レニオリシブリン酸塩

ジョエンジャ®錠 10 mg

ジョエンジャ®錠 30 mg

ジョエンジャ®錠 70 mg

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6 毒性試験の概要文

株式会社オーファンパシフィック

略号一覧表

略語・用語	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APDS	Activated PI3Kδ syndrome	活性化 PI3Kδ 症候群
AUC_{0-t}	Area under the blood concentration-time curve from time zero to t.	時間ゼロから時間 t までの血中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0-24h, (ss)}$	Area under the blood concentration-time curve from time zero to 24 hours (at steady state)	時間ゼロから 24 時間までの血中濃度-時間曲線下面積（定常状態時）
$AUC_{tau, (ss)}$	Area under the blood concentration-time curve from time zero to tau hours (at steady state). Tau is the dosing interval	時間ゼロからタウ時間（定常状態）までの血中濃度-時間曲線下面積。タウは投与間隔
BID	Twice daily	1 日 2 回
CAS	Chemical abstracts service	化学物質抄録サービス
C_{max}	Maximum concentration	最高濃度
CPA	Cyclophosphamide	シクロホスファミド
DRF	Dose range finding	用量設定
EFD	Embryo-fetal development	胚・胎児発生
ECG	Electrocardiographic	心電図
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FRTL-5	Rat thyroid cell line	ラット甲状腺細胞株
GALT	Gut associated lymphoid tissue	腸管関連リンパ組織
GD	Gestation day	妊娠日
GI	Gastrointestinal	消化管
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
h	Hour	時間
Han	Hannover	Hannover 系
hERG	Human ether-a-go-go-related gene	ヒト遅延整流性カリウムチャネル遺伝子
HPMC	Hydroxypropyl methylcellulose	ヒドロキシプロピルメチルセルロース
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
KLH	Keyhole limpet hemocyanin	キーホールリンペットヘモシアニン
LD	Lactation day	授乳開始からの日数
MN	Micronuclei	小核
ms	Millisecond	ミリ秒
MTD	Maximum tolerated dose	最大耐容量
NDEA	N-Nitrosodiethylamine	N-ニトロソジエチルアミン
NDSRI	Nitrosamine drug substance related impurities	ニトロソアミン原薬関連不純物
NIS	Sodium iodide symporter	ヨウ化ナトリウム共輸送体
NK	Natural killer	ナチュラルキラー
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	No observed effect level	無影響量
NRU	Neutral red uptake	ニュートラルレッド取り込み

略語・用語	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
OECD	Organisation for economic cooperation and development	経済協力開発機構
OGTT	Oral glucose tolerance test	経口グルコース負荷試験
PALS	Periarteriolar lymphoid sheaths	動脈周囲リンパ鞘
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells	末梢血単核細胞
PCE	Polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase	ホスホイノシチド 3 キナーゼ
PIF	Photo irritation factor	光刺激係数
PND	Post-natal day	出生後の日数
PP	Postpartum	分娩後
PPND	Pre- and post-natal development (study)	出生前及び出生後の発生ならびに母体の機能に関する（試験）
QSAR	Quantitative structure activity relationship	定量的構造活性相関
QT_c	Corrected QT interval	補正 QT 間隔
RPD	Relative population doubling	相対的細胞集団倍加
ss	Steady state	定常状態
S. typhimurium	*Salmonella typhimurium*	ネズミチフス菌
tau	Repeated time period of dosing	投与期間の繰り返し
T_3	Triiodothyronine	トリヨードサイロニン
T_4	Thyroxine	サイロキシン
T_4-UDP-GT	T_4-thyroxine-UDP-glucuronosyltransferase	T4-サイロキシン-UDP-グルクロン酸転移酵素
TDAR	T-cell dependent antibody response	T 細胞依存性抗体反応
TdP	Torsade de Pointes	トルサード・ド・ポアント
t_{max}	Time to the maximum observed concentration	観察された最大濃度までの時間
TK	Toxicokinetics	トシキコキネティクス
TPO	Thyroid peroxidase	甲状腺ペルオキシダーゼ
TSH	Thyroid stimulating hormone	甲状腺刺激ホルモン
UV (A)	Ultraviolet (A)	紫外線（A 波）
VPC	Ventricular premature complexes	心室性期外収縮

目次

頁
略号一覧表 2
2.6.6 毒性試験の概要文 7
2.6.6.1 まとめ 7
2.6.6.2 単回投与毒性試験 12
2.6.6.3 反復投与毒性試験 12
2.6.6.3.1 ラットを用いた反復経口投与毒性試験 12
2.6.6.3.1.1 ラットを用いた 2 週間強制経口投与探索毒性試験（非 GLP） 12
2.6.6.3.1.2 ラットを用いた 4 週間の回復期間を設けた 2 週間強制経口投与毒性試験 13
2.6.6.3.1.3 ラットを用いた 4 週間の回復期間を設けた 4 週間強制経口投与毒性試験 15
2.6.6.3.1.4 ラットを用いた 4 週間の回復期間を設けた 13 週間強制経口投与毒性試験 17
2.6.6.3.1.5 ラットを用いた 4 週間の回復期間を設けた 26 週間強制経口投与毒性試験 20
2.6.6.3.2 カニクイザルを用いた反復経口投与毒性試験 24
2.6.6.3.2.1 雄性サルでの非侵襲テレメトリーを用いた漸増経口投与毒性試験並びに反復経口投与毒性試験（非 GLP） 24
2.6.6.3.2.2 雄性サルでの非侵襲テレメトリーを用いた 7 日間強制経口投与毒性試験（非 GLP） 25
2.6.6.3.2.3 ジャケットテレメトリーを装着したサルでの 4 週間の回復期間を設けた 2 週間強制経口投与毒性試験 26
2.6.6.3.2.4 サルを用いた 4 週間の回復期間を設けた 13 週間の強制経口投与毒性試験 28
2.6.6.3.2.5 サルを用いた 4 週間の回復期間を設けた 39 週間の強制経口投与毒性試験 30
2.6.6.4 遺伝毒性試験 33
2.6.6.4.1 *Salmonella typhimurium* を用いた *in vitro* 復帰変異試験 33
2.6.6.4.2 TK6 細胞を用いた *in vitro* 小核試験 33
2.6.6.4.3 培養ヒト PBMC を用いた *in vitro* 染色体異常試験 33
2.6.6.4.4 雄性ラットを用いた *in vivo* 2 日間強制経口投与小核試験 34
2.6.6.5 がん原性試験 34
2.6.6.5.1 野生型マウスを用いた 7 日間強制経口投与による忍容性試験（非 GLP） 34
2.6.6.5.2 野生型マウスを用いた 4 週間の強制経口投与毒性試験 35
2.6.6.5.3 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間の強制経口投与毒性試験 37
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 40
2.6.6.6.1 受胎能及び初期胚発生に関する試験 40
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 40
2.6.6.6.2.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する強制経口投与試験 40
2.6.6.6.2.2 ウサギを用いた胚・胎児発生の強制経口投与用量設定試験 41
2.6.6.6.2.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する強制経口投与試験 42
2.6.6.6.3 幼若動物を用いた試験 43
2.6.6.6.3.1 幼若ラットを用いた 3 週間強制経口投与用量設定試験（非 GLP） 43
2.6.6.6.3.2 幼若ラットを用いた 10 週間強制経口投与毒性試験、並びに受胎能及び初期胚発生の評価、及び免疫毒性の評価 44

2.6.6.6.4 ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験 48
2.6.6.7 局所刺激性試験 51
2.6.6.7.1 雄ウサギを用いた点眼による 1 日間局所眼刺激試験（非 GLP） 51
2.6.6.8 その他の毒性試験 51
2.6.6.8.1 光毒性試験：*in vitro* Balb/c 3T3 光毒性プロファイリング（非 GLP） 51
2.6.6.8.2 光毒性試験：*in vitro* での Balb/c 3T3 ニュートラルレッド取り込み確定アッセイ 52
2.6.6.8.3 その他の試験 52
2.6.6.8.3.1 メカニズム研究：ラット FRTL-5 細胞の *in vitro* モデルを用いた甲状腺機能障害の検討（非 GLP） 52
2.6.6.8.3.2 不純物及び分解物の評価 53
2.6.6.9 考察及び結論 54
2.6.6.10 図表 61
2.6.6.11 参考文献 61

表一覧

表 2.6.6-1 レニオリシブを用いた非臨床毒性試験 8
表 2.6.6-2 雄性 Wistar Han ラット 2 週間反復強制経口投与後の TK パラメータ（最終投与後） 13
表 2.6.6-3 ラット 2 週間反復強制経口投与後の TK パラメータ（最終投与後） 15
表 2.6.6-4 Wistan Han ラットにレニオリシブを 4 週間反復強制経口投与したときの主群動物の病理組織所見 16
表 2.6.6-5 ラットに 4 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後） 17
表 2.6.6-6 ラットにレニオリシブを 13 週間反復強制経口投与したときの主群動物の病理組織所見 19
表 2.6.6-7 ラットに 13 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後） 20
表 2.6.6-8 Wistar Han ラットに 26 週間反復強制経口投与したレニオリシブの主群動物における病理組織学的所見 22
表 2.6.6-9 Wistar Han ラットに 26 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後） 23
表 2.6.6-10 レニオリシブのカニクイザルへの単回漸増経口投与後の TK パラメータ（観察期） 25
表 2.6.6-11 レニオリシブをカニクイザルに 1 週間反復強制経口投与後の TK パラメータ（最終投与後）（反復投与期） 25
表 2.6.6-12 カニクイザルに 1 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後） 26
表 2.6.6-13 カニクイザルに 2 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後） 28
表 2.6.6-14 カニクイザルに 13 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最

終投与後） 30
表 2.6.6-15 レニオリシブのカニクイザルに反復強制経口投与した場合の第 25 週及び第 38 週における QT 及び $QT_{c(B)}$間隔の変化 31
表 2.6.6-16 カニクイザルに 39 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後） 32
表 2.6.6-17 CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスにレニオリシブを 4 週間反復経口投与した主群動物の病理組織所見 36
表 2.6.6-18 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスに 4 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後） 37
表 2.6.6-19 トランスジェニック CB6F1-Tg rasH2 ヘミ接合体マウスに 26 週間反復強制経口投与後のレニオリシブの TK パラメータ（177 日目） 38
表 2.6.6-20 妊娠 Wistar Han 系ラットにおける反復経口投与したレニオリシブの TK・パラメータ（GD 17） 41
表 2.6.6-21 妊娠ウサギにおける反復強制経口投与したレニオリシブの TK・パラメータ（GD20） 42
表 2.6.6-22 妊娠ウサギにおける反復強制経口投与したレニオリシブの TK・パラメータ（GD 20） 43
表 2.6.6-23 Wistar Han 系幼若ラットにおける 3 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK・パラメータ（最終投与後） 44
表 2.6.6-24 Wistar Han 系幼若ラットに 10 週間反復強制経口投与したレニオリシブの毒性サブグループにおけるリンパ系臓器の病理組織学的所見の発現率 46
表 2.6.6-25 Wistar Han 系幼若ラットにおけるレニオリシブ 10 週間反復強制経口投与による精巣及び精巣上体所見の発現率（全て軽微、グレード 1） 47
表 2.6.6-26 Wistar Han 系幼若ラットにおける 10 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK・パラメータ（最終投与後） 48
表 2.6.6-27 授乳 10 日（投与 2 時間後）の F0 雌ラットの乳汁サンプル中のレニオリシブの濃度値 49
表 2.6.6-28 動物からヒトへの曝露倍数 60

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ホスホイノシチド 3-キナーゼ（PI3K）は脂質キナーゼであり、増殖、分化、サイトカイン産生、細胞生存、血管新生、及び代謝など多くの細胞プロセスの制御に関与する重要なシグナル伝達因子である［Kandel E, 1999］。哺乳類では、クラス IA PI3K には 3 つの異なるアイソフォーム PI3Kα、PI3Kβ及びPI3Kδがある。これらの酵素は、触媒サブユニット（p110α、p110β又はp110δ）及び調節サブユニット（p85）のヘテロダイマーである［Yu J, 1998］［Geering B, 2007］［Ueki K, 2003］。

レニオリシブ（別名 CDZ173）は、PI3Kδ アイソフォームの選択的阻害剤である。PI3Kα や PI3Kβ は普遍的に発現するが、PI3Kδ は主に造血系の細胞で発現する。PI3K δは、適応免疫を担う B 細胞及び T 細胞の機能制御に重要な役割を担っており、また、自然免疫を担当する好中球、マクロファージ及び肥満細胞などの機能制御の役割も果たしている。

レニオリシブの非臨床における安全性プロファイルを、ヒトへの投与経路（経口投与）及び投与レジメン（1 日 1 回投与）に合わせて、*in vitro* 及び動物試験で広範に評価した（表 2.6.6-1）。これらのレニオリシブの毒性試験は、医薬品規制調和国際会議（ICH）のガイドライン［ICH M3（R2）］及びその他の安全性（非臨床）に関わる ICH ガイドラインに従って実施した。表 2.6.6-1 には、試験に使用したレニオリシブのバッチ番号を含めた。これらのバッチ中の不純物に関する情報は、毒性試験の概要表に記載した。主要な毒性試験は、経済協力開発機構（OECD）の加盟国で実施され、試験実施期間、動物数及び用量は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）及びガイドラインに従って実施された。用量設定試験及びメカニズム試験は、高い科学的基準に基づいて実施されたため、レニオリシブの非臨床安全性プロファイルの評価に信頼性の高いデータを提供すると考えられる。

表 2.6.6-1 レニオリシブを用いた非臨床毒性試験

Study Type and Duration with Treatment-free Recovery Period	Species/Strain	Oral (Gavage) Dose Level (mg/kg/day) or Concentration (Batch Number)	GLP	Study Number/ CTD location
Single dose				
Dose escalating (sighting part of study)	Monkey/Cynomolgus	15, 50, 150 (Free base. Batch no. CDZ173-tengsh2-008)	No	[redacted] [4.2.3.2.6]
Repeat-dose				
2 Weeks	Rat: Wistar	0, 30, 100, 300 (Free base. Batch no. 9)	No	[redacted] [4.2.3.2.1]
2 Weeks with 4-week recovery	Rat/RccHan:WIST	0, 10, 50, 300 (Batch no. 1110001)	Yes	[redacted] [4.2.3.2.2]
4 Weeks with 4-week recovery	Rat/Crl:WI(Han)	0, 10, 30, 90 (Batch no.1251002)	Yes	[redacted] [4.2.3.2.3]
13 Weeks with 4-week recovery	Rat/Crl:WI(Han)	0, 10, 30, 90/120 (Batch no.1251002)	Yes	[redacted] [4.2.3.2.4]
26 Weeks with 4-week recovery	Rat/Crl:WI(Han)	0, 15, 40, 120 (Batch no.1251002)	Yes	[redacted] [4.2.3.2.5]
7 Days (repeated dose part of study)	Monkey/Cynomolgus	0, 15, 150 (Free Base. Batch no. CDZ173-tengsh2-008)	No	[redacted] [4.2.3.2.6]
7 Days	Monkey/Cynomolgus	0, 300 (Free Base. Batch no. CDZ173-tengsh2-008)	No	[redacted] [4.2.3.2.7]
2 Weeks with 4-week recovery	Monkey/Cynomolgus	0, 30, 100, 300 (Batch no. 1110001)	Yes	[redacted] [4.2.3.2.8]
13 Weeks with 4-week recovery	Monkey/Cynomolgus	0, 40/20, 80/40, 160/120/60 (Batch no.1251002)	Yes	[redacted] [4.2.3.2.9]
39 Weeks with 4-week recovery	Monkey/Cynomolgus	0, 20, 40, 60 (Batch no.1251002)	Yes	[redacted] [4.2.3.2.10]
Genotoxicity				
Microbial reverse mutation (Ames) test	*Salmonella typhimurium* (5 strains)	Up to 5000 µg/plate (Batch no. 1110001)	Yes	[redacted] [4.2.3.3.1.1]
In vitro micronucleus test	Human lymphoblastoid TK6 cells	Up to 342.9 µg/mL (Free Base. Batch no. NX-8)	No	[redacted] [4.2.3.3.1.2]
In vitro chromosomal aberration test	Primary human lymphocytes	Up to 350 µg/mL (Batch no. 1110001)	Yes	[redacted] [4.2.3.3.1.3]
In vivo micronucleus assay in rats	Male Han Wistar Crl:WI (Han)	0, 175, 350, 700 (Batch no. 1110001)	Yes	[redacted] [4.2.3.3.2.1]

表 2.6.6-1 レニオリシブを用いた非臨床毒性試験（続き）

Carcinogenicity				
7 Days DRF	Mouse/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt	0, 60, 120, 240 (Batch no. 1010013786)	No	[redacted]17-001 [4.2.3.4.2.1]
4 Weeks DRF	Mouse/CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt	0, 100, 240, 500 (Batch no. 1010013786)	Yes	[redacted]1462 [4.2.3.4.2.2]
26 Weeks definitive	Mouse/CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic hemizygous	0, 10, 30, 80 (CC210018A)	Yes	48943[redacted]/[redacted]2858 [4.2.3.4.2.3]
Reproductive and developmental toxicity				
Embryo-fetal development	Female Rat/Crl:WI(Han)	0, 10, 30, 120 (Batch no. 1251002)	Yes	[redacted] [4.2.3.5.2.1]
Embryo-fetal development DRF	Female Rabbit/Hra:(NZW)SPF	0, 30, 90, 120 (Batch no. 1251002)	No	[redacted] [4.2.3.5.2.2]
Embryo-fetal development	Female Rabbit/Hra:(NZW)SPF	0, 10, 30, 100 (Batch no. 1251002)	Yes	[redacted] [4.2.3.5.2.3]
3 Weeks juvenile animal DRF	Rat/Wistar(Han)	40, 80, 100, 120 (Batch no. 1251002)	No	[redacted] [4.2.3.5.4.1]
10 Weeks juvenile animal toxicity including assessment of fertility up to implantation and immunotoxicity	Rat/Crl:WI(Han)	0, 10, 30, 90 (Batch no. 1251002)	Yes	[redacted] [4.2.3.5.4.2]
Pre- and post-natal development (PPND), including post-natal behavioral / functional evaluation	Rat/Crl:WI(Han)	0, 10, 30, 90 (Batch no. CC200306A)	Yes	[redacted]2830 [4.2.3.5.3.1]
Local tolerance				
1 Day ocular tolerability	Dutch Belted Rabbit	0.5%, 2%, 5% solution, 60 µL, 6 administrations (Batch no. 13)	No	[redacted] [4.2.3.6.1]
Other toxicity studies				
Phototoxicity				
In vitro neutral red uptake (NRU) assay: phototoxicity profiling	Balb/c 3T3 mouse fibroblast cells	Up to 1000 µM (Batch no. NX-8)	No	[redacted] [4.2.3.7.7.1]
In vitro NRU assay: phototoxicity test	Balb/c 3T3 mouse fibroblast cells	Up to 100 µg/mL (Batch no. 1010007331)	Yes	[redacted] [4.2.3.7.7.2]

表 2.6.6-1 レニオリシブを用いた非臨床毒性試験（続き）

Other				
Mechanistic study				
In vitro thyroid liabilities evaluation	Rat FRTL-5 cells	Up to 100 µM (NVP-CDZ173-NX-1)	No	[redacted] ［4.2.3.7.3.1］
Studies for impurities				
Microbial reverse mutation (Ames) test for propionyl chloride	*S. typhimurium* (5 strains)	Up to 5000 µg/plate (Batch 2011-02-28)	No	[redacted] ［4.2.3.7.6.4］
Microbial reverse mutation (Ames) test for di-tert-butyl(2'-methyl-［1,1'-biphenyl］-2-yl)phosphine,	*S. typhimurium* (5 strains)	Up to 2500 µg/plate (Batch SHBB7539V)	No	[redacted] ［4.2.3.7.6.5］
DRF=dose range finding; GLP=good laboratory practices; kg=kilogram; mg=milligram; NRU=neutral red uptake; PPND=pre- and post-natal development.				

表 2.6.6-1 に記載した毒性試験から得られた結果の概要を以下に示す。

マウス、ラット、及びカニクイザルの反復投与毒性試験で認められた主な安全性リスクは、レニオリシブの免疫調節作用に関連する造血・造リンパ系への影響と消化管への影響であった。ラットでは皮膚感染症の増加が認められ、マウス及びサルでは下痢（サル）を引き起こす消化管の炎症/感染が認められた。さらに、ラットでは雄の生殖器官、甲状腺、及び肝臓で、マウスではグルコース及びインスリンの代謝に影響が認められた。これらの影響は一般的に高用量で認められ、4 週間の回復期間内に完全に又は部分的に回復した。

安全性薬理試験において、レニオリシブは、ラットでは神経系及び呼吸機能への影響は認めなかったが、ヒト遅延整流性カリウムチャネル遺伝子（hERG）チャネルを阻害し（IC_{50}: 11.9 µM; 5.4 µg/mL）、カニクイザルを用いたテレメトリー試験では、150 mg/kg の単回投与時に一過性の QTc 延長（32 ms）を引き起こした。カニクイザルを用いた反復投与毒性試験では、25 週間以上の経口投与では、40 mg/kg/日以上で QT/QT_c の延長傾向が認められた。

レニオリシブは、*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験において変異原性及び染色体異常誘発性を示さなかった。また、トランスジェニック CByB6F1-Tg（HRAS）2Jic マウスを用いた 26 週間のがん原性試験において、レニオリシブは非発がん性であることが示された。

ラット及びウサギの胚及び胎児の発生に関する試験では、最高用量（100～120 mg/kg/日）において、ラット及びウサギで小眼球症及び眼窩縮小、ラットで無眼球症を認めた。したがって、レニオリシブは動物において催奇形性があると考えられた。

幼若ラットを用いた毒性試験では、離乳までの死亡率の増加、及びリンパ組織や免疫調節反応への影響を認め、これは本化合物の薬理活性と関連している。体重増加量が軽度に減少し、その結果、身体的及び性的発育にわずかな遅れが認められた。雄の生殖器官への軽度な影響が認められたが、受胎能の指標や妊娠率の低下には結びつかなかった。また、ラットを用いた出生前及び出生後の発生（PPND）試験では、哺育率の低下が認められ、レニオリシブは母ラットの乳汁中に用量依存的に検出された。

レニオリシブには光毒性はないと考えられた。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.6］

マウス及びラットを用いた単回投与一般毒性試験は実施しなかった。カニクイザルにおけるレニオリシブの急性毒性及び TK について、探索的単回投与及び反復投与試験（非 GLP）で最大 150 mg/kg まで検討した。その結果、最大耐容量（MTD）には到達しなかった。この試験は、反復投与毒性試験の項［2.6.6.3.2.1］に記載した。本薬の最大試験用量は、反復投与毒性試験においてマウスでは 500 mg/kg（4.2.3.4.2.2）、サルでは 300 mg/kg（4.2.3.2.7 及び 4.2.3.2.8）であり、いずれの試験においても初回投与後に死亡は認められなかった。ラットにおける本薬の最大試験用量は、小核試験の用量設定試験（4.2.3.3.2.1）で投与され、この試験では 550 mg/kg 以上を投与された雌ラットが初回投与翌日（Day 2 の投与前）に死亡した。これらのデータに基づき、本薬の概略の致死量は、マウスでは >500 mg/kg、ラットでは 550 mg/kg、サルでは >300 mg/kg と考えられた。

初回投与後の所見として、マウス（4.2.3.4.2.2）では本薬の投与による影響は認められなかった。ラット（4.2.3.3.2.1）では、175 mg/kg/日投与群の 1 例で一過性の唾液分泌が、350 mg/kg/日投与群の 1 例で口吻部摩擦行動が認められた。さらに、700 mg/kg/日投与群では口吻部摩擦行動及び唾液分泌の増加が投与直後より認められ、0.5 時間以内に消失した。これらの所見はいずれも一過性であり、製剤による味覚的刺激に起因する可能性がある。1,000 mg/kg/日投与群では活動性の低下及び立毛が認められた。カニクイザル（4.2.3.2.8）では、30 mg/kg/日投与群の全ての雄及び 300 mg/kg/日投与群の雄 5 例中 3 例で軟便が認められた。これは試験開始に伴うストレスによる可能性があるが、対照群の動物には影響が認められなかったため、本薬との関連性を否定することはできなかった。また、300 mg/kg/日投与群の雄 5 例中 1 例で投与後に過剰な唾液分泌が観察された。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

ラットで最長 26 週間、カニクイザルで最長 39 週間の反復強制経口投与毒性試験を実施した。

2.6.6.3.1　ラットを用いた反復経口投与毒性試験

Wistar 系ラットにレニオリシブを最長 26 週間 1 日 1 回強制経口投与した。ラットを用いた全ての試験において、レニオリシブは 0.5%（w/v）（カルボキシ）メチルセルロース/0.5%（w/v）Tween 80 水溶液懸濁液として調製した。毒性試験に使用した動物種及びヒトにおける代謝試験では、総曝露量の 10%を超える代謝物を認めなかったため、未変化体であるレニオリシブの血漿中濃度のみを測定し、薬物動態パラメータを算出した。

2.6.6.3.1.1　ラットを用いた 2 週間強制経口投与探索毒性試験（非 GLP）

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.1］

レニオリシブを 5 匹の雄性 Wistar 系ラットに、溶媒のみ、30、100 又は 300 mg/kg/日の投与量を 10 mL/kg で 15 日間反復強制経口投与した。薬物動態評価のため、投与 1 日目及び投与期間終了時に血液を採取した（スパースサンプリング、各時点で群あたり 2 匹の動物）。

一般状態観察、体重及び摂餌量の測定、臨床病理学的検査（血液学的検査、血液生化学的検査及び末梢リンパ球の免疫表現型分類）、病理解剖学的検査、及び臓器重量の測定を全群で実施し、

病理組織学的検査は、標準的な臓器及び組織について溶媒投与群及び 300 mg/kg/日群の動物についてのみ実施した。さらに、肝臓試料はミクロソーム T_4-サイロキシン-UDP-グルクロン酸転移酵素（T4-UDP-GT）活性について分析した。

300 mg/kg/日の投与により、流涎（8 日目から）、摂餌量の低下（軽度）、及び体重増加量の低下が認められた。好中球、単球、血小板数、グロブリン、総ビリルビン、及びコレステロールの軽度な増加が認められた。トリグリセリド、アルブミン、アルブミン/グロブリン比（炎症と一致）に軽度の減少が認められた。精巣、精巣上体、前立腺、副腎の絶対重量及び/又は体重及び/又は脳重量に対する相対重量のわずかな減少が認められた。病理組織学的検査所見は、皮膚、心臓（軽微/軽度の多巣性心筋変性）、雄性生殖器系（精巣の生殖細胞変性/枯渇、精巣上体の細胞破片）、腸管（十二指腸の粘膜固有層/粘膜下織及び盲腸粘膜下織の炎症）に認められた。

100 mg/kg/日以上の投与により、胸腺（軽微から著明；髄質腫大及びびまん性皮質リンパ球溶解/リンパ貪食作用）及び脾臓（軽度；リンパ球枯渇を伴い、動脈周囲リンパ鞘がより顕著）の絶対重量及び/又は体重及び/又は脳重量に対する相対重量が減少した。リンパ節は萎縮を示した（皮質 B 細胞領域）。肝 T_4-UDP-GT 活性が誘導された。

全てのレニオリシブ投与群で、白血球数（リンパ球、好酸球、好塩基球）が軽度から中等度の低値を示し、B 細胞数は顕著な低値を示した。病理組織学的には甲状腺の濾胞肥大が認められた。骨髄では、レニオリシブの薬理作用に関連した造血・造リンパ系における細胞充実性の低下が認められた。

単回及び反復強制経口投与後のレニオリシブ血漿中曝露量（AUC）は、1 日目及び 15 日目において、30～100 mg/kg/日の間で比率を上回る増加を示し、100～300 mg/kg/日の間で用量依存的に増加した。全般的に、1 日目と比較して反復投与後のレニオリシブの蓄積は認められなかった（表 2.6.6-2）。

表 2.6.6-2 雄性 Wistar Han ラット 2 週間反復強制経口投与後の TK パラメータ（最終投与後）

Dose (mg/kg)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
30	M	1,390	6,030	1.08
100	M	6,360	86,000	1.57
300	M	22,000	248,000	1.42

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; h=hour; M=male; mg=milligram; mL=milliliter; ng=nanogram.
[a]=Ratio $AUC_{0\text{-}24h}$ after last dose at Day 14/$AUC_{0\text{-}24h}$ at Day 1.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.3.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.1）

30、100 及び 300 mg/kg/日のレニオリシブを雄ラットに 2 週間反復強制経口投与した結果、死亡や重大な臨床徴候は認められず、全般的に良好な忍容性を示した。

2.6.6.3.1.2 ラットを用いた 4 週間の回復期間を設けた 2 週間強制経口投与毒性試験

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.2］

レニオリシブを、Wistar Han（RccHan:WIST）ラットの 1 群雄 10 匹及び雌 10 匹に、溶媒のみ、10、50 又は 300 mg/kg/日を投与容量 10 mL/kg で 16 日間反復強制経口投与した。対照群及び 300 mg/kg/日群には、回復群の動物として雄 5 匹、雌 5 匹を追加した。

死亡率、一般状態、体重及び摂餌量、眼科検査、臨床病理学的検査（末梢リンパ球の免疫型分類を含む血液学検査、臨床生化学検査及び尿検査）、並びに解剖後検査（胸腺細胞、脾臓細胞及び腸間膜リンパ節の免疫型分類、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査）を行った。投与後数時点におけるレニオリシブの血漿中濃度を測定するため、投与 1 日目及び投与期間終了時に採血（スパースサンプリング、主要 2 群のラット/性/群/時点）を行った。

300 mg/kg/日を投与した雄 2 例は 6 日目に下痢を起こし、投与 7 日目に死亡が確認された。同用量の雌 2 例は 5 日又は 6 日目に瀕死状態で殺処分した。容態の急速な悪化及び/又は体重減少のため、300 mg/kg/日投与群の残りの動物は早期に殺処分し（雌は 6 日目、雄は 7 日目）、この投与量での回復動物に対する投与は中止した（これらの動物の投与最終日は 6 日目であり、7 日目から回復期間を開始した）。

50 mg/kg/日投与群では投与期間中に流涎を認めた。300 mg/kg/日投与群において認められた毒性徴候は、体重減少、摂餌量の減少、運動量の低下、眼瞼の部分的閉鎖、立毛、下痢/軟便、及び流涎、並びに雌のみでの投与後の横臥、粘液便、会陰部汚染、及び投与液の逆流であった。投与中止後、300 mg/kg/日投与群の摂餌量及び体重増加量は改善し、無投与期間終了時には対照群と同程度であった。

B 細胞数の減少は全てのレニオリシブ投与群で認められた。50 mg/kg/日及び 300 mg/kg/日では、末梢リンパ球数の軽度から中等度の減少が雌雄で認められた。雌では、単球、好中球及び/又は血小板の増加が炎症反応を示していた。雄では IgG2b 濃度の軽度低下が、雌ではアルブミン及び総蛋白濃度の軽度低下が認められたが、いずれも病態生理学的メカニズムは不明であった。300 mg/kg/日では、個々の免疫グロブリンのクラス及びサブクラスの減少が認められ、これは炎症反応及び胆汁うっ滞を示唆すると考えられる。一般状態の悪化、消化管病変、摂餌量の減少、及びストレスに関連するいくつかの変化が認められた。臨床病理学的検査での変化は全て完全に可逆的であったか、あるいは可逆的傾向を示した。

10 mg/kg/日以上の主要群の雄で脾臓の絶対重量及び相対重量は減少し、甲状腺重量は増加した。副腎重量は 10 mg/kg/日以上の主要群の雌で増加した。剖検では、300 mg/kg/日で消化管に関連した肉眼所見（クレーター状退縮、胃の黒褐色/赤色病巣及びゼラチン状液体、胃、小腸及び大腸の黄色内容物、小腸のパイエル板の縮小）、胸腺（浮腫又は結節状肥厚外観）、副腎（腫大及び/又は暗色病巣）、及び卵巣（出血性嚢胞）を示した。

50 mg/kg/日及び 300 mg/kg/日では、病理組織学的に血液リンパ細網系（骨髄、脾臓、胸腺、リンパ節）、甲状腺、及び雌の腸管に変化を認めた。300 mg/kg/日では、さらに胃、腸（十二指腸、空腸、回腸、盲腸）、心臓、腎臓、肝臓、副腎、甲状腺（濾胞細胞肥大/過形成）、雌の生殖器官、及び乳腺に炎症性及び/又は退行性変化を認めた。300 mg/kg/日における主な所見は、完全に可逆性（ほとんどの血液リンパ細網系組織、心臓、甲状腺、副腎、肝臓、腎臓、腸、乳腺、及び子宮/膣）か、又は可逆的傾向を示した（骨髄、胃及び卵巣）。

血漿中濃度がピークに達するまでの平均時間（t_{max}）は、投与後 0.5 時間から 1 時間の範囲であり、$AUC_{0\text{-}24h}$ の曝露量はほぼ用量に比例して増加したが、雄に対して雌では全身曝露量が軽度に高い（2 倍）傾向が認められた。10 mg/kg/日又は 50 mg/kg/日の反復投与では、レニオリシブの明確な蓄積はなかったが、300 mg/kg/日では、6 日目及び 7 日目の AUC 値は 1 日目の値の 2 倍から 3 倍であった（表 2.6.6-3）。

表 2.6.6-3 ラット 2 週間反復強制経口投与後の TK パラメータ（最終投与後）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
10	M	2,200	6,720	1.14
	F	3,780	14,700	1.21
50	M	10,600	40,600	1.49
	F	15,100	86,800	0.82
300	M	41,800[b]	878,000[b]	ND
	F	89,400[c]	1,170,000[c]	ND

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; mg=milligram; mL=milliliter; ND=not determined; ng=nanogram.
[a]=Ratio AUC_{0-24h} after last dose at Day 16/AUC_{0-24h} at Day 1.
[b]=Data obtained on Day 7.
[c]=Data obtained on Day 6.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.3.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.2）

Wistar 系ラットにレニオリシブを 10、50 又は 300 mg/kg/日の用量で 2 週間強制経口投与した結果、最高用量では忍容性が認められず、死亡に至り、投与 1 週目で早期に投与を中止した。本試験の条件下では、無毒性量（NOAEL）は 10 mg/kg/日と判断され、この時、雌雄それぞれにおいて、最高血漿中濃度（C_{max}）は 2,200 及び 3,780 ng/mL、AUC_{0-24h} は 6,720 及び 14,700 ng•h/mL であった。

2.6.6.3.1.3 ラットを用いた 4 週間の回復期間を設けた 4 週間強制経口投与毒性試験

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.3］
［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.11］

レニオリシブを Wistar Han（Crl：WI（Han））ラット（10 匹又は 16 匹/性/群）に、溶媒のみ、10、30 又は 90 mg/kg/日の用量で 5 mL/kg を少なくとも 4 週間強制経口投与した。投与期間終了後、対照群及び 90 mg/kg 投与群の雌雄ラット各 6 匹を 4 週間の回復に供した。

一般状態、体重、摂餌量、眼科的検査、臨床病理学的検査［血清 T_3、T_4、甲状腺刺激ホルモン（TSH）の測定を含む］を実施した。さらに、肝臓試料について、ミクロソーム-T4-UDPGT-活性を分析した。TK 解析用の血漿試料は、投与 1 日目及び投与 21 日目のいくつかの時点で採取した。病理解剖学的検査、臓器重量及び病理組織学的検査を実施した。レニオリシブの組織内濃度を測定するために皮膚試料を投与終了後に採取した。

レニオリシブに起因する一般状態の変化は、90 mg/kg/日での流涎のみであった。死亡率、体重又は摂餌量パラメータ、眼科的評価、臨床病理学的検査（甲状腺ホルモン T_3、T_4、TSH を含む）、及び肝 T4UDP-GT 活性の誘導に関してレニオリシブ関連の影響はなかった。

脾臓の絶対重量及び相対重量（体重及び脳重量に対する）は、30 mg/kg/日以上の用量で雄及び雌ラットで軽度に減少した。その他の組織（胸腺、下垂体、甲状腺、卵巣など）の臓器重量の減少は、全ての用量レベルで認められたが、用量相関はなく、形態学な相関がないため、レニオリシブとの関係は不明であった。肉眼的所見は認められなかった。

投与終了時のレニオリシブ関連の病理組織学的検査所見は、脾臓及びリンパ節に認められた（表 2.6.6-4）。脾臓の変化としては、30 mg/kg/日以上の投与量のラットでは辺縁帯（B 細胞領域）のリンパ系細胞の枯渇、90 mg/kg/日のラットでの動脈周囲リンパ鞘（PALS、T 細胞領域）を含

む軽度のリンパ系細胞の過形成、90 mg/kg/日の雄ラットでは造血の低下が認められた。リンパ節では、90 mg/kg/日のラットで、皮質（B 細胞領域）における胚中心活性/形成の低下を特徴とするリンパ系細胞の枯渇が認められた。90 mg/kg/日のラット 10 例中 2 例に微細な片側黄体出血が認められたが、レニオリシブとの関係は不明である。4 週間の回復期間後、レニオリシブに関連する病理組織学的検査所見は認められなかった。

表 2.6.6-4 Wistan Han ラットにレニオリシブを 4 週間反復強制経口投与したときの主群動物の病理組織所見

Gender		**Male**				**Female**			
Dose (mg/kg/day)	0	10	30	90	0	10	30	90
Number of animals	10	10	10	10	10	10	10	10
Lymph node, mandibular								
Lymphoid depletion, B-cell areas								
total	-	-	-	9	-	-	-	10
minimal	-	-	-	*2*	-	-	-	-
slight	-	-	-	*7*	-	-	-	*10*
Lymph node, mesenteric								
Lymphoid depletion, B-cell areas								
total	-	-	-	9	-	-	-	10
minimal	-	-	-	*9*	-	-	-	*8*
slight	-	-	-	-	-	-	-	*2*
Spleen								
Hematopoiesis decreased								
total	-	-	-	9	-	-	-	-
minimal	-	-	-	*1*	-	-	-	-
slight	-	-	-	*7*	-	-	-	-
moderate	-	-	-	*1*	-	-	-	-
Lymphoid depletion, B-cell areas								
total	-	-	7	10	-	-	4	9
minimal	-	-	*1*	*3*	-	-	*3*	-
slight	-	-	*6*	*4*	-	-	*1*	*5*
moderate								
marked	-	-	-	*3*	-	-	-	*2*
	-	-	-	-	-	-	-	*2*
Lymphoid hyperplasia, T-cell areas	-	-	-	10	-	-	-	10
slight								

Values in the table indicate the number of animals with lesions. -=absence of findings.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.3）

t_{max} は 0.5 時間から 1 時間の間であった。投与量の増加に伴い、曝露量は $AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max} の両面で投与量にほぼ比例して増加した。反復投与後、投与量及び性別にかかわらず、明瞭な蓄積は認められなかった。血漿中のレニオリシブの曝露量は、投与日や投与量に関係なく、雄ラットに比べて雌ラットで約 2～3 倍高かった（表 2.6.6-5）。

表 2.6.6-5 ラットに 4 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
10	M	2,520	4,940	1.08
	F	3,420	8,510	0.77
30	M	5,880	20,800	1.03
	F	10,400	42,500	1.08
90	M	13,700	88,200	1.58
	F	22,500	169,000	1.11

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M= male; ng=nanogram; mg=milligram; mL=milliliter.
[a]=Ratio AUC_{0-24h} after last dose at Day 21/AUC_{0-24h} at Day 1.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.3.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.3）

レニオリシブをラットに少なくとも 4 週間反復強制経口投与した結果、90 mg/kg/日までの用量で忍容性が認められた。30 mg/kg/日で臓器重量の変化及び脾臓リンパ系細胞の減少を認めたが、これらの変化は予想される薬理作用に関連しており、有害とはみなされず、かつ/又は 4 週間の回復期間終了時までに完全に回復したため、NOAEL は 30 mg/kg/日と判断された。このとき、雄雌それぞれにおいて、C_{max} は 5,880 及び 10,400 ng/mL、AUC_{0-24h} は 13,700 及び 22,500 ng·h/mL であった。

