目次

1 まとめ 7
1.1 単回及び反復投与毒性 10
1.2 遺伝毒性 12
1.3 がん原性 12
1.4 生殖発生毒性 12
1.4.1 受胎能及び着床までの初期胚発生 12
1.4.2 胚・胎児発生 12
1.4.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能 12
1.5 局所刺激性 13
1.6 代謝物の毒性 13
1.7 不純物の毒性 13
1.8 光毒性 14
2 単回投与毒性試験 15
2.1 マウス 15
2.2 ラット 15
2.3 イヌ 16
3 反復投与毒性試験 17
3.1 成熟ラット 17
3.1.1 17 日間反復投与用量設定試験 17
3.1.2 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 17
3.1.3 26 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 19
3.1.4 投与 13 週の中間評価を含む 26 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 19
3.2 幼若ラット 21
3.2.1 幼若ラット（1、2 及び 3 週齢）を用いた 3 週間反復投与用量設定試験 21
3.2.2 幼若ラット（3 週齢）を用いた 6 週間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験 25
3.3 ウサギ 28

3.3.1 雌ウサギを用いた 4 週間反復投与用量設定試験 28
3.3.2 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 29
3.4 イヌ 30
3.4.1 2 週間反復投与用量設定試験 30
3.4.2 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 31
3.4.3 投与 26 週の中間評価を含む 39 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験 31
3.4.4 投与 13 週の中間評価を含む 39 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験 32
4 遺伝毒性試験 34
4.1 *In Vitro* 34
4.1.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 34
4.1.2 哺乳類細胞（ヒトリンパ球）を用いる染色体異常試験 34
4.2 *In Vivo* 34
4.2.1 マウス骨髄小核試験 34
5 がん原性試験 36
6 生殖発生毒性試験 38
6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 38
6.1.1 雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 38
6.1.2 雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 38
6.2 胚・胎児発生に関する試験 39
6.2.1 胚盤胞由来多能性 ESC を用いた *In vitro* 胚毒性試験 39
6.2.2 ラット胚・胎児発生用量設定試験 39
6.2.3 ラット胚・胎児発生試験 40
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 41
6.4 幼若動物を用いた試験 41
7 局所刺激性試験 42
8 その他の毒性試験 43
8.1 代謝物の毒性試験 43

8.1.1 代謝物の反復投与毒性試験.....43
8.1.2 代謝物の遺伝毒性試験.....45
8.1.3 代謝物の光毒性試験.....45
8.2 不純物.....46
8.2.1 不純物A* 46
8.2.2 その他の不純物.....47
8.3 光毒性.....48
9 考察及び結論.....49
10 図表.....52
参考文献.....53

＊新薬承認情報提供時に置換

表目次

表 2.6.6-1　非臨床毒性試験プログラム 8

表 2.6.6-2　1 週齢の幼若ラットを用いた 3 週間投与試験（第 I 相）のデザイン..... 21

表 2.6.6-3　1、2 及び 3 週齢の幼若ラットを用いた 3 週間投与試験（第 II 相）のデザイン 22

表 2.6.6-4　3 週齢の幼若ラットを用いた 6 週間反復投与毒性試験のデザイン..... 25

略号及び用語の説明

略語又は用語	日本語	英語
ACVR1	アクチビン A 受容体 1 型	activin A receptor, type 1
ALK2	アクチビン受容体様キナーゼ 2	activin receptor-like kinase 2
ALP	アルカリホスファターゼ	alkaline phosphatase
$AUC_{0\text{-}24}$	投与 0 時間から 24 時間後までの濃度－時間曲線下面積	area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose
$AUC_{0\text{-}last}$	投与 0 時間から定量可能な時点までの濃度－時間曲線下面積	area under the concentration versus time curve from time 0 to the last concentration above the limit of quantification
$AUC_{0\text{-}\tau}$	定常状態での投与間隔における濃度－時間曲線下面積	area under the concentration versus time curve over a dosing interval at steady state
BHA	ブチルヒドロキシアニソール	butylated hydroxyanisole
BHT	ブチルヒドロキシトルエン	butylated hydroxytoluene
BLAST	—	Basic Local Alignment Search Tool
BMD	骨塩密度	bone mineral density
BMP	骨形成タンパク質	bone morphogenetic protein
CLM-001	パロバロテンの開発コード（別称：RO3300074、R667、RO3300074-000 及び RO3300074-003）	developmental code of palovarotene (other names: RO3300074, R667, RO3300074-000 and RO3300074-003)
C_{max}	最高血漿中濃度	maximum plasma concentration
不純物C*	[redacted]	[redacted]
DEN	ジエチルニトロソアミン	diethylnitrosamine
DMBA	7,12-ジメチルベンズ（a）アントラセン	7,12-dimethylbenz[a]anthracene
DNA	デオキシリボ核酸	deoxyribonucleic acid
DXA	二重エネルギーX 線吸収測定法	dual-energy X-ray absorptiometry
ECG	心電図	electrocardiogram
ESC	胚性幹細胞	embryonic stem cell
FOP	進行性骨化性線維異形成症	fibrodysplasia ossificans progressiva
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	Good Laboratory Practice
HNSTD	重篤な毒性が発現しない最大投与量	highest non-severely toxic dose
HO	異所性骨化	heterotopic ossification
IC_{50}	50%阻害濃度	half-maximal inhibitory concentration
ICH	医薬品規制調和国際会議	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
ID_{50}	50%分化阻害濃度	half inhibitory concentration of differentiation

＊新薬承認情報提供時に置換

略号及び用語の説明（続き）

略語又は用語	日本語	英語
M2	パロバロテンの 6 位水酸化体（識別コード：RO3304835）	6-hydroxy metabolite of palovarotene (RO3304835)
M3	パロバロテンの 7 位水酸化体（識別コード：RO3305210）	7-hydroxy metabolite of palovarotene (RO3305210)
M4a	パロバロテンの 6 位オキソ体（識別コード：RO3304974）	6-oxo metabolite of palovarotene (RO3304974)
M4b	パロバロテンの 7 位オキソ体（識別コード：RO3305659）	7-oxo metabolite of palovarotene (RO3305659)
MRHD	最大推奨臨床用量	maximum recommended human dose
NOAEL	無毒性量	no-observed-adverse-effect level
NOEL	無影響量	no-observed-effect level
NRU	ニュートラルレッド取り込み	neutral red uptake
NZW	ニュージーランド白色	New Zealand White
不純物A*	[redacted]	[redacted]
pQCT	末梢定量的コンピュータ断層撮影法	peripheral quantitative computed tomography
RAR(γ)	レチノイン酸受容体（γ）	retinoic acid receptor (gamma)
S9	外因性代謝活性化系	exogenous metabolic activation system
Smad	—	Suppressor of Mothers against Decapentaplegic
TK	トキシコキネティクス	toxicokinetics
UV	紫外線	ultraviolet
UVA	紫外線 A	ultraviolet A
WoE	科学的証拠の重み付け	Weight-of-Evidence

＊新薬承認情報提供時に置換

1　まとめ

パロバロテン（開発コード：CLM-001）は、経口投与可能なレチノイン酸受容体（RAR）γ選択的アゴニストであり、進行性骨化性線維異形成症（FOP）の治療薬として開発された。

FOP は疼痛を伴う反復性の軟部組織腫脹（フレアアップ）並びに筋肉、腱及び靭帯における異所性骨形成を特徴とする、非常に稀で、重度の機能障害をもたらす遺伝子疾患である。FOP は小児期から成人期を通して進行し、小児期にかなりの身体障害が生じる（Kaplan 2018）。FOP はアンメット・メディカル・ニーズの高い疾患である。

FOP は、骨形成タンパク質（BMP）I 型受容体であるアクチビン A 受容体 1 型（ACVR1）／アクチビン受容体様キナーゼ 2（ALK2）をコードする ACVR1/ALK2 遺伝子の単一の機能獲得型変異により生じる（Kaplan 2009）。ACVR1/ALK2 遺伝子の機能獲得型変異（R206H が最も典型的な変異）により、BMP-Suppressor of Mothers against Decapentaplegic（Smad）1/5/8 シグナル伝達経路の異常な活性化を介して軟骨形成及び異所性骨形成が促進されることで、正常な損傷修復機序による結合組織（筋肉、腱及び靭帯）の再生が妨げられる（Kaplan 2012）。FOP では、骨化性筋炎としても知られる異所性骨化（HO）が、炎症及び組織破壊からなる異化期とそれに続く組織形成からなる同化期の 2 段階で進行する（Shore 2010）。

成人及び小児（8 歳以上の女性及び 10 歳以上の男性）の FOP における HO の軽減を目的として、パロバロテンを 1 日 1 回経口投与する。成人及び 14 歳以上の小児における連続投与では 5 mg/日を投与する。フレアアップ時には用量を増量する。最大推奨臨床用量（MRHD）は 20 mg/日であり、14 歳未満の小児には体重により調節した用量を投与する。

パロバロテンの承認申請を裏付けるために実施された毒性試験を表 2.6.6-1 に示す。パロバロテンの毒性は、医薬品規制調和国際会議（ICH）M3（R2）ガイドラインに基づく非臨床試験プログラムで評価した。非臨床毒性試験の動物種は、げっ歯類としてマウス及びラット、非げっ歯類としてイヌ及びウサギを選択した。試験に用いたこれらの動物種は一般的に広く毒性試験に使用されている。*In vitro* 代謝試験において、げっ歯類、イヌ、サル及びヒトにおけるパロバロテンの代謝プロファイルは質的に類似していた。イヌを含む動物種間の核内 RAR 及びレチノイド X 受容体蛋白質のアミノ酸配列を Basic Local Alignment Search Tool（BLAST）検索により比較したところ、91%を超える高い相同性が確認されている。ビーグル犬はレチノイドの毒性試験で広く使用されており、ヒトでみられるレチノイド毒性と関連性の高い作用に対して感受性があることが示されている（Armstrong 1994）。イヌにパロバロテンを経口投与したときのバイオアベイラビリティはサルと比較して高く、血漿中濃度の用量比例性も良好であった（2.6.4.3.1 項）。したがって、毒性試験に用いる非げっ歯類としてイヌを選択することは適切であると考えられた。また、パロバロテンの軟骨細胞への影響を評価するため、ウサギを 2 種目の非げっ歯類として使用した。

重要な毒性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）に従って実施した。

表 2.6.6-1　　非臨床毒性試験プログラム

試験の種類及び期間（報告書番号）	投与経路	試験系	被験物質	投与量（mg/kg/日）
単回投与毒性試験				
単回（1007778）[1]	経口	マウス	パロバロテン	0、0.5、2.5、12.5
単回（1007936）[1]	経口	ラット	パロバロテン	0、1、5、25
単回（1008421）	経口（カプセル）	イヌ	パロバロテン	0、1、5、10
反復投与毒性試験				
17 日間（用量設定）（1008287）	経口	ラット	パロバロテン	0、0.5、1.5、5
4 週間＋4 週間回復（1007062）[1]	経口	ラット	パロバロテン	0、0.04、0.2、1、5
26 週間＋8 週間回復（1009627）[1]	経口	ラット	パロバロテン	0、0.005、0.015、0.05、0.15
13 週間又は 26 週間＋8 週回復（1013603）[1]	経口	ラット	パロバロテン	0、0.3、0.6、1.0
4 週間（用量設定）（1018190）	経口	ウサギ	パロバロテン	0、1.0、2.5、5.0
4 週間＋4 週間回復（1020320）[1]	経口	ウサギ	パロバロテン	0、0.5、1.0、2.5
2 週間（用量設定）（1008208）	経口（カプセル）	イヌ	パロバロテン	0、1、3、10
2 週間（用量設定）（1008209）	経口（カプセル）	イヌ	パロバロテン	0、0.01、0.05、0.25
4 週間＋4 週間回復(1009512）[1]	経口（カプセル）	イヌ	パロバロテン	0、0.008、0.04、0.2
26 週間又は 39 週間＋13 週回復（1009654）[1]	経口（カプセル）	イヌ	パロバロテン	0、0.0002、0.0006、0.002、0.006
13 週間又は 39 週間＋13 週回復（1013980）[1]	経口	イヌ	パロバロテン	0、0.012、0.025/0.12、0.04
遺伝毒性試験				
復帰突然変異（1003192）[1]	*In vitro*	ネズミチフス菌	パロバロテン	0.158～5000 µg/plate
染色体異常（1002681）[1]	*In vitro*	ヒト末梢血液リンパ球	パロバロテン	10～88 µg/mL
In vivo 小核（1002682）[1]	経口	マウス	パロバロテン	0、5、12.5、25

表 2.6.6-1　　非臨床毒性試験プログラム（続き）

試験の種類及び期間（報告書番号）	投与経路	試験系	被験物質	投与量（mg/kg/日）
生殖発生毒性試験				
雄受胎能及び初期胚発生（9001429）[1]	経口	ラット	パロバロテン	0、0.3、1、3
雌受胎能及び初期胚発生（9001478）[1]	経口	ラット	パロバロテン	0、0.3、1、3
胚性幹細胞試験（1027474）	*In vitro*	胚盤胞由来胚性幹細胞	パロバロテン	0.000125～125 μg/mL
胚・胎児発生（用量設定）（1002872）	経口	ラット	パロバロテン	0、0.04、0.5、5.0
胚・胎児発生（1003177）[1]	経口	ラット	パロバロテン	0、0.01、0.25、1.25
幼若動物試験				
3 週間（9000317）	経口	幼若ラット（1 週齢）	パロバロテン	0、0.3、1.0、3.0
3 週間（9000317）	経口	幼若ラット（1 週齢）	パロバロテン	0、0.03、0.03/0.1/0.3
3 週間（9000317）	経口	幼若ラット（2 週齢）	パロバロテン	0、0.1/0.3/0.5
3 週間（9000317）	経口	幼若ラット（3 週齢）	パロバロテン	0、0.1、0.5、2.5
6 週間＋6 週間回復（6700132）[1]	経口	幼若ラット（3 週齢）	パロバロテン	0、0.1、0.5、1.2
代謝物の毒性試験				
4 週間反復投与（用量設定）（1010116）	経口	ラット	M2 及び M3	0、0.75、2.0、5.0
13 週間反復投与毒性＋4 週間回復（1013099）[1]	経口	ラット	M2 と M3 の混合物	0、0.3、1.0、3.0
4 週間反復投与（用量設定）（1009640）	経口（カプセル）	イヌ	M2 及び M3	0、0.05、0.15、0.50
13 週間反復投与毒性＋4 週間回復（1011046）[1]	経口（カプセル）	イヌ	M2 と M3 の混合物	0、0.05、0.15、0.50
復帰突然変異（1016894）[1]	*In vitro*	ネズミチフス菌	M2、M3、M4a 及び M4b の混合物	50～5000 μg/plate
染色体異常（1014341）[1]	*In vitro*	ヒト末梢血液リンパ球	M2、M3、M4a 及び M4b の混合物	10～250 μg/mL
In vitro 光毒性（1008050）	*In vitro*	3T3 線維芽細胞	M2	0.49～300 μg/mL
In vitro 光毒性（1008048）	*In vitro*	3T3 線維芽細胞	M3	0.49～300 μg/mL

表 2.6.6-1　　非臨床毒性試験プログラム（続き）

試験の種類及び期間（報告書番号）	投与経路	試験系	被験物質	投与量（mg/kg/日）
代謝物の毒性試験（続き）				
In vitro 光毒性（1008049）	*In vitro*	3T3 線維芽細胞	M4a	0.3～180 µg/mL
In vitro 光毒性（1008047）	*In vitro*	3T3 線維芽細胞	M4b	0.3～180 µg/mL
不純物の毒性試験				
7 日間反復投与（用量設定）（8462659）	経口	ラット	不純物A*	0、0.025、0.25、0.75
4 週間反復投与毒性（8462660）[1]	経口	ラット	不純物A*	0、0.025、0.25
復帰突然変異（8462655）[1]	*In vitro*	ネズミチフス菌、大腸菌	不純物A*	5～5000 µg/plate
染色体異常（8462656）[1]	*In vitro*	ヒト末梢血液リンパ球	不純物A*	125～500 µg/mL
In silico 解析（20264821B）	*In silico*	N/A	不純物A*	N/A
復帰突然変異（1027922）	*In vitro*	ネズミチフス菌	不純物B*	50～5000 µg/plate
復帰突然変異（1027923）	*In vitro*	ネズミチフス菌	不純物C*	20～2000 µg/plate
復帰突然変異（1027924）	*In vitro*	ネズミチフス菌	不純物D*	50～5000 µg/plate
光毒性試験				
In vitro 試験（1002309）	*In vitro*	3T3 線維芽細胞	パロバロテン	0.098～60 µg/mL

[1] GLP 準拠試験

不純物C*= [redacted]、GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、M2=パロバロテンの 6 位水酸化体、M3=パロバロテンの 7 位水酸化体、M4a= パロバロテンの 6 位オキソ体、M4b=パロバロテンの 7 位オキソ体、N/A=該当せず、　不純物A*　=[redacted]

1.1　単回及び反復投与毒性

パロバロテンの一般毒性について、マウス、ラット及びイヌを用いた単回投与試験、並びにラット、ウサギ及びイヌを用いた反復投与試験で評価した。

パロバロテンのマウス、ラット及びイヌを用いた単回投与試験では、いずれも試験した最高用量まで忍容性が認められ、概略の致死量はそれぞれ 12.5 mg/kg 超、25 mg/kg 超及び 10 mg/kg 超であった。

高用量の反復投与では、パロバロテンの毒性は主として皮膚粘膜毒性（全ての動物種）と骨格への影響（ラット）であった。ラットへの 26 週間投与時の無毒性量（NOAEL）は 0.15 mg/kg/

＊新薬承認情報提供時に置換

日、重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は 0.6 mg/kg/日であった。イヌへの 39 週間投与時の NOAEL 及び HNSTD は共に 0.04 mg/kg/日であった。

成熟ラット、ウサギ及びイヌでは、皮膚粘膜毒性として、主に皮膚の紅斑、浮腫、上皮過形成、角化亢進及び／又は表皮の顆粒層肥厚が用量依存的に認められた。上皮過形成は異形成を伴わなかった。ラットの皮膚所見の重症度は投与 4 週まで投与期間依存的に増加した。加えて、胃の非腺粘膜（前胃：げっ歯類のみ）、食道（ウサギのみ）並びに眼の結膜及び外耳表面組織（イヌのみ）など、他の組織の扁平上皮にも影響が認められた。ウサギの食道における所見は、食道粘膜の機能構造や動物の健康状態に影響を及ぼすものではなく、毒性学的意義のある変化とは判断しなかった。ラット、イヌ及びウサギの腺胃及び腸管組織の粘膜に毒性影響は認められず、パロバロテン投与によるヒトの消化管毒性の可能性は低いことが示唆されている。幼若ラットでは、皮膚所見として、皮膚の乾燥、被毛の菲薄化及び／又は痂皮形成など比較的軽度な所見が認められた。

骨格への影響として、成熟及び幼若ラットで軟骨形成阻害（軟骨形成不全）及びこれに起因する骨形成阻害が認められ、パロバロテンの薬理作用を反映していた。

幼若ラットでは、骨格成長期を通じて（3 週齢から 9 週齢まで）パロバロテンを 0.1、0.5 及び 1.2 mg/kg/日の用量で投与したところ、0.5 mg/kg/日以上の投与で骨のサイズ、形状、質量及び／又は密度、並びに成長全般に影響がみられた。骨端成長板では軟骨の肥大／成熟帯の拡大（ときに軟骨形成不全を伴う）による肥厚、菲薄化又は部分／完全閉鎖のいずれかが認められた。大腿骨近位部では、成長板の菲薄化／閉鎖により、大腿骨頭の変形が認められた。高用量群では大腿骨頭の虚血性骨壊死が観察され、この領域に特有の解剖学的な血管形態との関連性が高いと考えられた。本所見は少数のラットでは骨梁の微小骨折を伴った。高用量群では、腓骨の骨折治癒も認められた。これらの骨格系に対する影響は、0.5 mg/kg/日では投与終了後に部分的な回復を示したが、1.2 mg/kg/日では回復しなかった。

成熟ラットでは、骨格系への影響は、生涯を通じて活性が維持されている骨端軟骨（成長板）（Roach 2003）の軟骨形成不全に限られた。軟骨形成不全は、最高用量（5 mg/kg/日）の投与では一部の動物で長骨の成長板付近の骨折を伴って認められた。軟骨形成不全の発現頻度及び重症度は、用量依存的に増加する傾向が認められたが、投与期間の長期化に伴う増悪傾向は認められなかった。骨端軟骨に対する同様の影響がラットへの RAR アゴニスト投与において報告されている（De Luca 2000）。軟骨形成不全は休薬により完全には回復しなかったが、発生頻度及び重症度は低下し、部分的な回復が示された。幼若期以降に骨端成長板の活性が失われる種の成熟動物（ウサギ及びイヌ）（Kilborn 2002）では、骨格への影響は認められなかった。いずれの動物種でも骨芽細胞又は破骨細胞活性の変化を示す病理組織学的所見は認められず、骨ではなく軟骨がパロバロテンの薬理作用の標的であるという理解と一致していた。

ラット 4 週間投与試験では、精巣組織の変性が最高用量（5 mg/kg/日）群のみで認められた。5 mg/kg/日群では重篤な毒性及び死亡がみられたことから、精巣所見はパロバロテンの直接的な影響ではなく、当該ラットの全身状態悪化に関連する変化であった可能性がある。より低用量で実施した長期の試験並びにイヌ及びウサギを用いた試験では精巣に被験物質に関連した所見は認められなかった。

1.2 遺伝毒性

パロバロテンは細菌を用いた復帰突然変異試験で変異原性を示さず、マウス *in vivo* 骨髄小核試験で染色体異常誘発作用を示さなかった。ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験では、細胞毒性（50%以上の分裂指数低下）を示す濃度でのみ、弱い染色体異常誘発作用が認められた。当該作用の閾値（30000 ng/mL）は、MRHD で予想されるヒトの最高血漿中濃度（C_{max}、202 ng/mL）よりも 148 倍以上高かった。

1.3 がん原性

パロバロテンのがん原性試験は実施していない。パロバロテンは、遺伝毒性を示さず、ラット及びイヌを用いた長期投与毒性試験において前がん病変及び腫瘍性病変の発生率を増加させない。上記及び薬理学的標的である RARγ 及びレチノイドに関連するクラスエフェクトに基づく科学的証拠の重み付け（WoE）による評価（WoE アプローチ）によりパロバロテンにがん原性の懸念は示されていない。

1.4 生殖発生毒性

1.4.1 受胎能及び着床までの初期胚発生

受胎能試験では雄ラットにパロバロテンを交配開始前 9 週間、交配期間中及び交配後 2 週間投与したところ、1 mg/kg/日の用量まで生殖機能、受胎能及び初期胚発生に対する影響は認められなかった。雌ラットに交配開始 2 週間前から妊娠 7 日まで投与した結果、1 mg/kg/日の用量まで生殖機能、受胎能及び初期胚発生に対する影響は認められなかった。3 mg/kg/日では、交配前及び交配後の投与期間中に体重減少及び摂餌量の減少並びに性周期（発情休止期）の延長傾向が認められた。同群では黄体数の低下及びそれに続く着床痕数及び生存胚数の減少が認められたが、全身毒性に関連した変化であり、パロバロテンの直接的な影響ではないと考えられた（Everds 2013）。

1.4.2 胚・胎児発生

胚性幹細胞（ESC）を用いた *in vitro* 胚毒性試験では、パロバロテンは胚・胎児毒性陽性と分類された。ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験では、器官形成期におけるパロバロテン投与により、レチノイドに典型的な胎児奇形（口蓋裂、頭蓋骨の形態異常及び長骨の短縮など）が認められた。高用量群では、これらの影響に関連した胎児の生存率低下が認められた。母動物及び胚・胎児毒性の NOAEL はいずれも 0.01 mg/kg/日と判断した。NOAEL における妊娠 17 日の C_{max} は 0.721 ng/mL、投与 0 時間から 24 時間後までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24}$）は 8.65 ng·h/mL であり、臨床曝露量を大きく下回っていた。

1.4.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能

パロバロテンの乳汁移行に関するデータはなく、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は実施していない。しかしながら、投与開始時 1 週齢の幼若ラットへパロバロテンを

連日投与する反復経口投与毒性試験において、発育に対する影響を評価している。1 週齢の幼若ラットの発達段階は満期出生児又は出生直前のヒトの胎児に相当する（Zoetis 2003）。パロバロテンが乳汁中に移行し、乳児に曝露される可能性があることから、幼若ラットを用いた試験で授乳中の女性へのパロバロテンの使用が乳児の発育に及ぼす影響を評価することができる。幼若ラットを用いた試験で毒性が認められたことから授乳中の女性にはパロバロテンを使用すべきではない。パロバロテンの安全性評価のために出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を改めて実施する意義は低いと考えられる。

1.5　局所刺激性

パロバロテンの経口投与による消化管における局所刺激性を評価する試験は実施していない。ラット、イヌ及びウサギを用いた反復投与毒性試験の結果から、ヒトの消化管への刺激性の可能性は低いことが示唆されている。

1.6　代謝物の毒性

ラット、イヌ及びヒトでは、パロバロテンは主にパロバロテンの 6 位水酸化体（M2）及び 7 位水酸化体（M3）に代謝される。これらは更に代謝を受け、それぞれパロバロテンの 6 位オキソ体（M4a）及び 7 位オキソ体（M4b）へと変換される。以上の主要代謝物の毒性プロファイルを検討するため、代謝物の毒性試験を実施した。M2 及び M3 のラット及びイヌを用いた反復経口投与試験において、M2、M3、M4a 及び M4b の毒性プロファイルはパロバロテンと類似しており、これらの主要代謝物に特有の又は予期し得ない毒性は認められなかった。

パロバロテンの主要代謝物は細菌を用いた復帰突然変異試験で変異原性を示さなかった。ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験では、親化合物と同様に弱い染色体異常誘発作用が認められたが、細胞毒性濃度（50%以上の分裂指数低下）でのみ認められた変化であり、臨床的に意義のある曝露量での影響は示唆されなかった。したがって、M2、M3、M4a 及び M4b はヒトに対して遺伝毒性を示さないと考えられた。

M2、M3、M4a 及び M4b は、パロバロテンと同様に 300～350 nm［紫外線（UV）A（UVA）］領域で最大の UV 吸収を示すが、*in vitro* 光毒性試験では 3T3 線維芽細胞に対して光毒性を示さなかった。

1.7　不純物の毒性

原薬中の不純物の安全性を検討するため、不純物の毒性試験を実施した。

不純物B*、[redacted]（不純物C*）及び　不純物D*　は細菌を用いる復帰突然変異試験で陽性であったことから、ICH M7 ガイドラインに従って変異原性不純物として取り扱い、許容限度値以下で管理すべきであると結論された。

臨床試験用ロットの原薬中に認められた製造工程由来不純物である[redacted]［　不純物A*　］を用いた *in silico* 解析、ラット反復投与毒性試験及び *in vitro* 遺伝毒性試験を実施した。これらの試験結果から、　不純物A*　について、原薬中の不純物規格における安全性の懸念は示されなかった。

＊新薬承認情報提供時に置換

1.8 光毒性

パロバロテンは、UVA 領域である 300～350 nm で最大の UV 吸収を示すが、*in vitro* 光毒性試験では 3T3 線維芽細胞に対して光毒性を示さなかった。

2　単回投与毒性試験

2.1　マウス

1007778 試験、添付資料番号：4.2.3.1.1

CD-1 マウス（雌雄各 5 匹／群）に溶媒［0.01%ブチルヒドロキシアニソール（BHA）及び 0.01%ブチルヒドロキシトルエン（BHT）を含むミグリオール 812］又はパロバロテン（0.5、2.5 又は 12.5 mg/kg）を 5 mL/kg の容量で強制経口投与した。投与日（Day 0）は投与前及び投与 6 時間後まで複数回、その後 14 日間は 1 日 1 回、一般状態を記録した。

Day 0（投与前）並びに Day 2、7 及び 14 に体重を測定した。摂餌量は週 1 回記録した。観察期間終了時に剖検及び病理組織学的検査を行った。

いずれの動物も計画屠殺時まで生存した。パロバロテン投与による体重又は摂餌量に対する影響並びに肉眼的又は病理組織学的所見は認められなかった。パロバロテン投与群及び溶媒対照群で軟便が認められ、ミグリオール 812 を含む油性溶媒による影響と考えられた。加えて、パロバロテン投与群では努力性呼吸（投与日）、被毛粗剛、泌尿生殖器周囲又は尾根部の汚れ、腹部硬化並びに便の色、大きさ又は量の変化及び粘液便が一過性に認められた。12.5 mg/kg を投与したマウスでは、眼瞼下垂、円背位、自発運動低下及び不活発が認められた。

以上より、パロバロテンのマウスへの単回投与は試験した最高用量まで良好な忍容性を示した。

2.2　ラット

1007936 試験、添付資料番号：4.2.3.1.2

Wistar ラット（雌雄各 5 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（1、5 又は 25 mg/kg）を 10 mL/kg の容量で強制経口投与した。投与日（Day 0）は投与前及び投与 6 時間後まで複数回、その後 14 日間は 1 日 1 回、一般状態を記録した。Day 0（投与前）並びに Day 2、7 及び 14 に体重を測定した。摂餌量は週 1 回記録した。14 日間の観察期間終了時に剖検を実施した。トキシコキネティクス（TK）群（雌雄各 3 匹／群）を別途設定し、投与約 1、4 及び 24 時間後に採血して血漿中パロバロテン濃度を測定した。

1 mg/kg を投与した TK 群の雄 1 匹が採血時の麻酔の影響により投与 4 時間後の採血後に死亡した。他の動物は計画屠殺時まで生存した。体重又は摂餌量に対するパロバロテン投与による影響はなく、パロバロテンに関連した肉眼的病理所見もみられなかった。溶媒対照群及びパロバロテン投与群で軟便又は粘液便並びに泌尿生殖器周囲又は尾根部の湿潤及び／又は汚れが認められ、ミグリオール 812 を含む油性溶媒による影響と考えられた。さらに、投与日に自発運動低下及び努力性呼吸が認められたが、溶媒対照群及びパロバロテン投与群のいずれにおいても認められたため、パロバロテン投与には関連しない変化と考えられた。

以上より、パロバロテンのラットへの単回投与は試験した最高用量まで良好な忍容性を示した。25 mg/kg 投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$（雌雄合算平均値）はそれぞれ 376 ng/mL 及び 6245 ng·h/mL であった。

2.3 イヌ

1008421 試験、添付資料番号：4.2.3.1.3

ビーグル犬（雄 3 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（1、5 又は 10 mg/kg）を 0.1～0.2 mL/kg の容量でゼラチンカプセルに充填して経口投与した。投与日（Day 0）は投与前並びに投与約 0.5、1、3 及び 5 時間後に、その後 7 日間は 1 日 1 回、一般状態を記録した。投与前及び Day 7 に体重を測定した。投与約 1、3、5、7 及び 24 時間後に採血して血漿中パロバロテン濃度を測定した。投与したイヌは観察期間終了後にストックコロニーに戻した。

試験期間を通じて、全動物が生存した。体重への影響は認められなかった。溶媒対照群を含む全群で嘔吐及び軟便又は粘液便が散見され、ミグリオール 812 を含む油性溶媒による影響の可能性が考えられた。10 mg/kg 群では陰嚢及び耳の皮膚に紅斑が認められた。

以上より、パロバロテンのイヌへの単回投与は試験した最高用量まで良好な忍容性を示した。10 mg/kg 投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ はそれぞれ 2220 ng/mL 及び 27700 ng·h/mL であった。

3　反復投与毒性試験

3.1　成熟ラット

3.1.1　　17 日間反復投与用量設定試験

1008287 試験、添付資料番号：4.2.3.2.1

Wistar ラット（投与開始時 8～9 週齢、雌雄各 5 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.5、1.5 又は 5 mg/kg/日）を 2 mL/kg の容量で 17 日間経口投与した。

一般状態、体重及び摂餌量を少なくとも週 1 回記録した。Day 0 及び 14 の投与 2 及び 24 時間後に血漿中パロバロテン濃度を測定した。血液及び尿を採取し、臨床検査を実施した。投与終了翌日に全ての動物を剖検し、肉眼的及び病理組織学的評価を実施した。

全てのラットが計画屠殺時まで生存した。体重及び摂餌量に被験物質投与に関連した影響は認められなかった。

パロバロテンに関連する所見として、一般状態観察において皮膚の痂皮形成が 1.5 mg/kg/日以上の群に認められた。臨床検査では、血清塩化物濃度の高値が全投薬群の雄及び 1.5 mg/kg/日以上の群の雌に認められた。病理組織学的検査では軽微から中等度の皮膚の顆粒層肥厚及び上皮過形成又は角化亢進が全投薬群に認められた。また、胃の非腺粘膜の上皮過形成及び大腿骨の骨端軟骨の消失（軟骨形成不全）が 1.5 mg/kg/日以上の群に認められた。

最終投与後の $AUC_{0\text{-}24}$（雌雄合算平均値）は 0.5 mg/kg/日群で 287 ng·h/mL、5 mg/kg/日群で 952 ng·h/mL であった。

3.1.2　　4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

1007062 試験、添付資料番号：4.2.3.2.2

Wistar ラット（投与開始時 8 週齢、雌雄各 15 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.04、0.2、1 又は 5 mg/kg/日）を 2 mL/kg の容量で 28 日間経口投与した。投与期間終了時に、各群雌雄各 10 匹を屠殺し、剖検した。残りの動物（雌雄各 5 匹／群）は、4 週間の回復期間終了後に屠殺し、剖検した。一般状態観察を 1 日 1 回、詳細な観察を週 1 回行った。体重及び摂餌量を週 1 回記録した。Week 4 及び 8（回復期間中）に、臨床検査（血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査）を実施した。Week -1（投与開始前）、3 及び 7（回復期間中）に眼科学的検査を実施した。Day 0 及び 26 の投与後に採血し、TK 評価［パロバロテン及び主要代謝物（5 mg/kg 群のみ）］を実施した。全ての動物について剖検及び器官重量測定を行った。さらに、全ての雄で精子形成（運動性、形態並びに精巣及び精巣上体の精子数及び精子形成率）の評価を行った。選択した組織について病理組織学的検査を行った。

5 mg/kg/日群の雄 1 匹でパロバロテン投与による軟骨形成不全に関連した右後肢の骨折に起因する状態悪化がみられたため、Week 4 に早期屠殺した。同群では Week 2 に雄 2 匹が死亡した

が、誤投与又は盲腸の出血が原因であり、パロバロテン投与とは関連しないと考えられた。さらに、Week 3 に雄 1 匹が死亡した。当該動物の直接の死因は不明であった。

パロバロテンに関連する所見として、一般状態観察において自発運動低下、体温低下、後肢障害、後肢及び／又は前肢の伸展を伴う座位、脱毛、皮膚の腫脹又は発赤、体表の黄色物質付着、削痩、皮膚弛緩並びに排便減少及び／又は粘液便が 1 mg/kg/日以上の群で認められた。5 mg/kg/日で死亡又は切迫殺となった動物の一般状態は生存動物と同様であった。これらの所見は回復性を示し、Week 7 以降には認められなかった。

体重増加量の低値又は体重減少を伴う摂餌量の低値が 5 mg/kg/日群の投与期間中に認められたが、これはパロバロテンによる直接的な影響ではなく、一般状態の悪化による二次的な影響と考えられた。

血液学的検査では赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下が 5 mg/kg/日群の雄及び 1 mg/kg/日以上の群の雌で認められた。関連する変化として、脾臓の髄外造血の増加が 1 mg/kg/日以上の群で認められた。

血液生化学的検査では血清アルブミン濃度の低値が 5 mg/kg/日群で認められた。当該所見は滲出性皮膚所見に関連したアルブミンの体外への喪失によるものと考えられた。同群では血清尿素窒素濃度の高値、尿比重の高値及び尿量の低値が認められた。病理組織学的検査において腎臓に影響は認められず、これらは脱水及び血液濃縮に関連する変化である可能性が高い。この他、5 mg/kg/日群において血清総タンパク質濃度、アルブミン／グロブリン比及びクレアチニン濃度の低値が認められた。これらの変化は、いずれも関連する剖検又は病理組織学的検査所見を伴わなかった。

病理組織学的検査では軽微から軽度の皮膚の表皮肥厚、角化亢進、顆粒層肥厚、脂腺萎縮、亜急性炎症及び表皮滲出液が 0.2 mg/kg/日以上の群で認められた。これらの所見は主に 5 mg/kg/日群で認められたが、一部の所見は低及び中用量群でも認められた。また、軟骨形成不全が 1 mg/kg/日以上の群の全てのラットの主に大腿骨遠位部及び脛骨近位部に認められた（1 mg/kg/日では軽微～中等度、5 mg/kg/日では重度で出血を伴う）。当該所見は 1 mg/kg/日以上の群において剖検時にみられた骨の脆弱化及び／又は骨折と関連した。0.2 mg/kg/日でも雌 1 匹に軽微な軟骨形成不全が認められた。胃の非腺粘膜の上皮過形成及び角化亢進及び／又は急性炎症が 1 mg/kg/日以上の群で認められた。上皮過形成は 0.2 mg/kg 群の雄 1 匹でも認められた。

