目次

表一覧
図一覧
略号及び用語の定義
2.6.6 毒性試験の概要文
2.6.6.1 まとめ
2.6.6.1.1 DOR の経口投与毒性試験
2.6.6.1.2 ISL の経口投与毒性試験
2.6.6.1.3 DOR/ISL 併用投与試験
2.6.6.2 単回投与毒性試験
2.6.6.3 反復投与毒性試験
2.6.6.3.1 マウス
2.6.6.3.1.1 ISL：rasH2野生型マウスを用いた3ヵ月間経口投与用量設定及び TK 試験（TT #[redacted]-6002）
2.6.6.3.1.2 ISL：マウスを用いた3ヵ月間経口投与用量設定試験（TT #[redacted]-1020）
2.6.6.3.2 ラット
2.6.6.3.2.1 ISL：ラットを用いた探索的5日間経口投与毒性試験（小核及び FOB 評価を含む）（TT #[redacted]-1040）
2.6.6.3.2.2 ISL：雄ラットを用いた探索的7日間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-2513）
2.6.6.3.2.3 ISL：ラットを用いた29日間経口投与毒性試験（小核及び FOB 評価を含む）（TT #[redacted]-1075）
2.6.6.3.2.4 ISL：ラットを用いた6ヵ月間経口投与毒性試験（2ヵ月時の中間剖検及び4又は6ヵ月間の回復期間を伴った2ヵ月間投与を含む）（TT #[redacted]-6011）
2.6.6.3.2.5 ISL：ラットを用いた6ヵ月間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-6005）
2.6.6.3.2.6 ISL＋DOR：ラットを用いた1ヵ月間併用経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1012）
2.6.6.3.3 サル
2.6.6.3.3.1 ISL：アカゲザルを用いた探索的用量漸増経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1035）
2.6.6.3.3.2 ISL：アカゲザルを用いた28日間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1063）
2.6.6.3.3.3 ISL：アカゲザルを用いた9ヵ月間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1068）
2.6.6.4 遺伝毒性試験
2.6.6.4.1 In vitro 試験
2.6.6.4.1.1 ISL：細菌（*Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli*）を用いた復帰突然変異試験（TT #[redacted]-9041）
2.6.6.4.1.2 ISL：CHO 細胞を用いた探索的 in vitro 染色体異常試験及びイノシン添加による改善効果（TT #[redacted]-8625、TT #[redacted]-8635、TT #[redacted]-8641、TT #[redacted]-8643）

2.6.6.4.1.3 ISL：CHO 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験（TT #[redacted]-8669及び TT #[redacted]-8672）
2.6.6.4.2 In vivo 試験
2.6.6.4.2.1 ISL：小核試験（TT #[redacted]-1040試験に組み入れて実施）
2.6.6.4.2.2 ISL：小核試験（TT #[redacted]-1075試験に組み入れて実施）
2.6.6.5 がん原性試験
2.6.6.5.1 長期がん原性試験
2.6.6.5.1.1 ISL：ラットを用いた2年間がん原性試験（TT #[redacted]-1043）
2.6.6.5.2 短期又は中期がん原性試験
2.6.6.5.2.1 ISL：CByB6F1/Tg rasH2ヘミ接合マウスを用いた26週間経口投与がん原性試験（TT #[redacted]-9007）
2.6.6.5.3 その他の試験
2.6.6.6 生殖発生毒性試験
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験
2.6.6.6.1.1 ISL：雌雄ラットを用いた経口投与受胎能試験（TT #[redacted]-7030）
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験
2.6.6.6.2.1 ISL：ラットを用いた探索的経口投与胚・胎児発生毒性及び TK 試験（TT #[redacted]-7001）
2.6.6.6.2.2 ISL：ラットを用いた経口投与胚・胎児発生毒性及び TK 試験（TT #[redacted]-7080）
2.6.6.6.2.3 ISL：ウサギを用いた探索的経口投与胚・胎児発生毒性及び TK 試験（TT #[redacted]-7064）
2.6.6.6.2.4 ISL：ウサギを用いた経口投与胚・胎児発生毒性及び TK 試験（TT #[redacted]-7040）
2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験
2.6.6.6.3.1 ISL：ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する経口投与毒性試験（TT #[redacted]-7080）
2.6.6.6.4 出生児（幼若動物）を用いた追加検討試験
2.6.6.6.4.1 ISL：幼若ラットを用いた探索的経口投与忍容性及び TK 試験（TT #[redacted]-7035）
2.6.6.6.4.2 ISL：ラットを用いた経口投与による歯の発生及び TK に関する試験（TT #[redacted]-7130）
2.6.6.7 局所刺激性試験
2.6.6.7.1 胃の変化
2.6.6.7.2 ISL：ウシ摘出角膜の混濁度及び透過性試験（TT #[redacted]-7826）
2.6.6.7.3 ISL：MatTek EpiDerm™ MTT 皮膚刺激性試験（TT #[redacted]-7828）
2.6.6.8 その他の毒性試験
2.6.6.8.1 抗原性／免疫原性

2.6.6.8.2 免疫毒性
2.6.6.8.2.1 造血幹細胞に対する毒性は ISL によるリンパ球及び CD4+T 細胞数減少の機序に寄与しない
2.6.6.8.2.2 臨床試験（ISL 0.75 mg 以上の用量）で認められたリンパ球数減少に対する In vivo 機序検討試験
2.6.6.8.2.3 フローサイトメトリーを用いたマウス局所リンパ節試験（TT #[redacted]-7827）
2.6.6.8.3 メカニズム試験
2.6.6.8.4 依存性試験
2.6.6.8.5 代謝物
2.6.6.8.6 不純物
2.6.6.8.6.1 ISL：ラットを用いた3ヵ月間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1000）
2.6.6.8.6.2 ISL：ラットを用いた3ヵ月間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1013）
2.6.6.8.7 その他の試験
2.6.6.8.7.1 光毒性
2.6.6.8.7.2 TK 試験
2.6.6.8.7.3 In vitro 探索的生殖発生毒性試験
2.6.6.8.7.4 その他の併用投与試験
2.6.6.8.7.5 経口投与以外の試験
2.6.6.9 考察及び結論
2.6.6.9.1 DOR
2.6.6.9.2 ISL
2.6.6.9.3 DOR/ISL 併用投与
2.6.6.10 引用文献
2.6.6.11 参考文献

表一覧

表 2.6.6-1 ISL の経口投与毒性試験プログラム
表 2.6.6-2 ISL を経口投与した際のマウス平均（± SE）血漿中 TK パラメータ： 試験13週（TT #[redacted]-6002）
表 2.6.6-3 ISL を経口投与した際のマウス平均（± SE）血漿中 TK パラメータ： 試験13週（TT #[redacted]-1020）
表 2.6.6-4 ISL を経口投与した際のラット平均血漿中 TK パラメータ： 試験5日（TT #[redacted]-1040）
表 2.6.6-5 ISL を経口投与した際のラット平均（± SD）血漿中 TK パラメータ： 試験7日（TT #[redacted]-2513）
表 2.6.6-6 動物の各群への割付け（TT #[redacted]-1075）
表 2.6.6-7 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 TK パラメータ ：試験5週（TT #[redacted]-1075）
表 2.6.6-8 ラットを用いた6ヵ月間毒性試験で中間剖検、最終剖検及び回復群に割り付けた各群あたりの動物数（TT #[redacted]-6011）
表 2.6.6-9 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 TK パラメータ ：試験10週（TT #[redacted]-6011）
表 2.6.6-10 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 TK パラメータ： 試験4週（TT #[redacted]-6005）
表 2.6.6-11 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 TK パラメータ： 試験13週（TT #[redacted]-6005）
表 2.6.6-12 試験デザイン（TT #[redacted]-1012）
表 2.6.6-13 DOR と ISL を併用経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 DOR TK パラメータ：試験5週（TT #[redacted]-1012）
表 2.6.6-14 DOR と ISL を併用経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：試験5週（TT #[redacted]-1012）
表 2.6.6-15 ISL の血漿中 TK パラメータ（TT #[redacted]-1035）
表 2.6.6-16 ISL を経口投与した際のサル平均（± SE）血漿中 TK パラメータ： 試験1日（TT #[redacted]-1063）
表 2.6.6-17 ISL を経口投与した際のサル平均（± SE）血漿中 TK パラメータ： 試験4週（TT #[redacted]-1063）
表 2.6.6-18 ISL を経口投与した際のサル平均（± SE）血漿中 TK パラメータ ：試験1日（TT #[redacted]-1068）
表 2.6.6-19 ISL を経口投与した際のサル平均（± SE）血漿中 TK パラメータ ：試験61日（TT #[redacted]-1068）
表 2.6.6-20 ISL を経口投与した際のサル平均（± SE）血漿中 TK パラメータ ：試験85日（TT #[redacted]-1068）
表 2.6.6-21 ISL を経口投与した際のサル平均（± SE）血漿中 TK パラメータ ：試験211日

（TT #[redacted]-1068）
表 2.6.6-22 PBMC 中の平均（± SE）ISL 濃度（TT #[redacted]-1068）
表 2.6.6-23 PBMC 中の平均（± SE）ISL-MP 濃度（TT #[redacted]-1068）
表 2.6.6-24 PBMC 中の平均（± SE）ISL-DP 濃度（TT #[redacted]-1068）
表 2.6.6-25 PBMC 中の平均（± SE）ISL-TP 濃度（TT #[redacted]-1068）
表 2.6.6-26 探索的染色体異常試験（非 GLP）及びイノシン添加による改善効果の概要（TT #[redacted]-8625）
表 2.6.6-27 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ： 試験13週（TT #[redacted]-1043）
表 2.6.6-28 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 M4代謝物 TK パラメータ：試験13週（TT #[redacted]-1043）
表 2.6.6-29 ISL を経口投与した際のマウス平均（± SE）ISL 濃度（雌雄合算）： 試験182日（TT #[redacted]-9007）
表 2.6.6-30 ISL を経口投与した際の妊娠ラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：GD 15（TT #[redacted]-7001）
表 2.6.6-31 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ： GD 15（TT #[redacted]-7080）
表 2.6.6-32 ISL を経口投与した際のウサギ平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ： GD 15（TT #[redacted]-7064）
表 2.6.6-33 ISL を経口投与した際のウサギ平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ： GD 15（TT #[redacted]-7040）
表 2.6.6-34 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：PND 14（TT #[redacted]-7035）
表 2.6.6-35 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：PND 14（TT #[redacted]-7130）
表 2.6.6-36 計画外死亡の数及び時期（TT #[redacted]-1015）
表 2.6.6-37 マウスに ISL を単独又は[redacted] と併用経口投与した際の PBMC 中 ISL リン酸化同化物濃度（雌雄平均値）：試験10週（TT #[redacted]-1015）
表 2.6.6-38 マウスに ISL を単独又は[redacted] と併用経口投与した際の脾細胞中 ISL リン酸化同化物濃度（雌雄平均値）：試験10週（TT #[redacted]-1015）
表 2.6.6-39 計画外死亡の数及び時期（TT #[redacted]-1029）
表 2.6.6-40 雄マウスに ISL 単独又は[redacted] と併用投与した際の平均血漿中 ISL TK パラメータ：試験9日（TT #[redacted]-1029）
表 2.6.6-41 雄マウスに[redacted] 単独又は ISL と併用投与した際の平均血漿中[redacted] TK パラメータ：試験9日（TT #[redacted]-1029）
表 2.6.6-42 非臨床安全性試験での M4に関する動物／ヒト曝露比
表 2.6.6-43 ISL の不純物及び用量比
表 2.6.6-44 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ： 試験

13週（TT #[redacted]-1000）
表 2.6.6-45 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ（雌雄平均値）：試験13週（TT #[redacted]-1013）
表 2.6.6-46 ISL を経口投与した際のマウス平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ： 試験1日（TT #[redacted]-0005）
表 2.6.6-47 マウスに ISL（単独）又は ISL と [redacted] を併用経口投与した際の PBMC 中平均 ISL-MP TK パラメータ：試験7日（TT #[redacted]-1006）
表 2.6.6-48 マウスに ISL（単独）又は ISL と [redacted] を併用経口投与した際の PBMC 中平均 ISL-DP TK パラメータ：試験7日（TT #[redacted]-1006）
表 2.6.6-49 マウスに ISL（単独）又は ISL と [redacted] を併用経口投与した際の PBMC 中平均 ISL-TP TK パラメータ：試験7日（TT #[redacted]-1006）
表 2.6.6-50 CD-1マウスに7日間 ISL（単独）又は ISL と [redacted] を併用経口投与した際のプール PBMC 中相対 ATP、dATP、dGTP、dCTP、dTTP 及び NAD^+濃度（TT #[redacted]-1006）
表 2.6.6-51 単回経口投与した際のラット平均（± SD）血漿中 ISL 濃度（μM） （TT #[redacted]-2508）
表 2.6.6-52 単回経口投与した際のラット平均（± SD）PBMC 中 ISL、ISL リン酸化同化物（ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP）濃度（pmol/10^6） （TT #[redacted]-2508）
表 2.6.6-53 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ： 試験1日（TT #[redacted]-1067）
表 2.6.6-54 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ： 試験7日（TT #[redacted]-1067）
表 2.6.6-55 平均（± SE）PBMC 中 ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度： 試験1及び7日（TT #[redacted]-1067）
表 2.6.6-56 ISL を経口投与した際の平均 F1（児）及び F0（母動物）における 血漿中 ISL 濃度（μM）並びに F1/F0濃度比（TT #[redacted]-7100）
表 2.6.6-57 ISL を経口投与した際のウサギ平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ 試験1日（TT #[redacted]-7023）
表 2.6.6-58 ISL を経口投与した際のアカゲザルの平均（± SD）血漿中 ISL PK パラメータ（TT #[redacted]-1045）
表 2.6.6-59 ISL を含むその他の併用投与試験
表 2.6.6-60 重要な試験における ISL の全身曝露比

図一覧

図 2.6.6-1　マウス、ラット、サル（NHP）及びヒトの定常状態における PBMC 中 ISL-TP 濃度（μM）

略号及び用語の定義

この表は、略号又は用語の最初の使用となる。

略号／頭字語	定義	
3TC	lamivudine	ラミブジン
ABC	abacavir	アバカビル
A/G	albumin/globulin ratio	アルブミン／グロブリン比
ALP	alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AMP	adenosine monophosphate	アデノシン一リン酸
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
AUC	area under the concentration-time curve	濃度－時間曲線下面積
AUC0-X	area under the concentration-time curve from time 0 to X hours	投与後 X 時間までの濃度－時間曲線下面積
BCR	B cell receptor	B 細胞受容体
BrdU	5-bromo-2'-deoxyuridine	ブロモデオキシウリジン
CHO	chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
Cmax	observed maximum concentration	最高濃度
CT	computed tomography	コンピュータ断層撮影
dATP	deoxyadenosine triphosphate	デオキシアデノシン三リン酸
dCTP	deoxycytidine triphosphate	デオキシシチジン三リン酸
dGTP	deoxyguanosine triphosphate	デオキシグアノシン三リン酸
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
DOR	doravirine	ドラビリン
DP	diphosphate	二リン酸
dTTP	deoxythymidine triphosphate	デオキシチミジン三リン酸
EFD	embryo-fetal developmental	胚・胎児発生
ET_{50}	time at which percent viability (of EpiDerm™ tissue samples) is reduced 50% compared to control tissues	EpiDerm™ 組織の生存率が対照組織と比較して50%に減少するまでの時間
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FOB	functional observational battery	機能観察総合評価
FTC	emtricitabine	エムトリシタビン
GD	gestation day	妊娠日数
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HIV-1	human immunodeficiency virus type one	ヒト免疫不全ウイルス1型
[redacted]	[redacted]	[redacted]
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation (of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use)	医薬品規制調和国際会議
IMP	inosine monophosphate	イノシン一リン酸
ISL	islatravir (MK-8591 or [redacted])	イスラトラビル（MK-8591又は[redacted]）

略号／頭字語	定義	
LC-HRMS	liquid chromatography-high resolution mass spectrometry	液体クロマトグラフィー／高分解能質量分析法
LD	lactation day	授乳日数
MC	methylcellulose	メチルセルロース
mEST	mouse embryonic stem cell test	マウス胚性幹細胞アッセイ
MP	monophosphate	一リン酸
MRI	magnetic resonance imaging	磁気共鳴画像検査
MTT	thiazolyl blue tetrazolium bromide	チアゾリルブルーテトラゾリウムブロミド
NAD^+	nicotinamide adenine dinucleotide	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド
NK	natural killer	ナチュラルキラー
NMR	nuclear magnetic resonance	核磁気共鳴
NMU	N-nitrosomethylurea	N-ニトロソメチルウレア
NNRTI	non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor	非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤
NRTI	nucleoside/nucleotide reverse transcriptase inhibitor	ヌクレオシド／ヌクレオチド系逆転写酵素阻害剤
NRTTI	nucleoside reverse transcriptase translocation inhibitor	ヌクレオシド系逆転写酵素トランスロケーション阻害剤
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PBMC	peripheral blood mononuclear cell	末梢血単核細胞
PCE	polychromatic erythrocyte	多染性赤血球
PET	positron emission tomography	ポジトロン断層撮影
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
PND	postnatal day	生後日数
PS	polysorbate	ポリソルベート
RHD	recommended human dose	臨床推奨用量
SLS	sodium lauryl sulfate	ラウリル硫酸ナトリウム
TAF	tenofovir alafenamide fumarate	テノホビルアラフェナミドフマル酸塩
Tg	transgenic	トランスジェニック
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
Tmax	time to reach maximum concentration	最高濃度到達時間
TP	triphosphate	三リン酸
[redacted]	[redacted]	ー
WEC	whole embryo culture	全胚培養
v/v	volume/volume	体積／体積比
w/v	weight/volume	質量／体積比
w/w	weight/weight	質量／質量比

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

DOR/ISL［MK-8591A、DOR（MK-1439、100 mg）と ISL（MK-8591又は[redacted]、0.25 mg）の固定用量配合剤］は、成人 HIV-1感染症患者の治療に対する1日1回投与による2剤レジメンとして開発している。両薬物は強力な抗ウイルス活性を示し、重複のない相補的な耐性プロファイル並びに良好な安全性及び忍容性プロファイルを有することから、HIV-1感染症に対する有効な併用療法としての DOR/ISL の製造販売承認申請が支持される。

DOR は NNRTI であり、本邦、米国、欧州、カナダ及び他の国々で HIV-1感染症の治療薬として承認されている。DOR は一般的な NNRTI 耐性関連置換に対する阻害作用を示し、その高い耐性バリア、薬物相互作用の可能性が低いこと並びに良好な有効性、忍容性及び安全性により、他の NNRTI とは異なる。DOR/ISL における DOR の使用を支持する広範な非臨床試験については、DOR の製造販売承認申請資料[eCTD 受付番号310828004、2.4 項、2.6 項及び4 項]に示している。

ISL は、トランスロケーションの阻害、遅延型チェーンターミネーターとしての作用及び誤取込みを含む複数の作用機序を介して HIV-1の複製を阻害する NRTTI である。ISL は内因性のキナーゼを介して薬理活性を有する ISL 三リン酸（ISL-TP）に細胞内で変換される。ISL の非臨床プロファイルは、強力な抗ウイルス活性、高い耐性出現に対するバリア、長い半減期及び良好な忍容性を示した。臨床試験で0.75 mg 以上の用量の ISL を1日1回投与した際に総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少が認められたことから、一連の in vitro 及び in vivo 非臨床探索的試験並びに機序検討試験を実施した。ISL の非臨床試験プロファイルは、HIV-1感染症患者の治療に用いる DOR/ISL（100 mg/0.25 mg）としての ISL の使用を支持するものである。

DOR/ISL のうち、本申請では ISL の使用を支持するために実施した非臨床毒性試験について詳細に述べる。また、ISL と DOR を併用投与した際の非臨床安全性はラットを用いた1ヵ月間併用経口投与毒性試験において評価した。

2.6.6.1.1 DOR の経口投与毒性試験

DOR の非臨床試験プログラムは、本邦、米国、欧州、カナダ及び他の国々での2018年以降の DOR 単剤の製造販売承認申請を支持するものであった。DOR/ISL における DOR の使用を支持する広範な非臨床試験については、DOR の製造販売承認申請資料[eCTD 受付番号310828004、2.4 項、2.6 項及び4 項]に示している。非臨床試験での DOR 曝露比は、DOR の承認用量100 mg をヒトに投与した際の全身曝露［AUC0-24（37.8 μM·hr）及び Cmax（2.26 μM）、幾何平均値］に基づいて算出した。DOR/ISL における DOR の用量は DOR 単剤の承認用量と同じであり、DOR 単独又は DOR と ISL を併用投与した際の DOR の曝露量は類似している。DOR は既承認薬であることから、本概要文では DOR の非臨床試験の詳細については考察せず、ISL との併用により評価した DOR の結果のみを示す。

2.6.6.1.2 ISL の経口投与毒性試験

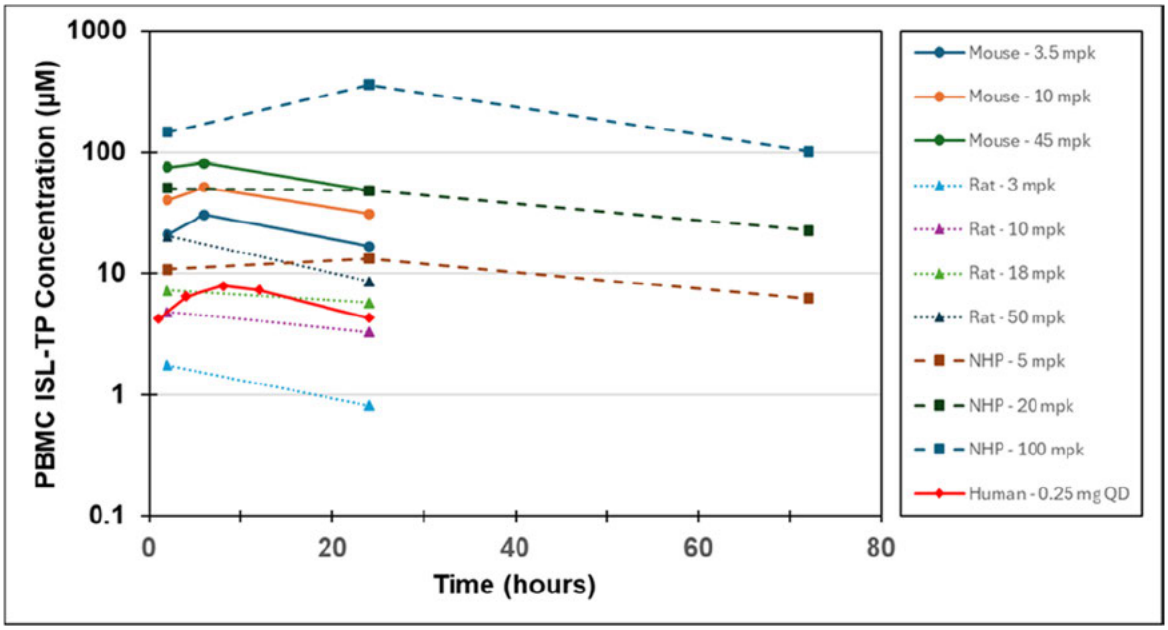
ISL のヒトへのリスク評価のため、該当するガイダンスに従った非臨床安全性試験を実施し、HIV-1感染症患者に対する1日1回経口投与治療薬としての DOR との併用が支持された。全ての重要な毒性試験では、臨床適用経路である経口投与が用いられた。ISL の in vitro 及び in vivo 代謝プロファイル並びに良好な PK プロファイルが得られるという観点から、ラット及びサルを毒性評価のためのげっ歯類及び非げっ歯類としてそれぞれ選択した。ISL の包括的な非臨床毒性試験プログラムとして in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、光毒性評価、マウス（3ヵ月）、ラット（最長6ヵ月）及びサル（最長9ヵ月）を用いた反復経口投与毒性試験、rasH2トランスジェニックマウス（6ヵ月）及びラット（2年）を用いたがん原性試験、ラットを用いた不純物／分解物評価試験（3ヵ月、2試験）、生殖発生毒性試験（ラットを用いた雌雄受胎能試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験、ラットを用いた乳汁移行性試験、ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験並びに幼若ラットを用いた忍容性試験）並びにラットを用いた歯の発生に関する試験（ISL による歯の所見について小児集団への外挿性をさらに評価するために実施）を含む試験を実施した。さらに、臨床試験で0.75 mg 以上の用量の ISL を1日1回投与した際に認められた総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少の機序を検討するため、追加の in vitro 試験及び in vivo 試験（マウスを用いた ISL-TP 濃度測定のための TK 試験及び10週間イムノフェノタイピング試験）を実施した。

労働安全プログラムのためにマウスを用いた局所リンパ節試験を実施した。また、ラットを用いた ISL と DOR の1ヵ月間併用経口投与毒性試験においても ISL を評価した[2.6.6.3.2.6 項]。ヒト主要血中代謝物として唯一同定された M4は、マウス、ラット、ウサギ及びサルにおいても主要血中代謝物であり、薬理活性及びオフターゲット活性を示さず、マウス、ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験並びにトランスジェニックマウス及びラットを用いたがん原性試験において十分な曝露を示した[2.6.6.8.5 項]。ヒトに対する非臨床試験での M4曝露比を[表 2.6.6-42]に示す。また、非臨床毒性試験の概要を[2.6.7.1 項]に示す。

ISL の活性体である ISL-TP の薬理学的標的は HIV-1逆転写酵素であり、動物又はヒトには存在しない外因性標的である。ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP の生成を非臨床動物種及びヒトで確認するため、ISL を用いた in vitro 試験でこれらの同化物に関し、マウス、サル及びヒト PBMC 中濃度を測定した。また、マウス、ラット及びサルを用いた種々の反復経口投与毒性試験においてもこれらの PBMC 中濃度を測定した。これらのデータから PBMC 中への ISL の取込み及び／又は PBMC 中でのリン酸化の程度は、測定した濃度範囲において非臨床動物種よりもヒトでより大きかった。さらに、in vitro におけるヒト PBMC 中への ISL の取込みはサルよりもヒトでより効率的であり、ISL 濃度にかかわらず PBMC 中の ISL 関連物質濃度はヒトの方がサルよりも約10倍高かった[2.6.5.13.6 項]。ISL 取込みに関する種差は in vivo 試験でも認められ、ヒトでは細胞内への取込み効率が高いことから、サルで ISL-TP の細胞内目標濃度に達するための用量と比較して、ヒトではより低用量で ISL-TP の目標濃度が達成された[2.6.3.1 項][2.6.7.7.H 項]。[図 2.6.6-1]に ISL を投与したマウス（TT #[redacted]-1006）[2.6.7.17.D 項]、ラット（TT #[redacted]-1067）[2.6.7.17.D 項]、サル（TT #[redacted]-

1068）[2.6.7.7.H 項]及びヒト（0.25 mg/日、009試験）の定常状態における PBMC 中 ISL-TP 濃度をそれぞれ示す。動物種間での PBMC 中のリン酸化効率の違いが、他の組織又は細胞で生成されるリン酸化同化物の量とどのように関連しているのかは不明である。しかしながら、臨床試験（009試験）では、PBMC 中の ISL-TP の平均濃度（15 µM）は、ISL 0.75 mg を1日1回、28日間投与した後に採取した直腸及び膣生検サンプル中の平均濃度の70～500倍であった[4.3: 080PB0]。

図 2.6.6-1　マウス、ラット、サル（NHP）及びヒトの定常状態における PBMC 中 ISL-TP 濃度（µM）



ISL=islatravir; NHP=non-human primate; mpk=mg/kg; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; qd=once daily; q3d=once every three days; TP=triphosphate.
Note: Mouse, rat, and human were dosed qd, exposure data are shown for a 24-hour period. As monkeys were dosed q3d, exposure data are shown for a 72-hour period.

動物での投与頻度（1日1回：マウス、ラット及びウサギ、3日に1回：サル）は、臨床用量での ISL 曝露量を超えるよう選択した。ISL RHD 0.25 mg/日に対する非臨床試験での AUC 曝露比を[表 2.6.6-60]に示す。非臨床試験での曝露比の算出には、第I相、第II相及び第III相試験データを用いた母集団薬物動態解析に基づく ISL の定常状態における全身曝露量（AUC0-24 0.0314 µM·hr 及び Cmax 0.00345 µM、幾何平均値）を用いた。

ISL の毒性試験は一水和物を用いて実施した。非臨床試験で用いた被験物質のバッチは[2.6.7.4 項]に記載する。重要な毒性試験は GLP（米国連邦規則集第21巻58条）及び／又は OECD データ相互受入れ制度の加盟国における OECD-GLP 原則に準拠して実施した。全ての GLP 適用試験の報告書は GLP 遵守の陳述書を含む。

ISL の毒性試験プログラムとして実施された試験一覧及びそれぞれの無毒性量を[表 2.6.6-1]に示す。また、試験の概要を[2.6.6.3 項]から[2.6.6.8 項]に示す。

表 2.6.6-1　　ISL の経口投与毒性試験プログラム

Study Type / Duration	Route	Species / Strain	Dose Levels (mg/kg/dose, unless otherwise specified)	NOAEL (mg/kg)	Study No. (GLP Status)
Repeat-dose toxicity					
Toxicity with TK / 3 months	Oral (gavage)	Mouse / RasH2 Wild-Type	0, 3.5, 10, 18, 35 qd	18	TT #[redacted]-6002 (GLP)
Toxicity with TK / 3 months	Oral (gavage)	Mouse / CD-1	0, 3.5, 10, 22, 45 qd	≥45	TT #[redacted]-1020 (GLP)
Toxicity with TK and FOB and micronucleus assays / 5 days	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 30, 200 qd	30	TT #[redacted]-1040 (Non-GLP)
Toxicity with TK / 7 days	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 10, 30, 100 qd	30	TT #[redacted]-2513 (Non-GLP)
Toxicity with TK and FOB and micronucleus assays / 29 days	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 3, 10, 50 qd	≥50 (Excluding findings in continuously growing incisors)[a]	TT #[redacted]-1075 (GLP)
Toxicity and TK / 2 or 6 months with a 4- or 6-month recovery period	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 3, 10, 50 qd	3 (NOEL), 10 (NOAEL excluding findings in continuously growing incisors)[a]	TT #[redacted]-6011 (GLP)
Toxicity and TK / 6 months	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 1, 3, 18 qd	3	TT #[redacted]-6005 (GLP)
Toxicity and TK / 1 month combination with DOR	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0 (DOR + ISL vehicles), 0 (DOR vehicle) + 3 ISL, 30 DOR + 0 (ISL vehicle), 30 DOR + 1 ISL, 30 DOR + 3 ISL qd[b]	≥30 DOR + 3 ISL[b]	TT #[redacted]-1012 (GLP)
Toxicity and TK / 10 days	Oral (gavage)	Monkey / Rhesus	Rising dose 10 + 30 + 75 qd	Not determined[c]	TT #[redacted]-1035 (Non-GLP)
Toxicity and TK / 28 days	Oral (gavage)	Monkey / Rhesus	0, 5, 20, 75 q3d	≥75	TT #[redacted]-1063 (GLP)
Toxicity and TK / 9 months	Oral (gavage)	Monkey / Rhesus	0, 5, 20, 100 q3d	20	TT #[redacted]-1068 (GLP)

Study Type / Duration	Route	Species / Strain	Dose Levels (mg/kg/dose, unless otherwise specified)	NOAEL (mg/kg)	Study No. (GLP Status)
Genotoxicity					
Microbial mutagenesis assay	In vitro	*Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	0, 40 to 5000 µg/plate (69 h and 44 minutes ±S9)	NA	TT #[redacted]-9041 (GLP)
Exploratory chromosomal aberration assay	In vitro	CHO cells	Doses scored 47 to 750 µM (3 h ±S9, 20 h -S9)	NA	TT #[redacted]-8625 (Non-GLP)
			Doses scored 100 to 350 µM (20 h -S9)	NA	TT #[redacted]-8635 (Non-GLP)
			Doses scored 200 to 350 µM (20 h -S9)	NA	TT #[redacted]-8641 (Non-GLP)
			Doses scored 200 to 400 µM (20 h -S9)	NA	TT #[redacted]-8643 (Non-GLP)
Chromosomal aberration assay	In vitro	CHO cells	0, 25 to 1000 µM (3 h +S9) 0, 25 to 1000 µM (3 h - S9) 0, 25 to 600 µM (20 h -S9)	NA	TT #[redacted]-8669 (GLP)
			0, 10 to 700 µM (3 h +S9)	NA	TT #[redacted]-8672 (GLP)
Exploratory bone marrow micronucleus assay	Oral (gavage)	Female and male rats, bone marrow (Conducted in conjunction with 5-day toxicity study)	0, 30, 200 qd	NA	TT #[redacted]-1040 (Non-GLP)
Bone marrow micronucleus assay	Oral (gavage)	Female and male rats, bone marrow (Conducted in conjunction with 29-day toxicity study)	0, 3, 10, 50 qd	NA	TT #[redacted]-1075 (GLP)
Carcinogenicity					
Long-term studies					
Carcinogenicity / 2 years	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 1, 3, 10 qd	No neoplastic findings up to 10 mg/kg (highest dose evaluated)	TT #[redacted]-1043 (GLP)
Short-term studies					
Carcinogenicity / 26 weeks	Oral (gavage) Positive Control: intraperitoneal	Mouse / CbyB6F1/Tg rasH2 (Hemizygous)	0, 1.5, 4, 13 qd Positive Control: 75 mg NMU	No neoplastic findings up to 13 mg/kg (highest dose evaluated)	TT #[redacted]-9007 (GLP)

Study Type / Duration	Route	Species / Strain	Dose Levels (mg/kg/dose, unless otherwise specified)	NOAEL (mg/kg)	Study No. (GLP Status)
Reproductive & developmental toxicity					
Female and male fertility / 2 weeks through GD 7 (females) and 6 weeks (males)	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 1, 3, 10, 18 qd	≥18	TT #[redacted]-7030 (GLP)
Preliminary EFD with TK / GD 6 through 20	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 3, 10, 50, 200 qd	NA	TT #[redacted]-7001 (Non-GLP)
EFD with TK / GD 6 through 20	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 3, 10, 50 qd	≥50 for both maternal and developmental toxicity	TT #[redacted]-7080 (GLP)
Preliminary EFD with TK / GD 7 through 20	Oral (gavage)	Rabbit / Dutch Belted	0, 3, 10, 50, 200 qd	NA	TT #[redacted]-7064 (Non-GLP)
EFD with TK / GD 7 through 20	Oral (gavage)	Rabbit / Dutch Belted	0, 1, 3, 10 qd	≥10 for both maternal and developmental toxicity	TT #[redacted]-7040 (GLP)
PPND / GD 6 through LD 20	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 1, 3, 10 qd	≥10	TT #[redacted]-7080 (GLP)
Juvenile animal tolerability with TK / PND 4 through 20	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 3, 10, 25, 50 qd	≥50	TT #[redacted]-7035 (Non-GLP)
Tooth development with TK / F0 dam from GD 6 through LD 3 and offspring from PND 4 through 20	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 0.3, 3, 7 qd	≥7	TT #[redacted]-7130 (GLP)
Local tolerance					
Bovine corneal opacity and permeability test / 4 h	In vitro	Bovine corneas	0.75 mL of a 20% ISL formulation	NA	TT #[redacted]-7826 (GLP)
MatTek EpiDerm™ MTT viability assay / 1, 4, 24 h	In vitro	MatTek EpiDerm™ tissue samples	100 mg	NA	TT #[redacted]-7828 (GLP)
Other studies					
Immunotoxicity					
Exploratory / IP study with or without [redacted] / 10 weeks with 3-month treatment free period	Oral (gavage)	Mouse / CD-1	0 (ISL vehicle), 0 (ISL + [redacted] vehicles), 3.5 ISL, 45 ISL, 10 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 0 (ISL vehicle) + 750 [redacted], 10 ISL + 750 [redacted] qd[b]	NA	TT #[redacted]-1015 (Non-GLP)
Tolerability with TK / 8 weeks	Oral (gavage)	Mouse / CD-1	0 (ISL + [redacted] vehicles), 10 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 0 (ISL vehicle) + 750 [redacted], 10 ISL + 750 [redacted] qd	NA	TT #[redacted]-1029 (Non-GLP)
Local lymph node assay / 3 days	Topical (ear)	Mouse / CBA/J	5%, 10%, 25% (w/v) ISL in DMSO	NA	TT #[redacted]-7827 (GLP)

Study Type / Duration	Route	Species / Strain	Dose Levels (mg/kg/dose, unless otherwise specified)	NOAEL (mg/kg)	Study No. (GLP Status)
Impurities					
Qualification toxicity study / 3 months	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 0.5, 1 qd	≥1	TT #[redacted]-1000 (GLP)
Qualification toxicity study / 3 months	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0, 0.5, 1 qd	≥1	TT #[redacted]-1013 (GLP)
Phototoxicity Assessment					
Photoreactivity assessment	In vitro	NA	290 to 700 nm	NA	TT #[redacted]-7834 (Non-GLP)
TK					
TK / single-dose	Oral (gavage)	Mouse / CD-1 and rasH2 Wild-Type	1, 10, 30, 100 qd	NA	TT #[redacted]-0005 (Non-GLP)
TK (ISL-TP) in PBMC and analysis of spleen samples / 7 days	Oral (gavage)	Mouse / CD-1	ISL: 3.5, 10, 45 10 ISL + 750 [redacted] qd[b]	NA	TT #[redacted]-1006 and TT #[redacted]-9610 (Non-GLP)
TK / single-dose	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	10, 30, 100 qd	NA	TT #[redacted]-2508 (Non-GLP)
TK and PBMC / 7 days	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	1, 3, 10, 18, 50 qd	NA	TT #[redacted]-1067 (Non-GLP)
Lactational transfer / GD 6 through LD 10	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	10 qd	NA	TT #[redacted]-7100 (GLP)
Tolerability with TK / single-dose	Oral (gavage)	Rabbit / Dutch Belted (nonpregnant)	0, 10, 50, 200 qd	NA	TT #[redacted]-7023 (Non-GLP)
TK / single-dose	Oral (gavage)	Monkey / Rhesus	200 qd	NA	TT #[redacted]-1045 (Non-GLP)
In vitro exploratory developmental and reproductive toxicity					
WEC assay[d]	In vitro	Explanted rat embryos	0, 38, 75, 150, 300, 597, 1193 µM	NA	TT #[redacted]-4624 (Non-GLP)
mEST assay[d]	In vitro	Mouse embryonic stem cells	0, 1, 5, 10, 25, 50, 100 µM	NA	TT #[redacted]-4531-008 (Non-GLP)
Other combination[b]					
TK / single-dose combination with [redacted]	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	3 ISL + 100 [redacted] qd	NA	TT #[redacted]-1221 (Non-GLP)
TK / single-dose combination with [redacted] and [redacted]	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	75 [redacted] + 0 (ISL [redacted] vehicle), 1 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 15 [redacted] + 0 (ISL vehicle), 75 [redacted] + 1 ISL, 75 [redacted] + 15 [redacted], 15 [redacted] + 1 ISL qd	NA	TT #[redacted]-1052 (Non-GLP)

Study Type / Duration	Route	Species / Strain	Dose Levels (mg/kg/dose, unless otherwise specified)	NOAEL (mg/kg)	Study No. (GLP Status)
Toxicity / 3 months combination with [redacted] and [redacted]	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0 (ISL/[redacted] vehicle), 75[redacted] + 0 (ISL/[redacted] vehicle), 1 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 15[redacted] + 0 (ISL vehicle), 75[redacted] + 1 ISL, 75[redacted] + 15[redacted], 15[redacted] + 1 ISL qd	NA	TT #[redacted]-6049 (GLP)
Toxicity / 3 months combination with [redacted]	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0 (ISL + [redacted] vehicles), 0 ([redacted] vehicle) + 10 ISL, 100[redacted] + 0 (ISL vehicle), 25[redacted] + 1 ISL, 100[redacted] + 10 ISL qd	ISL: 1 (NOEL) 10 (NOAEL exluding findings in continuously growing incisors)	TT #[redacted]-1225 (GLP)

CHO=Chinese hamster ovary; DMSO=dimethyl sulfoxide; DOR=doravirine; GD=gestation day; EFD=embryo-fetal development(al); FOB=functional observational battery; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); IP=immunophenotype(ing); ISL=islatravir; LD=lactation day; mEST=mouse embryonic stem cell test; MTT=thiazolyl blue tetrazolium bromide; NA=not applicable; NMU=N-nitrosomethylurea; No.=number; NOAEL=no observed adverse effect level; NOEL=no observed effect level; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; PND=postnatal day; PPND=pre and post-natal developmental; q3d=once every three days; qd=once daily; TK=toxicokinetic(s); TP=triphosphate; [redacted]; WEC=whole embryo culture; w/v=weight/volume.
Note: Additional studies with parenteral formulations of ISL were conducted and are included in 4.2.3.7.7 項. These studies had no impact on the ISL oral toxicity profile.

a. The findings in the rat incisors are not relevant to the human adult population because rat incisors, unlike erupted adult human teeth, are continuously growing.
b. No additive or synergistic toxicity when ISL was combined with DOR, [redacted], [redacted], or [redacted].
c. TT #[redacted]-1035: Due to the rising dose study design, a NOAEL cannot be determined in this study.
d. Data from the WEC and mEST studies are superseded by the data from the definitive EFD toxicity studies [2.6.6.8.7.3 項].

CD-1及び rasH2野生型マウスを用いた反復投与毒性試験では、末梢血リンパ球数の減少（脾臓でのリンパ組織の萎縮に関連）が認められた。反復投与毒性試験で特定された他の標的臓器は歯、骨及び脾臓（ラット）、精巣（マウス及びラット）、皮膚及び骨髄（サル）であり、無毒性量での高い安全域（AUC 曝露比は529倍以上）に基づき、これらの標的臓器毒性がヒトで生じるリスクは低いと考えられた。さらなる所見として用量設定／用量制限毒性試験（非 GLP）では、最大耐量を超える用量（AUC 曝露比は6,783倍以上）で肝臓（ラット）及び胃（ラット及びサル）に所見が認められたが、臨床上問題となる可能性は低いと考えられた。ラット及びサルを用いた慢性毒性試験の無毒性量における AUC 曝露比はそれぞれ529倍及び539倍であった。rasH2及び CD-1マウスの無毒性量における AUC 曝露比はそれぞれ1,061及び1,783倍であった。

マウスを用いた毒性試験では、ヒトでリンパ球数減少が認められた用量（0.75 mg 以上、1日1回）での ISL-TP 濃度と同程度の濃度でリンパ球数減少が観察された。追加のイムノフェノタイピング試験では、高い AUC 曝露比（45 mg/kg/日：1,783倍、10 mg/kg/日以上：243倍以上）において、投与に関連した脾臓での T 細胞及び B 細胞活性化の軽度の抑制も認められた。マウスでのリンパ球

数減少並びにT細胞及びB細胞活性化への影響は、12週間の回復期間後に完全な回復性が認められた。

臨床試験で認められたリンパ球数減少の機序検討のために in vitro 試験を実施した。PBMC 及びTK6細胞を用いた試験の結果は、リンパ球で ISL-TP が選択的に蓄積することにより高濃度の ISL-TP が細胞増殖抑制及びアポトーシスを引き起こす可能性があることを支持するものである。DNA 複製及び細胞分裂に関与する酵素であるポリメラーゼ α に対する ISL-TP の阻害作用（IC_{50}＝29.6 μM）を示した in vitro データから、本濃度を超える濃度の ISL-TP による DNA ポリメラーゼ α 阻害作用が細胞増殖抑制及びアポトーシスの誘導に寄与している可能性が示唆される。DNA ポリメラーゼ α の阻害は ISL に固有のものではなく、他のヌクレオシド／ヌクレオチドアナログ（3TC、FTC、ABC 及び TAF）も DNA ポリメラーゼ α の阻害作用を有し[4.3: 03W0NT] [4.3: 08PFDR] [4.3: 080P9Y] [4.3: 080P9L]、同程度の等モル換算した TP 濃度で TK6細胞の増殖抑制が認められている。総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少が臨床試験で ISL を0.75 mg 以上の用量で1日1回投与した際に認められ[5.3.5.1.13: 08L2VG]、その時の PBMC 中 ISL-TP の Cmax は34 μM 以上であった一方で、より低濃度の PBMC 中 ISL-TP の平均 Cmax（0.25mg を1日1回投与した009試験の薬物動態学的データに基づき約9 μM[2.7.2.2.1.3 項]）では認められなかったことからも本仮説が支持される。また、ミトコンドリア毒性はリンパ球数減少に関連する機序ではなかった。さらに、ヒト PBMC を用いた in vitro 試験で、ISL はリンパ球のアポトーシス、増殖誘導による活性化又は機能に対する影響を及ぼさず、その時の細胞内 ISL-TP 濃度は300 μM 未満であった。この結果と一貫して、ISL 0.75 mg と DOR 100 mg を1日1回併用投与した HIV-1血清反応陽性の臨床試験参加者から採取した PBMC では、ビクテグラビル／FTC／TAF（50/200/25 mg）を1日1回投与した臨床試験参加者と比較して、ex vivo におけるリンパ球生存率及び機能に変化は認められなかった[4.3: 08CFSY]。第III相試験（051及び052試験）では、ISL が RHD（0.25 mg、1日1回）において総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少を引き起こさないことが示された。さらに、ISL を投与した動物では感染症及び腫瘍発現率の上昇は認められず、ヒトでも他の投与群と比較して感染症発生率の上昇は認められなかったことから、ISL は免疫機能を阻害しないことが示唆された。

ラットでは、臨床検査パラメータのごく軽度から軽度の変化（白血球数及びリンパ球数の増加）が、非常に高い AUC 曝露比（4,363倍）で認められたが、程度が小さく病理組織学的所見が認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。サルでは、高用量及び高い曝露比（100 mg/kg、3日に1回投与、AUC 曝露比は3,259倍）において、可逆的な皮膚の炎症性変化及び骨髄塗抹標本での僅かな変化が認められた。明らかな毒性発現用量を投与した高用量群のサルで認められたリンパ球数減少を含む臨床検査値の変化は、グルココルチコイド関連のストレス反応によるものと考えられた[4.3: 07XDNW] [4.3: 08NPTD]。しかしながら、ISL-TP がリンパ球数減少に直接的に影響した可能性も否定できなかった。全体として、これまでの結果を総合的に評価した結果、RHD において免疫毒性の懸念は示唆されなかった。

In vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験の結果から、臨床使用における ISL の in vivo 遺伝毒性リスク

は低いと考えられた[2.6.6.4 項]。

AUC 曝露比でそれぞれ729倍及び618倍まで経口投与した rasH2 トランスジェニックマウス（6ヵ月間）及びラット（2年間）の経口投与がん原性試験において、ISL のがん原性は陰性であった。

ISL の生殖発生毒性試験では、ISL を AUC 曝露比で532倍～5,159倍（ラット）及び1,322倍（ウサギ）まで投与した際に、母動物毒性、胚・胎児発生（ラット及びウサギ）、並びに出生前及び出生後の発生（ラット）に毒性学的に意義のある影響は認められなかった。ラットに ISL を AUC 曝露比で1,306倍まで投与した際、受胎能、交尾能及び初期胚発生への影響は認められなかった。ラットでは ISL は胎盤を介して胎児に移行することが示され、授乳ラットに ISL を投与した際に哺乳児の血漿中に ISL が検出された。

ICH Q3A(R2)及び ICH Q3B(R2)ガイドラインに従い、ISL 原薬不純物及び分解生成物を3ヵ月以上の反復投与毒性試験で用いた ISL ロットで評価した。また、ISL の潜在的及び実際の不純物及び分解生成物について ICH M7ガイドラインに従って変異原性の評価を行い、その結果を[3.2.S.3.2 項]（原薬）及び[3.2.P.5.5 項]（製剤）に示す。

ISL は290～700 nm の光を吸収せず、ISL のモル吸光係数は1,000 L mol^{-1} cm^{-1}未満であることから、ISL が光毒性を有する可能性は低いと考えられる。労働安全プログラムの一環として実施したマウスを用いた局所リンパ節試験から、ISL は皮膚感作性物質であると考えられた。

以上より、広範な非臨床安全性評価から、RHD の曝露量において ISL に懸念すべき毒性はみられないことが示された。非臨床安全性プロファイルは主に毒性学的に意義のない曝露量での所見によって特徴づけられ、ヒトのリスク評価への外挿性は低いと考えられた。また、機序検討試験では、ISL 0.75 mg 以上の用量で臨床的に観察されたリンパ球数減少の機序として、高濃度の ISL-TP によるポリメラーゼ α 阻害が示唆された。これらの機序検討及びモデリングによるシミュレーション結果から[5.3.5.1.13: 08L2VG]、リンパ球数減少が予測されない用量として低用量の ISL（1日1回、0.25 mg）が特定された。第III相試験（051及び052試験）では、ISL が RHD（0.25 mg、1日1回）において総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少を引き起こさないことが示された。遺伝毒性試験、光毒性評価、生殖発生毒性試験及びがん原性試験の結果から、RHD での ISL 曝露量において毒性学的懸念を示す所見は認められなかった。

毒性試験の無毒性量及びその曝露比を[表 2.6.6-60]に示す。反復投与毒性試験でみられた標的臓器毒性のリスク評価を[2.6.6.9 項]に示す。また、ヒトで同定された唯一の主要血中代謝物（M4）は、マウス、ラット、ウサギ及びサルにおいても主要血中代謝物であり、薬理活性及びオフターゲット活性を示さず、マウス、ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験並びにトランスジェニックマウス及びラットを用いたがん原性試験において十分な曝露を示した。ヒトに対する非臨床試験での M4曝露比は[表 2.6.6-42]に示す。結論として、ISL の非臨床毒性プロファイルは、HIV-1感染症患者の治療に用いる DOR/ISL（100 mg/0.25 mg）としての ISL の使用を支持するものである。

2.6.6.1.3 DOR/ISL 併用投与試験

DOR（30 mg/kg/日、AUC 曝露比は4.2倍）及び ISL（3 mg/kg/日まで、AUC 曝露比は104倍）を、ラットを用いた1ヵ月間併用経口投与毒性試験において評価した（TT #[redacted]-1012）[2.6.7.7.F 項]。DOR 及び ISL の非臨床安全性試験プログラムにおいて重複した毒性が認められなかったことと一貫して、本試験においても DOR と ISL を併用投与した際に相加的若しくは相乗的な毒性、又は TK の相互作用の証拠は認められなかった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

ISL を用いた独立した急性毒性試験は実施しなかったため、4.2.3.1 項には試験報告書は含まれていない。しかしながら、単回投与後の毒性はマウス、ラット及びサルを用いた反復経口投与毒性試験[2.6.6.3 項]、並びにマウス、ラット、ウサギ及びサルを用いた単回投与 TK 試験[2.6.6.8.7.2 項]の結果から評価可能であった。最大100 mg/kg（マウス）又は200 mg/kg（ラット、ウサギ及びサル）を単回経口投与した際、死亡及び一般状態の変化は認められなかった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 マウス

2.6.6.3.1.1 ISL：rasH2野生型マウスを用いた3ヵ月間経口投与用量設定及び TK 試験（TT #[redacted]-6002）

本試験の目的は、マウスに約3ヵ月間、1日1回経口投与した際の ISL の毒性及び TK プロファイルを評価することであった[2.6.7.7.A 項]。本試験は、CByB6F1/Tg rasH2ヘミ接合マウスを用いた6ヵ月間がん原性試験（TT #[redacted]-9007）[2.6.7.10.B 項]の予備試験として実施した。

rasH2野生型マウスを4群（雌雄各21匹）に割り付け、溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL を3.5、10、18又は35 mg/kg/日で投与し、他の1群（雌雄各15匹）には溶媒のみを投与した。投与容量は10 mL/kg とした。各群、毒性評価に10匹／性、TK 評価に11匹／性（対照群は5匹／性）を使用した。

毒性評価は死亡、一般状態、体重、臨床検査及び病理検査に基づいて行った。また ISL 投与動物の血漿中 ISL 濃度も測定した。さらに、ISL M4代謝物の血漿中半定量的分析を ISL 投与動物のプール血漿試料を用いて行った。

ISL に関連した計画外死亡又は一般状態変化はみられなかった。10 mg/kg/日群（毒性評価）の雄1例を一般状態変化がみられたため早期（試験10日）に安楽殺し、剖検及び病理組織学的検査から一般状態変化は投与過誤によるものと確認された。35 mg/kg/日群（TK 評価）の雌1例が試験6日に死亡状態で発見され、剖検で食道の穿孔が認められたため投与過誤によるものと考えられた。また、35 mg/kg/日群（TK 評価）の雄1例が試験59日に死亡状態で発見されたが、剖検において明らかな所見は認められず、死因は特定されなかった。しかしながら、35 mg/kg/日の毒性評価群（雌

雄）では死亡は認められず、TK 評価群でみられた計画外死亡もヒトへの外挿性がない非常に高い曝露比（AUC 曝露比は2,239倍）でみられた。

ISL に関連した投与期間中検査所見は試験1週の35 mg/kg/日の雌にみられた平均体重の減少に限られ、その後の平均体重増加量の減少も伴っていた（試験終了付近、対照群と比較して-44%）。

ISL に関連したごく軽度から中等度のリンパ球数の減少（同時対照群の平均と比較して-40%～-73%）が10 mg/kg/日以上の群の雌雄で認められた。この変化に伴い、10 mg/kg/日以上の群ではごく軽度から中等度の白血球数の減少（同時対照群の平均と比較して-38%～-63%）もみられた。リンパ球数の減少は脾臓の病理組織学的所見と関連していた。リンパ球数は同時対照群と比較して低かったが、概して文献で報告されているマウス背景値の正常範囲内であった[4.3: 07XG40]。

ISL に関連した病理検査所見は脾臓におけるごく軽度のリンパ組織の萎縮（18 mg/kg/日以上の群の雌及び10 mg/kg/日以上の群の雄）及び精巣の精上皮変性（35 mg/kg/日）であり、いずれの病理組織学的所見もそれぞれ脾臓重量及び精巣重量の減少との部分的な関連がみられた。

ごく軽度から中等度の末梢血リンパ球数の減少がみられたが、概して文献で報告されているマウス背景値の正常範囲内であり[4.3: 07XG40]、脾臓で観察されたごく軽度のリンパ組織の変化が動物に機能的な影響を及ぼす可能性は低いことから、これらの変化は有害ではないと考えられた。

血漿中 TK パラメータを[表 2.6.6-2]に示す。

表 2.6.6-2 ISL を経口投与した際のマウス平均（± SE）血漿中 TK パラメータ：試験 13 週（TT #[redacted]-6002）

Dose (mg/kg/day)	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
3.5	Female	4.34 ± 0.394	2.54 ± 0.515	0.50 ± NC
	Male	4.72 ± 0.131	3.96 ± 0.325	0.50 ± NC
	All	4.53 ± 0.279	3.25 ± 0.419	0.50 ± NC
10	Female	15.9 ± 0.252	11.2 ± 0.431	0.50 ± NC
	Male	19.2 ± 2.83	8.64 ± 0.699	0.50 ± NC
	All	17.6 ± 1.49	9.90 ± 0.671	0.50 ± NC
18	Female	33.6 ± 4.97	18.8 ± 0.822	0.50 ± NC
	Male	32.9 ± 1.44	18.1 ± 1.01	0.50 ± NC
	All	33.3 ± 2.38	18.5 ± 0.601	0.50 ± NC
35	Female	72.0 ± 3.76	38.8 ± 3.03	0.50 ± NC
	Male	68.6 ± 3.64	36.7 ± 0.794	0.50 ± NC
	All	70.3 ± 2.93	37.8 ± 1.48	0.50 ± NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.

ISL の平均全身曝露量（AUC0-24）及び平均 Cmax に顕著な性差は認められなかった。3.5 mg/kg/日と10 mg/kg/日の間で平均 AUC0-24が用量比を僅かに上回ったことを除き、ISL の平均 AUC0-24及び Cmax は検討した用量範囲で概して用量に比例していた。

プール血漿試料を用いた分析から、M4の平均濃度は3.5、10、18及び35 mg/kg/日においてそれぞれ82、251、411及び728 nM であった。本分析で用いた試験条件下では、M4濃度は血漿中総 ISL 関連物質の約20%～40%に相当した。

10 mg/kg/日群の雄で認められたごく軽度のリンパ球数及び白血球数の減少に基づき、無影響量は3.5 mg/kg/日であった。35 mg/kg/日群（AUC 曝露比は2,239倍）の雌の平均体重増加量の減少及び雄の精上皮変性に基づき、無毒性量は18 mg/kg/日（AUC 曝露比は1,061倍）であった。

2.6.6.3.1.2 ISL：マウスを用いた3ヵ月間経口投与用量設定試験（TT #[redacted]-1020）

本試験の目的は、マウスに3ヵ月間、1日1回経口投与した際の ISL の毒性及び TK プロファイルを評価することであった[2.6.7.7.B 項]。

CRL:CD-1(ICR)マウスを5群に割り付け、溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL を0、3.5、10、22又は45 mg/kg/日で投与した。投与容量は10 mL/kg とした。各群、毒性評価に10匹／性、TK 評価に11匹／性（対照群は5匹／性）を割り付けた。

毒性評価は死亡、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学検査及び病理検査に基づいて行った。また ISL 投与動物の血漿中 ISL 濃度も測定した。さらに、ISL M4代謝物の血漿中半定量的分析を ISL 投与動物のプール血漿試料を用いて行った。

ISL に関連した計画外死亡、一般状態、体重、摂餌量の変化及び血液生化学検査所見も認められなかった。45 mg/kg/日群（TK 評価群）の雄1例は試験90日の血液採取直後に死亡状態で発見され、死亡は採血操作によるものと考えられた。また、10 mg/kg/日群（TK 評価群）の雄1例も試験21日に死亡状態で発見されたが、用量依存性がないため ISL に関連したものではないと考えられた。

ISL に関連した血液学的検査所見として、ごく軽度から中等度のリンパ球数の減少が10 mg/kg/日以上の群の雌（同時対照群と比較して-44%～-60%）及び3.5 mg/kg/日以上の群の雄（同時対照群と比較して-50%～-79%）で認められた。リンパ球数は概して文献で報告されているマウス背景値の正常範囲内であった[4.3: 07XG40]。これらの変化に伴い、ごく軽度から中等度の白血球数の減少が10 mg/kg/日以上の群の雌（同時対照群と比較して-35%～-45%）及び3.5 mg/kg/日以上の群の雄（同時対照群と比較して-44%～-69%）で認められた。

ISL に関連した剖検所見はみられなかった。病理組織学的検査では、ISL に関連した所見は10 mg/kg/日以上の群の雌雄でみられた脾臓におけるごく軽度のリンパ組織の萎縮のみであった。この所見は10 mg/kg/日以上の群の雌雄でみられた脾臓重量（群平均値）の軽度な減少と相関しており、血液学的検査で認められたリンパ球数の減少と関連していた。

ごく軽度から中等度の末梢血リンパ球数減少が3.5 mg/kg/日以上の群でみられたが、文献で報告されているマウス背景値の正常範囲内であり[4.3: 07XG40]、10 mg/kg/日以上の群の脾臓で観察されたごく軽度のリンパ組織の変化が動物に機能的な影響を及ぼす可能性は低いことから、これらの変化は有害ではないと考えられた。

血漿中 TK パラメータを[表 2.6.6-3]に示す。

表 2.6.6-3 ISL を経口投与した際のマウス平均（± SE）血漿中 TK パラメータ：試験 13 週（TT #[redacted]-1020）

Dose (mg/kg/day)	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
3.5	Female	1.88 ± 0.187	1.71 ± 0.297	0.50 ± NC
	Male	2.22 ± 0.0951	1.45 ± 0.0623	0.50 ± NC
	All	2.05 ± 0.118	1.58 ± 0.148	0.50 ± NC
10	Female	6.72 ± 0.852	5.75 ± 1.94	0.50 ± NC
	Male	8.55 ± 0.828	6.64 ± 1.63	0.50 ± NC
	All	7.63 ± 0.591	6.20 ± 1.15	0.50 ± NC
22	Female	19.5 ± 1.25	14.2 ± 0.796	0.50 ± NC
	Male	27.1 ± 1.40	12.4 ± 2.50	0.50 ± NC
	All	23.3 ± 1.41	13.3 ± 1.24	0.50 ± NC
45	Female	45.7 ± 4.36	29.5 ± 2.73	0.50 ± NC
	Male	66.3 ± 3.62	37.3 ± 3.60	0.50 ± NC
	All	56.0 ± 3.87	33.4 ± 2.68	0.50 ± NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.

ISL の平均全身曝露量（AUC0-24）及び平均 Cmax に顕著な性差は認められなかった。10 mg/kg/日と22 mg/kg/日の間で平均 AUC0-24が用量比を僅かに上回ったことを除き、ISL の平均 AUC0-24及び Cmax は検討した用量範囲でほぼ用量に比例していた。

プール血漿試料を用いた分析から、3.5、10、22及び45 mg/kg/日群における M4の平均濃度はそれぞれ45、92、273及び601 nM であった。本分析で用いた試験条件下では、M4濃度は血漿中総 ISL 関連物質の約20%～35%に相当した。

3.5 mg/kg/日群の雄で認められたリンパ球数及び白血球数の減少に基づき、無影響量は3.5 mg/kg/日未満であった。3.5 mg/kg/日以上の群でみられた末梢血リンパ球数の減少の程度は文献で報告されているマウス背景値の正常範囲内であり[4.3: 07XG40]、10 mg/kg/日以上でみられたごく軽度のリンパ組織の変化を含めて動物に機能的な影響を及ぼす可能性は低いことから、無毒性量は

45 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は1,783倍以上）であった。

2.6.6.3.2　ラット

2.6.6.3.2.1　ISL：ラットを用いた探索的5日間経口投与毒性試験（小核及び FOB 評価を含む）（TT #[redacted]-1040）

本試験の目的は、ラットに5日間、1日1回経口投与した際の ISL の開発初期段階における毒性、小核誘発能及び TK プロファイル、並びに初回投与後の中枢神経系に対する影響を評価することであった[2.6.7.6 項]。

Crl:WI(Han)ラット（4匹／性／群）に溶媒（30 % Captisol）で調製した ISL を0、30又は200 mg/kg/日で1日1回、4日間（200 mg/kg/日）又は5日間（0及び30 mg/kg/日）投与した。投与容量は5 mL/kg とした。

毒性評価は死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、臨床検査及び病理検査に基づいて行った。また、ISL 及び ISL-TP 濃度を血漿（ISL のみ）、肝臓、腎臓、骨格筋、PBMC 及び心臓において測定した。試験1日の投与後約1時間（推定 Tmax）に、各群雌雄各4匹を用いて FOB 評価を行った。小核評価のための骨髄は、計画剖検時まで生存した全てのラット（試験5日の早期に採取した高用量群の雄を除く）から最終投与後に採取した。高用量群の雌では多数の死亡がみられたため、採取は行わなかった。FOB 評価の結果は[2.6.2.4 項]及び[2.6.3.4 項]に小核試験の結果は[2.6.6.4.2.1 項]及び[2.6.7.9.A 項]にそれぞれ示す。

200 mg/kg/日群の全ての雌雄は、ISL 投与に関連した体重減少、一般状態及び剖検所見（後述）を含む過度の毒性により死亡状態で発見されたか又は試験5日に早期に安楽殺した。死因は肝毒性と考えられた。計画外死亡はヒトへの外挿性がない非常に高い曝露比（AUC 曝露比は8,790倍）で認められた。

200 mg/kg/日群の雌雄では、ISL に関連した体重及び摂餌量の減少が認められ、一般状態所見として、半閉眼、透明な眼脂、円背位、立毛、活動量低下、接触時冷感並びに少量便、無形便又は無便がみられた。死亡及び瀕死期の一般状態変化がみられたため、200 mg/kg/日群の全ての生存ラットを試験5日の早期に安楽殺した。30 mg/kg/日群では死亡、体重及び摂餌量の変化は認められなかった。

200 mg/kg/日群における ISL に関連した血液学的検査所見として、雌雄におけるごく軽度から軽度の赤血球パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）及び好中球の増加、雄におけるごく軽度の白血球及び単球の増加、並びに雌におけるごく軽度の網状赤血球の減少及び軽度のリンパ球の減少が認められた。30 mg/kg/日群における ISL に関連した血液学的検査所見として、雌におけるごく軽度の網状赤血球の減少、雄におけるごく軽度から軽度の白血球（好中球）の増加（個別値）がみられた。30 mg/kg/日群に認められた変化は僅かであり、病理組織学的所見は伴わなかったことを考慮すると、これらの所見は有害ではないと考えられた。

忍容性が乏しく過度の毒性が認められた200 mg/kg/日群では、ISL に関連した血清生化学検査所見が雌雄でみられ、重度の AST 及び ALT の増加（30～60倍）、中等度の総ビリルビン及び乳酸の増加（雄のみ）、並びに軽度の ALP の増加が認められた。また、軽度のクレアチニンの増加を伴った軽度の尿素窒素の増加（雌雄）もみられた。加えて、200 mg/kg/日群では軽度のカリウムの減少（雌雄）及び軽度のトリグリセリドの減少（雄のみ）もみられた。

尿検査では、200 mg/kg/日群の雌雄における微量の潜血が認められた。

眼科検査及び尿検査パラメータには、ISL に関連した変化は認められなかった。

200 mg/kg/日群における病理組織学的所見として、肝細胞変性、胆管上皮過形成及び門脈周囲の炎症のほか、胃腺変性も認められた。本試験（ラットの5日間毒性試験）でみられた200 mg/kg/日群における胃の所見は、ラットの7日間毒性試験（TT #[redacted]-2513）[2.6.7.6 項]における100 mg/kg/日群の胃の所見と比べ、病理組織学的には類似していたが、程度がより重篤であった。肝臓の病理組織学的所見は、200 mg/kg/日群の剖検所見としてみられた肝臓の退色及び計画外安楽殺の直前に認められた臨床検査値の顕著な増加と関連していた。200 mg/kg/日群では、その他の病理組織学的所見として、心臓（死亡した雌ラット数例のみ、心内膜直下の乳頭筋領域におけるごく軽度の出血及びそれに伴う心筋線維の膨化及び断片化）、リンパ組織（脾臓、胸腺及びリンパ節におけるリンパ系細胞の変性及び／又は壊死）、及び骨髄（ごく軽度から軽度の全ての構成細胞の減少）の所見が認められ、ラットでの明らかな用量制限毒性に起因したストレス及び瀕死状態に伴う二次的な変化[4.3: 07XDNW] [4.3: 07XDNP]と考えられた。30 mg/kg/日群では病理検査所見は認められず、忍容性は良好であった。

血漿中 TK パラメータを[表 2.6.6-4]に示す。

表 2.6.6-4 ISL を経口投与した際のラット平均血漿中 TK パラメータ：
試験 5 日（TT #[redacted]-1040）

Dose (mg/kg/day) [a,b]	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
30	40.4	10.63	1.1
200	276 [c]	24.1	2.0

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BLQ=below limit of quantification; Cmax=observed maximum concentration; Cp=plasma concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; t=time; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a. ISL was administered in a 30% Captisol (in deionized water) vehicle.
b. All control samples were BLQ.
c. Mortality and deteriorating physical condition resulted in the early termination of 200 mg/kg/day dose group and collection of TK parameters from 1 to 7 h postdose on Study Day 5. Estimation of the 200 mg/kg dose group AUC0-24 was performed assuming that steady state had been established and that the plasma concentration at t=24 h would be the same as the Cp at t=0 h on Study Day 5.