2.6.6.3.1.4 ラットを用いた 4 週間の回復期間を設けた 13 週間強制経口投与毒性試験

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.4］

レニオリシブは、Wistar Han（Crl:WI（Han））ラットの 4 群（10 匹又は 15 匹/性/群）に、溶媒のみ、10、30 及び 90/120 mg/kg の 1 日用量を 5 mL/kg で強制経口投与した。ラットを用いた 4 週間試験の結果、90 mg/kg/日までの用量では明らかな毒性を認めなかったため、第 6 週開始時点から高用量を 90 から 120 mg/kg/日に増加させた。90/120 mg/kg/日投与群及び対照群の雌雄各 5 匹を 4 週間の回復期試験に供した。TK のための血液試料を、毒性試験動物から 1 日目、6 週目、13 週目に採取した。免疫毒性試験のため、各用量群でさらに 6 匹/性/群を追加した。

一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、臨床病理学的検査、免疫型分類を行った。剖検を行い、病理解剖学的検査、臓器重量、病理組織学的検査を記録した。9 週目及び 11 週目にキーホールリンペットヘモシアニン（KLH）を投与後、抗 KLH 抗体分析のために免疫毒性動物から血液を採取した。

試験中に 30 mg/kg/日の雌が死亡したが、死因は中等度の重症急性気管炎症であり、おそらく試験手技によると考えられた。

一般状態としては、口をこすったり、引っ掻くことに伴う軽度から中程度の流涎が認められた。これらの影響は、レニオリシブの直接的な影響というよりも製剤の味に関連していると思われた。4 週間の休薬期間の終了時には完全な回復が認められた。摂餌量に変化はなかった。体重増加量は、試験期間中に 90/120 mg/kg/日を投与した雄で低値を示した（対照と比較して-16%）。試験の回復期間では、体重増加量は同時並行対照群と比較してこれらの動物でわずかに高値であった。

レニオリシブに関連した臓器重量所見は、30 mg/kg/日又は 90/120 mg/kg/日を投与した雄の腸間膜リンパ節重量の減少、30 mg/kg/日又は 90/120 mg/kg/日を投与した雌及び 90/120 mg/kg/日を投与した雄の脾臓重量の減少、並びに 90/120 mg/kg/日を投与した雌雄の胸腺重量の減少であっ

た。これらの所見は病理組織学的検査所見を伴っていた。4 週間の休薬期間終了時には完全な回復が認められた。

肉眼的観察所見はなかった。病理組織学的検査では（表 2.6.6-6）、いずれの用量の雌雄ともに、腸間膜リンパ節及び/又は顎下リンパ節における胚中心の欠失及び/又は胚中心の発達の低下の発現率が増加した。脾臓では、90/120 mg/kg/日 投与の雌雄で造血の軽度の低下を認め、90/120 mg/kg/日を投与した雌雄と 30 mg/kg/日を投与した雌 1 例で辺縁帯の細胞充実性低下が認められた。胸腺では、30 mg/kg/日又は 90/120 mg/kg/日を投与した雌雄で髄質の細胞充実性の低下が認められ、90/120 mg/kg/日を投与した雌では萎縮が認められた。全ての投与量で雄の胸骨に骨髄脂肪の増加が認められた。脾臓では 90/120 mg/kg/日投与雌雄で、造血の程度が増加した。

休薬期間終了時には、脾臓の造血程度の増加及び胸骨髄の脂肪の増加を除いて、全ての変化が回復した。

レニオリシブは、KLH に対する T 細胞依存抗体反応（TDAR）によって決定される免疫機能の顕著な低下をもたらした。90/120 mg/kg/日の投与動物では、試験期間中、ほとんどの動物で特異的抗体反応は無視できるレベルか、あるいは消失した。レニオリシブの反復投与により、雌雄ともに循環 B-リンパ球数の用量依存的な減少も生じた。T 細胞及びナチュラルキラー（NK）細胞の数は、5 週目に 90/120 mg/kg/日の投与量で軽度に減少した。無投与期間終了時、B、T 及び NK リンパ球数は、90/120 mg/kg/日を投与した動物では、対照群で認められた値と同程度かそれ以上までに回復していた。

表 2.6.6-6 ラットにレニオリシブを 13 週間反復強制経口投与したときの主群動物の病理組織所見

Gender		**Male**				**Female**			
Dose (mg/kg/day)		0	10	30	90/120	0	10	30	90/120
Number of animals		10	10	10	10	10	10	9	10
Lymph node, mesenteric									
Germinal center absent	total	3	2	9	7	3	3	7	8
Germinal center development	total	7	8	1	3	7	7	2	2
	minimal								
	slight	*4*	*8*	*1*	*3*	*6*	*7*	*2*	*1*
		3	-	-	-	*1*	-	-	*1*
Lymph node, mandibular									
Germinal center absent	total	2	-	1	3	-	-	-	6
Germinal center development	total	8	10	8	7	10	10	9	4
	minimal								
	slight	*2*	*5*	*8*	*7*	-	*7*	*7*	*4*
	moderate	*3*	*5*	-	-	*3*	*3*	*2*	-
		3	-	-	-	*7*	-	-	-
Spleen									
Hematopoiesis, extramedullary	total	10	10	10	9	10	10	9	10
	minimal	*2*	*6*	*5*	*9*	*5*	*1*	*2*	*8*
	slight	*7*	*3*	*5*	-	*3*	*5*	*2*	*2*
	moderate	*1*	*1*	-	-	*2*	*4*	*5*	-
Decreased marginal zone cellularity	total	-	-	-	10	-	-	1	9
	minimal								
	slight	-	-	-	*5*	-	-	-	*1*
	moderate	-	-	-	*4*	-	-	-	*6*
		-	-	-	*1*	-	-	*1*	*2*
Thymus									
Decreased cellularity in medulla	total	-	-	3	7	-	-	5	9
	minimal	-	-	*3*	*7*	-	-	*5*	*8*
	slight	-	-	-	-	-	-	-	*1*
Atrophy	total	-	-	-	1	1	1	1	3
	minimal								
	slight	-	-	-	*1*	*1*	*1*	*1*	*2*
		-	-	-	-	-	-	-	*1*
Sternum and marrow									
Marrow fat	total	2	9	10	10	5	8	9	8
	minimal	*2*	*9*	*9*	*9*	*5*	*8*	*8*	*8*
	slight	-	-	*1*	*1*	-	-	*1*	-
Liver									
Inflammatory cell foci	*minimal*	7	7	9	2	8	9	5	-

Kg=kilogram; mg=milligram.
Values in the table indicate the number of animals with lesions.
-=absence of findings

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.4）

t_{max} は投与量及び性別に関わらず、投与後 0.5 時間から 1.0 時間の間であった。レニオリシブの単回投与及び反復投与後、曝露量は 1 日目にほぼ用量比例的に増加し、90 日目の AUC は雌雄ともに用量比よりも軽度に高かった。反復投与後のレニオリシブの蓄積については、明確な傾向は認められなかった（表 2.6.6-7）。

表 2.6.6-7 ラットに 13 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
10	M	3,860	8,420	1.37
	F	3,670	13,500	1.14
30	M	9,260	44,900	1.89
	F	11,900	68,800	1.64
90/120[b]	M	21,800	273,000	N/A
	F	28,400	288,000	N/A

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; mg=milligram; mL=milliliter; N/A=not applicable; ng=nanogram.
[a]=Ratio AUC_{0-24h} after last dose at Day 90/AUC_{0-24h} at Day 1.
[b]=This dose level was increased from 90 mg/kg/day to 120 mg/kg/day from the start of Week 6.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.3.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.4）

レニオリシブを 10、30 又は 90/120 mg/kg/日の用量で雌雄 Wistar 系ラットに 13 週間反復強制経口投与した結果、90/120 mg/kg/日投与群では有害と考えられるレベルまで免疫機能が低下したが、全般的に忍容性は良好であった。90/120 mg/kg/日で認められた KLH に対する TDAR 及び、それに相関する病理組織学的変化から、NOAEL は 30 mg/kg/日と判断された。このとき、雄雌それぞれにおいて、C_{max} は 9,260 及び 11,900 ng/mL、AUC_{0-24h} は 44,900 及び 68,800 ng•h/mL であった。

2.6.6.3.1.5 ラットを用いた 4 週間の回復期間を設けた 26 週間強制経口投与毒性試験

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.5］

レニオリシブは、Wistar Han（Crl:WI（Han））ラット（20 又は 30 匹/性/群）に、溶媒のみ、15、40、120 mg/kg/日の投与量で 1 回あたり 5 mL/kg を強制経口投与した。120 mg/kg/日投与群及び対照群では、雌雄各 10 匹を 4 週間の回復期試験に供した。TK のための血液試料は、毒性試験動物から 1 日目及び 23 週目又は 26 週目に採取した。

一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、皮膚の細菌スワブ、臨床病理学的検査、及び TK 評価を行った。全動物について剖検を行い、全組織の病理解剖学的検査を記録した。臓器重量を記録し、病理組織学的検査を実施した。

120 mg/kg/日を投与した 9 例の雌は、皮膚の炎症のため 7 週目から試験から除外した。120 mg/kg/日投与の残りの雌は、この群の罹患率が高いため、第 24 週の開始時に試験から除外した。40 mg/kg/日を投与した雌 1 例も、脱毛を伴う皮膚の損傷及び菲薄化のため、試験から除外した。これらの動物で認められた皮膚の損傷は、炎症及び潰瘍形成を示唆する臨床病理学的検査での変化と相関し、病理組織学的には、特に背部皮膚における真皮/表皮の亜急性炎症及び細菌コロニーの存在を認めた（例：*Staphylococcus aureus*）。

全てのレニオリシブ投与群で、投与後、口をこすったり掻いたりすることと同時に軽度から中等度の流涎が認められた。摂餌量に変化はなかった。体重増加量は、120 mg/kg/日群の雄並びに 40 mg/kg/日群及び 120 mg/kg/日群の雌で減少した。回復期には、120 mg/kg 投与群の雄で体重増加量は増加に転じたが、絶対体重は対照群より低値のままであった。120 mg/kg/日投与群の雌では、回復期においても体重増加量の減少が持続した。

40 又は 120 mg/kg/日群の第 13 週又は第 26 週の臨床病理学的検査では、白血球数、フィブリノゲン濃度、網状赤血球数、血小板数（反応性血小板増多症）の増加が認められた。赤血球系パラメータには明らかな変動はなかった。これらの血液学的検査で認められた変化と同様な変化は回復期間終了時にも認められた。40 mg/kg/日又は 120 mg/kg/日群で、アルブミン及び/又はグロブリン濃度のわずかな減少は、アルブミン:グロブリン比の増加及び/又は総タンパク質濃度の減少を伴い、雄のみにおいて可逆性であった。

投与終了後の剖検では、脾臓の脳重量比は 40 mg/kg/日投与群の雌雄及び 120 mg/kg/日投与群の雄で低値であった。精巣及び前立腺の脳重量比は、40 mg/kg/日又は 120 mg/kg/日群の雄で低値で、120 mg/kg/日群の雄では精巣上体の脳重量比も低値であった。前立腺の低重量は、病理組織学的検査で認められた好酸性分泌物の減少と相関していた。120 mg/kg/日群の雄では、皮膚/皮下及び皮膚背部の炎症の発生率の増加も肉眼的に明らかであった。

病理組織学的検査では、リンパ組織系の所見（腸間膜リンパ節及び顎下リンパ節、腸管関連リンパ組織（GALT）、脾臓の辺縁帯、及び胸腺におけるリンパ活性の低下）、皮膚背部及び舌における炎症の増加、造血要素の減少（脾臓の赤脾髄、胸骨及び骨髄の脂肪の増加）、前立腺の腺分泌の減少、精巣の精上皮の減少が認められた。さらに、雌では肝臓の炎症細胞巣の減少が認められた（表 2.6.6-8）。4 週間の回復期間終了時には、全ての所見において回復又は回復傾向が認められた。

画像解析による精巣の c-kit 染色の定量的評価では、120 mg/kg/日群において A 型から B 型への精原細胞の分化の減少を示す c-kit 陽性細胞が減少していたことが判明した。この減少は回復期には逆転し、A 型から B 型への精原細胞の分化が増加したことから、精子形成の回復進行を示した。

表 2.6.6-8 Wistar Han ラットに 26 週間反復強制経口投与したレニオリシブの主群動物における病理組織学的所見

Gender		**Male**				**Female**			
Dose (mg/kg/day)		0	15	40	120	0	15	40	120
Number of animals		20	19	20	19	20	19	18	11
Lymph node, mesenteric									
Germinal center absence	total	4	13	16	17	10	11	17	6
Germinal center development	total	16	6	3	2	10	8	1	-
	minimal	*8*	*5*	*3*	*2*	*8*	*8*	*1*	*-*
	slight	*8*	*1*	*-*	*-*	*2*	*-*	*-*	*-*
Lymph node, mandibular									
Germinal center absence	total	-	2	3	8	1	1	2	7
Germinal center development	total	20	16	17	10	19	18	16	4
	minimal	*4*	*7*	*13*	*10*	*4*	*6*	*11*	*4*
	slight	*9*	*8*	*4*	*-*	*7*	*10*	*5*	*-*
	moderate	*7*	*1*	*-*	*-*	*8*	*2*	*-*	*-*
Spleen									
Hematopoiesis, extramedullary	total	20	17	18	14	20	19	18	11
	minimal	*12*	*14*	*11*	*8*	*7*	*11*	*11*	*10*
	slight	*8*	*3*	*7*	*6*	*13*	*8*	*7*	*1*
Pigment	total	14	17	19	17	20	19	18	11
	minimal	*13*	*16*	*17*	*8*	*13*	*8*	*9*	*8*
	slight	*1*	*1*	*2*	*9*	*7*	*11*	*9*	*3*
Marginal zone cellularity decreased	total	-	-	3	18	-	-	3	8
	minimal	*-*	*-*	*3*	*10*	*-*	*-*	*3*	*8*
	slight	*-*	*-*	*-*	*6*	*-*	*-*	*-*	*-*
	moderate	*-*	*-*	*-*	*2*	*-*	*-*	*-*	*-*
PALS cellularity increased/germinal center formation decreased	total	-	-	-	19	-	-	-	6
	minimal	*-*	*-*	*-*	*8*	*-*	*-*	*-*	*6*
	slight	*-*	*-*	*-*	*11*	*-*	*-*	*-*	*-*
Thymus									
Atrophy	total	-	1	-	5	-	-	-	4
	minimal	*-*	*1*	*-*	*4*	*-*	*-*	*-*	*3*
	slight	*-*	*-*	*-*	*1*	*-*	*-*	*-*	*-*
	moderate	*-*	*-*	*-*	*-*	*-*	*-*	*-*	*1*
Sternum and marrow									
Marrow fat	total	17	15	20	19	16	18	16	9
	minimal	*16*	*13*	*15*	*6*	*13*	*9*	*13*	*9*
	slight	*1*	*2*	*4*	*11*	*3*	*9*	*3*	*-*
	moderate	*-*	*-*	*1*	*2*	*-*	*-*	*-*	*-*
Liver									
Inflammatory cell foci	*minimal*	17	14	18	13	17	16	10	4
Tongue									
Inflammation, subacute	total	-	1	-	8	-	-	-	8
	minimal	*-*	*-*	*-*	*2*	*-*	*-*	*-*	*3*
	slight	*-*	*1*	*-*	*5*	*-*	*-*	*-*	*5*
	moderate	*-*	*-*	*-*	*1*	*-*	*-*	*-*	*-*
Dorsal skin									
No. examined		20	19	20	19	20	19	17[a]	11[a]
Inflammation dermis/epidermis, subacute	total	-	2	2	6	-	2	-	5
	minimal	*-*	*1*	*2*	*1*	*-*	*2*	*-*	*1*
	slight	*-*	*1*	*-*	*4*	*-*	*-*	*-*	*3*
	moderate	*-*	*-*	*-*	*1*	*-*	*-*	*-*	*1*

表 2.6.6-8 Wistar Han ラットに 26 週間反復強制経口投与したレニオリシブの主群動物における病理組織学的所見（続き）

Prostate									
No. examined		20	18	20	19	NA	NA	NA	NA
Secretion decreased	total	-	1	3	10	NA	NA	NA	NA
	minimal	-	*1*	*3*	*9*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
	slight	-	-	-	*1*	*NA*	*NA*	*NA*	*NA*
Testes									
Decreased germinal epithelium	*minimal*	1	1	5	10	NA	NA	NA	NA
Peyer's patches (GALT)									
No. examined		18	18	19	18	18	19	18	10
Germinal center absent	total	-	3	4	12	4	2	6	8
Germinal center development	total	18	15	15	6	14	17	12	2
	minimal	*5*	*13*	*11*	*6*	*7*	*11*	*10*	*2*
	slight	*12*	*2*	*4*	-	*7*	*6*	*2*	-
	moderate	*1*	-	-	-	-	-	-	-

GALT=gut-associated lymphoid tissue;kg=kilogram; mg=milligram; kg=kilogram; mg=milligram; NA=not applicable; No.=number; PALS=peri-arteriolar lymphatic sheath. Values in the table indicate the number of animals with lesions.
[a]=Not including moribund animals that were prematurely euthanized due to skin sores.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.5）

レニオリシブ投与後、t_{max} は投与 30 分後に発現した。全身曝露のばらつきは低いと考えられた。レニオリシブの単回及び反復投与後のいずれにおいても雌雄ともに、AUC は用量比例的に増加した。反復投与後にレニオリシブの蓄積は認められなかった。全ての群で、雄と比べて雌の曝露量が高い傾向が認められた（表 2.6.6-9）。

表 2.6.6-9 Wistar Han ラットに 26 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
15	M	4,560	13,600	0.95
	F	6,760	25,900	0.94
40	M	13,100	55,800	1.28
	F	19,100	83,600	0.71
120	M	22,300	142,000	0.99
	F	33,900[b]	311,000[b]	1.30[c]

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; ng=nanogram; mg=milligram; mL=milliliter.
[a]=Ratio $AUC_{0\text{-}24h}$ at Day 159 (Week 23).
[b]=Data obtained at Day 159 (Week 23).
[c]=Day 181 (Week 26)/$AUC_{0\text{-}24h}$ at Day 1.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.3.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.5）

以上のように、レニオリシブを 15 又は 40 mg/kg/日の用量で 26 週間ラットに強制経口投与した場合、忍容性は良好であった。120 mg/kg/日の投与では、投与に関連した皮膚の炎症（特に背部皮膚の真皮/表皮の亜急性炎症）により死亡に至り、雌では早期終了（24 週の初め）に至った。その他の病理組織学的検査所見は、リンパ系、皮膚、舌、造血系、及び雄の生殖器官で認められたが、これらは回復期間後に完全に回復、または回復傾向を示した。40 又は 120 mg/kg/日を投与した動物における投与関連の皮膚病変及び投与に伴う死亡率を考慮し、NOAEL は 15 mg/kg/日と判断された。このとき、雄雌それぞれにおいて、C_{max} は 4,560 及び 6,760 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は 13,600 及び 25,900 ng·h/mL であった。

2.6.6.3.2 カニクイザルを用いた反復経口投与毒性試験

カニクイザルを用いた反復経口投与毒性試験として、最長 39 週間の試験を実施した。これらの試験では、レニオリシブは 0.5%（カルボキシ）メチルセルロース/0.5%Tween 80 水溶液懸濁液として調製し、投与容量は 5～10 mL/kg とした。毒性試験に使用された種における代謝試験では、循環血中に総曝露量の 10%を超える代謝物は認められなかったため、毒性試験では代謝物の測定は行わず未変化体の血漿中濃度のみを測定した。

2.6.6.3.2.1 雄性サルでの非侵襲テレメトリーを用いた漸増経口投与毒性試験並びに反復経口投与毒性試験（非 GLP）

［試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.6］

2 種の PI3K δ 阻害剤、レニオリシブ及び CFL375 について漸増経口投与毒性試験並びに反復経口投与毒性試験を実施した。本試験は、観察投与期と反復投与期の 2 相で構成されている。ここでは、レニオリシブ投与動物の結果のみを要約する。観察投与期では、1 群 3 匹の雄性カニクイザルにレニオリシブを 1 日目、7 日目、10 日目にそれぞれ 15、50 及び 150 mg/kg の単回漸増用量で強制経口投与した。各投与後の TK 解析のため、全動物から採血した。反復投与期では、レニオリシブをさらに 3 群 3 匹の雄性カニクイザルに、0、15 及び 150 mg/kg/日の用量で 7 日間反復投与した。TK 解析のための採血は、初回及び最終投与後に行った。一般状態観察、体重及び摂餌量の測定は全動物で実施した。心電図（ECG）評価（非侵襲的ジャケットテレメトリー）は、観察投与期（試験前及び投与後 2 時間～24 時間）に割り付けられた全てのサルに対して実施した。病理解剖学的検査、臓器重量、及び病理組織学的検査は、反復投与期に割り当てられた動物に対してのみ実施した。観察投与期及び反復投与期には、臨床検査、リンパ球サブセットの免疫表現型解析、及び TK 解析のために全動物から採血を行った。

一般状態観察では毒性学的意義のある変化は認められず、体重、摂餌量、臨床病理学的パラメータへの影響はなかった。

150 mg/kg 投与時に 3 例中 2 例で QTc の延長が認められたが、PR や QRS には影響は認められず、レニオリシブに関連した不整脈は検出されなかった。これらの QTc の延長は、レニオリシブ投与に関連した変化であり、かつヒトへの潜在的リスクの観点で有害な事象であると考えられた

レニオリシブに関連した免疫表現型パラメータの変化は、観察投与期では認められなかった。反復投与期では、150 mg/kg/日で B-リンパ球及び NK 細胞数の減少が認められた。

本試験の反復投与期では、臓器重量や肉眼的変化は認められなかった。レニオリシブ投与により、検査臓器のいずれにおいても病理組織学的変化は認められなかった。

t_{max} は、単回漸増投与観察期では 0.67 時間から 3.0 時間、反復投与期では 1.67 時間から 3.0 時間であった。レニオリシブの濃度データは、変動が大きいため、結論にはある程度の注意が必要である。一般に単回及び反復強制経口投与後の AUC 及び C_{max} は、投与量の増加に伴いほぼ比例して増加した。反復投与後のレニオリシブの蓄積は認められなかった。表 2.6.6-10 は、本試験の単回漸増用量観察期の結果を示し、表 2.6.6-11 は反復投与期の結果である。

表 2.6.6-10 レニオリシブのカニクイザルへの単回漸増経口投与後の TK パラメータ（観察期）

Dose (mg/kg)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)
15	M	3,384	8,367
50	M	8,010	27,400
150	M	17,900	131,000

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; ng=nanogram; m=milligram; mL=milliliter.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.4.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.6）

表 2.6.6-11 レニオリシブをカニクイザルに 1 週間反復強制経口投与後の TK パラメータ（最終投与後）（反復投与期）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
15	M	4,080	11,100	1.70
150	M	17,600	147,000	0.59

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; ng=nanogram; mg=milligram; mL=milliliter.
[a]=Ratio AUC_{0-24h} after last dose at Day 7/AUC_{0-24h} at Day 1.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.4.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.6）

以上のように、レニオリシブは 150 mg/kg/日までの用量で忍容性が高く、最大耐容量（MTD）には達しなかった。しかし、本試験の条件下で、観察投与期では 150 mg/kg の単回投与後に 3 例中 2 例で QT_c が延長したことから、NOAEL は 50 mg/kg と判断され、その時の C_{max} は 8,010 ng/mL、AUC_{0-24h} は 27,400 ng·h/mL であった。

2.6.6.3.2.2 雄性サルでの非侵襲テレメトリーを用いた 7 日間強制経口投与毒性試験（非 GLP）

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.7］

1 群あたり 3 匹の雄性カニクイザルに、溶媒のみ又はレニオリシブ 300 mg/kg/日を 5 mL/kg の容量で 1 日 1 回 7 日間の強制経口投与を行った。

一般状態観察、体重及び摂餌量の測定、臨床病理学的評価（血液学的検査、凝固線溶/血栓症パラメータ、及び臨床化学検査）を実施した。心電図評価（非侵襲的ジャケットテレメトリー）を全てのサルで実施した。剖検を行い、病理解剖学的検査の記録、病理組織学的検査、及び臓器重量の測定を行った。TK 解析のために血液試料を採取した。

死亡動物はなく、体重や摂餌量に明確な影響はなかった。レニオリシブを投与した動物では、嘔吐及び糞便変化（軟便又は下痢）が認められた。

心電図検査では、レニオリシブを投与した 3 例のサルのうち 2 例で QT/QT_c 間隔が 1 日目に延長し、7 日目にはより顕著な延長（程度及び期間；全例）が認められた。投与 1 日目の QT_c の群平均ベースラインで調整した延長は最大 24 ミリ秒（10%）であり、投与後約 4 時間から 13 時間で発現した。7 日目には、ベースライン調整後の群平均 QT_c の増加は、ベースライン調整後の溶媒対照と比較した場合、最大 60 ミリ秒（23%）であった。1 日目の PR 間隔の軽度な延長傾向は、房室伝導の遅延を示すのみであった。レニオリシブは心拍数及び QRS 間隔に影響を与えなかった。不整脈は検出されなかった。

血液学的検査では、赤血球造血抑制を反映すると考えられる軽微な網状赤血球数の減少が認め

られた。血漿フィブリノゲン濃度は、軽度の全身性炎症の存在と一致して全投与動物で軽度に上昇した。レニオリシブ投与動物の 1 例で、単球数及び全顆粒球数が増加し、全身性の炎症を反映していた。

臨床化学検査では、レニオリシブを投与した 3 例全てにアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）活性及び血清クレアチニン濃度の上昇が認められた。1 例は血清ビリルビン濃度が軽度上昇した。

レニオリシブに関連した胸腺重量の減少が全ての投与動物で認められ、これは 1 例の投与動物での肉眼的に小さな胸腺と相関し、病理組織学的に認められたリンパ球の減少とも相関した。

リンパ系臓器（胸腺、脾臓、リンパ節、回腸及び大腸の GALT）における病理組織学的所見（細胞充実性の低下）は、B 細胞の発生及び分化に対するレニオリシブの薬理活性に関連していると考えられる。ビリルビンの増加を示した 1 例では、軽度の肝門脈領域での炎症性細胞浸潤が認められたが、これは発生率が低いこと及びカニクイザルでの背景データとして認められる［Chamanza R, 2010］ことから、レニオリシブ投与とは関係がないと判断された。

レニオリシブを反復強制経口投与した場合の曝露量は、初回投与時の 1.87 倍であった。t_{max} は 3 例全てで投与後 7 時間に認められたが、1 例のサルでは高濃度のままであり、投与後 24 時間の濃度は投与後 7 時間の値の 80%であった。最終投与後に得られた TK パラメータの平均値を表 2.6.6-12 に示す。

表 2.6.6-12 カニクイザルに 1 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
300	M	31,500	453,000	1.87

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; ng=nanogram; mg=milligram; mL=milliliter.
[a]=Ratio $AUC_{0\text{-}24h}$ after last dose at Day 7/$AUC_{0\text{-}24h}$ at Day 1.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.4.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.7）

試験の結果、死亡率及び明白な臨床徴候は認められず、300 mg/kg/日のレニオリシブにおける忍容性が示された。300 mg/kg/日の投与で QT/QTc への影響が認められたことから NOAEL は 300 mg/kg/日未満であると判断された。

2.6.6.3.2.3 ジャケットテレメトリーを装着したサルでの 4 週間の回復期間を設けた 2 週間強制経口投与毒性試験

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.8］

溶媒のみ又はレニオリシブ 30、100 及び 300 mg/kg/日を 10 mL/kg の容量で、カニクイザル（5 又は 3 匹/性/群）に 2 週間、1 日 1 回強制経口投与した。300 mg/kg/日群及び対照群の雌雄各 2 匹は、4 週間の回復期試験に供した。

本試験では、一般状態、体重、眼科検査、ジャケットテレメトリー、病理評価、ホルモン分析（TSH、T_3、T_4）、及び免疫表現型を評価した。全ての動物で剖検を行い、病理解剖学的検査、臓器重量、及び病理組織学的検査の結果を記録した。投与 1 日目及び 15 日目の、投与前、投与後 0.5、1、3、7 及び 24 時間に TK 評価のため採血を行った。

300 mg/kg/日投与群の雄 1 例が瀕死状態（水様便、横臥位、振戦及び体温低下）で発見され、8

日目に試験終了した。300 mg/kg/日投与群では、ほとんどの動物で認められた一般状態（重度の下痢及び嘔吐）のため、前述の 1 例を除く雄動物については 9 日目に、雌動物については 7 日目に投与中止された。300 mg/kg/日投与群の雄 5 例中 2 例及び雌 5 例中 3 例がそれぞれ 9 日目及び 7 日目に剖検され、雌雄 300 mg/kg/日投与群の回復動物は 2 例のみとなった。

被験物質投与に関連する主な一般状態の変化は、300 mg/kg/日投与群の動物で投与後に持続する重度の下痢及び嘔吐であった。これらの動物では、投与期間終了時に顕著な体重減少が認められた。また、100 mg/kg/日投与群の 1 例では、投与開始後 1 週間に軽度の体重減少が認められた。

覚醒無拘束動物に装着したジャケット型外部テレメトリーで収集した心電図データから、300 mg/kg/日投与群の 1 例が投与 2 日目に洞調律と交互に出現する二段脈性心室期外収縮（VPC）を示した。これらの事象は投与後約 0.5 時間から 6 時間まで不規則な間隔で認められ、最大 2 分間持続した。また、300 mg/kg/日投与群の一部の雌雄動物において、投与 2 日目及び 12 又は 13 日目に QT_{cI} 値が軽度に上昇した。

早期に試験終了となった 300 mg/kg/日投与群の臨床的に最も影響を受けた 2 例の雄は、血液学的検査及び臨床化学検査項目で複数の変化を示したが、これは瀕死状態に関連している可能性が高い。他の動物における関連する血液学的変化には、300 mg/kg/日投与群の雄での好塩基球数の軽度な増加、300 mg/kg/日投与群の全ての雄及び 5 例中 3 例の雌における単球数の軽度な増加、並びに 100 mg/kg/日投与群の雌における好中球絶対値の中程度の減少が含まれた。300 mg/kg/日投与群では、凝固系検査において、全ての雄及び 1 例の雌でフィブリノゲン値が軽度に上昇し、雄では活性化部分トロンボプラスチン時間が軽度に増加した。300 mg/kg/日投与群及び 100 mg/kg/日投与群の雄では、投与終了時に赤血球数、ヘモグロビン濃度、及びヘマトクリット値が軽度に減少した。

臨床化学検査では、300 mg/kg/日投与群の雌 5 例中 2 例（この投与群で最も重い影響を受けた雄 2 例に加え）でビリルビン値が軽度に上昇し、100 mg/kg/日以上の投与群の雌及び 300 mg/kg/日投与群の雄でクレアチニン値が軽度に上昇した。さらに、血中尿素値が 300 mg/kg/日投与群では全ての雄及び雌 1 例、100 mg/kg/日投与群の雄 1 例で軽度に上昇した。さらに、ナトリウム及びクロールの減少が 100 mg/kg/日以上の雄及び 300 mg/kg/日の雌で記録された。100 mg/kg/日以上の雄では、アルブミン濃度が軽度から中等度に低下し、総タンパク質も同様に低下した。300 mg/kg/日投与群の雌では、7 日目にグルコースの上昇が認められた。

T_3 レベルの低下は、300 mg/kg/日群の雄のみに認められ、回復期間の終了時までに回復した。レニオリシブに関連した TSH 又は T_4 の変化は認められなかった。

血中の免疫表現型分類では、100 mg/kg/日以上を投与した雌雄で、NK 細胞の軽度の減少が認められた。また、100 mg/kg/日以上の雄及び300 mg/kg/日の雌では、B細胞数が軽度に減少した。脾臓及び腸間膜リンパ節における相対細胞数の分析から、100 mg/kg/日以上を投与した雄動物では $CD40^{high}$ $CD27^{+}$メモリーB-細胞の減少傾向が認められたが、雌では認められなかった。雄の胸腺における $CD3^{+}$ $CD4^{+}$ $CD8^{+}$ T 細胞の用量依存性の減少傾向が認められた。

剖検の結果、300 mg/kg/日群の予定外の早期試験終了となった雄 2 例のうち 1 例では胃及び小腸・大腸に、もう 1 例では大腸（暗緑色）に異常な液体内容物（黄色）が認められた。前者では、小腸及び大腸の巣状の赤色化及び小腸の菲薄化も認められた。300 mg/kg/日投与群の予定外に試験終了した雄２例では、リンパ系臓器及び腸において投与に関連すると考えられる病理組織学的所見を認めた。これらの個体では胸腺萎縮が認められ、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節、及びパイエル板のリンパ球融解/貪食も認められた。これらの個体では腸間膜リンパ節及び顎下リンパ

節の濾胞胚中心の軽微な減少または消失を伴っていた。濾胞肺中心の所見は雄の 300 mg/kg/日投与群の残りの 1 例でも認められた。さらに、300 mg/kg/日投与群の雄 1 例には、脾臓の軽度なリンパ球減少があった。300 mg/kg/日投与群の全ての雌において、腸間膜リンパ節の濾胞胚中心の消失が確認された。300 mg/kg/日投与群の雄 1 例の盲腸及び結腸では、盲腸のびらんを伴う出血が認められた。回腸及び空腸では絨毛の萎縮が認められた。この雄では肋骨及び胸骨骨髄細胞の枯渇が認められた。300 mg/kg/日投与群の雌 1 例では、結腸に陰窩の微小膿瘍及び亜急性炎症が認められた。

t_{max} は、30 mg/kg/日及び 100 mg/kg/日群では雌雄ともに投与後 0.5 時間から 3 時間の範囲であり、300 mg/kg/日群では投与後 1 時間から 3 時間で最大 7 時間までの範囲であった。投与後 7 時間から 24 時間の間に採血が行われなかったため、300 mg/kg/日群の AUC はやや過小評価された可能性がある。単回投与又は反復投与後の $AUC_{0\text{-}24h}$ に基づく曝露量は、性別に関わらず 30～300 mg/kg/日の間でほぼ用量比例的に増加した。レニオリシブの 1 日 1 回反復投与後の AUC を 15 日目と 1 日目で比較すると、雌雄ともに明確な蓄積はなかった。100 mg/kg/日及び 300 mg/kg/日では、1 日目の曝露量が雌よりも雄でわずかに高い傾向が認められた（表 2.6.6-13）。

表 2.6.6-13 カニクイザルに 2 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
30	M	6,500	21,000	0.50
	F	6,150	14,100	0.58
100	M	15,300	132,000	0.58
	F	13,700	78,200	1.46
300	M	42,100[b]	538,000[b]	ND
	F	28,100[b]	216,000[b]	ND

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; ND=not determined; ng=nanogram; mg=milligram; mL=milliliter.
[a]=Ratio $AUC_{0\text{-}24h}$ after last dose at Day 15/$AUC_{0\text{-}24h}$ at Day 1.
[b]=Data obtained on Day 1.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.4.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.8）

本試験の結果から、レニオリシブの 2 週間反復強制経口投与において 100 mg/kg/日まで忍容性が認められた。300 mg/kg/日では、重度の下痢、嘔吐、体重減少、それに伴う血液学的及び臨床化学検査項目での変化、リンパ系臓器及び腸の病理組織学的所見が認められた。さらに、1 例で洞調律と二段脈性心室期外収縮が認められ、一部の動物で QT_{cI} 値の軽度な延長が認められた。本試験の条件下で NOAEL は 100 mg/kg/day であり、C_{max} は雄が 15,300 ng/mL で雌が 13,700 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は雄が 132,000 ng•h/mL で雌が 78,200 ng•h/mL であった。

2.6.6.3.2.4 サルを用いた 4 週間の回復期間を設けた 13 週間の強制経口投与毒性試験

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.9］

レニオリシブは、0（溶媒対照、1～91 日目）、40/20 mg/kg/日（1～30 日目は 40 mg/kg/日、31～91 日目は 20 mg/kg/日）、80/40 mg/kg/日（1～23 日目に 80 mg/kg/日、その後 7 日間の休薬期を経て、31～98 日目に 40 mg/kg/日）、160/120/60 mg/kg/日（160 mg/kg/日を 1～13 日目に投与、その後 5 日間の休薬期を経て、120 mg/kg を 19～23 日目に投与、さらに 7 日間の休薬期を経て、60

mg/kg/日を 31～105 日目に投与）の投与量でカニクイザル 3 群（5 又は 3 匹/性/群）に容量 10 mL/kg を 1 日 1 回強制経口投与した。160/120/60 mg/kg/日群及び対照群の雌雄各 2 匹を 4 週間の回復期試験に供した。投与 1 日目（全群）、19 日目（160/120/60 mg/kg 群のみ）及び 31 日目（全群）、並びに試験終了時に、投与前、投与 0.5、1、3、7、12 及び 24 時間後の採血ポイントで TK 評価のため採血した。

一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、テレメトリー心血管系検査、臨床病理学的評価、及び免疫表現型分類を実施した。全ての動物について剖検を行い、病理解剖学的検査、臓器重量、及び病理組織学的検査結果を記録した。

160/120/60 mg/kg/日群の雄 1 例は、90 日目の投与直後にレニオリシブ投与液の逆流及びその後の誤嚥により死亡した。

最も顕著な一般状態の変化は、80 mg/kg/日群及び 160 mg/kg/日群の一部の動物における軟/水様便及び嘔吐であった。これらの所見により、一部の動物で体重減少及び脱水が認められたため、160 mg/kg/日群では 13 日目に投与を中止した。しかし、投与量を 120 mg/kg/日に減らしても、嘔吐及び水様便は再発し、80 mg/kg/日群の一部の動物にも認められた。そのため、30 日目以降は全投与群で投与量を減じた。投与量の減少後、嘔吐は消失し、軟便及び水様便の発生率は減少したが、この所見は 40 mg/kg/日及び 60 mg/kg/日投与群の一部の動物にまだ認められた。さらに、流涎の増加が 80/40 mg/kg/日以上の投与前及び/又は投与後に認められた。160 mg/kg/日投与群の雄 2 例における皮膚所見（腹部、腕、脚の斑点）は、60 mg/kg/日への減量後に消失した。

高用量群（60 mg/kg/日）では、投与 13 週間後、レニオリシブに関連した心電図の変化は認められなかった。

臨床病理学的検査所見は、最初の 37 日間の中用量群及び高用量群の動物にほぼ限られていた。80/40 mg/kg/日以上では、3 例で消化管電解質喪失によってナトリウム及びクロール濃度が著しく低下した。炎症反応と一致する一過性の所見としては、全投与量群の雄でグロブリン濃度の上昇及びアルブミン/グロブリン比の低下、中用量及び高用量の動物でのフィブリノゲン濃度及び白血球数の散発的な上昇、及び高用量群の雄でアルブミン濃度の軽度の低下が認められた。一方、高用量群の雄ではクレアチンキナーゼ活性の軽微な上昇が認められた。臨床病理学的検査では、この所見のみが、投与期間を通じて持続的に認められた。高用量群における総ビリルビン及びアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）活性の軽微から軽度の一過性の上昇は、肝機能及び肝臓の完全性に対する軽微な影響を示唆したが、これらが直接的な肝毒性を反映する可能性は低いと考えられた。

イムノフェノタイピングにより、40 mg/kg/日以上の投与量では、14 日目のみ $CD20^+$ B 細胞及び $CD16^+$ NK 細胞数のわずかな減少傾向が認められた。さらに、これらの投与群では 14 日目に $CD3^+$ T 細胞、特に $CD3^+$ $CD4^+$ T ヘルパー細胞の数が増加する傾向が認められた。これらの影響は投与期間の 90 日目には認められず、おそらく投与量の減少によると考えられる。

投与終了後剖検で、80/40 mg/kg/日群の 1 例及び 160/120/60 mg/kg/日群の 2 例は、大腸に緑色で柔らかい異常内容物を認めた。これらの群では、病理組織学的検査で、レニオリシブ投与に関連した所見として、盲腸、結腸、及び直腸における、しばしば陰窩の微小膿瘍を伴う亜急性から慢性の炎症が認められた。4 週間の回復期間終了時には同様の所見は認められなかった。

T_{max} は、投与量及び性別に関わらず、投与後 0.5 時間から 3 時間の間であった。反復投与後、投与期間終了時の曝露量は、雌雄ともに 20 mg/kg/日から 40 mg/kg/日までは用量比例以上に、40 mg/kg/日以降はほぼ比例して増加した。AUC には明確な性差は認められなかった。85 日目、

96 日目、及び 99 日目の曝露量を 31 日目と比較すると、全ての用量で顕著な蓄積（1.46 倍～5.24 倍）が認められた（表 2.6.6-14）。AUC に基づく全身曝露量の個体間変動は中程度から高程度（15.0%～159%）であった。

表 2.6.6-14 カニクイザルに 13 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
40/**20**	M	480	1,130	1.46[b]
	F	3,130	6,970	5.24[b]
80/**40**	M	15,600	78,200	4.37[c]
	F	10,500	42,900	4.40[c]
160/120/**60**	M	33,000	147,000	4.44[d]
	F	18,300	73,700	1.69[d]

Note: **bold** indicates the dose level given at time of indicated TK analysis.
AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; ng=nanogram; mg=milligram; mL=milliliter.
[a]=Ratio AUC_{0-24h} after last dose/AUC_{0-24h} at Day 1.
[b]=Ratio AUC_{0-24h} on Day 85/AUC_{0-24h} at Day 1.
[c]=Ratio AUC_{0-24h} on Day 96/AUC_{0-24h} at Day 1.
[d]=Ratio AUC_{0-24h} on Day 99/AUC_{0-24h} at Day 1.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.4.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.9）

発疹が認められた動物の皮膚からレニオリシブが検出された。これらの皮膚試料中の濃度は 704～1,400 ng/g であった。120 mg/kg/日の用量で投与 19 日目の雄で投与 24 時間後に認められた低い全身濃度（14.8～31.2 ng/mL）と比べて、レニオリシブの高い皮膚親和性は明らかであった。

本試験の結果から、雌雄のカニクイザルにレニオリシブ 60 mg/kg/日までの 13 週間反復強制経口投与で忍容性が認められた。（160/120/）60 mg/kg/日及び（80/）40 mg/kg/日投与群で認められたレニオリシブ関連の所見は、下痢並びに盲腸、結腸及び直腸の亜急性から慢性の炎症所見で、しばしば陰窩の微小膿瘍を伴い、これらは全て有害と考えられた。全ての所見は 4 週間の無投与期間後に回復した。NOAEL は 20 mg/kg/日と考えられ、最終投与後の C_{max} は、雄が 480 ng/mL、雌が 3,130 ng/mL であり、AUC_{0-24h} 値は、雄が 1,130 ng•h/mL、雌が 6,970 ng•h/mL であった。

2.6.6.3.2.5 サルを用いた 4 週間の回復期間を設けた 39 週間の強制経口投与毒性試験

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.10］

カニクイザルにレニオリシブを 39 週間反復投与した。4～6 例/性/群に、溶媒のみ、20、40、60 mg/kg/日を 5 mL/kg の容量で反復強制経口投与した。60 mg/kg/日投与群及び対照群では、雌雄各 2 匹を 4 週間の回復期試験に供した。第 1 日及び第 16 週並びに第 39 週に TK 評価のため血液を採取した。

一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、体温、心電図、及び臨床病理学的検査を実施した。動物の状態に応じた治療的処置の判断の目的で、細菌検査用糞便スワブ及びウイルス検査用血液試料を採取した。全例について剖検を行い、臓器重量検査、病理解剖学的検査、及び病理組織学的検査を実施した。死亡動物の消化管組織に対して免疫組織化学検査を実施した。

予定された 39 週間の投与期間を終了した動物では、体重増加量、摂餌量、眼科検査に変化は

なかった。糞便の変化は、馴化期間及び試験前の期間に、全てではないが一部の雄で認められ、投与期間中に全ての群において雌雄で発生率及び重症度が増加した。これら所見の重症度に加え、脱水及び急速かつ顕著な体重減少を認め、第 10 週及び第 17 週に 4 例が死亡又は試験終了に至った（20 mg/kg/日で 3 例、40 mg/kg/日で 1 例）。死亡動物の臨床病理学的所見は、全身の炎症、消化管タンパク質の減少、及び電解質の不均衡と一致していた。細菌スワブ及び電子顕微鏡検査から、このコホートの動物では複数の腸内細菌病原体、特に *Campylobacter jejuni* 及び腸管病原性 *E. coli* による感染が認められた。17 週目以降、臨床的モニタリングが強化され、臨床スコアリングシステムに基づいて抗生物質投与が全投与群で実施された。これらの処置は全体的な感染負荷の軽減につながり、さらなる死亡を防止したと考えられた。

心電図検査では、雌雄の動物において、40 mg/kg/日及び 60 mg/kg/日で QT 及び $QT_{c(B)}$間隔が投与前及び対照値と比較して延長した（表 2.6.6-15）。20 mg/kg/日の動物でも QT 及び $QT_{c(B)}$の一般的な延長傾向が認められたが、これらの変化は個体間でばらつきがあるため、投与との関連性は断定できなかった。投与前及び対照値と比較して、PR、QRS、RR 間隔、及び心拍数にレニオリシブに関連した変化は認められなかった。

表 2.6.6-15 レニオリシブのカニクイザルに反復強制経口投与した場合の第 25 週及び第 38 週における QT 及び $QT_{c(B)}$間隔の変化

		QT-interval change from pre-treatment values (in ms)		$QT_{c(B)}$-interval change from pre-treatment values (in ms)	
Gender (M/F)	**Dose (mg/kg/day)**	Week 25	Week 38	Week 25	Week 38
Males	Control	+12	+2	+10	+7
	20	+5	+15	-6	+39
	40	+16	+19	+13	+30
	60	+39	+37	+36	+43
Females	Control	+3	+1	-3	+5
	20	+18	+9	+17	+19
	40	+34	+35	+26	+41
	60	+13	+16	+7	+26

ms=milliseconds.