投与期間終了時に精巣上体の細胞残屑が 5 mg/kg/日群で生存した雄 4/7 匹で認められ、各 1 匹で精巣上体の精液過少及び精巣の精細管上皮変性を伴っていた。精巣の所見の重症度は軽微であった。4 週間の回復期間終了後に検査した雄 4 匹では、精巣及び精巣上体に影響は認められなかった。さらに、5 mg/kg/日群では、投与期間終了時に精巣上体絶対重量の低値並びに運動精子数及び形態学的正常精子数の低値が認められた。精子の形態異常としては主に鞭毛を欠損した正常な形態の頭部及び頭部を欠損した正常鞭毛が認められた。また、精巣上体の精子数の低値が認められた。5 mg/kg/日群では重篤な毒性及び死亡がみられたことから、これらの精巣への影響がパロバロテンの直接的な影響であるのか、全身状態悪化の二次的影響であるのかは不明であった。

5 mg/kg/日群では胸腺におけるリンパ球の枯渇及び／又は壊死が認められたが、これはパロバロテンの直接的な影響ではなく、全身状態悪化に関連した変化と考えられた。

軟骨形成不全を除き、4 週間の回復期間終了時にはパロバロテンに関連する所見は認められなかった。

0.2 mg/kg/日群で認められた所見（皮膚及び非腺胃の病理組織学的所見並びに雌 1 匹でみられた軽微な軟骨形成不全）は限定的であったことから、4 週間反復投与の NOAEL は 0.2 mg/kg/日と判断した。NOAEL における Day 26 のパロバロテンの C_{max} 及び AUC_{0-24}（雌雄合算平均値）はそれぞれ 19 ng/mL 及び 95 ng·h/mL であった。

3.1.3 26 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

1009627 試験、添付資料番号：4.2.3.2.3

Wistar ラット（投与開始時約 56 日齢、雌雄各 30 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.005、0.015、0.05 又は 0.15 mg/kg/日）を 2.5 mL/kg の容量で 26 週間経口投与した。投与期間終了時に各群雌雄各 20 匹を屠殺し、剖検した。残りの動物（雌雄各 7～10 匹／群）は 8 週間の回復期間終了後に屠殺し、剖検した。動物の死亡及び瀕死状態を観察した。一般状態観察は 1 日 1 回、詳細な観察は週 1 回実施した。体重及び摂餌量を週 1 回記録した。臨床検査（血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査）を Week 12 及び計画屠殺時に実施した。Day 0、27、84 及び 175 に採血し、TK 評価（パロバロテン）を行った。Week -1、12、25 及び 33 に眼科学的検査を実施した。計画屠殺時に全ての動物について剖検を実施し、器官重量を測定した。対照群及び高用量群の動物から採取した組織について病理組織学的検査を実施した。

0.005 mg/kg/日群の雌 2 匹（Day 100 及び Day 103）、0.015 mg/kg/日群の雄 2 匹（Day 89 及び Day 67）、及び 0.15 mg/kg/日群の雄及び雌各 1 匹（Day 177 及び Day 170）が死亡した。また、溶媒対照群の雌 1 匹（Day 174）、0.005 mg/kg/日群の雌 1 匹（Day 7）及び 0.05 mg/kg 日群の雄 1 匹（Day 90）は、全身状態の悪化のため早期屠殺した。これらの動物には被験物質による所見が認められず、死亡又は早期屠殺は用量及び投与期間との相関がみられなかったことから、投与との関連はないと判断した。

いずれの用量においても、パロバロテンに関連する所見は認められなかった。したがって、NOAEL は 0.15 mg/kg/日と考えられた。NOAEL における Day 175 の C_{max} 及び AUC_{0-24}（雌雄合算平均値）はそれぞれ 12 ng/mL 及び 91 ng·h/mL であった。

3.1.4 投与 13 週の中間評価を含む 26 週間反復投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

1013603 試験、添付資料番号：4.2.3.2.4

先の 26 週間投与試験（3.1.3 項）ではパロバロテン投与に関連する所見が認められなかったため、より高用量を投与する追加試験を実施した。Wistar ラット（投与開始時約 7 週齢、雌雄各 28 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.3、0.6 又は 1.0 mg/kg/日）を 2 mL/kg の容量で 13 週間又は 26 週間経口投与した。13 週間投与後、雌雄各 8 匹／群を屠殺し、剖検した。26 週間の投与期間終了時に、雌雄各 12 匹／群を屠殺し、剖検した。残りのラット（雌雄各 8 匹／群）は 8 週間の休薬後、屠殺し、剖検した。一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、臨床検査、剖検、器官重量測定、病理組織学

的検査を実施した。さらに、雌雄各 12 匹／群のラットにパロバロテンを同様に投与して採血し、TK 評価（パロバロテン及び主要代謝物）を行った。

1.0 mg/kg/日群の雌雄各 1 匹はパロバロテン投与に関連した皮膚所見による状態悪化を認めたため、Week 9（Day 58）及び Week 22（Day 148）に早期屠殺した。溶媒対照群の雄 1 匹（Day 92）、0.3 mg/kg/日群の雌 1 匹（Day 24）、並びに 0.6 mg/kg/日群の雌雄各 1 匹（Day 92 及び 23）が臨床検査のための採血後に死亡した。これらの動物では死亡日に被験物質に関連した一般状態所見は認められず、被験物質投与とは関連しない死亡と判断した。1.0 mg/kg/日群の雄 1 匹で前肢の傷害が認められたため、Day 94 に屠殺した。剖検及び病理組織学的検査では腕橈関節に出血及び亜急性／慢性炎症が認められたが、これらの所見は当該動物のみに認められ、被験物質に関連した変化ではないと考えられた。

血液学的検査値、血液生化学的検査値、尿検査値、器官重量及び眼科学的検査値において、投与に関連した毒性影響は認められなかった。

パロバロテンに関連する所見として、一般状態観察において被毛の赤色、被毛粗剛、発赤及び潰瘍／痂皮形成などの皮膚及び被毛所見が、全投薬群の雄及び 0.6 mg/kg/日以上の群の雌において認められた。これらの所見の発現例数及び頻度は、概して最初の 13 週間（中間評価まで）で高く、投与期間の延長とともに減少し、回復期間中に回復した。

体重増加量の低値が 0.6 mg/kg/日以上の群の雌雄で認められたが、回復期間中に回復した。投与期間終了時、1.0mg/kg/日群の雄及び 0.6mg/kg/日以上の群の雌で体重の低値が観察された。体重の低値は、回復期間終了後も 1.0mg/kg/日群で認められ、完全には回復しなかった。摂餌量の低値が 1.0 mg/kg/日群の雄で投与開始後 13 週間に認められたが、残りの投与期間及び回復期間中に回復した。

中間及び投与期間終了時の病理組織学的検査において皮膚、骨及び非腺胃に所見が認められた。皮膚所見として顆粒層肥厚（13 週間投与後：0.6 mg/kg/日以上の群、26 週間投与後：全投薬群）、表皮過形成（表皮肥厚）（13 週間投与後：1.0 mg/kg/日群、26 週間投与後：全投薬群の雄及び 0.6 mg/kg/日以上の群の雌）、慢性活動性炎症（13 週間投与後：1.0 mg/kg/日群、26 週間投与後：1.0 mg/kg/日群の雄及び全投薬群の雌）及び潰瘍（26 週間投与後：1.0 mg/kg/日群の雄及び 0.6 mg/kg/日以上の群の雌）が認められたが、いずれも回復性を示した。後膝関節又は胸骨において軽微～やや重度の成長板軟骨形成不全が 13 週間投与後の全投薬群の雌及び 0.6 mg/kg/日以上の群の雄並びに 26 週間投与後の全投薬群の雌雄で認められた。当該所見は回復期間終了後にも全投薬群の雄及び 1.0 mg/kg/日群の雌で認められ、完全には回復しなかったが、発生頻度及び重症度は低下し、部分的な回復が示された。非腺胃上皮の変性／異常角化の発生頻度及び重症度が 1.0 mg/kg/日群で高かったが、回復期間中に回復した。非腺胃角質層の急性炎症の発生頻度が 13 週間投与後の 0.6 mg/kg/日以上の群及び 26 週間投与後の全投薬群で高かった。当該所見は、回復期間終了時にも 1.0 mg/kg/日群の雌で認められた。

以上より、ラットにパロバロテンを 0.3、0.6、1.0 mg/kg/日の用量で 26 週間経口投与した結果、皮膚、非腺胃上皮、後膝関節の成長板などの標的組織にいくつかの病理組織学的所見が認められた。1.0 mg/kg/日の投与では、早期屠殺の要因となった重度の皮膚所見、体重減少及び摂餌

量減少が認められ忍容性は示されなかった。しかしながら、皮膚所見の発現率及び頻度は投与期間の経過とともに低下し、0.3 及び 0.6 mg/kg/日群の皮膚所見は他の毒性影響を伴わなかった。

被験物質に関連した病理組織学的所見として全投薬群で後膝関節の成長板における軟骨形成不全が認められたため、本試験の NOAEL は 0.3 mg/kg/日未満であった。0.6 mg/kg/日で認められた所見には回復性が示されたことから、HNSTD は 0.6 mg/kg/日と考えられた。

最低用量（0.3 mg/kg/日）における Day 177 のパロバロテンの C_{max} 及び AUC_{0-24}（雌雄合算平均値）は、それぞれ 23 ng/mL 及び 168 ng·h/mL であった。HNSTD における Day 177 のパロバロテンの C_{max} 及び AUC_{0-24}（雌雄合算平均値）は、それぞれ 47 ng/mL 及び 344 ng·h/mL であった。AUC 比に基づくと、4 つの主要代謝物（M2、M3、M4a 及び M4b）それぞれの曝露量は、概してパロバロテンの曝露量の 13%未満であった。

3.2 幼若ラット

3.2.1 幼若ラット（1、2 及び 3 週齢）を用いた 3 週間反復投与用量設定試験

9000317 試験、添付資料番号：4.2.3.5.4.1

本用量設定試験では、パロバロテンの潜在的な毒性を評価するため、投与開始時 1、2 又は 3 週齢の幼若ラットに最大 21 日間連日強制経口投与した。

試験デザイン及び方法：

本試験は第 I 相及び第 II 相試験の 2 段階で実施された。第 I 相試験では、1 週齢の Wistar ラット（雌雄各 12 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.3、1 又は 3 mg/kg/日）を経口投与した。当初は 3 週間の投与期間を予定していたが、毒性症状及び死亡が認められたため、3 mg/kg/日では 2 日間、1 mg/kg/日では最大 3 日間、0.3 mg/kg/日では最大 11 日間のみ投与した。第 I 相試験の試験デザインを表 2.6.6-2 に示す。

表 2.6.6-2 1 週齢の幼若ラットを用いた 3 週間投与試験（第 I 相）のデザイン

Group No.	Test Item	Dose Level (mg/kg/day)	Dose Volume (mL/kg)	Dose Concentration (mg/mL)	No. of Animals	
					Males	Females
1	Vehicle control[1]	0.0	2.5	0.0	12	12
2	Palovarotene[2]	0.3	2.5	0.12	12	12
3	Palovarotene[3]	1	2.5	0.40	12	12
4	Palovarotene[4]	3	2.5	1.20	12	12

Source: Report 9000317, Text Table 1
[1] Vehicle control: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT.
[2] Dosing terminated on Day 8 pp.
[3] Dosing terminated on Day 9 pp.
[4] Dosing terminated on Days 16/17 pp.
BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; No.=number; pp=postpartum.

第 II 相試験では、1、2 又は 3 週齢の幼若ラットに溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテンを以下のように 3 週間連日経口投与した：

- 1 週齢のラットに溶媒又はパロバロテン 0.03 mg/kg/日を投与、若しくはパロバロテン 0.03、0.1 及び 0.3 mg/kg/日を 1 週間ごとに増量して投与した。
- 2 週齢のラットに溶媒又はパロバロテン 0.1、0.3 及び 0.5 mg/kg/日を 1 週間ごとに増量して投与した。
- 3 週齢のラットに溶媒並びにパロバロテン 0.1、0.5 又は 2.5 mg/kg/日を投与した。

第 II 相試験の試験デザインを表 2.6.6-3 に示す。

表 2.6.6-3　　1、2 及び 3 週齢の幼若ラットを用いた 3 週間投与試験（第 II 相）のデザイン

Group No.[2]	Test Item	Dose Level (mg/kg/day) Days (pp)					Dose Concentration (mg/mL) Days (pp)[1]					Target No. of Litters and Pups (M/F)
		7-13	14-20	21-27	28-34	35-41	7-13	14-20	21-27	28-34	35-41	
5	Vehicle control[3]	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0	0	0	0	0	6 (24/24)
6	Palovarotene	0.03	0.03	0.03	-	-	0.012	0.012	0.012	-	-	2 (8/8)
7	Palovarotene	0.03	0.10	0.30	-	-	0.012	0.04	0.12	-	-	2 (8/8)
8	Palovarotene	-	0.10	0.30	0.50	-	-	0.04	0.12	0.20	-	2 (8/8)
9	Palovarotene	-	-	0.10	0.10	0.10	-	-	0.04	0.04	0.04	2 (8/8)
10	Palovarotene	-	-	0.50	0.50	0.50	-	-	0.20	0.20	0.20	2 (8/8)
11	Palovarotene	-	-	2.50	2.50	2.50	-	-	1.00	1.00	1.00	2 (8/8)

Source: Report 9000317, Text Table 1
[1] Dose volume of 2.5 mL/kg for all groups.
[2] Rats were 1 week old (Groups 5-7), 2 weeks old (Group 8), or 3 weeks old (Groups 9-11) at first dose.
[3] Vehicle control: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT
BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; F=female; M=male; No.=number; pp=postpartum.

本試験では、一般状態、体重、体重増加量、摂餌量、頭殿長、臨床検査値（血液学的検査値、血液生化学的検査値及び尿検査値）、肉眼的剖検所見、器官重量及び骨のサイズ（大腿骨及び脛骨の長さ及び幅）を評価した。さらに、第 II 相試験に割り当てたラットについては X 線による骨格検査及び血漿中パロバロテン濃度測定（最終投与 2 時間後）を実施した。第 I 相試験で溶媒又はパロバロテン 0.3 mg/kg/日を 11 日間投与した 1 週齢のラットでは選択した標的組織について病理組織学的検査を実施した。

結果：

<u>血漿中パロバロテン濃度</u>

第 II 相試験において、被験物質投与群の全動物の血漿中にパロバロテンの曝露が確認された。

<u>投与開始時 1 週齢のラット</u>

1 週齢のラットでは、パロバロテン 0.03 mg/kg/日を 21 日間経口投与しても、投与に関連した毒性影響は認められなかった。0.03、0.1 及び 0.3 mg/kg/日の 1 週間ごとの漸増投与では大腿骨及び脛骨／腓骨へのわずかな影響が認められたが、反復経口投与に忍容性を示した。当該試験群で

は骨の長さ及び幅の減少、形状の異常、大腿骨遠位及び脛骨近位骨端の骨量減少並びに血清アルカリホスファターゼ（ALP）活性の低値が認められた。

0.3 mg/kg/日以上の反復経口投与では忍容性がみられず、1 及び 3 mg/kg/日群ではそれぞれ 7 及び 15 匹が死亡又は切迫殺となったため、それぞれ 3 回目及び 2 回目投与後に投薬を中止した。0.3 mg/kg/日群では顕著な成長抑制及び全ての動物における両側性の骨形態異常を示す有害な一般状態所見が観察されたため、投与開始 11 日後に投薬を中止した。

0.3 mg/kg/日以上の群ではパロバロテンに関連する骨格への影響が認められ、一般状態観察、X 線検査、剖検及び／又は病理組織学的検査において、骨のサイズ及び形状の異常、骨端成長板の菲薄化／閉鎖、頭蓋冠の縫合線周囲における線維性骨の増加並びに胸骨分節の骨折などの広範な変化がみられた。また、関連する変化として、ALP 活性の低値、成長抑制（体重又は頭殿長の低値）並びに大腿骨及び脛骨の長さ及び幅の減少が認められた。

また、一般状態観察において皮膚の乾燥、被毛の菲薄化、掻把などの皮膚所見が認められた。数匹のラットにおいて頻呼吸、浅呼吸及び／又は努力性呼吸が認められ、胸腔の骨格への影響に関連した二次的な影響の可能性が考えられた。

血液生化学的検査では血清クレアチンキナーゼ活性及び尿素窒素濃度の高値が認められた。

さらに、1 mg/kg/日以上の群では、食道の暗色病巣又は領域が認められ、投与液の局所刺激性に関連する変化と考えられた。

投与開始時 2 週齢のラット

2 週齢のラットへの 0.1、0.3 及び 0.5 mg/kg/日の 1 週間ごとの漸増投与では反復経口投与に忍容性を示した。一般状態観察における異常は認められなかったが、X 線検査で少数の骨における変化として骨格への影響が認められた。すなわち、大腿骨、脛骨、橈骨、尺骨及び踵骨における骨の形状の異常、骨量減少、骨端成長板の菲薄化及び骨形成抑制が認められた。これらの骨格への影響に関連して、血清 ALP 活性の低値並びに成長抑制（体重増加量、体重及び頭殿長の低値）が認められた。さらに、全ての用量における血清クレアチニンキナーゼ活性の高値及び摂餌量の低値が認められた。

投与開始時 3 週齢のラット

3 週齢のラットへの 0.1 mg/kg/日の 21 日間反復経口投与では、被毛の菲薄化及び皮膚の痂皮形成の所見のみが認められ、忍容性が示された。

0.5 mg/kg/日群でも、被毛の菲薄化及び皮膚の痂皮形成並びに一般状態観察、X 線検査及び剖検における骨の形状異常及び骨端成長板の菲薄化を含む骨格への影響が認められたものの、忍容性が認められた。骨格所見の程度は軽微から中等度であり、大腿骨、脛骨、橈骨及び踵骨にのみ認められた。

2.5 mg/kg/日群では雌 1 匹が全身状態の悪化に基づき出生後 38 日に早期屠殺となった。一般状態観察では、生存ラットも含めて浅呼吸、自発運動低下、横臥、運動失調、努力性呼吸、衰弱、正向反射消失又は円背位が認められた。皮膚／被毛所見として被毛の菲薄化及び皮膚の痂皮形成に加えて立毛、被毛の汚れ、皮膚の発赤及び掻把が認められた。一般状態観察、X 線検査及び剖

検では 1 週齢のラットへの 0.3 mg/kg 以上の投与で認められたものと同様の広範な骨格への影響が認められた。関連する変化として、血清 ALP 活性の低値及び成長抑制（体重増加量、体重及び頭殿長の低値）が認められた。さらに、ほとんどのラットで摂餌量の低値、皮膚の乾燥、血清塩化物及び尿素窒素濃度の高値並びに頻呼吸がみられた。雌では腹部膨満が認められた。

結論：

パロバロテンの毒性影響は、1 週齢ラットでより重度であったものの、投与開始時の幼若ラットの週齢にかかわらず類似しており、骨格と皮膚に認められた。成熟ラットでも主に骨格及び皮膚に影響が認められており、幼若ラットで認められた有害作用は、成熟ラットにおけるパロバロテンの毒性プロファイルに極めてよく類似していた。骨格に対する影響は、RARγ アゴニストによる軟骨形成及び破骨細胞形成に対する影響と一致しており（Balkan 2011、2.6.2.2.2.1.1 項）、X 線検査所見、骨のサイズの変化及び ALP 活性の低値として検出された。総 ALP 活性は、他のアイソフォーム（肝臓型、消化管型など）に影響がない場合は骨形成のサロゲートマーカーとして利用可能である。

用量制限毒性として認められた骨格への影響が認められる用量は若齢ラットの方が低く、1 週齢では 0.03～0.3mg/kg/日で影響が認められたが、3 週齢では 0.5～2.5mg/kg/日で影響が認められた。

1 mg/kg/日以上の高用量を投与した 1 週齢のラットでは、食道に暗色巣が認められた。レチノイドは食道刺激性を有することが知られている（Yin 2013）。したがって、食道の暗色巣は、投与液そのものの局所刺激性による影響を示している可能性があり、溶媒及び／又は強制経口投与手技による影響とともに幼若動物への投与における機械的損傷の可能性を増大させた可能性がある。

本試験の結果から、以下の結論が得られた：

- 1 週齢のラットでは、0.3 mg/kg/日における死亡及び主に骨格に対する毒性に基づき、3 週間反復投与の NOAEL は 0.03 mg/kg/日と考えられた。
- 2 週齢のラットに 0.1、0.3 及び 0.5 mg/kg/日を 1 週間ごとに増量して投与したところ、全ての用量で少数の骨に限定した軽微～中等度の骨格への影響が認められた。NOAEL は得られなかった。
- 3 週齢のラットでは、0.5 mg/kg/日以上の投与で骨格への影響が認められたことから、3 週間反復投与の NOAEL は 0.1 mg/kg/日と考えられた。0.5 mg/kg/日では、少数の骨に限定した軽微～中等度の骨格への影響が認められた。2.5 mg/kg/日では、骨格への影響は重度で広範囲に認められた。
- 骨格への影響は、一般状態観察、成長評価（体重及び頭殿長）、骨のサイズ、血清 ALP 活性値及び X 線検査によって容易に評価可能であった。
- 全ての用量で皮膚への影響が認められたが、これらは比較的軽度であった。

ラットの骨格系の発達過程おける事象の相対時期に関する公表文献によると、上腕及び大腿骨の骨化中心は 1～3 週齢の間には融合しない（Zoetis 2003）。したがって、本用量設定試験におい

て 3 週齢ラットで骨の成長及び発達に対する影響が認められたことからも、ラットにおける 3 週齢での投与開始は、骨格の発達に対する影響を評価するのに適切であると考えられる。

3.2.2 幼若ラット（3 週齢）を用いた 6 週間反復投与毒性試験及び 6 週間回復性試験

6700132 試験、添付資料番号 4.2.3.5.4.2

試験デザイン及び方法：

各群 44 匹の Wistar ラット（投与開始時 21 日齢、雌雄各 22 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.1、0.5 又は 1.2 mg/kg/日）を 2.5 mL/kg の容量で 6 週間経口投与した。投与期間終了後、雌雄各 11 匹／群を屠殺し、剖検した（主試験群）。残りのラットは、更に 6 週間休薬して観察した後、屠殺して剖検した（回復群）。さらに、TK 群を別途設定して同様に投与した。試験デザインを表 2.6.6-4 に示す。本試験では、一般状態、成長（体重及び頭殿長）、摂餌量、性成熟、臨床検査値（血液学的検査値、血液生化学的検査値、尿検査値）、血清及び尿における骨代謝マーカー（I 型プロコラーゲン N 末端プロペプチド、オステオカルシン、I 型コラーゲン C 末端テロペプチド、尿中遊離デオキシピリジノリン）の測定値、TK 評価（血漿中パロバロテン濃度）、X 線検査結果、肉眼的剖検所見、器官重量、病理組織学的検査所見、組織形態計測値（脛骨近位骨端成長板厚）、骨のサイズ（大腿骨及び脛骨の長さ及び幅）並びに二重エネルギーX 線吸収測定法（DXA）及び末梢定量的コンピュータ断層撮影法（pQCT）による *ex vivo* 骨密度測定値（大腿骨及び腰椎）を評価した。

表 2.6.6-4 3 週齢の幼若ラットを用いた 6 週間反復投与毒性試験のデザイン

Group No.	Test Material	Dose Level	No. of Animals					
			Main Study[1]		Recovery[2]		Toxicokinetic[3]	
			Male	Female	Male	Female	Male	Female
1	Vehicle control[4]	0 mg/kg/day	11	11	11	11	9	9
2	Palovarotene	0.1 mg/kg/day	11	11	11	11	24	24
3	Palovarotene	0.5 mg/kg/day	11	11	11	11	24	24
4	Palovarotene	1.2 mg/kg/day	11	11	11	11	24	24

Source: Report 6700132, Text Table 1
1 Main Study animals were necropsied 24 hours after the last dose on Day 62 pp.
2 Recovery animals were necropsied 6 weeks after the last dose received (i.e., on Day 105 pp).
3 One set of animals (6/sex for control group and 18/sex for palovarotene groups) was used for terminal blood sampling on Day 21 pp; the remaining animals were used for serial sampling on Day 62 pp.
4 Vehicle control: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT 0.01%.
BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; No.=number; pp=postpartum.

結果：

一般状態所見及び性成熟にパロバロテン投与の影響はみられなかった。血液学的検査及び血液生化学的検査において投与に関連した毒性影響は認められなかった。

パロバロテンに関連した毒性影響は、0.5 及び 1.2 mg/kg/日群における X 線検査及び病理検査（剖検、病理組織学的検査及び組織形態計測）における骨格への影響のみであった。これらの所見は用量依存性的に認められ、1.2 mg/kg/日群よりも 0.5 mg/kg/日群での影響は限定的で、概して発生率、発現部位数及び重症度が低かった。

X 線検査及び／又は剖検では 0.5 及び 1.2 mg/kg/日群で骨形状の異常、骨量減少、骨間空間の増加並びに骨端成長板の菲薄化が認められた。1.2 mg/kg/日では、骨の小型化、骨端成長板の肥厚、皮質骨の菲薄化及び／又は骨折も認められた。X 線検査において、1.2 mg/kg/日では、肩甲骨、上腕骨、橈骨、尺骨、大腿骨、脛骨、踵骨、中足骨及び中手骨、指骨、胸骨及び椎骨の形状異常、びまん性の骨量減少、肋骨の形状異常を伴う肋骨の骨端又は骨幹端成長板並びに肋軟骨接合部に限局した骨形成／肥大、骨端成長板の菲薄化又は肥厚及び椎間又は胸骨間空間の増加を伴う椎骨及び胸骨の肥大が認められた。雌 2 匹では、腓骨の近位部／骨幹部の骨折治癒も認められた。0.5 mg/kg/日群では、椎骨と踵骨のみに比較的軽度の X 線検査所見が認められた。0.5 mg/kg/日ではこれらの肉眼的／X 線検査所見の一部は回復期間終了時に回復又は回復傾向を示したが、その他の所見は回復しなかった。

組織形態計測では 0.5 mg/kg/日の雌雄及び 1.2 mg/kg/日の雄で脛骨近位骨端成長板の肥厚が認められ、これは 0.5mg/kg/日では骨端軟骨肥大、1.2 mg/kg/日では骨端軟骨肥大及び軟骨形成不全の両方に関連していた。回復期間中、骨端成長板肥厚は両用量群の雄で良好な回復性を示し、0.5 mg/kg/日の雌では完全に回復した。1.2 mg/kg/日群では脛骨近位骨端成長板の菲薄化がほとんどの雌で認められ、部分的又は完全な閉鎖を示唆していた。骨端成長板の菲薄化は回復期間中に部分的に回復した。

病理組織学的検査では軟骨への影響が認められた。具体的には、多くの骨における骨端軟骨の量又は形態、いくつかの関節（主に胸骨分節及び肋骨）における関節軟骨の量又は形態、及び椎骨端における硝子軟骨の軟骨内骨化の程度への影響がみられた。骨端軟骨及び椎骨硝子軟骨への影響に起因して、複数の骨で骨量の減少が認められた。骨端成長板の閉鎖及び椎体硝子軟骨への影響による椎体骨端骨の減少は回復群でも認められた。一方、関節軟骨への影響並びに長骨及び椎体骨の骨量減少は 0.5 mg/kg/日で回復又は回復傾向が認められた。回復期間終了時には、少数の動物の脛骨及び大腿骨に線維性骨の増加が認められた。骨端軟骨及び硝子軟骨への影響はパロバロテンの薬理活性に関連した変化と考えられた。また、大腿骨頭頸部接合部の骨端成長板外側部ではしばしば菲薄化／閉鎖（ときに大腿骨頭の変形を伴う）が、0.5 mg/kg/日で認められた。1.2 mg/kg/日では、当該骨端成長板は概して完全に閉鎖しており、虚血性骨壊死を伴う大腿骨頭の骨壊死が、ときに骨梁の微小骨折、並びに大腿骨頭及び／又は頸部の重度の形状異常とともに認められた。これらの所見は、しばしば関節軟骨の肥大、異形成及び／又は変性、並びに寛骨大腿関節の変性関節症を伴っていた。大腿骨近位部及び寛骨大腿関節の所見は、当該骨端成長板への影響に起因して大腿骨頭への血液供給が阻害された可能性を示唆しており、この領域に特有の解剖学的な血管形態との関連性が高いと考えられた（Trueta 1957）。

投与期間中のその他のパロバロテンに関連した変化として、0.5 mg/kg/日以上の群で体重増加量の減少による体重低値及び頭殿長の増加量減少による頭殿長の低値（1.2 mg/kg/日群のみ）、摂餌量の減少（1.2 mg/kg/日群のみ）、ALP を含む骨代謝マーカーの低値、骨のサイズ（長さと幅）

の減少、大腿骨及び腰椎の骨量及び／又は密度の減少が認められ、成長抑制を示していた。また、尿検査において 0.5 mg/kg/日以上の群で尿量の減少及び尿比重の上昇が認められ、摂餌量の減少に伴う変化と考えられた。1.2 mg/kg/日群では尿 pH の低値も認められた。骨量及び密度の変化は、骨格の成長・発達への影響に関連した変化と考えられ、大腿骨では DXA 検査で骨塩密度（BMD）の低値が認められたが、pQCT 検査ではみられなかったことから、パロバロテン投与による直接的な影響ではないと考えられた。面積 BMD の評価では DXA 検査における BMD は骨のサイズに影響されることが報告されている（Bolotin 2007）。回復期間終了時においても、投与期間終了時に認められた摂餌量、BMD（0.5 mg/kg/日のみ部分回復）及び骨サイズに対する影響は依然として認められた。

0.1 mg/kg/日群では、パロバロテンに関連する所見として投与期間終了時に雄 1 匹の尺骨の骨端軟骨肥大を伴う軽微な骨量減少及び別の雄 1 匹の軽度の胸骨間軟骨形成不全が認められたのみであった。また、雄で骨代謝マーカーの減少が認められた。回復期間終了時には数匹に上腕骨及び腰椎の軽微から軽度の軟骨形成不全並びに橈骨の骨端軟骨肥大が認められた。これらの変化は重症度が低かったため、毒性影響とは判断しなかった。

さらに、1.2 mg/kg/日群では臨床検査において赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低値が雌雄で認められ、雌雄で網赤血球数の高値を、雄で赤血球分布幅の高値を、雌で赤血球容積の高値を伴っていた。また、血小板数の低値が雌雄で、リンパ球数の低値が雌で認められた。雌では血液生化学的検査において筋由来と考えられるアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの高値が認められた他、摂餌量減少に関連した尿素窒素及び塩化物濃度の高値並びにグルコース及びコレステロールの低値が認められた。回復期間終了時、これらの変化は回復性を示したが、雌では赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値、赤血球容積の低値並びにアラニンアミノトランスフェラーゼの高値を伴うアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼの高値が認められた。雄ではトリグリセライドの低値が認められ、摂餌量減少に関連する変化と考えられた。以上の臨床検査値の変動はいずれも小さく、毒性とは判断しなかった。

結論：

幼若ラットにパロバロテン 0.1、0.5 又は 1.2 mg/kg/日を 6 週間（3 週齢から 9 週齢まで）連日経口投与した結果、いずれの用量においても忍容性が認められた。

0.1 mg/kg/日で認められた所見は、投与期間終了時の骨代謝マーカーの変動及び主試験及び回復群における限定的な骨格の病理組織学的所見のみであり、毒性影響とは判断しなかった。

0.5 mg/kg/日以上の群では、骨格に対する毒性影響及び関連する成長パラメータの変化が認められた。これらの影響は複数の骨（上腕骨、橈骨、尺骨、大腿骨、脛骨、後肢骨、椎骨、胸骨）に認められ、発生率、重症度、発現部位数に用量相関性が認められた。骨格への影響は、パロバロテンの薬理作用から予想されるように、主として骨端成長板及び硝子軟骨に認められ、骨及び関節軟骨に対する二次的影響を伴っていた。

投与期間終了時に認められた影響の多くは回復期間終了時にも認められたが、0.5 mg/kg/日群の大腿骨骨幹及び腰椎の骨量及び／又は密度、並びに 0.5 及び 1.2 mg/kg/日群の骨代謝マーカー、体重増加量、頭殿長増加量及び尿検査値には部分的な回復が認められた。回復が部分的であ

った原因は回復期間開始時の動物の週齢（9 週齢）においては骨格の成長が概ね完了していたためであると考えられた。

以上の結果から、NOAEL は 0.1 mg/kg/日と判断した。骨格への影響は 1.2 mg/kg/日群よりも 0.5 mg/kg/日群で限定的で、概して発生率、発現部位数及び重症度が低く回復性が認められたことから、0.5 mg/kg/日が HNSTD と考えられ、1.2 mg/kg/日は HNSTD を超えていたと考えられた。NOAEL での C_{max} 及び投与 0 時間から定量可能な時点までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-last}}$、雌雄合算平均値）は初回投与後に 21.5 ng/mL 及び 124.5 ng·h/mL、最終投与後（定常状態）に 12.4 ng/mL 及び 72.5 ng·h/mL であった。HNSTD での C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$（雌雄合算平均値）は初回投与後に 105.8 ng/mL 及び 856 ng·h/mL、最終投与後（定常状態）に 73.5 ng/mL 及び 365 ng·h/mL であった。

3.3 ウサギ

3.3.1 雌ウサギを用いた 4 週間反復投与用量設定試験

1018190 試験、添付資料番号：4.2.3.2.5

ニュージーランド白色（NZW）雌ウサギ（投与開始時 9 ヵ月齢、5 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（1、2.5 又は 5 mg/kg/日）を 2.5 mL/kg の容量で連日経口投与した。5 mg/kg/日群では全身状態の悪化が認められたため、当該群の動物は 11 又は 12 日間投与後に早期屠殺したが、その他の動物には 29 日間投与した。投与期間中に、一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を実施した。試験終了時に剖検並びに骨（膝関節）、食道及び胃の病理組織学的検査を実施した。Day 1 及び 29 又は 11（5 mg/kg/日群）に採血し、TK 評価（パロバロテン及び主要代謝物）を実施した。

パロバロテンに関連する所見として、摂餌量の減少、糞便の減少及び／又は無便、脱毛、尿の変色及び／又は無尿、表皮剥離並びに体重減少が 2.5 mg/kg/日以上の群で認められた。さらに、5 mg/kg/日群では流涙、眼瞼及び／又は鼻口部の痂皮形成、粗毛、紅斑、嗜眠並びに食欲不振が認められ、全身状態の悪化がみられた。

病理組織学的検査において食道の表層上皮層におけるケラトヒアリン顆粒及び扁平上皮外層の拡張を特徴とする食道粘膜の分化異常が 1 mg/kg/日群の 1 匹及び 2.5 mg/kg/日以上の群の全てのウサギ（2.5 mg/kg/日群の 1 匹を除く）で認められた。この所見は、食道粘膜の機能構造や動物の健康状態に影響を及ぼすものではなく、毒性学的意義のある変化とは判断しなかった。胃への影響は認められなかった。膝関節では、成長板は認められず、閉鎖していた。脛骨近位部又は大腿骨遠位部の骨に被験物質投与の影響は認められなかった。

これらの結果から、4 週間投与の NOAEL は 1 mg/kg/日と考えられた。NOAEL における Day 29 のパロバロテンの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ はそれぞれ 41 ng/mL 及び 375 ng·h/mL であった。AUC に基づくと、M2 及び M4a の曝露量は概してパロバロテンの曝露量よりも低かったが、M3 及び M4b の曝露量はパロバロテンより高かった。

3.3.2　4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

1020320 試験、添付資料番号：4.2.3.2.6

NZW ウサギ（投与開始時約 9 ヵ月齢、雌雄各 7 匹／群）に溶媒（0.01% BHA を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.5、1 又は 2.5 mg/kg/日）を 1.25 mL/kg の容量で 29 日間経口投与した。投与期間終了後、雌雄各 5 匹／群を屠殺し、剖検した。残りのウサギ（雌雄各 2 匹／群）は 4 週間の休薬後に屠殺し、剖検した。一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を実施した。投与期間終了時及び回復期間終了時には、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。Day 1 及び 29 に採血（2.5 mg/kg/日群の雄については、Day 12 に早期屠殺したため Day 1 及び 12）し、TK 評価（パロバロテン及び主要代謝物）を実施した。

2.5 mg/kg/日群では体重減少、摂餌量の減少及び／又は全身状態の悪化がみられため、Day 12 に全ての雄を、Day 17 に雌 1 匹を早期屠殺した。これらのウサギでは体温低下、自発運動低下、脱毛の頻度及び期間の増加、粗毛並びに眼瞼、口唇及び／又は後肢の痂皮形成が認められた。後肢の病変に対応する病理組織学的所見として足皮膚炎が認められた。

また、0.5 mg/kg 群の雌 1 匹が誤投与により Day 8 に死亡した。同群の雄 1 匹は下痢が認められ、瀕死状態となったため Day 28 に切迫屠殺した。高用量群の動物に下痢は認められず、被験物質投与とは関連しないと判断した。1.0 mg/kg 群の雄 1 匹では足底部の創傷が認められ、回復性がみられなかったことから Day 51 に切迫屠殺した。足底部の創傷は床面金網ケージでの飼育時に通常みられる所見であり、この動物では被験物質に関連した皮膚又は食道所見がみられなかったことから、被験物質に関連した変化ではないと判断した。

血液生化学的検査値、尿検査値又は器官重量に対する被験物質に関連した毒性影響は認められなかった。軟骨形成不全は認められなかった。

2.5 mg/kg 群の雌の生存動物では全身、後肢又は鼻口部の脱毛、並びに眼瞼、後肢及び口唇の痂皮形成が認められ、パロバロテンに関連する所見と考えられた。糞便の減少又は無便、無尿、全身の表皮剥離及び脱毛が 1.0 mg/kg/日以上の群で認められた。これらはパロバロテンの投与に起因するものと考えられたが、投与期間を通じて散発的に認められたこと、体重及び摂餌量には影響が認められなかったこと及び生存動物の病理組織学的検査では毒性所見がみられなかったことから毒性とは判断しなかった。