加えて、ISL を投与した動物の肝臓、腎臓、骨格筋及び心臓における ISL 並びに ISL-TP 濃度を

測定した。これらの組織での ISL 濃度は、計画剖検時の動物から採取した血漿中濃度よりも概して高かった。対照群の全ての組織における ISL 及び ISL-TP 濃度は定量下限未満であった。本試験実施時には試料中の ISL-TP を安定化させる方法が最適化されていなかったため、ISL-TP は PBMC 中では検出されなかった。後にラットを用いて実施した2つの探索的7日間試験（TT #[redacted]-2513[2.6.7.6 項]及び TT #[redacted]-1067[2.6.7.17.D 項]）では、最適化した安定化法を用いて PBMC 中の ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度を測定した。

30 mg/kg/日群の雌でみられた有害ではないごく軽度の網状赤血球の減少及び雄のごく軽度から軽度の白血球（好中球）の増加に基づき、無影響量は30 mg/kg/日未満であった。200 mg/kg/日群（AUC 曝露比は8,790倍）の過度の毒性による死亡及び病理組織学的所見に基づき、無毒性量は30 mg/kg/日（AUC 曝露比は1,287倍）であった。

2.6.6.3.2.2 ISL：雄ラットを用いた探索的7日間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-2513）

本試験の目的は、ISL を雄ラットに7日間、1日1回経口投与した際の毒性及び TK プロファイルを評価し、後に実施する反復投与毒性試験の用量設定の参考とすることであった[2.6.7.6 項]。

Crl:WI(Han)ラットを雄5匹からなる4群（病理組織学的検査群）及び雄3匹からなる3群（PBMC 検査群）に割り付け、溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した10、30若しくは100 mg/kg/日の ISL 又は溶媒のみを5 mL/kg の投与容量で投与した。

毒性評価は死亡、一般状態、体重、臨床検査（血液生化学検査：重炭酸塩、アニオンギャップ、乳酸、ペプシノーゲン及びガストリンの特殊検査項目を含む、尿検査：尿中カルシウム、尿中リン及び尿中クレアチニンの尿生化学検査を含む）並びに病理検査（右大腿骨及び脛骨のマイクロ CT 分析を含む）に基づいて行った。血漿中薬物濃度を測定し、PBMC 検査群では PBMC の分離及び計数を実施した。

全ての動物は計画剖検時まで生存した。いずれの用量でも ISL に関連した一般状態、体重の変化、又は右大腿骨／脛骨のマイクロ CT 検査における定性的な変化は認められなかった。

100 mg/kg/日群において ISL に関連した主に尿中カルシウムの増加に起因する尿中カルシウム／クレアチニン比の軽度の増加（同時対照群と比較して3.6倍）及び血清中ペプシノーゲンの軽度の増加（同時対照群と比較して+22%）が認められた。10及び30 mg/kg/日群では、ペプシノーゲンのごく軽度の増加（同時対照群と比較して+11%）がみられたが、関連する胃腺上皮細胞における病理組織学的所見は観察されなかったことから、この所見は有害ではないと考えられた。

ISL に関連した病理組織学的所見は、100 mg/kg/日群の全例でみられたごく軽度の胃腺上皮の変性のみであった。この変化は胃底部の頸部粘液細胞領域における腺上皮の単細胞壊死を特徴としており、時おり胃腺腔内における脱落上皮の蓄積を伴っていた。30 mg/kg/日群では胃の所見は認められなかった。

血漿中 TK パラメータを[表 2.6.6-5]に示す。

表 2.6.6-5　ISL を経口投与した際のラット平均（± SD）血漿中 TK パラメータ：試験 7 日（TT #[redacted]-2513）

Dose (mg/kg/day)	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
10	14.7 ± 2.4	4.6 ± 0.6	1.0 ± 0.0
30	58.8 ± 7.9	12.7 ± 2.0	1.0 ± 0.0
100	213 ± 24	28.3 ± 7.7	1.6 ± 0.6

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; n=number; SD=standard deviation; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
Note: Data presented as the mean ± SD, n=5.

7日間の ISL の投与後には、ISL 及び3種類全てのリン酸化同化物（ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP）が投与後2時間の全用量群の PBMC 中から検出された。

10及び30 mg/kg/日群における有害ではないペプシノーゲンのごく軽度の増加に基づき、無影響量は10 mg/kg/日未満であった。100 mg/kg/日群（AUC 曝露比は6,783倍）で認められたごく軽度の胃腺上皮の変性に基づき、無毒性量は30 mg/kg/日（AUC 曝露比は1,873倍）であった。

2.6.6.3.2.3　ISL：ラットを用いた29日間経口投与毒性試験（小核及び FOB 評価を含む）（TT #[redacted]-1075）

本試験の目的は、ISL をラットに約1ヵ月間、1日1回経口投与した際の毒性、TK プロファイル及び小核誘発能、並びに初回投与後の中枢神経系に対する影響を評価することであった[2.6.7.7.C 項]。

Crl:WI(Han)ラットを雌雄各10匹からなる4群に割り付け、溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 3、10若しくは50 mg/kg/日又は溶媒のみを投与し、投与容量は5 mL/kg とした[表 2.6.6-6]。さらに PBMC 検査群として雌雄各3匹／群を割り付けた[表 2.6.6-6]。

表 2.6.6-6　　動物の各群への割付け（TT #[redacted]-1075）

Study Arm	Dose Group	Females	Males
Toxicity Arm[a]:			
Control (vehicle)	1	10	10
ISL			
3 mg/kg/day	2	10	10
10 mg/kg/day	3	10	10
50 mg/kg/day	4	10	10
PBMC Arm[b]:			
Control (vehicle)	5	3	3
ISL			
3 mg/kg/day	6	3	3
10 mg/kg/day	7	3	3
50 mg/kg/day	8	3	3

ISL=islatravir; PBMC=peripheral blood mononuclear cell.
a. Main study (Toxicity Arm): Males and females received 29 doses.
b. PBMC Arm: Designated for analyses of PBMC and serum pepsinogen. Males received 29 doses, females received 28 doses. Animals were terminated without histomorphologic examination following the last sample collection.

毒性評価は死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、臨床検査及び病理検査に基づいて行った［血清ペプシノーゲンの探索的評価（全群）並びに歯（切歯及び臼歯）の病理組織学的評価（対照群及び50 mg/kg/日群）も含む］。投与群及び対照群の血漿中 ISL 濃度を測定した。また、探索的分析法を用い、投与群及び対照群の PBMC 中 ISL、ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度を測定した。

試験1日の投与後約1時間（推定 Tmax）時点に、毒性評価群の最初の雄6匹を用いて FOB を行った。小核評価のため、最終剖検時に毒性評価群から骨髄を採取した。対照群（10匹／性）及び ISL 投与群（3、10及び50 mg/kg/日の最初の5匹／性）から作製した標本を用い、多染性赤血球（約2,000個／匹）の小核形成を評価した。FOB 評価の結果は[2.6.2.4 項]及び[2.6.3.4 項]に、小核試験の結果は[2.6.6.4.2.2 項]及び[2.6.7.9.B 項]に述べる。

ISL のラットにおける忍容性は良好であった。いずれの用量でも計画外死亡、ISL に関連した一般状態及び眼科検査所見、並びに体重及び摂餌量の変化は認められなかった。

ISL に関連した臨床検査所見は50 mg/kg/日群（雌雄）及び10 mg/kg/日群（雄のみ）に限定された。50 mg/kg/日群の雌雄では、白血球数（対照群と比較して約+32%～+37%）、リンパ球数（対照群と比較して約+31%～+40%）、ALP（対照群の約1.4倍）及び AST（対照群の約1.3倍）のごく軽度の増加が認められた。10 mg/kg/日群の雄では、白血球数（対照群と比較して約+34%）、リンパ球数（対照群と比較して約+36%）のごく軽度の増加がみられた。臨床検査における変化は病理組織学的所見を伴わず、変化の程度はごく軽度であったことから有害ではないと考えられた。3 mg/kg/日群の雄及び10 mg/kg/日以下の群の雌には ISL に関連した臨床検査所見は認められなかった。

ISL に関連した臓器重量の変化及び剖検所見はみられなかった。ISL に関連した病理組織学的所見として、50 mg/kg/日群の全例で顕著な切歯の象牙芽細胞上皮の変性が認められた。50 mg/kg/日群の臼歯では、対照群と比較して特記すべき質的な病理組織学的差異はみられなかった。ラットを用いた6ヵ月間経口投与毒性試験（2ヵ月時の中間剖検及び4又は6ヵ月間の回復期間を伴った2ヵ月間投与を含む）（TT #[redacted]-6011）[2.6.7.7.D 項]で観察された歯の所見に基づき、本試験の歯の病理組織学的評価（対照群及び50 mg/kg/日群に限定）は遡及的に実施した。

試験5週における ISL の血漿中 TK パラメータを[表 2.6.6-7]に示す。

表 2.6.6-7　ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 TK パラメータ：試験 5 週（TT #[redacted]-1075）

Dose (mg/kg/day)[a]	Dose Group	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
3	2	Female	2.84 ± 0.143	1.57 ± 0.0896	0.50 ± NC
		Male	2.66 ± 0.0677	1.33 ± 0.0496	0.50 ± NC
		All	2.75 ± 0.0748	1.45 ± 0.0699	0.50 ± NC
10	3	Female	12.7 ± 0.914	4.80 ± 0.170	0.50 ± NC
		Male	12.1 ± 0.673	4.95 ± 0.434	0.50 ± NC
		All	12.4 ± 0.538	4.88 ± 0.211	0.50 ± NC
50	4	Female	94.8 ± 9.48	21.2 ± 2.51	0.50 ± NC
		Male	78.3 ± 1.92	16.6 ± 0.657	0.50 ± NC
		All	86.5 ± 5.05	18.9 ± 1.55	0.50 ± NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a. Drug concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method in Study Week 5.

ISL の平均全身曝露量（AUC0-24）及び平均 Cmax に顕著な性差は認められなかった。ISL の平均全身曝露量は全3用量間で用量比を上回った。ISL の平均 Cmax は3と10 mg/kg/日の間でほぼ用量に比例し、10と50 mg/kg/日の間では用量比を僅かに下回った。

50 mg/kg/日群の投与後2時間における PBMC 中の平均 ISL と ISL-TP 濃度は同程度であった。ほかの全ての用量及びリン酸化同化物に関しては、ISL-DP が検出された50 mg/kg/日群の1例を除き、投与後2時間の PBMC 中の濃度は全て定量下限未満であった。

50 mg/kg/日群の雌及び10 mg/kg/日群の雄における白血球数及びリンパ球数のごく軽度の増加、並びに50 mg/kg/日群における歯（切歯）の所見に基づき、無影響量は雌で10 mg/kg/日、雄で3 mg/kg/日であった。しかしながら、急速に成長する切歯における可逆的所見がヒトではみられず、一度萌出した後は成長しないヒト成人の歯には外挿されない所見であること及び臨床検査所見は病理組

織学的変化を伴っておらず有害ではないと考えられたことから、成人への外挿性を考慮した無毒性量は50 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は2,755倍以上）であった。

2.6.6.3.2.4 ISL：ラットを用いた6ヵ月間経口投与毒性試験（2ヵ月時の中間剖検及び4又は6ヵ月間の回復期間を伴った2ヵ月間投与を含む）（TT #[redacted]-6011）

本試験の当初の目的は、ISL をラットに約6ヵ月間、1日1回経口投与した際の毒性及び TK プロファイルを評価することであった[2.6.7.7.D 項]。Crl:WI(Han)ラットを4群（雌雄各16匹）に割付け、溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 3、10若しくは50 mg/kg/日（それぞれ第2、3及び4群）又は溶媒のみ（第1群）を投与し、投与容量は5 mL/kg とした。予期しない歯の所見が認められたため、当初の割付けを試験10週に下記のとおりに変更した。

- 対照群を含む全ての群で一部の動物（第1、2群：8匹／性／群、第3、4群：5匹／性／群）を試験10週に剖検した（中間剖検1）。
- 対照群（第1群）では、残りのラットに追加で約4又は6ヵ月間投与し（各投与期間4匹／性）、それぞれ試験27週（中間剖検2）又は試験38週（最終剖検）に剖検した。
- 3 mg/kg/日群では、残りのラットに追加で約4ヵ月間投与し（8匹／性）、試験27週に剖検した（中間剖検2）。
- 10 mg/kg/日群では、残りのラットを約6ヵ月間投与（5匹／性）した後に剖検（中間剖検2）する投与継続群及び約2ヵ月間投与（6匹／性、第5群）した後に約6ヵ月間休薬する（6ヵ月間投与しない）回復群に割り付けた。
- 50 mg/kg/日群では、残りのラットを約6ヵ月間投与（5匹／性）した後に剖検（中間剖検2）する投与継続群及び約2ヵ月間投与（6匹／性、第6群）した後に約4ヵ月間休薬する（4ヵ月間投与しない）回復群に割り付けた。

最終的な投与群の割付けを[表 2.6.6-8]に示す。

表 2.6.6-8 ラットを用いた 6 ヵ月間毒性試験で中間剖検、最終剖検及び回復群に割り付けた各群あたりの動物数（TT #[redacted]-6011）

Original Dose Group	ISL Dose Level (mg/kg/day)	Number of Animals/Component (Initially 16/sex/group)		
		Interim Necropsy-1 Component (Study Week 10)	Continued Dosing Component	Recovery Component (Recovery Initiated in Study Week 10)
1	0	8/sex	4/sex[a] + 4/sex[b]	NA
2	3	8/sex	8/sex[a]	NA
3	10	5/sex	5/sex[a]	6/sex (Group 5)[b]
4	50	5/sex	5/sex[a]	6/sex (Group 6)[a]

ISL=islatravir; NA=not applicable.
a. Terminated in Study Week 27 (Interim Necropsy 2): Animals from the dosing component were dosed approximately 6 months and Group 6 animals from the recovery component were dosed approximately 2 months followed by approximately 4 months of recovery (approximately 4 months not dosed).
b. Terminated in Study Week 38 (Final Necropsy): Animals from Group 1 (control) were administered vehicle approximately 8 months and Group 5 animals from the recovery component were administered ISL approximately 2 months followed by approximately 6 months of recovery (approximately 6 months not dosed).

毒性は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、臨床検査及び病理評価に基づき評価した。投与群及び対照群の血漿中 ISL 濃度を測定し、10 mg/kg/日群の ISL の代謝物 M4の血漿中濃度を半定量分析法（非 GLP、LC-HRMS）により探索的に測定した。また、頭部（歯を含む）及び後肢／大腿骨の探索的マイクロ CT 画像検査（非 GLP）を実施した。

計画外死亡は認められなかった。ISL に関連した投与期間中検査所見として、10 mg/kg/日以上の群における持続成長する切歯の可逆的な所見、並びに50 mg/kg/日群の雌雄における平均摂餌量及び平均体重増加量の減少がみられ、高用量群の歯の所見の重篤度との関連がみられた。

50 mg/kg/日群では、試験5週から切歯の変色（赤変、黒変又は白変）及び切歯の破折を主とする歯の変化が認められた。この所見の発現頻度は投与期間が長くなるにつれて急激に増加し、試験8週までに全例で影響が認められた。試験10週から約4ヵ月間の回復期間に入ったラットでは、約3週間の休薬後に歯の変化の発現が減少し、約15週間の休薬後にはこれらの変化が認められなくなったことから、一般状態所見としての切歯の変化の完全な回復性が示唆された。試験6～9週に ISL に関連した摂餌量減少が観察され、歯の変化に起因したものと考えられた。試験9週以降は切歯の破折がみられたラットが餌を食べやすくなるよう通常のペレット（ルーチンで与えている圧縮ペレット）の代わりに軟らかい餌を与えたため、摂餌量を評価しなかった。試験10週から約4ヵ月間の回復期間に入ったラットでは、試験22週から試験終了時まで通常のペレットを再び与え、当該期間中の摂餌量は対照群とほぼ同程度であった。試験5週からは各個体で摂餌量減少とほぼ相関する間欠的な体重減少が観察され始め、結果として雌雄の平均体重増加量の減少がそれぞれ試験10週及び7週から認められた。約6ヵ月間投与した雌雄における平均体重増加量は、対照群よりもそれぞれ22%及び39%減少した。試験10週から約4ヵ月間の回復期間に入ったラットでは、約2週間の休薬後の体重増加量は雌で対照群と同程度であったのに対し、雄では試験26週まで減少が認められたが、減少の程度は経時的に改善（対照群よりも11%減少）したことから、雌では完全な回復が、雄では部分的な回復が示唆された。

10 mg/kg/日群における歯の変化は、試験8週から観察され始めた切歯の変色（赤変又は白変）のみであった。この所見の発現頻度は投与期間が長くなるにつれて増加し、約6ヵ月間投与したラットの大半で影響が認められた。回復群（試験10週から約6ヵ月間）に割り付けられ、回復期間開始時又はその直後に歯の変化が認められたラットでは、約2週間の休薬により歯の変化が消失したことから、これらの変化の完全な回復性が示唆された。3 mg/kg/日群では歯の変化はみられなかった。

50 mg/kg/日群では ISL に関連したごく軽度から軽度の血液学的及び血液生化学検査所見が認め

られた。以下に示すこれらの変化は程度が小さく、関連する病理組織学的所見が認められなかったことから、毒性学的意義は乏しいと考えられた。血液学的検査所見として、対照群と比較して、試験8、12及び24週における白血球数（+26%～+138%）、好中球数（+56%～+114%）、リンパ球数（+19%～+142%）及び単球数（+47%～+188%）の増加がみられた。4ヵ月間の休薬中（休薬開始から約2週間後）の血液学的検査では、雌のみで白血球数（+61%）及びリンパ球数（+68%）の増加が認められた。血液生化学検査所見として、対照群と比較して、試験8、12及び24週の雌及び試験24週の雄における ALP の増加（+30%～+70%）がみられた。試験8及び12週の雌雄及び試験24週の雄における AST の増加（+38%～+59%）もみられた。試験12及び24週の雌では、アルブミン／グロブリン比の低下（-17%）及びグロブリン濃度の増加（+10%）が認められた。10週間投与後の4ヵ月間の休薬中に血液生化学検査所見はみられなかったことから、これらの変化の完全な回復性が示唆された。ISL に関連した凝固検査又は尿検査の所見は認められなかった。

ISL に関連した眼科検査所見はみられなかった。

ISL に関連した病理検査所見が雌雄でみられ、10 mg/kg/日以上の群では持続成長する切歯において、50 mg/kg/日群では臼歯、精巣、脾臓、心臓、胸腺、唾液腺、副腎及び前立腺において所見が観察された。以下に詳細を記載する。

50 mg/kg/日を約2ヵ月間投与したラットでは、ISL に関連した病理検査所見として、持続成長する切歯における象牙芽細胞の変性（二次的なエナメル芽細胞の細胞質減少、切歯の歯髄及び歯周組織の炎症を伴う）が認められ、象牙質層の菲薄化及び異常形成を伴っていたことから、投与期間中検査でみられた切歯の破折及び変色との関連が示唆された。また、臼歯における象牙芽細胞の変性（原生象牙質の菲薄化及び質的変化を伴わない）、及び精巣における精子／精上皮変性も認められた。さらに、脾臓では高用量群の一部のラットにおいて、ISL に関連したヘモジデリンと一致する色素のごく軽度の増加が認められた。ヘモジデリンは老齢ラットの脾臓で一般的にみられる。血液学的パラメータに顕著な変化がないことを考慮すると、本所見は有害ではないと考えられた。4ヵ月間の回復期間終了時には、切歯でみられた病理検査所見は完全に回復しており、臼歯でも完全な又は部分的な回復がみられ、精巣及び脾臓でも回復傾向が確認された（ただし、精巣では剖検所見として軟化及び軽度の重量減少が認められた）。

50 mg/kg/日を約6ヵ月間投与したラットの病理検査では、ISL に関連した所見が持続成長する切歯、臼歯及び精巣に認められ、2ヵ月間投与時のデータと質的に類似していたが、程度はより重度であった。精巣の病理組織学的変化は、精巣の軟化及び精巣重量の減少と部分的に関連していた。また、脾臓では雌雄において、ISL に関連したヘモジデリンと一致する色素の増加が認められ、発現頻度は2ヵ月間投与時と比較して高かった。しかしながら、長期間の投与により所見の性質及び程度が悪化することはなかった。血液学的パラメータに顕著な変化がないことを考慮すると、本所見は有害ではないと考えられた。その他の ISL に関連した病理検査所見が、心臓（心外膜組織量の局所的増加）、唾液腺（剖検でみられた唾液腺肥大に関連した腺房肥大）及び胸腺（皮質萎縮）で観察された。唾液腺及び胸腺の変化は、ラットの歯の変化及び一般状態不良に伴う二次的な変

化と考えられた。明確な機序は不明であったが、心臓の所見（心外膜組織量の局所的増加）は、本用量のラットの心拍数増加（[2.6.2.3.7.3 項]参照）に伴い、心房の心外膜表面と心膜の間で繰返しの摩擦が増加したことに起因する可能性が考えられた。心外膜の所見に関連して、直下の心筋に変性性変化はみられなかった。また、本用量でみられた副腎及び前立腺重量の変化に関しては、その程度が軽度であり病理組織学的所見が認められなかったことから、毒性学的意義は乏しいと考えられた。これらの所見が認められた用量（50 mg/kg/日）及び曝露量（AUC 曝露比は4,363倍）は高く、無毒性量と判断された用量及び曝露量のそれぞれ5倍及び8倍であったことから、RHD において臨床上問題となる可能性は低いと考えられる。

10 mg/kg/日群での ISL に関連した病理検査所見は、持続成長する切歯における象牙芽細胞の変性（二次的なエナメル芽細胞の細胞質減少を伴う）のみであり、象牙質層の菲薄化及び異常形成を伴っていたことから、投与期間中検査でみられた切歯の変色との関連が示唆された。これらの変化は2及び6ヵ月間の投与期間終了時に認められ、約6ヵ月間の投与後では程度がより重度であった。2ヵ月間投与後の6ヵ月間の回復期間終了時に切歯の病理検査所見は認められず、切歯の変化の完全な回復性が示唆された。10 mg/kg/日群では臼歯における病理組織学的所見はみられなかった。

約2又は6ヵ月間にわたり10 mg/kg/日以上を投与したラットの切歯では、対照群と比較した際に ISL に関連したマイクロ CT の変化が認められた。50 mg/kg/日群の所見の主な特徴として、全例で下顎骨及び上顎骨の切歯における象牙質層の菲薄化及び歯髄層の拡大がみられた。10 mg/kg/日群の所見は50 mg/kg/日群の所見と類似していたが、程度はより軽度であった。6ヵ月間投与時の変化は、2ヵ月間投与時のデータと比べて質的に類似していたが、程度はより重度であった。約4及び6ヵ月間（それぞれ50及び10 mg/kg/日群）の休薬後では、象牙質層及び歯髄層の変化は対照群と比較してほとんど差がなく、マイクロ CT の変化は上顎骨の切歯で散発的に認められたのみであった。また、50 mg/kg/日群では、約2又は6ヵ月間の投与後に ISL に関連した骨密度の低下が大腿骨で認められたが、関連する病理組織学的変化はみられず、約4ヵ月間の回復期間後にはこれらの変化は認められなかった。3 mg/kg/日群の切歯及び全ての投与群の臼歯では、ISL に関連したマイクロ CT の変化はみられなかった。

TK パラメータを[表 2.6.6-9]に示す。

表 2.6.6-9 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 TK パラメータ：試験 10 週（TT #[redacted]-6011）

Analyte	Dose (mg/kg/day)[a]	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
ISL	3	Female	3.62 ± 0.302	1.49 ± 0.153	0.69 ± 0.092
		Male	3.84 ± 0.253	1.36 ± 0.208	0.75 ± 0.095
		All	3.73 ± 0.193	1.43 ± 0.126	0.72 ± 0.064

	10	Female	16.8 ± 0.862	4.74 ± 0.269	0.90 ± 0.10
		Male	16.4 ± 0.779	3.35 ± 0.133	1.1 ± 0.25
		All	16.6 ± 0.551	4.05 ± 0.272	1.0 ± 0.13
	50	Female	146 ± 10.5	23.7 ± 1.63	1.4 ± 0.25
		Male	127 ± 8.60	20.4 ± 1.39	1.8 ± 0.20
		All	137 ± 7.10	22.0 ± 1.16	1.6 ± 0.16

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); T_{max}=time to reach maximum concentration.
a. ISL concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method.

ISL の平均全身曝露量（AUC0-24）及び平均 Cmax に一貫した又は顕著な（2倍以上の）性差は認められなかった。ISL の平均全身曝露量は、全3用量の間で用量比を上回った。ISL の平均 Cmax は、全3用量の間でほぼ用量に比例していた。

プール血漿試料を用いた分析では、ISL を10 mg/kg/日で投与した動物における M4の1日あたりの平均濃度は577 nM であった。本分析で用いた試験条件下では、M4濃度は血漿中総 ISL 関連物質の約45%に相当した。

10 mg/kg/日以上の群で認められた歯（切歯）の所見に基づき、無影響量は3 mg/kg/日（AUC 曝露比は119倍）であった。また、無毒性量も同様に3 mg/kg/日であった。しかしながら急速に成長する切歯における可逆的所見がヒトではみられず、萌出後には成長しないヒト成人の歯には外挿されない変化であることから、成人への外挿性を考慮した無毒性量は10 mg/kg/日（AUC 曝露比は529倍）であった。

2.6.6.3.2.5 ISL：ラットを用いた6ヵ月間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-6005）

本試験の目的は、ISL をラットに約6ヵ月間、1日1回経口投与した際の毒性及び TK プロファイルを評価することであった[2.6.7.7.E 項]。

Crl:WI(Han)ラットを4群（雌雄各16匹）に割り付け、溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 1、3若しくは18 mg/kg/日又は溶媒のみを投与し、投与容量は5 mL/kg とした。

毒性は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、臨床検査及び病理検査に基づき評価した。また、投与群及び対照群の血漿中 ISL 濃度を測定した。

ISL に関連した計画外死亡はみられなかった。18 mg/kg/日群（TK 評価）の雄1例は試験13週の投与後4時間の TK 採血後に麻酔関連の事故により死亡状態で発見された。この動物では歯以外の組織に ISL に関連した病理組織学的所見は認められなかった。また、3 mg/kg/日群の雌1例は試験24週に死亡状態で発見され、死因は腎芽腫と考えられた。腎芽腫は若齢ラットで最も一般的に観察される自然発生腫瘍の一つであり[4.3: 08P2V3] [4.3: 05B5NM]、その発現頻度並びに以前の6ヵ

月間経口投与試験及び2年間がん原性試験（それぞれ50 mg/kg/日及び10 mg/kg/日まで投与）において前腫瘍又は腫瘍性病変は認められなかったことを考慮すると、ISL に関連した所見ではないと考えられた。

ISL に関連した投与期間中検査所見として、18 mg/kg/日群のみで雌雄における歯の変化［切歯の変色（赤変、白変又は黒変）及び破折］、平均体重増加量の減少（雄で-15%、雌で-9%）及び摂餌量の減少がみられた。

18 mg/kg/日群では、ISL に関連した臨床検査値の変化として雌雄で白血球数及びリンパ球数のごく軽度から軽度の増加（対照群と比べて+36%及び+75%）、雌で好中球数のごく軽度の増加（対照群と比べて+63%）、雌雄でフィブリノーゲン濃度のごく軽度の増加（対照群と比べて+25%及び+17%）がそれぞれみられた。白血球数、リンパ球数及び好中球数の増加並びにフィブリノーゲン濃度の増加は、変化の程度が小さかったことから毒性学的な意義が乏しいと考えられた。

ISL に関連した眼科検査、血液生化学検査、尿検査及び臓器重量における所見はみられなかった。

ISL に関連した病理検査所見として、18 mg/kg/日群の雌雄における歯の所見が認められた。主な変化は、臼歯及び持続成長する切歯の象牙芽細胞層の変性であった。象牙芽細胞層の変性は、切歯の象牙質層の菲薄化を伴っており、投与期間中検査所見として認められた切歯の破折及び変色との関連が示唆された。臼歯の病理組織学的検査では、18 mg/kg/日の約6ヵ月間の投与後でも原生象牙質の性質又は厚さの変化は認められず、本試験では臼歯破折の肉眼的所見はみられなかった。歯におけるその他の病理組織学的変化（切歯のエナメル芽細胞の細胞質減少、歯髄腔及び歯周組織内部の炎症）は、象牙芽細胞の変性に伴う二次的な変化と考えられた。

歯以外の組織における ISL に関連した病理組織学的所見は、18 mg/kg/日群の一部の雌雄の脾臓における色素（ヘモジデリン）沈着のごく軽度の増加のみであった。ヘモジデリン沈着は老齢ラットの脾臓で一般的にみられる所見である。1及び3 mg/kg/日群では病理組織学的所見は認められなかった。

TK パラメータを [表 2.6.6-10][表 2.6.6-11]に示す。

表 2.6.6-10 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 TK パラメータ：試験 4 週（TT #[redacted]-6005）

Week	Dose (mg/kg/day)[a]	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
4	1	Female	0.709 ± 0.0346	0.381 ± 0.0212	0.50 ± NC
		Male	0.795 ± 0.0147	0.350 ± 0.0172	0.50 ± NC
		All	0.752 ± 0.0223	0.366 ± 0.0141	0.50 ± NC
	3	Female	2.36 ± 0.116	1.21 ± 0.240	0.50 ± NC
		Male	3.38 ± 0.170	1.25 ± 0.0801	1.0 ± NC

4	3	All	2.90 ± 0.202	1.23 ± 0.127	0.50 ± NC
	18	Female	33.5 ± 3.36	9.28 ± 1.14	0.50 ± NC
		Male	29.1 ± 2.04	6.58 ± 0.884	1.0 ± NC
		All	31.3 ± 2.19	7.38 ± 0.617	1.0 ± NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a. ISL concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ = 0.00682 µM) of the bioanalytical method.

表 2.6.6-11　ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 TK パラメータ：試験 13 週（TT #[redacted]-6005）

Week	Dose (mg/kg/day)[a]	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
13	1	Female	1.11 ± 0.131	0.542 ± 0.0919	0.50 ± NC
		Male	1.17 ± 0.0894	0.489 ± 0.0463	0.50 ± NC
		All	1.14 ± 0.0726	0.516 ± 0.0475	0.50 ± NC
	3	Female	3.83 ± 0.238	1.52 ± 0.268	0.50 ± NC
		Male	4.80 ± 0.295	1.64 ± 0.234	0.50 ± NC
		All	4.32 ± 0.253	1.58 ± 0.162	0.50 ± NC
	18	Female	43.8 ± 2.25	8.85 ± 1.53	0.50 ± NC
		Male	38.1 ± 4.54	9.11 ± 1.11	1.0 ± NC
		All	41.0 ± 2.44	8.92 ± 0.672	1.0 ± NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a. ISL concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ = 0.00682 µM) of the bioanalytical method.

試験4週及び13週に、平均全身曝露量（AUC0-24）及び平均 Cmax に一貫した又は顕著な性差は認められなかった。そのため、全て TK パラメータは雌雄合算値として以降に述べる。試験4及び13週の ISL の平均全身曝露量は、全3用量の間で用量比を上回っていた。試験4及び13週の ISL の平均 Cmax は、全3用量でほぼ用量に比例していた。全体として、反復投与後の ISL の平均全身曝露量及び平均 Cmax は、試験4週の平均値と比べて試験13週の方が僅かに高かった。

18 mg/kg/日群（AUC 曝露比は1,306倍）で歯（切歯及び臼歯）の所見が認められたことに基づき、無影響量及び無毒性量は3 mg/kg/日（AUC 曝露比は138倍）であった。

2.6.6.3.2.6 ISL＋DOR：ラットを用いた1ヵ月間併用経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1012）

本試験の目的は、ラットに ISL 及び DOR を単独又は併用により1日1回約1ヵ月間経口投与した際の毒性及び TK プロファイルを評価することであった[2.6.7.7.F 項]。

Crl:WI(Han)ラットを5群（10匹／性／群）に割り付け、DOR 単独、ISL 単独、DOR＋ISL 併用（2用量）又は両被験物質の溶媒のみを投与した[表 2.6.6-12]。

表 2.6.6-12 試験デザイン（TT #[redacted]-1012）

Dose Group	Test/Control Article		Females	Males
	Dose Group Identifier	Description		
1	Control	DOR Control ([redacted] in 0.5% MC/5 mM HCl) + ISL Control (10% PS 80)	10	10
2	ISL alone	(DOR Control +) 3 mg/kg/day ISL	10	10
3	DOR alone	30 mg/kg/day DOR (+ISL Control)	10	10
4	Low-dose combination	30 mg/kg/day DOR + 1 mg/kg/day ISL	10	10
5	High-dose combination	30 mg/kg/day DOR + 3 mg/kg/day ISL	10	10

DOR=doravirine; HCl=hydrochloric acid; [redacted]; ISL=islatravir; MC=methylcelluslose; PS=polysorbate.
Note: 0.5% MC/5 mM HCl=0.5% (w/v) MC with 5 mM HCl acid in deionized water.
Note: 10% PS 80=10% (w/w) PS 80 in deionized water.

各被験物質の調製は個別に行った。DOR[redacted]処方[[redacted]% (w/w) DOR 及び[redacted]% (w/w)[redacted]]は0.5% （w/v）メチルセルロース及び5 mM 塩酸添加脱イオン水に懸濁し、ISL は10% PS 80脱イオン水を用いて調製した。DOR 対照群には、DOR 30 mg/kg/日投与液に含まれる量と等量の[redacted]を投与した。先に DOR（又は DOR 用溶媒）を投与し、その直後に ISL（又は ISL 用溶媒）を投与した。各被験物質の投与容量は5 mL/kg、1日の総投与容量は10 mL/kg とした。

毒性は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、臨床検査及び病理検査に基づき評価した。投与群及び対照群の DOR 及び ISL の血漿中濃度を測定した。

死亡は認められなかった。本試験では、被験物質に関連した投与期間中検査所見（一般状態変化又は体重／摂餌量の変化）は認められなかった。また、被験物質に関連した眼科検査所見又は臨床検査値の変化もみられなかった。

本試験では、被験物質に関連した病理検査所見（剖検所見、臓器重量又は病理組織学的所見）も認められなかった。

試験5週における DOR 及び ISL の平均血漿中 TK パラメータを[表 2.6.6-13]及び[表 2.6.6-14]に示す。

表 2.6.6-13　DOR と ISL を併用経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 DOR TK パラメータ：試験 5 週（TT #[redacted]-1012）

Analyte	Treatment[a]	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
DOR	30 mg/kg/day DOR + 1 mg/kg/day ISL	Female	173 ± 11.8	14.7 ± 0.646	2.0 ± NC
		Male	146 ± 3.97	12.2 ± 0.555	2.0 ± NC
		All	159 ± 6.68	13.5 ± 0.680	2.0 ± NC
DOR	30 mg/kg/day DOR + 3 mg/kg/day ISL	Female	180 ± 7.54	12.5 ± 0.657	2.0 ± NC
		Male	136 ± 4.94	10.4 ± 0.304	2.0 ± NC
		All	158 ± 7.31	11.4 ± 0.582	2.0 ± NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; DOR=doravirine; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a. DOR concentrations in plasma from all control group animals at 1 h postdose were below the LLQ (LLQ=0.0294 µM) of the bioanalytical method.

表 2.6.6-14　DOR と ISL を併用経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：試験 5 週（TT #[redacted]-1012）

Analyte	Treatment[a]	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
ISL	3 mg/kg/day ISL	Female	3.06 ± 0.154	1.52 ± 0.405	0.50 ± NC
		Male	3.85 ± 0.334	1.33 ± 0.0887	0.50 ± NC
		All	3.45 ± 0.227	1.42 ± 0.190	0.50 ± NC
ISL	1 mg/kg/day ISL + 30 mg/kg/day DOR	Female	0.814 ± 0.0589	0.325 ± 0.0258	0.50 ± NC
		Male	1.02 ± 0.142	0.361 ± 0.0393	1.0 ± NC
		All	0.916 ± 0.0771	0.339 ± 0.0236	1.0 ± NC
ISL	3 mg/kg/day ISL + 30 mg/kg/day DOR	Female	3.28 ± 0.234	1.38 ± 0.170	0.50 ± NC
		Male	3.26 ± 0.308	1.04 ± 0.174	1.0 ± NC
		All	3.27 ± 0.181	1.19 ± 0.116	0.50 ± NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; DOR=doravirine; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a. ISL concentrations in plasma from all control group animals at 1 h postdose were below the LLQ (LLQ=0.00170 µM) of the bioanalytical method.

DOR の平均全身曝露量（AUC0-24）及び平均 Cmax において、顕著な（2倍超の）性差は認められなかった。また、DOR 30 mg/kg/日を投与した際の平均全身曝露量及び平均 Cmax は、

ISL 1 mg/kg/日又は3 mg/kg/日との併用投与時で同程度であった。DOR 30 mg/kg/日と ISL 1又は3 mg/kg/日を併用投与した際の DOR 曝露量は、既に実施されたラットを用いた DOR 単独の反復投与試験（DOR 30 mg/kg/日を評価）で認められた曝露量と同程度であった。

ISL の平均全身曝露量（AUC0-24）及び平均 Cmax において、顕著な（2倍超の）性差は認められなかった。また、ISL の平均全身曝露量及び平均 Cmax は、ISL 3 mg/kg/日の単独投与時と DOR 30 mg/kg/日との併用投与時で同程度であった。ISL の平均全身曝露量及び平均 Cmax は、ISL の単独投与又は DOR（30 mg/kg/日）との併用投与にかかわらず、1 mg/kg/日（DOR 30 mg/kg/日と併用投与）から3 mg/kg/日の間で用量に比例して増加した。

高用量の併用投与で投与期間中検査所見及び病理検査所見が認められなかった事に基づき、無影響量及び無毒性量は DOR で30 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は4.2倍）、ISL で3 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は104倍）であった。したがって、本試験の結果から、DOR と ISL を併用投与した際の相加的又は相乗的な毒性の増強並びに TK の相互作用は認められなかった。

2.6.6.3.3 サル

2.6.6.3.3.1 ISL：アカゲザルを用いた探索的用量漸増経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1035）

本試験の目的は、アカゲザルに ISL を用量漸増法により計10日間経口投与した際の毒性及び TK プロファイルを評価し、本試験以降の反復投与毒性試験における用量設定の参考とすることであった[2.6.7.6 項]。

アカゲザル（雌雄各3匹）を2群に割り付けた。第1群には雌2匹及び雄1匹を割り付け、溶媒（10% PS 80脱イオン水）を10日間投与した。第2群には雌1匹及び雄2匹を割り付け、溶媒で調製した ISL を10 mg/kg/日で3日間、30 mg/kg/日で4日間、75 mg/kg/日で3日間投与した。各用量間のウォッシュアウト期間は設けなかった。ISL 及び溶媒は経鼻胃経路で投与し、投与容量は5 mL/kg とした。

毒性は死亡、一般状態、体重、摂餌量、臨床検査及び病理検査に基づき評価した。また、血清中ガストリン及びペプシノーゲン濃度を測定した。投与群の血漿中 ISL 濃度を測定した。また、投与群から分離した PBMC 中の ISL、ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP の濃度も測定した。

全ての動物は計画剖検時まで生存した。

ISL に関連した一般状態所見、体重、摂餌量又は臨床検査値（ガストリン及びペプシノーゲンを含む）の変化は認められなかった。10/30/75 mg/kg/日群の雌1例で対照群と比較して血清ペプシノーゲンの増加がみられたが、用量相関性はみられず、変化の程度もごく僅かであった。サルを用いた28日間試験（最大75 mg/kg/日を3日に1回投与）ではペプシノーゲンの変化は認められなかったことから、本試験でのペプシノーゲンの変化は ISL 投与とは関連がないと考えられた。

ISL に関連した病理検査所見は胃のみでみられ、胃底部の腺粘膜における軽度から中等度の変性が認められた（ISL を投与した3例全てにみられた）。変性は主に壁細胞にみられ、ごく軽度の胃腺の拡張及び配列の乱れを伴う単細胞壊死を特徴としていた。また、10/30/75 mg/kg/日群の雄1例及び雌1例で粘膜上皮の一部に出血及び浮腫を伴うびらんがみられた。

ISL の TK パラメータを[表 2.6.6-15]に示す。

表 2.6.6-15 ISL の血漿中 TK パラメータ（TT #[redacted]-1035）

Dose (mg/kg/day)	Animal Number / Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
10	13-0079 / Female	29.8	7.5	1.0
	13-0062 / Male	14.2	3.4	2.0
	13-0076 / Male	18.7	5.6	0.5
30	13-0079 / Female	75.8	10.1	2.0
	13-0062 / Male	74.2	13.0	1.0
	13-0076 / Male	66.7	19.5	1.0
75	13-0079 / Female	272	39.4	2.0
	13-0062 / Male	212	40.1	2.0
	13-0076 / Male	183	44.0	2.0

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.

各用量の最終投与から約24時間後、全ての用量の PBMC 中で3種類全てのリン酸化同化物（ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP）が検出された。雄1例（全ての用量）及び雌1例（75 mg/kg/日）では、PBMC 中の ISL は検出されなかった。

本試験は用量漸増試験であり、さらに胃底部の腺粘膜でみられた軽度から中等度の変性を考慮すると、本試験の無毒性量は特定できなかった。

2.6.6.3.3.2 ISL：アカゲザルを用いた28日間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1063）

本試験の目的は、アカゲザルに ISL を3日に1回、計9回を約4週間にわたり経口投与した際の毒性及び TK プロファイルを評価することであった[2.6.7.7.G 項]。

アカゲザルを4群（雌雄各3匹）に割り付け、溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 5、20 若しくは75 mg/kg/回又は溶媒のみを投与し、投与容量は5 mL/kg とした。

毒性は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、心電図、臨床検査及び病理検査並びに大腿骨の探索的マイクロ CT 検査に基づき評価した。探索的分析法を用いて血清中ペプシノーゲンIの濃度を測定した。試験1及び4週の投与群及び対照群の血漿中 ISL 濃度を測定した。また、探索的

分析法を用いて投与群及び対照群の PBMC 中の ISL、ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度を測定した。

アカゲザルにおける ISL の忍容性は良好であった。計画外死亡、ISL に関連した体重及び摂餌量の変化、一般状態所見、凝固検査、血液生化学検査、ペプシノーゲンI及び尿検査値の変化はいずれの用量でもみられなかった。ISL に関連した投与期間中検査所見は、75 mg/kg/回群の雌雄における赤血球分布幅のごく軽度の増加（対照群と比較してそれぞれ+16%及び+15%）のみであった。赤血球分布幅の変化は、変化の程度が小さく他の赤血球パラメータに変化がみられなかったため、毒性学的意義は乏しいと考えられた。

いずれの用量でも ISL に関連した眼科検査所見は認められなかった。

75 mg/kg/回群のみで ISL に関連した心電図所見が観察された。ISL に関連した心拍数の増加（投与前と比べて約+16%、同時対照群と比べて+39%）が試験4週の75 mg/kg/回群に認められた。また、75 mg/kg/回群の雄1例で心室期外収縮が1回観察された。しかしながら、（1）認められた変化は本試験の高用量群の1例のみであり、当該動物の Cmax は群内で最も高い値ではなく、（2）心室期外収縮は本試験施設において非順応拘束下の対照群サルでも背景病変としてみられるため、本所見は投与に関連しないと考えられた。

ISL に関連した剖検所見、臓器重量及び定性的マイクロ CT 検査で評価した大腿骨に変化はみられなかった。

ISL に関連した病理検査所見は、75 mg/kg/回群の骨髄塗抹標本の所見に限定され、好中球発達段階の中間過程にあるいくつかの細胞、及び赤血球発達段階の中間過程にある細胞（正染性赤芽球）で僅かな細胞変性がみられた。重要なこととして、75 mg/kg/回群の骨髄塗抹標本での骨髄球系、赤芽球系及び巨核球は十分な細胞密度でみられ、また全系統の成熟細胞に顕著な変化はみられなかった。さらに、骨髄塗抹標本でみられた僅かな変化は、骨髄の病理組織学的検査及び末梢血塗抹標本のいずれでもみられなかったことから、有害ではないと考えられた。20 mg/kg/回群の骨髄塗抹標本では、ISL に関連した変化は認められなかった。

TK パラメータを[表 2.6.6-16]及び[表 2.6.6-17]に示す。

表 2.6.6-16 ISL を経口投与した際のサル平均（± SE）血漿中 TK パラメータ：試験 1 日（TT #[redacted]-1063）

Day	Analyte	Matrix	Dose (mg/kg/dose)[a]	Sex	AUC0-72 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
1	ISL	Plasma	5	Female	11.2 ± 1.41	2.69 ± 0.603	1.3 ± 0.33
				Male	8.91 ± 0.151	2.72 ± 0.300	1.0 ± 0.0
				All	10.1 ± 0.815	2.71 ± 0.301	1.2 ± 0.17
			20	Female	37.5 ± 0.758	14.0 ± 1.38	0.83 ± 0.17
				Male	38.5 ± 0.355	8.55 ± 1.22	1.3 ± 0.33
				All	38.0 ± 0.443	11.3 ± 1.46	1.1 ± 0.20

			75	Female	202 ± 10.4	38.7 ± 6.03	1.7 ± 0.33
				Male	218 ± 7.13	33.8 ± 1.88	2.0 ± 0.0
				All	210 ± 6.60	36.3 ± 3.03	1.8 ± 0.17

AUC0-72=area under the concentration-time curve from time 0 to 72 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.

a. ISL concentrations in plasma from one control animal (#13-0047) were above the LLQ (LLQ=0.00682 µM) at 48 h postdose on Study Day 1. This value was approximately 0.4% of the mean Cmax values of the low dose group on Study Day 1. Based on the low level of ISL in only one control sample on Study Day 1 and none in Study Week 4, it was concluded that this finding did not compromise the integrity of the TK data and its interpretation.

表 2.6.6-17　ISL を経口投与した際のサル平均（± SE）血漿中 TK パラメータ：
試験 4 週（TT #[redacted]-1063）

Day	Analyte	Matrix	Dose (mg/kg/dose)[a]	Sex	AUC0-72 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
4	ISL	Plasma	5	Female	9.43 ± 1.48	2.26 ± 0.814	1.0 ± 0.0
				Male	9.37 ± 0.512	2.49 ± 0.349	0.83 ± 0.17
				All	9.40 ± 0.699	2.38 ± 0.399	0.92 ± 0.083
			20	Female	35.6 ± 4.35	9.22 ± 1.51	1.3 ± 0.33
				Male	39.3 ± 2.82	7.60 ± 0.857	1.3 ± 0.33
				All	37.4 ± 2.46	8.41 ± 0.856	1.3 ± 0.21
			75	Female	188 ± 8.93	34.6 ± 6.78	2.0 ± 0.0
				Male	203 ± 8.93	28.6 ± 2.22	1.0 ± 0.0
				All	195 ± 6.49	31.6 ± 3.45	1.5 ± 0.22

AUC0-72=area under the concentration-time curve from time 0 to 72 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.

a. ISL concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method in Study Week 4.

試験1日及び4週に、いずれの投与群でも平均 AUC0-72及び平均 Cmax に顕著な性差は認められなかった。試験1日及び4週の ISL 平均全身曝露量は、5 mg/kg/回群と20 mg/kg/回群の間ではほぼ用量に比例していたが、20 mg/kg/回群と75 mg/kg/回群の間では用量比を上回っていた。試験1日及び4週の ISL 平均 Cmax は、ISL を投与した3群全てでほぼ用量に比例していた。試験4週の反復投与後の ISL 平均全身曝露量及び平均 Cmax は、概して対応する試験1日の平均値と同程度であった。

PBMC 中 ISL 及び ISL リン酸化同化物の測定では、全ての ISL 群の全ての時点（投与後2、24及び72時間）において、平均 ISL-TP 濃度は他の測定対象（ISL-DP、ISL-MP 及び ISL）の平均濃度よりも高かった。平均 ISL-TP 濃度は全ての時点で用量に比例して増加した。対照群の PBMC 中濃度は、全ての測定対象（ISL、ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP）に関して全ての時点で定量下限未満であった。

ISL に関連した心拍数の増加、赤血球分布幅のごく軽度の増加及び骨髄塗抹標本の所見に基づき、無影響量は20 mg/kg/回（AUC 曝露比は397倍）であった。しかしながら、75 mg/kg/回群における心拍数の変化はごく僅かであり、75 mg/kg/回群の骨髄塗抹標本における変化及び赤血球分布幅の増加はごく軽度であったことを考慮すると、これらの所見は有害ではなく、無毒性量は75 mg/kg/回以上（AUC 曝露比は2,070倍以上）であった。

2.6.6.3.3.3 ISL：アカゲザルを用いた9ヵ月間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1068）

本試験の目的は、アカゲザルに ISL を3日に1回、約9ヵ月間にわたり経口投与した際の毒性及び TK プロファイルを評価することであった[2.6.7.7.H 項]。

アカゲザルに溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 5、20若しくは100 mg/kg/回、又は溶媒のみを投与し、投与容量は5 mL/kg とした。対照群、低用量群及び中間用量群は4匹／性／群、高用量群は7匹／性／群とした。

毒性は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、心電図検査、臨床検査及び病理検査に基づき評価した。高用量群では、健康管理を目的として試験9週に血液検体の細菌培養及び直腸温測定を行った。全てのサルの頭部／歯を対象として歯科検査及びイメージング（マイクロ CT、MRI 及び歯科 X 線検査）を実施し、歯の形態、成長（体積）及び石灰化に対する影響を評価した。全てのサルの左右大腿骨に対してマイクロ CT 検査を実施し、骨密度の変化を評価した。早期死亡動物では、頭部／歯に対してマイクロ CT 検査を ex vivo で実施し、病理組織学的検査用の組織切片作成の際の参考とした。対照群、低用量群及び中間用量群では、身体検査の際に陰嚢及び精巣の大きさの変化を定性的に評価した。投与群及び対照群の血漿中の ISL 濃度を測定し、分離した PBMC 中の ISL、ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度も測定した。5及び20 mg/kg/回群のみプール試料を用いて血漿中 M4代謝物の半定量的分析を行った。

体重、摂餌量、歯科検査、眼科検査、心電図検査、陰嚢／精巣検査、並びに凝固検査、血液生化学検査及び尿検査において、ISL に関連した変化は認められなかった。マイクロ CT 画像解析により評価した歯の形態、成長（体積）及び石灰化に対する ISL に関連した変化はみられず、大腿骨の骨密度の変化も認められなかった。マイクロ CT で検出可能な変化が認められなかったため、MRI 及び歯科 X 線検査の画像は評価しなかった。

ISL に関連した7例の計画外死亡と、挿管事故による1例の計画外死亡がいずれも高用量群（100 mg/kg/回群；AUC 曝露比は3,259倍）でみられたことから、本用量での忍容性は認められなかった。試験59日から63日の高用量群の全てのサル（雄1例を除く）で ISL に関連した疼痛が認められ、一部で前肢及び／又は後肢の指の赤色分泌物／痂皮／腫脹及び両耳の皮膚変色を伴っていた。雌のみで皮膚緊張の低下がみられた。100 mg/kg/回群の雄1例は、ISL に関連したより重篤な身体所見が認められたため、試験59日に安楽殺した。高用量群で発現した毒性の特徴を明らかにし、所見の可逆性を確認するため、高用量群の約半数のサルは試験59日から回復期間を開始した。

100 mg/kg/回群の雌3例及び雄3例は試験61日に最終投与を行い、試験63日に剖検した。試験59日及び60日に取得した高用量群の血液培養及び直腸温データからは、全身性の細菌感染は示唆されなかった。試験11週には、100 mg/kg/回群の残りのサルの ISL に関連した一般状態変化はほとんど回復しており、試験13週までに明らかな一般状態所見は全て回復した（雌2例の耳介における皮膚変色を除く）。100 mg/kg/回群（AUC に対する曝露比は3,259倍）の早期安楽殺したサルでは、ISL に関連した病理組織学的所見が皮膚で認められ、手足の背側及び指間皮膚又は耳介辺縁における限局的な慢性炎症がみられ、一部で関連する表皮の変化（表皮肥厚、びらん又は潰瘍）を伴っていた。重要なこととして、剖検したその他の部位では炎症が認められなかったことから、真皮の限局性炎症は解剖学的に皮膚の非常に狭い範囲に限局していたことが確認された。100 mg/kg/回群（AUC に対する曝露比は3,259倍）の早期安楽殺したサルの骨髄塗抹標本では、成熟好中球及び有核正染性赤芽球サブセットに細胞の変化が認められたが、骨髄における細胞密度、赤芽球系及び骨髄系細胞の成熟度並びに巨核球及び血小板はいずれも正常であった。その他の様々な造血系の細胞成分に特記すべき所見はみられなかった。骨髄塗抹標本検査において認められた僅かな変化は、骨髄の病理組織学的検査及び末梢血塗抹標本のいずれの所見とも関連していなかったため、有害ではないと考えられた。100 mg/kg/回群の回復群及び20 mg/kg/回群の剖検時の骨髄塗抹標本では、特記すべき所見は認められなかった。

ISL に関連した血液学的変化は、忍容性のない用量である100 mg/kg/回群（AUC に対する曝露比は3,259倍）のみで観察され、試験59及び63日の雌雄における白血球数（-48%～-75%）、好中球数（-65%～-92%）及び単球数（-41%～-75%）の中等度～重度の減少［試験前（-1日）の群平均値との比較］が認められた。この高用量群では、試験59日に雌雄でごく軽度から軽度のリンパ球数減少（それぞれ-41%及び-27%）がみられたが、試験63日の残りのサルでは観察されなかった。また、試験59、63及び77日に赤血球分布幅のごく軽度～軽度の増加（+21～+45%）がみられた。赤血球分布幅の増加に関連して、赤血球の大小不同及び大赤血球が認められた。リンパ球数減少は明らかな毒性が認められた高用量群（100 mg/kg/回；AUC 曝露比は3,259倍）でみられたことから、グルココルチコイド関連のストレス反応によるものと考えられた[4.3: 07XDNW] [4.3: 08NPTD]。しかしながら、ISL-TP がリンパ球数減少に直接的に影響した可能性も否定できなかった。血液学的検査における好中球及び単球の減少は、試験63日の剖検時の骨髄の所見と関連していた。試験59日から回復期間に入った100 mg/kg/回群のサルでは、試験77日以降に ISL に関連した血液学的検査パラメータの変化は認められなかった。

忍容性が認められた低用量の20 mg/kg/回群における ISL に関連した一般状態変化は、耳介における皮膚の一時的な変色であり（雌1/4例及び雄2/4例）、本所見は試験61日に最初に観察され、試験13週までに大半のサルで回復した。

20 mg/kg/回群の動物（剖検時）及び100 mg/kg/回群の回復群（ISL を9週間投与後、約30週間の回復期間を設定）では、ISL に関連した肉眼的又は病理組織学的所見は認められなかった。とりわけ、手足及び耳介（耳垂）の皮膚、並びに骨髄において ISL に関連した肉眼的又は病理組織学的

所見はみられなかった。また、骨（肋骨、胸骨、大腿骨遠位部）において ISL に関連した影響は認められず、マイクロ CT 画像を基に測定した骨密度の値が対照群及び投与群で同程度であったことと一貫していた。

早期安楽殺例、回復群又は剖検時のその他のサルにおいて、ISL に関連した歯列の変化や、永久歯の全体的な萌出に対する影響は認められなかった。早期安楽殺時又は計画剖検時の年齢に基づくと、歯列パターンはいずれのサルでも年齢に相応しており、マイクロ CT 画像検査において永久歯の石灰化組織（エナメル質、象牙質、セメント質）の体積が正常であったことと一貫していた。

ISL の血漿中 TK パラメータを[表 2.6.6-18]から[表 2.6.6-21]に示す。

表 2.6.6-18　ISL を経口投与した際のサル平均（± SE）血漿中 TK パラメータ：試験 1 日（TT #[redacted]-1068）

Day	Dose (mg/kg/dose)[a]	Sex	AUC0-72 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
1	5	Female	11.4 ± 0.902	2.43 ± 0.512	1.0 ± 0.0
		Male	11.3 ± 0.416	1.97 ± 0.287	1.8 ± 0.25
		All	11.3 ± 0.460	2.20 ± 0.286	1.4 ± 0.18
	20	Female	51.2 ± 1.95	11.4 ± 0.699	1.3 ± 0.25
		Male	49.7 ± 2.97	12.2 ± 1.43	1.3 ± 0.25
		All	50.5 ± 1.67	11.8 ± 0.752	1.3 ± 0.16
	100	Female	330 ± 27.1	36.9 ± 2.50	3.4 ± 0.75
		Male	284 ± 19.7	34.0 ± 2.80	2.9 ± 0.40
		All	307 ± 17.3	35.5 ± 1.85	3.1 ± 0.42

AUC0-72=area under the concentration-time curve from time 0 to 72 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a. Drug concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method.

表 2.6.6-19　ISL を経口投与した際のサル平均（± SE）血漿中 TK パラメータ：試験 61 日（TT #[redacted]-1068）

Day	Dose (mg/kg/dose)	Sex	AUC0-48 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
61	100	Female	295 ± 36.1	42.3 ± 5.52	2.7 ± 0.67
		Male	250 ± 22.5	32.9 ± 4.57	2.7 ± 0.67
		All	273 ± 21.5	37.6 ± 3.84	2.7 ± 0.42

AUC0-48=area under the concentration-time curve from time 0 to 48 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.

表 2.6.6-20 ISL を経口投与した際のサル平均（± SE）血漿中 TK パラメータ：試験 85 日（TT #[redacted]-1068）

Day	Dose (mg/kg/dose)[a]	Sex	AUC0-72 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
85	5	Female	9.74 ± 0.609	1.50 ± 0.310	1.5 ± 0.29
		Male	9.55 ± 0.238	1.60 ± 0.187	1.8 ± 0.25
		All	9.64 ± 0.305	1.55 ± 0.169	1.6 ± 0.18
	20	Female	45.4 ± 2.31	10.9 ± 1.52	1.5 ± 0.29
		Male	56.2 ± 3.83	11.6 ± 1.88	1.0 ± 0.0
		All	50.8 ± 2.90	11.2 ± 1.13	1.3 ± 0.16

AUC0-72=area under the concentration-time curve from time 0 to 72 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a. Drug concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method.

表 2.6.6-21 ISL を経口投与した際のサル平均（± SE）血漿中 TK パラメータ：試験 211 日（TT #[redacted]-1068）

Day	Dose (mg/kg/dose)[a]	Sex	Mean Concentration (µM)		
			2 h	24 h	72 h
211	5	Female	1.22 ± 0.0478	0.0588 ± 0.00524	0.0167 ± 0.00373
		Male	1.57 ± 0.139	0.0525 ± 0.00658	0.0122 ± 0.00180
	20	Female	6.18 ± 0.898	0.149 ± 0.0164	0.0326 ± 0.00385
		Male	6.15 ± 0.598	0.182 ± 0.00911	0.0419 ± 0.00491

h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s).
a. Drug concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method.

試験1日及び反復投与後の ISL の平均全身曝露量及び平均 Cmax はほぼ用量に比例して増加し、明らかな性差は認められなかった。全体として、試験61及び85日の反復投与後の ISL 平均全身曝露量及び平均 Cmax は、対応する試験1日の平均値と同程度であった。ISL は急速に消失するため、100 mg/kg/回群における試験61日の AUC0-48は、投与から72時間後の全身曝露量（AUC0-72）と同程度と考えられた。

PBMC 中 ISL-TP 濃度は概して ISL-DP の濃度と同程度又はそれ以上であり、ISL-MP の値よりも大幅に高かった（[表 2.6.6-22]から[表 2.6.6-25]）。ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP の濃度は概して用量に比例して増加した。PBMC からの ISL-TP の消失は、血漿からの ISL の消失と比べて緩やかであった。

表 2.6.6-22　PBMC 中の平均（± SE）ISL 濃度（TT #[redacted]-1068）

Dose Group	Study Day	Mean Concentration (pmol/10^6 cells)		
		2 h[a]	24 h[a]	72 h[a]
Vehicle	85	NC	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	211	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
5 mg/kg/dose	85	NC	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	211	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
20 mg/kg/dose	85	NC	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	211	0.103 ± 0.0532	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
100 mg/kg/dose	58	NC	0.274[b] ± ID	0.00 ± 0.00
	61	0.713 ± 0.0571	NC	NC

h=hour(s); ID=insufficient data; ISL=islatravir; N=number; NC=not calculated; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; SE=standard error.

a. The measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS, was divided by the total number of viable cells (in units of 10^6 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar, this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).

b. N=1 collected at 28 h.

表 2.6.6-23　PBMC 中の平均（± SE）ISL-MP 濃度（TT #[redacted]-1068）

Dose Group	Study Day	Mean Concentration (pmol/10^6 cells)		
		2 h[a]	24 h[a]	72 h[a]
Vehicle	85	NC	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	211	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
5 mg/kg/dose	85	NC	0.223 ± 0.0687	0.0384 ± 0.0260
	211	1.35 ± 0.137	0.251 ± 0.0758	0.0523 ± 0.0347
20 mg/kg/dose	85	NC	1.12 ± 0.122	0.391 ± 0.106
	211	4.45 ± 0.702	1.24 ± 0.139	0.546 ± 0.110
100 mg/kg/dose	58	NC	6.73[b] ± ID	2.00 ± 0.248
	61	18.1 ± 0.995	NC	NC

h=hour(s); ID=insufficient data; ISL=islatravir; MP=monophosphate; N=number; NC=not calculated; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; SE=standard error.

a. The measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS, was divided by the total number of viable cells (in units of 10^6 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar, this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).

b. N=1 collected at 28 h.

表 2.6.6-24　PBMC 中の平均（± SE）ISL-DP 濃度（TT #[redacted]-1068）

Dose Group	Study Day	Mean Concentration (pmol/10^6 cells)		
		2 h[a]	24 h[a]	72 h[a]
Vehicle	85	NC	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	211	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
5 mg/kg/dose	85	NC	1.33 ± 0.232	0.964 ± 0.0751
	211	2.22 ± 0.156	1.81 ± 0.267	1.16 ± 0.111
20 mg/kg/dose	85	NC	5.35 ± 0.727	3.29 ± 0.455
	211	6.67 ± 0.957	6.86 ± 0.564	3.49 ± 0.428
100 mg/kg/dose	58	NC	26.9[b] ± ID	10.6 ± 1.10
	61	26.1 ± 1.78	NC	NC

DP=diphosphate; h=hour(s); ID=insufficient data; ISL=islatravir; N=number; NC=not calculated; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; SE=standard error.

a. The measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS, was divided by the total number of viable cells (in units of 10^6 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar, this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).

b. N=1 collected at 28 h.

表 2.6.6-25　PBMC 中の平均（± SE）ISL-TP 濃度（TT #[redacted]-1068）

Dose Group	Study Day	Mean Concentration (pmol/10^6 cells)		
		2 h[a]	24 h[a]	72 h[a]
Vehicle	85	NC	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	211	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
5 mg/kg/dose	85	NC	2.75 ± 0.251	0.734 ± 0.0967
	211	2.16 ± 0.346	2.64 ± 0.232	1.24 ± 0.123
20 mg/kg/dose	85	NC	10.7 ± 0.852	3.26 ± 0.439
	211	10.1 ± 1.64	9.66 ± 1.26	4.52 ± 0.788
100 mg/kg/dose	58	NC	71.8[b] ± ID	20.3 ± 2.22
	61	29.2 ± 2.81	NC	NC

h=hour(s); ID=insufficient data; ISL=islatravir; N=number; NC=not calculated; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; SE=standard error; TP=triphosphate.

a. The measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS, was divided by the total number of viable cells (in units of 10^6 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar, this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).

b. N=1 collected at 28 h.