（試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.10）

予定された投与終了まで生存した動物における臨床病理学的パラメータの変化は、60 mg/kg/日を投与した雄及び雌における好酸球数の軽微で可逆的な増加、及びタンパク質パラメータ（アルブミン濃度及び A：G 比）の減少、20 mg/kg/日以上を投与した雌における好酸球の増加であった。これらの変化は 23 日目より認められ、腸管の炎症とも一致すると考えられた。

投与予定期間終了時の病理組織所見では、20 mg/kg/日以上の用量の雄及び 60 mg/kg/日の雌で、リンパ系器官のリンパ球減少（主に B 細胞領域）が認められた。回復期の雌の対照動物 1 例を含む全群の動物で、大腸の少なくとも 1 区間に陰窩の微小膿瘍形成を認めた。その重症度は類似し、軽微から軽度まであったが、発生率は対照群と比較してレニオリシブ投与群で高かった。本病変は *C. jejuni* によって引き起こされることが知られているため、レニオリシブ投与と直接の関係はないと考えられる。60 mg/kg/日を投与した雄 1 例の盲腸及び直腸にびらん/潰瘍形成が認められた。回復期間終了時では、脾臓及びGALT/パイエル板でのリンパ球減少は認められなくなったが、雌 1 例の顎下リンパ節及び、60 mg/kg/日投与歴のある雄 2 例の胸腺では、軽微なリンパ球減少が依然として認められた。

レニオリシブの単回及び反復投与後、t_{max} は投与群及び性別に関わらず、投与後 0.5 時間から 3 時間の間であった。全身曝露量（AUC）の個体間変動は中等度であった。AUC は投与日、性別、投与レジメンに関わらず、ほぼ用量に比例して増加した。反復投与後にレニオリシブの蓄積傾向は認めず、投与群や試験日数によらず明確な性差も認めなかった（表 2.6.6-16）。

表 2.6.6-16 カニクイザルに 39 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
20	M	6,570	25,900	1.73
	F	6,980	14,700	0.96
40	M	13,800	50,500	1.32
	F	13,400	46,500	1.06
60	M	16,700	71,500	0.81
	F	19,400	79,400	1.09

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; mg=milligram; mL=milliliter; ng=nanogram;.
[a]=Ratio AUC_{0-24h} after last dose in Week 39/AUC_{0-24h} at Day 1.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.4.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.2.10）

サルを用いたレニオリシブの 39 週間 1 日 1 回強制経口投与毒性試験において、複数の一次及び日和見病原体による潜在感染により、全群で軽度から重度の慢性下痢が発生し、4 例が死亡した。これらの死亡はレニオリシブ投与に直接起因してはいなかったため、NOAEL の判断には考慮しなかった。追加の臨床モニタリング及び特異的治療により、全体的な感染負担が軽減され、さらなる死亡が防止された。リンパ系臓器の B 細胞領域における所見は、20 mg/kg/日以上の用量で発現し、レニオリシブに期待される薬理作用と一致していた。60 mg/kg/日投与時の雄 1 例における大腸の粘膜びらん及び潰瘍形成、並びに 40 mg/kg/日以上投与時の心電図評価における QT 及び $QT_{c(B)}$ 間隔の延長は、有害事象とみなされた。したがって、20 mg/kg/日の用量が NOAEL として判断され、この用量での 39 週目の C_{max} は、雄及び雌でそれぞれ 6,570 及び 6,980 ng/mL、AUC_{0-24h} は 25,900 及び 14,700 ng·h/mL であった。雌雄の平均値では、C_{max} は 6,775 ng/mL、AUC は 20,300 ng·h/mL であった。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

レニオリシブの遺伝毒性について、[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」に記載されている遺伝毒性に関する標準バッテリーで評価した。レニオリシブは、細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）では変異原性はなく、ヒト末梢血単核細胞（PBMC）を用いた *in vitro* 染色体異常試験及び *in vitro* 小核試験では遺伝毒性を示さなかった。レニオリシブは、ラットを用いた *in vivo* 小核試験でも遺伝毒性を示さなかった。

2.6.6.4.1　*Salmonella typhimurium* を用いた *in vitro* 復帰変異試験

[試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.3.1.1]

In vitro の細菌を用いた復帰突然変異（Ames）試験で変異原性を評価した。*Salmonella typhimurium*（TA98、TA100、TA1535、TA97a 及び TA102 株）を用いて、5,000 mg/プレートまでの濃度で、Aroclor1254 誘導ラット肝臓ミトコンドリア分画（S9）による代謝活性化系存在下または非存在下で、標準的なプレート組み込みアッセイを実施した。その結果、レニオリシブは、代謝活性化の有無に関わらず、試験菌株の復帰コロニー数/プレートの増加を誘導しないことが示された。

2.6.6.4.2　TK6 細胞を用いた *in vitro* 小核試験

[試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.3.1.2]

Aroclor1254-誘導ラット肝ホモジネート S9 分画の存在下又は非存在下で、TK6 ヒトリンパ芽球系細胞を用いた *in vitro* 小核試験で、レニオリシブの染色体構造異常誘発性及び染色体異数性誘発性を評価した。

TK6 細胞を最大 342.9 µg/mL の濃度でレニオリシブ（DMSO 中）に 3 時間（±S9）又は 20 時間（-S9）曝露した。シクロホスファミド及びエチルメタンスルホン酸を陽性対照として用いた。

細胞増殖率（RPD：Relative Population Doubling）の減少によって示されるように、細胞毒性は濃度依存的に増加した。レニオリシブは、S9 の存在下又は非存在下で 3 時間培養後、あるいは S9 の非存在下で 3 時間及び 20 時間培養後、細胞毒性を示す濃度まで小核を誘発しなかったので、レニオリシブは本試験条件下では染色体異常誘発能も染色体異数性誘発能も無いと判断された。

2.6.6.4.3　培養ヒト PBMC を用いた *in vitro* 染色体異常試験

[試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.3.1.3]

本試験の目的は、代謝活性化（アロクロール 1254 誘発ラット肝 S9）の非存在下及び存在下で曝露された培養ヒト末梢血リンパ球の染色体に対する影響を調べることにより、レニオリシブの染色体異常誘発能を評価することであった。陰性対照（溶媒の DMSO）及び陽性対照（4-ニトロキノリン 1-オキシド又はシクロホスファミド）を含めた。

ヒト PBMC を最大 600 µg/mL の濃度で 3 時間（± S9）又は 20 時間（-S9）レニオリシブに曝露した。レニオリシブ曝露開始から 20 時間後に細胞を採取し、有糸分裂指数（有糸分裂中の細胞の割合）及び構造的又は数的染色体異常を有する細胞数を測定した。

その結果、レニオリシブは、S9 非存在下で 3 + 17 時間及び 20 時間の細胞毒性濃度まで染色体異常誘発がないことが示された。S9 存在下、細胞毒性濃度で 3 + 17 時間試験した場合、構造的染色体異常のわずかな増加（4%、過去の正常範囲 0～3%）が生じた。認められた増加は小さく、比較的高い細胞毒性（325.0 µg/mL で 50%、350.0 µg/mL で 46%）を誘発する濃度に限定され、処

理開始時には沈殿が認められた。このことから、これらの観察結果は生物学的意義が乏しいと考えられた［Thybaud V, 2007］。

2.6.6.4.4 雄性ラットを用いた *in vivo* 2 日間強制経口投与小核試験

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.3.2.1］

雄性ラットにレニオリシブを投与し、骨髄の多染性赤血球（PCE）における小核（MN）誘発能について評価した。

本試験に先立って、雌雄の Wistar Han ラット（2～3 匹/用量/性）にレニオリシブを 400、550、700 及び 1,000 mg/kg/日（投与量 10 mL/kg）の用量で 2 日間反復強制経口投与する用量設定試験を実施した。死亡率は雄で 1,000 mg/kg/日、雌で 550 mg/kg/日以上であった。MTD は雄で 700 mg/kg/日、雌で 400 mg/kg/日と決定された。

用量設定に基づき、本試験は雄動物のみを対象に最大用量 700 mg/kg/日で実施した。各投与群につき 6 匹の雄動物に、溶媒のみ、175、350 及び 700 mg/kg/日のレニオリシブを 2 回（24 時間間隔）経口投与した。陽性対照として、1 群に 20 mg/kg のシクロホスファミドを単回経口投与した。最終投与から 24 時間後、大腿骨から骨髄細胞を採取、調製し、小核を有する多染性赤血球（MNPCE）数を測定した陽性対照では、MNPCE の群平均が、同時に実施した溶媒対照よりも統計的に有意に高値であった。

レニオリシブは、700 mg/kg/日まで投与した雄性 Wistar Han ラットの骨髄の多染性赤血球において小核を誘発しなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウス系統の非トランスジェニック同腹子を用いて、7 日間の忍容性試験及び 4 週間の反復投与によるがん原性予備試験を実施した。トランスジェニック CbyB6F1 Tg（HRAS）2Jic マウスを用いた 26 週間のがん原性試験で、レニオリシブの潜在的な発がん作用を評価した。

2.6.6.5.1 野生型マウスを用いた 7 日間強制経口投与による忍容性試験（非 GLP）

［試験番号[redacted]17-001、資料番号 4.2.3.4.2.1］

トランスジェニックマウスを用いたがん原性試験の準備として、その後のマウスを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験の用量設定に情報を供するため、7 日間反復強制経口投与忍容性試験を実施した。CbyB6F1-Tg（HRAS）2Jic の wt/wt マウス（5 匹/性/群）にレニオリシブ（投与容量 8 mL/kg）を溶媒のみ、60、120 及び 240 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 7 日間強制経口投与した。

一般状態を観察し、体重及び摂餌量を測定した。投与終了時に剖検を行った。血漿中薬物濃度は投与 1 日目の投与 30 分後に全動物で測定した。

いずれの動物においても、死亡率、一般状態、及び体重（増加）への影響は認められなかった。240 mg/kg/日を投与した雄では、平均摂餌量の軽度な減少（10%未満）及び肝臓重量（相対重量）の増加が認められた。統計的に有意でない肝臓重量の増加は、120 mg/kg/日の雌雄でも認められ、用量に関連した影響が示唆された。脾臓重量は全投与群で低下し、レニオリシブの薬理活性の結果である可能性がある。

全てのレニオリシブ投与マウスはレニオリシブに曝露され、240 mg/kg を投与した雌の平均血漿中濃度は 20,180 ng/mL に達した。濃度は、試験した全ての投与量において、雄よりも雌の方が

軽度に高かった。

全体として、240 mg/kg/日までの用量を 7 日間連続で反復強制経口投与した場合、忍容性は良好であった。この試験では MTD が得られなかったため、マウスを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験の高用量は 500 mg/kg/日に増量された。

2.6.6.5.2 野生型マウスを用いた 4 週間の強制経口投与毒性試験

［試験番号 [redacted]1462、資料番号 4.2.3.4.2.2］

本試験は、マウスにおけるレニオリシブの潜在的毒性及び TK プロファイルを評価し、トランスジェニックマウスを用いた 26 週間のがん原性試験の用量を決定する目的で実施した。

CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt マウス（10 匹/群/性）に、溶媒のみ、100、240 又は 500 mg/kg/日のレニオリシブ（投与量 10 mL/kg）を 4 週間反復強制経口投与した。評価項目は死亡率、一般状態、体重、摂餌量、眼科検査、及び臨床病理学的検査であった。全ての動物について剖検を行い、病理解剖学的検査（臓器重量を含む）及び病理組織学的検査を実施した。初回投与後及び投与期間終了時に、TK の目的で、数時点でサテライト動物（対照群では 3 匹/性、レニオリシブ投与群では 18 匹/性/群）から採血を行った。

240 mg/kg/日では、主群の雌 10 例中 2 例が試験期間中に死亡した。1 例の雌は倫理的理由により 8 日目に早期試験終了し、もう 1 例の雌は 25 日目に死亡が確認された。病理組織学的検査は、投与期間終了時（4 週間）に試験終了した同群のマウスで認められた所見と同様であった。死因は不明であった。

500 mg/kg/日では、主群 10 例中 3 例、サテライト群 18 例中 2 例の雄が 4 日目又は 5 日目に死亡が確認された。この群の残りの動物（雄及び雌）は全て、明白な毒性徴候のため 4 日目から 7 日目の間に早期試験終了した。ほぼ全ての動物で、体重減少が死亡前に記録された（初期体重の最大−15%）。早期に試験終了した動物は、ヘマトクリット値及び平均赤血球容積が低く、一般状態の悪化に関連していると考えられ、また、リンパ球数及び網状赤血球数が低く、これはおそらく種々のリンパ系組織での細胞充実性の低下によると考えられる。非腺胃（前胃）部の扁平上皮過形成、潰瘍形成及び/又は混合細胞炎症は、レニオリシブの刺激性の可能性を反映し、500 mg/kg/日の全ての動物で認められた。胃の所見は、動物の早期屠殺に至った死亡率又は罹患率の主な原因と考えられた。早期死亡例で認められた他のレニオリシブ関連の病理組織学的検査所見は、500 mg/kg/日の最終剖検時にも認められた。その他の所見としては、臨床状態の悪化又は全身毒性の結果と考えられる腎臓（皮質尿細管）、肝臓（門脈周囲）及び/又は膵臓の空胞形成、並びに胃の炎症に続発した骨髄での顆粒球系/赤芽球系細胞比の増加が認められた。

レニオリシブの臨床的忍容性は、生存動物では 240 mg/kg/日、全動物では 100 mg/kg/日で良好であった。一般状態は 240 mg/kg/日投与群では数例でひげの喪失のみ認められ、雄 1 例では平衡感覚の喪失を伴っていた。体重増加量は 100 mg/kg/日及び 240 mg/kg/日で軽度に減少し、これは摂餌量の減少と相関していた。

臨床病理学検査パラメータは 100 及び 240 mg/kg/日で用量依存的に影響を受けた。具体的には、白血球数の減少（リンパ球数による）、カリウム濃度及びトリグリセリド濃度の減少（240 mg/kg/日の雌のみ）、総ビリルビン濃度の増加、並びにアルカリホスファターゼ（ALP）活性の増加（雄のみ）が認められた。

100 mg/kg/日及び 240 mg/kg/日では病理解剖学的検査所見は認められなかった。臓器重量の変化は、雄では 100 mg/kg/日以上で、雌では 240 mg/kg/日以上で脾臓重量が減少し、240 mg/kg/日

では雌雄ともに胸腺重量が減少した。

レニオリシブを 100 mg/kg/日又は 240 mg/kg/日投与すると、雌雄（240 mg/kg/日のみ）の肝臓で小葉中心肝細胞の肥大が誘導され、ビリルビン濃度及び ALP の上昇と相関していた。顎下リンパ節及び腸間膜リンパ節での細胞充実性（リンパ球、胚中心）の低下（240 mg/kg/日の雄のみ）、及び脾臓での細胞充実性（リンパ球、動脈周囲リンパ鞘）の増加がいずれの用量でも認められ、これらはレニオリシブの薬理活性と関連していた（表 2.6.6-17）。

表 2.6.6-17 CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスにレニオリシブを 4 週間反復経口投与した主群動物の病理組織所見

Gender		**Male**			**Female**		
Dose (mg/kg/day)		0	100	240	0	100	240
Number of animals		10	10	10	10	10	8
Lymph node, mandibular							
No. examined		9	9	10	10	10	8
Cellularity decreased, lymphoid, germinal center		*2*	*7*	*8*	*4*	*8*	*7*
Cellularity increased, lymphoid, follicle	total	0	2	4	0	5	4
	Minimal	*0*	*1*	*2*	*0*	*2*	*0*
	mild	*0*	*1*	*2*	*0*	*3*	*4*
Lymph node, mesenteric							
No. examined		10	10	10	10	10	8
Cellularity decreased, lymphoid, germinal center	total	0	5	8	1	3	7
	Minimal	*0*	*4*	*6*	*1*	*3*	*3*
	mild	*0*	*1*	*2*	*0*	*0*	*4*
Cellularity increased, lymphoid, follicle	total	0	0	3	0	3	5
	Minimal	*0*	*0*	*3*	*0*	*2*	*3*
	mild	*0*	*0*	*0*	*0*	*1*	*2*
Spleen							
No. examined		10	10	10	10	10	8
Cellularity increased, lymphoid, periarteriolar lymphoid sheath	total	0	10	10	0	9	8
	Minimal	*0*	*9*	*2*	*0*	*3*	*4*
	mild	*0*	*1*	*8*	*0*	*6*	*4*
Liver							
No. examined		10	10	10	10	10	8
Hepatocellular hypertrophy, centrilobular	total	0	2	8	0	0	2
	minimal	*0*	*2*	*4*	*0*	*0*	*2*
	mild	*0*	*0*	*4*	*0*	*0*	*0*

Kg=kilogram; mg=milligram; No.=number.

（試験番号[redacted]1462、資料番号 4.2.3.4.2.2）

TK 解析において、t_{max} は、100 mg/kg/日及び 240 mg/kg/日では投与後 0.25 時間から 0.5 時間までに、500 mg/kg/日では投与後 1 時間から 3 時間の間に到達した。全ての用量において、雄は雌よりもレニオリシブへの曝露量が少なかった。28 日間の反復強制経口投与後、レニオリシブの明らかな蓄積は認めなかった。しかし、投与期間終了時の曝露量は投与 1 日目と比較して軽度に高い傾向があった。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ では、雌雄ともに用量に比例した増加が認められた（表 2.6.6-18）。

表 2.6.6-18 CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic マウスに 4 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK パラメータ（最終投与後）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
100	M	15,100	37,100	1.47
	F	11,300	50,800	1.13
240	M	16,400	65,500	0.91
	F	27,200	119,000	1.65
500	M	25,100[b]	231,000[b]	ND
	F	35,600[b]	198,000[b]	ND

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; mg=milligram; mL=milliliter; ND=not determined; ng=nanogram;.
[a]=Ratio AUC_{0-24h} after last dose at Day 28/ AUC_{0-24h} at Day 1.
[b]=Data obtained on Day 1.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.2.

（試験番号[redacted]1462、資料番号 4.2.3.4.2.2）

マウスに 500 mg/kg/day のレニオリシブを反復強制経口投与した結果、死亡を引き起こし、1 週間後に生存動物の早期試験終了に至った。胃の病理組織学的検査で認められた毒性変化が動物の瀕死の一因であった。240 mg/kg/日を投与した 2 例の雌の死因は不明であった。240 及び 500 mg/kg/日で認められた死亡に基づき、NOAEL は 100 mg/kg/日と判断され、この用量での投与 4 週間後の C_{max} は雄 15,100 及び雌 11,300 ng/mL、AUC_{0-24h} は雄 37,100 及び雌 50,800 ng•h/mL、雌雄の C_{max} 平均値は 13,200 ng/mL、AUC_{0-24h} 平均値は 43,950 ng•h/mL であった。

2.6.6.5.3　トランスジェニックマウスを用いた 26 週間の強制経口投与毒性試験

［試験番号 48943[redacted]/[redacted]2858、資料番号 4.2.3.4.2.3］

トランスジェニック CB6F1-Tg rasH2 ヘミ接合体マウスにレニオリシブを 26 週間反復強制経口投与し、発がん性を評価した。用量レベルは、CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt マウスを用いた前回の 4 週間毒性試験の結果に基づいて選択し（2.6.6.5.2）、発がん性特別プロトコル評価要請［Final execCAC Report IND 124045, 2021］に対する回答として、米国食品医薬品局（FDA）からの勧告に基づいている。雄マウスの高用量は最大耐量（100 及び 240 mg/kg/日群で体重増加量の減少が 10%以上）に基づき、雌マウスの高用量は 4 週間試験における 240 mg/kg/日での致死率に基づいた。低用量及び中用量は、AUC が概ね公比 3 となるように設定した。これらの投与量は、潜在的な毒性/発がん性所見の用量反応関係に関する情報を提供した。レニオリシブ（容量 10 mL/kg）を、10、30 及び 80 mg/kg/日の投与量で 1 日 1 回最低 26 週間強制経口投与した。対照群には、同じ実験条件で溶媒を投与した。レニオリシブの TK 特性を 1 日目及び 177 日目に測定した。陽性対照には、1 日目に N-ニトロソメチル尿素（NMU）を 75 mg/kg 投与した。

一般状態、体重、体重増加量、摂餌量、TK・パラメータ、及び臓器重量を測定し、病理解剖学的及び病理組織学的検査を行った。

レニオリシブ投与に関連した予定外の死亡は認められず、生存率はレニオリシブ投与の影響を受けなかった。触知可能な腫瘤はいずれも腫瘍を示唆するものではなかった。レニオリシブに関連した一般状態の変化は、全ての用量でレニオリシブ投与雄のひげの喪失のみであり、病理組織学的な所見を伴わなかった。摂餌量に影響はなかった。体重増加量は 80 mg/kg/日の雌雄、30 mg/kg/日の雌で軽度に低下し、最終体重の軽微な低下と相関した。病理組織学的検査では、対照群とレニオリシブ投与群の間で、腫瘍所見の発生率や性質に明らかな差は認められなかった。

腫瘍の発生率については、陰性対照群とレニオリシブ投与群との間に統計的有意差は認められなかった。消化管では、いずれの投与群においても腫瘍所見は認められなかった。脾臓では、レニオリシブに関連した非腫瘍性の病理組織学的検査所見として、雄では 10 mg/kg/日以上、雌では 30 mg/kg/日以上で髄外造血が増加し、雌雄ともに 80 mg/kg/日でレニオリシブの薬理作用に関連したリンパ球細胞充実性の低下が認められた。

レニオリシブ投与後 15 分でレニオリシブの血漿中濃度は t_{max} に到り、t_{max} 到達後急速に低下した。レニオリシブの曝露量は雄よりも雌の方が多く、雌対雄の $AUC_{0\text{-}24h}$ 比は 1.4～2.0 であった。雌雄ともに、$AUC_{0\text{-}24h}$ に基づくと曝露量は用量比以上に増加したが、C_{max} に基づくと曝露量は用量比以下であった。1 日目のレニオリシブの血漿中濃度時間プロファイルは、投与期間終了時、177 日目と類似し、血漿中へのレニオリシブの蓄積所見はなかった（表 2.6.6-19）。

表 2.6.6-19 トランスジェニック CB6F1-Tg rasH2 ヘミ接合体マウスに 26 週間反復強制経口投与後のレニオリシブの TK パラメータ（177 日目）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
10	M	1,480	1,460	1.0
	F	1,540	2,810	0.9
30	M	5,260	7,500	1.0
	F	6,130	11,700	1.1
80	M	5,520	28,100	1.6
	F	9,400	40,500	1.3

$AUC_{0\text{–}24h}$=area under the plasma concentration-time curve from time point zero to 24 hours after leniolisib administration. C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; mg=milligram; mL=milliliter; ng=nanogram.
[a]=Ratio $AUC_{0\text{-}24h}$ after last dose at Day 177/ $AUC_{0\text{-}24h}$ at Day 1.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.2.

（試験番号 48943[redacted]/[redacted]2858、資料番号 4.2.3.4.2.3）

この試験では、輸送又は包装の問題により、試験施設が受領した NMU 物質のバイアルに湿気が存在し、その結果、活性の低下が予想される品質不良の化合物となった。しかし、MNU の高い腫瘍誘発活性から一定程度の腫瘍発生が見込まれたため、この MNU を本試験で使用した。残念ながら、トランスジェニックマウスでは NMU による腫瘍誘発は認められなかった。NMU に関連した病理組織学的所見は、ハーダー氏腺、胸腺、腺胃及び非腺胃（前胃）、皮膚のいずれにも認められなかった。NMU を投与した動物のどの臓器にも腫瘍性所見は認められなかった。予想外であるが、NMU はマウスでの使用前に完全に分解していた可能性が高い。しかし、本試験で使用したトランスジェニックマウス系統の NMU による腫瘍誘発感受性は大変よく知られており文献で報告されている［Takaoka M, 2003］。また、本試験の試験施設（CRL Evreux, France）における、CB6F1 Tg rasH2 マウスでの腫瘍性及び非腫瘍性所見の背景データでも腫瘍誘発感受性は示されている。このことは、同じ提供元で繁殖されたトランスジェニック rasH2 マウスの腫瘍誘発感受性によっても確認された。フランスの別の CRL 施設で同時期に行われた試験では陽性対照として、ウレタンが用いられていた［Paranjpe MG, 2021］。さらに、今回の試験において適切な CB6F1-Tg rasH2 マウスが使用されていることは、遺伝子型判定（動物の供給元からの確認証明書が提供された）によって確認され、さらに組織学的検査では、トランスジェニック CB6F1-Tg rasH2 において古くから知られている所見［Paranjpe MG, 2013A］［Paranjpe MG, 2013B］、例えば、全群で高発生率であったミオパシーや、1～4 群のハーダー氏腺、肺及び血管の腫瘍などの背景所見が文献で知られているのと同様の発生率で認められた。これらの理由及び試験群 2～4

（10～80 mg/kg/日の投与）でレニオリシブへの曝露が確認されたことから、本試験の妥当性が保証された。

本試験条件下では、レニオリシブに関連する有害な病理組織所見を認めなかったことから、CB6F1-Tg rasH2 トランスジェニックマウスに 26 週間の強制経口投与した場合、最高用量の 80 mg/kg/日を NOAEL と判断した。この用量では、投与期間終了時の $AUC_{0\text{-}24h}$ は雄で 28,100 ng•h/mL、雌で 40,500 ng•h/mL、C_{max} は雄で 5,520 ng/mL、雌で 9,400 ng/mL であった。CB6F1-Tg rasH2 トランスジェニックマウスへのレニオリシブの 26 週間投与では、発がん性は認めなかった。レニオリシブは脾臓に非腫瘍性の病理組織学的所見を誘発した（10 mg/kg/日以上で髄外造血の増加、80 mg/kg/日で薬効に関連したリンパ系細胞の細胞充実性の低下）。これらの結果より、レニオリシブはトランスジェニック CB6F1-Tg rasH2 マウスにおいて発がん性を示さないと考えられた。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

レニオリシブの胚・胎児発生に対する影響をラット及びウサギを用いて評価した。雌雄の受胎能及び初期胚発生の評価を、幼若ラットを用いた 10 週間反復投与毒性試験で行った。

2.6.6.6.1　受胎能及び初期胚発生に関する試験

幼若ラットを用いた 10 週間反復投与毒性試験において、サブグループの動物で受胎能及び初期胚発生を評価した。結果は 2.6.6.6.3.2 に示す。

2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1　ラットを用いた胚・胎児発生に関する強制経口投与試験

［試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.1］

妊娠 6 日（GD 6）から妊娠 17 日（GD 17）まで、レニオリシブを Wistar Han 系ラットの 3 群（雌 20 匹/群）に反復強制経口投与した。ラットを用いた 13 週間反復投与試験（2.6.6.3.1.4）に基づき、溶媒のみ、10、30 及び 120 mg/kg/日（投与容量 5 mL/kg）の用量を設定した。GD 21 まで飼育した後、試験終了し、子宮内容物を検査した。

一般状態、体重、摂餌量を評価した。全ての母動物を剖検・帝王切開し、全ての組織の肉眼的な異常を記録した。胎児検査は規定どおり行った。TK 用として GD 17 に数時点の血液試料を採取した。

投与に関連した又は毒性学的意義のある一般状態は認められなかった。平均体重増加量はレニオリシブ投与群でわずかに低下し、10 及び 120 mg/kg/日群の母動物では、統計学的に有意であった。全てのレニオリシブ投与群では、投与期間中、対照群と比較して摂餌量がわずかに低値を示し、120 mg/kg/日を投与した母動物においては統計的に有意であった。投与期間終了後、体重増加量は回復したが、平均摂餌量は対照群に比べてわずかに低値であった。

母動物において肉眼所見はなく、全ての雌が妊娠しており、レニオリシブの生殖機能への影響はなかった。

黄体、着床、着床前・着床後喪失、吸収、生存及び死亡胎児数、妊娠子宮重量、雄又は雌の胎児数に影響はなかった。平均胎児体重は、120 mg/kg/日を投与した母動物の胎児でわずかに低値であった。

奇形は対照群の 1 胎児、10 mg/kg/日群の 1 胎児、30 mg/kg/日群の 1 腹 3 胎児、120 mg/kg/日群の 10 腹 26 胎児に認められた。眼球の大きさに関連する奇形、あるいは眼球及び眼窩がない奇形は、120 mg/kg/日の多くの同腹胎児の内の数例の胎児に発生した。120 mg/kg/日群の胎児 1 例には、胸部・大動脈の奇形がいくつか認められたが、投与との関係は不明であった。一般的に見られる後肢足首の回転異常は、30 mg/kg/日群及び 120 mg/kg/日群の胎児以外に対照群の 1 胎児にも認められ、投与に関連していないと考えられた。

t_{max} は 10 mg/kg/日群及び 30 mg/kg/日群では投与後 1 時間、120 mg/kg/日群では投与後 7 時間であった。120 mg/kg 群では、投与後 7 時間から 24 時間の間にそれ以上の測定時点が設定されなかったため、t_{max} が見逃された可能性がある。この群では、$AUC_{0\text{-}24h}$ がわずかに過小評価されている可能性がある。全般的に、1 日 1 回の反復投与後、レニオリシブの曝露量は AUC で、ほぼ用量に比例して増加した（表 2.6.6-20）。

表 2.6.6-20 妊娠 Wistar Han 系ラットにおける反復経口投与したレニオリシブの TK・パラメータ（GD 17）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)
10	F	3,520	12,800
30	F	7,730	65,000
120	F	17,000	248,000

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; mg=milligram; mL=milliliter; ng=nanogram.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.5.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.1）

妊娠ラットにレニオリシブを 10、30 及び 120 mg/kg/日の用量で投与した結果、摂餌量の低下及び体重増加量の減少の母動物毒性が誘発された。これらの影響は生殖機能や帝王切開データのパラメータには影響しなかった。胎児体重には 120 mg/kg/日群でのみ悪影響を認めた。眼球及び眼窩の存在又は大きさに関連する胎児奇形の発生率に、120 mg/kg/日の投与で生物学的に意義があると考えられる影響を認めた。小眼球症は背景データでは 0.0～1.2%（当試験では 5.8%）、無眼球症は 0.0～0.9%（当試験では 3.8%）であり、当該試験施設での同じ動物供給業者の Wistar Han ラットでの眼窩縮小症は 1.5～2.2%（当試験では 8.8%）であった。当試験では、母動物の NOAEL 及び胚・胎児発生に対する無影響量（NOEL）はいずれも 30 mg/kg/日であり、この時の C_{max} は 7,730 ng/mL、MRT_{0-24h} は 65,000 ng·h/mL であった。

2.6.6.6.2.2　ウサギを用いた胚・胎児発生の強制経口投与用量設定試験

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.2］

当試験は、妊娠ウサギに対するレニオリシブの影響を明らかにし、GLP 胚・胎児発生試験［4.2.3.5.2.3］の用量設定のためのデータを得ることを目的とした。

GD7 から GD20 まで妊娠雌ウサギ（6 匹/群）に、レニオリシブを溶媒のみ、30、90 及び 120 mg/kg/日の用量で強制経口投与した。一般状態観察、体重及び摂餌量の測定、病理解剖学的検査を全群で行った。雌は GD29 に試験終了した。全ての病理解剖学的な病変を記録した。卵巣及び子宮を検査し、妊娠状態、妊娠子宮重量、黄体数、生存胎児、子宮内早期死亡、子宮内後期死亡、死亡胎児を記録した。

死亡例やレニオリシブに関連した一般状態の変化はなかった。全てのレニオリシブ投与群で体重増加量がわずかに減少し、これは 120 mg/kg/日群でのみ有害事象と考えられた。体重増加量の低下は摂餌量の減少と関連していた。

黄体数、着床前及び着床後の喪失、性比、同腹児数には影響はなく、最終剖検時の肉眼所見はなかった。

胎児の体重減少が 90 mg/kg/日群及び 120 mg/kg/日群で認められ、これは母動物の毒性に関連していた。90 mg/kg/日を投与した母動物の別腹由来の 2 胎児に奇形又は変異（奇形前肢/前肢の過屈曲及び二分脊椎/頭部の奇形）が認められた。これらの所見は対照群の動物でも認められ、用量反応相関を示さなかったため、背景所見とみなされた。

TK では、t_{max} は投与量及び投与回数に関わらず投与後 0.5 時間から 1.0 時間の間であった。単回投与及び反復投与のいずれにおいても曝露量は用量の増加に伴い増加した。GD7（単回投与）では投与量の増加よりもやや高い曝露が認められ、反復投与後の GD20 では投与量にほぼ比例して曝露量が増加した。反復投与してもレニオシリブの蓄積は認められず、GD7 よりも GD20 で曝

露量が低値である傾向が見られた（表 2.6.6-21）。

表 2.6.6-21 妊娠ウサギにおける反復強制経口投与したレニオリシブの TK・パラメータ（GD20）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
30	F	19,000	26,500	0.68
90	F	31,000	124,000	0.88
120	F	44,500	180,000	0.53

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; mg=milligram; mL=milliliter; ng=nanogram;.
[a]=Ratio AUC_{0-24h} at GD20/AUC_{0-24h} at GD7.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.5.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.2）

妊娠ウサギにレニオリシブを 90 mg/kg/日以上の用量で投与した時、摂餌量の低下、体重減少、胎児体重減少という形で母動物毒性が誘発された。母動物の NOAEL は 30 mg/kg/日であり、この時の C_{max} は 19,000 ng/mL、AUC_{0-24h} は 26,500 ng•h/mL であった。胚・胎児発生に関する NOAEL は 120 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.6.2.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する強制経口投与試験

［資料番号[redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.3］

レニオリシブを、New Zealand White（Hra:(NZW)SPF）ウサギの 1 群 22 匹の雌に溶媒のみ、10、30及び100 mg/kg/日（投与容量5 mL/kg）の用量で、GD7からGD20まで反復強制経口投与した。GD 29 まで飼育した後、試験終了し、子宮内容物を検査した。

一般状態、投与後の観察、体重、摂餌量を記録した。全ての動物で剖検及び帝王切開を行い、病理解剖学的及び病理組織学的な異常を記録した。血液は GD20 の数時点で TK の評価のために採取した。

100 mg/kg/日群では体重増加量が有意に低下し、投与期間中の摂餌量の顕著かつ有意な低下と関連していた。3 例が痩せ（thin）と記録された。その他には毒性学的に関連する臨床所見や投与後の所見はなかった。

剖検時の母動物の肉眼所見、生殖機能、帝王切開のパラメータ（黄体、着床、着床前又は着床後喪失、吸収、生存及び死亡胎児数、妊娠期の子宮重量、雄又は雌の胎児数、胎児体重を含む）に対する投与の影響はなかった。

外表奇形として、30 mg/kg/日群及び 100 mg/kg/日群のそれぞれ 2 胎児に無顎、無舌、小口が認められた。小眼球症は、100 mg/kg/日群で 1 腹の 2 胎児に認められた。さらに、これら 2 例の胎児のうち 1 例は、眼窩が小さい/縮小していた。高用量群では奇形胎児がやや多かったが、特異的な奇形は明確な用量依存性を示さず、投与とは無関係と考えられた。100 mg/kg/日群では、頸動脈/腕頭動脈の共通起始部の内臓変異が統計的に有意に増加し、13 腹の 30 胎児において発生を認めた。舌骨の不完全骨化の骨格変異が 100 mg/kg/日群で統計的に有意に増加し、7 腹の 10 胎児において発生を認めた。30 mg/kg/日群及び 100 mg/kg/日群の両方で、胸椎体の不完全骨化の発生率が高かったが、統計学的に有意であったのは 30 mg/kg/日群のみであった。これらの軽微な所見には明確な用量依存性が認められないこと、この系統のウサギで認められる血管由来（背景データでは 0.0%～17.7%の胎児異常）及び骨化レベル（背景データでは 0.0%～4.9%の胎児異常）

の変動が一般的に大きいこと、及び他の胚・胎児発生への影響が認められなかったことから、これらの所見は生物学的に重要であるとは考えにくい。

t_{max} は 投与量に関係なく投与 0.5 時間後であった。全般的に、反復投与により、AUC は 10 mg/kg/日と 30 mg/kg/日の間で用量にほぼ比例して増加し、30 mg/kg/日と 100 mg/kg/日の間では用量比以上の増加傾向が認められた（表 2.6.6-22）。

表 2.6.6-22 妊娠ウサギにおける反復強制経口投与したレニオリシブの TK・パラメータ（GD 20）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)
10	F	2,820	5,210
30	F	7,720	13,200
100	F	26,400	87,300

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; mg=milligram; mL=milliliter; ng=nanogram;.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.5.

