repeat dose – 2 weeks	Monkey/Rhesus	Oral, capsule	0, 5, 50	No	[redacted]	4.2.3.2-27

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験：一覧表（続き）

被験物質：Maralixibat

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Study No.	添付資料番号
Repeat dose – D6 to D17 of gestation	Rat/Sprague Dawley, pregnant	Oral, diet admix	0, 250, 750, 2000 (target doses)	Yes	[redacted]	4.2.3.5.2-1
Repeat dose – D6 to D17 of gestation	Rat/Sprague Dawley, pregnant	Oral, diet admix	0, 50, 250, 1000 (target doses)	Yes	[redacted]	4.2.3.5.2-2
Repeat dose – D7 to D18 of gestation	Rabbit/New Zealand White, pregnant	Oral gavage	0, 50, 125, 250, 500	No	[redacted]	4.2.3.5.2-3
Repeat dose – D7 to D18 of gestation	Rabbi/New Zealand White, pregnant	Oral gavage	0, 25, 100, 250	Yes	[redacted]	4.2.3.5.2-4
Repeat dose – D6 of gestation to D21 of lactation	Rat/Sprague Dawley, pregnant	Oral, diet admix	0, 50, 250, 750 (target doses)	Yes	[redacted]	4.2.3.5.3-2
Repeat dose – PND 21-28	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Males: 0, 25, 50, 100, 200 Females: 0, 125, 250, 500, 1000	Yes	[redacted]	4.2.3.5.4-3
Repeat dose – PND 21-63	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Males: 0, 50, 100, 200 Females: 0, 250, 500, 1000	Yes	[redacted]	4.2.3.5.4-3
Repeat dose – PND 7-21	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Males: 0, 50, 100, 200 Females: 0, 250, 500, 1000	No	[redacted]	4.2.3.5.4-1
Repeat dose – PND 7-21	Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	0, 50, 100, 250	Yes	[redacted]	4.2.3.5.4-2

D: day; PND: postnatal day.

[a] Expressed as maralixibat free form/kg.

[b] Target dosage of 750 mg/kg/day in males reduced to 300 mg/kg on Day 88 due to morbidity/mortality.

[c] Target dosage of 2000 mg/kg/day in females reduced to 1500 mg/kg/day on Day 102 due to morbidity/mortality.

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表

被験物質：Maralixibat

Daily Dose (mg/kg)[a]	Steady State AUC_{24} (ng·h/mL)										
	Mouse [b]			Rat [b]			Dog [c]			Female Rabbit [b]	Human [d]
	M	F	Combined	M	F	Combined	M	F	Combined		
0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC[e]
0.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NC[f]
1	-	-	-	-	-	-	14.9[r], 4.99[s]	1.20[r], 4.62[s]	8.04[r], 4.80[s]	-	
1.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.67[f], 4.61[e]
2.5	231[w]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5	-	-	-	11.1[g], 1.78[h]	NC[g], 2.82[h]	2.30[h] 5.52[g]	3.50[i], 11.9[r], 16.3[s]	NC[i], 4.48[r], 10.8[s]	1.75[i], 0.599[j] 8.20[r], 13.6[s]	-	-
7.5	75.3[w]	76.3[w]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14.2[f]
10	-	-	-	11.4[x]	13.0[x]	12.2[x]	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	41.9[j]	-	-
20	-	-	-	-	-	-	47.6[i], 46.9[r], 56.5[s]	53.9[i], 64.0[r], 58.9[s]	50.8[i], 55.4[r], 57.7[s]	-	-
25	1490[w], 184[bb], 129[cc]	219[w], 399[bb], 128[cc]	287[bb], 131[cc]	51.4[u]	-	-	-	-	-	3.49[k]	-
30	-	-	-	11.4[g], 20.8[q]	12.4[g],19.4[h], 28.3[q]	9.68[h], 11.7[g]	-			-	-
50	136[dd], 94.3[ee], 49.0[hh]	151[dd], 173[ee], 70.3[hh]	142[dd], 126[ee], 60.8[hh]	202[u], 43.8[v], 140[y], 367[z]	154[l], 320 [z]	343[z]	-		265[j], 132[m]	-	-
75	552[bb], 462[cc]	400[w], 931[bb], 248[cc]	740[bb], 364[cc], 71.5[gg]	61.4[g]	-	-	-	-	-	-	-
100	-	-	-	151[u], 140[v], 272 [y], 304 [z],	345 [z]	325[z]	405[i], 498[n], 348[r], 389[s]	601[i], 376[n], 562[r], 294[s]	503[i], 455[r], 342[s], 437[n]	51.5[k]	-
125	-	-	-	-	321[u]	-	-	-	-	-	-
150	NC[bb], 566[dd]	NC[bb], 478[dd]	529[dd], NC[bb]	141[g], 108[q], 25.3[t], 50.1[h]	124[g], 50.0[t], 289[h]	144[h], 37.6[t], 132[g]	-	-	-	-	-

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表（続き）

被験物質：Maralixibat

Daily Dose (mg/kg)[a]	Steady State AUC_{24} (ng·h/mL)										
	Mouse [b]			Rat [b]			Dog [c]			Female Rabbit [b]	Human [d]
	M	F	Combined	M	F	Combined	M	F	Combined		
200	-	-		280[u], 133[v], 1390[y]	-	-	-	-	244[m]	-	-
250	937[aa], 436[cc], 922[ee], 206[hh]	1685[aa], 1510[cc], 347[ee], 205[hh]	1310[aa], 979[cc], 694[ee], 203[hh]	480[z]	123[o], 459[l], 265[u], 368 [y], 413[v], 463[z]	471[z]	-	-	-	766[k]	
300				279[q], 154[x]	202[x]	178[x]	750[n]	1620[n]	1190[n]	-	-
400									690[m]		
500	1490[dd]	2160[dd]	1710[dd], 319[gg]		470[g], 241[q], 566[u], 939[v], 546[y]						
600									908[m]		
750	1580[ee], 429[hh]	1290[ee], 474[hh]	1500[ee], 453[hh]	180[t]	371[o], 119[t]	150[t]					
800									735[m]		
1000	NC[aa], 2530[dd]	6454[aa], 4350[dd]	NC[aa], 3530[dd], 545[gg]	484[x]	2020[l], 1400[u], 2570[v], 771[x] 1760[y]	1640[p], 627[x]			637[m]		
1500				2800[t]	940[q], 405[t]	405[t]					
2000	24251[aa], 3510[ff]	26061[aa], 3670[ff]	25409[aa], 3590[ff], 1090[gg]		1270[o]	2530[p]					
5000	7250[ff]	10900[ff]	8870[ff]								
10000	26000[ff]	31500[ff]	28600[ff]								

AUC_{24}: area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours; F: female; M: male; NC: not calculable, maralixibat concentrations below the lower limit of quantitation for the assay.
Only results from GLP-compliant animal studies are included. In the case of repeat dose studies, data from the final dose are shown.

[a] Expressed as mg maralixibat free form/kg

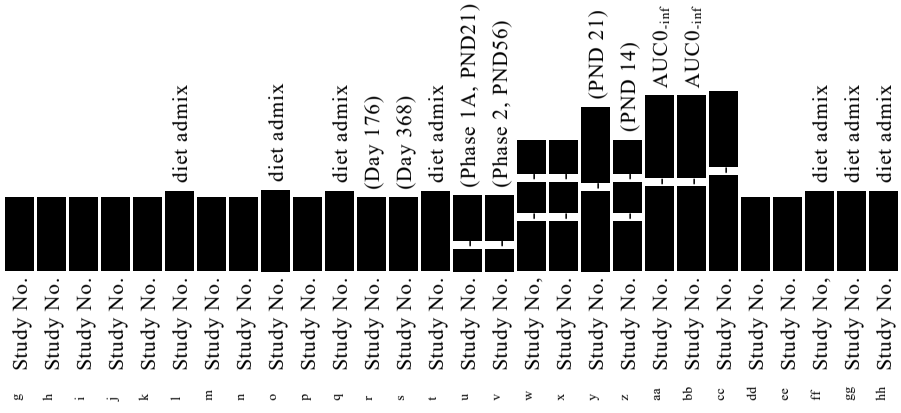
[b] By oral gavage, unless otherwise specified

[c] By oral capsule

[d] Dose calculated assuming average body weight of 60 kg.

[e] Protocol [redacted]

[f] Protocol [redacted]


g Study No.
h Study No.
i Study No.
j Study No.
k Study No.
l Study No. diet admix
m Study No.
n Study No.
o Study No. diet admix
p Study No.
q Study No. diet admix
r Study No. (Day 176)
s Study No. (Day 368)
t Study No. diet admix
u Study No. (Phase 1A, PND21)
v Study No. (Phase 2, PND56)
w Study No,
x Study No.
y Study No. (PND 21)
z Study No. (PND 14)
aa Study No. AUC0-inf
bb Study No. AUC0-inf
cc Study No.
dd Study No.
ee Study No.
ff Study No, diet admix
gg Study No. diet admix
hh Study No. diet admix

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表（続き）

被験物質：Maralixibat

Daily Dose (mg/kg) [a]	C_{max} (ng/mL)										
	Mouse [b]			Rat [b]			Dog [c]			Female Rabbit [b]	Human [d]
	M	F	Combined	M	F	Combined	M	F	Combined		
0.3											NC[e]
0.8											NC[f]
1							13.0[r], 2.10[s]	0.73[r], 1.86[s]	6.87[r], 1.98[s]		
1.7											0.73[f], 1.15[e]
2.5	59.7[w]										
5				5.80[g], NC[h]	NC[g], 1.88[h]	0.940[h], 3.20[g]	3.50[i], 4.68[r], 3.81[s]	NC[i], 2.06[r], 2.12[s]	0.599[j], 1.75[i], 3.37[r], 2.97[s]		
7.5	28.2[w]	26.6[w]									
8											2.40[f]
10				1.07[x]	1.27[x]	1.16[x]					
15									11.0[j]		
20							22.6[i], 17.4[r], 18.2[s]	25.0[i], 22.9[r], 18.7[s]	20.2[r], 23.8[i], 18.5[s]		
25	429 [w], 25.2[bb], 11.2[cc]	55.3 [w], 70.2[bb], 16.7[cc]	39.9[bb], 14.0[cc]	4.27[u]						2.32[k]	
30				4.75[g], 2.60[q], NC[h]	3.95[g], 1.73[q], 10.5[h]	5.23[h], 4.35[g]					
50	22.9[dd], 23.1[ee], 2.37[hh]	27.1[dd], 31.4[ee], 4.19[hh]	22.1[dd], 26.2[ee], 3.41[hh]	52.2[u], 6.86[v],11.9[y], 62.9[z]	14.0[l], 18.5[z]	39.2[z]			56.8[m], 62.4[j]		
75	51.0[bb], 287[cc]	474[bb], 38.7[cc], 31.9 [w]	251[bb], 156[cc], 3.23[gg]	5.71[g]							
100				21.1[u], 14.0[v] 15.9 [y], 31.4[z]	29.6[z], 76.1[v]	30.3[z]	97.4[i], 195[n], 93.6[r], 98.6[s]	182[i], 189[n], 131[r], 77.2[s]	113[r],140[i], 87.9[s], 192[n]	6.19[k]	
125					63.6[u]						
150	128[bb], 52.3[dd]	563[bb], 107[dd]	308[bb], 71.8[dd]	28.3[g], 5.42[q], 3.10[t], 32.0[h]	22.2[g], 2.72[t], 97.3[h]	38.9[h], 2.73[t], 24.1[g]					
200				23.7[u], 13.0[v], 129 [y]	370[v]				130[m]		

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験：成績の一覧表（続き）

被験物質：Maralixibat

Daily Dose (mg/kg) [a]	C_{max} (ng/mL)										
	Mouse [b]			Rat [b]			Dog [c]			Female Rabbit [b]	Human [d]
	M	F	Combined	M	F	Combined	M	F	Combined		
250	192[aa], 64.5[cc], 184[ee], 11.9[hh]	530[aa], 83.9[cc], 73.2[ee], 10.9[hh]	289[aa], 57.3[cc], 122[ee], 10.2[hh]	51.8[z]	8.15[o], 23.8[l], 30.4[u], 176[v], 35.2[y], 48.9[z]	41.3[z]				62.7[k]	
300				14.8[q], 10.1[x]	26.2[x]	17.4[x]	293[n]	508[n]	400[n]		
400									170[m]		
500	208[dd]	480[dd]	230[dd], 14.5[gg]		62.9[g], 13.5[q], 50.4[u], 76.1[v], 190[y]						
600									237[m]		
750	181[ee], 21.2[hh]	141[ee], 22.5[hh]	156[ee], 21.9[hh]	9.66[t]	23.9[o], 5.35[t]	7.22[t]					
800									206[m]		
1000	599[aa], 411[dd]	877[aa], 568[dd]	615[aa], 484[dd], 26.0[gg]	29.5[x]	169[l], 258[u], 370[v], 68.2[x], 598[y]	532[p], 48.9[x]			205[m]		
1500				195[t]	53.5[q], 25.0[t]	25.0[t]					
2000	2070[aa], 227[ff]	1750[aa], 191[ff]	1720[aa], 209[ff], 51.8[gg]		59.2[o]	569[p]					
5000	448[ff]	541[ff]	434[ff]								
10000	1480[ff]	1440[ff]	1470[ff]								

C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; M: male; NC: not calculable, maralixibat concentrations below the lower limit of quantitation for the assay.

Only results from GLP-compliant animal studies are included. In the case of repeat dose studies, data from the final dose are shown.

[a] Expressed as mg maralixibat free form/kg

[b] By oral gavage, unless otherwise specified

[c] By oral capsule

[d] Dose calculated assuming average body weight of 60 kg.

[e] Protocol [redacted]

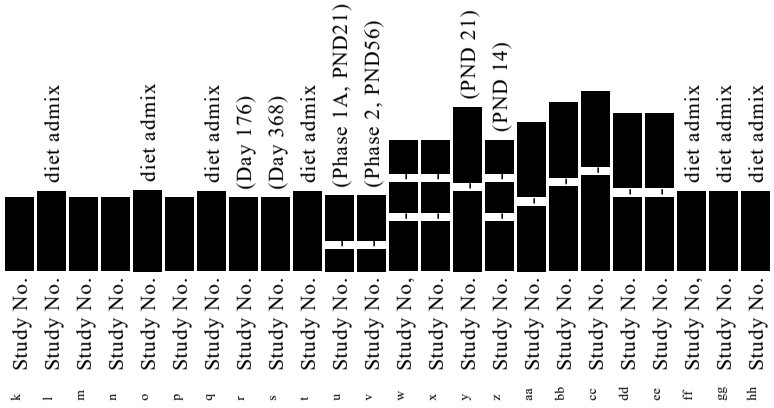
[f] Protocol [redacted]

[g] Study No. [redacted]

[h] Study No. [redacted]

[i] Study No. [redacted]

[j] Study No. [redacted]


k Study No.
l Study No. diet admix
m Study No.
n Study No.
o Study No. diet admix
p Study No.
q Study No. diet admix
r Study No. (Day 176)
s Study No. (Day 368)
t Study No. diet admix
u Study No. (Phase 1A, PND21)
v Study No. (Phase 2, PND56)
w Study No,
x Study No.
y Study No. (PND 21)
z Study No. (PND 14)
aa Study No.
bb Study No.
cc Study No.
dd Study No.
ee Study No.
ff Study No, diet admix
gg Study No. diet admix
hh Study No. diet admix

2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧

被験物質：Maralixibat

Batch No.	Purity	Specified Impurities	Unspecified Impurities	Study No.	Type of Study	添付資料番号
[redacted]	99.5%	0.11	7 unknowns, each NMT 0.16%	[redacted]	Local tolerance (dermal irritation), rabbit	4.2.3.6-2
					Local tolerance (eye irritation), rabbit	4.2.3.6-3
					Local tolerance (dermal irritation), guinea pig	4.2.3.6-1
[redacted]	99.8%	NP	0.72% [a]		Dietary toxicity (4-weeks), oral, mouse	4.2.3.2-9
[redacted]	99.5%	NP	0.65% [a]		Repeat-dose toxicity (52-weeks), oral, dog	4.2.3.2-26
					Dietary toxicity (26-weeks), oral, rat	4.2.3.2-21
					Developmental and reproductive toxicity (fertility and early embryonic development), rat	4.2.3.5.1-1
					Dietary toxicity (4-weeks), oral, mouse	4.2.3.2-9
[redacted]	NP	NP	NP		Dietary Carcinogenicity (104-weeks), oral, rat	4.2.3.4.1-1
[redacted]	NP	NP	NP		Dietary Carcinogenicity (104-weeks), oral, rat	4.2.3.4.1-1
[redacted]	NP	NP	NP		Dietary toxicity (26-weeks), oral, rat	4.2.3.5.3-1
					Dietary Carcinogenicity (104-weeks), oral, rat	4.2.3.4.1-1
[redacted]	NP	NP	NP		Dietary Carcinogenicity (104-weeks), oral, rat	4.2.3.4.1-1
[redacted]	98.4%	NP	0.87% [a]		Pre and Postnatal Toxicity in Rats	4.2.3.2-21
[redacted]	NP	NP	NP		Dietary Carcinogenicity (104-weeks), oral, rat	4.2.3.4.1-1
[redacted]	NP	NP	NP		Dietary Carcinogenicity (104-weeks), oral, rat	4.2.3.4.1-1
[redacted]	NP	NP	NP		Dietary Carcinogenicity (104-weeks), oral, rat	4.2.3.4.1-1
[redacted]	NP	NP	NP		Dietary Carcinogenicity (104-weeks), oral, rat	4.2.3.4.1-1
[redacted]	98.81%	ND	3 unknowns, each NMT 1.19%	[redacted] (Part 1A)	Single Dose Toxicokinetics, oral, juvenile rat	4.2.3.5.4-3
				[redacted] (Part 1B)	Dose Range Finder (8 days), oral, juvenile rat	4.2.3.5.4-3
[redacted]	99.61%	Refer to 3.2.S.4.4	Refer to 3.2.S.4.4	[redacted]	Repeat dose toxicity (43 days), oral, juvenile rat	4.2.3.5.4-3
[redacted]	96.6%	3.49%	10 unknowns ranging from 0.06 to 1.8%		Repeat-dose toxicity (2-weeks), oral, dog	4.2.3.2-22
					Range finding study (2 weeks), oral, rat	4.2.3.2-12
					Genotoxicity, chromosomal aberration	4.2.3.3.1-3
					Genotoxicity, bacterial reverse mutation	4.2.3.3.1-1
[redacted]	NP	NP	NP		Explopratory pharmacology and toxicity (2-weeks), rhesus monkey	4.2.3.2-27

2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧（続き）

被験物質：Maralixibat

Batch No.	Purity	Specified Impurities	Unspecified impurities	Study No.	Type of Study	添付資料番号
[redacted]	NP	NP	NP	[redacted]	Single-dose toxicity, oral, dog	4.2.3.1-3
				[redacted]	Time to onset study of goblet cell change, oral gavage (2 weeks), rat	4.2.3.7.7-2
[redacted]	99.5%	[redacted]	0.06%	[redacted]	Repeat dose toxicity (28-days), oral, CByB6F1 mouse	4.2.3.2-1
				[redacted]	Repeat Dose Toxicity (28-days), oral gavage, mouse	4.2.3.2-2
				[redacted]	Pre and Postnatal Toxicity in Rat	4.2.3.5.3-2
				[redacted]	Repeat Dose Toxicity (3-months), oral gavage, rat	4.2.3.2-17
				[redacted]	Oral Range Finding Juvenile Toxicity Study in Rat (non-GLP)	4.2.3.5.4-1
[redacted]	99.5%	Refer to 3.2.S.4.4	Refer to 3.2.S.4.4	[redacted]	4-Week Carcinogenicity Study in RasH2 mouse	4.2.3.2-3
[redacted]	99.8%	Refer to 3.2.S.4.4	Refer to 3.2.S.4.4	[redacted]	Oral Juvenile Toxicity Study in Rat	4.2.3.5.4-2
				[redacted]	26-Week Carcinogenicity Study in RasH2 mouse	4.2.3.4.2-1
				[redacted]	Repeat-dose toxicity (13-weeks), oral, rat	4.2.3.2-18
[redacted]	99.7%	[redacted]	0.05%	[redacted]	104 Week oral gavage carcinogenicity, rat	4.2.3.4.1-2
[redacted]	99.9%	[redacted]	<0.05%	[redacted]	104 Week oral gavage carcinogenicity, rat	4.2.3.4.1-2
[redacted]	97.8%	NP	1.25% [a]	[redacted]	Dietary toxicity (13-weeks), oral, rat	4.2.3.2-20
				[redacted]	Dietary toxicity (13-weeks), oral, mouse	4.2.3.2-11
				[redacted]	Repeat Dose Toxicity (13-weeks), oral rat	4.2.3.2-16
				[redacted]	Dietary toxicity (4-weeks), oral, mouse	4.2.3.2-10
[redacted]	97.49%	NP	NP	[redacted]	Repeat Dose Toxicity (4-weeks), oral, rat	4.2.3.2-14
[redacted]	97.9%	NP	1.19% [a]	[redacted]	Dietary toxicity (13-weeks), oral, rat	4.2.3.2-20
				[redacted]	Dietary toxicity (13-weeks), oral, mouse	4.2.3.2-11
				[redacted]	Repeat Dose Toxicity (13-weeks), oral rat	4.2.3.2-16
				[redacted]	Repeat Dose Toxicity (13-weeks), oral, mouse	4.2.3.2-5
				[redacted]	Dietary toxicity (4-weeks), oral, mouse	4.2.3.2-10

2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧（続き）

被験物質：Maralixibat

Batch No.	Purity	Specified Impurities	Unspecified impurities	Study No.	Type of Study	添付資料番号
[redacted]	98.7%	NP	1.18% [a]	[redacted]	Developmental and reproductive toxicity (embryo-fetal development), oral, rabbit	4.2.3.5.2-3
				[redacted]	Developmental and reproductive toxicity (embryo-fetal development), oral, rat	4.2.3.5.2-1
				[redacted]	Tolerability study (3 weeks), Tgras H2 mouse	4.2.3.2-8
				[redacted]	Repeat-dose toxicity (52-weeks), oral, dog	4.2.3.2-26
				[redacted]	Dietary toxicity (13-weeks), oral, rat	4.2.3.2-20
				[redacted]	Dietary toxicity (13-weeks), oral, mouse	4.2.3.2-11
				[redacted]	Repeat Dose Toxicity (13-weeks), oral rat	4.2.3.2-16
				[redacted]	Repeat-dose toxicity (13-weeks), oral, mouse	4.2.3.2-5
				[redacted]	Developmental and reproductive toxicity (embryo-fetal development), dietary admix, rat	4.2.3.5.2-2
				[redacted]	Developmental and reproductive toxicity (embryo-fetal development), oral, rabbit	4.2.3.5.2-4
[redacted]	NP	NP	NP	[redacted]	Dietary Carcinogenicity (104-weeks), oral, rat	4.2.3.4.1-1
[redacted]	97.9%	NP	0.97% [a]	[redacted]	Dietary admix and oral gavage feasibility study (2-weeks), mouse	4.2.3.2-7
				[redacted]	Range finding dietary study (2 weeks), mouse	4.2.3.2-6
				[redacted]	Range finding dietary study (2 weeks), rat	4.2.3.2-19
				[redacted]	Repeat-dose toxicity (4-weeks), oral, rat	4.2.3.2-13
				[redacted]	Repeat-dose toxicity (4-weeks), oral, dog	4.2.3.2-23
				[redacted]	Genotoxicity, bacterial reverse mutation	4.2.3.3.1-2
				[redacted]	Genotoxicity, chromosomal aberration	4.2.3.3.1-4
				[redacted]	Single-dose toxicity, intravenous, dog	4.2.3.1-5
				[redacted]	Genotoxicity, in vivo rat micronucleus	4.2.3.3.2-1
				[redacted]	Single-dose toxicity, intravenous, rat	4.2.3.1-2
				[redacted]	Single-dose toxicity, oral, dog	4.2.3.1-4
[redacted]	98.8%	NP	0.47% [a]	[redacted]	Repeat-dose toxicity (13-weeks), oral, rat	4.2.3.2-15
				[redacted]	Repeat-dose toxicity (13-weeks), oral, mouse	4.2.3.2-4

2.6.7.4 毒性試験：使用ロットの一覧（続き）

被験物質：Maralixibat

Batch No.	Purity	Specified Impurities	Unspecified impurities	Study No.	Type of Study	添付資料番号
[redacted]	97.8%	<0.25%	4 unknowns, each NMT 0.20%	[redacted]	Repeat-dose toxicity (7-days), oral, rat	4.2.3.7.7-1
				[redacted]	Repeat-dose toxicity (4-weeks), oral, dog	4.2.3.2-24
				[redacted]	Repeat-dose toxicity (13-weeks), oral, mouse	4.2.3.2-4
				[redacted]	Single-dose toxicity, oral, rat	4.2.3.1-1
				[redacted]	Repeat-dose toxicity (13-weeks), oral, dog	4.2.3.2-25
[redacted]	98.0%	NP	1.42% [a]	[redacted]	Repeat-dose toxicity (52-weeks), oral, dog	4.2.3.2-26
				[redacted]	Dietary toxicity (13-weeks), oral, rat	4.2.3.2-20
				[redacted]	Dietary toxicity (13-weeks), oral, mouse	4.2.3.2-11
				[redacted]	Repeat Dose Toxicity (13-weeks), oral gavage, mouse	4.2.3.2-5
[redacted]	97.9%	NP	1.38% [a]	[redacted]	Dietary toxicity (13-weeks), oral, rat	4.2.3.2-20
				[redacted]	Repeat Dose Toxicity (13-weeks), oral, rat	4.2.3.2-16

HPLC: high performance liquid chromatography; N/A: not applicable; ND: not determined; NMT: not more than; NP: not provided.

a value indicates sum of impurities by HPLC (%).

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：Maralixibat

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approx. Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No.	GLP Compliance	添付資料番号
Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	1000, 2000	Male and female	1000	NA	≥ 1000 mg/kg - watery, soft, and/or mucoid stool, reduced number of feces, general body staining, and salivation/drooling. ≥ 1000 mg/kg - ↓body weight gain (Day 2). ≥ 1000 mg/kg - ↓ serum bile acids (Day 3). 2000 mg/kg - ↓ mean body weight (Day 2). A NOAEL was not established for this study.	[redacted]	Y	4.2.3.1-1
Rat/ Sprague Dawley	Intravenous	0.06, 0.6, 6	Male and female	0.6	6	6 mg/kg IV - death (1 male) and transient signs of reduced activity/body tone, ataxia, tremors, and dilated pupils. NOEL 0.6 mg/kg, IV No sex-related difference in TK. Dose-normalized plasma concentrations were similar at 0.06 and 0.6 mg/kg. Dose-normalized plasma concentrations were greater at 6.0 mg/kg than at the lower doses.	[redacted]	Y	4.2.3.1-2

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

被験物質：Maralixibat

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approx. Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No.	GLP Compliance	添付資料番号
Dog/ Beagle	Oral, capsule	60, 100, 200	Male and female	200	NA	No clinical signs. NOEL 200 mg/kg.	[redacted]	N	4.2.3.1-3
Dog/ Beagle	Oral, capsule	50, 200, 400, 600, 800, 1000	Male and female	400	NA	≥ 200 mg/kg - stool changes. ≥ 400 mg/kg - clinical signs of emesis indicating intolerance in the dog to oral administration at these doses. NOAEL 50 mg/kg BA < 1%	[redacted]	Y	4.2.3.1-4
Dog/ Beagle	Intravenous	1, 2.5, 5	Male and female	5	NA	5 mg/kg - transient clinical signs of slight lethargy, tremors and muscle stiffnesses were observed 30-60 minutes postdose NOEL = 2.5 mg/kg	[redacted]	Y	4.2.3.1-5

BA: bioavailability; GLP: Good Laboratory Practices; IV: intravenous; N: no; NA: not applicable; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; NOEL: no-observed-effect level; TK: toxicokinetics; Y: yes; ↓:increase.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：Maralixibat

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Sex and No. Per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No.	GLP Compliance	添付資料番号
Mouse/ CD-1	Dietary admix	2 weeks	300, 600, 1000	10/sex/group	1000	Transient ↓ body weight and food consumption ↑ serum cholesterol and serum triglycerides 1000 mg/kg/day: ↑ in colon/rectum weights No toxicologically significant changes were observed in any dose group NOAEL = 1000 mg/kg.	[redacted]	No	4.2.3.2-6
Mouse/ CD-1	Oral gavage and diet admix	2 weeks	3, 30, 300	15/sex/group	300	≥ 3 mg/kg ↑ in total bile acid excretion in both routes ↑ at 300 mg/kg/day in the diet admix group in the incidence of slight peripherolobular hepatocellular vacuolar change NOAEL = 300 mg/kg/day	[redacted]	No	4.2.3.2-7
Mouse/ rasH2-Tg	Oral, diet admix	3 weeks	5000, 10000 (2.5 or 5% wt/wt, respect.)	7-10/sex/ group	10,000 (5% diet)	Dose-related ↓ body weight and food consumption Clinical signs of ↓ defecation and soft stools more prevalent in males	[redacted]	No	4.2.3.2-8

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

被験物質：Maralixibat

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Sex and No. Per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No.	GLP Compliance	添付資料番号
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage [0.5% methylcellulose (w/v) and 0.1% polysorbate 80 (v/v) in distilled water]	2 weeks	1, 5, 30, 150	10M + 10F	150	≥ 1 mg/kg/day: ↑ fecal bile acid levels; ↓ mucus in colonic goblet cells with or without edema associated with fasting prior to necropsy ≥ 30 mg/kg/day: ↑ serum cholesterol (F) 150 mg/kg/day: pink stained cage paper; ↑ cecum weight; 136-fold ↑ in percentage of chenodeoxycholic acid in fecal bile acids	[redacted]	No	4.2.3.2-12
Rat/Sprague Dawley	Oral, diet admix	2 weeks	150, 500, 1000, 2000	7M + 7F	2000	≥ 150 mg/kg/day: ↓ food consumption; ↓ weight gain; ↑ incidences of decreased defecation ≥ 150 mg/kg/day: ↑ in liver enzymes and/or ↓ liver weights (M) 2000 mg/kg/day: ↑ in liver enzymes and/or ↓ liver weights (F)	[redacted]	No	4.2.3.2-19
Dog/Beagle	Oral capsule/ (neat in gelatin capsule)	2 weeks	1, 4, 12, 30	4M + 4F	30	≥ 1 mg/kg/day: ↑ fecal bile acids; ↑ activities of hepatic cholesterol 7α- hydroxylase and HMG-CoA reductase 30 mg/kg/day: ↑ hepatic CYP4A1 mRNA (F); ↓ serum cholesterol	[redacted]	No	4.2.3.2-22
Monkey/ Rhesus	Oral capsule/ (neat in gelatin capsule)	2 weeks	5, 50	5M	50	≥ 5 mg/kg/day: dose-related ↑ fecal bile acid levels and mRNA levels of hepatic cholesterol 7α-hydroxylase and HMG-CoA reductase 50 mg/kg/day: slight ↑ serum bile acid	[redacted]	No	4.2.3.2-27

F: female; HMG-CoA: 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A; M: male; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; ↓: decrease; . ↑: increase.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7A 反復投与毒性試験〔マウス 4 週間経口投与（5 日間、用量設定）〕

被験物質：Maralixibat

Report Title: 28-Day Repeated Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in CByB6F1 Mice With a Preliminary 5-Day Range-Finding Toxicity Study				Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-1	
Species/Strain: Mouse/rasH2-Wt	Duration of Dosing: 28 days			GLP Compliance: Yes			
	Duration of Postdose: Not applicable						
Initial Age: 5-6 weeks	Method of Administration: Oral gavage						
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]-	Vehicle/Formulation: Deionized water						
Special Features: In the 5-day-dose range study, 5 mice/sex/group were administered vehicle (deionized (DI) water) or maralixibat in vehicle at doses of 125, 250 500, 1000 and 2000 mg/kg/day. There were no mortality, no test article related effects on body weights or body weight gains following 5-days of administration. Clinical signs included prostration and labored breathing at 500 mg/kg/day and diarrhea, decreased motor activity and\or hunched posture along with ruffled fur at 1000 and/or 2000 mg/kg/day. Based upon these data, the dose levels selected for the 28-day phase were 250, 1000 and 2000 mg/kg/day.							
Maximum Tolerated Dose: < 250 mg/kg							
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		250		1000		2000	
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Toxicokinetics								
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	74.9	302	949	814	2170	1240
AUC_{last} (ng•h/mL)	NA	NA	626	1480	6401	12151	10934	9991
Day 27								
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	192	530	599	877	2070	1750
AUC_{last} (ng•h/mL)	NA	NA	912	1642	5234	5767	24180	21220
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	2	1	4	5	2
Body Weight Day 29 (g) [a]	25.39	20.99	-2.95	-2.95	-5.12	-5.57	-3.03	-4.43
Body Weight Change Day 1-29 (g) [a]	1.45	1.83	-22.8	-44.8	-90.3	-45.4	-51.7	-25.7
Food Consumption Day 1-29 (g) [a]	3.298	4.008	6.9	2.4	8.1	8.2	32.5*	-1.3
Clinical Observations								
Decreased motor activity	0	0	0	2	1	2	3	1
Ruffled fur	0	0	1	0	3	2	6	6
Hunched posture	0	0	0	0	2	1	4	1
Labored breathing	0	0	0	0	0	1	0	1

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7A 反復投与毒性試験〔マウス 4 週間経口投与（5 日間、用量設定）〕（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 28-Day Repeated Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in CByB6F1 Mice With a Preliminary 5-Day Range-Finding Toxicity Study				Study No. : [redacted]-[redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-1		
Hematology [a]								
Leukocyte ($\times 10^3/\mu L$)	7.428	4.358	4.4	12.9	-34.3*	-3.5	-43.3*	5.0
Lymphocyte ($\times 10^3/\mu L$)	5.906	3.690	-0.1	7.8	-41.9*	-9.8	-56.1*	-15.6
Neutrophil ($\times 10^3/\mu L$)	0.912	0.426	35.5	27.2	7.5	36.6	24.1	159.6*
Serum Chemistry	--	--	--	--	--	--	--	--
Organ Weights [a]								
Spleen, absolute (g)	0.06687	0.08083	--	-21.9	-15.7	-24.3	-34.1	-45.3
Spleen, TBW (%)	0.26	0.39	--	-19.9*	-11.3*	-20.2*	-32.1*	-43.2*
Spleen, BrW Ratio (%)	16.33	18.70	--	--	--	--	-33.3*	-43.7*
Testes, absolute (g)	0.24035	--	--	--	--	--	-9.4*	--
Testes, TBW (%,)	0.95	--	--	--	--	--	--	--
Testes, BrW Ratio (%)	58.57	--	--	--	--	--	--	--
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Histopathology								
Stomach								
Hyperplasia (Non-glandular epithelium)	0	0	0	0	0	1	0	3
Hyperkeratosis (Non-glandular epithelium)	0	0	0	0	0	3	2	2
Vacuolation (Non-glandular epithelium)	0	0	0	1	0	3	2	0
Nasal Cavity, exudative inflammation								
Minimal	0	1	2	1	2	0	0	0
Mild	0	0	1	4	4	3	3	1
Moderate	0	0	0	0	4	2	6	6
Marked	0	0	0	0	0	0	0	2
Kidney Dilation, Tubules, Bilateral								
Minimal	0	0	0	2	0	1	3	0
Mild	0	0	0	0	1	1	1	0

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7A 反復投与毒性試験〔マウス 4 週間経口投与（5 日間、用量設定）〕（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 28-Day Repeated Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in CByB6F1 Mice With a Preliminary 5-Day Range-Finding Toxicity Study					Study No. : [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-1	
Testes, degeneration								
Minimal	0	--	0	--	0	--	2	--
Mild	0	--	0	--	0	--	1	--
Epididymides, increased cellular debris Minimal	0	--	0	--	0	--	4	--
Mammary gland, atrophy Minimal	--	0	--	0	--	3	--	4
Ovaries, decreased corpora lutea Marked	--	0	--	0	--	3	--	6
Vagina								
Anestrus	--	0	--	0	--	1	--	4
Mucification								
Minimal	--	0	--	0	--	0	--	1
Moderate	--	0	--	0	--	1	--	3
Uterus, Atrophy								
Minimal	--	0	--	1	--	0	--	0
Mild	--	0	--	1	--	3	--	2
Moderate	--	0	--	0	--	0	--	3

--: no noteworthy findings; AUC_{last}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to the last measurable concentration; BrW Ratio: relative to brain weight; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; NA: not applicable; TBW: relative to body weight.