プール血漿試料を用いた分析では、5及び20 mg/kg/回群における平均血漿中 M4濃度はそれぞれ34及び167 nM であった。本分析で用いた試験条件下では、M4濃度は血漿中総 ISL 関連物質の約20%に相当した。

20 mg/kg/回群における耳介の一時的な皮膚変色に基づき、無影響量は5 mg/kg/回であった。しかしながら、20 mg/kg/回群で観察された皮膚の変色は有害ではないと考えられ、無毒性量は20 mg/kg/回（AUC に対する曝露比は539倍）であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

ICH S2(R1)（医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス）に従って実施された一連の in vitro 及び in vivo 試験結果に基づき、ISL はヒトへの使用に際して遺伝毒性リスクをもたらさないことが示された。

In vitro 変異原性試験（Ames 試験）において ISL は陰性であった。In vitro 染色体異常試験で ISL は陽性であったが、重要なこととしてヌクレオシドアナログでは染色体異常の誘発がよく知られている[4.3: 03T473]。また、探索的及び GLP 適用 in vivo ラット骨髄小核試験では、十分な曝露マージンがある全身曝露（AUC 曝露比は2,755倍以上）において ISL は陰性であった。

ISL-TP はリン酸化されたヌクレオチドアナログであり、in vitro 染色体異常試験で用いた高い濃度ではヌクレオチドプール不均衡を引き起こす可能性がある。イノシンはヌクレオチド合成前駆体であり、同様にヌクレオチドプール不均衡に影響を及ぼす可能性がある。ISL を用いた探索的染色体異常試験では、ヌクレオチドを適切なレベルに回復させるためにイノシンを添加した場合、ISL による染色体異常が改善されることが示された。このことから、ヌクレオシド／ヌクレオチドレベルの不均衡が ISL による in vitro 染色体異常の誘発に寄与している可能性が示唆された。ヌクレオシドアナログによる染色体異常誘発機序は、閾値が存在する又は用量反応性が非線形であると考えられており[4.3: 04TXFV] [4.3: 044KX8]、in vitro で所見がみられた濃度はヒトへのリスクには関連しないと考えられる。In vivo で実施した探索的及び GLP 適用ラット骨髄小核試験では、十分な AUC 曝露比（2,755倍以上）で ISL は陰性であり、rasH2トランスジェニックマウスを用いた6ヵ月間がん原性試験（AUC 曝露比は729倍以下）及びラット2年間がん原性試験（AUC 曝露比は618倍以下）でもいかなる腫瘍形成の証拠もみられなかった。したがって、これらの in vitro での所見はヒトへのリスクには関連しないと考えられる。

2.6.6.4.1 In vitro 試験

2.6.6.4.1.1 ISL：細菌（*Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli*）を用いた復帰突然変異試験（TT #[redacted]-9041）

Salmonella typhimurium（TA1535、TA1537、TA98、TA100）及び *Escherichia coli*（WP2 *uvrA*）変異株を用いた変異原性試験系により、ISL の変異原性を評価した[2.6.7.8.A 項]。本試験系では、ヒスチジン要求株である *Salmonella* 試験株の非要求株への復帰変異、及びトリプトファン要求株である *E.coli* 試験株の非要求株への復帰変異を指標として、変異の有無を評価した。

各細菌変異株に対する ISL の最高用量は5,000 µg／プレート（本試験法における標準的な最高用

量）とし、ラット肝臓から調製した S9分画（S9 mix）の存在下及び非存在下で、プレート法により復帰突然変異試験を実施した。被験物質の評価は、代謝活性化の存在下及び非存在下で各菌株について各3回（triplicate）の評価を行った。菌株を標準陽性対照物質と共に培養し、各種菌株に対する反応性から本試験系の感度及び S9 mix の活性を確認した。最高用量は ICH S2（R1）ガイドラインに従った限界用量とした。

TA1535及び WP2 *uvrA* では、S9 mix 非存在下での ISL 曝露により復帰コロニー数の大幅な減少が認められたことから、被験物質は検討した最高用量（TA1535で1,280 µg／プレート以上、WP2 *uvrA* で2,560 µg／プレート以上）では細菌に対して毒性を示すことが示唆された。また、この結果から被験物質に適切に曝露されていることも示唆された。沈殿は認められなかった。

いずれの試験菌株のいずれの用量においても、S9 mix 存在下及び非存在下で溶媒対照と比較して2倍以上の用量依存的な復帰変異コロニーの増加はみられなかったことから、ISL に微生物変異原性試験において検出可能な変異原性は認められなかった。

結論として、規制ガイドラインに従って試験した本 in vitro 変異原性試験において、ISL に遺伝毒性の証拠はみられなかった。

2.6.6.4.1.2　ISL：CHO 細胞を用いた探索的 in vitro 染色体異常試験及びイノシン添加による改善効果（TT #[redacted]-8625、TT #[redacted]-8635、TT #[redacted]-8641、TT #[redacted]-8643）

本探索的試験（非 GLP）では、CHO 細胞を用いて ISL の染色体異常誘発能を検討した[2.6.7.8.B 項]。試験の概要を[表 2.6.6-26]に示した。

表 2.6.6-26　探索的染色体異常試験（非 GLP）及びイノシン添加による改善効果の概要（TT #[redacted]-8625）

Treatment	Scored Concentrations	Study Numbers (Including Repeat and Follow-Up Assays)
With and without S9: 3 h Without S9: 20 h	47 to 750 µM	TT #[redacted]-8625
Without S9: 20, 30, and 44 h	100 to 350 µM	TT #[redacted]-8635, reported with TT #[redacted]-8625
Without S9: 20 h without inosine 20 h and 30 h with 800 µM inosine	200 to 350 µM	TT #[redacted]-8641, reported with TT #[redacted]-8625
Without S9: 20 h with and without 800 µM inosine	200 to 400 µM	TT #[redacted]-8643, reported with TT #[redacted]-8625
GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s).		

本探索的染色体異常試験では、S9非存在下で20時間処理した結果、200～400 µM の濃度範囲で

ISL に染色体異常誘発能が認められた。3時間処理では、S9活性化の存在下及び非存在下のいずれにおいても細胞毒性を示す用量まで染色体異常の増加は認められなかった。染色体異常を評価する最高用量は、各処理条件において同時溶媒対照と比較して細胞増殖抑制が約50%を大きく超過しない濃度とした。陽性対照であるシクロフォスファミド（S9存在下）及びマイトマイシン C（S9非存在下）では、同時溶媒対照と比較して染色体異常の有意な増加がみられ、本試験は適切に評価されていることが示された。染色体異常の増加は顕著な増殖抑制と関連していた。染色体異常はヌクレオシドプール不均衡の条件下で誘発されることが知られており、CHO 細胞の培地に 800 µM のイノシンを添加し、プール不均衡が少なくとも部分的に回復するかどうかを検討した。イノシンを添加する根拠は、リン酸化アデノシンアナログ（ISL）が IMP からの AMP 合成を阻害（フィードバック阻害、場合によっては IMP 自身の合成を阻害）する場合、イノシン（すなわち IMP）を AMP 源として供給することによってプール不均衡を改善できる可能性があるためである。イノシンの存在により毒性発現及び染色体異常誘発が抑制されたことから、ISL によるヌクレオシドプール不均衡が増殖抑制及び染色体異常誘発に寄与することが示唆された。

2.6.6.4.1.3 ISL：CHO 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験（TT #[redacted]-8669及び TT #[redacted]-8672）

DMSO を溶媒として ISL（S9存在下及び非存在下）を調製し、100倍に希釈して培地に添加した場合の CHO 細胞における染色体異常誘発能を検討した[2.6.7.8.C 項]。本染色体異常試験では、S9存在下又は非存在下で3時間処理した場合及び S9非存在下で連続処理（約20時間）した場合の2種類の処理条件を設定した。同時溶媒対照として、1% v/v DMSO 処理群を設定した。陽性対照として、シクロフォスファミド（S9存在下）処理群を設定した。染色体異常の分析のため、処理開始から約20～22時間後（正常な細胞周期で約1.5サイクル）に細胞を固定した。

本染色体異常試験では、染色体異常を評価する ISL の最高用量は、同時溶媒対照と比較して細胞増殖抑制が約50%を大きく超過しない濃度とした。細胞増殖抑制又は単層コンフルエントを細胞毒性として評価した。最初の染色体異常試験（TT #[redacted]-8669）の用量範囲は、先に実施した探索的染色体異常試験[2.6.7.8.B 項]でみられた細胞毒性に基づき設定した。本試験では、3つの処理条件で顕著な細胞増殖抑制が認められた。S9存在下の3時間処理では、溶媒対照の細胞増殖率が想定よりも低く、本処理条件における増殖が不十分である可能性が示唆されたことから、評価は実施せずに TT #[redacted]-8672において再試験を行った。S9非存在下では、25、200及び500 µM（3時間処理）並びに50、100及び300 µM（20時間処理）の ISL 濃度で染色体異常の評価を行った。評価を行った最高用量においても沈殿は認められなかった。S9非存在下の3時間処理では、500 µM（評価した最高用量）における細胞増殖率が同時溶媒対照と比較して55%であった。S9非存在下の20時間処理では、300 µM（評価した最高用量）における細胞増殖率が同時溶媒対照と比較して49%であった。いずれの処理条件（S9非存在下）においても、より高い用量では過剰な細胞毒性が認められた。再試験を実施した S9存在下の3時間処理（TT #[redacted]-8672）では、10、200及び350 µM の ISL 濃度で

染色体異常の評価を行った。最高用量では、22時間後の細胞増殖率が同時溶媒対照と比較して48%であった。より高い用量では過剰な細胞毒性が認められた。高用量の陽性対照では、いずれの試験においても同時溶媒対照と比較して有意な染色体異常の増加が認められた。

3時間処理を行った2つの条件（S9存在下及び非存在下）において、ISL は染色体異常を誘発しなかった。一方、S9非存在下の20時間処理では、100及び300 µM で ISL による有意な染色体構造異常の増加がみられ、ISL の染色体異常試験は陽性であった。この染色体異常の増加は顕著な増殖抑制と関連しており、100及び300 µM における細胞増殖（分裂回数）は同時溶媒対照と比較してそれぞれ71%及び49%であった。In vitro での染色体異常誘発はヌクレオシドアナログで一般的にみられる所見であり[4.3: 03T473]、DNA 前駆体プールの不均衡を反映している。ISL の探索的染色体異常試験[2.6.7.8.B 項]においても、適切な量のヌクレオチドを回復させるためにイノシン（ヌクレオチドプール不均衡に影響する可能性のあるヌクレオチド合成前駆体）を添加した際、染色体異常の改善がみられたことから、in vitro での ISL による染色体異常誘発にはヌクレオシド／ヌクレオチドプール不均衡が寄与している可能性が示唆された。

ヌクレオチドプール不均衡の誘発は、ヌクレオシドアナログでみられる機序としてよく知られており、閾値が存在する又は用量反応性が非線形性であると考えられている。したがって、ISL の遺伝毒性を評価した in vivo 小核試験において小核誘発は認められなかった[2.6.6.4.2 項]。

In vitro 及び in vivo の遺伝毒性試験データに基づくと、臨床使用条件下では ISL に遺伝毒性はないと考えられる。

2.6.6.4.2 In vivo 試験

2.6.6.4.2.1 ISL：小核試験（TT #[redacted]-1040試験に組み入れて実施）

Crl:WI(Han)ラットに0、30又は200 mg/kg/日の ISL を1日1回、5 mL/kg の容量で投与した探索的5日間毒性試験（非 GLP）[2.6.7.6 項]の一環として、ISL の小核誘発能を評価した[2.6.7.9.A 項]。対照群及び30 mg/kg/日群では、計画剖検時に上腕骨の骨髄を採取した。200 mg/kg/日群では、過剰な毒性発現及び死亡により試験5日に早期安楽殺が行われた。高用量群の雄では上腕骨の骨髄を採取したが、高用量群の雌では多数の死亡により採取は行わなかった。

本試験の結果は陰性であった。各 ISL 投与群における小核を有する多染性赤血球（PCE）の発現頻度は、溶媒対照群の背景値の範囲内であった。200 mg/kg/日群の雄では、同時対照群と比較して骨髄中の総赤血球に占める PCE の割合が僅かに低下した。高用量の陽性対照であるマイトマイシン C 群では、小核の顕著な増加がみられた。

結論として、評価した最高用量（200 mg/kg/日、AUC 曝露比は8,790倍）まで雄ラットに ISL による小核誘発は認められなかった。

2.6.6.4.2.2　ISL：小核試験（TT #[redacted]-1075試験に組み入れて実施）

In vivo 遺伝毒性の評価をさらに裏付けるため、雌雄ラットに ISL を経口投与した29日間毒性試験（GLP）[2.6.7.7.C 項]において、骨髄 PCE での ISL 小核誘発能を評価した[2.6.7.9.B 項]。

本試験では、Crl:WI(Han)ラットを雌雄各10匹からなる4群に割り付け、溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 3、10若しくは50 mg/kg/日、又は溶媒のみを5 mL/kg の容量で投与した。

最終剖検時に採取した骨髄を用いて小核の分析を実施した。対照群の雌雄各10匹、並びに ISL 3、10及び50 mg/kg/日群の最初の雌雄各5匹から採取したコード化スライド標本を用いて、1匹あたり約2,000個の PCE について小核を計数した。

小核を計数する ISL の用量は、雌雄ともに3、10及び50 mg/kg/日とした。本試験の結果は陰性であった。各 ISL 投与群における小核を有する PCE の発現頻度は同時対照群と同程度であり、溶媒対照群の背景データの範囲内であった。また、骨髄中の総赤血球に占める PCE の割合にも顕著な影響は認められなかった。高用量の陽性対照であるマイトマイシン C 群では、小核の顕著な増加がみられた。

結論として、ISL は評価した最高用量（50 mg/kg/日、AUC 曝露比は2,755倍）まで ISL による小核誘発は認められなかった。

2.6.6.5　がん原性試験

ラットを用いた2年間がん原性試験及び CByB6F1/Tg rasH2ヘミ接合マウスを用いた26週間がん原性試験を実施し、ISL の経口投与時のがん原性を評価した。用量は、ラットの6ヵ月間慢性毒性試験（TT #[redacted]-6001[2.6.7.7.D 項]及び TT #[redacted]-6005[2.6.7.7.E 項]）並びに rasH2野生型マウスの3ヵ月間用量設定試験（TT #[redacted]-6002）[2.6.7.7.A 項]の結果に基づき設定した。ラットを用いた2年間がん原性試験及び rasH2トランスジェニックマウスを用いた26週間がん原性試験の ISL の用量設定は、特別プロトコル評価プロセスを経て米国食品医薬品局（FDA）の発がん性評価委員会に承認されている。ISL はマウス及びラットがん原性試験においてそれぞれ AUC 曝露比の729倍及び618倍までがん原性を示さなかった。M4はマウス及びラットにおいても ISL の主要血中代謝物であることから、ISL を用いたがん原性試験では M4のがん原性プロファイルも評価された[2.6.6.8.5 項][表 2.6.6-42]。

2.6.6.5.1　長期がん原性試験

2.6.6.5.1.1　ISL：ラットを用いた2年間がん原性試験（TT #[redacted]-1043）

本試験の目的は、ラットに約2年間1日1回経口投与した際の ISL 及びその M4代謝物のがん原性並びに TK プロファイルを検討することであった[2.6.7.10.A 項]。

Crl:WI(Han)ラットをがん原性試験群又は TK 群のいずれかに割り付け、雌雄各50匹からなる5群

（対照群2群、ISL 投与群3群）で ISL のがん原性を、雌雄各7匹からなる4群（対照群1群、ISL 投与群3群）で TK プロファイルをそれぞれ評価した。対照群には溶媒（10% PS 80脱イオン水）を投与した。ISL 投与群には溶媒で調製した ISL を1、3又は10 mg/kg/日で投与した。投与容量は5 mL/kg とした。

本試験では、死亡、一般状態、触知可能な腫瘤、体重、歯の観察（肉眼観察のみ）を含む剖検及び病理組織学的検査により評価を行った。試験13週（全ての TK プロファイル）及び試験27週（投与後0.5時間及び1時間のみ）に ISL 投与群並びに対照群の ISL 及び M4代謝物の血漿中濃度を測定した。

ISL に関連した死亡は認められなかった。

ISL に関連した投与期間中検査所見は10 mg/kg/日群のみにみられ、ほとんどの雌雄で切歯の赤色化並びに断続的な上顎及び／又は下顎切歯の破折が、また雄で軽度の体重増加量減少が認められた（試験102週に同時対照群と比較して-9%）。

ISL に関連した腫瘍性所見は認められなかった。

ISL に関連した非腫瘍性の肉眼的所見として、主に10 mg/kg/日群の雌雄で切歯の変色及び破折の発現頻度の増加のみがみられた。これらの変化は、先に実施した ISL のラットを用いた毒性試験（TT #[redacted]-1075、TT #[redacted]-6011及び TT #[redacted]-6005）でも観察された特徴が明らかで回復性のあるラット特異的な変化と類似していた。

ISL に関連した非腫瘍性の病理組織学的所見は認められなかった。

ISL 及び代謝物 M4の平均 TK パラメータ（雌雄合算）を[表 2.6.6-27]及び[表 2.6.6-28]に示す。

表 2.6.6-27 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：試験 13 週（TT #[redacted]-1043）

Analyte	Week	Dose (mg/kg/day)[a]	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
ISL	13	1	1.08 ± 0.0510	0.497 ± 0.0467	0.50 ± NC
		3	4.27 ± 0.303	1.58 ± 0.103	0.50 ± NC
		10	19.4 ± 1.06	5.42 ± 0.773	0.50 ± NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a. ISL concentrations in plasma from all control group animals were below LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method.

表 2.6.6-28　ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 M4 代謝物 TK パラメータ：試験 13 週（TT #[redacted]-1043）

Analyte	Study Week	Dose (mg/kg/day)[a]	AUC0-24 (h*μM)	Cmax (μM)	Tmax (h)
M4 Metabolite	13	1	2.05 ± 0.130	0.634 ± 0.0641	1.0 ± NC
		3	6.42 ± 0.599	1.70 ± 0.409	1.0 ± NC
		10	15.4 ± 1.03	2.30 ± 0.224	1.0 ± NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a. M4 metabolite concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.0068 μM) of the bioanalytical method.

試験13週では、ISL 又は代謝物 M4の平均全身曝露量（AUC0-24）及び平均 Cmax に顕著な又は一貫した性差は認められなかった。

試験13週では、ISL の平均 AUC0-24は検討した用量範囲で用量比を僅かに上回って増加し、Cmax は検討した用量範囲でほぼ用量に比例した増加を示した。

試験13週では、M4の平均 AUC0-24及び Cmax は1～3 mg/kg/日の範囲ではほぼ用量に比例して増加し、3 mg/kg/日と10 mg/kg/日の間では僅かに用量比を下回る増加を示した。

投与27週では、投与後0.5時間及び1時間に全ての ISL 投与動物で ISL 及び M4が検出された。投与後0.5時間及び1時間の平均血漿中 ISL 及び M4濃度は用量に比例して増加し、投与13週及び27週で ISL 及び M4濃度は同程度であった。

結論として、10 mg/kg/日までの用量を1日1回経口投与したラット2年間がん原性試験において ISL のがん原性を評価した。10 mg/kg/日群の雄で認められた歯の所見（切歯）及び軽度の体重増加量減少に基づき、非腫瘍性所見に関する無影響量は3 mg/kg/日（AUC 曝露比は136倍）であった。非腫瘍性所見に関する無毒性量も3 mg/kg/日であったが、急速に成長する切歯における可逆性所見がヒトではみられず、一度萌出した後は成長しないヒト成人の歯には外挿されない変化であることから、成人への外挿性を考慮した無毒性量は10 mg/kg/日（AUC 曝露比は618倍）と考えられた。最高用量まで腫瘍性所見は認められなかったことから、がん原性に関する無影響量は10 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は618倍以上）であった。

2.6.6.5.2　短期又は中期がん原性試験

2.6.6.5.2.1　ISL：CByB6F1/Tg rasH2ヘミ接合マウスを用いた26週間経口投与がん原性試験（TT #[redacted]-9007）

本試験の目的は、CByB6F1/Tg rasH2ヘミ接合マウスに約26週間連日経口投与した際の ISL のがん原性を検討することであった[2.6.7.10.B 項]。

CByB6F1/Tg rasH2ヘミ接合マウスをがん原性試験群、rasH2野生型マウスを TK 群に割り付け、雌雄各25匹からなる6群（溶媒対照群2群、水対照群1群、ISL 投与群3群）で ISL のがん原性を、雌雄各3匹からなる6群（対照群3群、ISL 投与群3群）で TK プロファイルをそれぞれ評価した。溶媒対照群には溶媒（10% PS 80脱イオン水）を投与した。ISL 投与群には溶媒で調製した ISL を1.5、4又は13 mg/kg/日で投与した。投与容量は10 mL/kg とした。また、本試験系の妥当性を示すため、雌雄各15匹からなる陽性対照（NMU）群を設けた。

本試験では、死亡、一般状態、触知可能な腫瘤、体重、体重増加量、摂餌量、限定的な TK パラメータ（試験182日の投与後1時間のみ）、並びに剖検及び病理組織学的検査により評価を行った。

死亡、一般状態、体重及び体重増加量、摂餌量、並びに剖検及び病理組織学的検査において ISL に関連した影響は認められなかった。

いずれの用量においても、ISL に関連した腫瘍性又は非腫瘍性所見は認められなかった。

陽性対照（NMU）群では、予想された腫瘍性所見（様々な部位におけるリンパ腫及び乳頭腫の発現頻度の増加など）が雌雄ともに認められたことから、本試験で用いた CByB6F1/Tg rasH2ヘミ接合マウスモデルの妥当性が確認された。

TK パラメータを[表 2.6.6-29]に示す。

表 2.6.6-29 ISL を経口投与した際のマウス平均（± SE）ISL 濃度（雌雄合算）：試験 182 日（TT #[redacted]-9007）

Time (h)	Dose (mg/kg/day)[a]					
	1.5		4		13	
	Group 4		Group 5		Group 6	
	Mean (µM)	SE (µM)	Mean (µM)	SE (µM)	Mean (µM)	SE (µM)
1	0.486	0.0730	1.51	0.161	5.43	0.156

ISL=islatravir; h=hour(s); LLQ=lower limit of quantitation; SE=standard error.
a. ISL concentrations in plasma from all control group animals at 1 h were below the LLQ of the bioanalytical method.

TK 試料の採取は限定的（試験182日の投与後1時間のみ）であったが、全ての投与群で全身曝露が確認された。投与後1時間では、平均 ISL 濃度は雌雄マウスともに1.5～13 mg/kg/日の範囲で用量に比例して増加した。

結論として、13 mg/kg/日までの用量を1日1回経口投与した CByB6F1/Tg rasH2ヘミ接合体マウス26週間がん原性試験において ISL のがん原性を評価した結果、非腫瘍性所見及びがん原性に関する無影響量は13 mg/kg/日以上であった［AUC 曝露比は729倍以上、rasH2マウス用量設定試験（TT #[redacted]-6002）[2.6.7.7.A 項]の10 mg/kg/日群から外挿した AUC（22.9 µM·hr）を用いて算出］。

2.6.6.5.3 その他の試験

標準的ながん原性試験において腫瘍性所見が認められなかったことから、がん原性評価に関連したその他の試験は実施しなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

ISL の生殖発生毒性試験として、ラットを用いた雌雄受胎能試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験、ラットを用いた乳汁移行性試験、ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験、幼若ラットを用いた忍容性試験並びにラットを用いた歯の発生に関する試験（ラットでみられた ISL による歯の所見について小児集団への外挿性をさらに評価）を実施した。ISL をラットに AUC 曝露比で1,306倍まで投与した際に、受胎能、交尾能及び初期胚発生に影響は認められなかった。ISL を AUC 曝露比でそれぞれ532倍から5,159倍（ラット）及び1,322倍（ウサギ）まで投与した際に、母動物毒性、胚・胎児発生（ラット及びウサギ）並びに出生前及び出生後の発生（ラット）への影響はみられなかった。ラットにおいて ISL は胎盤を介して胎児に移行することが示されており（TT #[redacted]-7190、[2.6.5.8 項]）、ISL を授乳ラットに投与した際に哺乳児の血漿中から ISL が検出された（TT #[redacted]-7100、[2.6.7.17.D 項]）。M4はラット及びウサギにおいて ISL の主要血中代謝物であることから、ISL を用いた生殖発生毒性試験では代謝物 M4の毒性プロファイルも評価した[2.6.6.8.5 項][表 2.6.6-42]。

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1 ISL：雌雄ラットを用いた経口投与受胎能試験（TT #[redacted]-7030）

雌雄 F0ラットの受胎能に対する ISL の影響を評価するため、交配前15日間及び交配期間中に加え、雌では GD 7まで、雄では計画剖検日の前日まで（計約6週間）、ISL を1日1回経口投与した[2.6.7.12.A 項]。ラットを用いた6ヵ月間毒性試験では18 mg/kg/日（AUC 曝露比は1,306倍）まで精巣毒性は認められなかったため、ICH S5(R3)に従い、雄受胎能試験では2週間の交配前投与を実施した。

雌雄 Crl:WI(Han)ラット（約9～10週齢）を雌雄各20匹からなる5群に割り付けた。溶媒（10% PS 80 脱イオン水）で調整した ISL 1、3、10若しくは18 mg/kg/日、又は溶媒のみを1日1回経口投与した。投与容量は5 mL/kg とした。

一般毒性は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、胸部及び腹部臓器の剖検に基づき評価した。交尾能及び生殖能を評価するため、15日間の交配前投与の後、雌を同じ用量群の雄と1:1の比率で最長21日間同居させた。交配が確認された雌を GD 15～17に安楽死させ、胚／胎児生存率を確認するため子宮内容物を検査し、黄体数を計数した。雄ラットは試験7週に安楽死させ、精巣及び精巣上体の肉眼検査、並びに精巣重量測定を実施した。

計画剖検時まで全例が生存した。ISL に関連した一般状態所見及び剖検所見はみられなかった。

18 mg/kg/日群では、GD 0から8にかけて母動物における一過性の平均体重増加量の減少（対照群と比較して-14%）及び同居後の雄における平均体重増加量の減少（試験3～7週、対照群と比較して-15%）が認められた。いずれの群においても、雌雄の平均摂餌量に ISL に関連した変化は認められなかった。

交尾能、受胎能、胚／胎児生存率（妊娠雌動物あたりの黄体数、着床数及び生存胎児数）並びに精巣重量を評価した結果、いずれの用量においても ISL に関連した生殖毒性は認められなかった。

以上の結果から、18 mg/kg/日群の雌雄で平均体重増加量の減少が認められたため、一般毒性に関する無影響量は10 mg/kg/日であった。これらの所見は有害ではないと考えられたことから、一般毒性に関する無毒性量は18 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は1,306倍以上）であった。雌雄の受胎能に関する無影響量／無毒性量も18 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は1,306倍以上）であった。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 ISL：ラットを用いた探索的経口投与胚・胎児発生毒性及び TK 試験（TT #[redacted]-7001）

本試験の目的は、GD 6～20のラットに経口投与した際の ISL の発生毒性及び GD 15の母動物における ISL の TK プロファイルを評価することであった[2.6.7.11 項]。

適時交配した雌 Crl:WI(Han)ラット（GD 0=交配確認日、約10週齢）を各群8又は12匹の推定妊娠雌からなる5群に割り付けた。GD 6～20に溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 3、10、50若しくは200 mg/kg/日、又は溶媒のみを1日1回経口投与した。投与容量は5 mL/kg とした。

母動物毒性は、死亡、一般状態、体重及び摂餌量に基づき評価した。血漿中 ISL 濃度は、非絶食下で ISL を投与したラット（3～4匹／群）から GD 15に採取した試料を用いて測定を実施した。GD 21に全ての生存雌ラットを安楽殺して子宮内容物を検査し、黄体数及び肉眼的な胎盤形態を評価した。発生毒性は、胚／胎児生存率並びに胎児体重、性比及び外表・内臓・骨格形態に基づき評価した。

200 mg/kg/日群では、一般状態の変化（無形便、液状便及び粗剛な外観）、GD 6～12における平均母動物体重の減少（-18 g、対照群では+28 g）及び GD 8における平均摂餌量の減少（対照群と比較して-27%）がみられ、ISL に関連した過度の母動物毒性により GD 12又は13に早期安楽殺した。

対照群及び3、10及び50 mg/kg/日群の全例が計画剖検時まで生存した。これらの ISL 投与群では、ISL に関連した一般状態の変化、並びに体重増加量及び摂餌量への影響は認められなかった。

3、10及び50 mg/kg/日群では、対照群と比較して、胚／胎児生存率（妊娠雌動物あたりの黄体数、着床数及び生存胎児数から評価）、胎児性比、並びに胎児の外表・内臓・骨格形態に ISL に関連した変化は認められなかった。50 mg/kg/日群では、雌雄の生存胎児における平均体重の軽度の減少

（対照群と比較してそれぞれ-6%及び-7%）が認められたが、この減少は後の最終的な試験（TT #[redacted]-7080）[2.6.7.13.A 項]（検出力を高めた群間差をより正確に検出可能な試験）ではみられなかったことから、偶発的な所見であり ISL との関連性はないと考えられた。3及び10 mg/kg/日群では、ISL に関連した胎児体重への影響は認められなかった。

TK パラメータを[表 2.6.6-30]に示す。

表 2.6.6-30 ISL を経口投与した際の妊娠ラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：GD 15（TT #[redacted]-7001）

Dose (mg/kg/day)	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
3	Female	3.81 ± 0.380	1.55 ± 0.151	0.50 ± 0.0
10		14.4 ± 0.393	5.12 ± 0.668	0.50 ± 0.0
50		114 ± 6.77	26.4 ± 2.83	0.88 ± 0.13

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; GD=gestation day; h=hour(s); ISL=islatravir; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.

GD 15の ISL の平均全身曝露量は、3 mg/kg/日と10 mg/kg/日の間ではほぼ用量に比例して増加したが、10 mg/kg/日と50 mg/kg/日の間では用量比を上回る増加を示した。GD 15の ISL の平均 Cmax は、全ての用量でほぼ用量に比例して増加した。

要約として、妊娠ラットに GD 6から0、3、10、50又は200 mg/kg/日の ISL を1日1回経口投与した結果、200 mg/kg/日群は ISL に関連した過度の母動物毒性により GD 12又は13に早期安楽殺された。残りの群の雌は GD 20まで投与を継続し、50 mg/kg/日（AUC 曝露比は3,631倍）まで ISL に関連した母動物毒性及び発生毒性は認められなかった。

2.6.6.6.2.2 ISL：ラットを用いた経口投与胚・胎児発生毒性及び TK 試験（TT #[redacted]-7080）

本試験の目的は、GD 6～20のラットに経口投与した際の ISL の発生毒性及び GD 15の母動物における ISL の TK プロファイルを評価することであった[2.6.7.13.A 項]。

適時交配した雌 Crl:WI(Han)ラット（GD 0=交尾確認日）を各群24匹の推定妊娠雌からなる4群に割り付けた。動物は試験開始時に約10週齢であった。GD 6～20に溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 3、10若しくは50 mg/kg/日、又は溶媒のみを1日1回経口投与した。投与容量は5 mL/kgとした。高用量の50 mg/kg/日は、ラットを用いた探索的経口投与胚・胎児発生毒性及び TK 試験（TT #[redacted]-7001）[2.6.7.11 項]において、200 mg/kg/日群で過度の母動物毒性が認められたことに基づき設定した。

母動物毒性は、死亡、一般状態、体重、摂餌量及び剖検（胸部及び腹部臓器）に基づき評価した。血漿中 ISL 濃度は、全群の非絶食ラットの一部から GD 15に採取した試料を用いて測定した。GD 21に全ての雌動物を安楽死させ、各雌動物の子宮内容物を検査した。発生毒性は、胚／胎児生存率（妊娠雌動物あたりの黄体数、着床数及び生存胎児数により評価）、胎児体重及び胎児性比並びに胎児の外表・頭部（冠状面）・内臓・骨格形態に基づき評価した。肉眼的な胎盤形態の評価も実施した。

全ての雌が計画剖検時まで生存した。母動物の一般状態、体重、体重増加量及び摂餌量に ISL に関連した影響はみられなかった。母動物の剖検所見も認められなかった。

胚／胎児生存率、胎児体重、胎児性比及び胎児形態に ISL に関連した影響はみられなかった。また、いずれの群においても ISL に関連した胎盤の異常は認められなかった。

TK パラメータを[表 2.6.6-31]に示す。

表 2.6.6-31 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：GD 15（TT #[redacted]-7080）

Dose (mg/kg/day)[a]	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
3	Female	3.22 ± 0.107	1.39 ± 0.123	0.50 ± 0.0
10		16.7 ± 0.920	4.73 ± 0.485	0.75 ± 0.14
50		162 ± 9.68	21.7 ± 2.50	2.0 ± 0.71

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; GD=gestation day; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a. ISL concentrations in plasma from all control group animals at 0.5 h were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method.

ISL の平均全身曝露量は検討した用量範囲で用量比を上回って増加し、ISL の平均 Cmax は検討した用量範囲でほぼ用量に比例する増加を示した。

以上の結果から、母動物及び発生毒性に関する無影響量／無毒性量はいずれも50 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は5,159倍以上）であった。

2.6.6.6.2.3 ISL：ウサギを用いた探索的経口投与胚・胎児発生毒性及び TK 試験（TT #[redacted]-7064）

ウサギを用いて GD 7～20に経口投与を行い、ISL の発生毒性及び GD 15の母動物における ISL の TK プロファイルを評価した[2.6.7.11 項]。

適時交配した雌 Dutch Belted ウサギ（約23～26週齢、GD 0=交配確認日）を各群8又は12匹の推定妊娠雌からなる5群に割り付けた。GD 7～20に溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 3、10、50若しくは200 mg/kg/日、又は溶媒のみを1日1回経口投与した。投与容量は5 mL/kg とした。

母動物毒性は、死亡、一般状態、体重及び摂餌量に基づき評価した。GD 28に全ての生存雌動物を安楽死させて子宮内容物を検査し、黄体数及び肉眼的な胎盤形態を評価した。発生毒性は、胚／胎児生存率、生存胎児体重、性比及び胎児の外表・内臓・骨格形態に基づき評価した。

200 mg/kg/日群では、計画外死亡（雌12匹中2匹）、GD 7～11における平均母動物体重の減少（-130 g、対照群では平均増加量25.3 g）及び GD 8における平均母動物摂餌量の減少（対照群と比較して-20%）がみられ、ISL に関連した許容できない母動物毒性により GD 11又は12に早期安楽殺した。この群では ISL に関連した一般状態の変化として、糞による被毛の汚れ、無尿、並びに無便、無形便及び液状便も認められた。200 mg/kg/日群の雌1例は体重減少及び摂餌量減少、一般状態の変化として腹臥位並びに液状便及び無形便がみられたため、GD 11に安楽殺した。別の200 mg/kg/日群の雌1例は GD 12の投与前に死亡状態で発見された。この動物では死亡前に体重及び摂餌量の減少、努力呼吸、開口を妨げる口周囲の白色滲出物並びに液状便が認められた。本用量での TK 試料は採取していないが、これらの計画外死亡は非常に高い曝露比（50 mg/kg/日群、AUC 曝露比は9,331倍超）でみられたことから、ヒトへの外挿性はないと考えられる。

50 mg/kg/日群（AUC 曝露比は9,331倍）では、GD 7～15における平均母動物体重の減少（-34.5 g、対照群では+103 g）及び GD 13における平均母動物摂餌量の減少（対照群と比較して-63%）がみられ、ISL に関連した許容できない母動物毒性により GD 16又は17に早期安楽殺した。50 mg/kg/日群では ISL に関連した一般状態の変化は認められなかった。

対照群、3及び10 mg/kg/日群の全例が計画剖検時まで生存した。3及び10 mg/kg/日群では、ISL に関連した一般状態の変化、並びに母動物の平均体重及び摂餌量への影響は認められなかった。

3及び10 mg/kg/日群では、対照群と比較して、胚／胎児生存率（妊娠雌動物あたりの黄体数、着床数及び生存胎児数から評価）、胎児性比、並びに胎児の外表・内臓・骨格形態に ISL に関連した変化は認められなかった。3及び10 mg/kg/日群の雄並びに3 mg/kg/日群の雌では、平均胎児体重に ISL に関連した影響はみられなかった。10 mg/kg/日群の雌では、軽度な体重減少（対照群と比較して-7%）が認められたが、この減少は偶発的なものであり、程度はごく軽度であったことから、ISL に関連しないと考えられ、同様の体重変化はウサギを用いた最終的な胚・胎児発生毒性試験（TT #[redacted]-7040、[2.6.7.13.B 項]、検出力を高めた群間差をより正確に検出可能な試験）ではみられなかった。3及び10 mg/kg/日群では、舌骨の骨化不全を伴う胎児数の軽度の増加（同腹平均でそれ

ぞれ6.3%及び12%、同時対照群では2.1%）が認められ、本試験施設における対照群の背景値を逸脱していた。3及び10 mg/kg/日群では、その他の部位の骨化に ISL に関連した影響は認められなかったことから、一つの骨化部位における軽度の所見の発現頻度の増加は、当初は ISL との関連性は明らかではないと判断された。これらの一つの骨化部位における軽度の発現頻度の増加は、最終的な試験（TT #[redacted]-7040、[2.6.7.13.B 項]、検出力を高めた群間差をより正確に検出可能な試験）ではみられなかったことから、偶発的な所見であり ISL との関連性はないと考えられた。

TK パラメータを[表 2.6.6-32]に示す。

表 2.6.6-32 ISL を経口投与した際のウサギ平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：GD 15（TT #[redacted]-7064）

Dose (mg/kg/day)	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
3	Female	14.4 ± 1.06	3.39 ± 0.411	1.3 ± 0.25
10		39.6 ± 1.68	9.93 ± 0.254	0.88 ± 0.13
50		293 ± 39.7	31.9 ± 5.51	2.0 ± 0.71

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; GD=gestation day; h=hour(s); ISL=islatravir; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.

GD 15の ISL の平均全身曝露量は、3 mg/kg/日と10 mg/kg/日の間ではほぼ用量に比例して増加し、10 mg/kg/日と50 mg/kg/日の間では用量比を上回る増加を示した。ISL の平均 Cmax は、3 mg/kg/日と10 mg/kg/日の間ではほぼ用量に比例して増加し、10 mg/kg/日と50 mg/kg/日の間では用量比を僅かに下回る増加であった。

要約として、雌ウサギに GD 7から0、3、10、50又は200 mg/kg/日で ISL を1日1回経口投与した結果、50（AUC 曝露比は9,331倍）及び200 mg/kg/日群では ISL に関連した許容できない母動物毒性の発現（計画外死亡、平均母動物体重の減少及び／又は摂餌量の減少）により投与を早期に中止した。対照群、3及び10 mg/kg/日群の雌では GD 20まで投与を継続し、3及び10 mg/kg/日群に ISL に関連した母動物及び発生毒性は認められなかった（AUC 曝露比はそれぞれ459倍及び1,261倍）。

2.6.6.6.2.4 ISL：ウサギを用いた経口投与胚・胎児発生毒性及び TK 試験（TT #[redacted]-7040）

本試験の目的は、GD 7～20のウサギに経口投与した際の ISL の発生毒性及び GD 15の母動物における ISL の TK プロファイルを評価することであった[2.6.7.13.B 項]。

適時交配した雌 Dutch Belted ウサギ（GD 0=交配確認日）を各群23匹の推定妊娠雌からなる4群に割り付けた。動物は試験開始時に約27週齢であった。GD 7～20に溶媒（10% PS 80脱イオン水）

で調製した ISL 1、3若しくは10 mg/kg/日、又は溶媒のみを1日1回経口投与した。投与容量は5 mL/kgとした。高用量の10 mg/kg/日は、ウサギを用いた探索的胚・胎児発生毒性試験（TT #[redacted]-7064）[2.6.7.11 項]において、50 mg/kg/日以上の用量で毒性が認められたことに基づき設定した。

母動物毒性は、死亡、一般状態、体重、摂餌量及び剖検（胸部及び腹部臓器）に基づき評価した。血漿中 ISL 濃度は、全群の非絶食ウサギの一部から GD 15日に採取した試料を用いて測定した。GD 28に全ての雌ウサギを安楽死させ、各雌動物の子宮内容物を検査した。発生毒性は、胚／胎児生存率（妊娠雌動物あたりの黄体数、着床数及び生存胎児数から評価）、胎児体重及び胎児性比、並びに胎児の外表・頭部（冠状面）・内臓・骨格形態に基づき評価した。肉眼的な胎盤形態の評価も実施した。

対照群並びに1、3及び10 mg/kg/日群では、全てのウサギが計画剖検時まで生存した。いずれの群においても、ISL に関連した一般状態の変化、並びに母動物の平均体重及び摂餌量への影響は認められなかった。ISL に関連した胎盤及び剖検所見も認められなかった。

1、3及び10 mg/kg/日群では、対照群と比較して、胚／胎児生存率（妊娠雌動物あたりの黄体数、着床数及び生存胎児数から評価）、胎児性比、体重、並びに胎児の外表・頭部・内臓・骨格形態に ISL に関連した変化は認められなかった。

TK パラメータを[表 2.6.6-33]に示す。

表 2.6.6-33 ISL を経口投与した際のウサギ平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：GD 15（TT #[redacted]-7040）

Dose (mg/kg/day)[a]	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
1	Female	3.99 ± 0.299	0.966 ± 0.0873	1.0 ± 0.0
3		11.5 ± 1.03	3.48 ± 0.340	1.0 ± 0.0
10		41.5 ± 2.78	10.5 ± 0.0406	0.83 ± 0.17

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; GD=gestation day; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a. ISL concentrations in plasma from all control group animals at 0.5 h were below the LLQ (LLQ=0.00341 µM) of the bioanalytical method.

GD 15における ISL の平均全身曝露量（AUC0-24）及び平均 Cmax は、3用量群全てでほぼ用量に比例して増加した。

以上の結果から、母動物及び発生毒性に関する無影響量／無毒性量はいずれも10 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は1,322倍）であった。

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.6.6.3.1 ISL：ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する経口投与毒性試験（TT #[redacted]-7080）

本試験の目的は、GD 6～LD 20の F0雌ラットに経口投与した際の ISL の F1世代の発生、発育、行動、生殖能及び受胎能に対する影響を評価することであった[2.6.7.14.A 項]。

交配した雌 Crl:WI(Han)ラット（GD 0=交配確認日）を各群20匹からなる4群に割り付けた。動物は試験開始時に約10週齢であった。GD 6～LD 20に溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 1、3若しくは10 mg/kg/日、又は溶媒のみを1日1回経口投与した。投与容量は5 mL/kg とした。高用量は、予想されるヒト最大全身曝露量の25倍超の曝露比が得られるように設定した。

母動物毒性は、死亡、一般状態、体重、摂餌量及び剖検（胸部及び腹部臓器のみ）に基づき評価した。全ての雌動物が正常に分娩した。離乳前の F1の発生は、死亡、外表形態、体重及び一般状態に基づき評価した。離乳後の F1の発生は、死亡、一般状態、体重、発達指標、行動検査（受動回避、聴覚驚愕反応、オープンフィールド運動）、交尾能及び受胎能に基づき評価した。

F0世代では、ISL に関連した死亡、一般状態所見、剖検所見、平均体重、体重増加量、摂餌量及び生殖能への影響は認められなかった。

離乳前の F1世代では、ISL に関連した死亡、一般状態所見、外表形態及び平均体重への影響は認められなかった。離乳後にも死亡はみられず、ISL に関連した一般状態所見、発育、発達、行動、交尾能、受胎能及び胚／胎児生存率への影響は認められなかった。

ISL の乳汁を介した出生児への移行を検討するため、出生前及び出生後の発生に関する試験の試験条件を模倣した別の新生児ラットを用いた経口投与 TK 試験を実施した（TT #[redacted]-7100）[2.6.7.17.D 項]。この ISL の TK 試験では、授乳ラットに ISL 10 mg/kg/日を GD 6から LD 10まで投与した際、哺乳児（PND 10）の血漿中から ISL が検出され、LD 10の投与後1時間及び3時間における ISL の哺乳児／母動物血漿中濃度比はそれぞれ0.1%及び1.5%であり、ISL の乳汁を介した出生児への移行が示唆された。

以上の結果から、出生前及び出生後の発生に関する試験での F0母動物及び F1の発生に関する無影響量／無毒性量は、いずれも10 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は532倍以上）であった。

2.6.6.6.4 出生児（幼若動物）を用いた追加検討試験

2.6.6.6.4.1 ISL：幼若ラットを用いた探索的経口投与忍容性及び TK 試験（TT #[redacted]-7035）

本試験の目的は、PND 4～20の幼若ラットに1日1回経口投与したときの ISL の忍容性及び PND 14の ISL の TK プロファイルを評価することであった[2.6.7.11 項]。

PND 4までに、35匹の母動物（1腹あたり雌雄各4匹）を5群（対照群に3匹、ISL 投与群に1群あ

たり8匹）に無作為に割り付けた。割付け後の全ての同腹児には、同じ用量を投与した。ISL 投与群（4群）には、溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 3、10、25又は50 mg/kg/日を1日1回経口投与した。各 ISL 投与群では、雌雄各12匹を忍容性評価に、雌雄各20匹を PND 14の TK 評価に用いた。対照群の児（雄雌各12匹）は忍容性評価にのみ用い、同様に溶媒のみを投与した。高用量は、先に実施したラットを用いた試験で50 mg/kg/日以上の群に毒性がみられたことに基づき設定した。投与容量は5 mL/kg とした。

忍容性は死亡、一般状態及び体重に基づき評価した。切歯萌出（PND 6から最後の切歯が歯肉を貫通するまで）を肉眼的に観察した。血漿中 TK 評価のため、PND 14に ISL 投与群の児から血液試料を採取した。投与過誤の有無を確認するため、途中死亡した全ての児について剖検を実施した。試験終了時には、忍容性評価に割り付けられた児の頭部（上顎、下顎及び歯のみ）を肉眼的に検査した。

ISL に関連した計画外死亡、一般状態所見は認められなかった。

10、25及び50 mg/kg/日群では、PND 4～21に児（雌雄）の用量依存性のない平均体重増加量の減少（同時対照群と比較してそれぞれ雌：-17%、-17%及び-9%、雄：-17%、-17%及び-15%）が認められた。用量反応性はみられず（用量は5倍超）、またこれらの用量では用量に比例した全身曝露の増加がみられたことを考慮すると、体重増加量の減少と ISL との関連性は不明であった。

切歯萌出が観察された平均日数は対照群を含む全ての群で同様であり、PND 10に初めて観察され、概して PND 13までに完了した。試験終了時の検査では、頭部に ISL に関連した所見は認められなかった。

TK パラメータを[表 2.6.6-34]に示す。

表 2.6.6-34　ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：PND 14（TT #[redacted]-7035）

Dose (mg/kg/day)	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
3	Female	6.44 ± 0.311	1.90 ± 0.296	1.0 ± NC
	Male	7.05 ± 0.288	1.92 ± 0.141	1.0 ± NC
	All	6.74 ± 0.205	1.91 ± 0.147	1.0 ± NC
10	Female	25.6 ± 1.15	6.02 ± 0.407	1.0 ± NC
	Male	26.8 ± 1.26	5.64 ± 0.555	2.0 ± NC
	All	26.2 ± 0.825	5.83 ± 0.469	1.0 ± NC
25	Female	73.2 ± 4.65	15.6 ± 1.35	1.0 ± NC
	Male	71.4 ± 5.59	13.6 ± 1.02	1.0 ± NC
	All	72.3 ± 3.30	14.6 ± 0.873	1.0 ± NC
50	Female	143 ± 11.1	26.1 ± 1.83	2.0 ± NC

	Male	147 ± 11.8	24.2 ± 1.92	2.0 ± NC
	All	145 ± 7.43	25.1 ± 1.26	2.0 ± NC
AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; NC=not calculated; PND=postnatal day; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.				

PND 14における ISL の平均全身曝露量及び平均 Cmax に、一貫した又は顕著な性差はみられなかった。PND 14における ISL の平均全身曝露量は、3 mg/kg/日と10 mg/kg/日群の間では僅かに用量比を上回って増加し、10 mg/kg/日、20 mg/kg/日と50 mg/kg/日群の間ではほぼ用量に比例して増加した。PND 14における ISL の平均 Cmax は、全ての用量でほぼ用量に比例して増加した。

以上の結果から、歯の萌出に関する無影響量／無毒性量は50 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は4,618倍以上）であった。

2.6.6.6.4.2　ISL：ラットを用いた経口投与による歯の発生及び TK に関する試験（TT #[redacted]-7130）

本試験の目的は、ISL を幼若ラットに経口投与した際の歯の発生及び PND 14における ISL の TK プロファイルを評価することであった。妊娠母動物（F0世代）には GD 6～LD 3まで、出生児（F1世代）には PND 4～20まで、ISL を1日1回経口投与した[2.6.7.15.A 項]。

適時交配した雌 Crl:WI(Han)ラット（GD 0=交配確認日）を25匹の推定妊娠雌からなる4群に割り付けた。動物は試験開始時に約8～10週齢であった。GD 6～LD 3に溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 0.3、3若しくは7 mg/kg/日、又は溶媒のみを1日1回経口投与した。分娩終了後、各出生児は分娩した雌ラットの中から選ばれた母動物（同一出産日）に哺育させた。各母動物には、少なくとも6腹の由来が異なる同腹児から構成され、同性の同腹児及びその母動物が出産した同腹児は含まないよう割付けを行った。可能な場合、PND 3に各母動物で間引き（4匹／性／腹）を行った。全ての同腹児（割付け後）には同じ用量を投与し、PND 4～20まで ISL 又は溶媒のみを経口投与した。全ての動物（F0及び F1世代）で投与容量は5 mL/kg とした。高用量は AUC 曝露比で25倍超となる用量を選択した。

母動物毒性は、死亡、一般状態及び体重に基づき評価した。F1の発生は、死亡、出生児の外表形態、体重及び一般状態に基づき評価した。さらに、切歯萌出（PND 6から最後の切歯が歯肉を貫通するまで）を肉眼的に評価した。一部の動物（約24匹／性／群）から、PND 14に血漿中 ISL 濃度測定用の血液試料を採取した。残りの動物（約12匹／性／群）は、PND 21に剖検を行った。PND 21の病理組織学的検査は頭部（切歯、臼歯、上顎及び下顎）のみで実施した。

全ての F0雌が計画剖検時まで生存した。いずれの群においても一般状態所見はみられず、平均体重、体重増加量及び生殖能に ISL に関連した変化は認められなかった。

F1世代では、出生時の児に外表の奇形又は変異は認められず、ISL に関連した死亡、一般状態所

見、体重及び体重増加量への影響も認められなかった。

切歯萌出時期に ISL に関連した影響はみられなかった。加えて、切歯、臼歯、上顎及び下顎に ISL に関連した肉眼的又は病理組織学的変化は認められなかった。切歯及び臼歯では、エナメル質上皮及びそれに伴う残存エナメル質、象牙芽細胞上皮及び発達中の象牙質、並びに歯髄腔に顕著な変化はみられなかった。同様に、各歯に隣接する上顎骨及び下顎骨にも顕著な変化はみられなかった。

TK パラメータを[表 2.6.6-35]に示す。

表 2.6.6-35 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：PND 14（TT #[redacted]-7130）

Dose (mg/kg/day)[a]	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
0.3	Female	0.763 ± 0.0458	0.244 ± 0.0133	1.0 ± NC
	Male	0.753 ± 0.115	0.162 ± 0.0251	2.0 ± NC
	All	0.771 ± 0.0652	0.202 ± 0.0320	1.0 ± NC
3	Female	9.24 ± 0.394	2.51 ± 0.314	1.0 ± NC
	Male	9.24 ± 0.332	2.73 ± 0.166	1.0 ± NC
	All	9.24 ± 0.259	2.62 ± 0.170	1.0 ± NC
7	Female	21.7 ± 0.792	4.77 ± 0.106	1.0 ± NC
	Male	21.7 ± 0.794	5.06 ± 0.559	1.0 ± NC
	All	21.7 ± 0.544	4.92 ± 0.269	1.0 ± NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; NC=not calculated; PND=postnatal day; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a. ISL concentrations in plasma from all control group animals at 1 h were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method.

全ての TK パラメータは雌雄合算値として評価した。ISL は PND 14の投与後1時間までに Cmax に達した。3用量群全てにおいて血漿中からの ISL の消失は速やかであり、平均トラフ濃度（投与後24時間）は PND 14における平均 Cmax の約0.2%以下であった。ISL の平均全身曝露量（AUC0-24）及び平均 Cmax は、3用量群全てでほぼ用量に比例して増加した。

以上の結果から、歯の発生に関する無影響量／無毒性量は7 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は691倍以上）であった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

反復経口投与毒性試験の一部として局所刺激性を評価した[2.6.6.3 項]。胃の毒性（胃腺変性）は

限られた用量（ラットでは100 mg/kg/日以上、サルでは10 mg/kg/日を3日間、30 mg/kg/日を4日間及び75 mg/kg/day を3日間投与した用量漸増試験）及び RHD を十分に上回る曝露（AUC 曝露比は6,783倍以上）においてのみ認められた。さらに、労働安全プログラムの一環としてウシ摘出角膜の混濁度及び透過性試験並びに MatTek EpiDerm™ MTT 皮膚刺激性試験を実施し、ISL は非刺激性物質に分類された。これらの所見に対する考察は[2.6.6.7.1 項][2.6.6.7.2 項]及び[2.6.6.7.3 項]に記述する。

ラット及びサルでの胃の所見は高い用量（ヒト体重を50kg と仮定した場合、用量比ベースで ISL RHD の20,000倍以上）及び AUC 曝露比（6,783倍以上）でみられたこと、並びにウシ角膜の混濁度及び透過性試験、MatTek EpiDerm 試験の結果に基づき、結論として、RHD において ISL はヒトで局所刺激性を引き起こす可能性は低いと考えられた。

2.6.6.7.1 胃の変化

ラットを用いた7日間及び5日間反復投与経口毒性試験（TT #[redacted]-2513及び TT #[redacted]-1040）では、高い曝露比（用量及び AUC に基づく）の連日投与により胃腺の変性が認められた（100及び200 mg/kg/日：AUC 曝露比はそれぞれ6,783及び8,790倍）。ラットの胃の所見に関する無影響量は、ラットに6ヵ月間連日投与した最高用量である50 mg/kg/日（AUC 曝露比は4,363倍）であった。

サルに10 mg/kg/日を3日間、30 mg/kg/日を4日間、75 mg/kg/日を3日間投与した10日間用量漸増毒性試験で連日投与した際にも胃腺変性が認められた（AUC 曝露比は7,081倍）。一方、後に実施した最大75 mg/kg/回を3日に1回投与したサル1ヵ月間試験（AUC 曝露比は2,070倍）、サルに20 mg/kg/回（3日に1回投与、AUC 曝露比は539倍）を9ヵ月間又は100 mg/kg/回（3日に1回投与、AUC 曝露比は3,259倍）を約2ヵ月間投与した慢性毒性試験において所見は認められなかった。それぞれの用量は用量比ベースで ISL RHD（0.25 mg、体重50 kg）の15,000、4,000及び20,000倍に相当する。胃の所見は、用量比ベース［ラット：50 mg/kg/日、RHD（0.25 mg、体重 50kg）と比較して10,000倍、サル：75 mg/kg（3日に1回）、RHD（0.25 mg、体重 50kg）と比較して15,000倍］及び曝露比ベース［ラット：50 mg/kg/日の AUC 曝露比は6,783倍、サル：75 mg/kg の AUC 曝露比は7,081倍］で非常に高い用量でのみ所見がみられ、さらに ISL は非刺激性物質に分類されたことから[2.6.7.16 項]、ヒトには外挿されない変化と考えられた。

高い用量及び曝露比に基づくと、ラット及びサルで観察された胃の所見は、RHD における ISL の治療用量及び曝露量では臨床上問題となる可能性は低いと考えられる。

2.6.6.7.2 ISL：ウシ摘出角膜の混濁度及び透過性試験（TT #[redacted]-7826）

本試験の目的は、Draize 法の代替法を用いて ISL の眼刺激性を評価することであった[2.6.7.16 項]。5つのウシ摘出角膜に ISL 20%製剤（0.75 mL）を投与し、混濁度及びフルオレセインナトリウム透過性を測定した。本試験では、ISL は非刺激性物質に分類された。

2.6.6.7.3　ISL：MatTek EpiDerm™ MTT 皮膚刺激性試験（TT #[redacted]-7828）

本試験の目的は、Draize 法の代替法を用いて ISL の皮膚刺激性を評価することであった[2.6.7.16 項]。MatTek EpiDerm™ MTT 皮膚刺激性試験は、皮膚傷害性を評価するための定量的手法として認知されている。MatTek EpiDerm™ 組織サンプルを ISL（100 mg、duplicate）で1、4及び24時間、又は1% Triton® X-100（陽性対照）で4及び9時間処理した。陰性対照（未投与の組織）についても、同様に4時間処理のみを実施した。処理完了後、MTT 法（取込み及び還元）により組織の生存率を測定した。690 nm の参照波長を用い、540 nm の波長で各サンプルの吸光度を測定した。各群の生存率は、陰性対照の値に対する割合で示した。各時点における平均生存率から ET_{50}（EpiDerm™ 組織の生存率が陰性対照と比較して50%減少した時点）を算出した。ET_{50}スコアから刺激性分類を判定した結果、ISL は非刺激性物質（ET_{50}>24時間）に分類された。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　抗原性／免疫原性

通常の反復投与毒性試験において、ISL の抗原性に起因すると考えられる所見又は変化は認められなかった[2.6.6.3 項]。したがって、抗原性試験は実施しなかった。

2.6.6.8.2　免疫毒性

通常の反復投与毒性試験では、マウスにおけるリンパ球数の減少を除き、ISL に直接的な免疫毒性を示唆する所見は認められなかった。リンパ球数の減少はサルでも認められたが、所見がみられたのは明らかな毒性を伴う高い曝露に限られた。ラットでは、白血球数及びリンパ球数の増加が高い AUC 曝露比（4,363倍）でみられたが、程度が小さく病理組織学的所見が認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。したがって、ICH S8「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」に従い、in vivo 試験ではマウスを用い、免疫毒性を評価する一連の非臨床試験を実施した。評価には以下が含まれる。

- 血液学的検査、血液生化学検査、臓器重量、病理組織学的検査及び毒性試験での感染症の明らかな増加に関するデータの評価
- 用量／曝露関係及び回復性を評価する in vivo 探索的試験
- リンパ球サブセットを評価するイムノフェノタイピング試験
- 代謝プロファイル、DNA ポリメラーゼ阻害、リンパ球活性化並びに増殖及びアポトーシスに及ぼす影響を検討するための機序検討試験

総合的なデータ評価から、RHD での ISL 及び ISL-TP 濃度では、複数の感度の高い免疫毒性学的評価項目に免疫毒性の証拠は認められないことが示唆された。これらのデータから、臨床試験で0.75 mg 以上の用量の ISL を1日1回投与した際にみられた ISL による総リンパ球数及びリンパ

球サブセット数の減少は、[redacted] の併用投与の影響によるものではなく、ISL と同程度の TP 濃度においてヌクレオシド／ヌクレオチドアナログ（3TC、FTC、ABC 及び TAF）で全般にみられるリンパ球の増殖に対する影響と類似しており、予測可能な閾値のある濃度に起因した現象と考えられた。

ISL の反復投与毒性試験の結果から、ラット及びサルの AUC 曝露比でそれぞれ4,363倍及び539倍まで免疫抑制、炎症性の有害所見及びリンパ組織での有害所見は認められなかった。マウスでは、RHD を上回る AUC 曝露比においてリンパ組織の萎縮（AUC 曝露比は243倍以上）、リンパ球数減少（AUC 曝露比は65倍以上）並びに脾細胞での B 細胞及び T 細胞活性化の抑制（AUC 曝露比はそれぞれ243倍及び1,783倍以上）が認められた。サルでは、過度な毒性がみられた AUC 曝露比（3,259倍）において皮膚の炎症、骨髄への影響及びリンパ球を含む白血球の減少が認められた。

リンパ球数の減少はサルでも認められたが、所見がみられたのは明らかな毒性を伴う高い曝露（AUC 曝露比は3,259倍）に限られ、グルココルチコイド関連のストレス反応によるものと考えられた[4.3: 07XDNW] [4.3: 08NPTD]。しかしながら ISL-TP がリンパ球数減少に直接的に影響した可能性も否定できなかった。サルでみられた皮膚毒性は高用量群（100 mg/kg、3日に1回投与、AUC 曝露比は3,259倍）に限定してみられたが、細菌培養、直腸温及び病理組織学的検査では所見がみられなかったことから、これらの動物に感染症の証拠は認められなかった。重要なことに、サルを用いた慢性毒性試験では、無毒性量であるより低い忍容用量（20 mg/kg、3日に1回投与、AUC 曝露比は539倍）及び十分な曝露量で、炎症性所見、リンパ系組織の重量又は病理組織学的所見、及び／又は皮膚、骨髄への影響、リンパ球数の減少並びに血液学的変化は認められなかった。同様に、ラットでは慢性毒性試験で評価した最高用量（50 mg/kg/日、AUC 曝露比は4,363倍）まで、顕著な炎症性所見、リンパ系組織の変化及びリンパ球数の減少はみられなかった。

CD-1マウス（TT #[redacted]-1020）及び rasH2野生型マウス（TT #[redacted]-6002）を用いた3ヵ月間毒性試験、マウスイムノフェノタイピング試験（TT #[redacted]-1015）、ラットを用いた6ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-6011 及び TT #[redacted]-6005）並びにサルを用いた9ヵ月間試験（TT #[redacted]-1068）では感染症は認められず、マウスを用いた6ヵ月間がん原性試験（TT #[redacted]-9007）及びラットを用いた2年間がん原性試験（TT #[redacted]-1043）では感染症及び腫瘍発現率の上昇も認められなかったことから、ISL は免疫機能を阻害しないことが示唆された。さらに、ヒトに ISL を投与した際にも他の投与群と比較して感染症発生率の上昇はみられなかった。

ISL は骨髄造血幹細胞（リンパ系前駆細胞及び骨髄系前駆細胞並びに最終的には全ての成熟血球細胞系列に分化）に影響を与えなかった[2.6.6.8.2.1 項]。マウスでは造血幹細胞に対する影響が認められなかったことと一貫して、マウスでのリンパ球系細胞集団に対する ISL 関連の影響は、12週間の回復期間後に回復性が示された（TT #[redacted]-1015）。同試験では、[redacted]（[redacted]）と ISL の併用投与により、末梢血及び脾臓の総リンパ球数又はリンパ球サブセット数において、ISL に関連した減少の増悪は認められなかった。

動物を用いた試験に加えて、ISL がヒトリンパ球のアポトーシス、活性化及び機能に及ぼす潜在

的な影響を in vitro で評価するため、アポトーシス細胞（アネキシン V）及び増殖誘導による細胞活性化（Ki67）をフローサイトメトリーを用いて定量した[4.2.1.2.12: PD029] [2.6.2.3.2.6 項]。また、抗体及びサイトカイン産生並びに pan-T 細胞活性化を in vitro で検討し、ISL が B 細胞及び T 細胞の機能に及ぼす潜在的な影響を評価した。これらの実験では、1 µM 以下の in vitro 濃度（ISL-TP 濃度は300 µM 未満に相当）では、ISL はリンパ球のアポトーシス、増殖誘導活性化又は機能に影響を及ぼさなかった。重要なこととして、ISL 0.75 mg（以前ヒトでリンパ球数減少がみられた用量）と DOR 100 mg の1日1回併用投与を受けた HIV-1血清反応陽性の臨床試験参加者から採取した PBMC では、ビクテグラビル／FTC／TAF（50/200/25 mg）を1日1回投与した臨床試験参加者と比較した際に免疫機能に影響を及ぼさなかった[4.3: 08CFSY]。

TK6細胞を用いた in vitro 探索的試験から、臨床試験でみられた ISL によるリンパ球数減少には、ISL-TP による DNA 複製及び細胞分裂に関与する酵素である DNA ポリメラーゼ α の阻害作用が寄与している可能性が示唆された。DNA ポリメラーゼ α の阻害は ISL に固有のものではなく、他のヌクレオシド／ヌクレオチドアナログ（3TC、FTC、ABC 及び TAF）も DNA ポリメラーゼ α の阻害作用を有し[4.3: 03W0NT] [4.3: 08PFDR] [4.3: 080P9Y] [4.3: 080P9L]、同程度の等モル換算した TP 濃度で TK6細胞の増殖抑制が認められている[2.6.2.3.2 項]。

これらの試験における血液学的検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的評価、並びに in vitro 及び in vivo 試験結果を総合すると、ISL は RHD において免疫毒性の懸念を示さないことが示唆された。マウス及びヒトではリンパ球数の減少が認められたが、これらの減少は RHD の ISL-TP 濃度（平均 ISL-TP Cmax は約9 µM、009試験の PK データに基づく[2.7.2.2.1.3 項]）と比較して高い PBMC 中 ISL-TP 濃度（Cmax は約30 µM 以上）で認められた。第III相試験（051及び052試験）では、ISL が RHD（0.25mg、1日1回）において総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少を引き起こさないことが確認された。さらに、ISL を投与した動物では感染症及び腫瘍発現率の上昇は認められず、ヒトでも他の投与群と比較して ISL 投与群で感染症発生率の上昇は認められなかったことから、ISL は免疫機能を阻害しないことが示唆された。したがって、これまでの結果を総合的に評価した結果、免疫毒性の懸念は示唆されなかった。

2.6.6.8.2.1 造血幹細胞に対する毒性は ISL によるリンパ球及び CD4+T 細胞数減少の機序に寄与しない

利用可能な非臨床試験データから ISL は骨髄造血幹細胞（リンパ系前駆細胞及び骨髄系前駆細胞並びに最終的には全ての成熟血球細胞系列に分化）に影響を与えなかったとの結論に至った。以降に示すように、造血幹細胞に対する影響の証拠がみられなかったことと一貫して、マウスでの ISL に関連したリンパ球系細胞集団への影響は12週間の回復期間後に回復性が示された。

マウス、ラット及びサルの病理組織学的検査では、評価した最高用量まで［最高用量及び AUC 曝露比はそれぞれ rasH2野生型マウスでは35 mg/kg/日及び2,239倍（TT #[redacted]-6002）、CD-1マウスで45 mg/kg/日及び1,783倍（TT #[redacted]-1020）、ラットでは50 mg/kg/日及び4,363倍（TT #[redacted]-6011）並びに

サルでは100 mg/kg/日及び3,259倍（TT #[redacted]-1068）］骨髄における幹細胞への影響又は前駆細胞の変化を示唆する所見は認められなかった。

より高い用量及び曝露量でみられた所見又はサルでの明らかな毒性に関連した所見の毒性学的意義は低いと考えられた。骨髄の変化は、サルを用いたより短期間の1ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-1063）の高い全身曝露量（75 mg/kg/回、AUC 曝露比は2,070倍）及びサルを用いた慢性毒性試験（TT #[redacted]-1068）の高用量群の早期安楽殺動物でのさらに高い非忍容用量／曝露量（100 mg/kg/回、3日に1回投与、AUC 曝露比は3,259倍）でみられた骨髄塗抹標本での成熟好中球及び正染性赤芽球サブセットの変化に限定された。骨髄における細胞密度、赤芽球系及び骨髄系（顆粒球及び単球）の成熟度、並びに巨核球及び血小板はいずれも正常であったことから、本所見は成熟細胞のみで観察される所見であり、血球細胞系列の成熟度には影響しないことが示唆された。

非臨床試験での明らかな血液学的変化はマウスにおけるリンパ球数の減少のみであり、他の動物種における他の成熟血球細胞の減少は認められなかった［ただしサルで明らかな毒性のみられた100 mg/kg/回（3日に1回投与）は除く］。また、このことは骨髄の病理組織学的検査及び／又は細胞学的検査ではいずれの骨髄細胞の増殖、成熟及び細胞密度に対する変化、並びに影響を示唆する所見はみられなかったことと一貫していた。他の骨髄系細胞サブセット（顆粒球、単球、赤芽球及び巨核球）の減少は認められなかったことから、ISL による造血幹細胞に対する影響はないことが示唆された。また、上記の考察と一貫してマウス試験（TT #[redacted]-1015）でみられたリンパ球数の減少は完全な回復性がみられた。

臨床試験における血液学的検査の変化は、ISL を1日1回0.75 mg 以上の用量で投与した際の総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少のみであり、RHD（0.25 mg、1日1回）では認められなかった。臨床試験では ISL 投与を中止した後に、用量依存的な総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の回復性が認められた[5.3.5.1.13: 08L2VG]。

2.6.6.8.2.2 臨床試験（ISL 0.75 mg 以上の用量）で認められたリンパ球数減少に対する In vivo 機序検討試験

2.6.6.8.2.2.1 ISL+[redacted]：マウスを用いた探索的10週間経口投与イムノフェノタイピング及び PBMC 試験（12週間の回復期間を含む）（TT #[redacted]-1015）

CD-1マウスを用いた3ヵ月間反復投与毒性試験（TT #[redacted]-1020）[2.6.7.7.B 項]及び臨床試験で認められたリンパ球数減少に関連して、影響を受けたリンパ球サブセット数を解析し、リンパ球機能に及ぼす影響及び ISL に関連したマウスリンパ球への影響の回復性を明らかにするため、雄 CD-1マウスを用いた10週間イムノフェノタイピング試験を実施した。

本試験では、溶媒のみ、ISL 単独（3.5及び45 mg/kg/日）、ISL（10 mg/kg/日）±[redacted]（申請者が開発中の[redacted]、750 mg/kg/日）又は[redacted] 単独（750 mg/kg/日）を雄マウスに10週間連日投与した。

ISL の溶媒として10% PS 80［10% (w/w)ポリソルベート脱イオン水］、[redacted] の溶媒として0.5% MC/0.25% SLS/5 mL 塩酸［0.5% (w/v)メチルセルロース／0.25%ラウリル硫酸ナトリウム／5 mM 塩酸脱イオン水］を用いた。ISL は、10% PS 80の懸濁液として調製した。[redacted] は、[redacted] 及び[redacted] それぞれ[redacted]% (w/w)及び[redacted]% (w/w) 含有する[redacted]（[redacted]、1g あたり[redacted] mg 及び[redacted] mg を含む）であり、0.5% MC/0.25% SLS/5 mM 塩酸の懸濁液として調製した。[redacted] の溶媒対照には[redacted] は含めなかった。各溶媒及び被験物質は10 mL/kg/回の投与容量で約10週間投与した。

試験7及び28日、投与期間終了時（試験10週）及び12週間の回復期間後に各群の動物を安楽殺し、血液学的検査を実施した。さらに PBMC 及び脾細胞を処理後、イムノフェノタイピング検査を行い、血液及び脾臓中の各種リンパ球サブセットの絶対数をそれぞれ測定した。投与期間終了時（試験10週）及び12週間の回復期間後には、脾臓リンパ球（T 細胞及び B 細胞）の ex vivo 活性化を測定し、ISL 投与によるリンパ球機能への影響も評価した（T 細胞の活性化には抗 CD3／抗 CD28抗体を用い、B 細胞の活性化には抗 BCR／抗 CD40抗体を用いた）。また、10週間の投与期間終了時には、PBMC 及び脾細胞を処理して投与後24時間の ISL-TP 濃度を測定し、脾臓を採取して病理組織学的評価を実施した。

ISL に関連した一般状態所見はみられなかった。

ISL に関連した計画外死亡は認められなかった。[表 2.6.6-36]に示すとおり、第1～6群では各1～3例（溶媒投与群の第1及び2群も含む）、第7群（ISL 10 mg/kg/日と[redacted] 750 mg/kg/日）では9例の計画外死亡が認められた。第7群の計画外死亡のうち4例は、剖検で投与過誤による2次的な死亡と判明し、残りの動物に関しても死因として投与過誤が疑われた。本試験の第7群における死亡の増加及び投与過誤の可能性が疑われたことから、追加試験（TT #[redacted]-1029）[2.6.7.17.A 項]を実施し所見の再現性を検証した。追加試験では、ISL（10 mg/kg/日）と[redacted]（750 mg/kg/日）の併用投与において死亡は認められず、本試験でみられた計画死亡例の増加は、偶発的であり被験物質によるものではないと考えられた。

表 2.6.6-36 計画外死亡の数及び時期（TT #[redacted]-1015）

Dose Group	Test/Control Article (Dose Level)	Animal Number	SD of Death	FD or US
1	ISL Vehicle (0 mg/kg/day)	22-0076	9	US
		22-0088	95	FD
2	ISL Vehicle (0 mg/kg/day) + [redacted] Vehicle (0 mg/kg/day)	22-0142	4	US
3	ISL (3.5 mg/kg/day)	22-0208	13	US
4	ISL (45 mg/kg/day)	22-0392	133	FD
		22-0394	114	US
		22-0416	4	US
5	ISL (10 mg/kg/day) + [redacted] Vehicle (0 mg/kg/day)	22-0432	4	US
6	ISL Vehicle (0 mg/kg/day) + [redacted] (750 mg/kg/day)	22-0474	56	US
		22-0482	24	FD
		22-0514	10	FD
7	ISL (10 mg/kg/day) + [redacted] (750 mg/kg/day)	22-0520	8	FD
		22-0526	9	FD
		22-0528	27	US
		22-0538	7	FD
		22-0544	51	FD
		22-0550	32	FD
		22-0556	49	US
		22-0558	56	US
		22-0564	11	US

ISL=islatravir; FD=found dead; SD=study day; [redacted]; US=unscheduled sacrifice.