（資料番号[redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.3）

全体として、妊娠ウサギにレニオリシブ 0、10、30 及び 100 mg/kg/日を投与した場合の忍容性は良好であり、投与による母動物反応は、100 mg/kg/日群における摂餌量の減少及び体重増加量の減少のみであり、生殖機能、帝王切開データのパラメータ及び胎児体重には影響しなかった。小眼球症は、100 mg/kg/日の投与で 1 腹の 2 胎児に認められた。この 2 例のうち 1 例では眼窩サイズが小さい/縮小しており、その背景発生率は 0.5%であった。ラット胚・胎児発生試験［4.2.3.5.2.1］において小眼球症及び眼窩サイズの小/縮小が認められ、試験施設の背景データには小眼球症が認められないことから、投与との関連性は否定できない。この試験では、母動物及び胚・胎児発生に関する NOAEL は 30 mg/kg/日と判断され、この時の母動物の C_{max} 及び AUC_{0-24h} は 7,720 ng/mL と 13,200 ng·h/mL であった。

2.6.6.6.3 幼若動物を用いた試験

2.6.6.6.3.1 幼若ラットを用いた 3 週間強制経口投与用量設定試験（非 GLP）

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.1］

幼若ラットを用いた毒性試験の予備試験として、Wistar Han 系幼若ラットを用いて 3 週間反復投与毒性試験を実施した。

レニオリシブを、出生後（PND）7 日から PND28 までの幼若ラット群（9 匹/用量/性）に、40、80、100 及び 120 mg/kg/日（投与容量は 5 mL/kg）の用量で反復強制経口投与した。

全ての動物について、一般状態観察、投与後の観察、体重及び摂餌量の測定（離乳後）、病理解剖学的検査及び臓器重量の測定を行った。TK 解析のため、PND28 の時点で血液サンプルを採取した。

1 日目に 120 mg/kg/日の投与を開始した 1 腹は、雌の出生児が投与後 2 時間以内に死亡し、雄の出生児が翌朝死亡しているのが発見されたため、2 日目に試験終了した。剖検では死亡した 2 例の出生児に所見はなかった。この 1 腹の他の出生児に一般状態所見が認められた。この 1 腹の残りの出生児及び追加の 1 腹を用いて、さらなる群（9 匹/性）を形成し、100 mg/kg/日を投与した。

40、80 又は 100 mg/kg/日群では死亡は認められなかった。

100 mg/kg/日群では、投与開始後 2 日間、投与 2 時間後の活動性の低下が雌雄ともに認められた。レニオリシブに関連すると考えられる口擦りが、15、21 及び 22 日目（PND21、27 及び 28）に雄及び雌で認められた。平均体重増加量は、40 mg/kg/日群と比較して、80 mg/kg/日群及び 100 mg/kg/日群で減少した。これは、これらのグループにおける摂餌量の減少と相関していた。

レニオリシブに関連した肉眼所見はなく、脾臓、胸腺、副腎の臓器重量に変化はなかった。

PND28 における TK では、投与後 0.5 時間から 1.0 時間の間に t_{max} に到達した。反復投与により、AUC は投与量にほぼ比例して増加した。投与群間における AUC に明確な性差は認められなかった（表 2.6.6-23）。

表 2.6.6-23 Wistar Han 系幼若ラットにおける 3 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK・パラメータ（最終投与後）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng•h/mL)
40	M	6,040	28,200
	F	9,840	43,900
80	M	14,100	66,700
	F	18,000	117,000
100	M	17,700	92,000
	F	17,600	146,000

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; mg=milligram; mL=milliliter; ng=nanogram;.
PK Written Summary 2.6.4.3.2.6.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.1）

以上、幼若ラットにレニオリシブを 120 mg/kg/日単回投与したところ、顕著な一般状態所見及び死亡が認められた。PND7 から PND28 までの最大 100 mg/kg/日の投与において、レニオリシブの忍容性は良好であり、死亡や一般状態所見は認められなかった。80 mg/kg/日群及び 100 mg/kg/日群では、40 mg/kg/日群と比較して、用量に関連した体重増加量の低下が認められた。この試験に基づき、その後の 10 週間の幼若ラット試験では 100 mg/kg/日未満の投与量が推奨された。

2.6.6.6.3.2 幼若ラットを用いた 10 週間強制経口投与毒性試験、並びに受胎能及び初期胚発生の評価、及び免疫毒性の評価

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2］

Wistar Han 系幼若ラットを用いた 10 週間投与毒性試験を実施し、動物（10 匹/性/群）にレニオリシブを溶媒のみ、10、30 及び 90 mg/kg/日で PND7 から PND77 まで経口投与した。遅発性毒性及び/又は毒性の可逆性の評価は、7 週間の回復期間中に実施した。別のサブグループの動物（20 匹/性/群）には、雄及び雌の受胎能の評価及び、長期投与による初期胚評価のために、PND77 以降も同じ用量レベルでの投与を継続した。さらに、免疫毒性評価のため、レニオリシブを PND28 又は PND77 まで別々のサブグループ（10 匹/性/群）に投与した。レニオリシブの TK のプロファイルは、PND7 及び PND77 の最終群でも評価した（2.6.4.3.2.6）。

PND7 から PND77 までの幼若ラットにレニオリシブの 10、30 及び 90 mg/kg/日を反復強制経口投与したところ、全般的に忍容性は良好であり、雄における運動量の低下以外に、投与に関連する一般状態所見は認められなかった。死亡（10 mg/kg/日群で雄 1 例/雌 1 例、30 mg/kg/日群で雄 1 例/雌 1 例、90 mg/kg/日群で雄 5 例/雌 4 例）は主に離乳前（PND9～PND15）に発生した。数例の児は共食いされており、病理組織学的検査で死因は特定できなかった。

投与開始時、体重増加量には 90 mg/kg/日群でわずかな影響が認められたが、開眼及び空中立ち直り反射には、いずれの投与量でも影響はなく、離乳までの身体発育には影響がなかった。

30 mg/kg/日以上の群で血液学的パラメータにわずかな変化が認められたが、これは網状赤血球の軽微な増加であり、赤血球パラメータに他の関連した変化はなかった。さらに、リンパ球数のわずかな減少が全てのレニオリシブ投与群で発生した。臨床化学検査では、90 mg/kg/日を投与した動物でコレステロールの軽微な増加が認められた。これらの血液学的所見及び臨床化学的所見の程度及び性質から、有害事象とはみなさなかった。

離乳期から 30 mg/kg/日群及び 90 mg/kg/日群で身体発育のわずかな遅延が認められ、PND21 から PND28 の間に成長（体重増加量）が雄及び雌で減少した（ただし、全てのサブグループで明らかではなかった）。さらに、特に雄では、PND28 から PND56 にかけて体重増加量が減少した。性成熟のマーカー（陰茎亀頭と包皮との分離）も、30 及び 90 mg/kg/日群の雄で 1 日遅れ、体重の低下に関連していると考えられた。長骨の成長は、雄では対照群と同程度であったが、90 mg/kg/日群の雌 19 例中 4 例では、長骨の測定値が対照群より短く、これは体重の減少に関連していると考えられた。30 mg/kg/日又は 90 mg/kg/日を投与した雌では、膣開口は対照群より 1 日早かったが、発情周期の評価や性器の病理学的検査でホルモン障害の徴候は認められなかった。

毒性サブグループでは、30 mg/kg/日又は 90 mg/kg/日を投与した動物で、リンパ組織（脾臓、腸間膜リンパ節、GALT/パイエル板、下顎リンパ節、膝窩リンパ節）に軽微な病理組織学的変化が認められた（表 2.6.6-24）。これらの所見は、回復期には完全に可逆的であった。

表 2.6.6-24 Wistar Han 系幼若ラットに 10 週間反復強制経口投与したレニオリシブの毒性サブグループにおけるリンパ系臓器の病理組織学的所見の発現率

Gender		**Male**				**Female**			
Dose (mg/kg/day)		0	10	30	90	0	10	30	90
Number of animals		10	10	10	8	10	10	10	9
Lymph node, mesenteric									
No. examined		10	10	10	8	10	10	10	9
Decreased germinal centers	total	0	0	5	6	0	2	4	9
	minimal	-	-	*5*	*2*	-	*2*	*3*	*4*
	slight	-	-	-	*4*	-	-	*1*	*5*
Lymph node, mandibular									
No. examined		10	10	10	8	10	10	10	9
Decreased germinal centers	total	0	*0*	*0*	*2*	*0*	*2*	*2*	*4*
	minimal	-	-	-	*2*	-	*1*	*1*	*2*
	slight	-	-	-	-	-	-	-	*2*
Spleen									
No. examined		10	10	10	8	10	10	10	9
Marginal zone cellularity depletion	total	1	2	3	7	1	1	4	8
	minimal	*1*	*2*	*3*	*5*	*1*	*1*	*3*	*3*
	slight	-	-	-	*2*	-	-	-	*5*
	moderate	-	-	-	-	-	-	*1*	-
GALT/Peyer's patch									
No. examined		10	10	10	7	10	10	10	9
Decreased germinal centers	total	0	0	0	2	0	0	1	4
	minimal	-	-	-	*2*	-	-	-	*3*
	slight	-	-	-	-	-	-	*1*	*1*
Popliteal lymph node									
No. examined		10	10	10	7	10	10	10	9
Decreased germinal centers	total	0	0	2	1	0	0	4	4
	minimal	-	-	*2*	*1*	-	-	*2*	*2*
	slight	-	-	-	-	-	-	*2*	*2*

-=absence of findings; GALT= gut-associated lymphoid tissue; kg=kilogram; mg=milligram; No.=number.
（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2）

免疫毒性サブグループでは、脾臓（辺縁帯及び PALS の減少）及び胸腺（萎縮及びリンパ球融解）に病理組織学的所見が認められた。胸腺における所見は、レニオリシブ投与とは関係がないと判断した。

投与量が雄の 30 mg/kg/日以上の群では、精子数の減少を観察したが、これは背景データの範囲内であった。レニオリシブ投与群における異常精子の平均割合は、対照群と同程度であった。病理組織学的には、全ての雄で生殖器の発生は基本的に正常であり、上皮内には生殖細胞の成熟の段階が全て存在していた。毒性サブグループの中には、円形精子細胞数の減少及び/又は精母細胞数の減少を伴う、まれな（多くの場合単一の）精細管を有する雄が見られた（表 2.6.6-25）。これらの変化は、30 mg/kg/日又は 90 mg/kg/日を投与した雄において、最終剖検時に認められた精巣重量及び/又は相対臓器重量の減少に寄与した可能性がある。これらの動物では、影響を受けた精巣内の精細管のステージが異なっていた。これらの 2 つのサブグループの動物における、一貫性のない所見の毒性学的な全体的な意義は不明である。毒性サブグループの雄と比較して、受胎能サブグループの動物では、より重度の病変への進行や、中期から後期精細管における精子（円形及び/又は伸長）の一般的な変化の証拠を認めなかった。精巣上体では、30 mg/kg/日群及び 90 mg/kg/日群で炎症細胞巣の発生率が増加し、臓器重量が減少した。毒性サブグループ及受胎能サブグループの両方の雄で認められた精巣上体炎症細胞病巣の増加は、他の生殖器に関連す

る所見が認められず、免疫調節に関連している可能性がある。精巣の変化（単一精細管における円形精子細胞の欠如）は、7 週間の回復期間を経て完全に回復したが、精巣及び精巣上体重量のわずかな低下は依然継続していた。精巣所見の完全な回復（単一精細管における円形精子細胞の欠如）は、ラット 26 週間反復投与毒性試験における分子局在から得られた結果と一致している。

表 2.6.6-25 Wistar Han 系幼若ラットにおけるレニオリシブ 10 週間反復強制経口投与による精巣及び精巣上体所見の発現率（全て軽微、グレード 1）

Tissue and finding	Dose leniolisib (mg/kg/day)			
	0 (control)	10	30	90
	Number of affected animals/number of examined animals			
Toxicity subgroups				
Testis: decreased round spermatids	0/10	0/10	0/10	2/8
Testis: decreased spermatocytes	0/10	0/10	0/10	1/8
Epididymis: inflammatory cell foci	1/10	2/10	3/10	7/8
Fertility subgroups				
Testis: decreased round spermatids	2/20	1/20	0/20	9/19
Testis: decreased spermatocytes	3/20	4/20	2/20	8/19
Epididymis: inflammatory cell foci	2/20	6/20	10/20	13/19

kg=kilogram; mg=milligram.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2）

受胎能のサブグループでは、交配及び受胎能の指標は過去の対照範囲内であった。10 mg/kg/日群の雌 2 例は妊娠していなかった。しかし、30 mg/kg/日群では全ての雄と雌が交尾し、雌は妊娠した。90 mg/kg/日群で受胎率がわずかに低下したのは、偶発的なものと考えられた。黄体数の平均値にも、雌 1 例あたりの着床数にも影響はなかった。全体として、PND7 からレニオリシブを投与した動物の交配及び受胎率には影響がなかった。

投与に関連して、循環 B 細胞、抗 KLH 抗体反応、IgG 及び IgM の血清レベルの減少が認められた。この影響はレニオリシブの薬理学的活性に関連していると考えられ、7 週間の回復期間中に可逆的であることが示された。幼若毒性サブグループの動物で調査したリンパ組織では、全ての用量レベルで胚中心や辺縁帯のような B 細胞に富む領域が全体的に減少していたが、特に 90 mg/kg/日を投与した動物で顕著であり、これは PND28 免疫毒性サブグループの動物で認められた所見と一致していた。

TK 解析によると、t_{max} は投与群に関係なく、PND7 では投与後 0.5 時間から 1 時間、PND77 では投与後 0.5 時間であった。平均濃度の変動（%CV）は、投与量に関係なく、低～中程度と考えられた。レニオリシブの単回及び反復投与後、曝露量は雌雄ともに PND7 で用量依存的に増加し、PND77 では AUC の点で用量比をわずかに上回った。PND7 では、AUC に換算した曝露量は PND77 の曝露量と比較して 2.5 倍から 8.3 倍高かった（表 2.6.6-26）。一般に、PND77 の投与群では、雄ラットに比べて雌ラットの AUC の曝露量が高くなる明らかな傾向は認められなかった。

表 2.6.6-26 Wistar Han 系幼若ラットにおける 10 週間反復強制経口投与したレニオリシブの TK・パラメータ（最終投与後）

Dose (mg/kg/day)	Gender (M/F)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	Accumulation ratio[a]
10	M	2,330	5,270	0.12
	F	4,030	8,470	0.19
30	M	6,010	21,600	0.17
	F	12,000	40,200	0.31
90	M	12,100	90,900	0.25
	F	24,100	143,000	0.40

AUC=area under curve; C_{max}=maximum plasma concentration; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; mg=milligram; mL=milliliter; ng=nanogram; PND=posdt-natal day.
[a]=Ratio AUC_{0-24h} after last dose at PND77/AUC_{0-24h} mean of males and females at PND7 (Day 1).
PK Written Summary 2.6.4.3.2.6.

（試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2）

幼若ラットにレニオリシブを 10、30 及び 90 mg/kg/日の用量で反復強制経口投与した結果、全般的に良好な忍容性を示した。90 mg/kg/日群では、離乳期までの死亡率がわずかに上昇した。90 mg/kg/日群では、雄の体重増加量がやや少なく、その結果、陰茎亀頭と包皮との分離の身体的発達が遅れ、雌では膣口が早く開き、膣開口時の体重が少なかった。予想される薬理作用と一致する所見として、循環 B 細胞、抗 KLH 抗体反応、血清 IgG 及び IgM レベルの低下、リンパ系組織における細胞充実性の低下が挙げられたが、いずれの投与量においても可逆的であり、有害な作用とは考えられなかった。性成熟のわずかな遅れ、精子数の減少、精巣重量の減少、精細管細胞充実性の変化、精巣上体の軽微な炎症性変化は、30 及び 90 mg/kg/日群では、7 週間の回復期間後にも認められた。発情周期、交配及び受胎能の指標、妊娠率に投与の影響は認められなかった。NOAEL は、雄で 10 mg/kg/日（対応する C_{max} は 2,330 ng/mL、AUC_{0-24h} は 5,270 ng•h/mL PND77）、雌で 30 mg/kg/日（対応する C_{max} は 12,000 ng/mL、AUC_{0-24h} は 40,200 ng•h/mL PND77）であった。

2.6.6.6.4　ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験

［試験番号[redacted]2830、資料番号 4.2.3.5.3.1］

この出生前及び出生後の発生（PPND）試験は、Wistar Hannover（Crl:WI［Han］）系ラットを用いて、着床から授乳、離乳までの雌ラットへのレニオリシブの曝露による、潜在的な有害作用と、次世代の発生に対する影響を検出する目的で実施した。観察は、F1 世代の出生児が性的に成熟するまで継続した。

Wistar Hannover (Crl:WI［Han］)系の交配済み雌ラット（22 匹/群）に、レニオリシブ（10、30 及び 90 mg/kg/日）又は溶媒を 1 日 1 回、GD7 から 1 日 1 回、分娩したラットについては分娩後 20 日（PP20）まで、分娩しなかったラット（1514 番、2504 番、2521 番、3510 番、3511 番）は GD 23/25 まで強制経口投与した。投与容量は 5 mL/kg であった。F0 世代の雌は、生存率、一般状態、体重（増加量）、摂餌量、分娩、授乳、行動をモニターした。自然分娩させ、授乳日（LD）10 に乳汁サンプルを採取し、LD 21 の離乳までモニターした。すなわち、生存率、一般状態、体重、摂餌量、離乳前の発育指標、性成熟、発情周期の評価及び交尾、行動の変化、肉眼所見を評価した。F1 世代の成熟ラットを同居させ、生殖機能及び F2 世代を作る能力を評価した。妊娠した F1 世代のラットは GD 13 に試験終了し、卵巣及び子宮の検査を行った。

- F0 世代

30 mg/kg/日の雌 1 例は分娩困難のため、GD 23 に試験終了した。

妊娠期間中、母動物の平均体重増加量は 90 mg/kg/日で GD 7～10 の間減少した。GD 7～10（90 mg/kg/日群）及び GD 7～18（30 mg/kg/日以上の群）の間、摂餌量は減少した。いずれも有害所見とは判断しなかった。

授乳期間中、母動物の平均体重増加量は 10 mg/kg/日以上の群で減少し（LD 1～21 の間）、母動物の平均摂餌量は 90 mg/kg/日で減少した（LD 7～10 及び LD 10～14 の間）。これらの影響はいずれも一過性のものであり、体重への影響もないことから、有害所見ではないと考えられた。90 mg/kg/日群では、8 例の雌が LD 3～18 の間に 1～5 回、一過性の軽度から中等度の流涎を示し、有害性は認められなかった。

- F1 世代

離乳前の期間中、90 mg/kg/日群で哺育率（出生児のうち、21 日間生存した児の割合）が対照群に比べて 91%低下した。死因は特定できなかったが、有害所見と考えられた。出生児の平均体重は、90 mg/kg/日群で PP 1～21 に 7～12%有意に減少し、有害所見と考えられた。レニオリシブは、F0 母動物ラットの全ての乳汁サンプルから、用量依存的に検出された（10 mg/kg で 9,077 ± 995 ng/mL、90 mg/kg で 2,2267 ± 6,093 ng/mL）（表 2.6.6-27）。

表 2.6.6-27 授乳 10 日（投与 2 時間後）の F0 雌ラットの乳汁サンプル中のレニオリシブの濃度値

Test Group	Dose (mg/kg/day)		Concentration[a]
1	0	Mean±SD	<3.00±0
2	10	Mean±SD	9,077±995
		Dose normalized mean	908
3	30	Mean±SD	12,600±2,095
		Dose normalized mean	420
4	90	Mean±SD	22,267±6,093
		Dose normalized mean	247

kg=kilogram; mg=milligram; SD=standard deviation.
a: Day 10 of lactation

（試験番号 [redacted]2830、資料番号 4.2.3.5.3.1）

F1 雄では、それぞれの計測時において、有害所見ではない平均体重の減少が認められた（対照群の 6%以内）。交配前の F1 雌では、30 mg/kg/日群及び 90 mg/kg/日群の PP36 から PP92 の各計測時において平均体重の減少が認められた（30 mg/kg/日群では対照群の 92%～95%、90 mg/kg/日群では 90%～93%）。また、交配前の F1 雌では、PP71 及び PP85 で 10 mg/kg/日の平均体重が統計学的有意に減少した（それぞれ対照群の 95%及び 94%）。全体として 10、30 及び 90 mg/kg/日群における平均体重増加量は、離乳後 22～113 日の F1 雄において、それぞれ対照群の 101%、97%、94%であった。さらに、離乳後 36～92 日の平均体重増加量は、交配前の F1 雌で、それぞれ対照群の 91%、88%、88%であり、30 mg/kg/日以上の群で統計学的に有意な減少を示した。交配前の F1 雌では、平均体重増加量の減少は、どの用量においても関連する毒性変化が認められなかったため、有害とはみなされなかった。妊娠中の F1 雌では、GD 0～GD 13 の期間において、10、30 及び 90 mg/kg/日投与群の母動物の平均体重増加量は、それぞれ対照群の 85%、93%、85%であった（統計学的有意差なし）。平均体重増加量の減少は、以下の理由で有害とはみなされなか

った：1) 平均体重に対応する悪影響はなかった、2) 減少が用量依存的に起こらなかった、及び/又は 3) 減少がレニオリシブによるものではない着床及び生存胚数の減少に付随して生じたものであった。

90 mg/kg/日群の平均摂餌量は、F1 雄では発情前/離乳後の PP29～PP36、PP43～PP50 の期間の測定値で減少した（それぞれ対照群の 90%及び 88%）。また、雌では PP29～PP36、PP57～PP85 の期間の平均摂餌量が少なかった（対照群の 68%～91%）。妊娠中の F1 雌では、妊娠期間を通じて母動物の平均摂餌量は 90 mg/kg/日群において対照群の 84%～95%であった。

レニオリシブを妊娠中の Wistar Hannover (Crl:WI［Han］)系ラットに、10、30 及び 90 mg/kg/日の用量で、GD 7 から LD 20 まで 1 日 1 回強制経口投与した。その結果、妊娠期間中のレニオリシブに関連した母動物への影響として、母動物の平均体重増加率（90 mg/kg/日群）及び摂餌量（30 mg/kg/日以上の群）の低下があった。授乳期間中、レニオリシブに関連した母動物への影響として、一般状態所見（一過性の流涎；90 mg/kg/日群）、母動物の平均体重増加率の低下（10 mg/kg/日以上の群）、及び母動物の平均摂餌量の低下（90 mg/kg/日群）があった。これらの結果から、母動物の NOAEL は 90 mg/kg/日であった。レニオリシブは、F0 母動物ラットの全ての乳汁サンプルから用量依存的に検出された。離乳前の哺育率は、90 mg/kg/日群で統計的に有意に低下し（対照群の 91%）、有害と判定された。また、F1 雌雄において、出生児の体重減少（90 mg/kg/日群）が認められ、成長への影響は離乳以降も継続したが、離乳以降の減少にはばらつきがあり、有害とは考えられなかった。出生児の生存率及び体重への影響に基づき、離乳前の発生における NOAEL は 30 mg/kg/日、離乳後の NOAEL は 90 mg/kg/日であった。

2.6.6.7　局所刺激性試験

2.6.6.7.1　雄ウサギを用いた点眼による 1 日間局所眼刺激試験（非 GLP）

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.6.1］

この試験は、雄ウサギにレニオリシブを 1 日（6 回）点眼投与し、急性眼曝露に対する *in vivo* 忍容性を評価する目的で実施した。

レニオリシブの懸濁液は、溶媒中の眼科用懸濁液として、0.5%、2%、又は 5%の濃度でスポイトを用いて Dutch Belted ウサギの雄（3 匹/群）の右眼に投与した。容量は約 30 µL/滴（約 60 µL/回）であった。各動物に 2 滴/眼/投与し、1 時間間隔で合計 6 回投与した。

一般状態観察、体重測定、眼科検査、及び刺激性スコアリングを全群で実施した。試験前、試験 1 日目（初回投与から約 2 分後、約 15 分後、約 30 分後、その後の投与から約 2 分後）及び試験 2 日目（最終投与から約 24 時間後）に、動物の両眼を病理解剖学的に検査し、刺激性スコアスケールを用いて評定した。眼科検査はスリットランプ生体顕微鏡を用いて実施し、瞳孔拡張させていない両眼の付属器及び前眼部について、試験前及び第 1 日目の最終（6 回目）投与後約 1 時間から 2 時間後、及び最終投与後 24 時間後のスリットランプ検査において、適宜、修正 Hackett McDonald Scoring System を用いて評価した。2 日目（最終投与から約 24 時間後）のスリットランプ検査では、角膜フルオレセイン染色を行った。

死亡例、一般状態、体重の変化はなかった。一過性の眼脂が認められたが、これはレニオリシブが眼から排出される二次的な影響であり、レニオリシブの直接的な影響とは考えられない。2%の濃度で 1 例、5%の濃度で 2 例に軽微かつ一過性の結膜充血が認められたが、最終投与後 24 時間までに消失した。24 時間後の検査におけるフルオレセイン染色の結果は全て陰性であった。

全体として、ウサギへのレニオリシブの眼局所投与は良好な忍容性を示した。2%及び 5%のレニオリシブで結膜充血が認められた以外は、本試験では眼刺激やスリットランプ検査所見は認められなかった。

2.6.6.8　その他の毒性試験

レニオリシブ（メタノール中）の UV スペクトルは、波長 290 nm に吸収を示し、波長 330 nm に二次吸収極大を示した。これらの波長におけるモル吸光係数は、それぞれ 2,261 及び 2,042 L mol^{-1} cm^{-1} であった。これは［ICH S10］で示されている閾値（1,000 L mol^{-1} cm^{-1}）を超えているため、光毒性の可能性を評価するため、フォローアップ *in vitro* 3T3 ニュートラルレッド取り込み（NRU）アッセイ（非 GLP 及び GLP）を実施した。

PI3K 阻害剤は、PI3Kα依存性インスリン経路の（オフターゲット）阻害により高血糖を引き起こす可能性がある。レニオリシブがインスリン受容体の機能及び糖代謝調節の変化に及ぼす可能性のある影響を調べるため、マウスを用いた *in vivo* 試験を実施した。それらの結果は 2.6.2 薬理試験の概要文の副次的薬理試験の項［2.6.2.3.7］［2.6.3.3］［4.2.1.2-1］に示した。

ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験［2.6.6.3.1.2］では、雌雄ともに濾胞細胞の肥大及び過形成の用量依存的増加を示した。これらの所見のメカニズムを調べるため、ラット甲状腺細胞株 FRTL-5 を用いた *in vitro* 系を用いた。

2.6.6.8.1　光毒性試験：*in vitro* Balb/c 3T3 光毒性プロファイリング（非 GLP）

［試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.7.7.1］

マウス Balb/c 3T3 線維芽細胞を予備的非 GLP 試験で 1,000 µM までの濃度でレニオリシブに曝

露した。陽性対照としてクロルプロマジンを用いた。レニオリシブに曝露した細胞を、人工太陽光（1.7 ± 0.1 mW/cm^2 UVA）に 50 分間照射するか、暗所に 50 分間静置した。洗浄及び 24 時間の回復後、細胞培養の生存率を NRU で評価した。照射下、非照射下での細胞毒性の EC_{50} 値を比較し、光刺激係数（PIF）を決定した。

500 µM 超（pH 6.8）では、レニオリシブの沈殿が認められた。算出された PIF は 5.3 であり、［ICH S10］による陽性の基準値（PIF>5）をわずかに超えた。

2.6.6.8.2 光毒性試験：*in vitro* での Balb/c 3T3 ニュートラルレッド取り込み確定アッセイ

［試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.7.7.2］

マウス Balb/c 3T3 線維芽細胞を、1,000 µg/mL までの濃度で、37ºC で 1 時間レニオリシブに曝露した。陽性対照としてクロルプロマジンを用いた。レニオリシブに曝露した細胞を、照射（5 J/cm^2、UVA）又は暗所に静置した。洗浄及び 24 時間の回復後、細胞培養の生存率を Neutral Red Uptake で評価した。照射の有無で得られた IC_{50} を比較し、PIF を決定した。

用量設定試験では、Balb/c 3T3 細胞培養液をレニオリシブで処理した結果、溶解度限界の 100 µg/mL までは、非照射下でも照射下でも細胞生存率の低下は軽微であった。この最高濃度での細胞生存率は、照射の有無にかかわらず 50%超であったため、IC_{50} 及び PIF は算出できなかった。この試験における PIF は、正式には 1 とした。

主試験では、最大 400 µg/ml のレニオリシブ濃度を用いた。この濃度でレニオリシブの沈殿が生じたが、照射後に沈殿が生じる IC_{50} 226 µg/mL が決定された。照射なしでの IC_{50} は決定できなかった。光照射下において 100 µg/mL（溶解限界）まで細胞毒性がないことから、［ICH S10］ガイダンスでの記載に従うと本試験においてレニオリシブは光毒性の可能性が無いと判断された。また、非照射時の最高濃度である 400 µg/mL と照射下での IC_{50}（226 µg/mL）を用いると理論的な PIF は 1.8 と算出されるが、この値（PIF<2）からもレニオリシブには光毒性がないと判断される。

2.6.6.8.3 その他の試験

2.6.6.8.3.1 メカニズム研究：ラット FRTL-5 細胞の *in vitro* モデルを用いた甲状腺機能障害の検討（非 GLP）

［試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.7.3.1］

レニオリシブを FRTL-5 細胞に曝露し、細胞生存率及びヨウ化ナトリウム共輸送体（NIS）の遺伝子発現並びに活性に対する影響を評価した。ラット甲状腺及び FRTL-5 細胞における PI3K アイソフォームの発現を特徴付ける試験も行った。さらに、未処置のラット及びヒト甲状腺由来の甲状腺ペルオキシダーゼ（TPO）の結合及び阻害を検討した。

高濃度（100 µM）で、レニオリシブは FRTL-5 細胞において NIS 遺伝子の発現を有意にアップレギュレートし、その活性を中程度に上昇させた。TPO 活性は、ラット又はヒト TPO 調製物では影響を受けなかった。PI3Kδ 及び PI3Kγ の発現は、ラット甲状腺では低レベルで検出されたが、FRTL-5 細胞では認められなかった。対照的に、PI3Kα 及び PI3Kβ は、FRTL-5 細胞及びラット甲状腺の両方で容易に検出可能であった。レニオリシブは、甲状腺ミクロソーム、精製ラット又はヒト酵素の TPO 活性を阻害しなかった。

全体として、これらの結果は、レニオリシブが NIS の発現及び活性をアップレギュレートする

ことにより甲状腺細胞の機能を変化させ、それによってヨウ素の取り込みを増加させる理論的リスクを示唆している。

2.6.6.8.3.2 不純物及び分解物の評価

2.6.6.8.3.2.1 潜在的な遺伝毒性不純物及び分解物の評価（非 GLP）

［試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.7.6.1］
［試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.7.6.2］
［試験番号 [redacted]7742、資料番号 4.2.3.7.6.3］
［試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.7.6.4］
［試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.7.6.5］

既知の原薬不純物及び合成中間体は全て、Derek Nexus（v.4.0.5、V4.1.0 又は v.5.0.2）、Case Ultra（v.1.5.0.1、v.1.5.2.0 又は v.1.6.0.3）、及び Sarah Nexus（v.1.1.2、v1.2.0 又は v.2.0.1）を用い、ICH M7 の勧告に従って定量的構造活性相関（QSAR）解析により変異原性の可能性を *in silico* で評価した。

レニオリシブ前駆体 A1 及び A9 の合成過程で、中間体である 1,3-ジブロモ-5,5 ジメチルヒダントイン（CAS 番号 77-48-5）は Ames 試験が陽性であり、変異原性があることが知られている［4.2.3.7.6.1］［4.2.3.7.6.3］。

合成不純物 tBuMePhos［2-（ジ-t-ブチルホスフィノ）-2'-メチルビフェニル］については、Derek 及び Sarah を使用しても構造的な懸念は確認されなかった。しかし、Case Ultra を用いて陽性予測が得られたため［4.2.3.7.6.2］［4.2.3.7.6.3］、*in vitro* 細菌復帰変異（Ames）試験を実施した。また、別の中間体である塩化プロピオニルについても Ames 試験を実施した。これらの試験結果を以下に記す。

塩化プロピオニル［4.2.3.7.6.4］及び tBuMePhos［4.2.3.7.6.5］を、外因性代謝活性化系（Aroclor 1254 誘導ラット肝臓 S9 分画）の存在下又は非存在下で、*Salmonella typhimurium* の 5 株（TA1535、TA98、TA97a、TA100 及び TA102）で試験した。標準的なプレート組込みアッセイを実施した。使用した試験条件下で、標準的な変異原性基準を適用した結果、塩化プロピオニル及び tBuMePhos は変異原性を示さなかったため、クラス 5（非変異原性）の不純物とみなされる。

2.6.6.8.3.2.2 ニトロソアミン不純物の評価

製造過程のさまざまな化学的ステップを考慮したリスクベースのアプローチで、ニトロソアミン不純物の潜在性を評価した。その結果、ニトロソアミン不純物は原薬中に検出されなかったが、N-ニトロソジエチルアミン（NDEA）についてのみ 10 ppb 未満で検出され、これは許容一日摂取量に基づく許容限界の 10%未満であった。原薬中におけるニトロソアミン不純物を適切に管理するための計画を［3.2.S.3.2］に記載した。

ニトロソアミン原薬関連不純物（NDSRI）について、賦形剤中の亜硝酸塩と原薬との相互作用の可能性を評価した。その結果、レニオリシブの製剤にニトロソアミン不純物が存在するリスクは無視できると考えられた。詳細を［3.2.P.5.5］に記載した。

2.6.6.9 考察及び結論

レニオリシブの安全性を、マウス、（幼若及び成体）ラット、ウサギ、及びカニクイザルを用いて、単回投与毒性試験、最長 9 カ月の反復投与毒性試験、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性、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、生殖発生毒性、局所（眼）刺激性、光毒性、並びにメカニズム試験で評価した。また、安全性薬理試験では心血管系、呼吸器系、及び中枢神経系などの生体機能に対するレニオリシブの急性作用を評価した。

レニオリシブは、*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験において変異原性及び染色体異常誘発性を示さなかった。

CByB6F1-Tg(HRAS)2Ji マウスを用いた 4 週間の予備的がん原性試験において、レニオリシブを反復強制経口投与したところ、500 mg/kg/日では 1 週間後に死亡及び状態悪化による早期試験終了が認められ、240 mg/kg/日では雌 2 例が死亡した。その結果、NOAEL は 100 mg/kg/日と判断された。トランスジェニック CB6F1-Tg rasH2 hemizygous マウスを用いた 26 週間のがん原性試験における用量設定は予備試験の結果を基礎とし、FDA のがん評価委員会［Final execCAC Report IND124045, 2021］の勧告に従って行った。選択された高用量（80 mg/kg/日）は、雄マウスの MTD（100 mg/kg/日以上で体重増加量が 10%以上減少）及び雌マウスの 240 mg/kg/日で認められた致死率に基づいている。低用量及び中用量（それぞれ 10 mg/kg/日及び 30 mg/kg/日）は、AUC の公比がおよそ 3 となるよう設定した。トランスジェニック CB6F1-Tg rasH2 ヘミ接合体マウスを用いた 26 週間のがん原性試験において、レニオリシブは脾臓に非有害性の非腫瘍性の病理組織学的検査所見（10 mg/kg/日以上では髄外造血の増加、80 mg/kg/日での薬理作用に関連したリンパ球細胞充実性の低下）のみを誘発した。本試験の最高用量（80 mg/kg/日）が NOAEL として判断され、投与期間終了時の $AUC_{0\text{-}24h,tot}$ は雄で 28,100 ng·h/mL、雌で 40,500 ng·h/mL であった。この曝露量は、ヒトの推奨用量である 1 日 2 回 70 mg 投与の定常状態 $AUC_{0\text{-}24h,u}$ に基づくヒト曝露量に対して、それぞれ 1.6 倍及び 2.2 倍であった。これらの結果より、レニオリシブはトランスジェニック CB6F1-Tg-rasH2 マウスにおいて非発がん性であると考えられた。

ウサギへのレニオリシブ眼局所投与は、2%及び 5%の濃度での軽微かつ一過性の結膜充血を除き、良好な忍容性を示した。

予備的な非 GLP 光毒性プロファイリング試験において、レニオリシブの沈殿は 500 μM 以上（pH 6.8）で認められ、PIF は 5.3 であった。5～25 の PIF は、［ICH S10］によれば陽性とみなされる。予備試験では陽性であったものの、本試験である GLP 光毒性アッセイでは、PIF は 1.8 と判断され、レニオリシブは光毒性陰性であることが示された。これらの結果より、レニオリシブは光毒性を示さないと考えられた。

Wistar Han ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験の標的臓器及び器官系は、レニオリシブの免疫調節作用に関連する造血・造リンパ系、心血管系（QT 作用）、消化管、及び雄性生殖器（ラットのみ）であった。これらの影響については、以下で詳しく説明する。その他の臓器及び組織［心臓、肝臓、腎臓、甲状腺（ラット特異的、下記参照）、副腎、乳腺、雌性生殖器系など］への影響は、MTD を超える用量で認められるか、二次的な影響と考えられた。

PI3Kδ は B 細胞の活性化、分化、及び免疫グロブリンの分泌に必要であり、また T 細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、好塩基球、肥満細胞、及び好中球の様々な機能にも必要である［Vanhaesebroeck B, 2001］。レニオリシブは、酵素及び細胞アッセイにおいて示されたように、強力かつ選択的な PI3Kδ の低分子阻害剤である。*In vitro* の薬理試験において、レニオリシブは自然免疫系と獲得免疫系の様々な細胞の活性化及び機能を阻害することが示され、B 細胞に対して

顕著な効力を示した。レニオリシブを用いた *in vivo* 薬理試験で、ラットとサルにおいて B 細胞の活性化を阻害することが示された。このため、ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験では、免疫機能が低下することにより、日和見感染やリンパ組織などの病理組織学的所見が生じることが予測された。