* Statistically significant compared to vehicle control, Dunnett's test, $p < 0.05$

[a] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical comparisons are based on the absolute values.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7B 反復投与毒性試験（マウス、4 週間経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 28-Day Repeated Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in CByB6F1 Mice				Study No. : [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-2	
Species/Strain: Mouse/rasH2-Wt		Duration of Dosing: 28 days (Main Study) and up to 27 days (TK Study)			GLP Compliance: Yes			
Initial Age at Dosing: 7 weeks		Method of Administration: Oral Gavage, once daily						
Date of First Dose: Main and TK [redacted] & [redacted] 20[redacted] (males and females, respectively)		Vehicle: Deionized Water						
Maximum Tolerated Dose: 25 mg/kg/day								
Toxicokinetics, Days 1 and 27								
Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Vehicle Control)		25		75		150	
Number of Toxicokinetic Animals		M:8	F:8	M:38	F:38	M:38	F:38	M:38	F:38
Toxicokinetic Animals Mortality		0	0	0	0	0	0	0	0
C_{max} (ng/mL)	Day 1	NA	NA	32.2	90.6	138	514	119	1210
	Day 27	NA	NA	25.2	70.2	51.0	474	128	563
t_{max} (h)	Day 1	NA	NA	8.00	4.00	4.00	2.00	0.50	4.00
	Day 27	NA	NA	2.00	0.50	4.00	0.50	4.00	0.50
AUC_{last} (ng•h/mL)	Day 1	NA	NA	144	551	1098	1619	861	6517
	Day 27	NA	NA	182	356	514	876	1196	1228
Toxicity, 28-Day									
Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Vehicle Control)		25		75		150	
Number of Toxicity Animals		M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Toxicity Animals Mortality		0	0	0	0	0	0	0	0
Noteworthy Findings									
Clinical Observations Incidence (Cage side and Hands-On)									
Decreased Motor Activity		--	--	3	2	6	--	3	3
Ruffled Fur		--	--	2	--	5	--	7	1
Hunched Posture		--	--	-	2	2	2	5	3
Body Weight, Day 29 (g) [a]		25.18	20.67	-3.8	-0.1	-7.3*	-4.0	-8.5**	-4.9
Body Weight Change, Day1- 29 (g) [a]		2.17	1.19	-57.1*	11.8	-88.5**	-35.3	-106.0**	-62.2
Food Consumption Mean, Day 1-29 (g) [a]		4.151	4.511	-22.1**	-18.1	-21.3**	-21.0*	-25.6**	-10.9

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7B 反復投与毒性試験（マウス、4 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 28-Day Repeated Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in CByB6F1 Mice				Study No. : [redacted]- [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-2	
Clinical Pathology								
Hematology	--	--	--	--	--	--	--	--
Serum Chemistry	--	--	--	--	--	--	--	--
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Organ Weights [a]								
Ovaries, absolute (g)	NA	0.01037	NA	-25.5*	NA	-40.1*	NA	-33.2*
Ovaries, TBW (%)	NA	0.05	NA	-25.6*	NA	-38.0*	NA	-30.1*
Ovaries, BrW Ratio (%)	NA	2.25	NA	-26.8*	NA	-42.3*	NA	-31.8*
Histopathology								
Ovaries, Decreased corpora lutea								
Mild	NA	0	NA	0	NA	2	NA	3
Nasal Cavity, Exudative inflammation								
Minimal	0	0	1	1	1	1	2	0
Mild	0	0	3	3	5	5	4	6
Moderate	0	0	2	1	2	1	2	1
Conclusion: Based on the clinical signs and histopathologic findings, in both sexes as well as the effects on body weights, body weight changes and food consumption in the mid- and high dose groups (75 and 150 mg/kg/day) in both sexes, the maximum tolerated dose of maralixibat after once daily oral dosing in CByB6F1 mice for 28 days is 25 mg/kg/day.								

--: no noteworthy findings; AUC_{last}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to the last measurable concentration; BrW Ratio: relative to brain weight; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; NA: not applicable; TBW: relative to body weight; t_{max}: time to reach maximum plasma concentration.

[a] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical comparisons are based on the absolute values.

[b] Actual % values shown for change relative to Day 1 (+ = gain; - = loss)

* or ** Statistically significant compared to vehicle control, Dunnett's test, $p < 0.05$ or $p < 0.01$

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7C 反復投与毒性試験（マウス、4 週間経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 4-Week Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study With SHP625 [Maralixibat] in 001178-W (Wild Type) Ras H2 Mice					Study No. : [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-3	
Species/Strain: Mouse/rasH2-Wt			Duration of Dosing: 28 days		GLP Compliance: Yes				
Initial Age: 8 to 9 weeks			Duration of Postdose: Not applicable						
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			Method of Administration: Oral gavage						
-			Vehicle/Formulation: Deionized water						
Special Features: NA									
Maximum Tolerated Dose: 250 mg/kg/day									
Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		25		75		250	
Number of Animals		M: 3	F: 3	M: 18	F: 18	M: 18	F: 18	M: 18	F: 18
Toxicokinetics									
C_{max} (ng/mL)	Day 1	NA	NA	17.6	52.5	69.2	85.0	153	259
	Day 28	NA	NA	11.2	16.7	287	38.7	64.5	83.9
AUC_{24} (ng·h/mL)	Day 1	NA	NA	NC	338	195	716	1050	1090
	Day 28	NA	NA	129	128	462	248	436	1510
Toxicity, 28-Day									
Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		25		75		250	
Number of Toxicity Animals		M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Toxicity Animals Mortality		0	0	0	0	0	0	0	0
Noteworthy Findings:									
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight Day 28 (g) [a]		30.7	23.6	-3.6	-2.5	-6.5	-2.5	-8.1	-5.1
Body Weight Change Day 1-28 (g) [a]		2.8	2.0	-35.7	-15.0	-60.7	-10.0	-85.7*	-30.0
Food Consumption Day 22-28 (g) [a]		4.2	3.4	-2.4	-11.8	-11.9	-5.9	-4.8	-2.9
Clinical Observations		--	--	--	--	--	--	--	--
Hematology		--	--	--	--	--	--	--	--
Serum Chemistry									
Total protein (g/dL)		5.0	4.9	-2.0	-6.1	-4.0	-4.1	-4.0	-6.1
Albumin (g/dL)		3.4	3.6	-2.9	-8.3*	-2.9*	-2.8	-5.9*	-5.6
AST (U/L)		51	64	-2.0	14.1	66.7*	25.0	88.2*	53.1
ALT (U/L)		34	22	11.8	59.1	17.6	40.9	70.6	163.6

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7C 反復投与毒性試験（マウス、4 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 4-Week Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study With SHP625 [Maralixibat] in 001178-W (Wild Type) Ras H2 Mice				Study No. : [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-3	
Organ Weights [a]								
Kidney (g)	0.4502	0.3399	-4.3	-5.0	-6.9	-9.8*	-8.0	-13.0*
Body weight ratio (%)	1.5138	1.4927	-1.8	-1.6	-1.6	-5.8	-0.7	-9.6*
Brain weight ratios (%)	90.0200	65.7126	-0.1	-1.7	-3.3	-6.0	-6.5	-14.3*
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Histopathology								
Nasal turbinates								
Debris, cellular, lumen								
Minimal	1	0	0	2	1	2	0	0
Slight	0	0	4	0	4	0	5	4
Moderate	0	0	0	0	3	3	2	1
Degeneration/necrosis epithelium								
Minimal	0	0	1	0	0	0	1	0
Slight	0	0	0	0	2	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	1
Marked	0	0	0	0	0	1	0	0
Exudate, lumen								
Minimal	2	1	2	0	0	2	2	0
Moderate	0	0	2	0	5	4	4	3
Inflammation, mononuclear cell								
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	0
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver, hypertrophy, hepatocellular								
Minimal	0	0	4	3	4	1	1	2
Slight	0	0	4	0	6	2	5	6
Moderate	0	0	0	0	0	0	3	0

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7C 反復投与毒性試験（マウス、4 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 4-Week Oral Gavage Dose Range-Finding Toxicity and Toxicokinetic Study With SHP625 [Maralixibat] in 001178-W (Wild Type) Ras H2 Mice	Study No. : [redacted]-[redacted]	添付資料番号：4.2.3.2-3

Kidney, hypertrophy, tubule cell, outer medulla								
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	0
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0

--: no noteworthy findings; ALT: alanine aminotransferase; ANOVA: analysis of variance; AST: aspartate aminotransferase; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; NA: not applicable.

*$p \leq 0.05$; ANOVA and Dunnett's test.

[a] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical comparisons are based on the absolute values.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7D 反復投与毒性試験（マウス、13 週間経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen Week Study of SD-5613 [Maralixibat] Administered by Gavage to Mice						Study No.: [redacted]				添付資料番号：4.2.3.2-4	
Species/Strain: Mouse/CD-1		Duration of Dosing: 13 weeks				GLP Compliance: Yes					
Initial Age at Dosing: ~ 7 weeks		Method of Administration: Oral gavage									
Date of First Dose: [redacted]19[redacted]		Vehicle: Distilled water									
Special Features: NA		NOAEL – 150 mg/kg/day									
Toxicokinetics Days 1 and 86											
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:50	F:50	M:150	F:150	M:500	F:500	M:1000	F:1000
Number of Animals [a]		0	0	48	48	48	48	48	48	48	48
Toxicokinetics [b]											
C_{max} (ng/mL)	Day 1	NA	NA	93.7 (35.0)		105		395		665	
	Day 86	NA	NA	22.1		71.8		325 (230)		484	
AUC_{24} (ng·hr/mL)	Day 1	NA	NA	368 (309)		941		2240 (2420)		4970 (5080)	
	Day 86	NA	NA	142		529		1810 (1710)		3530	
BA (%)	Day 1	NA	NA	0.380 (0.319)		0.324		0.231 (0.250)		0.257 (0.262)	
	Day 86	NA	NA	0.147		0.182		0.187 (0.177)		0.182	
Toxicity, 13-Week Study [c]											
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:50	F:50	M:150	F:150	M:500	F:500	M:1000	F:1000
Number of Animals		15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
Noteworthy Findings											
Died or Sacrificed Moribund		1	0	1	0	3	3	3	5	5	8
Clinical Observations											
Distended abdomen		0	0	0	0	0	0	1	1	3	3
Body Weight (g) [d,e]		35.2	28.7	-5.4	-4.9	-0.3	-5.2	-9.4**	-14.6**	-16.8**	-5.9
Body weight change (g) [d,e]											
Day 0-29		3.15	3.01	-44.8	-15.6	-39.0	-7.6	-76.8**	-45.5*	- 100.0**	-30.2
Day 0-91		6.41	5.44	-27.6	-21.3	0.9	-18.8	-39.6	-65.4**	-82.2**	-19.9
Food consumption (g) [d,e]											
Day 22-29		4.9	5.4	0.0	-7.4	-4.1	-7.4	-10.2	-18.5**	-14.3*	-14.8**
Day 85-91		5.1	5.0	-2.0	2.0	-5.9	-6.0	-11.8**	-18.0*	-13.7	-10.0

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7D 反復投与毒性試験（マウス、13 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen Week Study of SD-5613 [Maralixibat] Administered by Gavage to Mice					Study No.: [redacted]				添付資料番号：4.2.3.2-4	
Hematology ($\times 10^3/\mu L$) [d,e]										
WBC	5.422	6.136	48	38	12	-10	-1	20	91	3
Neutrophils	1.560	1.303	7	61	-18	-14	-11	206	90*	49
Lymphocytes	3.488	4.510	68	25	28	-11	5	-31	69	-8
Monocytes	0.190	0.185	37	13	-8	7	-14	-32	188*	-62
Basophils	0.020	0.180	50	67	13	25	-17	122	117	94
Eosinophils	0.138	0.100	16	354	-15	60	9	-60	501	-20
Large Unstained cells	0.028	0.030	21	11	16	-33	-52	167	90*	83
Coagulation [d,e]										
PT (seconds)	7.6	7.7	11*	-3	4	-1	9	-3	63	-1
APTT (seconds)	25.6	32.2	50	-10	59	1	41	-2	128**	-6
Clinical Chemistry [d,e]										
Bile Acids (µmol/L)	19.880	15.840	-7	2	4	-3	-8	-11	-37*	10
CHOL (mg/dL)	123.00	105.200	13	-18	11	0	12	29	33	-13
HDL (mg/dL)	125.98	106.36	12	-16	11	-5	11	29	28	-11
Na (mmol/L)	162.60	163.00	-1	2	2	5*	3	1	-6	4
Fecal Bile Acids (µmoles/kg/day) [d]										
Week 4	39.05	257.55	486	68	646	86	1090	94	1189	109
Week 8	100.58	232.17	90	78	180	119	364	157	406	89
Week 12	100.60	295.69	98	29	154	18	251	70	347	71
Organ Weights (g) [d,e]										
Cecum	0.1857	0.1733	-7	8	6	6	41**	56**	57**	114**
Colon/Rectum	0.3566	0.3467	-6	6	2	0	-1	5	12	14
Spleen	0.0819	0.0971	-1	-2	-16	-21**	-22**	33	-34**	-16
Thymus	0.0255	0.0357	2	-17	-11	-14	2	-33**	-12	-40**
Lungs	0.2156	0.2295	7	-5	3	-12*	2	-5	10	-6
Macroscopic Findings	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7D 反復投与毒性試験（マウス、13 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen Week Study of SD-5613 [Maralixibat] Administered by Gavage to Mice	Study No.: [redacted]				添付資料番号：4.2.3.2-4
Microscopic Findings					
Accumulation of Alveolar Macrophages (Histiocytosis)					
Unscheduled Deaths	0/1	0/1	0/6	0/8	2/13
Scheduled Deaths	1/29	0/29	0/24	3/22	5/17
Inflammation (Peribronchial, alveolar, and/or interstitial)					
Unscheduled Deaths	0/1	0/1	0/6	2/8	2/13
Scheduled Deaths	0/29	3/29	0/24	2/22	5/17
Interstitial Fibrosis					
Unscheduled Deaths	0/1	0/1	0/6	0/8	0/13
Scheduled Deaths	0/29	0/29	0/24	1/22	3/17
Necrosis					
Unscheduled Deaths	0/1	0/1	4/6	5/8	4/13
Scheduled Deaths	0/29	0/29	0/24	0/22	0/17

--: no noteworthy findings; APTT: activated partial thromboplastin time; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; BA: bioavailability; CHOL: serum cholesterol concentration; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; HDL: serum high density lipoprotein concentration; M: male; NA: not applicable; Na: serum sodium concentration; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; PT: prothrombin time; WBC: white blood cell.

* Significant at the 5% level; ** Significant at the 1% level; Dunnett's Multiple Comparison Test (two-tailed) for In-life body weights, cumulative body weight changes, food consumption data. Decision-tree analysis (two-tailed) for Clinical pathology data, terminal body weights, absolute organ weights and organ/body weight ratios were evaluated by decision-tree statistical analyses which, depending on the results of tests for normality and homogeneity of variances (Bartlett-Box test), utilized either parametric (Dunnett's test and linear regression) or nonparametric (Kruskal- Wallis, Jonckheere's and/or Mann-Whitney test) routines to detect differences and analyze for trend.

[a] 3/sex/group at each timepoint bled for toxicokinetics

[b] Combined male and female data.

[c] Unless indicated otherwise (fecal bile acids) control means are presented and percent difference from control is presented for all treated groups. Statistical analysis was conducted on absolute data.

[d] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown.

[e] Statistical comparisons are based on the absolute values.

Values in parenthesis are mean following removal of statistical outliers.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7E 反復投与毒性試験（マウス、13 週間経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen Week Dietary Study in Mice					Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-5	
Species/Strain: Mouse/CD-1		Duration of Dosing: 13 weeks			GLP Compliance: Yes				
Initial Age at Dosing: ~ 7 weeks		Method of Administration: Oral gavage							
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Vehicle: 1.5% methylcellulose (w/v) and 0.1% polysorbate 80 (v/v) in distilled water							
Special Features: NA					NOAEL – 750 mg/kg/day				
Toxicokinetics Days 1 and 80									
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:50	F:50	M:250	F:250	M:750	F:750
Number of Animals [a]		0	0	24	24	24	24	24	24
Toxicokinetics [b]									
C_{max} (ng/mL)	Day 1	NA		36.1		1220 (60.1) [c]		140	
	Day 80	NA		26.2		122		156	
AUC_{24} (ng•h/mL)	Day 1	NA		192		1850 (665) [c]		1390	
	Day 80	NA		126		666 (694) [c]		1500	
BA (%)	Day 1	NA		0.198		0.382 (0.137) [c]		0.0955	
	Day 80	NA		0.130		0.138 (0.143) [c]		0.103	
Toxicity, 13-Week Study									
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:50	F:50	M:250	F:250	M:750	F:750
Number of Animals		15	15	15	15	15	15	15	15
Noteworthy Findings									
Died or Sacrificed Moribund [d]		3 (2)	2 (2)	1	5 (3)	3	7 (4)	8 (3)	8 (7)
Clinical Observations		--	--	--	--	--	--	--	--
Abdominal distention		--	--	--	--	--	--	--	1
Body weight change (g) [e,f]									
Day 0-30		1.76	1.44	-5.7	-18.8	-44.9	39.6	-91.5*	72.9
Day 0-91		4.84	3.68	-13.0	-25.8	-45.2	-9.0	-68.0**	-16.3
Food consumption (g) [e,f]		--	--	--	--	--	--	--	--
Hematology		--	--	--	--	--	--	--	--

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7E 反復投与毒性試験（マウス、13 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen Week Dietary Study in Mice				Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-5	
Clinical Chemistry								
CHOL (mg/dL) [e,f]	118.0	109	15	-5	12	0	6	41*
Fecal Bile Acids (µmoles/kg/day) [e]								
Week 4	182	286	60	38	50	88	194	128
Week 12	322	394	-2	36	14	161	125	123
Organ Weights (g) [e,f]								
Cecum	0.2943	0.2588	-1	15	31*	20	47**	89**
Colon	0.3968	0.3800	4	-1	9	2	22*	23**
Macroscopic Findings	--	--	--	--	--	--	--	--
Microscopic Findings [g]	--	--	--	--	--	--	--	--

--: no noteworthy findings, APTT: activated partial thromboplastin time; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; BA: bioavailability; CHOL: serum cholesterol concentration; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; NA: not applicable; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; PT: prothrombin time; SD: study day; WBC: white blood cell.

* Significant at the 5% level; ** Significant at the 1% level; Dunnett's Multiple Comparison Test (two-tailed) for In-life body weights, cumulative body weight changes, food consumption data. Decision-tree analysis (two-tailed) for Clinical pathology data, terminal body weights, absolute organ weights and organ/body weight ratios were evaluated by decision-tree statistical analyses which, depending on the results of tests for normality and homogeneity of variances (Bartlett-Box test), utilized either parametric (Dunnett's test and linear regression) or nonparametric (Kruskal- Wallis, Jonckheere's and/or Mann-Whitney test) routines to detect differences and analyze for trend.

[a] 3/sex/group at each timepoint bled for toxicokinetics

[b] Combined male and female data.

[c] Values in parenthesis are the mean excluding statistical outliers.

[d] Accidental deaths (as a result of gavage trauma confirmed by Necropsy observations) are in parentheses.

[e] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown.

[f] Statistical comparisons are based on the absolute values.

[g] There were no histologic changes attributable to systemic toxicity of maralixibat. However, there were several pulmonary lesions (fibrin deposition, inflammatory infiltrate, necrosis, hemorrhage). These histopathologic changes were considered secondary to gavage trauma or inadvertent aspiration of minute quantities of dose suspension during the gavage procedures.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7F 反復投与毒性試験（マウス、4 週間混餌投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 4-Week Range-Finding of SD-5613 [Maralixibat] Given in the Diet to Transgenic Mice				Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-9	
Species/Strain: Mouse/rasH2-Tg		Duration of Dosing: 28 days		GLP Compliance: Yes			
Initial Age: 8-9 weeks		Duration of Postdose: Not applicable					
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Method of Administration: Dietary					
-		Vehicle/Formulation: Purina Certified Rodent Chow #5002 (meal)					
Special Features: NA							
Maximum Tolerated Dose: 4400 and 5500 mg/kg/day in males and females, respectively							
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		2000		5000		10000	
Number of Animals	M: 19	F: 19	M: 19	F: 19	M: 19	F: 19	M: 19	F: 19
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)	NA	NA	227	191	448	541	1480	1440
Toxicokinetics AUC_{24} (ng·h/mL)	NA	NA	3510	3670	7250	10900	26000	31500
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	2	0	1
Body Weight Day 35 (g) [a,b]	26.2	21.1	-3.4	0.5	-4.2*	0.0	-19.8**	-14.7**
Body Weight Change Day 0-35 (g) [a,b]	1.47	1.84	-75.5	-12.5	-76.9*	-25.0	-315.0**	-165.8**
Food Consumption D28-35 (g) [a,b]	4.9	5.0	-8.2	-4.0	-6.1	-10.0	-24.5**	-28.0**
Clinical Observations								
Defecation	--	--	1	1	5	1	6	8
Hematology [a,b]								
PT (seconds)	7.5	7.4	9.3	0.0	18.7**	0.0	74.7**	17.6**
APTT (seconds)	27.8	27.8	13.7	-2.2	21.6	-1.4	87.1**	15.1
WBC ($\times 10^3$/mL)	7.3667	6.4400	-8.9	-10.4	-24.7	-1.1	52.9**	-53.1**
Lymphocytes ($\times 10^3$/mm^3)	5.8483	5.4383	-15.4	-15.2	-35.3	-17.4	-69.1**	-64.5**
Serum Chemistry [a,b]								
ALT (U/L)	38.2857	37.5714	38.1*	31.6	55.2**	34.1	204.9**	156.0**
AST (U/L)	65.8571	76.4286	47.1*	31.2*	40.3*	25.3*	108.0**	70.7*
CHOL (mg/dL)	111.8333	81.2000	3.6	16.0	-4.9	12.8	-21.9**	8.7
Fecal Bile Acids (µmole/day/kg) [a]	311.75	481.62	142.6	103.9	141.4	136.0	183.3	26.4

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7F 反復投与毒性試験（マウス、4 週間混餌投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 4-Week Range-Finding of SD-5613 [Maralixibat] Given in the Diet to Transgenic Mice				Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-9	
Organ Weights (g) [a,b]								
Cecum	0.1847	0.1739	60.0**	48.6**	61.8**	65.6**	83.9**	59.2**
Colon	0.2856	0.2689	-6.3	6.0	0.1	21.7**	-8.1	-0.1
Spleen	0.0870	0.0895	-17.9**	-9.4	-19.2**	-4.4	-62.2**	-60.7**
Thymus	0.0652	0.0672	-25.8	5.1	-28.1*	-6.5	-78.8**	-76.2**
Liver	1.4549	1.1354	-4.7	-1.3	-6.7	0.3	-24.4**	-12.3
Gross Pathology								
Spleen (atrophy/small)	0	0	0	1	0	0	9	6
Thymus absent	0	0	0	0	0	0	4	0
Thymus small	0	0	1	0	0	0	5	6
Histopathology								
Cecum Hyperplasia, adaptive	0	0	1	0	3	5*	9**	9**
Spleen Hypoplasia, red pulp	0	0	0	0	0	1	10**	9**
Thymus atrophy	0	0	0	0	0	2	6**	5**
Ovary, inactive	--	0	--	0	--	2	--	10**
Uterus, inactive	--	0	--	0	--	2	--	10**
Vagina, inactive	--	0	--	0	--	2	--	10**

--: no noteworthy findings; APTT: activated partial thromboplastin time; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; CHOL: cholesterol; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; NA: not applicable; PT: prothrombin time; WBC: white blood cell.

* $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$.

[a] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown.

[b] Statistical comparisons are based on the absolute values.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7G 反復投与毒性試験（マウス、4 週間混餌投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 4-Week Range-Finding Study Administered Orally to Tg*gras* Mice											Study No.: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.2-10
Species/Strain: Mouse/rasH2-Tg		Duration of Dosing: 4 weeks									GLP Compliance: Yes	
Initial Age at Dosing: 16-17 weeks		Method of Administration: Oral, diet admix										
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Vehicle: Diet admix										
Special Features: NA		NOAEL – 2000 mg/kg/day										
Toxicokinetics												
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:75	F:75	M:500	F:500	M:1000	F:1000	F:2000	F:2000	
Number of Animals [a]		0	0	12	12	12	12	12	12	12	12	
Toxicokinetics [b]												
C_{max} (ng/mL)	Day 28	NA		3.23		14.5		26.0		51.8		
AUC_{24} (ng·hr/mL)	Day 28	NA		71.5		319		545		1090		
BA (%)	Day 28	NA		0.0492		0.0329		0.0281		0.0281		
Toxicity, 4-Week Study [c]												
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:75	F:75	M:500	F:500	M:1000	F:1000	M:2000	F:2000	
Number of Animals		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
Clinical Observations		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
Body Weight (g) [d]		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
Body weight change (g) [d]		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
Food consumption (g) [d]		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
Hematology [d]		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
Coagulation [d]												
PT (seconds)		7.7	7.4	0	1.4	1.3	1.4	5.2**	2.7	5.2*	1.4	
APTT (seconds)		24.4	27.3	12.2	4.4	5.7	-2.9	16.3*	-6.3	17.2*	-4.0	
Clinical Chemistry [d]												
CHOL (mg/dL)		98.8	72.6	16	22	24*	23*	19	28*	22*	33**	
HDL (mg/dL)		95.18	71.3	15	22**	12	20*	18	28**	23*	30**	
Bile Acids (µmol/L)		13.86	12.9	4	20	12	28*	1	32*	7	41**	
SDH (U/L)		49.40	39.78	0.5	7	69	4	42	22	38	58**	
AST (U/L)		70.4	63.6	4	21	34	10	22	18	18	49**	

Report Title: 4-Week Range-Finding Study Administered Orally to T*gras* Mice					Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-10		
Organ Weights (g) [d]										
Cecum	0.2913	0.2685	-7	6	-8	-6	11	22	47**	63**
Heart	0.1959	0.1661	-2	-5	-9	-9	-10	-11*	-4	-12*
Spleen	0.0841	0.1143	7	-5	2	-11	-4	-16	-6	-18*
Kidney	0.5636	0.4254	2	2	-2	-1	-1	-7*	-1	-9*
Macroscopic Findings	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Microscopic Findings	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

--: no noteworthy findings; APTT: activated partial thromboplastin time; AST: aspartate aminotransferase; AUC_{24}: area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BA: bioavailability; CHOL: total cholesterol; C_{max}: maximum plasma concentration; F: Female(s); GLP: Good Laboratory Practices; HDL: high density lipoprotein; M: male(s); NA: not applicable; PT: prothrombin time; SDH: sorbitol dehydrogenase.

* Significant at the 5% level; ** Significant at the 1% level; Dunnett's Multiple Comparison Test (two-tailed) for In-life body weights, cumulative body weight changes, food consumption data. Decision-tree analysis (two-tailed) for Clinical pathology data, terminal body weights, absolute organ weights and organ/body weight ratios were evaluated by decision-tree statistical analyses which, depending on the results of tests for normality and homogeneity of variances (Bartlett-Box test), utilized either parametric (Dunnett's test and linear regression) or nonparametric (Kruskal- Wallis, Jonckheere's and/or Mann-Whitney test) routines to detect differences and analyze for trend.

[a] 3/sex/group at each timepoint bled for toxicokinetics

[b] Combined male and female data.

[c] Unless indicated otherwise (fecal bile acids) control means are presented and percent difference from control is presented for all treated groups.