脾臓での被験物質に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

ISL 3.5 mg/kg/日群の試験70日（試験10週）、ISL 45 mg/kg/日群の試験7、28及び70日（試験10週）でISLに関連したごく軽度から中等度のリンパ球数の減少（同時対照群の平均値と比較して-44%～-76%）が認められた。ISL（10 mg/kg/日）と[redacted]（溶媒対照）及びISL（10 mg/kg/日）と[redacted]（750 mg/kg/日）の併用投与群の試験70日（試験10週）において被験物質に関連した軽度のリンパ球数の減少（それぞれ-59%及び-70%）がみられた。これらのリンパ球数の減少の結果として、ISL 45mg/kg/日群の試験28日及び70日（試験10週）及びISL（10 mg/kg/日）と[redacted]（750 mg/kg/日）の併用投与群の試験70日（試験10週）ではごく軽度の白血球数の減少（-53%～-56%）がみられた。回復期間終了時点［試験153日（試験22週）］のISL 3.5及び45 mg/kg/日群のリンパ球数は対照群の値と同程度であった。

マウスにISL単独（3.5 mg/kg/日以上）又は[redacted]（750 mg/kg/日）と併用投与した際、10週間の投与期間中に、同時対照群の値と比較して末梢血及び脾臓の総リンパ球、CD4及びCD8 T細胞（-18%

～-81%）並びにB細胞（-25%～-87%）の時間及び用量依存的な減少が認められた。これらの群では10週間の投与期間中に、同時対照群の値と比較して末梢血及び脾臓のNK細胞の一過性の減少（-33%～-45%）もみられた。3ヵ月間の回復期間では全てのリンパ球サブセット数で回復がみられ、個々の動物での変動を反映したごく軽度から軽度の代償性のリンパ球数の増加も認められた。また、試験70日のex vivo活性化評価では、ISL投与によるT細胞活性化の抑制（45 mg/kg/日群、-29%）及びB細胞活性化の抑制（10 mg/kg/日以上、-42%～-46%）が認められたが、試験153日（3ヵ月間の回復期間後）には回復がみられた。

TK結果を[表 2.6.6-37]及び[表 2.6.6-38]に示す。

表 2.6.6-37 マウスにISLを単独又は[redacted]と併用経口投与した際のPBMC中ISLリン酸化同化物濃度（雌雄平均値）：試験10週（TT #[redacted]-1015）

Anabolite	Time (h)	Concentrations of ISL-MP, ISL-DP, and ISL-TP in PBMC (pmol/10^6 cells)[a]							
		3.5 mg/kg/day ISL		45 mg/kg/day ISL		10 mg/kg/day ISL + [redacted] vehicle		10 mg/kg/day ISL + 750 mg/kg/day [redacted]	
		Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
ISL-MP	24	0.293	NC	1.42	NC	0.480	NC	0.772	NC
ISL-DP		1.41	NC	6.17	NC	0.419	NC	0.676	NC
ISL-TP		2.42	NC	15.0	NC	5.81	NC	8.19	NC

DP=diphosphate; h=hour(s); ISL=islatravir; LC-MS/MS=liquid chromatography-tandem mass spectrometry; MP=monophosphate; NC=not calculated; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; SE=standard error; TP=triphosphate; [redacted].

a. To facilitate comparison of results across compounds, the measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS, was divided by the total number of viable cells (in units of 10^6 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar, this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).

表 2.6.6-38 マウスにISLを単独又は[redacted]と併用経口投与した際の脾細胞中ISLリン酸化同化物濃度（雌雄平均値）：試験10週（TT #[redacted]-1015）

Anabolite	Time (h)	Concentrations of ISL-MP, ISL-DP, and ISL-TP in Splenocytes (pmol/10^6 cells)[a]							
		3.5 mg/kg/day ISL		45 mg/kg/day ISL		10 mg/kg/day ISL + [redacted] vehicle		10 mg/kg/day ISL + 750 mg/kg/day [redacted]	
		Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
ISL-MP	At Necropsy	0.185	0.0185	0.299	0.0378	0.271	0.0519	0.375	0.0633
ISL-DP		0.241	0.0398	0.418	0.0607	0.379	0.0843	0.600	0.103
ISL-TP		1.80	0.163	3.06	0.407	2.59	0.475	3.57	0.560

DP=diphosphate; h=hour(s); ISL=islatravir; LC-MS/MS=liquid chromatography-tandem mass spectrometry; MP=monophosphate; SE=standard error; TP=triphosphate; [redacted].

a. To facilitate comparison of results across compounds, the measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS, was divided by the total number of viable cells (in units of 10^6 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar, this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).

ISL を連日経口投与した後、PBMC（投与後24時間）並びに試験10週の剖検時における脾細胞中の平均 ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度は ISL の用量が増えるにつれ増加し、各試料での曝露量は ISL-TP > ISL-DP > ISL-MP（降順）であった。ISL（10 mg/kg/日）と[redacted]（750 mg/kg/日）の併用投与では、PBMC 及び脾細胞中の平均 ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度は ISL 10 mg/kg/日単独投与時と比べて1.4～1.6倍であったことから、ISL/[redacted] 併用投与時の各リン酸化同化物濃度は同程度又は増加した場合でも軽度にとどまることが示唆された。ISL 単独投与と比較した際の併用投与時の増加は軽度であり、意義のある変動ではないと考えられた。また、投与群での PBMC 及び脾細胞中における ATP、dATP、dGTP、dCTP、dTTP 及び NAD^+の相対濃度に顕著な変化は認められなかった。

本試験の最終投与後24時間の PBMC 中 ISL-TP 濃度は、探索的7日間経口投与試験（TT #[redacted]-1006）[2.6.7.17.D 項]で得られた PBMC 中 ISL-TP 濃度と概して同程度であった。最終投与後24時間の脾細胞中の ISL-TP 濃度は、3.5 mg/kg/日の最終投与後24時間における PBMC 中濃度の範囲内であったが、用量依存性は認められなかった。ISL に関連した血液学的検査所見は、ISL 3.5、10及び45 mg/kg/日におけるごく軽度から中等度のリンパ球数の減少に限定され、それに伴い45 mg/kg/日のみで白血球数の減少がみられた。[redacted] と ISL の併用投与により、ISL に関連したリンパ球数の減少の増悪はみられなかった。45 mg/kg/日では低用量と比較して、早い時点でリンパ球数の減少が認められた。好塩基球、好酸球、単球、好中球、血小板及び赤血球パラメータに ISL に関連した変化は認められなかった。全体として、これらの血液学的検査所見は、血液及び脾細胞で認められた以下のイムノフェノタイピング検査所見と一貫していた。

血液学的検査で認められた所見と矛盾することなく、ISL を投与したマウスでは対照群と比較して、末梢血及び脾臓のリンパ球サブセット数に時間及び用量依存的な変化が認められた。脾臓における病理組織学的検査では、これらの所見と関連する変化はみられなかった。マウスに ISL と[redacted] を併用投与した際、ISL 単独投与時と同程度の末梢血及び脾臓におけるリンパ球サブセット数の変化が認められたことから、[redacted] は ISL に関連したマウスリンパ球に対する影響を増悪させないことが示された。ISL と[redacted] を併用投与した動物の脾臓に、投与に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

脾細胞において投与に関連した T 細胞及び B 細胞活性化の軽度の抑制がそれぞれ45 mg/kg/日及び10 mg/kg/日以上で認められた。これらの結果は、ISL 非投与のドナーPBMC を用いて実施した ex vivo リンパ球機能評価と一貫している[2.6.2.3 項]。高用量ではリンパ球活性化の抑制が認められたものの、CD-1マウス（TT #[redacted]-1020）[2.6.7.7.B 項]及び rasH2野生型マウス（TT #[redacted]-6002）

[2.6.7.7.A 項]を用いた3ヵ月間毒性試験で感染症はみられず、マウスを用いた6ヵ月間がん原性試験（TT #[redacted]-9007）[2.6.7.10.B 項]及びラットを用いた2年間がん原性試験（TT #[redacted]-1043）[2.6.7.10.A 項]でも感染症及び腫瘍発現率の上昇は認められなかったことから、ISL はマウスの全般的な免疫機能に影響を及ぼさないことが示唆された。[redacted] と ISL の併用投与による ISL に関連した T 細胞及び B 細胞活性化に対する影響の増悪はみられなかった。

結論として、ISL の投与により、マウスの末梢血及び脾臓において概して全ての B リンパ球及び T リンパ球サブセット数で用量及び時間依存的な減少がみられ、より程度は小さいものの NK 細胞でも同様の変化が認められた。また、脾細胞では投与に関連した T 細胞及び B 細胞活性化の軽度の抑制が、それぞれ45 mg/kg/日及び10 mg/kg/日以上の用量で認められた。これらの変化は、脾臓の病理組織学的所見を伴わなかった。ISL に関連した全ての変化は、12週間の回復期間後に回復した。本試験におけるマウス PBMC 中 ISL-TP 濃度［Cmax=約30 µM（3.5 mg/kg/日）～81 µM（45 mg/kg/日）、TT #[redacted]-1006[2.6.7.17.D 項]］は、リンパ球数の減少が認められた用量におけるヒト PBMC 中濃度（009試験：Cmax 34 µM 以上）と同程度であった。ISL と [redacted] の併用投与は、マウス PBMC 中 ISL-TP 濃度に影響を及ぼさなかった。

2.6.6.8.2.2.2 ISL+[redacted]：マウスを用いた探索的8週間忍容性及び TK 試験（TT #[redacted]-1029）

過去の試験（TT #[redacted]-1015）[2.6.7.17.A 項]で ISL（10 mg/kg/日）と [redacted]（750 mg/kg/日）を併用投与した際にマウスでみられた計画外死亡率の増加について検証するため本試験を実施した。本試験の目的は、雄マウスに約8週間連日 ISL 及び [redacted] を単独又は併用投与した際の忍容性及びそれぞれの TK プロファイル（試験9日）を評価することであった[2.6.7.17.A 項]。

雄 CD-1マウスに ISL（溶媒）+[redacted]（溶媒）、ISL（10 mg/kg/日）+[redacted]（溶媒）、ISL（溶媒）+[redacted]（750 mg/kg/日）及び ISL（10 mg/kg/日）+[redacted]（750 mg/kg/日）を連日併用経口投与した。各被験物質の調製は個別に行った。各溶媒又は被験物質の投与容量は10 mL/kg とし、8週間投与した。

ISL は10% PS 80脱イオン水を用いて調製した。[redacted] [redacted] 処方［[redacted]% (w/w)[redacted] 及び [redacted]% (w/w)[redacted] [redacted]］は0.5% （w/v）メチルセルロース、0.25% （w/v）ラウリル硫酸ナトリウム及び5 mM 塩酸添加脱イオン水に懸濁した。[redacted] の溶媒投与群には、[redacted] 投与群の投与液に含まれる[redacted]量と等量の [redacted]（1750 mg/kg/日）を同様に投与した。

忍容性評価は死亡、一般状態及び体重に基づいて行った。

被験物質に関連した計画外死亡、一般状態変化又は体重変化は認められなかった。[表 2.6.6-39]に示すとおり、ISL（溶媒）+[redacted]（750 mg/kg/日）投与群では、ISL（溶媒）+[redacted]（溶媒として[redacted]）投与群と比較して死亡率の僅かな増加がみられたが、死亡率は低く、また [redacted] の投与量が同じである ISL（10 mg/kg/日）+[redacted]（750 mg/kg/日）群では死亡がみられなかったことから、ISL（溶媒）と [redacted]（750 mg/kg/日）投与群でみられた死亡は [redacted] 投与に関連しない可能性が考

えられた。ISL（溶媒）+[redacted]（溶媒として[redacted]）の併用投与群では、投与過誤による計画外死亡が1例認められた。

表 2.6.6-39　計画外死亡の数及び時期（TT #[redacted]-1029）

Dose Group	Test/Control Article (Dose Level)	Animal Number	SD of Death	FD or US
1	ISL Vehicle (0 mg/kg/day) + [redacted] Vehicle (0 mg/kg/day)	22-0040 (Cohort A)	27	FD
2	ISL (10 mg/kg/day) + [redacted] Vehicle (0 mg/kg/day)	No Deaths		
3	ISL Vehicle (0 mg/kg/day) + [redacted] (750 mg/kg/day)	22-0134 (Cohort A)	52	FD
		22-0144 (Cohort A)	20	US
		22-0164 (Cohort A)	48	US
4	ISL (10 mg/kg/day) + [redacted] (750 mg/kg/day)	No Deaths		
FD=found dead; ISL=islatravir; SD=study day; [redacted]; US=unscheduled sacrifice.				

TK 結果を[表 2.6.6-40]及び[表 2.6.6-41]に示す。

表 2.6.6-40　雄マウスに ISL 単独又は[redacted]と併用投与した際の平均血漿中 ISL TK パラメータ：試験 9 日（TT #[redacted]-1029）

Parameter	Units	ISL / [redacted] Dose (mg/kg/day)			
		10 / 0		10 / 750	
		Group 2		Group 4	
		Mean	SE	Mean	SE
AUC0-24	h*µM	14.7	1.24	15.6	3.39
Cmax	µM	10.1	1.77	6.40	1.66
Tmax	h	0.500	NC	0.500	NC
AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); [redacted]; ISL=islatravir; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration; [redacted]. Note: Group 2=10 mg/kg/day ISL + [redacted] vehicle ([redacted]); Group 4=10 mg/kg/day ISL + 750 mg/kg/day [redacted].					

表 2.6.6-41　雄マウスに[redacted]単独又は ISL と併用投与した際の平均血漿中[redacted] TK パラメータ：試験 9 日（TT #[redacted]-1029）

Parameter		ISL / [redacted] Dose (mg/kg/day)			
		0 / 750		10 / 750	
		Group 3		Group 4	
		Mean	SE	Mean	SE
AUC0-24	h*µM	1190	156	857	83.2
Cmax	µM	116	21.6	76.1	11.6
Tmax	h	1.00	NC	4.00	NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration; [redacted].
Note: Group 3=750 mg/kg/day [redacted] + ISL vehicle; Group 4=10 mg/kg/day ISL + 750 mg/kg/day [redacted].

ISL（10 mg/kg/日）+[redacted]（750 mg/kg/日）の併用投与では、各被験物質の単独投与と比較して ISL 又は[redacted]の全身曝露に意義のある影響はみられなかった。

結論として、雄 CD-1マウスに8週間、ISL（10 mg/kg/日）、[redacted]（750 mg/kg/日）又は ISL（10 mg/kg/日）+[redacted]（750 mg/kg/日）を併用投与した際の忍容性は良好であった。被験物質に関連した所見は認められなかった。

本試験結果に基づき、TT #[redacted]-1015（[2.6.7.17.A 項]）における ISL（10 mg/kg/日）+[redacted]（750 mg/kg/日）群でみられた計画外死亡の増加は偶発であり、被験物質に関連した変化ではないと結論づけた。

2.6.6.8.2.3　フローサイトメトリーを用いたマウス局所リンパ節試験（TT #[redacted]-7827）

本局所リンパ節試験の目的は、局所塗布した ISL の感作性の有無を検討することであった[2.6.7.17.A 項]。ISL［5%、10%及び25%(w/v) DMSO 溶液］、陽性対照［25%(v/v) ヘキシルシンナムアルデヒド］又は溶媒対照（DMSO）を、雌 CBA/J マウス（各群5例）の耳介背部に1日1回3日間連日塗布した。全ての動物について試験期間を通して1日1回観察し、一般状態（塗布部位における局所刺激性及び全身毒性）並びに死亡を評価した。試験1日の初回投与前及び試験6日の安楽殺前に体重を測定した。また、本試験のマウスにはチミジンアナログの BrdU を安楽殺の約5時間前に腹腔内投与した。安楽殺後、耳介リンパ節を摘出してリンパ節細胞の単細胞懸濁液を作製し、リンパ節細胞懸濁液の BrdU 取込み率（%BrdU 陽性リンパ節細胞）及び総リンパ節細胞数をフローサイトメトリーにより測定した。局所リンパ節における増殖反応の指標として、増殖リンパ節細胞数（BrdU 陽性細胞数）を算出した。

試験の In life 期間において全ての動物は生存した。

DMSO に溶解した ISL 5%、10%、25% (w/v)を局所適用した結果、刺激指数はそれぞれ2.2、2.0、4.0であり、陽性対照群の値は9.3であった。25% (w/v)での刺激指数は3.0以上であったことから、ISL は皮膚感作性物質であると考えられた。

2.6.6.8.3 メカニズム試験

ISL の作用機序（HIV-1逆転写酵素阻害）並びに ISL 及び ISL-TP のオフターゲット活性を薬理試験の一部として評価した[2.6.2.2 項][2.6.2.3 項]。

臨床試験において0.75 mg 以上の用量の ISL を1日1回投与した際に総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少が認められたため、PBMC 及び TK6細胞を用いた ISL の in vitro 検討試験を実施し、リンパ球数減少の機序を検討した[2.6.2.3.2 項]。また過去に実施した CD-1マウス試験で認められたごく軽度から中等度のリンパ球数の減少について検討するため、マウスを用いた検討試験（2試験）を臨床と同程度の PBMC 中 ISL-TP 濃度で実施した。これらの試験結果から、リンパ球に ISL-TP が選択的に蓄積することで、高い ISL-TP 濃度において細胞増殖抑制及びアポトーシスが誘導されるという結論が支持された。ポリメラーゼ α に対する ISL-TP の阻害作用（IC_{50} = 29.6 μM）を示した in vitro における IC_{50}（IC_{50} = 29.6 μM）から、本濃度を超える ISL-TP 濃度による DNA ポリメラーゼ α（DNA 複製及び細胞分裂に関与する酵素）の阻害作用が細胞増殖抑制及びアポトーシスの誘導に寄与している可能性が示唆された。DNA ポリメラーゼ α 阻害は ISL に固有のものではなく、他のヌクレオシド／ヌクレオチドアナログ（3TC、FTC、ABC 及び TAF）も DNA ポリメラーゼ α の阻害作用を有し[4.3: 03W0NT] [4.3: 08PFDR] [4.3: 080P9Y] [4.3: 080P9L]、同程度の等モル換算した TP 濃度で TK6細胞の増殖抑制が認められている[2.6.2.3.2 項]。

2.6.6.8.4 依存性試験

ISL のターゲットである HIV-1逆転写酵素は哺乳類において内因性に存在せず、ISL 又はその主要血中代謝物である M4の薬理学的プロファイルからは、薬物乱用の可能性は示唆されなかった。また、[^{14}C]標識 ISL の組織分布に関して中枢神経系における[^{14}C]標識 ISL 関連物質の濃度は低かった。ラット及びサルに[redacted]標識 ISL を静脈内マイクロドージングした際に、両動物種の脳において[redacted]標識 ISL 関連物質の高い濃度での分布は認められなかった。さらに、FOB 評価の一部として実施したラットの神経行動学的検査では、中枢神経系作用及び薬物乱用を示唆するリスクはみられなかった[2.6.2.4 項]。ラット及びサルを用いた最長6ヵ月及び9ヵ月間の反復投与毒性試験では、いずれの用量でも中枢神経系の投与期間中検査所見又は病理組織学的所見は認められず、向精神作用（すなわち、鎮静又は刺激作用）の証拠も認められなかった[2.6.6.3 項]。したがって、動物を用いた薬物乱用に関する試験は実施しなかった。

2.6.6.8.5　代謝物

ヒトで同定された唯一の ISL の主要血中代謝物は M4であった。M4は酸化的脱アミノ反応により生成され、マウス、ラット、ウサギ及びサルでも主要な血中代謝物として同定された。

M4の in vitro 抗ウイルス活性[2.6.2.2.1 項]及びオフターゲット活性[2.6.2.3 項]が評価されている。M4は野生型 HIV-1及び既承認の NRTI に耐性を示す HIV-1変異株に対して弱い抗ウイルス活性を示した。M4は増殖細胞株及び初代培養細胞に対して細胞毒性を示さず、臨床上のリスクとなるような M4及び M4-TP のオフターゲット活性は特定されなかった。

M4はマウス、ラット、ウサギ及びサルでも主要な血中代謝物として同定され、M4代謝物の毒性及びがん原性は、マウス、ラット及びサルを用いた ISL の反復投与毒性試験、マウス及びラットを用いたがん原性試験並びにラット及びウサギを用いた ISL の生殖発生毒性試験の一部として評価した。いずれの試験でも、動物における M4曝露量は RHD におけるヒト平均 M4曝露量（0.75 nM）を上回っていた（223倍以上）。したがって、追加の代謝物に関する試験は実施しなかった。M4に関する動物／ヒト曝露比を[表 2.6.6-42]に示す。

表 2.6.6-42　非臨床安全性試験での M4 に関する動物／ヒト曝露比

Type of Studies	Study	NOAEL Dose (mg/kg/dose)	M4 Concentration (nM)	Projected M4 Concentration in Humans at the RHD[a] (nM)	Animal to Human EM for M4 at the RHD[b]
Repeat-dose Toxicity	3-Month Dose Range-Finding Study in CD-1 Mice (TT #[redacted]-1020)	45	601[c]	0.75	801
	3-Month Dose Range-Finding Study in rasH2 WT Mice (TT #[redacted]-6002)	18	411[c]		548
	6-Month Chronic Toxicity Studies in Rats (TT #[redacted]-6011 & TT #[redacted]-6005)	10	577[c]		769
	9-Month Chronic Toxicity Study in Monkeys (TT #[redacted]-1068)	20	167[d]		223
Carcinogenicity	6-Month Carcinogenicity Study in TgRasH2 Mouse (TT #[redacted]-9007)	13	297[e]		396
	2-Year Carcinogenicity Study in Rats (TT #[redacted]-1043)	10	642[f]		856

Type of Studies	Study	NOAEL Dose (mg/kg/dose)	M4 Concentration (nM)	Projected M4 Concentration in Humans at the RHD[a] (nM)	Animal to Human EM for M4 at the RHD[b]
Developmental & Reproductive Toxicity	Rat EFD (TT #[redacted]-7080)	50	2885[e]		3847
	Rat PPND (TT #[redacted]-7080)	10	577[c,e]		769
	Rabbit EFD (TT #[redacted]-7040)	10	410[g]		547

AUC0-24=area under the concentration time-curve from time 0 to 24 hours; pooled plasma Caverage=average concentration; EFD=embryo-fetal developmental; EM=exposure multiple; h=hour(s); ISL=islatravir; NOAEL=no observed adverse effect level; PPND=pre and post-natal developmental; q3d=once every three days; qd=once daily; RHD=recommended human dose; WT=wild type.

a. The average M4 concentration for the RHD of ISL of 0.25 mg qd was calculated assuming that the M4 average concentration (15 nM [2.6.5.12.2 項]) determined for the 5 mg qd dose on Day 42 for the P009 Phase 1 study was dose proportional to the 0.25 mg qd dose; thus, 15 nM x 0.25 mg/day ÷ 5 mg/day=0.75 nM.
b. EMs were calculated by dividing the average M4 metabolite concentration in the nonclinical safety studies at the NOAEL by the projected average M4 concentration (0.75 nM) in humans at the RHD.
c. The average M4 concentrations in nonclinical species and human were obtained by semiquantitative analysis of pooled plasma samples collected at steady state throughout 24 h.
d. The average M4 concentration (167 nM) in the 9-month chronic toxicity study in monkeys was obtained by semiquantitative analysis of pooled plasma samples collected at steady state throughout 72 h, as monkeys were dosed q3d.
e. Concentrations were extrapolated from either the average M4 concentration from the 3-month dose range-finding study in rasH2 WT mice (18 mg/kg/day) or from the 6-month chronic toxicity studies in rats (10 mg/kg/day), depending on the species.
f. M4 average concentration over 24 h (642 nM) was calculated by dividing the M4 AUC0-24 value (15.4 h*μM) by 24 h.
g. M4 levels in rabbits were estimated using the average M4 concentrations from a rabbit mass balance study [2.6.5.12.1 項]. ISL and M4 accounted for 76% and 18% of the total radioactivity in the pooled plasma AUC0-24 sample, respectively. Based on the AUC0-24 for the 10 mg/kg/day dose in the rabbit EFD study, the Caverage would be 1.73 μM. If the ratio of 0.18/0.76 ratio for M4/ISL in plasma is divided from the mass balance study, the estimated average M4 concentration would be approximately 410 nM.

結論として、ヒトで同定された唯一の血中代謝物（M4）は非臨床安全性試験において十分に評価されており、マウス、ラット、ウサギ及びサルを用いた非臨床安全性試験では、RHD で予想される濃度の223倍以上の濃度の M4が検出された。

2.6.6.8.6　不純物

ICH Q3A(R2)ガイドラインに従い、3ヵ月間不純物評価毒性試験（TT #[redacted]-1000[2.6.7.17.B 項]及び TT #[redacted]-1013[2.6.7.17.B 項]、以降に結果を述べる）で使用した ISL ロット中に存在する不純物から、ISL 原薬の不純物の安全性を評価した。さらに ICH Q3B(R2)ガイドラインに従い、製剤の分解生成物である[redacted]の評価も行った。各 ISL 関連の原薬由来不純物及び製剤の分解生成物について、安全性が確認された量とヒト1日投与量（0.25 mg）に含まれる不純物量の用量比を[表 2.6.6-43]に示す。

表 2.6.6-43　ISL の不純物及び用量比

Impurity	Toxicology Study Content (wt %)	NOAEL (mg/kg/day)	Maximum Qualified Level (%)[a,b]	Proposed Specification (wt %)	Margin[c]
[redacted]	[redacted][d]	1[f]	[redacted]	≤[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	1[f]	[redacted]	≤[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted][e]	1[g]	[redacted]	≤[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	1[g]	[redacted]	≤[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	1[f]	[redacted]	≤[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	1[g]	[redacted]	≤[redacted]	[redacted]
[redacted]	[redacted]	1[f]	[redacted]	≤[redacted]	[redacted]

GLP=Good Laboratory Practice; NOAEL=no observed adverse effect level; qd=once daily; wt=weight.

a. Based on a clinical dose of 0.25 mg qd.

b. Maximum qualified level=[% impurity in toxicology study × nonclinical NOAEL (mg/kg/day)] ÷ [body surface area conversion factor (5 for rats) × maximum clinical dose in mg/kg/day (eg, 0.25 mg/day clinical dose ÷ 50 kg of body weight=0.005 mg/kg/day)].

c. Margin=Qualified Level ÷ Proposed Specification.

d. The impurity level in CoA was corrected for a relative response factor (RRF) of [redacted] for the [redacted] impurity to convert it from area % to weight %.

e. The impurity level in CoA was corrected for an RRF of [redacted] for the [redacted] impurity to convert it from area % to weight %.

f. Based on nonclinical Lot # [redacted] used in the 3-month GLP impurity qualification study in rats (TT #[redacted]-1013).

g. Based on nonclinical Lot # [redacted] used in the 3-month GLP impurity qualification study in rats (TT #[redacted]-1000).

さらに、ISL の潜在的及び実際の不純物及び分解生成物について、ICH M7ガイドラインに従って変異原性の評価を行い、その結果を[3.2.S.3.2 項]（原薬）及び[3.2.P.5.5 項]（製剤）に示す。関連する細菌を用いた変異原性試験（Ames 試験）の試験報告書を4.2.3.7.6 項に添付する。ICH M7ガイドラインの注1に従い、ヒトにおける不純物の量がいずれも1 mg/日未満であったことから、さらなる変異原性及び遺伝毒性の評価は実施しなかった。

2.6.6.8.6.1　ISL：ラットを用いた3ヵ月間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1000）

本試験の目的は、初期の臨床試験とは異なる合成工程を用いて第III相臨床試験用に製造した新しい ISL バッチ（ロット番号：[redacted]）について、ラットに1日1回、約3ヵ月間（13週間）経口投与した際の毒性プロファイルを評価することであった[2.6.7.17.B 項]。

Crl:WI(Han)ラットを雌雄各10匹からなる3群に割り付け、溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 0.5若しくは1 mg/kg/日、又は溶媒のみを5 mL/kg の投与容量で投与した。

毒性は死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、臨床検査及び病理検査に基づき評価した。ISL 投与群及び対照群試料中の血漿中 ISL 濃度も測定した。

全ての動物が計画剖検時まで生存した。ISL に関連した投与期間中検査所見（一般状態、体重及び摂餌量）、眼科検査所見及び臨床検査値の変化はみられなかった。また、病理検査所見（剖検所見、臓器重量及び病理組織学的所見）も認められなかった。

TK パラメータを[表 2.6.6-44]に示す。

表 2.6.6-44　ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：試験 13 週（TT #[redacted]-1000）

Dose (mg/kg/day)[a]	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
0.5	Female	0.397 ± 0.0295	0.322 ± 0.0187	0.50 ± NC
	Male	0.459 ± 0.0232	0.190 ± 0.0107	0.50 ± NC
	All	0.428 ± 0.0293	0.256 ± 0.0310	0.50 ± NC
1	Female	0.868 ± 0.0595	0.601 ± 0.0163	0.50 ± NC
	Male	0.995 ± 0.0923	0.479 ± 0.0434	0.50 ± NC
	All	0.931 ± 0.0529	0.540 ± 0.0343	0.50 ± NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.

a. ISL concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.000341 µM) of the bioanalytical method.

結論として、無影響量／無毒性量は1 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は30倍以上）であった。

2.6.6.8.6.2　ISL：ラットを用いた3ヵ月間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1013）

本試験の目的は、最終製造工程を反映した最新の合成工程を用いて製造した ISL バッチ（ロット番号：[redacted]）について、ラットに1日1回、約3ヵ月間経口投与した際の毒性プロファイルを評価することであった[2.6.7.17.B 項]。

Crl:WI(Han)ラット（試験開始時に5～6週齢）を雌雄各10匹からなる3群に割り付け、溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 0.5若しくは1 mg/kg/日、又は溶媒のみを5 mL/kg の投与容量で投与した。

毒性は死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、臨床検査及び病理検査に基づき評価した。ISL 投与群及び対照群試料中の血漿中 ISL 濃度も測定した。

全ての動物が計画剖検時まで生存した。ISL に関連した投与期間中検査所見（一般状態、体重及び摂餌量）、眼科検査所見及び臨床検査値の変化はみられなかった。また、病理検査所見（剖検所見、臓器重量及び病理組織学的所見）も認められなかった。

TK パラメータを[表 2.6.6-45]に示す。

表 2.6.6-45　ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ（雌雄平均値）：試験 13 週（TT #[redacted]-1013）

Parameter	Units	Dose[a]			
		0.5 mg/kg/day		1 mg/kg/day	
		Mean	SE	Mean	SE
AUC0-24	h*µM	0.469	0.0346	1.20	0.0750
Cmax	µM	0.232	0.0276	0.528	0.0417
Tmax	h	0.500	NC	0.500	NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BLQ=below limit of quantification; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
a.　ISL concentrations in plasma from all control group animals at 0.5 h BLQ of the bioanalytical method.

結論として、無影響量／無毒性量は1 mg/kg/日以上（AUC 曝露比は38倍以上）であった。

2.6.6.8.7　その他の試験

2.6.6.8.7.1　光毒性

2.6.6.8.7.1.1　ISL：光反応性評価（TT #[redacted]-7834）

ICH S10ガイダンス（医薬品の光安全性評価ガイドライン）に基づき、ISL は290～700 nm の光を吸収せず、モル吸光係数は1,000 L mol^{-1} cm^{-1}未満[2.6.7.17.C 項]であることから、光毒性試験は必要ない。したがって、ガイダンスで設定された基準に従い光反応性又は光毒性に関する更なる評価は実施しなかった。

2.6.6.8.7.2　TK 試験

反復投与毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験における動物種の選択及び用量設定のため、マウス、ラット、サル及び非妊娠ウサギを用いた TK 試験を実施した。ISL に関連した顕著な毒性は認められなかった。

2.6.6.8.7.2.1　ISL：マウスを用いた探索的単回経口投与 TK 試験（TT #[redacted]-0005）

本試験の目的は、マウスがん原性評価に用いる系統を選択するため、Crl:CD-1（ICR）マウス及び rasH2野生型マウス（ハイブリッド）に単回経口投与した際の ISL の TK プロファイルを検討することであった[2.6.7.17.D 項]。本試験は、CD-1マウス及び rasH2野生型マウスを用いた3ヵ月間用量設定試験の予備試験として実施した。

Crl:CD-1（ICR）マウス及びrasH2野生型マウス（ハイブリッド）を雌雄各11匹からなる4群に割り付け、溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製したISL 1、10、30又は100 mg/kgを投与した。全ての動物で投与容量は10 mL/kgとした。死亡のみを評価し、血漿中ISL濃度を測定した。

全例が計画剖検時まで生存した。TKパラメータを[表 2.6.6-46]に示す。

表 2.6.6-46 ISLを経口投与した際のマウス平均（± SE）血漿中ISL TKパラメータ：試験1日（TT #[redacted]-0005）

Dose (mg/kg)	Dose Group	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
1	1 (CD-1)	Female	0.656 ± 0.0662	0.437 ± 0.0382	0.50 ± NC
		Male	0.706 ± 0.0438	0.474 ± 0.0116	0.50 ± NC
		All	0.681 ± 0.0383	0.456 ± 0.0197	0.50 ± NC
	5 (rasH2)	Female	0.613 ± 0.0616	0.572 ± 0.0735	0.50 ± NC
		Male	0.960 ± 0.0585	0.780 ± 0.0447	0.50 ± NC
		All	0.786 ± 0.0681	0.676 ± 0.0603	0.50 ± NC
10	2 (CD-1)	Female	9.73 ± 0.616	8.25 ± 0.977	0.50 ± NC
		Male	12.4 ± 0.354	9.77 ± 0.0443	0.50 ± NC
		All	11.1 ± 0.504	9.01 ± 0.554	0.50 ± NC
	6 (rasH2)	Female	10.6 ± 0.645	10.4 ± 0.288	0.50 ± NC
		Male	13.4 ± 0.623	8.64 ± 0.516	0.50 ± NC
		All	12.0 ± 0.690	9.51 ± 0.469	0.50 ± NC
30	3 (CD-1)	Female	35.4 ± 2.20	24.5 ± 2.93	0.50 ± NC
		Male	44.0 ± 3.15	25.9 ± 2.30	0.50 ± NC
		All	39.7 ± 2.33	25.2 ± 1.70	0.50 ± NC
	7 (rasH2)	Female	44.6 ± 2.09	35.0 ± 3.77	0.50 ± NC
		Male	52.7 ± 3.23	31.6 ± 3.82	0.50 ± NC
		All	48.7 ± 2.87	33.3 ± 2.52	0.50 ± NC
100	4 (CD-1)	Female	143 ± 8.91	77.3 ± 8.20	1.0 ± NC
		Male	154 ± 9.32	93.3 ± 8.99	0.50 ± NC
		All	149 ± 8.55	66.9 ± 6.70	1.0 ± NC
	8 (rasH2)	Female	180 ± 21.0	102 ± 5.92	0.50 ± NC
		Male	188 ± 10.8	98.9 ± 13.5	0.50 ± NC
		All	184 ± 11.1	101 ± 6.63	0.50 ± NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; NC=not calculated; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.
Note: Crl:CD-1(ICR) mice: Dose Groups 1, 2, 3, and 4. rasH2 mice: Dose Groups 5, 6, 7, and 8.

30及び100 mg/kg群におけるISL平均AUC0-24及び平均Cmaxは、Crl:CD-1（ICR）マウスと比

較して rasH2野生型マウスでごく僅かに高かった。

2.6.6.8.7.2.2　ISL+[redacted]：マウスを用いた探索的7日間経口投与及び PBMC 中濃度測定試験（TT #[redacted]-1006及び TT #[redacted]-9610）

本試験（TT #[redacted]-1006）の目的は、マウスに7日間 ISL（単独）又は ISL+[redacted] を併用経口投与した際の PBMC 中 ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度を測定することであった[2.6.7.17.D 項]。

雄 Crl:CD-1（ICR）マウスを4群（各雄36匹）に割り付け、ISL 単独（3.5、10、又は45 mg/kg/日）又は ISL（10 mg/kg/日）+[redacted]（750 mg/kg/日）を併用経口投与した。ISL（一水和物）は10% PS 80 脱イオン水を用いて調製し、[redacted]（[redacted]）は[redacted]処方［[redacted]% (w/w)[redacted] 及び [redacted]% (w/w)[redacted]］を0.5% （w/v）メチルセルロース／0.25% （w/v）ラウリル硫酸ナトリウム及び5 mM 塩酸添加脱イオン水に懸濁した。各被験物質の投与容量は10 mL/kg（ISL と [redacted] の併用投与時は20 mL/kg）とした。

中間剖検日（試験1日の投与後1及び2時間）及び最終剖検日（試験7日の投与後2、6及び24時間）において血液試料及び脾臓をそれぞれ採取した（8匹／各時点）。血液試料から PBMC を分離し、ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度を測定した。リンパ球数減少に関する検討の一環として、別の試験（TT #[redacted]-9610）で脾臓のメタボロミクス解析を実施した。

PBMC 中の ISL TK パラメータを[表 2.6.6-47]から[表 2.6.6-49]に示す。

表 2.6.6-47　マウスに ISL（単独）又は ISL と [redacted] を併用経口投与した際の PBMC 中平均 ISL-MP TK パラメータ：試験 7 日（TT #[redacted]-1006）

Dose (mg/kg/day)	Group	Parameter	Unit[a]	Sex	
				Male	
				Mean	SE
3.5 (ISL)	1	AUC0-24	h*pmol/10^6 cells	13.5	NC
		Cmax	pmol/10^6 cells	0.918	NC
		Tmax	h	2.00	NC
10 (ISL)	2	AUC0-24	h*pmol/10^6 cells	26.0	NC
		Cmax	pmol/10^6 cells	1.84	NC
		Tmax	h	2.00	NC
45 (ISL)	3	AUC0-24	h*pmol/10^6 cells	37.2	NC
		Cmax	pmol/10^6 cells	3.13	NC
		Tmax	h	2.00	NC
10 (ISL) / 750 ([redacted])	4	AUC0-24	h*pmol/10^6 cells	27.3	NC
		Cmax	pmol/10^6 cells	1.90	NC
		Tmax	h	2.00	NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LC-MS/MS=liquid chromatography-tandem mass spectrometry; MP=monophosphate; NC=not calculated; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration; [redacted].

a. To facilitate comparison of results across compounds, the measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS, was divided by the total number of viable cells (in units of 106 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar, this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).

表 2.6.6-48 マウスに ISL（単独）又は ISL と [redacted] を併用経口投与した際の PBMC 中平均 ISL-DP TK パラメータ：試験 7 日（TT #[redacted]-1006）

Dose (mg/kg/day)	Group	Parameter	Unit[a]	Sex: Male Mean	Sex: Male SE
3.5 (ISL)	1	AUC0-24	h*pmol/10^6 cells	10.1	NC
		Cmax	pmol/10^6 cells	0.494	NC
		Tmax	h	24.0	NC
10 (ISL)	2	AUC0-24	h*pmol/10^6 cells	24.1	NC
		Cmax	pmol/10^6 cells	1.46	NC
		Tmax	h	6.00	NC
45 (ISL)	3	AUC0-24	h*pmol/10^6 cells	30.8	NC
		Cmax	pmol/10^6 cells	1.50	NC
		Tmax	h	2.00	NC
10 (ISL) / 750 ([redacted])	4	AUC0-24	h*pmol/10^6 cells	22.6	NC
		Cmax	pmol/10^6 cells	1.06	NC
		Tmax	h	6.00	NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; DP=diphosphate; h=hour(s); ISL=islatravir; LC-MS/MS=liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NC=not calculated; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration; [redacted].

a. To facilitate comparison of results across compounds, the measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS, was divided by the total number of viable cells (in units of 106 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar, this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).

表 2.6.6-49 マウスに ISL（単独）又は ISL と [redacted] を併用経口投与した際の PBMC 中平均 ISL-TP TK パラメータ：試験 7 日（TT #[redacted]-1006）

Dose (mg/kg/day)	Group	Parameter	Unit[a]	Sex: Male Mean	Sex: Male SE
3.5 (ISL)	1	AUC0-24	h*pmol/10^6 cells	113	NC
		Cmax	pmol/10^6 cells	6.09	NC

		Tmax	h	6.00	NC
10 (ISL)	2	AUC0-24	h*pmol/10^6 cells	199	NC
		Cmax	pmol/10^6 cells	10.3	NC
		Tmax	h	6.00	NC
45 (ISL)	3	AUC0-24	h*pmol/10^6 cells	319	NC
		Cmax	pmol/10^6 cells	16.1	NC
		Tmax	h	6.00	NC
10 (ISL) / 750 ([redacted])	4	AUC0-24	h*pmol/10^6 cells	206	NC
		Cmax	pmol/10^6 cells	10.6	NC
		Tmax	h	6.00	NC

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; LC-MS/MS=liquid chromatography-tandem mass spectrometry; NC=not calculated; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration; TP=triphosphate; [redacted].

a. To facilitate comparison of results across compounds, the measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS, was divided by the total number of viable cells (in units of 106 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar, this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).

概して ISL-TP の平均 AUC0-24及び Cmax は全ての用量で ISL-MP 及び ISL-DP の値よりも高かった。ISL-MP の平均 AUC0-24及び Cmax は全ての用量で ISL-DP の値と同程度であった。

試験7日の ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度は用量とともに増加した。グループ2（ISL 10 mg/kg/日の単独投与）とグループ4［ISL（10 mg/kg/日）+[redacted]（750 mg/kg/日）の併用投与］の曝露を比較した際、それぞれの曝露はほぼ同程度であった[表 2.6.6-50]。

PBMC 中の ATP、dATP、dGTP、dCTP、dTTP 及び NAD^+の相対濃度を同じ試料を用い測定した。

表 2.6.6-50　CD-1 マウスに 7 日間 ISL（単独）又は ISL と [redacted] を併用経口投与した際のプール PBMC 中相対 ATP、dATP、dGTP、dCTP、dTTP 及び NAD^+濃度（TT #[redacted]-1006）

Dose Group Dose	Sampling Time	ATP	dATP	dGTP	dCTP	dTTP	NAD^+
1 3.5 mg/kg/day ISL	Day 1 – 2 h	17.3	0.41	1.89	0.08	ND	29.4
	Day 7 – 2 h	11.4	1.02	2.83	0.16	ND	20.0
	Day 7 – 6 h	10.9	0.49	1.94	0.16	ND	15.6
	Day 7 – 24 h	20.4	0.95	3.66	0.16	ND	32.5
2 10 mg/kg/day ISL	Day 1 – 2 h	16.9	0.60	2.43	0.07	ND	32.9
	Day 7 – 2 h	12.4	1.22	3.73	0.12	ND	29.8
	Day 7 – 6 h	12.0	0.59	2.51	0.16	ND	33.8
	Day 7 – 24 h	18.5	1.54	5.36	0.18	ND	61.0
3 45 mg/kg/day ISL	Day 1 – 2 h	14.1	0.90	2.73	0.08	ND	26.8
	Day 7 – 2 h	11.1	0.47	1.77	0.10	ND	16.2

	Day 7 – 6 h	14.6	0.55	2.17	0.11	ND	23.7
	Day 7 – 24 h	15.7	0.77	2.80	0.10	ND	24.8
4 10 mg/kg/day ISL + 750 mg/kg/day [redacted]	Day 1 – 2 h	13.4	1.45	4.47	0.14	ND	32.6
	Day 7 – 2 h	12.8	0.52	2.30	0.07	ND	31.4
	Day 7 – 6 h	15.3	0.82	3.27	0.11	ND	47.5
	Day 7 – 24 h	16.2	1.28	4.12	0.20	ND	47.4
ATP=adenosine triphosphate; dATP=deoxyadenosine triphosphate; dGTP=deoxyguanosine triphosphate; dCTP=deoxycytidine triphosphate; dTTP=deoxythymidine triphosphate; h=hour(s): ISL=islatravir; NAD^+=nicotinamide adenine dinucleotide; ND=not detected; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; [redacted].							

PBMC 中の ATP、dATP、dGTP、dCTP 及び NAD^+の相対濃度に顕著な変化は認められなかった。dTTP はいずれのサンプルからも検出されなかった。

ISL の用量依存的なリンパ球数減少についてさらに検討するため、TT #[redacted]-9610試験（[2.6.7.17.D 項]）において試験7日（投与後24時間）に各グループからサンプリングした脾臓サンプル（4検体）を用い、NMR メタボロミクス解析を実施した（TT #[redacted]-9610、[2.6.7.17.D 項]）。傾向検定の結果、クレアチン及びホスホコリンの僅かな変化が認められ、統計学的に有意であった。しかしながら、変化の程度が僅かであったこと、及び変化がみられた曝露が高かったこと［RHD での AUC 曝露比は243倍以上、CD-1マウスを用いた3ヵ月試験（TT #[redacted]-1020）の AUC0-24］に基づくと、これらの変化は臨床上重要ではないと考えられた。

2.6.6.8.7.2.3 ISL：雄ラットを用いた探索的単回経口投与 TK 試験（TT #[redacted]-2508）

本試験の目的は、雄ラットに単回経口投与した際の ISL の TK プロファイルを検討することであった[2.6.7.17.D 項]。

Crl:WI(Han)ラットを各群雄12、14又は16匹からなる3群に割り付け、各群に溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 10、30又は100 mg/kg をそれぞれ投与した。投与容量は5 mL/kg とした。

毒性は計画外死亡及び一般状態の変化に基づき評価した。血漿中（[表 2.6.6-51]）及び PBMC 中（[表 2.6.6-52]）ISL 濃度分析を実施した。全ての動物は計画剖検時まで生存し、ISL に関連した投与期間中検査所見は認められなかった。

表 2.6.6-51 単回経口投与した際のラット平均（± SD）血漿中 ISL 濃度（μM）（TT #[redacted]-2508）

Time (h postdose)	ISL Dose		
	10 mg/kg (n=3)	30 mg/kg (n=3)	100 mg/kg (n=3)
24	0.005 ± 0.0004	0.015 ± 0.0012	0.056 ± 0.018
48	BLQ	0.0023 ± NA	0.0069 ± 0.0012

72	BLQ	BLQ	0.0070 ± 0.0047
168	BLQ	BLQ	0.0028 ± NA

BLQ=below limit of quantification; h=hour(s); ISL=islatravir; n=number; NA=not available; SD=standard deviation.
Note: Test article lot #MK-8591-000Y007.

表 2.6.6-52　単回経口投与した際のラット平均（± SD）PBMC 中 ISL、ISL リン酸化同化物（ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP）濃度（pmol/10^6）
（TT #[redacted]-2508）

Time (h postdose)	ISL Dose (mg/kg)[a]							
	ISL in PBMC		ISL-MP in PBMC		ISL-DP in PBMC		ISL-TP in PBMC	
	30 (n=3)	100 (n=3)	30 (n=3)	100 (n=3)	30 (n=3)	100 (n=3)	30 (n=3)	100 (n=3)
24	BLQ	BLQ	0.46 ± 0.077	1.18 ± 0.55	2.23 ± 0.17	4.87 ± 2.22	0.77 ± 0.13	2.10 ± 0.93
48	BLQ	BLQ	0.12 ± NA	0.39 ± 0.18	0.85 ± NA	2.35 ± 0.88	0.35 ± 0.25	0.81 ± 0.48
72	NE	BLQ	NE	BLQ	NE	BLQ	NE	0.47 ± NA
168	NE	BLQ	NE	BLQ	NE	BLQ	NE	BLQ

BLQ=below limit of quantification; DP=diphosphate; h=hour(s); ISL=islatravir; LC-MS/MS=liquid chromatography-tandem mass spectrometry; MP=monophosphate; n=number; NA=not available; NE=not evaluated; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; SD=standard deviation; TP=triphosphate.
a. To facilitate comparison of results across compounds, the measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS, was divided by the total number of viable cells (in units of 10^6 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar, this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).

30及び100 mg/kg 投与群では、投与後24及び48時間の PBMC において ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP が検出された。さらに、100 mg/kg 投与群のみで投与後72時間に活性体である ISL-TP が検出されたが、投与後168時間では検出されなかった。いずれの時点においても、PBMC 中に ISL は検出されなかった。

2.6.6.8.7.2.4　ISL：ラットを用いた7日間探索的 PBMC 評価試験（TT #[redacted]-1067）

本試験の目的は、ISL をラットに1日1回、7日間経口投与したときの血漿中 ISL の TK プロファイル、並びに PBMC 中 ISL 及びそのリン酸化同化物（ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP）濃度を検討することであった[2.6.7.17.D 項]。

Crl:WI(Han)ラットを雌雄各12匹からなる5群に割り付け、溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL 1、3、10、18又は50 mg/kg/日を投与した。投与容量は5 mL/kg とした。最初の4匹／性／群を TK 群（コホート1）に割り付け、4匹中3匹のみを解析に用いた。残りの8匹／性／群を PBMC 群（コホート2）に割り付けた。

毒性は死亡、一般状態及び体重に基づき評価した。ISL の血漿中薬物濃度を測定し、分離した

PBMC 中 ISL 及びそのリン酸化同化物（ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP）濃度を分析した。

ISL に関連した死亡又は一般状態の変化はみられなかった。ISL に関連した体重の変化も認められなかった。全ての動物は試験終了まで生存した。

TK パラメータを[表 2.6.6-53]及び[表 2.6.6-54]に示す。

表 2.6.6-53 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：試験 1 日（TT #[redacted]-1067）

Day	Analyte	Matrix	Dose (mg/kg/day)	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
1	ISL	Plasma	1	All	0.737 ± 0.0490	0.261 ± 0.0123	0.58 ± 0.083
			3		2.48 ± 0.0566	1.46 ± 0.156	0.50 ± 0.0
			10		11.7 ± 0.257	4.59 ± 0.444	0.58 ± 0.083
			18		26.2 ± 1.19	8.95 ± 0.664	0.50 ± 0.0
			50		87.2 ± 9.03	21.2 ± 2.95	0.50 ± 0.0

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.

表 2.6.6-54 ISL を経口投与した際のラット平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ：試験 7 日（TT #[redacted]-1067）

Day	Analyte	Matrix	Dose (mg/kg/day)	Sex	AUC0-24 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
7	ISL	Plasma	1	All	0.898 ± 0.0351	0.341 ± 0.0253	0.50 ± 0.0
			3		2.97 ± 0.118	1.38 ± 0.111	0.50 ± 0.0
			10		13.5 ± 0.720	4.77 ± 0.204	0.50 ± 0.0
			18		28.4 ± 2.52	7.80 ± 0.699	0.50 ± 0.0
			50		107 ± 6.95	17.7 ± 2.44	0.50 ± 0.0

AUC0-24=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.

試験1日の ISL の平均全身曝露量（AUC0-24）及び平均 Cmax は、1～50 mg/kg/日の範囲で用量比を上回って増加した。試験7日では、ISL の平均全身曝露量は1～50 mg/kg/日の間で用量比を上回ったが、ISL の平均 Cmax は1～50 mg/kg/日の間でほぼ用量に比例した。

全体として、反復投与後の血漿中 ISL の平均全身曝露量及び平均 Cmax は、対応する平均値で比較した場合に試験1日と7日でほぼ同様であった。

PBMC 中の ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度を[表 2.6.6-55]に示す。

表 2.6.6-55　平均（± SE）PBMC 中 ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度：試験 1 及び 7 日（TT #[redacted]-1067）

Dose Level (mg/kg/day)	Study Day	Mean Concentration (pmol/10^6 cells)[a]					
		ISL-MP		ISL-DP		ISL-TP	
		(2 h)	(24 h)	(2 h)	(24 h)	(2 h)	(24 h)
1	1	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.0951 ± ID	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
3		0.0696 ± ID	0.00 ± 0.00	0.427 ± 0.012	0.0967 ± ID	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
10		0.303 ± ID	0.00 ± 0.00	0.643 ± 0.144	0.570 ± 0.110	0.161 ± ID	0.0551 ± ID
18		0.700 ± 0.090	0.00 ± 0.00	1.01 ± 0.129	1.12 ± 0.121	0.403 ± 0.077	0.576 ± 0.077
50		1.40 ± 0.083	0.271 ± 0.095	1.74 ± 0.133	1.60 ± 0.109	0.643 ± 0.067	0.664 ± 0.044
1	7	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.0839 ± ID	0.196 ± ID	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
3		0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.748 ± 0.052	0.393 ± 0.134	0.348 ± 0.123	0.163 ± ID
10		0.566 ± 0.190	0.00 ± 0.00	1.58 ± 0.044	1.06 ± 0.149	0.959 ± 0.098	0.656 ± 0.137
18		0.831 ± 0.153	0.00 ± 0.00	2.07 ± 0.289	1.67 ± 0.225	1.44 ± 0.270	1.15 ± 0.073
50		1.64 ± 0.237	0.442 ± 0.156	5.03 ± 0.900	3.64 ± 0.572	4.07 ± 1.09	1.72 ± 0.245

DP=diphosphate; h=hour(s); ID=insufficient data; ISL=islatravir; LC-MS/MS=liquid chromatography-tandem mass spectrometry; MP=monophosphate; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; SE=standard error; TP=triphosphate.

a. To facilitate comparison of results across compounds, the measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS, was divided by the total number of viable cells (in units of 10^6 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar, this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).

PBMC 中 ISL の濃度は、試験1日及び7日の全ての用量及び時点で定量下限未満であった。PBMC 中の平均 ISL-MP、ISL-DP 及び ISL-TP 濃度は、投与後2及び24時間に検討した用量範囲で用量に比例して増加した。ISL-DP 及び ISL-TP では、試験1日の平均濃度は投与後2時間及び24時間で同様であり、試験7日では投与後2時間の濃度が24時間よりも高かった。ISL-DP 及び ISL-TP の平均濃度は、投与後2時間及び24時間のいずれにおいても、対応する平均値で比較した場合に試験1日よりも7日の方が高かった。

2.6.6.8.7.2.5　ISL：授乳期及び新生児ラットにおける経口投与 TK 試験（TT #[redacted]-7100）

本試験の目的は、GD 6から LD 10まで F0雌に経口投与した際の F0雌（LD 10）及び F1出生児（PND 10）における血漿中 ISL 濃度を検討することであった[2.6.7.17.D 項]。

交配した雌 Crl:WI(Han)ラット（GD 0＝交配確認日）を10匹の推定妊娠雌からなる1群に割り付けた。動物は試験開始時に約10～11週齢であった。雌に溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製したISL 10 mg/kg/日を GD 6から LD 10まで1日1回経口投与した。投与容量は5 mL/kg とした。10 mg/kg/日の用量は、先に実施した出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験の母動物及び発生に関する無影響量が10 mg/kg/日以上であったことに基づき設定した。

死亡の有無を少なくとも1日1回観察した。投与量の算出及び健康状態の観察のみを目的として、母動物の体重を記録した。LD 10（母動物）及び PND 10（哺乳児）の投与後1及び3時間に試料を採取し、血漿中 ISL 濃度を測定した。試料採取後に動物を安楽死させた。

全ての F0ラットは計画剖検時まで生存した。

母動物（LD 10）及び出生児（PND 10）の平均血漿中 ISL 濃度を[表 2.6.6-56]に示す。

表 2.6.6-56 ISL を経口投与した際の平均 F1（児）及び F0（母動物）における血漿中 ISL 濃度（μM）並びに F1/F0 濃度比（TT #[redacted]-7100）

Matrix	Period	ISL Dose: 10 (mg/kg/day)			
		Group 1			
		Time (h)			
		1 h		3 h	
		Mean (μM)	SE (μM)	Mean (μM)	SE (μM)
F_1 Plasma	PND 10	0.00582	0.00124	0.0167	0.00556
F_0 Plasma	LD 10	5.50	0.546	1.14	0.0461
F_1/F_0 Plasma Ratio[a]	-	0.00116	0.000346	0.0150	0.00531

- =not applicable; h=hour(s); LD=lactation day; PND=postnatal day; SE=standard error; SEM=standard error of the mean.
a. Values are the Mean ± SEM of the individual F_1 (pup) plasma concentration divided by the corresponding F_0 (maternal) plasma concentration.

結論として、授乳ラットに ISL 10 mg/kg/日を GD 6から LD 10まで投与した際、哺乳児（PND 10）の血漿中から ISL が検出された。LD 10及び PND 10の投与後1及び3時間における ISL の哺乳児／母動物血漿中濃度比はそれぞれ0.1%及び1.5%であった。

2.6.6.8.7.2.6 ISL：非妊娠ウサギを用いた探索的単回経口投与忍容性及び TK 試験（TT #[redacted]-7023）

本試験の目的は、非妊娠ウサギに単回経口投与した際の ISL の忍容性及び TK プロファイルを検討することであった[2.6.7.17.D 項]。

12匹の Dutch Belted 雌ウサギを各群3匹からなる4群に割り付けた。溶媒（10% PS 80脱イオン水）

で調製した ISL 10、50若しくは200 mg/kg、又は溶媒のみをウサギに単回経口投与した。全ての動物で投与容量は5 mL/kg とした。

忍容性は、死亡、一般状態、体重及び推定摂餌量に基づき評価した。ISL を投与したウサギから血液試料を採取し、血漿中 ISL 濃度を測定した。

全てのウサギは試験終了時まで生存し、生存動物はコロニーに戻した。ISL に関連した一般状態の変化、体重及び摂餌量への影響はみられなかった。

TK パラメータを[表 2.6.6-57]に示す。

表 2.6.6-57　ISL を経口投与した際のウサギ平均（± SE）血漿中 ISL TK パラメータ
試験 1 日（TT #[redacted]-7023）

Dose (mg/kg)	Sex	AUC0-168 (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
10	Female	52.8 ± 1.94	10.2 ± 0.447	1.3 ± 0.33
50		205 ± 26.0	39.0 ± 3.99	2.0 ± 0.0
200		756 ± 49.0	95.3 ± 9.87	1.7 ± 0.33

AUC0-168=area under the concentration-time curve from time 0 to 168 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration.

ISL の平均全身曝露量は、検討した用量範囲でほぼ用量に比例して増加した。試験1日における ISL の平均 Cmax は、10 と50 mg/kg/日の間ではほぼ用量に比例しており、50 と200 mg/kg/日の間では用量比を下回った。

結論として、雌ウサギに0、10、50又は200 mg/kg を単回経口投与した際の ISL の忍容性は良好であった。

2.6.6.8.7.2.7　ISL：アカゲザルを用いた探索的単回経口投与 TK 試験（TT #[redacted]-1045）

3匹の雄アカゲザルに溶媒（10% PS 80脱イオン水）で調製した ISL を経口投与し、ISL の PK プロファイルを検討した[2.6.7.17.D 項]。

全ての動物に ISL 200 mg/kg を単回経口投与した。動物の死亡及び一般状態を観察した。全ての動物から TK 用の血液試料を採取した。試験2日には、血清生化学検査用として全ての動物から追加の血液試料を採取した。最終の試料採取が完了した時点で動物をコロニーに戻した。

全ての動物は試験終了時まで生存した。ISL に関連した一般状態の変化及び血清生化学検査値の変化は認められなかった。

PK パラメータを[表 2.6.6-58]に示す。

表 2.6.6-58 ISL を経口投与した際のアカゲザルの平均（± SD）血漿中 ISL PK パラメータ（TT #[redacted]-1045）

Parameter	ISL Male (n=3) (200 mg/kg)
AUC0-168 (h*μM)	478.67 ± 72.07
Cmax (μM)	43.426 ± 7.843
Tmax (h)	1.7 ± 0.58

AUC0-168=area under the concentration-time curve from time 0 to 168 hours; Cmax=observed maximum concentration; h=hour(s); ISL=islatravir; n=number; PK=pharmacokinetic(s) SD=standard deviation; Tmax=time to reach maximum concentration.