病理組織学的検査では皮膚所見（足皮膚炎、鼻部／顎部炎症、上皮過形成、角化亢進、炎症細胞浸潤、顆粒層肥厚、漿液細胞痂皮、膿胞、びらん及び／又は潰瘍）が 2.5 mg/kg/日群の雌雄で認められた。2.5 mg/kg 群の雄では毛包の萎縮、皮膚の皮下浮腫及び皮脂腺の肥大が認められた。また、食道の顆粒層の肥厚（全ての投薬群の雌雄）及び伸展（1 mg/kg/日以上の群の雌及び 2.5 mg/kg/日の雄）を特徴とする食道粘膜の分化異常が認められた。この所見は食道粘膜の機能構造や動物の健康状態に影響を及ぼすものではなく、毒性学的意義のある変化とは判断しなかった。2.5 mg/kg/日群では軽微な骨髄過形成、軽微の脾臓の偽好酸球増生及び軽微～重度の胸腺の皮質リンパ球の減少が雄及び／又は雌で認められ、皮膚の炎症に関連した変化と考えられた。関

連する所見として、雌で投与期間終了時の血液学的検査における好中球及び白血球数の軽微な上昇が認められた。

認められた所見はいずれも投与終了後 4 週間以内に回復した。

これらの結果から、4 週間投与の NOAEL は 1 mg/kg/日と考えられた。NOAEL における Day 29 のパロバロテンの C_{max} 及び AUC_{0-24}（雌雄合算平均値）はそれぞれ 44 ng/mL 及び 518 ng·h/mL であった。AUC に基づくと、M2 及び M4a の曝露量は概してパロバロテンの曝露量よりも低かった（29%未満）が、M3 及び M4b の曝露量はパロバロテンと同様かより高かった（90～649%）。

3.4 イヌ

3.4.1 2 週間反復投与用量設定試験

1008208 試験、添付資料番号：4.2.3.2.7
1008209 試験、添付資料番号：4.2.3.2.8

イヌを用いた 2 つの用量設定試験を実施した。

最初の試験（1008208 試験）では、ビーグル犬（22～42 ヵ月齢、雌雄各 1 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（1、3 又は 10 mg/kg/日）を 0.5 mL/kg の容量でゼラチンカプセルに充填して 1 日 1 回投与した。本試験では皮膚所見（紅斑、潰瘍及び／又は嚢胞）、自発運動低下、無摂餌、発育不全及び体重減少が認められたため、5 又は 6 回投与後に投薬を中止し、動物を屠殺した。

2 つ目の試験（1008209 試験）では、ビーグル犬（約 34 ヵ月齢、雌雄各 1 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はより低用量のパロバロテン（0.01、0.05、又は 0.25 mg/kg/日）を 14 日間投与した。投与開始日（Day 0）の投与前及びその後は毎日一般状態所見を記録した。Day 0 及びその後は週 1 回体重を記録した。Day 0 及び 12 の投与約 5 及び 24 時間後に血漿中パロバロテン濃度を測定した。剖検日に血液検体を採取し、臨床検査を実施した。投与期間終了日の翌日にイヌを剖検し、病理組織学的検査を実施した。

パロバロテンの 14 日間反復投与は忍容性を示した。死亡及び体重への影響は認められず、血液学的検査値に対する毒性影響も認められなかった。

パロバロテンに関連する所見として、一般状態観察において皮膚の様々な部位に紅斑、丘疹、腫脹、腐肉の形成及び潰瘍が 0.25 mg/kg/日群で、ときに跛行を伴って認められた。

血清カリウム濃度のわずかな高値が 0.05 mg/kg 以上の群の雄に認められた。

病理組織学的検査では、皮膚の上皮過形成が 0.05 mg/kg/日以上の群で認められ、0.25 mg/kg/日群では二次的炎症を伴っていた。また、骨髄の顆粒球造血亢進及び／又は顎下リンパ節の好中球浸潤が 0.25 mg/kg/日群で認められ、皮膚の炎症に関連する変化と考えられた。

最終投与後の AUC_{0-24}（雌雄合算平均値）は 0.01 mg/kg/日群で 75.2 ng·h/mL、0.25 mg/kg/日群で 2910 ng·h/mL であった。

3.4.2　4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

1009512 試験、添付資料番号：4.2.3.2.9

ビーグル犬（約 20～21 ヵ月齢、雌雄各 5 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.008、0.04 又は 0.2 mg/kg/日）を 0.4 mL/kg の容量でゼラチンカプセルに充填して 28 日間経口投与した。投与期間終了時に、雌雄各 3 匹／群を屠殺し、剖検した。残りのイヌ（雌雄各 2 匹／群）は投与終了後 4 週間の休薬後に屠殺し、剖検した。一般状態観察、体重測定、眼科学的検査及び心電図（ECG）検査を実施した。また、投与期間終了時及び回復期間終了時には、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。さらに、Day1 及び 28 に採血し、TK 評価（パロバロテン及び主要代謝物）を実施した。

顔面、頸部、胴体、足及び／又は耳に重度の皮膚所見が認められたことから、0.2 mg/kg/日群の雌雄各 2 匹を Day 15（雄 1 匹）、20（雄 1 匹）及び 22（雌 2 匹）に早期屠殺した。また、同群では数匹のイヌにおいて眼科学的検査で結膜充血及び／又は硬結を伴う眼瞼の腫脹が認められた。

血液生化学的検査値及び尿検査値に対する毒性影響は認められず、ECG 検査でも異常は認められなかった。

投与期間中の体重減少（9～10%）が 0.2 mg/kg/日群で認められ、パロバロテンに関連する所見と考えられた。皮膚の紅斑が全投薬群で認められた。また、0.04 mg/kg/日以上の群では皮膚の腫脹及び滲出性所見が認められた。

投与期間終了時の血液学的検査において白血球数、分葉核好中球数、単球数及び好酸球数の高値が 0.2 mg/kg/日群の雄で認められ、皮膚の炎症に関連した変化と考えられた。回復期間終了時には好酸球の高値が 0.2 mg/kg/日群の雄で認められた。

投与期間終了時の病理組織学的検査では 0.04 mg/kg/日以上の群で二次的炎症を伴う皮膚の上皮過形成が認められた。これらの所見は回復期間終了後には 0.008 mg/kg/日群の雄及び 0.2 mg/kg/日群の雌雄で認められた。

パロバロテンによる皮膚への影響は回復期間終了時までに部分的に回復した。

0.008 mg/kg/日群で認められた所見は軽微であり、NOAEL は 0.008 mg/kg/日と考えられた。NOAEL における Day 28 のパロバロテンの C_{max} 及び AUC_{0-24}（雌雄合算平均値）はそれぞれ 5.9 ng/mL 及び 61 ng·h/mL であった。

3.4.3　投与 26 週の中間評価を含む 39 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験

1009654 試験、添付資料番号：4.2.3.2.10

ビーグル犬（19～24 ヵ月齢、雌雄各 9 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.0002、0.0006、0.002 又は 0.006 mg/kg/日）を 0.1 mL/kg の容量でゼラチンカプセルに充填して 39 週間経口投与した。26 週間投与後、雌雄各 3 匹／群のイヌを屠殺し、剖検した。39 週間の投与期間終了時に、雌雄各 4 匹／群のイヌを屠殺し、剖検した。残りのイヌ（雌雄各 2 匹／群）は 13 週間休薬後に屠殺し、剖検した。動物の死亡及び瀕死

状態を観察した。一般状態観察を毎日行い、詳細な観察を週 1 回実施した。体重を週 1 回記録した。摂餌量は毎日記録し、1 週間毎に評価した。臨床検査（血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査）、眼科学的検査及び ECG 検査を実施した。全てのイヌについて剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。さらに、投与初日並びに Month 1、3、6 及び 9 に採血し、TK 評価（パロバロテン）を実施した。

いずれの投与量においても、パロバロテンに関連する所見は認められなかった。したがって、NOAEL は 0.006 mg/kg/日であった。NOAEL における 39 週間投与後のパロバロテンの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$（雌雄合算平均値）はそれぞれ 8.5 ng/mL 及び 72 ng·h/mL であった。

3.4.4 投与 13 週の中間評価を含む 39 週間反復投与毒性試験及び 13 週間回復性試験

1013980 試験、添付資料番号：4.2.3.2.11

ビーグル犬（12 ヵ月齢以上、雌雄各 10 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.012、0.025/0.12 又は 0.04 mg/kg/日）を 0.4 mL/kg の容量で 39 週間経口投与した。13 週間投与後、雌雄各 3 匹／群のイヌを屠殺し、剖検した（中間評価群）。0.025/0.12 mg/kg/日群では 0.025 mg/kg/日で投与を開始し、13 週間の中間屠殺後、用量を 0.12 mg/kg/日に増量して 39 週間投与した。溶媒対照、0.012 及び 0.04 mg/kg/日群では 39 週間の投与期間終了時に雌雄各 4 匹／群を、残りのイヌ（雌雄 3 匹／群）は 13 週間の休薬後に屠殺し、剖検した。0.025/0.12 mg/kg/日群は投与期間終了後に全ての生存動物を屠殺し、剖検した。

死亡及び瀕死状態を観察した。一般状態観察を毎日行い、詳細な観察を週 1 回実施した。体重及び摂餌量を週 1 回記録した。臨床検査（血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査）、眼科学的検査、ECG 検査を実施した。全てのイヌについて剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。0.025/0.12 mg/kg/日群以外は投与初日並びに Week 13 及び 39 に、0.025/0.12 mg/kg/日群は 0.025 mg/kg/日投与の投与初日及び Week 13 並びに 0.12 mg/kg/日投与の投与初日、Week 4、24 及び 39 に採血し、TK 評価（パロバロテン及び主要代謝物）を実施した。

0.025/0.12 mg/kg/日群では投与量増量後、外耳炎、結膜炎並びに重度の皮膚所見に基づき、雄 2 匹（Week 26 及び 33）及び雌 5 匹（Week 19、20、22、51 及び 52）を早期屠殺した。これらの動物では白血球数及び血清中グロブリンの上昇を含む全身性の炎症反応並びに皮膚の顆粒層肥厚、びらん、上皮過形成、リンパ組織球浸潤、好中球浸潤、炎症性浸出液及び／又は錯角化症が認められた。この他、溶媒対照群の雌 1 匹で攻撃性が認められたため、当該動物は Week 5 に早期屠殺した。

体重及び摂餌量に対する毒性影響は認められなかった。生存動物の血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査では投与の影響は認められなかった。ECG 検査において投与の影響はみられなかった。

パロバロテンに関連する所見として、皮膚への影響が全投薬群で投与期間を通して認められた。皮膚への影響に関連した一般状態所見として、耳の腫脹、耳漏、眼脂、結膜赤色、脱毛、皮膚の黒色化及び発赤、皮膚損傷並びに痂皮形成が認められた。耳漏、眼脂、脱毛、痂皮形成及び皮膚の発赤は回復期間中にも認められた。これらの所見は主に頭部及び耳周囲にみられ、雌で雄より発現頻度が高かった。

眼科学的検査では、0.025/0.12 mg/kg/日群の雄 1 匹で Week 39 及び 52 に結膜炎が認められ、パロバロテンに関連する所見と考えられた。

病理組織学的検査では、全投薬群で皮膚所見が認められた。13 週間投与後（中間評価群）の検査では、0.012 mg/kg/日群の雌雄各 1 匹でリンパ組織球性浸潤が、雌 1 匹で炎症性滲出液及び好中球浸潤が認められた。0.025 mg/kg/日以上の群の雌ではリンパ組織球浸潤及び顆粒層肥厚が認められた。0.04 mg/kg/日群では線維化、上皮過形成及び好中球浸潤が認められた。投与期間終了時の病理組織学的検査では、0.012 mg/kg/日群の雄 1 匹でびらん、顆粒層肥厚、炎症性滲出液及び上皮過形成が認められた。0.04 mg/kg/日ではリンパ組織球浸潤と顆粒層肥厚が認められた。0.025/0.12 mg/kg/日群の生存動物では顆粒層肥厚のみが認められた。回復期間終了時には、0.012 mg/kg/日群の雄でリンパ組織球性浸潤が認められ、0.04 mg/kg/日群の雄で炎症性滲出液が認められた。投与終了後の炎症の持続は、パロバロテンに関連した変化に続発した慢性的な細菌感染を反映していた可能性があり、顆粒層肥厚及び上皮過形成は回復期間終了時には認められなかったことから、皮膚所見の部分的な回復が示唆された。

0.04 mg/kg/日以下の群では皮膚への影響が認められたが、一般状態及び病理組織学的所見に健康状態悪化を示唆する所見は認められなかった。したがって、39 週間投与の NOAEL／HNSTD は 0.04 mg/kg/日であると考えられた。NOAEL／HNSTD における 13 及び 39 週間投与後のパロバロテンの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$（雌雄合算平均値）はそれぞれ 39 ng/mL 及び 405 ng·h/mL 並びに 38 ng/mL 及び 393 ng/ng·h/mL であった。パロバロテンの全身曝露量は、雌雄ともに 4 種類の主要代謝物（M2、M3、M4a 及び M4b：AUC 比でパロバロテンの 27%以下）よりも高かった。

4 遺伝毒性試験

4.1 *In Vitro*

4.1.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

1003192 試験、添付資料番号：4.2.3.3.1.1

5 種類のネズミチフス菌株（TA1535、TA97、TA98、TAl00 及び TA102）を用いてラット由来外因性代謝活性化系（S9）の存在化及び非存在下で、プレート法及び改変プレインキュベーション法により、復帰突然変異試験を実施した。

プレート法及びプレインキュベーション法ではそれぞれ 50～5000 µg/plate 及び 20～2000 µg/plate のパロバロテン濃度で処理した。プレインキュベーション法（S9 非存在下）では TA100 及び TA102 試験菌株に対する毒性が認められたため、これらの菌株について 0.158～2000 µg/plate の濃度で確認試験を実施した。

いずれの試験菌株においても、S9 の有無にかかわらず復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって、本試験条件下でパロバロテン及び代謝物は変異原性を示さなかった。

4.1.2 哺乳類細胞（ヒトリンパ球）を用いる染色体異常試験

1002681 試験、添付資料番号：4.2.3.3.1.2

ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験では、S9 存在下又は非存在下でパロバロテンを 10～88 µg/mL の濃度で処理した。最高濃度は、細胞毒性に基づいて設定した。パロバロテンによるわずかな染色体異常誘発作用がみられたが、分裂指数を 50%以上低下させる細胞毒性濃度でのみ認められた変化であった。染色体異常の頻度は、50 µg/mL（50000 ng/mL）以上の濃度では増加したが、30 µg/mL（30000 ng/mL）以下の濃度では増加しなかった。したがって、染色体異常誘発作用の閾値は、MRHD 投与時に患者で予想される C_{max} の体重層別中央値（最高 202 ng/mL、2.7.2.3.8 項）の 148 倍以上であり、認められた変化は遺伝毒性の懸念を示唆する変化ではなかった。

4.2 *In Vivo*

4.2.1 マウス骨髄小核試験

1002682 試験、添付資料番号：4.2.3.3.2.1

Moro Albino マウスを用いた骨髄小核試験において、パロバロテンの遺伝毒性を評価した。用量設定予備試験では、雌雄各 2 匹に 25 mg/kg/日で 2 日間経口投与した結果、体重減少及び軽度の自発運動低下が認められた。小核試験では、雌雄各 5 匹／群に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（5、12.5 又は 25 mg/kg/日）を 5 又は 10 mL/kg の容量で 2 日間経口投与し、翌日に骨髄標本を作製した。TK 評価のためのサテライト動物（雌雄各 2 匹／群／時点）にも同様に投与し、2 回目の投与後 0.25、1、7 及び 24 時間に採血を行った。

骨髄では、多染性赤血球と正染性赤血球の比率の減少に基づく細胞増殖抑制は認められなかった。パロバロテンは小核を有する多染性赤血球の頻度を増加させず、したがって、パロバロテンはマウス骨髄細胞において遺伝毒性を示さなかった。

25 mg/kg 群の C_{max} 及び AUC_{0-24}（雄雌合算平均値）は、それぞれ 412 ng/mL 及び 4545 ng·h/mL であり、MRHD 投与時の患者で予想される C_{max} 及び定常状態での投与間隔における濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0-\tau}$）（それぞれ 138～202 ng/mL 及び 909～1054 ng·h/mL、2.7.2.3.8 項）を上回っていた。

5　がん原性試験

パロバロテンのがん原性試験は実施していない。以下の WoE アプローチにより、パロバロテンの FOP 患者に対する発がん性は懸念されないと考えられる。これらの WoE 評価は、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日に実施した[redacted]相談においても提示されている（1.13.2.3 項）。

In vitro 及び *in vivo* 遺伝毒性試験結果に基づき、パロバロテンはヒトに対して遺伝毒性を示さないと考えられる（4 項）。

パロバロテンの *in vitro* 薬理学的スクリーニング試験では、オフターゲット分子標的に対する結合親和性及び酵素活性に対する阻害作用は示唆されず（2.6.2.3 項）、オフターゲット薬理活性による発がん性の懸念は示されていない。

パロバロテンのラット及びイヌを用いた 26 週間及び 39 週間試験（3.1.4 項及び 3.4.4 項）並びに幼若ラットを用いた毒性試験（3.2.2 項）では、皮膚粘膜及び骨格系への影響が認められたが、前がん病変又は腫瘍性病変の増加は認められなかった。皮膚粘膜及び骨格系への影響はレチノイド類のクラスエフェクトとして報告されており（Armstrong 1994）、パロバロテンと同じ RARγ 選択的アゴニストである trifarotene 及び RARγ に対するアゴニスト作用を有する他のレチノイド類（アダパレン及び tazarotene）でも認められている（AKLIEF Cream, FDA review, 2018、ディフェリン®ゲル 0.1%の申請資料概要 2.6.6 項、Tazorac Gel, US Approval Package, 1997、Tazorac Cream, US Approval Package, 2001）。これらを含むレチノイド類はげっ歯類を用いた長期がん原性試験でヒトへの外挿性のある腫瘍発生増加を示さなかった（trifarotene：AKLIEF Cream, FDA review, 2018、アダパレン：ディフェリン®ゲル 0.1%の申請資料概要 2.6.6 項、tazarotene：Tazorac Gel, US Approval Package, 1997、エトレチナート：Tegison Capsules, US Approval Package, 1986、Acitretin：Soriatane Capsules 米国製品ラベル, 2004）。

一部のレチノイド類（トレチノイン及び isotretinoin）はげっ歯類を用いた非臨床試験で腫瘍形成に対するプロモーター作用を示すことが報告されている（McCormick 1987、McCormick 1990、Vesanoid Capsules 米国製品ラベル, 2008）。トレチノイン及び isotretinoin を用いたこれらの非臨床試験では、発がんイニシエーターであるジエチルニトロソアミン（DEN）又は 7,12-ジメチルベンズ（a）アントラセン（DMBA）投与後にレチノイド類の投与が行われている。発がんイニシエーターに加えて細胞増殖作用を有する化合物（プロモーター）を投与すると、イニシエーションを受けた突然変異細胞がクローン増殖し、前腫瘍性細胞巣が形成される。プロモーター又は他の因子による更なる増殖の誘導は、突然変異の蓄積を誘導し、悪性腫瘍形成を促進する。レチノイド類は扁平上皮細胞過形成を誘発することが知られており、プロモーターとして作用する可能性が考えられるが、プロモーター自体は発がん物質ではなく、isotretinoin のラット長期がん原性試験では、ヒトへの外挿性のある腫瘍発生は認められていない（Accutane Capsules 米国製品ラベル, 2002）。さらに、トレチノイン及び isotretinoin の経口投与製剤であるベサノイド®及び Absorica®（Accutane®の後発医薬品）については、承認以来、臨床使用上、腫瘍形成に関連する副作用は報告されておらず［ベサノイド®カプセル添付文書（2023 年 5 月改訂）、Absorica

Capsules 米国製品ラベル, 2019]、潜在的なプロモーター作用による発がん性懸念は示唆されていない。したがって、これらのレチノイドは概して発がん性懸念が低い。

レチノイド類は、一部の悪性腫瘍（ヒトの扁平上皮癌及び一部の白血病／リンパ腫）に対する防御作用を有することが知られており（Harwood 2005、Ahdout 2008、Everts 2021、Aryal 2017）、トレチノイン、タミバロテン及びベキサロテンは急性前骨髄球性白血病及び皮膚 T 細胞性リンパ腫の治療薬として製造販売承認されている。

パロバロテンのこれまでに実施した臨床試験では治験薬投与に関連した腫瘍の発生は認められていない（2.7.4.2.6.12 項）。

このように、パロバロテンは遺伝毒性を示さず、慢性毒性試験において発がん性を示唆する所見は認められていない。また、*in vitro* 薬理活性スクリーニング試験の結果から、オフターゲット薬理活性による発がん性の懸念は示されていない。パロバロテンと同じ RARγ 選択的アゴニストを含め、市販されているレチノイドのがん原性を総合的に考慮すると、レチノイド類の発がん性リスクは最小限であると考えられる。さらに、レチノイド類はヒトの扁平上皮において主に防御的な生物活性を示し、前がん病変及び腫瘍性病変の再発又は成長を阻害する。パロバロテンの臨床試験では治験薬投与に関連した腫瘍の発生は認められていない。

以上より、WoE アプローチに基づき、パロバロテンには発がん性の懸念がないと考えられる。

6　生殖発生毒性試験

6.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

6.1.1　　雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

9001429 試験、添付資料番号：4.2.3.5.1.1

各群 32 又は 22 匹（低用量群）の雄 Sprague-Dawley ラットに、溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.3、1 又は 3 mg/kg/日）を 2.5 mL/kg の容量で 11 週間（交配前 9 週間、無処置雌との交配期間中及び交配後 2 週間）経口投与した。最終投与後、主試験群の 10 又は 22 匹（低用量）／群を屠殺し、剖検した。主試験群において 1 mg/kg/日以下の投与でパロバロテン投与の影響が認められなかったため、回復群に割り当てた残りの動物は検査せずに屠殺した。死亡、一般状態所見、体重、摂餌量、受胎能（交尾までの日数並びに交尾率及び受胎率）、卵巣及び子宮所見（無処置の雌）、剖検所見、雄生殖能の評価（精子の運動性、濃度、形態及び精子形成周期の評価）、雄性生殖器重量並びに精巣及び精巣上体の病理組織学的検査所見を評価した。

溶媒対照群の雄 1 匹が Day 43 に死亡した。当該動物の死因は不明であった。

雄ラットへのパロバロテン 3 mg/kg/日の連日経口投与は忍容性を示さなかった。同群では、一般状態観察における被毛の菲薄化及び皮膚の発赤又は痂皮形成（鼻口部、泌尿生殖器周辺及び／又は後肢）を含む毒性所見並びに顕著な体重増加抑制及び摂餌量減少が認められたため、Day 30 に 1 匹を、残りの生存動物は交配前（Day 39）に早期屠殺した。

0.3 又は 1 mg/kg/日群では一般状態観察において皮膚及び被毛所見が用量依存的に認められ、1 mg/kg/日群で体重増加量及び摂餌量が減少したものの、パロバロテンの 11 週間強制経口投与に忍容性を示した。いずれの投与群でも、11 週間投与後の剖検所見、精巣又は精巣上体の病理組織学的所見、生殖器重量、並びに精子の形態、濃度及び運動性への影響は認められなかった。雄に 9 週間投与後、交尾までの日数、交尾率及び受胎率に影響は認められなかった。パロバロテン投与群の雄と交配した雌において、着床痕数、生存胚数、死亡胚数、早期吸収胚数及び着床前後胚損失率に影響は認められなかった。

これらの結果から、雄ラットにパロバロテンを 1 mg/kg/日までの用量で 9 週間投与しても、生殖機能、受胎能及び初期胚発生に影響は認められなかった。

6.1.2　　雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

9001478 試験、添付資料番号：4.2.3.5.1.2

各群 22 匹の雌 Sprague-Dawley ラットに溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.3、1.0 又は 3 mg/kg/日）を 2.5 mL/kg の容量で 2 週間経口投与後、無処置の雄と交配した。雌は交配期間中及び妊娠 7 日まで投与し、妊娠 13 日に屠殺して剖検並びに卵巣及び子宮検査を実施した。死亡、一般状態所見、体重、摂餌量、性周期、生殖能、剖検所見、卵巣重量並びに卵巣及び子宮の所見を評価した。

パロバロテンに関連する死亡は認められなかった。3 mg/kg/日群の雌 1 匹は交配 1 日に雄動物による皮膚損傷を受けたため、切迫屠殺した。当該動物の剖検ではパロバロテンに関連した所見はみられなかった。

一般状態観察において、交配前及び交配期間中にパロバロテン投与に関連した毒性所見は認められなかった。妊娠期間中には、対照群を含む全投薬群で尾の皮膚の乾燥が認められた。また、3 mg/kg/日群では脱水及び皮膚の乾燥又は皮膚の褪色化が認められた。同群では交配前及び交配後の投与期間中に摂餌量の減少、一過性の体重減少及び続発する体重増加抑制並びに性周期（発情休止期）の延長傾向が認められた。

剖検では、パロバロテンに関連する肉眼的所見は認められなかった。

雌に 2 週間投与後、いずれの投与群においても、交尾までの日数、交尾率、受胎率及び妊娠率に影響は認められなかった。妊娠 13 日の子宮検査では、3 mg/kg/日で黄体数の低下及びそれに続く着床痕数及び生存胚数の減少が認められた。これは、母動物毒性による生理的ストレスに起因する変化であり、パロバロテンの直接的な影響ではないと考えられた（Everds 2013）。

これらの結果から、母動物毒性並びに雌の受胎能及び初期胚発生への影響に関する NOAEL は 1 mg/kg/日と考えられた。

6.2 胚・胎児発生に関する試験

6.2.1 胚盤胞由来多能性 ESC を用いた *In vitro* 胚毒性試験

1027474 試験、添付資料番号：4.2.3.5.2.1

パロバロテンを 0.000125～125 µg/mL の濃度で処理し、マウス ESC の心筋細胞への分化能に対する影響並びに ESC 及び 3T3 線維芽細胞に対する細胞毒性を検討した。試験は 2 回繰り返し実施した。心筋細胞分化に対する 50%分化阻害濃度（ID_{50}）は 0.001 及び 0.008 µg/mL、ESC 及び 3T3 細胞の増殖に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）はそれぞれ 0.03 及び 0.008 µg/mL 並びに 2 及び 15 µg/mL であった（いずれも試験ごとの値）。改変判別分析によって評価した結果、パロバロテンは胚・胎児毒性陽性と分類された。

6.2.2 ラット胚・胎児発生用量設定試験

1002872 試験、添付資料番号：4.2.3.5.2.2

妊娠 Wistar ラット（10 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.04、0.5 及び 5 mg/kg/日）を 2 mL/kg の容量で妊娠 6～17 日に経口投与した。さらに、各群 2 匹の妊娠雌ラットに同様に投与して妊娠 17 日に採血し、TK 評価（パロバロテン）を実施した。全ての雌で一般状態所見、体重及び摂餌量を評価した。妊娠 21 日に剖検し、黄体数並びに着床痕の数及び分布を記録した。摘出した胎児の体重を測定し、性別並びに外表、内臓及び骨格の異常を調べた。TK 評価に使用した雌は最終時点の採血実施後に屠殺した。

溶媒対照群の雌 1 匹が妊娠 10 日に死亡したが、パロバロテンに関連する死亡は認められなかった。

パロバロテンの全身毒性に関連すると考えられる母動物の所見として 5 mg/kg/日で体重及び摂餌量の減少が認められた。同群では口及び眼周囲の痂皮形成も認められた。膣からの出血も認められ、胚吸収の増加が示唆されたことから、5 mg/kg 群では妊娠 14 日の投与後に休薬した。

生殖への影響に関連した母動物及び胎児の所見として、0.5 mg/kg/日以上の群で生存胎児数の減少及び吸収胚数の増加がみられ、その影響の程度は用量依存的に増加した。5 mg/kg/日では胎児体重の低値が認められた。0.5 mg/kg/日以上の群ではレチノイドに典型的な胎児奇形（口蓋裂、頭蓋骨の形態異常、長骨の短縮など）が認められ、5 mg/kg/日では、全ての胎児に奇形が認められた。

以上より、母動物毒性の NOALE は 0.5 mg/kg、胚・胎児毒性の NOAEL は 0.04 mg/kg/日と考えられた。0.04 mg/kg/日における母動物の妊娠 17 日の C_{max} は 2 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ は 24 ng·h/mL であった。

6.2.3　ラット胚・胎児発生試験

1003177 試験、添付資料番号：4.2.3.5.2.3

妊娠 Wistar ラット（24 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又はパロバロテン（0.01、0.25 又は 1.25 mg/kg/日）を 0.5 mL/kg の容量で妊娠 6～17 日に経口投与した。投与量は、妊娠ラットを用いた用量設定試験（6.2.2 項）の結果に基づいて設定した。さらに、各群 3 匹の妊娠雌ラットに同様に投与して妊娠 17 日に採血し、TK 評価（パロバロテン）を実施した。全ての雌で一般状態所見、体重及び摂餌量を評価した。

妊娠 21 日に剖検し、黄体数並びに着床痕の数及び分布を記録した。摘出した胎児の体重を測定し、性別並びに外表、内臓及び骨格の異常を調べた。TK 評価に使用した雌は最終時点の採血後に屠殺した。

パロバロテン投与により、0.25 mg/kg/日以上の群で母動物に口周囲の痂皮形成が認められ、摂餌量（1.25 mg/kg/日群のみ）及び体重増加量がわずかに減少した。摂餌量及び体重増加量に対する影響は投与期間を通じて認められた。

胎児検査では 0.25 mg/kg/日以上の群で様々な内臓変異（主として血管変異、蛇行尿管及び水尿管、腎乳頭小型化）及び骨格変異の発生率増加が認められ、1.25 mg/kg/日ではレチノイドによる胚毒性として典型的に認められる多数の奇形（外表検査における外脳症、頭部形態異常、舌突出及び／又は前肢の欠損、主として口蓋裂及び無眼球を含む内臓奇形並びに骨格奇形）及び胎児体重のわずかな減少が認められた。1.25 mg/kg/日群で認められた奇形のうち、小眼症が 0.25 mg/kg/日群の胎児 1 匹で認められたが、試験施設の背景データにおける発生率の範囲内であり、被験物質投与との関連は不明であった。また、0.25 mg/kg/日群では骨格奇形（肋骨の不接合）が 1 匹で認められた。同群では投与に関連した骨格変異が認められたことから、当該奇形の投与との関連性が示唆された。

以上より、母動物及び胚・胎児毒性の NOAEL はいずれも 0.01 mg/kg/日と考えられた。NOAEL における母動物の妊娠 17 日の C_{max} は 0.721 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ は 8.65 ng·h/mL であった。

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

パロバロテンの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は実施していない。

パロバロテンのラット胚・胎児発生毒性試験（6.2 項）及び幼若ラットを用いた試験（3.2 項）において妊娠動物に対する影響並びに胚・胎児発生及び出生児の発育に対する影響が認められている。幼若ラットを用いた試験では、投与開始時 1 週齢の幼若ラットへのパロバロテン投与により、骨格に対する毒性影響及び関連する成長パラメータへの影響が認められている。1 週齢の幼若ラットの発達段階は満期出生児又は出生直前のヒトの胎児に相当する（Zoetis 2003）。妊娠動物へのレチノイド投与により、胎盤や乳汁を介した胎児や出生児への曝露が認められている［ディフェリン®ゲル 0.1%の申請資料概要 2.6.4 項、アムノレイク®錠 2mg の申請資料概要：分布及び排泄、チガソン®カプセル添付文書（2024 年 1 月改訂）］。したがって、パロバロテンも乳汁を介して乳児に曝露される可能性があることから、幼若ラットを用いた試験で授乳中の女性へのパロバロテンの使用が乳児の発育に及ぼす影響を評価することができる。幼若ラットを用いた試験で毒性が認められたことから、授乳中の女性にはパロバロテンを使用すべきではない。

6.4 幼若動物を用いた試験

幼若ラットを用いた 6 週間までの反復投与毒性試験を実施した。試験の概略は 3.2 項に示した。

7　局所刺激性試験

パロバロテンの経口投与による消化管における局所刺激性を評価する独立した試験は実施されていない。反復経口投与毒性試験では、ラットの胃の非腺粘膜の扁平上皮及びウサギの食道に影響が認められた（3.1.1 項、3.1.2 項、3.1.4 項及び 3.3 項）が、これらはレチノイドで典型的に認められる全身影響に関連する病変と考えられた。ウサギの食道粘膜の機能構造や動物の健康状態に影響を及ぼすものではなく、毒性学的意義のある変化とは判断しなかった。ラット、イヌ及びウサギの腺胃、食道及び腸管の粘膜を含む粘膜上皮組織ではパロバロテンに関連する毒性所見は認められず、ヒトの消化管への刺激性の可能性は低いことが示唆されている。

8　その他の毒性試験

8.1　代謝物の毒性試験

8.1.1　　代謝物の反復投与毒性試験

パロバロテンの主要代謝物である M2 及び M3 は更に代謝を受け、それぞれ M4a 及び M4b へと変換される。したがって、これらの代謝物の反復投与毒性をラット及びイヌを用いた M2 及び M3 の反復経口投与毒性試験（最長 13 週間）で評価した。これらの試験では M2 及び M3 の代謝によって生成される M4a 及び M4b も評価された。

8.1.1.1　　ラット

1010116 試験、添付資料番号 4.2.3.7.5.1
1013099 試験、添付資料番号 4.2.3.7.5.2

4 週間投与試験（1010116 試験）では、Wistar ラット（雌雄各 8 匹／群）に M2 及び M3 をそれぞれ単独で 0.75、2 又は 5 mg/kg/日の用量で経口投与した。M2 及び M3 投与のいずれにおいても被験物質投与に関連した死亡は認められなかった。被験物質投与に関連した所見として、M3 投与時に一般状態所見として被毛の菲薄化が 2 mg/kg/日以上の群で認められた。M2 及び M3 投与により、病理組織学的検査において軽微～中等度の皮膚の顆粒層肥厚（全投薬群の大部分の動物）及び軽微な非腺胃の角化亢進（5 mg/kg/日群の雌各 1 匹）が認められた。また、軽微～中等度の骨端成長板の肥厚が 2 mg/kg/日以上の群で、軟骨増殖帯における軟骨細胞の錯綜配列を特徴とする軽微～軽度の軟骨形成不全が 5 mg/kg/日群の少数の動物で認められた。全体に、当該試験では親化合物を用いた試験と比較して弱い影響が皮膚上皮及び成長板に限定して認められた。

13 週間反復投与試験（1013099 試験）では、Wistar ラット（投与開始時 7～8 週齢、雌雄各 18 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又は M2 及び M3 を 13 週間経口投与した。M2 及び M3 はそれぞれ 0.3、1.0 又は 3.0 mg/kg/日を 1：1 混合物として約 3 mL/kg の容量で投与した。投与期間終了時に各群雌雄各 12 匹を屠殺し、剖検した。残りの動物（雌雄各 6 匹／群）は 4 週間の回復期間終了後に屠殺し、剖検した。

一般状態観察を 1 日 1 回行った。体重及び摂餌量を週 1 回記録した。投与期間終了時に神経学的観察及び眼科学的検査を実施した。投与期間中の Week 4 及び 13 並びに回復期間終了時に臨床検査（血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査）を実施した。剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。さらに、サテライト群として雌雄各 12 匹／群のラットから採血し、TK 評価を実施した。

当該試験において、被験物質投与に関連した死亡は認められず、摂餌量、神経学的観察所見、眼科学的検査所見、血液学的検査値、血液生化学的検査値、尿検査値、器官重量及び剖検所見に毒性学的意義のある変化は認められなかった。

1.0 及び 3.0 mg/kg/日群では、体重増加量のわずかな減少及び被毛の菲薄化が認められた。概して全用量群で各群内の一部の動物で皮膚（顆粒層肥厚及び／又は上皮過形成）並びに膝関節及び

大腿骨頭の骨端成長板（軟骨形成不全）に病理組織学的所見が認められた。これらの所見は、パロバロテン投与時又は他のレチノイドでも典型的に認められる変化であった。

本試験において、3.0 mg/kg/日までの投与で Day 91 の $AUC_{0\text{-}24}$（M2、M3、M4a 及び M4b の合算値）として 1894 ng·h/mL（雌雄合算平均値）と高い曝露量が得られたが、代謝物に特有と考えられる予期せぬ毒性は認められなかった。病理組織学的所見に基づき、13 週間試験における NOAEL は、0.3 mg/kg/日未満であった。

8.1.1.2　　イヌ

1009640 試験、添付資料番号 4.2.3.7.5.3
1011046 試験、添付資料番号 4.2.3.7.5.4

4 週間投与試験では、ビーグル犬（雌雄各 2 匹／群）に M2 及び M3 をそれぞれ単独で 0.05、0.15 又は 0.5 mg/kg/日の用量で経口投与した（1009640 試験）。M2 及び M3 投与のいずれにおいても被験物質投与に関連した死亡及び一般状態所見は認められなかった。

被験物質投与に関連した毒性所見は、M2 の高用量群で認められた上皮の軽微な急性炎症及び軽度の表皮肥厚のみであった。これらの所見に基づき、M2 の NOAEL は 0.15 mg/kg/日と判断した。一方で、M3 投与群では毒性影響が認められなかったことから、M3 の NOAEL は 0.5 mg/kg/日超と考えられた。M2 及び M3 投与により 0.15 mg/kg/日以上で認められた軽微～軽度の表皮顆粒層肥厚は正常な皮膚にも認められる所見であり、毒性とは判断しなかった。