[d] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical comparisons are based on the absolute values.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7H 反復投与毒性試験（マウス、13 週間混餌投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen Week Dietary Study in Mice				Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-11		
Species/Strain: Mouse/CD-1		Duration of Dosing: 13 weeks		GLP Compliance: Yes				
Initial Age at Dosing: ~ 8 weeks		Method of Administration: diet admix						
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Vehicle: Distilled water						
Special Features: NA		NOAEL – 750 mg/kg/day						
Toxicokinetics Days 2 and 80								
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:50	F:50	M:250	F:250	M:750	F:750
Number of Animals [a]		0	0	24	24	24	24	24	24
Toxicokinetics [b]									
C_{max} (ng/mL)	Day 2	NA		2.95		10.5		26.8	
	Day 80	NA		3.41		10.2		22.6 (21.9) [d]	
AUC_{24} (ng·hr/mL)	Day 2	NA		55.1		236		580	
	Day 80	NA		60.8		203		493 (453) [d]	
BA (%)	Day 2	NA		0.0569		0.0487		0.0399	
	Day 80	NA		0.0628		0.0419		0.0399 (0.0312) [d]	
Toxicity, 13-Week Study [c]									
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:50	F:50	M:250	F:250	M:750	F:750
Number of Animals		15	15	15	15	15	15	15	15
Died or Sacrificed Moribund		1	0	1	0	0	0	0	0
Clinical Observations		--	--	--	--	--	--	--	--
Body Weight (g) Day 91 [e,f]		39.3	29.3	-3.8	-2.0	-6.1*	0.3	-6.1*	-1.7
Body weight change (g) Day1-91 [e,f]		6.67	4.41	-23.1	-11.3	-33.1*	-1.4	-34.9**	-8.03
Food consumption (g)		--	--	--	--	--	--	--	--
Hematology		--	--	--	--	--	--	--	--
Coagulation [e,f]									
PT (seconds)		7.6	7.5	18.4**	-1.3	53.9**	0.0	32.9**	1.3
APTT (seconds)		32.4	31.0	19.8*	21.9**	25.6	10.0	36.1**	12.3

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7H 反復投与毒性試験（マウス、13 週間混餌投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen Week Dietary Study in Mice					Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-11	
Clinical Chemistry	--	--	--	--	--	--	--	--
Fecal Bile Acids (µmol/day/kg) [e]								
Week 4	52	238	590	245	560	226	581	271
Week 12	104	244	296	245	283	188	261	255
Organ Weights (g) [e,f]								
Cecum	0.2566	0.2590	12	9	27*	19	29*	10
Colon/Rectum	0.3927	0.4128	7	-5	9	-4	7	-1
Macroscopic Findings	--	--	--	--	--	--	--	--
Microscopic Findings	--	--	--	--	--	--	--	--

--: no noteworthy findings; APTT: activated partial thromboplastin time; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; BA: bioavailability; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; NA: not applicable; PT: prothrombin time.

* Significant at the 5% level; ** Significant at the 1% level; Dunnett's Multiple Comparison Test (two-tailed) for In-life body weights, cumulative body weight changes, food consumption data. Decision-tree analysis (two-tailed) for Clinical pathology data, terminal body weights, absolute organ weights and organ/body weight ratios were evaluated by decision-tree statistical analyses which, depending on the results of tests for normality and homogeneity of variances (Bartlett-Box test), utilized either parametric (Dunnett's test and linear regression) or nonparametric (Kruskal- Wallis, Jonckheere's and/or Mann-Whitney test) routines to detect differences and analyze for trend.

[a] 3/sex/group at each timepoint bled for toxicokinetics

[b] Combined male and female data.

[c] Unless indicated otherwise (fecal bile acids) control means are presented and percent difference from control is presented for all treated groups.

[d] Values in parenthesis are the mean excluding statistical outliers.

[e] For controls, group means are shown; for treated groups, percent difference from controls are shown.

[f] Statistical comparisons are based on the absolute values.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7I 反復投与毒性試験（ラット、2 週間経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Two-Week Range-Finding Toxicity Study of SC-76663 [Maralixibat] in The Rat						Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-12			
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		Duration of Dosing: 14 days (Main Study)				GLP Compliance: No					
Initial Age at Dosing: 5-6 weeks		Method of Administration: Oral Gavage, once daily									
Date of First Dose: [redacted] 19[redacted] Main and TK		Vehicle: 0.5% methylcellulose (w/v) and 0.1% polysorbate 80 (v/v) in distilled water.									
Toxicokinetics, 1 and 14-Day											
Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Vehicle Control)		1		5[d]		30		150[d]	
Number of Toxicokinetic Animals		M:0	F:0	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6
Toxicokinetic Animals Mortality		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Toxicokinetics [a]											
C_{max} (ng/mL)	Day 1	--	--	0.00 [b]		0.842 ± 0.842 [b]		8.31 ± 5.48		12.2 ± 7.73	
	Day 14	--	--	0.737 ± 0.737 [b]		0.750 ± 0.750 [b]		4.04 ± 1.52		19.3 ± 12.8	
t_{max} (h)	Day 1	--	--	NA [c]		2		1		2	
	Day 14	--	--	24		3		2		1	
AUC_{24} (ng·hr/mL)	Day 1	--	--	0.00		1.68		39.4		92.7	
	Day 14	--	--	6.09		4.39		14.3		129	
Toxicity, 2-Week Study											
Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Vehicle Control)		1		5		30		150	
Number of Toxicity Animals		M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Toxicity Animals Mortality		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Noteworthy Findings											
Physical Signs/Clinical Observations											
Body weights (g) [e,f]		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Body weight change (g) [e,f]		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Food consumption (g) [e,f]		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Pink discolored cage papers		0	0	0	0	0	0	0	0	10	8

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7l 反復投与毒性試験（ラット、2 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Two-Week Range-Finding Toxicity Study of SC-76663 [Maralixibat] in The Rat					Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-12		
Clinical Pathology										
Hematology [e,f]	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Serum Chemistry										
Cholesterol (mg/dL) [e,f]	54	62	11.1	17.8	0.0	16.1	11.1	40.3	11.1	37.0
Urinalysis [e,f]	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Fecal Bile Acidse										
Total fecal bile acid (µmol/kg/day) [e]	94.8	127.3	139.8	94.0	119.1	128.0	172.5	187.6	158.4	207.9
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Organ Weights [e,f]										
Absolute cecum (g)	1.37	1.06	9.5	-0.9	10.9	2.8	0.0	5.7	29.2***	15.1*
Relative cecum (g/kg BW)	4.61	5.35	7.8	1.5	7.4	3.7	3.5	5.6	33.6***	15.9**
Histopathology										
Mucus depletion of colonic goblet cells	0	0	1	0	2	0	1	0	3	5
Edema in lamina propria of colonic mucosa	0	0	1	0	1	0	0	0	2	2

--: no noteworthy findings; APTT: activated partial thromboplastin time; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; BW: body weight; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; NA: not applicable; PT: prothrombin time; TK: toxicokinetics; t_{max}: time to reach maximum plasma concentration.

[a] Mean and standard error of the mean (SEM) of data from female and male rats combined. Results are reported to three significant figures.

[b] Mean concentrations are below the assay sensitivity of 2.38 ng free form/mL.

[c] Not Applicable. All plasma concentrations were below the assay sensitivity limit of 2.38 ng/mL.

[d] On Day 1, the bleed schedule was incorrect and all 3 hr PK animals were inadvertently bled at 2 hr after dosing giving N=12 as the total number of animals bled at 2 hours.

[e] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown.

[f] Statistical comparisons are based on the absolute values.

* or ** or*** Statistically significant compared to vehicle control, Dunnett's test, $p < 0.05$ or $p < 0.01$ or $p < 0.001$.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7J 反復投与毒性試験（ラット、4 週間経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Four Week Oral Toxicity Study of SD-5613 [Maralixibat] in the Rat					Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-13	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		Duration of Dosing: 28 days (Main Study) and up to 27 days (TK Study)			GLP Compliance: Yes			
Initial Age at Dosing: ~7-8 weeks		Method of Administration: Oral Gavage, once daily						
Date of First Dose: [redacted] 19[redacted] Main and TK		Vehicle: Distilled water						
Toxicokinetics [a], 22-Day								
Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Vehicle Control)		5		30		150	
Number of Toxicokinetic Animals		M:0	F:0	M:9	F:9	M:9	F:9	M:9	F:9
Toxicokinetic Animals Mortality		0	0	0	1	0	0	0	1
Toxicokinetics Maralixibat [a]									
C_{max} (ng/mL)	Day 1	NA		2.28		6.00		50.2	
	Day 22	NA		0.940		5.23		38.9	
Bioavailability (%)	Day 1	NA		0.0562		0.0378		0.0776	
	Day 22	NA		0.0337		0.0236		0.0702	
AUC_{24} (ng·hr/mL)	Day 1	NA		3.84		15.5		159	
	Day 22	NA		2.30		9.68		144	
Toxicity, 4-Week Study [b,c]									
Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Vehicle Control)		5		30		150	
Number of Toxicity Animals Main Recovery		 M:25 M:10	 F:25 F:10	 M:15 M:0	 F:15 M:0	 M:15 M:0	 F:15 F:0	 M:25 M:10	 F:25 F:10
Toxicity Animals Mortality		0	0	0	0	0	1	2	1
Noteworthy Findings									
Physical Signs/Clinical Observations									
Body weights (g) [b,c]		--	--	--	--	--	--	--	--
Body weight change (g) [b,c]		--	--	--	--	--	--	--	--
Food consumption (g) [b,c]		--	--	--	--	--	--	--	--
Pink discolored cage papers		0	0	0	0	9	3	23	24

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7J 反復投与毒性試験（ラット、4 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Four Week Oral Toxicity Study of SD-5613 [Maralixibat] in the Rat			Study No.: [redacted]				添付資料番号：4.2.3.2-13	
Clinical Pathology								
Hematology [b,c]								
Neutrophil								
Day 29-31	1.09	0.97	-8.3	-2.1	39.4	24.7	76.1**	42.3*
Day 57	1.22	0.65	--	--	--	--	0.0	-6.2
Coagulation [b,c]								
PT (seconds)								
Day 29-31	10.6	8.4	15.1*	3.6	11.3*	1.2	52.8***	2.4
Day 57	10.1	8.4	--	--	--	--	3.0	-1.2
APTT (seconds)								
Day 29-31	16.3	17.2	4.3	-14.5	9.8*	-14.5	39.9***	-8.1
Day 57	16.0	15.9	--	--	--	--	10.6	-4.4
Serum Chemistry [b,c]								
Cholesterol (mg/dL) [b]								
Day 29-31	55	70	16.4*	20.0*	30.9***	27.1**	34.5***	38.6***
Day 57	54	66	--	--	--	--	-3.7	28.8
Fecal Bile Acids [b]								
Fecal bile acids/day (µmol/day)								
Day 15	11.8	11.5	960.2**	704.4**	928.8**	907.0**	950.0**	1040.0**
Day 22	19.2	11.2	533.3**	951.0**	584.4**	909.8**	115.1**	680.4**
Fecal bile acids/g of dry wt. (µmol/g dry weight)								
Day 15	1.90	2.30	561.6*	408.0*	655.8**	663.9**	790.5**	1077.0***
Day 22	2.63	2.06	387.8*	705.3**	562.0*	848.1**	99.2*	800.5**
Fecal bile acids (µmol/kg/day)								
Day 15	35.5	53.0	929.0**	710.2**	940.3**	954.5**	953.5**	1070.0***
Day 22	51.7	48.2	539.1**	984.6**	594.6**	990.2**	123.0**	724.1**

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7J 反復投与毒性試験（ラット、4 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Four Week Oral Toxicity Study of SD-5613 [Maralixibat] in the Rat				Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-13	
Organ Weights [b,c]								
Absolute Cecum (g)								
Day 29-31	1.41	1.01	0.7	6.9	7.1	10.9*	18.4***	32.7***
Day 57	1.61	1.22	--	--	--	--	10.6	-1.6
Relative Cecum (g/ kg BW)								
Day 29-31	4.04	4.58	2.0	10.9*	6.2	15.5**	22.0***	36.4***
Day 57	3.70	4.81	--	--	--	--	10.3	2.5
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Histopathology								
Mucus depletion of colonic and rectal goblet cells								
Day 29-31	0/30		3/30		15/29		15/29	
Day 57	1/20		--		--		0/20	
Edema in lamina propria of colonic mucosa and rectal mucosa								
Day 29-31	0/30		1/30		6/29		13/27	
Day 57	0/20		--		--		0/20	
Mucosal epithelial alterations								
Day 29-31	0/30		12/30		5/29		4/29	
Day 57	0/20		--		--		0/20	

--: no noteworthy findings; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; BrW Ratio: relative to brain weight; BW: body weight; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; NA: not applicable; TK: toxicokinetics.

[a] Mean of the data from female and male rats combined. Results are reported to three significant figures.

[b] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown.

[c] Statistical comparisons are based on the absolute values.

* or ** or*** Statistically significant compared to vehicle control, Dunnett's test, $p < 0.05$ or $p < 0.01$ or $p < 0.001$.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7K 反復投与毒性試験（ラット、4 週間経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A 4-Week Once Daily Oral Gavage Toxicity Study With Maralixibat or [redacted] in Sprague Dawley Rats		Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.2-14
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing: 4 weeks	GLP Compliance: Yes	
Initial Age at Dosing: 6 weeks	Method of Administration: Oral Gavage, once daily		
Date of First Dose: [redacted]	Vehicle: Deionized water		

Toxicity, 4-Week Study				
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle Control)		100 (Maralixibat)	
Sex	Male	Female	Male	Female
Number of Toxicity Animals	5	5	5	5
Toxicity Animals Mortality	0	0	0	1[a]
Noteworthy Findings				
Physical Signs/Clinical Observations				
Behavior- head-burrowing	0	0	2	0
Discharge- excessive salivation, clear	0	1	3	2
Body weight change (g) (Day 1-28) [b]	211	--	-6.6	--
Food consumption (g) [b]	--	--	--	--
Hematology	--	--	--	--
Coagulation	--	--	--	--
Clinical Chemistry	--	--	--	--
Urinalysis	--	--	--	--
Organ Weights (g) [b]	--	--	--	--
Macroscopic Observations	--	--	--	--
Histopathology	--	--	--	--

--: no noteworthy findings; GLP: Good Laboratory Practices; NA: not applicable.

[a] One female administered 100 mg/kg/day Maralixibat was sacrificed on Day 2 after an accidental gavage error had perforated the esophagus and thus not considered test article-related.

[b] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical comparisons are based on the absolute values.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7L 反復投与毒性試験（ラット、13 週間経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen Week Oral Gavage Toxicity Study of SD-5613 [Maralixibat] in the Rat					Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-15		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		Duration of Dosing: 91 days				GLP Compliance: Yes				
Initial Age at Dosing: 5-6 weeks		Method of Administration: Oral Gavage, once daily								
Date of First Dose: [redacted] 19[redacted]		Vehicle: Distilled water								
Toxicokinetics, 1 and 78-Day [a, b]										
Daily Dose (mg/kg/day)		M:5	F: 5	M:30	F:30	M:75	M:150	F:150	F:500	
Number of Toxicokinetic Animals		M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	
Toxicokinetic Animals Mortality		2	1	0	1	1	1	4	2	
Toxicokinetics [a]										
C_{max} (ng/mL)	Day 1	0.00		4.30		2.55	21.2		9.99	
	Day 78	3.20		4.35		5.71	24.1		62.9	
Bioavailability (%)	Day 1	0.00		0.0184		0.00621	0.0493		0.0133	
	Day 78	0.0808		0.0285		0.0599	0.0644		0.0688	
AUC_{24} (ng·hr/mL)	Day 1	0.00		7.54		6.37	101		90.8	
	Day 78	5.52		11.7		61.4	132		470	

Toxicity, 91-Day Study [a,b,c]										
Daily Dose (mg/kg/day)	M:0	F: 0	M:5	F:5	M:30	F:30	M:75	F:150	M:150	F500
Number of Toxicity Animals Main	25	25	15	15	15	15	25	25	25	25
Toxicity Animals Mortality	0	2	0	1	1	0	3	8	3	4
Noteworthy Findings										
Physical Signs/Clinical Observations										
Body weights (g) [c]	--	--	--	--	--	--	--	--	--	-
Body weight change (g) [c]	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Food consumption (g) [c]	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical observations										
Pink colored cage paper										
Weeks 1-13	0	0	0	1	9	11	18	22	23	24
Weeks 1-4 Reversal	0	0	0	0	0	0	0	0	4	6

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen Week Oral Gavage Toxicity Study of SD-5613 [Maralixibat] in the Rat					Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-15		
Clinical Pathology										
Hematology	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Coagulation [c]										
PT (seconds)										
Week 6	12.6	10.0	0.0	-1.0	7.9	-2.0	19.8***	2.0	14.3***	0.0
Week 13	12.2	10.1	7.4	-5.0	18.0**	-3.0	54.1***	-1.0	28.7***	3.0*
Week 17	12.5	9.4	NDA	NDA	NDA	NDA	6.4	1.1	-11.2	2.1
APTT (seconds)										
Week 6	16.8	14.5	5.4	-2.1	6.0	6.2	14.3***	10.3*	11.3***	10.3**
Week 13	18.1	16.1	7.2	-6.8	3.3	0.0	22.7***	6.2	12.7***	5.0
Week 17	17.7	15.8	NDA	NDA	NDA	NDA	3.4	-11.4	-6.2	-8.9
Serum Chemistry [c]										
Cholesterol (mg/dL)										
Week 6	54	78	22.2**	14.1	22.2**	12.8	14.8**	-2.6	27.8**	9.0
Week 13	63	87	7.9	14.9	11.1	14.9	3.2	0.0	9.5	2.3
Week 17	59	90	NDA	NDA	NDA	NDA	-8.5	-23.3*	30.5	-16.7*
HDL (mg/dL)										
Week 6	44	67	18.2*	9.0	20.5*	10.4	11.4*	-4.5	20.5**	1.5
Week 13	55	72	7.3	12.5	9.1	12.5	1.8	0.0	7.3	1.4
Week 17	64	97	NDA	NDA	NDA	NDA	-6.3	-16.5**	26.6*	-19.6**
AST (U/L)										
Week 6	94	95	1.1	-6.3	2.1	7.4**	23.4*	9.5**	16.0**	4.2**
Week 13	81	82	7.4	14.6	18.5**	32.9**	35.8***	20.7**	29.6***	14.6**
Week 17	91	77	NDA	NDA	NDA	NDA	-12.1	9.1	13.2	13.0
ALT (U/L)										
Week 6	38	37	10.5	5.4	28.9***	16.2	31.6***	0.0	21.1***	2.7
Week 13	37	38	13.5	5.3	24.3***	10.5	32.4***	-5.3	24.3***	-5.3
Week 17	40	41	NDA	NDA	NDA	NDA	-12.5	-19.5	-2.5	-12.2

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7L 反復投与毒性試験（ラット、13 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen Week Oral Gavage Toxicity Study of SD-5613 [Maralixibat] in the Rat						Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-15		
SDH (U/L)										
Week 6	7.4	6.3	5.4	-1.6	-17.6	47.6*	4.1	15.9*	9.5	25.4*
Week 13	20.1	21.2	9.5	-3.3	-3.5	-1.9	15.4	-11.3	10.4	-17.0
Week 17	16.8	11.5	NDA	NDA	NDA	NDA	-28.0	5.2	-8.3	14.8
Urinalysis [c]										
Excretion of chloride (mmol/16 hr)										
Week 6	0.86	0.58	-9.3	-15.5	-1.2	1.7	-5.8	19.0*	7.0	46.6***
Week 13	0.47	0.29	21.3	37.9	4.3	10.3	38.3*	48.3**	36.2*	79.3**
Week 17	0.55	0.34	NDA	NDA	NDA	NDA	NDA	-26.5	-10.9	-20.6
Excretion of calcium (mg/16 hr)										
Week 6	0.53	0.82	41.5	-22.0	3.8	-19.5	35.8	0.0	50.9	54.9**
Week 13	0.45	0.94	60.0**	6.4	77.8**	-9.6	104.4***	3.2	142.2***	64.9*
Week 17	0.67	1.60	NDA	NDA	NDA	NDA	-10.4	-58.1	-23.9	-45.0
Fecal Bile Acids [b]										
Fecal Bile Acids (µmol/kg/day)										
Week 2	38.1	54.3	654.3**	572.9**	765.9***	536.8**	728.6***	673.1***	634.1***	410.1***
Week 4	46.5	46.9	467.3**	698.3**	591.4***	716.0***	608.8***	601.7***	450.3***	698.5***
Week 8	37.3	52.6	592.8**	556.1**	327.3***	324.0***	664.3***	714.3***	567.6***	496.6***
Week 12	46.4	79.2	418.3**	297.2**	534.5***	382.1***	550.0***	475.5***	538.8***	488.4***
Week 16	32.3	39.2	NDA	NDA	NDA	NDA	2.5	9.9	-23.2	38.3
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Organ Weights [c]										
Absolute Cecum (g)										
Week 14	1.82	1.41	3.3	-0.7	8.8	-4.3	13.7	9.2	38.5***	33.3***
Week 18	1.62	1.28	NDA	NDA	NDA	NDA	16.0*	19.5***	32.7**	30.5***
Relative Cecum (g/kg BW)										
Week 14	3.64	5.12	11.0	9.4	16.2	8.0	25.5	22.1**	43.4***	46.5***
Week 18	3.13	4.64	NDA	NDA	NDA	NDA	19.8**	22.2**	26.2**	31.5**

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7L 反復投与毒性試験（ラット、13 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen Week Oral Gavage Toxicity Study of SD-5613 [Maralixibat] in the Rat					Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-15		
Absolute Liver (g)										
Week 14	13.8	7.2	-18.1*	-8.3	-16.7*	-9.7	-20.3*	-11.1	-12.3*	-12.5
Week 18	13.1	7.2	NDA	NDA	NDA	NDA	-7.6	-2.8	7.6	-2.8
Relative Liver (g/kg BW)										
Week 14	2.7	2.6	-11.1***	0.0	-7.4***	0.0	-11.1***	0.0	-7.4***	-3.8
Week 18	2.5	2.6	NDA	NDA	NDA	NDA	-4.0	0.0	4.0	0.0
Histopathology										
Mild mucus depletion of colonic and rectal goblet cells										
Week 14	0/30		4/30		11/30		3/17	7/38		0/19
Week 18	0/20		--		--		0/10	0/20		0/10
Edema of the Lamina Propria										
Week 14	0/30		5/30		11/30		3/17	9/38		1/19
Week 18	0/20		--		--		0/10	0/20		0/10

--: no noteworthy findings; APTT: activated partial thromboplastin time; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; BW: body weight; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; HDL: high density lipoprotein; M: male; NDA: no data available; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; PT: prothrombin time; SDH: sorbitol dehydrogenase.

[a] Mean of data.

[b] In some cases, data are combined for male and female groups, e.g., 0 mg/kg, 5 mg/kg, 30 mg/kg, and 150 mg/kg.

[c] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical comparisons are based on the absolute values.

Assay sensitivity limit = 4.75 ng/mL.

*, ** or *** Trend test significant at the 5%, 1%, or 0.1% level, respectively. NOAEL in males = 150 mg/kg/day and 500 mg/kg/day in females.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7M 反復投与毒性試験（ラット、13 週間経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen-Week Gavage (Suspension) Study in Rats				Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-16		
Species/Strain: Rat/ Sprague Dawley			Duration of Dosing: 91 days (Main Study)			GLP Compliance: Yes		
Initial Age at Dosing: ~ 6 weeks		Method of Administration: Oral Gavage, once daily						
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] Main and TK		Vehicle: methylcellulose enriched (1;5%) suspension						
Toxicokinetics, Day 1 and 80								
Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Vehicle Control)		150		500		1500	
Number of Toxicokinetic Animals		M:3	F:3	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6
Toxicokinetic Animal Mortality		0	0	0	1	3	0	6	3
Toxicokinetics [a]									
C_{max} (ng/mL)	Day 1	NA		37.1 (19.1)		180 (87.0)		149	
	Day 80	NA		85.0		138		133 (97.7)	
Bioavailability (%)	Day 1	NA		0.191 (0.155)		0.218 (0.148)		0.111 (0.102)	
	Day 80	NA		0.363		0.151 (0.142)		0.0810 (0.0761)	
AUC_{24} (ng•h/mL)	Day 1	NA		391 (318)		1490 (1010)		2280 (2100)	
	Day 80	NA		744		10.30 (972)		1660 (1560)	
Toxicity, 13-Week Study									
Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Vehicle Control)		150		500		1500	
Number of Toxicity Animals Main Recovery		M:15 M:10	F:15 F:10	M:15 M:0	F:15 M:0	M:15 M:10	F:15 F:10	M:15 M:10	F:15 F:10
Toxicity/Toxicokinetic Animal Mortality [b]		0	0	3	1	4(1) [c]	0	18(3) [b]	9(1) [c]
Noteworthy Findings									
Physical Signs/Clinical Observations									
Rattling respiratory sounds		0	0	1	3	15	43	19	88
Reddish-brown staining of paper under cages		0	0	1	1	6	6	4	4
Body weight change (g) [d]									
Week 1-13		370.36	178.99	-23.1**	-8.5	-23.0**	-7.2	-34.7**	-12.7**
Week 14-17		52.93	22.76	NDA	NDA	16.8	49.2	58.8**	64.9*

被験物質：Maralixibat

Report Title: : Thirteen-Week Gavage (Suspension) Study in Rats				Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-16	
Clinical Pathology								
Hematology	--	--	--	--	--	--	--	--
Coagulation [d]								
PT (seconds)								
Week 7	12.7	11.8	15.7*	-4.2	32.3**	-5.1**	174.0**	15.3**
Week 14	12.3	11.2	8.1*	-1.8	19.5*	0.0	182.1**	20.5**
Week 18	12.2	11.2	NDA	NDA	11.5	-1.8	13.1**	-1.8
APTT (seconds)								
Week 7	15.7	13.0	22.3**	5.4	39.0**	7.7	136.9**	36.2**
Week 14	15.4	12.4	14.3*	12.9	38.3**	18.5	148.7**	51.6**
Week 18	14.2	13.5	NDA	NDA	5.6	8.1	19.0	-5.2
Serum Chemistry [d]								
High Density Lipoproteins (mg/dL)								
Week 7	49.95	62.65	-2.0	-9.0	4.0	1.0	-1.0	-12.0*
Week 14	54.93	69.89	-4.0	-18.0**	-3.0	-12.0	-8.0	-21.0**
Week 18	60.88	69.35	NDA	NDA	-8.0	-2.0	0.0	-4.0
Total bile acids (µmol/L)								
Week 7	20.21	23.46	-14.0	-20.0	-25.0**	-36.0**	-37.0**	-44.0**
Week 14	21.16	18.39	-8.0	25.0	-19.0*	2.0	-32.0**	-25.0**
Week 18	29.04	37.76	NDA	NDA	-9.0	-7.0	-27.0	-32.0
Fecal bile acids (mmol/day/kg)								
Week 4	156.2	259.8	60.0	42.5	64.5	35.1	212.9	148.2
Week 12	147.3	207.6	4.1	11.7	44.3	33.7	234.6	142.0
Triglyceride (mg/dL)								
Week 7	82.9	26.2	-22.0	58**	-25.0	37**	-17.0	64.0**
Week 14	86.3	46.9	-47.0*	-17.0	-44.0*	-16.0	-35.0	-42.0*
Week 18	83.4	57.4	NDA	NDA	-31.0	-14.0	-49.0*	-10.0

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7M 反復投与毒性試験（ラット、13 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen-Week Gavage (Suspension) Study in Rats					Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-16	
ALT (U/L)								
Week 7	40.36	34.80	20**	2	21**	1	89**	54**
Week 14	44.67	44.73	20**	-10	13*	-6	54**	42*
Week 18	57.7	48.70	NDA	NDA	-15	-7	-12	-22
AST (U/L)								
Week 7	104.96	98.44	16*	12	6	10	17*	26**
Week 14	95.07	90.93	10**	4	6*	8	43**	25*
Week 18	94.00	95.80	NDA	NDA	12	0	15	-8
Total Protein (g/dL)								
Week 7	6.26	6.45	-1	1	-2*	0	-7**	-4*
Week 14	6.83	7.45	-5**	-3	-7**	-4	-11**	-7
Week 18	6.83	7.74	NDA	NDA	0	-2	-2	-7*
Albumin (g/dL)								
Week 7	4.34	4.62	-5	-4	-1	-3	-7**	-5*
Week 14	4.70	5.54	-8**	-11**	-7**	-12**	-11**	-13**
Week 18	4.59	5.62	NDA	NDA	0	-6	2	-7
Globulin (g/dL)								
Week 7	1.91	1.83	9	15**	-4	10**	-8*	-1
Week 14	2.13	1.91	0	21**	-8	19*	-12	11
Week 18	2.24	2.12	NDA	NDA	0	8	-10	-8
Sodium (mmol/L)								
Week 7	145.36	144.42	1.0*	0	2**	1**	3**	2**
Week 14	147.53	145.73	1.0	0	1	0	1	0
Week 18	147.90	146.30	NDA	NDA	2**	0	2**	0
Chloride (mmol/L)								
Week 7	104.96	105.29	-1	0	2*	0	1	-1
Week 14	100.67	100.27	1	1	1	0	1	-1
Week 18	96.70	99.30	NDA	NDA	6	1	5	2

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7M 反復投与毒性試験（ラット、13 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen-Week Gavage (Suspension) Study in Rats					Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-16	
Gross Pathology								
Gastro-intestinal tract changes								
Abnormal contents fulfilled with black viscous fluids	0/15	0/15	0/12	0/14	0/14	0/15	1/8	0/10
Dilatation/distention	0/15	0/15	0/12	0/14	1/14	1/15	1/8	3/10
Organ Weights [d]								
Absolute cecum (g)								
Week 13	1.45	1.05	13	24**	44**	43**	87**	86**
Week 18	1.64	0.98	NDA	NDA	10	24*	14	31**
Relative cecum (g/ kg BW)								
Week 13	0.29	0.39	36**	32**	72**	52**	142**	102**
Week 18	0.29	0.33	NDA	NDA	32**	25**	47**	39**
Absolute colon (g)								
Week 13	2.56	1.86	-1	1	4	14*	13*	25**
Week 18	2.67	1.80	NDA	NDA	-2	12	0	9
Relative colon (g/ kg BW)								
Week 13	0.51	0.68	17**	7	23**	21**	46**	37**
Week 18	0.48	0.61	NDA	NDA	18*	12*	30**	15**
Absolute liver (g)								
Week 13	15.80	8.11	-28**	-4	-30**	-3	-32**	-7
Week 18	16.26	8.67	NDA	NDA	-19**	-1	-24**	-7
Relative liver (g/ kg BW)								
Week 13	3.13	2.97	-15**	2	-16**	3	-12**	2
Week 18	2.90	2.92	NDA	NDA	-3	-1	-1	-3
Histopathology [e]								
Number examined	0	0	2	1	0	0	9	3
Pulmonary histologic changes								
Fibrin deposition	NDA	NDA	1	1	NDA	NDA	2	0
Inflammatory infiltrate	NDA	NDA	0	0	NDA	NDA	5	1
Necrosis	NDA	NDA	1	1	NDA	NDA	2	0
Hemorrhage	NDA	NDA	1	1	NDA	NDA	4	1
Histiocytosis	NDA	NDA	0	0	NDA	NDA	1	0

--: no noteworthy findings; ALT: alanine aminotransferase; APTT: activated partial thromboplastin time; AST: aspartate aminotransferase; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; BW: body weight; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; NA: not applicable; NDA: no data available; PT: prothrombin time; TK: toxicokinetics.

[a] Values in parentheses exclude statistical outliers.

[b] Numerous animals in the high dose male group, and to a lesser extent, the mid dose male and high dose female groups, died or were sacrificed prior to their scheduled sacrifice. In many of these animals, there was macroscopic evidence of hemorrhage, indicating that these animals died because of fatal bleeding events. The following gross necropsy alterations were attributed to hemorrhage: abnormal color (red/purple/black) in epididymides, esophagus, eyes, Harderian gland, liver, lung, lymph nodes, mesentery, prostate, stomach, subcutis, testes and thymus; general pallor of the carcass; abnormal contents (blood-like) in various hollow organs and body cavities.