2.6.6.8.7.3 In vitro 探索的生殖発生毒性試験

ISL を用いて探索的な in vitro 発生毒性試験（ラット WEC 試験及び mEST アッセイ）を実施した。これらの in vitro 試験は探索的な性質のものであり、ラットにおける発生毒性の可能性を検討するために医薬品開発の初期段階で実施された。

WEC 試験（TT #[redacted]-4624）[2.6.7.17.E 項]の結果から、ラット EFD 試験で評価した血漿中濃度において ISL は奇形及び／又は胚致死を誘発しないことが示唆された。mEST アッセイ（TT #[redacted]-4531-008）[2.6.7.17.E 項]の結果では、ラットにおいて ISL が胚・胎児発生毒性を示す可能性が示唆されたが、ラット又はウサギを用いた最終的な EFD 試験（GLP）において ISL に関連した母動物及び発生毒性はないことが確認された（ラット：最大50 mg/kg/日、AUC 曝露比は5,159倍以上、ウサギ：最大10 mg/kg/日、AUC 曝露比は1,322倍以上）。これらの in vivo 試験では、ICH S5(R3)ガイドラインに従い外表、内臓及び骨格評価を含めて実施した。ラット及びウサギ EFD 試験（GLP）から得られた in vivo の結果は、探索的な in vitro 試験の結果よりも優先される。

2.6.6.8.7.4 その他の併用投与試験

本申請における主要な試験ではないが、ISL と他の[redacted]（[redacted]）、[redacted]（[redacted]）又は[redacted]（[redacted]）との併用投与による TK 及び毒性試験を実施した。これらの試験の要約を[表 2.6.6-59]及び[2.6.7.17.F 項]に示す。相加的若しくは相乗的な毒性、又は TK の相互作用は認められなかった。これらの試験結果は DOR/ISL の併用投与に直接関連するものではないが、これらの試験において ISL に新たな毒性はみられなかった。

表 2.6.6-59 ISL を含むその他の併用投与試験

Study Type / Duration	Route	Species / Strain	Dose Levels (mg/kg/day)[a]	Study No. (GLP Status)
TK / single-dose combination with [redacted]	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	3 ISL + 100 [redacted] qd	TT #[redacted]-1221 (Non-GLP)
TK / single-dose combination with [redacted] and [redacted]	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	75 [redacted] + 0 (ISL [redacted] vehicle), 1 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 15 [redacted] + 0 (ISL vehicle), 75 [redacted] + 1 ISL, 75 [redacted] + 15 [redacted], 15 [redacted] + 1 ISL qd	TT #[redacted]-1052 (Non-GLP)
Toxicity / 3 months combination with [redacted] and [redacted]	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0 (ISL [redacted] vehicle), 75 [redacted] + 0 (ISL [redacted] vehicle), 1 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 15 [redacted] + 0 (ISL vehicle), 75 [redacted] + 1 ISL, 75 [redacted] + 15 [redacted], 15 [redacted] + 1 ISL qd	TT #[redacted]-6049 (GLP)
Toxicity / 3 months combination with [redacted]	Oral (gavage)	Rat / Wistar Han	0 (ISL + [redacted] vehicles), 0 ([redacted] vehicle) + 10 ISL, 100 [redacted] + 0 (ISL vehicle), 25 [redacted] + 1 ISL, 100 [redacted] + 10 ISL qd	TT #[redacted]-1225 (GLP)

GLP=Good Laboratory Practice; ISL=islatravir; No.=number; qd=once daily; TK=toxicokinetic(s); [redacted].
a. No additive or synergistic toxicity when ISL was combined with [redacted], [redacted], or [redacted].

2.6.6.8.7.5 経口投与以外の試験

ISL の非経口投与製剤（埋め込み注射剤を含む）を用いた追加試験を実施しており、参考として 4.2.3.7.7 項に含めた。これらの ISL の試験結果は、ISL 及び DOR/ISL の経口毒性プロファイルに影響を及ぼさなかった。

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 DOR

DOR は本邦、米国、欧州、カナダ及び他の国々で HIV-1感染症の治療薬として承認されている。DOR/ISL における DOR の用量（100 mg）は DOR 単剤の承認用量と同じであり、DOR 単独又は DOR と ISL を併用投与した際の DOR の曝露量は類似している。DOR の毒性プロファイルは初回申請時の2.4及び2.6 項に詳述している。

2.6.6.9.2 ISL

ISL の毒性プロファイルを確立し、HIV-1感染症患者での長期使用を支持するために ISL の包括的な非臨床毒性試験プログラムを実施した。これらの試験では RHD のヒトでの曝露量を大きく上回る全身曝露量を達成しており、頑健な ISL の毒性プロファイルの評価を行った。また、ラットを用いた ISL と DOR の1ヵ月間併用投与毒性試験を実施した。ヒトで同定された唯一の主要血中代謝物（M4）は、マウス、ラット、ウサギ及びサルにおいても主要血中代謝物であり、代謝物

に関しても評価を行った。M4に関する動物／ヒト曝露比を[表 2.6.6-42]に示す。ISL の不純物の評価は、ラット及びサルを用いた重要な毒性試験の一部として、又は独立したラットを用いた不純物評価毒性試験において評価した。また、臨床試験において ISL を0.75 mg 以上の用量で1日1回投与した際に認められた総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少に関する機序を検証するため追加の in vitro 及び in vivo 試験（マウスを用いた ISL-TP を評価する7日間 TK 試験及び10週間イムノフェノタイピング試験）を実施した。

ISL の AUC と Cmax に関して、RHD 0.25 mg で1日1回投与した際のヒト曝露量と重要な毒性試験における曝露量の比（動物／ヒト）を[表 2.6.6-60]に示す。総じて、毒性試験の無毒性量での ISL 曝露は RHD におけるヒト曝露量を上回っていた。

表 2.6.6-60 重要な試験における ISL の全身曝露比

Study Type	Species and Studies	Dose Level (mg/kg/day)	AUC0-24 (h*µM)	AUC EM[a]	Cmax (µM)	Cmax EM[b]
Repeat Dose Toxicity	3-Month Dose Range-Finding Study in CD-1 Mice (TT #[redacted]-1020)	3.5	2.05	65-fold	1.58	458-fold
		10	7.63	243-fold	6.20	1797-fold
		22	23.3	742-fold	13.3	3855-fold
		45 (NOAEL)	56.0	1783-fold	33.4	9681-fold
	3-Month Dose Range-Finding Study in rasH2 WT Mice (TT #[redacted]-6002)	3.5	4.53	144-fold	3.25	942-fold
		10	17.6	561-fold	9.90	2870-fold
		18 (NOAEL)	33.3	1061-fold	18.5	5362-fold
		35	70.3	2239-fold	37.8	10957-fold
	29-Day Toxicity Study in Rats (TT #[redacted]-1075)	3	2.75	88-fold	1.45	420-fold
		10	12.4	395-fold	4.88	1414-fold
		50 (NOAEL)[c]	86.5	2755-fold	18.9	5478-fold
	First 6-Month Chronic Toxicity Study in Rats (TT #[redacted]-6011)	3 (NOEL)	3.73	119-fold	1.43	414-fold
		10 (NOAEL)[c]	16.6	529-fold	4.05	1174-fold
		50	137	4363-fold	22.0	6377-fold
	Second 6-Month Chronic Toxicity Study in Rats (TT #[redacted]-6005)	1	1.14	36-fold	0.516	150-fold
		3 (NOEL)	4.32	138-fold	1.58	458-fold
		18	41.0	1306-fold	8.92	2586-fold
	1-Month (Combination with DOR) in Rats (TT #[redacted]-1012)	3 (NOEL)	3.45	110-fold	1.42	412-fold
		1 + 30 DOR	0.916	29-fold	0.339	98-fold
		3 + 30 DOR (NOAEL)	3.27	104-fold	1.19	345-fold

Study Type	Species and Studies	Dose Level (mg/kg/q3d)	AUC0-72 (h*µM)	AUC EM[d]	Cmax (µM)	Cmax EM[b]
Repeat Dose Toxicity. Continued	28-Day Toxicity Study in Monkeys (TT #[redacted]-1063)	5	9.40	100-fold	2.38	690-fold
		20	37.4	397-fold	8.41	2438-fold
		75 (NOAEL)	195	2070-fold	31.6	9159-fold
	9-Month Chronic Toxicity Study in Monkeys (TT #[redacted]-1068)	5	9.64	102-fold	1.55	449-fold
		20 (NOAEL)	50.8	539-fold	11.2	3246-fold
		100	307[e]	3259-fold	37.6	10899-fold
Study Type	**Species and Studies**	**Dose Level (mg/kg/day)**	**AUC0-24 (h*µM)**	**AUC EM[a]**	**Cmax (µM)**	**Cmax EM[b]**
Carcinogenicity	6-Month Carcinogenicity with TK in Tg rasH2 Mice (TT #[redacted]-9007)	1.5	1.94[f]	62-fold	1.39[f]	403-fold
		4	5.18[f]	165-fold	3.71[f]	1075-fold
		13 (NOEL)	22.9[f]	729-fold	12.9[f]	3739-fold
	2-Year Carcinogenicity with TK in Rats (TT #[redacted]-1043)	1	1.08	34-fold	0.497	144-fold
		3	4.27	136-fold	1.58	458-fold
		10 (NOAEL)[c]	19.4	618-fold	5.42	1571-fold
Developmental and Reproductive Toxicity	Fertility (Female and Male) in Rats (TT #[redacted]-7030)	1	1.14[g]	36-fold	0.516[g]	150-fold
		3	3.22[h]	103-fold	1.39[h]	403-fold
		10	16.7[h]	532-fold	4.73[h]	1371-fold
		18 (NOAEL)[i]	41.0[g]	1306-fold	8.92[g]	2586-fold
	EFD Toxicity & TK in Rats (TT #[redacted]-7080)	3	3.22	103-fold	1.39	403-fold
		10	16.7	532-fold	4.73	1371-fold
		50 (NOAEL)[i]	162	5159-fold	21.7	6290-fold
	EFD Toxicity & TK in Rabbits (TT #[redacted]-7040)	1	3.99	127-fold	0.966	280-fold
		3	11.5	366-fold	3.48	1009-fold
		10 (NOAEL)[i]	41.5	1322-fold	10.5	3043-fold
	PPND in Rats (TT #[redacted]-7080)	1	1.14[g]	36-fold	0.516[g]	150-fold
		3	3.22[h]	103-fold	1.39[h]	403-fold
		10 (NOAEL)[i]	16.7[h]	532-fold	4.73[h]	1371-fold
	Tooth Development & TK at PND 14 in Rats (TT #[redacted]-7130)	0.3	0.771	25-fold	0.202	59-fold
		3	9.24	294-fold	2.62	759-fold
		7 (NOAEL)[i]	21.7	691-fold	4.92	1426-fold

AUC0-X=area under the concentration-time curve from time 0 to X hours; Cmax=observed maximum concentration; DOR=doravirine; EFD=embryo-fetal development(al); EM=exposure multiple; h=hour(s); ISL=islatravir; NOAEL=no observed adverse effect level; NOEL=no observed effect level; PK=pharmacokinetic(s); PND=postnatal day; PPND=pre and post-natal developmental; q3d=once every 3 days; qd=once daily; RHD=recommended human dose; TK=toxicokinetic(s); WT=wild type.

a. AUC EMs for mice, rats, and rabbits were calculated by dividing the corresponding ISL AUC0-24h exposure from the animal studies by the geometric mean human steady state plasma AUC0-24h of 0.0314 h*μM projected by the population PK model for the RHD of 0.25 mg qd [2.7.2.3.1 項].
b. Cmax EMs were calculated by dividing the corresponding Cmax concentration from the animal studies by the geometric mean human steady state plasma Cmax of 0.00345 μM projected by the population PK model for the RHD of 0.25 mg qd [2.7.2.3.1 項].
c. NOAEL excluding findings in continuously growing incisors, which are not relevant for the human adult population, because rat teeth, unlike erupted adult human teeth, are continuously growing.
d. AUC EMs for the monkey study were calculated by dividing the corresponding ISL AUC0-72h exposure for the monkey by the projected geometric mean human steady state plasma exposure over 3 days, AUC0-72h (AUC0-24h [0.0314 h*μM] × 3 doses=0.0942 h*μM) for the RHD of 0.25 mg qd, as monkeys were dosed q3d.
e. TK value from Study Day 1 was used for the 100 mg/kg dose because only AUC0-48h was collected on Study Day 61 due to early termination of the animals.
f. TK values for 1.5 and 4 mg/kg/day are extrapolated from the 3.5 mg/kg/day dose in the 3-month mouse toxicity study (TT #[redacted]-6002 [2.6.7.7.A 項]). TK values for 13 mg/kg/day are extrapolated from the 10 mg/kg/day dose in the 3-month mouse toxicity study (TT #[redacted]-6002 [2.6.7.7.A 項]).
g. TK values from the 6-month rat toxicity studies (TT #[redacted]-6011 [2.6.7.7.D 項] and TT #[redacted]-6005 [2.6.7.7.E 項]).
h. TK values from the EFD toxicity and TK study in rats (TT #[redacted]-7080 [2.6.7.13.A 項]).
i. In the pivotal developmental and reproductive toxicity studies the NOAEL listed is for both maternal and developmental toxicity.

ラットに最長6ヵ月まで、サルに最長9ヵ月まで反復投与した際の ISL の忍容性は良好であり、それぞれの無毒性量での AUC 曝露比は、ラットで529倍、サルで539倍であった。マウスでは、がん原性試験の用量設定のために、最長3ヵ月の反復投与試験を実施した。rasH2野生型マウス及び CD-1マウスを用いた3ヵ月間毒性試験の無毒性量での AUC 曝露比は、それぞれ1,061倍及び1,783倍であった。CD-1及び rasH2野生型マウスでは、末梢血リンパ球数の減少（脾臓でのリンパ組織の萎縮に関連）が認められた。

反復投与毒性試験で特定された標的臓器は歯、骨及び脾臓（ラット）、精巣（マウス及びラット）、皮膚及び骨髄（サル）であり、無毒性量での高い安全域（AUC 曝露比は529倍以上）に基づき、標的臓器毒性がヒトで生じるリスクは低いと考えられた。さらなる所見として用量制限毒性試験（非 GLP）では、最大耐量を超える用量（AUC 曝露比は6,783倍以上）で、肝臓（ラット）及び胃（ラット及びサル）に所見が認められたが、臨床上問題となる可能性は低いと考えられた。

rasH2野生型マウス及び CD-1マウスを用いた3ヵ月間用量設定試験では、脾臓でのリンパ組織の萎縮及びリンパ球数の減少がみられた。結果として、臨床で認められたリンパ球数減少を検討するための検証試験のモデルとして CD-1マウスを選択した。3ヵ月間試験でみられたリンパ球数減少についてさらに検討するため、また臨床試験でみられたリンパ球数減少のモデルとして、雄 CD-1マウスを用いた7日間 TK（TT #[redacted]-1006、[2.6.7.17.D 項]）試験及び10週間イムノフェノタイピング試験（TT #[redacted]-1015、[2.6.7.17.A 項]）を実施した。

マウスを用いた毒性試験では、ヒトでリンパ球数減少が認められた ISL-TP 濃度と同程度の濃度でリンパ球数減少がみられたが、重要なこととして12週間の回復期間後には完全な回復性が認められた。通常の反復投与毒性試験では、マウスにおけるリンパ球数の減少を除き、ISL に直接的な免疫毒性を示唆する所見は認められなかった。リンパ球数の減少はサルでも認められたが、所見がみられたのは明らかな毒性を伴う高い曝露に限られた。ラットでは、白血球数及びリンパ球数

の増加が高い AUC 曝露比（4,363倍以上）でみられたが、程度が小さく病理組織学的所見が認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。したがって、ICH S8「医薬品の免疫毒性試験に関するガイドライン」に従い、in vivo 試験ではマウスを用い、免疫毒性を評価する一連の非臨床試験を実施した。評価には以下が含まれた。

- 血液学的及び血液生化学検査、臓器重量、病理組織学的検査並びに毒性試験における感染症の明らかな増加に関するデータの評価
- 用量／曝露関係及び回復性を評価する in vivo 探索的試験
- リンパ球サブセットを評価するイムノフェノタイピング試験
- 代謝プロファイル、DNA ポリメラーゼ阻害、リンパ球活性化並びに増殖及びアポトーシスに及ぼす影響を検討するための機序検討試験[2.6.2.3 項]

総合的なデータ評価から、RHD での ISL 及び ISL-TP 濃度では、複数の感度の高い免疫毒性学的評価項目に免疫毒性の証拠は認められないことが示唆された。これらのデータから0.75 mg 以上を1日1回投与した際に臨床でみられた ISL による総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少は、[redacted] の併用投与の影響によるものではなく、ISL と同程度の濃度の TP 濃度においてヌクレオシド／ヌクレオチドアナログ（3TC、FTC、ABC 及び TAF）で全般にみられるリンパ球の増殖に対する影響と類似しており、予測可能な閾値のある濃度に起因すると考えられた。

ISL の反復投与毒性試験の結果から、ラット及びサルの AUC 曝露比でそれぞれ4,363倍及び539倍まで免疫抑制、炎症性の有害所見及びリンパ組織での有害所見は認められなかった。マウスでは、RHD を上回る AUC 曝露比においてリンパ組織の萎縮（AUC 曝露比は243倍以上）、リンパ球数減少（AUC 曝露比は65倍以上）並びに脾細胞での B 細胞及び T 細胞活性化の抑制（AUC 曝露比はそれぞれ243倍及び1,783倍）、サルでは皮膚の炎症及び骨髄への影響（AUC 曝露比は3,259倍）が認められた。

リンパ球数の減少はサルでも認められたが、所見がみられたのは明らかな毒性を伴う高い曝露（AUC 曝露比は3,259倍）に限られた。グルココルチコイド関連のストレス反応によるものと考えられた[4.3: 07XDNW] [4.3: 08NPTD]。しかしながら ISL-TP がリンパ球数減少に直接的に影響した可能性も否定できなかった。皮膚毒性は高用量群（100 mg/kg/回、3日に1回投与）に限定してみられたが、細菌培養、直腸温及び病理組織学的検査では所見がみられなかったことから、これらの動物に感染症の証拠は認められなかった。重要なことに、サルを用いた慢性毒性試験では、無毒性量であるより低い忍容用量（20 mg/kg/回、3日に1回投与、AUC 曝露比は539倍）及び十分な曝露量で、炎症性所見、リンパ系組織の重量又は病理組織学的所見、皮膚、骨髄への影響、リンパ球数の減少並びに血液学的変化は認められなかった。同様に、ラットでは慢性毒性試験で評価した最高用量（50 mg/kg/日、AUC 曝露比は4,363倍）まで、顕著な炎症性所見、リンパ系組織の変化及びリンパ球数の減少はみられなかった。

CD-1マウス（TT #[redacted]-1020）及び rasH2野生型マウス（TT #[redacted]-6002）を用いた3ヵ月間毒性試験、

マウスイムノフェノタイピング試験（TT #[redacted]-1015）、ラットを用いた6ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-6011及び TT #[redacted]-6005）並びにサルを用いた9ヵ月間試験（TT #[redacted]-1068）では感染症は認められず、マウスを用いた6ヵ月間がん原性試験（TT #[redacted]-9007）及びラットを用いた2年間がん原性試験（TT #[redacted]-1043）では感染症及び腫瘍発現率の上昇も認められなかったことから、ISL は免疫機能を阻害しないことが示唆された。さらに、ヒトに ISL を投与した際にも他の投与群と比較して感染症発生率の上昇はみられなかった。

ISL は骨髄造血幹細胞（リンパ系前駆細胞及び骨髄系前駆細胞並びに最終的には全ての成熟血球細胞系列に分化）に影響を与えなかった[2.6.6.8.2.1 項]。マウスでは造血幹細胞に対する影響が認められなかったことと一貫して、マウスでのリンパ球系細胞集団に対する ISL 関連の影響は、12週間の回復期間後に回復性が示された（TT #[redacted]-1015）。同試験では、[redacted]（[redacted]）と ISL の併用投与により、末梢血及び脾臓の総リンパ球数又はリンパ球サブセット数において、ISL に関連した減少の増悪は認められなかった。

動物を用いた試験に加えて、ISL がヒトリンパ球のアポトーシス、活性化及び機能に及ぼす潜在的な影響を in vitro で評価するため、アポトーシス細胞（アネキシン V）及び増殖誘導による細胞活性化（Ki67）をフローサイトメトリーを用いて定量した[2.6.2.3.2.6 項]。また、抗体及びサイトカイン産生並びに pan-T 細胞活性化を in vitro で検討し、ISL が B 細胞及び T 細胞の機能に及ぼす潜在的な影響を評価した。これらの実験では、1 µM 以下の in vitro 濃度（ISL-TP 濃度は300 µM 未満に相当）では、ISL はリンパ球のアポトーシス、増殖誘導活性化又は機能に影響を及ぼさなかった。重要な点として、ISL 0.75 mg（以前ヒトでリンパ球数減少がみられた用量）と DOR 100 mg の1日1回併用投与を受けた HIV 血清反応陽性の臨床試験参加者から採取した PBMC では、ビクテグラビル／FTC／TAF（50/200/25 mg）を1日1回投与した臨床試験参加者と比較した際に免疫機能に影響を及ぼさなかった[4.3: 08CFSY]。

TK6細胞を用いた in vitro 検討試験から、臨床試験でみられた ISL によるリンパ球数減少には、ISL-TP による DNA 複製及び細胞分裂に関与する酵素である DNA ポリメラーゼ α の阻害作用が寄与している可能性が示唆された。DNA ポリメラーゼ α の阻害は ISL に固有のものではなく、他のヌクレオシド／ヌクレオチドアナログ（3TC、FTC、ABC 及び TAF）も DNA ポリメラーゼ α の阻害作用を有し[4.3: 03W0NT] [4.3: 08PFDR] [4.3: 080P9Y] [4.3: 080P9L]、同程度の等モル換算した TP 濃度で TK6細胞の増殖抑制が認められている[2.6.2.3.2 項]。

以上の試験から、血液学的検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的評価、並びに in vitro 及び in vivo 試験結果を総合すると、ISL は RHD において免疫毒性の懸念を示さないことが示唆された。マウス及びヒトではリンパ球数の減少が認められたが、RHD の ISL-TP 濃度（平均 ISL-TP Cmax は約9 µM、0.25mg を1日1回投与した009試験の PK データに基づく[2.7.2.2.1.3 項]）と比較して高い PBMC 中 ISL-TP 濃度（Cmax は約30 µM 以上）で認められた。第III相試験（051及び052試験）では ISL が RHD（0.25 mg、1日1回）において総リンパ球数及びリンパ球サブセット数の減少を引き起こさないことが示された。さらに、ISL を投与した動物では感染症及び腫瘍発現率の上昇は認

められず、ヒトでも他の投与群と比較して感染症発生率の上昇は認められなかったことから、ISLは免疫機能を阻害しないことが示唆された。したがって、これまでの結果を総合的に評価した結果、免疫毒性の懸念は示唆されなかった[2.6.6.8.2 項]。

マウスでは、rasH2野生型マウスを用いた3ヵ月間用量設定試験において、さらなる毒性所見として高用量群（35 mg/kg/日、AUC 曝露比は2,239倍）の雌での顕著な体重減少及び体重増加量の減少、雄での精巣におけるごく軽度の精上皮変性が認められた。精巣の所見は、同じ系統の18 mg/kg/日群（AUC 曝露比は1,061倍）又は CD-1マウスの45 mg/kg/日群（高用量群、AUC 曝露比は1,783倍）ではみられなかった。精巣の病理組織学的変化は精巣重量の減少と部分的に関連していた。また、rasH2ヘミ接合マウスを用いた6ヵ月間がん原性試験では、最高用量（13 mg/kg/日、AUC 曝露比は729倍）まで精巣の所見は認められなかった。

マウスと同様に、ISL を50 mg/kg/日で2ヵ月以上連日投与した際に高い AUC 曝露比（TT #[redacted]-6011、AUC 曝露比は4,363倍）において、ラットでも精巣毒性（精子／精上皮変性）が認められた。精子形成の増殖段階にあたる精原細胞及び初期段階の精母細胞には形態学的な影響はみられず、投与中止後に所見が回復する可能性が示唆された。この所見と一貫して、4ヵ月間の回復期間後には、精巣の病理組織学的所見の発現頻度及び程度に部分的な回復がみられ、関連して精巣重量のごく軽度の減少がみられた。50 mg/kg/日を約6ヵ月間投与したラットでは、精巣重量の減少を伴った精巣の所見は類似していたが、程度がより重度であった。18 mg/kg/日群を約6ヵ月間投与したラットでは精巣の所見はみられなかった（AUC 曝露比は1,306倍）。さらに、雄ラット受胎能試験では、評価した最高用量（18 mg/kg/日、AUC 曝露比は1,306倍、TT #[redacted]-7030）まで交尾能、受胎能及び胚／胎児生存率を含む ISL に関連した生殖毒性は認められなかった。

サルに20 mg/kg/回（3日に1回投与、AUC 曝露比は539倍）を9ヵ月間又は100 mg/kg/回（3日に1回投与、AUC 曝露比は3,259倍）を約2ヵ月間投与した慢性毒性試験において、精巣毒性の所見は認められなかった。

以上のデータの総合的な評価及び精巣毒性が高い AUC 曝露比で認められたことを考慮すると、精巣毒性が RHD において臨床上問題となる可能性は低いと考えられた。

精巣の所見に加えて、ラットを用いた反復投与毒性試験ではその他の標的臓器として歯（臼歯を含む）及び骨が特定されたが、高い AUC 曝露比で認められたことから、ヒトのリスク評価への外挿性は低いと考えられた。ラットでは脾臓、肝臓及び胃にも所見が認められたが、同様にヒトのリスク評価への外挿性は低い（肝臓及び胃、最大耐量を超える高い曝露量で所見がみられた）か、有害ではない（脾臓）と考えられた。

歯及び骨密度への影響は、急速に成長するラットでのみ高い曝露量（AUC 曝露比はそれぞれ529倍以上及び4,363倍）で認められ、回復性がみられたことから、ヒトの成人に対する外挿性は低いと考えられた。ラットにおける ISL による歯及び骨密度への影響の機序は明らかになっていないが、ラットに PET トレーサーである[redacted]標識 ISL を静脈内マイクロドージングした際の画像評価

では、投与後60～180分時点において[redacted]ISL 関連物質が高い濃度で歯、手首、肩及び脊椎に認められた。脳では[redacted]ISL 由来の放射能は検出されなかった。この結果はラットを用いた定量的全身オートラジオグラフィー試験で認められた ISL の分布と一致しており、高い AUC 曝露比においてラットの歯及び骨に毒性が認められた理由が説明されうる。

ラットでは切歯の変色及び破折がみられ、これに関連して病理組織学的検査では切歯（10 mg/kg/日以上）及び臼歯（18 mg/kg/日以上）における象牙芽細胞の変性、エナメル芽細胞の細胞質減少と関連しており、50 mg/kg/日群では切歯の歯髄の炎症とも関連していた。ISL のラットの歯に対する影響は、4又は6ヵ月の回復期間後に回復し、無毒性量での AUC 曝露比は529倍以上であった。一度萌出した後は成長しないヒト成人の歯とは異なり、ラットの切歯は持続的に成長することから、ラットの切歯における所見はヒトには外挿されない。幼若ラットを用いた追加の試験では、50 mg/kg/日（AUC 曝露比は4,618倍）まで歯の発生又は一般状態への ISL に関連した影響は認められなかった。妊娠ラットに GD 6～LD 3に ISL を7 mg/kg/日まで投与し、その後出生児に直接 ISL を PND 4～20まで投与した試験では、ISL に関連した切歯萌出時期及び歯の構造への影響はみられず、歯の発達に関する ISL の影響がないことが示唆された（児における AUC 曝露比は691倍）。

重要なこととしてサルでは、9ヵ月間（AUC 曝露比は539倍）又は約2ヵ月間投与したより高い曝露量（AUC 曝露比は3,259倍）において歯の所見は認められなかった。サルの歯の発達は進化学的にも解剖学的にもヒトに類似していることを考慮し、試験を通して CT 画像検査でサルに所見が認められなかったことに基づくと、ISL 投与によってヒトの歯に潜在的な影響が生じる可能性は低いと考えられる。さらに、CD-1マウス（AUC 曝露比は1,783倍）、rasH2野生型マウス（AUC 曝露比は2,239倍）への3ヵ月間投与及び rasH2トランスジェニックマウスを用いた6ヵ月間がん原性試験（AUC 曝露比は729倍）でも歯の所見は認められなかった。

ラットを用いた慢性毒性試験のマイクロ CT 検査では、高い全身曝露量を示す用量（50 mg/kg/日、AUC 曝露比は4,363倍）に限定して病理組織学的変化を伴わない可逆的な骨密度の低下が認められた。特記すべきこととして、サルでは9ヵ月間投与（AUC 曝露比は539倍）又はより高い用量の約2ヵ月間投与（AUC 曝露比は3,259倍）では所見は認められなかった。

以上の所見を総合すると、急速に成長するラットにおいて高い曝露量でのみ観察された歯及び骨密度の所見は、RHD の治療用量における曝露量ではヒトに対する毒性学的意義は低いと考えられた。

6ヵ月間毒性試験で18 mg/kg/日以上の ISL を投与した群（AUC 曝露比は1,306倍以上）のラットにおいて、ヘモジデリンに一致した有害ではない脾臓での色素沈着の増加が認められた。ヘモジデリンは老齢ラットの脾臓で一般的にみられる。本所見は、50 mg/kg/日を2ヵ月間投与したラットで最初に認められ（AUC 曝露比は4,363倍、TT#[redacted]-6011）、6ヵ月間投与終了時に発現頻度が上昇したが、所見の性質及び程度は長期投与によっても進行せず、4ヵ月間の回復期間後に回復した。また、本所見はマウス及びサルを用いたいずれの試験でも観察されなかった。血液学的パラメータに顕著な変化が認められなかったことから、有害ではないと考えられた。さらに、本所見はラッ

トで高い曝露量（18 mg/kg/日以上、AUC 曝露比は1,306倍以上）のみで認められたことから、RHD において臨床上問題となる可能性は低いと考えられる。

体重減少、一般状態及び剖検所見に伴う肝胆道系毒性がラットを用いた探索的5日間経口投与毒性試験の200 mg/kg/日群（TT #[redacted]-1040、AUC 曝露比は8,790倍）のみに認められた。病理組織学的所見は、肝臓の肝細胞変性、胆管上皮過形成及び門脈周囲の炎症であり、重度の AST 及び ALT の増加（30～60倍）、中等度の総ビリルビンの増加と一貫していた。非常に高い AUC 曝露比（8,790倍）に基づきこれらの変化のヒトへの外挿性は低いと考えられた。また、これはラットに6ヵ月間、サルに9ヵ月間まで投与した非臨床毒性試験（GLP）の結果より、ラット及びサルでそれぞれ AUC 曝露比の4,363倍及び3,259倍まで肝胆道系毒性が認められなかったことからも支持される。

ISL の忍容性プロファイルの確認及び後の GLP 試験の用量選択のために実施したラットを用いた7日間及び5日間探索的用量制限毒性試験では、高い曝露比（投与量及び AUC に基づく）の連日経口投与により胃腺変性が認められた（100及び200 mg/kg/日、AUC 曝露比はそれぞれ6,783及び8,790倍）。ラットの胃の所見に関する無影響量は、ラットに6ヵ月間連日投与した慢性毒性試験の最高用量である50 mg/kg/日［AUC 曝露比は4,363倍、用量比ベース（体重50 kg）では10,000倍、TT #[redacted]-6011］であった。胃の所見は、用量比ベース［100 mg/kg/日以上の用量は RHD（ISL 0.25 mg、体重50 kg）と比較して20,000倍以上］及び AUC ベース（AUC 曝露比は6,783倍以上）で非常に高い用量でのみ所見がみられたことから、ヒトへの外挿性は低いと考えられた。

サルでは、10 mg/kg/日を3日間、30 mg/kg/日を4日間、75 mg/kg/日を3日間投与した10日間用量漸増経口投与毒性試験で連日投与した際に胃腺変性が認められた（AUC 曝露比は7,081倍）。一方、後に実施した最大75 mg/kg/回を3日に1回投与したサル1ヵ月間試験（AUC 曝露比は2,070倍）、20 mg/kg/回（3日に1回）を9ヵ月間投与（AUC 曝露比は539倍）及び100 mg/kg/回（3日に1回）を約2ヵ月間投与（AUC 曝露比は3,259倍）したサル慢性毒性試験では所見は認められなかった。それぞれの用量は用量比ベースで ISL RHD（0.25 mg、体重50 kg）の15,000、4,000及び20,000倍に相当する。

ラット及びサルにおいて胃の変化が認められた高い用量（体重50 kg、RHD の20,000倍以上）及び AUC 曝露比（6,783倍以上）に基づくと、RHD における ISL の治療用量及び曝露量では、胃の所見が臨床上問題となる可能性は低いと考えられる。さらに、労働安全プログラムの一環としてウシ摘出角膜の混濁度及び透過性試験並びに MatTek EpiDerm^{TM} MTT 皮膚刺激性試験を実施し、ISL は非刺激性物質に分類された[2.6.7.16 項]。

サルに ISL を20 mg/kg/回（3日に1回）、9ヵ月間経口投与した慢性毒性試験（AUC 曝露比は539倍）での ISL の忍容性は良好であった。標的毒性臓器として皮膚（AUC 曝露比は3,259倍、100 mg/kg/回、3日に1回投与）及び骨髄（AUC 曝露比は2,070倍以上、75 mg/kg/回以上、3日に1回投与）が特定されたが、高い AUC 曝露比で認められたことから、ヒトのリスク評価への外挿性は低いと考えられた。

皮膚毒性はサルに限定して9ヵ月間毒性試験の忍容性のない高用量で認められ、無毒性量は20 mg/kg/回（AUC 曝露比は539倍）であった。以下に詳細を示す。サルを用いた9ヵ月間毒性試験では、高用量群（100 mg/kg/回、3日に1回投与、AUC 曝露比は3,259倍）において皮膚毒性が認められ、試験59又は63日に高用量群の複数例を早期に安楽殺した。一般状態所見として、指の疼痛、四肢の腫脹及び耳介における皮膚変色（紫色化）、耳介の疼痛が認められ、関連した病理組織学的所見として手足の背側及び指間皮膚又は耳介辺縁における限局的な慢性炎症がみられ、一部で関連する表皮の変化（表皮肥厚、びらん又は潰瘍）を伴っていた。関連する臨床検査値の変化として、デーレ小体の出現、フィブリノーゲン及びグロブリンの増加、アルブミン及び／又は A/G 比の減少がみられた。サルにおいて試験59日に軽度のリンパ球数の減少が認められたが、試験63日の残りのサルでは観察されなかった。リンパ球数減少は明らかな毒性がみられた用量で認められたことからグルココルチコイド関連のストレス反応によるものと考えられた[4.3: 07XDNW] [4.3: 08NPTD]。しかしながら、ISL-TP がリンパ球数減少に直接的に影響した可能性も否定できなかった。血液学的検査における好中球及び単球の減少は、試験63日の剖検時の骨髄の変化と関連していた。回復期間後に明らかな一般状態所見は概して回復し、臨床検査所見は全て回復した。重要なこととして、剖検において真皮の限局性炎症は解剖学的に皮膚の非常に狭い範囲に限局していたことが確認され、その他の部位では炎症が認められず、また、細菌培養、直腸温及び病理組織学的検査では所見がみられなかったことから、感染症の証拠はみられなかった。20 mg/kg/回群でみられた耳介皮膚の変色は有害ではないと考えられたことから、無毒性量は20 mg/kg/回（3日に1回投与、AUC 曝露比は539倍）であった。皮膚に対する影響は3,259倍の AUC 曝露比でみられたことを考慮すると、RHD におけるヒトへの外挿性は低いと考えられる。

サルを用いた1ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-1063）の75 mg/kg/回群（3日に1回投与、AUC 曝露比は2,070倍）及びサルを用いた9ヵ月間毒性試験（TT #[redacted]-1068）で100 mg/kg/回（3日に1回投与、AUC 曝露比は3,259倍）を約2ヵ月間投与した際の骨髄塗抹標本において、成熟好中球及び有核正染性赤芽球サブセットに細胞の変化が認められたが、骨髄における細胞密度、赤芽球系及び骨髄系細胞の成熟度、並びに巨核球及び血小板はいずれも正常であった。その他の様々な造血系の細胞成分に特記すべき所見はみられなかった。骨髄塗抹標本において認められた僅かな変化は、骨髄の病理組織学的検査及び末梢血塗抹標本のいずれの所見とは関連していなかったため、骨髄塗抹標本の所見は有害ではないと考えられた。

ICH S2(R1)（医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンス）に従って実施された一連の in vitro 及び in vivo 試験結果に基づき、ISL はヒトへの使用に際して遺伝毒性リスクをもたらさないことが示された。

In vitro 変異原性試験（Ames 試験）において ISL は陰性であった。In vitro 染色体異常試験で ISL は陽性であったが、重要なこととして、ヌクレオシドアナログでは染色体異常の誘発がよく知られている[4.3: 03T473]。ヌクレオシドアナログによる in vitro 染色体異常の誘発機序（ヌクレオチドプール不均衡）は、閾値が存在する又は用量反応性が非線形であると考えられており[4.3:

04TXFV] [4.3: 044KX8]、in vitro で所見がみられた濃度はヒトへのリスクには関連しないと考えられる。In vivo で実施した探索的及び GLP ラット骨髄小核試験では、十分な曝露比（AUC 曝露比は2,755倍以上）で ISL は陰性であった。また、rasH2トランスジェニックマウスを用いた6ヵ月間がん原性試験及びラット2年間がん原性試験（AUC 曝露比はそれぞれ729倍及び618倍）ではいかなる腫瘍形成の証拠もみられなかった。したがって、ISL は遺伝毒性及びがん原性リスクを有さないと考えられる。

ISL の生殖発生毒性試験では、妊娠ウサギには最大10 mg/kg/日（GD 7～20、AUC 曝露比は1,322倍）を、ラットには最大50 mg/kg/日［GD 6～20又は GD 6～LD 20（分娩後20日）、AUC 曝露比は5,159倍］を経口投与した。その結果、母動物、胚・胎児発生（ラット及びウサギ）、並びに出生前及び出生後の発生（ラット）に毒性学的に意義のある影響は認められなかった［それぞれ AUC 曝露比は532から5,159倍（ラット）及び1,322倍（ウサギ）］。また、ラットに ISL を RHD におけるヒト AUC 曝露比の1,306倍まで投与したとき、雌雄の受胎能、交尾能及び初期胚発生に影響は認められなかった。ラットでは ISL は胎盤を介して胎児に移行することが示され、胎児の血漿中濃度は母動物（GD 20）の最大88%であった[2.6.5.8 項]。授乳ラットに ISL を投与した際、哺乳児の血漿中に ISL が検出された。

結論として、ISL の非臨床毒性プロファイルから、DOR/ISL（100 mg/0.25 mg）としての ISL の安全な使用が支持される。

2.6.6.9.3　DOR/ISL 併用投与

DOR 及び ISL は個々に非臨床試験で広範に評価されており、マウス（最長3ヵ月間）、ラット（最長6ヵ月間）、イヌ（DOR、最長9ヵ月間）及びサル（ISL、最長9ヵ月間）の反復経口投与毒性試験並びに rasH2トランスジェニックマウス（6ヵ月間）及びラット（2年間）のがん原性試験を含む毒性試験を実施した。DOR 及び ISL は予定臨床曝露量に対して適切な安全域が確認されており、これらの試験において懸念すべき毒性の重複はみられなかった。

ラットを用いた1ヵ月間併用経口投与毒性試験では、DOR（AUC 曝露比は4.2倍）及び ISL（最大 AUC 曝露比は104倍）を評価した。DOR 及び ISL の非臨床安全性プログラムにおいて重複した毒性がみられなかったことと一貫して、本試験においても ISL と DOR の併用投与による相加的若しくは相乗的な毒性、又は TK 相互作用の証拠は認められなかった。

結論として、DOR 及び ISL の非臨床毒性プロファイルは、成人 HIV-1感染症患者の治療における DOR（100 mg）と ISL（0.25 mg）の併用療法を支持するものである。

2.6.6.10　引用文献

2.6.6.11　参考文献

参考文献は、[1.12 項]の「4.3参考文献」に示した。

目次

2.6.7 毒性試験概要表
2.6.7.1 毒性試験：一覧表
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧
2.6.7.5 単回投与毒性試験
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験
2.6.7.7.A ISL：rasH2野生型マウスを用いた3ヵ月間経口投与用量設定及び TK 試験（TT #[redacted]-6002）
2.6.7.7.B ISL：マウスを用いた3ヵ月間経口投与用量設定試験（TT #[redacted]-1020）
2.6.7.7.C ISL：ラットを用いた29日間経口投与毒性試験（小核及び FOB 評価を含む）（TT #[redacted]-1075）
2.6.7.7.D ISL：ラットを用いた6ヵ月間経口投与毒性試験（2ヵ月時の中間剖検及び4又は6ヵ月間の回復期間を伴った2ヵ月間投与を含む）（TT #[redacted]-6011）
2.6.7.7.E ISL：ラットを用いた6ヵ月間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-6005）
2.6.7.7.F ISL+DOR：ラットを用いた1ヵ月間併用経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1012）
2.6.7.7.G ISL：アカゲザルを用いた28日間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1063）
2.6.7.7.H ISL：アカゲザルを用いた9ヵ月間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1068）
2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験
2.6.7.8.A ISL：細菌（*Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli*）を用いた復帰突然変異試験（TT #[redacted]-9041）
2.6.7.8.B ISL：CHO 細胞を用いた探索的 in vitro 染色体異常試験及びイノシン添加による改善効果（TT #[redacted]-8625、TT #[redacted]-8635、TT #[redacted]-8641、TT #[redacted]-8643）
2.6.7.8.C ISL：CHO 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験（TT #[redacted]-8669、TT #[redacted]-8672）
2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験
2.6.7.9.A ISL：In vivo 小核試験：ラットを用いた探索的5日間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1040）
2.6.7.9.B ISL：In vivo 小核試験：ラットを用いた29日間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1075）
2.6.7.10 がん原性試験
2.6.7.10.A ISL：ラットを用いた2年間がん原性試験（TT #[redacted]-1043）
2.6.7.10.B ISL：CByB6F1/Tg rasH2ヘミ接合マウスを用いた26週間経口投与がん原性試験（TT #[redacted]-9007）
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験
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
2.6.7.12.A ISL：雌雄ラットを用いた経口投与受胎能試験（TT #[redacted]-7030）

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験
2.6.7.13.A ISL：ラットを用いた経口投与胚・胎児発生毒性及び TK 試験（TT #[redacted]-7080）
2.6.7.13.B ISL：ウサギを用いた経口投与胚・胎児発生毒性及び TK 試験（TT #[redacted]-7040）
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
2.6.7.14.A ISL：ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する経口投与毒性試験（TT #[redacted]-7080）
2.6.7.15 新生児を用いた試験
2.6.7.15.A ISL：ラットを用いた経口投与による歯の発生及び TK に関する試験（TT #[redacted]-7130）
2.6.7.16 局所刺激性試験
2.6.7.17 その他の毒性試験
2.6.7.17.A 免疫毒性
2.6.7.17.B 不純物
2.6.7.17.C 光毒性評価
2.6.7.17.D トキシコキネティクス試験
2.6.7.17.E In vitro 探索的発生毒性試験
2.6.7.17.F 他の併用投与試験

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　　毒性試験：一覧表

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Species / Strain	Method of Adminis-tration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Comp-liance	Testing Facility	Study Number	Location
Repeat-Dose Toxicity	Mouse / RasH2 Wild-Type	Oral (gavage)	3 months	0, 3.5, 10, 18, 35 QD	Yes[b]	RM	TT #[redacted]-6002	[4.2.3.2.1: TT[redacted]6002]
	Mouse / CD-1	Oral (gavage)	3 months	0, 3.5, 10, 22, 45 QD	Yes[b]	WP	TT #[redacted]-1020	[4.2.3.2.2: TT[redacted]1020]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	5 days	0, 30, 200 QD	No	WP	TT #[redacted]-1040	[4.2.3.2.3: TT[redacted]1040]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	7 days	0, 10, 30, 100 QD	No	WP	TT #[redacted]-2513	[4.2.3.2.4: TT[redacted]2513]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	1 month	0, 3, 10, 50 (NOAEL excluding findings in continuously growing incisors) QD	Yes[c]	WP	TT #[redacted]-1075	[4.2.3.2.5: TT[redacted]1075]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	2 or 6 months	0, 3, 10 (NOAEL excluding findings in continuously growing incisors), 50 QD	Yes[d]	RM	TT #[redacted]-6011	[4.2.3.2.6: TT[redacted]6011]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	6 months	0, 1, 3, 18 QD	Yes	RM	TT #[redacted]-6005	[4.2.3.2.7: TT[redacted]6005]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	1 month	0 (DOR + ISL vehicles), 0 (DOR vehicle) + 3 ISL; 30 DOR + 0 (ISL vehicle), 30 DOR + 1 ISL; 30 DOR + 3 ISL QD[e]	Yes	WP	TT #[redacted]-1012	[4.2.3.2.8: TT[redacted]1012]
	Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	10 days	Rising dose 10 + 30 + 75 QD	No	WP	TT #[redacted]-1035	[4.2.3.2.9: TT[redacted]1035]
	Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	1 month	0, 5, 20, 75 Q3D	Yes[c]	WP	TT #[redacted]-1063	[4.2.3.2.10: TT[redacted]1063]
	Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	9 months	0, 5, 20, 100 Q3D	Yes[f]	WP	TT #[redacted]-1068	[4.2.3.2.11: TT[redacted]1068]

Confidential

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Genotoxicity	*Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98, TA100) and *Escherichia coli* (WP2 uvrA)	In vitro	69 h and 44 min	0, 40 to 5000 µg/plate ±S9	Yes	[redacted]	TT #[redacted]-9041	[4.2.3.3.1.1: TT[redacted]9041]
	Chinese hamster ovary cells	In vitro	3 h ±S9, 20 h -S9	Doses scored 47 to 750 µM	No	WP	TT #[redacted]-8625	[4.2.3.3.1.2: TT[redacted]8625]
			20 h -S9	Doses scored 100 to 350 µM			TT #[redacted]-8635	
			20 h -S9	Doses scored 200 to 350 µM			TT #[redacted]-8641	
			20 h -S9	Doses scored 200 to 400 µM			TT #[redacted]-8643	
	Chinese hamster ovary cells	In vitro	3 h ±S9, 20 h -S9	25 to 1000 µM (3 h +S9) 25 to 1000 µM (3 h -S9) 25 to 600 µM (20 h -S9)	Yes	WP	TT #[redacted]-8669	[4.2.3.3.1.3: TT[redacted]8669]
			3 h +S9	10 to 700 µM (3 h +S9)			TT #[redacted]-8672	
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	5 days	0, 30, 200 QD	No	WP	TT #[redacted]-1040	[4.2.3.2.3: TT[redacted]1040]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	1 month	0, 3, 10, 50 QD	Yes[c]	WP	TT #[redacted]-1075	[4.2.3.2.5: TT[redacted]1075]

C Confidential

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Carcinogenicity	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	2 years	0, 1, 3, 10 QD	Yes[b]	WP	TT #[redacted]-1043	[4.2.3.4.1.1: TT[redacted]1043]
	Mouse / CByB6F1/ Tg HRAS (Hemizygous)	Oral (gavage) Positive Control: IP	26 weeks Positive Control: 1 day	0, 1.5, 4, 13 QD Positive Control: 75 mg/kg NMU QD	Yes[g]	[redacted]	TT #[redacted]-9007	[4.2.3.4.2.1: TT[redacted]9007]
Reproductive and Developmental Toxicity	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	F: 15 days prior to cohabitation, during cohabitation, and through GD 7 M: 15 days prior to cohabitation, during cohabitation, and until 1 day prior to scheduled sacrifice (approximately 6 weeks total)	0, 1, 3, 10, 18 QD	Yes	WP	TT #[redacted]-7030	[4.2.3.5.1.1: TT[redacted]7030]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	GD 6 to 20	0, 3, 10, 50, 200 QD	No	WP	TT #[redacted]-7001	[4.2.3.5.2.1: TT[redacted]7001]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	GD 6 to 20	0, 3, 10, 50 QD	Yes	WP	TT #[redacted]-7080	[4.2.3.5.2.2: TT[redacted]7080]
	Rabbit / Dutch Belted	Oral (gavage)	GD 7 to 20	0, 3, 10, 50, 200 QD	No	WP	TT #[redacted]-7064	[4.2.3.5.2.3: TT[redacted]7064]
	Rabbit / Dutch Belted	Oral (gavage)	GD 7 to 20	0, 1, 3, 10 QD	Yes	WP	TT #[redacted]-7040	[4.2.3.5.2.4: TT[redacted]7040]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	GD 6 to LD 20	0, 1, 3, 10 QD	Yes[h]	WP	TT #[redacted]-7080	[4.2.3.5.3.1: TT[redacted]7080]

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	PND 4 to 20	0, 3, 10, 25, 50 QD	No	WP	TT #[redacted]-7035	[4.2.3.5.4.1: TT[redacted]7035]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	F_0 Dams: GD 6 to LD 3, F_1 Animals: PND 4 to 20	0, 0.3, 3, 7 QD	Yes	WP	TT #[redacted]-7130	[4.2.3.5.4.2: TT[redacted]7130]
Local Tolerance	Bovine corneas	In vitro	4 h	0.75 mL of a 20% ISL formulation	Yes[i]	[redacted]	TT #[redacted]-7826	[4.2.3.6.1: TT[redacted]7826]
	MatTek EpiDerm™ tissue samples	In vitro	1, 4, 24 h	100 mg	Yes[i]	[redacted]	TT #[redacted]-7828	[4.2.3.6.2: TT[redacted]7828]
Other Studies / Immunotoxicity	Mouse / CD-1	Oral (gavage)	10 weeks	0 (ISL vehicle), 0 (ISL + [redacted] vehicles), 3.5 ISL, 45 ISL, 10 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 0 (ISL vehicle) + 750 [redacted], 10 ISL + 750 [redacted] QD[e]	No	WP	TT #[redacted]-1015	[4.2.3.7.2.1: TT[redacted]1015]
	Mouse / CD-1	Oral (gavage)	8 weeks	0 (ISL + [redacted] vehicles), 10 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 0 (ISL vehicle) + 750 [redacted], 10 ISL + 750 [redacted] QD[e]	No	WP	TT #[redacted]-1029	[4.2.3.7.2.2: TT[redacted]1029]
	Mouse / CBA/J	Topical, ear	3 days	5%, 10%, 25% (w/v) ISL in DMSO	Yes[i]	[redacted]	TT #[redacted]-7827	[4.2.3.7.2.3: TT[redacted]7827]
Other Studies / Impurities	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	3 months	0, 0.5, 1 QD	Yes	WP	TT #[redacted]-1000	[4.2.3.7.6.1: TT[redacted]1000]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	3 months	0, 0.5, 1 QD	Yes	WP	TT #[redacted]-1013	[4.2.3.7.6.2: TT[redacted]1013]

C Confidential

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Other Studies / Phototoxicity Assessment	NA	In vitro	NA	290 to 700 nm	No	WP	TT #[redacted]-7834	[4.2.3.7.7.1: TT[redacted]7834]
Other Studies, Continued / Toxicokinetics	Mouse / CD-1 and rasH2 Wild-Type	Oral (gavage)	1 day	1, 10, 30, 100 QD	No	WP	TT #[redacted]-0005	[4.2.3.7.7.2: TT[redacted]0005]
	Mouse / CD-1	Oral (gavage)	7 days	ISL: 3.5, 10, 45 10 ISL + 750 [redacted] QD[e]	No	WP	TT #[redacted]-1006, TT #[redacted]-9610	[4.2.3.7.7.3: TT[redacted]1006] [4.2.3.7.7.4: TT[redacted]9610]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	1 day	10, 30, 100 QD	No	WP	TT #[redacted]-2508	[4.2.3.7.7.5: TT[redacted]2508]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	7 days	1, 3, 10, 18, 50 QD	No	WP	TT #[redacted]-1067	[4.2.3.7.7.6: TT[redacted]1067]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	GD 6 to LD 10	10 QD	Yes	WP	TT #[redacted]-7100	[4.2.3.7.7.7: TT[redacted]7100]
	Rabbit / Dutch Belted	Oral (gavage)	1 day	0, 10, 50, 200 QD	No	WP	TT #[redacted]-7023	[4.2.3.7.7.8: TT[redacted]7023]
	Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	1 day	200 QD	No	WP	TT #[redacted]-1045	[4.2.3.7.7.9: TT[redacted]1045]
Other Studies, Continued / In Vitro Exploratory Developmental and Reproductive Toxicity	Explanted rat embryos	In vitro	2 days	0, 38, 75, 150, 300, 597, 1193 µM	No	WP	TT #[redacted]-4624	[4.2.3.7.7.10: TT[redacted]4624]
	Mouse embryonic stem cells	In vitro	5 days	0, 1, 5, 10, 25, 50, 100 µM	No	WP	TT #[redacted]-4531-008	[4.2.3.7.7.11: TT[redacted]4531008]
Other Studies, Continued / Other Combination[e]	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	Single-dose	3 ISL + 100 [redacted] QD[e]	No	WP & RM	TT #[redacted]-1221	[4.2.3.7.7.12: TT[redacted]1221]

C Confidential

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location
Other Studies, Continued / Other Combination, Continued[e]	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	Single-dose	75 [redacted] + 0 (ISL [redacted] vehicle), 1 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 15 [redacted] + 0 (ISL vehicle), 75 [redacted] + 1 ISL, 75 [redacted] + 15 [redacted], 15 [redacted] + 1 ISL QD[e]	No	WP & RM	TT # [redacted]-1052	[4.2.3.7.7.13: TT [redacted] 1052]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	3 months	0 (ISL [redacted] vehicle), 75 [redacted] + 0 (ISL [redacted] vehicle), 1 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 15 [redacted] + 0 (ISL vehicle), 75 [redacted] + 1 ISL, 75 [redacted] + 15 [redacted], 15 [redacted] + 1 ISL QD[e]	Yes	WP & RM	TT # [redacted]-6049	[4.2.3.7.7.14: TT [redacted] 6049]
	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	3 months	0 (ISL + [redacted] vehicles), 0 ([redacted] vehicle) + 10 ISL, 100 [redacted] + 0 (ISL vehicle), 25 [redacted] + 1 ISL, 100 [redacted] + 10 ISL QD[e]	Yes[j]	WP & RM	TT # [redacted]-1225	[4.2.3.7.7.15: TT [redacted] 1225]

DMSO=dimethyl sulfoxide; DOR=doravirine; F=female; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); IP=intraperitoneal(ly); ISL=islatravir; LD=lactation day; M=male; micro-CT=microcomputed tomography; min=minute(s); NMU=N-nitrosomethylurea; NOAEL=no observed adverse effect level; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; PND=postnatal day; QD=once daily; Q3D=once every 3 days; [redacted]; USA=United States of America; w/v=weight/volume.
Test Facilities: [redacted], Canada; [redacted], USA; [redacted], USA; **RM**=Laboratoires Merck Sharp & Dohme-Chibret Merck Research Laboratoires Route de Marsat (RM), Mirabel, Riom, France; **WP**=Merck Research Laboratories West Point (WP), West Point, Pennsylvania, USA.
Note: Additional studies of ISL parenteral formulations have been conducted and are included in Module 4.2.3.7.7 for reference only [4.2.3.7.7.16: TT [redacted] 1008] [4.2.3.7.7.17: TT [redacted] 2530] [4.2.3.7.7.18: TT [redacted] 2552] [4.2.3.7.7.19: TT [redacted] 2547] [4.2.3.7.7.20: TT [redacted] 1040] [4.2.3.7.7.21: TT [redacted] 1022] [4.2.3.7.7.22: TT [redacted] 1068] [4.2.3.7.7.23: TT [redacted] 1013] [4.2.3.7.7.24: TT [redacted] 1021] [4.2.3.7.7.25: TT [redacted] 1041] [4.2.3.7.7.26: TT [redacted] 1039] [4.2.3.7.7.27: TT [redacted] 9907] [4.2.3.7.7.28: TT [redacted] 9006] [4.2.3.7.7.29: TT [redacted] 9005] [4.2.3.7.7.30: TT [redacted] 9014] [4.2.3.7.7.31: TT [redacted] 9009] [4.2.3.7.7.32: TT [redacted] 9021] [4.2.3.7.7.33: TT [redacted] 9032] [4.2.3.7.7.34: TT [redacted] 9030] [4.2.3.7.7.35: TT [redacted] 9028] [4.2.3.7.7.36: TT [redacted] 9051] [4.2.3.7.7.37: TT [redacted] 9049] [4.2.3.7.7.38: TT [redacted] 9050] [4.2.3.7.7.39: TT [redacted] 9046]. The results of these studies do no impact oral toxicity profile of ISL or DOR/ISL.
a. For repeat-dose toxicity studies and the GLP reproductive and developmental toxicity studies, the highest NOAEL is underlined.

(footnotes continued on following page)

C Confidential

2.6.7.1　毒性試験：一覧表（続き）

被験物質：イスラトラビル

b. TT #[redacted]-6002, TT #[redacted]-1020, TT #[redacted]-1043: GLP compliant with the exception that the analysis of metabolite M4 was performed non-GLP.
c. TT #[redacted]-1075, TT #[redacted]-1063: GLP compliant with the exception that analyses of PMBCs and serum pepsinogen, and micro-CT evaluation (where applicable) were performed non-GLP.
d. TT #[redacted]-6011: GLP compliant with the exception that analysis of metabolite M4, photographs, micro-CT, and Faxitron radiography were performed non-GLP.
e. No additive or synergistic toxicity when ISL was combined with DOR, [redacted], [redacted], or [redacted].
f. TT #[redacted]-1068: GLP compliant with the exception that magnetic resonance imaging, micro-CT, dental radiography, PBMC harvesting/isolation, PBMC analysis, analysis of metabolite M4, bacterial culture analysis of blood samples, rectal body temperature measurements, and physical examination of scrotum and testes were performed non-GLP.
g. TT #[redacted]-9007: GLP compliant with the exception that the concentration, stability, and homogeneity of the positive control article (NMU) formulations were not determined and a reserve sample was not collected. In addition, serology testing was performed non-GLP.
h. TT #[redacted]-7080: GLP compliant with the exception that the GD 0 body weights of F0 females provided by the vendor were performed non-GLP.
i. TT #[redacted]-7826, TT #[redacted]-7827, TT #[redacted]-7828: GLP compliant with the exception that test article characterization was not performed GLP. TT #[redacted]-7826, TT #[redacted]-7827: Analysis of dose formulations was not conducted; dose formulations were prepared daily.
j. TT #[redacted]-1225: GLP compliant with the exception that the analysis of urine fluoride was performed non-GLP.

C Confidential

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

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number	Location
TK / single-dose	Mouse / CD-1 and rasH2 Wild-Type	Oral (gavage)	1, 10, 30, 100 QD	No	TT #[redacted]-0005	[4.2.3.7.7.2: TT[redacted]0005]
TK / 7 days	Mouse / CD-1	Oral (gavage)	ISL: 3.5, 10, 45 10 ISL + 750 [redacted] QD	No	TT #[redacted]-1006[a]	[4.2.3.7.7.3: TT[redacted]1006]
Toxicity with TK / 3 months	Mouse / CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (wt/wt)	Oral (gavage)	0, 3.5, 10, 18, 35 QD	Yes	TT #[redacted]-6002	[4.2.3.2.1: TT[redacted]6002]
Toxicity with TK / 3 months	Mouse / CD-1	Oral (gavage)	0, 3.5, 10, 22, 45 QD	Yes	TT #[redacted]-1020	[4.2.3.2.2: TT[redacted]1020]
TK / single-dose	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	10, 30, 100 QD	No	TT #[redacted]-2508[a]	[4.2.3.7.7.5: TT[redacted]2508]
TK and PBMC / 7 days	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	1, 3, 10, 18, 50 QD	No	TT #[redacted]-1067	[4.2.3.7.7.6: TT[redacted]1067]
Toxicity with TK and FOB and micronucleus assays / 29 days	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	0, 3, 10, 50 QD	Yes	TT #[redacted]-1075	[4.2.3.2.5: TT[redacted]1075]
Toxicity and TK / 1 month combination with DOR	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	0, 0 + 3 ISL, 30 DOR + 0, 30 DOR + 1 ISL, 30 DOR + 3 ISL QD	Yes	TT #[redacted]-1012	[4.2.3.2.8: TT[redacted]1012]
Impurities qualification toxicity study / 3 months	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	0, 0.5, 1 QD	Yes	TT #[redacted]-1000	[4.2.3.7.6.1: TT[redacted]1000]
Impurities qualification toxicity study / 3 months	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	0, 0.5, 1 QD	Yes	TT #[redacted]-1013	[4.2.3.7.6.2: TT[redacted]1013]

Confidential

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（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number	Location
Toxicity and TK / 2 or 6 months with a 4- or 6-month recovery period	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	0, 3, 10, 50 QD	Yes	TT #[redacted]-6011	[4.2.3.2.6: TT[redacted]6011]
Toxicity and TK / 6 months	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	0, 1, 3, 18 QD	Yes	TT #[redacted]-6005	[4.2.3.2.7: TT[redacted]6005]
Lactational transfer / GD 6 through LD 10	Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	10 QD	Yes	TT #[redacted]-7100[b]	[4.2.3.7.7.7: TT[redacted]7100]
Tolerability with TK / single-dose	Rabbit / Dutch Belted (nonpregnant)	Oral (gavage)	0, 10, 50, 200 QD	No	TT #[redacted]-7023	[4.2.3.7.7.8: TT[redacted]7023]
TK / single-dose	Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	200 QD	No	TT #[redacted]-1045	[4.2.3.7.7.9: TT[redacted]1045]
Toxicity and TK / 10 days	Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	Rising dose: 10 + 30 + 75 QD	No	TT #[redacted]-1035	[4.2.3.2.9: TT[redacted]1035]
Toxicity and TK / 28 days	Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	0, 5, 20, 75 Q3D	Yes	TT #[redacted]-1063	[4.2.3.2.10: TT[redacted]1063]
Toxicity and TK / 9 months	Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	0, 5, 20, 100 Q3D	Yes	TT #[redacted]-1068	[4.2.3.2.11: TT[redacted]1068]
Carcinogenicity / 2 years	Rat Crl:WI(HAN)	Oral (gavage)	0, 1, 3, 10 QD	Yes	TT #[redacted]-1043	[4.2.3.4.1.1: TT[redacted]1043]
Preliminary EFD with TK / GD 6 through 20	Rat Crl:WI(HAN)	Oral (gavage)	0, 3, 10, 50, 200	No	TT #[redacted]-7001	[4.2.3.5.2.1: TT[redacted]7001]
EFD with TK / GD 6 through 20	Rat Crl:WI(HAN)	Oral (gavage)	0, 3, 10, 50	Yes	TT #[redacted]-7080	[4.2.3.5.2.2: TT[redacted]7080]
Preliminary EFD with TK / GD 7 through 20	Rabbit / Dutch Belted	Oral (gavage)	0, 3, 10, 50, 200	No	TT #[redacted]-7064	[4.2.3.5.2.3: TT[redacted]7064]
EFD with TK / GD 7 through 20	Rabbit / Dutch Belted	Oral (gavage)	0, 1, 3, 10	Yes	TT #[redacted]-7040	[4.2.3.5.2.4: TT[redacted]7040]

C Confidential

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（続き）

被験物質：イスラトラビル

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number	Location
Juvenile animal tolerability with TK / PND 4 through 20	Rat Crl:WI(HAN)	Oral (gavage)	0, 3, 10, 25, 50	No	TT #[redacted]-7035	[4.2.3.5.4.1: TT[redacted]7035]
Tooth development with TK / F0 dam from GD 6 through LD 3 and offspring from PND 4 through 20	Rat Crl:WI(HAN)	Oral (gavage)	0, 0.3, 3, 7	Yes	TT #[redacted]-7130	[4.2.3.5.4.2: TT[redacted]7130]

AUC=area under the concentration-time curve; DOR=doravirine; EFD=embryo-fetal development(al); FOB=functional observational battery; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; ISL=islatravir; LD=lactation day; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; PND=postnatal day; Q3D=once every 3 days; QD=once daily; TK=toxicokinetic(s); [redacted]; wt=wild type.

Note: Mice, rats, and rabbits were dosed QD. Monkeys were dosed QD (TT #[redacted]-1045 and TT #[redacted]-1035) or Q3D (TT #[redacted]-1063 and TT #[redacted]-1068).

a. TT #[redacted]-1006 and TT #[redacted]-2508: Plasma AUC was not determined. Intracellular ISL phosphorylated anabolites (mono-, di-, and triphosphate) were measured in PMBCs. Therefore, they are not summarized on [2.6.7.3 項].

b. TT #[redacted]-7100: Single timepoint concentration determined and hence no AUC value calculated. Therefore, it is not summarized on [2.6.7.3 項].