ラットでは、レニオリシブは最大 120 mg/kg/日の 26 週間投与で一般的に良好な忍容性を示したが、この用量の雌は皮膚病変及びそれに伴う状態悪化のため早期に試験終了した。ラット及び/又はカニクイザルでは、腸間膜リンパ節及び顎下リンパ節、GALT/パイエル板、胸腺、脾臓、並びに胸骨骨髄などのリンパ系組織で、投与に関連した病理組織学的所見が認められた。これらの所見はレニオリシブに対する薬理学的反応と考えられ、2014 年に FDA によって承認された別の PI3Kδ 阻害薬であるイデラリシブ（ザイデリグ）でも認められている［Zydelig FDA Drug Approval Package, 2014］。

ラット及びサルでは、重度の下痢及び消化管における炎症作用が認められ、主に高用量のレニオリシブを投与した動物で死亡及び瀕死状態に至った。カニクイザルを用いた 39 週間の毒性試験では、低用量群及び中用量群（20 mg/kg/日及び 40 mg/kg/日）で死亡/瀕死状態が認められた。これらの動物では体重減少及び脱水が認められ、病理組織学的に消化管の炎症作用が死因であることが明らかになった。細菌スワブ及び電子顕微鏡検査により、複数の腸内細菌病原体による感染を確認した。対照動物を含む全投与群の追加動物も同様の体重減少の徴候を示し、その後抗生物質による治療で回復したことも併せて細菌感染が示唆される。全体として、これらの感染症の発生率及び臨床的結果は、レニオリシブ投与群でより大きかった。これらの感染症による死亡は、レニオリシブ投与に直接起因してはいないため、NOAEL の判断では考慮しなかった。NOAEL（20 mg/kg/日）では、雌雄の血漿中曝露量（$AUC_{0\text{-}24h,u}$）は、治療用量におけるヒトの曝露量と同程度であった（表 2.6.6-28）。カニクイザルにおける免疫調節及び二次的日和見感染は、炎症性疾患を対象に臨床開発中であった別の PI3Kδ 阻害剤である AMG2519493 でも報告されている［Werner J, 2020］。

日和見感染症は皮膚でも認められた。Wistar Han ラットを用いた 26 週間の試験において、高用量（120 mg/kg/日）の雌は皮膚潰瘍により早期に投与が中止された。肉眼的な皮膚の炎症及び潰瘍形成は、病理組織学的には特に背部皮膚の真皮/表皮の亜急性炎症や細菌コロニー（*Staphylococcus aureus*）の存在と一致しており、レニオリシブ免疫調節活性に起因する感染性の病態であることが示唆された。40 mg/kg/日を投与した雌 1 例も、皮膚病変のため殺処分された。40 mg/kg/日投与時の雌の血漿中曝露量は、$AUC_{0\text{-}24h,u}$[1]に基づくと、治療用量におけるヒトの曝露量より 3.1 倍高く、一方、本試験の NOAEL（15 mg/kg/日）では、ラットの曝露量（雌雄）はヒトの曝露量とほぼ等しい（表 2.6.6-28）。ラットを用いた 13 週間の試験では、重度の免疫抑制が認められ、90/120 mg/kg/日で TDAR が有害と考えられるレベルまで低下したが、皮膚病変は認められなかった。2014 年に FDA によって承認された別の PI3Kδ 阻害薬であるイデラリシブ（ザイデリグ）においても、ラットを用いた 4 週間及び 13 週間の試験で、被毛粗造、皮膚の痂皮、紅斑、及び腫脹を引き起こし、26 週の試験では皮膚に単核球浸潤を起こすことが知られている。ただし、日和見感染症については特に記載されていない［Zydelig FDA Drug Approval Package, 2014］。

[1] 40 mg/kg/day において、ラットの血漿中非結合形分率は 8.2%であり［4.2.2.2-4］、表 2.6.6-9 より算出した雌ラットの $AUC_{0\text{-}24h,ss}$ は 6,855.2 ng·h/mL であった。

In vitro の安全性薬理試験において、レニオリシブは 11.9 μM（5.4 μg/mL）の IC_{50} で hERG カリウムチャネルを阻害した。この阻害値は、レニオリシブを 140 mg（70 mg BID）の用量でヒトに投与した場合の定常状態における $C_{max,u}$[2] より 26 倍高かった。hERG の阻害は、心室再分極を遅延させ、TdP（トルサード・ド・ポアント）を引き起こす危険性がある。一般に、TdP 誘発作用を有する薬剤と誘発しない薬剤を区別するのに、hERG の IC_{50} と治療用量での非結合形血漿中濃度間のマージンとして 30 倍が使われる［Redfern WS, 2003］［Leishman D, 2020］。これを考慮すると、レニオリシブの hERG に対する IC_{50} は TdP を生じさせるリスクがわずかにあり、サルで認められたレニオリシブによる QT 延長と関連している可能性がある。カニクイザルを用いた *in vivo* 心血管系安全性薬理試験（テレメトリー試験）では、150 mg/kg のカニクイザルへの単回強制経口投与後、約4時間から14時間に QT_c 間隔の一過性の延長を認めた［4.2.1.3-3］［4.2.1.3-4］。ベースライン調整した溶媒対照と比較した平均増加時間は 32 ミリ秒であった。本試験では TK は実施しなかったが、単回投与 TK のデータが［4.2.3.2.6］の単回投与部分から得られている（表 2.6.6-10）。同試験によると、雄性サルの 150 mg/kg/日での $C_{max,u}$ 及び $AUC_{0\text{-}24h,ss,u}$[3] に基づく曝露量は、それぞれ治療用量におけるヒト定常状態曝露量の約 9 倍及び 6 倍である。レニオリシブの単回投与後に認められた QT の影響に加え、40 mg/kg/日を 39 週間投与したサルでは、QT_c の延長傾向が明らかであった。この用量では、複合性血漿中曝露量（$AUC_{0\text{-}24h,u}$）は、治療用量におけるヒト定常状態曝露量[4] の 2.1 倍であった。心拍数、PR、RR、QRS 間隔、及び体温への影響は認められなかった。これらのデータから、レニオリシブは臨床的に意味のある QT 間隔の延長を引き起こす可能性が示唆された。レニオリシブの臨床試験で得られたヒト心電図データの評価では、治療用臨床用量である 70 mg BID において、QT 延長のリスクは示されなかった。この試験結果の要約は［2.7.4 臨床安全性試験の概要文］に記載した。臨床試験で収集された全ての電気生理学的データを評価した結果、レニオリシブは心臓の再分極やその他の心電図パラメータに臨床的に意義のある影響を及ぼさなかった。さらに、レニオリシブ群及びプラセボ群におけるトルサード・ド・ポアント/QT 延長の標準 MedDRA 検索式（SMQ）に該当する有害事象を検討した結果、安全性シグナルは認められなかった。最後に、健康人を対象とした試験の曝露-QTc モデリング解析において、レニオリシブは QTcF 延長と関連しなかった［2.7.2 臨床薬理試験の概要文］。

雄の生殖器官（前立腺、精巣、精巣上体）に対する影響はラットでのみ認められた。26 週間の反復投与試験では、前立腺重量の低下と、病理組織学的に認められた腺の好酸性分泌物の減少に相関が認められた。この試験及び 10 週間の幼若試験では、精巣及び精巣上体の重量低下及び精子数の減少が認められた。病理組織学的には、これは精上皮の局所的（個々の精細管）減少、円形精子細胞の減少、精母細胞の減少進行と関連していた。さらに調査を進めると、毒性は A 型から B 型への精原細胞の分化の減少に関連していることが判明した。精子数は同時対照群と比較して減少したが、それでも過去の対照範囲内であった。これらの軽微な組織学的所見は、高用量群（90 mg/kg/日及び 120 mg/kg/日）の雄に時折認められただけであった。10 週間の幼若動物試験でも、成体動物を用いた 26 週間の試験で認められた病理組織学的所見と同様の軽微な所見が認

[2] 140 mg（70 mg BID）において、ヒト定常状態における C_{max} は 3790 ng/mL であった（CCDZ173X2101、表 2.6.6-28 脚注 c）。ヒトの血漿中非結合形分率が 5.5%であることから［4.2.2.2-4］、ヒト定常状態における $C_{max,u}$ は、3790 ng/mL*0.055=208.45 となり、約 208 ng/mL であった。

[3] 150 mg/kg/日において、サルの血漿中非結合形分率は 9.9%であることから［4.2.2.2-4］、表 2.6.6-10 から算出した雄性サルにおける $C_{max,u}$、$AUC_{0\text{-}24h,ss,u}$ はそれぞれ 1,772 ng/mL、12,969 ng•h/mL であった。

[4] 40 mg/kg/日において、サルの血漿中非結合形分率は 9.9%であることから［4.2.2.2-4］、表 2.6.6-16 から算出した平均 $AUC_{0\text{-}24h,ss,u}$ は 4,802 ng·h/mL であった。

められた。26 週間試験では精細管上皮の周期が数回多くなっているにもかかわらず、所見の発生率及び重症度の増加は認められず、また、幼若動物の方がより高い感受性を示すこともなかった。このことは、これらの変化が進行性ではないことを示している。また、回復期間終了後には、精巣/精巣上体重量の軽度な減少は認められたものの、病理組織学的変化は回復した。回復期間には、A 型から B 型への精原細胞の分化が増加し、精子形成の回復が進行していることが認められた。

39 週までのカニクイザルの反復投与毒性試験では、雄の生殖器官への影響は認められなかった（60 mg/kg/日まで）。この結果は、別の PI3Kδ 阻害剤である AMG2519493 で知られている結果とは対照的で、AMG2519493 では、ラット及びカニクイザルの両方において、用量依存的な精巣の変化（精巣重量の減少、生殖細胞の減少、精原細胞分化の障害）が明らかに認められた［Ishida K, 2021］。

また、イデラリシブもラット及びイヌの両方で同様の精巣所見を示している［Zydelig FDA Drug Approval Package, 2014］。非げっ歯類の動物種における精巣作用の相違は、他の PI3K アイソフォームに対するオフターゲット活性の差によって説明できるかもしれない。PI3Kδ の精子形成における役割は知られておらず、不活性な PI3Kδ を持つマウスは正常な生殖能力を示す［Okkenhaug K, 2002］。一方、PI3Kβ は精子形成において極めて重要な役割を果たすことが示されており、PI3Kβ 欠損マウスは不妊である［Ciraolo E, 2010］。全体として、精巣への影響は軽微であり、ラットに限られ、サルでは 39 週間までの反復投与では認められず、経時的に進行する性質ではなく、生殖能の障害には至らず、病理組織学的に回復が認められたことから、ヒトの安全性への外挿性は限定的であると判断される。

甲状腺濾胞肥大は、2 週間のラット毒性試験で認められたが、より長期の他のラットを用いた試験やサルを用いた試験では認められなかった。甲状腺濾胞肥大の原因を明らかにするため、2 週間のラット試験［4.2.3.2.1］において、レニオリシブがミクロソーム肝 T4-UDP-GT 活性に及ぼす影響を調べた。その結果、ラット肝ミクロソーム中の T_4-UDP-GT 活性及び肝臓中の総活性は、レニオリシブ 100 mg/kg/日及び 300 mg/kg/日投与後に増加し、その増加の程度は個々の動物で認められた甲状腺濾胞肥大の重症度と相関することが示された。対照的に、ラットを用いた 4 週間試験では、T_4-UDP-GT 活性は 90 mg/kg/日まで上昇しなかった［4.2.3.2.11］。全体として、T_4-UDP-GT の誘導は、既知のラット特異的な作用であり［Wu K, 2006］、ヒトの安全性に対するリスクではない。

レニオリシブは雄性ラットの生殖腺及び精子産生に影響を及ぼすが、生殖能力の低下は認められなかった。胚・胎児発生試験では、試験した最高用量の 120 mg/kg/日で小眼球症/無眼球症が発生したことから、レニオリシブには催奇形性があることが示された。ウサギでは、胚・胎児変異の発生率に生物学的に意義のある増加はなかったが、100 mg/kg/日では、同腹児の 2 胎児で小眼球症が認められ、1 腹児の 1 胎児（小眼球症を示した胎児と同じ胎児）で眼窩縮小が認められた。眼窩縮小は過去の対照データでも認められているケースがあるが、ラットでの所見と類似しており、ラットとウサギの所見は関係している可能性がある。したがって、レニオリシブ投与との関係は否定できない。安全性マージン（NOAEL におけるラット母体における $AUC_{0\text{-}24h,u}$ と治療用量の 70 mg BID におけるヒト $AUC_{0\text{-}24h,u}$ との比）は 2.4 である（表 2.6.6-28）。イデラリシブについても、母体毒性を引き起こす用量レベルではあるが、小眼球症/無眼球症の同様の所見が認められることが知られている［Zydelig FDA Drug Approval Package, 2014］。さらに、別の PI3K 阻害薬であるコパンリシブの胚・胎児発生試験でも奇形眼球が認められている［Aliqopa FDA Review,

2017]。全体として、生殖発生毒性試験の結果から、レニオリシブは動物において催奇形性があり、したがってヒトにおいても催奇形性を示す可能性が否定できず、妊婦に投与した場合に胎児に害を及ぼす可能性があることを示している。

成体ラット及びサルでは、日和見感染症による死亡及び早期中止が生じた。一方、幼若ラット（主に離乳前）の高用量（90 mg/kg/日）でも死亡率の軽度な上昇が見られたが、数例の出生児は共食いされ、病理組織学的検査で死因は特定できなかった。また、ラット PPND 試験では、高用量（90 mg/kg/日）で離乳前の死亡率が軽度に増加した。ヒト CYP3A4 のラットオルソログである CYP3A1 の活性は、生後初期数週間は低く、離乳期開始時から急上昇することが知られている［de Zwart L, 2008］［Asaoka Y, 2010］［Xu SF, 2019］。PND7 における TK のデータから、レニオリシブの代謝に関与する主な酵素であるため、死亡率は離乳前期の未熟な肝 CYP3A 発現による高い血漿中曝露レベルと関連している可能性が示唆される。ヒトでは、CYP3A4 酵素活性は、出生後は低く、生後 6 ヵ月で成熟レベルに達する［Leeder J, 1997］［Mlakar V, 2016］。それにもかかわらず、90 mg/kg/日の高用量では、7 日目の出生児ラットの曝露量は、26 週間試験における成体ラットの曝露量と比べてそれほど高くなかった。さらに、低用量群（10 mg/kg/日）及び中用量群（30 mg/kg/日）では、投与開始 1 週間以内に 1 用量群につき雄 1 例及び雌 1 例の死亡が発生し、それについてはレニオリシブ投与との関連性を完全に否定することはできない。これらのことから、未成熟な肝 CYP3A 活性だけでは説明できない、幼児における過敏性の増加が懸念される。以上のことから、レニオリシブは 1 歳未満の小児には使用すべきではない。

体重増加量の軽度な低下及びそれに伴う身体発育の遅延が雌雄ラットの幼若期試験において認められた。身体発育の軽度な遅延は、離乳期から 30 及び 90 mg/kg/日で認められ、PND21 から PND28 の間に、体重増加量として測定される成長は雌雄で減少した（ただし、全てのサブグループで明らかではない）。さらに、特に雄では、PND28 から PND56 の間に体重増加量の減少が記録され、これは性的成熟（亀頭包皮分離で決定される）の遅れ（1 日）と関連していた。離乳時の体重減少及び性成熟の遅れとの関係はよく知られている［Ashby J, 2000］。雌では長骨が対照群の範囲より短く、これも低体重と関連していると考えられる。雌の膣の開口は対照群より 1 日早かったが、発情周期の評価や生殖器の病理学的検査ではホルモンの乱れを示してはいなかった。身体的及び性的発育におけるこれらのわずかな遅れの臨床的意義は不明である。

26 週間の試験と同様に、幼若ラットを対象とした 10 週間の試験でも、一部の雄に、円形精子細胞の減少及び/又は精母細胞の減少、並びに精巣臓器重量の減少を伴う精細管がまれに（多くの場合単一で）認められた。精子数のわずかな減少は過去の対照範囲内であった。本試験の生殖能サブグループの雄ではより長期間の投与がなされたが、より重篤な病変への進行であったり、中・後期の精細管における精子（円形及び/又は伸長）の一般的な変化は認められなかった。さらに、26 週間の試験の高用量群（90 mg/kg/日）における影響も、発生率及び重症度に関して同様に軽微であり、投与期間の延長に伴う増悪は認められなかった。レニオリシブを 90 mg/kg/日までの用量で 10 週間投与した動物では、雄の生殖能力への影響は認めなかった［4.2.3.5.4.2］。これらの病理組織学的変化はラットを用いた試験に限定されており、サルを用いた試験では 39 週間後でも認められていない。雄性幼若ラットの NOAEL に基づく予想曝露量比は、1 倍をはるかに下回っているが（表 2.6.6-28）、毒性所見の性質及び重症度と予定された適応症を考慮すると、リスク・ベネフィットの観点で、1 歳以上の APDS 小児患者に対するレニオリシブの使用は妥当なものと考えられる。ラットを用いた PPND 試験において、レニオリシブは母ラットの乳汁中に用量依存的に検出された。ヒトの新生児/乳児に対するリスクは排除できない。レニオリシ

ブ投与中は授乳しないことが推奨される。

PI3Kα の阻害は、インスリン感受性及びグルコース代謝の低下の結果として、患者に高血糖を引き起こす可能性がある［Nunnery S, 2019］。インスリン受容体機能及び糖代謝に対するレニオリシブの潜在的影響を調べるために 2 週間マウス試験が実施され、その結果、高用量（100 mg/kg/日）では単回投与及び反復投与により軽度なインスリン非感受性/抵抗性が誘導された［2.6.2.3.7］［2.6.3.3］。ラットでは、予備的な 2 週間反復投与試験［4.2.3.2.1］で認められたように、忍容性のない用量である 300 mg/kg/日でのみ血糖値の上昇が検出されたが、ラットを用いた他の試験では認められなかった。また、サルでは血糖値に変化は認められなかった。全体として、レニオリシブがヒトにおいて薬理学的用量で PI3Kδ のオフターゲット阻害によるインスリン感受性に関連した変化を引き起こす可能性は低い。

以上の非臨床安全性評価結果は、レニオリシブの APDS を対象とした治療を支持すると考えられた。

表 2.6.6-28 動物からヒトへの曝露倍数

Species/Study (duration)	NOAEL (mg/kg/day; oral gavage)	Gender	$C_{max, tot}$ (ng/mL)	$C_{max, u}$[a] (ng/mL)	$AUC_{0-24h, tot}$ (ng·h/mL)	$AUC_{0-24h, u}$[a] (ng·h/mL)	Exposure multiple[b]	
							versus $C_{max, u}$[c]	versus $AUC_{0-24h, u}$[d]
Rat/26-week	15	M/F	5,660	464	19,750	1,620	2.2	0.7
Monkey/39-week	20	M/F	6,775	671	20,300	2,010	3.2	0.9
Rat/EFD	30	F	7,730	634	65,000	5,330	3.0	2.4
Rat/10-week juvenile animals	10	M	2,330	191	5,270	432	0.9	0.2
	30	F	12,000	984	40,200	3,296	4.7	1.5
Mouse/26-week carcinogenicity （CB6F1-Tg rasH2 transgenic）	80	M	5,520	684	28,100	3,484	3.3	1.6
	80	F	9,400	1166	40,500	5,022	5.6	2.2

EFD=embryo-fetal development; F=female; h=hour; kg=kilogram; M=male; mg=milligram; mL=milliliter; ng=nanogram; NOAEL=no observed adverse effect level.
[a]= Average free fraction in plasma was 5.5%, 9.9%, 8.2% and 12.4% in human, monkey, rat and mouse, respectively (Study 1100674, M4.2.2.2-4).
[b]=Animal-to-human ratio of total daily drug exposure at steady-state (ss).
[c]=Observed geometric mean human (adults) peak drug concentration at steady-state ($C_{max, ss}$) after 2 weeks of twice daily (tau=12 hours) oral dosing at 70 mg BID was 3,790 ng/mL, corresponding to a free drug C_{max} ($C_{max,ss, u}$) of 208 ng/mL (Study CCDZ173X2101).
[d]=Observed geometric mean human (adults) total daily drug exposure at steady-state ($AUC_{0-24h, ss}$) after 2 weeks of twice daily (tau=12 hours) oral dosing at 70 mg (total daily dose of 140 mg) was 40,800 ng·h/mL (i.e., 2 x $AUC_{tau, ss}$ ((2 x 20,400 ng·h/mL); Study CCDZ173X2101), corresponding to a free drug ($AUC_{0-24h,ss, u}$) of 2,244 ng·h/mL.

2.6.6.10 図表

表は本文中に示した。

2.6.6.11 参考文献

Aliqopa FDA (Center for Drug Evaluation and Research) New Drug Application, 2017. Application number: 209936Orig1s000. Multi-discipline review, 13 Sep. Accessible here: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2017/209936Orig1s000MultidisciplineR.pdf (Accessed: Feb 6, 2025).

Asaoka Y, Sakai H, Sasaki J, Goryo M, Yanai T, Masegi T, et al.: Changes in the gene expression and enzyme activity of hepatic cytochrome P450 in juvenile Sprague-Dawley rats. J Vet Med Sci. 2010; 72(4): 471-479.

Ashby J, Tinwell H, Odum J, Kimber I, Brooks AN, Pate I, et al.: Diet and the aetiology of temporal advances in human and rodent sexual development. J Appl Toxicol. 2000; 20(5): 343-347.

Chamanza R, Marxfeld HA, Blanco AI, Naylor SW, Bradley AE.: Incidences and range of spontaneous findings in control cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis) used in toxicity studies. Toxicol Pathol. 2010; 38(4): 642-657.

Ciraolo E, Morello F, Hobbs R, Wolf F, Marone R, Lezzi M, et al.: Essential Role of the p110δ Subunit of Phosphoinositide 3-OH Kinase in Male Fertility. Mol Biol Cell. 2010; 21(5): 704–711.

de Zwart L, Scholten M, Monbaliu JG, Annaert PP, Van Houdt JM, Van den Wyngaert I, et al.: The ontogeny of drug metabolizing enzymes and transporters in the rat. Reprod Toxicol. 2008; 26(3-4): 220-230.

Geering B, Cutillas P, Nock G, Gharbi S, Vanhaesebroeck B.: Class IA phosphoinositide 3-kinases are obligate p85-p110 heterodimers. Proc Natl Acad Sci USA. 2007; 104(19): 7809-7814.

ICH M3(R2) 医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス（旧コード：M3（M））https://www.pmda.go.jp/files/000269917.pdf（2025 年 2 月 6 日アクセス）

ICH M7(R1) 潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドライン https://www.pmda.go.jp/files/000224891.pdf（2025 年 2 月 6 日アクセス）

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 https://www.pmda.go.jp/files/000155984.pdf（2025 年 2 月 6 日アクセス）

ICH S10 医薬品の光安全性評価ガイドライン https://www.pmda.go.jp/files/000156697.pdf（2025 年 2 月 6 日アクセス）

Ishida K, Werner JA, Lafleur M, Wisler J, Wanberg S, Kalanzi J, et al.: Phosphatidylinositol 3-Kinase δ-specific inhibitor-induced changes in the ovary and testis in the sprague dawley rat and cynomolgus monkey. Int J Toxicol. 2021; 40(4): 344–354.

Kandel E, Hay N.: The regulation and activities of the multifunctional serine/threonine kinase Akt/PKB. Exp Cell Res. 1999; 253(1): 210-229.

Leeder J, Kearns G.: Pharmacogenetics in pediatrics. Implications for practice. Pediatr Clin North Am. 1997; 44(1): 55-77.

Leishman D, Abernathy M, Wang E.: Revisiting the hERG safety margin after 20 years of routine hERG screening. J Pharmacol Toxicol Methods. 2020; 105: 106900.

Mlakar V, Huezo-Diaz Curtis P, Uppugunduri C, Krajinovic M, Ansari M.: Pharmacogenomics in pediatric oncology: review of gene-drug associations for clinical use. Int J Mol Sci. 2016; 17(9): 1502.

Nunnery S, Mayer I.: Management of toxicity to isoform α-specific PI3K inhibitors. Ann Oncol. 2019; 30 Suppl 10: x21-x26.

Okkenhaug K, Bilancio A, Farjot G, Priddle H, Sancho S, Peskett E, et al.: Impaired B and T cell antigen receptor signaling in p110delta PI 3-kinase mutant mice. Science. 2002; 297(5583): 1031-1034.

Paranjpe MG, Elbekaei RH, Shah SA, Hickman M, Wenk ML, Zahalka EA.: Historical control data of spontaneous tumors in transgenic CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (Tg.rasH2) mice. Int J Toxicol. 2013A; 32(1): 48-57.

Paranjpe MG, Shah SA, Denton MD, Elbekai RH.: Incidence of spontaneous non-neoplastic lesions in transgenic CBYB6F1-Tg(HRAS)2Jic mice. Toxicol Pathol. 2013B; 41(8): 1137-1145.

Paranjpe MG, Rudmann D, Sargeant A, Morse M, Yonpiam R, Bonnette K, et al.: Proposal to eliminate urethane-treated positive control dose groups in 26-week Tg.rasH2 carcinogenicity studies. Int J Toxicol. 2021; 40(3): 207-210.

Redfern WS, Carlsson L, Davis AS, Lynch WG, MacKenzie I, Palethorpe S, et al.: Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development. Cardiovasc Res. 2003; 58(1): 32-45.

Takaoka M, Sehata S, Maejima T, Imai T, Torii M, Satoh H, et al.: Interlaboratory comparison of short-term carcinogenicity studies using CB6F1-rasH2 transgenic mice. Toxicol Pathol. 2003; 31(2): 191-199.

Thybaud V, Aardema M, Clements J, Dearfield K, Galloway S, Hayashi M, et al.: Strategy for genotoxicity testing: Hazard identification and risk assessment in relation to in vitro testing. Mutat Res. 2007; 627: 41-58.

Ueki K, Fruman DA, Yballe CM, Fasshauer M, Klein J, Asano T, et al.: Positive and negative roles of p85 alpha and p85 beta regulatory subunits of phosphoinositide 3-kinase in insulin signaling. J Biol Chem. 2003; 278(48): 48453-48466.

U.S. Food and Drug Administration. Carcinogenicity Special Protocol Assessment. Final execCAC Report IND 124045. 2021.

U.S. Food and Drug Administration. Drug Approval Package - Zydelig (idelalisib). 2014. Accessible here: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2014/206545Orig1s000TOC.cfm (Accessed: Dec 26, 2024).

Vanhaesebroeck B, Guillermet-Guibert J, Graupera M, Bilanges B.: The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling. Nat Rev Mol Cell Biol. 2010; 11(5): 329-41.

Werner J, Ishida K, Wisler J, Karbowski C, Kalanzi J, Bussiere J. et al.: Phosphatidylinositol 3-kinase δ inhibitor-induced immunomodulation and secondary opportunistic infection in the cynomolgus monkey (Macaca fascicularis). Toxicol Pathol. 2020; 48(8): 949-964.

Wu K, Farrelly J.: Preclinical development of new drugs that enhance thyroid hormone metabolism and clearance: inadequacy of using rats as an animal model for predicting human risks in an IND and NDA. Am J Ther. 2006; 13(2): 141-144.

Xu SF, Hu AL, Xie L, Liu JJ, Wu Q, Liu J.: Age-associated changes of cytochrome P450 and related phase-2 gene/proteins in livers of rats. PeerJ. 2019; 7: e7429.

Yu J, Zhang Y, McIlroy J, Rordorf-Nikolic T, Orr GA, Backer JM.: Regulation of the p85/p110 phosphatidylinositol 3'-kinase: stabilization and inhibition of the p110alpha catalytic subunit by the p85 regulatory subunit. Mol Cell Biol. 1998; 18(3): 1379-1387.

レニオリシブリン酸塩

ジョエンジャ®錠 10 mg

ジョエンジャ®錠 30 mg

ジョエンジャ®錠 70 mg

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.7 毒性試験の概要表

株式会社オーファンパシフィック

略号一覧表

略語・用語	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APDS	Activated PI3Kδ syndrome	活性化 PI3Kδ 症候群
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
AUC_{0-t}	Area under the blood concentration-time curve from time zero to t.	時間ゼロから時間 t までの血中濃度-時間曲線下面積
$AUC_{0-24h, (ss)}$	Area under the blood concentration-time curve from time zero to 24 hours (at steady state)	時間ゼロから 24 時間までの血中濃度-時間曲線下面積（定常状態時）
$AUC_{tau, (ss)}$	Area under the blood concentration-time curve from time zero to tau hours (at steady state). Tau is the dosing interval	時間ゼロからタウ時間（定常状態）までの血中濃度-時間曲線下面積。タウは投与間隔
BID	Twice daily	1 日 2 回
CAS	Chemical abstracts service	化学物質抄録サービス
C_{max}	Maximum concentration	最高濃度
CPA	Cyclophosphamide	シクロホスファミド
DRF	Dose range finding	用量設定
EFD	Embryo-fetal development	胚・胎児発生
ECG	Electrocardiographic	心電図
F	Female	雌性
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FRTL-5	Rat thyroid cell line	ラット甲状腺細胞株
GALT	Gut associated lymphoid tissue	腸管関連リンパ組織
GD	Gestation day	妊娠日
GI	Gastrointestinal	消化管
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
h	Hour	時間
Han	Hannover	Hannover 系
hERG	Human ether-a-go-go-related gene	ヒト遅延整流性カリウムチャネル遺伝子
HPMC	Hydroxypropyl methylcellulose	ヒドロキシプロピルメチルセルロース
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
IND	Investigational new drug	治験薬
kg	Kilogram	キログラム
KLH	Keyhole limpet hemocyanin	キーホールリンペットヘモシアニン
LD	Lactation day	授乳開始からの日数
M	Male	雄性
MN	Micronuclei	小核
ms	Millisecond	ミリ秒
MTD	Maximum tolerated dose	最大耐容量
NIS	Sodium iodide symporter	ヨウ化ナトリウム共輸送体
NK	Natural killer (lymphocytes)	ナチュラルキラー（リンパ球）

略語・用語	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	No observed effect level	無影響量
NRU	Neutral red uptake	ニュートラルレッド取り込み
OECD	Organisation for economic cooperation and development	経済協力開発機構
OGTT	Oral glucose tolerance test	経口グルコース負荷試験
PALS	Periarteriolar lymphoid sheaths	動脈周囲リンパ鞘
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells	末梢血単核細胞
PCE	Polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase	ホスホイノシチド 3 キナーゼ
PIF	Photo irritation factor	光毒性係数
PND	Post-natal day	出生後の日数
PP	Postpartum	分娩後
PPND	Pre- and post-natal development (study)	出生前及び出生後の発生ならびに母体の機能に関する（試験）
QSAR	Quantitative structure activity relationship	定量的構造活性相関
QT_c	Corrected QT interval	補正 QT 間隔
RPD	Relative population doubling	相対的細胞集団倍加
ss	Steady state	定常状態
S. typhimurium	*Salmonella typhimurium*	ネズミチフス菌
tau	Repeated time period of dosing	投与期間の繰り返し
T_3	Triiodothyronine	トリヨードサイロニン
T_4	Thyroxine	サイロキシン
T_4-UDP-GT	T_4-thyroxine-UDP-glucuronosyltransferase	T4-サイロキシン-UDP-グルクロン酸転移酵素
TDAR	T-cell dependent antibody response	T 細胞依存性抗体反応
TdP	Torsade de Pointes	トルサード・ド・ポアント
t_{max}	Time to the maximum observed concentration	観察された最大濃度までの時間
TK	Toxicokinetics	トシキコキネティクス
TPO	Thyroid peroxidase	甲状腺ペルオキシダーゼ
TSH	Thyroid stimulating hormone	甲状腺刺激ホルモン
UV (A)	Ultraviolet (A)	紫外線（A）
VPC	Ventricular premature complexes	心室性期外収縮

目次

頁
略号一覧表 2
2.6.7 毒性試験の概要表 6
2.6.7.1 毒性試験一覧表 6
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 11
2.6.7.3 トキシコキネティクス 13
2.6.7.4 毒性試験：使用ロット 16
2.6.7.5 単回投与毒性試験 20
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 21
2.6.7.6.1 ラットを用いた 2 週間探索的反復投与毒性試験 21
2.6.7.6.2 ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験 23
2.6.7.6.3 サルを用いた 7 日間反復投与毒性試験 25
2.6.7.6.4 サルを用いた 2 週間反復投与毒性試験 26
2.6.7.6.5 サルを用いた観察的・反復投与毒性試験 29
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 30
2.6.7.7.1 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験 30
2.6.7.7.2 ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験 34
2.6.7.7.3 ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験 44
2.6.7.7.4 サルを用いた 13 週間反復投与毒性 54
2.6.7.7.5 サルを用いた 39 週間反復投与毒性試験 58
2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験 63
2.6.7.8.1 *In vitro* 復帰突然変異試験（Ames 試験） 63
2.6.7.8.2 *In vitro* 小核試験 66
2.6.7.8.3 *In vitro* 染色体異常試験 68
2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験 70
2.6.7.9.1 ラットを用いた骨髄小核の *in vivo* 誘発試験 70
2.6.7.10 がん原性試験 71
2.6.7.10.1 マウスを用いた 7 日間予備的（忍容性）がん原性試験 71
2.6.7.10.2 マウスを用いた 4 週間予備的（用量設定）がん原性試験 73
2.6.7.10.3 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 80
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 84
2.6.7.11.1 ウサギを用いた生殖発生毒性試験（用量設定） 84
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(重要な試験) 87
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚及び胎児発生への影響に関する試験（重要な試験） 88
2.6.7.13.1 ラットを用いた生殖発生毒性試験 88
2.6.7.13.2 ウサギを用いた生殖発生毒性試験 93
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（重要な試験） 103
2.6.7.14.1 ラットを用いた出生前及び出生後の発生（PPND）毒性試験 103

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験 109
2.6.7.15.1 ラットを用いた 3 週間幼若毒性試験（用量設定） 109
2.6.7.15.2 ラットを用いた 10 週間幼若毒性試験 111
2.6.7.16 局所刺激性試験 121
2.6.7.17 その他の毒性試験 122
2.6.7.17.1 *In vitro* 光毒性試験 122
2.6.7.18 その他の試験 124
2.6.7.18.1 その他の試験：*in vitro* メカニズム研究、甲状腺機能障害の検討 124
2.6.7.18.2 その他の試験：不純物及び分解物の遺伝毒性試験 125

2.6.7 毒性試験の概要表

2.6.7.1 毒性試験一覧表

表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧表

Type of Study	Species/Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses*	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	CTD Location
Single dose toxicity								
Dose escalating (sighting part of study)	Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	Single dose	10**, 50, 150 mg/kg	No	[redacted] USA	[redacted]	[4.2.3.2.6]
Repeat-dose toxicity								
Repeat-dose toxicity (exploratory)	Rat/Wistar	Oral (gavage)	2 weeks	0, 30, 100, 300 mg/kg/day	No	[redacted], Switzerland	[redacted]	[4.2.3.2.1]
Repeat-dose toxicity	Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	2 weeks	0, 10, 50, 300 mg/kg/day	Yes	[redacted], Switzerland	[redacted]	[4.2.3.2.2]
Repeat-dose toxicity	Rat Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	4 weeks	0, 10, 30 and 90 mg/kg/day	Yes	[redacted] USA	[redacted]	[4.2.3.2.3]
Repeat-dose toxicity	Rat Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	13 weeks	0, 10, 30, 90/120 mg/kg/day #	Yes	[redacted], England	[redacted]	[4.2.3.2.4]
Repeat-dose toxicity	Rat Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	26 weeks	0, 15, 40 and 120 mg/kg/day	Yes	[redacted], England	[redacted]	[4.2.3.2.5]
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	7 days	0, 15, and 150 mg/kg/day	No	[redacted] USA	[redacted]	[4.2.3.2.6]
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	7 days	0, 300 mg/kg/day	No	[redacted] USA	[redacted]	[4.2.3.2.7]
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	2 weeks	0, 30, 100 and 300 mg/kg/day	Yes	[redacted] Germany	[redacted]	[4.2.3.2.8]
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	13 weeks	0, 40/20, 80/40, 160/120/60 mg/kg/day[1]	Yes	[redacted] Germany	[redacted]	[4.2.3.2.9]
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	39 weeks	0, 20, 40, 60 mg/kg/day	Yes	[redacted], England	[redacted]	[4.2.3.2.10]

[1]: 0, **40/20 mg/kg** (40 mg/kg on days 1-30/20 mg/kg on days 31-91), **80/40 mg/kg** (80 mg/kg on days 1-23, followed by washout phase of 7 days, 40 mg/kg on days 31- 98), **160/120/60 mg/kg** (160 mg/kg on days 1-13, followed by washout phase of 5 days, 120 mg/kg on days 19-23, another washout phase of 7 days, 60 mg/kg on days 31-105).

表 2.6.7.1-1　毒性試験一覧表（続き）

Type of Study	Species/Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses*	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	CTD Location
Genotoxicity								
Genotoxicity – Reverse mutation test (Ames)	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA97a and TA102	*In vitro*	N/A	Up to 5,000 µg/plate	Yes	[redacted], England	[redacted]	[4.2.3.3.1.1]
Genotoxicity – Micronucleus test	TK6 cells (human lymphoblastoid origin)	*In vitro*	N/A	Up to 342.9 µg/mL	No	[redacted], Switzerland	[redacted]	[4.2.3.3.1.2]
Genotoxicity – Chromosome aberrations	Primary human lymphocytes	*In vitro*	N/A	Up to 350 µg/mL	Yes	[redacted], England	[redacted]	[4.2.3.3.1.3]
Genotoxicity – *in vivo* Induction of bone marrow micronuclei	Male Han Wistar Crl:WI (Han)	Oral (gavage)	Once daily for 2 consecutive days	0, 175, 350, 700 mg/kg/day	Yes	[redacted], England	[redacted]	[4.2.3.3.2.1]
Carcinogenicity								
Pivotal carcinogenicity	CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic hemizygous (transgenic)	Oral (gavage)	26 weeks	0, 10, 30, 80 mg/kg/day	Yes	[redacted], France	48943[redacted]/[redacted]2858[a]	[4.2.3.4.2.3]
Preliminary tolerability carcinogenicity	CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt	Oral (gavage)	7 days	0, 60, 120, 240 mg/kg/day	No	[redacted], France	[redacted]17-001	[4.2.3.4.2.1]
Preliminary dose range finding (DRF) carcinogenicity	CB6F1 non transgenic rasH2 mice (wild type)	Oral (gavage)	4 weeks	0, 100, 240, 500 mg/kg/day	Yes	[redacted], France	[redacted]1462	[4.2.3.4.2.2]

[a]: Includes report amendment.

表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧表（続き）

Type of Study	Species/Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses*	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	CTD Location
Reproductive and developmental toxicity								
Reproductive and developmental toxicity (embryo-fetal development)	Female Crl:WI(Han) rats	Oral (gavage)	GD6-GD17	0, 10, 30 and 120 mg/kg/day[2]	Yes	[redacted], England	[redacted]	[4.2.3.5.2.1]
Reproductive and developmental toxicity – DRF (embryo-fetal development)	Female Hra (NZW)SPF rabbits	Oral (gavage)	GD7-GD20	0, 30, 90 and 120 mg/kg/day	No	[redacted], England	[redacted]	[4.2.3.5.2.2]
Reproductive and developmental toxicity (embryo-fetal development)	Female Hra (NZW)SPF rabbits	Oral (gavage)	GD7-GD20	0, 10, 30 and 100 mg/kg/day[3]	Yes	[redacted], England	[redacted]	[4.2.3.5.2.3]
Pre- and postnatal development (PPND)	Rat:Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	GD7-LD20	10, 30, and 90 mg/kg/day	Yes	[redacted], USA	[redacted]2830	[4.2.3.5.3.1]
Juvenile (DRF) toxicity	Wistar(Han)	Oral (gavage)	PND7-PND28 (3 weeks)	40, 80 and 100 ## mg/kg/day	No	[redacted], England	[redacted]	[4.2.3.5.4.1]
Juvenile toxicity	Rat:Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	PND7-PND77 (10 weeks)	0, 10, 30 and 90 mg/kg/day[4]	Yes	[redacted], England	[redacted]	[4.2.3.5.4.2]
Local tolerance								
One-day topical ocular tolerability study	Dutch belted rabbits	Topical (*in vivo*)	1 day (6 doses, 1 hour apart)	0, 0.5, 2 and 5%	No	[redacted] USA	[redacted]	[4.2.3.6.1]

[2]: The maternal NOAEL is 30 mg/kg/day and the NOEL for embryo-fetal development is 30 mg/kg/day.
[3]: The maternal and embryo-fetal NOAEL is considered to be 30 mg/kg/day.
[4]: The NOAEL was 10 mg/kg/day in males and 30 mg/kg/day in females.