13 週間反復投与試験では、ビーグル犬（投与開始時約 14 ヵ月齢、雌雄各 6 匹／群）に溶媒（0.01% BHA 及び 0.01% BHT を含むミグリオール 812）又は M2 及び M3 を 0.5 mL/kg の容量でゼラチンカプセルに充填して 13 週間経口投与した（1011046 試験）。M2 及び M3 はそれぞれ 0.05、0.15 又は 0.5 mg/kg/日を 1：1 混合物として投与した。投与期間終了時に各群雌雄各 4 匹を屠殺し、剖検した。残りの動物（雌雄各 2 匹／群）は 4 週間の回復期間終了後に屠殺し、剖検した。

一般状態観察を 1 日 1 回行った。体重を週 1 回、摂餌量を毎日記録した。投与期間終了時に神経学的観察及び眼科学的検査を実施した。投与期間及び回復期間終了時に ECG 検査を実施した。投与期間中の Day 30 及び 87 並びに回復期間終了時に血液学的検査及び血液生化学的検査を実施した。剖検時に尿検査を実施し、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。さらに、全動物から採血し、主要代謝物（M2、M3、M4a 及び M4b）の血漿中濃度を測定した。

当該試験において死亡は認められず、摂餌量、眼科学的検査所見、神経学的観察所見、ECG 検査所見、血液学的検査値、血液生化学的検査値、尿検査値及び器官重量に投与の影響は認められなかった。

被験物質投与に関連した一般状態所見は、全投与群で認められた皮膚及び被毛所見（被毛菲薄化／脱毛、創傷、痂皮形成、紅斑／発赤、浮腫及び耳の黒色物付着）のみであった。0.5 mg/kg/日群の雌雄では体重増加抑制も認められた。0.05 及び 0.15 mg/kg/日群で認められた軽微～中等度の皮膚所見は動物の健康状態に悪影響を及ぼさなかったことから、毒性とは判断しなかった。

0.5 mg/kg/日群における体重減少及び外観の異常を伴う皮膚所見に基づき、NOAEL は 0.15 mg/kg/日と判断した。代謝物投与により親化合物であるパロバロテンと同様の所見が認めら

れたが、毒性は親化合物より弱かった。本試験において、0.5 mg/kg/日までの投与で Day 91 の $AUC_{0\text{-}24}$（M2、M3、M4a 及び M4b の合算値）として 4712 ng·h/mL（雌雄合算平均値）と高い曝露量が得られたが、代謝物に特有と考えられる予期せぬ毒性は認められなかった。

8.1.2 代謝物の遺伝毒性試験

8.1.2.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

1016894 試験、添付資料番号：4.2.3.7.5.5

細菌を用いる復帰突然変異試験を実施し、パロバロテンの 4 種類の主要代謝物の変異原性を評価した。M2、M3、M4a 及び M4b をヒトにおけるパロバロテン投与時の C_{max} に基づく比率で混合し、50～5000 µg/mL の濃度で評価した結果、いずれの代謝物も変異原性を示さなかった。

8.1.2.2 哺乳類細胞を用いる染色体異常試験

1014341 試験、添付資料番号：4.2.3.7.5.6

ヒト末梢血リンパ球において、M2、M3、M4a 及び M4b をヒトにおけるパロバロテン投与時の C_{max} に基づく比率で混合して 10000～250000 ng/mL の濃度で評価した。代謝物を短時間（3 時間）処理したところ明らかに細胞毒性を示す濃度（250000 ng/mL）で染色体構造異常を誘発したが、長時間（24 時間）曝露条件では染色体異常を誘発しなかった。この所見の全体的な発現様式及び特徴は、パロバロテンで観察された所見と類似していた（4.1.2 項）。染色体異常を認めたときの代謝物濃度は、臨床試験（NP21025 試験、2.7.2.2.2.1.6 項）の結果から予想される MRHD 投与時のこれらの代謝物の C_{max} の合算値と比較して、1000 倍以上高い。したがって、本試験結果は主要代謝物に遺伝毒性の懸念がないことを示唆している。

8.1.3 代謝物の光毒性試験

1008050 試験、添付資料番号：4.2.3.7.5.7
1008048 試験、添付資料番号：4.2.3.7.5.8
1008049 試験、添付資料番号：4.2.3.7.5.9
1008047 試験、添付資料番号：4.2.3.7.5.10

M2、M3、M4a 及び M4b は UV を吸収し、240～365 nm の波長範囲で極大吸収を示すことから、これらの主要代謝物の光毒性を *in vitro* 3T3 線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取り込み（NRU）試験で評価した。いずれの代謝物も光毒性を示さなかった。

8.2 不純物

パロバロテンの潜在的不純物としては、原薬中不純物（カプセル製剤中に持ち越される可能性が考えられる）及び分解物が挙げられる。全ての不純物は 3.2.S.3.2 項及び 3.2.P.5.5 項に記載する。

8.2.1 不純物A*

パロバロテンの原薬中に含まれる製造工程由来不純物 不純物A* の安全性を確認するため、*in silico* 評価、ラット反復投与毒性試験及び *in vitro* 遺伝毒性試験を実施した。

8.2.1.1 不純物A* の *in silico* 毒性評価

20264821B 試験、添付資料番号：4.2.3.7.6.1

2 つのモデル（DEREK 及び SARAH）を用いて実施された構造活性相関解析において、不純物A* は DEREK で評価した全てのエンドポイント（がん原性、肝毒性、腎毒性など）について陰性であり、DEREK 及び SARAH に基づく変異原性アラートは検出されなかったことから、安全性の懸念は示されなかった。

8.2.1.2 不純物A* のラット反復投与毒性試験

8462659 試験、添付資料番号：4.2.3.7.6.2

8462660 試験、添付資料番号：4.2.3.7.6.3

不純物A* の毒性を検討し、安全性プロファイルを評価するため、ラットへの単独投与による反復投与毒性試験を実施した。

用量設定試験では、Wistar ラットに 不純物A* を 0.025、0.25 又は 0.75 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 7 日間反復投与した結果、いずれの用量においても被験物質に関連した所見は認められなかった（8462659 試験）。

ラット 4 週間反復投与試験では、各群 20 匹の Wistar ラット（投与開始時 6～7 週齢、雌雄各 10 匹／群）に溶媒（注射用水）又は 不純物A* （0.025 又は 0.25 mg/kg/日）を 5～7.4 mL/kg の容量で 28 日間経口投与した（8462660 試験）。

一般状態観察を毎日、詳細な観察を週 1 回行った。体重を週 1 回、摂餌量を週 2 回記録した。Day 24 に眼科学的検査を実施し、臨床検査（血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査）を実施した。Day 29（投与終了翌日）に全ての動物を剖検し、病理組織学的検査を実施した。また、剖検時に採血し、凝固検査を実施した。

当該試験において、 不純物A* を 0.025 又は 0.25mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 4 週間投与したときの忍容性は良好であり、死亡例は認められず、一般状態に異常は認められなかった。体重、摂餌量及び臨床検査値に 不純物A* 投与の影響は認められず、眼科学的検査所見、器官重量並びに剖検及び病理組織学的検査所見に異常は認められなかった。

以上の結果から、無影響量（NOEL）は 0.25 mg/kg/日と考えられた。

＊新薬承認情報提供時に置換

8.2.1.3 不純物A* の細菌を用いる復帰突然変異試験

8462655 試験、添付資料番号：4.2.3.7.6.4

不純物A* の変異原性を復帰突然変異試験で評価した。ネズミチフス菌株（TA1535、TA1537、TA98 及び TAl00）及び大腸菌［WP2 *uvrA* (pKM101)］を用いてラット由来 S9 の存在化及び非存在下で、プレート法により、5～5000 µg/plate の濃度で試験した。

いずれの試験菌株においても、S9 の存在下及び非存在下で復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

8.2.1.4 不純物A* のヒトリンパ球を用いる染色体異常試験

8462656 試験、添付資料番号：4.2.3.7.6.5

ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験では、ラット由来 S9 存在下又は非存在下で不純物A* を 125～500 µg/mL の濃度で処理した。不純物A* は S9 の有無にかかわらず染色体構造異常を誘発しなかった。

8.2.2 その他の不純物

1027922 試験、添付資料番号：4.2.3.7.6.6

1027923 試験、添付資料番号：4.2.3.7.6.7

1027924 試験、添付資料番号：4.2.3.7.6.8

パロバロテンの潜在的遺伝毒性不純物である 不純物B*、不純物C* 及び 不純物D* の変異原性を *in vitro* 遺伝毒性試験でそれぞれ評価した。

ネズミチフス菌を用いる復帰突然変異試験において、S9 の存在下及び非存在下のいずれにおいても、これらの不純物は 2000～5000 µg/plate までの濃度で、それぞれ 1 種類の試験菌株において、以下のとおり復帰突然変異コロニー数の用量依存性の増加を誘発した。

- 不純物B* は TA100 株において陽性判定基準には満たないものの、対照群を超える変異コロニー数の増加を示し、陽性と判断された。
- 不純物C* は TA97 株で弱い陽性を示した。
- 不純物D* は TA100 株において弱い陽性を示した。

したがって、これらの不純物はいずれも変異原性を有しており、ICH M7 ガイドラインに従って変異原性不純物として取り扱い、許容限度値以下で管理すべきであると結論づけた。

＊新薬承認情報提供時に置換

8.3 光毒性

1002309 試験、添付資料番号 4.2.3.7.7.1

パロバロテンは UV を吸収し、300～350 nm（UVA 領域）で極大吸収を示すことから、*in vitro* 3T3 線維芽細胞を用いた NRU 試験において、パロバロテンの光毒性を 0.098～60.000 µg/mL の濃度で評価した。UVA 非照射（DARK）及び照射（UVA）条件下における IC_{50} はそれぞれ 4.8 µg/mL 及び 4.6 µg/mL であり、光毒性判定係数（DARK/UVA）は 1.03 であった。したがって、判定基準（DARK/UVA＞5）に基づき、本試験条件下ではパロバロテンは光毒性を示さなかった。

9　考察及び結論

パロバロテン及びその主要代謝物の毒性プロファイルは、非臨床試験において十分に特徴付けられている。

高用量の反復投与では、主に皮膚粘膜及び骨格への影響が認められた。

成熟ラット、ウサギ及びイヌでは、皮膚粘膜毒性として、主に皮膚の紅斑、浮腫、上皮過形成、角化亢進及び／又は表皮の顆粒層肥厚が用量依存的に認められた。ラットでは皮膚所見の発現例数及び頻度は投与開始後 13 週間で高く、投与期間の延長とともに減少し、休薬により回復した。皮膚以外にも、胃の非腺粘膜（前胃：げっ歯類のみ）、食道（ウサギのみ）並びに眼の結膜及び外耳表面組織（イヌのみ）の扁平上皮に影響が認められた。ウサギの食道における所見は、食道粘膜の機能構造や動物の健康状態に影響を及ぼすものではなく、毒性学的意義のある変化とは判断しなかった。ラット、イヌ及びウサギの線胃及び腸管組織の粘膜に毒性影響は認められず、パロバロテン投与によるヒトの消化管毒性の可能性は低いことが示唆されている。レチノイドによる皮膚粘膜への影響に関する機序が報告されている（Lotan 1993）。ビタミン A 及びその類似化合物であるレチノイドは、非角化上皮細胞の扁平上皮への異常分化を抑制し、上皮組織の正常な分化を維持する作用を有している。これは、レチノイドによる扁平上皮分化関連遺伝子の発現抑制に関連している。レチノイドによる遺伝子発現変化の近位メディエーターとしては、核内レチノイン酸受容体がデオキシリボ核酸（DNA）に結合し、遺伝子発現を調節するトランス作用因子として機能すると考えられる。臨床的には、レチノイドの局所及び全身投与は、にきびや角化障害（魚鱗癬など）を含む皮膚疾患の治療に広く用いられている（DiGiovanna 2013）。皮膚疾患患者におけるこれらの薬理学的作用機序は、別の適応症におけるレチノイド投与時の皮膚粘膜における有害事象発現にも寄与している可能性が高い。レチノイドは、皮脂分泌、角化及び増殖を抑制し、上皮の分化を促進し、刺激性閾値以上で抗炎症作用を発揮し、毛包の退行を誘導する（Foitzik 2005）。

骨格に対する影響として、RARγ アゴニストによる軟骨形成及び破骨細胞形成に対する影響（Balkan 2011、2.6.2.2.2.1.1 項）に関連した軟骨形成不全がラット反復投与毒性試験で認められ、パロバロテンの薬理作用である骨端軟骨の成熟／分化の阻害に起因した作用と考えられた。成熟ラットでは骨格系への影響は、生涯を通じて活性が維持されている骨端成長板（Roach 2003）の軟骨形成不全のみであった。他の RAR アゴニストでもラットにおける同様の変化が報告されている（De Luca 2000）。骨格への影響は、幼若期以降に骨端成長板の活性が失われる種の成熟動物（ウサギ及びイヌ）（Kilborn 2002）では認められず、骨端成長板が閉鎖している成人患者には外挿されないと考えられる。

幼若動物を用いた試験では、成熟動物と同様に骨格及び皮膚に影響が認められた。成熟ラットにおける用量制限毒性は皮膚粘膜に対する影響であったが、幼若ラットでは皮膚毒性としては乾燥、被毛菲薄化及び／又は痂皮形成など比較的軽度な所見のみが認められ、骨格への影響が用量制限毒性であった。投与開始時 3 週齢の幼若ラットを用いた 6 週間試験では 0.5 mg/kg/日で骨格系に対する作用が認められたが、可逆性が認められたことから、当該用量を HNSTD と判断し

た。ICH S11 ガイドラインに基づくと幼若ラット試験の投与期間（3～9 週齢）における発達は 2～12 歳の小児の発達に相当する。

In vitro 及び *in vivo* 遺伝毒性試験結果に基づき、パロバロテンはヒトに対して遺伝毒性を示さないと考えられる。WoE アプローチに基づき、パロバロテンのがん原性の懸念は示されていない。

ラットを用いた受胎能試験では 1 mg/kg/日までの用量で雌雄の生殖機能、受胎能及び初期胚発生に対する影響は認められなかった。一方で、ラット 4 週間試験において 5 mg/kg/日で精巣組織の変性が認められた。5 mg/kg 群では重篤な毒性及び死亡がみられたことから、精巣所見はパロバロテンの直接的な影響ではなく、当該ラットの全身状態悪化に関連する変化であった可能性が考えられる。高用量のレチノイド投与はレチノールのホメオスタシスに影響することにより精巣の変性を引き起こす可能性がある（Bosakowski 1988）が、より長期の試験を含む他の反復投与試験では精巣への影響は認められない。さらに、パロバロテンはヒトに対して遺伝毒性を示さないと考えられることから、男性患者へのパロバロテン投与による雄性生殖細胞を介した発生毒性の可能性は低い。なお、長期反復投与毒性試験において、ラット及びイヌの雌雄生殖器に所見は認められていない。

ラット胚・胎児発生毒性試験の母動物及び胚・胎児毒性の NOAEL における曝露は臨床曝露量を大きく下回っており、パロバロテンは他のレチノイドと同様に妊婦への投与により催奇形性を示す可能性があることが示された。男性患者へのパロバロテンの投与では、精液を介した子宮内曝露による胚・胎児発生に対する影響の可能性が考えられるが、精液を介した胎児曝露は、胚・胎児発生毒性試験の NOAEL における母動物を介した曝露量の 100 分の 1 未満であることから（2.7.2.2.2.1.7 項）、当該影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

パロバロテンの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は実施しなかったが、胚・胎児発生毒性試験及び幼若ラットを用いた試験において胚・胎児発生及び出生児の発育に対する影響が認められている。幼若ラットで認められた毒性及びパロバロテンが乳汁中に移行し、乳児に曝露される可能性を考慮すると、授乳中の女性にはパロバロテンを使用すべきではない。

パロバロテンの局所刺激性試験は実施していないが、複数の経口投与試験における一般状態観察並びに剖検及び病理組織学的検査において消化管組織への影響が評価されている。ラット、イヌ及びウサギを用いた反復投与毒性試験の結果から、ヒトの消化管への刺激性の可能性は低いことが示唆されている。

不純物の安全性評価では、原薬中の不純物として規格設定されている　不純物A*　について、安全性の懸念は示されなかった。潜在的遺伝毒性不純物である 不純物B*、不純物C* 及び　不純物D*　は細菌を用いる復帰突然変異試験において陽性を示したことから、ICH M7 ガイドラインに従って変異原性不純物として取り扱い、許容限度値以下で管理すべきであると結論された。

パロバロテンは *in vitro* 光毒性試験で 3T3 線維芽細胞に対して光毒性を示さなかった。

主要代謝物（M2、M3、M4a 及び M4b）を用いて実施した試験では、代謝物特異的な毒性は認められなかった。

上記の非臨床安全性評価より、パロバロテンの毒性プロファイルは、レチノイド類で認められる影響（Armstrong 1994）に類似しており、高用量の投与による用量制限毒性は主として皮膚粘

＊新薬承認情報提供時に置換

膜毒性、軟骨形成不全、成長板閉鎖及び骨折を含む骨格への影響であり、催奇形性も認められた。したがって、パロバロテンの臨床的安全性プロファイルは他のレチノイド製剤と同様と考えられる。

10 図表

本文中に記載した。

参考文献

Absorica (isotretinoin) Capsules, FDA. 米国製品ラベル. 2019 年 10 月改訂版.

Accutane (isotretinoin) Capsules, FDA. 米国製品ラベル. 2002 年 6 月改訂版.

Ahdout J, Mandel H, Chiu M. Erythroderma in a patient taking acitretin for plaque psoriasis. J Drugs Dermatol. 2008;7(4):391-4.

AKLIEF (trifarotene) Cream, FDA. Center for Drug Evaluation and Research, Multidisciplinary Review and Evaluation: NDA 211527. 2018.

Armstrong R, Ashenfelter K, Eckhoff C, Levin A, Shapiro S. General and Reproductive Toxicology of Retinoids. The Retinoid. 1994:545-72.

Aryal A, Upreti S. A Brief Review on Systemic Retinoids. Int J Pharm Sci Res. 2017;8(9):3630-9.

Balkan W, Rodríguez-Gonzalez M, Pang M, Fernandez I, Troen BR. Retinoic acid inhibits NFATc1 expression and osteoclast differentiation. J Bone Miner Metab. 2011;29(6):652-61.

Bolotin HH. DXA in vivo BMD methodology: an erroneous and misleading research and clinical gauge of bone mineral status, bone fragility, and bone remodelling. Bone. 2007;41(1):138-54.

Bosakowski T, Levin AA, Edgcomb JH. Studies on the testicular effects of vitamin A palmitate in the Sprague-Dawley rat. Food Chem Toxicol. 1988;26(9):767-73.

De Luca F, Uyeda JA, Mericq V, Mancilla EE, Yanovski JA, Barnes KM, et al. Retinoic acid is a potent regulator of growth plate chondrogenesis. Endocrinology. 2000;141(1):346-53.

DiGiovanna JJ, Mauro T, Milstone LM, Schmuth M, Toro JR. Systemic retinoids in the management of ichthyoses and related skin types. Dermatol Ther. 2013;26(1):26-38.

Everds NE, Snyder PW, Bailey KL, Bolon B, Creasy DM, Foley GL, et al. Interpreting stress responses during routine toxicity studies: a review of the biology, impact, and assessment. Toxicol Pathol. 2013;41(4):560-614.

Everts HB, Akuailou EN. Retinoids in Cutaneous Squamous Cell Carcinoma. Nutrients. 2021;13(1):153.

Foitzik K, Spexard T, Nakamura M, Halsner U, Paus R. Towards dissecting the pathogenesis of retinoid-induced hair loss: all-trans retinoic acid induces premature hair follicle regression (catagen) by upregulation of transforming growth factor-beta2 in the dermal papilla. J Invest Dermatol. 2005;124(6):1119-26.

Harwood CA, Leedham-Green M, Leigh IM, Proby CM. Low-dose retinoids in the prevention of cutaneous squamous cell carcinomas in organ transplant recipients: a 16-year retrospective study. Arch Dermatol. 2005;141(4):456-64.

Kaplan FS, Chakkalakal SA, Shore EM. Fibrodysplasia ossificans progressiva: mechanisms and models of skeletal metamorphosis. Dis Model Mech. 2012;5(6):756-62.

Kaplan FS, Pignolo RJ, Al Mukaddam M, Shore EM. Genetic Disorders of Heterotopic Ossification: Fibrodysplasia Ossificans Progressiva and Progressive Osseous Heteroplasia. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 9th edition.2018.865-70.

Kaplan FS, Xu M, Seemann P, Connor JM, Glaser DL, Carroll L, et al. Classic and atypical fibrodysplasia ossificans progressiva (FOP) phenotypes are caused by mutations in the bone morphogenetic protein (BMP) type I receptor ACVR1. Hum Mutat. 2009;30(3):379-90.

Kilborn SH, Trudel G, Uhthoff H. Review of Growth Plate Closure Compared with Age at Sexual Maturity and Lifespan in Laboratory Animals. Contemp Top Lab Anim Sci. 2002;41(5):21-6.

Lotan R. Squamous cell differentiation markers in normal, premalignant, and malignant epithelium: effects of retinoids. J Cell Biochem Suppl. 1993;17F:167-74.

McCormick DL, Bagg BJ, Hultin TA. Comparative activity of dietary or topical exposure to three retinoids in the promotion of skin tumor induction in mice. Cancer Res. 1987;47(22):5989-93.

McCormick DL, Hollister JL, Bagg BJ, Long RE. Enhancement of murine hepatocarcinogenesis by all-trans-retinoic acid and two synthetic retinamides. Carcinogenesis. 1990;11(9):1605-9.

Roach HI, Mehta G, Oreffo RO, Clarke NM, Cooper C. Temporal analysis of rat growth plates: cessation of growth with age despite presence of a physis. J Histochem Cytochem. 2003;51(3):373-83.

Shore EM, Kaplan FS. Inherited human diseases of heterotopic bone formation. Nat Rev Rheumatol. 2010;6(9):518-27.

Soriatane (acitretin) Capsules, FDA. 米国製品ラベル. 2004 年 7 月改訂版.

Tazorac (Tazarotene topical gel), FDA. Center for Drug Evaluation and Research, Pharmacology Review(s): NDA 20-600. 1997.

Tazorac (tazarotene) Cream, FDA. Center for Drug Evaluation and Research, Pharmacology Review(s): NDA 21-184/S-001. 2001.

Tegison (etretinate) Capsules. United States Approval Package: NDA 19-369. 1986.

Trueta J. The normal vascular anatomy of the human femoral head during growth. J Bone Joint Surg Br. 1957;39-B(2):358-94.

Vesanoid (tretinoin) Capsules, FDA. 米国製品ラベル. 2008 年 7 月改訂版.

Yin S, Luo J, Qian A, Du J, Yang Q, Zhou S, et al. Retinoids activate the irritant receptor TRPV1 and produce sensory hypersensitivity. J Clin Invest. 2013;123(9):3941-51.

Zoetis T, Tassinari MS, Bagi C, Walthall K, Hurtt ME. Species Comparison of Postnatal Bone Growth and Development. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2003;68(2):86-110.

目次

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：トキシコキネティクス試験の一覧表 8
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 11
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 18
2.6.7.5 単回投与毒性試験 21
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 22
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 24
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 63
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 72
2.6.7.10 がん原性試験 73
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 74
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 75
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 82
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 85
2.6.7.15 幼若動物を用いた試験 86
2.6.7.16 局所刺激性試験 119
2.6.7.17 その他の毒性試験 120

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

2.6.7.1A パロバロテンの毒性試験一覧

Test article: Palovarotene

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[1]	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number	Location in CTD
Single-Dose Toxicity	Mouse/CD-1	Oral gavage	1 day	0, 0.5, 2.5, 12.5	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1007778	Module 4.2.3.1.1
	Rat/Wistar	Oral gavage	1 day	0, 1, 5, 25	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1007936	Module 4.2.3.1.2
	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	1 day	0, 1, 5, 10	No	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1008421	Module 4.2.3.1.3
Repeat-Dose Toxicity	Rat/Wistar	Oral gavage	17 days	0, 0.5, 1.5, 5.0	No	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1008287	Module 4.2.3.2.1
	Rat/Wistar	Oral gavage	4 weeks	0, 0.04, 0.2, 1.0, 5.0	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1007062	Module 4.2.3.2.2
	Rat/Wistar	Oral gavage	26 weeks	0, 0.005, 0.015, 0.05, 0.15[2]	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1009627	Module 4.2.3.2.3
	Rat/Wistar	Oral gavage	26 weeks	0, 0.3, 0.6, 1.0	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1013603	Module 4.2.3.2.4
	Rabbit/New Zealand White	Oral gavage	4 weeks[3]	0, 1.0, 2.5, 5.0	No	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1018190	Module 4.2.3.2.5
	Rabbit/New Zealand White	Oral gavage	4 weeks[4]	0, 0.5, 1.0, 2.5	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1020320	Module 4.2.3.2.6
	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	2 weeks[5]	0, 1, 3, 10	No	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1008208	Module 4.2.3.2.7
	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	2 weeks	0, 0.01, 0.05, 0.25	No	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1008209	Module 4.2.3.2.8
	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	4 weeks	0, 0.008, 0.04, 0.2	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], [redacted], USA	1009512	Module 4.2.3.2.9

2.6.7.1A パロバロテンの毒性試験一覧（続き）

Test article: Palovarotene

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[1]	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number	Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	39 weeks	0, 0.0002, 0.0006, 0.002, 0.006[2]	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1009654	Module 4.2.3.2.10
	Dog/Beagle	Oral gavage	39 weeks	0, 0.012, 0.025/0.12[6], 0.04	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1013980	Module 4.2.3.2.11
Genotoxicity	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	N/A	Standard plate incorporation assay: 50 to 5000 µg/plate Preincubation assay: 0.158 to 2000 µg/plate	Yes	[redacted], [redacted], Switzerland	1003192	Module 4.2.3.3.1.1
	Human peripheral blood lymphocytes	*In vitro*	N/A	10 to 88 µg/mL	Yes	[redacted], [redacted], Switzerland	1002681	Module 4.2.3.3.1.2
	Mouse/Moro Albino	Oral gavage	2 days	0, 5, 12.5, 25	Yes	[redacted], [redacted], Switzerland	1002682	Module 4.2.3.3.2.1
Reproductive and Developmental Toxicity	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	11 weeks[7]	0, 0.3, 1, 3	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], Canada	9001429	Module 4.2.3.5.1.1
	Rat/Sprague-Dawley	Oral gavage	14 days before cohabitation to GD 7[8]	0, 0.3, 1, 3	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], Canada	9001478	Module 4.2.3.5.1.2
	Murine embryonic stem cells	*In vitro*	N/A	1.25×10^{-4} to 125 µg/mL	No	[redacted], [redacted], Switzerland	1027474	Module 4.2.3.5.2.1
	Rat/Wistar	Oral gavage	GD 6 to GD 17[9]	0, 0.04, 0.5, 5.0[10]	No	[redacted], [redacted], Switzerland	1002872	Module 4.2.3.5.2.2
	Rat/Wistar	Oral gavage	GD 6 to GD 17	0, 0.01, 0.25, 1.25	Yes	[redacted], [redacted], Switzerland	1003177	Module 4.2.3.5.2.3

2.6.7.1A パロバロテンの毒性試験一覧（続き）

Test article: Palovarotene

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[1]	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number	Location in CTD
Juvenile Studies	1-week-old Rat/Wistar	Oral gavage	3 weeks[11]	0, 0.3, 1.0, 3.0	No	[redacted], [redacted], [redacted], Canada	9000317	Module 4.2.3.5.4.1
	1-week-old Rat/Wistar	Oral gavage	3 weeks	0, 0.03 and weekly escalating dose levels of 0.03, 0.1, 0.3	No	[redacted], [redacted], [redacted], Canada	9000317	Module 4.2.3.5.4.1
	2-week-old Rat/Wistar	Oral gavage	3 weeks	0 and weekly escalating dose levels of 0.1, 0.3, 0.5	No	[redacted], [redacted], [redacted], Canada	9000317	Module 4.2.3.5.4.1
	3-week-old Rat/Wistar	Oral gavage	3 weeks	0, 0.1, 0.5, 2.5	No	[redacted], [redacted], [redacted], Canada	9000317	Module 4.2.3.5.4.1
	3-week-old Rat/Wistar	Oral gavage	6 weeks	0, 0.1, 0.5, 1.2	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], Canada	6700132	Module 4.2.3.5.4.2
Other Toxicity Studies (Phototoxicity)	Mouse/Balb/c 3T3 Fibroblasts	*In vitro*	N/A	0.098, 0.246, 0.614, 1.536, 3.84, 9.60, 24.0, 60.0 µg/mL	No	[redacted], [redacted], Switzerland	1002309	Module 4.2.3.7.7.1

1 Unless otherwise specified. For repeat-dose toxicity studies, the NOAEL is underlined.
2 NOEL
3 The high-dose (5.0 mg/kg/day) animals were euthanized for humane reasons on days 11-12, due to the poor health condition.
4 Males of the 2.5 mg/kg/day group were humanely terminated on study day 12 due to the poor health condition.
5 All dogs were euthanized early on study days 5 or 6, due to severe dose-related clinical signs.
6 The dose of the mid-dose group was increased from 25 to 120 µg/kg/day after the 13-week interim sacrifice, and the remaining animals in the group were treated for at least 39 weeks at this new high-dose.
7 9 weeks before cohabitation and during the 2-week cohabitation period. Males of the 3 mg/kg/day group were terminated on Day 30 or 39 due to severe clinical findings and substantially reduced body weight gain/growth.
8 14 days before cohabitation, during cohabitation, and continuing until Day 7 postcoitum (i.e. gestation).
9 The animals of 5 mg/kg/day were treated 9 days (until and inclusive day 14 of gestation) only because at that stage these animals showed severe clinical findings.
10 The NOAEL was 0.04 mg/kg/day for the embryo/fetus and 0.5 mg/kg/day for the dams.
11 Animals were to receive daily oral doses of palovarotene at 0, 0.3, 1, or 3 mg/kg/day for three weeks. Because of adverse clinical signs and mortality, animals were dosed only for two days at 3 mg/kg/day, for up to three days at 1 mg/kg/day and for up to 11 days at 0.3 mg/kg/day.

CTD=common technical document; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; N/A=not applicable; NOAEL=no-observed-adverse-effect level; NOEL=no-observed-effect level.

2.6.7.1B 代謝物の毒性試験一覧

Test article: Metabolites of Palovarotene

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[1]	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number	Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity	Rat/Wistar	Oral gavage	4 weeks	0, 0.75, 2.0, 5.0 (M2 or M3)[2]	No	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1010116	Module 4.2.3.7.5.1
	Rat/Wistar	Oral gavage	13 weeks	0, 0.3, 1.0, 3.0 (M2 and M3)[3]	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1013099	Module 4.2.3.7.5.2
	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	4 weeks	0, 0.05, <u>0.15</u>[4], 0.5 (M2 or M3)[2]	No	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1009640	Module 4.2.3.7.5.3
	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	13 weeks	0, 0.05, <u>0.15</u>, 0.5 (M2 and M3)[3]	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], USA	1011046	Module 4.2.3.7.5.4
Genotoxicity	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	N/A	50 to 5000 µg/plate (M2, M3, M4a and M4b)	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], Switzerland	1016894	Module 4.2.3.7.5.5
	Human peripheral blood lymphocytes	*In vitro*	N/A	10 to 250 µg/mL (M2, M3, M4a and M4b)	Yes	[redacted], [redacted], [redacted], Switzerland	1014341	Module 4.2.3.7.5.6
Phototoxicity	Mouse/Balb/c 3T3 Fibroblasts	*In vitro*	N/A	0.49, 1.23, 3.07, 7.68, 19.2, 48.0, 120, 300 µg/mL (M2)	No	[redacted], [redacted], [redacted], Switzerland	1008050	Module 4.2.3.7.5.7
	Mouse/Balb/c 3T3 Fibroblasts	*In vitro*	N/A	0.49, 1.23, 3.07, 7.68, 19.2, 48.0, 120, 300 µg/mL (M3)	No	[redacted], [redacted], [redacted], Switzerland	1008048	Module 4.2.3.7.5.8
	Mouse/Balb/c 3T3 Fibroblasts	*In vitro*	N/A	0.30, 0.74, 1.84, 4.61, 11.52, 28.8, 72.0, 180 µg/mL (M4a)	No	[redacted], [redacted], [redacted], Switzerland	1008049	Module 4.2.3.7.5.9
	Mouse/Balb/c 3T3 Fibroblasts	*In vitro*	N/A	0.30, 0.74, 1.84, 4.61, 11.52, 28.8, 72.0, 180 µg/mL (M4b)	No	[redacted], [redacted], [redacted], Switzerland	1008047	Module 4.2.3.7.5.10

[1] Unless otherwise specified. For repeat-dose toxicity studies, the highest NOAEL is underlined.
[2] M2 and M3 administered separately to different animals.
[3] M2 and M3 administered as a mixture to the same animals.

[4] The NOAEL for M2 is 0.15 mg/kg/day and the NOAEL for M3 is >0.5 mg/kg/day.

CTD=common technical document; GLP=Good Laboratory Practice; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; N/A=not applicable; NOAEL=no-observed-adverse-effect level.

2.6.7.1C 不純物の毒性試験一覧

Test article: Impurities

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[1]	GLP Compliance	Testing Facility	Report Number	Location in CTD
***In silico* assessment**	N/A	*In silico*	N/A	不純物A*	No	[redacted], The Netherlands	20264821B	Module 4.2.3.7.6.1
Repeat-Dose Toxicity	Rat/Wistar	Oral gavage	7 days	不純物A* ： 0, 0.025, 0.25, 0.75	No	[redacted], UK	8462659	Module 4.2.3.7.6.2
	Rat/Wistar	Oral gavage	4 weeks	不純物A* ： 0, 0.025, 0.25	Yes	[redacted], UK	8462660	Module 4.2.3.7.6.3
Genotoxicity	*Salmonella typhimurium*/ *Escherichia coli*	*In vitro*	N/A	不純物A* ： 5 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted], UK	8462655	Module 4.2.3.7.6.4
	Human peripheral blood lymphocytes	*In vitro*	N/A	不純物A* ： 125 to 500 µg/mL	Yes	[redacted], UK	8462656	Module 4.2.3.7.6.5
	Salmonella typhimurium	*In vitro*	N/A	不純物B*: 50 to 5000 µg/plate	No	[redacted], Switzerland	1027922	Module 4.2.3.7.6.6
	Salmonella typhimurium	*In vitro*	N/A	不純物C* ： 20 to 2000 µg/plate	No	[redacted], Switzerland	1027923	Module 4.2.3.7.6.7
	Salmonella typhimurium	*In vitro*	N/A	不純物D* ： 50 to 5000 µg/plate	No	[redacted], Switzerland	1027924	Module 4.2.3.7.6.8

[1] Unless otherwise specified. For repeat-dose toxicity studies, the highest NOAEL is underlined.
CTD=common technical document; GLP=Good Laboratory Practice; N/A=not applicable; NOAEL= no-observed-adverse-effect level; 不純物A* =[redacted].

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

2.6.7.2A トキシコキネティクス試験一覧（パロバロテンの毒性試験）

Test Article: Palovarotene

Type of Study	Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Report Number	Location in CTD
Single-Dose Toxicity	Rat/Wistar	Oral gavage	1 day	1, 5, 25	Yes	1007936	Module 4.2.3.1.2
	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	1 day	1, 5, 10	No	1008421	Module 4.2.3.1.3
Repeat-Dose Toxicity	Rat/Wistar	Oral gavage	17 days	0.5, 1.5, 5.0	No	1008287	Module 4.2.3.2.1
	Rat/Wistar	Oral gavage	4 weeks	0.04, 0.2, 1.0, 5.0	Yes	1007062	Module 4.2.3.2.2
	Rat/Wistar	Oral gavage	26 weeks	0.005, 0.015, 0.05, 0.15	Yes	1009627	Module 4.2.3.2.3
	Rat/Wistar	Oral gavage	26 weeks	0.3, 0.6, 1.0	Yes	1013603	Module 4.2.3.2.4
	Rabbit/New Zealand White	Oral gavage	4 weeks[1]	1.0, 2.5, 5.0	No	1018190	Module 4.2.3.2.5
	Rabbit/New Zealand White	Oral gavage	4 weeks[2]	0.5, 1.0, 2.5	Yes	1020320	Module 4.2.3.2.6
	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	2 weeks[3]	0, 1, 3, 10	No	1008208	Module 4.2.3.2.7
	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	2 weeks	0.01, 0.05, 0.25	No	1008209	Module 4.2.3.2.8
	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	4 weeks	0.008, 0.04, 0.2	Yes	1009512	Module 4.2.3.2.9
	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	39 weeks	0.0002, 0.0006, 0.002, 0.006	Yes	1009654	Module 4.2.3.2.10
	Dog/Beagle	Oral gavage	39 weeks	0.012, 0.025/0.12[4], 0.04	Yes	1013980	Module 4.2.3.2.11

2.6.7.2A トキシコキネティクス試験一覧（パロバロテンの毒性試験）（続き）

Test Article: Palovarotene

Type of Study	Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Report Number	Location in CTD
Genotoxicity	Mouse/Moro Albino	Oral gavage	2 days	5, 12.5, 25	Yes	1002682	Module 4.2.3.3.2.1
Reproductive and Developmental Toxicity	Rat/Wistar	Oral gavage	GD 6 to GD 17[5]	0.04, 0.5, 5.0	No	1002872	Module 4.2.3.5.2.2
	Rat/Wistar	Oral gavage	GD 6 to GD 17	0.01, 0.25, 1.25	Yes	1003177	Module 4.2.3.5.2.3
Juvenile Studies	3-week-old Rat/Wistar	Oral gavage	6 weeks	0.1, 0.5, 1.2	Yes	6700132	Module 4.2.3.5.4.2

[1] The high-dose (5.0 mg/kg/day) animals were euthanized for humane reasons on days 11-12, due to the poor health condition.
[2] Males of the 2.5 mg/kg/day group were humanely terminated on study day 12 due to the poor health condition.
[3] All dogs were euthanized early on study days 5 or 6, due to severe dose-related clinical changes.
[4] The dose of the mid-dose group was increased from 25 to 120 µg/kg/day after the 13-week interim sacrifice, and the remaining animals in the group were treated for at least 39 weeks at this new high-dose.
[5] The animals of 5 mg/kg/day were treated 9 days (until and inclusive day 14 of gestation) only because at that stage these animals showed severe clinical findings.