[c] Numbers in parentheses are gavage-related deaths.

[d] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical comparisons are based on the absolute values.

[e] Histopathological examination was conducted only for lungs from fifteen animals dying or sacrificed in extremis early in the study

*or ** Statistically significant compared to vehicle control, Dunnett's test, $p < 0.05$ or $p < 0.01$.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7N 反復投与毒性試験（ラット、3 ヵ月経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A 3-Month Study of SHP625 [Maralixibat] by Oral Gavage in Sprague Dawley Rats					Study No.: [redacted]				添付資料番号：4.2.3.2-17	
Species/Strain: Rat/ Sprague Dawley		Duration of Dosing: 91 days							GLP Compliance: Yes	
Initial Age at Dosing: 7 weeks		Method of Administration: Oral Gavage, once daily								
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Vehicle: Deionized water								
Toxicokinetics, 0 and 90-Day										
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F:0	M:5	F: 5	M:30	F:30	M:75	F:150	M:150	F:500
Number of Toxicokinetic Animals		NA	NA	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Toxicokinetic Animals Mortality		NA	NA	0	0	0	0	0	0	0	0
Toxicokinetics [a]											
C_{max} (ng/mL)	Day 0	ND	ND	11.5	3.74	7.19	2.35	3.32	7.53	4.42	6.38
	Day 90	ND	ND	1.60	1.34	2.34	2.21	2.07	6.16	3.03	24.0
t_{max} (hr)	Day 0	ND	ND	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	2.00	1.00	3.00
	Day 90	ND	ND	24.00	3.00	3.00	1.00	3.00	1.00	3.00	2.00
AUC_{last} (ng·hr/mL)	Day 0	ND	ND	14.8	6.91	35.3	9.73	13.9	45.8	45.2	51.8
	Day 90	ND	ND	13.7	4.45	16.7	17.9	13.7	37.4	21.6	210
Toxicity, 91-Day Study											
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F:0	M:5	F: 5	M:30	F:30	M:75	F:150	M:150	F:500
Number of Toxicity Animals Main		10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Toxicity Animals Mortality		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Noteworthy Findings											
Physical Signs/Clinical Observations											
Body weights (g) [b]		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Body weight change (g) [b]		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Food consumption (g) [b]		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical observations		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical Pathology											
Hematology		--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Coagulation											
PT (Seconds) [b]		16.8	16.4	1.8	1.8	3.0	2.4	3.0	2.4	4.8	0.6

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7N 反復投与毒性試験（ラット、3 ヵ月経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A 3-Month Study of SHP625 [Maralixibat] by Oral Gavage in Sprague Dawley Rats						Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-17	
Serum Chemistry	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Organ Weights (g) [b]	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Histopathology	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

--: no noteworthy findings; AUC_{last}: area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the last measurable concentration. C_{max}: maximum plasma concentration, t_{max}: time to reach maximum plasma concentration, F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; NA: not applicable, ND: not determined.

[a] Mean of the data.

[b] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical comparisons are based on the absolute values.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7O 反復投与毒性試験（ラット、13 週間経口投与、4 週間回復）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A 13-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study With Maralixibat in Rats With a 4-Week Recovery						Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-18	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		Duration of Dosing: 91 days (Main Study)				GLP Compliance: Yes			
Initial Age at Dosing: 6-8 weeks		Method of Administration: Oral Gavage, once daily							
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] Main and TK		Vehicle: Deionized water							
Toxicokinetics, Day 1 and 91									
Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Vehicle Control)		10		300		1000	
Number of Toxicokinetic Animals		M:3	F:3	M:6	F:6	M:6	F:6	M:6	F:6
Toxicokinetic Animals Mortality		0	0	0	0	0	0	0	0
Toxicokinetics Maralixibat [a]									
C_{max} (ng/mL)	Day 1	NA		1.03	134	12.3	13.1	45.7	43.4
	Day 91	NA		1.07	1.27	10.1	26.2	29.5	68.2
t_{max} (h)	Day 1	NA		4.00	0.500	4.00	6.00	2.00	6.00
	Day 91	NA		2.00	4.00	4.00	0.500	4.00	4.00
AUC_{24} (ng·hr/mL)	Day 1	NA		8.08	9.32	81.9	176	614	603
	Day 91	NA		11.4	13.0	154	202	484	771
Toxicity, 13-Week Study [a]									
Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Vehicle Control)		10		300		1000	
Number of Toxicity Animals Main Recovery		 M:10 M:5	 F:10 F:5	 M:10 M:5	 F:10 M:5	 M:10 M:5	 F:10 F:5	 M:10 M:5	 F:10 F:5
Toxicity Animals Mortality		0	0	0	0	0	0	0	0
Noteworthy Findings									
Physical Signs/Clinical Observations									
Body weights (g) [a]		--	--	--	--	--	--	--	--
Body weight change (g) [a]		--	--	--	--	--	--	--	--
Food consumption (g) [a]		--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical Observations		--	--	--	--	--	--	--	--

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7O 反復投与毒性試験（ラット、13 週間経口投与、4 週間回復）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A 13-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study With Maralixibat in Rats With a 4-Week Recovery					Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-18	
Clinical Pathology								
Hematology	--	--	--	--	--	--	--	--
Serum Chemistry	--	--	--	--	--	--	--	--
Coagulation	--	--	--	--	--	--	--	--
Urinalysis	--	--	--	--	--	--	--	--
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Organ Weights [a]								
Absolute Liver (g)								
Week 13	11.33	7.67	8	-6	-3	-4	-14*	-10
Week 17	14.02	7.83	-10	3	-17*	-12	-18*	-7
Body Weight Ratio (%)								
Week 13	2.19	2.41	1	-4	-6	-2	-12*	-8
Week 17	2.41	2.34	-11*	1	-14*	-4	-10*	-4
Brain Weight Ratio (%)								
Week 13	528.99	372.87	8	-4	-5	-2	-14*	-8
Week 17	635.37	385.49	-6	2	-17*	-10	-19*	-4
Histopathology	--	--	--	--	--	--	--	--

--: no noteworthy findings; AUC_{24}: area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max}: maximum plasma concentration, TK: toxicokinetics; t_{max}: time to reach maximum plasma concentration, F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; NA: not applicable.

[a] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical comparisons are based on the absolute values.

* Statistically significant compared to vehicle control, Dunnett's test, $p < 0.05$.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7P 反復投与毒性試験（ラット、13 週間混餌投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen-Week Dietary Study in Rats				Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-20	
Species/Strain: Rat/ Sprague Dawley		Duration of Dosing: 13 Weeks				GLP Compliance: Yes	
Initial Age at Dosing: 6 weeks		Method of Administration: Dietary admixture					
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Vehicle: PMI Certified Rodent Chow #5002 (meal)					
Toxicokinetics, 2, 73 and 80-Day [a]							
Daily Dose (mg/kg/day)		M:150	F:150	M:750	F:750	M:1500[d]	F:1500
Number of Toxicokinetic Animals		M:3	F: 3	M:3	F: 3	M:3	F: 3
Toxicokinetic Animals Mortality		1	0	0	0	0	1
Toxicokinetics [a,b]							
t_{max} (hr)	Day 2	24		12		24	
	Day 73	NDA		NDA		12	NDA
	Day 80	18		24		NDA	6
C_{max} (ng/mL)	Day 2	2.50		3.53		9.51	
	Day 73	NDA		NDA		195	NDA
	Day 80	2.73		7.22		NDA	25.0
C_{max} (ng/mL) SEM	Day 2	1.00		0.466		2.81	
	Day 73	NDA		NDA		93.3	NDA
	Day 80	-		-		-	-
AUC_{24} (ng•h/mL)	Day 2	32.0		76.7		154	
	Day 73	NDA		NDA		2800	NDA
	Day 80	37.6		150		NDA	405
Bioavailability (%)	Day 2	0.0156		0.00748		0.00751	
	Day 73	NDA		NDA		0.137	NDA
	Day 80	0.0183		0.0146		NDA	0.0198

Toxicity, 91-Day Study [a,b,c]								
Daily Dose (mg/kg/day)	M:0	F: 0	M:150	F:150	M:750	F:750	M:1500	F:1500
Number of Toxicity Animals Main	25	25	15	15	15	15	25	25
Toxicity Animals Mortality	2	0	0	0	1	0	18	1

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen-Week Dietary Study in Rats					Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-20	
Noteworthy Findings								
Physical Signs/Clinical Observations								
Body weights (g) [d] Week 13	558.0	310.2	-2.2	-3.1	-7.0*	-2.0	-	-1.4
Body weight change (g) [d]								
Week 11 (Day 1-77)	339	136	-4.2	-3.1	-9.6	-3.4	-21.9	-2.3
Week 13 (Day 1-91)	359	144	-4.2	-4.6	-9.8	-4.4	--	-4.4
Week 18 (Day 91-120)	41	17	--	--	19.8	33.9	--	96.0**
Food consumption (g) [d]	--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical observations								
Reddish-brown colored cage paper Weeks 1-13	--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical Pathology								
Hematology	--	--	--	--	--	--	--	--
Coagulation [d]								
PT (seconds)								
Week 7	12.2	11.5	7.4**	-2.6	38.5**	-2.6	85.2**	-6.1**
Week 14	12.4	11.6	6.5	-4.3	40.3*	-1.7	96.8 [e]	-2.6
Week 18	11.8	11.3	--	--	3.4	0.0	--	-0.9
APTT (seconds)								
Week 7	15.1	12.9	11.3	7.0	49.7**	3.1	138.4**	6.2**
Week 14	15.4	12.2	11.7*	5.7	37.7*	8.2	132.5 [f]	9.8
Week 18	14.8	14.1	--	--	-7.4	-1.4	--	-9.2
Serum Chemistry [d]								
ALT (U/L)								
Week 7	36.88	36.12	48.2**	-7.5	25.1**	-16.2*	47.2**	-7.8
Week 14	48.69	43.00	35.0*	-15.7*	6.2	-30.1**	--	-18.8
Week 18	45.60	54.30	--	--	-6.1	-30.6	--	-33.3

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7P 反復投与毒性試験（ラット、13 週間混餌投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen-Week Dietary Study in Rats							Study No.: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.2-20
AST (U/L)								
Week 7	98.25	101.80	27.8**	-1.0	5.7	-1.5	11.3*	1.1
Week 14	111.08	87.53	31.2*	7.8	1.7	-6.0	--	6.5
Week 18	99.80	107.70	--	--	18.1	-15.2	--	-20.3
Sodium (mmol/dL)								
Week 7	144.33	143.48	0.6	0.9*	1.3**	1.5**	1.3**	2.3**
Week 14	148.23	145.87	-0.9	-0.1	-0.8	-0.1	--	0.0
Week 18	148.00	146.60	--	--	-0.8	0.0	--	0.4
Chloride (mg/dL)								
Week 7	105.25	106.08	1.3*	1.7	1.5**	2.0**	1.7**	2.5**
Week 14	103.46	102.67	-1.0	1.8**	0.0	1.2*	--	0.4
Week 18	99.90	101.00	--	--	2.2	0.8	--	0.8
Glucose (mg/dL)								
Week 7	122.79	105.76	-2.5	-5.0	3.4	-0.7	-9.0*	3.3
Week 14	210.31	148.60	-7.3	-18.3**	-6.0	-17.9**	--	-7.4
Week 18	195.10	156.80	--	--	6.2	9.6	--	17.6
Cholesterol (mg/dL)								
Week 7	56.42	76.32	16.5	15.7	12.5	13.7*	29.4**	9.5
Week 14	61.15	77.60	3.8	15.0	-8.2	5.2	--	2.0
Week 18	72.30	83.80	--	--	-14.8	-9.3	--	7.8
Bile Acids (μmol/L)								
Week 7	41.60	25.08	-25.6	-4.0	-60.1**	-29.6	-59.8**	-42.6**
Week 14	18.45	20.74	48.7*	-1.7	2.4	-15.4	--	-20.2*
Week 18	30.52	41.82	--	--	12.5	-28.7	--	-9.3
Protein (g/dL)								
Week 7	6.09	6.44	-0.6	-0.6	-7.0**	-0.6	-4.2*	-0.6
Week 14	6.52	6.80	-1.8	-1.5	-10.6**	-5.4	--	-2.5
Week 18	6.58	7.12	--	--	-2.0	1.0	--	3.8

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7P 反復投与毒性試験（ラット、13 週間混餌投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen-Week Dietary Study in Rats					Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-20	
Globulin (U/L)								
Week 7	1.84	1.62	-3.8	8.4	-18.8**	5.9	-5.1	4.9
Week 14	2.42	1.91	-13.6**	0.7	-27.9**	-4.2	--	2.1
Week 18	2.35	2.05	--	--	-10.6	-10.2	--	-7.3
Serum and Liver Vitamins [d]								
Serum vitamin D (ng/mL)								
Week 14	23	23	-8.7	-4.3	-17.4	-26.1	ND	-21.7
Fecal Bile Acids [d]								
Fecal Bile Acids (µmol/kg/day)								
Day 4	115.0	151.2	137.0	131.3	237.5	176.4	266.5	211.0
Day 11/12	101.4	167.3	78.0	5.5	220.4	143.6	485.5	272.9
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Organ Weights [d]								
Absolute Cecum (g)								
Week 14	1.73	1.20	27**	21*	53**	51**	--	71**
Week 18	1.72	1.30	--	--	18**	2	--	24**
Relative Cecum (g/ kg BW)								
Week 14	0.34	0.41	27**	27**	66**	57**	--	77**
Week 18	0.30	0.43	--	--	27**	4	--	21**
Absolute Colon/rectum (g)								
Week 14	2.67	1.91	0	2	-2	4	--	10*
Week 18	2.68	1.88	--	--	-1	11	--	5
Relative Colon/rectum (g/ kg BW)								
Week 14	0.52	0.66	0	7	7	9*	--	14**
Week 18	0.46	0.62	--	--	5	13*	--	3
Absolute Liver (g)								
Week 14	13.91	7.59	-1	-3	-16**	-1	--	1
Week 18	15.35	8.11	--	--	-8	-1	--	6
Relative Liver (g/ kg BW)								
Week 14	2.71	2.60	-1	3	-9**	4	--	5
Week 18	2.62	2.66	--	--	-2	0	--	4

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7P 反復投与毒性試験（ラット、13 週間混餌投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen-Week Dietary Study in Rats				Study No.: [redacted]				添付資料番号：4.2.3.2-20
Absolute Spleen (g)								
Week 14	0.77	0.56	-5	-14**	-21**	-11*	--	-11*
Week 18	0.89	0.58	--	--	-11	-4	--	-5
Relative Spleen (g/ kg BW) [d]								
Week 14	0.15	0.19	-5	-9	-14**	-6	--	-8
Week 18	0.15	0.19	--	--	-5	-2	--	-7
Histopathology								
Rectum								
Edema, Lamina Propria								
Week 14	2	--	1	7	2	2	ND	--
Week 18	--	--	ND	ND	2	2	ND	1
Rectum								
Mucus Depletion, Goblet cells								
Week 14	1	--	1	9	--	2	ND	--
Week 18	--	--	ND	ND	2	1	ND	--
Colon 1								
Edema, Lamina Propria								
Week 14	--	--	--	2	--	--	ND	--
Week 18	--	--	ND	ND	--	--	ND	--
Colon 2								
Edema, Lamina Propria								
Week 14	2	--	--	3	--	--	ND	--
Week 18	--	--	ND	ND	2	--	ND	--
Colon 3								
Edema, Lamina Propria								
Week 14	3	--	1	8	1	4	ND	--
Week 18	--	--	ND	ND	2	--	ND	--

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7P 反復投与毒性試験（ラット、13 週間混餌投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen-Week Dietary Study in Rats						Study No.: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.2-20	
Colon 1								
Mucus Depletion, Goblet Cells								
Week 14	--	--	--	2	--	--	ND	--
Week 18	--	--	ND	ND	--	--	ND	--
Colon 2								
Mucus Depletion, Goblet Cells								
Week 14	1	--	--	1	--	--	ND	--
Week 18	--	--	ND	ND	1	--	ND	--
Colon 3								
Mucus Depletion, Goblet Cells								
Week 14	3	--	1	8	--	3	ND	--
Week 18	--	--	ND	ND	2	--	ND	--

--: no noteworthy findings; APTT: activated partial thromboplastin time; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; AUC_{24}: area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BW: body weight; C_{max}: maximum plasma concentration, F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; ND: not determined; NDA: no data available; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; PT: prothrombin time; SEM: standard error of the mean; t_{max}: time to reach maximum plasma concentration.

[a] Mean of data.

[b] In some cases data are combined for male and female groups, e.g., 0 mg/kg, 5 mg/kg, 30 mg/kg, and 150 mg/kg.

[c] Necropsied on Day 78.

[d] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical comparisons are based on the absolute values.

[e] Week 12.

Assay sensitivity limit = 4.75 ng/mL; %BA = %Bioavailability.

* or ** Trend test significant at the 5% or 1% level, respectively.

NOAEL in males = 150 mg/kg/day and 1500 mg/kg/day in females.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7Q 反復投与毒性試験（ラット、26 週間混餌投与、4 週間回復）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Twenty-Six Week Dietary Toxicity Study in Rats With a Four-Week Reversal					Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-21	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		Duration of Dosing: 26 Weeks			GLP Compliance: Yes			
Initial Age at Dosing: 6 weeks		Method of Administration: Dietary admixture						
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Vehicle: PMI Certified Rodent Chow #5002 (meal)						
Toxicokinetics, 2, 73 and 80-Day								
Daily Dose (mg/kg/day)		M:30	F:30	M:150	F:500	M:750/300 [a]	F:2000/ 1500 [b]	
Number of Toxicokinetic Animals		M:12	F:12	M:12	F:12	M:12	F:12	
Toxicokinetics [a]								
t_{max} (hr)	Day 2	0600	0600	0600	0600	1200	1200	
	Day 168	1800	1800	1200	1800	1800	0600	
C_{max} (ng/mL)	Day 2	2.15	2.71	11.2	8.76	17.4	59.1	
	Day 168	2.60	1.73	5.42	13.5	14.8	53.5	
C_{max}/Dose	Day 2	0.0715	0.0940	0.0745	0.0175	0.0233	0.296	
	Day 168	0.0868	0.0576	0.0362	0.0269	0.0493	0.0357	
AUC_{24} (ng·hr/mL)	Day 2	31.1	26.2	114	132	244	727	
	Day 168	20.8	28.3	108	241	279	940	
AUC_{24}/Dose	Day 2	1.04	0.875	0.761	0.263	0.326	0.364	
	Day 168	0.692	0.944	0.723	0.481	0.930	0.626	
Bioavailability (%)	Day 2	0.0759	0.0639	0.0556	0.0193	0.0238	0.0266	
	Day 168	0.0507	0.0690	0.0527	0.0353	0.0680	0.0459	

Toxicity, 26-Week Study [a,b,c]								
Daily Dose (mg/kg/day)	M:0	F: 0	M:30	F:30	M:150	F:150	M: 750/300 [a]	F:2000/1500 [b]
Number of Toxicity Animals Main	25	25	15	15	15	15	25	25
Toxicity and Toxicokinetic Mortality [d]	1(1)	1	0	0	1(1)	1(1)	17	9(2)
Noteworthy Findings								
Physical Signs/Clinical Observations								
Body weights (g) [e]								
Week 14	546.0	309.2	-9.8**	-1.7	-6.9*	-7.2**	-9.5**	-6.8**
Week 26	646.3	346.9	-12.1**	-0.9	-8.8*	-8.3*	-8.5*	-6.1

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7Q 反復投与毒性試験（ラット、26 週間混餌投与、4 週間回復）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Twenty-Six Week Dietary Toxicity Study in Rats With a Four-Week Reversal					Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-21	
Body weight change (g) [e]								
Week 0-13	399.42	173.67	-12.9**	-2.8	-9.4**	-12.2**	-12.8**	-11.8**
Week 0-26	499.74	211.37	-15.2**	-1.2	-11.4*	-13.0*	-10.9*	-10.0
Food consumption (g) [e]	--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical observations								
Pallor of skin and mucous membranes	--	--	--	--	--	--	--	--
Focal loss of hair on feet and limbs	--	--	--	--	--	--	--	+
Reddish-brown staining of the paper under the cages	--	+	+	+	+	+	+	+
Clinical Pathology								
Hematology	--	--	--	--	--	--	--	--
Coagulation [e]								
PT (seconds)								
Week 15	11.8	11.0	28.0**	-1.8	44.9**	-1.8	15.3**	63.6**
Week 26	11.7	10.5	18.8**	-2.9	40.2**	-1.9	18.8**	20.0**
Week 31	11.3	10.9	--	--	2.7	0.0	3.5	1.8
APTT (seconds)								
Week 15	16.4	14.4	25.0**	0.7	31.7**	13.9	10.4	99.3**
Week 26	14.3	13.6	22.4**	6.6	44.8**	5.9	28.0**	42.6**
Week 31	14.8	14.4	--	--	-7.4	-4.2	-2.0	-0.7
Serum Chemistry [e]								
ALT (U/L)								
Week 15	37.5	43.78	40**	-13	30**	-24	24*	7*
Week 26	42.28	77.68	18	-37*	17	-56**	13	-41
Week 31	102.8	55.78	--	--	-65	-21	-58	26
AST (U/L)								
Week 15	102.25	98.17	9	-9	1	-5	5	27**
Week 26	99.56	146.63	28*	-30	18	-37*	23*	-29
Week 31	156.89	113.78	NDA	NDA	-36	-20	-18	19

被験物質：Maralixibat

Report Title: Twenty-Six Week Dietary Toxicity Study in Rats With a Four-Week Reversal						Study No.: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.2-21	
Sodium (mmol/dL)								
Week 15	145.05	141.44	1**	0	1**	2**	2**	2**
Week 26	146.38	142.89	1**	-1	2**	1**	2**	2**
Week 31	140.33	141.00	NDA	NDA	1**	0	2**	2*
Chloride (mg/dL)								
Week 15	105.2	103.50	3**	1	4**	3**	4**	2*
Week 26	111.94	108.11	2**	1	3**	3**	4**	3**
Week 31	101.22	104.22	NDA	NDA	2**	0	5**	3*
Phosphorus (mg/dL)								
Week 15	7.28	6.38	-4	3	5	2	7	11*
Week 26	6.26	5.25	4	8	10**	15**	13**	18**
Week 31	5.81	4.97	NDA	NDA	10*	4	19**	8
Triglycerides (mg/dL)								
Week 15	107.90	30.93	-30	-3	-5	-7	-35*	23
Week 26	147.44	43.63	-45**	14	-24*	-28	-45**	-44**
Week 31	148.78	52.89	NDA	NDA	-3	40	-39	-8
Cholesterol (mg/dL)								
Week 15	77.35	81.39	-12	1	-7	11	-2	0
Week 26	89.10	87.74	-24*	-3	-20*	10	-14	-6
Week 31	100.56	88.89	NDA	NDA	-38**	-7	-37*	3
Bile Acids (μmol/L)								
Week 15	15.13	12.45	-10	-36*	-31**	-53**	-36**	-52**
Week 26	27.07	29.28	-18	-31	-19	-36**	-21**	-52**
Week 31	30.39	28.87	NDA	NDA	-27	-1	-22	-11
HDL(g/dL)								
Week 15	50.10	54.04	-17*	-9	-12	-3	-2	-19**
Week 26	63.25	66.28	-23**	-12	-23**	-2	-14	-14*
Week 31	70.82	68.84	NDA	NDA	-31**	-9	-25*	-8

被験物質：Maralixibat

Report Title: Twenty-Six Week Dietary Toxicity Study in Rats With a Four-Week Reversal					Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-21	
Serum and Liver Vitamins [e]								
Serum Vitamins								
Vitamin A (µg/mL)								
Week 27	1.067	0.505	0.1	-13.3	1.6	1.0	2.4	-38.8
Week 31	1.253	1.011	NDA	NDA	-4.2	-1.4	-0.3	-18.0
Vitamins D (ng/mL)								
Week 27	9.313	8.239	3.5	-6.0	7.2	-25.6	16.8	-80.4
Week 31	6.750	7.879	NDA	NDA	24.8	2.1	-17.7	22.7
Vitamin E (µg/mL)								
Week 27	8.153	11.995	-52.0	-21.6	-56.7	-241	-44.9	-79.6
Week 31	7.999	12.670	NDA	NDA	-34.4	-0.7	-38.7	15.4
Liver Vitamins								
Vitamin A (µg/mL)								
Week 27	41.63	707.64	15.2	-68.5	185.0	-55.9	98.0	-83.9
Week 31	73.24	311.42	NDA	NDA	-6.1	32.8	31.8	6.3
Vitamin E (µg/mL)								
Week 27	90.85	128.99	-45.2	-23.6	-41.7	-25.7	-39.9	-63.7
Week 31	8.67	82.13	NDA	NDA	38.9	-44.8	176.2	-57.7
Fecal Bile Acids [e]								
Fecal Bile Acids (µmol/kg/day)								
Week 12	98.81	146.69	252	201	79	268	132	541
Week 25	83.00	137.24	170	131	73	115	163	235
Week 30	59.28	107.84	NDA	NDA	-6	3	97	184

被験物質：Maralixibat

Report Title: Twenty-Six Week Dietary Toxicity Study in Rats With a Four-Week Reversal			Study No.: [redacted]				添付資料番号：4.2.3.2-21	
Gross Pathology								
Organ Weights [e]								
Absolute Cecum (g)								
Week 26	1.67	1.21	13	8	26**	26**	35**	72**
Week 31	1.71	1.38	NDA	NDA	5	8	23*	23**
Relative Cecum (g/kg BW)								
Week 26	0.28	0.38	27**	7	39**	139**	48**	186**
Week 31	0.27	0.42	NDA	NDA	13	9	35**	34**
Absolute Colon/Rectum (g)								
Week 26	2.90	2.12	-1	13*	5	8	4	5
Week 31	2.94	2.39	NDA	NDA	0	-2	-4	-1
Relative Colon/Rectum (g/kg BW)								
Week 26	0.48	0.67	13**	11	16**	19**	15*	15*
Week 31	0.47	0.72	NDA	NDA	5	-1	3	9
Absolute Liver (g)								
Week 26	17.61	8.72	-22**	0	-21**	-5	-20**	0
Week 31	18.02	8.68	NDA	NDA	-17*	3	-21**	-7
Relative Liver (g/kg BW)								
Week 26	2.91	2.73	-11**	-2	-13**	5	-11**	9
Week 31	2.83	2.61	NDA	NDA	-12**	5	-13**	3
Histopathology								
Cecum								
Edema, Submucosa								
Week 26	1/15	2/15	7/15	7/15	9/15	6/15	4/12	1/15
Week 31	2/9	0/9	NDA	NDA	2/11	1/10	2/8	0/9
Cecum								
Mucus Depletion, Goblet Cells								
Week 26	1/15	1/15	7/15	10/15	11/15	6/15	3/12	2/15
Week 31	1/9	0/9	NDA	NDA	0/11	0/10	1/8	1/9

Report Title: Twenty-Six Week Dietary Toxicity Study in Rats With a Four-Week Reversal					Study No.: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-21	
Rectum								
Edema, Lamina Propria								
Week 26	1/15	1/15	3/14	2/15	9/15	10/15	4/12	3/15
Week 31	0/9	0/8	NDA	NDA	0/11	0/10	0/8	0/9
Rectum								
Mucus Depletion, Goblet cells								
Week 26	0/15	1/15	4/14	3/15	9/15	9/15	4/12	3/15
Week 31	1/9	0/8	NDA	NDA	0/11	0/10	0/8	0/9
Colon 1								
Edema, Lamina Propria								
Week 26	0/15	0/15	2/15	0/15	0/15	2/15	0/12	0/15
Week 31	0/9	0/9	NDA	NDA	0/11	0/10	0/8	0/9
Colon 2								
Edema, Lamina Propria								
Week 26	1/15	1/15	6/15	0/15	1/15	3/15	2/12	4/15
Week 31	0/9	0/9	NDA	NDA	0/11	0/10	0/8	0/9
Colon 2								
Mucus Depletion, Goblet cells								
Week 26	0/15	0/15	3/15	2/15	5/15	7/15	1/12	3/15
Week 31	0/9	0/9	NDA	NDA	0/11	0/10	0/8	0/9

--: no noteworthy findings; ALT: alanine aminotransferase; APTT: activated partial thromboplastin time; AST: aspartate aminotransferase; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; BW: body weight; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; HDL: high density lipoproteins; M: male; NDA: no data available/provided; PT: prothrombin time; t_{max}: time to reach maximum plasma concentration

[a] Decreased from 750 to 300 mg/kg/day on Study Day 88.

[b] Decreased from 2000 to 1500 mg/kg/day on Study Day 102.

[c] Necropsied on Day 78.

[d] Numbers in parentheses are accidental death.

[e] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical analysis was conducted on absolute data.

* or ** Trend test significant at the 5% or 1% level, respectively. NOAEL in males = 150 mg/kg/day and 500 mg/kg/day in females.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7R 反復投与毒性試験（イヌ、4 週間経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Four Week Oral Capsule Toxicity Study of SD-5613 [Maralixibat] in the Dog						Study No: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-23	
Species/Strain: Dog/Beagle		Duration of Dosing: 4 weeks				GLP Compliance: Yes			
Initial Age at Dosing: 7-10 months		Method of Administration: Oral capsule							
Date of First Dose: [redacted] 19[redacted]		Vehicle: Gelatin capsule							
Special Features: Feces were collected once pretreatment, once during Weeks 2 and 4, and once during Week 5 (recovery animals) for analysis of fecal bile acid content. Liver samples analyzed for HMGCoA reductase and cholesterol 7α-hydroxylase activities and cholesterol content						NOAEL: 50 mg/kg/day			
Toxicokinetics, 0 and 22-Day									
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:5	F:5	M:15	F:15	M:50	F:50
Number of Animals [a]		M:8	F:8	M:4	F:4	M:4	F:4	M:8	F:8
Toxicokinetics [b]									
C_{max} (ng/mL)	Day 1	N/A	N/A	2.99±1.73	1.60±1.60	4.03±4.03	7.43±1.72	22.5±7.18	51.1±17.9
	Day 22	N/A	N/A	0.00±0.00	1.20±1.20	5.35±5.35	16.6±11.2	62.6±14.7	62.3±11.8
AUC_{24} (ng·hr/mL)	Day 1	N/A	N/A	3.78±2.33	3.14±3.14	19.0±19.0	14.4±3.65	55.3±22.5	145±41.3
	Day 22	N/A	N/A	0.00±0.00	1.20±1.20	16.5±16.5	67.3±59.2	274±84.6	256±49.8
Toxicity, 22-Day Study									
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:5	F:5	M:15	F:15	M:50	F:50
Number of Toxicity Animals Main		8	8	4	4	4	4	8	8
Died or sacrificed moribund		0	0	0	0	0	0	6 [a]	6 [a]
Noteworthy Findings									
Clinical Observations									
Vomitus containing white particulate matter		0	0	0	0	0	1	3	4
Body Weights (kg)		--	--	--	--	--	--	--	--
Body Weight Change (kg)		--	--	--	--	--	--	--	--
Food Consumption (g/day)		--	--	--	--	--	--	--	--
Ophthalmic Examination		--	--	--	--	--	--	--	--
Electrocardiographic Examination		--	--	--	--	--	--	--	--

被験物質：Maralixibat

Report Title: Four Week Oral Capsule Toxicity Study of SD-5613 [Maralixibat] in the Dog						Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.2-23	
Hematology								
Week 1	--	--	--	--	--	--	--	--
Week 2	--	--	--	--	--	--	--	--
Week 4	--	--	--	--	--	--	--	--
Coagulation								
Week 1	--	--	--	--	--	--	--	--
Week 2	--	--	--	--	--	--	--	--
Week 4	--	--	--	--	--	--	--	--
Serum Chemistry								
CHOL (mg/dl) [c,d]								
Week 1	155	182	-1.9	-6.0	-7.1	-18.1	-14.2	-20.9
Week 2	154	183	-5.8	-10.9	-10.4	-27.9	-27.3**	-30.1*
Week 3	156	197	-7.7	-17.3	-17.9	-32.0	-30.8***	-40.1**
Week 4	153	179	-8.5	-13.4	-15.0	-26.8	-23.5**	-26.8*
Urinalysis								
Week 1	--	--	--	--	--	--	--	--
Week 2	--	--	--	--	--	--	--	--
Week 4	--	--	--	--	--	--	--	--
Organ Weights (g)[c]	--	--	--	--	--	--	--	--
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Histopathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Additional Examinations								
Fecal Bile Acids (µmol/kg/day) [c]								
Week 2	43.6	22.1	100.7	461.1	170.6	296.4	170.6	578.7
Week 4	38.7	37.4	266.9	448.1	341.9	432.1	331.5	477.5

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7R 反復投与毒性試験（イヌ、4 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Four Week Oral Capsule Toxicity Study of SD-5613 [Maralixibat] in the Dog					Study No: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-23	
Liver HMG-CoA reductase (pmoles/mg protein/minute) [c]	9.2		1085		1476		2270	
Liver cholesterol 7α-hydroxylase (pmoles/mg protein/min) [c]	14.5		838		1569		2638	
Liver cholesterol (mg/g) [c]	2.7		-3.7		-14.8		-3.7	
Post-Dose Evaluation (Recovery)								
Fecal Bile Acids (µmol/kg/day) [c]								
Week 5	39.5	20.4	ND	ND	ND	ND	23.3	97.5

--: no noteworthy findings ; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; CHOL: cholesterol; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; N/A: not applicable; ND: no data; animals were sacrificed during Week 4; NOAEL: no-observed-adverse-effect level.