C Confidential

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

被験物質：イスラトラビル

Steady State AUC (h*μM)									
	Mice		Rats		Monkeys		Rabbits		
Daily Dose (mg/kg)	AUC0-24h		AUC0-24h		AUC0-72h		AUC0-24h	AUC0-168h	Humans
Dose (SD/SW/ GD/PND)	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Female	AUC0-24h
0.005	-	-	-	-	-	-	-	-	0.038[a]
0.3 (PND 14)	-	-	0.763[b]	0.753[b]	-	-	-	-	-
0.5 (SW 13)	-	-	0.397[c], 0.445[d]	0.459[c], 0.493[d]	-	-	-	-	-
1 (SD 1)	0.656[e], 0.613[e]	0.706[e], 0.960[e]	-	-	-	-	-	-	-
1 (SD 7)	-	-	0.832[f]	0.963[f]	-	-	-	-	-
1 (SW 4)	-	-	0.709[g]	0.795[g]	-	-	-	-	-
1 + 30 DOR (SW 5)	-	-	0.814[h]	1.02[h]	-	-	-	-	-
1 (SW 13)	-	-	0.868[c], 1.11[d,g], 1.07[i]	0.995[c], 1.29[d], 1.17[g], 1.10[i]	-	-	-	-	-
1 (GD 15)	-	-	-	-	-	-	3.99[j]	-	-
3 (SD 7)	-	-	3.03[f]	2.92[f]	-	-	-	-	-
3 (SW 4)	-	-	2.36[g]	3.38[g]	-	-	-	-	-
3 (SW 5)	-	-	3.06[h], 2.84[k]	3.85[h], 2.66[k]	-	-	-	-	-
3 + 30 DOR (SW 5)	-	-	3.28[h]	3.26[h]	-	-	-	-	-
3 (SW 10)	-	-	3.62[l]	3.84[l]	-	-	-	-	-

Confidential

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）

被験物質：イスラトラビル

Steady State AUC (h*μM)									
	Mice		Rats		Monkeys		Rabbits		
Daily Dose (mg/kg)	AUC0-24h		AUC0-24h		AUC0-72h		AUC0-24h	AUC0-168h	Humans
Dose (SD/SW/ GD/PND)	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Female	AUC0-24h
3 (SW 13)	-	-	3.83[g], 3.82[i]	4.80[g], 4.71[i]	-	-	-	-	-
3 (GD 15)	-	-	3.81[m], 3.22[n]	-	-	-	11.5[j], 14.4[o]	-	-
3 (PND 14)	-	-	9.24[b], 6.44[p]	9.24[b], 7.05[p]	-	-	-	-	-
3.5 (SW 13)	4.34[q], 1.88[r]	4.72[q], 2.22[r]	-	-	-	-	-	-	-
5 (SW 4)	-	-	-	-	9.43[s]	9.37[s]	-	-	-
5 (SD 85)	-	-	-	-	9.74[t]	9.55[t]	-	-	-
7 (PND 14)	-	-	21.7[b]	21.7[b]	-	-	-	-	-
10 (SD 1)	9.73[e], 10.6[e]	12.4[e], 13.4[e]	-	-			-	52.8[u]	-
10 (SD 3)	-	-	-	-	29.8[v]	14.2[v], 18.7[v]	-	-	-
10 (SD 7)	-	-	12.4[f]	14.6[f]			-	-	-
10 (SW 5)	-	-	12.7[k]	12.1[k]	-	-	-	-	-
10 (SW 10)	-	-	16.8[l]	16.4[l]	-	-	-	-	-
10 (SW 13)	15.9[q], 6.72[r]	19.2[q], 8.55[r]	17.5[i]	21.2[i]	-	-	-	-	-
10 (GD 15)	-	-	14.4[m], 16.7[n]	-	-	-	41.5[j], 39.6[o]	-	-
10 (PND 14)	-	-	25.6[p]	26.8[p]	-	-	-	-	-
18 (SD 7)	-	-	23.7[f]	33.2[f]	-	-	-	-	-

C Confidential

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）

被験物質：イスラトラビル

Steady State AUC (h*μM)									
Daily Dose (mg/kg)	Mice		Rats		Monkeys		Rabbits		Humans
	AUC0-24h		AUC0-24h		AUC0-72h		AUC0-24h	AUC0-168h	
Dose (SD/SW/ GD/PND)	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Female	AUC0-24h
18 (SW 4)	-	-	33.5[g]	29.1[g]	-	-	-	-	-
18 (SW 13)	33.6[q]	32.9[q]	43.8[g]	38.1[g]	-	-	-	-	-
20 (SW 4)	-	-	-	-	35.6[s]	39.3[s]	-	-	-
20 (SD 85)	-	-	-	-	45.4[t]	56.2[t]	-	-	-
22 (SW 13)	19.5[r]	27.1[r]	-	-	-	-	-	-	-
25 (PND 14)	-	-	73.2[p]	71.4[p]	-	-	-	-	-
30 (SD 1)	35.4[e], 44.6[e]	44.0[e], 52.7[e]	-	-	-	-	-		-
30 (SD 7)	-	-	-	-	75.8[v]	74.2[v], 66.7[v]	-	-	-
35 (SW 13)	72.0[q]	68.6[q]	-	-	-	-	-		-
45 (SW 13)	45.7[r]	66.3[r]	-	-	-	-	-		-
50 (SD 1)	-	-	-	-	-	-	-	205[u]	-
50 (SD 7)	-	-	114[f]	100[f]	-	-	-	-	-
50 (SW 5)	-	-	94.8[k]	78.3[k]	-	-	-	-	-
50 (SW 10)	-	-	146[l]	127[l]	-	-	-	-	-
50 (GD 15)	-	-	114[m], 162[n]	-	-	-	293[o]	-	-
50 (PND 14)	-	-	143[p]	147[p]	-	-	-	-	-

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）

被験物質：イスラトラビル

Steady State AUC (h*μM)									
Daily Dose (mg/kg)	Mice		Rats		Monkeys		Rabbits		Humans
	AUC0-24h		AUC0-24h		AUC0-72h		AUC0-24h	AUC0-168h	
Dose (SD/SW/GD/PND)	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Female	AUC0-24h
75 (SD 10)	-	-	-	-	272[v]	212[v], 183[v]	-	-	-
75 (SW 4)	-	-	-	-	188[s]	203[s]	-	-	-
100 (SD 1)	143[e], 180[e]	154[e], 188[e]	-	-	-	-	-	-	-
100 (SD 61)	-	-	-	-	295[t]	250[t]	-	-	-
200 (SD 1)	-	-	-	-	-	479[w]	-	756[u]	-

- =not applicable; AUC=area under the concentration-time curve; AUC0-Xh=area under the concentration-time curve from time 0 to X hours; DOR=doravirine; GD=gestation day; h=hour(s); ISL=islatravir; PND=postnatal day; QD=once daily; SD=study day; SW=study week.

a. Population pharmacokinetics AUC0-24h in humans (0.038 h*μM) at steady state for the Phase 3 dose of 0.25 mg QD. Dose in mg/kg assumes a human body weight of 50 kg.
b. TT #[redacted]-7130 [4.2.3.5.4.2: TT[redacted]7130] ISL: Oral Tooth Development and Toxicokinetic Study in Rats.
c. TT #[redacted]-1000 [4.2.3.7.6.1: TT[redacted]1000] ISL: Three-Month Oral Toxicity Study in Rats.
d. TT #[redacted]-1013 [4.2.3.7.6.2: TT[redacted]1013] ISL: Three-Month Oral Toxicity Study in Rats.
e. TT #[redacted]-0005 [4.2.3.7.7.2: TT[redacted]0005] ISL: Exploratory Single-Dose Oral Toxicokinetic Study in Mice. The first value is from strain CD-1, and the second value is from strain rasH2 Wild-Type.
f. TT #[redacted]-1067 [4.2.3.7.7.6: TT[redacted]1067] ISL: Exploratory Seven-Day Peripheral Blood Mononuclear Cell (PBMC) Evaluation in Rats.
g. TT #[redacted]-6005 [4.2.3.2.7: TT[redacted]6005] ISL: Six-Month Oral Toxicity Study in Rats.
h. TT #[redacted]-1012 [4.2.3.2.8: TT[redacted]1012] ISL, DOR: One-Month Oral Combination Toxicity Study in Rats.
i. TT #[redacted]-1043 [4.2.3.4.1.1: TT[redacted]1043] ISL: Two-Year Oral Carcinogenicity Study in Rats.
j. TT #[redacted]-7040 [4.2.3.5.2.4: TT[redacted]7040] ISL: Oral Embryo-Fetal Developmental Toxicity and Toxicokinetic Study in Rabbits.
k. TT #[redacted]-1075 [4.2.3.2.5: TT[redacted]1075] ISL: Twenty-Nine-Day Oral Toxicity Study in Rats with Micronucleus and Functional Observational Battery (FOB) Assays.
l. TT #[redacted]-6011 [4.2.3.2.6: TT[redacted]6011] ISL: Six-Month Oral Toxicity Study in Rats with a 2-Month Interim Necropsy and a 2-Month Dosing Period Followed by a 4 or 6-Month Recovery.

(footnotes continued on following page)

C Confidential

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）

被験物質：イスラトラビル

m. TT #[redacted]-7001 [4.2.3.5.2.1: TT[redacted]7001] ISL: Preliminary Oral Embryo-Fetal Developmental Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats.
n. TT #[redacted]-7080 [4.2.3.5.2.2: TT[redacted]7080] ISL: Oral Embryo-Fetal Developmental Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats.
o. TT #[redacted]-7064 [4.2.3.5.2.3: TT[redacted]7064] ISL: Preliminary Oral Embryo-Fetal Developmental Toxicity and Toxicokinetic Study in Rabbits.
p. TT #[redacted]-7035 [4.2.3.5.4.1: TT[redacted]7035] ISL: Exploratory Oral Tolerability and Toxicokinetic Study in Juvenile Rats.
q. TT #[redacted]-6002 [4.2.3.2.1: TT[redacted]6002] ISL: Three-Month Oral Range-Finding and Toxicokinetic Study in rasH2 Wild-Type Mice.
r. TT #[redacted]-1020 [4.2.3.2.2: TT[redacted]1020] ISL: Three-Month Oral Range-Finding Study in Mice (CD-1).
s. TT #[redacted]-1063 [4.2.3.2.10: TT[redacted]1063] ISL: Twenty-Eight Day Oral Toxicity Study in Rhesus Monkeys.
t. TT #[redacted]-1068 [4.2.3.2.11: TT[redacted]1068] ISL: Nine-Month Oral Toxicity Study in Rhesus Monkeys.
u. TT #[redacted]-7023 [4.2.3.7.7.8: TT[redacted]7023] ISL: Exploratory Oral Single Dose Tolerability and Toxicokinetic Study in Nonpregnant Rabbits.
v. TT #[redacted]-1035 [4.2.3.2.9: TT[redacted]1035] ISL: Exploratory Oral Rising-Dose Toxicity Study in Rhesus Monkeys. Dose escalating regiment of 10 mg/kg/day (for 3 days), 30 mg/kg/day (for 4 days), and 75 mg/kg/day (for 3 days), and TK samples for plasma concentration were collected on study days 3, 7, and 10 respectively. Individual animal values are presented.
w. TT #[redacted]-1045 [4.2.3.7.7.9: TT[redacted]1045] ISL: Exploratory Single-Dose Oral Toxicokinetic Study in Rhesus Monkeys. Value is an AUC0-168h value.

C Confidential

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：イスラトラビル

Batch Number	Purity (%)[a]	Specified Impurities (%)[b]							Unspecified Impurities (%)	Total Impurities (%)	Study Number	Type of Study
		A	B	C	D	E	F	G				
PROPOSED SPECIFICATION[c]:	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TT #[redacted]-9041	Microbial Mutagenesis Assay
											#[redacted]-1063	28 Day Toxicity and TK in Monkeys
											#[redacted]-8669	Chromosomal Aberration Assay
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TT #[redacted]-1020	3 Month Toxicity with TK in Mice
											#[redacted]-1075	29 Day Toxicity with TK and FOB and Micronucleus Assays in Rats
											#[redacted]-6011	2 or 6 Month Toxicity and TK with a 4 or 6 Month Recovery Period in Rats
											#[redacted]-6005	6 Month Toxicity and TK in Rats
											#[redacted]-1012	1 Month Combination Toxicity and TK in Rats (ISL + DOR)
											#[redacted]-1068	9 Month Toxicity and TK in Monkeys

C Confidential

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧（続き）

被験物質：イスラトラビル

Batch Number	Purity (%)[a]	Specified Impurities (%)[b]							Unspecified Impurities (%)	Total Impurities (%)	Study Number	Type of Study
		A	B	C	D	E	F	G				
PROPOSED SPECIFICATION[c]:	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
											TT #[redacted]-7030	Female and Male Fertility in Rats
											TT #[redacted]-7080	EFD with TK in Rats
											TT #[redacted]-7040	EFD with TK in Rabbits
											TT #[redacted]-7130	Tooth development with TK in Rats
[redacted]	[redacted]	[redacted][d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TT #[redacted]-6002	3 Month Toxicity with TK in Mice
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TT #[redacted]-7080	PPND in Rats
											TT #[redacted]-1043	2 Year Carcinogenicity in Rats (Weeks 1 to 76)
											TT #[redacted]-7100	Lactational Transfer in Postnatal Rats
[redacted]	[redacted]	[redacted][d]	[redacted]	[redacted][e]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TT #[redacted]-1000	3 Month Impurities Qualification Toxicity Study in Rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TT #[redacted]-7826	Bovine Corneal Opacity and Permeability Test
											TT #[redacted]-7828	MatTek EpiDerm™ MTT Viability Assay
											TT #[redacted]-7827	Local Lymph Node Assay in Mice

C Confidential

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧（続き）

被験物質：イスラトラビル

Batch Number	Purity (%)[a]	Specified Impurities (%)[b]							Unspecified Impurities (%)	Total Impurities (%)	Study Number	Type of Study
		A	B	C	D	E	F	G				
PROPOSED SPECIFICATION[c]:	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TT #[redacted]-1043	2 Year Carcinogenicity Study in Rats (Weeks 77 to 104)
											TT #[redacted]-9007	26 Week Carcinogenicity Study in Mice
[redacted]	[redacted]	[redacted][d]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TT #[redacted]-1013	3 Month Impurities Qualification Toxicity Study in Rats

CMPD=compound; DOR=doravirine; EFD=embryo-fetal development(al); HPLC=high-performance liquid chromatography; ISL=islatravir; ND=not determined; NR=not reportable; PPND=pre and post-natal developmental; TK=toxicokinetic(s).

Note: A=[redacted], B=[redacted], C=[redacted], D=[redacted], E=[redacted], F=[redacted], and G=[redacted].

a. Purity: 100 – total impurities by HPLC weight percent.

b. Specified impurities by HPLC weight percent.

c. See Quality section for complete specification.

d. The impurity level in CoA was corrected for a relative response factor (RRF) of [redacted] for the [redacted] impurity to convert it from area % to weight %.

e. The impurity level in CoA was corrected for an RRF of [redacted] for the [redacted] impurity to convert it from area % to weight %.

C Confidential

2.6.7.5　単回投与毒性試験

ISL を用いた独立した急性毒性試験は実施しなかった。単回投与後の毒性はマウス、ラット及びサルを用いた反復経口投与毒性試験、並びにマウス、ラット、ウサギ及びサルを用いた単回投与 TK 試験の結果から評価した。

C Confidential

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration in Vehicle/Formulation	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Study Number
Rat / Wistar Han	Oral (gavage) in 30% Captisol in deionized water	5 days	0, 30, 200	4 / sex / group	30	TT #[redacted]-1040 [4.2.3.2.3: TT[redacted]1040]

Noteworthy Findings:

See [2.6.3.4 項] for functional observational battery results and [2.6.7.9.A 項] for micronucleus analysis results.

No ophthalmic findings were noted.

Unscheduled deaths of all F and M at 200 mg/kg/day occurred on SD 5. Cause of death was liver toxicity at a dose associated with excessive toxicity. These unscheduled deaths occurred at a very high AUC EM (8,790-fold the exposure in humans at the RHD) is not relevant to humans. Decreased body weight and food consumption occurred in both sexes at 200 mg/kg/day. Clinical signs at 200 mg/kg/day included partially closed eyes, clear eye discharge, hunched posture, piloerection, decreased activity, cool to touch, and scant, unformed, or no feces. Due to mortality and clinical signs of moribundity, all surviving 200 mg/kg/day rats were terminated on SD 5; control and 30 mg/kg/day dose groups were terminated on SD 6 as per protocol.

Hematological changes at 200 mg/kg/day included very sl to sl ↑ in red blood cells, hemoglobin, hematocrit, and neutrophils in both sexes, and very sl ↑ in white blood cells and monocytes in M. In F, very sl ↓ in reticulocytes were seen at 200 mg/kg/day and 30 mg/kg/day, and sl ↓ in lymphocytes was seen at 200 mg/kg/day. Very sl to sl ↑ in white blood cells and neutrophils were observed in M at 30 mg/kg/day.

Both sexes at 200 mg/kg/day had severe ↑ in aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase (30 to 60-fold elevations), moderate ↑ in total bilirubin and lactate (M only), and sl ↑ in alkaline phosphate, blood urea nitrogen, and creatinine. Sl ↓ in potassium in both sexes and sl ↓ in triglycerides in M were noted at 200 mg/kg/day. Trace amounts of occult blood was present in the urine of both sexes at 200 mg/kg/day.

Histopathologic findings at 200 mg/kg/day included hepatocellular degeneration, hyperplasia of bile duct epithelium, and periportal inflammation, as well as glandular degeneration in the stomach. The stomach changes were similar histopathologically but had an ↑ severity compared to those stomach changes observed in the 7-day rat toxicity study (TT #[redacted]-2513) at 100 mg/kg/day. The histopathologic liver changes correlated with grossly noted liver discoloration at 200 mg/kg/day, and with clinical pathology elevations noted just prior to the rats' unscheduled termination.

Histopathologic changes were also observed in the heart (only in few found dead F, very sl hemorrhage and associated myofiber swelling, and fragmentation just under the endocardium, mostly in the area of the papillary muscles), lymphoid tissues (degeneration and/or necrosis of lymphoid cells in the spleen, thymus, and lymph nodes), and bone marrow (very sl to sl depletion of all cellular components) from rats dosed at 200 mg/kg/day and were considered secondary to stress, poor physical condition, and morbidity.

In addition, ISL and ISL-TP levels were measured and detected in liver, kidney, skeletal muscle, and heart. These tissues generally had greater ISL concentrations than that measured in plasma collected from animals at the terminal necropsy. ISL-TP levels were not detected in PBMCs.

Based on the very sl ↓ in reticulocytes in F and very sl to sl ↑ in white blood cells (neutrophils) in M at 30 mg/kg/day, the NOEL in this study was <30 mg/kg/day. However, the NOAEL was 30 mg/kg/day based on excessive toxicity resulting in mortality and histomorphologic findings at 200 mg/kg/day because the very sl to sl changes at 30 mg/kg/day were not considered adverse.

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration in Vehicle/Formulation	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Study Number
Rat / Wistar Han	Oral (gavage) in polysorbate 80 with deionized water 10:90 (w/w)	7 days	0, 10, 30, 100	5 M / group (Histology arm); 3 M / group (PBMC arm)	30	TT #[redacted]-2513 [4.2.3.2.4: TT[redacted]2513]

Noteworthy Findings:

There was no mortality, clinical signs, or changes in body weight, or qualitative micro-CT evaluation of right femur and tibia. Very sl (+ 11% at 10 and 30 mg/kg/day) to sl (+ 22% at 100 mg/kg/day) ↑ in pepsinogen were noted. A sl ↑ in urine calcium/urine creatinine occurred at 100 mg/kg/day. Very sl glandular mucosa degeneration was noted in the stomach in all rats at 100 mg/kg/day. These changes were characterized by single cell necrosis of the glandular epithelium within the mucus-neck cell area of the fundic region with occasional accumulations of sloughed epithelium within the lumen of the glands. All 3 anabolites (ie, ISL-MP, ISL-DP, and ISL-TP) were detected in the PMBCs at all dose levels at 2 h postdose on SD 7.

Mean PBMC ISL, ISL-MP, ISL-DP, ISL-TP Concentrations (SD 7): Mean ± Standard Deviation, n=3[a]

Dose (mg/kg/day)	Compound	Mean (pmol/10^6 cells)[b]
10	ISL	1.04 ± NA
	ISL-MP	3.48 ± NA
	ISL-DP	3.89 ± 1.43
	ISL-TP	2.27 ± 1.18
30	ISL	1.18 ± 0.25
	ISL-MP	2.88 ± 0.98
	ISL-DP	3.76 ± 0.28
	ISL-TP	1.02 ± 0.32
100	ISL	5.07 ± 0.57
	ISL-MP	7.27 ± 0.34
	ISL-DP	17.4 ± 3.2
	ISL-TP	3.53 ± 0.81

Based on the very sl ↑ in pepsinogen at 10 and 30 mg/kg/day, the NOEL was <10 mg/kg/day. However, based on the very sl glandular stomach degeneration observed at 100 mg/kg/day and given the minimal magnitude of pepsinogen changes observed at 30 mg/kg/day and lack of histomorphologic correlates, the NOAEL was 30 mg/kg/day because the ↑ in pepsinogen at 10 and 30 mg/kg/day were not considered adverse.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration in Vehicle/Formulation	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Study Number
Monkey / Rhesus	Oral (gavage) in 10% polysorbate 80 in deionized water	10 days	Rising dose 10 (for 3 days) + 30 (for 4 days) + 75 (for 3 days)	0: 2F, 1M 10/30/75: 1F, 2M	ND	TT #[redacted]-1035 [4.2.3.2.9: TT[redacted]1035]

Noteworthy Findings:

There was no mortality and no ISL-related clinical signs, changes in body weight, food consumption, or clinical pathology parameters (including gastrin and pepsinogen). One F at 10/30/75 mg/kg/day had ↑ serum pepsinogen, however, because the ↑ did not correlate with the rise in dose, and the ↑ were only 3% to 21% higher than individual control F values, the ↑ were considered of uncertain relationship to ISL.

ISL-related postmortem findings were limited to the stomach and consisted of sl to moderate degeneration of the glandular mucosa of the fundic section of the stomach (observed in all 3 animals).

ISL-MP, ISL-DP, and ISL-TP were detected in the PBMCs at all dose levels at approximately 24 h after the last dose (see table below). Parent ISL in PBMCs was undetectable in 1 M at all doses and 1 F at 75 mg/kg/day.

ISL, ISL-MP, ISL-DP, ISL-TP Concentrations in PBMCs (SD 11)[a]

Dose (mg/kg/day)	Animal # / Sex	ISL (pmol/10^6 cells)[c]	ISL-MP (pmol/10^6 cells)[c]	ISL-DP (pmol/10^6 cells)[c]	ISL-TP (pmol/10^6 cells)[c]
10	13-0079 / F	0.306	5.41	37.1	8.03
	13-0062 / M	0.432	4.72	23.9	2.71
	13-0076 / M	BLQ	2.02	16.7	2.41
30	13-0079 / F	0.480	11.5	73.1	8.98
	13-0062 / M	0.274	6.67	62.1	9.48
	13-0076 / M	BLQ	2.39	23.5	9.79
75	13-0079 / F	BLQ	5.23	47.2	31.8
	13-0062 / M	0.230	9.12	53.1	21.1
	13-0076 / M	BLQ	2.94	28.6	21.4

(footnotes presented on following page)

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

被験物質：イスラトラビル

↑=increase; ↓=decrease; AUC=area under the concentration-time curve; BLQ=below limit of quantification; DP=diphosphate; EM=exposure multiple; F=female; h=hour(s); ISL=islatravir; M=male; micro-CT=micro-computated tomography; LCMS/MS=liquid chromatography-tandem mass spectrometry; MP=monophosphate; n=number; NA=not applicable; ND=not determined; No.=number; NOAEL=no observed adverse effect level; NOEL=no observed effect level; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; RHD=recommended human dose; SD=study day; sl=slight; TP=triphosphate; w/w=weight/weight.

a. The measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS was divided by the total number of viable cells (in units of 10^6 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar, this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).

b. Approximately 2 h postdose.

c. Approximately 24 h postdose.

C Confidential

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.A　ISL：rasH2野生型マウスを用いた3ヵ月間経口投与用量設定及び TK 試験（TT #[redacted]-6002）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain: Mouse / CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (wt/wt) **Initial Age:** approximately 8 weeks **Date of First Dose:** [redacted] **Dose Volume:** 10 mL/kg	**Duration of Dosing:** 3 months (86 to 103 days) **Duration of Postdose:** NA **Method of Administration:** Oral (gavage) **Vehicle/Formulation:** 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	**Study Number:** TT #[redacted]-6002 **Location in CTD:** [4.2.3.2.1: TT[redacted]6002] **GLP Compliance:** Yes[a]
Special Features: Metabolite M4 concentrations from ISL-treated animals were assessed using a semi-quantitative analysis (SW 13). **No Observed Adverse Effect Level:** 18 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		3.5		10		18		35	
No. of Animals	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10
Toxicokinetics – SW 13[b]	F: 5	M: 5	F: 11	M: 11	F: 11	M: 11	F: 11	M: 11	F: 11	M: 11
AUC0-24h (h*µM)	NA	NA	4.34	4.72	15.9	19.2	33.6	32.9	72.0	68.6
Cmax (µM)	NA	NA	2.54	3.96	11.2	8.64	18.8	18.1	38.8	36.7
Tmax (h)	NA	NA	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
M4 Analysis (nM) – SW 13[c]	NA		82		251		411		728	
Noteworthy Findings										
Mortality (No. of Animals)[b]	0	0	0	0	0	1d	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%)[e] – SW 1	20.9 g	-	- 0.5	-	- 3.3	-	- 1.9	-	[- 6.7]	-
Body Weight Change (%)[e] – Pretest to SW 14	3.9 g	-	- 26	-	- 5	-	- 13	-	[- 44]	-

C Confidential

2.6.7.7.A　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6002（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		3.5		10		18		35	
No. of Animals	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10
Noteworthy Findings, Continued										
Hematology (Mean Values)[f] – SW 15										
White Blood Cell Count ($10^3/\mu L$)[g]	2.79	4.07	2.62	2.87	[1.74*]	[1.93*]	[1.60*]	[1.85*]	[1.02*]	[1.80*]
Lymphocytes ($10^3/\mu L$)[h]	2.30	3.21	2.17	2.32	[1.39*]	[1.37*]	[1.15*]	[1.29*]	[0.61*]	[1.15*]
Serum Biochemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)[i]										
Spleen										
Relative to Brain Weight (%)	13.2	14.3	- 23*	- 20*	[- 30*]	[- 29*]	[- 34*]	[- 33*]	[- 41*]	[- 42*]
Testis										
Relative to Brain Weight (%)	NA	60.16	NA	-2	NA	+ 0.5	NA	-8	NA	[- 22*]
Histomorphology (Incidence)										
Spleen										
- lymphoid tissue, depletion										
minimal	0/10	0/10	NE	0/10	0/10	[2/10]	[3/10]	[2/10]	[3/10]	[3/10]
Testis										
- epithelium, degeneration										
minimal	NA	0/10	NA	NE	NA	NE	NA	0/10	NA	[3/10]

(footnotes presented on following page)

C Confidential

2.6.7.7.A　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6002（続き）

被験物質：イスラトラビル

- =no noteworthy findings; [ ]=test article-related change based on incidence and/or severity; AUC=area under the concentration-time curve; AUC0-24h=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; CTD=Common Technical Document; EM=exposure multiple; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ISL=islatravir; M=male; NA=not applicable; NE=not examined; No.=number; RHD=recommended human dose; SD=study day; SW=study week; Tmax=time to reach maximum concentration; TK=toxicokinetic(s); w/w=weight/weight; #/# =number affected/number examined; *$p \leq 0.05$.

a. GLP compliant with the exception of ISL metabolite M4 analysis.
b. One F and one M in the toxicokinetics arm at 35 mg/kg/day were found dead on SD 6 and SD 59, respectively. The cause of death of the F was consistent with intubation accident. The cause of death for the M is unknown, as there were no gross observations noted; however, no mortality was observed at 35 mg/kg/day in M or F in the toxicity arm of the study, and this unscheduled death occurred at a very high AUC EM (2,239-fold the exposure in humans at the RHD) that is not relevant to humans.
c. Analysis indicates that M4 was present at an average concentration of 82, 251, 411, and 728 nM in the 3.5, 10, 18, and 35 mg/kg/day groups, respectively. Under the experimental conditions used for this analysis, the concentrations of M4 represented approximately 20% to 40% of the total ISL-related material in plasma.
d. One M in 10 mg/kg/day toxicity arm was early sacrificed on SD10; cause of death consistent with intubation accident.
e. For controls, group means are shown. For treatment groups, percent differences from controls are shown.
f. Control and treatment group values are mean absolute values.
g. Result of alterations in lymphocyte count.
h. Decreased lymphocyte counts correlated with the histomorphologic findings in the spleen.
i. Control values are the mean organ weight as a percent of brain weight; treatment group values are the mean percent change from concurrent controls of organ weight relative to brain weight.

2.6.7.7.B　ISL：マウスを用いた3ヵ月間経口投与用量設定試験（TT #[redacted]-1020）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain: Mouse / CD-1 **Initial Age:** approximately 6 weeks **Date of First Dose:** [redacted] **Dose Volume:** 10 mL/kg	**Duration of Dosing:** 3 months (90 to 92 days) **Duration of Postdose:** NA **Method of Administration:** Oral (gavage) **Vehicle/Formulation:** 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	**Study Number:** TT #[redacted]-1020 **Location in CTD:** [4.2.3.2.2: TT[redacted]1020] **GLP Compliance:** Yes[a]
Special Features: Metabolite M4 concentrations from ISL-treated animals were assessed using a semi-quantitative analysis on SD 90 (SW 13). **No Observed Adverse Effect Level:** ≥45 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		3.5		10		22		45	
No. of Animals	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10
Toxicokinetics – SW 13[b]	F: 5	M: 5	F: 11	M: 11	F: 11	M: 11	F: 11	M: 11	F: 11	M: 11
AUC0-24h (h*µM)	NA	NA	1.88	2.22	6.72	8.55	19.5	27.1	45.7	66.3
Cmax (µM)	NA	NA	1.71	1.45	5.75	6.64	14.2	12.4	29.5	37.3
Tmax (h)	NA	NA	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
M4 Analysis (nM) – SW 13[c]	NA		45		92		273		601	
Noteworthy Findings										
Mortality (No. of Animals)[b]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Mean Values)[d] – SW 14										
Lymphocytes (10^3/µL)[f]	1.96	3.45	1.64	[1.73*]	[1.10]	[1.49*]	[0.87*]	[0.87*]	[0.78*]	[0.73*]
White Blood Cell Count (10^3/µL)[e]	2.60	4.89	2.16	[2.56*]	[1.70]	[2.72*]	[1.44]	[1.51*]	[1.42]	[1.61*]

Confidential

2.6.7.7.B　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1020（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		3.5		10		22		45	
No. of Animals	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10
Noteworthy Findings, Continued										
Serum Biochemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)[g]										
Spleen										
Relative to Brain Weight (%)	21.3	21.0	-13	-14	[- 18*]	[- 20*]	[- 27*]	[- 21*]	[- 27*]	[- 28*]
Histomorphology (Incidence)										
Spleen										
- lymphoid tissue, depletion										
minimal	0/10	0/10	0/10	0/10	[1/10]	[2/10]	[4/10]	[2/10]	[4/10]	[5/10]

(footnotes presented on following page)

Confidential

2.6.7.7.B　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1020（続き）

被験物質：イスラトラビル

- =no noteworthy findings; [ ]=test article-related change based on incidence and/or severity; AUC=area under the concentration-time curve; AUC0-24h=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; CTD=Common Technical Document; EM=exposure multiple; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ISL=islatravir; M=male; NA=not applicable; No.=number; RHD=recommended human dose; SD=study day; SW=study week; Tmax=time to reach maximum concentration; w/w=weight/weight; #/# =number affected/number examined; *$p \leq 0.05$.

a. GLP compliant with the exception of ISL metabolite M4 analysis.

b. One 10 mg/kg/day M from the toxicokinetics arm was found dead prior to dosing on SD 21. There were no clinical signs documented for this animal prior to death. The carcass of the animal was discarded without evaluation. This death was not considered test article-related due to the absence of additional deaths and/or clinical signs at this dose level. Additionally, this unscheduled death occurred at a high AUC EM (243-fold the exposure in humans at the RHD) not relevant to humans. One 45 mg/kg/day M, also from the toxicokinetics arm, was found dead immediately after blood collection on SD 90. This death was attributed to the bleeding procedure and was not considered test article-related.

c. Semi-quantitative average ISL metabolite M4 concentrations were 45, 92, 273, and 601 nM in the 3.5, 10, 22, and 45 mg/kg/day dose groups, respectively. Under the experimental conditions used for this analysis, the concentrations of M4 were approximately 2 to 4-fold lower than the average concentrations of ISL calculated from AUC0-24h.

d. Control and treatment group values are mean absolute values.

e. Result of alterations in lymphocyte count.

f. Decreased lymphocyte counts were associated with the histomorphologic findings in the spleen.

g. Control values are the mean organ weight as a percent of brain weight; treatment group values are the mean percent change from concurrent controls of organ weight relative to brain weight.

C Confidential

2.6.7.7.C　ISL：ラットを用いた29日間経口投与毒性試験（小核及びFOB評価を含む）（TT #[redacted]-1075）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain: Rat / Wistar Han **Initial Age:** 5 weeks **Date of First Dose:** [redacted] **Dose Volume:** 5 mL/kg	**Duration of Dosing:** 1 month (28 to 29 days) **Duration of Postdose:** NA **Method of Administration:** Oral (gavage) **Vehicle/Formulation:** Polysorbate 80/deionized water (10:90 w/w)	**Study Number:** TT #[redacted]-1075 **Location in CTD:** [4.2.3.2.5: TT[redacted]1075] **GLP Compliance:** Yes[a]
Special Features: An FOB assay was conducted in male rats (first 6/group) after a single oral dose on SD 1, see [2.6.3.4 項]. Micronucleus analysis of bone marrow collected at final necropsy was conducted, see [2.6.7.9.B 項]. PBMC Arm for analyses of PBMC and serum pepsinogen. **No Observed Adverse Effect Level:** ≥50 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		50	
No. of Animals - Total	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10
No. of Animals - TK and PBMC	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3
Toxicokinetics – SW 5[b,c]								
AUC0-24h (h*µM)	NA	NA	2.84	2.66	12.7	12.1	94.8	78.3
Cmax (µM)	NA	NA	1.57	1.33	4.80	4.95	21.2	16.6
Tmax (h)	NA	NA	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
ISL Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SW 5[d]								
2 h (µM)	0.00 ± 0.00	0.00 ± ID	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00836 ± 0.000801	0.0115 ± 0.00221
ISL-MP (± SE) Mean Concentrations in PBMCs – SW 5[d]								
2 h (µM)	0.00 ± 0.00	0.00 ± ID	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

C Confidential

2.6.7.7.C　　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1075（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		50	
No. of Animals - Total	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10
No. of Animals - TK and PBMC	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3
ISL-DP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SW 5[d]								
2 h (µM)	0.00 ± 0.00	0.00 ± ID	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00763 ± 0.00763
ISL-TP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SW 5[d]								
2 h (µM)	0.00 ± 0.00	0.00 ± ID	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00431 ± 0.00431	0.0183 ± 0.00277
Noteworthy Findings								
Mortality (No. of Animals)	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-
Hematology (%)[e] – SW 4								
White Blood Cell Count (10^3/µL)	3.88	5.12	+ 5.67	+ 17.8	+ 19.1	[+ 33.8*]	[+ 37.4*]	[+ 32.0*]
Lymphocytes (10^3/µL)	3.28	4.30	+ 7.62	+ 21.4	+ 23.2	[+ 35.8*]	[+ 39.9*]	[+ 31.2*]
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-

C Confidential

2.6.7.7.C　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1075（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		3		10		50	
No. of Animals	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10
Noteworthy Findings, Continued								
Serum Biochemistry (%)[e] – SW 4								
Alanine Aminotransferase (IU/L)	16	25	+ 25*	+ 8	+ 31*	+ 12	[+ 44*]	[+ 36*]
Aspartate Aminotransferase (IU/L)	90	92	- 1	+ 1	+ 10	+ 8	[+ 22*]	[+ 32*]
Serum Pepsinogen	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis/Urine Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Histomorphology (Incidence)								
Teeth								
- incisor odontoblast, degeneration								
marked	0/10	0/10	NE	NE	NE	NE	[10/10]	[10/10]

(footnotes presented on following page)

C Confidential

2.6.7.7.C　　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1075（続き）

被験物質：イスラトラビル

- =no noteworthy findings; [ ]=test article-related change based on incidence and/or severity; AUC0-24h=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; CTD=Common Technical Document; DP=diphosphate; F=female; FOB=functional observational battery; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ID=insufficient data; ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; M=male; MP=monophosphate; NA=not applicable; NE=not examined; No.=number; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; SD=study day; SW=study week; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration; TP=triphosphate; w/w=weight/weight; #/# =number affected/number examined; *$p \leq 0.05$.

a. GLP compliant with the exception of the analyses PBMCs and serum pepsinogen.
b. TK group also used for analyses of PBMC and serum pepsinogen.
c. ISL concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM).
d. Only 2 males were sampled in the control group. LLQ=0.00682 µM. Assessment of ISL and of phosphorylated ISL isoforms in PBMCs indicated that the mean concentration values of ISL and ISL-TP were similar at 2 h postdose at 50 mg/kg/day. For all other doses and analytes, concentration values in PBMCs were below the LLQ at 2 h postdose with the exception of one animal for ISL-DP at 50 mg/kg/day.
e. For controls, group means are shown. For treatment groups, percent differences from controls are shown.

2.6.7.7.D　ISL：ラットを用いた6ヵ月間経口投与毒性試験（2ヵ月時の中間剖検及び4又は6ヵ月間の回復期間を伴った2ヵ月間投与を含む）（TT #[redacted]-6011）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain: Rat / Wistar Han **Initial Age:** approximately 5 weeks **Date of First Dose:** [redacted] **Dose Volume:** 5 mL/kg	**Duration of Dosing:** 2, 6, or 8 months (64 to 260 days) **Duration of Postdose:** 4 or 6 months **Method of Administration:** Oral (gavage) **Vehicle/Formulation:** 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	**Study Number:** TT #[redacted]-6011 **Location in CTD:** [4.2.3.2.6: TT [redacted]6011] **GLP Compliance:** Yes[a]
Special Features: IN at SW 10 and SW 27, FN at SW 38. Metabolite M4 concentrations from ISL-treated animals in the 10 mg/kg/day group were assessed using a semi-quantitative performed by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry (SW 10). Micro-CT imaging was performed on heads and hindlegs/femurs. **NOAEL:** 3 mg/kg/day=NOEL/NOAEL; 10 mg/kg/day=NOAEL excluding findings in continuously growing incisors.		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No. of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Toxicokinetics – SW 10[c]												
AUC0-24h (h*µM)	NA	NA	3.62	3.84	16.8	16.4	146	127	NA	NA	NA	NA
Cmax (µM)	NA	NA	1.49	1.36	4.74	3.35	23.7	20.4	NA	NA	NA	NA
Tmax (h)	NA	NA	0.69	0.75	0.90	1.1	1.4	1.8	NA	NA	NA	NA
M4 Analysis (nM) – SW 10[d]	NA		NA		577		NA		NA		NA	
Noteworthy Findings												
Mortality (No. of Animals)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

C Confidential

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No.of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Noteworthy Findings, Continued												
Clinical Observations (No. of Animals) – Study Days 1 to 65												
Oral cavity signs, Discoloration, incisors (red, black, white)	0/16	0/16	0/16	0/16	[3/10]	[2/10]	[10/10]	[10/10]	[1/6]	[2/6]	[6/6]	[6/6]
Oral cavity signs, Broken incisors	0/16	0/16	0/16	0/16	0/10	0/10	[7/10]	[8/10]	0/6	0/6	[5/6]	[5/6]
Clinical Observations (No. of Animals) – Study Days 66 to 185 (F)/184 (M)												
Oral cavity signs, Discoloration, incisors (red, black, white)	0/8	0/8	0/8	0/8	[4/5]	[5/5]	[5/5]	[5/5]	[2/6]	[2/6]	[6/6]	[6/6]
Oral cavity signs, Broken incisors	0/8	0/8	0/8	0/8	0/5	0/5	[5/5]	[5/5]	0/6	0/6	[6/6]	[6/6]
Clinical Observations (No. of Animals) – Study Days 186 (F)/185 (M) to 261												
Oral cavity signs, Discoloration, incisors (red, black, white)	0/4	0/4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1/6	0/6	NA	NA
Oral cavity signs, Broken incisors	0/4	0/4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0/6	0/6	NA	NA

C Confidential

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No. of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Noteworthy Findings, Continued												
Body Weight[e]												
SW 7	211.6 g	362.5 g	+ 2.2	+ 4.1	+ 1.8	- 2.4	- 1.0	[- 1.7]	+ 4.7	- 1.2	- 7.2	[- 12.2]
SW 8	214.0 g	378.7 g	+ 3.2	+ 2.9	+ 3.1	- 3.8	- 0.56	[- 3.8]	+ 4.8	- 2.3	- 8.1	[- 19.1]
SW 9	219.0 g	387.1 g	+ 3.5	+ 2.7	+ 3.3	- 3.6	- 1.6	[- 7.0]	+ 6.0	- 2.8	- 4.8	[- 16.2]
SW 10	224.8 g	398.3 g	+ 2.2	+ 1.2	+ 1.6	- 4.3	[- 2.6]	[- 7.6]	+ 4.9	- 4.1	[- 8.8]	[- 15.3]
SW 11	231.0 g	421.6 g	+ 1.3	- 1.1	- 0.52	+ 1.2	[- 3.1]	[- 10.3]	+ 4.3	- 5.0	[- 7.4]	[- 14.5]
SW 12	228.7 g	425.2 g	+ 1.6	- 2.2	+ 1.3	+ 0.21	[- 3.7]	[- 10.6]	+ 6.3	- 5.7	- 4.6	[- 12.3]
SW 13	234.8 g	431.2 g	+ 0.38	- 4.9	+ 2.8	+ 2.5	[- 4.9]	[- 9.5]	+ 5.5	- 4.8	- 4.1	[- 11.1]
SW 14	235.6 g	437.5 g	+ 1.1	- 2.7	+ 3.4	+ 1.6	[- 0.81]	[- 7.6]	+ 6.2	- 4.5	- 0.76	[- 10.5]
SW 15	244.4 g	450.7 g	- 0.04	- 2.3	+ 2.5	+ 0.69	[- 3.5]	[- 11.8]	+ 5.3	- 6.1	- 3.1	[- 12.0]
SW 16	243.5 g	457.6 g	+ 0.12	- 1.9	- 0.21	+ 1.1	[- 4.6]	[- 10.4]	+ 6.1	- 5.6	- 2.1	[- 10.3]
SW 17	246.4 g	465.4 g	+ 0.41	- 2.4	+ 2.6	+ 0.69	[- 6.9]	[- 13.3]	+ 4.9	- 6.4	- 2.2	[- 10.1]
SW 18	248.0 g	470.3 g	- 0.36	- 2.6	+ 4.2	+ 0.68	[- 9.3]	[- 13.9]	+ 5.4	- 6.2	- 1.4	[- 9.8]
SW 19	252.2 g	477.5 g	+ 0.36	- 2.0	+ 2.9	+ 0.90	[- 5.7]	[- 15.3]	+ 5.3	- 6.7	- 1.7	[- 9.2]
SW 20	252.1 g	482.5 g	+ 1.4	- 2.4	+ 2.9	+ 0.60	[- 10.6]	[- 17.9]	+ 5.6	- 7.1	- 2.5	[- 9.1]

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No. of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Noteworthy Findings, Continued												
Body Weight, Continued[e]												
SW 21	257.1 g	489.1 g	+ 0.93	- 2.2	+ 3.2	+ 0.59	[- 6.5]	[- 15.0]	+ 3.7	- 7.1	- 3.0	[- 9.1]
SW 22	258.5 g	494.7 g	+ 0.77	- 2.0	+ 3.9	+ 0.87	[- 9.0]	[- 18.7]	+ 4.8	- 7.2	- 2.6	[- 8.7]
SW 23	262.4 g	501.2 g	+ 0.38	- 2.1	+ 3.2	+ 0.74	[- 11.8]	[- 20.5]	+ 4.1	- 7.4	- 4.6	[- 8.1]
SW 24	262.1 g	506.8 g	+ 1.7	- 2.1	+ 3.9	+ 0.83	[- 8.4]	[- 21.7]	+ 3.9	- 7.6	- 4.2	[- 7.9]
SW 25	260.0 g	503.3 g	+ 1.1	- 2.5	+ 4.7	+ 0.14	[- 7.5]	[- 24.6]	+ 5.5	- 7.9	- 2.7	[- 7.5]
SW 26	263.6 g	509.5 g	+ 0.95	- 2.6	+ 4.6	+ 0.47	[- 7.9]	[- 25.0]	+ 6.1	- 7.9	- 2.2	[- 7.5]
Body Weight Change (%)[f]												
Pretest to SW 26[g]	139.2 g	360.9 g	+ 0.2	- 5.9	+ 3.7	+ 0.8	[- 22.4]	[- 38.9]	+ 7.8	- 10	+ 0.4	[- 10.6]
Food Consumption (%)[h]												
SW 6	15.0 g	23.2 g	+ 0.67	- 1.3	- 6.0	- 5.2	[- 8.7]	[- 10.3]	+ 8.0	- 2.2	[- 18.0]	[- 20.7]
SW 7	15.3 g	22.0 g	+ 0.65	+ 5.5	- 2.6	+ 2.7	[- 7.2]	[- 7.3]	+ 9.2	- 1.8	[- 20.9]	[- 54.1]
SW 8	17.0 g	24.9 g	- 1.8	- 2.4	- 8.2	- 5.2	[- 7.6]	[- 21.3]	+ 8.8	- 6.8	[- 14.7]	[- 17.3]
SW 9	16.3 g	23.9 g	+ 0.61	- 2.9	- 4.3	- 7.1	[- 3.1]	[- 13.4]	+ 8.0	- 10.0	[- 19.0]	NE
Ophthalmoscopy	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-	NE	NE	-	-

2.6.7.7.D 反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No. of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Noteworthy Findings, Continued												
Hematology (Mean Values)[i] – SW 8												
Lymphocytes (10^3/µL)	4.04	6.73	3.57	6.26	4.51	7.58	[5.93*]	[7.99]	NA	NA	NA	NA
Monocytes (10^3/µL)	0.09	0.19	0.08	0.24	0.13	0.27*	[0.14*]	[0.28*]	NA	NA	NA	NA
Neutrophils (10^3/µL)	0.52	1.06	0.46	0.98	0.82	1.14	[1.07*]	[1.84*]	NA	NA	NA	NA
White Blood Cell Count (10^3/µL)	4.78	8.18	4.20	7.65	5.58	9.17	[7.28*]	[10.32*]	NA	NA	NA	NA
Hematology (Mean Values)[i] – SW 12												
Lymphocytes (10^3/µL)	2.65	4.83	3.87*	4.33	3.54	6.17	[6.42*]	[7.41*]	3.04	4.65	[4.45*]	4.43
Monocytes (10^3/µL)	0.08	0.14	0.13	0.17	0.11	0.18	[0.23*]	[0.21]	0.11	0.17	0.11	0.12
Neutrophils (10^3/µL)	0.49	0.96	0.53	0.83	0.62	1.16	[1.05*]	[1.78*]	0.93*	0.88	0.66	1.18
White Blood Cell Count (10^3/µL)	3.32	6.09	4.65	5.45	4.39	7.64	[7.89*]	[9.57*]	4.20	5.84	[5.34*]	5.86
Hematology (Mean Values)[i] – SW 24												
Lymphocytes (10^3/µL)	2.15	3.87	3.01	4.25	2.40	5.41*	[4.96*]	[6.33*]	1.90	3.60	2.69	3.35
Monocytes (10^3/µL)	0.07	0.16	0.11	0.17	0.11	0.25	[0.16*]	[0.27]	0.08	0.22	0.06	0.15
Neutrophils (10^3/µL)	0.51	1.11	0.60	0.87	0.50	1.35	[1.04*]	[1.73]	0.76	1.38	0.47	1.02
White Blood Cell Count (10^3/µL)	2.80	5.30	3.83	5.44	3.11	7.21*	[6.31*]	[8.54*]	2.84	5.37	3.30	4.64
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No. of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Noteworthy Findings, Continued												
Serum Biochemistry (Mean Values)[i] – SW 8												
ALP (IU/L)	73	130	69	126	69	126	[95*]	143	NA	NA	NA	NA
AST (IU/L)	71	71	71	84*	84*	84*	[105*]	[101*]	NA	NA	NA	NA
Serum Biochemistry (Mean Values)[i] – SW 12												
Albumin/Globulin Ratios	1.2	-	1.3	-	1.2	-	[1.0*]	-	1.2	-	1.1*	-
ALP (IU/L)	49	84	54	86	50	98	[71]	103	54	81	49	96
AST (IU/L)	72	82	84	89	101*	86	[110*]	[113]	88	74	78	90
Globulin (g/dL)	2.9	-	2.9	-	2.9	-	[3.2*]	-	3.0	-	3.1	-
Serum Biochemistry (Mean Values)[i] – SW 24												
Albumin/Globulin Ratios	1.2	-	1.3	-	1.3	-	[1.0*]	-	1.2	-	1.2	-
ALP (IU/L)	37	72	42	71	28	81	[63]	[100*]	35	73	34	85
AST (IU/L)	103	82	134	108*	99	97	134	[130*]	78	76	104	95
Globulin (g/dL)	2.9	-	2.9	-	3.1	-	[3.2*]	-	3.0	-	3.1*	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No. of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Noteworthy Findings, Continued												
Gross Pathology (Incidence)												
IN #1 – SW 10												
Tooth												
- discoloration	0/8	0/8	0/8	0/8	[1/5]	[2/5]	[5/5]	[5/5]	NA	NA	NA	NA
- fracture	0/8	0/8	0/8	0/8	0/5	0/5	[3/5]	[3/5]	NA	NA	NA	NA
IN #2 – SW 27												
Salivary Gland												
- increased size	0/4	0/4	0/8	0/8	0/5	0/5	[3/5]	[3/5]	NA	NA	0/6	0/6
Testis												
- flaccid testes	NA	0/4	NA	0/8	NA	0/5	NA	[5/5]	NA	NA	NA	[4/6]
Tooth												
- discoloration	0/4	0/4	0/8	0/8	[2/5]	[4/5]	[5/5]	[5/5]	NA	NA	0/6	0/6
- fracture	0/4	0/4	0/8	0/8	0/5	0/5	[4/5]	[4/5]	NA	NA	0/6	0/6
FN – SW 38	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	NA	NA

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No. of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Noteworthy Findings, Continued												
Organ Weights (%)[j]												
IN #1 – SW 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IN #2 – SW 27												
Adrenal[k]												
Absolute weight	-	0.0415 g	-	+ 9.4	-	+ 32.0	-	[+ 35.2*]	NA	NA	-	+ 19.3
% Body Weight	-	0.00856		+ 11.0		+ 28.3*		[+ 73.6**]	NA	NA	-	+ 27.2*
% Brain Weight	-	1.95	-	+ 9.2	-	+ 29.2	-	[+ 35.4*]	NA	NA	-	+ 24.6*
Prostate[k]												
Absolute weight	NA	0.42 g	NA	+ 14.3	NA	+ 9.5	NA	[- 28.6*]	NA	NA	NA	- 7.1
% Body Weight	NA	0.089	NA	+ 13.5	NA	+ 6.7	NA	[- 10.1]	NA	NA	NA	- 1.1
% Brain Weight	NA	20	NA	+ 15.0	NA	+ 5.0	NA	[- 30.0*]	NA	NA	NA	0.0
Testis												
Absolute weight	NA	3.58 g	NA	+ 4.7	NA	+ 2.5	NA	[- 41.1*]	NA	NA	NA	- 22.9
% Body Weight	NA	0.7424	NA	+ 5.6	NA	+ 0.53	NA	[- 24.2]	NA	NA	NA	- 17.6
% Brain Weight	NA	169	NA	+ 4.1	NA	+ 0.59	NA	[- 40.8*]	NA	NA	NA	[- 20.1]
FN – SW 38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No. of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Noteworthy Findings, Continued												
Histomorphology (Incidence)[l] – IN #1 SW 10												
Spleen												
- pigment, increased												
very slight	0/8	0/8	NE	NE	0/5	0/5	[3/5]	[1/5]	NA	NA	NA	NA
Testis												
- epithelium, spermatid, degeneration, bilateral												
very slight	NA	0/8	NA	NE	NA	0/5	NA	[4/5]	NA	NA	NA	NA
slight or small	NA	0/8	NA	NE	NA	0/5	NA	[1/5]	NA	NA	NA	NA
Teeth												
- incisor ameloblast, decreased amount, cytoplasmic												
very slight	0/8	2/8	0/8	0/8	[5/5]	[3/5]	0/5	0/5	NA	NA	NA	NA
slight or small	0/8	0/8	0/8	0/8	0/5	0/5	[2/5]	[1/5]	NA	NA	NA	NA
moderate	0/8	0/8	0/8	0/8	0/5	0/5	[3/5]	[4/5]	NA	NA	NA	NA
- incisor pulp, inflammation												
very slight	0/8	0/8	0/8	0/8	0/5	0/5	[2/5]	[2/5]	NA	NA	NA	NA
slight or small	0/8	0/8	0/8	0/8	0/5	0/5	[1/5]	[1/5]	NA	NA	NA	NA

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No. of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Noteworthy Findings, Continued												
Histomorphology (Incidence)[l] – IN #1 SW 10, Continued												
Teeth, Continued												
- incisor odontoblast, degeneration												
very slight	0/8	0/8	0/8	0/8	0/5	[1/5]	0/5	0/5	NA	NA	NA	NA
slight or small	0/8	0/8	0/8	0/8	[2/5]	[2/5]	0/5	0/5	NA	NA	NA	NA
moderate	0/8	0/8	0/8	0/8	[3/5]	[1/5]	0/5	0/5	NA	NA	NA	NA
marked	0/8	0/8	0/8	0/8	0/5	0/5	[5/5]	[5/5]	NA	NA	NA	NA
- odontoblast, molar, degeneration												
very slight	0/8	0/8	0/8	0/8	0/5	0/5	[2/5]	[4/5]	NA	NA	NA	NA
moderate	0/8	0/8	0/8	0/8	0/5	0/5	[2/5]	0/5	NA	NA	NA	NA
micro-CT Evaluation[m] – IN #1 SW 10												
- lower incisor dentin thinning	0/16[n]		0/16[n]		[10/10][n]		[10/10][n]		NA	NA	NA	NA
- upper incisor dentin thinning	0/16[n]		0/16[n]		[1/10][n]		[10/10][n]		NA	NA	NA	NA
- molar changes	0/16[n]		0/16[n]		0/10[n]		0/10[n]		NA	NA	NA	NA

Confidential

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No. of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Noteworthy Findings, Continued												
Histomorphology (Incidence)[l] – IN #2 SW 27												
Heart												
- epicardium, increased amount, focal												
very slight	0/4	0/4	NE	NE	0/5	0/5	[5/5]	[2/5]	NA	NA	0/6	0/6
Epididymides												
- sperm, decreased amount												
slight or small	NA	0/4	NA	NE	NA	0/5	NA	0/5	NA	NA	NA	[1/6]
moderate	NA	1/4	NA	NE	NA	0/5	NA	0/5	NA	NA	NA	0/6
marked	NA	0/4	NA	NE	NA	0/5	NA	[5/5]	NA	NA	NA	[1/6]
Salivary Gland[o]												
- acinus, hypertrophy												
very slight	0/4	0/4	NE	NE	0/5	0/5	[2/5]	[5/5]	NA	NA	0/6	0/6
Spleen												
- pigment, increased												
very slight	0/4	0/4	NE	NE	0/5	0/5	[5/5]	[4/5]	NA	NA	[1/6]	0/6

C Confidential

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No. of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Noteworthy Findings, Continued												
Histomorphology (Incidence)[l] – IN #2 SW 27, Continued												
Thymus[o]												
- cortex, depletion												
very slight	0/4	0/4	NE	NE	0/5	0/5	0/5	[2/5]	NA	NA	0/6	0/6
slight or small	0/4	0/4	NE	NE	0/5	0/5	[3/5]	0/5	NA	NA	0/6	0/6
Testis												
- epithelium, degeneration, bilateral												
very slight	NA	0/4	NA	NE	NA	0/5	NA	0/5	NA	NA	NA	[1/6]
moderate	NA	0/4	NA	NE	NA	0/5	NA	0/5	NA	NA	NA	[1/6]
marked	NA	0/4	NA	NE	NA	0/5	NA	0/5	NA	NA	NA	[1/6]
severe	NA	1/4	NA	NE	NA	0/5	NA	[5/5]	NA	NA	NA	0/6
Teeth												
- incisor ameloblast, decreased amount, cytoplasmic												
slight or small	0/4	0/4	0/8	0/8	[1/5]	0/5	0/5	0/5	NA	NA	0/6	0/6
moderate	0/4	0/4	0/8	0/8	[4/5]	[5/5]	[5/5]	[5/5]	NA	NA	0/6	0/6

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No. of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Noteworthy Findings, Continued												
Histomorphology (Incidence)[l] – IN #2 SW 27, Continued												
Teeth, Continued												
- incisor dentin, abnormal formation												
very slight	0/4	0/4	0/8	0/8	0/5	0/5	0/5	0/5	NA	NA	[1/6]	[1/6]
- incisor odontoblast, degeneration												
slight or small	0/4	0/4	0/8	0/8	[1/5]	0/5	0/5	0/5	NA	NA	0/6	0/6
moderate	0/4	0/4	0/8	0/8	[3/5]	0/5	0/5	0/5	NA	NA	0/6	0/6
marked	0/4	0/4	0/8	0/8	[1/5]	[5/5]	0/5	0/5	NA	NA	0/6	0/6
severe	0/4	0/4	0/8	0/8	0/5	0/5	[5/5]	[5/5]	NA	NA	0/6	0/6
- incisor pulp, inflammation												
very slight	-	0/4	-	0/8	-	0/5	-	[1/5]	NA	NA	-	0/6
slight or small	-	0/4	-	0/8	-	0/5	-	[1/5]	NA	NA	-	0/6
- odontoblast, molar, degeneration												
very slight	0/4	0/4	0/8	0/8	0/5	0/5	0/5	0/5	NA	NA	[3/6]	[3/6]
slight or small	0/4	0/4	0/8	0/8	0/5	0/5	[1/5]	0/5	NA	NA	0/6	0/6
moderate	0/4	0/4	0/8	0/8	0/5	0/5	0/5	[1/5]	NA	NA	0/6	0/6
marked	0/4	0/4	0/8	0/8	0/5	0/5	[4/5]	[4/5]	NA	NA	0/6	0/6

2.6.7.7.D 反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[b]		3[b]		10[b]		50[b]		10 (Recovery)[b]		50 (Recovery)[b]	
No. of Animals – IN #1 SW 10	F: 8	M: 8	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	NA	NA
No. of Animals – IN #2 SW 27	F: 4	M: 4	F: 8	M: 8	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	NA	NA	F: 6	M: 6
No. of Animals – FN SW 38	F: 4	M: 4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	F: 6	M: 6	NA	NA
Noteworthy Findings, Continued												
Histomorphology (Incidence)[l] – IN #2 SW 27, Continued												
Teeth, Continued												
- periodontal tissue, inflammation, focal												
very slight	1/4	0/4	0/8	0/8	0/5	0/5	[2/5]	[1/5]	NA	NA	0/6	[2/6]
slight or small	0/4	0/4	0/8	0/8	0/5	0/5	[2/5]	0/5	NA	NA	0/6	0/6
Histomorphology (Incidence)[l] – FN SW 38	-	-	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	NA	NA
micro-CT Evaluation – IN #2 and FN[p]												
- lower incisor dentin thinning	0/8[n]		0/16[n]		[10/10][n]		[10/10][n]		0/12[n]		0/12[n]	
- upper incisor dentin thinning	0/8[n]		0/16[n]		[7/10][n]		[10/10][n]		0/12[n]		[3/12][n]	
- molar changes	0/8[n]		0/16[n]		0/10[n]		0/10[n]		0/12[n]		0/12[n]	

- =no noteworthy findings; [ ]=test article-related change based on incidence and/or severity; ALP=alkaline phosphatase; AST=aspartate aminotransferase; AUC0-24h=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BMD=bone mineral density; Cmax=observed maximum concentration; CTD=Common Technical Document; F=female; FN=final necropsy; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); IN=interim necropsy; ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; M=male; micro-CT=micro-computed tomography; NA=not applicable; NE=not examined; No.=number; NOAEL=no observed adverse effect level; NOEL=no observed effect level; SW=study week; Tmax=time to reach maximum concentration; w/w=weight/weight; #/# =number affected/number examined; *$p \leq 0.05$, **$p < 0.01$.

(footnotes continued on following page)

Confidential

2.6.7.7.D　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6011（続き）

被験物質：イスラトラビル

a. GLP compliant with the exception of photographs, imaging (micro-CT and Faxitron radiography), and the ISL metabolite (M4) analysis which were non-GLP compliant, and histological examination of teeth which was conducted in conformity with GLP but on samples previously imaged by non-GLP micro-CT.
b. The control group, 3 mg/kg/day, 10 mg/kg/day, and 50 mg/kg/day groups that were terminated in SW 27 – dosed for approximately 6 months with control or test-article, as applicable. The 10 mg/kg/day recovery group was terminated in SW 38 – dosed for approximately 2 months, not dosed for approximately 6 months. The control group was terminated in SW 38 – dosed with vehicle for approximately 8 months. The 50 mg/kg/day recovery group was terminated in SW 27 – dosed for approximately 2 months, not dosed for approximately 4 months.
c. ISL concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method.
d. Semi-quantitative analysis (SW 10) indicated that M4 was present at an average daily concentration of 577 nM in animals dosed with 10 mg/kg/day. Under the experimental conditions used for this analysis, the concentrations of M4 were comparable to the concentrations of ISL reported in the toxicokinetics analysis.
e. Intermittent individual body weight losses that generally correlated with decreased food consumption were observed beginning in SW 5, which resulted in decreases in mean body weight gains from SW 7 and 10 in M and F in the 50 mg/kg/day group, respectively.
f. For controls, group body weight gain mean is shown. For dose groups, percent difference from controls are shown.
g. Includes only the animals with body weights measured during SW 26.
h. For controls, group mean food weight is shown. For dose groups, percent difference from controls in are shown. SW 7 was the last week before some animals were switched to soft meal without food weights. Starting in SW 22 regular food pellets were provided again until study termination and food consumption was almost similar to controls during that period.
i. Control and treatment group values are mean absolute values. Changes were of no toxicological significance because of the small magnitude and the lack of histomorphologic correlates.
j. Control values are the mean organ weight as a percent of brain weight; treatment group values are the mean percent change from concurrent controls of organ weight relative to brain weight.
k. Variations in adrenal and prostate weights were of limited toxicological significance based on their magnitude and the lack of histomorphologic correlate.
l. The teeth from all rats were imaged within the skull or mandible by computerized tomography (micro-CT) and Faxitron radiography after tissue fixation and prior to processing for histomorphologic evaluation.
m. There were test article-related decreases in BMD in the femurs of the 50 mg/kg/day group compared to the control group. No test article-related differences were observed in the BMD of femurs from the 10 mg/kg/day group compared to the control group. Femur BMD analysis was not done on the 3 mg/kg/day group due to lack of test article-related differences in the 10 mg/kg/day group.
n. Values are sex-combined values.
o. Changes in the salivary glands and thymus were considered secondary to the dental changes and the poor physical condition of the animals.
p. There were test article-related decreases in BMD in the femurs of the 50 mg/kg/day group compared to the control group. No test article-related differences were observed in the BMD of the 3 or 10 mg/kg/day groups. No test article-related differences were observed in BMD of femurs from the 10 or 50 mg/kg/day recovery groups.

2.6.7.7.E　ISL：ラットを用いた6ヵ月間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-6005）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain: Rat / Wistar Han **Initial Age:** approximately 6 weeks **Date of First Dose:** [redacted] **Dose Volume:** 5 mL/kg	**Duration of Dosing:** Approximately 26 weeks (182 to 184 days) **Duration of Postdose:** NA **Method of Administration:** Oral (gavage) **Vehicle/Formulation:** 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	**Study Number:** TT #[redacted]-6005 **Location in CTD:** [4.2.3.2.7: TT[redacted]6005] **GLP Compliance:** Yes
Special Features: Determine toxicokinetics profile at approximately 3 months. **No Observed Adverse Effect Level:** 3 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1		3		18	
No. of Animals	F: 16	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 16
Toxicokinetics – SW 4[a]								
AUC0-24h (h*µM)	NA	NA	0.709	0.795	2.36	3.38	33.5	29.1
Cmax (µM)	NA	NA	0.381	0.350	1.21	1.25	9.28	6.58
Tmax (h)	NA	NA	0.50	0.50	0.50	1.0	0.50	1.0
Toxicokinetics – SW 13[a]								
AUC0-24h (h*µM)	NA	NA	1.11	1.17	3.83	4.80	43.8	38.1
Cmax (µM)	NA	NA	0.542	0.489	1.52	1.64	8.85	9.11
Tmax (h)	NA	NA	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	1.0

C Confidential

2.6.7.7.E　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6005（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1		3		18	
No. of Animals	F: 16	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 16
Noteworthy Findings								
Mortality (No. of Animals)	0	0	0	0	1[b]	0	0	1[c]
Clinical Observations (No. of Animals)								
Oral cavity signs, Discoloration, incisors (red, black, white)	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	[16/16]	[16/16]
Oral cavity signs, Broken incisors	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	0/16	[11/16]	[10/16]
Body Weight (%)[d]	266.6 g	507.3 g	+ 3.9	- 0.8	+ 0.9	+ 1.1	[- 5.3]	[- 10.1]
Body Weight Change (%)[e]	118.8 g	310.3 g	+ 8.2	+ 1.5	+ 2.9	+ 2.2	[- 9.0]	[- 15.3]
Food Consumption (%)[f]	15.6 g	22.9 g	- 0.6	- 5.2	+ 0.6	- 0.4	[- 21.8]	[- 18.3]
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology (Mean Values)[g,h] - SW 12								
Lymphocytes (10^3/µL)	2.96	3.91	3.36	4.59	3.90*	4.43	[4.85*]	[5.81*]
White Blood Cell Count (10^3/µL)	3.73	5.18	4.15	5.86	4.76*	5.60	[5.88*]	[7.35*]
Hematology (Mean Values)[g,h] - SW 24								
Lymphocytes (10^3/µL)	2.44	3.89	2.60	3.99	2.95	3.92	[4.27*]	[5.46*]
Neutrophils (10^3/µL)	0.56	-	0.73	-	0.46	-	[0.91*]	-
White Blood Cell Count (10^3/µL)	3.15	5.30	3.50	5.35	3.56	5.35	[5.42*]	[7.19*]
Coagulation (Mean Values)[g,h] – SW 27								
Fibrinogen (mg/dL)	194.4	280.9	207.1	279.3	198.7	282.3	[243.4*]	[329.7*]
Serum Biochemistry	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.E　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6005（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1		3		18	
No. of Animals	F: 16	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 16
Noteworthy Findings, Continued								
Urinalysis/Urine Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Histomorphology (Incidence)								
Spleen								
- pigment, increased								
very slight	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	[7/16]	[5/16]
Tooth – Incisor								
- ameloblast – decreased amount, cytoplasmic								
very slight	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	[4/16]	[1/16]
slight	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	[6/16]	[5/16]
moderate	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	[3/16]	[7/16]
marked	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	0/16	[2/16]
- odontoblast degeneration								
slight	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	0/16	[1/16]
moderate	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	[1/16]	0/16
marked	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	[15/16]	[15/16]

C Confidential

2.6.7.7.E　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6005（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1		3		18	
No. of Animals	F: 16	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 16
Noteworthy Findings, Continued								
Histomorphology, Continued (Incidence)								
Tooth – Incisor, Continued								
- pulp – inflammation, focal								
very slight	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	[7/16]	[7/16]
slight	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	[5/16]	[3/16]
moderate	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	[2/16]	[2/16]
Tooth – Molar								
- odontoblast degeneration								
very slight	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	[2/16]	[2/16]
slight	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	[2/16]	[7/16]
moderate	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	[1/16]	[3/16]
- pulp – inflammation, focal								
very slight	-	0/16	NE	NE	-	0/16	-	[1/16]
slight	-	0/16	NE	NE	-	0/16	-	[1/16]
Tooth – Periodontal Tissue								
- inflammation, focal								
very slight	0/16	2/16	NE	NE	0/16	0/16	0/16	[6/16]
slight	0/16	1/16	NE	NE	0/16	0/16	[2/16]	[2/16]
moderate	0/16	0/16	NE	NE	0/16	0/16	[2/16]	[1/16]

(footnotes presented on following page)

2.6.7.7.E　　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-6005（続き）

被験物質：イスラトラビル

- =no noteworthy findings; [ ]=test article-related change based on incidence and/or severity; AUC0-24h=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; CTD=Common Technical Document; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; M=male; NA=not applicable; NE=not examined; No.=number; SW=study week; Tmax=time to reach maximum concentration; w/w=weight/weight; #/# =number affected/number examined; *$p \leq 0.05$.

a. ISL concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method.
b. One F in the 3 mg/kg/day dose group was found dead in SW 24, with the cause of death attributed to a nephroblastoma in the kidney. Nephroblastoma is a common spontaneous tumor in young rats [4.3: 08P2V3] [4.3: 05B5NM] and was not considered to be test article related based on its isolated occurrence and the lack of any pre-neoplastic or neoplastic changes in the previous 6-month oral toxicity study or in the 2-year carcinogenicity study at doses up to 50 mg/kg/day and 13 mg/kg/day, respectively.
c. One M in the 18 mg/kg/day dose group was found dead in SW 13 after blood collection. There were no test article-related histomorphologic changes of note upon hisomorphologic examination of the tissues other than the teeth. The cause of death of this animal was attributed to an anesthesia accident based on the animal anamnesis.
d. At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treatment groups, percent differences from controls are shown.
e. The difference in body weight (g) between pretest and the weight obtained in SW 26. For controls, group means are shown. For treatment groups, percent differences from controls are shown.
f. For controls, group means for food consumption during SW 26 are presented. For dose groups, percent differences from controls are shown. Animals on soft meal did not have food consumption recorded and therefore are not included.
g. Control and treatment group values are mean absolute values.
h. The increased white blood cell, lymphocyte and neutrophil counts, and increased fibrinogen concentrations were not toxicologically significant because of the small magnitude of the changes.