CTD=common technical document; GLP=Good Laboratory Practice.

2.6.7.2B トキシコキネティクス試験一覧（代謝物の毒性試験）

Test Article: Metabolites of Palovarotene

Type of Study	Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Report Number	Location in CTD
Metabolites Repeat-Dose Toxicity	Rat/Wistar	Oral gavage	4 weeks	0.75, 2.0, 5.0 (M2 or M3)[1]	No	1010116	Module 4.2.3.7.5.1
	Rat/Wistar	Oral gavage	13 weeks	0.3, 1.0, 3.0 (M2 and M3)[2]	Yes	1013099	Module 4.2.3.7.5.2
	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	4 weeks	0.05, 0.15, 0.5 (M2 or M3)[1]	No	1009640	Module 4.2.3.7.5.3
	Dog/Beagle	Oral gavage (capsule)	13 weeks	0.05, 0.15, 0.5 (M2 and M3)[2]	Yes	1011046	Module 4.2.3.7.5.4

[1] M2 and M3 administered separately to different animals.
[2] M2 and M3 administered as a mixture to the same animals.
CTD=common technical document; GLP=Good Laboratory Practice; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene.

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

Test Article	Daily Dose (mg/kg)	Analyte	Steady-state AUC (ng•h/mL)							
			Rats[1]			Dogs[2]		Rabbits[1]		Humans[10]
			M	F	F (pregnant)	M	F	M	F	
Palovarotene	5 mg/day	Palovarotene								237-263
Palovarotene	10 mg/day	Palovarotene								454-527
Palovarotene	20 mg/day	Palovarotene								909-1054
Palovarotene	0.0002	Palovarotene				2.03	2.73			
Palovarotene	0.0006	Palovarotene				4.62	5.82			
Palovarotene	0.002	Palovarotene				17.6	24.8			
Palovarotene	0.005	Palovarotene	2.00	3.20						
Palovarotene	0.006	Palovarotene				68.1	76.0			
Palovarotene	0.008	Palovarotene				55.2	67.5			
Palovarotene	0.01	Palovarotene			8.65	55.6	94.7			
Palovarotene	0.012	Palovarotene				117	88.2			
Palovarotene	0.015	Palovarotene	6.38	9.21						
Palovarotene	0.025	Palovarotene				189	237			
Palovarotene	0.04	Palovarotene	11.0	25.7	24	332[3], 384[4]	430[3], 401[4]			
Palovarotene	0.05	Palovarotene	24.0	35.1		357	455			
Palovarotene	0.1	Palovarotene	57.9	87.0						
Palovarotene	0.12	Palovarotene				752	718			
Palovarotene	0.15	Palovarotene	60.2	122						
Palovarotene	0.2	Palovarotene	77.9	112		1720	2750			
Palovarotene	0.25	Palovarotene			268	3070	2750			
Palovarotene	0.3	Palovarotene	129	207						

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

Test Article	Daily Dose (mg/kg)	Analyte	Steady-state AUC (ng•h/mL)							
			Rats[1]			Dogs[2]		Rabbits[1]		Humans[10]
			M	F	F (pregnant)	M	F	M	F	
Palovarotene	0.5	Palovarotene	300[5], 187[6]	430[5], 386[6]	719			353	277	
Palovarotene	0.6	Palovarotene	242	445						
Palovarotene	1.0	Palovarotene	306[3], 421[7]	446[3], 716[7]				582[3]	375[8], 454[3]	
Palovarotene	1.2	Palovarotene	575	787						
Palovarotene	1.25	Palovarotene			1000					
Palovarotene	1.5	Palovarotene	378	645						
Palovarotene	2.5	Palovarotene						399[3]	1040[8], 1080[3]	
Palovarotene	5.0	Palovarotene	774[6], 1030[3]	1130[6], 1680[3]	2469				2530	
Palovarotene	0.2	M1				0.00	4.03			
Palovarotene	5.0	M1	0.00	0.00						
Palovarotene	0.012	M2				11.3	14.4			
Palovarotene	0.025	M2				24.6	22.6			
Palovarotene	0.04	M2				31.4	63.9			
Palovarotene	0.12	M2				108	164			
Palovarotene	0.2	M2				51.6	48.3			
Palovarotene	0.3	M2	6.84	11.3						
Palovarotene	0.5	M2						54.9	78.6	
Palovarotene	0.6	M2	10.8	18.7						
Palovarotene	1.0	M2	15.6	30.2				94.8[3]	97.1[8], 148[3]	
Palovarotene	2.5	M2						44.9[3]	494[8], 305[3]	
Palovarotene	5.0	M2	0.00	13.4					489	

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

Test Article	Daily Dose (mg/kg)	Analyte	Steady-state AUC (ng•h/mL)							
			Rats[1]			Dogs[2]		Rabbits[1]		Humans[10]
			M	F	F (pregnant)	M	F	M	F	
Palovarotene	0.012	M3				6.50	5.99			
Palovarotene	0.025	M3				11.2	14.1			
Palovarotene	0.04	M3				20.8	27.0			
Palovarotene	0.12	M3				55.8	88.2			
Palovarotene	0.2	M3				16.2	16.9			
Palovarotene	0.3	M3	5.25	19.9						
Palovarotene	0.5	M3						475	545	
Palovarotene	0.6	M3	10.3	29.8						
Palovarotene	1.0	M3	14.3	51.1				712[3]	771[8], 827[3]	
Palovarotene	2.5	M3						430[3]	3200[8], 1860[3]	
Palovarotene	5.0	M3	8.75	31.4					4880	
Palovarotene	0.2	M4				383	575			
Palovarotene	5.0	M4	175	280						
Palovarotene	0.012	M4a				16.8	22.2			
Palovarotene	0.025	M4a				39.9	37.5			
Palovarotene	0.04	M4a				51.4	107			
Palovarotene	0.12	M4a				197	285			
Palovarotene	0.3	M4a	13.8	17.1						
Palovarotene	0.5	M4a						31.7	46.0	
Palovarotene	0.6	M4a	33.2	31.1						
Palovarotene	1.0	M4a	49.0	54.3				51.4[3]	53.7[8], 96.8[3]	

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

Test Article	Daily Dose (mg/kg)	Analyte	Steady-state AUC (ng•h/mL)							
			Rats[1]			Dogs[2]		Rabbits[1]		Humans[10]
			M	F	F (pregnant)	M	F	M	F	
Palovarotene	2.5	M4a						22.9[3]	334[8], 238[3]	
Palovarotene	5.0	M4a							351	
Palovarotene	0.012	M4b				2.67	2.60			
Palovarotene	0.025	M4b				4.27	5.44			
Palovarotene	0.04	M4b				9.01	11.5			
Palovarotene	0.12	M4b				26.1	46.3			
Palovarotene	0.3	M4b	4.59	15.3						
Palovarotene	0.5	M4b						1050	1640	
Palovarotene	0.6	M4b	9.70	32.4						
Palovarotene	1.0	M4b	11.0	42.6				1620[3]	2130[8], 2860[3]	
Palovarotene	2.5	M4b						531[3]	9710[8], 7010[3]	
Palovarotene	5.0	M4b							12800	
M2	0.050	M2				73.4	104			
M2	0.15	M2				378	272			
M2	0.50	M2				953	1550			
M2	0.75	M2	104	123						
M2	2	M2	225	343						
M2	5	M2	353	582						

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

Test Article	Daily Dose (mg/kg)	Analyte	Steady-state AUC (ng•h/mL)							
			Rats[1]			Dogs[2]		Rabbits[1]		Humans[10]
			M	F	F (pregnant)	M	F	M	F	
M2	0.050	M4a				56.1	73.8			
M2	0.15	M4a				280	215			
M2	0.50	M4a				968	1130			
M2	0.75	M4a	142	93.5						
M2	2	M4a	301	256						
M2	5	M4a	472	625						
M3	0.050	M3				99.4	164			
M3	0.15	M3				531	360			
M3	0.50	M3				1590	2360			
M3	0.75	M3	64.8	152						
M3	2	M3	173	308						
M3	5	M3	359	821						
M3	0.050	M4b				24.8	53.8			
M3	0.15	M4b				231	151			
M3	0.50	M4b				734	1090			
M3	0.75	M4b	81.2	186						
M3	2	M4b	180	409						
M3	5	M4b	468	1110						

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

Test Article	Daily Dose (mg/kg)	Analyte	Steady-state AUC (ng•h/mL)							
			Rats[1]			Dogs[2]		Rabbits[1]		Humans[10]
			M	F	F (pregnant)	M	F	M	F	
M2/M3[9]	0.05	M2				88.5	88.3			
M2/M3[9]	0.15	M2				520	497			
M2/M3[9]	0.3	M2	39.8	57.6						
M2/M3[9]	0.5	M2				1340	961			
M2/M3[9]	1.0	M2	104	162						
M2/M3[9]	3.0	M2	210	411						
M2/M3[9]	0.05	M3				101	116			
M2/M3[9]	0.15	M3				690	670			
M2/M3[9]	0.3	M3	39.8	75.9						
M2/M3[9]	0.5	M3				1770	1420			
M2/M3[9]	1.0	M3	107	223						
M2/M3[9]	3.0	M3	279	663						
M2/M3[9]	0.05	M4a				72.5	73.7			
M2/M3[9]	0.15	M4a				381	451			
M2/M3[9]	0.3	M4a	56.8	60.8						
M2/M3[9]	0.5	M4a				1020	1200			
M2/M3[9]	1.0	M4a	205	216						
M2/M3[9]	3.0	M4a	389	471						

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

Test Article	Daily Dose (mg/kg)	Analyte	Steady-state AUC (ng•h/mL)							
			Rats[1]			Dogs[2]		Rabbits[1]		Humans[10]
			M	F	F (pregnant)	M	F	M	F	
M2/M3[9]	0.05	M4b				49.2	56.6			
M2/M3[9]	0.15	M4b				283	312			
M2/M3[9]	0.3	M4b	37.1	101						
M2/M3[9]	0.5	M4b				813	901			
M2/M3[9]	1.0	M4b	144	405						
M2/M3[9]	3.0	M4b	380	985						

1 Oral gavage.
2 Oral gavage (capsule, except for Study 1013980).
3 4-week toxicity study.
4 39-week toxicity study.
5 Juvenile 6-week toxicity study.
6 17-day toxicity study.
7 26-week toxicity study.
8 4-week DRF study.
9 Animals were administered a daily dose of each of M2 and M3.
10 Based on the simulations from a population pharmacokinetic model [Study Report PVO PopPK 002 Addendum version 2 (Module 2.7.2.3.8)]

AUC=area under the concentration versus time curve; DRF=dose range finding; F=female; M=male; M1=6,7-dihydroxy metabolite of palovarotene (mixture of diastereomers with 1:5 ratio); M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4=6- and 7-oxo metabolites; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene.

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

2.6.7.4A 被験物質（バッチ毎）一覧（パロバロテン）

Test Article: Palovarotene

		Impurities (% a/a)				
Batch No.	**Purity (%)**	***Specified***	***Unspecified***	***Total Impurities***	**Report Number***	**Type of Study**
7691-52	[redacted] a/a	—	—	[redacted]	1007778	Acute Oral Toxicity Study in Mice
					1007936	Acute Oral Toxicity Study in Rats
					1008421	Acute Oral Toxicity Study in Dogs
					1007062	4-week Repeat-Dose Toxicity Study in Adult Rats
					1009512	4-week Repeat-Dose Toxicity Study in Adult Dogs
					1003192	*In vitro* Genotoxicity Study
					1002681	*In vitro* Genotoxicity Study
					1002682	Genotoxicity Study in Mice
					1003177	Embryo-fetal Development Study in Rats
26610-16	[redacted] a/a	—	—	[redacted]	1008287	17-day Repeat-Dose Toxicity Study in Adult Rats
26610-53	[redacted]	—	—	[redacted]	1008208	2-week Repeat-Dose Toxicity Study in Adult Dogs
					1008209	2-week Repeat-Dose Toxicity Study in Adult Dogs
					1002872	Embryo-fetal Development Study in Rats
27003-136	[redacted] (±[redacted]) w/w	—	—	[redacted]	1009627	26-week Repeat-Dose Toxicity Study in Adult Rats
					1009654	39-week Repeat-Dose Toxicity Study in Adult Dogs
7887-26M	[redacted] w/w	—	ND	—	1013603	26-week Repeat-Dose Toxicity Study in Adult Rats
					1013980	39-week Repeat-Dose Toxicity Study in Adult Dogs

2.6.7.4A 被験物質（バッチ毎）一覧（パロバロテン）（続き）

Test Article: Palovarotene

Batch No.	Purity (%)	Impurities (% a/a) *Specified*	Impurities (% a/a) *Unspecified*	Impurities (% a/a) *Total Impurities*	Report Number*	Type of Study
7887-70M	[redacted] w/w	—	RRT 0.78: [redacted]	[redacted]	1020320	4-week Repeat-Dose Toxicity Study in Adult Rabbits
02140020	[redacted] a/a	—	RRT 0.92: [redacted] RRT 1.07: <[redacted] ([redacted]) RRT 1.25: <[redacted] ([redacted]) RRT 1.67: <[redacted] ([redacted]) RRT 1.81: [redacted]	[redacted]	9000317 6700132	Repeat-Dose Toxicity Study in Juvenile Rats Repeat-Dose Toxicity Study in Juvenile Rats
R0042674	[redacted] w/w	—	不純物E*: <[redacted] RRT 0.90: <[redacted] RRT 0.92: [redacted]	[redacted]	9001429 9001478	Fertility and Early Embryonic Development Study in Male Rats Fertility and Early Embryonic Development Study in Female Rats

* Reports 1018190, 1027474 and 1002309 are not listed since they do not identify the lot of drug substance used for the study, or, do not have a certificate of analysis attached.
— =none reported; 不純物E*=[redacted]; a/a=area/area %; ND=not detected; No.=number; RRT=relative retention time; w/w=weight/weight %.

2.6.7.4B　　被験物質（バッチ毎）一覧（不純物）

Test Article: 不純物A*

Batch No.	Purity (%)	Impurities (%)		Report Number	Type of Study
		不純物E*	*Total Impurities*		
[redacted]-591-201	[redacted]	[redacted]	[redacted]	8462655	Bacterial reverse mutation assay
				8462656	Chromosome aberration test in human lymphocytes
				8462659	7 days repeat-dose toxicity study in rats
				8462660	4 weeks repeat-dose toxicity study in rats

不純物E*=[redacted]

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: Palovarotene

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Sex and Number per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report Number/Location in CTD
Mouse/CD-1	Oral gavage (Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT)	0, 0.5, 2.5, 12.5	5/sex/group	12.5	>12.5	≥0.5 mg/kg Transient labored respiration on the day of dosing; Rough coat; Soiled or stained urogenital area or ventral tail; Firm abdomen; Changes in the color, size, or amount of feces 12.5 mg/kg Ptosis, Kyphosis, Inactivity; Unthriftiness	1007778/ Module 4.2.3.1.1
Rat/Wistar	Oral gavage (Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT)	0, 1, 5, 25	5/sex/group for main study 3/sex/group for TK study	25	>25 [1]	No palovarotene-related findings	1007936/ Module 4.2.3.1.2
Dog/Beagle	Oral gavage (capsule) (Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT)	0, 1, 5, 10	3 males/group	10	>10	10 mg/kg Skin erythema on Day 7 after dosing	1008421/ Module 4.2.3.1.3

[1] One male in the 1 mg/kg group was found dead from the effects of CO_2:O_2 anesthesia after the 4-hour post-dose blood collection.

CTD=common technical document; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CO_2:O_2=carbon dioxide:oxygen; TK=toxicokinetics.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Palovarotene

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Sex and Number per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Report Number/ Location in CTD
Rat/ Wistar	Oral gavage (Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT)	17 days	0, 0.5, 1.5, 5.0	5/sex	NI	All dose levels • Skin hypergranulosis, hyperplasia, hyperkeratosis • Increased serum chloride level (males) ≥1.5 mg/kg/day • Clinical signs of skin encrustations • Increased serum chloride level (females) • Degeneration of femoral physis • Epithelial hyperplasia of non-glandular stomach	1008287/ Module 4.2.3.2.1
Rabbit/New Zealand White	Oral gavage (Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT)	4 weeks[1]	0, 1.0, 2.5, 5.0	5F	1.0	≥1 mg/kg/day Altered differentiation of the esophageal mucosa in one rabbit at 1 mg/kg/day and most rabbits at ≥2.5 mg/kg/day, characterized by the presence of keratohyaline granules in the superficial esophageal epithelial layers and expansion of the squamous epithelial outer layer. This finding was not considered to be adverse ≥2.5 mg/kg/day Decreased food consumption, decreased and/or lack of feces, alopecia, discolored and/or the absence of urine, excessive shedding, and body weight loss 5 mg/kg/day Lacrimation, encrustation of the eyelids and/or muzzle, unkempt coat, erythema, lethargy, inappetance, and generally poor condition	1018190/ Module 4.2.3.2.5

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Palovarotene

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Sex and Number per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Report Number/ Location in CTD
Dog/Beagle	Oral gavage (capsule) (Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT)	2 weeks[2]	0, 1, 3, 10	1/sex	NI	Skin lesions (erythema, ulcers, and/or cysts) associated with microscopic findings of epithelial hyperplasia and inflammation. The skin lesions resulted in clinical signs of reduced activity, anorexia, and unthriftiness.	1008208/ Module 4.2.3.2.7
Dog/Beagle	Oral gavage (capsule) (Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT)	2 weeks	0, 0.01, 0.05, 0.25	1/sex	0.01	≥0.05 mg/kg/day • Epithelial hyperplasia (M) • Slightly elevated serum potassium level (M) 0.25 mg/kg/day • Epithelial hyperplasia (F) • Erythema, swelling, papules, sloughing, erosions, ulcers, and inflammation in various areas of the skin, with increased granulopoiesis in bone marrow and/or neutrophilic infiltration of the mandibular lymph node	1008209/ Module 4.2.3.2.8

[1] The high-dose (5.0 mg/kg/day) animals were euthanized for humane reasons on days 11-12, due to body weight loss, lethargy, inappetence and generally poor condition.
[2] All dogs were euthanized early on study days 5 or 6, due to significant dose-related clinical changes.
BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CTD=common technical document; F=female; M=male; NI=not identified; NOAEL=no-observed-adverse-effect level.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7A ラット 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

Report Title: A 28-Day Oral (Gavage) Toxicity Study of Ro330-0074/000 in Rats with a 29-Day Recovery Period

Test Article: Palovarotene

Report No. 1007062

Location in CTD: Module 4.2.3.2.2

Species/Strain: Rat/Wistar

Duration of Dosing: 28 days

GLP Compliance: Yes

Initial Age: 8 weeks

Duration of Postdose: 29 days

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Oral gavage

Special features: Spermatogenic evaluation

No Observed Adverse-Effect Level: 0.2 mg/kg/day

Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.04**		**0.2**		**1.0**		**5.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Toxicokinetics (Day 26, n=3/time point)										
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	2.35	3.77	19.0	18.5	47.6	95.6	223	353
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	11.0	25.7	77.9	112	306	446	1030	1680
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	4[2]	0
Body Weight (Week 4)[3]	302 g	212 g	—	—	—	—	—	—	-31%**	-27%**
Body Weight Gain (Week 0 to 4)[3]	79 g	39 g	—	—	—	—	—	—	-122%**	-149%**
Food Consumption[3]	21 g	17 g	—	—	—	—	—	—	-29%**	-18%**

2.6.7.7A ラット 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.04**		**0.2**		**1.0**		**5.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Clinical Observations[4]										
Behavior/CNS effects										
Hypoactivity	—	—	—	—	—	—	—	—	13	15
Impaired use of hindlimbs	—	—	—	—	—	—	—	—	9	6
Sitting with hindlimbs splayed	—	—	—	—	—	—	—	—	12	15
Body/integument findings										
Hair loss facial area	1	0	—	—	—	—	4	1	15	15
Reddening facial area	—	—	—	—	—	—	2	—	14	15
Swelling facial area	—	—	—	—	—	—	—	—	13	15
Wet yellow material urogenital area	—	—	—	—	—	—	—	—	2	11
Emaciated body condition	—	—	—	—	—	—	—	—	11	15
Dermal atonia	—	—	—	—	—	—	—	1	13	15
Abnormal excreta										
Decreased defecation	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Feces smaller than normal	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1
Mucoid feces	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
Ophthalmoscopy	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hematology										
RBC count[3]	6.94 mil/µL	6.37 mil/µL	—	—	—	—	—	-11%*	-12%**	-13%*
Hemoglobin[3]	13.3 g/dL	13.0 g/dL	—	—	—	—	—	-12%*	-11%*	-14%**
Hematocrit[3]	37.4 %	35.9 %	—	—	—	—	—	-11%*	-13%**	-13%**

2.6.7.7A ラット 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.04		0.2		1.0		5.0	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Serum Chemistry										
Serum albumin[3]	4.0 g/dL	4.7 g/dL							-13%**	-28%**
Total protein[3]	6.1 g/dL	6.7 g/dL	—	—	—	—	—	—	-8.2%**	-12%**
A/G ratio[3]	2.03	2.27							-14%	-38%**
Creatinine[3]	0.2 mg/dL	0.3 mg/dL	—	—	—	—	—	—	-50%**	-67%**
Urea nitrogen[3]	17.7 mg/dL	17.7 mg/dL	—	—	—	—	—	—	+18%*	+93%**
Urinalysis										
Specific gravity[3]	1.025	1.036	—	—	—	—	—	—	+160%**	+42%
Urine volume[3]	9.6 mL	5.1 mL	—	—	—	—	—	—	-78%**	-27%
Organ Weights										
Right Epididymides[3]	0.52g	N/A	—	N/A	—	N/A	—	N/A	-21%**	N/A
Left Epididymides[3]	0.52g	N/A	—	N/A	—	N/A	—	N/A	-25%**	N/A
Thymus[3]	0.5010g	0.4195g	—	—	—	—	—	—	-30%	-57%**
Gross Pathology – Terminal sacrifice										
Number evaluated	10	10	10	10	10	10	10	10	7	10
Skin										
Hair loss	—	—	—	—	—	—	—	—	2	8
Scabbing	—	—	—	—	—	—	—	1	0	1
Thymus										
Small	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3
Femur										
Brittle	—	—	—	—	—	—	1	—	2	2

2.6.7.7A ラット 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.04		0.2		1.0		5.0	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Gross Pathology – Terminal sacrifice (continued)										
Number evaluated	10	10	10	10	10	10	10	10	7	10
Bone										
Brittle	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3
Fracture	—	—	—	—	—	—	—	—	—	4
Epididymis										
Small	—	N/A	—	N/A	—	N/A	—	N/A	1	N/A
Histopathology – Terminal sacrifice										
Number evaluated	10	10	10	10	10	10	10	10	7	10
Skin										
Acanthosis										
minimal	—	—	—	—	—	1	—	2	4	2
mild	—	—	—	—	—	—	—	1	2	7
Hyperkeratosis										
minimal	—	—	—	—	—	—	2	8	4	—
mild	—	—	—	—	—	—	—	—	3	10
Sebaceous gland atrophy										
mild	—	—	—	—	—	—	—	—	1	4
Subacute inflammation										
minimal	—	—	—	—	—	—	—	1	1	5
mild	1	—	—	—	—	—	—	—	1	—

2.6.7.7A ラット 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.04		0.2		1.0		5.0	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Histopathology – Terminal sacrifice (continued)										
Number evaluated	10	10	10	10	10	10	10	10	7	10
Skin (continued)										
Hypergranulosis										
minimal	—	—	—	—	1	1	6	3	—	1
mild	—	—	—	—	—	—	4	7	7	8
Epidermal surface exudates										
minimal	—	—	—	—	—	1	—	1	2	2
mild	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Femur										
Hemorrhage										
mild	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—
Chondrodystrophy										
moderate	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
severe	—	—	—	—	—	—	—	—	2	3
Knee joint										
Hemorrhage										
minimal	—	—	—	—	—	—	—	—	2	4
mild	—	—	—	—	—	—	—	—	1	4

2.6.7.7A ラット 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.04**		**0.2**		**1.0**		**5.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Histopathology – Terminal sacrifice (continued)										
Number evaluated	10	10	10	10	10	10	10	10	7	10
Knee joint (continued)										
Chondrodystrophy										
minimal	—	—	—	—	—	1	5	—	—	—
mild	—	—	—	—	—	—	5	8	—	—
moderate	—	—	—	—	—	—	—	2		—
severe	—	—	—	—	—	—	—	—	7	10
Bone										
Chondrodystrophy										
severe	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3
Nonglandular stomach										
Epithelial hyperplasia										
minimal	—	—	—	—	1	—	3	2	—	—
mild	—	—	—	—	—	—	1	3	1	—
moderate	—	—	—	—	—	—	—	—	6	8
severe	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
Hyperkeratosis										
minimal	—	—	—	—	—	—	3	5	—	2
mild	—	—	—	—	—	—	—	2	6	4
moderate	—	—	—	—	—	—	—	—	1	3
severe	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1

2.6.7.7A　　ラット 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.04**		**0.2**		**1.0**		**5.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Histopathology – Terminal sacrifice (continued)										
Number evaluated	10	10	10	10	10	10	10	10	7	10
Nonglandular stomach (continued)										
Acute inflammation										
minimal	—	—	—	—	—	—	—	1	3	3
mild	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
Epididymis										
Lumenal debris, cellular										
minimal	—	N/A	—	N/A	—	N/A	—	N/A	4	N/A
Hypospermia										
mild	—	N/A	—	N/A	—	N/A	—	N/A	1	N/A
Testis										
Seminiferous tubule degeneration										
minimal	—	N/A	—	N/A	—	N/A	—	N/A	1	N/A
Spleen										
Hematopoiesis, extramedullary, increased										
minimal	1	—	1	1	2	3	3	5	—	1
mild	—	1	—	1	—	—	1	4	5	7
moderate	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1

2.6.7.7A ラット 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.04		0.2		1.0		5.0	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Histopathology – Terminal sacrifice (continued)										
Number evaluated	10	10	10	10	10	10	10	10	7	10
Thymus										
Lymphoid depletion										
mild	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
moderate	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
Necrosis in the thymus										
minimal	—	—	—	—	—	—	—	—	3	6
Spermatogenic evaluation										
Numbers of sperm in epididymis[3]	418.2×10^6/ g tissue	N/A	—	N/A	—	N/A	—	N/A	-45%**	N/A
Relative numbers of motile sperm	73.8%	N/A	—	N/A	—	N/A	—	N/A	55.8%*	N/A
Sperm morphology differential count										
Normal	98.8%	N/A	—	N/A	—	N/A	—	N/A	90.7%**	N/A
Postdose Evaluation:										
Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5
Gross Pathology										
Bone										
Fracture	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—
Paws										
Malpositioned	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1

2.6.7.7A ラット 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.04**		**0.2**		**1.0**		**5.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**	**15**
Postdose Evaluation (continued):										
Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5
Histopathology										
Number evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5	4	5
Skin findings										
Hyperkeratosis										
minimal	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
Hypergranulosis										
minimal	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
Subacute inflammation										
minimal	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
Knee joint										
Chondrodystrophy										
minimal	—	—	—	—	—	—	1	2	—	—
severe	—	—	—	—	—	—	—	—	4	5
Bone										
Chondrodystrophy										
severe	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—
Paws										
Chondrodystrophy										
severe	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1

[1] Ten animals/sex/group were euthanized following 28 days of dosing and the remaining 5 animals/sex/group were assigned to a 28-day nondosing (recovery) period.
[2] Three animals were found dead (not attributed to palovarotene) and one animal was euthanized in extremis (moribund condition attributed to test article administration).
[3] For controls, group mean values are presented. For treated groups, percentage difference relative to control group values are shown. Food consumption from Week 1 to Week 2 corresponding to the maximum effect. Percent differences for specific gravity were calculated after subtraction of the constant 1.000.
[4] Findings observed from Week 1 to Week 6. Not observed past the second week of the recovery period.

* P ≤0.05 using Dunnett's test. ** P≤0.01 using Dunnett's test.
— =no remarkable findings; A/G=albumin/globulin; AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CNS=central nervous system; CTD=common technical document; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; mil=millions; N/A=not applicable; No.=number; RBC=red blood cell; Ro330-0074/000=palovarotene.

2.6.7.7B ラット 26 週間試験：26 週間投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

Report Title: A 6-Month Oral (Gavage) Toxicity Study of RO3300074-000 in Rats with a 2-Month Recovery Period (AT 7793) supersedes AT 7755

Test Article: Palovarotene

Report No. 1009627

Location in CTD: Module 4.2.3.2.3

Species/Strain: Rat/Wistar

Duration of Dosing: 26 weeks

GLP Compliance: Yes

Initial Age: 7 to 9 weeks

Duration of Postdose: 8 weeks

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Oral gavage

No Observed Effect Level: 0.15 mg/kg

Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.005**		**0.015**		**0.05**		**0.15**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**30**	**30**	**30**	**30**	**30**	**30**	**30**	**30**	**30**	**30**
Toxicokinetics: (Day 175, n=6/time point)										
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	0.284	0.485	1.13	1.63	2.87	5.15	9.23	14.4
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	2.00	3.20	6.38	9.21	24.0	35.1	60.2	122
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund[2]	0	1	0	3	2	0	1	0	1	1
Body Weight	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Food Consumption	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Clinical Observations	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ophthalmoscopy	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hematology	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum Chemistry	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Organ Weights	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

2.6.7.7B ラット 26 週間試験：26 週間投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.005		0.015		0.05		0.15	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**30**	**30**	**30**	**30**	**30**	**30**	**30**	**30**	**30**	**30**
Gross Pathology	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Histopathology	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Postdose Evaluation:										
Number evaluated	10	9	10	7	8	10	9	10	9	9
Noteworthy findings	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[1] The first 20 animals/sex/group were euthanized following 26 weeks of dosing and the remaining ≤10 animals/sex/group were assigned to a 8-week nondosing (recovery) period.
[2] None of the deaths were related to the test article. Six animals were found dead and 3 animals were euthanized in extremis.

— =no noteworthy findings; AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; N/A=not applicable; No.=number; RO3300074-000=palovarotene.

2.6.7.7C　　ラット 26 週間試験：13 週間投与中間評価を含む 26 週間投与毒性試験及び 8 週間回復性試験

Report Title: RO3300074-003 (RARγ Agonist): A 26-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetics Study with RO3300074-003 in Rats with a 13-Week Interim Sacrifice and an 8-Week Recovery Period ([redacted] Study No. 6131-420, [redacted] Study No. 08076)

Test Article: Palovarotene

Report No. 1013603

Location in CTD: Module 4.2.3.2.4

Species/Strain: Rat/Wistar

Duration of Dosing: 26 weeks (with a 13-week interim sacrifice)

GLP Compliance: Yes

Initial Age: 7 weeks

Duration of Postdose: 8 weeks

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Oral gavage

No Observed Adverse-Effect Level: ND (<0.3 mg/kg)

Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.3**		**0.6**		**1.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**28**	**28**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**
Toxicokinetics: (Day 177, n=3/time point)								
Palovarotene								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	16.5	29.7	33.1	60.7	82.6	96.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	129	207	242	445	421	716
M2								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	0.662	1.12	1.61	2.30	2.26	2.59
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	6.84	11.3	10.8	18.7	15.6	30.2
M3								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	0.526	1.56	1.73	3.00	2.69	3.53
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	5.25	19.9	10.3	29.8	14.3	51.1
M4a								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	1.03	1.02	2.79	1.73	4.97	3.26
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	13.8	17.1	33.2	31.1	49.0	54.3

2.6.7.7C ラット 26 週間試験：13 週間投与中間評価を含む 26 週間投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.3**		**0.6**		**1.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**28**	**28**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**
Toxicokinetics: (Day 177, n=3/time point)(continued)								
M4b								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	0.303	1.04	0.963	2.54	1.15	2.54
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	4.59	15.3	9.70	32.4	11.0	42.6
Died or Sacrificed Moribund[2]	1	0	0	1	1	1	2	1
Noteworthy Findings (Interim 13 Weeks: Days 1 through 93)								
Body Weight (Week 14)[3]	394 g	230 g	—	—	-5.6%*	—	-13%*	-5.7%*
Body Weight Gain (Week 1 to 14)[3]	213 g	91 g	—	—	-8.5%*	—	-22%*	-13%*
Food Consumption (Week 13)[3]	153 g	124 g	—	—	—	—	-9.2%*	—
Clinical Observations								
Red Skin	—	—	—	—	—	—	2	3
Sore/Scab	—	—	3	1	3	10	16	13
Ophthalmoscopy	—	—	—	—	—	—	—	—
Hematology	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum Chemistry	—	—	—	—	—	—	—	—
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—
Organ Weights	—	—	—	—	—	—	—	—
Gross Pathology (Day 93)								
Number evaluated	8	8	8	8	8	8	8	8
Skin – red focus	—	—	—	—	—	—	1	—

2.6.7.7C ラット 26 週間試験：13 週間投与中間評価を含む 26 週間投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.3**		**0.6**		**1.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**28**	**28**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**
Histopathology (Day 93)								
Number evaluated	8	8	8	8	8	8	8	8
Stifle joint								
Growth plate chondrodystrophy								
minimal	—	—	—	3	5	3	—	1
slight	—	—	—	—	3	4	3	4
moderate	—	—	—	—	—	—	4	3
marked	—	—	—	—	—	—	1	—
Nonglandular stomach								
Epithelial degeneration/dyskeratosis								
minimal	1	3	5	5	6	5	4	3
slight	—	—	1	1	1	2	3	4
moderate	—	—	—	—	—	—	—	1
Acute keratin layer inflammation								
minimal	—	—	—	—	3	1	4	3
Skin								
Hypergranulosis								
minimal	—	—	—	—	7	6	7	7
slight	—	—	—	—	—	—	1	1
Epidermal hyperplasia (acanthosis)								
minimal	—	—	—	—	—	—	—	1
moderate	—	—	—	—	—	—	1	—

2.6.7.7C ラット 26 週間試験：13 週間投与中間評価を含む 26 週間投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.3**		**0.6**		**1.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**28**	**28**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**
Histopathology (Day 93) (continued)								
Number evaluated	8	8	8	8	8	8	8	8
Skin (continued)								
Chronic-active inflammation								
minimal	—	—	—	—	—	—	—	1
moderate	—	—	—	—	—	—	1	—
Sternum								
Growth plate chondrodystrophy								
minimal	—	—	NE	NE	NE	NE	1	1
slight	—	—	NE	NE	NE	NE	7	6
moderate	—	—	NE	NE	NE	NE	—	1
Noteworthy Findings (26 Weeks: Days 94 through 184)								
Number evaluated	19	20	20	19	19	19	20	19
Body Weight (Week 27)[3]	454 g	260 g	—	—	—	-5.8%*	-15%*	-8.8%*
Body Weight Gain (Week 1 to 27)[3]	275g	120g	-9.8%*	—	—	-12%*	-21%*	-18%*
Food Consumption (Week 26)[3]	139 g	117 g	—	—	—	—	—	—
Clinical Observations								
Red skin	—	—	—	—	—	3	2	4
Sore/scab	—	—	1	—	2	2	6	7
Ophthalmoscopy	—	—	—	—	—	—	—	—
Hematology	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum Chemistry	—	—	—	—	—	—	—	—
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—
Organ Weights	—	—	—	—	—	—	—	—

2.6.7.7C ラット 26 週間試験：13 週間投与中間評価を含む 26 週間投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.3**		**0.6**		**1.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**28**	**28**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**
Gross Pathology (Day 184)								
Number evaluated	11	12	12	11	11	11	10	11
Skin – crusted area	—	—	—	—	—	2	1	2
Histopathology (Day 184)								
Number evaluated	11	12	12	11	11	11	10	11
Stifle joint								
Growth plate chondrodystrophy								
minimal	—	—	4	2	7	3	—	1
slight	—	—	—	2	—	3	3	1
moderate	—	—	—	—	—	—	6	7
marked	—	—	—	—	—	—	1	2
Nonglandular stomach								
Epithelial degeneration/dyskeratosis								
minimal	4	7	7	5	4	4	2	1
slight	—	—	1	4	5	4	5	4
moderate	—	—	—	—	1	—	3	5
Acute keratin layer inflammation								
minimal	—	1	2	3	3	3	1	4
slight	—	—	—	1	1	1	3	3
moderate	—	—	—	—	—	—	1	—

2.6.7.7C ラット 26 週間試験：13 週間投与中間評価を含む 26 週間投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.3**		**0.6**		**1.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**28**	**28**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**
Histopathology (Day 184) (continued)								
Number evaluated	11	12	12	11	11	11	10	11
Skin								
Hypergranulosis								
minimal	—	—	5	2	5	5	4	6
slight	—	—	—	—	1	—	5	5
moderate	—	—	—	—	—	—	1	—
Epidermal hyperplasia (acanthosis)								
minimal	—	—	2	—	1	—	—	—
slight	—	—	—	—	—	1	1	1
moderate	—	—	—	—	—	1	—	1
Chronic-active inflammation								
minimal	—	1	—	1	—	—	—	1
slight	—	—	—	—	—	1	—	1
moderate	—	—	—	—	—	1	1	1
Ulceration								
slight	—	—	—	—	—	2	1	1
moderate	—	—	—	—	—	—	—	1
Sternum								
Growth plate chondrodystrophy								
minimal	—	—	NE	NE	NE	NE	—	1
slight	—	—	NE	NE	NE	NE	10	8
moderate	—	—	NE	NE	NE	NE	—	2

2.6.7.7C ラット 26 週間試験：13 週間投与中間評価を含む 26 週間投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.3**		**0.6**		**1.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**28**	**28**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**	**28 (12)**
Postdose Evaluation:								
Number evaluated	8	8	8	8	8	8	8	8
Body Weight[3]	473 g	272 g	—	—	—	—	-8.7%	-9.2%
Histopathology (Day 241)								
Number evaluated	8	8	8	8	8	8	8	8
Stifle Joint								
Growth plate chondrodystrophy								
minimal	—	—	1	—	1	—	5	1
slight	—	—	—	—	—	—	—	1
moderate	—	—	—	—	—	—	—	4
Nonglandular stomach								
Epithelial degeneration/dyskeratosis								
minimal	2	3	3	3	5	6	3	5
slight	—	1	1	—	—	1	—	1
Acute keratin layer inflammation								
minimal	—	1	1	—	1	2	2	4
Skin	—	—	—	—	—	—	—	—
Sternum								
Growth plate chondrodystrophy								
minimal	—	—	NE	NE	NE	NE	4	2

[1] Eight rats/sex in each group were euthanized and necropsied following 13 weeks of dosing. Twelve animals/sex/group were euthanized following 26 weeks of dosing and the remaining 8 animals/sex/group were assigned to an 8-week nondosing (recovery) period. In addition, 12 animals/sex/group in the 0.3, 0.6, and 1.0 mg/kg/day group were assigned to the toxicokinetic study.