*, ** or *** Trend test significant at the 5%, 1%, or 0.1% level, respectively.

[a] 4 animals/sex/group were designated for the primary necropsy (Days 29-30); the remaining 4 animals/sex in the control and high-dose groups underwent a 4-week treatment-free recovery period prior to necropsy (Day 58).

[b] Toxicokinetic data are reported as group means ± standard error of the mean (SEM).

[c] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown.

[d] Statistical analysis was conducted on absolute data.

[e] Data expressed as combined-sex group mean.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7S 反復投与毒性試験（イヌ、4 週間経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Four Week Oral Capsule Toxicity Study of SD-5613[Maralixibat] in the Dog						Study No: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.2-24	
Species/Strain: Dog/Beagle		Duration of Dosing: 4 weeks				GLP Compliance: Yes			
Initial Age at Dosing: 7-8 months		Method of Administration: Oral capsule							
Date of First Dose: [redacted] 19[redacted]		Vehicle: Gelatin capsule							
Special Features: None.						NOAEL: Not established.			
Toxicokinetics, Day 1 and 24									
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:100	F:100	M:300	F:300	M:600	F:600
Number of Animals		M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F4
Toxicokinetics [a]									
C_{max} (ng/mL)	Day 1	N/A		68.8±17.4		151±56.3		163±66.8	
	Day 24	N/A		192±40.8		400±119		ND	
AUC_{24} (ng·hr/mL)	Day 1	N/A		160±35.1		344±87.4		391±118	
	Day 24	N/A		437±80.6		1190±377		ND	
Toxicity, 28-Day Study									
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:100	F:100	M:300	F:300	M:600	F:600
Number of Toxicity Animals		4	4	4	4	4	4	4	4
Died or sacrificed moribund		0	0	0	0	0	0	4	4
Noteworthy Findings									
Clinical Observations									
Emesis [c]									
All Types		19 (4.8)		63 (15.8)		117 (29.3)		79 (50.3)	
White Particulate		1 (3)		50 (12.5)		75(18.8)		65 (41.4)	
Brown Particulate		4 (1)		23 (5.8)		46 (12)		26 (16.6)	
Other		15 (3.8)		37 (9.3)		57 (14.3)		61 (38.9)	
Body Weights (kg) Week 4 [b]		9.090	7.458	-3.9	-3.9	-5.4	-4.2	ND	ND
Body Weight Change (kg) Day 1-25 [b]		0.572	0.593	-61.0	-32.0	- 75.2	-75.5	ND	ND
Food Consumption (g/day) Week 1 [b]		328	287	-27.7	-37.3	-29.6	-26.8	-19.8	-11.5
Ophthalmic Examination		--	--	--	--	--	--	--	--

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7S 反復投与毒性試験（イヌ、4 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Four Week Oral Capsule Toxicity Study of SD-5613[Maralixibat] in the Dog						Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.2-24	
Electrocardiographic Examination	--	--	--	--	--	--	--	--
Serum Chemistry [b]								
CHOL (mg/dl)								
Day 28	156	164	-32.1*	-38.4**	-32.1*	-40.2**	ND	ND
Urinalysis	--	--	--	--	--	--	--	--
Organ Weights (g) [b]	--	--	--	--	--	--	--	--
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Histopathology	--	--	--	--	--	--	--	--

--: no noteworthy findings; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; CHOL: cholesterol; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; N/A: not applicable; ND: no data; animals not available; NOAEL: no-observed-adverse-effect level.

[a] Mean ± standard error of the mean (SEM)

[b] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical analysis was conducted on absolute data.

[c] Data expressed as: combined-sex total number of incidents of emesis (weekly average). All types of emesis observations are included.

[d] Data expressed as combined-sex group mean ± Standard Deviation (SD).

* Trend test significance at 5% level; ** Trend test significance at 1% level.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7T 反復投与毒性試験（イヌ、13 週間経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen-Week Oral Capsule Toxicity Study in the Dog							Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.2-25
Species/Strain: Dog/Beagle	Duration of Dosing: 13 weeks						GLP Compliance: Yes	
Initial Age at Dosing: 6-7 months	Method of Administration: Oral capsule							
Date of First Dose: [redacted] 19[redacted]	Vehicle: Gelatin capsule							
Special Features Feces collected during Week 4 and Week 13 of treatment for analysis of fecal bile acid concentrations and for individual concentrations of cholic acid, deoxycholic acid, chenodeoxycholic acid and lithocholic acid.								
Toxicokinetics, Days 1 and 91								
Daily Dose (mg/kg/day)	M:0	F: 0	M:5	F:5	M:20	F:20	M:100	F:100
Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics [a]								
C_{max} (ng/mL) Day 1	N/A		9.01 ± 1.11		25.1 ±4.59		90.7 ±21.5	
C_{max} (ng/mL) Day 91	N/A		1.85 ± 1.17		23.8 ± 4.63		140 ±18.7	
AUC_{24} (ng·hr/mL) Day 1	N/A		17.7 ± 4.97		72.6 ±26.5		239 ±71.5	
AUC_{24} (ng·hr/mL) Day 91	N/A		1.75 ± 1.17		50.8 ± 9.83		503 ±65.7	
Toxicity, 91-Day Study								
Daily Dose (mg/kg/day)	M:0	F: 0	M:5	F:5	M:20	F:20	M:100	F:100
Number of Toxicity Animals Main	4	4	4	4	4	4	4	4
Toxicity Animals Mortality	0	0	0	0	0	0	0	0
Noteworthy Findings [b]								
Clinical Observations								
Emesis [c]	38 (2.9)		34 (2.6)		37 (2.8)		151 (11.6)	
Body weights (g)	--	--	--	--	--	--	--	--
Body weight change (g)	--	--	--	--	--	--	--	--
Food consumption (g)	--	--	--	--	--	--	--	--
Ophthalmic Examination	--	--	--	--	--	--	--	--
Electrocardiographic Examination	--	--	--	--	--	--	--	--
Hematology	--	--	--	--	--	--	--	--

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen-Week Oral Capsule Toxicity Study in the Dog						Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.2-25	
Coagulation	--	--	--	--	--	--	--	--
Urinalysis	--	--	--	--	--	--	--	--
Serum Chemistry [b]								
CHOL (mg/dl)								
Week 4	190	143	-27.4	-13.3	-36.8*	-12.6	-41.6**	-36.4*
Week 13	178	161	-23.0	-11.8	-33.1*	-27.3*	-37.1**	-36.6**
HDL (mg/dL)								
Week 4	227	182	-19.4	-10.4	-32.2*	-2.2	-33.9*	-29.7
Week 13	156	151	-19.2	-9.9	-26.3*	-24.5*	-30.8*	-33.8**
TG (mg/dL)								
Week 4	34	24	-50.0	-16.7	-38.2	-33.3	-23.5	NDA
Week 13	23	26	-17.4	NDA	NDA	NDA	-21.7	NDA
Cl (mmol/L)								
Week 4	--	--	--	--	--	--	--	--
Week 13	109	113	2.8*	-0.9	6.4***	1.8*	6.4***	4.4**
Na (mmol/L)								
Week 4	--	--	--	--	--	--	--	--
Week 13	148	148	0.0	0.0	2.7**	1.4**	2.0***	4.1***
Organ Weights (g) [b]	--	--	--	--	--	--	--	--
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Histopathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Additional Examinations								
Fecal Bile Acids (µmol/kg/day) [b]								
Week 4	45.0	40.3	54.9*	81.6	64.7*	0.5	132.2*	166.0*
Week 13	25.3	30.2	217.8*	60.9	100.0**	11.3	345.1**	195.7*

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7T 反復投与毒性試験（イヌ、13 週間経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Thirteen-Week Oral Capsule Toxicity Study in the Dog						Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.2-25	
Proportion of Bile Acids in Feces (Week 13) [b,e]								
Cholic acid	10.9	7.4	2.8	10.8	184.4	133.8	271.6	262.2
Deoxycholic acid	70.5	69.5	4.1	-1.7	-34.8	-27.8	-47.7	-34.8
Chenodeoxycholic acid	4.0	1.9	-30.0	152.6	50.0	131.6	100.0	205.3
Lithocholic acid	14.5	21.2	-13.1	-11.8	17.2	32.5	0.7	4.2

--: no noteworthy findings; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; CHOL: cholesterol; Cl: chloride; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; HDL: high density lipoproteins; M: male; Na: sodium; N/A: not applicable; NDA: no data available; TG: triglycerides.

[a] Toxicokinetic data are reported as group means ± standard error of the mean (SEM).

[b] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical analysis was conducted on absolute data.

[c] Data expressed as combined-sex total number of incidents of emesis (weekly average). All types of emesis observations are included.

[d] Data expressed as mean ± Standard Deviation (SD)

[e] The proportion of each of the bile acids was calculated by dividing the concentration of each bile acid by the total concentration of the four bile acids.

* Trend test significance at 5% level; ** Trend test significance at 1% level; *** Trend test significance at 0.1% level.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7U 反復投与毒性試験（イヌ、6 ヵ月及び 12 ヵ月経口投与）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Combination Six-Month and One Year Oral Capsule Toxicity Study in the Dog With Reversals						Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-26	
Species/Strain: Dog/Beagle		Duration of Dosing: 6/12 months			GLP Compliance: Yes					
Initial Age at Dosing: 6.5 to 8.5 months		Method of Administration: Oral capsule								
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Vehicle: Gelatin capsule								
Special Features: Bile acid composition and concentration (feces and bile) Concentration of vitamins A (plasma and liver), D (plasma) and E (plasma and liver)					NOAEL = 20 mg/kg/day					
Toxicokinetics, 1, 176, and 358-Days										
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:1	F:1	M:5	F:5	M:20	F:20	M:100	F:100
Number of Animals											
Week 27 sacrifice		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Week 31 sacrifice [a]		4	4	0	0	0	0	0	0	4	4
Week 53 sacrifice		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Week 61 sacrifice [a]		4	4	0	0	0	0	0	0	4	4
Toxicokinetics [b]											
C_{max} (ng/mL)	Day 1	N/A		5.73 (0.903)		13.8 (2.55)		5.84		10.2	
	Day 176	N/A		6.87		3.37		20.2		113	
	Day 358	N/A		1.98		2.97		18.5		87.9	
AUC_{24} (ng·hr/mL)	Day 1	N/A		14.7 (2.61)		35.2 (6.90)		21.5		51.5	
	Day 176	N/A		8.04		8.20		55.4		455	
	Day 358	N/A		4.80		13.5 (13.6)		57.7		342	
Toxicity, 52-Week Study											
Daily Dose (mg/kg/day)		M:0	F: 0	M:1	F:1	M:5	F:5	M:20	F:20	M:100	F:100
Noteworthy Findings											
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations [c]		A test article-related increase in the frequency of emesis was noted at the 100 mg/kg/day dose level only (incidence approximately 2-fold greater than that noted for control animals). Vomited material was described predominantly as white or brown particulate matter with or without capsule remnants. Also, a discoloration of the fur was observed primarily in the 100 mg/kg/day dose group. This observation was also noted sporadically in the lower dose groups and the control group as well. The fur/skin would turn pinkish in coloration, typically starting with the limbs and progressing to the abdomen and face in some animals.									

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Combination Six-Month and One Year Oral Capsule Toxicity Study in the Dog With Reversals						Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-26	
Ophthalmic Examination	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Electrocardiographic Examination	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Body Weight (kg) [d]	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Body weight change (kg) [d,e]										
Week 2	0.239	--	-42.7	--	-127.6	--	-156.5*	--	-146.9*	--
Week 6	0.750	--	7.7	--	-16.5	--	-58.4*	-	-51.1*	--
Week 26	1.579	0.919	20.1	8.2	3.6	-66.5	-31.1	-67.7	-17.2	-53.5
Week 52	3.033	2.509	27.9	-15.9	-16.9	-36.5	-36.3	-42.2	-28.0	-42.6
Food consumption [d]	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Coagulation [d]										
PT (seconds)										
Week 13	7.9	8.3	2.5	-4.8	-1.3	-7.2	1.3	-2.4	6.3**	0.0
Week 26	7.9	7.9	0.0	-1.3	-5.1	-2.5	-1.3	1.3	5.1**	5.1*
Week 39	8.1	8.5	3.7	-4.7	-2.5	4.7	2.5	2.4	12.3**	7.1*
Week 51	8.0	8.2	1.3	-4.9	-3.8	-3.7	0.0	2.4	7.5*	4.9*
Clinical Chemistry [d]										
CHOL (mg/dL)										
Week 13	159	192	-10.7	-5.7	-7.5	-21.9*	-20.8***	-33.9***	-25.2***	-40.6***
Week 26	150	187	-4.7	-3.7	-8.0	-19.8**	-23.3***	-32.1**	-28.7***	-39.0***
Week 39	162	216	-18.5*	-21.3	-7.4*	-31.9*	-24.1**	-37.5**	-36.4***	-39.4***
Week 51	164	245	-17.7*	-18.0	-15.2*	-36.7*	-28.7***	-56.3***	-37.2***	-44.9***
HDL (mg/dL)										
Week 13	152	177	-10.5	-5.6	-5.3	-18.6*	-17.1**	-27.1***	-22.4***	-29.9***
Week 26	138	169	-2.9	-1.8	-5.8	-17.2*	-18.8**	-29.0**	-26.1***	-36.1***
Week 39	148	192	-14.9	-18.2	-2.7	-26.6*	-17.6*	-30.7*	-30.4***	-33.3**
Week 51	136	185	-15.4*	-11.9	-9.6*	-27.0**	-22.1**	-48.1***	-31.6***	-35.7***
TP (g/dL)										
Week 13	6.0	5.8	-1.7	1.7	-16.7	0.0	1.7	-1.7	-5.0**	-6.9***
Week 26	5.9	6.0	1.7	0.0	-1.7	0.0	-1.7	-3.3	-6.8**	-5.0**

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験（続き）

2.6.7.7U 反復投与毒性試験（イヌ、6 ヵ月及び 12 ヵ月経口投与）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Combination Six-Month and One Year Oral Capsule Toxicity Study in the Dog With Reversals							Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-26
Week 39	6.2	6.0	-3.2	5.0	1.6	0.0	-1.6	-3.3	-8.1*	-5.0**
Week 51	6.6	6.2	-1.5	-1.6*	-1.5	-4.8**	-1.5	-6.5***	-10.6**	-8.1***
ALB (g/dL)										
Week 13	3.7	3.7	-2.7	0.0	0.0	0.0	2.7	0.0	-2.7*	-5.4*
Week 26	3.7	3.7	0.0	0.0	2.7	0.0	2.7	0.0	0.0	-5.4
Week 39	3.8	3.8	-7.9	5.3	2.6	-2.6	2.6	-2.6	-5.3	-2.6*
Week 51	3.6	3.6	-5.6	-5.6	-2.8	-2.8	0.0	-2.8	-5.6*	-8.3**
GLOB (g/dL)										
Week 13	2.4	2.1	-4.2	4.8	-4.2	0.0	-4.2	-4.8	-12.5*	-9.5**
Week 26	2.2	2.3	0.0	0.0	-4.5	4.3	-9.1**	-4.3	-13.6***	-4.3*
Week 39	2.5	2.2	0.0	4.5	-4.0	4.5	-8.0	-4.5	-16.0*	-4.5
Week 51	3.0	2.7	3.3	-3.7	0.0	-7.4	-3.3	-14.8**	-16.7**	-14.8***
A/G										
Week 13	1.6	1.8	-6.3	-5.6	0.0	0.0	0.0	5.6	6.3*	5.6
Week 26	1.7	1.6	0.0	0.0	5.9	0.0	11.8*	6.3	17.6**	6.3
Week 39	1.6	1.7	-12.5	0.0	0.0	0.0	6.3	0.0	12.5	5.9
Week 51	1.2	1.4	-8.3	-7.1	0.0	0.0	0.0	7.1	8.3	0.0
CL (mmol/L)										
Week 13	113	108	0.9	2.8**	0.9	3.7***	1.8	2.8***	0.0	2.8***
Week 26	111	112	0.0	2.7**	1.8*	4.5***	0.0*	3.6***	0.0*	2.7***
Week 39	113	112	-0.9	0.9	0.9	1.8*	0.9	3.6***	0.9*	3.6***
Week 51	115	113	-2.6	-0.9	-1.7	0.0	0.0	0.9	-0.9	1.8
Na (mmol/L)										
Week 13	149	144	0.7	2.1*	1.3	2.1*	1.3	1.4*	-0.7***	0.7*
Week 26	147	147	0.0	1.4*	1.4**	2.7**	0.0**	1.4**	0.0**	1.4**
Week 39	148	148	0.0	0.0	0.7	0.0	0.0	0.7	0.0	1.4**
Week 51	152	150	-1.3	-1.3	-2.0*	-0.7	-2.0**	-0.7	-2.0**	-0.7
Week 59 (recovery)	150	148	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	-0.7*	1.4

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Combination Six-Month and One Year Oral Capsule Toxicity Study in the Dog With Reversals						Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-26	
Phosphorous (mg/dL)										
Week 13	4.9	4.6	-2.0	-4.3	-4.1	-6.5	-10.2	-8.7	-6.1	-6.5
Week 26	4.3	4.0	-4.7	-5.0	-4.7	2.5	-14.0***	-2.5	-7.0***	7.5
Week 39	4.4	4.1	-4.5	-14.6	-9.1	-7.3	-15.9*	-9.8	-9.1*	-12.2
Week 51	4.4	4.7	-9.1	-10.6	-11.4	-14.9	-20.5	-21.3**	-6.8	-19.1**
Week 59 (recovery)	3.8	4.1	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	0.0	-12.2**
AST										
Week 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Week 26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Week 39	-	25	-	40.0*	-	12.0*	-	4.0*	-	36.0*
Week 51	-	29	-	13.8	-	24.1**	-	48.3***	-	34.5***
Week 59 (recovery)	-	25	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	-	16.0*
ALP										
Week 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Week 26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Week 39	94	-	-44.7*	-	-45.7*	-	-54.3*	-	-19.1*	-
Week 51	92	-	-48.9*	-	-53.3*	-	-56.5*	-	-26.1*	-
Urinalysis and urine chemistry										
Daily Phosphorous Excretion (mg/17h)										
Week 12	190	84	34.7	132.1	-2.6	86.9	8.4	190.5	94.7	327.4
Week 25	165	102	-17.6	21.6	36.4	85.3	59.4	171.6	114.5	257.8
Week 38	182	65	-4.4	163.1*	27.5	203.1*	54.4	350.8**	125.8*	395.4**
Week 51-52	159	81	7.5	-1.2	-7.5	81.5	118.2*	279.0**	101.9*	325.9***
Vitamin Analyses [f]										
Liver										
Week 53										
γ-Tocopherol (µg/g)	5.1	4.5	-3.9	2.2	-15.7	17.8	0.0	2.2	-3.9	15.6
α-Tocopherol (µg/g)	88.6	86.4	-14.6	10.2	-7.9	23.0	-23.6	-37.2	-47.4	-41.9
Total Retinol (µg/g)	6561.2	9791.2	-14.4	1.2	-11.2	-4.1	-40.0	-33.3	-43.9	-41.9

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Combination Six-Month and One Year Oral Capsule Toxicity Study in the Dog With Reversals						Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-26	
Week 61 (recovery)										
γ-Tocopherol (µg/g)	5.0	5.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	38.0	59.6
α-Tocopherol (µg/g)	100.4	104.5	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	-46.2	-57.0
Total Retinol (µg/g)	7420.3	9861.7	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	-31.7	-42.6
Fecal Bile Acids (µmol/kg BW)										
Week 12	44.1	36.8	32.7*	81.5***	49.9**	77.4***	62.1***	116.8***	178.0***	294.6***
Week 25	30.8	36.7	75.3***	34.1	97.1***	9.3	159.4***	75.2***	251.3***	189.6***
Week 38	15.6	14.3	134.6**	200.7**	336.5***	192.3***	326.3***	328.7***	467.9***	414.7***
Week 51	19.9	29.0	140.2**	59.3	284.4***	47.2	478.9***	152.4**	529.6***	200.7***
Organ Weights (g) [d]										
Week 27	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Week 53	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Macroscopic Findings [g]										
Week 27	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Week 53										
Skin, discoloration	0 (4)	0 (4)	0 (4)	0 (4)	0 (4)	0 (4)	0 (4)	0 (4)	3 (4)	2 (4)
Microscopic Findings [g]										
Week 27	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Week 53										
Stomach										
Fundic mucosa, parietal cells, decreased eosinophilia	0 (4)	0 (4)	0 (4)	0 (4)	0 (4)	0 (4)	0 (4)	0 (4)	4 (4)	3 (4)
Pyloric mucosa, cytoplasmic vacuolization	0 (4)	0 (4)	0 (4)	0 (4)	1 (4)	1 (4)	2 (4)	0(4)	3 (4)	3 (4)

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Combination Six-Month and One Year Oral Capsule Toxicity Study in the Dog With Reversals						Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.2-26	
Week 61 (recovery)										
Stomach										
Fundic mucosa, parietal cells, decreased eosinophilia	0 (4)	0 (4)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1 (4)	3 (4)
Pyloric mucosa, cytoplasmic vacuolization	1 (4)	0 (4)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	3 (4)	3 (4)

--: no noteworthy findings; A/G: serum albumin/globulin ratio; ALB: serum albumin concentration; ALP: serum alkaline phosphatase activity; APTT: activated partial thromboplastin time; ALT: alanine aminotransferase; AST: serum aspartate aminotransferase activity; AUC_{24}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to 24 hours; BW: body weight; CHOL: serum cholesterol concentration; CL: serum chloride concentration; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLOB: serum globulin concentration; GLP: Good Laboratory Practices; HDL: serum high density lipoprotein concentration; M: male; Na: serum sodium concentration; N/A: not applicable; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; PT: prothrombin time; TP: serum total protein concentration.

[a] Animals were sacrificed after either a 4-week recovery period following 6 months of dosing (Week 31) or an 8-week recovery period following 12 months of dosing (Week 61).

[b] Data expressed as combined-sex group means. Numbers in parentheses represent values obtained after removal of outliers.

[c] Neither group mean nor individual animal tabulated clinical observation data are available in the final study report. Therefore, a textual description of the noteworthy clinical observations is provided.

[d] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical comparisons are based on the absolute values.

[e] Body weight gains were generally lower in the 20 and 100 mg/kg/day males throughout the study and were 69% and 83%, respectively, of control values at the end of 26 weeks of dosing and 64% and 72%, respectively, of control values at the end of 52 weeks of dosing. There were no statistically significant changes in females, although the gains were generally lower in the 5, 20 and 100 mg/kg/day treatment groups (34%, 32% and 46% of control values, respectively, at Week 26 and 64%, 58% and 57% of control values, respectively, at Week 52).

[f] Plasma samples for vitamin analysis collected at Weeks 26 and 51 of treatment and prior to scheduled sacrifices for the reversal groups were submitted to [redacted] ([redacted]) for analysis of vitamins A, E and E. Samples collected at Weeks 13 and 39 were not analyzed but retained for possible future analysis. Liver samples for vitamin analysis collected at Weeks 27, 53 or during the reversal sacrifices were shipped to [redacted] for analysis of vitamins A and E. Liver samples from animals sacrificed during Week 53 and during the final reversal were submitted to [redacted] ([redacted] for analysis of vitamins A and E. According to the final study report: “The analytical methods for the determination of plasma and liver vitamins E, D and A used by [redacted] were evaluated and determined to be insensitive and sufficiently extracted (see consultant’s memo in the raw data notebook). The data obtained is not considered reliable. The analysis for hepatic vitamins A and E were repeated at [redacted] (data in raw notebook).” A table of summary data from the analyses conducted at [redacted] was provided in the body of the final study report. Although the experimental intervals are not stipulated in the summary table, based on the excerpt quoted above from the final study report, these data are assumed to be associated with the Week 53 and Week 61 sacrifices. Also, sex (male or female) is not stipulated in the summary table although two sets of data are provided for each analysis interval. For the purposes of this Tabulated Summary, the first set of data provided in the summary table is assumed to be associated with males while the second set of data provided in the summary table is assumed to be associated with females. While units of measure for the 3 analytes (©-Tocopherol, <-Tocopherol and Total Retinol) are not stipulated in the summary table, these are assumed to be “µg/g”. The overall conclusion relating to these analyses was provided in the final study report as: “Liver vitamin A levels were decreased at the 20 and 100 mg/kg doses. The decrease was not overcome during the reversal period. There was a dose dependent decrease in the <-Tocopherol levels, though these values are within normal ranges.” Although individual animal and group mean vitamin analysis data generated by [redacted] for plasma and liver samples are available in the final study report, these data are not tabulated herein due to the declared “unreliable” nature of these data.

[g] Data expressed as: number of animals with observation (total number of animals evaluated).

* Trend test significant at the 5% level; ** Trend test significant at the 1% level; *** Trend test significant at the 0.1% level.

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8A 変異原性試験（Ames 試験）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Potential of SC-76663 [Maralixibat] in the Ames Salmonella/Microsome Assay		Study No.: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.3.1-1
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells		No. of Independent Assays: 1	GLP Compliance: No
Strains: *S. typhimurium* TA97a, TA98, TA100, TA1535, TA102		No. of Replicate Cultures: 3	Date of Treatment: [redacted] 19[redacted]
Metabolizing System: Rat liver S9		No. of Cells Analyzed/Culture: N/A	
Vehicles	For Test Article: Dimethyl sulfoxide (DMSO)	For Positive Controls: Not stated in report	
Treatment: Plate incorporation method; incubation at 37 °C for 2 days			
Cytotoxic Effects [a]: 5000 µg/plate: All strains with and without metabolic activation. Without metabolic activation, a reduced bacterial lawn with colonies was present at 1000 µg/plate in strains TA100, TA102, and TA1535 and at 500 µg/plate with TA97a. With metabolic activation, a reduced bacterial lawn with colonies was present at 1000 µg/plate with strains TA100 and TA102, and at 500 µg/plate with TA97a.			
Genotoxic Effects: None (negative)			

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8A 変異原性試験（Ames 試験）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Potential of SC-76663 [Maralixibat] in the Ames Salmonella/Microsome Assay			Study No.: [redacted]			添付資料番号：4.2.3.3.1-1	
Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/Plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SEM)				
			TA 97a	TA98	TA100	TA102	TA1535
Without Activation	DMSO	0 (50 µL)	148 ± 6.3	16 ± 0.7F	161 ± 6.7	279 ± 19.6	10 ± 1.0F
	Maralixibat	10	124 ± 1.9	16 ± 0.6F	155 ± 6.8	259 ± 3.2	13 ± 1.5F
		50	110 ± 1.5	17 ± 2.9F	126 ± 7.2	237 ± 19.1	10 ± 2.4F
		100	104 ± 11.5	13 ± 1.0F	117 ± ---[b]	219 ± 9.0	15 ± 0.9F
		500	43 ± 3.8RC	13 ± 1.3F	39 ± 3.2	163 ± 1.2	12 ± 2.2F
		1000	31 ± 2.4RC	15 ± 1.8F	18 ± ---[b] RC	94 ± 20.1RC	7 ± 0.7F,RC
		5000	TN	TN	TN	TN	TN
	Sodium azide	1.0	N/A	N/A	659* ± 7.8	N/A	536# ± 63.5
	2-Nitrofluorene	2.5	N/A	335* ± 39.0	N/A	N/A	N/A
	ICR-191 Acridine	0.5	1248* ± 67.1	N/A	N/A	N/A	N/A
	Cumen hydroperoxide	100	N/A	N/A	N/A	1291* ± 115.4	N/A
With Activation	DMSO	0 (50 µL)	133 ± 7.0	16 ± 3.0F	178 ± 4.8	326 ± 10.9	12 ± 1.7F
	Maralixibat	10	149 ± 6.8	25 ± 0.3F	176 ± 2.6	318 ± 2.8	13 ± 1.0F
		50	128 ± 9.0	25 ± 0.9F	172 ± 2.2	330 ± 4.6	11 ± 0.9F
		100	116 ± 6.0	23 ± 3.7F	147 ± 13.2	291 ± 0.6	11 ± 0.3F
		500	60 ± 4.6RC	21 ± 1.5F	61 ± 7.5	186 ± 9.0	5 ± 1.8F
		1000	52 ± 6.8RC	21 ± 2.0F	24 ± 3.5RC	157 ± 15.3RC	7 ± 0.9F
		5000	TN	TN	TN	TN	TN
	2-Aminoanthracene	1.0	1131* ± 173.1	1029* ± 59.0	1501* ± 36.4	N/A	163# ± 7.6
	Danthron	50	N/A	N/A	N/A	1063* ± 27.3	N/A

---: not calculated; DMSO: dimethyl sulfoxide; F: hand counted; few colonies; GLP: Good Laboratory Practice; N/A: not applicable; RC: reduced bacterial lawn with colonies present; S9: post-mitochondrial fraction; SEM: standard error of the mean; TN: toxic, no bacterial growth.

[a] Toxicity demonstrated as few colonies, reduced bacterial lawn with colonies present, and/or no bacterial growth.

[b] SEM was not calculated because all the observations had the same value.