C Confidential

2.6.7.7.F　ISL+DOR：ラットを用いた1ヵ月間併用経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1012）

被験物質：イスラトラビル+ドラビリン

Species / Strain: Rat / Wistar Han **Initial Age:** 5 to 6 Weeks **Date of First Dose:** [redacted] **Dose Volume:** 5 mL/kg for each test article, animals received a total of 10 mL/kg	**Duration of Dosing:** 1 month (31 to 32 days) **Duration of Postdose:** NA **Method of Administration:** Oral (gavage) **Vehicle/Formulation:** 0.5% (w/v) methylcellulose with 5 mM hydrochloric acid in deionized water (DOR), 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water (ISL)	**Study Number:** TT #[redacted]-1012 **Location in CTD:** [4.2.3.2.8: TT[redacted]1012] **GLP Compliance:** Yes
Special Features: Combination study of ISL and DOR **No Observed Adverse Effect Level:** ≥DOR 30 mg/kg/day + ISL 3 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		3 (ISL)[b]		30 (DOR)[c]		30 DOR + 1 ISL		30 DOR + 3 ISL	
No. of Animals	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10
Toxicokinetics – SW 5 DOR[d]										
AUC0-24h (h*µM)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	173	146	180	136
Cmax (µM)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	14.7	12.2	12.5	10.4
Tmax (h)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.0	2.0	2.0	2.0
Toxicokinetics – SW 5 ISL[e]										
AUC0-24h (h*µM)	NA	NA	3.06	3.85	NA	NA	0.814	1.02	3.28	3.26
Cmax (µM)	NA	NA	1.52	1.33	NA	NA	0.325	0.361	1.38	1.04
Tmax (h)	NA	NA	0.50	0.50	NA	NA	0.50	1.0	0.50	1.0

Confidential

2.6.7.7.F 反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1012（続き）

被験物質：イスラトラビル+ドラビリン

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)[a]		3 (ISL)[b]		30 (DOR)[c]		30 DOR + 1 ISL		30 DOR+ 3 ISL	
No. of Animals	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10
Noteworthy Findings										
Mortality (No. of Animals)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Biochemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis/Urine Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histomorphology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- =no noteworthy findings; AUC0-24h=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; CTD=Common Technical Document; DOR=doravirine; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; M=male; NA=not applicable; No.=number; SW=study week; Tmax=time to reach maximum concentration; w/v=weight/volume; w/w=weight/weight.

a. ISL Control + DOR Control
b. 3 mg/kg/day ISL + DOR Control
c. 30 mg/kg/day DOR + ISL Control
d. DOR concentrations in plasma from all control group animals at 1 h postdose were below the LLQ (LLQ=0.0294 µM) of the bioanalytical method.
e. ISL concentrations in plasma from all control group animals at 1 h postdose were below the LLQ (LLQ=0.00170 µM) of the bioanalytical method.

C Confidential

2.6.7.7.G　ISL：アカゲザルを用いた28日間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1063）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain: Monkey / Rhesus **Initial Age:** approximately 1 to 3 years **Date of First Dose:** [redacted] **Dose Volume:** 5 mL/kg	**Duration of Dosing:** approximately 4 weeks, Q3D (9 doses) **Duration of Postdose:** NA **Method of Administration:** Oral (gavage) **Vehicle/Formulation:** 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	**Study Number:** TT #[redacted]-1063 **Location in CTD:** [4.2.3.2.10: TT[redacted]1063] **GLP Compliance:** Yes[a]
Special Features: The concentrations of ISL, ISL-MP, ISL-DP, and ISL-TP in treated and control PBMC samples (SW 4) were determined using an exploratory assay. **No Observed Adverse Effect Level:** ≥75 mg/kg/dose		

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		75	
No. of Animals	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3
Toxicokinetics – SD 1[b,c]								
AUC0-72h (h*µM)	NA	NA	11.2	8.91	37.5	38.5	202	218
Cmax (µM)	NA	NA	2.69	2.72	14.0	8.55	38.7	33.8
Tmax (h)	NA	NA	1.3	1.0	0.83	1.3	1.7	2.0
Toxicokinetics – SW 4[d,e]								
AUC0-72h (h*µM)	NA	NA	9.43	9.37	35.6	39.3	188	203
Cmax (µM)	NA	NA	2.26	2.49	9.22	7.60	34.6	28.6
Tmax (h)	NA	NA	1.0	0.83	1.3	1.3	2.0	1.0

C Confidential

2.6.7.7.G　　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1063（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)	5	20	75
No. of Animals	F: 3; M: 3	F: 3; M: 3	F: 3; M: 3	F: 3; M: 3
ISL Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SW 4[f]				
2 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.111 ± ID	6.20 ± 0.995
24 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
72 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
ISL-MP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SW 4[f]				
2 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00	4.05 ± ID	6.01 ± 0.703	18.1 ± 3.24
24 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	1.76 ± ID	2.22 ± 1.14
72 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
ISL-DP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SW 4[f]				
2 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00	1.40 ± ID	0.221 ± ID	1.29 ± ID
24 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	1.90 ± 1.20	1.64 ± 0.994
72 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.518 ± ID
ISL-TP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SW 4[f]				
2 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00	8.56 ± 2.58	11.0 ± 1.90	30.7 ± 4.44
24 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00	5.72 ± 2.34	11.3 ± 4.61	27.4 ± 11.2
72 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00	1.35 ± 0.551	4.06 ± 1.66	10.1 ± 4.11

2.6.7.7.G　　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1063（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		75	
No. of Animals	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3
Noteworthy Findings								
Mortality (No. of Animals)	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography								
Heart Rate (%)[g]	200	189	- 7.5	+ 12	+ 25	+ 8.5	[+ 37]	[+ 42]
Single Premature Ventricle Contraction	-	0	-	0	-	0	-	1[h]
Hematology								
Red Cell Distribution Width (%)[g,i] – SD 22	13.7	13.8	+ 0.73	+ 4.3	- 2.9	+ 4.3	[+ 16.1]	[+ 15.2]
Coagulation Evaluation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Biochemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Pepsinogen I	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis/Urine Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-

C Confidential

2.6.7.7.G 反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1063（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		75	
No. of Animals	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3
Noteworthy Findings, Continued								
Histomorphology (Incidence)								
Bone Marrow Smears								
- cellular alteration, cytology smear metarubricyte	0/3	0/3	NE	NE	0/3	0/3	[3/3][j]	[3/3][j]
- cellular alteration, cytology smear neutrophil	0/3	0/3	NE	NE	0/3	0/3	[3/3][j]	[3/3][j]
micro-CT Evaluation - Femur	-	-	-	-	-	-	-	-

- =no noteworthy findings; [ ]=test article-related change based on incidence and/or severity; AUC0-72h=area under the concentration-time curve from time 0 to 72 hours; Cmax=observed maximum concentration; CTD=Common Technical Document; DP=diphosphate; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ID=insufficient data; ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; LC-MS/MS=liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M=male; micro-CT=micro-computed tomography; MP=monophosphate; NA=not applicable; NE=not examined; No.=number; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; Q3D=once every 3 days; SD=study day; SW=study week; TK= toxicokinetics; Tmax=time to reach maximum concentration; TP=triphosphate; w/w=weight/weight; #/# =number affected/number examined.

a. GLP compliant with the exception of analyses of PBMCs, serum Pepsinogen I, and micro-CT evaluation of the femur.
b. ISL concentrations in plasma from one animal were above the LLQ (LLQ=0.00682 µM) at 48 h postdose on SD 1. This value was approximately 0.4% of the mean Cmax values of the low-dose group on SD 1. Based on the low level of ISL in only one control sample on SD 1 and none in SW 4, it was concluded that this finding did not compromise the integrity of the toxicokinetics data and its interpretation.
c. The toxicokinetics samples were collected over a 72 h period after the first dose was administered.
d. ISL concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method in SW 4.
e. The TK samples were collected over a 72 h period on SD 25 (after the last dose was administered).
f. The measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS was divided by the total number of viable cells (in units of 10^6 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).
g. For controls, group means are shown. For treatment groups, percent differences from controls are shown.
h. The single premature ventricle contraction seen in one M at 75 mg/kg/dose was considered of unrelated to treatment because the observed change was noted in only one high-dose monkey in the study and is a background finding that occurs in untreated monkeys in this laboratory.
i. This change in red cell distribution width was not considered toxicologically significant because of the small magnitude of the change and lack of changes in the other red cell parameters.
j. The subtle changes in the bone marrow smears were not observed in histological sections of bone marrow in the bone or in peripheral blood smears and were considered of minimal toxicological concern.

C Confidential

2.6.7.7.H　ISL：アカゲザルを用いた9ヵ月間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1068）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain: Monkey / Rhesus **Initial Age:** approximately 1 to 2 years **Date of First Dose:** [redacted] **Dose Volume:** 5 mL/kg	**Duration of Dosing:** 9 months, Q3D (F: 92 dose, M: 91 doses) **Duration of Postdose:** 100 mg/kg/dose group only - approximately 30 weeks **Method of Administration:** Oral (gavage) **Vehicle/Formulation:** 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	**Study Number:** TT #[redacted]-1068 **Location in CTD:** [4.2.3.2.11: TT[redacted]1068] **GLP Compliance:** Yes[a]
Special Features: Seven 100 mg/kg/dose animals terminated on SD 59 (1M) or 63 (3F & 3M) (20 or 21 doses, respectively) and remainder placed on recovery on SD 59 (4F, 2M) (20 doses). Concentrations of ISL, ISL-MP, ISL-DP, and ISL-TP were determined in PBMCs. Metabolite M4 concentrations from ISL-treated animals were assessed using a semi-quantitative analysis (SD 85) in the 5 and 20 mg/kg/dose dose groups. **No Observed Adverse Effect Level:** 20 mg/kg/dose		

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
No. of Animals	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 7	M: 7
Toxicokinetics – SD 1[b]								
AUC0-72h (h*µM)	NA	NA	11.4	11.3	51.2	49.7	330	284
Cmax (µM)	NA	NA	2.43	1.97	11.4	12.2	36.9	34.0
Tmax (h)	NA	NA	1.0	1.8	1.3	1.3	3.4	2.9
Toxicokinetics – SD 61[b]								
AUC0-48h (h*µM)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	295	250
Cmax (µM)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	42.3	32.9
Tmax (h)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.7	2.7
Toxicokinetics – SD 85[b,c]								
AUC0-72h (h*µM)	NA	NA	9.74	9.55	45.4	56.2	NA	NA
Cmax (µM)	NA	NA	1.50	1.60	10.9	11.6	NA	NA
Tmax (h)	NA	NA	1.5	1.8	1.5	1.0	NA	NA

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1068（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
No. of Animals	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 7	M: 7
Toxicokinetics – SD 211[b]								
Mean Concentration (µM) – 2 h	NA	NA	1.22	1.57	6.18	6.15	NA	NA
Mean Concentration (µM) – 24 h	NA	NA	0.0588	0.0525	0.149	0.182	NA	NA
Mean Concentration (µM) – 72 h	NA	NA	0.0167	0.0122	0.0326	0.0419	NA	NA
M4 Analysis (nM) – SD 85[c]	NA		34		167		NA	
ISL Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 58[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		NC	
24 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		0.274 ± ID[e]	
72 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		0.00 ± 0.00	
ISL Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 61[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		0.713 ± 0.0571	
24 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		NC	
72 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		NC	
ISL Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 85[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	NC		NC		NC		NA	
24 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		0.00 ± 0.00		0.00 ± 0.00		NA	
72 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		0.00 ± 0.00		0.00 ± 0.00		NA	
ISL Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 211[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		0.00 ± 0.00		0.103 ± 0.0532		NA	
24 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		0.00 ± 0.00		0.00 ± 0.00		NA	
72 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		0.00 ± 0.00		0.00 ± 0.00		NA	

C Confidential

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1068（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
No. of Animals	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 7	M: 7
Additional Examinations								
ISL-MP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 58[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		NC	
24 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		6.73 ± ID[e]	
72 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		2.00 ± 0.248	
ISL-MP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 61[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		18.1 ± 0.995	
24 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		NC	
72 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		NC	
ISL-MP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 85[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	NC		NC		NC		NA	
24 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		0.223 ± 0.0687		1.12 ± 0.122		NA	
72 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		0.0384 ± 0.0260		0.391 ± 0.106		NA	
ISL-MP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 211[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		1.35 ± 0.137		4.45 ± 0.702		NA	
24 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		0.251 ± 0.0758		1.24 ± 0.139		NA	
72 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		0.0523 ± 0.0347		0.546 ± 0.110		NA	

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1068（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
No. of Animals	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 7	M: 7
ISL-DP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 58[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		NC	
24 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		26.9 ± ID[e]	
72 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		10.6 ± 1.10	
ISL-DP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 61[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		26.1 ± 1.78	
24 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		NC	
72 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		NC	
ISL-DP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 85[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	NC		NC		NC		NA	
24 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		1.33 ± 0.232		5.35 ± 0.727		NA	
72 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		0.964 ± 0.0751		6.86 ± 0.564		NA	
ISL-DP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 211[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		2.22 ± 0.156		6.67 ± 0.957		NA	
24 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		1.81 ± 0.267		6.86 ± 0.564		NA	
72 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		1.16 ± 0.111		3.49 ± 0.428		NA	

Confidential

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1068（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
No. of Animals	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 7	M: 7
ISL-TP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 58[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		NC	
24 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		71.8 ± ID[e]	
72 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		20.3 ± 2.22	
ISL-TP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 61[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		29.2 ± 2.81	
24 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		NC	
72 h (pmol/10^6 cells)	NA		NA		NA		NC	
ISL-TP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 85[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	NC		NC		NC		NA	
24 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		2.75 ± 0.251		10.7 ± 0.852		NA	
72 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		0.734 ± 0.0967		3.26 ± 0.439		NA	
ISL-TP Mean (± SE) Concentrations in PBMCs – SD 211[d]								
2 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		2.16 ± 0.346		10.1 ± 1.64		NA	
24 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		2.64 ± 0.232		9.66 ± 1.26		NA	
72 h (pmol/10^6 cells)	0.00 ± 0.00		1.24 ± 0.123		4.52 ± 0.788		NA	

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1068（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
No. of Animals	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 7	M: 7
Noteworthy Findings								
Mortality (No. of Animals)	0	0	0	0	0	0	[3[f]]	[5[f,g]]
Clinical Observations (No. of Animals) – SD 1 to SD 59								
Limb and Joint Signs – swelling on digits/forelimbs/hindlimbs	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	[2/7]	[5/7]
Skin and Fur Signs								
- sores other than ear(s)/pinna with discharge	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	[2/7]	[3/7]
- sores other than ear(s)/pinna without discharge	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	[1/7]	[5/7]
- scabs	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4	[1/7]	[1/7]
- skin discoloration on digits/forelimbs/hindlimbs	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/7	[1/7]
- discoloration, ear(s)/pinna	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	[2/7]	[3/7]
- sore, ear(s)/pinna	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	[2/7]	[1/7]

C Confidential

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1068（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
No. of Animals	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 7	M: 7
Noteworthy Findings, Continued								
Clinical Observations (No. of Animals) – SD 60 to SD 91								
General Appearance – decreased skin turgor	0/4	-	2/4	-	[1/4]	-	[7/7]	-
Limb and Joint Signs – swelling on digits/forelimbs/hindlimbs	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	[2/7]	[4/5]
Skin and Fur Signs								
- sores other than ear(s)/pinna with discharge	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	[1/7]	[2/5]
- sores other than ear(s)/pinna without discharge	0/4	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	[4/7]	[3/5]
- scabs	0/4	1/4	1/4	1/4	0/4	0/4	[3/7]	[3/5]
- skin discoloration on digits/forelimbs/hindlimbs	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	[1/7]	[2/5]
- discoloration, ear(s)/pinna	0/4	0/4	0/4	0/4	[1/4]	[2/4]	[6/7]	[3/5]
- sore, ear(s)/pinna	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	[1/7]	0/5

C Confidential

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1068（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
No. of Animals	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 7	M: 7
Noteworthy Findings, Continued								
Clinical Observations (No. of Animals) – SD 92 to Termination								
General Appearance – decreased skin turgor	0/4	-	0/4	-	0/4	-	0/4	-
Limb and Joint Signs – swelling on digits/forelimbs/hindlimbs	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/2
Skin and Fur Signs								
- sores other than ear(s)/pinna with discharge	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/2
- sores other than ear(s)/pinna without discharge	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4	0/2
- scabs	2/4	1/4	1/4	3/4	0/4	0/4	0/4	0/2
- skin discoloration on digits/forelimbs/hindlimbs	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	[1/4]	0/2
- discoloration, ear(s)/pinna	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	[1/4]	[2/4]	0/2
- sore, ear(s)/pinna	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/2
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-

C Confidential

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1068（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
No. of Animals	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 7	M: 7
No. of Early Termination Animals	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 3	M: 5
Noteworthy Findings, Continued								
Rectal Body Temperatures – SW 9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
Bacterial Culture – SW 9	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
Hematology (%)[h]								
Lymphocyte Count								
SD 59	- 28	- 3.5	- 32	3.9	- 32	- 3.6	[- 41]	[- 27][i]
SD 63	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
SD 77, 106, 162, and 269	-	-	-	-	-	-	-	-
Monocyte Count								
SD 59	-35	-7.1	-5.2	50	-29	0	[- 75]	[- 41][i]
SD 63	NA	NA	NA	NA	NA	NA	[- 63][j]	[- 59][j]
SD 77	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
SD 106, 162, and 269	-	-	-	-	-	-	-	-
Neutrophil Count								
SD 59	49	- 27	9.5	10	- 50	- 59	[- 89]	[- 65][i]
SD 63	NA	NA	NA	NA	NA	NA	[- 92][j]	[- 84][j]
SD 77	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
SD 106, 162, and 269	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1068（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
No. of Animals	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 7	M: 7
No. of Early Termination Animals	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 3	M: 5
Noteworthy Findings, Continued								
Hematology (%)[h], Continued								
Red Cell Distribution Width								
SD 59	6.6	4.7	9.7	5.5	17	16	[45]	[32][i]
SD 63	NA	NA	NA	NA	NA	NA	[35][j]	[26][j]
SD 77	NA	NA	NA	NA	NA	NA	[23][k]	[21][l]
SD 106, 162, and 269	-	-	-	-	-	-	-	-
White Blood Cell Count								
SD 59	6.7	- 15	- 8.1	8.6	- 45	- 37	[- 75]	[- 49][i]
SD 63	NA	NA	NA	NA	NA	NA	[- 68][j]	[- 48][j]
SD 77	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-
SD 106, 162, and 269	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation (Mean Values) - Early Termination Animals								
Fibrinogen (mg/dL) – SD 59	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	[328.2][i]
Fibrinogen (mg/dL) – SD 63	NA	NA	NA	NA	NA	NA	[334.4][j]	[368.7][j]
Coagulation– Scheduled Termination Animals	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Biochemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis/Urine Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-

Confidential

2.6.7.7.H 反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1068（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
No. of Animals	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 7	M: 7
No. of Early Termination Animals	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 3	M: 5
Noteworthy Findings, Continued								
Gross Pathology (Incidence)[m] – Early Termination Animals								
Skin								
- discoloration	NE	NE	NE	NE	NE	NE	[3/3]	[3/5]
Gross Pathology (Incidence)[m] – Scheduled Termination Animals	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Histomorphology (Incidence) – Early Termination Animals								
Skin								
- foot, dermis, inflammation, focal chronic								
very slight	NE	NE	NE	NE	NE	NE	0/3	[1/5]
slight	NE	NE	NE	NE	NE	NE	[2/3]	[2/5]
- dermis, inflammation, pinna focal chronic								
very slight	NE	NE	NE	NE	NE	NE	0/3	[1/5]
slight	NE	NE	NE	NE	NE	NE	[1/3]	[1/5]

C Confidential

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1068（続き）

被験物質：イスラトラビル

Dose (mg/kg)	0 (Control)		5		20		100	
No. of Animals	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 7	M: 7
No. of Early Termination Animals	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 0	F: 3	M: 5
Noteworthy Findings, Continued								
Histomorphology (Incidence) – Early Termination Animals, Continued								
Skin, Continued								
- dermis, hand, inflammation, focal chronic								
slight	NE	NE	NE	NE	NE	NE	0/3	[2/5]
Bone Marrow								
- neutrophil, cellular alteration	NE	NE	NE	NE	NE	NE	[3/3]	[3/5]
- metarubricyte, cellular alteration	NE	NE	NE	NE	NE	NE	[3/3]	[3/5]
Histomorphology (Incidence) – Scheduled Termination Animals	-	-	NE	NE	-	-	-	-
Dental Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
micro-CT Evaluation								
Dental	-	-	-	-	-	-	-	-
Femur	-	-	-	-	-	-	-	-
Dental MRI[n]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Dental Radiographs[n]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Scrotum/Testes Examinations	NA	-	NA	-	NA	-	NA	NA

(footnotes presented on following page)

Confidential

2.6.7.7.H　反復投与毒性試験

試験番号: TT #[redacted]-1068（続き）

被験物質：イスラトラビル

- =no noteworthy findings; [ ]=test article-related change based on incidence and/or severity; AUC0-Xh=area under the concentration-time curve from time 0 to X hours; Cmax=observed maximum concentration; CTD=Common Technical Document; DP=diphosphate; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ID=insufficient data; ISL=islatravir; LC-MS/MS=liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LLQ=lower limit of quantitation; M=male; micro-CT=micro-computed tomography; MP=monophosphate; MRI=magnetic resonance imaging; NA=not applicable; NC=not calculated; NE=not examined; No.=number; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; Q3D=once every 3 days; SD=study day; SW=study week; Tmax=time to reach maximum concentration; TP=triphosphate; w/w=weight/weight; #/# =number affected/number examined.

a. GLP compliant with the exception of magnetic resonance imaging, micro-CT, dental radiography, peripheral blood mononuclear cell (PBMC) harvesting/isolation, PBMC analysis for ISL, ISL-MP, ISL-DP, ISL-TP, metabolite M4 semi-quantitation, bacterial culture analysis of blood samples, rectal body temperature measurements, and the physical examination of the scrotum and testes.

b. Drug concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ of the bioanalytical method (LLQ=0.00682 µM).

c. Semi-quantitative average ISL M4 metabolite concentrations (SD 85) were 34 and 167 nM in the 5 and 20 mg/kg/dose dose groups, respectively. Under the experimental conditions used for this analysis, the concentrations of M4 were approximately 4-fold lower than the average concentrations of ISL calculated from AUC0-72h.

d. The measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS was divided by the total number of viable cells (in units of 10^6 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume [4.3: 0830W3]).

e. n=1, collected at 28 h postdose.

f. Three M and 3 F from the high-dose group were sacrificed on SD 63 to characterize the test article-related toxicity occurring at this dose level. Dosing was discontinued for all other high-dose animals beginning on SD 59 to determine reversibility of the clinical signs. Test article-related clinical signs seen in all high-dose animals sacrificed on SD 63, (except for 1 M which was normal), included sores with or without red discharge/scabs/swelling on digits on the fore-and/or hindlimbs, and sores and/or purple skin discoloration on the ears. Decreased skin turgor was present in F only.

g. One M in the high-dose group was sacrificed on SD 25 due to clinical signs suggestive of aspiration. Gross and histomorphologic changes in this animal were consistent with intubation accident. One additional high-dose male was sacrificed on Study Day 59 due to test article-related clinical signs first observed on SD 58 that generally included sores with red discharge on the digits of both fore- and hindlimbs, swelling of both fore- and hindlimbs, and sores and purple discoloration on both ears.

h. % difference compared to group mean pretest period - 1. The alterations in hematology parameters at 100 mg/kg/dose were associated with alterations in bone marrow at necropsy on SD 63.

i. n=6.

j. n=3.

k. n=4.

l. n=2.

m. There were no test article-related gross or histomorphologic findings among animals in the 20 mg/kg/dose or 100 mg/kg/dose recovery group animals at study termination. Specifically, there were no test article-related gross or histomorphologic findings in the skin of the foot, the hand, or the pinna (ear lobe) and the bone marrow was not remarkable among the 100 mg/kg/dose recovery group animals or animals at 20 mg/kg/dose at study termination.

n. In the absence of changes detectable by micro-CT, MRI and dental x-ray images were not evaluated.

2.6.7.8　In vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8.A　ISL：細菌（*Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli*）を用いた復帰突然変異試験（TT #[redacted]-9041）

被験物質：イスラトラビル

Test for Induction of: Reverse mutation to wild type in bacteria cells **Strains:** *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98, and TA100), *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*) **Metabolizing System:** Phenobarbital/5,6-benzoflavone-induced rat liver S9; 50 µL/plate **Treatment:** 69 h and 44 minutes	**No. of Independent Assays:** 1 **No. of Replicate Cultures:** 3 per dose point **No. of Cells Analyzed/Culture:** Not applicable **Vehicle for Positive Controls:** Water (sodium azide) or DMSO (all others) **Vehicle for Test Article:** DMSO	**Study No.:** TT #[redacted]-9041 **Location in CTD:** [4.2.3.3.1.1: TT[redacted]9041] **GLP Compliance:** Yes **Date of Treatment:** [redacted]
Cytotoxic Effects: Without metabolic activation, toxicity was observed as inhibition of revertant growth in strain TA1535 at concentrations ≥1280 µg/plate and in strain WP2 *uvrA* at concentrations ≥2560 µg/plate. **Genotoxic Effects[a]:** None		

C Confidential

2.6.7.8.A　細菌を用いた復帰突然変異試験

試験番号: TT #[redacted]-9041（続き）

被験物質：イスラトラビル

TT #[redacted]-9041: Results for ISL and Positive Controls												
Dose level (per plate)	TA100[b]				TA1535[b]				TA1537[b]			
	Without S9		With S9		Without S9		With S9		Without S9		With S9	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
0 µg (DMSO 100 µL)	129	7	130	16	18	2	21	4	14	3	16	2
40 µg	NA	NA	NA	NA	16	4	NA	NA	NA	NA	NA	NA
80 µg	NA	NA	NA	NA	12	6	NA	NA	NA	NA	NA	NA
160 µg	NA	NA	NA	NA	24	2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
320 µg	132	12	142	12	18	4	26	4	18	1	15	5
640 µg	137	9	145	17	18	8	26	3	14	3	20	6
1280 µg	124	6	158	8	9	4	18	6	16	7	16	2
2560 µg	147	17	184	7	9	6	22	6	22	7	19	2
5000 µg	113	34	201	7	0	0	15	7	12	2	18	3
2AA 5.0 µg	NA	NA	NA	NA	NA	NA	288	12	NA	NA	NA	NA
9AC 50.0 µg	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	422	26	NA	NA
BaP 5.0 µg	NA	NA	824	32	NA	NA	NA	NA	NA	NA	86	15
NaAz 0.5 µg	514	30	NA	NA	312	26	NA	NA	NA	NA	NA	NA

C Confidential

2.6.7.8.A　細菌を用いた復帰突然変異試験

試験番号: TT #[redacted]-9041（続き）

被験物質：イスラトラビル

TT #[redacted]-9041: Results for ISL and Positive Controls, Continued

Dose level (per plate)	TA98[b]				WP2 *uvrA*[b]			
	Without S9		With S9		Without S9		With S9	
	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD	Mean	SD
0 µg (DMSO 100 µL)	34	12	46	6	46	4	52	2
80 µg	NA	NA	NA	NA	48	9	NA	NA
160 µg	NA	NA	NA	NA	43	4	NA	NA
320 µg	35	6	51	6	50	2	56	11
640 µg	34	8	50	3	45	7	55	16
1280 µg	37	7	52	2	33	9	54	4
2560 µg	52	10	57	7	17	6	47	8
5000 µg	45	4	70	3	1	1	31	3
2AA 15.0 µg	NA	NA	NA	NA	NA	NA	234	9
2NF 1.0 µg	167	19	NA	NA	NA	NA	NA	NA
BaP 5.0 µg	NA	NA	235	23	NA	NA	NA	NA
4NQO 0.5 µg	NA	NA	NA	NA	197	20	NA	NA

2AA=2-aminoanthracene; 2NF=2-nitrofluorene; 4NQO=4-nitroquinoline n-oxide; 9AC=9-aminoacridine hemihydrate; BaP=benzo[a]pyrene; CTD=Common Technical Document; DMSO=dimethyl sulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ISL=islatravir; NA=not applicable, no plate data collected; NaAz=sodium azide; No.=number; SD=standard deviation;

a. Criteria for a positive result are (1) a 2-fold or greater increase in number of revertant colonies, and (2) a dose-related increase in number of revertant colonies.

b. *Salmonella typhimurium/E. coli* genotypes: *S. typhimurium* TA100 *his*G46 *rfa ΔuvrB* pKM101, *S. typhimurium* TA1535 *his*G46 *rfa ΔuvrB, S. typhimurium* TA1537 *his*C3076 *rfa ΔuvrB, S. typhimurium* TA98 *his*D3052 *rfa ΔuvrB* pKM101, and *E. coli* WP2 *trp uvrA*.

2.6.7.8.B　ISL：CHO 細胞を用いた探索的 in vitro 染色体異常試験及びイノシン添加による改善効果（TT #[redacted]-8625、TT #[redacted]-8635、TT #[redacted]-8641、TT #[redacted]-8643）

被験物質：イスラトラビル

Test for Induction of: Chromosome aberrations **Strains:** Chinese hamster ovary cells, clone WBL **Metabolizing System:** Beta-naphthoflavone and phenobarbital-induced rat liver S9, 1.5% **Treatment:** Continuous treatment for 20 h without S9 and pulse treatment for 3 h with and without S9; harvested 20 h after beginning of treatment (TT #[redacted]-8625). Follow up studies: Continuous treatment for 20 h without S9; harvested 20 h (TT #[redacted]-8635, TT #[redacted]-8641, and TT #[redacted]-8643); 30 h (TT #[redacted]-8635 and TT #[redacted]-8641) or 44 h (TT #[redacted]-8635) after beginning of treatment.	**No. of Independent Assays:** 4 **No. of Replicate Cultures:** 1 **No. of Cells Analyzed/Culture:** 200 except high dose cyclophosphamide, low and high-dose mitomycin C, and scored doses of 300 µM to 400 µM ISL after 20 h treatments without S9 due to high levels of aberrations **Vehicle for Positive Controls:** Distilled water **Vehicle for Test Article:** DMSO	**Study No.:** TT #[redacted]-8625, [redacted]-8635, [redacted]-8641, and [redacted]-8643 **Location in CTD:** [4.2.3.3.1.2: TT [redacted]8625] **GLP Compliance:** No **Date of Treatment:** [redacted]: TT #[redacted]-8625 [redacted]: TT #[redacted]-8635 [redacted]: TT #[redacted]-8641 [redacted]: TT #[redacted]-8643
Cytotoxic Effects: See tables below. Scored doses were limited by cytotoxicity in all treatment conditions; no precipitate was evident in scored cultures.		

C Confidential

2.6.7.8.B　CHO 細胞を用いた探索的 in vitro 染色体異常試験

試験番号: TT #[redacted]-8625, TT #[redacted]-8635, TT #[redacted]-8641, TT #[redacted]-8643（続き）

被験物質：イスラトラビル

Genotoxic Effects: Positive for chromosomal structural aberrations.

TT #[redacted]-8625: Negative after 3 h treatments with and without S9. Marked increase in aberrations (14.0%) at 375 µM after the 20 h treatment without S9.

TT #[redacted]-8635 (20 h treatments including a 0, 10, and 24 h recovery period): Marked increases in aberrations at 200 µM (7.0%) and 350 µM (21.0%) after the 20 h treatment, 0 h recovery without S9. Negative after 10 and 24 h recovery periods.

TT #[redacted]-8641 (20 h treatment including a 0 h [with or without inosine] and a 10 h [with inosine] recovery period): Marked increases in aberrations at 200 µM (11.5%), 300 µM (22.0%), and 350 µM (36.0%) after the 20 h treatment without inosine and at 300 µM (20.0%) and 350 µM (19%) after the 20 h treatment with inosine. Negative after the 20 h treatment with inosine with 10 h recovery.

TT #[redacted]-8643 (20 h treatments with or without inosine, no recovery period): Marked increases in aberrations at 200 µM (11.0%), 300 µM (19.0%), 350 µM (40.0%), and 400 µM (42.0%) after the 20 h treatment without inosine and at 350 µM (9.50%) and 400 µM (14.0%) after the 20 h treatment with inosine.

Note: A test is considered positive if there are statistically significant increases ($p \leq 0.01$) over concurrent controls in the percentages of aberrant cells at 2 or more separate concentrations of test article without greatly exceeding a 50% reduction in growth. The analysis is a pairwise comparison of the percentage of cells with aberrations at each dose level with the controls by Fisher's Exact test with the *p*-values adjusted for multiple comparisons against a common control. The tests with and without S9 activation, and different treatment lengths are considered separately.

Additional Comments Regarding Test: The increases in aberrations were associated with marked growth suppression. Chromosome aberrations can be induced under conditions of nucleoside pool imbalance. Phosphorylated adenosine (deoxyadenosine) analog (ISL) inhibits synthesis of AMP from IMP through feedback inhibition, which can lead to nucleoside pool imbalance. The resulting pool imbalance could be ameliorated by supplying inosine, a source of AMP. Reduction in toxicity and aberration induction was observed in the presence of inosine, suggesting that disruption of nucleoside pools by ISL may contribute to growth suppression and aberrations.

C Confidential

2.6.7.8.B　CHO 細胞を用いた探索的 in vitro 染色体異常試験

試験番号: TT #[redacted]-8625, TT #[redacted]-8635, TT #[redacted]-8641, TT #[redacted]-8643（続き）

被験物質：イスラトラビル

TT #[redacted]-8625: Range-Finding Assay for Chromosomal Aberrations
Summary of Cytotoxicity and Aberrations at 20 h Postdose

treatment	Cell Growth (PD, % Control)	Percent Aberrant Cells	Frequency Abs/100 Cells[a,b]	Percent Endoreduplicated Cells[c]	Percent Polyploid Cells[c]
With S9 (3 h Treatment)					
DMSO (1%)	100	0.5	0.5	0.0	1.0
DMSO (1%)	100	0.5	0.5	0.0	1.2
Cyclophosphamide (2.5 µM)	ND	3.5	4.0	NS	NS
Cyclophosphamide (40 µM)	28	100.0**[d]	460.0	NS	NS
ISL (µM)					
23	Discarded	NS	NS	NS	NS
47	92	2.0	3.0	0.0	1.6
94	77	NS	NS	NS	NS
188	66	0.5	0.5	0.2	0.4
375	57	0.0	0.0	0.0	0.8
750	41	NS	NS	NS	NS
1500[e,f]	14	NS	NS	NS	NS
3000[e,f]	Discarded	NS	NS	NS	NS

Confidential

2.6.7.8.B　CHO 細胞を用いた探索的 in vitro 染色体異常試験

試験番号: TT #[redacted]-8625, TT #[redacted]-8635, TT #[redacted]-8641, TT #[redacted]-8643（続き）

被験物質：イスラトラビル

TT #[redacted]-8625: Range-Finding Assay for Chromosomal Aberrations, Continued
Summary of Cytotoxicity and Aberrations at 20 h Postdose

Treatment	Cell Growth (PD, % Control)	Percent Aberrant Cells	Frequency Abs/100 Cells[a,b]	Percent Endoreduplicated Cells[c]	Percent Polyploid Cells[c]
Without S9 (3 h Treatment)					
DMSO 1%	100	0.5	3.0	0.0	2.2
DMSO 1%	100	1.5	1.5	0.0	1.8
Mitomycin C (0.5 µM)	ND	14.0**[g]	18.0	NS	NS
ISL (µM)					
23	Discarded	NS	NS	NS	NS
47	Discarded	NS	NS	NS	NS
94	85	2.0	3.0	0.0	2.0
188	71	NS	NS	NS	NS
375	56	0.5	0.5	0.0	2.6
750	45	1.0	2.5	0.0	2.2
1500[e]	26	NS	NS	NS	NS
3000[e]	Discarded	NS	NS	NS	NS

C Confidential

2.6.7.8.B　CHO 細胞を用いた探索的 in vitro 染色体異常試験

試験番号: TT #[redacted]-8625, TT #[redacted]-8635, TT #[redacted]-8641, TT #[redacted]-8643（続き）

被験物質：イスラトラビル

TT #[redacted]-8625: Range-Finding Assay for Chromosomal Aberrations, Continued
Summary of Cytotoxicity and Aberrations at 20 h Postdose

Treatment	Cell Growth (PD, % Control)	Percent Aberrant Cells	Frequency Abs/100 Cells[a,b]	Percent Endoreduplicated Cells[c]	Percent Polyploid Cells[c]
Without S9 (20 h Treatment)					
DMSO (1%)	100	1.0	1.0	0.0	1.6
DMSO (1%)	100	0.0	0.0	0.0	1.6
ISL (μM)					
23	Discarded	NS	NS	NS	NS
47	88	2.0	2.0	0.0	1.8
94	80	NS	NS	NS	NS
188	66	4.5	4.5	0.0	2.0
375	53	14.0**[g]	15.0	0.0	1.6
750	38	NS	NS	NS	NS
1500[e]	27	NS	NS	NS	NS
3000[e]	Discarded	NS	NS	NS	NS

C Confidential

2.6.7.8.B　CHO 細胞を用いた探索的 in vitro 染色体異常試験

試験番号: TT #[redacted]-8625, TT #[redacted]-8635, TT #[redacted]-8641, TT #[redacted]-8643（続き）

被験物質：イスラトラビル

TT #[redacted]-8635: Assay for Chromosomal Aberrations
Summary of Cytotoxicity and Aberrations at 20, 30, and 44 h (after beginning of treatment)

Treatment	20 h (20 h txt, 0 h recovery)				30 h (20 h txt, 10 h recovery)				44 h (20 h txt, 24 h recovery)			
	Cytotoxicity		Aberrations		Cytotoxicity		Aberrations		Cytotoxicity		Aberrations	
	Total Cells (10^6)	PD (% Ctrl)	% Ab Cells	Freq Abs/100 Cells[a,b]	Total Cells (10^6)	PD (% Ctrl)	% Ab Cells	Freq Abs/100 Cells[a,b]	Total Cells (10^6)	PD (% Ctrl)	% Ab Cells	Freq Abs/100 Cells[a,b]
Without S9 (20 h Treatment)												
DMSO (1%)	3.39	100	1.0	1.0	4.38	100	1.5	1.5	8.32	100	1.5	2.0
DMSO (1%)			0.5	0.5			1.0	1.5			0.5	0.5
Mitomycin C (0.125 µM)	2.80	82	26.0**[g]	32.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Mitomycin C (0.5 µM)	2.32	64	68.0**[h]	136.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ISL (µM)												
100	2.50	71	5.0	5.0	2.55	59	2.5	2.5	3.13	50	0.0	0.0
200	2.15	57	7.0**	8.0	2.09	44	5.0	5.0	2.39	36	NS	NS
300	1.90	45	NS	NS	1.73	29	NS	NS	1.85	23	NS	NS
350	2.00	50	21.0**[g]	23.0	1.63	25	NS	NS	1.77	21	NS	NS
400	1.75	37	NS	NS	1.71	28	NS	NS	1.66	17	NS	NS
450	1.69	34	NS	NS	1.78	31	NS	NS	1.56	14	NS	NS
500	1.69	34	NS	NS	1.55	21	NS	NS	1.48	12	NS	NS
600	1.49	22	NS	NS	1.61	24	NS	NS	Dead	NS	NS	NS
750	1.40	16	NS	NS	Dead	NS	NS	NS	Dead	NS	NS	NS

C Confidential

2.6.7.8.B　CHO 細胞を用いた探索的 in vitro 染色体異常試験

試験番号: TT #[redacted]-8625, TT #[redacted]-8635, TT #[redacted]-8641, TT #[redacted]-8643（続き）

被験物質：イスラトラビル

TT #[redacted]-8641: Assay for Chromosomal Aberrations With and Without 800 µM Inosine
Summary of Cytotoxicity and Aberrations at 20 and 30 h (after beginning of treatment)

Treatment	20 h (20 h txt, 0 h recovery) without Inosine				20 h (20 h txt, 0 h recovery) with 800 µM Inosine				30 h (20 h txt, 10 h recovery), with 800 µM Inosine			
	Cytotoxicity		Aberrations		Cytotoxicity		Aberrations		Cytotoxicity		Aberrations	
	Total Cells (10^6)	PD (% Ctrl)	% Ab Cells	Freq Abs/100 Cells[a,b]	Total Cells (10^6)	PD (% Ctrl)	% Ab Cells	Freq Abs/100 Cells[a,b]	Total Cells (10^6)	PD (% Ctrl)	% Ab Cells	Freq Abs/100 Cells[a,b]
Without S9 (20 h Treatment)												
DMSO (1%)	2.89	100	2.5	3.0	2.99	100	1.0	1.0	4.26	100	3.5	8.0
DMSO (1%)			1.0	1.5			2.5	5.0			4.0	7.0
Mitomycin C (0.125 µM)	2.90	100	19.0[g]	23.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Mitomycin C (0.5 µM)	2.28	75	72.0[h]	164.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ISL (µM)												
50	2.63	90	NS	NS	2.69	89	NS	NS	3.15	77	NS	NS
100	2.27	74	NS	NS	2.58	85	NS	NS	2.74	67	NS	NS
200	1.94	57	11.5	15.5	2.26	71	6.0	6.5	2.30	54	2.5	2.5
300	1.81	50	22.0[g]	34.0	2.08	63	20.0[g]	22.0	1.96	42	NS	NS
350	1.77	48	36.0[g]	56.0	1.89	53	19.0	22.5	1.90	39	NS	NS
400	1.57	35	NS	NS	1.98	58	NS	NS	1.84	37	NS	NS
500	1.40	23	NS	NS	1.77	46	NS	NS	1.58	25	NS	NS

C Confidential

2.6.7.8.B　CHO 細胞を用いた探索的 in vitro 染色体異常試験

試験番号: TT #[redacted]-8625, TT #[redacted]-8635, TT #[redacted]-8641, TT #[redacted]-8643（続き）

被験物質：イスラトラビル

TT #[redacted]-8643: Assay for Chromosomal Aberrations With and Without 800 µM Inosine
Summary of Cytotoxicity and Aberrations at 20 h (after beginning of treatment)

Treatment	20 h (20 h txt, 0 h recovery) without Inosine				20 h (20 h txt, 0 h recovery) with 800 µM Inosine			
	Cytotoxicity		Aberrations		Cytotoxicity		Aberrations	
	Total Cells (10^6)	PD (% Ctrl)	% Ab Cells	Freq Abs/100 Cells[a,b]	Total Cells (10^6)	PD (% Ctrl)	% Ab Cells	Freq Abs/100 Cells[a,b]
Without S9 (20 h Treatment)								
DMSO (1%)	4.02	100	1.5	2.0	3.64	100	1.0	1.0
DMSO (1%)			3.0	3.0			3.0	3.0
Mitomycin C (0.125 µM)	3.39	84	18.0[g]	28.0	ND	ND	ND	ND
Mitomycin C (0.5 µM)	2.99	72	68.0[h]	160.0	ND	ND	ND	ND
ISL (µM)								
100	2.93	70	NS	NS	3.12	84	NS	NS
200	2.53	56	11.0	11.0	2.93	77	5.0	5.0
300	2.51	55	19.0[g]	27.0	2.66	67	5.0	5.5
350	2.34	48	40.0[i]	60.0	2.58	64	9.50	10.50
400	2.37	49	42.0[i]	52.0	2.52	61	14.0	34.0
500	2.16	41	NS	NS	2.38	55	NS	NS

C Confidential

2.6.7.8.B　CHO 細胞を用いた探索的 in vitro 染色体異常試験

試験番号: TT #[redacted]-8625, TT #[redacted]-8635, TT #[redacted]-8641, TT #[redacted]-8643（続き）

被験物質：イスラトラビル

Ab=aberration; AMP=adenosine monophosphate; CHO=Chinese Hamster Ovary; CTD=Common Technical Document; Ctrl=control; DMSO=dimethyl sulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); IMP=inosine monophosphate; ISL=islatravir; ND=not done; No.=number; NS=not scored; PD=population doubling; txt=treatment.

**$p \leq 0.01$ using a one-sided Fisher's Exact Test with a correction for multiple comparisons against a common control. Statistical analysis was not performed for studies TT #[redacted]-8641 or TT #[redacted]-8643.

Note: Cyclophosphamide and Mitomycin C are the positive controls.

a. The total number of aberrations per 100 cells, since a cell may have more than one aberration.
b. 200 cells scored for aberrations per point except where noted.
c. Based on 500 mitotic cells.
d. 20 cells scored for aberrations.
e. Precipitate observed during treatment.
f. Precipitate not discernable due to interference from S9 components. Likely present based on solubility in cultures treated in medium with 10% serum.
g. 100 cells scored for aberrations.
h. 25 cells scored for aberrations.
i. 50 cells scored for aberrations.

C Confidential

2.6.7.8.C ISL：CHO 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験（TT #[redacted]-8669、TT #[redacted]-8672）

被験物質：イスラトラビル

Test for Induction of: Chromosome aberrations **Strains:** Chinese Hamster Ovary cells, clone WBL **Metabolizing System:** Beta-naphthoflavone and phenobarbital-induced rat liver S9, 1.5% **Treatment:** Continuous treatment for 20 h without S9; pulse treatment 3 h with and without S9. Harvested 20-22 h after beginning of treatment.	**No. of Independent Assays:** 2 **No. of Replicate Cultures:** 1 **No. of Cells Analyzed/Culture:** 200 except the high dose positive control and 300 µM ISL dose in the 20 h treatment (TT #[redacted]-8669) and the low and high dose positive controls (TT #[redacted]-8672) **Vehicle for Positive Controls:** Distilled water **Vehicle for Test Article:** DMSO	**Study No.:** TT #[redacted]-8669, [redacted]-8672 **Location in CTD:** [4.2.3.3.1.3: TT [redacted]8669] **GLP Compliance:** Yes **Date of Treatment:** [redacted]: TT #[redacted]-8669 : TT #[redacted]-8672

Cytotoxic Effects: See tables below.
TT #[redacted]-8669: Marked dose-related cytotoxicity in the treatments without S9. Reduction in monolayer confluence without S9 at 400 µM and above (3 h treatment) and at 300 µM and above (20 h treatment). The 3 h series with S9 activation was not scored and was repeated since cell growth for solvent controls was lower than expected (population doubling was less than 1.0). No precipitate was evident in scored cultures.

TT #[redacted]-8672: After the 3 h treatment with S9, there was marked dose-related cytotoxicity and reduction in monolayer confluence at 250 µM and above. No precipitate was evident in scored cultures.

Genotoxic Effects: Positive for chromosomal structural aberrations. There were positive points in cultures treated with ISL after the 20 h treatment without S9 at 100 µM (7.5% aberrant cells) and 300 µM (56.0% aberrant cells), which were statistically significant increases over concurrent controls and outside the typical historical control range.

Note: A test is considered positive if there are statistically significant increases ($p \leq 0.05$) over concurrent controls in the percentages of aberrant cells at 2 or more separate concentrations of test article without greatly exceeding a 50% reduction in growth. The analysis is a pairwise comparison of the percentage of cells with aberrations at each dose level with the controls by Fisher's Exact test with the *p*-values adjusted for multiple comparisons against a common control by the method of Dunnett. The tests with and without S9 activation, and different treatment lengths are considered separately.

Additional Comments Regarding Test: The levels of endoreduplication (a particular form of polyploidy) and polyploidy combined were similar to controls and were within the historical control range of this laboratory for polyploidy (up to 9.0%). The increases in aberrations were associated with marked growth suppression. Chromosome aberration induction in vitro is a common finding with nucleoside analogs, and may reflect imbalance of the pool of DNA precursors. In previous exploratory chromosomal aberration assays with this adenosine analog ISL, (TT #[redacted]-8625, TT #[redacted]-8635, TT #[redacted]-8641, and TT #[redacted]-8643; see [2.6.7.8.B 項]), it was shown that addition of inosine, in an attempt to restore appropriate levels of adenosine, ameliorated the growth reduction and chromosome aberrations. This indicated that pool imbalance likely contributes to the induction of aberrations by ISL.

2.6.7.8.C　CHO 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験

試験番号: TT #[redacted]-8669, TT #[redacted]-8672（続き）

被験物質：イスラトラビル

TT #[redacted]-8669: Assay for Chromosomal Aberrations
Summary of Cytotoxicity and Aberrations at 20 h

Treatment	Cell Growth (PD, % Control)	Percent Aberrant Cells	Frequency Abs/100 Cells[a,b]	Percent Endoreduplicated Cells[c]	Percent Polyploid Cell[c]
With S9 (3 h Treatment)					
DMSO 1%	100	RP	RP	RP	RP
DMSO 1%	100	RP	RP	RP	RP
Cyclophosphamide (2.5 µM)	103	10.50	12.00	NS	NS
Cyclophosphamide (10 µM)	73	68.00**[d]	88.00	NS	NS
ISL (µM)					
25	83	RP	RP	RP	RP
50	75	RP	RP	RP	RP
100	63	RP	RP	RP	RP
200	60	RP	RP	RP	RP
400	43	RP	RP	RP	RP
500	26	RP	RP	RP	RP
600	0	RP	RP	RP	RP
700	0	RP	RP	RP	RP
800	0	RP	RP	RP	RP
1000	0	RP	RP	RP	RP

C Confidential

2.6.7.8.C　CHO 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験

試験番号: TT #[redacted]-8669, TT #[redacted]-8672（続き）

被験物質：イスラトラビル

TT #[redacted]-8669: Assay for Chromosomal Aberrations
Summary of Cytotoxicity and Aberrations at 20 h

Treatment	Cell Growth (PD, % Control)	Percent Aberrant Cells	Frequency Abs/100 Cells[a,b]	Percent Endoreduplicated Cells[c]	Percent Polyploid Cells[c]
Without S9 (3 h Treatment)					
DMSO 1%	100	1.50	1.50	0.0	1.8
DMSO 1%	100	1.50	2.50	0.0	1.2
ISL (µM)					
25	102	1.50	1.50	0.0	1.0
50	80	NS	NS	NS	NS
100	63	NS	NS	NS	NS
200	78	1.00	1.00	0.0	1.2
400	56	NS	NS	NS	NS
500	55	2.00	2.00	0.6	1.8
600	16	NS	NS	NS	NS
700	33	NS	NS	NS	NS
800	36	NS	NS	NS	NS
1000	8	NS	NS	NS	NS

C Confidential

2.6.7.8.C　CHO 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験

試験番号: TT #[redacted]-8669, TT #[redacted]-8672（続き）

被験物質：イスラトラビル

TT #[redacted]-8669: Assay for Chromosomal Aberrations
Summary of Cytotoxicity and Aberrations at 20 h

Treatment	Cell Growth (PD, % Control)	Percent Aberrant Cells	Frequency Abs/100 Cells[a,b]	Percent Endoreduplicated Cells[c]	Percent Polyploid Cells[c]
Without S9 (20 h Treatment)					
DMSO 1%	100	1.00	1.00	0.0	1.2
DMSO 1%	100	1.00	1.00	0.0	1.6
ISL (µM)					
25	91	NS	NS	NS	NS
50	88	5.00	5.50	0.0	1.4
100	71	7.50**	7.50	0.0	1.0
300	49	56.00**[d]	116.00	0.0	2.5
350	41	NS	NS	NS	NS
400	19	NS	NS	NS	NS
500	21	NS	NS	NS	NS
600	Discarded	NS	NS	NS	NS

C Confidential

2.6.7.8.C　CHO 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験

試験番号: TT #[redacted]-8669, TT #[redacted]-8672（続き）

被験物質：イスラトラビル

TT #[redacted]-8672: Assay for Chromosomal Aberrations
Summary of Cytotoxicity and Aberrations at 22 h

Treatment	Cell Growth (PD, % Control)	Percent Aberrant Cells	Frequency Abs/100 Cells[a,b]	Percent Endoreduplicated Cells[c]	Percent Polyploid Cells[c]
With S9 (3 h Treatment)					
DMSO 1%	100	1.50	6.00	0.0	2.0
DMSO 1%	100	2.50	2.50	0.0	1.4
Cyclophosphamide (2.5 µM)	88	12.00[e]	13.00	NS	NS
Cyclophosphamide (10 µM)	50	68.00**[d]	96.00	NS	NS
ISL (µM)					
10	92	1.00	1.00	0.0	1.2
25	74	NS	NS	NS	NS
50	68	NS	NS	NS	NS
100	74	NS	NS	NS	NS
200	65	4.00	4.00	0.0	1.2
250	40	NS	NS	NS	NS
300	44	NS	NS	NS	NS
350	48	3.00	3.00	0.0	1.4
400	44	NS	NS	NS	NS
500	22	NS	NS	NS	NS
600	21	NS	NS	NS	NS
700	0	NS	NS	NS	NS

(footnotes presented on following page)

C Confidential

2.6.7.8.C　CHO 細胞を用いた in vitro 染色体異常試験

試験番号: TT #[redacted]-8669, TT #[redacted]-8672（続き）

被験物質：イスラトラビル

Ab=aberration; CHO=Chinese Hamster Ovary; CTD=Common Technical Document; DMSO=dimethyl sulfoxide; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ISL=islatravir; No.=number; NS=not scored; PD=population doubling; RP=repeated; not scored since cell growth for solvent controls was lower than expected (population doubling was less than 1.0).
**$p \leq 0.01$ using a one-sided Fisher's Exact Test with a correction for multiple comparisons against a common control.
Note: Cyclophosphamide is the positive control.
a. The total number of aberrations per 100 cells, since a cell may have more than one aberration.
b. 200 cells scored for aberrations per point except where noted.
c. Based on 500 mitotic cells.
d. 25 cells scored for aberrations.
e. 100 cells scored for aberration.

C Confidential

2.6.7.9　In vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9.A　ISL：In vivo 小核試験：ラットを用いた探索的5日間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1040）

被験物質：イスラトラビル

Test for Induction of: Micronuclei in rat bone marrow polychromatic erythrocytes **Species / Strain:** Rat / Wistar Han **Age:** 8 weeks **Cells Evaluated:** PCEs **No. of Cells Analyzed/Animal:** 2000 PCEs	**Treatment Schedule:** Once daily for five days **Sampling Time:** Approximately 24 h after the last treatment (day 6) for all animals, except male rats treated with 200 mg/kg/day sacrificed on day 5 **Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle/Formulation:** 30% Captisol in deionized water	**Study No.:** TT #[redacted]-1040 **Location in CTD:** [4.2.3.2.3: TT[redacted]1040] **GLP Compliance:** No **Date of Dosing:** [redacted] to [redacted]
Dose Selection: 30 and 200 mg/kg/day.		
Additional Comments Regarding Test: Rats were treated once daily for 5 days at a dosing volume of 5 mL/kg and sacrificed the day after final treatment as part of the toxicity study TT #[redacted]-1040. Bone marrow samples were collected for micronucleus analysis at the time of sacrifice except for the 200 mg/kg/day female group due to excessive mortality. The 200 mg/kg/day male group was terminated early and thus bone marrow collection occurred on day 5. Mitomycin C-treated animals are from a previous exploratory study and were dosed once and harvested approximately 24 hours later. The positive control (Mitomycin C) slides were coded and randomly incorporated into the slide scoring process. Bone marrow samples were processed in accordance with the Standard Operating Procedure for Assay for Micronucleus Induction in Rodent Bone Marrow (except where noted for the 200 mg/kg/day dose group). The dose levels of ISL scored for micronuclei were 30 mg/kg/day for females and 30 and 200 mg/kg/day for males.		
Toxic/Cytotoxic Effects: For clinical signs see final report for [4.2.3.2.3: TT[redacted]1040]. No bone marrow toxicity was observed in the treated groups except for the males given 200 mg/kg/day where there were slight decreases in the proportion of polychromatic erythrocytes among total erythrocytes in the bone marrow.		
Genotoxic Effects: Negative. The frequencies of MN-PCE for the 30 mg/kg/day female and 30 and 200 mg/kg/day male treatment groups were within the range for historical vehicle controls.		
Evidence of Exposure: See final study report for [4.2.3.2.3: TT[redacted]1040].		

Confidential

2.6.7.9.A　探索的 in vivo 小核試験

試験番号: TT #[redacted]-1040（続き）

被験物質：イスラトラビル

Treatment Dose	Sacrifice Time (h)	Females				Males			
		Total PCE	Total MN-PCE	MN-PCE/ 1000 PCE[a]	Percent PCE[a,b]	Total PCE	Total MN-PCE	MN-PCE/ 1000 PCE[a]	Percent PCE[a,b]
30% Captisol in diH2O 5 mL/kg/day	NA	8000	15	1.9 ± 1.0	53.5 ± 2.4	8000	5	0.6 ± 0.3	52.6 ± 3.0
30% Captisol in diH2O 5 mL/kg/day (WBM)	NA	NA	NA	NA	NA	8000	17	2.1 ± 0.5	51.3 ± 5.0
ISL 30 mg/kg/day	NA	8000	19	2.4 ± 0.4	54.2 ± 3.3	8000	15	1.9 ± 0.5	48.2 ± 1.5
ISL 200 mg/kg/day (WBM)	NA	NS	NS	NS	NS	8000	16	2.0 ± 1.2	41.4 ± 3.4
Mitomycin C, 0.6 mg/kg	24	NA	NA	NA	NA	2000	27	13.5	60.7
Mitomycin C, 1.6 mg/kg	24	NA	NA	NA	NA	2000	35	17.5	55.2

CTD=Common Technical Document; FOB=functional observational battery; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ISL=islatravir; MN=micronucleated; NA=not applicable; No.=number; NS=not scored; PCE=polychromatic erythrocyte; WBM=whole bone marrow.
Note: Since slides from the high dose male group were prepared as WBM smears, an additional set of WBM slides from the male vehicle control group were included in the scoring set to ensure scorer objectivity.
a. Group mean ± standard error.
b. PCE as a percent of 1000 total erythrocytes.

C Confidential

2.6.7.9.B　ISL：In vivo 小核試験：ラットを用いた29日間経口投与毒性試験（TT #[redacted]-1075）

被験物質：イスラトラビル

Test for Induction of: Micronuclei in rat bone marrow polychromatic erythrocytes **Species / Strain:** Rat / Wistar Han **Age:** 5 weeks **Cells Evaluated:** PCEs **No. of Cells Analyzed/Animal:** 2000 PCEs	**Treatment Schedule:** Once daily for 29 days for vehicle and test article groups; single dose for positive control groups. **Sampling Time:** One day after final treatment for treatment groups; 24 h after single dose for positive control groups. **Method of Administration:** Oral gavage **Vehicle/Formulation:** Polysorbate 80 in deionized water (10:90 [w/w])	**Study No.:** TT #[redacted]-1075 **Location in CTD:** [4.2.3.2.5: TT[redacted]1075] **GLP Compliance:** Yes **Date of Dosing:** [redacted] to [redacted]
Dose Selection: 3, 10, and 50 mg/kg/day.		
Additional Comments Regarding Test: Rats from the toxicity study, TT #[redacted]-1075, from which bone marrow samples were taken for micronucleus analysis were treated once daily for 29 days at a dosing volume of 5 mL/kg/day and sacrificed the day after final treatment. Mitomycin C-treated animals are from a previous exploratory study and were dosed once and harvested approximately 24 hours later. The positive control (Mitomycin C) slides were coded and randomly incorporated into the slide scoring process. Bone marrow samples were processed in accordance with the Standard Operating Procedure for Assay for Micronucleus Induction in Rodent Bone Marrow.		
Toxic/Cytotoxic Effects: There were no unscheduled deaths, test article-related clinical signs, body weight changes, or changes in food consumption. There was no marked effect on the proportions of PCEs among total erythrocytes in the bone marrow.		
Genotoxic Effects: Negative. The frequencies of micronucleated PCEs for each ISL treatment group were similar to the concurrent controls and within the range for historical vehicle controls. The high dose positive control, mitomycin C, induced marked increases in micronuclei. Note: The assay would usually be considered positive if a significant increase in the frequency of micronucleated PCE ($p<0.05$) occurred at a minimum of 2 dose levels when compared with the concurrent vehicle control mean and was outside the historical vehicle control range. Evidence of a dose response relationship would also be considered.		
Evidence of Exposure: See final report for [4.2.3.2.5: TT[redacted]1075].		

C Confidential

2.6.7.9.B　In vivo 小核試験

試験番号: TT #[redacted]-1075（続き）

被験物質：イスラトラビル

Treatment Dose	Harvest Time (h)	Females				Males			
		Total PCE	Total MN-PCE	MN-PCE/ 1000 PCE[a]	Percent PCE[a,b]	Total PCE	Total MN-PCE	MN-PCE/ 1000 PCE[a]	Percent PCE[a,b]
Control[c] 0 mg/kg/day	FN	20,013	56	2.8 ± 0.5	54.0 ± 2.4	20,072	44	2.2 ± 0.4	50.0 ± 2.0
ISL 3 mg/kg/day	FN	10,001	31	3.1 ± 0.3	53.9 ± 2.8	10,000	22	2.2 ± 1.0	60.2 ± 2.0
ISL 10 mg/kg/day	FN	10,000	30	3.0 ± 0.6	57.6 ± 5.0	10,000	29	2.9 ± 0.7	52.3 ± 4.2
ISL 50 mg/kg/day	FN	10,000	19	1.9 ± 0.4	54.4 ± 6.4	10,000	16	1.6 ± 0.4	48.2 ± 0.8
Mitomycin C 1.5 mg/kg	24 h	NA	NA	NA	NA	8000	106	13.3 ± 4.6	52.3 ± 6.7
Mitomycin C 3.0 mg/kg	24 h	NA	NA	NA	NA	8000	257	32.1 ± 5.5	46.3 ± 1.1

CTD=Common Technical Document; FOB=functional observational battery; FN=final necropsy; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ISL=islatravir; MN=micronucleated; NA=not applicable; No.=number; PCE=polychromatic erythrocyte; w/w=weight/weight.

a. Group mean ± standard error.
b. PCE as a percent of 1000 total erythrocytes.
c. Control=polysorbate 80/deionized water (10:90 [w/w]).