表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧表（続き）

Type of Study	Species/Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses*	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	CTD Location
Other toxicity studies								
Mechanistic study								
Investigation of thyroid liabilities	Rat FRTL-5 cells	*In vitro*	N/A	Up to 100 µM	No	[redacted], USA	[redacted]	[4.2.3.7.3.1]
Studies on impurities and degradants								
Computational toxicology; prediction on mutagenic potential	Derek nexus, Case ultra and Sarah.	*In silico*	N/A	N/A	No	[redacted], Switzerland	[redacted]	[4.2.3.7.6.1]
Computational toxicology; prediction on mutagenic potential	Derek nexus, Case ultra and Sarah.	*In silico*	N/A	N/A	No	[redacted], Switzerland	[redacted]	[4.2.3.7.6.2]
Computational toxicology; summary report of 1,3-dibromodibromo-5,5-dimethylhydantoin and tBuMePhos	Derek nexus, Case ultra and Sarah.	*In silico*	N/A	N/A	No	[redacted], The Netherlands	[redacted]7742	[4.2.3.7.6.3]
Microbial reverse mutation (Ames) test for propionyl chloride	*S. typhimurium* (5 strains)	*In vitro*	N/A	Up to 5,000 µg/plate	No	[redacted], Switzerland	[redacted]	[4.2.3.7.6.4]
Microbial reverse mutation (Ames) test for di-tert-butyl(2'-methyl-[1,1'-biphenyl]-2-yl)phosphine (tBuMePhos)	*S. typhimurium* (5 strains)	*In vitro*	N/A	Up to 2,500 µg/plate	No	[redacted], England	[redacted]	[4.2.3.7.6.5]

表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧表（続き）

Type of Study	Species/Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses*	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	CTD Location
Specification of impurity , which is identical to metabolite M29 不純物A*	Rat, cynomolgus monkey and human	*In vitro*	N/A	N/A	No	[redacted], The Netherlands	[redacted]/02	[4.2.3.7.6.6]
Other								
Phototoxicity assay	Balb/c 3T3 mouse fibroblast cells	*In vitro*	N/A	Up to 1,000 µM	No	[redacted], Switzerland	[redacted]	[4.2.3.7.7.1]
Phototoxicity assay	Balb/c 3T3 mouse fibroblast cells	*In vitro*	N/A	Up to 400 µg/mL	Yes	[redacted], England	[redacted]	[4.2.3.7.7.2]

*=unless otherwise specified: for single and repeat-dose toxicity, the highest no observed adverse effect level (NOAEL) is underlined.
**=15 mg/kg/day was the intended dose; due to shortage of formulation the actual dose was 10 mg/kg/day.
#=dose level increased from 90 to 120 mg/kg from the start of Week 6.
##=initially pups of high-dose group were exposed to 120 mg/kg/day but 2 pups died within one day and all pups showed (severe) clinical signs. All animals of this group were terminated, and new (naïve) pups were used to create a new group which was dosed at 100 mg/kg/day.
Adm.=administration; GD=gestation day; N/A=not applicable/not assessed. PND=postnatal day.

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表

表 2.6.7.2-1 トキシコキネティクス試験の一覧表

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses	GLP Compliance	Study Number	CTD Location
7-Day preliminary carcinogenicity	CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt mice	Oral (gavage)	0, 60, 120, 240 mg/kg/day	No	[redacted]17-001	[4.2.3.4.2.1]
4-Week preliminary carcinogenicity	CB6F1 non transgenic rasH2 mice (wild type)	Oral (gavage)	0, 100, 240, 500 mg/kg/day	Yes	[redacted]1462	[4.2.3.4.2.2]
26-week definitive carcinogenicity	CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt mice	Oral (gavage)	0, 10, 30, 80 mg/kg/day	Yes	48943[redacted]2858[a]	[4.2.3.4.2.3]
2-Week (exploratory) repeat-dose toxicity	Rat/Wistar	Oral (gavage)	0, 30, 100, 300 mg/kg/day	No	[redacted]	[4.2.3.2.1]
2-Week repeat-dose toxicity	Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	0, 10, 50, 300 mg/kg/day	Yes	[redacted]	[4.2.3.2.2]
4-Week repeat-dose toxicity	Rat Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	0, 10, 30 and 90 mg/kg/day	Yes	[redacted]	[4.2.3.2.3]
13-Week repeat-dose toxicity	Rat Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	0, 10, 30, 90/120 mg/kg/day*	Yes	[redacted]	[4.2.3.2.4]
26-Week repeat-dose toxicity	Rat Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	0, 15, 40 and 120 mg/kg/day	Yes	[redacted]	[4.2.3.2.5]
Sighting dose and repeated dose	Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	Sighting dose: 15, 50 and 150 mg/kg Repeated dose: 0, 15 and 150 mg/kg/day	No	[redacted]	[4.2.3.2.6]
7-Day repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	0, 300 mg/kg/day	No	[redacted]	[4.2.3.2.7]
2-Week Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	0, 30, 100 and 300 mg/kg/day	Yes	[redacted]	[4.2.3.2.8]
13-Week repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	0, 40/20, 80/40, 160/120/60 mg/kg/day**	Yes	[redacted]	[4.2.3.2.9]
39-Week repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	Oral (gavage)	0, 20, 40, 60 mg/kg/day	Yes	[redacted]	[4.2.3.2.10]
Reproductive and developmental toxicity (GD6-GD17)	Female Crl:WI(Han) rats	Oral (gavage)	0, 10, 30 and 120 mg/kg/day	Yes	[redacted]	[4.2.3.5.2.1]

表 2.6.7.2-1 トキシコキネティクス試験の一覧表（続き）

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses	GLP Compliance	Study Number	CTD Location
Reproductive and developmental (dose range finding) toxicity (GD7-GD20)	Female Hra (NZW)SPF rabbits	Oral (gavage)	0, 30, 90 and 120 mg/kg/day	No	[redacted]	[4.2.3.5.2.2]
Reproductive and developmental toxicity (GD7-GD20)	Female Hra (NZW)SPF rabbits	Oral (gavage)	0, 10, 30 and 100 mg/kg/day	Yes	[redacted]	[4.2.3.5.2.3]
PPND (GD7-LD20)	Rat:Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	10, 30, and 90 mg/kg/day	Yes	[redacted]2830	[4.2.3.5.3.1]
Juvenile (dose range finding) toxicity (PND7-PND28)	Wistar(Han)	Oral (gavage)	40, 80 and 100 mg/kg/day	No	[redacted]	[4.2.3.5.4.1]
Juvenile toxicity (PND7-PND77)	Rat:Crl:WI(Han)	Oral (gavage)	0, 10, 30 and 90 mg/kg/day	Yes	[redacted]	[4.2.3.5.4.2]

a: Includes report amendment.
Overview of toxicokinetics studies is also described in 2.6.5 PK Tabulated Summary Table 1 and 2.6.4 PK Written Summary. Results from the individual toxicokinetics studies are provided in 2.6.5 PK Tabulated Summary Table 3 and Table 4.
*=dose level increased from 90 to 120 mg/kg from the start of Week 6.
**=dose levels of 0 (vehicle control on Days 1-91), 40/20 mg/kg (i.e., 40 mg/kg on Days 1-30 and 20 mg/kg on Days 31-91), 80/40 mg/kg (i.e., 80 mg/kg on Days 1-23, followed by washout phase of 7 days, 40 mg/kg on Days 31- 98), 160/120/60 mg/kg (i.e., 160 mg/kg on Days 1-13, followed by washout phase of 5 days, 120 mg/kg on Days 19-23, another washout phase of 7 days, 60 mg/kg on Days 31-105).
GD=gestation day; PND=postnatal day.

2.6.7.3 トキシコキネティクス

トキシコキネティクスデータの概要一覧を、薬物動態試験の概要表 2.6.5.1 に記載し、個々のトキシコキネティクスの結果を、薬物動態試験の概要表 2.6.5.3 及び 2.6.5.4 に記載した。次の表では、定常状態における全ての毒性試験（[redacted]17-001 を除く）のトキシコキネティクスデータの概要を、非臨床動物種を横断して評価した全てのレニオリシブの用量レベルで示している。さらに、定常状態におけるヒトの薬物動態データを示す。

表 2.6.7.3-1 トキシコキネティクスデータの概要

Type of Study/ Duration	Test System Species/strain	Dose (mg/kg/day) Oral (gavage)	Test day	C_{max} (ng/mL)		AUC_{0-24h} (ng·h/mL)		Study Number CTD Location
				M	F	M	F	
7-Day preliminary carcinogenicity	CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt	60	1#	5,836	9,344	N/A	N/A	[redacted]17-001 [4.2.3.4.2.1]
		120	1#	11,224	14,240	N/A	N/A	
		240	1#	16,220	20,180	N/A	N/A	
4-Week preliminary carcinogenicity	CB6F1 non transgenic rasH2 mice (wild type)	100	28	15,100	11,300	37,100	50,800	[redacted]1462 [4.2.3.4.2.2]
		240	28	16,400	27,200	65,500	119,000	
		500	1*	25,100	35,600	231,000	198,000	
26-Week definitive carcinogenicity	CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt	10	177	1,480	1,540	1,460	2,810	48943[redacted]/[redacted] 2858 [4.2.3.4.2.3]
		30	177	5,260	6,130	7,500	11,700	
		80	177	5,520	9,400	28,100	40,500	
Juvenile toxicity (PND7-PND28)	Wistar(Han)	40	PND28	6,040	9,840	28,200	43,900	[redacted] [4.2.3.5.4.1]
		80	PND28	14,100	18,000	66,700	117,000	
		100	PND28	17,700	17,600	92,000	146,000	
Juvenile toxicity (PND7-PND77)	Rat:Crl:WI(Han)	10	PND77	2,330	4,030	5,270	8,470	[redacted] [4.2.3.5.4.2]
		30	PND77	6,010	12,000	21,600	40,200	
		90	PND77	12,100	24,100	90,900	143,000	
2-Week (exploratory) repeat-dose toxicity	Rat/Wistar	30	15	1,390	N/A	6,030	N/A	[redacted] [4.2.3.2.1]
		100	15	6,360	N/A	86,000	N/A	
		300	15	22,000	N/A	248,000	N/A	
2-Week repeat-dose toxicity	Rat/RccHan:WIST	10	16	2,200	3,780	6,720	14,700	[redacted] [4.2.3.2.2]
		50	16	10,600	15,100	40,600	86,800	
		300	6 or 7*	41,800	89,400	878,000	1,170,000	
4-Week repeat-dose toxicity	Rat Crl:WI(Han)	10	21/22	2,520	3,420	4,940	8,510	[redacted] [4.2.3.2.3]
		30	21/22	5,880	10,400	20,800	42,500	
		90	21/22	13,700	22,500	88,200	169,000	
13-Week repeat-dose toxicity	Rat Crl:WI(Han)	10	90	3,860	3,670	8,420	13,500	[redacted] [4.2.3.2.4]
		30	90	9,260	11,900	44,900	68,800	
		90/120**	90	21,800	28,400	273,000	288,000	

表 2.6.7.3-1 トキシコキネティクスデータの概要（続き）

Type of Study/ Duration	Test System Species/strain	Dose (mg/kg/day) Oral (gavage)	Test day	C_{max} (ng/mL)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)		Study Number CTD Location
				M	F	M	F	
26-Week repeat-dose toxicity	Rat Crl:WI(Han)	15	181	4,560	6,760	13,600	25,900	[redacted] [4.2.3.2.5]
		40	181	13,100	19,100	55,800	83,600	
		120	181	22,300	33,900##	142,000	311,000##	
Repeated dose phase of study	Cynomolgus monkey	15	7	4,080	N/A	11,100	N/A	[redacted] [4.2.3.2.6]
		150	7	17,600	N/A	147,000	N/A	
7-Day repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	300	7	31,500	N/A	453,000	N/A	[redacted] [4.2.3.2.7]
2-Week Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	30	15	6,500	6,150	21,000	14,100	[redacted] [4.2.3.2.8]
		100	15	15,300	13,700	132,000	78,200	
		300	1*	42,100	28,100	538,000	216,000	
13-Week repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	40/20***	85	480	3,130	1,130	6,970	[redacted] [4.2.3.2.9]
		80/40***	96	15,600	10,500	78,200	42,900	
		160/120/60***	99	33,000	18,300	147,000	73,700	
39-Week repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	20	273	6,570	6,980	25,900	14,700	[redacted] [4.2.3.2.10]
		40	273	13,800	13,400	50,500	46,500	
		60	273	16,700	19,400	71,500	79,400	
Reproductive and developmental toxicity (GD6-GD17)	Female Crl:WI(Han) rats	10	GD17	N/A	3,520	N/A	12,800	[redacted] [4.2.3.5.2.1]
		30	GD17	N/A	7,730	N/A	65,000	
		120	GD17	N/A	17,000	N/A	248,000	
Reproductive and developmental toxicity (GD7-GD20)	Female Hra (NZW)SPF rabbits	30	GD20	N/A	19,000	N/A	26,500	[redacted] [4.2.3.5.2.2]
		90	GD20	N/A	31,000	N/A	124,000	
		120	GD20	N/A	44,500	N/A	180,000	
Reproductive and developmental toxicity (GD7-GD20)	Female Hra (NZW)SPF rabbits	10	GD20	N/A	2,820	N/A	5,210	[redacted] [4.2.3.5.2.3]
		30	GD20	N/A	7,720	N/A	13,200	
		100	GD20	N/A	26,400	N/A	8,7300	
Clinical study	Humans****	140 in total (70 BID tablet)	15	3,790		40,800 (20,400 per 70 mg dose)		CCDZ173X2101

#=only one sample was taken, 30 minutes after the first dose. ##=Day 159.
*=prematurely died/euthanized, therefore Day 1 data provided.
**=dose level increased from 90 to 120 mg/kg from the start of Week 6.
***=40/20 mg/kg (i.e., 40 mg/kg on Days 1-30 and 20 mg/kg on Days 31-91), 80/40 mg/kg (i.e., 80 mg/kg on Days 1-23, followed by washout of 7 days, 40 mg/kg on Days 31- 98), 160/120/60 mg/kg (i.e., 160 mg/kg on Days 1-13, followed by washout of 5 days, 120 mg/kg on Days 19-23, washout of 7 days, 60 mg/kg on Days 31-105).
****=mean of males and females
BID=bis in die (twice a day); F=female; GD=gestation day; M=male; N/A=not applicable; PND=postnatal day.

2.6.7.4 毒性試験：使用ロット

表 2.6.7.4-1 毒性試験：使用ロット

Batch number	Purity (%)	Specified impurities (%)								Study Number/ CTD Location	Type of study
		HPLC							Chiral HPLC		
		040-15 不純物B*	044-15 不純物C*	532-16 不純物D*	RRT_0.81	RRT_1.07	RRT_1.68	RRT_1.69	500-15 不純物E*		
Specification		**≤ 0.15%**	**≤ 0.15%**	**≤ 0.15%**	**≤ 0.1%**	**≤ 0.1%**	**≤ 0.1%**	**≤ 0.1%**	**≤ 0.15 %**		
9	98.8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted] [4.2.3.2.1]	2-Week (exploratory) repeat-dose toxicity in rats
NX-8	>98	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted] [4.2.3.3.1.2]	Genotoxicity – *in vitro* Micronucleus test
										[redacted] [4.2.3.7.7.1]	*In vitro* phototoxicity assay
CDZ173-tengsh2-008	98.65	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted] [4.2.3.2.7]	7-Day repeat-dose toxicity in monkeys
										[redacted] [4.2.3.2.6]	Sighting and repeated-dose toxicity in monkeys
										[redacted] [4.2.3.6.1]	1-Day ocular tolerability in rabbits
SHBB7539V	97	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted] [4.2.3.7.6.5]	Genotoxicity – *in vitro* Bacterial reverse mutation assay
NVP-CDZ173-NX-1	Not reported	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	[redacted] [4.2.3.7.3.1]	Investigation of thyroid liabilities *in vitro*

*：新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.7.4-1　毒性試験：使用ロット（続き）

Batch number	Purity (%)	Specified impurities (%)							Study Number/ CTD Location	Type of study
		HPLC						Chiral HPLC		
		040-15 不純物B*	044-15 不純物C*	532-16 不純物D*	RRT _0.81	RRT _1.07	RRT _1.68	RRT _1.69	500-15 不純物E*	
Specification		**≤ 0.15%**	**≤ 0.15%**	**≤ 0.15%**	**≤ 0.1%**	**≤ 0.1%**	**≤ 0.1%**	**≤ 0.1%**	**≤ 0.15 %**	
1110001	99.5	0.11 (sum of both)		<0.05	0.08	-	0.13	0.07	<0.05	[redacted] [4.2.3.2.2]	2-Week repeat-dose toxicity in rats
										[redacted] [4.2.3.2.8]	2-Week repeat-dose toxicity in monkeys
										[redacted] [4.2.3.3.1.1]	Genotoxicity – *in vitro* Reverse Mutation (Ames)
										[redacted] [4.2.3.3.1.3]	Genotoxicity – *in vitro* Chromosome aberration test
										[redacted] [4.2.3.3.2.1]	Genotoxicity – *in vivo* Induction of bone marrow micronuclei in rats

*：新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.7.4-1 毒性試験：使用ロット（続き）

Batch number	Purity (%)	Specified impurities (%)							Study Number/ CTD Location	Type of study
		HPLC						Chiral HPLC		
		040-15	044-15	532-16	RRT _0.81	RRT _1.07	RRT _1.68	RRT _1.69	500-15	
		不純物B*	不純物C*	不純物D*					不純物E*	
Specification		≤ 0.15%	≤ 0.15%	≤ 0.15%	≤ 0.1%	≤ 0.1%	≤ 0.1%	≤ 0.1%	≤ 0.15 %	
1251002	100	<0.05 (sum of both)		<0.05	<0.05	-	<0.05	<0.05	<0.05	[redacted] [4.2.3.2.3]	4-Week repeat-dose toxicity in rats
										[redacted] [4.2.3.2.4]	13-Week repeat-dose toxicity in rats
										[redacted] [4.2.3.2.5]	26-Week repeat-dose toxicity in rats
										[redacted] [4.2.3.2.9]	13-Week repeat-dose toxicity in monkeys
										[redacted] [4.2.3.2.10]	39-Week repeat-dose toxicity in monkeys
										[redacted] [4.2.3.5.2.1]	Reproductive and developmental toxicity in rats
										[redacted] [4.2.3.5.2.2]	Reproductive and developmental (dose range finding) toxicity in rabbits
										[redacted] [4.2.3.5.2.3]	Reproductive and developmental toxicity in rabbits
										[redacted] [4.2.3.5.4.1]	3-Week juvenile (dose range finding) toxicity in rats
										[redacted] [4.2.3.5.4.2]	10-Week juvenile toxicity in rats

*：新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.7.4-1　毒性試験：使用ロット（続き）

Batch number	Purity (%)	Specified impurities (%)								Study Number/ CTD Location	Type of study
		HPLC							Chiral HPLC		
		040-15 不純物B*	044-15 [redacted] 不純物C*	532-16 [redacted] 不純物D*	RRT _0.81	RRT _1.07	RRT _1.68	RRT _1.69	500-15 [redacted] 不純物E*		
		≤ 0.15%	≤ 0.15%	≤ 0.15%	≤ 0.1%	≤ 0.1%	≤ 0.1%	≤ 0.1%	≤ 0.15 %		
1010007331	100	0.06	0.09	0.12	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	[redacted] [4.2.3.7.7.2]	*In vitro* phototoxicity assay
1010013786	99.6	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	0.06	<0.05	<0.05	<0.05	[redacted] 17-001 [4.2.3.4.2.1]	7-Day preliminary (tolerability) carcinogenicity in mice
										[redacted] 1462 [4.2.3.4.2.2]	4-Week preliminary (dose range finding) carcinogenicity in mice

Note: for all studies, a purity of ≥98.0% was achieved except for SHBB7539V (97%) and NVP-CDZ173-NX-1 (not reported).
-=no result obtained; HPLC=high performance liquid chromatography; N/A=not applicable; RRT=relative retention time.

Batch number	Purity (%)	Specified impurities (%)				Unspecified Impurities (% a/a)	Study Number/ CTD Location	Type of study
		UHPLC			Chiral HPLC			
Specification		≤ 0.15%	≤ 0.15%	≤ 0.15%	≤ 0.15%			
CC200306A	99.0	<0.05	<0.05	0.08	<0.05	0.05 (RRT 0.56) 0.05 (RRT 1.07)	[redacted] 2830 [4.2.3.5.3.1]	PPND in rats
CC210018A	101.4	<0.05	<0.05	<0.05	<0.10	<0.05	48943[redacted] 2858 [4.2.3.4.2.3]	26-Week definitive carcinogenicity in mice

不純物B*　不純物C*　不純物D*　不純物E*

*：新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 単回投与毒性試験

表 2.6.7.5-1 単回投与毒性試験（試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.6）

Species/Strain	Method of Admin. (Vehicle/Formulation)[a]	Doses (mg/kg)	Gender and No./Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number/ CTD Location
Cynomolgus monkey	Oral (gavage). Suspension in aqueous 0.5% sodium carboxymethylcellulose (CMC) and 0.5% Tween 80 solution.	10[b], 50, 150	3M	150	-	This consisted of two phases: a sighting dose phase and a repeated dose phase. The results for the sighting dose phase are summarized in Section 6.5.	[redacted] [4.2.3.2.6]

[a]=CMC/Tween: 0.5% (w/v) sodium carboxymethylcellulose (CMC), medium viscosity, aqueous solution containing 0.5% (v/v) Tween 80.
[b]=15 mg/kg/day was the intended dose; due to shortage of formulation the actual dose was 10 mg/kg/day.
M=male.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

2.6.7.6.1 ラットを用いた 2 週間探索的反復投与毒性試験

表 2.6.7.6.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.1

Species/Strain	Method of Admin. (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No./Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number CTD Location
Rat/Wistar	Oral (gavage). Suspension in aqueous 0.5% carboxymethyl -cellulose and 0.5% Tween 80 solution.	2 weeks	0, 30, 100 and 300	5M/group	Not established	- *≥ 30 mg/kg/day:* No mortalities and no clinical signs of toxicological significance. Decrease in lymphocyte counts (mainly B-cells) and morphology alterations in the hemolymphopoietic system which were considered to be related to pharmacological activity of test article. Thyroid follicular cell hypertrophy/hyperplasia as a consequence of induction of hepatic T_4-UDP-GT activity is considered a rat-specific effect with limited relevance to man. - *≥ 100 mg/kg/day:* Lymph nodes showed atrophy. Decreased absolute and/or relative to body and/or brain weights for thymus (minimal to marked; with medullar enlargement and increased diffuse cortical lymphocytolysis/ lymphophagocytosis) and in the spleen (slight; with lymphoid depletion, more prominent periarteriolar lymphoid sheath).	[redacted] [4.2.3.2.1]

表 2.6.7.6.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.1（続き）

Species/Strain	Method of Admin. (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	Gender and No./Group	NOAEL (mg/kg/day)	- Noteworthy Findings	Study Number CTD Location
Rat/Wistar	Oral (gavage). Suspension in aqueous 0.5% carboxymethyl -cellulose and 0.5% Tween 80 solution.	2 weeks	0, 30, 100 and 300	5M/group	Not established	- *300 mg/kg/day:* Lower body weight gain and slightly reduced food consumption. Salivation from Day 8. Mild increases were shown in neutrophils, monocytes, platelet counts, total bilirubin and cholesterol. Mild decrease in albumin and increase in globulin concentrations with a related decrease in albumin/globulin ratio consistent with inflammation. Increases in total bilirubin and cholesterol and decrease in triglycerides suggest a liver effect. Morphological alterations in skin (increased ratio of the telogen (resting) versus anagen (growing) phase) were considered to be related to pharmacological activity of leniolisib. Histopathological findings were seen in male reproductive organs (germ cell degeneration/ depletion in testes, cellular debris in epididymides), intestinal tract (inflammation in duodenal lamina propria/submucosa and in the submucosa of cecum) and heart (minimal/slight multifocal myocardial degeneration).	[redacted] [4.2.3.2.1]

M=male.

2.6.7.6.2 ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験

表 2.6.7.6.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.2

Species/Strain	Method of Admin. (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No./Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number CTD Location
Rat/Wistar	Oral (gavage). Suspension in aqueous 0.5% carboxymethyl-cellulose and 0.5% Tween 80 solution.	2 weeks	0, 10, 50 and 300	10M+10F/group and 5M+5F in control and 300 mg/kg/day group for recovery.	10	- *10 mg/kg/day:* No clinical observations and no effects on body weight and food consumption. Mild decrease in B-lymphocyte counts. Effects on weight of spleen, thyroid, adrenals. No effects on histopathology. - *50 mg/kg/day:* Salivation was noted on occasions during the treatment period. No toxicological relevant clinical observations and no effects on body weight and food consumption. Changes in clinical pathology (decrease in B-lymphocyte counts, increase in monocyte, neutrophil and/or platelet counts, mild decrease in IgG2b concentration and a mild decrease in albumin and total protein concentration). Effects on weight of spleen, thyroid, adrenals - Histopathological effects on hemolymphoreticular system (bone marrow, spleen, thymus, lymph nodes), thyroid and female intestines.	[redacted] [4.2.3.2.2]

表 2.6.7.6.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.2（続き）

Species/Strain	Method of Admin. (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No./Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number CTD Location
Rat/Wistar	Oral (gavage). Suspension in aqueous 0.5% carboxymethyl-cellulose and 0.5% Tween 80 solution.	2 weeks	0, 10, 50 and 300	10M+10F/group and 5M+5F in control and 300 mg/kg/day group for recovery.	10	- *300 mg/kg/day:* In the first week of treatment, 2 males were found dead, and 2 females were sacrificed in a moribund condition. Due to rapid deterioration in condition, overt clinical signs of toxicity and/or body weight loss, the remaining animals of this group were sacrificed on Day 6 (females) and Day 7 (males) and dosing of recovery animals stopped after dosing on Day 6. Various effects on hematology/clinical pathology (i.e., decreases in peripheral lymphocyte counts and immunoglobulins, changes indicative of inflammatory reaction and cholestasis, as well as changes related to morbidity, decreased food consumption and stress and/or with unknown pathophysiological mechanism(s)), organ weights, macroscopic and microscopic examinations. Findings were fully reversible or showed a tendency or clear trend towards reversibility.	[redacted] [4.2.3.2.2]

Adm.=administration; F=female; M=male.

2.6.7.6.3 サルを用いた 7 日間反復投与毒性試験

表 2.6.7.6.3-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.7

Species/Strain	Method of Admin. (Vehicle/ Formulation)		Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No./Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ CTD Location
Cynomolgus monkey	Oral (gavage). Suspension in aqueous 0.5% carboxymethyl-cellulose and 0.5% Tween 80 solution.		7 days	0 and 300	3M/group	Could not be established	- No mortality nor clear effects on body weights or food consumption were observed. - Emesis (with apparent compound and/or with apparent food); fecal changes (soft/diarrhea) - QT/QTc prolongation was observed in 2 of 3 animals on Day 1 and marked QT/QTc prolongation was observed in all three animals on Day 7. - Clinical pathology changes (all animals) related to inflammation (i.e., mild increase in fibrinogen concentration and minimal decreased reticulocyte counts), hepatocellular leakage (i.e., increased ALT activity) and mild dehydration (increased creatinine concentration). One animal had increased granulocyte and monocyte counts, and bilirubin concentration (cholestasis). - Microscopic changes in lymphoid organs: Thymus, spleen, lymph nodes and GALT of the ileum and large intestine. - Decreased cellularity in germinal centers observed in spleen, lymph nodes and GALT and probably represented pharmacological effects of leniolisib. - Changes compatible with stress effects observed in spleen and thymus.	[redacted] [4.2.3.2.7]

M=male.

2.6.7.6.4 サルを用いた 2 週間反復投与毒性試験

表 2.6.7.6.4-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.8

Species/Strain	Method of Admin. (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No./Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ CTD Location
Cynomolgus monkey	Oral (gavage). Suspension in aqueous 0.5% carboxymethyl-cellulose and 0.5% Tween 80 solution.	2 weeks	0, 30, 100 and 300	3M+3F/group and 2M+2F in control and 300 mg/kg group for 4-week recovery period.	100	- *30 mg/kg/day:* No noteworthy findings. - *100 mg/kg/day:* Minimal loss of body weight during first week of dosing. Slight to moderate effects on hematology (decrease in neutrophils, red blood cells, hemoglobin concentration, percentage of hematocrit) and clinical chemistry (increase in creatine levels, blood urea and total proteins and decrease in sodium, chloride and albumin levels and total proteins). Slight to mild effect on blood immunophenotyping (decrease in natural killer cells and B-cells).	[redacted] [4.2.3.2.8]

表 2.6.7.6.4-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.8（続き）

Species/Strain	Method of Admin. (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No./Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ CTD Location
Cynomolgus monkey	Oral (gavage). Suspension in aqueous 0.5% carboxymethyl-cellulose and 0.5% Tween 80 solution.	2 weeks	0, 30, 100 and 300	3M+3F/group and 2M+2F in control and 300 mg/kg group for 4-week recovery period.	100	- *300 mg/kg/day:* In first 9 days of dosing 3 male and 3 female animals were prematurely sacrificed due to moribund condition and/or clinical signs (severe diarrhea and emesis). In remaining animals, pronounced loss of body weight was observed. Multiple effects in hematology and clinical chemistry which were most likely related to moribundity. Slightly increased basophil counts in male animals and slightly increased monocyte counts in all males and 3 of 5 female animals. Slightly elevated fibrinogen levels in all males and one female and slight increase in activated partial thromboplastin time in males. Slightly decreased red blood cell counts, hemoglobin concentration and percentage of hematocrit. Slightly elevated bilirubin levels in 2 of 5 females and slightly elevated creatine levels in females and males. Slight increase in blood urea. Decreased levels of sodium and chloride. Slight to moderate decrease in albumin levels and total proteins, Elevated glucose in females on Day 7. Reduced T3 levels in males which were recorded until the end of the recovery phase.	[redacted] [4.2.3.2.8]

表 2.6.7.6.4-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.8（続き）

Species/Strain	Method of Admin. (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No./Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ CTD Location
Cynomolgus monkey	Oral (gavage). Suspension in aqueous 0.5% carboxymethyl-cellulose and 0.5% Tween 80 solution.	2 weeks	0, 30, 100 and 300	3M+3F/group and 2M+2F in control and 300 mg/kg group for 4-week recovery period.	100	Several histopathological findings considered to be related to treatment were seen in the unscheduled euthanized males in lymphoid organs and GI tract. Slight to mild effect on blood immunophenotyping (decrease in natural killer cells and B-cells) One animal showed bigeminal ventricular premature complexes (VPC) alternating with sinus complexes on Day 2, and a slight increase in QT_{cI} values in some animals was observed on Day 2 and Day 12/Day 13. Severe diarrhea and emesis persisted after dosing.	[redacted] [4.2.3.2.8]

F=female; GI=gastrointestinal; M=male; T3=thyroid hormone T3.

2.6.7.6.5 サルを用いた観察的・反復投与毒性試験

表 2.6.7.6.5-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.6

Species/Strain	Method of Admin. (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg; mg/kg/day)	Gender and No./Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ CTD Location
Monkey/ Macaca fascicularis	Oral (gavage). Suspension in aqueous 0.5% carboxymethyl-cellulose and 0.5% Tween 80 solution.	*Phase 1:* Single escalating dose on days 1, 7 and 10 *Phase 2:* 7 consecutive days	*Phase 1:* 10*, 50 and 150 mg/kg on days 1, 7 and 10, respectively *Phase 2:* 0, 15 and 150 mg/kg/day	*Phase 1:* 3M *Phase 2:* 3M/group	50 mg/kg	*Phase 1:* - No mortalities, no clinical signs, no effects on body weights and food consumption, no effects on hematology, coagulation and clinical biochemistry - No effects on immunophenotyping of peripheral blood lymphocytes (total T, T-helper, T-cytotoxic, B-cell and Natural Killer Cells) - 150 mg/kg: increases in QTc in 2 of 3 animals but no effect on PR and QRS intervals and arrhythmias was not detected *Phase 2:* - No mortalities, no clinical signs of toxicological relevance, no effects on body weights and food consumption, no effects on hematology and clinical biochemistry - No effects on ECG reported - No effects on organ weights, macroscopy, and microscopy - 150 mg/kg/day: - Immunophenotyping: decreases in B-cell counts and Natural Killer Cells	[redacted] [4.2.3.2.6]

*=15 mg/kg/day was the intended dose; due to shortage of formulation the actual dose was 10 mg/kg/day. Note: Study 1070281 consisted of two phases: a sighting dose phase and a repeated dose phase for two PI3Kδ inhibitors, leniolisib and CFL375. Study details and results for both phases with leniolisib are summarized here.
ECG=electrocardiogram; M=male.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験

表 2.6.7.7.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.3

Report Title:	**4-Week oral (gavage) toxicity study in rats with a 4-week recovery period**				
Species/Strain:	Rat IGS Wistar Hannover Rat; Crl: WI(Han)	**Duration of Dosing:**	At least 4 weeks	**Test Article:**	Leniolisib
Initial Age:	10 weeks	**Duration of Postdose:**	At least 4 weeks	**Study Number**	[redacted]
Date of First Dose:	19[redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (Gavage)	**CTD location:**	4.2.3.2.3
		Vehicle/Formulation:	Suspension in aqueous 0.5% w/v methylcellulose + 0.5% polysorbate (Tween) 80	**GLP Compliance:**	Yes
Special Features:	-				
No Observed Adverse Effect Level:	30 mg/kg/day				

Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**10**		**30**		**90**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals:	**Toxicity**	10	10	10	10	10	10	10	10
	Recovery	6	6	0	0	0	0	6	6
Toxicokinetics	**$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)**								
	Day 1/2	N/A	N/A	4,590	11,100	20,100	39,400	55,800	152,000
	Day 21/22	N/A	N/A	4,940	8,510	20,800	42,500	88,200	169,000
	C_{max} (ng/mL)								
	Day 1/2	N/A	N/A	2,400	3,010	5,000	8,300	10,800	17,300
	Day 21/22	N/A	N/A	2,520	3,420	5,880	10,400	13,700	22,500

F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.

表 2.6.7.7.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**30**		**90**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Noteworthy findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight gain (%)[a]								
Days 1-29	65.60 g	25.88 g	-6	-12	5	-18	-9	5
Days 1-8	22.32 g	9.43 g	-3.9	1.0	5.6	-5.2	-3.4	31.7
Days 8-15	11.14 g	6.87 g	36.0	-7.0	55.9	-16.0	45.8	12.1
Days 15-22	20.78 g	6.44 g	-18.1	-5.7	-4.5	-29.3	-29.8	-27.6
Days 22-29	11.36 g	3.14 g	-30.9	-77.7	-26.1	-40.1	-38.5	-23.2
Food consumption (%)[b]	20.66 g	13.83 g	-5	3	5	-2	-3	5
Clinical observations[c]								
Salivation	0	0	0	0	0	2	10	6
Rales	0	0	0	0	0	0	1	0
Hair loss	0	1	0	1	0	0	3	1
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology and coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Thyroid hormones[d]	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

[a]=During the dosing period (Day 1-29); mean of toxicity and recovery animals (for control and 90 mg/kg groups). For controls, absolute group means (g) are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.
[b]=Toxicity and recovery animals (for control and 90 mg/kg groups).
[c]=At the end of dosing period (Day 29); mean of toxicity and recovery animals (for control and 90 mg/kg groups). For controls, absolute group means (g) are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.
[d]=Thyroid hormones T3, T4 and TSH (thyroid stimulating hormone).
-=no noteworthy findings; F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.

表 2.6.7.7.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**30**		**90**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Noteworthy findings								
Organ weights (%)[a]								
Spleen	0.19210	0.26351	-1.51	-3.18	-13.78*	-10.11	-11.61	-9.73
Histopathology								
Spleen								
Decreased hemopoiesis	0	0	0	0	0	0	9	0
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Slight	0	0	0	0	0	0	7	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Lymphoid cell depletion of the marginal zones (B-cell area)	0	0	0	0	7	4	10	9
Minimal	0	0	0	0	1	3	3	0
Slight	0	0	0	0	6	1	4	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	3	2
Marked	0	0	0	0	0	0	0	2
Lymphoid cell hyperplasia T-cells	0	0	0	0	0	0	10	10
Slight	0	0	0	0	0	0	10	10
Lymph nodes (mandibular)								
Lymphoid depletion B-cells	0	0	0	0	0	0	9	10
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0
Slight	0	0	0	0	0	0	7	10
Lymph nodes (mesenteric)								
Lymphoid depletion B-cells	0	0	0	0	0	0	9	10
Slight	0	0	0	0	0	0	9	8
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2

[a]=Adjusted for terminal body weight. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.
*=statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
F=female; M=male.

表 2.6.7.7.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**30**		**90**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals in recovery groups	**6**	**6**	**0**	**0**	**0**	**0**	**6**	**6**
Noteworthy findings								
Body weight gain (%)[a]	106.45	42.00	N/A	N/A	N/A	N/A	11	-1
Food consumption (%)[a]	20.13	13.57	N/A	N/A	N/A	N/A	2	4
Organ weights (%)[b]			N/A	N/A	N/A	N/A		
Spleen	0.16262	0.21595					5.65	-0.41
Histopathology	-	1	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Spleen								
Increased hemopoiesis								
Slight	0	1	0	0	0	0	0	0

[a]=At the end of the recovery period (Recovery Day 29). For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.
[b]=Adjusted for terminal body weight. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.
-=no noteworthy findings; F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.

2.6.7.7.2 ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験

表 2.6.7.7.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.4

Report Title:	**13-Week oral (gavage) administration toxicity study in the rat followed by a 4-week treatment-free period**				
Species/Strain:	Rat Crl:WI(Han)	**Duration of Dosing:**	13 Weeks	**Test Article:**	Leniolisib
Initial Age:	6 Weeks	**Duration of Postdose:**	4 Weeks	**Study Number**	[redacted]
Date of First Dose:	16 [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (Gavage)	**CTD Section:**	4.2.3.2.4
		Vehicle/Formulation:	Suspension in aqueous 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80	**GLP Compliance:**	Yes
Special Features:	Lymphocyte immunophenotyping, T-cell dependent antibody response (TDAR)				
No Observed Adverse Effect Level:	30 mg/kg/day				

Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**10**		**30**		**90/120‡**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals:	**Toxicity**	10	10	10	10	10	10	10	10
	Recovery	5	5	0	0	0	0	5	5
	Immunotoxicity	6	6	6	6	6	6	6	6
Toxicokinetics	**$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)**								
	Day 1	N/A	N/A	6,150	11,800	23,700	41,900	99,000	146,000
	Day 36	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	43,900	63,100
	Day 90	N/A	N/A	8,420	13,500	44,900	68,800	273,000	288,000
	C_{max} (ng/mL)								
	Day 1	N/A	N/A	4,380	3,780	5,690	8,160	14,800	26,100
	Day 36	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	19,400	25,200
	Day 90	N/A	N/A	3,860	3,670	9,260	11,900	21,800	28,400
TDAR	Anti-KLH IgM								
	Day 35	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100
	Day 64	620	1,723	1,310	<748	706	<2,888	<178	<100
	Day 71	511	803	<509	<496	<181	<579	<107	<100
	Day 76	4,563	11,049	3,786	3,020	697	4,131	<186	<357
	Day 81	1,984	3,609	2,230	<1,019	383	<1,869	<145	<172
	Day 85	1,422	2,875	1,595	<663	270	<907	<129	<109

‡=dose level increased from 90 mg/kg to 120 mg/kg from the start of Week 6.
F=female; KLH=keyhole limpet hemocyanin; M=male; N/A=not assessed.