* Greater than or equal to 2X the vehicle (DMSO) control

Greater than or equal to 3X the vehicle (DMSO) control

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8B 変異原性試験（Ames 試験）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Potential of SD-5613 [Maralixibat] in the Ames Salmonella/Microsome Assay		Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.3.1-2
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	No. of Independent Assays: 1[a]	GLP Compliance: Yes	
Strains: *S. typhimurium* TA97a, TA98, TA100, TA1535, TA102	No. of Replicate Cultures: 3	Date of Treatment: Test A: [redacted] 19[redacted] Test B: [redacted] 19[redacted]	
Metabolizing System: Rat liver S9 (Lot [redacted], [redacted], [redacted], MD)	No. of Cells Analyzed/Culture: N/A		
Vehicles: For Test Article: Dimethyl sulfoxide (DMSO)	For Positive Controls: Not stated in report		
Treatment: Plate incorporation method; incubation at 37 °C for 2 days			
Cytotoxic Effects [b]: ≥ 1000 µg/plate: All strains except TA100 and TA97a without metabolic activation at concentrations ≥ 500 µg/plate: TA100 and TA97a without metabolic activation 5000 µg/plate: TA98 with and without metabolic activation			
Genotoxic Effects: None (negative)			

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8B 変異原性試験（Ames 試験）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Potential of SD-5613 [Maralixibat] in the Ames Salmonella/Microsome Assay	Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.3.1-2

Test A

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/Plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SEM)				
			TA 97a	TA98	TA100	TA102	TA1535
Without Activation	DMSO	0 (50 µL)	98 ± 9.2	19 ± 2.5F	128 ± 9.5	220 ± 5.5	9 ± 2.4F
	Maralixibat	10	98 ± 6.7	17 ± 0.3F	110 ± 8.5	201 ± 6.4	12 ± 2.0F
		50	94 ± 4.4	19 ± 1.0F	96 ± 2.1	160 ± 2.3	10 ± 0.9F
		100	92 ± 8.6	18 ± 0.9F	104 ± 2.3	151 ± 5.4	10 ± 2.3F
		500	49 ± 4.1RC	13 ± 2.9F	45 ± 3.8 RC	91 ± 3.8	9 ± 0.3F
		1000	32 ± 4.1 RC	12 ± 1.2F	19 ± 0.9 RC	51 ± 6.5 RC	4 ± 1.5F,RC
		5000	TN	TN	TN	TN	TN
	Sodium azide	1.0	N/A	N/A	904* ± 23.7	N/A	531** ± 42.9
	2-Nitrofluorene	2.5	N/A	536* ± 67.3	N/A	N/A	N/A
	ICR-191 Acridine	0.5	825* ± 20.6	N/A	N/A	N/A	N/A
	Cumen hydroperoxide	100	N/A	N/A	N/A	1433* ± 73.5	N/A
With Activation	DMSO	0 (50 µL)	87 ± 0.6	26 ± 1.2F	110 ± 3.6	244 ± 17.1	8 ± 2.0F
	Maralixibat	10	108 ± 4.8	25 ± 2.9F	125 ± 11.5	231 ± 0.7	13 ± 0.9F
		50	105 ± 4.1	21 ± 1.3F	120 ± 9.7	231 ± 11.8	11 ± 0.7F
		100	93 ± 1.7	25± ---[c] F	106 ± 5.0	222 ± 10.4	6 ± 1.2F
		500	41 ± 2.3	21 ± 2.3F	44 ± 4.7RC	140 ± 14.8	8 ± 0.6F
		1000	40 ± 1.9RC	13 ± 3.8F	18 ± 3.8RC	104 ± 4.6RC	5 ± 1.3F,RC
		5000	TN	TN	TN	TN	TN
	2-Aminoanthracene	1.0	1159* ± 60.1	1475* ± 43.5	1489* ± 40.8	N/A	163** ± 30.1
	Danthron	50	N/A	N/A	N/A	1423* ± 42.2	N/A

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8B 変異原性試験（Ames 試験）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Potential of SD-5613 [Maralixibat] in the Ames Salmonella/Microsome Assay			Study No: [redacted]				添付資料番号：4.2.3.3.1-2
Test B							
Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/Plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SEM)				
			TA 97a	TA98	TA 100	TA102	TA1535
With Activation	DMSO	0 (50 µL)	N/A	N/A	133 ± 8.7	N/A	N/A
	Maralixibat	5	N/A	N/A	144 ± 2.6	N/A	N/A
		10	N/A	N/A	119 ± 4.4	N/A	N/A
		50	N/A	N/A	111 ± 11.5	N/A	N/A
		100	N/A	N/A	70 ± 3.3	N/A	N/A
		500	N/A	N/A	20 ± 3.5RC	N/A	N/A
		750	N/A	N/A	21 ± 4.5RC	N/A	N/A
	Sodium azide	1.0	N/A	N/A	555* ± 24.4	N/A	N/A
Without Activation	DMSO	0 (50 µL)	N/A	N/A	164 ± 10.8	N/A	N/A
	Maralixibat	5	N/A	N/A	136 ± 6.1	N/A	N/A
		10	N/A	N/A	141 ± 3.5	N/A	N/A
		50	N/A	N/A	129 ± 3.8	N/A	N/A
		100	N/A	N/A	106 ± 9.8	N/A	N/A
		500	N/A	N/A	26 ± 2.9RC	N/A	N/A
		750	N/A	N/A	32 ± 5.5RC	N/A	N/A
	2-Aminoanthracene	1.0	N/A	N/A	1566* ± 30.0	N/A	N/A

---: not calculated; F: hand counted, few colonies; GLP: Good Laboratory Practices; N/A: not applicable; RC: reduced bacterial lawn with colonies present; SEM: standard error of the mean; S9: post-mitochondrial fraction; TN: toxic, no bacterial growth.

[a] In the initial mutagenicity assay (“Test A”), the vehicle control values in conditions with metabolic activation and the positive control values in conditions without metabolic activation were out of the testing facility historical range with strain TA100 only. Therefore, the assay was repeated with TA100 only (“Test B”).

[b] Toxicity demonstrated as few colonies, reduced bacterial lawn with colonies present, and/or no bacterial growth.

[c] SEM was not calculated because all the observations had the same value.

* Greater than or equal to 2X the vehicle (DMSO) control

** Greater than or equal to 3X the vehicle (DMSO) control

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8C 染色体異常試験

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Evaluation of the Potential of SC-76663 [Maralixibat] to Induce Chromosome Aberrations in Vitro in Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells		Study No.: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.3.1-3
Test for Induction of: Chromosome aberrations	No. of Independent Assays: 2	GLP Compliance: No	
Strains: Chinese hamster ovary (CHO) cells	No. of Replicate Cultures: 2	Date of Treatment: [redacted] 19[redacted]	
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9	No. of Cells Analyzed/Culture: 100		
Vehicles: For Test Article: Dimethyl sulfoxide (DMSO)	For Positive Controls: Water		
Treatment: 4 Hour (-S9); 4 Hour (+ S9); 24 Hour (-S9)			
Cytotoxic Effects: The maximum recommended level (≥ 50%) of cytotoxicity was achieved for all conditions.			
Genotoxic Effects: None			

Test Article	Conc. (µg/mL)	% Cell Survival	# Cells Scored	Polyploid (%)	Endos (%)	Aberrations/Cell	% Aberrant Cells	% Cells with > 1 Aberration
-S9; 4.0 hour treatment								
DMSO	1% (v/v)	100	100	4.5	0.5	0.010	1.0	0.0
Maralixibat	50	85	100	4.5	0	0.010	1.0	0.0
	75	44	100	4	1	0.020	1.0	1.0
	80	28	--	--	--	--	--	--
	90	18	--	--	--	--	--	--
	95	15	--	--	--	--	--	--
Mitomycin C	0.5	24	--	--	--	--	--	--
	0.25	44	82	4	0	≥0.46	36.6	8.5
+S9; 4 hour treatment								
DMSO	1% (v/v)	100	100	6	0	0.030	3.0	0.0
Maralixibat	75	66	100	4.5	0	0.050	5.0	0.0
	100	48	100	4	0	0.010	1.0	0.0
	150	9	--	--	--	--	--	--
	175	3	--	--	--	--	--	--
	200	2	--	--	--	--	--	--
Cyclophosphamide	5.0	29	--	--	--	--	--	--
	2.5	62	91	4.5	2	≥ 0.32	26.4	4.4

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8C 染色体異常試験（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Evaluation of the Potential of SC-76663 [Maralixibat] to Induce Chromosome Aberrations in Vitro in Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells							Study No.: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.3.1-3
-S9; 24 hour treatment								
DMSO	1% (v/v)	100	100	4.5	0	0.00	0.0	0.0
Maralixibat	20	85	100	4.5	0	0.02	2.0	0.0
	30	64	100	5.5	0	0.03	3.0	0.0
	40	45	100	4.5	0	0.02	2.0	0.0
	50	30	--	--	--	--	--	--
	60	18	--	--	--	--	--	--
Mitomycin C	0.1	34	--	--	--	--	--	--
	0.05	60	88	4.5	0.5	≥ 0.44	34.1	8.0

--: not examined; DMSO: dimethyl sulfoxide ; GLP: Good Laboratory Practices; S9: post-mitochondrial fraction; -S9: without activation; +S9: with activation.

% Aberrant Cells: (Total number of cells with at least one aberration／Total number of cells examined per dose) x 100

Cell w>1 Aberration: (Total number of cells with two or more aberrations／Total number of cells examined per dose) x 100

Aberrations/cell: Total number of aberrations*／Total number of cells

* Each GT (Greater Than) is equal to ≥ 10 aberrations

Endos: Endoreduplications (4N cell in which separation at the centromere of the chromosome pairs has failed).

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8D 染色体異常試験

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Evaluation of the Potential of SD-5613 [Maralixibat] to Induce Chromosome Aberrations in Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells		Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.3.1-4
Test for Induction of: Chromosome aberrations	No. of Independent Assays: 2	GLP Compliance: Yes	
Strains: Chinese hamster ovary (CHO) cells	No. of Replicate Cultures: 2	Date of Treatment: [redacted] 19[redacted]	
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9	No. of Cells Analyzed/Culture: 100		
Vehicles: For Test Article: Dimethyl sulfoxide (DMSO)	For Positive Controls: Water		
Treatment: 3 Hour (-S9); 3 Hour (+ S9); 17.9 Hour (-S9)			
Cytotoxic Effects: Dead/unhealthy cell monolayers, reduction in cell monolayer confluence, debris and/or no visible mitotic cells			
Genotoxic Effects: None			

Assessment of Toxicity for Chromosomal Aberration Assay

Test Article	Conc. (µg/mL)	Confluence[a] % Solvent Control	% Mitotic Index A Culture	% Mitotic Index B Culture	Average % Mitotic Index	% Reduction Mitotic Index	Cell Count ($x10^5$) A Culture	Cell Count ($x10^5$) B Culture	Mean Viable Cell Count ($x10^5$)	Growth Index %	Cell Growth Inhib. %
-S9; 3.0 hour treatment; 20.0 hour harvest											
McCoy's 5a	0	100	7.8	9.9	8.9	NC [b]	3.93	3.96	3.95	NC [b]	NC [b]
DMSO	10 µL/mL	100	8.7	10.2	9.5	0	3.96	4.53	4.25	100	0
Maralixibat	25.0	100	11.0	10.1	10.6	0	3.45	2.94	3.20	75	25
	50.0	86	7.9	13.0	10.5	0	2.88	2.52	2.70	64	36
	60.0	86	9.0	12.3	10.7	0	1.95	2.10	2.03	48	52
	65.0	86	10.9	13.8	12.4	0	2.28	1.77	2.03	48	52
	70.0	71	11.7	11.4	11.6	0	1.98	2.01	2.00	47	53
	75.0	57	10.1	8.8	9.5	0	1.74	1.41	1.58	37	63
	80.0	57/29**	14.2	1.0	7.6	20	1.32	0.81	1.07	25	75
	85.0	57	10.0	1.1	5.6	41	0.90	0.84	0.87	20	80
	100	43	ND [c]	ND [c]	ND [c]	ND [c]	0.00	0.15	0.08	2	98
	125	43[d]	--	--	--	--	--	--	--	--	--

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8D 染色体異常試験（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Evaluation of the Potential of SD-5613 [Maralixibat] to Induce Chromosome Aberrations in Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells								Study No: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.3.1-4	
-S9; 17.9 hour treatment; 20.0 hour harvest											
McCoy's 5a	0	100	4.5	4.2	4.4	NC [b]	3.21	4.41	3.81	NC [b]	NC [b]
DMSO	10 µL/mL	100	7.3	7.1	7.2	0	3.00	3.60	3.30	100	0
Maralixibat	20.0	100	3.0	2.9	3.0	58	2.97	3.66	3.32	101	0
	30.0	100	1.2	2.0	1.6	78	2.10	3.48	2.79	85	15
	35.0	100	2.3	2.5	2.4	67	2.37	2.85	2.61	79	21
	40.0	86	0.8	0.4	0.6	92	2.43	2.13	2.28	69	31
	45.0	71	2.0	1.9	2.0	72	1.89	2.10	2.00	61	39
	50.0	57/43**	0.7	0.4	0.6	92	1.41	0.15	0.78	24	76
	60.0	43	0.9	0.6	0.8	89	0.75	0.72	0.74	22	78
	70.0	43	0.1	0.2	0.2	97	0.30	0.06	0.18	5	95
	80.0 [d]	43	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	90.0 [d]	43	--	--	--	--	--	--	--	--	--
+S9; 3.0 hour treatment; 20.0 hour harvest											
McCoy's 5a	0	100	13.0	11.6	12.3	NC [b]	4.11	4.62	4.37	NC [b]	NC [b]
DMSO	10 µL/mL	100	16.8	11.9	14.4	0	4.56	4.26	4.41	100	0
Maralixibat	25.0	100	ND [c]	ND [c]	ND [c]	ND [c]	3.39	3.36	3.38	77	23
	50.0	100	6.5	7.1	6.8	53	3.81	3.81	3.81	86	14
	60.0 [e]	100	11.7	11.1	11.4	21	3.33	3.48	3.41	77	23
	70.0 [e]	100	8.7	10.3	9.5	34	3.78	3.57	3.68	83	17
	80.0 [f]	86	10.8	12.6	11.7	19	3.42	3.78	3.60	82	18
	90.0 [f]	86	11.6	11.9	11.8	18	2.79	2.82	2.81	64	36
	100 [f]	57	6.8	14.5	10.7	26	2.67	2.70	2.69	61	39
	110 [f]	57	7.9	9.0	8.5	41	1.71	1.50	1.61	37	63
	125 [g]	29	2.1	2.7	2.4	83	0.42	0.57	0.50	89	11
	150 [d,g]	14	--	--	--	--	--	--	--	--	--

--: not examined; Conc.: concentration; GLP: Good Laboratory Practices; McCoy's 5a: culture medium, NC: not computed; ND: not done; S9: post-mitochondrial fraction; -S9: without activation; +S9: with activation.

[a] Endpoint based upon visual observations made prior to harvest of metaphase cells; At the time of the confluence observation, the flasks were also evaluated for the appearance of floating mitotic cells and dead cells.

[b] Not computed since the data are not relevant.
[c] Not done
[d] Not harvested
[e] Very slight precipitate at harvest
[f] Slight precipitate at harvest
[g] Precipitate at harvest
[**] A Culture/B Culture
% Mitotic Index = [(Number of mitotic cells) /(total number of cells analyzed)] x 100
Growth Index = [(mean live cells per treated group) / (mean live cells per control)] x 100
Cell Growth Inhibition = (100% - % Growth Index)
% Reduction Mitotic Index = (100% - average % Mitotic Index)

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8D 染色体異常試験（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Evaluation of the Potential of SD-5613 [Maralixibat] to Induce Chromosome Aberrations in Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells					Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.3.1-4	
Chromosome Aberrations in Chinese Hamster Ovary Cells							
Test Article	Concentration (µg/mL)	Cells Scored	# of Aberrations per Cell	% Cells with Aberrations	% Cells with >1 Aberration	%PP	%E
-S9; 3.0 hour treatment; 20.0 hour harvest							
McCoy's 5a	0	A 100	0.00	0.0	0.0	4.0	0.0
		B 100	0.00	0.0	0.0	3.0	0.0
		A+B 200	0.00	0.0	0.0	3.5	0.0
DMSO	10 µL/mL	A 100	0.02	2.0	0.0	0.0	0.0
		B 100	0.01	1.0	0.0	2.0	0.0
		A+B 200	0.02	1.5	0.0	1.0	0.0
MMC	1.50	A 25	1.08	56.0	40.0	2.0	1.0
		B 25	1.44	68.0	44.0	3.0	2.0
		A+B 50	1.26	62.0*	42.0*	2.5	1.5
Maralixibat	50.0	A 100	0.03	3.0	0.0	2.0	0.0
		B 100	0.04	3.0	1.0	4.0	1.0
		A+B 200	0.04	3.0	0.5	3.0	0.5
	60.0	A 100	0.04	3.0	1.0	2.0	0.0
		B 100	0.04	2.0	1.0	3.0	0.0
		A+B 200	0.04	2.5	1.0	2.5	0.0
	65.0	A 100	0.04	4.0	0.0	0.0	0.0
		B 100	0.07	4.0	1.0	3.0	0.0
		A+B 200	0.06	4.0	0.5	1.5	0.0
	70.0	A 100	0.02	2.0	0.0	3.0	1.0
		B 100	0.01	1.0	0.0	0.0	0.0
		A+B 200	0.02	1.5	0.0	1.5	0.5

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8D 染色体異常試験（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Evaluation of the Potential of SD-5613 [Maralixibat] to Induce Chromosome Aberrations in Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells	Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.3.1-4

Chromosome Aberrations in Chinese Hamster Ovary Cells

Test Article	Concentration (µg/mL)	Cells Scored	# of Aberrations per Cell	% Cells with Aberrations	% Cells with >1 Aberration	%PP	%E
-S9; 17.9 hour treatment; 20.0 hour harvest							
McCoy's 5a	0	A 100	0.01	1.0	0.0	2.0	0.0
		B 100	0.01	1.0	0.0	0.0	0.0
		A+B 200	0.01	1.0	0.0	1.0	0.0
DMSO	10 µL/mL	A 100	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0
		B 100	0.02	2.0	0.0	2.0	0.0
		A+B 200	0.01	1.0	0.0	1.0	0.0
MMC	0.150	A 75	0.24	18.7	5.3	2.5	0.0
		B 25	0.28	28.0	0.0	1.0	0.0
		A+B 100	0.25	21.0*	4.0*	2.0	0.0
Maralixibat	30.0	A 100	0.07	4.0	2.0	1.0	0.0
		B 100	0.02	2.0	0.0	1.0	0.0
		A+B 200	0.05	3.0	1.0	1.0	0.0
	35.0	A 100	0.01	1.0	0.0	4.0	0.0
		B 100	0.02	2.0	0.0	0.0	0.0
		A+B 200	0.02	1.5	0.0	2.0	0.0
	40.0**	A 147	0.03	2.7	0.7	3.6	0.0
		B 100	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0
		A+B 200	0.02	2.0	0.5	3.5	0.0
	45.0	A 100	≥0.13	6.0	2.0	0.0	0.0
		B 100	0.06	6.0	0.0	1.0	0.0
		A+B 200	≥0.10	6.0	1.0	0.5	0.0

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験（続き）

2.6.7.8D 染色体異常試験（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Evaluation of the Potential of SD-5613 [Maralixibat] to Induce Chromosome Aberrations in Chinese Hamster Ovary (CHO) Cells			Study No: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.3.1-4		
Chromosome Aberrations in Chinese Hamster Ovary Cells							
Test Article	Concentration (µg/mL)	Cells Scored	# of Aberrations per Cell	% Cells with Aberrations	% Cells with >1 Aberration	%PP	%E
+S9; 3.0 hour treatment; 20.0 hour harvest							
McCoy's 5a	0	A 100	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0
		B 100	0.00	0.0	0.0	1.0	0.0
		A+B 200	0.00	0.0	0.0	0.5	0.0
DMSO	10 µL/mL	A 100	0.01	1.0	0.0	2.0	1.0
		B 100	0.00	0.0	0.0	1.0	1.0
		A+B 200	0.01	0.5	0.0	1.5	1.0
CP	5.00	A 25	0.40	32.0	8.0	1.0	0.0
		B 25	0.36	28.0	8.0	2.0	0.0
		A+B 50	0.38	30.0*	8.0*	1.5	0.0
Maralixibat	80.0	A 100	0.03	2.0	1.0	0.0	0.0
		B 100	0.00	0.0	0.0	1.0	0.0
		A+B 200	0.02	1.0	0.5	0.5	0.0
	90.0	A 100	0.02	2.0	0.0	2.0	0.0
		B 100	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0
		A+B 200	0.01	1.0	0.0	1.0	0.0
	100	A 100	0.01	1.0	0.0	1.0	0.0
		B 100	0.02	2.0	0.0	0.0	0.0
		A+B 200	0.02	1.5	0.0	0.5	0.0
	110	A 100	0.02	2.0	0.0	0.0	3.0
		B 100	≥0.06	2.0	1.0	0.0	2.0
		A+B 200	≥0.04	2.0	0.5	0.0	2.5

CP: cyclophosphamide; DMSO: dimethyl sulfoxide; E: endoreduplication; McCoy's 5a: culture medium; MMC: mitomycin-C, PP: polyploid cell; S9: post-mitochondrial fraction; -S9: without activation; +S9: with activation.

# of aberrations/cell= (No. of aberrations) ÷ (Total no. of cells analyzed)

* = Significantly greater than the solvent controls, p≤0.01.

** = A total of 197 metaphase cells from the A culture and 3 from the B culture were counted for polyploidy and endoreduplication

%PP / %E /% cells with aberrations /% cells with >1 aberration = [(Number of mitotic cells/PP/E/cells with aberrations/cells with >1 aberrations) ÷ (Total number of cells analyzed) x 100.

2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9A 小核試験（ラット）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Evaluation of the Potential of SD-5613 [Maralixibat] to Induce Micronucleated Polychromatic Erythrocytes in the Bone Marrow of Rats (Micronucleus Test)	Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.3.2-1
Test for Induction of: Bone marrow micronuclei	Treatment Schedule: Single Dose	GLP Compliance: Yes
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Sampling Time: 24 and 48 hours post-dose	Date of Dosing: [redacted] 19[redacted]
Age: 8-10 Weeks at time of dosing	Method of Administration: Oral Gavage	
Cells Evaluated: Polychromatic erythrocytes (PCEs)	Vehicle/Formulation: Distilled water	
No. of Cells Analyzed/Animal: ≥ 2000		
Special Features: None		
Toxic/Cytotoxic Effects: 2000 mg/kg: Mortality (5/15 males) within 24 hours post-dose; salivation, hypoactivity, soft or red feces within 1 hour post- dose; fecal stains 24 and 48 hours post-dose; reduction in feces in females 48 hours post-dose 1000 mg/kg: Salivation; hypoactivity, soft or red feces within 1 hour post-dose 500 mg/kg: Salivation		
Genotoxic Effects: None		
Evidence of Exposure: Overt toxicity/mortality at 2000 mg/kg		

Treatment	Dose (mg/kg)	Harvest Time (hours)	No. of Animals	% Micronucleated PCEs (mean of 2000 per animals±SE			Ratio PCE:Total Erythrocytes Mean±SE)	
				Males	Females	Total	Males	Females
Vehicle	0	24	6M + 6F	0.17 ± 0.03	0.30 ± 0.05	0.24 ± 0.04	0.45 ± 0.02	0.44 ± 0.02
		48	6M + 6F	0.16 ± 0.03	0.22 ± 0.07	0.19 ± 0.04	0.48 ± 0.02	0.45 ± 0.02
Positive control [a]	60	24	6M + 6F	1.78 ± 0.07*	2.08 ± 0.15*	1.93 ± 0.09*	0.33 ± 0.01**	0.35 ± 0.02**
Maralixibat	500	24	6M + 6F	0.14 ± 0.04	0.26 ± 0.04	0.20 ± 0.03	0.45 ± 0.02	0.44 ± 0.01
	1000	24	6M + 6F	0.25 ± 0.03	0.11 ± 0.02	0.18 ± 0.03	0.46 ± 0.01	0.41 ± 0.01
	2000	24	6M + 6F	0.17 ± 0.06	0.11 ± 0.02	0.14 ± 0.03	0.48 ± 0.02	0.47 ± 0.01
		48	6M + 6F	0.12 ± 0.05	0.15 ± 0.06	0.14 ± 0.04	0.46 ± 0.01	0.44 ± 0.02

F: female; M: male, GLP: Good Laboratory Practices; PCE: polychromatic erythrocyte; SE: standard error.

[a] Cyclophosphamide

* Significantly greater than the corresponding vehicle control, $p < 0.01$; ** = Significantly lower than the corresponding vehicle control, $p < 0.05$.

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10A 6 ヵ月経口投与試験（RasH2 マウス）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 26-Week Oral Gavage Carcinogenicity (001178-T [Hemizygous]) and Toxicokinetic (001178-W [wild type]) Study With Maralixibat in RasH2 Mice					Study No: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.4.2-1	
Species/Strain: Mouse/rasH2-Tg (carcinogenicity) Mouse/rasH2-Wt (toxicokinetics)		Duration of Dosing: 26 Weeks			GLP Compliance: Yes			
Initial Age at Dosing: 8 to 9 weeks		Method of Administration: Oral Gavage, once daily						
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (males) [redacted] 20[redacted] (females)		Vehicle: Deionized water						
Conclusion: No indication of carcinogenicity was noted for females at any dose level. Higher incidences of bronchiolo-alveolar adenoma and carcinoma were observed in males administered 25 mg/kg/day maralixibat. Bronchiolo-alveolar adenomas were statistically significant for incidence and trend, as was the combined incidence of bronchiolo-alveolar adenoma and bronchiolo-alveolar carcinoma. Although statistically significant, it is likely that higher incidences of bronchiolo-alveolar adenoma and carcinoma in males are unrelated to maralixibat administration.. This dose level corresponded to mean peak concentration (C_{max}) values of 429 ng/mL and area under the concentration-time curve (AUC_{24}) value of 1490 ng·hr/mL, on Week 26 of the dosing phase for males.								
Toxicokinetics, Day 1 and Week 26								
Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Vehicle Control)		M: 2.5	F:7.5	M:7.5	F:25	M:25	F:75[a]
Number of Toxicokinetic Animals		M:6	F:6	M:36	F:36	M:36	F:36	M:36	F:36
Toxicokinetic Animals Mortality		0	0	0	0	0	0	0	1
Toxicokinetics [a]									
C_{max} (ng/mL)	Day 1	NA		1.74	20.9	3.30	35.3	9.80	54.8
	Week 26	NA		59.7	26.6	28.2	55.3	429	31.9
t_{max} (hr)	Day 1	NA		2.00	4.00	2.00	4.00	2.00	2.00
	Week 26	NA		1.00	2.00	1.00	2.00	2.00	2.00
AUC_{24} (ng·hr/mL)	Day 1	NA		5.92	109	19.2	183	54.5	399
	Week 26	NA		231	76.3	75.3	219	1490	400
Toxicity, 26-Week Study [a,b]									
Daily Dose (mg/kg/day)		0 (Vehicle Control)		M: 2.5	F:7.5	M:7.5	F:25	M:25	F:75[a]
Number of Toxicity Animals Main		M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25
Toxicity Animals Mortality		0	0	1	3	0	2	5[*]	1
Noteworthy Findings									
Physical Signs/Clinical Observations									
Activity; General activity; decreased		0	0	1	2	0	1	4	0
Pelage; piloerection		0	0	1	0	2	0	10	0
Physical Appearance; thin		0	3	0	2	1	0	4	2
Posture; hunched		0	0	1	2	1	3	4	0
Respiration; irregular		0	0	0	0	0	0	2	0

2.6.7.10 がん原性試験（続き）

2.6.7.10A 6 ヵ月経口投与試験（RasH2 マウス）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 26-Week Oral Gavage Carcinogenicity (001178 T [Hemizygous]) and Toxicokinetic (001178-W [wild type]) Study With Maralixibat in RasH2 Mice					Study No: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.4.2-1	
Noteworthy Findings								
Body weights (g) [b]								
Day 29	25.2	19.6	-2.0	2.0	-2.8	3.6	-0.4	0.0
Day 92	27.4	21.2	-0.4	4.7	-4.0	0.9	-2.6	0.5
Day 182	28.9	22.1	-1.7	2.7	-5.9*	-1.4	-8.3*	0.0
Body weight change (g) [b]	5.2	2.8	-9.6	7.1	-28.8*	-28.6*	-50.0*	-7.1
Food consumption (g) [b]	--	--	--	--	--	--	--	-
Clinical Observations	--	--	--	--	--	--	-	--
Clinical Pathology								
Hematology	--	--	--	--	--	--	--	--
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Organ Weights [b]								
Spleen								
Absolute (g)	0.0763	0.0827	-4	6	-2	-2	-12	-12*
Body Weight Ratio (%)	0.2806	0.3962	-1	3	4	-1	-5	-10*
Brain Weight Ratio (%)	15.4685	16.3894	-5	5	1	-2	-9	-10*
Histopathology								
B-Adenoma, bronchoalveolar	1	0	2	1	0	1	6	0
M-Carcinoma, bronchoalveolar	0	0	0	0	0	0	1	0

--: no noteworthy findings; AUC_{24}: area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male; NA: not applicable; SAS: Statistical Analysis System; TK: toxicokinetics; t_{max}: time to reach maximum plasma concentration.

[a] Due to out of specifications analytical results for the female 75 mg/kg/day maralixibat group (high dose females) during week 26, the actual dose level of 57 mg/kg/day was received from Day 165 to 178 and with TK blood collections on Day 180.

[b] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown.

* Statistically significant compared to vehicle control: (1) Body and organ weight, Dunnett's test, $p \leq 0.05$; (2) Survival, Kaplan-Meier along with log-rank and Wilcoxon tests using LIFESTAT procedure on SAS, $p = 0.5$; and (3) histopathology, Unadjusted Lifetime Incidence Rate, $p = 0.05$.

Note: Data are not presented for Group 5 animals which were administered the positive control article (N methyl-N-nitrosourea [MNU]) via intraperitoneal injection once on Day 1 at a volume of 10 mL/kg. A clear carcinogenic response occurred in positive controls. Mortality for these animals was attributed mainly to malignant neoplasms, most commonly malignant lymphoma.

2.6.7.10 がん原性試験（続き）

2.6.7.10B 2 年間混餌投与試験（ラット）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 104-Week Dietary Carcinogenicity Study in Rats					Study No: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.4.1-1	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing: 104 Weeks				GLP Compliance: Yes			
Initial Age at Dosing: 5-6 weeks	Method of Administration: Oral, diet admix							
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Vehicle: #5002 meal, Purina Mills Inc.							
Special Features: Microscopic evaluation of slides available from animals that died or were sacrificed at unscheduled intervals was discontinued and any results from animals previously evaluated are maintained in the study record and not reported. Only results of evaluations done during the in-life phase of the study were completed.								
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle Control)		M:30	F:30	M:100	F:300	M: 300	F:750
Number of Animals	M:100	F:100	M:100	F:100	M:100	F:100	M:100	F:100
Toxicokinetics [a]								
Mortality	77	71	54	69	66	62	59	61
Survival to Week 104	22/99	29/100	45/99	31/100	34/100	38/100	41/100	39/100
Noteworthy Findings								
Physical Signs/Clinical Observations								
Nonformed feces	4	0	13	3	10	10	24	3
Yellow hair coat	5	9	8	13	8	20	16	18
Palpable masses								
Ventral abdominal (right)	2	22	0	21	3	20	3	9
Ventral abdominal (left)	5	20	0	16	4	18	2	9
Body Weight (g) [b]	742	530	7	-3	6	-4	6	-3
Food Consumption (g/day) [b]	--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical Pathology [b]								
Hematology	--	--	--	--	--	--	--	--
Coagulation								
APTT								
Week 26	17.1	16.1	22.8*	5.0	21.6*	3.7	12.9	2.5
Week 52	18.4	18.8	12.0	11.2	18.5*	6.4	21.7*	-1.6

2.6.7.10 がん原性試験（続き）

2.6.7.10B 2 年間混餌投与試験（ラット）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: 104-Week Dietary Carcinogenicity Study in Rats					Study No: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.4.1-1	
Serum Chemistry	--	--	--	--	--	--	--	--
Gross Pathology	--	--	--	-	--	--	--	--
Histopathology	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

--: no noteworthy findings; APTT: activated partial thromboplastin time; F: female: GLP: Good Laboratory Practices; M: male; ND: no data to report.

[a] Blood collected but not analyzed.

[b] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical analysis was conducted on absolute data.

* Statistically significant compared to vehicle control, Dunnett's test, $p \leq 0.05$.