C Confidential

2.6.7.10　がん原性試験

2.6.7.10.A　ISL：ラットを用いた2年間がん原性試験（TT #[redacted]-1043）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain: Rat / Wistar Han **Initial Age**: 5 weeks **Date of First Dose**: [redacted]	**Duration of Dosing:** 104 Weeks **Method of Administration:** Oral (gavage) **Vehicle/Formulation:** 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water **Treatment of Controls:** 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	**Study No.:** TT #[redacted]-1043 **Location in CTD:** [4.2.3.4.1.1: TT[redacted]1043] **GLP Compliance:** Yes[a]
Basis for High-Dose Selection: The high-dose was the maximum feasible dose. **Special Features:** Observations of the teeth (gross observations only).		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		1		3		10	
No. of Animals	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
At Start	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
Died/Sacrificed Moribund	11	14	22	15	21	18	22	15	20	11
Terminal Sacrifice	39	36	28	35	29	32	28	35	30	39
No. of Toxicokinetics Animals	F: 7	M: 7	F: 0	M: 0	F: 7	M: 7	F: 7	M: 7	F: 7	M: 7
Toxicokinetics of ISL - Study Week 13[b]										
AUC0-24h (h*µM)	NA		NA		1.08		4.27		19.4	
Cmax (µM)	NA		NA		0.497		1.58		5.42	
Tmax (h)	NA		NA		0.50		0.50		0.50	
Toxicokinetics of M4 - Study Week 13[c]										
AUC0-24h (h*µM)	NA		NA		2.05		6.42		15.4	
Cmax (µM)	NA		NA		0.634		1.70		2.30	
Tmax (h)	NA		NA		1.0		1.0		1.0	

2.6.7.10.A　長期がん原性試験

試験番号: TT #[redacted]-1043（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		1		3		10	
No. Evaluated	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50
No. of Animals with Test Article-Related Neoplastic Lesions	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. of Animals with Incidental / Spontaneous Neoplastic Lesions										
Adrenal Gland										
- adenoma, adrenocortical	1	1	3	0	2	0	2	0	2	0
- benign pheochromocytoma	1	1	0	0	2	1	0	2	0	2
- carcinoma, adrenocortical	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
- ganglioneuroma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Body Cavity, Thoracic										
- sarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Brain										
- astrocytoma	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
- benign granular cell tumor	2	1	1	5	1	0	1	1	0	4
- malignant granular cell tumor	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
- malignant meningioma	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
- oligodendroglioma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
- benign pineocytoma	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0

C Confidential

2.6.7.10.A　長期がん原性試験

試験番号: TT #[redacted]-1043（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		1		3		10	
No. Evaluated	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50
No. of Animals with Incidental / Spontaneous Neoplastic Lesions, Continued										
Cervix										
- polyp	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1	NA
- malignant schwannoma	0	NA	2	NA	1	NA	1	NA	2	NA
-stromal sarcoma	1	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Epididymis										
- malignant mesothelioma	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
Harderian Gland										
- adenocarcinoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
- malignant schwannoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Heart										
- malignant schwannoma	0	1	0	2	0	1	1	0	0	2
Joint, Femorotibial										
- hemangiosarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Kidney										
- adenoma	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
- carcinoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

C Confidential

2.6.7.10.A　長期がん原性試験

試験番号: TT #[redacted]-1043（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		1		3		10	
No. Evaluated	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50
No. of Animals with Incidental / Spontaneous Neoplastic Lesions, Continued										
Large Intestine										
- adenoma	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
- fibroma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
- lipoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Liver										
- adenoma, hepatocellular	1	6	0	0	0	2	1	5	2	5
Lung										
- adenoma	0	2	0	1	0	1	0	0	0	0
Lymph Node										
- hemangioma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
- hemangiosarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Mammary Gland										
- adenoma	1	0	4	0	2	0	3	0	3	0
- carcinoma	3	0	6	0	4	0	5	0	2	0
- fibroadenoma	7	2	8	0	9	0	14	0	12	1
Mediastinum										
- mesothelioma, malignant	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

C Confidential

2.6.7.10.A　長期がん原性試験

試験番号: TT #[redacted]-1043（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		1		3		10	
No. Evaluated	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50
No. of Animals with Incidental / Spontaneous Neoplastic Lesions, Continued										
Mesentery										
- sarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Mucosa, oral										
- carcinoma, squamous cell	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
- sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Muscle, skeletal										
- hemangiosarcoma	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
- malignant schwannoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
- sarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Ovary										
- adenoma	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA
- benign granulosa cell tumor	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	2	NA
- malignant Sertoli cell tumor	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Pancreas										
- adenoma, acinar cell	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
- adenoma, islet cell	1	5	0	1	0	3	0	4	0	0
- carcinoma, acinar cell	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

C Confidential

2.6.7.10.A　長期がん原性試験

試験番号: TT #[redacted]-1043（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		1		3		10	
No. Evaluated	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50
No. of Animals with Incidental / Spontaneous Neoplastic Lesions, Continued										
Parathyroid Gland										
- adenoma	1	0	0	1	0	1	1	0	0	1
Pituitary Gland										
- adenoma, pars distalis	22	16	28	18	25	16	26	13	22	8
- adenoma, pars intermedia	1	2	0	0	1	1	0	0	1	1
Prostate Gland										
- adenoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Salivary Gland										
- adenoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
- carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
- fibrosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
- malignant schwannoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Seminal Vesicle										
- carcinoma	NA	1	NA	0	NA	1	NA	1	NA	0

Confidential

2.6.7.10.A　長期がん原性試験

試験番号: TT #[redacted]-1043（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		1		3		10	
No. Evaluated	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50
No. of Animals with Incidental / Spontaneous Neoplastic Lesions, Continued										
Skin										
- adenoma, sebaceous	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
- benign basal cell tumor	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
- benign keratoacanthoma	1	4	0	1	0	7	0	2	0	3
- carcinoma, basal cell	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0
- carcinoma, squamous cell	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
- fibroma	0	0	0	1	0	2	1	3	0	3
- fibrosarcoma	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
- hemangiosarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
- lipoma	0	0	0	0	0	1	0	2	0	1
- malignant schwannoma	0	1	1	0	1	1	0	0	1	0
- osteosarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
- papilloma	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Site, Uncertain Primary										
- lymphoma	1	3	0	1	4	1	0	2	1	3
- sarcoma, histiocytic	1	0	2	0	0	0	0	2	1	0

C Confidential

2.6.7.10.A　長期がん原性試験

試験番号: TT #[redacted]-1043（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		1		3		10	
No. Evaluated	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50
No. of Animals with Incidental / Spontaneous Neoplastic Lesions, Continued										
Small Intestine										
- adenocarcinoma	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
- leiomyoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
- sarcoma	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Spinal Cord										
- benign granular cell tumor	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Stomach										
- leiomyosarcoma	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
- lipoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
- malignant schwannoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
- papilloma	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
- sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Testis										
- benign Leydig cell tumor	NA	3	NA	1	NA	4	NA	2	NA	2
- malignant mesothelioma	NA	2	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Thymus										
- benign thymoma	0	0	0	2	0	0	0	0	2	1
- malignant schwannoma	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0

2.6.7.10.A　長期がん原性試験

試験番号: TT #[redacted]-1043（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		1		3		10	
No. Evaluated	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50
No. of Animals with Incidental / Spontaneous Neoplastic Lesions, Continued										
Thyroid Gland										
- adenoma, c-cell	4	2	3	4	3	3	5	8	4	3
- carcinoma, c-cell	2	0	0	0	0	1	0	0	0	1
- adenoma, follicular cell	0	3	2	2	2	5	1	3	0	2
- carcinoma, follicular cell	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1
Uterus										
- benign stromal tumor	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA
- carcinoma	7	NA	5	NA	8	NA	7	NA	10	NA
- leiomyoma	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
- leiomyosarcoma	1	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
- malignant schwannoma	1	NA	2	NA	3	NA	0	NA	0	NA
- polyp, endometrial stromal	7	NA	4	NA	1	NA	2	NA	5	NA
- stromal sarcoma, endometrial	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Vagina										
- malignant schwannoma	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
- polyp, vaginal	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Zymbal Gland										
- adenoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

Confidential

2.6.7.10.A　長期がん原性試験

試験番号: TT #[redacted]-1043（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		1		3		10	
No. Evaluated	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50	M: 50
Noteworthy Findings										
Survival (%)	78	72	56	70	58	64	56	70	60	78
Clinical Observations (No. of Animals)										
Oral cavity signs, Discoloration (red), incisors	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	[45/50]	[42/50]
Oral cavity signs, Broken incisors	0/50	0/50	0/50	0/50	0/50	1/50	2/50	0/50	[13/50]	[22/50]
Body Weight (%)[d]										
Weeks 1 to 101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Week 102	-	656.3 g	-	+ 1	-	- 2	-	- 0	-	[- 7]
Gross Pathology										
Tooth										
- discoloration	1	-	2	-	-	5	4	1	[30]	[28]
- fracture	-	2	2	1	1	2	2	1	[4]	[7]
Histomorphology – Non-Neoplastic Lesions	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- =no noteworthy findings; [ ]=test article-related change based on incidence and/or severity; AUC0-24h=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; CTD=Common Technical Document; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; M=male; NA=not applicable; No.=number; Tmax=time to reach maximum concentration; w/w=weight/weight; #/# =number affected/number examined.

a. GLP compliant with the exception of analysis of the M4 metabolite.
b. ISL concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method.
c. M4 concentrations in plasma from all control group animals were below the LLQ (LLQ=0.0068 µM) of the bioanalytical method.
d. Control values are absolute means. Dose group values are the percent change from concurrent controls.

C Confidential

2.6.7.10.B　ISL：CByB6F1/Tg rasH2ヘミ接合マウスを用いた26週間経口投与がん原性試験（TT #[redacted]-9007）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain: Mouse / CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Hemizygous (transgenic) – main study; Wild-Type (non-transgenic) (TK sampling) **Initial Age:** 8 weeks at initiation of dosing **Date of First Dose:** [redacted]	**Duration of Dosing:** 26 weeks **Method of Administration:** Oral (gavage) **Vehicle/Formulation:** 10% (w/w) polysorbate 80 in RODI water **Treatment of Controls:** Water or 10% (w/w) polysorbate 80 in RODI water	**Study No.:** TT #[redacted]-9007 **Location in CTD:** [4.2.3.4.2.1: TT[redacted]9007] **GLP Compliance:** Yes[a]
Basis for High-Dose Selection: The high-dose was the maximum feasible dose. **Special Features:** None.		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		0 (Water Control) Group 3		Positive Control (Group 7)		1.5 (Group 4)		4 (Group 5)		13 (Group 6)	
No. of Animals	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M
At Start	25	25	25	25	25	25	15	15	25	25	25	25	25	25
Died/Sacrificed Moribund	4	0	0	2	2	1	14	12	2	1	0	3	1	1
Terminal Sacrifice	21	25	25	23	23	24	1	3	23	24	25	22	24	24
No. of TK Animals	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 0	M: 0	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3
Mean Concentration (µM) - Study Day 182[b]	NA		NA		NA		NA		0.486		1.51		5.43	
No. Evaluated	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 15	M: 15	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25
No. of Animals with Test Article-Related Neoplastic Lesions	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Confidential

2.6.7.10.B　短期又は中期がん原性試験

試験番号: TT #[redacted]-9007（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		0 (Water Control) Group 3		Positive Control (Group 7)		1.5 (Group 4)		4 (Group 5)		13 (Group 6)	
No. Evaluated	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 15	M: 15	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25
No. of Animals with Incidental / Spontaneous Neoplastic Lesions														
Harderian Gland														
- adenoma	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Liver														
- adenoma, hepatocellular	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lung														
- adenoma	1	0	2	0	1	2	2	0	0	3	0	1	1	1
- carcinoma	2	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
Mammary Gland														
- carcinoma	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Ovary														
- benign granulosa cell tumor	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Pituitary Gland														
- adenoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

C Confidential

2.6.7.10.B　短期又は中期がん原性試験

試験番号: TT #[redacted]-9007（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		0 (Water Control) Group 3		Positive Control (Group 7)		1.5 (Group 4)		4 (Group 5)		13 (Group 6)	
No. Evaluated	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 15	M: 15	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25
No. of Animals with Incidental / Spontaneous Neoplastic Lesions, Continued														
Skin														
- hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
- papilloma	0	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	0	1
- malignant schwannoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
- benign epithelioma, cystic keratinizing	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Site, Uncertain Primary														
- carcinoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
- lymphoma	0	0	0	0	0	0	9	10	0	0	0	0	0	0
Small Intestine, Duodenum														
- carcinoma	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
Small Intestine, Jejunum														
- adenoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Spleen														
- hemangioma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
- hemangiosarcoma	1	1	0	2	0	2	1	2	2	0	1	1	0	1

C Confidential

2.6.7.10.B　短期又は中期がん原性試験

試験番号: TT #[redacted]-9007（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control 1)		0 (Control 2)		0 (Water Control) Group 3		Positive Control (Group 7)		1.5 (Group 4)		4 (Group 5)		13 (Group 6)	
No. Evaluated	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 15	M: 15	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25
No. of Animals with Incidental / Spontaneous Neoplastic Lesions, Continued														
Stomach														
- papilloma	0	0	0	0	1	1	6	13	0	0	0	1	0	0
- carcinoma, squamous cell	0	0	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0
Vagina														
- papilloma	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Tongue														
- papilloma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Uterus/Cervix														
- hemangiosarcoma	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
- polyp	0	NA	0	NA	0	NA	4	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Noteworthy Findings														
Survival (%)	84	100	100	92	92	96	7	20	92	96	100	88	96	96
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histomorphology – Non-Neoplastic Lesions	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(footnotes presented on following page)

C Confidential

2.6.7.10.B　短期又は中期がん原性試験

試験番号: TT #[redacted]-9007（続き）

被験物質：イスラトラビル

- =no noteworthy findings; CTD=Common Technical Document; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; M=male; NA=not applicable; NMU=N-nitrosomethylurea; No.=number; RODI=reverse osmosis deionized; TK=toxicokinetic(s); w/w=weight/weight.

a. GLP compliant with the exceptions of the characterization and stability testing of the test article, concentration, stability, and homogeneity of the positive control article (NMU) formulations were not determined and a reserve sample was not collected, and serology testing.

b. ISL concentrations in plasma from all control group animals at 1 h were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM) of the bioanalytical method.

C Confidential

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration in Vehicle/ Formulation	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rat / Wistar Han (Preliminary EFD & TK)	Oral (gavage) in 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	GD 6 to 20	0, 3, 10, 50, 200	8 F (toxicity portion); 4 F (TK portion)	The 200 mg/kg/day group was terminated on GD 12 or 13 due to ISL-related excessive maternal toxicity consisting of clinical signs (unformed or liquid feces and unkempt appearance), mean maternal body weight loss between GD 6 and 12 (- 18 g, compared to + 28 g in control), and decreased mean food consumption on GD 8 (27% below control). At 3, 10, and 50 mg/kg/day, there was no mortality and no ISL-related clinical signs, or effects on body weight gain, food consumption, embryonic/fetal viability, fetal sex ratios, or fetal external, visceral, or skeletal morphology. A slight decrease in mean live F and M fetal body weights (6% and 7%, respectively, below control) noted in the 50 mg/kg/day group was initially considered of uncertain relationship to treatment due to the minimal magnitude of the change. However, because similar findings were not seen in the definitive study (TT #[redacted]-7080, see [2.6.7.13.A 項]), this finding was unlikely treatment related.	TT #[redacted]-7001 [4.2.3.5.2.1: TT[redacted]7001]

Confidential

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration in Vehicle/Formulation	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	Study Number
Rabbit/ Dutch Belted (Preliminary EFD & TK)	Oral (gavage) in 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	GD 7 to 20	0, 3, 10, 50, 200	8 F (toxicity portion); 4 F (TK portion)	TT #[redacted]-7064 [4.2.3.5.2.3: TT[redacted]7064]

Noteworthy Findings:

The 200 mg/kg/day group was terminated on GD 11 or 12 due to unacceptable ISL-related maternal toxicity in the form of unscheduled deaths (2 of 12 F), mean maternal body weight loss between GD 7 and 11 (- 130 g, compared to a mean gain of 25.3 g in controls), and decreased mean maternal food consumption on GD 8 (20% below control). ISL-related clinical signs in the 200 mg/kg/day group included fecal stained fur, no urine, and no, unformed, or liquid feces. One F in 200 mg/kg/day was euthanized on GD 11 due to body weight loss, decreased food consumption, and clinical signs of sternal recumbency and liquid or unformed feces. Another F in the 200 mg/kg/day group was found dead prior to dosing on GD 12. Prior to death, this F had body weight loss, decreased mean food consumption, and physical signs of labored breathing and white discharge around the mouth and liquid feces. Although TK samples were not collected at 200 mg/kg/day these unscheduled deaths occurred at a very high AUC EM, not relevant to humans (>9,331-fold based on TK assessed at the 50 mg/kg dose level).

The 50 mg/kg/day group was terminated on GD 16 or 17 due to unacceptable ISL-related maternal toxicity in the form of mean maternal body weight loss between GD 7 and 15 (- 34.5 g, compared to a gain of 103 g in controls) and decreased mean maternal food consumption on GD 13 (63% below control).

In the 3 and 10 mg/kg/day groups, there was no mortality and no ISL-related clinical signs, or effects on body weights, food consumption, embryonic/fetal viability, fetal sex ratios, or fetal external, visceral, or skeletal morphology.

There were no ISL-related effects on F or M mean fetal body weights in the 3 mg/kg/day group or M mean fetal body weight in the 10 mg/kg/day group; however, in the 10 mg/kg/day group, there was a slight decrease in F mean fetal body weights (7% below control) that was initially considered of uncertain relationship to treatment due to the minimal magnitude of the change. However, because similar body weight changes were not seen in the definitive EFD study in rabbits (TT #[redacted]-7040, see [2.6.7.13.B 項]), this finding was considered not treatment-related. In the 3 and 10 mg/kg/day groups, there was a slight increase in the number of fetuses with incompletely ossified hyoid bone (6.3% and 12% litter mean, compared to 2.1% in concurrent control). Because there were no ISL-related effects on ossification at any other sites in the 3 and 10 mg/kg/day groups, as well as the lack of similar findings in the definitive study (TT #[redacted]-7040), these slight increased incidences at one ossification site were considered not treatment related.

C Confidential

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration in Vehicle/Formulation	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. per Group	Study Number
Rat / Wistar Han (Exploratory tolerability & TK in juveniles)	Oral (gavage) in 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	PND 4 to 20	0, 3, 10, 25, 50	12 F & 12 M (tolerability portion); 20 F & 20 M (TK portion, test article-treated dose groups)	TT #[redacted]-7035 [4.2.3.5.4.1: TT[redacted]7035]
Noteworthy Findings: No test article-related deaths, clinical signs, or effects on incisor eruption. In the 10, 25, and 50 mg/kg/day groups, there were non-dose-dependent decreases in mean body weight gain relative to control in F and M pups between PND 4 and 21 (F: - 17%, - 17%, - 9%, and M: - 17%, - 17%, - 15%, respectively). Because of the lack of a dose-response relationship over a 5X increase in dose and given the dose-proportional nature of the systemic exposure across these dose levels, these decreases were considered of uncertain relationship to treatment.					
AUC=area under the concentration-time curve; EFD=embryo-fetal development(al); EM=exposure multiple; F=female; GD=gestation day; ISL=islatravir; M=male; No.=number; PND=postnatal day; TK=toxicokinetic(s); w/w=weight/weight.					

Confidential

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

2.6.7.12.A　ISL：雌雄ラットを用いた経口投与受胎能試験（TT #[redacted]-7030）

被験物質：イスラトラビル

Design Similar to ICH 4.1.1? Yes **Species / Strain:** Rat / Wistar Han **Initial Age:** Females approximately 10 weeks and Males approximately 9 weeks **Date of First Dose:** [redacted]	**Day of Mating:** GD 0 **Day of Cesarean-Section:** GD 15 to 17 **Method of Administration:** Oral (gavage) **Dosing Volume:** 5 mL/kg **Vehicle/Formulation:** 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	**Study Number:** TT #[redacted]-7030 **Location in CTD:** [4.2.3.5.1.1: TT[redacted]7030] **GLP Compliance:** Yes

Special Features: None.

Treatment Interval (Females for Fertility Assessment): 15 days prior to cohabitation, during cohabitation, and through GD 7.

Treatment Interval (Males): 15 days prior to cohabitation, during cohabitation, and until 1 day prior to scheduled sacrifice (approximately 6 weeks total).

No Observed Effect Level: 10 mg/kg/day for general toxicity parameters and ≥18 mg/kg/day for female/male fertility parameters.

No Observed Adverse Effect Level: ≥18 mg/kg/day for female/male fertility parameters.

	Females					Males				
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1	3	10	18	0 (Control)	1	3	10	18
Number of Animals	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Noteworthy Findings										
Mortality (No. of Animals)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Physical Examination	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight Change (%)[a]										
GD 0 to 8	27.4 g	+ 4.0	- 0.36	- 10.6	[- 13.9]	NE	NE	NE	NE	NE
Weeks 3 to 7	NE	NE	NE	NE	NE	58.1 g	- 0.86	0	- 2.1	[- 15.1]
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.12.A　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

試験番号: TT #[redacted]-7030（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0	1	3	10	18
Number of Animals (Female / Male)	20 / 20	20 / 20	20 / 20	20 / 20	20 / 20
Noteworthy Findings, Continued					
No. Females Cohabited	20	20	20	20	20
No. Females Mated	20	20	20	20	20
No. Pregnant Females	20	20	20	15	19
No. Nonpregnant Females	0	0	0	5	1
Time to Mating (4-Day Periods)	1.25	1.00	1.20	1.05	1.25
Mating Index (%)	100	100	100	100	100
Fecundity Index (%)	100	100	100	75	95
Fertility Index (%)	100	100	100	75	95

2.6.7.12.A　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

試験番号: TT #[redacted]-7030（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0	1	3	10	18
Number of Animals (Female / Male)	20 / 20	20 / 20	20 / 20	20 / 20	20 / 20
Noteworthy Findings (continued)					
Reproductive Parameters (Mean Values)					
No. Corpora Lutea/Pregnant Female	12.9	12.1	13.0	13.9	12.8
No. Implantations/Pregnant Female	10.9	10.7	11.6	11.8	11.9
% Resorptions/Implantations (LM)	4.0	7.1	9.0	8.4	6.1
% Dead Fetuses/Implantations (LM)	0	0	0	0	0
No. Live Fetuses/Pregnant Female	10.4	9.9	10.6	10.8	11.2
% Peri-Implantation Loss (LM)	15.5	12.8	10.7	14.5	6.6
% Postimplantation Loss (LM)	4.0	7.1	9.0	8.4	6.1
Gross Examination[b]	-	-	-	-	-
Organ Weight (Testes Only)	-	-	-	-	-

- =no noteworthy findings; [ ]=test article-related change based on incidence and/or severity; CTD=Common Technical Document; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; ICH=International Council for Harmonisation; ISL=islatravir; LM=litter mean; NE=not evaluated; No.=number; w/w=weight/weight.
Mating Index=mated females/females cohabited × 100.
Fecundity Index=pregnant females/mated females × 100.
Fertility Index=pregnant females/females cohabited × 100.
% Peri-implantation loss=[(No. of corpora lutea – no. of implantations)/(no. of corpora lutea)] × 100.
% Postimplantation loss=[(No. of resorptions + no. of dead fetuses)/(no. of implantations)] × 100.
a. Control values are absolute means. Dose group values are the percent change from concurrent controls.
b. Limited to examination of the thoracic and abdominal viscera (females and males), testes and epididymides (males).

Confidential

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.A　ISL：ラットを用いた経口投与胚・胎児発生毒性及び TK 試験（TT #[redacted]-7080）

被験物質：イスラトラビル

Design Similar to ICH 4.1.3? Yes **Species / Strain:** Rat / Wistar Han **Initial Age:** approximately 10 weeks at study start **Date of First Dose:** [redacted] **Special Features:** TK on GD 15	**Day of Mating:** GD 0 **Day of Cesarean-Section:** GD 21 **Method of Administration:** Oral (gavage) **Dosing Volume:** 5 mL/kg **Vehicle/Formulation:** 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	**Study Number:** TT #[redacted]-7080 **Location in CTD:** [4.2.3.5.2.2: TT[redacted]7080] **GLP Compliance:** Yes

Treatment Interval: GD 6 through 20 (females scheduled for cesarean-section), GD 6 through 15 (females scheduled for TK blood collection)

No Observed Effect Level: ≥50 mg/kg/day (maternal and developmental toxicity)

No Observed Adverse Effect Level: ≥50 mg/kg/day (maternal and developmental toxicity)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	50
Number of Animals				
Total No. of Females	24	24	24	24
No. Females Scheduled for Cesarean-Section	20	19	20	20
No. Females Scheduled for TK Sampling	4	5	4	4
Maternal TK (GD 15)[a]				
AUC0-24h (h*µM)	NA	3.22	16.7	162
Cmax (µM)	NA	1.39	4.73	21.7
Tmax (h)	NA	0.50	0.75	2.0
Noteworthy Findings				
Mortality (No. of Females)	0	0	0	0
Physical Examinations	-	-	-	-
Body Weight Change	-	-	-	-

2.6.7.13.A　胚・胎児発生に関する試験

試験番号: TT #[redacted]-7080（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	50
Number of Animals				
Total No. of Females	24	24	24	24
No. Females Scheduled for Cesarean-Section	20	19	20	20
No. Pregnant Females	18	18	18	18
No. Nonpregnant Females	2	1	2	2
Noteworthy Findings, Continued				
Food Consumption	-	-	-	-
Gross Examination[b]	-	-	-	-
Reproductive Parameters (mean values)				
No. Litters Evaluated	18	18	18	18
No. Corpora Lutea/Pregnant Female	10.7	11.6	10.9	11.0
No. Implantations/Pregnant Female	9.8	10.1	8.6	9.4
% Resorptions/Implantations (LM)	6.4	7.1	5.5	5.8
% Dead Fetuses/Implantations (LM)	0	0	0	0
No. Live Fetuses/Pregnant Female	9.2	9.4	8.3	8.9
% Peri-Implantation Loss (LM)	8.2	12.2	20.3	14.6
% Postimplantation Loss (LM)	6.4	7.1	5.5	5.8
Fetal Sex Ratios (LM)	0.54	0.48	0.47	0.43

C Confidential

2.6.7.13.A　胚・胎児発生に関する試験

試験番号: TT #[redacted]-7080（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	3	10	50
Number of Animals				
Total No. of Females	24	24	24	24
No. Females Scheduled for Cesarean-Section	20	19	20	20
No. Pregnant Females	18	18	18	18
No. Nonpregnant Females	2	1	2	2
Noteworthy Findings, Continued				
Live Fetal Weights (g)				
Females	5.10	5.24	5.24	4.97
Males	5.46	5.53	5.61	5.21
Placental Morphology				
No. Abnormal Placentas / Total Examined	0 / 166	0 / 170	0 / 150	2 / 160
Fetal Morphology				
External Examination	-	-	-	-
Visceral Examination	-	-	-	-
Coronal Examination	-	-	-	-
Skeletal Examination	-	-	-	-

(footnotes presented on following page)

Confidential

2.6.7.13.A　胚・胎児発生に関する試験

試験番号: TT #[redacted]-7080（続き）

被験物質：イスラトラビル

- =no noteworthy findings; AUC0-24h=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; CTD=Common Technical Document; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ICH=International Council for Harmonisation; ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; LM=litter mean; NA=not applicable; No.=number; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration; w/w=weight/weight.
Fetal sex ratio=[Total no. live female fetuses/(total no. live female fetuses + total no. live male fetuses)].
% Peri-implantation loss=[(No. of corpora lutea – no. of implantations)/(no. of corpora lutea)] × 100.
% Postimplantation loss=[(No. of resorptions + no. of dead fetuses)/(no. of implantations)] × 100.
a. ISL concentrations in plasma from all control group animals at 0.5 h were below the LLQ (LLQ=0.00682 μM).
b. Limited to examination of the thoracic and abdominal viscera.

2.6.7.13.B　ISL：ウサギを用いた経口投与胚・胎児発生毒性及び TK 試験（TT #[redacted]-7040）

被験物質：イスラトラビル

Design Similar to ICH 4.1.3? Yes **Species / Strain:** Rabbit / Dutch Belted **Initial Age:** approximately 27 weeks at study start **Date of First Dose:** [redacted] **Special Features:** TK on GD 15	**Day of Mating:** GD 0 **Day of Cesarean-Section:** GD 28 **Method of Administration:** Oral (gavage) **Dosing Volume:** 5 mL/kg **Vehicle/Formulation:** 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	**Study Number:** TT #[redacted]-7040 **Location in CTD:** [4.2.3.5.2.4: TT[redacted]7040] **GLP Compliance:** Yes

Treatment Interval: GD 7 through 20 (females scheduled for cesarean-section), GD 7 through 15 (females scheduled for TK blood collection)

No Observed Effect Level: ≥10 mg/kg/day (maternal and developmental toxicity)

No Observed Adverse Effect Level: ≥10 mg/kg/day (maternal and developmental toxicity)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1	3	10
Number of Animals				
Total No. of Females	23	23	23	23
No. Females Scheduled for Cesarean-Section	19	19	19	19
No. Females Scheduled for TK Sampling	4	4	4	4
Maternal Toxicokinetics (GD 15)[a]				
AUC0-24h (h*µM)	NA	3.99	11.5	41.5
Cmax (µM)	NA	0.966	3.48	10.5
Tmax (h)	NA	1.0	1.0	0.83
Noteworthy Findings				
Mortality (No. of Females)	0	0	0	0
Physical Examinations	-	-	-	-
Body Weight Change	-	-	-	-

Confidential

2.6.7.13.B　胚・胎児発生に関する試験

試験番号: TT #[redacted]-7040（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1	3	10
Number of Animals				
Total No. of Females	23	23	23	23
No. Females Scheduled for Cesarean-Section	19	19	19	19
No. Pregnant Females	19	17	17	19
No. Nonpregnant Females	0	2	2	0
Noteworthy Findings, Continued				
Food Consumption	-	-	-	-
Gross Examination[b]	-	-	-	-
Reproductive Parameters (mean values)				
No. Litters Evaluated	19	17	17	19
No. Corpora Lutea/Pregnant Female	7.2	8.0	7.5	7.5
No. Implantations/Pregnant Female	6.5	6.3	6.8	6.8
% Resorptions/Implantations (LM)	5.1	1.5	2.6	3.9
% Dead Fetuses/Implantations (LM)	0	0	0	0
No. Live Fetuses/Pregnant Female	6.2	6.2	6.6	6.5
% Peri-Implantation Loss (LM)	8.5	21.3	9.0	9.4
% Postimplantation Loss (LM)	5.1	1.5	2.6	3.9
Fetal Sex Ratios (LM)	0.51	0.48	0.57	0.53

2.6.7.13.B　胚・胎児発生に関する試験

試験番号: TT #[redacted]-7040（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1	3	10
Number of Animals				
Total No. of Females	23	23	23	23
No. Females Scheduled for Cesarean-Section	19	19	19	19
No. Pregnant Females	19	17	17	19
No. Nonpregnant Females	0	2	2	0
Noteworthy Findings, Continued				
Live Fetal Weights (g)				
Females	31.0	31.3	30.7	29.5
Males	31.8	31.5	30.8	29.7
Placental Morphology				
No. Abnormal Placentas / Total Examined	0 / 117	0 / 105	0 / 113	0 / 124
Fetal Morphology				
External Examination	-	-	-	-
Visceral Examination	-	-	-	-
Coronal Examination	-	-	-	-
Skeletal Examination	-	-	-	-

Confidential

2.6.7.13.B　胚・胎児発生に関する試験

試験番号: TT #[redacted]-7040（続き）

被験物質：イスラトラビル

- =no noteworthy findings; AUC0-24h=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; CTD=Common Technical Document; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ICH=International Council for Harmonisation; ISL=islatravir; LLQ=lower limit of quantitation; LM=litter mean; NA=not applicable; No.=number; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration; w/w=weight/weight.
Fetal sex ratio=[Total no. live female fetuses/(total no. live female fetuses + total no. live male fetuses)].
% Peri-implantation loss=[(No. of corpora lutea – no. of implantations)/(no. of corpora lutea)] × 100.
% Postimplantation loss=[(No. of resorptions + no. of dead fetuses)/(no. of implantations)] × 100.
a. ISL concentrations in plasma from all control group animals at 0.5 h were below the LLQ (LLQ=0.00341 µM).
b. Limited to examination of the thoracic and abdominal viscera.

C Confidential

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

2.6.7.14.A　ISL：ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する経口投与毒性試験（TT #[redacted]-7080）

被験物質：イスラトラビル

Design Similar to ICH? Yes **Species / Strain:** Rat / Wistar Han **Initial Age:** approximately 10 weeks at study start **Date of First Dose:** [redacted] **Day of Mating:** GD 0 **Treatment Interval (F_0 generation):** GD 6 to LD 20 **Special Features:** None	**Method of Administration:** Oral (gavage) **Dosing Volume:** 5 mL/kg **Vehicle/Formulation:** 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water **Litters Culled/Not Culled:** Culled to 8 pup/litter on PND 3	**Study Number:** TT #[redacted]-7080 **Location in CTD:** [4.2.3.5.3.1: TT[redacted]7080] **GLP Compliance:** Yes[a]

No Observed Adverse Effect Level: ≥10 mg/kg/day (for both maternal and F_1 generation toxicity)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1	3	10
No. of Animals - F_0 Generation				
Total No. of Mated Females	20	20	20	20
Total No. of Pregnant Females	20	20	19	20
No. of Females Designated for Parturition	20	20	20	20
Noteworthy Findings – F_0 Generation				
Mortality (No. of Animals)	0	0	1[b]	0
During Gestation	0	0	0	0
During Parturition	0	0	0	0
During Lactation	0	0	1[b]	0
Physical Examinations	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-
Mean Length of Gestation (Days)	22.1	21.7	21.9	22.1

2.6.7.14.A　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

試験番号: TT #[redacted]-7080（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1	3	10
Noteworthy Findings – F_0 Generation, Continued				
Females with Live Pups on PND 21	20	20	18	19
Gross Examination (LD 21)[c]	-	-	-	-
Noteworthy Findings – F_1 Generation, Preweaning (Mean Values)				
Parental Females[d]	20	20	19	20
Females Failing to Initiate/Complete Parturition	0	0	0	1
Females with Live Pups (LD 0)	20	20	19	19
No. of Implantations/Pregnant Female	10.7	12.1	9.3	10.8
Total Pups Delivered	196	230	169	192
Live Pups/Litter (PND 0)	9.8	11.5	8.9	10.1
Dead Pups on PND 0 (% LM)	2.7	0.5	0	0
% Postimplantation Survival	92.4	95.7	96.0	92.6
Sex Ratios (LM)	0.46	0.46	0.47	0.54
Pup External Morphology (PND 0)	-	-	-	-
Pup Deaths (% LM)				
PND 1 to 3	3.6	0	5.3	0
PND 4 to 7	0	0	0	0
PND 8 to 14	0.6	0	1.4	0
PND 15 to 21	0	0	0.9	0

2.6.7.14.A　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

試験番号: TT #[redacted]-7080（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1	3	10
Noteworthy Findings – F_1 Generation, Preweaning (Mean Values), Continued				
Live Pup Weights (Female / Male) (% LM)[e]				
PND 0	5.81 g / 6.18 g	- 1.7 / - 3.1	1.7 / 2.1	3.1 / 4.0
PND 7	16.1 g / 16.9 g	0.62 / - 2.4	4.3 / 4.1	3.7 / 3.6
PND 14	33.2 g / 34.3 g	1.8 / - 0.29	4.5 / 4.1	3.9 / 3.8
PND 21	52.5 g / 55.0 g	1.3 / - 1.3	4.8 / 4.9	5.0 / 5.6
Physical Signs	-	-	-	-
Noteworthy Findings – F_1 Generation, Postweaning (Mean Values)				
No. of Animals (Females / Males)	19 / 18	20 / 20	17 / 18	19 / 19
Mortality	-	-	-	-
Physical Signs	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-
Vaginal Opening	-	-	-	-
Preputial Separation	-	-	-	-
Behavioral Tests				
Passive Avoidance	-	-	-	-
Auditory Startle Habituation	-	-	-	-
Open Field Motor Activity	-	-	-	-

C Confidential

2.6.7.14.A　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

試験番号: TT #[redacted]-7080（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1	3	10
Noteworthy Findings – F_1 Generation, Postweaning (Mean Values), Continued				
No. of Females Cohabited	18	20	17	19
No. of Males Cohabited	18	20	17	19
No. Females Mated	17	20	17	19
No. Pregnant Females	16	20	16	18
No. Nonpregnant Females	1	0	1	1
No. Females Not Mated	1	0	0	0
Time to Mating (4-Day Periods; Mean Values)	1.12	1.20	1.12	1.05
Mating Index (%)	94	100	100	100
Fecundity Index (%)	94	100	94	95
Fertility Index (%)	89	100	94	95
Reproductive Parameters (Mean Values) (C Section between GD 15 and 17)				
No. Corpora Lutea/Pregnant Female	13.6	14.6	13.8	14.4
No. Implantations/Pregnant Female	11.5	13.4	12.6	12.1
% Resorptions/Implantations (LM)	10.8	5.9	4.6	9.1
% Dead Fetuses/Implantations (LM)	0	0.4	0.8	0
No. Live Fetuses/Pregnant Female	10.9	12.6	11.9	11.7
% Peri-Implantation Loss (LM)	17.2	7.9	9.9	17.5
% Postimplantation Loss (LM)	10.8	6.3	5.4	9.1

(footnotes presented on following page)

2.6.7.14.A　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

試験番号: TT #[redacted]-7080（続き）

被験物質：イスラトラビル

- =no noteworthy findings; CTD=Common Technical Document; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; ICH=International Council for Harmonisation; ISL=islatravir; LD=lactation day; LM=litter mean; No.=number; PND=postnatal day; w/w=weight/weight.
% Peri-implantation loss=[(No. of corpora lutea – no. of implantations)/(no. of corpora lutea)] × 100.
% Postimplantation loss=[(No. of resorptions + no. of dead fetuses)/(no. of implantations)] × 100.
Sex ratio=total no. of live female pups/total no live female and male pups.

a. GLP with the exception that the GD 0 body weights of F_0 females provided by the vendor were performed non-GLP.
b. Female sacrificed on Lactation Day 1 because it had no remaining pups.
c. Limited to examination of the thoracic and abdominal viscera.
d. Excludes nonpregnant females sacrificed on presumed GD 24.
e. For controls, group means are shown. For treatment groups, percent differences from controls are shown.

C Confidential

2.6.7.15　新生児を用いた試験

2.6.7.15.A　ISL：ラットを用いた経口投与による歯の発生及び TK に関する試験（TT #[redacted]-7130）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain: Rat / Wistar Han **Initial Age of F_0 Generation**: approximately 8 to 10 weeks at study start **Date of First Dose:** [redacted] **Dose Volume:** 5 mL/kg **Method of Administration:** Oral (gavage)	**Duration of Dosing:** F_0 Dams: GD 6 to LD 3 and F_1 Animals: PND 4 to 20 (animals scheduled for necropsy) or PND 4 to 14 (animals scheduled for TK blood collection) **Necropsy:** PND 21 **Duration of Postdose:** 1 day (PND 21) **Vehicle/Formulation:** 10% (w/w) polysorbate 80 in deionized water	**Study Number:** TT #[redacted]-7130 **Location in CTD:** [4.2.3.5.4.2: TT[redacted]7130] **GLP Compliance:** Yes
Special Features: TK on PND 14 and the purpose of this study was to assess tooth development in juvenile rats		
No Observed Adverse Effect Level: ≥7 mg/kg/day		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.3		3		7	
No. of Animals for TK Sampling[a]	F: 4	M: 4	F: 20	M: 22	F: 24	M: 24	F: 22	M: 24
TK – PND 14[b]								
AUC0-24h (h*µM)	NA	NA	0.763	0.753	9.24	9.24	21.7	21.7
Cmax (µM)	NA	NA	0.244	0.162	2.51	2.73	4.77	5.06
Tmax (h)	NA	NA	1	2	1	1	1	1

Confidential

2.6.7.15.A　新生児を用いた試験

試験番号: TT #[redacted]-7130（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.3	3	7
No. of Mated Females (F_0 – Maternal [Dams])	25	25	25	25
No. Not Pregnant	1	0	1	0
Noteworthy Findings F_0 – Maternal (Dams)				
Females with Live Pups/Pregnant Females (%)	100	100	100	100
Mortality	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weights	-	-	-	-
Noteworthy Findings – F_1 Pups				
No. of Animals	11 F / 12 M	12 F / 12 M	12 F / 12 M	12 F / 12 M
Total Pups Delivered	221	229	211	239
Live Pups (Sex Ratio, LM)	0.46	0.43	0.49	0.51
Dead Pups (% LM)	0.0	0.0	1.2	0.0
Pup Deaths[c]				
Postnatal Day 1 to 3	1	2	1	1
Postnatal Day 4 to 21	6	6	0	2
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weights	-	-	-	-
External Examinations at Birth				
Pups with Malformations	-	-	-	-
Pups with Variations	-	-	-	-

C Confidential

2.6.7.15.A　新生児を用いた試験

試験番号: TT #[redacted]-7130（続き）

被験物質：イスラトラビル

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.3		3		7	
No. of F_1 Animals	11 F	12 M	12 F	12 M	12 F	12 M	12 F	12 M
Noteworthy Findings – F_1 Pups, Continued								
Tooth (Incisor) Eruption								
1st Incisor Erupted (PND of Occurrence)	10.3 ± 1.1	10.3 ± 1.1	10.3 ± 0.8	10.2 ± 0.8	10.1 ± 0.8	10.2 ± 0.9	10.0 ± 0.6	10.2 ± 0.8
Last Incisor Erupted (PND of Occurrence)	11.5 ± 1.1	11.5 ± 0.7	11.7 ± 0.8	11.6 ± 0.8	10.7 ± 0.6	11.1 ± 0.7	10.9 ± 0.5	11.2 ± 0.6
Histopathology (Incisors, Molars, Maxilla, Mandible)	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-

- =no noteworthy findings; AUC0-24h=area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; Cmax=observed maximum concentration; CTD=Common Technical Document; F=female; GD=gestation day; GLP=Good Laboratory Practice; h=hour(s); ISL=islatravir; LD=lactation day; LLQ=lower limit of quantitation; LM=litter mean; M=male; NA=not applicable; NE=not examined; PND=postnatal day; No.=number; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration; w/w=weight/weight.

a. Three to four pups/sex/timepoint/dose level.

b. ISL concentrations in plasma from all control group animals at 1 h were below the LLQ (LLQ=0.00682 µM).

c. Between PND 0 and 21, 21 deaths occurred across all dose groups. These pup deaths were unrelated to ISL treatment because the incidence was minimal, lacked a dose response, and/or was lower than the concurrent control incidence.

C Confidential

2.6.7.16　局所刺激性試験

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Isolated Bovine Corneas	In vitro	0.75 mL of a 20% ISL solution	5 corneas	ISL was classified as a non-irritant.	TT #[redacted]-7826 [4.2.3.6.1: TT[redacted]7826]
MatTek EpiDerm™ tissue samples	In vitro	100 mg (Positive Control=100 µL of 1% Triton® X-100)	Each treatment (1, 4, 24 h) was conducted in duplicate; Positive Control at 4 & 9 h	ISL was classified as a non-irritant.	TT #[redacted]-7828 [4.2.3.6.2: TT[redacted]7828]

h=hour(s); ISL=islatravir; No.=number.

C Confidential

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17.A　免疫毒性

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Mouse / CD-1	Oral (gavage)	10 weeks	0 (ISL vehicle), 0 (ISL + [redacted] vehicle), 3.5 ISL, 45 ISL, 10 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 0 (ISL vehicle) + 750 [redacted], 10 ISL + 750 [redacted] QD	All Groups: Cohort C (SD 70 Hematology & IP and T/B cell Activation Arm): 10 M / group Cohort D (SD 66 ISL Anabolite Concentrations in PBMCs & Spleen and Histomorphologic Evaluations of the Spleen Arm): 8 M / group In addition, groups ISL Control, 3.5 ISL, & 45 ISL: Cohort A (SD 7 Hematology & IP Arm): 10 M / group Cohort B (SD 28 Hematology & IP Arm): 10 M / group Cohort E (SW 22 Hematology & IP and T/B cell Activation Arm): 10 M / group	Consistent with the very slightly to moderately decreased lymphocyte counts at 3.5, 10, and 45 mg/kg/day of ISL observed in the hematology evaluations, administration of ISL generally induced dose- and time-dependent decreases in all B and T lymphocyte subsets, and to a lesser extent, NK cells in both peripheral blood and spleen. Additionally, treatment-related slight decreases in T cell and B cell splenocyte activation were also observed at 45 mg/kg/day and ≥10 mg/kg/day, respectively. There were no corresponding histomorphological changes observed in the spleen. All the ISL treatment-related changes had fully recovered when assessed after a 12-week treatment free period. The levels of ISL-TP in PBMCs observed in mice (Cmax[a] approximately 30 µM at 3.5 mg/kg/day to 81 µM at 45 mg/kg/day) were comparable to the levels observed in human PBMCs (Cmax ≥35 µM; P009) at doses causing decreases in lymphocyte counts. Co-dosing ISL with [redacted] did not impact the concentrations of ISL-TP in mouse PBMCs.[b]	TT #[redacted]-1015 [4.2.3.7.2.1: TT[redacted]1015]

C Confidential

2.6.7.17.A 免疫毒性（続き）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender / No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Mouse / CD-1	Oral (gavage)	8 weeks	0 (ISL + [redacted] vehicles), 10 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 0 (ISL vehicle)+ 750 [redacted], 10 ISL + 750 [redacted] QD	33 M / group	Daily oral doses of ISL at 10 mg/kg/day, [redacted] at 750 mg/kg/day, or ISL at 10 mg/kg/day when co-administered with [redacted] at 750 mg/kg/day to mice for up to 8 weeks was well-tolerated. There were no test article related findings. Based on the results of this study, it is concluded that the increased incidence of unscheduled deaths noted in TT #[redacted]-1015 [2.6.7.17.A 項] at 10 mg/kg/day of ISL co-administered with 750 mg/kg/day of [redacted] was incidental and not test article-related.[b]	TT #[redacted]-1029 [4.2.3.7.2.2: TT[redacted]1029]
Mouse / CBA/J	Topical, ear	3 days	0, 5, 10, and 25% ISL in DMSO (Positive Control=25% HCA)	5 F / group	Topical application of ISL at 5%, 10%, or 25% (w/v) in DMSO resulted in stimulation index (SI) values of 2.2, 2.0, and 4.0, respectively; the positive control value was 9.3. Because the SI value at 25% (w/v) was ≥3.0, ISL was considered a dermal sensitizer.	TT #[redacted]-7827 [4.2.3.7.2.3: TT[redacted]7827]

Cmax=observed maximum concentration; DMSO=dimethyl sulfoxide; F=female; HCA=hexylcinnamaldehyde; IP=immunophenotyping; ISL=islatravir; LC-MS/MS=liquid chromatography-tandem mass spectrometry; M=male; NK=natural killer; No.=number; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; QD=once daily; SD=study day; SW=study week; TP=triphosphate; [redacted]; w/v=weight/volume.

a. The measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS was divided by the total number of viable cells (in units of 10^6 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. The units of pmol/10^6 cells were then converted to micromolar by dividing by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume; [4.3: 0830W3]).

b. There were no ISL-related unscheduled deaths in either TT #[redacted]-1015[2.6.7.17.A 項] or in TT #[redacted]-1029. There was an increased incidence of unscheduled deaths in the 10 mg/kg/day ISL in combination with 750 mg/kg/day of [redacted] dose group in TT #[redacted]-1015 as compared to other groups in that study suspected to be gavage related. A follow-up investigative study (TT #[redacted]-1029) was conducted to investigate the increased unscheduled deaths observed in the 10 mg/kg/day ISL in combination with 750 mg/kg/day of [redacted] dose group in TT #[redacted]-1015. In this follow-up study there was no mortality in the 10 mg/kg/day ISL group in combination with 750 mg/kg/day [redacted]. Based on these results, it is concluded that the increased incidence of unscheduled deaths noted in TT #[redacted]-1015 at 10 mg/kg/day of ISL co-administered with 750 mg/kg/day of [redacted] was incidental and not test article-related.

C Confidential

2.6.7.17.B　不純物

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rat / Wistar Han (Lot # [redacted]	Oral (gavage)	3 months	0, 0.5, 1	10 / sex / group	There were no unscheduled deaths or ISL-related findings in any of the evaluated parameters: clinical signs, body weight, food consumption, ophthalmic exam, clinical pathology, gross necropsy, organ weight, or histomorphology. The NOAEL was ≥1 mg/kg/day.	TT #[redacted]-1000 [4.2.3.7.6.1: TT[redacted]1000]
Rat / Wistar Han (Lot # [redacted]	Oral (gavage)	92 days (F) 91 days (M)	0, 0.5, 1	10 / sex / group	All animals survived to scheduled termination. There were no test article-related antemortem findings (clinical signs, body weight, and food consumption), ophthalmic findings, or clinical pathology findings. In addition, there were no test article-related postmortem findings (gross necropsy, organ weight, or histomorphological findings). The NOAEL was ≥1 mg/kg/day.	TT #[redacted]-1013 [4.2.3.7.6.2: TT[redacted]1013]

F=female; ISL=islatravir; M=male; No.=number; NOAEL=no observed adverse effect level.

Confidential

2.6.7.17.C　光毒性評価

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
NA	In vitro	NA	290 to 700 nm	NA	ISL does not absorb light between 290 and 700 nm and has a molar extinction coefficient <1000 L mol^{-1} cm^{-1}.	TT #[redacted]-7834 [4.2.3.7.7.1: TT[redacted]7834]

C Confidential

2.6.7.17.D　トキシコキネティクス試験

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Mouse / CD-1 and rasH2 Wild-Type	Oral (gavage)	1 day	1, 10, 30, 100	11 / sex / group	There were no unscheduled deaths. Mean AUC0-24h and Cmax values for ISL were very slightly greater in rasH2 mice compared to Crl:CD1(ICR) mice at 30 mg/kg and 100 mg/kg.	TT #[redacted]-0005 [4.2.3.7.7.2: TT[redacted]0005]
Mouse / CD-1	Oral (gavage)	7 days	ISL: 3.5, 10, 45 10 ISL + 750 [redacted] QD	36 M / group	In general, mean AUC0-24h and mean Cmax values of ISL-TP were higher than corresponding mean values of ISL-MP and ISL-DP across all doses. The mean AUC0-24h and mean Cmax values of ISL-MP were similar to the corresponding mean values of ISL-DP across all doses. On Study Day 7, the exposures increased with dose for ISL-MP, ISL-DP, and ISL-TP. The exposures were approximately similar in group that was dosed with 10 mg/kg/day of ISL alone, when compared to group that was dosed with 10 mg/kg/day ISL combined with 750 mg/kg/day [redacted]. No significant differences in the relative concentrations of ATP, dATP, dGTP, dCTP and NAD+ in PBMCs were observed for any time point across dose groups. The dTTP isolate was not detected in any sample. NMR metabolomics analysis conducted in spleen samples collected 24 h after the last dose on Study Day 7 detected approximately 55 endogenous metabolites. Statistical Trend test identified creatine and phosphorylcholine slight changes as statistically significant; however, these changes are not considered clinically significant given the slight magnitude of the changes and the high exposures at which they occur (AUC EMs ≥243-fold[a] the human exposure at the RHD).	TT #[redacted]-1006 [4.2.3.7.7.3: TT[redacted]1006] and TT #[redacted]-9610 [4.2.3.7.7.4: TT[redacted]9610]

2.6.7.17.D　トキシコキネティクス試験（続き）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administ-ration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	1 day	10, 30, 100	12 M / 10 mg/kg dose group 14 M / 30 mg/kg dose group 16 M / 100 mg/kg dose group[b]	There were no unscheduled deaths or ISL-related findings in any of the evaluated parameters: clinical signs. ISL-MP, ISL-DP, and ISL-TP were detected in the PMBCs at 24 and 48 h postdose. In addition, after the 100 mg/kg dose only, ISL-TP was detected at 72 h postdose but not 168 h postdose. ISL was not detected at any time point in the PBMCs. ISL-MP, ISL-DP, ISL-TP parameters in PBMCs are presented in the table below.	TT #[redacted]-2508 [4.2.3.7.7.5: TT[redacted]2508]

Time (h postdose)	Mean (± SD) Plasma PBMC ISL Concentration ($pmol/10^6$) ISL Dose (mg/kg)							
	ISL in PBMC		ISL-MP in PBMC		ISL-DP in PBMC		ISL-TP in PBMC	
	30	100	30	100	30	100	30	100
24	BLQ	BLQ	0.46 ± 0.077	1.18 ± 0.55	2.23 ± 0.17	4.87 ± 2.22	0.77 ± 0.13	2.10 ± 0.93
48	BLQ	BLQ	0.12 ± NA	0.39 ± 0.18	0.85 ± NA	2.35 ± 0.88	0.35 ± 0.25	0.81 ± 0.48
72	NE	BLQ	NE	BLQ	NE	BLQ	NE	0.47 ± NA
168	NE	BLQ	NE	BLQ	NE	BLQ	NE	BLQ

Confidential

2.6.7.17.D　トキシコキネティクス試験（続き）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	7 days	1, 3, 10, 18, 50	12 / sex / group[c]	There were no unscheduled deaths or ISL-related findings in any of the evaluated parameters: clinical signs or BW. ISL plasma exposure and ISL, ISL-MP, ISL-DP, and ISL-TP concentrations in PBMCs were evaluated on Study Days 1 and 7. The mean systemic exposure and mean Cmax values of ISL in plasma were similar on Study Day 7 compared to Study Day 1. The mean concentration values of ISL-DP and ISL-TP were higher at both 2 and 24 h postdose on Study Day 7 compared to Study Day 1. ISL-MP, ISL-DP, and ISL-TP parameters in PBMCs are presented in the following table.	TT #[redacted]-1067 [4.2.3.7.7.6: TT[redacted]1067]

Dose Level (mg/kg/day)	Study Day	Mean (± SE) Concentration Values (pmol/10^6 cells)[d]					
		ISL-MP in PBMC		ISL-DP in PBMC		ISL-TP in PBMC	
		(2 h)	(24 h)	(2 h)	(24 h)	(2 h)	(24 h)
1	1	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.0951 ± ID	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
3		0.0696 ± ID	0.00 ± 0.00	0.427 ± 0.012	0.0967 ± ID	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
10		0.303 ± ID	0.00 ± 0.00	0.643 ± 0.144	0.570 ± 0.110	0.161 ± ID	0.0551 ± ID
18		0.700 ± 0.090	0.00 ± 0.00	1.01 ± 0.129	1.12 ± 0.121	0.403 ± 0.077	0.576 ± 0.077
50		1.40 ± 0.083	0.271 ± 0.095	1.74 ± 0.133	1.60 ± 0.109	0.643 ± 0.067	0.664 ± 0.044
1	7	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.0839 ± ID	0.196 ± ID	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
3		0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.748 ± 0.052	0.393 ± 0.134	0.348 ± 0.123	0.163 ± ID
10		0.566 ± 0.190	0.00 ± 0.00	1.58 ± 0.044	1.06 ± 0.149	0.959 ± 0.098	0.656 ± 0.137
18		0.831 ± 0.153	0.00 ± 0.00	2.07 ± 0.289	1.67 ± 0.225	1.44 ± 0.270	1.15 ± 0.073
50		1.64 ± 0.237	0.442 ± 0.156	5.03 ± 0.900	3.64 ± 0.572	4.07 ± 1.09	1.72 ± 0.245

Confidential

2.6.7.17.D　トキシコキネティクス試験（続き）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administr-ation	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	F_0 F: GD 6 to LD 10; F_1 Pups: Not applicable	10	10 F	ISL was observed in maternal and fetal plasma at 1 and 3 h postdose at 10 mg/kg/day on LD 10 and PND 10, respectively. The mean fetal plasma/maternal plasma ISL concentration ratio was approximately 0.1% at 1 h and approximately 1.5% at 3 h.	TT #[redacted]-7100 [4.2.3.7.7.7: TT[redacted]7100]
Rabbit / Dutch Belted (Nonpregnant)	Oral (gavage)	1 day	0, 10, 50, 200	3 F / group	There were no unscheduled deaths or ISL-related findings in any of the evaluated parameters: clinical signs, BW, or FC. The mean systemic exposure values of ISL were approximately dose proportional across the dose range. As summarized in the table below, mean Cmax values of ISL were approximately dose proportional between 10 mg/kg/day and 50 mg/kg/day and less than dose proportional between 50 mg/kg/day and 200 mg/kg/day on Study Day 1. Plasma elimination of ISL was biphasic with a rapid phase from 2 to 48 h followed by a substantially slower phase between 48 and 168 h postdose. The mean trough (168 h) concentrations were approximately ≤0.8% of the respective mean Cmax values on Study Day 1.	TT #[redacted]-7023 [4.2.3.7.7.8: TT[redacted]7023]

Mean (± SE) Plasma ISL TK Parameters in Rabbits Following Dosing of ISL: Study Day 1

Dose (mg/kg)	Sex	AUC0-168h (h*µM)	Cmax (µM)	Tmax (h)
10	Female	52.8 ± 1.94	10.2 ± 0.447	1.3 ± 0.33
50		205 ± 26.0	39.0 ± 3.99	2.0 ± 0.0
200		756 ± 49.0	95.3 ± 9.87	1.7 ± 0.33

Confidential

2.6.7.17.D トキシコキネティクス試験（続き）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Monkey / Rhesus	Oral (gavage)	1 day	200	3 M	There were no unscheduled deaths or ISL-related findings in any of the evaluated parameters: clinical signs or serum biochemistry. Pharmacokinetic parameters are presented in the table below.	TT #[redacted]-1045 [4.2.3.7.7.9: TT[redacted]1045]

Plasma ISL Pharmacokinetic Parameters in Rhesus Monkeys

Parameter	ISL Male (200 mg/kg)
AUC0-168h (h*µM)	478.67 ± 72.07
Cmax (µM)	43.426 ± 7.843
Tmax (h)	1.7 ± 0.58
Note: Data presented as the mean ± SD; n=3.	

ATP=adenosine triphosphate; AUC=area under the concentration time-curve; AUC0-Xh=area under the concentration time-curve from time 0 to X hours; BLQ=below limit of quantitation; BW=body weight; Cmax=observed maximum concentration; dATP=deoxyadenosine triphosphate; dCTP=deoxycytidine triphosphate; dGTP=deoxyguanosine triphosphate; DP=diphosphate; dTTP=deoxythymidine triphosphate; EM=exposure multiple; F=female; FC=food consumption; GD=gestation day; h=hour(s); ID=insufficient data; ISL=islatravir; LC-MS/MS=liquid chromatography-tandem mass spectrometry; LD=lactation day; M=male; MP=monophosphate; n,No.=number; NA=not available; NAD+=nicotinamide adenine dinucleotide; NE=not evaluated; NMR=nuclear magnetic resonance; PBMC=peripheral blood mononuclear cell; PND=postnatal day; QD=once daily; RHD=recommended human dose; SD=standard deviation; SE=standard error; TK=toxicokinetic(s); Tmax=time to reach maximum concentration; TP=triphosphate; [redacted].

a. AUC0-24h value used EM multiple calculation from the 3-month toxicity study in CD-1 mice (TT #[redacted]-1020) [2.6.7.7.B 項].
b. TT #[redacted]-2508: Three rats/group (10 mg/kg) were designated for necropsy at 24, 48, 72, and 168 h postdose. Four rats/group (30 mg/kg) were designated for necropsy at 24 and 48 h postdose and 3 rats/group were designated for necropsy at 72 and 168 h postdose. Four rats/group (100 mg/kg) were designated for necropsy at 24, 48, 72, and 168 h postdose.
c. TT #[redacted]-1067: 4 rats/sex/group were designated for TK assessment (Cohort 1) and 8 rats/sex/group were designated for PBMC concentration assessment (Cohort 2).
d. The measured concentrations of intracellular phosphorylated forms were normalized to cell counts in each sample. The molar concentration determined by LC-MS/MS was divided by the total number of viable cells (in units of 10^6 per mL) in the sample and corrected to give final units of pmol/10^6 cells. To convert pmol/10^6 cells to micromolar this value should be divided by 0.2 picoliters/cell (estimated mean PBMC volume; [4.3: 0830W3]).

Confidential

2.6.7.17.E　In vitro 探索的発生毒性試験

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rat / Explanted Sprague Dawley rat embryos	In vitro	48 h	0, 38, 75, 150, 300, 597, 1193 µM	2 embryos / control and 1193 µM 4 embryos / 38, 75, 150, 300, 597 µM	Assay results predicted the absence of malformations and/or embryonic death at the concentrations tested in the EFD study in rats because the predicted maternal plasma threshold Cmax concentration (≥105 µM) for malformations and/or embryonic death in the WEC assay was not achieved in the EFD study in rats.	TT #[redacted]-4624 [4.2.3.7.7.10: TT[redacted]4624]
Mouse / ES-D3 mouse embryonic stem cells	In vitro	5 days	0, 1, 5, 10, 25, 50, 100 µM	NA	ISL was classified as positive in this assay because the gene signature threshold was crossed, suggesting that this compound may test positive in EFD toxicity studies in rats. However, the assay predicted the results incorrectly as there were no ISL-related effects on maternal or developmental toxicity in the EFD toxicity studies in rats or rabbits.	TT #[redacted]-4531-008 [4.2.3.7.7.11: TT[redacted]4531008]

Cmax=observed maximum concentration; EFD=embryo-fetal development(al); h=hour(s); ISL=islatravir; NA=not applicable; No.=number; WEC=whole embryo culture.

C Confidential

2.6.7.17.F 他の併用投与試験

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Although not pivotal to this submission, combination TK or toxicity studies with ISL and other [redacted] ([redacted]), [redacted] ([redacted]), or [redacted] ([redacted]) test articles were conducted and are summarized below. No additive or synergistic toxicity or TK interactions of concern were identified.						
Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	1 day	3 ISL + 100 [redacted] QD	12M[a]	There were no unscheduled deaths and the mean systemic exposure and mean Cmax were similar for both treatments irrespective of the time between administration of doses of [redacted] and ISL.	TT #[redacted]-1221 [4.2.3.7.7.12: TT[redacted]1221]
Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	1 day	75 [redacted] + 0 (ISL/[redacted] vehicle), 1 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 15 [redacted] + 0 (ISL vehicle), 75 [redacted] + 1 ISL, 75 [redacted] + 15 [redacted], 15 [redacted] + 1 ISL QD	7M / Groups 1 and 6 4M / Groups 2 and 3 10M / Groups 4 and 5	There were no unscheduled deaths. There was no evidence of TK interactions of concern when ISL at 1 mg/kg/day was coadministered with [redacted] or [redacted]. AUC and Cmax exposures were similar when the compounds were administered alone or in combination.	TT #[redacted]-1052 [4.2.3.7.7.13: TT[redacted]1052]
Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	92 or 93 days (F) 91 or 92 days (M)	0 (ISL/[redacted] vehicle), 75 [redacted] + 0 (ISL/[redacted] vehicle), 1 ISL + 0 ([redacted] vehicle), 15 [redacted] + 0 (ISL vehicle), 75 [redacted] + 1 ISL, 75 [redacted] + 15 [redacted], 15 [redacted] + 1 ISL QD	10/sex/group	Test article-related antemortem findings were limited to occasional postdosing salivation in groups with [redacted] alone or in combination with [redacted] or ISL. Mean systemic exposure and Cmax values were similar at 1 mg/kg/day ISL alone or in combination with [redacted] (75 mg/kg/day) or [redacted] (15 mg/kg/day). There was no evidence of additive or synergistic toxicity or TK interactions of concern when ISL at 1 mg/kg/day was coadministered with [redacted] or [redacted].	TT #[redacted]-6049 [4.2.3.7.7.14: TT[redacted]6049]

C Confidential

2.6.7.17.F 他の併用投与試験（続き）

被験物質：イスラトラビル

Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Study Number
Rat / Wistar Han	Oral (gavage)	93 days (F) 92 days (M)	0 (ISL + [redacted] vehicle), 0 ([redacted] vehicle) + 10 ISL, 100 [redacted] + 0 (ISL vehicle), 25 [redacted] + 1 ISL, 100 [redacted] + 10 ISL QD	10/sex/group	TT #[redacted]-1225 [4.2.3.7.7.15: TT[redacted]1225]

Noteworthy Findings:

There were no unscheduled deaths or ISL-related findings in food consumption, ophthalmic exams, coagulation, or urinalysis.

Transient salivation seen immediately postdose in the high-dose combination group was considered due to poor palatability of the formulations and of limited toxicological significance. Very slight decreases in body weight gain (- 12% compared to control at the end of the study) were limited to males at the high-dose combination.

White discoloration and/or white striations of the lower incisors were observed at 100 mg/kg/day [redacted] alone or in combination with 10 mg/kg/day ISL, indicating that it was an [redacted]-related finding, which is consistent with what has been observed for this compound in a previous rat study with [redacted] alone. The incidence and time to onset were not significantly different between these two groups. Red discoloration of the lower incisors was observed at 10 mg/kg/day ISL alone or in combination with 100 mg/kg/day [redacted], indicating that it was an ISL-related finding, which is consistent with what has been observed for ISL in other rat studies (TT #[redacted]-6011, TT #[redacted]-1043). The incidence and time to onset were not significantly different between these two groups and were consistent with the previous observations in 6-month rat toxicity studies with the same or higher ISL doses (TT #[redacted]-6011, TT #[redacted]-6005).

Test article-related hematological changes included increases in white blood cell (+ 46% to + 83%), lymphocyte (+ 41% to + 88%), monocyte (+ 58% to + 133%) counts, and in neutrophil counts (+ 53% and + 70%) in both sexes in the high-dose combination group. At the low-dose combination and at 10 mg/kg/day ISL, very slight increases in white blood cell and lymphocyte counts (+ 32% to + 66%) were seen in F. Test article-related serum biochemical changes in both combination groups and at 100 mg/kg/day [redacted] consisted of increased total protein and globulin concentrations (+ 6% to + 16% compared to controls) in F and M (only in M at the low-dose combination). In F at 100 mg/kg/day [redacted] and at the high-dose combination, the increased globulin concentrations resulted in decreased albumin/globulin ratios (- 8% and - 17%, respectively compared to controls). The alterations in hematology and biochemistry parameters were consistent with an inflammatory response; however, there were no test article-related histomorphologic correlates for these changes. These alterations were not toxicologically significant because of the small magnitude of the changes.

Overall, the gross and histologic changes in the teeth in this study were similar to those observed for equivalent doses in studies where ISL and [redacted] were administered separately, and thus, there was no gross or histologic evidence of enhanced tooth toxicity due to coadministration of the test articles. The histomorphologic changes in the teeth were limited to the continuously growing incisors and no gross or histomorphologic changes were observed in the molar teeth. The changes in the incisor teeth were characterized primarily by degeneration of the odontoblast layer within the incisors. The observations of white and/or red discoloration in the incisor teeth were consistent with the secondary changes within the dentin and pulp cavity caused by the degeneration of the odontoblast layer. The histomorphologic changes in the incisor teeth in this study were attributable to ISL and not [redacted] because they closely resembled the histomorphologic changes observed in the incisors of rats treated with ISL and were distinct from the incisor changes observed in rats treated with [redacted].

C Confidential

2.6.7.17.F　他の併用投与試験（続き）

被験物質：イスラトラビル

The liver weights at the high-dose combination were mildly increased and correlated with a minimal to mild centrilobular hepatocellular hypertrophy. These liver changes were attributable to [redacted] because they closely resembled the liver changes observed in rats previously treated with [redacted]. Mean systemic exposure (AUC0-24h) and mean Cmax values for ISL were similar following dosing of 10 mg/kg/day ISL alone or in combination with [redacted]. In summary, test article-related clinical signs and postmortem findings were observed when 100 mg/kg/day [redacted] or 10 mg/kg/day ISL were administered separately, and also at the high-dose combination (100 mg/kg/day [redacted] with 10 mg/kg/day ISL); however, the type of finding and incidence observed with the test articles separately were not different or significantly exacerbated by the combination of 100 mg/kg/day [redacted] with 10 mg/kg/day ISL.
AUC=area under the concentration -time curve; AUC0-24h=area under the concentration -time curve from time 0 to 24 hours; Cmax =observed maximum concentraion; F=female; ISL=islatravir; HIV-1=human immunodeficiency virus type one; M=male; [redacted]; No.=number; [redacted]; QD=once daily; TK=toxicokinetic(s); [redacted]. a. TT #[redacted]-1221: Six rats were administered [redacted] first followed immediately by the ISL dose. Six rats were administered [redacted] first followed approximately 90 minutes later by the ISL dose.

C Confidential