表 2.6.7.7.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.4（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**30**		**90/120‡**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals: **Toxicity**	10	10	10	10	10	10	10	10
Recovery	5	5	0	0	0	0	5	5
Immunotoxicity	6	6	6	6	6	6	6	6
TDAR: Anti-KLH IgG								
Day 35	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100	<100
Day 64	974	2,191	2,069	<1,603	1,280	<4,321	<167	<100
Day 71	3,866	4,102	975	<745	657	<1,223	<120	<100
Day 76	64,952	98,407	25,846	18,299	9,593	>98,953	<414	<519
Day 81	67,354	>183,633	24,029	12,486	12,293	80,107	<1,120	<642
Day 85	63,279	149,411	20,068	18,559	11,982	74,315	<457	<555
Noteworthy findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	1†	0	0
Body weight gain (%)[a]								
Day 1-92	213.7 g	99.0 g	8.4	-7.2	-3.0	-3.9	-16.0***	-5.4
Day 1-29	116.8 g	57.9 g	8.8	-3.3	-0.9	-1.6	-9.7*	0.3
Day 29-57	55.1 g	27.2 g	10.3	-5.1	-8.0	-6.3	-24.9***	-11.0
Day 57-92	41.8 g	13.9 g	5.0	-27.3	-2.1	-5.0	-22.0***	-18.0
Clinical observations (dosing phase)								
Gender and number of animals analyzed	M: 21	F: 21	M: 16	F: 16	M: 16	F: 16	M: 21	F: 21
Salivation								
Minimal	0	0	0	1	8	5	9	10
Moderate	0	0	0	0	1	3	8	10
Postdosing observations								
Gender and number of animals analyzed	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Mouth rubbing	0	0	10	10	10	10	10	10
Paddling	0	0	2	2	8	9	10	10
Salivation	0	0	6	8	10	10	10	10

‡=dose level increased from 90 mg/kg to 120 mg/kg from the start of Week 6.
†=cause of death identified probably due to the procedure (i.e., moderately severe acute inflammation in the trachea) and not considered to be related to effects of leniolisib.
[a]=During the dosing period (Days 1-92); mean of all animals (i.e., n=21 for control and 90/120 groups and n=16 for 10 mg/kg and 30 mg/kg groups). For controls, absolute group means (g) are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
F=female; M=male; n=number. ANOVA and Dunnett's test: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.

表 2.6.7.7.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.4（続き）

Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**10**		**30**		**90/120‡**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals:	**Toxicity**	10	10	10	10	10	10	10	10
	Recovery	5	5	0	0	0	0	5	5
	Immunotoxicity	6	6	6	6	6	6	6	6
Noteworthy findings:									
Hematology									
Week 5									
Reticulocytes (10^9/L)		207.3	193.0	212.7	211.0	214.1	184.4	215.1	242.8**
White Blood Cells (10^9/L)		6.7	5.3	6.0	4.0*	5.6	3.7**	4.5***	3.9**
Neutrophils (10^9/L)		1.18	0.73[1]	1.15	0.81[1]	1.24	0.97[1]	1.43	1.41**[1]
Lymphocytes (10^9/L)		5.29[1]	4.37	4.63[1]	3.03**	4.08*[1]	2.52***	2.86***[1]	2.30***
Monocytes (10^9/L)		0.09	0.08	0.09	0.08	0.11	0.10	0.12	0.12**
Eosinophils (10^9/L)		0.08	0.07	0.09	0.07	0.08	0.06	0.05*	0.06
Platelets (10^9/L)		999	969[1]	965	1,059[1]	1,088	999[1]	1,085	1,126*[1]
Week 13									
Reticulocytes (10^9/L)		203.4	221.3	226.9	239.6	218.4	227.9	236.7*	292.5*
White Blood Cells (10^9/L)		5.2	3.6[1]	4.6	3.7[1]	4.6	3.1[1]	4.5	4.7[1]
Neutrophils (10^9/L)		1.26	0.61[1]	0.89	0.74[1]	1.11	0.91*[1]	1.74	1.40***[1]
Lymphocytes (10^9/L)		3.68	2.88[1]	3.50	2.81[1]	3.25	2.05[1]	2.56**	3.05[1]
Monocytes (10^9/L)		0.06	0.05	0.07	0.08	0.08	0.07	0.14***	0.12***
Eosinophils (10^9/L)		0.11	0.06[1]	0.10	0.06[1]	0.09	0.06[1]	0.06**	0.09[1]
Platelets (10^9/L)		968	917[1]	990	1,004[1]	1,019	1,046*[1]	1,183**	1,162***[1]

‡=dose level increased from 90 mg/kg to 120 mg/kg from the start of Week 6.
ANOVA and Dunnett's test: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.
[1]=rank transformed data: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.
F=female; M=male.

表 2.6.7.7.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.4（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**30**		**90/120‡**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals: Toxicity	10	10	10	10	10	10	10	10
Recovery	5	5	0	0	0	0	5	5
Immunotoxicity	6	6	6	6	6	6	6	6
Noteworthy findings:								
Clinical biochemistry								
Week 5								
Aspartate aminotransferase (IU/L)	88	75	87	83	85	83	103*	105***
Alanine aminotransferase (IU/L)	49	42	45	38	46	46	52	50**
Total cholesterol (mmol/L)	1.9	1.7	2.1	1.8	1.7	2.1*	2.1	2.1**
Total protein (g/L)	65	67	67	67	67	66	64	65
Albumin (g/L)	46	49	46	49	47	48	45	46**
Albumin/Globulin Ratio	2.4	2.8	2.2	2.7	2.4	2.6	2.4	2.5
Enzymatic creatinine (µmol/L)	21	23	22	23	20	21**	19	20***
Week 13								
Aspartate aminotransferase (IU/L)	76	70	72	83**	71	80*	96***	103***
Alanine aminotransferase (IU/L)	47	44	46	49	51	50	65***	67***
Total cholesterol (mmol/L)	1.9	1.5	2.2	1.8	1.8	1.9	2.2	2.2***
Total protein (g/L)	69	74	72	72	70	70**	68	69***
Albumin (g/L)	47	53	48	52	48	50*	47	48***
Albumin/Globulin Ratio	2.1	2.7	2.0	2.7	2.2	2.6	2.2	2.4
Enzymatic creatinine (µmol/L)	30	30	31	30	28	29	27*	27**
Urinalysis								
Week 5								
Specific gravity	1.036	1.028[1]	1.043	1.031[1]	1.038	1.035[1]	1.049*	1.039*[1]
Week 12								
Specific gravity	1.040	1.035	1.040	1.037	1.039	1.034	1.051	1.047*

‡=dose level increased from 90 mg/kg to 120 mg/kg from the start of Week 6.
ANOVA and Dunnett's test: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.
[1]=Rank transformed data: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.
F=female; M=male.

表 2.6.7.7.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.4（続き）

Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**10**		**30**		**90/120‡**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals:	**Toxicity**	10	10	10	10	10	10	10	10
	Recovery	5	5	0	0	0	0	5	5
	Immunotoxicity	6	6	6	6	6	6	6	6
Noteworthy findings:									
Immunophenotyping									
Week 5									
	CD3 (cells/µL)	3,470	2,871	3,339	2,477	3,317	2,086	2,423**	2,055
	CD4 (cells/µL)	2,529	2,097	2,405	1,848	2,443	1,562	1,852*	1,545
	CD8 (cells/µL)	898	734	897	571	839	473	539**	476*
	CD45RA (cells/µL)	1,720[1]	1,357	1,071[1]	557***	714***[1]	356***	312***[1]	306***
	CD161a (cells/µL)	131	85	102	71	114	64	62**	62
Week 13									
	CD3 (cells/µL)	2,421	1,984	2,452	2,258	2,514	1,568	1,839	2,117
	CD4 (cells/µL)	1,737	1,461	1,719	1,679	1,796	1,189	1,363	1,494
	CD8 (cells/µL)	646	492	699	545	685	355	437	575
	CD45RA (cells/µL)	1,239	821[1]	1,033	552[1]	756**	359**[1]	462***	855[1]
	CD161a (cells/µL)	95	84	111	109	132	75	88	108

‡=dose level increased from 90 mg/kg to 120 mg/kg from the start of Week 6.
ANOVA and Dunnett's test: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.00.1
[1]=rank transformed data: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.
Note: CD3=total T-lymphocytes (CD3+), CD4=helper T-lymphocytes (CD3+/CD4+), CD8=cytotoxic T-lymphocytes (CD3+/CD8+), CD45A=B-lymphocytes (CD3-/CD45RA+) and CD161a=natural killer (NK) lymphocytes (CD3-/CD161a+).
F=female; M=male.

表 2.6.7.7.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.4（続き）

Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**10**		**30**		**90/120‡**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals:	**Toxicity**	10	10	10	10	10	10	10	10
	Recovery	5	5	0	0	0	0	5	5
	Immunotoxicity	6	6	6	6	6	6	6	6
Noteworthy findings:									
Organ weights[a] (%)									
Lymph node, mesenteric		0.315 g	0.285 g	-11.7	-7.4	-31.7*	-7.4	-35.6*	-11.2
Spleen		0.501 g	0.435 g	10.4	-7.4	2.8	-11.5	-12.0	-20.7**
Thymus		0.359 g	0.368 g	11.1	-12.4	6.4	-13.6	-15.6	-35.9***
Histopathology (end of dosing period):									
Number examined:		10	10	10	10	10	9	10	10
Lymph node, mesenteric									
Germinal center absence									
	Present	3	3	2	3	9	7	7	8
Germinal center development									
	Minimal	4	6	8	7	1	2	3	1
	Slight	3	1	0	0	0	0	0	1
Number examined:		10	10	10	10	9	9	10	10
Lymph node, mandibular									
Germinal center absence									
	Present	2	0	0	0	1	0	3	6
Germinal center development									
	Minimal	2	0	5	7	8	7	7	4
	Slight	3	3	5	3	0	2	0	0
	Moderate	3	7	0	0	0	0	0	0

‡=dose level increased from 90 mg/kg to 120 mg/kg from the start of Week 6.
[a]=adjusted for terminal body weight. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
ANCOVA and Dunnett's test: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.
F=female; M=male.

表 2.6.7.7.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.4（続き）

Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**10**		**30**		**90/120‡**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals:	**Toxicity**	10	10	10	10	10	10	10	10
	Recovery	5	5	0	0	0	0	5	5
	Immunotoxicity	6	6	6	6	6	6	6	6
Histopathology (end of dosing period):									
Number examined:		10	10	10	10	10	9	10	10
Spleen									
Hemopoiesis									
	Minimal	2	5	6	1	5	2	9	8
	Slight	7	3	3	5	5	2	0	2
	Moderate	1	2	1	4	0	5	0	0
Decreased cellularity, marginal zone									
	Minimal	0	0	0	0	0	0	5	1
	Slight	0	0	0	0	0	0	4	6
	Moderate	0	0	0	0	0	1	1	2
Number examined:		10	10	10	10	10	8	10	10
Thymus									
Decreased cellularity, medulla									
	Minimal	0	0	0	0	3	5	7	8
	Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Atrophy									
	Minimal	0	1	0	1	0	1	1	2
	Slight	0	0	0	0	0	0	0	1

‡=dose level increased from 90 mg/kg to 120 mg/kg from the start of Week 6.
F=female; M=male.

表 2.6.7.7.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.4（続き）

Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**10**		**30**		**90/120‡**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals:	**Toxicity**	10	10	10	10	10	10	10	10
	Recovery	5	5	0	0	0	0	5	5
	Immunotoxicity	6	6	6	6	6	6	6	6
Histopathology (end of dosing period):									
Number examined:		10	10	10	10	10	9	10	10
Sternum and marrow									
Marrow fat									
	Minimal	2	5	9	8	9	8	9	8
	Slight	0	0	0	0	1	1	1	0
Number examined:		10	10	10	10	10	9	10	10
Liver									
Inflammatory cell foci									
	Minimal	7	8	7	9	9	5	2	0

‡=dose level increased from 90 mg/kg to 120 mg/kg from the start of Week 6.
F=female; M=male.

表 2.6.7.7.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.4（続き）

Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**10**		**30**		**90/120‡**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of recovery animals	5	5	0	0	0	0	5	5
Recovery evaluation:								
Body weight change (%)[a]								
Recovery period: Days 1-22	13.9g	5.2g	N/A	N/A	N/A	N/A	50.4	-48.1
Hematology								
Week 17 (recovery Week 4)								
Reticulocytes (10^9/L)	194.5	143.8	N/A	N/A	N/A	N/A	222.0	223.8**
Neutrophils (10^9/L)	0.80	0.59[1]	N/A	N/A	N/A	N/A	1.18**	1.59*[1]
Monocytes (10^9/L)	0.06	0.06[1]	N/A	N/A	N/A	N/A	0.07	0.11**[1]
Mean cell volume (fl)	51.5[1]	53.6	N/A	N/A	N/A	N/A	50.8[1]	55.5*
Clinical biochemistry								
Week 17 (recovery Week 4)								
Aspartate aminotransferase (IU/L)	67	68[1]	N/A	N/A	N/A	N/A	92	93**[1]
Alanine aminotransferase (IU/L)	32	35	N/A	N/A	N/A	N/A	49	45
Total protein (g/L)	69	73	N/A	N/A	N/A	N/A	67	69
Albumin (g/L)	45	51	N/A	N/A	N/A	N/A	44	49
Urinalysis								
Week 17 (recovery Week 4)								
Specific gravity	1.052	1.036	N/A	N/A	N/A	N/A	1.042	1.051*

‡=dose level increased from 90 mg/kg to 120 mg/kg from the start of Week 6.
[a]=For controls, absolute group means (g) are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
Two sample t-test: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.
[1]=rank transformed data: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.
F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.

表 2.6.7.7.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.4（続き）

Dose (mg/kg/day):	**0 (Control)**		**10**		**30**		**90/120‡**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of recovery animals	5	5	0	0	0	0	5	5
Recovery evaluation:								
Immunophenotyping:								
Week 17 (recovery Week 4)								
CD3 (cells/µL)	1,925	1,162[1]	N/A	N/A	N/A	N/A	1,692	2,090*[1]
CD4 (cells/µL)	1,356	866[1]	N/A	N/A	N/A	N/A	1,203	1,471*[1]
CD8 (cells/µL)	546	278	N/A	N/A	N/A	N/A	462	577*
CD45RA (cells/µL)	1,261	631	N/A	N/A	N/A	N/A	1,622*	1,196***
CD161a (cells/µL)	115	139	N/A	N/A	N/A	N/A	150	95
Histopathology:								
Number examined:	5	5	0	0	0	0	5	5
Lymph node, mandibular								
Germinal center development								
Minimal	2	1	N/A	N/A	N/A	N/A	0	0
Slight	2	3	N/A	N/A	N/A	N/A	2	3
Moderate	0	1	N/A	N/A	N/A	N/A	3	2
Spleen								
Hemopoiesis								
Minimal	3	2	N/A	N/A	N/A	N/A	1	1
Slight	2	3	N/A	N/A	N/A	N/A	4	1
Moderate	0	0	N/A	N/A	N/A	N/A	0	3
Sternum and marrow								
Marrow fat								
Minimal	3	4	N/A	N/A	N/A	N/A	3	0
Slight	0	0	N/A	N/A	N/A	N/A	2	0

‡=dose level increased from 90 to 120 mg/kg from the start of Week 6.
Statistics: two sample t-test: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.
[1]=rank transformed data: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.
Note: CD3=total T-lymphocytes (CD3+), CD4=helper T-lymphocytes (CD3+/CD4+), CD8=cytotoxic T-lymphocytes (CD3+/CD8+), CD45A=B-lymphocytes (CD3-/CD45RA+) and CD161a=natural killer (NK) lymphocytes (CD3-/CD161a+).
F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.

2.6.7.7.3 ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験

表 2.6.7.7.3-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.5

Report Title:	**26-Week oral (gavage) administration toxicity study in the rat followed by a 4-week treatment-free period**				
Species/Strain:	Rat Crl:WI(Han)	**Duration of Dosing:**	26 Weeks (23 weeks for female animals of the 120 mg/kg/day group)	**Test Article:**	Leniolisib
Initial Age:	9 to 11 Weeks	**Duration of Postdose:**	4 Weeks	**Study Number**	[redacted]
Date of First Dose:	9[redacted]20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (Gavage)	**CTD Section:**	4.2.3.2.5
		Vehicle/Formulation:	Suspension in aqueous 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80	**GLP Compliance:**	Yes
Special Features:	Immunocytochemical analysis into testicular germ cell maturation was performed.				
No Observed Adverse Effect Level:	15 mg/kg/day				

Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**15**		**40**		**120**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F***
Number of animals:	**Toxicity**	20	20	20	20	20	20	20	17
	Recovery	10	10	0	0	0	0	10	13
Toxicokinetics	**$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)**								
	Day 1	N/A	N/A	14,300	27,700	43,600	117,000	144,000	240,000
	Day 159	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	311,000
	Day 181	N/A	N/A	13,600	25,900	55,800	83,600	142,000	N/A
	C_{max} (ng/mL)								
	Day 1	N/A	N/A	4,450	9,690	10,700	21,100	15,000	25,000
	Day 159	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	33,900
	Day 181	N/A	N/A	4,560	6,760	13,100	19,100	22,300	N/A

*=number of animals in toxicity and recovery subgroups were amended to ensure 10 high dose females (i.e., 120 mg/kg/day) commenced the recovery phase.
F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.

表 2.6.7.7.3-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.5（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**15**		**40**		**120**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals: Toxicity	20	20	20	20	20	20	20	17
Recovery	10	10	0	0	0	0	10	13
Noteworthy findings								
Died or sacrificed moribund#	0	0	1	1	0	2	2	17
Body weight change (%)[a]								
Days 1-183/162	201.6 g	76.2 g	-10	-9	-13	-20***	-39***	-23***
Days 1-29	65.5 g	33.7 g	-7.0	-8.0	-6.0	-10.1	-28.0***	-9.2
Days 29-57	43.0 g	14.7 g	-15.1*	-18.4	-13.7*	-13.6	-23.7***	-21.8
Days 57-92	31.3 g	10.1 g	-12.5	-27.7	-30.0**	-73.3***	-41.2***	-81.2***
Days 92-183/162	61.8 g	17.7 g	-12.6	7.9	-11.0	-16.9	-56.6***	-29.9
Food consumption (%)[a]	21.3 g	15.7 g	-2	1	-2	-3	-4	3
Clinical observations								
Total number of sores lesions	9	2	15	2	1	15	46	90
Minimal	6	2	14	2	1	7	44	63
Moderate	3	0	1	0	0	8	2	27
Salivation								
Minimal	0	0	10	10	13	8	15	16
Moderate	0	0	3	4	8	7	12	14
Severe	0	0	0	0	1	1	0	2
Clinical observations postdosing								
Salivation	0	0	3	3	15	14	12	15
Mouth rubbing	0	0	19	17	20	20	14	17
Paddling	0	0	1	0	20	17	8	14

#=nine females from the 120 g/kg/day group were removed from study from Week 7 due to skin sores. Final sacrifice of the remaining females of this group was in Week 24 (instead of Week 36) due to high morbidity in this group. One female of the 40 mg/kg/day group was removed from study in Week 22 due to skin sored and flaky skin with fur loss. One male of the 120 mg/kg/day group was removed from study in Week 2 due to a gastrointestinal tract lesion. Five other animals (i.e., one male and one female of both, the 15 and 120 mg/kg/day groups and one female of the 40 mg/kg/day group) were prematurely sacrificed due to demise related to dosing errors.
[a]=Body weight change and food consumption (measured over 7-day periods) mean from main and recovery rats: for males Days 1-183 and for females Days 1-162. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
Statistics ANOVA and Dunnett's * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001. -=no noteworthy findings; F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.

表 2.6.7.7.3-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.5（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**15**		**40**		**120**	
	M	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals: Toxicity	20	20	20	20	20	20	20	17
Recovery	10	10	0	0	0	0	10	13
Noteworthy findings								
Hematology Week 13 (Day 89/Day 90)								
Reticulocyte count (10^9/L)	221.2	210.8	215.6	200.1	235.3	201.3	256.8***	243.3*
White blood cell count (10^9/L)	6.5	4.0	5.4	3.7	5.3	3.9	5.6	4.7*
Neutrophil count (10^9/L)	1.13	0.64	1.49	0.79	1.19	0.96**	1.68**	1.15***
Lymphocyte count (10^9/L)	5.11	3.16	3.60**	2.74	3.88*	2.75	3.62**	3.29
Monocyte count (10^9/L)	0.08	0.07	0.10	0.09*	0.10*	0.11***	0.14***	0.15***
Platelet count (10^9/L)	809	867	827	869	974**	954	979**	1046**
Fibrinogen concentration (g/L)	1.57	1.38	1.59	1.36	1.59	1.42	1.61	1.53**
Hematology Week 26 (Day 180/Day 181)#								
Reticulocyte count (10^9/L)	182.9	150.0	172.0	165.6	201.6*	150.7	222.5***	347.6
White blood cell count (10^9/L)	5.1	3.1	4.4	3.4	4.1*	3.1	6.5	4.7
Neutrophil count (10^9/L)	1.06	0.73	1.47	0.98	1.11	0.91	2.36**	0.95
Lymphocyte count (10^9/L)	3.82	2.20	2.67**	2.21	2.80**	2.04	3.84	3.50
Monocyte count (10^9/L)	0.07	0.07	0.10*	0.09	0.09*	0.10**	0.16***	0.10
Platelet count (10^9/L)	875	801	923	859	1014**	903**	1126***	1023
Fibrinogen concentration (g/L)	1.51	1.18	1.58	1.18	1.53	1.20	1.87***	1.51
Serum chemistry Week 13 (Day 89/Day 90)								
Total protein concentration (g/L)	70	75	68	74	68	71**	65***	69***
Albumin concentration (g/L)	48	56	48	55	48	52*	47	51**
Globulin concentration (g/L)	22	20	20	19	20	19	18***	18
A:G ratio	2.3	2.9	2.4	2.9	2.5	2.8	2.7***	2.9

Statistics ANOVA and Dunnett's: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.
A:G=albumin:globulin; F=female; M=male.
#=blood samples for hematology and serum chemistry were taken from females of the 120 mg/kg/day group before sacrifice on Day 156 (no statistical analysis was performed on data of Day 156).

表 2.6.7.7.3-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.5（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**15**		**40**		**120**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals: Toxicity	20	20	20	20	20	20	20	17
Recovery	10	10	0	0	0	0	10	13
Noteworthy findings								
Serum chemistry Week 26 (Day 180/ Day 181)#								
Total protein concentration (g/L)	74	79	71*	77	72	74**	67***	71
Albumin concentration (g/L)	49	59	47	58	48	56	45***	52
Globulin concentration (g/L)	25	20	24	19	23	19	22**	19
A:G ratio	2.0	3.0	2.0	3.2	2.1	3.1	2.1	2.8
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights[b]								
Spleen	0.1452	0.1985	-4	-5	-6	-4	-2	7
Testis	0.7955	N/A	0	N/A	-10**	N/A	-6	N/A
Epididymis	0.3332	N/A	-4	N/A	-5	N/A	-5	N/A
Prostate	0.2157	N/A	-7	N/A	-8	N/A	-11	N/A

-=no noteworthy findings; A:G=albumin:globulin; F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.
Statistics ANOVA and Dunnett's: * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001.
[#]=blood samples for hematology and serum chemistry were taken from females of the 120 mg/kg/day group before sacrifice on Day 156.
[b]=Adjusted for terminal body weight (%). For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistics is based on actual data (and not on the percent difference).

表 2.6.7.7.3-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.5（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**15**		**40**		**120**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals: Toxicity	20	20	20	20	20	20	20	17
Recovery	10	10	0	0	0	0	10	13
Noteworthy findings								
Histopathology[c]:								
Number examined:	20	20	19	19	20	18	19	11
Lymphoid tissues:								
Lymph node, mesenteric:								
Germinal center, absence	4	10	13	11	16	17	17	6
Germinal center development:								
Minimal	8	8	5	8	3	1	2	0
Slight	8	2	1	0	0	0	0	0
Lymph node, mandibular:								
Germinal center, absence	0	1	2	1	3	2	8	7
Germinal center development:								
Minimal	4	4	7	6	13	11	10	4
Slight	9	7	8	10	4	5	0	0
Moderate	7	8	1	2	0	0	0	0
Peyer’s patches (GALT)								
Germinal center, absence	0	4	3	2	4	6	12	8
Germinal center development:								
Minimal	5	7	13	11	11	10	6	2
Slight	12	7	2	6	4	2	0	0
Moderate	1	0	0	0	0	0	0	0
Spleen								
Pigment:								
Minimal	13	13	16	8	17	9	8	8
Slight	1	7	1	11	2	9	9	3

F=female; GALT=gut-associated lymphoid tissue; M=male.
[c]=Histopathology data from females dosed at 120 mg/kg/day obtained from Day 165 (Week 24).

表 2.6.7.7.3-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.5（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**15**		**40**		**120**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals: Toxicity	20	20	20	20	20	20	20	17
Recovery	10	10	0	0	0	0	10	13
Noteworthy findings								
Histopathology[c]								
Number examined:	20	20	19	19	20	18	19	11
Spleen:								
Hemopoiesis:								
Minimal	12	7	14	11	11	11	8	10
Slight	8	13	3	8	7	7	6	1
Decreased cellularity marginal zone:								
Minimal	0	0	0	0	3	3	10	8
Slight	0	0	0	0	0	0	6	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	0
Increased cellularity PALS/reduced germinal center formation:								
Minimal	0	0	0	0	0	0	8	6
Slight	0	0	0	0	0	0	11	0
Thymus:								
Atrophy								
Minimal	0	0	1	0	0	0	4	3
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Sternum and marrow:								
Marrow fat								
Minimal	16	13	13	9	15	13	6	9
Slight	1	3	2	9	4	3	11	0
Moderate	0	0	0	0	1	0	2	0

F=female; M=male.
[c]=Histopathology data from females dosed at 120 mg/kg/day obtained from Day 165 (Week 24).

表 2.6.7.7.3-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.5（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**15**		**40**		**120**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals: Toxicity	20	20	20	20	20	20	20	17
Recovery	10	10	0	0	0	0	10	13
Noteworthy findings								
Histopathology[c]								
Number examined:	20	20	19	19	20	18	19	11
Tongue:								
Inflammation, subacute								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	3
Slight	0	0	1	0	0	0	5	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Dorsal skin:								
Inflammation, subacute, dermis/ epidermis								
Minimal	0	0	1	2	2	0	1	1
Slight	0	0	1	0	0	0	4	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	1
Liver								
Inflammatory cell foci								
Minimal	17	17	14	16	18	10	13	4
Prostate								
Decreased secretion								
Minimal	0	N/A	1	N/A	3	N/A	9	N/A
Slight	0	N/A	0	N/A	0	N/A	1	N/A
Testis								
Decreased germinal epithelium, focal								
Minimal	1	N/A	1	N/A	5	N/A	10	N/A
Immunohistochemistry in testis								
Staining index for c-Kit (median % positive cells)	12.1273	N/A	12.6677	N/A	11.9133	N/A	10.2951*	N/A

[c]=Histopathology data from females dosed at 120 mg/kg/day obtained from Day 165 (Week 24).
*=statistically significantly lower % of positive cells: statistical method and statistical key not specified.
F=female; M=male; N/A=not applicable.

表 2.6.7.7.3-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.5（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**15**		**40**		**120**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals in recovery groups	10	10	0	0	0	0	10	13
Noteworthy findings								
Body weight change absolute (%) (Recovery Days 1-29/Days 1-28)[a]	1.0g	-1.9g	N/A	N/A	N/A	N/A	4.9g (490%)	-8.7g (458%)
Hematology recovery Week 4 (Recovery Day 30/Day 27)[b]								
Reticulocyte count (10^9/L)	223.6	175.5	N/A	N/A	N/A	N/A	278.7**	191.1
White blood cell count (10^9/L)	4.8	3.2	N/A	N/A	N/A	N/A	6.4*	5.7***
Neutrophil count (10^9/L)	1.22	0.82	N/A	N/A	N/A	N/A	1.83*	1.55***
Lymphocyte count (10^9/L)	3.17	2.23	N/A	N/A	N/A	N/A	4.19	3.75***
Monocyte count (10^9/L)	0.14	0.10	N/A	N/A	N/A	N/A	0.17	0.17**
Platelet count (10^9/L)	797	739	N/A	N/A	N/A	N/A	913*	877*
Fibrinogen concentration (g/L)	1.29	1.11	N/A	N/A	N/A	N/A	1.39*	1.08
Serum chemistry recovery Week 3 (Recovery Day 23/Day 27)[b]								
Total protein concentration (g/L)	70	73	N/A	N/A	N/A	N/A	67	69*
Albumin concentration (g/L)	47	56	N/A	N/A	N/A	N/A	47	54
Globulin concentration (g/L)	23	17	N/A	N/A	N/A	N/A	21	15*
A:G ratio	2.1	3.2	N/A	N/A	N/A	N/A	2.3	3.5
Organ weights[c]								
Spleen	0.1486	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	13*	N/A
Testis	0.7143	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	6	N/A
Epididymis	0.3309	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2	N/A
Prostate	0.2009	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	12	N/A

[a]=For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. For males recovery period Day 1-29, for females recovery period Day 1 to Day 28.
[b]=Hematology: Males recovery Day 30 and Females recovery Day 27, Serum Chemistry: Males recovery Day 23 and Females recovery Day 27.
[c=]Adjusted for terminal body weight. For controls, group means (%) are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistics is based on actual data (and not on the percent difference).
F=female; A:G=albumin:globulin; M=male; N/A=not applicable/not assessed.
Statistics two-sample t-test: * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$.

表 2.6.7.7.3-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.5（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**15**		**40**		**120**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals in recovery groups	10	10	0	0	0	0	9	9
Noteworthy findings								
Histopathology:			N/A	N/A	N/A	N/A		
Lymphoid tissues:								
Lymph node, mesenteric:								
Germinal center, absence	5	9					4	3
Germinal center development:								
Minimal	4	1					5	5
Slight	0	0					0	1
Lymph node, mandibular:								
Germinal center, absence	3	1					0	0
Germinal center development								
Minimal	4	4					7	3
Slight	3	4					2	6
Spleen								
Pigment:								
Minimal	4	5					3	0
Slight	2	5					4	8
Hemopoiesis:								
Minimal	10	3					7	6
Slight	0	7					2	2
Moderate	0	0					0	1
Tongue								
Inflammation, subacute:								
Minimal	0	0					0	3
Slight	0	0					1	0

F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.

表 2.6.7.7.3-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.5（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**15**		**40**		**120**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals in recovery groups	**10**	**10**	**0**	**0**	**0**	**0**	**9**	**9**
Noteworthy findings								
Histopathology:			N/A	N/A	N/A	N/A		
Dorsal skin								
Inflammation, subacute, dermis/ epidermis								
Minimal	0	0					0	3
Slight	0	0					1	1
Moderate	0	0					0	1
Prostate								
Decreased secretion								
Minimal	0	N/A					2	N/A
Testis								
Decreased germinal epithelium, focal								
Minimal	0	N/A					6	N/A
Immunohistochemistry in testis								
Staining index for c-Kit (median % positive cells)	12.7726	N/A					14.9294	N/A

F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.

2.6.7.7.4 サルを用いた 13 週間反復投与毒性

表 2.6.7.7.4-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.9

Report Title:	13-Week oral gavage administration toxicity study in the cynomolgus monkey with a 4-week recovery phase				
Species/Strain:	Cynomolgus monkey	**Duration of Dosing:**	13 weeks	**Test Article:**	Leniolisib
Initial Age:	5 to 6 years	**Duration of Postdose:**	4 weeks	**Study Number**	[redacted]
Date of First Dose:	22 [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (gavage)	**CTD Section:**	4.2.3.2.9
		Vehicle/Formulation:	0.5% (w/v) methylcellulose, 0.5% (v/v) Tween 80	**GLP Compliance:**	Yes
Special Features:	Reduction of dose level during dosing phase; Toxicokinetic evaluation of skin samples (non-GLP)				
No Observed Adverse Effect Level:	20 mg/kg/day				

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control – Group 1)**		**40/20 (Group 2)**		**80/40 (Group 3)**		**160/120/60 (Group 4)**	
	on Days 1-91		40 mg/kg on Days 1-30 20 mg/kg on Days 31-91		80 mg/kg on Days 1 23 washout phase of 7 days 40 mg/kg on Days 31- 98		160 mg/kg on Days 1-13 washout phase of 5 days 120 mg/kg on Days 19-23 washout phase of 7 days 60 mg/kg on Days 31-105	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of animals: Main Study	3	3	3	3	3	3	3	3
Recovery	2	2	0	0	0	0	2	2
Premature death#	0	0	0	0	0	0	1	0
Toxicokinetics								
Day 31								
C_{max}	N/A	N/A	219	389	4,610	2,740	7,260	10,800
$C_{max/Dose}$	N/A	N/A	11.0	19.5	115	68.4	121	180
AUC_{0-24h}	N/A	N/A	775	1,330	17,900	9,740	33,100	43,600
$AUC_{0-24h/Dose}$	N/A	N/A	38.7	66.4	448	224	552	727
Day 85 (Group 2), Day 96 (Group 3) and Day 99 (Group 4)								
C_{max}	N/A	N/A	480	3,130	15,600	10,500	33,000	18,300
$C_{max/Dose}$	N/A	N/A	24.0	157	391	263	550	305
AUC_{0-24h}	N/A	N/A	1130	6,970	78,200	42,900	147,000	73,700
$AUC_{0-24h/Dose}$	N/A	N/A	56.6	348	1,960	1,070	2,440	1,230

C_{max} (ng/mL), C_{max}/Dose (ng/mL)/(mg/kg/day), AUC_{0-24h} (ng·h/mL), AUC_{0-24h}/Dose (ng·h/mL)/(mg/kg/day).
F=female; M=male; N/A=not assessed.
#=One male animal of Group 4 (160/120/60 mg/kg/day) died shortly after dosing on Day 90 due to regurgitation and subsequent aspiration of leniolisib.

表 2.6.7.7.4-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.9（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control – Group 1)**		**40/20 (Group 2)**		**80/40 (Group 3)**		**160/120/60 (Group 4)**	
Gender/Number of animals: Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Noteworthy findings								
Died or sacrificed moribund	-	-	-	-	-	-	1/5[A]	-
Body weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical observations	-	-	-	-	Soft/fluid feces +, increased salivation +, emesis[1]	Soft/fluid feces +, increased salivation +, emesis[1]	Soft/fluid feces +, increased salivation +, emesis[1]	Soft/fluid feces +, increased salivation +, emesis[1]
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum chemistry	-	-	-	-	-	-	Increased creatine kinase activity +	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

-=no noteworthy findings; +=mild; F=female; M=male.
[1]=After reduction in dose levels, emesis disappeared.
[A]=Regurgitation and subsequent aspiration of the test article

表 2.6.7.7.4-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.9（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control – Group 1)		40/20 (Group 2)		80/40 (Group 3)		160/120/60 (Group 4)	
Gender/Number of animals: Main	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Recovery	M: 2	F: 2	M: 0	F: 0	M: 0	F: 0	M: 2	F: 2
Immunophenotyping								
CD3+ T-cells (%)								
Predose (Day 2)	65.71	66.82	61.35	78.81	56.21	67.03	60.08	65.55
Predose (Day 10)	66.12	64.39	59.27	79.06	58.61	66.15	65.01	67.56
Dosing (Day 14)	68.46	68.10	68.29	84.48**	82.18	70.94	86.03**	82.96**
Dosing (Day 90/92/103)	74.45	72.38	77.85	83.20	66.96	70.68	73.87	76.88
CD3+CD4+ T-helper-cells (%)								
Predose (Day 2)	28.64	37.78	29.15	41.57	30.21	40.87	28.29	34.75
Predose (Day 10)	30.92	34.30	27.60	40.38	31.76	39.64	30.26	37.48
Dosing (Day 14)	31.47	38.71	33.33	46.46	43.89	41.97	44.54	48.23
Dosing (Day 90/92/103)	35.03	40.54	37.33	44.04	31.03	39.70	32.23	40.80
CD20+ B-cells (%)								
Predose (Day 2)	13.22	13.40	19.08	9.55	19.45	16.10	18.47	12.39
Predose (Day 10)	13.59	12.30	19.37	7.47	18.19	13.56	16.95	10.37
Dosing (Day 14)	14.07	11.22	14.25	6.99	9.07	8.98	6.43	9.81
Dosing (Day 90/92/103)	14.33	12.62	14.67	7.74	11.99	10.29	8.26	8.25
CD16+ NK-cells (%)								
Predose (Day 2)	22.29	18.55	20.57	12.97	22.28	16.53	16.35	23.02
Predose (Day 10)	21.71	21.68	22.66	16.41	22.30	21.57	16.37	22.29
Dosing (Day 14)	16.91	17.63	18.32	8.27*	8.63	20.23	6.89	8.36**
Dosing (Day 90/92/103)	15.01	13.82	11.94	9.66	21.54	20.38	15.90	17.52
Organ weights	-	-	-	-	-	-	-	-

-=no noteworthy findings; F=female; M=male.
ANOVA and Dunnett's *=p≤ 0.05, **=p≤ 0.01.

表 2.6.7.7.4-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.9（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control – Group 1)**		**40/20 (Group 2)**		**80/40 (Group 3)**		**160/120/60 (Group 4)**	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Gross pathology	-	-	-	-	1/3 Large intestine; abnormal green soft contents	-	1/5 Large intestine: abnormal green soft contents	1/5 Large intestine: abnormal green soft contents
Histopathology	-	-	-	-	2/3 intestinal tract: subacute to chronic inflammation	-	1/5 intestinal tract: subacute to chronic inflammation	1/5 intestinal tract: subacute to chronic inflammation
-=no noteworthy findings; F=female; M=male.								

2.6.7.7.5 サルを用いた 39 週間反復投与毒性試験

表 2.6.7.7.5-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.10

Report Title:	39-Week oral (gavage) administration toxicity study in the monkey followed by a 4-week treatment-free period				
Species/Strain:	Cynomolgus monkey	**Duration of Dosing:**	39 weeks	**Test Article:**	Leniolisib
Initial Age:	108 to 176 weeks	**Duration of Postdose:**	4 weeks	**Study Number**	[redacted]
Date of First Dose:	16 [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (gavage)	**CTD Section:**	4.2.3.2.10
		Vehicle/Formulation:	Aqueous 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80 (Polysorbate 80)/ Suspension	**GLP Compliance:**	Yes
Special Features:	-				
No Observed Adverse Effect Level:	20 mg/kg/day				

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**20**		**40**		**60**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals: Main	4	4	4	4	4	4	4	4
Recovery	2	2	0	0	0	0	2	2
Toxicokinetics $AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)								
Day 1	N/A	N/A	15,000	15,300	38,400	43,800	88,800	72,800
Week 16	N/A	N/A	17,200	6,780	52,800	31,300	76,200	39,200
Week 39	N/A	N/A	25,900	14,700	50,500	46,500	71,500	79,400
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	N/A	N/A	6,400	5,670	11,200	11,000	20,100	18,500
Week 16	N/A	N/A	7,390	3,920	16,300	13,400	18,900	9,850
Week 39	N/A	N/A	6,570	6,980	13,800	13,400	16,700	19,400
Noteworthy findings								
Died or sacrificed moribund[a]	0	0	2	1	1	0	0	0
Body weight change (%)[b]								
Days 1-274	0.76 kg	0.79 kg	-2.6	-20.3	18.4	-21.5	-3.9	-35.4
Days 1-29	0.09 kg	0.11 kg	-88.9	-27.3	-11.1	-36.4	-44.4	0
Days 29-92	0.20 kg	0.15 kg	-40.0	-46.7	-50	40	-25.0	13.3
Days 92-183	0.13 kg	0.18 kg	107.7	-38.9	153.9	-44.4	76.9	-44.4
Days 183-274	0.35 kg	0.37 kg	-22.9	-32.4	-20.0	-35.1	-14.3	-64.9

F=female; M=male; N/A=not assessed.
[a]=Mortality/moribundity considered to be related to enteric infection by *Campylobacter jejuni* and enteropathogenic *E. coli*.
[b]=For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Differences were considered as comparable to control.