[2] At the end of 26 weeks of treatment. Four deaths were judged to be accidental (a male in the control group, a female given 0.3 mg/kg/day, and a male and female given 0.6 mg/kg/day). One male given 1.0 mg/kg/day was sacrificed because of an apparent limb injury (not test article-related). A male and female given 1.0 mg/kg/day were sacrificed in moribund condition because of test article-related skin lesions.

[3] For controls, group mean values are presented. For treated groups, Percentage difference relative to control group values are shown.
* P ≤0.05 using Dunnet's test.
— =no noteworthy findings; AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; N/A=not applicable; ND=not determined; NE=not evaluated; No.=number; RO3300074-003=palovarotene.

2.6.7.7D ウサギ 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

Report Title: RO3300074-003 (RAR Gamma): A Four-Week Oral (Intubation) Toxicity and Toxicokinetic Study in Rabbits Followed by a Four-Week Recovery Period (Study 09246).

Test Article: Palovarotene

Report No. 1020320
Location in CTD: Module 4.2.3.2.6

Species/Strain: Rabbit/New Zealand White
Initial Age: 9 months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
No Observed Adverse-Effect Level: 1.0 mg/kg/day

Duration of Dosing: 4 weeks
Duration of Postdose: 4 weeks
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA

GLP Compliance: Yes

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.5**		**1.0**		**2.5**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7[2]**	**7**
Toxicokinetics: [Day 29 (Day 12[2])]								
Palovarotene								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	28.7	26.5	44.2	43.1	209	113
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	353	277	582	454	399	1080
M2								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	7.43	6.06	8.72	12.4	25.2	27.3
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	54.9	78.6	94.8	148	44.9	305
M3								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	49.3	46.9	67.5	77.2	228	163
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	475	545	712	827	430	1860
M4a								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	3.70	2.94	2.97	6.39	10.9	15.1
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	31.7	46.0	51.4	96.8	22.9	238
M4b								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	67.8	113	96.1	202	240	462
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	1050	1640	1620	2860	531	7010

2.6.7.7D　　ウサギ 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.5**		**1.0**		**2.5**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**[2]	**7**
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund[3]	0	0	1	1	1	0	7	1
Body Weight[4]	3.37 kg	4.06 kg	—	—	—	—	-6.2%	—
Food Consumption[4]	107 g	87 g	—	—	—	—	-58%*	—
Clinical Observations								
Decrease or absence of feces	6	5	6	6	7	3	7	5
Absence of urine	1	4	2	4	7	1	4	—
Generalized shedding	2	—	1	2	4	2	6	6
Alopecia (body/muzzle/feet)	—	—	—	—	2	1	6	3
Encrustation (eyelids/lips/feet)	—	—	—	—	1	—	7	4
Hematology[5]								
White Blood Cells[4]	—	5.5 $\times 10^3/\mu L$	—	—	—	—	N/A	＋102%##
Absolute Neutrophils[4]	—	1.50 $\times 10^3/\mu L$	—	—	—	—	N/A	＋242%#
Serum Chemistry	—	—	—	—	—	—	—	—
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—
Organ Weights	—	—	—	—	—	—	—	—
Gross Pathology								
Ventral hocks and forefeet								
Scabs/Sores	—	—	—	—	—	—	—	3

2.6.7.7D　　ウサギ 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.5		1.0		2.5	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	7	7	7	7	7	7	7[2]	7
Histopathology								
Number evaluated	5	5	5	5	5	5	7[2]	5
Esophagus								
Hypergranulosis								
minimal	—	—	2	3	3	2	1	—
slight	—	—	—	—	—	—	5	4
Expansion of granular cell layer								
minimal	—	—	—	—	—	1	1	2
slight	—	—	—	—	—	—	4	2
Bone marrow, femur								
Myeloid hyperplasia								
minimal	—	—	—	—	—	—	2	3
Bone marrow, sternum								
Myeloid hyperplasia								
minimal	1	—	—	—	—	—	—	4
Skin								
Nose/Chin inflammation								
minimal	—	—	—	—	1	—	3	—
slight	—	—	—	—	—	1	—	1
moderate	—	—	—	—	—	—	1	3
marked	1	—	—	—	—	—	—	—
Pododermatitis								
marked	—	—	—	—	—	—	—	3

2.6.7.7D　　ウサギ 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.5		1.0		2.5	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	7	7	7	7	7	7	7[2]	7
Histopathology (continued)								
Number evaluated	5	5	5	5	5	5	7[2]	5
Skin (continued)								
Hyperplasia, epithelial								
minimal	—	—	—	—	—	—	—	3
slight	—	—	—	—	—	—	1	1
moderate	—	—	—	—	—	—	4	1
Hyperkeratosis								
minimal	—	—	—	—	—	—	1	4
slight	—	—	—	—	—	—	4	—
moderate	—	—	—	—	—	—	2	—
Infiltration, mixed								
minimal	—	2	—	1	—	1	2	2
slight	—	—	—	—	—	—	5	2
moderate	—	—	—	—	—	—	—	1
Hypergranulosis								
minimal	—	—	—	—	—	—	—	2
slight	—	—	—	—	—	—	6	3
moderate	—	—	—	—	—	—	1	—
Serocellular crust								
minimal	—	—	—	—	—	—	1	2
slight	—	—	—	—	—	—	3	—
marked	—	—	—	—	—	—	1	—

2.6.7.7D　　ウサギ 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.5		1.0		2.5	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**[2]	**7**
Histopathology (continued)								
Number evaluated	5	5	5	5	5	5	7[2]	5
Skin (continued)								
Pustules, intraepith								
minimal	—	—	—	—	—	—	3	1
Erosions/Ulcerations								
minimal	—	—	—	—	—	—	2	—
slight	—	—	—	—	—	—	1	1
moderate	—	—	—	—	—	—	1	—
Edema								
minimal	—	—	—	—	—	—	2	—
Hypertrophy, seb gl								
slight	—	—	—	—	—	—	1	—
Atrophy, follic.								
minimal	—	—	—	—	—	—	4	1
Spleen								
Heterophils increase								
minimal	—	—	—	—	—	—	1	5
slight	1	—	—	—	—	—	—	—

2.6.7.7D ウサギ 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.5		1.0		2.5	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**	**7**[2]	**7**
Histopathology (continued)								
Number evaluated	5	5	5	5	5	5	7[2]	5
Thymus								
Lymphocyte reduction								
minimal	2	1	—	—	1	—	—	1
slight	—	—	—	1	—	—	1	—
moderate	1	—	—	—	—	—	3	—
marked	—	—	—	—	—	—	1	2
Postdose Evaluation:								
Number evaluated	2	2	2	2	2	2	0	2
Noteworthy findings	—	—	—	—	—	—	—	—

[1] The first 5 animals/sex/group were euthanized following 4 weeks of dosing and the remaining 2 animals/sex/group were assigned to a 4-week nondosing (recovery) period.
[2] Males in the 2.5 mg/kg/day group were terminated early on Day 12.
[3] Treatment-related mortality included one female from the 2.5 mg/kg/day group and the entire male 2.5 mg/kg/day group (humanely sacrificed because of body weight loss, inappetence, and/or generally poor condition). One female in the 0.5 mg/kg/day group was found dead (death attributed to dosing error). One male from the 0.5 mg/kg/day group was moribund-sacrificed because of diarrhea (cause unknown). One male from the 1.0 mg/kg/day group was humanely sacrificed because of foot pad lesions.
[4] For controls, group mean values are presented. For treated groups, percentage difference relative to control group values are shown. Values at Day 11 for body weight and from Day 9 to 12 for food consumption are presented for control males to be compared with males in the 2.5 mg/kg/day group which were terminated early on Day 12. No relevant findings for other treated groups when compared to controls on Day 29 for body weight and from Day 29 to 30 for food consumption. For females, values at Day 29 for body weight and from Day 29 to 30 for food consumption.
[5] A complete evaluation of the hematology in females was not possible because 5 of 7 control samples, 4 of 6, 0.5 mg/kg/day samples, and 2 of 7, 1.0 mg/kg/day samples clotted in the tubes and could not be evaluated.

* P<0.05 and ** P<0.01 using Dunnett's test.
# P≤0.05 and ## P≤0.01 using Student's *t*-Test.
— =no noteworthy findings; AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; N/A=not applicable; No.=number; RAR=retinoic acid receptor; RO3300074-003=palovarotene.

2.6.7.7E　　イヌ 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

Report Title: One-Month Oral Toxicity Study of Ro330-0074/000 in Beagle Dogs (AT 7790) – Supersedes AT 7747

Test Article: Palovarotene

Report No. 1009512

Location in CTD: Module 4.2.3.2.9

Species/Strain: Dog/Beagle

Duration of Dosing: 28 days

GLP Compliance: Yes

Initial Age: 20 to 21 months

Duration of Postdose: 28 days

Date of First Dose: [redacted]

Method of Administration: Oral gavage (capsule)

No Observed Adverse-Effect Level: 0.008 mg/kg/day

Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.008**		**0.04**		**0.2**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetics: (Day 28)								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	4.95	6.93	24.6	44.5	129	207
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	55.2	67.5	332	430	1720	2750
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund[2]	0	0	0	0	0	0	2	2
Body Weight (Day 29)[3]	8.90 kg	8.26 kg	—	—	—	—	-9.3%	-10%
Clinical Observations								
Skin								
Erythema, genitalia	—	—	1	—	1	—	3	—
Erythema, chin/ventral neck	—	—	2	—	2	1	5	5
Erythema, ears	—	—	2	1	1	—	5	5
Erythema, inter-digital	—	—	1	—	2	2	5	3
Swelling, draining: genitalia	—	—	1	—	1	—	—	—
Swelling, draining: ears	—	—	—	—	—	—	3	1

2.6.7.7E　　イヌ 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.008		0.04		0.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Ophthalmoscopy								
Swelling of the eyelids with conjunctival hyperemia and induration	—	—	—	—	—	—	—	3
Hematology								
White blood cells[3]	7.9x10^3/mm^3	7.6x10^3/mm^3	—	—	—	—	+108%**	—
Absolute segmented neutrophils[3]	4999/mm^3	4671/mm^3	—	—	—	—	+128%**	—
Absolute monocytes[3]	511/mm^3	374/mm^3	—	—	—	—	+119%*	—
Absolute eosinophils[3]	404/mm^3	375/mm^3	—	—	—	—	+205%**	—
Serum Chemistry	—	—	—	—	—	—	—	—
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—
Electrocardiogram	—	—	—	—	—	—	—	—
Organ Weights	—	—	—	—	—	—	—	—
Gross Pathology (number evaluated)	3	3	3	3	3	3	4	4
Skin lesions	—	—	—	—	2	1	4	4
Reddened eye	—	—	—	—	—	—	2	1
Histopathology (number evaluated)	3	3	3	3	3	3	4	4
Epithelial hyperplasia	—	—	—	—	2	1	4	4
Secondary inflammation	—	—	—	—	2	1	4	4
Postdose Evaluation:								
Number Evaluated	2	2	2	2	2	2	1	1
Hematology								
Absolute eosinophils[3]	345/mm^3	—	—	—	—	—	+123%*	—
Gross Pathology								
Reddened skin	—	—	2	—	—	—	1	1

2.6.7.7E　　イヌ 4 週間投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.008		0.04		0.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Postdose Evaluation (continued):								
Number Evaluated	2	2	2	2	2	2	1	1
Histopathology								
Epithelial hyperplasia	—	—	2	—	—	—	1	1
Secondary inflammation	—	—	2	—	1	1	1	1

[1] The first 3 animals/sex/group were euthanized following 4 weeks of dosing and the remaining 2 animals/sex/group were assigned to a 4-week nondosing (recovery) period.
[2] Two male and 2 female dogs from the 0.2 mg/kg/day group were sacrificed on Days 15, 20 or 22 prior to their scheduled necropsy because of marked drug-induced skin effects.
[3] For controls, group mean values are presented. For treated groups, percentage difference relative to control group values are shown.
*P < 0.05 and ** P < 0.01 using Dunnett' s test.
— =no noteworthy findings; AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; N/A=not applicable; No.=number; Ro330-0074/000=palovarotene.

2.6.7.7F　　イヌ 39 週間試験：26 週間投与中間評価を含む 39 週間投与毒性試験及び 13 週間回復性試験

Report Title: A 6/9-Month Oral (Capsule) Toxicity Study of RO3300074-000 with a 3-Month Recovery Period in Dogs (AT 7794) – supersedes AT 7756.

Test Article: Palovarotene

Report No. 1009654

Location in CTD: Module 4.2.3.2.10

Species/Strain: Dog/Beagle

Duration of Dosing: 39 weeks (with a 26-week interim sacrifice)

GLP Compliance: Yes

Initial Age: 18 to 23 months

Duration of Postdose: 13 weeks

Date of First Dose: [redacted]

Method of Administration: Oral gavage (capsule)

No Observed Effect Level: 0.006 mg/kg/day

Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.0002**		**0.0006**		**0.002**		**0.006**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Toxicokinetics: [Day 271 (F)/272 (M)]										
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	0.225	0.314	0.625	0.713	2.43	2.97	8.13	8.82
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	2.03	2.73	4.62	5.82	17.6	24.8	68.1	76.0
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Food Consumption	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Clinical Observations	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ophthalmoscopy	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Hematology	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum Chemistry	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Electrocardiogram	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Organ Weights	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Gross Pathology	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

2.6.7.7F　　イヌ 39 週間試験：26 週間投与中間評価を含む 39 週間投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.0002**		**0.0006**		**0.002**		**0.006**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Histopathology	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Postdose Evaluation:										
Number evaluated	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Noteworthy findings	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

[1] Three animals/sex/group were euthanized following 26 weeks of dosing, 4 animals/sex/group were euthanized following 39 weeks of dosing, and the remaining 2 animals/sex/group were assigned to an approximate 13-week nondosing (recovery) period.

— =no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24}$=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; N/A=not applicable; No.=number; RO3300074-000=palovarotene.

2.6.7.7G イヌ 39 週間試験：13 週間投与中間評価を含む 39 週間投与毒性試験及び 13 週間回復性試験

Report Title: RO3300074-003 (RARγ Agonist): A 39-Week Oral Gavage Chronic Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs with a 13-Week Interim Sacrifice and a 13-Week Recovery Period ([redacted] Study No. 07995, [redacted] Study No. 6131-408)

Test Article: Palovarotene

Report No. 1013980

Location in CTD: Module 4.2.3.2.11

Species/Strain: Dog/Beagle

Duration of Dosing: 39 weeks with a 13 week interim sacrifice

GLP Compliance: Yes

Initial Age: 12 months

Duration of Postdose: 13 weeks

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Oral gavage

No Observed Adverse-Effect Level: 0.04 mg/kg/day

Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.012**		**0.025/0.12**		**0.04**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetics (Day 268/267/268)[2]								
Palovarotene								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	10.3	8.07	86.9	56.7	35.1	40.3
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	117	88.2	752	718	384	401
M2								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	0.906	1.03	8.64	12.3	2.84	5.05
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	11.3	14.4	108	164	31.4	63.9
M3								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	0.544	0.445	4.56	6.58	1.72	1.98
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	6.50	5.99	55.8	88.2	20.8	27.0
M4a								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	1.33	1.59	11.8	19.6	4.40	7.60
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	16.8	22.2	197	285	51.4	107
M4b								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	0.184	0.164	1.58	3.01	0.676	0.792
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	2.67	2.60	26.1	46.3	9.01	11.5

2.6.7.7G　　イヌ 39 週間試験：13 週間投与中間評価を含む 39 週間投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.012		0.025/0.12		0.04	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund[3]	0	0	0	0	2	5	0	0
Body Weight	—	—	—	—	—	—	—	—
Food Consumption	—	—	—	—	—	—	—	—
Clinical Observations –up to 13-week interim sacrifice								
Number evaluated	10	10	10	10	10	10	10	10
Broken skin	4	3	3	4	3	2	3	4
Alopecia	1	—	—	—	—	—	—	1
Red conjunctivae	1	—	—	—	1	—	—	—
Red skin	7	4	7	6	8	9	10	10
Scab	6	2	6	5	3	5	6	6
Clinical Observations – After interim sacrifice								
Number evaluated	7	6	7	7	7	7	7	7
Broken skin	2	1	1	1	3	7	2	—
Alopecia	—	—	1	—	3	4	—	1
Aural discharge	—	—	—	—	7	4	4	3
Red conjunctivae	1	—	—	—	2	1	—	1
Red skin	4	2	4	4	7	7	6	5
Black Skin	—	—	—	—	2	2	—	—
Scab	—	1	2	1	7	7	7	3

2.6.7.7G　　イヌ 39 週間試験：13 週間投与中間評価を含む 39 週間投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.012**		**0.025/0.12**		**0.04**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Ophthalmoscopy								
Week 39								
Conjunctivitis	—	—	—	—	1	—	—	—
Week 52								
Conjunctivitis	N/A	N/A	N/A	N/A	1	—	N/A	N/A
Hematology	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum Chemistry	—	—	—	—	—	—	—	—
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—
Electrocardiogram	—	—	—	—	—	—	—	—
Organ Weights	—	—	—	—	—	—	—	—
Gross Pathology – Interim sacrifice (week 13)								
Number evaluated	3	3	3	3	3	3	3	3
Crusted areas on the skin (ears and cranium)	—	—	—	—	—	—	1	—
Gross Pathology – Terminal (week 39) and unscheduled sacrifice								
Number evaluated	4	4	4	4	7	7	4	4
Crusted areas on the skin	—	—	1	—	1	1	—	—
Crusted areas on the pinna	—	—	1	—	1	3	—	—
Abrasions of the pinna	—	—	—	—	1	—	—	—
Red areas on the pinna	—	—	—	—	1	—	—	—
Reddening of the skin	—	—	—	—	1	2	—	—
Diffuse alopecia of the skin	—	—	—	—	—	1	—	—

2.6.7.7G　　イヌ 39 週間試験：13 週間投与中間評価を含む 39 週間投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.012**		**0.025/0.12**		**0.04**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Histopathology – Interim Sacrifice (week 13)								
Number evaluated	3	3	3	3	3	3	3	3
Skin								
Fibrosis								
minimal	—	—	—	—	—	—	—	1
slight	—	—	—	—	—	—	1	—
Hypergranulosis								
minimal	—	—	—	—	—	1	1	3
slight	—	—	—	—	—	—	1	—
Hyperplasia epithelium								
minimal	—	—	—	—	—	—	1	—
moderately severe	—	—	—	—	—	—	1	—
Lymphohistiocytic infiltrates								
minimal	—	—	1	1	—	3	2	3
slight	—	—	—	—	—	—	1	—
Neutrophilic infiltrate								
minimal	—	—	—	1	—	—	1	2
Inflammatory exudates								
minimal	—	—	—	1	—	—	—	—

2.6.7.7G　　イヌ 39 週間試験：13 週間投与中間評価を含む 39 週間投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.012		0.025/0.12		0.04	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Histopathology – Terminal (week 39) and unscheduled sacrifice								
Number evaluated	4	4	4	4	7	7	4	4
Skin								
Erosions								
minimal	—	—	—	—	—	1	—	—
moderate	—	—	1	—	—	—	—	—
Hypergranulosis								
minimal	—	—	1	—	6	2	3	1
slight	—	—	—	—	1	5	—	—
Hyperplasia epithelium								
minimal	—	—	1	—	—	—	—	—
slight	—	—	—	—	—	1	—	—
Lymphohistiocytic infiltrates								
minimal	1	—	—	—	—	2	3	—
slight	—	—	—	—	1	—	—	—
Neutrophilic infiltrate								
minimal	—	—	—	—	—	1	—	—
Inflammatory exudates								
minimal	—	—	—	—	—	1	—	—
slight	—	—	—	—	—	1	—	—
moderate	—	—	1	—	—	—	—	—
Parakeratosis								
minimal	—	—	—	—	—	1	—	—

2.6.7.7G　　イヌ 39 週間試験：13 週間投与中間評価を含む 39 週間投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.012		0.025/0.12		0.04	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Histopathology – Terminal (week 39) and unscheduled sacrifice (continued)								
Number evaluated	4	4	4	4	7	7	4	4
Pinna								
Erosions								
minimal	—	—	—	—	1	—	—	—
slight	—	—	—	—	1	1	—	—
moderately severe	—	—	1	—	—	—	—	—
severe	—	—	—	—	—	1	—	—
Hemorrhage								
minimal	—	—	—	—	1	—	—	—
Hypergranulosis								
minimal	—	—	1	—	1	1	—	—
slight	—	—	—	—	1	2	—	—
Hyperplasia epithelium								
slight	—	—	—	—	1	2	—	—
moderate	—	—	1	—	1	1	—	—
Lymphohistiocytic infiltrates								
slight	—	—	—	—	1	3	—	—
moderate	—	—	—	—	1	—	—	—
Neutrophilic infiltrate								
minimal	—	—	—	—	—	1	—	—
slight	—	—	1	—	1	1	—	—

2.6.7.7G　　イヌ 39 週間試験②：13 週間投与中間評価を含む 39 週間投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.012		0.025/0.12		0.04	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Histopathology – Terminal (week 39) and unscheduled sacrifice (continued)								
Number evaluated	4	4	4	4	7	7	4	4
Pinna (continued)								
Inflammatory exudates								
moderately severe	—	—	1	—	—	1	—	—
severe	—	—	—	—	—	1	—	—
Parakeratosis								
minimal	—	—	—	—	1	1	—	—
slight	—	—	—	—	1	1	—	—
Postdose Evaluation:								
Number evaluated	3	2	3	3	N/A	N/A	3	3
Clinical Observations								
Aural discharge	—	—	—	—	N/A	N/A	1	2
Ocular discharge	—	1	1	1	N/A	N/A	1	3
Alopecia	—	—	—	—	N/A	N/A	—	1
Scabs	—	—	1	—	N/A	N/A	—	—
Red skin	—	—	—	1	N/A	N/A	3	1
Histopathology								
Number evaluated	3	2	3	3	N/A	N/A	3	3
Skin								
Lymphohistiocytic infiltrates								
slight	—	—	1	—	N/A	N/A	—	—

2.6.7.7G　　イヌ 39 週間試験②：13 週間投与中間評価を含む 39 週間投与毒性試験及び 13 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.012**		**0.025/0.12**		**0.04**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Postdose Evaluation (continued):								
Number evaluated	3	2	3	3	N/A	N/A	3	3
Histopathology (continued)								
Number evaluated	3	2	3	3	N/A	N/A	3	3
Skin (continued)								
Inflammatory exudates								
slight	—	—	—	—	N/A	N/A	1	—

[1] Initially, 10 animals/sex/dose received 0, 0.012, 0.025, or 0.04 mg/kg/day of palovarotene. On day 99, after the 13-week interim sacrifice, the dose of the mid-dose group was increased from 0.025 to 0.120 mg/kg/day and the remaining 7 animals/sex/group were treated for at least 39 weeks at this new high dose with no recovery period. In the 0, 0.012, and 0.04 mg/kg/day dose groups, 4 animals/sex/group were euthanized following 39 weeks of dosing and the remaining 3 animals/sex/group were assigned to a 13-week nondosing (recovery) period.

[2] 0.012 mg/kg/day: Day 268; 0.12 mg/kg/day: Day 267; 0.04 mg/kg/day: Day 268.

[3] A control female was humanely sacrificed during Week 5 due to aggressive behavior. Two males and 5 females receiving 0.12 mg/kg/day were sacrificed for human reasons during Week 19, 20, 22, 26, 33, 51 or 52 because of aural and skin lesions.

— =no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24}$=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; N/A=not applicable; No.=number; RARγ=retinoic acid receptor gamma; RO3300074-003=palovarotene.

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8A 細菌を用いる復帰突然変異試験

Test article: Palovarotene

Report Title: Evaluation of Ro 330-0074/000 for mutagenic activity in the ames test (Study No. 466M00). (*Amended Report*)

Test for Induction of: Gene mutation

No. of Independent Assays: 4[1]

Report No. 1003192

Strains: *Salmonella typhimurium* TA1535, TA97, TA98, TA100, and TA102

No. of Replicate Cultures: 3[2]

Location in CTD: Module 4.2.3.3.1.1

Metabolizing System: Liver S9 (from phenobarbital/5,6 benzoflavone treated male Sprague Dawley rats)

No. of Cells Analyzed/Culture: 100 µL of overnight culture (in the order of 10^8 cells) plated per plate

Vehicles: **For Test Article:** DMSO **For Positive Controls:** Deionized water or DMSO

GLP Compliance: Yes

Treatment: Plate incorporation and preincubation version of Ames test, incubation of plates at 37°C for ca 48 hours.

Date of Treatment: [redacted] to [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic Effects: Some toxicity in strains TA100 and TA102, preincubation test (-S9)

Genotoxic Effects: No mutagenic effects

2.6.7.8A 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Test article: Palovarotene

Method	**AME (Experiment 1)**									
Strain	**TA1535**		**TA97**		**TA98**		**TA100**		**TA102**	
Activation	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**
Positive controls conc. (µg/plate)	Number of revertant colonies per plate, mean (SD)									
2-nitrofluorene (0.5)					391 (23)					
ICR 191 (1)			3326(117)							
Sodium azide (1)	1185 (67)						573 (21)			
2-aminoanthracene (4)	23 (1)	183 (15)	256 (9)	926 (35)	42 (3)	998 (41)	195 (0)	2669 (180)	348 (31)	839 (94)
Mitomycin C (0.4)									1170 (18)	

Method	**AME (Experiment 1)**									
Strain	**TA1535**		**TA97**		**TA98**		**TA100**		**TA102**	
Activation	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**
Test article conc. (µg/plate)	Number of revertant colonies per plate, mean (SD)									
0	19 (3)	10 (4)	259 (14)	256 (16)	11 (2)	13 (1)[3]	143 (11)	170 (7)	327 (48)	301 (11)
50	20 (3)	7 (1)	270 (19)	277 (8)	13 (4)	17 (4)	146 (4)	173 (10)	290 (21)	247 (10)
158	12 (2)	10 (2)	277 (17)	260 (30)	15 (2)	14 (1)	120 (25)	167 (12)	270 (38)	261 (52)
500	17 (6)[4]	6 (4)[4]	245 (7)[4]	261 (29)[4]	10 (1)[4]	11 (7)[4]	95 (13)[4]	144 (10)[4]	249 (15)[4]	310 (62)[4]
1580	19 (4)[4]	8 (1)[5]	254 (37)[5]	240 (35)[5]	11 (8)[4]	14 (6)[5]	136 (19)[4]	120 (14)[5]	318 (39)[4]	257 (10)[5]
5000	18 (2)[5]	9 (3)[6]	253 (14)[5]	212 (37)[6]	13 (2)[5]	12 (7)[6]	167 (20)[5]	97 (12)[6]	346 (30)[5]	267 (9)[6]

2.6.7.8A 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Test article: Palovarotene

Method	**PRE (Experiment 2)**									
Strain	**TA1535**		**TA97**		**TA98**		**TA100**		**TA102**	
Activation	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**
Positive controls conc. (µg/plate)	Number of revertant colonies per plate, mean (SD)									
2-nitrofluorene (0.5)					390 (47)					
ICR 191 (1)			2848 (56)							
Sodium azide (1)	717 (36)						479 (51)			
2-aminoanthracene (4)	11 (0)	342 (1)	184 (6)	2601 (66)	34 (11)	2337 (75)	98 (1)	3364 (86)	364 (3)	894 (30)
Mitomycin C (0.4)									1071 (24)	

Method	**PRE (Experiment 2)**									
Strain	**TA1535**		**TA97**		**TA98**		**TA100**		**TA102**	
Activation	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**+S9**
Test article conc. (µg/plate)	Number of revertant colonies per plate, mean (SD)									
0	10 (5)	7 (5)	162 (13)	213 (14)	18 (7)	21 (4)	54 (2)	94 (19)	301 (13)	290 (13)
20	10 (2)	8 (3)	169 (9)	190 (9)	16 (1)	21 (5)	53 (12)	93 (12)	255 (13)[7]	330 (25)
63.2	8 (2)	10 (2)	182 (12)	205 (5)	15 (5)	21 (4)	48 (8)	96 (5)	198 (26)[7]	313 (13)
200	9 (4)	7 (4)	173 (13)	217 (6)	11 (6)	15 (2)	25 (6)[7]	97 (13)	120 (2)[7]	370 (43)
632	9 (4)[8]	13 (6)[4]	179 (18)[8]	191 (17)[4]	12 (7)[8]	12 (5)[4]	27 (5)[8]	83 (26)[4]	ND[7]	368 (34)[4]
2000	11 (1)[6]	11 (1)[6]	172 (12)[6]	191 (32)[6]	12 (1)[6]	20 (2)[6]	30 (4)[6]	85 (10)[6]	ND[9]	216 (21)[6]

Method	**PRE (Experiment 3)**			**PRE (Experiment 4)**	
Strain	**TA100**		**TA102**	**TA100**	
Activation	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**-S9**	**+S9**
Positive controls conc. (µg/plate)	Number of revertant colonies per plate, mean (SD)				
Sodium azide (1)	494 (10)			543 (46)	
2-aminoanthracene (4)	184 (2)	229 (12)		117 (4)	3671 (55)
Mitomycin C (0.4)			1001 (71)		

2.6.7.8A 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Test article: Palovarotene

Method	**PRE (Experiment 3)**			**PRE (Experiment 4)**	
Strain	**TA100[10]**		**TA102**	**TA100[11]**	
Activation	**-S9**	**+S9**	**-S9**	**-S9**	**+S9**
Test article conc. (µg/plate)	Number of revertant colonies per plate, mean (SD)				
0	114 (11)	142 (7)	278 (24)	78 (9)	109 (2)
0.158			300 (14)		
0.5			274 (17)		
1.58			299 (9)		
5	112 (9)		298 (27)		
15.8	95 (6)		291 (14)		
20		135 (15)			104 (12)
50	87 (19)		237 (13)[7]		
63.2		158 (11)			109 (9)
158	57 (12)[7]		222 (14)[7]		
200		152 (12)			129 (14)
500	31 (5)[7]		159 (19)[7]		
632		139 (7)[4]			95 (8)[4]
2000		144 (8)[6]			86 (12)[6]

1 One standard plate incorporation, one preincubation and two repeat preincubation assays.
2 Three plates per concentration (2 plates for positive controls).
3 Contaminated plate.
4 Precipitation of the test compound without influence on automatic counting.
5 Precipitation of compound, electronic counting, background growth not evaluable.
6 Precipitation of compound, necessitating manual counting, background growth not evaluated.
7 Toxic effect.
8 Precipitation of test compound making evaluation of background growth impossible.
9 Precipitation of the test compound preventing colony counting.
10 Since the spontaneous reversion rate of strain TA100 in the preincubation assay was rather low and varied substantially without and with S9, the experiment with this strain was repeated.
11 The experiment with TA 100 (+S9) was rerun a second time, since the positive control was not satisfactory.

AME=plate incorporation; conc.=concentration; CTD=common technical document; DMSO=dimethyl sulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; ND=not determined; No.=number; PRE=preincubation; Ro 330-0074/000=palovarotene; SD=standard deviation.

2.6.7.8B 哺乳類細胞（ヒトリンパ球）を用いる染色体異常試験

Test article: Palovarotene

Report Title: Ro 330-0074/000: Chromosome aberration test with human peripheral blood lymphocytes – Study No.: 453 M 00

Test for Induction of: Chromosomal aberration

No. of Independent Assays: a) 3; b) 3

Report No. 1002681

Strains: Human peripheral blood lymphocytes

No. of Replicate Cultures: a) 2[1]; b) 2[2]

Location in CTD: Module 4.2.3.3.1.2

Metabolizing System: a) none; b) Liver S9 (from phenobarbital/5,6 benzoflavone treated male Sprague Dawley rats)

No. of Cells Analyzed/Culture:
a) 100 (3h in 453 M 00/3); 200 (other conditions)
b) 100 (3h and 5h in 453 M 00/3); 200 (other conditions)

Vehicles: **For Test Article:** DMSO **For Positive Controls:** DMSO

GLP Compliance: Yes

Treatment: Pulse treatment in medium with reduced serum content (453 M 00/1 and 453 M 00/3); Continuous treatment in the absence of metabolic activation (453 M 00/2); Pulse treatment in the presence of metabolic activation (453 M 00/2 and 453 M 00/3)

Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic Effects: a) reduced mitotic index; b) reduced mitotic index

Genotoxic Effects: a) Positive at highly cytotoxic concentrations; b) Positive at highly cytotoxic concentrations

2.6.7.8B 哺乳類細胞（ヒトリンパ球）を用いる染色体異常試験（続き）

Test article: Palovarotene

Test article	Concentration (µg/mL)	MI (%)	S-cells (%)	U-cells (%)	P-cells (%)
Data in the absence of metabolic activation (S-9)					
Treatment 3h, recovery 21h (453 M 00/1)					
Negative controls	0	11.8	4.0	1.0	0.0
Palovarotene	20	8.6	3.0 NS	0.5	0.0
Palovarotene	36	8.9	5.5 NS	1.0	0.9
Palovarotene	60	2.8	7.5 NS	2.2	1.1
Positive control (bleomycin)	3	8.4	26.0 **	0.0	
Treatment 3h, recovery 21h (453 M 00/3)					
Negative controls	0	17.6	1.5	0.0	NE
Palovarotene	36	14.5	6.0 *	1.0	NE
Palovarotene	42	10.5	5.0 NS	0.0	NE
Palovarotene	50	8.7	10.0 **	3.0	NE
Palovarotene	60	5.2	18.0 **	1.0	NE
Positive control (bleomycin)	3	11.8	22.0 **	6.0	
Treatment 24h (453 M 00/2)					
Negative controls	0	6.6	2.0	0.5	0.0
Palovarotene	10	4.7	4.0 NS	1.0	0.0
Palovarotene	18	4.7	5.0 NS	1.0	0.5
Palovarotene	30	1.5	3.6 NS	0.0	0.0
Positive control (bleomycin)	1	4.9	36.0 **	2.0	
Treatment 24h, recovery 24h (453 M 00/2)					
Negative control	0	7.0	0.0	0.0	0.0
Palovarotene	30	5.0	1.0 NS	0.0	0.0

2.6.7.8B 哺乳類細胞（ヒトリンパ球）を用いる染色体異常試験（続き）

Test article: Palovarotene

Test article	Concentration (µg/mL)	MI (%)	S-cells (%)	U-cells (%)	P-cells (%)
Data in the presence of metabolic activation (S-9)					
Treatment 3h, recovery 21h (453 M 00/1)					
Negative controls	0	11.8	3.5	1.0	0.0
Palovarotene	20	10.7	2.5 NS	1.0	0.0
Palovarotene	36	9.0	2.5 NS	1.0	0.0
Palovarotene	60	5.0	8.0 *	0.5	0.5
Positive control (cyclophosphamide)	15	5.4	24.0 **	6.0	
Treatment 3h, recovery 21h (453 M 00/3)					
Negative controls	0	15.5	2.5	0.0	NE
Palovarotene	36	9.1	2.0 NS	1.0	NE
Palovarotene	42	11.0	4.0 NS	0.0	NE
Palovarotene	50	9.5	6.0 NS	1.0	NE
Palovarotene	60	6.3	17.0 **	1.0	NE
Positive control (cyclophosphamide)	15	6.6	38.0 **	0.0	
Treatment 5h, recovery 19h (453 M 00/2)					
Negative controls	0	11.4	2.0	0.5	0.5
Palovarotene	30	6.6	2.5 NS	0.5	0.5
Palovarotene	50	8.8	4.5 NS	0.5	1.0
Palovarotene	88	3.5	9.1 **	0.0	2.4
Positive control (cyclophosphamide)	8	4.8	38.0 **	2.0	
Treatment 5h, recovery 43h (453 M 00/2)					
Negative controls	0	14.2	3.0	0.0	0.0
Palovarotene	88	10.6	10.0 *	1.0	4.0

2.6.7.8B　　哺乳類細胞（ヒトリンパ球）を用いる染色体異常試験（続き）

Test article: Palovarotene

Test article	Concentration (µg/mL)	MI (%)	S-cells (%)	U-cells (%)	P-cells (%)
Treatment 5h, recovery 19h (453 M 00/3)					
Negative controls	0	16.5	1.3	0.0	NE
Palovarotene	50	14.4	4.0 NS	1.0	NE
Palovarotene	60	15.1	6.0 *	1.0	NE
Palovarotene	73	11.9	5.0 NS	0.0	NE
Palovarotene	88	7.1	7.0 *	2.0	NE

[1] 2 (24 h, recovery 0 h) or 1 (other conditions).
[2] 2 (5 h, recovery 19 h) or 1 (other conditions).
* P ≤0.05; ** P <0.01 Fisher's Exact Test.
CTD=common technical document; DMSO=dimethyl sulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; MI=cells in mitosis; NE=not evaluated; No.=number; NS=not significant; P-cells=cells with numerical chromosome changes; Ro 330-0074/000=palovarotene; S-cells=cells with structural chromosome aberrations excluding gaps; U-cells=cells with gaps only.