2.6.7.10 がん原性試験（続き）

2.6.7.10C 2 年間経口投与試験（ラット）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A 104-Week Oral Gavage Carcinogenicity Study of Maralixibat in Sprague Dawley Rats				Study No: [redacted]				添付資料番号:4.2.3.4.1-2	
Species/Strain: Rat/ Sprague Dawley			Duration of Dosing: 104 Weeks					GLP Compliance: Yes	
Initial Age at Dosing: 9 weeks			Method of Administration: Oral gavage						
Date of First Dose Male: [redacted] 20[redacted], Female: [redacted] 20[redacted]			Vehicle: Deionized water.						
Basis for High Dose Selection: it achieves a high multiple (> 50-fold) of local drug concentration in the gastrointestinal tract of rats versus humans at therapeutic doses Special Features: none									
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		10 (Low)		30 (Mid)		100 (High)		ND (Sentinel) [a]	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number of Animals at Study Start	70	70	70	70	70	70	70	70	6	6
Dosing Phase										
Noteworthy Findings:										
Died or Sacrificed Moribund [b]	50	52	49	52	53	57	47	50	0	0
Number of Animals at Terminal Sacrifice	20	18	21	18	17	13	23	20	0	0
Survival to Terminal Sacrifice (%) [c]	29	27	32	28	26	23	34	31	100	100
Clinical Observations										
Respiration; audible	3	2	7	2	19	14	35	11	NR	NR
Pelage; hair loss, head	2	1	1	5	2	1	2	8	NR	NR
Pelage; hair loss, head, left	3	3	2	6	4	5	2	8	NR	NR
Pelage; hair loss, head, right	4	4	2	7	6	11	1	8	NR	NR
Skin; Scab, head	1	0	1	4	3	0	0	6	NR	NR
Skin; Scab, head, left	7	4	8	17	12	5	7	13	NR	NR
Skin; Scab, head, right	5	6	8	12	14	16	13	15	NR	NR
Body Weight (g) [d]	--	--	--	--	--	--	--	--	NR	NR
Body Weight Change (g) [d]	--	--	--	--	--	--	--	--	NR	NR
Food Consumption (g) [d]	--	--	--	--	--	--	--	--	NR	NR
Macroscopic Observations	--	--	--	--	--	--	--	--	NR	NR
Discolored lung	--	0	--	2	--	5	--	12	NR	NR

2.6.7.10 がん原性試験（続き）

2.6.7.10C 2 年間経口投与試験（ラット）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A 104-Week Oral Gavage Carcinogenicity Study of Maralixibat in Sprague Dawley Rats					Study No: [redacted]			添付資料番号:4.2.3.4.1-2		
Histopathology										
Nonneoplastic Findings										
Liver										
Focus of cellular alteration, basophilic										
Minimal	9	12	13	11	14	8	11	14	NA	NA
Slight	2	8	4	16	6	19	7	10	NA	NA
Moderate	0	9	2	8	1	10	1	9	NA	NA
Marked	0	0	0	3	0	5	2	2	NA	NA
Non-proliferative, Nonneoplastic Findings										
Lung										
Alveolar macrophages, increased										
Minimal	7	2	6	4	7	11	12	8	NA	NA
Slight	1	1	4	2	3	5	5	7	NA	NA
Moderate	0	0	0	1	1	0	0	4	NA	NA

--: no noteworthy findings; GLP: Good Laboratory Practices; NA: not applicable; ND: not dosed; NR: not reported.

[a] Sentinel animals were not dosed and were for animal health/veterinary purposes and not considered part of the study, and data were not analyzed or reported unless deemed necessary by the Study Director or Veterinarian. Sentinel animals were replaced with a new set of animals after at least every 25 weeks of observation.

[b] No evidence of maralixibat-related mortality or effect on survival was noted, and a sufficient number of animals survived to adequately evaluate the carcinogenic potential of maralixibat. For both sexes, no statistically significant differences in mortality were noted amongst groups.

[c] Adjusted for accidental deaths, scheduled sacrifices, removed from study, marked complete and phase assignments.

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：Maralixibat

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study No.	添付資料番号
Rat/ Sprague Dawley	Oral, Dietary admix	Gestation Days 6-17	0, 250, 750, 2000	10F	2000 mg/kg/day: Mortality, ↓ average maternal body weights and food consumption. NOEL = 750 mg/kg/day for maternal toxicity and 2000 mg/kg/day for developmental toxicity.	[redacted]	4.2.3.5.2-1
Rabbit/New Zealand White	Oral gavage (0.5% methylcellulose and 0.1% polysorbate 80 in deionized water)	Once daily, Gestation Days 7-18	50, 125, 250, 500	6F	500 mg/kg/day: All animals found dead or sacrificed moribund ≥ 125 mg/kg/day: ↓ defecation and mean body weight loss or ↓ body weight gain ↓ food consumption. NOEL = 50 mg/kg/day for maternal toxicity and 250 mg/kg/day for developmental toxicity.	[redacted]	4.2.3.5.2-3
Rat/ Sprague Dawley	Oral, Dietary admix	Gestation Day 6 through Lactation Day 21	0, 250, 1000	10F	No effect on survival of the F_0 females. 1000 mg/kg/day: ↓ body weight and food consumption. Pregnancy rates and mean gestation lengths were similar in all dose groups; no signs of dystocia were noted. No treatment-related internal findings were noted in the F_0 or F_1 animals at the scheduled necropsies.	[redacted]	4.2.3.5.3-1

F: female; NOEL: no-observed-effect level; ↓: decrease.

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：Maralixibat

Report Title: A Diet Admix Study of the Effects of SD-5613 [Maralixibat] on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Male and Female Rats			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.1-1
Design similar to ICH 4.1.1: Yes	Duration of Dosing: M: Following mating with females, target dosage levels of 30, 150 and 750 mg/kg/day. Males received Maralixibat via diet for 28 days prior to and during a second mating, this time with untreated females.		Duration of Dosing: F: Target dosage levels of 30, 500 and 2000 mg/kg/day for 14 days prior to mating, throughout mating with untreated males (15 days maximum) and until Gestation Day 7.	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Day of Mating: Day 0		GLP Compliance: Yes	
Initial Age: 52 to 75 days of age	Day of C-Section: Gestation Day 15			
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (females) [redacted] 20[redacted] (males)	Method of Administration: Oral, diet admix			
Special Features: None	Vehicle/Formulation: Diet admix			
No Observed Adverse Effect Level:				
F_0 Males: NOAEL for paternal toxicity = 150 mg/kg/day; NOEL for reproductive toxicity = 750 mg/kg/day				
F_0 Females: NOAEL for maternal toxicity = 500 mg/kg/day; NOEL for female reproductive toxicity = 30 mg/kg/day				
F_1 Litters: Not determined				
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	Low	Mid	High
Males [a]	0	30	150	750
Females [b]	0	30	500	2000
Males				
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1 [c]
Clinical Observations (total occurrence/number of animals)				
Dried red material around nose	6/3	2/2	12/8	25/11
Dried red material around mouth	0/0	0/0	1/1	6/6
Reproductive Performance				
Males paired during the first mating period	25	25	25	25
Males with evidence of mating	24 (96.0%)	24 (96.0%)	24 (96.0%)	24 (96.0%)
Number which sired a litter	20 (83.3%)	21 (87.5%)	22 (91.7%)	23 (95.8%)
Number which did not sire a litter	4 (16.7%)	3 (12.5%)	2 (8.3%)	1 (4.2%)
Male with no evidence of mating	1 (4.0%)	1 (4.0%)	1 (4.0%)	1 (4.0%)
Number which sired a litter	1 (100.0%)	1 (100.0%)	1 (100.0%)	1 (100.0%)
Number which did not sire a litter	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Males that sired more than one litter	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

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（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Diet Admix Study of the Effects of SD-5613 [Maralixibat] on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Male and Female Rats			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.1-1
Body Weight Change (g) [d]				
Days 31-34	9	-77.8*	-100.0**	-166.7**
Days 31-38	30	-30.0*	-43.3**	-66.7**
Days 31-41	39	-20.5*	-33.3**	-56.4**
Days 31-45	51	-15.7	-27.5*	-47.1**
Days 31-48	57	-19.3*	-26.3**	-36.8**
Days 31-52	72	-18.1*	-19.4**	-34.7**
Days 31-55	77	-14.3	-15.6	-26.0**
Days 31-58	89	-14.6*	-13.5*	-27.0**
Days 31-59	62	-19.4	-21.0*	-38.7**
Days 31-62	76	-14.5	-14.5	-39.5**
Days 31-66	97	-14.4	-13.4	-33.0**
Days 31-69	105	-12.4	-17.1*	-30.5**
Days 31-73	110	-10.0	-14.5	-31.8**
Food Consumption				
Days 31-34 (grams/animal/day) [d,e]	26	-19.2**	-34.6**	-34.6**
Days 31-34 (grams/kg/day) [d,e]	60	-13.3**	-31.7**	-30.0**
Clinical Pathology [d]				
Hematology				
Prothrombin time (seconds)	13.4	11.9	15.7	65.7**
Activated partial thromboplastin time (seconds)	19.1	22.0	17.3	82.2**
Hematocrit (%)	43.6	0.0	-1.4	-5.7**
Clinical chemistry				
Bile acids (µmol/L)	28.5	-10.9	-17.9	-22.5
LDL+VLDL cholesterol (mg/dL)	17	29.4	29.4	52.9**
HDL cholesterol (mg/dL)	49.1	-10.0	-2.9	-7.3
Spermatogenic Endpoints [f]	--	--	--	--
Scheduled Necropsy				
Macroscopic Findings	--	--	--	--
Organ Weights (g)	--	--	--	--

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（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Diet Admix Study of the Effects of SD-5613 [Maralixibat] on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Male and Female Rats			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.1-1
Untreated Females				
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Body Weight (g) [d,g]	--	--	--	--
Body Weight Change (g) [d,g]	--	--	--	--
Reproductive Performance				
Females with evidence of mating	24 (96.0%)	24 (96.0%)	24 (96.0%)	25 (100.0%)
Gravid	24 (100.0%)	23 (95.8%)	22 (91.7%)	24 (96.0%)
Nongravid	0 (0.0%)	1 (4.2%)	2 (8.3%)	1 (4.0%)
Females with no evidence of mating	1 (4.0%)	1 (4.0%)	1 (4.0%)	0 (0.0%)
Gravid	1 (100.0%)	1 (100.0%)	1 (100.0%)	0 (0.0%)
Nongravid	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Total females gravid	25 (100.0%)	24 (96.0%)	23 (92.0%)	24 (96.0%)
Female mating index	25/25 (100.0%)	25/25 (100.0%)	25/25 (100.0%)	25/25 (100.0%)
Female fertility index	25/25 (100.0%)	24/25 (96.0%)	23/25 (92.0%)	24/25 (96.0%)
Mean pre-coital interval (days)	2.1	2.2	2.1	2.7
Estrous cycle length (days)	4.1	4.0	4.0	4.2
Gestation Day 15 Laparotomy				
Number of gravid females	24	23	22	24
Total number of viable embryos	344 (94.2%)	330 (95.1%)	321 (95.2%)	345 (96.9%)
Total number of dead embryos	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Total number of early resorptions	19 (5.8%)	17 (4.9%)	16 (4.8%)	12 (3.1%)
Total number of late resorptions	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Total resorptions (% per litter)	5.8	4.9	4.8	3.1
Total number of pre-implantation losses	23 (6.3%)	28 (7.3%)	16 (4.5%)	30 (8.6%)
Total number of post-implantation losses	19 (5.8%)	17 (4.9%)	16 (4.8%)	12 (3.1%)
Total number of implantation sites	363 (15.1%)	347 (15.1%)	337 (15.3%)	357 (14.9%)
Total number of corpora lutea	386 (16.1%)	375 (16.3%)	353 (16.0%)	387 (16.1%)

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（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Diet Admix Study of the Effects of SD-5613 [Maralixibat] on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Male and Female Rats			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.1-1
Scheduled Necropsy (Day 15)				
Macroscopic Findings	--	--	--	--
Reddened adrenal glands	1/25	1/25	0/25	0/25
Dilated renal pelvis	0/25	0/25	1/25	0/25
Treated Females				
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Died or Sacrificed	0	0	0	1 [h]
Clinical Observations (total occurrence/number of animals)				
Dried red material around nose	36/15	28/14	47/14	110/19
Body Weight (g) [d,i]				
Day 10	256	-2.7	-2.0	-6.3**
Body Weight Change: Pre-mating (g) [d,i]				
Days 0-3	7	-28.6	-114.3*	-128.6**
Days 0-6	11	-9.1	-63.6	-90.9**
Days 0-13	19	10.5	-10.5	-42.1*
Days 0-15	18	11.1	-11.1	-38.9**
Body Weight Change: During Gestation (g) [d,i]				
Days 0-7	45	-13.3	-6.7	-20.0*
Days 7-15	48	-8.3	-18.8	-14.6
Days 0-15	93	-10.8	-11.8*	-17.2**
Food Consumption				
Days 0-3 (grams/animal/day) [d,i]	18	-11.1	-22.2**	-16.7*
Days 0-3 (grams/kg/day) [d,i]	77	-10.4	-26.0**	-18.2*
Reproductive Performance				
Females with evidence of mating	24 (96.0%)	24 (96.0%)	24 (96.0%)	24 (96.0%)
Gravid	20 (83.3%)	21 (87.5%)	22 (91.7%)	23 (95.8%)
Nongravid	4 (16.7%)	3 (12.5%)	2 (8.3%)	1 (4.2%)
Females with no evidence of mating	1 (4.0%)	1 (4.0%)	1 (4.0%)	1 (4.0%)
Gravid	1 (100.0%)	1 (100.0%)	1 (100.0%)	1 (100.0%)
Nongravid	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

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（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Diet Admix Study of the Effects of SD-5613 [Maralixibat] on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Male and Female Rats			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.1-1
Total females gravid	21 (84.0%)	22 (88.0%)	23 (92.0%)	24 (96.0%)
Female mating index	25/25 (100.0%)	25/25 (100.0%)	25/25 (100.0%)	25/25 (100.0%)
Female fertility index	21/25 (84.0%)	22/25 (88.0%)	23/25 (92.0%)	24/25 (96.0%)
Mean pre-coital interval (days)	2.7	3.1	2.6	3.5
Estrous cycle length (days)	4.1	4.4	4.2	4.3
Gestation Day 15 Laparotomy				
Number of gravid females	20	21	22	23
Total number of viable embryos	297 (96.6%)	317 (97.8%)	293 (93.5%)*	278 (92.3%)
Total number of dead embryos	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Total number of early resorptions	10	7	20	25
Total number of late resorptions	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Total resorptions (% per litter)	3.5	2.2	6.6*	7.7
Total number of pre-implantation losses	42 (13.0%)	42 (10.7%)	37 (9.7%)	54 (14.1%)
Total number of post-implantation losses	10 (3.5%)	7 (2.2%)	20 (6.6%)*	25 (7.7%)
Total number of implantation sites	307 (15.4%)	324 (15.4%)	313 (14.2%)	303 (13.2*[j])
Total number of corpora lutea	349 (17.5%)	366 (17.4%)	350 (15.9%)	357 (15.5%)
Scheduled Necropsy (Day 15)				
Macroscopic Findings	--	--	--	--
Organ Weights [d]				
Ovaries (absolute)	0.1681	-1.4	-6.7	-11.7*

--: no noteworthy findings; GLP: Good Laboratory Practices; HDL: high density lipoprotein; ICH: International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; LDL: low density lipoprotein; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; VLDL: very low density lipoprotein.

[a] Compound consumption values for the treated males (during study Days 31- 73) were 30, 153 and 761 mg/kg/day in the 30, 150 and 750 mg/kg/day groups, respectively.

[b] Compound consumption values for the entire pre-mating treatment period were 30, 498 and 2015 mg/kg/day in the 30, 500 and 2000 mg/kg/day group females, respectively. Compound consumption values for the gestation treatment period (Gestation Days 0-7) were 40, 729 and 2866 mg/kg/day in the same respective groups.

[c] Found dead on Day 69. No remarkable clinical findings were noted for this male during the week prior to death. It could not be definitely concluded that this death was attributed to treatment because it occurred late during the treatment period and no other deaths or adverse clinical signs were observed in the males of this group.

[d] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data.

[e] Test diet administration began on Day 31. Reductions in food consumption were attributed to the presumed decreased palatability of the test diet. No adverse effects on food consumption (g/animal/day and g/kg/day) were noted in the treated males throughout the remainder of the study, although statistically significant increases ($p < 0.05$ or $p < 0.01$) in g/kg/day food consumption in the 30 and 750 mg/kg/day group males were observed at several intervals.

[f] Assessments included mean testicular and epididymal sperm numbers, sperm production rate, sperm motility and sperm morphology.

[g] Pre-mating and during gestation

[h] Found dead on Day 34. Upon necropsy, this animal was gravid (15 normally developing implantations in utero and had a distended stomach with red contents). The treatment-relatedness of this death was undetermined.

[i] Test diet administration for females began on study Day 0 and concluded on Gestation Day 7.

[j] A corresponding decrease in the group mean number of implantation sites (13.2 versus 15.4) was also noted.

*: Significantly different from the control group at 0.05; **: Significantly different from the control group at 0.01

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚ー胎児発生に関する試験

2.6.7.13A ラット

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Diet Admix Study of the Effects of SD-5613 [Maralixibat] on Embryo-Fetal Development in Rats			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.2-2
Design similar to ICH 4.1.3: Yes	Duration of Dosing: GD 6-17		GLP Compliance: Yes	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Day of Mating: Day 0			
Initial Age: Approximately 10 weeks at receipt	Day of C-Section: GD 20			
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral, diet admix			
Special Features: None	Vehicle/Formulation: Diet admix			
No-Observed-Adverse-Effect Level:				
F_0 Females: 1000 mg/kg/day				
F_1 Litters: 1000 mg/kg/day				
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	250	1000
Dams/Dose:				
Toxicokinetics				
Day 7				
C_{max} (ng/mL)	N/A	6.42	8.97	68.7
AUC_{24} (ng·h/mL)	N/A	107	182	709
Day 17				
C_{max} (ng/mL)	N/A	14.0	23.8	169
AUC_{24} (ng·h/mL)	N/A	154	459	2020
No. Pregnant	25/25	24/25	24/25	23/25
No. Died or Sacrificed Moribund	0/25	0/25	0/25	0/25
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0/25	0/25	0/24	0/23
Clinical Observations				
Body Weight (g)				
Gestation Days 6-10	17	--	--	--
Gestation Days 10-14	17	--	--	--
Gestation Days 14-18	44	--	--	--
Gestation Days 6-18	79	--	--	--
Gestation Days 0-20	141	--	--	--

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚ー胎児発生に関する試験（続き）

2.6.7.13A ラット（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Diet Admix Study of the Effects of SD-5613 [Maralixibat] on Embryo-Fetal Development in Rats			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.2-2
Compound Consumption (mg/kg/day) [a]				
Gestation Days 6-10	N/A	50	237	858
Gestation Days 10-14	N/A	50	255	1030
Gestation Days 14-18	N/A	47	243	972
Gestation Days 6-17 (entire treatment period)	N/A	49	245	953
Necropsy Observations	--	--	--	--
Mean No. Corpora Lutea	18.1	18.0	17.5	17.7
Mean No. Implantation Sites	15.1	16.1	16.3	15.7
Litters				
No. Litters Evaluated	25	24	24	23
Mean No. Live Fetuses (%)	95.7	95.8	95.4	95.7
Mean No. Dead Fetuses (%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean No. Resorptions				
Total Resorptions	4.3	4.2	4.6	4.3
Early Resorptions	4.3	3.4	4.6	4.3
Late Resorptions	0.0	0.8	0.0	0.0
Mean Pre-implantation Loss (%)	15.0	10.1	7.0	9.9
Mean Post-implantation Loss (%)	4.3	4.2	4.6	4.3
Mean Fetal Body Weight (g) [b]				
Males	3.7	0.0	0.0	-2.7
Females	3.6	0.0	-2.8	-2.8
Mean Fetal Sex (%)				
Males	47.7	46.0	51.3	49.3
Females	52.3	54.0	48.7	50.7
Fetal Anomalies [c,d]				
External	0/361	1/370	1/373	0/346
Soft Tissue	0/361	1/370	0/373	2/346
Skeletal	1/361	1/370	1/373	0/344 [e]

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚ー胎児発生に関する試験（続き）

2.6.7.13A ラット（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Diet Admix Study of the Effects of SD-5613 [Maralixibat] on Embryo-Fetal Development in Rats			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.2-2
Fetal Anomalies [d,f]				
External	0.0	0.3	0.3	0.0
Soft Tissue	0.0	0.3	0.0	0.5
Skeletal	0.3	0.3	0.3	0.0

--: no noteworthy findings; AUC_{24}: area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max}: maximum plasma concentration; GD: gestation day; GLP: Good Laboratory Practices; ICH: International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; N/A: not applicable.

[a] Data expressed as group mean.

[b] For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical comparisons are based on the absolute values.

[c] Data expressed as total number with malformations/number examined

[d] Fetal external, soft tissue and skeletal malformations were observed in 1(1), 3(2), and 2(2) and 2(2) fetuses(litters) in the control, 50, 250 and 1000 mg/kg/day groups, respectively, and were considered to be spontaneous in origin.

[e] Fetus numbers. 44372-03 and 44372-08 lost prior to skeletal examination.

[f] Data expressed as mean % per litter

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚ー胎児発生に関する試験（続き）

2.6.7.13B ウサギ

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Study of the Effects of SD-5613 [Maralixibat] on Embryo-Fetal Development in Rabbits			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.2-4
Design similar to ICH 4.1.3: Yes	Duration of Dosing: GD 7-18		GLP Compliance: Yes	
Species/Strain: Rabbit/New Zealand White	Day of Mating: GD 0			
Initial Age: Approximately 20 weeks of age at receipt	Day of C-Section: GD19			
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral gavage			
Special Features: None	Vehicle/Formulation:0.5% methylcellulose and 0.1% polysorbate 80 suspended in distilled water			
No-Observed-Adverse-Effect Level				
F_0 Females: 25mg/kg/day				
F_1 Litters: 250 mg/kg/day				
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	25	100	250
Dams/Dose				
Toxicokinetics				
Day 7				
C_{max} (ng/mL)	N/A	1.89	BLOQ	4.02
AUC_{24} (ng·h/mL)	N/A	1.89	BLOQ	21.1
Day 18				
C_{max} (ng/mL)	N/A	2.32	6.19	62.7
AUC_{24} (ng·h/mL)	N/A	3.49	51.5	766
No. Pregnant	23/25	23/25	22/25	20/25
No. Died or Sacrificed Moribund	0/25	0/25	1/25 [a]	0/25
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0/25	1/25[b]	0/25	2/25[c]
Clinical Observations [d]				
Decreased defecation	9/5	15/3	15/6	102/20
Feces appears small in size	2/1	4/1	7/2	25/8
Absent feces	0/0	1/1	0/0	7/3
Rales	0/0	0/0	0/0	3/3

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚ー胎児発生に関する試験（続き）

2.6.7.13B ウサギ（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Study of the Effects of SD-5613 [Maralixibat] on Embryo-Fetal Development in Rabbits			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.2-4
Mean Body Weight Change (g) [e]				
Gestation Days 7-10	48	-66.7	-85.4	-314.6**
Gestation Days 10-13	53	-30.2	-64.2	-67.9
Gestation Days 13-19	153	-20.3	-30.7	-30.1
Gestation Days 7-19 (entire treatment period)	254	-31.1	-48.4*	-91.3**
Gestation Days 19-29	148	37.2	30.4	43.9
Mean Food Consumption (g/animal/day) [e]				
Gestation Days 7-10	190	-12.1	-8.4	-41.6
Gestation Days 10-13	173	-1.7	-6.4	-31.2**
Gestation Days 13-19	183	-9.3	-16.4	-28.4**
Gestation Days 7-19 (entire treatment period)	182	-7.7	-11.5	-33.5**
Gestation Days 19-29	156	6.4	0.0	5.1
Mean Food Consumption (g/kg/day) [e]				
Gestation Days 7-10	52	-11.5	-9.6	-42.3**
Gestation Days 10-13	46	0.0	-4.3	-28.3**
Gestation Days 13-19	48	-8.3	-16.7	-27.1**
Gestation Days 7-19 (entire treatment period)	48	-6.3	-10.4	-31.3**
Gestation Days 19-29	39	12.8	2.6	7.7
Necropsy Observations	--	--	--	--
Mean No. Corpora Lutea	11.3	10.0	10.3	10.0
Mean No. Implantation sites	8.0	7.3	7.3	6.8
Litters				
No. Litters Evaluated	23	22	21	18
Mean No. Live Fetuses (%)	91.9	95.0	90.7	84.0
Mean No. Dead Fetuses (%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean No. Resorptions				
Total Resorptions	8.1	5.0	9.3	16.0
Early Resorptions	6.5	4.0	8.2	15.6
Late Resorptions	1.6	1.0	1.2	0.5

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚ー胎児発生に関する試験（続き）

2.6.7.13B ウサギ（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: A Study of the Effects of SD-5613 [Maralixibat] on Embryo-Fetal Development in Rabbits			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.2-4
Mean Pre-implantation Loss (%)	27.2	26.8	26.5	30.7
Mean Post-implantation Loss (%)	8.1	5.0	9.3	16.0
Mean Fetal Body Weight (g) [e]				
Males	46.3	1.3	1.9	-3.9
Females	44.4	2.9	5.2	0.0
Mean Fetal Sex (%)				
Males	46.5	53.4	55.4	45.0
Females	53.5	46.6	44.6	55.0
Fetal Anomalies [f,h]				
External	0/172	2/151	0/139	2/104
Soft Tissue	1/172	2/151	0/139	1/104
Skeletal	1/172	5/151	0/139	3/104
Fetal Anomalies [g,h]				
External	0.0	1.2	0.0	1.5
Soft Tissue	0.7	1.1	0.0	0.7
Skeletal	2.2	3.9	0.0	2.1

AUC_{24}: area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BLOQ: below the limit of quantification; C_{max}: maximum plasma concentration; GD: gestation day; GLP: Good Laboratory Practices; ICH; International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; N/A: not applicable.

[a] Died on Gestation Day 8 due to an intubation error.

[b] Within the test facility historical control data range and did not occur in a dose-related manner; therefore, this abortion was not attributed to maralixibat administration.

[c] Due to concomitant body weight loss and food consumption decreases observed in two 250 mg/kg/day animals, these abortions were considered likely related to maralixibat administration.

[d] Data expressed as total occurrence/number of animals.

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

[f] Data expressed as total number with malformations/number examined.

[g] Data expressed as mean % per litter.

[h] Fetal external, soft tissue and skeletal malformations were observed in 2(2), 8(4), 0(0) and 4(2) fetuses(litters) in the control, 25, 100 and 250 mg/kg/day groups, respectively. Fetal malformations and developmental variations in the maralixibat-treated groups were not considered related to maralixibat administration as they occurred similarly in the control group, in single animals, were not statistically significant, and/or were within the test facility historical control data ranges.

*: Significantly different from the control group at 0.05 using Dunnett's test; **: Significantly different from the control group at 0.01 using Dunnett's test; BLOQ: All concentrations at this time point were below the lower limit of quantitation (1.00 ng/mL); N/A: Not applicable.

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：Maralixibat

Report Title: An Oral (Dietary) Study of the Effects of SHP625 [Maralixibat] on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats			Study No: [redacted]-[redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.3-2
Design similar to ICH 4.1.2: Yes	Duration of Dosing: GD6 to LD 21		GLP Compliance: Yes	
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Day of Mating: NA			
Initial Age: Approximately 14 weeks	Method of Administration: Oral, diet admix			
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Vehicle/Formulation: Diet admix			
Special Features: None	Litters Culled/Not Culled: Culled			
No Observed Adverse Effect Level				
F_0 Females: 750 mg/kg/day				
F_1 Males: 750 mg/kg/day				
F_1 Females: 750 mg/kg/day				
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	50	250	750
F_0 Females:				
Exposure Assessment〔mean (ng/mL)±S.D.〕				
Gestation Day 17	NA	2.06 ± 1.44	5.14 ± 1.16	8.65 ± 1.88
Lactation Day 4	NA	0.76 ± 0.26	3.54 ± 1.12	9.62 ± 1.75
No. Pregnant	25 (100.0)	24(96.0)	25 (100.0)	25(100.0)
No. Died or Sacrificed Moribund	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.0)
No. Aborted or with Total Res. of Litter	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Clinical Observations				
Dried Red Material around nose	5/3	14/6	28/10	50/14
Necropsy Observations	--	--	--	--
Gestation Body Weight (g) [a]				
Day 9	317	-0.3	-0.3	-1.6
Day 20	442	-1.8	2.7	1.4
Gestation Body Weight Change (g) [a]				
Day 9-12	18	0.0	22.2	44.4**
Day 6-20	144	-4,9	9.7*	6.3
Gestation Food Consumption (g/animal/day) [a]				
Day 9-12	25	4.0	12.0	24.0**
Day 6-20	26	3.8	11.5**	7.7

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（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Oral (Dietary) Study of the Effects of SHP625 [Maralixibat] on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.3-2
Lactation Body Weight (g) [a]				
Day 1	328	2.1	6.1**	4.6*
Day 4	336	6.5**	10.4**	7.7**
Day 14	371	5.7**	7.5**	10.2**
Day 21	368	5.7**	6.5**	9.2**
Lactation Body Weight Change (g) [a]				
Day 1-4	8	187.5**	187.5**	137.5**
Day 10-14	8	-12.5	0.0	62.5
Day 1-21	40	35.0*	7.5	45.0**
Lactation Food Consumption (g/animal/day) [a]				
Day 1-4	39	17.9**	25.6**	7.7
Day 7-10	54	13.0**	11.1*	9.3
Day 1-21	60	5.0	6.7	-1.7
Mean Duration of Gestation (days)	21.8	21.9	21.8	21.8
Abnormal Parturition				
No Pre-Delivery Findings	107/25	116/25	101/25	96/25
No Significant findings during parturition	32/25	33/24	30/25	30/24
F_1 Litters: (Preweaning)				
Exposure Assessment[mean(ng/mL)±S.D.]				
PND 4 (sexes combined)	NA	5.17 ± 3.89	12.4 ± 4.72	64.3 ±30.6
PND 4 (males)	NA	5.05 ± 4.25	12.4 ± 3.37	65.0± 40.2
PND 4 (females)	NA	5.28 ± 3.99	12.4 ± 6.22	63.6 ±18.7
No. Litters Evaluated	25	24	25	24
Mean No. of Implantations	15.9	16.0	16.2	16.0
Mean No. Pups/Litter	14.8	14.3	15.6	15.4
Mean No. Liveborn Pups/Litter	14.8	14.2	15.6	15.4

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（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Oral (Dietary) Study of the Effects of SHP625 [Maralixibat] on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.3-2
Postnatal Survival to Day 4 (%)	98.3	98.7	99.1	97.2
Pup Sex Ratios (males)	45.5	46.2	52.3	53.5
Pup weights (g) [a]				
PND 1 males	8.0	3.8	-1.3	-3.8
females	7.6	3.9	-1.3	-3.9
PND 4 males (before selection)	11.2	5.4	1.8	-1.8
females	10.7	5.6	1.9	-2.8
PND 21 males	58.8	-2.7	-5.1	-6.5*
females	55.9	-2.0	-5.0	-5.9*
Pup weight change (g) [a]				
PND 1-4 males	3.2	9.4	9.4	0.0
females	3.1	9.7	9.7	3.2
PND 17-21 males (before selection)	14.1	-12.1*	-19.9**	-14.9**
females	13.2	-9.1	-18.9**	-17.4**
Pup Necropsy Observations (nonselected)				
No. examined viscerally	99	96	98	91
Kidneys – dilated pelvis (No. of pups/No. of litters)	1/25	2/24	1/25	3/23
Ureter distended (No. of pups/No. of litters)	0/25	0/24	0/25	2/23
Found dead or euthanized moribund (No. of pups/No. of litters)	6/6	9/9	8/8	10/10
Necropsy of pups found dead (No. of pups/No. of litters)				
Stomach milk present	0/0	1/1	1/1	2/1
Stomach milk not present	0/0	4/3	3/2	4/2
Anasarca	0/0	0/0	1/1	0/0
F_1 Males: (Postweaning)				
No. Evaluated Postweaning Per Litter	25	24	25	24
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0