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9A マウス骨髄小核試験

Test Article: Palovarotene

Report Title: Ro 330-0074/000: Micronucleus test in mouse bone marrow and toxicokinetics monitoring – Oral administration (gavage) – Study No 454M00 ([redacted] Study identification No. 925-M-00-330-0074/000-MU-MN). Amended report of the version with print date [redacted], 20[redacted].

Test for Induction of: Micronuclei in bone marrow cells

Treatment Schedule: Administration on two consecutive days

Report No. 1002682

Species/Strain: Mouse/Moro Albino

Sampling Time: One day after last administration (0.25, 1, 7, and 24h post-dose)

Location in CTD: Module 4.2.3.3.2.1

Age: 6 weeks

Method of Administration: Oral gavage

Cells Evaluated: Polychromatic erythrocytes

Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT

GLP Compliance: Yes

No. of Cells Analyzed/Animal: At least 4000 polychromatic erythrocytes

Date of Dosing: [redacted] 20[redacted]

Toxic/Cytotoxic Effects: Clinical signs of toxicity (hypoactivity)

Genotoxic Effects: None

Evidence of Exposure: At a dose of 25 mg/kg, palovarotene C_{max} values were 315 and 509 ng/mL (for males and females, respectively) and AUC_{0-24h} values were 3290 and 5800 ng•h/mL (for males and females, respectively).

Test Article	Dose (mg/kg/day)	No. of Animals	Ratio PCE/NCE	MN-NCE (%)	MN-PCE (%)
Oral doses on two consecutive days, harvest on the following day					
Negative control	0	5M/5F	0.95	0.13	0.16
Palovarotene	5	5M/5F	0.89	0.14	0.15
Palovarotene	12.5	5M/5F	1.12	0.07	0.14
Palovarotene	25	5M/5F	0.85	0.13	0.15
Single oral dose, harvest on the following day					
Positive control (cyclophosphamide)	30	5M/5F	1.19	0.09	1.42

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; MN=micronucleated; NCE=normochromatic erythrocytes; No.=number; PCE=polychromatic erythrocytes; Ro 330-0074/000=palovarotene.

2.6.7.10 がん原性試験

該当する試験なし

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Palovarotene

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Report Number/Location in CTD
Murine embryonic stem cells	*In vitro* (DMSO)	N/A	1.25×10^{-4} to 125 µg/mL	N/A	Palovarotene showed an embryotoxic (teratogenic) potential.	1027474/ Module 4.2.3.5.2.1
Rat/Wistar	Oral gavage (Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT)	GD 6 to 17[1]	0, 0.04, 0.5, 5.0 mg/kg/day	Repro: 10F Toxicokin: 2F	Findings in dams potentially related to the systemic toxicity of palovarotene were: • Reduced food consumption at 5.0 mg/kg/day • Encrustations around the mouth and eyes at 5.0 mg/kg/day Findings in dams and fetuses related to effects on reproduction were: • Fewer live fetuses/litter and additional resorption sites/dam at ≥0.5 mg/kg/day, with the magnitude of these effects increasing with dose level. • Lower fetal body weight at 5.0 mg/kg/day • Fetal malformations typical of retinoids at ≥0.5 mg/kg/day (e.g. cleft palate, misshapen skull bones, short long bones). At 5.0 mg/kg/day, the few fetuses recovered were totally malformed. Maternal and fetal NOEL the same = 0.04 mg/kg/day, which produced C_{max} and AUC_{0-24} values of 2 ng/mL and 24 ng·h/mL, respectively.	1002872/ Module 4.2.3.5.2.2

[1] The animals in the 5 mg/kg/day group were treated for 9 days (until and inclusive day 14 of gestation) only because at that stage these animals showed severe clinical findings and most of them had hemorrhagic discharge from vagina which were indicative of increased resorptions.

AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; DMSO=dimethyl sulfoxide; F=female; GD=gestation day; N/A=not applicable; No.=number; NOEL=no-observed-effect level.

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

2.6.7.12A 雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Report Title: An Oral Gavage Fertility and Early Embryonic Development Study of Palovarotene in Male Rats

Test Article: Palovarotene

Design Similar to ICH 4.1.1: Yes

Duration of Dosing: 9 weeks before cohabitation and during the 2-week cohabitation period, except for high dose group which was terminated on Day 39 due to adverse clinical signs

Duration of Recovery: 6 weeks (Groups 1 and 3)[1]

Report No. 9001429

Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD) Sprague Dawley

Day of Mating: F: Day 0 pc

Location in CTD: Module 4.2.3.5.1.1

Initial Age: Males: 11 to 12 weeks

Naïve Females: 12 to 13 weeks at start of the mating period

Day of C-Section: Day 13 pc

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Oral gavage

GLP Compliance: Yes

Special Features: Testes and epididymides histopatology

Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT

No Observed Adverse Effect Level:

F_0 Males: 1 mg/kg/day

F_1 Litters: 1 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.3	1	3
Number of Males[1]	**10 (22)**	**22**	**10 (22)**	**32**
Noteworthy Findings				
Number Died or Sacrificed Moribund	1[2]	0	0	32[3]
Body Weight (Day 64)[4]	717.6 g	-2.4%	-7.5%**	N/A
Body Weight Gains (Days -1 to 64)[4]	239.4 g	-8%	-23%**	N/A
Food Consumption (Days 1 to 7)[4]	28.00 g	-6%	-20%	-11%
Food Consumption (Days -1 to 64)[4]	30.76 g	-3%	-5%	N/A

2.6.7.12A　　雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.3	1	3
Number of Males[1]	**10 (22)**	**22**	**10 (22)**	**32**
Clinical Observations (Days 1-122) – Number of animals affected (number of occurrences)				
Thin fur – muzzle	1 (1)	3 (4)	19 (97)	30 (175)
Thin fur – forepaw left	3 (8)	4 (16)	23 (143)	9 (27)
Thin fur – forepaw right	3 (18)	5 (17)	22 (146)	10 (33)
Thin fur – forelimb left	—	3 (21)	3 (38)	1 (1)
Thin fur – forelimb right	—	2 (18)	3 (43)	1 (1)
Thin fur – hindpaw left	—	—	6 (41)	1 (5)
Thin fur – hindpaw right	—	—	9 (72)	—
Thin fur – hindlimb left	—	—	3 (21)	10 (40)
Thin fur – hindlimb right	—	1 (7)	2 (10)	10 (41)
Thin fur – urogenital	—	—	2(15)	17(37)
Thin fur – periorbital left	—	2(4)	1(1)	—
Thin fur – periorbital right	—	1(2)	3(9)	—
Staining fur – periorbital left	—	2(3)	—	—
Staining fur – periorbital right	1(1)	1(1)	3(3)	—
Skin discolored - muzzle	—	—	—	3(3)
Skin discolored - forepaw left	—	—	1(7)	—
Skin discolored - forepaw right	—	—	1(13)	—
Skin discolored – hindpaw left	—	1(1)	—	—
Skin discolored – hindlimb right	—	—	1(3)	—
Skin discolored – pinna left	1(1)	3(10)	27(142)	—
Skin discolored – pinna right	1(1)	2(6)	27(136)	—
Skin scab – muzzle	1(4)	3(3)	5(8)	—
Skin scab - forepaw left	—	1(3)	2(14)	—

2.6.7.12A　　雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.3	1	3
Number of Males[1]	**10 (22)**	**22**	**10 (22)**	**32**
Clinical Observations (Days 1-122) – Number of animals affected (number of occurrences)(continued)				
Skin scab - forepaw right	—	—	3(5)	—
Skin scab – forelimb left	—	1(3)	—	—
Skin scab – forelimb right	—	—	1(5)	—
Skin scab – hindpaw left	2(2)	2(2)	1(1)	—
Skin scab – hindpaw right	—	1(1)	1(3)	—
Skin scab – hindlimb left	1(1)	1(1)	—	—
Skin scab – hindlimb right	—	—	1(6)	—
Skin scab – urogenital	1(1)	1(2)	1(1)	—
Hypersensitivity	5(13)	4(18)	14(78)	6(21)
Vocalization	4(11)	2(8)	8(10)	6(17)
Gross Pathology	—	—	—	N/A
Organ Weights	—	—	—	N/A
Histopathology – Spermatogenic Cycle Assessment	—	—	—	N/A
Male Reproductive Assessment	—	—	—	N/A
Parental Performance				
Mean Number Days Prior to Mating	2.9	—	—	N/A
Number of Males that Mated	27	—	—	N/A
Number of Fertile Males	26	—	—	N/A

2.6.7.12A 雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.3	1	3
Number of Males[1]	**10 (22)**	**22**	**10 (22)**	**32**
Ovarian and Uterine Findings				
Number evaluated (pregnant females)	25	19	28	N/A
Total number of corpora Lutea	18.4	—	—	N/A
Total number of implantation sites	16.9	—	—	N/A
Live Embryos	15.0	—	—	N/A
Dead embryos	0.0	—	—	N/A
Early resorptions	1.9	—	—	N/A
Preimplantation loss	8.60%	—	—	N/A
Post implantation loss	10.90%	—	—	N/A

[1] Main study males were euthanized after completion of the mating period on Day 79/80/81 (Week 12). As no treatment-related finding were observed in the main study animals, Group 1 (0 mg/kg, control) and 3 (1 mg/kg) recovery males designed in parentheses were euthanized on Day 126 (Week 18).
[2] One control male was found dead on Study Day 43. The cause of death could not be determined.
[3] One high dose male was prematurely euthanized on Study Day 30 due to poor condition and body weight loss. On Day 39, all the remaining males from the 3 mg/kg/day group were euthanized due to adverse clinical observations (including fur thin cover, skin redness or scabbing of the muzzle, urogenital area and/or hindlimbs) and significantly reduced body weight gains and food intake.
[4] 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).
** P≤0.01 using Dunnett's test.
— =no noteworthy finding; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CTD=common technical document; F=female; F_0=parent generation; F_1=filial generation; GLP=Good Laboratory Practice; ICH= International Conference for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; N/A=not applicable; No.=number; pc=postcoitum.

2.6.7.12B　　雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Report Title: An Oral Gavage Fertility and Early Embryonic Development Study of Palovarotene in Female Rats

Test Article: Palovarotene

Design Similar to ICH 4.1.1: Yes

Duration of Dosing: F_0 Females: 14 days before cohabitation, during cohabitation, and continuing until Day 7 postcoitum (i.e. of gestation)

Report No. 9001478

Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD) Sprague Dawley

Day of Mating: Day 0 pc

Location in CTD: Module 4.2.3.5.1.2

Initial Age: 10 to 12 weeks

Day of C-Section: Day 13 pc

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Oral gavage

GLP Compliance: Yes

Special Features: None

Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT

No Observed Adverse Effect Level:

F_0 Females: 1 mg/kg/day

F_1 Litters: 1 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.3	1	3
Number of Females	**22**	**22**	**22**	**22**
Noteworthy Findings				
Number Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1[1]
Premating Body Weight Gain[2]	20.9 g	—	—	-112%*
Gestation Body Weight Gain[2]				
Day 0 to 7 pc	39.7 g	—	—	-34%*
Day 7 to 13 pc	38.7 g	—	—	+21%**
Premating Food Consumption[2]	19.29 g	—	—	-8.8%
Gestation Food Consumption[2]				
Day 0 to 7 pc	23.95 g	—	—	-15.8%
Day 7 to 13 pc	27.78 g	—	—	—

2.6.7.12B　　雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.3	1	3
Number of Females	**22**	**22**	**22**	**22**
Clinical Observations – Number of animals affected (number of occurrences)				
Dry skin - tail				
Day 0 to 13 pc	5 (10)	8 (22)	6 (17)	7 (26)
Dry skin - mouth				
Day 0 to 13 pc	—	—	—	5 (18)
Discolored skin - pinna right				
Day 0 to 13 pc	—	—	1 (1)	11 (40)
Discolored skin - pinna left				
Day 0 to 13 pc	—	—	1 (1)	11 (40)
Discolored skin - mouth				
Day 0 to 13 pc	—	—	—	11 (45)
Discolored skin - muzzle				
Day 0 to 13 pc	—	—	—	10 (38)
Dehydrated suspected				
Day 0 to 13 pc	—	—	—	4 (14)
Gross Pathology	—	—	—	—
Ovary weights	—	—	—	—
Mean Number of Days in Estrus/14 days	3.4	—	—	2.1
Mean Number Estrous cycles/14 days	3.0	—	—	2.3
Mean Number Days Prior to Mating	2.5	—	—	—
Number of Females Sperm Positive	22	—	—	—
Number of Pregnant Females	21	—	—	—
Number with Total Resorption of Litter	1.3	—	—	—

2.6.7.12B　　雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.3	1	3
Number of Females	**22**	**22**	**22**	**22**
Mean Number Corpora Lutea	19.3	—	—	16.1
Mean Number Implantations	18.0	—	—	14.2**
Mean % Preimplantation Loss	5.97	—	—	—
Mean Number Live Conceptuses	16.7	—	—	13.5**
Mean Number Early Resorptions	1.3	—	—	—
Number Dead Conceptuses	0.0	—	—	—
Mean % Postimplantation Loss	7.24	—	—	—

[1] One high dose female was preterminally euthanized on Study Day 14 due to skin lesion. This early euthanasia was not considered Palovarotene-related.
[2] 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).
* P≤0.01using Dunnett's test. ** P≤0.01 using Dunn's test.
— =no noteworthy finding; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CTD=common technical document; F_0=parent generation; F_1=filial generation; GLP=Good Laboratory Practice; ICH= International Conference for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; No.=number; pc=postcoitum.

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

Report Title: RO3300074-000: Segment II: Oral Study for Effects on Embryo-Fetal Development in the Rat (Study No. 005R01, Sponsor's Reference No. 02-R-01-3300074-000-PO-TT)

Test Article: Palovarotene

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes

Duration of Dosing: from day 6 through day 17 of gestation

Report No. 1003177

Species/Strain: Rat/Wistar

Day of Mating: Day 0

Location in CTD: Module 4.2.3.5.2.3

Initial Age: 9 weeks

Day of C-Section: Day 21 of gestation

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Oral gavage

GLP Compliance: Yes

No Observed Adverse-Effect Level: 0.01 mg/kg/day

Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT

F_0 Females: 0.01 mg/kg/day

F_1 Litters: 0.01 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.01	0.25	1.25
Dams				
Toxicokinetics (Day 17 of gestation, n=3)[1]				
Palovarotene (RO3300074)				
C_{max} (ng/mL) at GD17	N/A	0.721	22.3	80.1
AUC_{0-24} (ng•h/mL) at GD17	N/A	8.65	268	1000
Number Evaluated	24	24	24	24
Number Pregnant	20	22	22	23
Number Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations (number of animals)				
Encrustation in the angle of mouth GD6 to 17	—	—	3	10
Encrustation in the angle of mouth GD18 to 21	—	—	3	8
Gross Pathology	—	—	—	—
Body Weight GD21[2]	291 g	—	—	—
Body Weight Gain GD6 to 21[2]	24.8 g	—	-6.5%	-47%**

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.01	0.25	1.25
Dams (continued)				
Number Evaluated	24	24	24	24
Number Pregnant	20	22	22	23
Food Consumption GD6 to 12[2]	20g	—	—	-5.0%**
Food Consumption GD12 to 18[2]	21 g	—	—	-9.5%**
Food Consumption GD18 to 21[2]	21 g	—	—	-4.8%**
Median Number Corpora Lutea	13.0	—	—	—
Median Number Implantations	12.5	—	—	—
Median % Preimplantation Loss per animal	7.7	—	—	—
Litters				
Number Evaluated	16	16	17	21
Median Number Live Fetuses	11.5	—	—	—
Median Number Resorptions	0.0	—	—	—
Median Number Dead Fetuses	0.0	—	—	—
Median % Postimplantation Loss per animal	0.0	—	—	—
Median Fetal Body Weight (g)	5.1	—	—	4.9
Fetal Sex Ratios (% males)	48.9	—	—	—
Fetal Anomalies				
Number Evaluated	15	15	17	21
Gross External Anormalities				
Total external - body: Number fetuses (%)	2.2	—	—	99.1
Total external - body: Number litters (%)	20.0	—	—	100.0
Visceral Anomalies				
Total soft tissue - body: Number fetuses (%)	0.0	—	1.0	91.0
Total soft tissue - body: Number litters (%)	0.0	—	5.9	95.2

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.01	0.25	1.25
Litters (continued)				
Number Evaluated	16	16	17	21
Fetal Anomalies (continued)				
Number Evaluated	15	15	17	21
Skeletal Anomalies				
Total Skeletal - body: Number fetuses (%)	4.7	—	3.4	100
Total Skeletal - body: Number litters (%)	26.7	—	17.6	100

[1] 3 females/group for toxicokinetic investigation only.
[2] At end of gestation. For controls, group medians are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
** P≤0.01 using Jonckheere Test.
— =no noteworthy findings; AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F_0=parent generation; F_1=filial generation; GD=gestational day; GLP=Good Laboratory Practice; ICH= International Conference for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; N/A=not applicable; No.=number; RO3300074-000=palovarotene.

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

該当する試験なし

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験

2.6.7.15A 幼若ラットを用いた３週間反復投与用量設定試験

Test Article: Palovarotene

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Sex and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Report Number/ Location in CTD
1-week-old Rat/Wistar	Oral gavage (Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT)	3 weeks	Phase I: 0, 0.3, 1.0, 3.0[1] Phase II: 0, 0.03 and weekly escalating dose levels of 0.03, 0.1, 0.3	Phase I: 12/sex Phase II: 8/sex	0.03	<u>0.03 mg/kg/day</u> • No adverse effects <u>0.03/0.1/0.3 mg/kg/day</u> • Few skeletal effects by x-ray in femur, tibia/fibula, lower serum ALP activity <u>≥0.3 mg/kg/day</u> • Not tolerated; dosing stopped early • Widespread skeletal effects by x-ray and histopathology – abnormal bone shape and size, thinning/closure of physes, increased woven bone in calvarium around sutures, sternebral fractures; evident also was lower growth rate, lower serum ALP activity, lower femoral and tibial length and width measurements • Skin effects including dry skin, thin fur cover, excessive scratching • Rapid, shallow, and/or labored breathing in a few rats • Greater serum CK activity and urea <u>≥1 mg/kg/day</u> • Dark discoloration/foci/areas in esophagus	9000317/ Module 4.2.3.5.4.1

2.6.7.15A 幼若ラットを用いた３週間反復投与用量設定試験（続き）

Test Article: Palovarotene

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Sex and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Report Number/ Location in CTD
2-week-old Rat/Wistar	Oral gavage (Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT)	3 weeks	0 and weekly escalating dose levels of 0.1, 0.3, 0.5	8/sex	NI	• Few skeletal effects by x-ray in femur, tibia, radius, ulna, calcaneum • Lower serum ALP activity • Greater serum creatinine kinase activity • Lower growth rate	9000317/ Module 4.2.3.5.4.1
3-week-old Rat/Wistar	Oral gavage (Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT)	3 weeks	0, 0.1, 0.5, 2.5	8/sex	0.1	<u>All dose levels</u> • Skin effects that included thin fur cover, scabs <u>0.1 mg/kg/day</u> • No adverse effects <u>0.5 mg/kg/day</u> • Few skeletal effects by x-ray in femur, tibia, radius, calcaneum • Lower femoral and tibial length and width measurements <u>2.5 mg/kg/day</u> • One female was euthanized early on Day 38pp. • Clinical signs of shallow breathing, decreased activity, lying on side in three rats, uncoordination, labored breathing, weakness, lack of righting reflex or hunched posture • Widespread skeletal effects by x-ray – abnormal bone shape and size, thinning/closure of physes; evident also as lower growth rate, lower serum ALP activity • Rapid breathing in most rats • Greater serum chloride and urea • Abdominal distension in females	9000317/ Module 4.2.3.5.4.1

[1] Animals were to receive daily oral doses of palovarotene at 0, 0.3, 1, or 3 mg/kg/day for three weeks. Because of adverse clinical signs and mortality, animals were dosed only for two days at 3 mg/kg/day, for up to three days at 1 mg/kg/day and for up to 11 days at 0.3 mg/kg/day.

ALP=alkaline phosphatase; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; CK=creatine kinase; CTD=common technical document; NOAEL=no-observed-adverse-effect level.

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験

Report Title: A 6-Week Oral Gavage Toxicity Study of Palovarotene in 3- to 9-Week-Old Rats, Followed by a 6-Week Recovery Period

Test Article: Palovarotene

Report No. 6700132

Location in CTD: Module 4.2.3.5.4.2

Species/Strain: Rat/Wistar

Duration of Dosing: 6 weeks

GLP Compliance: Yes

Initial Age: 21 days

Duration of Postdose: 6 weeks

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Oral gavage

Special Features: Biomarkers of bone turnover, bone measurements, radiograph, histomorphometry, ex vivo densitometry by dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) and peripheral quantitative computed tomography (pQCT)

No Observed Adverse-Effect Level: 0.1 mg/kg/day

Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.1**		**0.5**		**1.2**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**22 (9)**	**22 (9)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**
Toxicokinetics: (Day 62 postpartum)								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	10.8	14.0	47.8	99.1	92.0	138
$AUC_{0\text{-}last}$ (ng•h/mL)	N/A	N/A	57.9	87.0	300	430	575	787
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (Day 63 postpartum)[2]	281.1 g	174.3 g	—	—	-4.6%	-6.2%	-26%*	-26%*
Body Weight Gain (Day 21 to 62 postpartum)[2]	233.1 g	132.6 g	—	—	-8.5%*	-10%*	-29%*	-34%*
Food Consumption[2]	19.5 g	12.9 g	—	—	—	—	-29%	-28%
Crown to Rump Length[2]	17.20 cm	15.23 cm	—	—	—	—	-11%*	-13%*
Clinical Observations	—	—	—	—	—	—	—	—
Hematology	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum Chemistry								
ALP[2]	146.5 U/L	97.0 U/L	—	—	—	-16%	-26%*	-36%*

2.6.7.15B　幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.1**		**0.5**		**1.2**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**22 (9)**	**22 (9)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**
Urinalysis								
Urine volume[2]	10.94 mL	7.42 mL	—	—	-45%	-62%	-61%	-90%*
Specific gravity[2]	1.0227	1.0251	—	—	+56%	+11%	+26%	+73%
pH[3]	6.0 to 7.0	6.0 to 7.0	—	—	—	—	6.0 to 6.5	5.5 to 6.5
Bone Markers								
Osteocalcin[2]	1257 ng/mL	884 ng/mL	-15%*	-1%	-22%*	-18%*	-29%*	-31%*
PINP[2]	133.6 ng/mL	51.2 ng/mL	-17%	-3%	-26%*	-25%*	-37%*	-31%*
CTx[2]	46.8 ng/mL	37.9 ng/mL	-14%	-7%	-7%	-16%*	-7%	-21%*
DPD	203 nM/mM Cr	—	—	—	—	—	—	—
Bone Measurements								
Femur Length[2]	32.2 mm	29.0 mm	—	—	-5%	-5%*	-30%**	-32%*
Femur Width[2]								
Mid shaft	3.66 mm	3.33 mm	—	—	-11%*	-6%	-25%*	-32%*
Metaphysis	5.08 mm	4.18 mm	—	—	-11%*	-10%*	-35%*	-35%*
Tibia Length[2]	37.2 mm	33.9 mm	—	—	-7%**	-6%**	-25%**	-27%**
Tibia Width[2]	2.62 mm	2.52 mm	—	—	-11%	-8%	-22%*	-29%*
Radiological Evaluation[4]								
Abnormal Shape								
Moderate	—	—	—	—	—	—	2	—
Marked	—	—	—	—	—	—	9	11
Bone Production, enlargement								
Moderate	—	—	—	—	—	—	10	11
Marked	—	—	—	—	—	—	1	—

2.6.7.15B　　幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.1**		**0.5**		**1.2**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**22 (9)**	**22 (9)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**
Radiological Evaluation[4] (continued)								
Bone Loss								
Minimal	—	—	—	—	2	8	—	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	5	4
Marked	—	—	—	—	—	—	6	7
Decreased physis thickness								
Slight	—	—	—	—	—	1	—	—
Massive	—	—	—	—	2	7	11	11
Increased physis thickness								
Moderate	—	—	—	—	—	—	11	11
Enlargement, increased vertebral space or intersternebral space								
Minimal	—	—	—	—	1	—	—	—
Slight	—	—	—	—	2	7	—	—
Moderate	—	—	—	—	—	1	11	11
Densitometry Evaluation[2]								
DXA								
Femur (global)								
Area	1.44 cm^2	1.16 cm^2	—	—	-15%**	-12%*	-42%**	-47%*
BMC	0.26 g	0.21 g	—	—	-23%**	-20%*	-49%**	-57%*
BMD	0.18 g/cm^2	0.18 g/cm^2	—	—	-9.1%*	-8.7%*	-13%*	-19%*

2.6.7.15B　　幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.1**		**0.5**		**1.2**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**22 (9)**	**22 (9)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**
Densitometry Evaluation[2] (continued)								
pQCT								
Femur Metaphysis								
Total								
Area	16.4 mm^2	12.8 mm^2	—	—	—	—	—	-21%**
BMD	504 mg/mm^3	599 mg/mm^3	—	—	—	—	+11%	+9%*
Cortical/Subcortical								
BMC	6.87 mg/mm	6.05 mg/mm	—	—	-8.0%*	—	—	—
BMD	699 mg/mm^3	789 mg/mm^3	—	—	—	—	—	+16%**
Femur Diaphysis								
Total								
Area	9.73 mm^2	8.02 mm^2	—	—	-20%*	-18%*	-38%*	-49%*
Cortical								
Area	4.83 mm^2	4.10 mm^2	—	—	-13%*	-12%*	-24%*	-35%*
BMC	5.46 mg/mm	4.63 mg/mm	—	—	-12%*	-11%*	-22%*	-32%*
CSMI	4.29 mm^4	3.11 mm^4	-10%	-14%	-34%*	-30%*	-48%*	-66%*
L4 Vertebral Body								
Total								
Area	6.70 mm^2	5.10 mm^2	—	—	-11%*	—	-19%*	-21%*
BMC	3.97 mg/mm	3.19 mg/mm	—	—	—	—	-20%*	-23%*
BMD	592 mg/mm^3	626 mg/mm^3	—	—	—	—	-1.8%	-3.0%
Trabecular								
BMC	0.76 mg/mm	0.69 mg/mm	—	—	—	—	-21%*	-28%*
BMD	325 mg/mm^3	390 mg/mm^3	—	—	—	—	-3.1%	-10%

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Histomorphometry Measurement								
Proximal tibia physeal plate thickness	332.4 µm	261.3 µm	—	—	+33%**	+60%**	+33%**	-59%
Histopathology								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Humerus								
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Minimal	—	—	—	—	2	—	1	—
Mild	—	—	—	—	3	—	2	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	5
Marked	—	—	—	—	—	—	8	6
Thinning/closure; physis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	—	2
Mild	—	—	—	—	—	—	1	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	2	1
Marked	—	—	—	—	—	—	3	1
Severe	—	—	—	—	—	—	1	4
Hypertrophy; physis								
Minimal	—	—	—	—	1	—	1	—
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	1	—
Mild	—	—	—	—	—	—	4	4
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	2

2.6.7.15B　　幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.1**		**0.5**		**1.2**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**22 (9)**	**22 (9)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Humerus (continued)								
Chondrodysplasia; articular								
Minimal	—	—	—	—	—	—	—	1
Mild	—	—	—	—	—	—	—	1
Thinning/closure; articular cartilage								
Minimal	—	—	—	—	—	—	—	1
Mild	—	—	—	—	—	—	—	1
Radius								
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Minimal	—	—	—	—	1	1	—	—
Mild	—	—	—	—	1	5	1	—
Moderate	—	—	—	—	5	5	9	4
Marked	—	—	—	—	—	—	1	7
Thinning/closure; physis								
Minimal	—	—	—	—	1	—	—	—
Mild	—	—	—	—	1	—	—	—
Moderate	—	—	—	—	—	2	—	—
Marked	—	—	—	—	1	—	2	—
Severe	—	—	—	—	5	9	9	11

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Radius (continued)								
Hypertrophy; physis								
Minimal	—	—	—	—	6	8	5	—
Mild	—	—	—	—	—	1	5	—
Chondrodysplasia; physis								
Mild	—	—	—	—	—	—	—	9
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	2
Ulna								
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Minimal	—	—	1	—	3	—	1	—
Mild	—	—	—	—	1	—	1	—
Moderate	—	—	—	—	1	—	4	4
Marked	—	—	—	—	—	—	5	7
Thinning/closure; physis								
Mild	—	—	—	—	—	—	1	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	2	—
Marked	—	—	—	—	—	—	6	6
Severe	—	—	—	—	—	—	—	5
Hypertrophy; physis								
Minimal	—	—	1	—	8	8	5	—
Mild	—	—	—	—	1	1	4	—

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Ulna (continued)								
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	2	—
Mild	—	—	—	—	—	—	1	8
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	3
Femur[5]								
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Minimal	—	—	—	—	3	2	—	—
Mild	—	—	—	—	2	5	1	—
Moderate	—	—	—	—	2	—	5	2
Marked	—	—	—	—	—	—	5	9
Necrosis; bone								
Minimal	—	—	—	—	—	—	2	2
Mild	—	—	—	—	—	—	2	2
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	3
Marked	—	—	—	—	—	—	—	1
Fracture								
Present	—	—	—	—	—	—	—	4
Thinning/closure; physis								
Minimal	—	—	—	—	1	—	—	—
Moderate	—	—	—	—	2	6	1	—
Severe	—	—	—	—	—	1	10	11

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Femur[5] (continued)								
Hypertrophy; physis								
Minimal	—	—	—	—	3	4	—	—
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	—	—	—	—	—	1	2	2
Mild	—	—	—	—	1	—	2	2
Chondrodysplasia; articular								
Minimal	—	—	—	—	—	—	3	—
Mild	—	—	—	—	2	—	5	4
Moderate	—	—	—	—	—	—	1	4
Degeneration; articular cartilage								
Minimal	—	—	—	—	—	—	—	2
Mild	—	—	—	—	—	—	1	1
Severe	—	—	—	—	—	—	—	1
Tibia								
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Minimal	—	—	—	—	1	—	—	—
Mild	—	—	—	—	—	—	1	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	7	6
Marked	—	—	—	—	—	—	3	5

2.6.7.15B　　幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Tibia (continued)								
Thinning/closure; physis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	—	1
Mild	—	—	—	—	—	—	1	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	2	1
Marked	—	—	—	—	—	—	—	4
Severe	—	—	—	—	—	—	1	4
Hypertrophy; physis								
Minimal	—	—	—	—	10	6	3	—
Mild	—	—	—	—	—	1	1	—
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	3	2
Mild	—	—	—	—	—	—	2	3
Chondrodysplasia; articular								
Minimal	—	—	—	—	—	—	1	—
Mild	—	—	—	—	—	—	1	1
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	1

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Hindpaw								
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Minimal	—	—	—	—	2	—	—	—
Mild	—	—	—	—	2	1	1	—
Moderate	—	—	—	—	1	9	6	10
Marked	—	—	—	—	—	—	4	1
Thinning/closure; physis								
Minimal	—	—	—	—	1	—	—	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	1	—
Marked	—	—	—	—	2	1	3	—
Severe	—	—	—	—	1	10	7	11
Hypertrophy; physis								
Minimal	—	—	—	—	2	1	—	—
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	—	—	—	—	1	—	—	—
Lumbar Vertebrae (L5—L6)								
Decreased bone; epiphysis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	—	1
Moderate	—	—	—	—	—	—	1	—
Marked	—	—	—	—	1	—	3	1
Severe	—	—	—	—	10	11	7	7

2.6.7.15B　　幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Lumbar Vertebrae (L5—L6)(continued)								
Decreased bone								
Minimal	—	—	—	—	1	—	3	—
Mild	—	—	—	—	—	1	4	8
Moderate	—	—	—	—	—	—	1	2
Thinning/closure; physis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	1	—
Mild	—	—	—	—	—	—	1	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	4	8
Hypertrophy; physis								
Minimal	—	—	—	—	1	1	—	3
Mild	—	—	—	—	—	1	2	1
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	—	—	—	—	2	2	4	3
Mild	—	—	—	—	1	1	5	7
Sternum								
Hypertrophy, cartilage								
Minimal	—	—	—	—	—	—	3	2
Mild	—	—	—	—	—	—	8	9
Decreased bone								
Minimal	—	—	—	—	2	2	2	2
Mild	—	—	—	—	—	—	9	9

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Sternum (continued)								
Chondrodysplasia; articular								
Mild	—	—	1	—	1	—	—	—
Miscellaneous Bone[6]								
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Mild	NE	NE	—	—	—	—	—	1
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	8	5
Marked	NE	NE	—	—	—	—	3	4
Severe	NE	NE	—	—	—	—	—	1
Decreased bone; epiphysis								
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	—	8
Marked	NE	NE	—	—	—	—	—	3
Decreased bone								
Minimal	NE	NE	—	—	4	2	—	—
Mild	NE	NE	—	—	4	1	4	5
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	5	4
Marked	NE	NE	—	—	—	—	2	2

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**22 (9)**	**22 (9)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Miscellaneous Bone[6] (continued)								
Thinning/closure; physis								
Minimal	NE	NE	—	—	—	1	—	—
Mild	NE	NE	—	—	—	1	—	—
Moderate	NE	NE	—	—	2	1	—	2
Marked	NE	NE	—	—	1	—	1	—
Severe	NE	NE	—	—	—	—	10	9
Hypertrophy; physis								
Minimal	NE	NE	—	—	1	1	4	6
Mild	NE	NE	—	—	—	1	2	4
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	NE	NE	—	—	2	—	—	2
Mild	NE	NE	—	—	—	—	2	2
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	1	—
Chondrodysplasia; articular								
Minimal	NE	NE	—	—	1	—	1	—
Mild	NE	NE	—	—	—	—	2	5
Moderate	NE	NE	—	—	1	—	—	2
Hypertrophy; articular cartilage								
Mild	NE	NE	—	—	—	1	4	1
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	7	9

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**22 (9)**	**22 (9)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Miscellaneous Bone[6] (continued)								
Thinning/closure; articular cartilage								
Minimal	NE	NE	—	—	—	—	—	3
Mild	NE	NE	—	—	—	—	—	1
Moderate	NE	NE	—	—	—	1	—	—
Severe	NE	NE	—	—	—	—	—	2
Hemorrhage; articular/periarticular								
Minimal	NE	NE	—	—	—	—	—	2
Mild	NE	NE	—	—	—	—	1	4
Fibrosis; articular/periarticular								
Minimal	NE	NE	—	—	—	—	—	1
Mild	NE	NE	—	—	—	—	1	1
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	—	3
Postdose Evaluations (number evaluated)	11	11	11	11	11	11	11	11
Body Weight Gain (Day 63 to 98 postpartum)[2]	92.2 g	39.5 g	—	—	—	—	-17%**	-23%*
Food Consumption[2]	23.6 g	14.0 g	—	—	—	—	-27%	-24%
Urinalysis								
Urine volume[2]	9.41 mL	12.50 mL	—	—	—	—	—	-68%

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	**22 (9)**	**22 (9)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)	11	11	11	11	11	11	11	11
Bone Measurement								
Femur Length[2]	36.0 mm	31.7 mm	—	—	-4%	-5%	-37%**	-38%**
Femur Width[2]								
Mid shaft	4.05 mm	3.58 mm	—	—	-8%*	-14%*	-19%*	-28%*
Metaphysis	5.25 mm	4.35 mm	—	—	-6%	—	-28%*	-27%*
Tibia Length[2]	40.2 mm	36.2 mm	—	—	-3%	-7%**	-29%**	-30%**
Tibia Width[2]	2.95 mm	2.63 mm	—	—	-6%	-10%*	-16%*	-23%*
Radiological Evaluation[4]								
Abnormal Shape								
Moderate	—	—	—	—	—	2	1	4
Marked	—	—	—	—	—	—	10	7
Bone Formation, enlargement								
Minimal	—	—	—	—	—	1	—	—
Slight	—	—	—	—	3	1	2	—
Moderate	—	—	—	—	1	1	9	11
Bone Loss								
Minimal	—	—	—	—	2	—	—	—
Slight	—	—	—	—	1	2	—	—
Moderate	—	—	—	—	—	2	6	5
Marked	—	—	—	—	—	—	5	6