Report Title: An Oral (Dietary) Study of the Effects of SHP625 [Maralixibat] on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats			Study No: [redacted]-[redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.3-2
Body Weight (g) [a]				
PND 21	58	-3.4	-3.4	-6.9**
PND 119	638	-3.6	-6.1	-4.1
Body Weight Change (g) [a]				
PND 21-28	43	7.0	0.0	-7.0
PND 21-84 (pre-mating)	449	-2.2	-4.2	-1.6
Preputial Separation	43.6 ± 1.86	44.6 ± 2.43	44.6 ± 2.25	44.5 ± 2.26
Startle Response (overall)				
PND 20 PEAK	567.0	562.1	506.8	529.9
PND 20 TPEAK (ms)	28.2	28.5	28.1	28.3
PND 60 PEAK	402.1	501.3	487.3	514.5
PND 60 TPEAK (ms)	28.6	28.6	28.4	29.0
Motor Activity [a]				
PND 21 Total	3669	16.9	25.0	7.8
PND 21 Ambulatory	1346	12.0	19.3	5.3
PND 61Total	3961	5.7	-7.9	-6.2
PND 61Ambulatory	813	-2.8	-8.4	-8.1
Biel Maze				
PND 22 Learning Errors (Path A/ path B)	8/11	10/10	12/12	10/11
PND 22 Memory Errors	7	9	10	11
PND 62 Learning Errors (Path A/ path B)	8/5	9/4	9/6	10/5
PND 62 Memory Errors	4	5	4	5
Males that Died	0	0	0	0
Males with Evidence of Mating	25	24	25	24
Male Mating Index [b]	25/25	24/24	25/25	24/24
Male Fertility Index [b]	24/25	24/24	25/25	23/24
Male Copulation Index [b]	24/25	24/24	25/25	23/24
Male Pre-Coital Interval	2.5	2.5	2.4	2.1
F_1 Females: (Postweaning)				
No. Evaluated Postweaning	25	24	25	24
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	1	0

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（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Oral (Dietary) Study of the Effects of SHP625 [Maralixibat] on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats			Study No: [redacted]-[redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.3-2
Clinical Observations	--	--	--	--
Necropsy Observations	--	--	--	--
Body Weight (g) [a]				
PND 21	55	0.0	-5.5	-5.5
PND 84	303	-1.0	1.3	-3.3
Body Weight Change (g) [a]				
PND 21-28	37	8.1	0.0	-2.7
PND 21-84 (premating)	248	-0.8	2.8	-2.0
Gestation Body Weight (g) [a]				
Day 0	310	-1.6	0.3	-3.2
Day 20	470	-1.1	1.7	-1.9
Gestation Body Weight Change (g) [a]				
Day 0-6	28	10.7	17.9	21.4
Day 0-20	160	0.0	4.4	0.6
Lactation Body Weight (g) [a]				
Day 4	378	-1.9	0.3	-3.2
Lactation Body Weight Change (g) [a]				
Day 1-4	19	-10.5	-31.6	0.0
Mean Age of Vaginal Patency (days) [b]	33.8 ± 2.45	33.5 ± 1.66	33.3 ± 1.83	33.2 ± 1.02
Startle Response (overall)				
PND 20 PEAK	539.0	504.8	527.7	583.2
PND 20 TPEAK (ms)	27.9	28.0	27.8	28.3
PND 60 PEAK	458.8	497.9	451.4	516.5
PND 60 TPEAK (ms)	28.2	28.0	28.1	28.2
Motor Activity				
PND 21 Total	3856	1.4	17.5	12.3
PND 21 Ambulatory	1424	-3.5	14.5	13.5
PND 61Total	5510	-17.9	-3.8	-14.8
PND 61Ambulatory	1477	-18.7	-0.8	-8.2

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（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Oral (Dietary) Study of the Effects of SHP625 [Maralixibat] on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.3-2
Biel Maze				
PND 22 Learning Errors (Path A/ path B) [c]	10/10	10/12	10/11	10/10
PND 22 Memory Errors	7	8	9	9
PND 62 Learning Errors (Path A/ path B) [c]	9/6	9/5	10/6	9/7
PND 62 Memory Errors	7	3	6	7
Estrus Cycle Length (days)	4.2	4.4	4.2	4.0
Females that Died	0	0	1	0
Females Paired for Mating	25	24	25	24
Females with Evidence of Mating	25	24	25	23
Females Gravid	24	24	25	23
Females with Total Litter Loss	0	0	0	0
Female Mating Index [c]	25/25	24/24	25/25	24/24
Female Fertility Index [c]	24/25	24/24	25/25	23/24
Female Copulation Index [c]	24/25	24/24	25/25	23/24
Female Pre-Coital Interval	2.5	2.5	2.4	2.1
No. of Pregnant Females	24	24	25	23
Gestation Length	21.9	22.0	22.0	21.9
Mean No. Corpora Lutea	17.8	18.3	18.3	17.5
Mean No. Implantations	16.3	16.3	16.6	16.4
F_2 Litters:				
Mean No. Live Conceptuses/Litter	15.2	15.1	15.6	15.3
Live Litter Size (PND 0)	14.8	14.9	14.8	14.9
Fetal Sex Ratios (% males)	44.0	44.5	47.5	51.9
Gestation Length (days)	21.9	22.0	22.0	21.9
Fetal Macroscopic Findings	--	--	--	--
Postnatal Survival (%)				
PND 0	97.0	98.1	95.3	97.2
Birth to PND 4	94.8	96.1	89.5	94.8
Found Dead	12	6	22	11

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（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Oral (Dietary) Study of the Effects of SHP625 [Maralixibat] on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats			Study No: [redacted]-[redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.3-2
Offspring Weight (g) [a]				
PND 1 males	8.0	-2.5	-3.8	-3.8
females	7.6	-2.6	-1.3	-2.6
PND 4 males	11.4	-5.3	0.0	-4.4
females	11.0	-5.5	0.0	-5.5
Offspring Weight Change (g) [a]				
PND 1-4 males	3.4	-11.8	2.9	-2.9
PND 1-4 females	3.3	-9.1	6.1	-6.1
Found dead or euthanized moribund (Pups/ litter) [b]	12/6	7/6	27/9	11/9
Stomach milk present (Pups/ litter) [b]	1/1	1/1	0/0	3/3
Stomach milk not present (Pups/ litter) [b]	10/5	4/3	18/8	8/7
Anasarca (Pups/ litter) [b]	0/0	0/0	1/1	0/0
Syndactyly (Pups/ litter) [b]	0/0	0/0	1/1	0/0

--: no noteworthy findings; GD: gestation day; GLP: Good Laboratory Practices; ICH: International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; LD: lactation day; NA: not applicable; PEAK: peak response amplitude; PND: postnatal day; S.D.: standard deviation: TPEAK: latency to PEAK in auditory startle response testing.

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

[b] Data expressed as Mean ± standard deviations.

[c] Data expressed as total occurrence/number of animals.

Mean Live Litter Size = Total No. of Viable Pups on PND 0 ÷ No.of Litters with Viable Pups on PND 0

Postnatal Survival Between Birth and PND 0 or PND 4 (% Per Litter) = Sum of (Viable Pups Per Litter on PND 0 or PND 4/ No. of Pups Born Per Litter)*** ÷ No. of Litters Per Group x 100% (% Per Litter).

Male/Female Mating index(%) = No. of Males(Females) with Evidence of Mating (or Females Confirmed Pregnant) ÷ Total No. of Males (Females) Used for Mating x 100%.

Males Fertility Index (%) = No.of Males Siring a Litter ÷ Total No. of Males Used for Mating x 100%.

Male Copulation Index (%) = No. of Males Siring a Litter ÷ No. of Male with Evidence of Mating (Or Females Confirmed Pregnant) x 100%

Female Fertility Index (%) = No. of Females with Confirmed Pregnancy ÷ Total No. of Females Used for Mating x 100%.

Females Conception Index (%) = No. of Females with Confirmed Pregnancy ÷ No. of Females with Evidence of Mating (or Females Confirmed Pregnant) x 100%.

Mean age of vaginal patency(days) is shown as mean ± standard deviation.

* Significantly different from the control group at 0.05 using Dunnett's test; ** Significantly different from the control group at 0.01 using Dunnett's test; *** pups that were euthanized due to death of the dam were excluded from pup viability calculations

2.6.7.15 新生児を用いた試験

2.6.7.15A 経口投与毒性試験（3 週間反復投与、用量設定試験、ラット）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Oral (Gavage) Range-Finding Juvenile Toxicity Study of SHP625 [Maralixibat] in Rats			Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.4-1
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley		Duration of Dosing:	M: PND 7 to 21	GLP Compliance: No
Initial Age: PND 7			F: PND 7 to 21	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Method of Administration: Oral (gavage)		
		Vehicle/Formulation: Deionized water/suspension		
		Litters Culled/Not Culled: Culled		
Special Features: Toxicokinetics				
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	100	200
Males				
Toxicokinetics:				
PND 7				
AUC_{last} (ng·hr/mL)	NA	9220	17500	18300
C_{max} (ng/mL)	NA	611	941	1220
t_{max} (h)	NA	8	8	5
PND 21				
AUC_{last} (ng·hr/mL)	NA	140	272	1390
C_{max} (ng/mL)	NA	11.9	15.9	129
t_{max} (h)	NA	3	1	8
No. Evaluated	6	6	6	6
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	0
Clinical Observations	--	--	--	--
Body Weight (g) [a] (PND 22)	59.3	1.2	-4.6	1.9
Clinical Pathology	--	--	--	--
Necropsy Observations	--	--	--	--
Organ Weights (g) [a]	--	--	--	--

2.6.7.15 新生児を用いた試験（続き）

2.6.7.15A 経口投与毒性試験（3 週間反復投与、用量設定試験、ラット）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Oral (Gavage) Range-Finding Juvenile Toxicity Study of SHP625 [Maralixibat] in Rats		Study No: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.5.4-1
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	250	500	1000
Females				
Toxicokinetics:				
PND 7				
AUC_{last} (ng·hr/mL)	NA	13000	13200	8320
C_{max} (ng/mL)	NA	999	777	606
T_{max} (h)	NA	5	5	5
PND 21				
AUC_{last} (ng·hr/mL)	NA	368	546	1760
C_{max} (ng/mL)	NA	35.2	190	598
t_{max} (h)	NA	3	1	1
No. Evaluated	6	6	6	6
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	1
Clinical Observations[b]				
Daily Examinations				
Small stature	0/0	0/0	3/1	7/3
Wet Yellow material anogenital area	0/0	0/0	3/2	6/3
Body Weight Change g (PND 7–22)	42.2	-0.5	-14.2	-17.3*
Body Weight (g) [a]				
PND 10	24.0	-10.0	-14.2*	-17.5**
PND 17	41.8	-6.2	-16.0	-28.0**
PND 21	55.6	-3.2	-11.9	-15.6*
Hematology	--	--	--	--
Serum Chemistry (%) [a]				
ALP (U/L)	571	19.6	7.4	62.7
Triglyceride (mg/dL)	115	35.7	33.9	87.0
Necropsy Observations	--	--	--	--
Organ Weights (g) [a]	--	--	--	--

--: no noteworthy findings: ALP: alkaline phosphatase activity; AUC_{last}: area under the plasma concentration versus time curve from time 0 to the last measurable concentration; C_{max}: maximum plasma concentration; GLP: Good Laboratory Practices; F: female; M: male; NA: not applicable; PND: postnatal day; t_{max}: time to reach maximum plasma concentration.

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test.

[a] For control groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[b] Presented as the total occurrence/number of animals.

2.6.7.15 新生児を用いた試験（続き）

2.6.7.15B 経口投与毒性試験（2 週間反復投与試験、ラット）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study of Maralixibat in Sprague Dawley Rats, With a Recovery and a Toxicokinetic Phase			Study No: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.5.4-2		
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing: Once daily for up to 14 days beginning on PND 7				GLP Compliance: Yes		
Initial Age: Approximately 7 days at the initiation of dosing	Duration of Postdose: 28 days						
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral gavage						
Vehicle: Deionized water							
Special Features: None							
Conclusion: Maralixibat was well tolerated at ≤ 250 mg/kg/day in juvenile rats.							
Sex	Males and Females Combined						
Dose Level (mg/kg/day)	0		50		100		250	
Number of TK Animals	M: 9	F: 9	M: 54	F: 54	M: 54	F: 54	M: 54	F: 54
Toxicokinetics [a]:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	--		961		713		902	
Day 8	--		353		422		445	
Day 14	--		39.2		30.3		41.3	
AUC_{24} (ng•h/mL)								
Day 1	--		11700		13200		13900	
Day 8	--		4170		6900		6430	
Day 14	--		343		325		471	
Sex	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	50	100	250	0	50	100	250
Number of Main Study Animals	20	20	20	20	20	20	20	20
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund [b]	0	0	0	3	0	0	1	1
Clinical Observations	--	--	--	--	--	--	--	--
Body Weight	--	--	--	--	--	--	--	--
Body Weight Change	--	--	--	--	--	--	--	--
Caged Food Consumption	--	--	--	--	--	--	--	--

2.6.7.15 新生児を用いた試験（続き）

2.6.7.15B 経口投与毒性試験（2 週間反復投与試験、ラット）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study of Maralixibat in Sprague Dawley Rats, With a Recovery and a Toxicokinetic Phase				Study No: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.5.4-2	
Sexual Maturation							
Mean Preputial Separation (days)	41.4	42.0	39.9	41.0	NA	NA	NA	NA
Mean Body Weight on Day Passed	250.0	4.9	-6.8	-3.8	NA	NA	NA	NA
Mean Vaginal Opening	NA	NA	NA	NA	31.6	30.8	33.0	32.8
Mean Body Weight on Day Passed	NA	NA	NA	NA	129.7	-10.6*	12.6*	5.5
Hematology [c]								
Erythrocytes (10^6 cells/μL)	4.340	14.3	17.6*	22.5**	4.405	16.9*	12.1	23.0**
Hemoglobin (g/dL)	8.58	-1.2	7.0	16.9§	8.38	4.8	13.1	27.0**
Hematocrit (%)	30.94	2.8	7.2	14.0	29.98	8.2	14.1	25.0*
Absolute Reticulocytes (10^3 cells/μL)	870.52	30.00*	25.7*	15.6	809.45	40.9*	34.7*	48.4**
Coagulation	--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical Chemistry [c]								
Phosphorus (mg/dL)	13.09	0.5	16.4**	13.3**	13.03	5.5	12.7**	12.7**
ALP (U/L)	539.2	46.4*	39.5*	68.8**	541.6	34.9	91.9§§	58.1§
Organ Weights [d] (%)								
Number Examined	10	10	10	9	10	10	10	10
Spleen (g)	0.2606	-8	+5	+37**	0.2510	+3	+3	+33**
Spleen/BWt (%)	0.48739	-8	+2	+21*	0.50161	-1	-3	+17*
Spleen/BrWt (ratio)	0.17634	-7	+7	+35**	0.17588	+2	+5	+32**
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Histopathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Femur Length	--	--	--	--	--	--	--	--
Femur Metaphysis [c,d]								
Total Area (mm^2)	9.502	0.2	6.0	7.9	8.870	-1.7	3.6	15.8**
Total BMC (mg/mm)	3.028	-0.7	12.7	17.1	2.844	-0.9	3.6	27.5**
Total BMD (mg/cm^3)	317.99	-0.7	5.5	8.9†	319.66	0.9	-0.2	10.1**
Trabecular BMC (mg/mm)	1.017	-0.1	19.8	23.1	0.961	-5.1	4.3	43.1†
Trabecular BMD (mg/cm^3)	193.75	0.3	11.6	14.6	195.05	-3.0	0.9	24.2†

2.6.7.15 新生児を用いた試験（続き）

2.6.7.15B 経口投与毒性試験（2 週間反復投与試験、ラット）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: An Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study of Maralixibat in Sprague Dawley Rats, With a Recovery and a Toxicokinetic Phase					Study No: [redacted]		添付資料番号：4.2.3.5.4-2	
Cort/Subcort BMC (mg/mm)	2.008	-0.9	9.3	14.1	1.883	1.1	3.3	19.6**
Cort/Subcort BMD (mg/cm3)	470.54	-1.3	2.3	5.9†	472.74	2.8	-0.9	2.8
Femur Diaphysis	--	--	--	--	--	--	--	--
Femur pQCT	--	--	--	--	--	--	--	--
Recovery Animals								
Sex	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	50	100	250	0	50	100	250
Number of Recovery Animals	10	10	10	8	10	10	9	9
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund [b]	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	--	--	--	--	--	--	--	--
Body Weight (g) [d]	--	--	--	--	--	--	--	--
Body Weight Change (g) [d]	--	--	--	--	--	--	--	--
Caged Food Consumption (g) [d]	--	--	--	--	--	--	--	--
Hematology	--	--	--	--	--	--	--	--
Coagulation	--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical Chemistry	--	--	--	--	--	--	--	--
Organ Weights (g) [d]	--	--	--	--	--	--	--	--
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Histopathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Femur Length	--	--	--	--	--	--	--	--
Femur Metaphysis	--	--	--	--	--	--	--	--
Femur pQCT	--	--	--	--	--	--	--	--

--: no noteworthy findings; ALP: alkaline phosphatase; AUC_{24}: area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BMC: bone mineral content; BMD: bone mineral density; BWt: body weight; BrWt: brain weight; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female; GLP: Good Laboratory Practices; M: male, NA: not applicable; PND: postnatal day; pQCT: peripheral Quantitative Computed Tomography; TK: toxicokinetics.

[a] Group means are shown. The control group was analyzed for plasma concentration; however, group means were not calculated.

[b] No clear test article-related effects were observed on survival of males or females at any of the dose levels evaluated.

[c] Group means are shown.

[d] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

* ANOVA & Dunnett; Significantly different from control; ($p < 0.05$)

** ANOVA & Dunnett; Significantly different from control; ($p < 0.01$)

§ ANOVA & Dunnett (Log); Significantly different from control; ($p < 0.05$)

§§ ANOVA & Dunnett (Log); Significantly different from control; ($p < 0.01$)

† Kruskal-Wallis & Dunn; Significantly different from control; ($p < 0.05$)

2.6.7.15 新生児を用いた試験（続き）

2.6.7.15C 経口投与毒性試験（用量設定及び 6 週間毒性試験、ラット）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Preliminary Toxicokinetic and Dose Range Finding Study and 43-Day Toxicity Study via Oral Gavage With Recovery in the Juvenile Rats						Study No: [redacted]				添付資料番号：4.2.3.5.4-3
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley			Duration of Dosing: PND 21-63							GLP Compliance: Yes
Initial Age at Dosing: PND 21			Day of Mating: Day 0							
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			Method of Administration: Oral gavage							
Special Features: None			Vehicle/Formulation: Distilled water							
NOAEL: Females 1000 mg/kg/day Males 200 mg/kg/day										
Group No.	1		2		3		4		5	
Daily Dose (mg/kg/day)	M+F: 0		M:25	F:125	M: 50	F:250	M:100	F:500	M: 200	F: 1000
Number of Animals	M:18	F:18	M:18	F:18	M:18	F:18	M:18	F:18	M:18	F:18
Phase 1A Toxicokinetics [a,b]										
Day 1 (PND 21/22)										
C_{max} (ng/mL)	0.00		4.27± 2.96	63.6± 44.5	52.2± 67.6	30.4± 19.8	21.1± 7.0	50.4± 20.2	23.7± 11.9	258± 386
AUC_{24} (ng·hr/mL)	0.00		51.4	321	202	265	151	566	280	1400
Group No.	1		2		3		4		5	
Daily Dose (mg/kg/day)	M+F: 0		M:25	F:125	M: 50	F:250	M:100	F:500	M: 200	F: 1000
Number of Animals	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5	M:5	F:5
Phase 1B Dose Range Finding										
Day 8 (PND 28)										
C3(ng/mL) [c]	0.00		1.58± 0.19	13.3± 15.3	2.70± 0.39	8.08± 2.78	5.17± 1.46	20.4± 4.0	6.40± 1.47	109±42
Noteworthy Findings										
Death during Study [d]	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Clinical Observations	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Body Weights (g) [e]	96.2	87.8	2.5	1.0	4.9	-0.9	0.4	-10.7	1.5	-0.5

2.6.7.15 新生児を用いた試験（続き）

2.6.7.15C 経口投与毒性試験（用量設定及び 6 週間毒性試験、ラット）（続き）

被験物質：Maralixibat

Report Title: Preliminary Toxicokinetic and Dose Range Finding Study and 43-Day Toxicity Study via Oral Gavage With Recovery in the Juvenile Rats										Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.4-3
Food consumption (g)											
PND 21-24	9.6	8.8	-6.3	-2.3	4.2	-1.1	-5.2	-17.0	0.0	-5.7	
PND 24-28	13.4	11.6	3.0	5.2	8.2	6.0	6.7	-1.7	9.0	7.8	
Gross Necropsy of GI Tract (PND 28)	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
Staining of fur	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
Phase 2											
Group Number	1		2		3		4				
Daily Dose (mg/kg/day)	M+F: 0		M:50	F:250	M:100	F:500	M:200	F:1000			
Number of Animals	M:18	F:18	M: 18	F:18	M:18	F:18	M:18	F:18			
Phase 2 Toxicokinetics [f]											
Day 35/36 (PND 56/57)											
C_{max} (ng/mL)	NC	NC	6.86±5.76	176±181	14.0±18.2	76.1±58.3	13.0±7.3	370±541			
AUC_{24} (ng•h/mL)	NC	NC	43.8	413	140	939	133	2570			
Noteworthy Findings											
Death during study [a]	0	0	2	1	0	0	0	2			
Clinical Observations											
Dermal General, Alopecia (Head/Neck)	1	--	1	--	1	--	--	--			
Dermal General, Alopecia (Limbs)	3	--	--	--	1	--	--	--			
Dermal General, Alopecia (Torso)	--	--	--	--	1	2	-	1			
Dermal General, Scabs	--	--	--	--	1	--	2	--			
Oral Buccal Excessive Salivation	--	--	--	--	--	-	-	1			
Respiration, Dry Rales	--	--	--	--	--	--	--	1			
Respiration, Labored Breathing	--	--	--	--	--	--	--	1			

被験物質：Maralixibat

Report Title: Preliminary Toxicokinetic and Dose Range Finding Study and 43-Day Toxicity Study via Oral Gavage With Recovery in the Juvenile Rats					Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.4-3		
Respiration, Moist Rales	--	--	--	1	--	1	--	1
Behavior/Activity, Hunched Appearance	--	--	--	--	--	--	--	1
General Appearance, Thin	--	--	--	--	--	--	--	1
Respiration Gasping	--	--	--	--	--	--	--	1
Body Weights (g) PND63 [e]	375.4	229.6	-3.5	0.7	-6.8	3.6	-0.7	3.1
Body Weight Change (g) PND1-63 [e]	323.5	180.3	-3.2	0.8	-7.4	4.6	-1.1	4.0
Food Consumption (g/d) PND59-63 [e]	27.9	17.6	0.0	5.1	-1.1	14.8*	6.5	11.4*
Ophthalmoscopy	--	--	--	--	--	--	--	--
Motor Activity	--	--	--	--	--	--	--	--
FOB Evaluation	--	--	--	--	--	--	--	--
Sexual Maturation	--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Hematology	--	--	--	--	--	--	--	--
Coagulation	--	--	--	--	--	--	--	--
Clinical Chemistry	--	--	--	--	--	--	--	--
Anatomical Pathology								
Organ Weights (g) [e]								
Adrenal Glands	0.0588	0.0558	-11.4*	11.3	-10.0*	6.8	-13.3**	9.1
Liver	15.3849	8.2309	-3.1	11.5*	-12.3*	14.2*	0.4	11.5*
Epididymides	0.8885	N/A	-9.1*	N/A	-7.3*	N/A	-9.5*	N/A

被験物質：Maralixibat

Report Title: Preliminary Toxicokinetic and Dose Range Finding Study and 43-Day Toxicity Study via Oral Gavage With Recovery in the Juvenile Rats					Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.4-3		
Histopathology, Terminal Sacrifice								
Number of Animals Evaluated	12	12	0	0	0	0	12	11
Colon, Nematode	0	1	--	--	--	--	2	0
Kidneys								
Dilated Pelvis	0	0	--	--	--	--	1	0
Cyst	1	0	--	--	--	--	0	0
Basophilic Tubules	4	1	--	--	--	--	3	1
Lacrimal Gland, Atrophy, Acinar	1	0	--	--	--	--	0	0
Lungs, Fibrosis	0	0	--	--	--	--	1	1
Pancreas, Secretory Depletion, Exocrine	0	1	--	--	--	--	0	0
Stomach, Dilatation, Glands	0	0	--	--	--	--	1	0
Vagina, Mucification	N/A	1	N/A	--	N/A	--	N/A	0
Histopathology, Recovery Sacrifice								
Number of Animals Evaluated	6	6	0	0	0	0	6	5
Adrenal Glands, Increased Vacuolation, Cortical	1	0	--	--	--	--	1	0
Cecum, Nematode	1	0	--	--	--	--	0	0
Colon, Nematode	0	0	--	--	--	--	1	0
Heart, Mononuclear Infiltration	1	0	--	--	--	--	1	0
Heart, Degeneration Myofiber	1	0	--	--	--	--	0	0
Lungs, Inflammation, Subacute	1	0	--	--	--	--	0	0
Histopathology, Unscheduled Sacrifice								
Number of Animals Evaluated	N/A	N/A	2	1	N/A	N/A	N/A	2
Adrenal Glands, Increased Vacuolation	--	--	0	0	--	--	--	0
Axiliary LN, Erythrocytosis, Intrasinusoidal	--	--	0	0	--	--	--	1
Eyes, Hemorrhage	--	--	0	0	--	--	--	1
Heart Fibrosis	--	--	0	0	--	--	--	1
Lung, Foreign Material	--	--	1	1	--	--	--	2
Lung, Necrosis	--	--	2	1	--	--	--	2

被験物質：Maralixibat

Report Title: Preliminary Toxicokinetic and Dose Range Finding Study and 43-Day Toxicity Study via Oral Gavage With Recovery in the Juvenile Rats							Study No: [redacted]	添付資料番号：4.2.3.5.4-3
Lungs, Edema + Fibrin	--	--	0	0	--	--	--	1
Lungs, Hemorrhage + Congestion	--	--	2	1	--	--	--	2
Lungs, Platelet Plugs	--	--	2	1	--	--	--	1
Lungs, Inflammation, Subacute	--	--	0	0	--	--	--	1
Probable Cause of Death, Gavage-related Injury	--	--	2	1	--	--	--	2
Stomach, Dilation, Glands	--	--	0	0	--	--	--	2
Thymus, Single Cell Necrosis, Cortex	--	--	0	0	--	--	--	1
Trachea, Squamous Metaplasia	--	--	0	0	--	--	--	2
Trachea, Exudate, Lumen	--	--	0	0	--	--	--	1

--: no significant findings; AUC_{24}: area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max}: maximum plasma concentration; F: female(s); FOB: Functional Observational Battery; GI: gastro intestinal; GLP: Good Laboratory Practices; LN: lymph node; M: male(s); NC: not calculated; NOAEL: no-observed-adverse-effect level; N/A: not applicable; PND: postnatal day.

* Trend test significance at 5% level; ** Trend test significance at 1% level; *** Trend test significance at 0.1% level

[a] Toxicokinetic data are reported as group means ± Standard Deviation (C_{max} data only).

[b] 3 animals/sex/group were used for toxicokinetic analysis on PND28 after which all 5 animals/sex/group were designated for the necropsy (PND28).

[c] Toxicokinetic data are reported as group means ± Standard Deviation at 3 hours post-dose (C3).

[d] The unscheduled deaths of the Phase 2 animals were attributed to injury as a result of gavage error and aspiration of test-article into the trachea and lungs.

[e] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences.

[f] 12 animals/sex/group were used for toxicokinetic on PND56/57; 12 animals/sex/group were designated for the primary necropsy (PND64); the remaining 6 animals/sex/group underwent a 5-week treatment-free recovery period prior to necropsy (PND99).

Numbers in fraction indicate the the number of animals in each group.

2.6.7.16 局所刺激性試験

被験物質：Maralixibat

Species/ Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study No.	添付資料番号
Guinea pig/Hartley	Induction- intradermal and topical/single application by each route. Single topical challenge l	Topical induction: Freund's complete adjuvant (0.1 mL) Topical challenge: Test article/control (40% w/w) in petrolatum Injection: 0.1 mL	Control: 10M Maralixibat: 20M	Non-sensitizing	[redacted]	4.2.3.6-1
Rabbit/ New Zealand White	Topical application	0.5 g/site moistened with distilled water	6M	Slight dermal irritation	[redacted]	4.2.3.6-2
Rabbit/ New Zealand White	Conjunctival sac application	19 mg (0.1mL weight eq)	6F	Moderately irritating in the eye	[redacted]	4.2.3.6-3

F: female; M: male.

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17A 経口投与毒性試験

被験物質：Maralixibat

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study No.	添付資料番号
Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	1 Week Sacrifice on Day 8 and reversal Days 4 and 8	0,150	10F	No mucus depletion or edema in the rats that were not fasted prior to necropsy.	[redacted]	4.2.3.7.7-1
Rat/ Sprague Dawley	Oral gavage	2 Weeks Sacrifice on Days 2, 5, 8 and 15	150	10F/time point	≥ Day 3: Pink stained cage paper ≥ Day 5: Colonic goblet cell mucus depletion (with or without edema); soft mucoid-like feces in the colon at necropsy associated with fasting prior to necropsy.	[redacted]	4.2.3.7.7-2

F: female.

2.6.7.17 その他の毒性試験（続き）

2.6.7.17B 不純物の毒性（復帰突然変異試験）

被験物質：Maralixibat

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study No.	添付資料番号
Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	48 hours	15 to 5000 µg/plate	NA	Potential impurity [redacted] ([redacted]) was tested for mutagenic potential in the Bacterial Reverse Mutation Assay. No mutagenic toxicity was observed. Precipitate was observed beginning at 500 µg per plate with all conditions. No positive mutagenic responses were observed with any of the tester strains in either the presence or absence of S9 activation.	[redacted]-[redacted]	4.2.3.7.6-1
Salmonella typhimurium, Escherichia coli	In vitro	48 hours	10 to 5000 µg/plate	NA	Potential impurity [redacted] ([redacted]) was tested for mutagenic potential in the Bacterial Reverse Mutation Assay. Precipitate was observed at 5000 µg per plate with a few conditions. Toxicity was observed beginning at 1000 or 3333 µg per plate. Positive mutagenic responses were observed (ranging from 3.0- through 8.4- fold, maximum increases) with tester strains TA98, TA100 and WP2 uvrA in the presence and absence of S9 activation.	[redacted]-[redacted]	4.2.3.7.6-2

2.6.7.17 その他の毒性試験（続き）

2.6.7.17B 不純物の毒性（復帰突然変異試験）（続き）

被験物質：Maralixibat

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (µg/plate)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study No.	添付資料番号
Salmonella typhimurium Escherichia coli	In vitro	48 hours	33.3 to 5000 µg/plate	NA	Potential impurity [redacted] ([redacted]) was tested for mutagenic potential in the Bacterial Reverse Mutation Assay. No precipitate was observed. Toxicity was observed beginning at 3333 or at 5000 µg per plate with tester strain TA98 and TA1535 in the absence of S9 activation. Positive mutagenic responses relative to controls ranging from 4.3- through 14.3-fold were observed with maximum increases noted in tester strains TA98, TA100, TA1535 and WP2 uvrA in the presence of S9 activation and with the tester strains TA98, TA100 and WP2 uvrA in the absence of S9 activation. Maximum increases of 2.2- through 2.6-fold were observed with the remaining conditions.	[redacted]	4.2.3.7.6-3
Salmonella typhimurium Escherichia coli	In vitro	48 hours	1.0 to 5000 µg/plate	NA	Potential impurity [redacted] was tested for mutagenic potential in the Bacterial Reverse Mutation Assay. No precipitate was observed. Toxicity was observed in strains TA98 and TA1537 with and without metabolic activation. Positive mutagenic response relative to the vehicle control were observed at ≥ 100 µg/plate in strain WP2 uvrA both with and without metabolic activation, and in strain TA100 at ≥ 500 µg/plate both with and without metabolic activation. Additionally, increases were also noted in strain TA1535 at ≥ 500 µg/plate with metabolic activation.	[redacted]	4.2.3.7.6-4

NA: not applicable; S9: post-mitochondrial fraction.