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.1**		**0.5**		**1.2**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**22 (9)**	**22 (9)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)	11	11	11	11	11	11	11	11
Radiological Evaluation[4] (continued)								
Decreased physis thickness								
Minimal	—	—	—	—	—	—	1	—
Slight	—	—	—	—	—	—	1	—
Massive	—	—	—	—	—	—	9	11
Increased physis thickness								
Minimal	—	—	—	—	7	3	—	—
Slight	—	—	—	—	—	2	3	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	5	11
Enlargement, increased vertebral space or intersternebral space								
Minimal	—	—	—	—	6	1	—	—
Slight	—	—	—	—	5	3	—	—
Moderate	—	—	—	—	—	5	11	11
Densitometry Evaluation[2]								
DXA								
Femur (global)								
Area	1.85 cm^2	1.43 cm^2	—	—	-9%**	-11%*	-46%**	-48%*
BMC	0.46 g	0.33 g	—	—	-11%*	-13%*	-49%*	-52%*
BMD	0.25 g/cm^2	0.23 g/cm^2	—	—	—	—	—	-8%*

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)		**0 (control)**		**0.1**		**0.5**		**1.2**	
		M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]		**22 (9)**	**22 (9)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)		11	11	11	11	11	11	11	11
Densitometry Evaluation[2] (continued)									
pQCT									
Femur Metaphysis									
Area									
Total		16.4 mm^2	12.6 mm^2	—	—	—	—	+59%**	+17%
BMD									
Cortical/Subcortical		907 mg/mm^3	997 mg/mm^3	—	—	—	-6%**	—	—
pQCT									
Femur Diaphysis									
Area									
Total		10.45 mm^2	8.05 mm^2	—	—	—	-12%*	-22%**	-38%*
Cortical		6.39 mm^2	5.03 mm^2	—	—	—	—	—	-22%*
Cortical Thickness		0.69 mm	0.62 mm	—	—	—	—	+20%**	+10%*
CSMI		5.64 mm^4	3.54 mm^4	—	—	—	—	-19%	-50%*
L4 Vertebral Body									
Area									
Total		7.17 mm^2	5.89 mm^2	—	—	—	—	—	-12%*
BMC									
Total		4.84 mg/mm	4.04 mg/mm	—	—	—	—	—	-14%*
Histomorphometry Measurement									
Proximal Tibia Physeal plate	Thickness	223.3 µm	202.9 µm	—	—	+14%**	—	+17%**	-30%

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)	11	11	11	11	11	11	11	11
Histopathology								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Humerus								
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	2	—
Mild	—	—	—	—	—	—	—	1
Moderate	—	—	—	—	—	—	7	7
Marked	—	—	—	—	—	—	—	3
Thinning/closure; physis								
Moderate	—	—	1	—	—	—	2	3
Marked	—	—	—	—	—	—	2	2
Severe	—	—	—	—	—	—	2	3
Hypertrophy; physis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	—	1
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	—	—	—	1	—	1	3	—
Mild	—	—	1	—	—	—	1	5
Moderate	—	—	—	—	—	—	1	—
Chondrodysplasia; articular								
Mild	—	—	—	—	—	—	1	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	1

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)	11	11	11	11	11	11	11	11
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Radius								
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	—	1
Mild	—	—	—	—	—	—	3	1
Moderate	—	—	—	—	—	—	4	3
Thinning/closure; physis								
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	1
Hypertrophy; physis								
Minimal	—	—	2	—	1	2	2	2
Mild	—	—	—	—	—	—	1	—
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	1	2
Mild	—	—	—	—	—	—	1	2
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	2
Increased bone; metaphysis								
Moderate	—	—	—	—	—	—	1	—

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)	11	11	11	11	11	11	11	11
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Ulna								
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Moderate	—	—	—	—	—	1	7	4
Marked	—	—	—	—	—	—	4	7
Thinning/closure; physis								
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	1
Marked	—	—	—	—	—	1	6	—
Severe	—	—	—	—	—	—	4	10
Hypertrophy; physis								
Minimal	—	—	—	—	3	4	2	3
Moderate	—	—	—	—	—	—	1	—
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	—	—	—	—	2	—	—	1
Mild	—	—	—	—	—	1	3	1
Increased bone; metaphysis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	1	—

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)	11	11	11	11	11	11	11	11
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Femur								
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Minimal	—	—	—	—	1	—	—	—
Mild	—	—	—	—	—	1	—	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	8	1
Marked	—	—	—	—	—	—	2	10
Severe	—	—	—	—	—	—	1	—
Necrosis; bone								
Minimal	—	—	—	—	—	—	3	4
Mild	—	—	—	—	1	—	1	1
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	1
Thinning/closure; physis								
Minimal	—	—	—	1	—	—	—	—
Mild	—	—	—	—	—	1	—	—
Moderate	—	—	—	—	1	3	—	—
Marked	—	—	—	—	—	2	1	—
Severe	—	—	—	—	—	1	10	11

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)	11	11	11	11	11	11	11	11
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Femur (continued)								
Hypertrophy; physis								
Minimal	—	—	—	—	1	1	—	—
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	—	—	—	—	2	3	—	—
Mild	—	—	—	—	1	—	1	1
Moderate	—	—	—	—	—	—	1	—
Chondrodysplasia; articular								
Minimal	—	—	—	—	—	1	5	—
Mild	—	—	—	—	1	—	—	4
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	1
Marked	—	—	—	—	—	—	—	2
Degeneration; articular cartilage								
Minimal	—	—	—	—	—	—	1	—
Increased woven bone; head, neck								
Minimal	—	—	—	—	3	3	3	1
Mild	—	—	—	—	—	1	7	2

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)	11	11	11	11	11	11	11	11
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Tibia								
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Mild	—	—	—	—	—	—	1	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	3	5
Marked	—	—	—	—	—	—	—	4
Thinning/closure; physis								
Moderate	—	—	—	—	—	—	2	1
Marked	—	—	—	—	—	—	—	2
Severe	—	—	—	—	—	—	1	5
Hypertrophy; physis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	1	—
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	7	1
Mild	—	—	—	—	—	—	1	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	1
Increased woven bone; metaphyseal cortex								
Minimal	—	—	—	—	—	1	4	1
Mild	—	—	—	—	—	—	2	—

2.6.7.15B　幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.1**		**0.5**		**1.2**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**22 (9)**	**22 (9)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)	11	11	11	11	11	11	11	11
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Tibia (continued)								
Exostosis, diaphysis								
Mild	—	—	—	—	—	—	1	—
Hindpaw								
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Minimal	—	—	—	—	2	—	—	—
Mild	—	—	—	—	2	1	2	—
Moderate	—	—	—	—	—	—	9	8
Marked	—	—	—	—	—	—	—	3
Lumbar Vertebraea (L5—L6)								
Decreased bone; epiphysis								
Minimal	—	—	—	—	1	—	—	2
Moderate	—	—	—	—	—	—	—	1
Marked	—	—	—	—	4	—	5	2
Severe	—	—	—	—	6	11	6	4
Decreased bone								
Mild	—	—	—	—	—	—	1	3
Moderate	—	—	—	—	—	—	9	4
Marked	—	—	—	—	—	—	1	—

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)	11	11	11	11	11	11	11	11
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Lumbar Vertebraea (L5—L6) (continued)								
Thinning/closure; physis								
Minimal	—	—	—	—	3	—	1	—
Mild	—	—	—	—	1	—	2	2
Moderate	—	—	—	—	—	—	3	2
Marked	—	—	—	—	—	—	—	3
Hypertrophy; physis								
Minimal	—	—	—	—	—	—	—	2
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	—	—	2	—	2	3	—	3
Mild	—	—	—	—	4	2	2	4
Moderate	—	—	—	—	1	—	9	1
Marked	—	—	—	—	—	—	—	1
Degeneration, intervertebral disc								
Moderate	—	—	—	—	—	—	1	—
Sternum								
Hypertrophy; cartilage								
Minimal	—	—	—	—	3	1	4	10
Mild	—	—	—	—	—	—	7	1

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)	11	11	11	11	11	11	11	11
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Sternum (continued)								
Decreased bone								
Minimal	—	—	—	—	—	2	3	5
Mild	—	—	—	—	—	1	7	4
Miscellaneous Bone[6]								
Decreased bone; epiphysis								
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	—	7
Marked	NE	NE	—	—	—	—	—	4
Decreased bone; epiphysis/metaphysis								
Mild	NE	NE	—	—	—	—	—	1
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	6	4
Marked	NE	NE	—	—	—	—	5	5
Severe	NE	NE	—	—	—	—	—	1
Thinning/closure; physis								
Mild	NE	NE	—	—	—	—	—	1
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	1	1
Marked	NE	NE	—	—	—	—	4	3
Severe	NE	NE	—	—	—	—	4	4

2.6.7.15B　　幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	**0 (control)**		**0.1**		**0.5**		**1.2**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[1]	**22 (9)**	**22 (9)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**	**22 (24)**
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)	11	11	11	11	11	11	11	11
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Miscellaneous Bone[6] (continued)								
Hypertrophy; physis								
Minimal	NE	NE	—	—	—	—	—	2
Mild	NE	NE	—	—	—	—	—	1
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	2	—
Chondrodysplasia; physis								
Minimal	NE	NE	—	—	—	—	—	2
Mild	NE	NE	—	—	—	1	1	5
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	2	3
Marked	NE	NE	—	—	—	—	1	1
Chondrodysplasia; articular								
Mild	NE	NE	—	—	—	—	7	1
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	3	4
Marked	NE	NE	—	—	—	—	1	—
Decreased bone								
Mild	NE	NE	—	—	—	—	3	1
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	7	9
Marked	NE	NE	—	—	—	—	1	1

2.6.7.15B 幼若ラットを用いた 6 週間投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (control)		0.1		0.5		1.2	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[1]	22 (9)	22 (9)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)	22 (24)
Postdose Evaluations (number evaluated) (continued)	11	11	11	11	11	11	11	11
Histopathology (continued)								
Number evaluated	11	11	11	11	11	11	11	11
Miscellaneous Bone[6] (continued)								
Hypertrophy; articular cartilage								
Minimal	NE	NE	—	—	4	—	1	1
Mild	NE	NE	—	—	—	3	5	8
Moderate	NE	NE	—	—	—	—	2	2
Hemorrhage; articular/periarticular								
Minimal	NE	NE	1	—	—	—	—	2
Mild	NE	NE	—	—	—	—	2	1
Fibrosis; articular/periarticular								
Mild	NE	NE	—	—	—	—	1	1
Calvarium								
Decreased bone								
Mild	NE	NE	—	—	—	—	—	1

[1] Eleven animals/sex/group were euthanized following 6 weeks of dosing and the remaining 11 animals/sex/group were assigned to a 6-week nondosing (recovery) period. For bone radiological evaluation, densitometry, histomorphometry and histopathology, eleven animals/sex/group were evaluated following 6 weeks of dosing and the remaining 11 animals/sex/group after a 6-week nondosing (recovery period). Toxicokinetic evaluation was conducted on satellite animals designated in parentheses. Three animals/sex for controls and 6 animals/sex for 0.1, 0.5 and 1.2 mg/kg/day groups for toxicokinetics evaluation.

[2] For controls, group mean values are presented. For treated groups, percentage difference relative to control group values are shown. Food consumption corresponding to the maximum effect: days 59-63 postpartum for males and days 56-59 postpartum for females during dosing; days 63-70 postpartum for males and days 77-84 postpartum for females during recovery. Percent differences for specific gravity were calculated after subtraction of the constant 1.000.

[3] The range observed in the group.

[4] Additional information on radiological changes observed. Abnormal shape: short, thin, decreased cortical thickness or bent observed on scapula, humerus, radius, ulna, femur, tibia, fibula, metatarsal and metacarpal bones or digits. Bone formation/production, enlargement: observed on radius, ulna, femur, tibia epiphysis or metaphysis, or ribs (abnormal shape).

Bone loss: observed on humerus, radius, ulna, femur, tibia, fibula, calcaneum, vertebrae or sternum. Decreased physis thickness: observed on proximal humerus, proximal radius, pelvis, calcaneum, olecranon, metatarsal and metacarpal bones or digits. Increased physis thickness: observed on distal radius or distal ulna. Enlargement, increased vertebral space or intersternebral space: observed on vertebrae or sternum.

[5] Seven animals evaluated in male control group. Ten animals evaluated in male 0.1 and 0.5 mg/kg/day groups.

[6] All other bones with radiologic findings observed.

*Statistically significant (P≤0.05) using Dunnett's test. ** Statistically significant (P≤0.05) using Dunn's test.

— =no noteworthy findings; ALP=alkaline phosphatase; $AUC_{0\text{-}last}$=area under the concentration versus time curve from time 0 to the last concentration above the limit of quantification; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; BMC=bone mineral content; BMD=bone mineral density; C_{max}=maximum plasma concentration; Cr=creatinine; CSMI=cross sectional moment of inertia; CTD=common technical document; CTx=C-telopeptides of type I collagen; DPD=free urinary deoxypyridinoline; DXA= dual-energy X-ray absorptiometry; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; N/A=not applicable; NE=not evaluated; No.=number; PINP=type 1 procollagen N-terminal propeptide; pQCT= peripheral quantitative computed tomography.

2.6.7.16　局所刺激性試験

該当する試験なし

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17A 代謝物の反復投与毒性試験：用量設定試験

Test Article: Metabolites of Palovarotene

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Sex and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Report Number/Location in CTD
Rat/Wistar	Oral gavage (Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT)	4 weeks	M2 and M3: 0, 0.75, 2.0, 5.0[1]	8/sex (toxicity study) + 10/sex (toxicokinetics study)	M2 and M3: <0.75	Hair thinning was observed in females receiving 2 mg/kg/day and above M3. Thickened zones of cell hypertrophy in the epiphyseal growth plates of the distal femur and proximal tibia (bone, right hind leg) were present in groups treated with 2 and 5 mg/kg/day of both metabolites. Incidence and severity of this finding was greater in both high dose groups. Chondrodystrophy of the epiphyseal growth plate was observed in the high dose groups of both compounds. Hypergranulosis, characterized by a subtle increase in keratohyaline granules in the epidermis, was present in the skin of treated rats at all dose levels for both metabolites. Dose-related increases in the incidence and severity of this finding were observed. Two female rats in the 5 mg/kg groups (one treated with M2 and one treated with M3) had minimal hyperkeratosis of the nonglandular stomach which was treatment-related.	1010116/ Module 4.2.3.7.5.1

2.6.7.17A 代謝物の反復投与毒性試験：用量設定試験（続き）

Test Article: Metabolites of Palovarotene

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Sex and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Report Number/Location in CTD
Dog/Beagle	Oral gavage (capsule) (Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT)	4 weeks	M2 and M3: 0, 0.05, 0.15, 0.5[1]	2/sex	M2: 0.15 M3: >0.5	Treatment-related adverse effects in this study were limited to minimal acute inflammation of epithelium and mild acanthosis of skin observed in the 0.5 mg/kg/day M2 dose group.	1009640/ Module 4.2.3.7.5.3

[1] M2 and M3 administered separately to different animals

CTD=common technical document; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; NOAEL=no-observed-adverse-effect level.

2.6.7.17B 代謝物の反復投与毒性試験：ラット 13 週間投与毒性試験

Report Title: RO3304835-002, RO3304974, RO3305210-002 and RO3305659 (Metabolites of RO3300074): A Thirteen-Week Oral (Intubation) Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats with a Four-Week Recovery Period. (Study 08077)

Test Article: Mixture of metabolites M2 and M3[1]

Report No. 1013099
Location in CTD: Module 4.2.3.7.5.2

Species/Strain: Rat/Wistar
Initial Age: 7 to 8 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
No Observed Adverse-Effect Level: ND

Duration of Dosing: 13 weeks
Duration of Postdose: 4 weeks
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT

GLP Compliance: Yes

Daily Dose (mg/kg)[1]	**0 (control)**		**0.3**		**1.0**		**3.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[2]	**18**	**18**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**
Toxicokinetics: (Day 91, n=3/timepoint)								
M2								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	4.83	7.85	13.6	21.0	44.5	38.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	39.8	57.6	104	162	210	411
M3								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	6.82	12.2	19.8	34.6	78.6	72.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	39.8	75.9	107	223	279	663
M4a								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	4.31	3.50	16.4	13.5	33.4	36.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	56.8	60.8	205	216	389	471
M4b								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	4.15	8.48	20.1	29.0	43.9	69.6
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	37.1	101	144	405	380	985

2.6.7.17B 代謝物の反復投与毒性試験：ラット 13 週間投与毒性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)[1]	0 (control)		0.3		1.0		3.0	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[2]	**18**	**18**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	1[3]	0	0	0	0	0
Body Weight (Day 91)[4]	410 g	242 g	—	—	—	-4.1%	-3.7%	-8.3%*
Body Weight Gain (Day 0 to 91)[4]	178 g	73 g	—	—	—	-16%	-10%	-26%
Food Consumption	—	—	—	—	—	—	—	—
Clinical Observations								
Thin hair	1	2	1	3	3	2	2	3
Neurologic Examinations	—	—	—	—	—	—	—	—
Ophthalmoscopy	—	—	—	—	—	—	—	—
Hematology	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum Chemistry	—	—	—	—	—	—	—	—
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—
Organ Weights	—	—	—	—	—	—	—	—
Gross Pathology	—	—	—	—	—	—	—	—
Histopathology								
Number evaluated	12	12	12	12	12	12	12	12
Skin/subcutis								
Hypergranulosis								
minimal	—	1	1	—	4	7	7	6
slight	1	—	2	1	5	3	5	6
Hyperplasia, epithelial								
minimal	4	3	2	2	5	7	3	9
slight	—	—	—	—	—	—	1	1

2.6.7.17B 代謝物の反復投与毒性試験：ラット 13 週間投与毒性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)[1]	**0 (control)**		**0.3**		**1.0**		**3.0**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[2]	**18**	**18**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**
Histopathology (continued)								
Number evaluated	12	12	12	12	12	12	12	12
Knee joint								
Chondrodystrophy								
minimal	—	—	—	1	7	7	—	—
slight	—	—	—	—	—	2	11	7
moderate	—	—	—	—	—	—	1	5
Femur								
Chondrodystrophy								
minimal	—	—	NE	NE	NE	NE	9	8
slight	—	—	NE	NE	NE	NE	3	1
Postdose Evaluation:								
Number Evaluated	6	6	6	6	6	6	6	6
Body Weight (Day 119)[4]	445 g	243 g	—	—	—	—	—	-4.5%
Histopathology								
Skin/subcutis								
Hypergranulosis								
minimal	—	—	1	3	3	1	2	1
slight	—	—	3	—	1	—	—	—
Hyperplasia, epithelial								
minimal	1	1	2	—	1	—	—	—
slight	—	—	—	—	—	—	1	—

2.6.7.17B 代謝物の反復投与毒性試験：ラット 13 週間投与毒性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)[1]	0 (control)		0.3		1.0		3.0	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[2]	**18**	**18**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**	**18 (12)**
Postdose Evaluation (continued):								
Number Evaluated	6	6	6	6	6	6	6	6
Histopathology (continued)								
Knee joint								
Chondrodystrophy								
minimal	—	—	—	—	1	—	4	—
slight	—	—	—	—	—	—	—	1

[1] Animals were given equal dose of M2 and M3 each at 0.3, 1.0 or 3.0 mg/kg/day concomitantly as a mixture by oral gavage.
[2] Twelve animals/sex/group were euthanized following 13 weeks of dosing and the remaining 6 animals/sex/group were assigned to a 4-week nondosing (recovery) period. 12 animals/sex/group in the 0.3, 1.0 and 3.0 mg/kg/day group were assigned to the toxicokinetic study.
[3] Animal was found dead on nominal day 89; it was considered unlikely that this death was related to treatment.
[4] For controls, group mean values are presented. For treated groups, percentage difference relative to control group values are shown.

* P≤0.05 using Dunnett's test.

— =no noteworthy findings; AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; N/A=not applicable; ND=not determined; NE=not evaluated; No.=number; RO3300074=palovarotene; RO3304835-002=M2; RO3304974=M4a; RO3305210-002=M3; RO3305659=M4b.

2.6.7.17C 代謝物の反復投与毒性試験：イヌ 13 週間投与毒性試験

Report Title: RO3304835-002, RO3304974, RO3305210-002 and RO3305659 (Metabolites of RO3300074-000): A Thirteen-Week Oral (Capsule) Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs Followed by a Four-Week Recovery Period. (Study No. 08075). Amended Version of the Original Report Dated [redacted], 20[redacted].

Test Article: Mixture of metabolites M2 and M3[1]

Report No. 1011046

Location in CTD: Module 4.2.3.7.5.4

Species/Strain: Dog/Beagle

Duration of Dosing: 13 weeks

Initial Age: 14 months

Duration of Postdose: 4 weeks

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Oral gavage (capsule)

No Observed Adverse-Effect Level: 0.15 mg/kg/day

Vehicle/Formulation: Miglyol 812 with 0.01% BHA and 0.01% BHT

GLP Compliance: Yes

Daily Dose (mg/kg)[1]	**0 (control)**		**0.05**		**0.15**		**0.5**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[2]	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**
Toxicokinetics: (Day 91)								
M2								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	12.1	7.23	43.1	47.3	115	98.7
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	88.5	88.3	520	497	1340	961
M3								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	15.7	12.6	71.4	74.7	193	175
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	101	116	690	670	1770	1420
M4a								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	5.84	5.47	20.1	28.9	57.6	80.9
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	72.5	73.7	381	451	1020	1200
M4b								
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	3.98	4.19	18.3	21.0	50.6	60.5
AUC_{0-24} (ng•h/mL)	N/A	N/A	49.2	56.6	283	312	813	901

2.6.7.17C 代謝物の反復投与毒性試験：イヌ 13 週間投与毒性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)[1]	0 (control)		0.05		0.15		0.5	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[2]	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (Day 91)[3]	13.173 kg	10.069 kg	-4.5%	+2.7%	-7.8%	+1.9%	-14%	-4.2%
Body Weight Gain (Day 0 to 91)[3]	1199 g	308 g	-9.2%	+0.6%	-48.9%	+88.3%	-117%	-148%
Food Consumption	—	—	—	—	—	—	—	—
Clinical Observations								
Thin hair	2	2	—	4	3	4	3	5
Alopecia	—	1	—	1	1	2	3	6
Abrasion	—	—	—	1	—	1	2	4
Scab	—	1	—	1	—	2	3	3
Erythema	3	2	4	5	6	6	6	6
Edema	—	—	1	—	1	1	5	4
Sloughing, footpad	—	—	—	—	1	—	3	6
Discharge, ear								
Yellow	—	—	—	—	—	—	—	1
Black	1	—	1	—	—	—	4	2
Unkempt	—	—	—	—	1	2	3	4
Neurologic examination	—	—	—	—	—	—	—	—
Ophthalmoscopy	—	—	—	—	—	—	—	—
Hematology	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum Chemistry	—	—	—	—	—	—	—	—
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—

2.6.7.17C　代謝物の反復投与毒性試験：イヌ 13 週間投与毒性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)[1]	0 (control)		0.05		0.15		0.5	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[2]	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**
Electrocardiogram	—	—	—	—	—	—	—	—
Organ Weights	—	—	—	—	—	—	—	—
Gross Pathology								
Number evaluated	4	4	4	4	4	4	4	4
Skin								
Erythema	1	—	—	—	—	1	4	3
Histopathology								
Number evaluated	4	4	4	4	4	4	4	4
Skin/subcutis								
Hypergranulosis								
minimal	—	—	3	4	3	4	1	—
slight	—	—	—	—	1	—	3	1
moderate	—	—	—	—	—	—	—	3
Hyperplasia, epithelial								
minimal	1	—	—	3	3	2	2	1
slight	—	—	—	—	—	—	2	3
Inflammation, chronic								
minimal	—	—	—	3	3	4	1	2
slight	—	—	—	—	—	—	1	—
Hyperkeratosis								
minimal	—	—	—	—	1	—	—	3

2.6.7.17C 代謝物の反復投与毒性試験：イヌ 13 週間投与毒性試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)[1]	0 (control)		0.05		0.15		0.5	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals[2]	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**	**6**
Postdose Evaluation:								
Number Evaluated	2	2	2	2	2	2	2	2
Body Weight Gain (Day 91 to 119)[3]	-381 g	-65 g	+90%	+311%	+150%	-422%	+260%	+1082%
Clinical Observations								
Thin hair	2	2	—	2	1	1	2	2
Alopecia	—	—	—	1	—	1	1	1
Scab	—	—	1	—	—	—	1	1
Erythema	1	1	2	1	1	2	2	2
Discharge, ear								
Black	—	—	—	1	—	1	2	2
Gross Pathology								
Number evaluated	2	2	2	2	2	2	2	2
Skin								
Erythema	—	—	1	—	—	1	1	1
Histopathology								
Number evaluated	2	2	2	2	2	2	2	2
Skin/subcutis								
Hypergranulosis								
minimal	—	—	—	1	—	1	2	1
Inflammation, chronic								
minimal	—	—	—	1	1	2	—	—

[1] Animals were given equal dose of M2 and M3 each at 0.05, 0.15 or 0.5 mg/kg/day concomitantly as a mixture by oral gavage.
[2] Four animals/sex/group were euthanized following 13 weeks of dosing and the remaining 2 animals/sex/group were assigned to a 4-week nondosing (recovery) period.
[3] For controls, group mean values are presented. For treated groups, percentage difference relative to control group values are shown.

— =no noteworthy findings; AUC_{0-24}=area under the concentration versus time curve from time 0 to 24 hours post-dose; BHA=butylated hydroxyanisole; BHT=butylated hydroxytoluene; C_{max}=maximum plasma concentration; CTD=common technical document; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; M=male; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy

metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; N/A=not applicable; No.=number; RO3300074-00=palovarotene; RO3304835-002=M2; RO3304974=M4a; RO3305210-002=M3; RO3305659=M4b.

2.6.7.17D 代謝物の細菌を用いる復帰突然変異試験

Test Article: Metabolites of palovarotene as the mixture of the four metabolites in the ratio (M2:M3:M4a:M4b) of 1.83:4:1:1.34

Report Title: METABOLITES OF RO3300074: Bacterial reverse mutation test (Ames test) – Study No.: 2108M04

Test for Induction of: Gene mutation

No. of Independent Assays: 2[1]

Report No. 1016894

Strains: *Salmonella typhimurium* TA1535, TA97, TA98, TA100, and TA102

No. of Replicate Cultures: 3[2]

Location in CTD: Module 4.2.3.7.5.5

Metabolizing System: Not included because test item already represents the human metabolites of palovarotene

No. of Cells Analyzed/Culture: In the order of 10^8 per plate

Vehicles: **For Test Article:** DMSO **For Positive Controls:** Deionized water or DMSO

GLP Compliance: Yes

Treatment: Plate incorporation and preincubation version of Ames test, incubated at 37°C, upside down, for 2 days

Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic Effects: Some strain and test version specific reduction of background growth

Genotoxic Effects: None

2.6.7.17D 代謝物の細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Method	AME	AME	AME	AME	AME	PRE	PRE	PRE	PRE	PRE
Strain	TA1535	TA97	TA98	TA100	TA102	TA1535	TA97	TA98	TA100	TA102
Activation	-S9	-S9	-S9	-S9	-S9	-S9	-S9	-S9	-S9	-S9
Positive Controls conc. (µg/plate)	Number of revertant colonies per plate, mean (SD)									
mitomycin C (0.2)					754 (4)					1509 (63)
2-nitrofluorene (0.5)			161 (5)					191 (8)		
ICR 191 (1)		1283 (3)					2015 (26)			
sodium azide (1)	1179 (52)			723 (25)		1406 (21)			701 (8)	
Test article conc. (µg/plate)	Number of revertant colonies per plate, mean (SD)									
0	17 (3)	187 (13)	17 (6)	129 (22)	341 (27)	19 (3)	153 (18)	13 (4)	116 (5)	339 (21)
50	21 (4)	173 (16)	20 (3)	114 (16)	344 (11)	15 (6)	172 (23)	15 (6)	107 (9)	329 (28)
158	22 (8)	192 (7)	21 (4)	129 (7)	315 (14)	22 (2)	159 (28)	15 (3)	126 (14)	335 (23)
500	22 (0)	182 (12)	18 (2)	125 (18)	317 (10)	16 (8)	165 (26)	17 (8)	105 (11)	255 (20)
1582	25 (6)	174 (10)	21 (1)[3]	105 (14)	286 (22)	19 (7)	169 (23)	17 (5)	95 (15)	193 (29)[4]
5000	18 (2)	172 (6)	16 (2)	113 (3)	194 (19)[4]	11 (5)[4]	119 (11)	12 (7)[4]	53 (3)[4]	138 (15)[4]

[1] One standard plate incorporation assay and one preincubation assay.
[2] Three plates per concentration (2 plates for positive controls).
[3] Contaminated plate.
[4] Toxic effect (reduced background growth).

AME=plate incorporation; conc.=concentration; CTD=common technical document; DMSO=dimethyl sulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; No.=number; PRE=preincubation; RO3300074=palovarotene; SD=standard deviation.

2.6.7.17E 代謝物の哺乳類細胞を用いる染色体異常試験

Test Article: Metabolites of palovarotene as the mixture of the four metabolites in the ratio (M2:M3:M4a:M4b) of 1.83:4:1:1.34

Report Title: Metabolites of RO3300074: Chromosome aberration test with cultured human peripheral blood lymphocytes - Study No.: 2106M04.

Test for Induction of: Chromosomal aberration **No. of Independent Assays:** 1 **Report No. 1014341**

Strains: Human peripheral blood lymphocytes **No. of Replicate Cultures:** 1 **Location in CTD:** Module 4.2.3.7.5.6

Metabolizing System: Not included because test item already represents the human metabolites of palovarotene **No. of Cells Analyzed/Culture:** 200

Vehicles: **For Test Article:** DMSO **For Positive Controls:** Water **GLP Compliance:** Yes

Treatment: Pulse treatment in medium with reduced serum content; continuous treatment in culture medium **Date of Treatment:** [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic Effects: Reduced mitotic index and number of analyzable cells

Genotoxic Effects: Positive at highly cytotoxic concentrations

Test article	Concentration (µg/mL)	MI (%)	S-cells (%)	U-cells (%)	P-cells (%)
Data in the absence of metabolic activation (S9)					
Treatment 3h, recovery 21h					
Negative controls (DMSO)	0	8.8	0.5	0.5	0.9
Metabolites of palovarotene	160	7.4	1.5 NS	1.0	0.0
Metabolites of palovarotene	200	5.3	3.0 NS	0.5	0.0
Metabolites of palovarotene	250	3.1	8.5 **	1.5	0.6
Positive control (bleomycin)	5	6.2	10.0 **	0.0	
Treatment 24h					
Negative controls (DMSO)	0	6.6	0.5	0.0	0.0
Metabolites of palovarotene	10	5.8	0.5 NS	1.0	0.0
Metabolites of palovarotene	20	4.5	0.5 NS	0.0	0.3
Metabolites of palovarotene	32	2.8	0.5 NS	1.0	0.0

**P < 0.01 using Fisher's Exact Test.

CTD=common technical document; DMSO=dimethyl sulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; MI=cells in mitosis; No.=number; NS=not significant; P-cells=cells with numerical chromosome changes; RO3300074=palovarotene; S-cells=cells with structural chromosome aberrations excluding gaps; U-cells=cells with gaps only.

2.6.7.17F 代謝物の光毒性試験

Test article: Metabolites of palovarotene

Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (µg/mL)	No. of Replicate	Noteworthy Findings	Report Number/Location in CTD
Mouse/Balb/c 3T3 fibroblasts	*In vitro*	N/A	M2: 0.49, 1.23, 3.07, 7.68, 19.2, 48.0, 120, 300	2 replicate assays	M2 was non-phototoxic. Mean IC_{50} values for cell viability in the absence and presence of UVR were 173 and 163 µg/mL, respectively. The discrimination factor for phototoxicity was 1.06.	1008050/ Module 4.2.3.7.5.7
Mouse/Balb/c 3T3 fibroblasts	*In vitro*	N/A	M3: 0.49, 1.23, 3.07, 7.68, 19.2, 48.0, 120, 300	2 replicate assays	M3 was non-phototoxic. Mean IC_{50} values for cell viability in the absence and presence of UVR were 142 and 162 µg/mL, respectively. The discrimination factor for phototoxicity was 0.88.	1008048/ Module 4.2.3.7.5.8
Mouse/Balb/c 3T3 fibroblasts	*In vitro*	N/A	M4a: 0.30, 0.74, 1.84, 4.61, 11.52, 28.8, 72.0, 180	2 replicate assays	M4a was non-phototoxic. Mean IC_{50} values for cell viability in the absence and presence of UVR were 125 and 86.0 µg/mL, respectively. The discrimination factor for phototoxicity was 1.45.	1008049/ Module 4.2.3.7.5.9
Mouse/Balb/c 3T3 fibroblasts	*In vitro*	N/A	M4b: 0.30, 0.74, 1.84, 4.61, 11.52, 28.8, 72.0, 180	2 replicate assays	M4b was non-phototoxic. Mean IC_{50} values for cell viability in the absence and presence of UVR were >180 and 138 µg/mL, respectively. The discrimination factor for phototoxicity was >1.3.	1008047/ Module 4.2.3.7.5.10

CTD=common technical document; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; M2=6-hydroxy metabolite of palovarotene; M3=7-hydroxy metabolite of palovarotene; M4a=6-oxo metabolite of palovarotene; M4b=7-oxo metabolite of palovarotene; N/A=not applicable; No.=number; UVR=ultraviolet radiation.

2.6.7.17G　　不純物の毒性試験

Test article: Impurities

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group/No. of Replicate	Noteworthy Findings	Report Number/ Location in CTD
不純物A*						
Predictive *in Silico* Assessment on Toxicity						
N/A	*In silico*	N/A	N/A	N/A	Negative for all toxicity endpoints assessed (including carcinogenicity, hepatotoxicity and nephrotoxicity) in DEREK and no concern for bacterial mutagenicity from DEREK and SARAH.	20264821B/ Module 4.2.3.7.6.1
Repeat-Dose Toxicity						
Rat/Wistar	Oral gavage (water for injection)	7 days	0, 0.025, 0.25, 0.75	5/sex	No test item related findings were observed at any dose level.	8462659/ Module 4.2.3.7.6.2
Rat/Wistar	Oral gavage (water for injection)	4 weeks	0, 0.025, 0.25	10/sex	No test item related findings were observed at any dose level.	8462660/ Module 4.2.3.7.6.3
Genotoxicity						
Salmonella typhimurium TA1535, TA1537, TA98, TA100, and Escherichia coli WP2 *uvrA* (pKM101)	*In vitro,* Plate incorporation with/without activation (DMSO)	3 days	5 to 5000 µg/plate	3 plates/conc.	• There was no evidence of toxicity observed and no precipitate observed at any concentration. • No evidence of mutagenic activity was seen at any concentration in either the presence or absence of S9 mix.	8462655/ Module 4.2.3.7.6.4
Human peripheral blood lymphocytes	*In vitro*, with/without activation (DMSO)	3 hours (+/-S9) 21 hours (-S9)	125 to 500 µg/mL	2 cultures/conc.	No statistically significant increases in the proportion of metaphase figures containing chromosomal aberrations (excluding gaps), at any analyzed concentration.	8462656/ Module 4.2.3.7.6.5

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17G　　不純物の毒性試験（続き）

Test article: Impurities

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group/No. of Replicate	Noteworthy Findings	Report Number/ Location in CTD
不純物B*						
Genotoxicity						
Salmonella typhimurium TA1535, TA97, TA98, TA100, and TA102	*In vitro,* Plate incorporation with/without activation (DMSO)	2 days	50 to 5000 µg/plate	3 plates/conc.	• No overt toxicity up to the maximal dose of 5000 µg/plate. • A weak, dose related increase was seen in strain TA100.	1027922/ Module 4.2.3.7.6.6
不純物C*						
Genotoxicity						
Salmonella typhimurium TA1535, TA97, TA98, TA100, and TA102	*In vitro,* Plate incorporation with/without activation (DMSO)	2 days	20 to 2000 µg/plate	3 plates/conc.	• The range finder assay showed toxicity at the maximal dose of 5000 µg/plate. • A weak, dose related increase was seen in strain TA97.	1027923 / Module 4.2.3.7.6.7
不純物D*						
Genotoxicity						
Salmonella typhimurium TA1535, TA97, TA98, TA100, and TA102	*In vitro,* Plate incorporation with/without activation (DMSO)	2 days	50 to 5000 µg/plate	3 plates/conc.	• No overt toxicity up to the maximal dose of 5000 µg/plate. • A weak, dose related increase was seen in strain TA100.	1027924/ Module 4.2.3.7.6.8

conc.=concentration; CTD=common technical document; DMSO=dimethyl sulfoxide; N/A=not applicable.

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.17H　　パロバロテンの光毒性試験

Test article: Palovarotene

Report Title: Ro 330-0074/000: Phototoxicity Study (in vitro) – Study No. 295 D 00.

Report No. 1002309
Location in CTD: Module 4.2.3.7.7.1

Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (µg/mL)	No. of Replicate	Noteworthy Findings
Mouse/Balb/c 3T3 fibroblasts	*In vitro*	N/A	0.098, 0.246, 0.614, 1.536, 3.84, 9.60, 24.0, 60.0	2 replicate assays	Palovarotene was non-phototoxic. Mean IC_{50} values for cell viability in the absence and presence of UVR were 4.8 and 4.6 µg/mL, respectively. The discrimination factor for phototoxicity was 1.03.

CTD=common technical document; IC_{50}=half-maximal inhibitory concentration; N/A=not applicable; No.=number; Ro 330-0074/000=palovarotene; UVR=ultraviolet radiation.