表 2.6.7.7.5-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.10（続き）

Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**20**		**40**		**60**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals:	**Main**	4	4	4	4	4	4	4	4
	Recovery	2	2	0	0	0	0	2	2
Clinical observations									
Excretion									
Faeces, liquid		1	1	4	4	4	2	1	2
Faeces, loose		4	3	3	4	4	3	4	4
Faeces, soft		6	6	4	4	4	2	5	6
Electrocardiography									
QT-interval (ms) change from pre-treatment									
Week 25		+12	+3	+5	+18	+16	+34	+39	+13
Week 38		+2	+1	+15	+9	+19	+35	+37	+16
$QT_{c(B)}$-interval (ms) change from pre-treatment									
Week 25		+10	-3	-6	+17	+13	+26	+36	+7
Week 38		+7	+5	+39	+19	+30	+41	+43	+26
Hematology									
Eosinophils (10^9/L)	M/F								
Day 23/26		0.21	0.29	0.27	0.51	0.15	0.57	0.33	0.61
Day 86/89		0.25	0.34	0.80	0.45	0.32	0.54	0.42	0.63
Day 111/111		0.31	0.39	0.61	0.41	0.16	0.57	0.16	0.59
Day 177/180		0.42	0.78	1.45	0.84	0.36	1.24	0.66	0.89
Day 268/271		0.43	0.62	1.72	0.67	0.33	1.35	0.48	0.65

F=female; M=male; ms=milliseconds.

表 2.6.7.7.5-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.10（続き）

Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**20**		**40**		**60**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals:	**Main**	4	4	4	4	4	4	4	4
	Recovery	2	2	0	0	0	0	2	2
Clinical chemistry									
Albumin (g/L)									
	Day 23/26	50	47	48	47	51	47	46	47
	Day 86/89	48	46	47	45	48	46	44	45
	Day 111/111	47	46	46	45	44	45	41	43
	Day 120/120	47	45	46	45	46	45	42	44
	Day 177/180	45	45	43	44	46	43	41	43
	Day 268/271	46	46	43	44	47	42	40	43
Albumin/globulin ratio									
	Day 23/26	1.4	1.4	1.5	1.4	1.3	1.4	1.5	1.5
	Day 86/89	1.5	1.4	1.6	1.4	1.4	1.5	1.5	1.5
	Day 111/111	1.4	1.5	1.6	1.4	1.2	1.5	1.4	1.5
	Day 120/120	1.5	1.5	1.7	1.5	1.4	1.5	1.5	1.5
	Day 177/180	1.4	1.4	1.6	1.3	1.4	1.3	1.4	1.4
	Day 268/271	1.4	1.3	1.5	1.2	1.4	1.3	1.4	1.3
Histopathology									
Number examined:		4	4	2	3	3	4	4	4
Spleen									
Lymphoid depletion									
	Minimal	0	0	1	0	1	0	2	2
	Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
GALT/Peyer’s Patch									
Lymphoid depletion									
	Minimal	0	0	1	0	2	0	2	0

F=female; M=male.

表 2.6.7.7.5-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.10（続き）

Dose (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**20**		**40**		**60**	
Gender		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals:	**Main**	4	4	4	4	4	4	4	4
	Recovery	2	2	0	0	0	0	2	2
Histopathology									
Number examined		4	4	2	3	3	4	4	4
Mandibular lymph node									
Lymphoid depletion									
	Minimal	0	0	0	0	2	0	3	3
Number examined:		4	4	1	3	3	4	4	4
Thymus									
Lymphoid depletion									
	Minimal	0	1	0	0	1	1	2	2
	Slight	0	0	0	0	1	0	0	0
Number examined:		4	4	2	3	3	4	4	4
Colon									
Crypt micro abscess									
	Minimal	0	0	0	1	1	2	1	0
Caecum									
Crypt micro abscess									
	Minimal	0	0	0	0	1	1	0	0
	Slight	0	0	0	0	0	0	1	0
Erosion/ulcer									
	Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0
	Slight	0	0	0	0	0	0	1	0
Rectum									
Crypt micro abscess									
	Minimal	0	0	1	0	1	0	1	0
	Slight	0	0	0	0	1	0	0	0
Erosion/ulcer									
	Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0

F=female; M=male.

表 2.6.7.7.5-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.2.10（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**20**		**40**		**60**	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of recovery animals	2	2	0	0	0	0	2	2
Recovery evaluation								
Body weight change (%)[a]	0.23 kg	0.10 kg	N/A	N/A	N/A	N/A	+4.3	+300
Electrocardiography								
QT-interval (ms) change from pre-treatment	+5	-4	N/A	N/A	N/A	N/A	+30	-3
QTc(B)-interval (ms) change from pre-treatment	-4	+4	N/A	N/A	N/A	N/A	+32	+13
Hematology								
Eosinophils (10^9/L)								
Day 26	0.69	0.63	N/A	N/A	N/A	N/A	0.45	0.41
Clinical chemistry								
Albumin (g/L)								
Day 26	43	45	N/A	N/A	N/A	N/A	45	43
Albumin/Globulin Ratio								
Day 26	1.5	1.3	N/A	N/A	N/A	N/A	1.7	1.4
Histopathology								
Number examined:	2	2	0	0	0	0	2	2
Mandibular lymph node								
Lymphoid depletion								
Minimal	0	0	N/A	N/A	N/A	N/A	0	1
Thymus								
Lymphoid depletion								
Minimal	0	0	N/A	N/A	N/A	N/A	2	0
Colon								
Crypt micro abscess								
Minimal	0	1	N/A	N/A	N/A	N/A	0	1
Rectum								
Crypt micro abscess								
Minimal	0	1	N/A	N/A	N/A	N/A	0	1

[a]=Over the recovery period (Day 1 to Day 29). For controls, group means are shown. For treated groups, differences from controls are shown.
F=female; M=male; ms=milliseconds; N/A=not assessed.

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 *In vitro* 復帰突然変異試験（Ames 試験）

表 2.6.7.8.1-1 試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.3.1.1

Report Title: Reverse mutation in five histidine-requiring strains of *Salmonella typhimurium*

Test Article: Leniolisib

Test for Induction of: Reverse mutations (Ames)

Strains: *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA97a and TA102

Metabolizing System: Aroclor induced rat liver S9

Vehicle for Test Article: DMSO

Number of Independent Assays: 2

Number Of Replicate Cultures: 5 (vehicle), 3 (test article and positive control)

Number of Cells Analyzed/Culture: 10^8/plate

Vehicle for Positive Controls: DMSO (2NF, AAC, AAN, B[a]P) and Water (NaN_3, MMC)

Study Number: [redacted]

Location in CTD Section: 4.2.3.3.1.1

GLP Compliance: Yes

Treatment: Plate incorporation (Experiment 1 with and without activation and Experiment 2 without activation) and pre-incubation (Experiment 2 with activation)

Date of Treatment: 20[redacted] and 06 [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic effects: Evidence of toxicity in the form of a slight thinning of the background bacterial lawn was observed at 5,000 µg/plate in strains TA98, TA102 and TA97a in the absence of S9 and in strain TA102 in the presence of S9 in Experiment 1. Following Experiment 2 treatments, evidence of toxicity in the form of a slight thinning of the background bacterial lawn and a marked reduction in revertant numbers was observed in at 5000 µg/plate in strain TA102 in the absence of S9 only.
Genotoxic effects: None.

表 2.6.7.8.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.3.1.1（続き）

			Experiment 1 (plate incorporation)				
Metabolic activation	**Test article**	**Concentration (µg/plate)**	**Revertants/plate (mean ± SD)**				
			TA98	TA100	TA1535	TA102	TA97a
Without activation	DMSO		21±2	104±11	19±2	253±29	117±13
	Leniolisib	0.32	20±4	111±14	14±4	270±8	105±11
	Leniolisib	1.6	19±6	112±5	19±8	264±20	103±1
	Leniolisib	8	23±7	124±3	16±3	279±21	94±25
	Leniolisib	40	20±4	113±17	19±2	302±15	107±7
	Leniolisib	200	27±6	114±2	22±11	280±19	94±10
	Leniolisib	1,000	17±3	106±1	24±3	266±6	102±6
	Leniolisib	5,000	12±7 S	114±9	18±2	145±19 S	87±16 S
	Positive control	Compound	2NF	NaN_3	NaN_3	MMC	AAC
		Concentration (mg/plate)	5	2	2	0.2	100
		Revertants	612±63	436±8	395±85	777±30	678±100
			Experiment 1 (plate incorporation)				
			TA98	TA100	TA1535	TA102	TA97a
With activation	DMSO		32±4	120±21	15±3	269±10	148±8
	Leniolisib	0.32	25±8	135±15	17±5	252±18	192±34
	Leniolisib	1.6	31±4	121±10	20±5	275±17	183±26
	Leniolisib	8	31±4	142±8	17±6	279±17	181±14
	Leniolisib	40	30±5	138±20	15±2	278±18	184±4
	Leniolisib	200	36±9	137±13	20±4	259±20	185±8
	Leniolisib	1,000	34±8	139±10	11±2	191±43	147±17
	Leniolisib	5,000	35±5	131±21	15±5	162±43 S	128±24
	Positive control	Compound	B[a]P	AAN	AAN	AAN	AAN
		Concentration (mg/plate)	10	5	5	20	5
		Revertants	236±68	569±53	165±13	1,307±436	695±142

S=slight thinning of background bacterial lawn.
AAC=9-aminoacridine; AAN=2-aminoanthracene; B[a]P=benzo[a]pyrene; MMC=mitomycin C; 2NF=2-nitrofluorene; NaN_3=sodium azide; SD=standard deviation.

表 2.6.7.8.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.3.1.1（続き）

			Experiment 2 (plate incorporation)				
Metabolic activation	**Test article**	**Concentration (µg/plate)**	**Revertants/plate (mean ± SD)**				
			TA98	TA100	TA1535	TA102	TA97a
Without activation	DMSO		22±4	101±6	19±4	244±19	108±12
	Leniolisib	156.3	20±5	123±5	20±3	238±21	130±3
	Leniolisib	312.5	17±3	100±2	18±6	235±21	109±12
	Leniolisib	625	23±8	121±7	10±8	237±23	100±10
	Leniolisib	1,250	26±10	104±7	15±3	217±10	125±25
	Leniolisib	2,500	11±4	100±7	17±4	146±8	110±9
	Leniolisib	5,000	17±4	104±6	10±4	80±23 S	99±7
	Positive control	Compound	2NF	NaN_3	NaN_3	MMC	AAC
		Concentration (mg/plate)	5	2	2	0.2	100
		Revertants	543±22	606±45	581±21	744±84	568±47
			Experiment 2 (pre-incubation)				
			TA98	TA100	TA1535	TA102	TA97a
With activation	DMSO		38±3	123±12	21±6	237±23	140±39
	Leniolisib	156.3	30±10	135±16	15±3	200±12	119±16
	Leniolisib	312.5	30±4	151±26	11±4	236±23	98±20
	Leniolisib	625	25±9	131±6	16±6	223±16	119±3
	Leniolisib	1,250	28±3	143±9	18±4	215±20	112±18
	Leniolisib	2,500	31±4	124±7	16±4	207±29	102±17
	Leniolisib	5,000	32±4	127±14	14±3	210±16	105±9
	Positive control	Compound	B[a]P	AAN	AAN	AAN	AAN
		Concentration (mg/plate)	10	5	5	20	5
		Revertants	465±14	660±40	165±21	743±25	587±51

S=slight thinning of background bacterial lawn.
2NF=2-nitrofluorene; NaN_3=sodium azide; AAC=9-aminoacridine; MMC=mitomycin C; B[a]P=benzo[a]pyrene; AAN=2-aminoanthracene; SD=standard deviation.

2.6.7.8.2 *In vitro* 小核試験

表 2.6.7.8.2-1 試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.3.1.2

Report Title: Micronucleus test *in vitro* using TK6 cells.
Test for Induction of: Micronuclei and clastogenicity
Strains: TK6 cells (human lymphoblastoid origin)

Metabolizing System: S9-liver homogenate from male rats (Aroclor 1254-pretreated)
Vehicles:

Treatment: 20 hours (without S9), 3 hours (with/without S9)
Cytotoxic effects: Not indicated
Genotoxic effects: Neither clastogenic nor aneugenic

Test Article: Leniolisib
Number of Independent Assays: 2
Number Of Replicate Cultures: 2

Number of Cells Analyzed/Culture: 2,000 cells
For Test Article: DMSO

Date of Treatment: Not reported

Study Number: [redacted]
Location in CTD Section: [4.2.3.3.1.2]

For Positive Controls: Not indicated

GLP Compliance: No

Experiment 1									
Metabolic activation	**Test article**	**Concentration**	**% Cell growth (RPD)**	**% Cells with MN**	**Metabolic activation**	**Test article**	**Concentration**	**% Cell growth (RPD)**	**% Cells with MN**
With activation 3 hours	S9/DMSO	-	100.0	0.90	**Without activation 20 hours**	RPMI/DMSO	-	100.0	0.90
	Leniolisib	107.7 µg/mL	86.7	1.35		Leniolisib	38.7 µg/mL	77.4	1.05
	Leniolisib	179.7 µg/mL	80.9	0.70		Leniolisib	64.6 µg/mL	72.9	1.20
	Leniolisib	299.7 µg/mL	49.9	1.95		Leniolisib	107.7 µg/mL	58.6	1.90
	CP	17 µM	53.8	6.40		Leniolisib	179.7 µg/mL	30.2	ND
						EMS	120 µM	86.8	4.90

CPA=cyclophosphamide; EMS=ethyl-methanesulphonate; MN=micronucleus; ND=not determined (too toxic); RPD=relative population doubling; RPMI=medium.
% Cell growth=relative cell count in comparison with the concurrent negative control for measuring cytotoxicity.

表 2.6.7.8.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.3.1.2（続き）

Experiment 2									
Metabolic activation	**Test article**	**Concentration**	**% Cell growth (RPD)**	**% Cells with MN**	**Metabolic activation**	**Test article**	**Concentration**	**% Cell growth (RPD)**	**% Cells with MN**
With activation 3 hours	S9/DMSO	-	100.0	1.10	**Without activation 3 hours**	RPMI/DMSO	-	100.0	1.00
	Leniolisib	252.0 µg/mL	81.5	1.15		Leniolisib	158.7 µg/mL	85.6	1.30
	Leniolisib	293.9 µg/mL	67.1	1.20		Leniolisib	185.2 µg/mL	57.6	0.85
	Leniolisib	342.9 µg/mL	50.6	1.70		Leniolisib	216.0 µg/mL	53.5	0.85
	CP	17 µM	59.2	5.60		Leniolisib	252.0 µg/mL	44.7	1.25
						EMS	3.3 mM	61.5	4.90
					Without activation 20 hours	RPMI/DMSO	-	100.0	0.75
						Leniolisib	60.0 µg/mL	69.0	1.00
						Leniolisib	69.2 µg/mL	65.1	1.15
						Leniolisib	79.8 µg/mL	63.1	0.70
						Leniolisib	92.0 µg/mL	54.3	0.95
						EMS	120 µM	85.1	5.90

CPA=cyclophosphamide; DMSO=Dimethylsulfoxide; EMS=ethyl-methanesulphonate; MN=micronucleus; RPD=relative population doubling; RPMI=medium.
% Cell growth=relative cell count in comparison with the concurrent negative control for measuring cytotoxicity.

2.6.7.8.3 *In vitro* 染色体異常試験

表 2.6.7.8.3-1 試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.3.1.3

Report Title: Induction of Chromosome Aberrations in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes
Test Article: Leniolisib
Test for Induction of: Chromosome aberrations
Number of Independent Assays: 2
Study Number: [redacted]
Strains: Primary human lymphocytes
Number Of Replicate Cultures: 4 (vehicle) 2 (test article and positive controls)
Location in CTD Section: 4.2.3.3.1.3
Metabolizing System: Aroclor 1254 induced rat liver S9
Number of Cells Analyzed/Culture: 100 (where possible/appropriate)
Vehicles: **For Test Article**: Dimethyl sulfoxide (DMSO)
For Positive Controls: DMSO
GLP Compliance: Yes
Treatment: Continuous treatment for 20 hours without S9; pulse treatment for 3 hours with and without S9, recovery time 17 hours
Date of Treatment:
Experiment 1=28 [redacted] 20[redacted]
Experiment 2=13 [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic effects: Concentration-related decreases in mitotic indices.
Genotoxic effects: No effects observed in the absence of S9 following 3+17 hours and 20+0 hours treatments. Small increases observed at the highest concentrations analyzed 3+17 hours in the presence of S9 in both experiments. As these increases were small, may be related to relatively high levels of cytotoxicity in the precipitating range at the start of treatment and with poor reproducibility between experiments, they were considered of questionable biological relevance.

Experiment 1: 3-hours treatment in the absence of S9, 17-hours recovery

Metabolic activation	Test article	Concentration (µg/mL)	Cytotoxicity[a] (%)	Aberrant cells mean (%)	Abs/cell	Total polyploid cells
Without activation	DMSO	-	-	0.50	0.005	0
	Leniolisib	25.00	7	3.00	0.035	0
	Leniolisib	100.0	29	0.53	0.016	0
	Leniolisib	200.0	43	1.35	0.014	0
	Leniolisib	300.0	52 P	0.50	0.005	3
	4-Nitroquinoline 1-oxide	5.00	ND	15.68***	0.259	0

Fisher's exact test: * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001.
[a]=Based on mitotic inhibition.
DMSO=Dimethylsulfoxide; ND=not determined; P=precipitation observed at the beginning of the treatment incubation period.

表 2.6.7.8.3-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.3.1.3（続き）

Experiment 1: 3-hours treatment in the presence of S9, 17-hours recovery						
Metabolic activation	**Test article**	**Concentration (µg/mL)**	**Cytotoxicity[a] (%)**	**Aberrant cells mean (%)**	**Abs/cell**	**Total polyploid cells**
With activation	DMSO	-	-	0.00	0.000	0
	Leniolisib	25.00	2	1.00	0.015	0
	Leniolisib	100.0	33	1.00	0.010	0
	Leniolisib	200.0	44	1.00	0.010	2
	Leniolisib	325.0	50 P	2.50	0.025	1
	Cyclophosphamide	6.25	ND	48.78***	0.744	0
Experiment 2: 20-hours treatment in the absence of S9, 0-hours recovery						
Metabolic activation	**Test article**	**Concentration (µg/mL)**	**Cytotoxicity[a] (%)**	**Aberrant cells mean (%)**	**Abs/cell**	**Total polyploid cells**
Without activation	DMSO	-	-	0.00	0.000	2
	Leniolisib	5.000	3	1.00	0.010	1
	Leniolisib	10.00	15	0.50	0.005	4
	Leniolisib	30.00	27	0.00	0.000	2
	Leniolisib	60.00	52	1.00	0.010	3
	4-Nitroquinoline 1-oxide	5.00	ND	52.63***	1.132	0
Experiment 2: 3-hours treatment in the presence of S9, 17-hours recovery						
Metabolic activation	**Test article**	**Concentration (µg/mL)**	**Cytotoxicity[a] (%)**	**Aberrant cells mean (%)**	**Abs/cell**	**Total polyploid cells**
With activation	DMSO	-	-	0.00	0.000	2
	Leniolisib	20.00	0	0.00	0.000	2
	Leniolisib	80.00	20	0.00	0.000	1
	Leniolisib	200.0	24	0.00	0.000	5
	Leniolisib	350.0	46 P	4.00**	0.055	12
	Cyclophosphamide	12.50	ND	42.11***	0.695	0

Fisher's exact test: * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001
a=Based on mitotic indices.
DMSO=Dimethylsulfoxide; ND=not determined.
P=precipitation observed at the beginning of the treatment incubation period.

2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1 ラットを用いた骨髄小核の *in vivo* 誘発試験

表 2.6.7.9.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.3.2.1

Report Title: Induction of micronuclei in the bone marrow of treated rats

Test Article: Leniolisib

Test for Induction of: Bone marrow micronuclei

Treatment Schedule: Two administrations (once daily for 2 consecutive days)

Study Number: [redacted]

Species/Strain: Han Wistar rats (male)

Sampling Time: 24h after the last dose administration.

Location in CTD: 4.2.3.3.2.1

Age: 8 weeks

Method of Administration: Oral gavage

Cells Evaluated: Polychromatic erythrocytes (PCE)

Vehicle/Formulation: CMC-Na 0.5% v/v/Tween 80 0.5% v/v/water 99% v/v (Test article).
Saline (positive control)

GLP compliance: Yes

Number of Cells Analyzed/Animal: 2,000 PCE

Positive Control: Cyclophosphamide (CPA). Single oral dose.

Date of Dosing: 19th and 20th [redacted] 20[redacted]

Special Features: None.

Toxic/Cytotoxic Effects: At 350 and 700 mg/kg/day, clinical signs included excessive secretion of saliva and mouth rubbing (these are likely to have been a result of the taste of the formulation rather than true clinical signs of toxicity).

Genotoxic Effects: None.

Evidence of Exposure: Not determined.

Test article	Dose (mg/kg/day)	Sampling time (hours)	Number of animals/gender	Group mean % PCE	Group mean % micronucleated PCE (± SD)
CMC-Na 0.5% v/v/Tween 80 0.5% v/v/water 99% v/v	0	24	6M	32.95	0.12 ± 0.06
Leniolisib	175	24	6M	38.78	0.15 ± 0.09
Leniolisib	350	24	6M	38.80	0.16 ± 0.07
Leniolisib	700	24	6M	39.43	0.18 ± 0.13
Cyclophosphamide (CPA)	20	24	6M	44.12	1.49 ± 0.32***
M=male; PCE=polychromatic erythrocytes; SD=standard deviation. Chi-squared test: * p≤0.05, ** p≤0.01, *** p≤0.001.					

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.1 マウスを用いた 7 日間予備的（忍容性）がん原性試験

表 2.6.7.10.1-1 試験番号 [redacted]17-001、資料番号 4.2.3.4.2.1

Report Title: 7-Day oral dose tolerability study in the mice
Species/Strain: Mouse CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt
Initial/Age: 6 to 7 weeks old
Date of first Dose: 08 [redacted] 20[redacted]

Test Article: Leniolisib
Duration of Dosing: 7 Days
Method of Administration: Oral (gavage)
Vehicle/Formulation: suspension in 0.5% (w/w) methylcellulose, 0.5% (w/w) Tween 80 (Polysorbate 80) aqueous solution
Treatment of Controls: Vehicle

Study Number: [redacted]17-001
Location in CTD: 4.2.3.4.2.1
GLP Compliance: Yes

Basis for high-dose selection: Based on the results of a previous 2-week rat toxicity study where mortality occurred during the first week of treatment at 300 mg/kg/day and adverse histopathological lesions were observed at ≥50 mg/kg/day.
Special features: -

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**60**		**120**		**240**	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Principal animals	5	5	5	5	5	5	5	5
Number of animals (principal)								
At start	5	5	5	5	5	5	5	5
Died/sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Terminal sacrifice	0	0	0	0	0	0	0	0
Survival (%)	100	100	100	100	100	100	100	100
Body weight change (g)[a]	0.0	0.2	-0.2	0.3	-0.1	0.0	0.4	0.5
Food consumption (%)[b] Day 1 to Day 4	3.9	3.6	4.6	3.7	-4.7	-3.0	-8.0	4.3
Day 4 to Day 7	4.1	3.7	9.9	5.2	0.3	-2.2	-9.3	7.1

[a]=Body weight change from Day 1 to Day 7 in grams.
[b]=Mean food consumption. For control, group means are shown (g/day). For treated groups, percent differences from controls are shown.
F=female; M=male.

表 2.6.7.10.1-1 試験番号 [redacted]17-001、資料番号 4.2.3.4.2.1（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**60**		**120**		**240**	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Principal animals	5	5	5	5	5	5	5	5
Noteworthy findings:								
Organ weights[a]								
Liver (mean % body)	4.18	4.29	4.23	4.31	4.40	4.38	4.67**	4.50
Spleen (mean % body)[b]	0.28349	0.35653	0.24665	0.33723	0.25507	0.34337	0.25330	0.27919*

[a]=Relative-to-body organ weights (%) at necropsy.
[b]=Spleen weights of both genders were lower than control animals in all test article-treated groups. In absence of dose-related effect, this might be attributable to stress. However, a test article-related effect could not be excluded linked to its pharmacological activity.
F=female; M=male.
*/**=Dunnett's test based on pooled variances at 5% (*) or 1% (**) level.

2.6.7.10.2 マウスを用いた 4 週間予備的（用量設定）がん原性試験

表 2.6.7.10.2-1 試験番号 [redacted]1462、資料番号 4.2.3.4.2.2

Report Title: 4-Week oral (gavage) toxicity study in CB6F1-nonTgrasH2 WildType mice
Species/Strain: Mouse CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt
Initial/Age: 7 weeks
Date of first Dose: 19[redacted] 20[redacted]

Test Article: Leniolisib
Duration of Dosing: 4 weeks
Method of Administration: Oral (gavage)
Vehicle/Formulation: suspension in 0.5% (w/w) methylcellulose, 0.5% (w/w) Tween 80 (Polysorbate 80) aqueous solution
Treatment of Controls: Vehicle

Study Number: [redacted]1462
Location in CTD: 4.2.3.4.2.2
GLP Compliance: Yes

Basis for high-dose selection: Based on the results of a previous 7-day tolerability study performed in mice (Study [redacted]17-001).
Special Features: -

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**100**		**240**		**500**	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Principal Animals	10	10	10	10	10	10	10	10
Number of animals (toxicokinetic animals)								
At start	3	3	18	18	18	18	18	18
Died/sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	18†	18†
Terminal sacrifice	3	3	18	18	18	18	0	0
Toxicokinetics $AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)								
Day 1	N/A	N/A	25,200	45,100	72,000	72,100	231,000	198,000
Day 28	N/A	N/A	37,100	50,800	65,500	119,000	N/A#	N/A#
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	N/A	N/A	10,300	9,220	18,300	20,900	25,100	35,600
Day 28	N/A	N/A	15,100	11,300	16,400	27,200	N/A#	N/A#

F=female; M=male; N/A=not assessed.
#=not assessed because of premature(ly) death/euthanized.
†=At 500 mg/kg/day, 2 of 18 satellite males were found dead on Day 4 or Day 5 and all remaining animals of this group were prematurely euthanized between Day 4 and Day 7 due to numerous and overt signs of toxicity (see more information on next page ††).

表 2.6.7.10.2-1 試験番号 [redacted]1462、資料番号 4.2.3.4.2.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**100**		**240**		**500**	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Principal animals	10	10	10	10	10	10	10	10
Toxicokinetic animals	3	3	18	18	18	18	18	18
Number of animals (principal)								
At start	10	10	10	10	10	10	10	10
Died/sacrificed moribund	0	0	0	0	0	2††	10†††	10†††
Terminal sacrifice	10	10	10	10	10	8	0	0
Survival (%) (principal)	100	100	100	100	100	80	0	0
Body weight change (%)[a] (principal animals)	+2.1 (g)	+2.1 (g)	-18	+28	-36	-33	N/A[#]	N/A[#]
Food consumption (%)[b] (principal animals)	4.3 (g/day)	4.1 (g/day)	-11	-1.7	-14†	-4.9	N/A[#]	N/A[#]
Clinical observations (principal animals)								
Loss of whiskers	-	-	-	-	3	-	-	-
Loss of balance	-	-	-	-	1	-	-	-
Clinical observations (satellite animals)								
Loss of whiskers	-	-	-	-	-	-	1	-
Loss of balance	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	N/A	N/A	-	-	N/A	N/A

[a]=Body weight change from Day 1 to Day 28. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on the actual data (not on the percent differences).
[b]=Food consumption recorded in Week 4. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on the actual data (not on the percent differences).
††=at 240 mg/kg/day, 2 of 10 principal females died during the study; one was prematurely euthanized on Day 8 and another was found dead on Day 25. Microscopic findings in the first animal were similar to those observed in mice euthanized after 4 weeks (decreased/increased cellularity in mandibular lymph nodes, increased cellularity in mesenteric lymph nodes and in spleen, along with decreased lymphoid cellularity (medullary) in the thymus. Cause of death of the second animals at 240 mg/kg/day was undetermined but assumed to be consecutive to the test article due to the dosage relationship.
†††=at 500 mg/kg/day, 3 of 10 principal were found dead on Day 4 or Day 5 and all remaining animals of this group were prematurely euthanized between Day 4 and Day 7 due to numerous and overt signs of toxicity. Body weight losses were recorded in almost all animals. Prematurely euthanized animals had generally low hematocrit and mean cell volume, considered linked to their poor health status, and low lymphocyte and reticulocyte counts, most probably consecutive to decreased cellularity noted in various lymphoid tissues. The primary cause of mortality or morbidity leading to their premature sacrifice were e series of stomach findings (squamous hyperplasia, ulceration and/or mixed cell inflammation of the non-glandular stomach) reflecting possible irritant properties of the test article.
-=no noteworthy findings; #=not assessed (animals died or sacrificed); F=female; M=male; N/A=not assessed.
Statistics Kruskal-Wallis: * $p<0.05$, ANOVA and Dunnett: [x] $p<0.05$.

表 2.6.7.10.2-1 試験番号 [redacted]1462、資料番号 4.2.3.4.2.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**100**		**240**		**500**	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Principal animals	10	10	10	10	10	10	10	10
Toxicokinetic animals	3	3	18	18	18	18	18	18
Number of animals (principal)								
At start	10	10	10	10	10	10	10	10
Died/sacrificed moribund‡	0	0	0	0	0	2	10	10
Terminal sacrifice	10	10	10	10	10	8	0	0
Hematology								
White blood cells (10^9/L)	1.62	1.85	1.20	1.25	0.83	1.03	N/A	N/A
Lymphocytes (10^9/L)	1.25	1.44	0.84	0.87	0.60	0.69*	N/A	N/A
Blood chemistry								
Potassium (mmol/L)	4.74	5.52	3.98	3.85*	3.68	3.74*	N/A	N/A
Triglyceride (mmol/L)	0.59	0.71	0.38*	0.86	0.38*	0.32*	N/A	N/A
Total bilirubin (µmol)	1.19	0.50	3.52***	1.19	6.46***	5.14***	N/A	N/A
Alkaline phosphatase activity (IU/L)	181	254	236*	321	248**	310	N/A	N/A
Organ weight								
Number examined:	10	10	10	10	10	8	0	0
Spleen (mg)	67.5	73.8	56.4*	67.7	54.5**	65.3*	N/A	N/A
Thymus (mg)	45.8	56.3	43.1	54.8	36.3**	44.3*	N/A	N/A

‡=at 240 mg/kg/day, 2 of 10 principal females died during the study; one was prematurely euthanized on Day 8, and another was found dead on Day 25. Microscopic findings in the first animal were similar to those observed in mice euthanized after 4 weeks (decreased/increased cellularity in mandibular lymph nodes, increased cellularity in mesenteric lymph nodes and in spleen, along with decreased lymphoid cellularity (medullary) in the thymus. Cause of death of the second animals at 240 mg/kg/day was undetermined but assumed to be consecutive to the test article due to the dosage relationship. At 500 mg/kg/day, 3 of 10 principal and 2 of 18 satellite males were found dead on Day 4 or Day 5 and all remaining animals of this group were prematurely euthanized between Day 4 and Day 7 due to numerous and overt signs of toxicity. Body weight losses were recorded in almost all animals. Prematurely euthanized animals had generally low hematocrit and mean cell volume, considered linked to their poor health status, and low lymphocyte and reticulocyte counts, most probably consecutive to decreased cellularity noted in various lymphoid tissues. The primary cause of mortality or morbidity leading to their premature sacrifice were e series of stomach findings (squamous hyperplasia, ulceration and/or mixed cell inflammation of the non-glandular stomach) reflecting possible irritant properties of the test article.
F=female; M=male; N/A=not assessed.
Statistics Dunnett's test: * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$

表 2.6.7.10.2-1 試験番号 [redacted]1462、資料番号 4.2.3.4.2.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**100**		**240**		**500**	
Number examined/gender:	10M	10F	10M	10F	10M	8F	0M	0F
Number of animals with neoplastic lesions:	-	-	-	-	-	-	-	-
Noteworthy findings:								
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology - non-neoplastic lesions								
Liver (number examined)	10	10	10	10	10	8	N/A	N/A
Hepatocellular hypertrophy, centrilobular								
Total	0	0	2	0	8	2		
Minimal	0	0	2	0	4	2		
Mild	0	0	0	0	4	0		
Lymph node, mandibular (number examined)	9	10	9	10	10	8	N/A	N/A
Cellularity decreased, lymphoid, germinal center								
	2	4	7	8	8	7		
Minimal								
Cellularity increased, lymphoid, follicle	0	0	2	5	4	4		
Total	0	0	1	2	2	0		
Minimal	0	0	1	3	2	4		
Mild	10	10	10	10	10	8	N/A	N/A
Lymph node, mesenteric (number examined)								
Cellularity decreased, lymphoid, germinal center	0	1	5	3	8	7		
Total	0	1	4	3	6	3		
Minimal	0	0	1	0	2	4		
Mild								
Cellularity increased, lymphoid, follicle	0	0	0	3	3	5		
Total	0	0	0	2	3	3		
Minimal	0	0	0	1	0	2		
Mild	10	10	10	10	10	8	N/A	N/A
Spleen (number examined)								
Cellularity increased, lymphoid, periarteriolar lymphoid sheath	0	0	10	9	10	8		
Total	0	0	9	3	2	4		
Minimal	0	0	1	6	8	4		
Mild								

-=no noteworthy findings; F=female; M=male; N/A=not assessed.

表 2.6.7.10.2-1 試験番号 [redacted]1462、資料番号 4.2.3.4.2.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**100**		**240**		**500**	
Number examined (premature deaths)/gender:	0M	0F	0M	0F	0M	2F	10M	10F
Number examined:								
Histopathology premature deaths								
Bone marrow, sternum (number examined)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2	10	10
Myeloid to erythroid ratio, increased						2	5	10
Total						0	3	8
Mild						0	1	5
Moderate						0	2	3
Gland, Adrenal (number examined)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2	10	10
Hypertrophy; cortical								
Total						0	4	0
Minimal						0	3	0
Mild						0	1	0
Subcapsular hyperplasia						1	0	4
Total						1	0	4
Minimal								
Kidney (number examined)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2	10	10
Vacuolation; cortical, tubular						0	5	0
Total						0	4	0
Minimal						0	1	0
Mild						0	1	0
Congestion; agonal						0	1	0
Minimal								
Liver (number examined)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2	10	10
Hypertrophy; centrilobular, hepatocellular						0	3	0
Total						0	1	0
Minimal						0	2	0
Mild						0	1	0
Vacuolation; periportal, Total						0	1	0
Minimal								

F=female; M=male; N/A=not applicable.

表 2.6.7.10.2-1 試験番号 [redacted]1462、資料番号 4.2.3.4.2.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0(Control)**		**100**		**240**		**500**	
Number examined (premature deaths)/gender:	0M	0F	0M	0F	0M	2F	10M	10F
Lymph node, mandibular (number examined)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1	6	10
Cellularity, decreased; lymphoid						0	1	0
Mild						0	1	0
Cellularity, decreased; lymphoid, germinal center						1	5	10
Minimal						1	4	10
Mild						0	1	0
Cellularity, increased; lymphoid, follicle						1	0	0
Mild						1	0	0
Lymph node, mesenteric (number examined)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2	5	9
Cellularity, decreased; lymphoid						0	5	5
Minimal						0	2	5
Mild						0	3	0
Cellularity, decreased; lymphoid, germinal center						1	0	9
Minimal						1	0	1
Mild						0	0	8
Pancreas (number examined)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2	10	10
Vacuolation						0	6	4
Minimal						0	4	3
Mild						0	1	1
Moderate						0	1	0
Spleen (number examined)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2	10	10
Pigment						0	2	1
Minimal						0	1	0
Mild						0	1	1
Cellularity, increased; lymphoid, periarteriolar lymphoid sheath						1	2	3
Minimal						1	2	3
Cellularity, decreased; lymphoid, white pulp						1	8	7
Minimal						0	2	6
Mild						1	3	1
Moderate						0	3	0

F=female; M=male; N/A=not applicable.

表 2.6.7.10.2-1 試験番号 [redacted]1462、資料番号 4.2.3.4.2.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**100**		**240**		**500**	
Number examined (premature deaths)/gender:	0M	0F	0M	0F	0M	2F	10M	10F
Stomach (number examined)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1	10	10
Hemorrhage; serosa						0	1	0
Mild						0	1	0
Hyperplasia; squamous, non-glandular						0	3	10
Minimal						0	3	3
Mild						0	0	7
Ulceration; non-glandular						0	4	4
Minimal						0	2	3
Mild						0	2	1
Inflammation, mixed cell; non-glandular						0	7	10
Minimal						0	3	5
Mild						0	3	5
Moderate						0	1	0
Thymus (number examined)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	2	9	10
Cellularity, decreased; lymphoid						0	8	10
Mild						0	2	1
Moderate						0	6	9
Cellularity, decreased; lymphoid, medullary						1	1	0
Mild						1	0	0
Moderate						0	1	0

F=female; M=male; N/A=not applicable.

2.6.7.10.3 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

表 2.6.7.10.3-1 試験番号 48943[redacted]2858、資料番号 4.2.3.4.2.3

Report Title: A 26-Week Carcinogenicity Study of CDZ173 by the Oral (Gavage) Route in the CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous Mouse
Species/Strain: Mice/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic Hemizygous

Initial/Age: Groups 1-4: 7 weeks old
Group 5: 11 weeks old

Date of first Dose:
Groups 1-4: 16[redacted] 20[redacted]
Group 5: 16[redacted] 20[redacted]

Test Article: Leniolisib (CDZ173)

Duration of Dosing: Groups 1-4: 26 weeks
Group 5: Once on Day 1
Method of Administration:
Groups 1-4: Oral (gavage)
Group 5: Intraperitoneal Injection
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/w) methylcellulose, 0.5% (w/w) Tween 80 (Polysorbate 80) aqueous solution

Study Number: 48943[redacted] 2858[a]
Location in CTD: 4.2.3.4.2.3

GLP Compliance: Yes

Basis for high-dose selection: Based on the Maximum Tolerated Dose (≥ 10% decreased body weight gain at 100 and 240 mg/kg/day groups) and the high dose in females was based on lethality at 240 mg/kg/day in the 4-week preliminary (dose range finding) carcinogenicity in mice (Study [redacted]1462). The low and mid doses were based on approximately one-third AUC spacing.

Special Features: An additional group of mice was treated on Day 1 with N-Nitrosomethylurea (NMU) at 75 mg/kg and acted as a positive control (*i.e.* group 5).
Palpable mass had no macroscopic correlates at necropsy.
Two group 4 satellite animals were prematurely euthanized on Days 148 or 153.
The toxicokinetic characteristics of leniolisib were determined in a separate group of wild type, non-transgenic, CByB6F1 hybrid mice.
a=Report Amendment 01 has been issued and added to the final report.

No Observed Adverse Effect Level: 80 mg/kg/day

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**30**		**80**	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of toxicokinetic animals	3	18	18	18	18	18	18	18
Toxicokinetics $AUC_{0\text{-}24h}$ **(ng·h/mL)**								
Day 1	BLQ	BLQ	1,520	3,000	7,270	10,900	18,100	30,700
Day 177	BLQ	BLQ	1,460	2,810	7,500	11,700	28,100	40,500
C_{max} **(ng/mL)**								
Day 1	BLQ	BLQ	1,690	2,810	4,830	6,140	9,120	10,400
Day 177	BLQ	BLQ	1,480	1,540	5,260	6,130	5,520	9,400

BLQ: below lower limit of quantification; F=female; M=male.

表 2.6.7.10.3-1 試験番号 48943[redacted]/[redacted]2858、資料番号 4.2.3.4.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**30**		**80**	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Main animals	25	25	25	25	25	25	25	25
Noteworthy findings								
Died or sacrificed moribund	1	1	0	1	2	0	0	1
Survival rate (% in Week 27	96	96	100	96	92	100	100	96
Clinical observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Palpable masses (number of animals)	0	0	0	0	0	0	1	1
Body weight (%[a])	29.61 g	23.98 g	+1	-1	+1	-3	-3	-4
Body weight change (g) **Days 1 to 182**	+5.51	+4.63	+6.14	+4.56	+6.10	+3.93	+4.75	+4.15
Food consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Neoplastic and pre-neoplastic findings								
Harderian gland (number examined)	25	25	25	25	25	25	25	25
- Adenoma	1	2	0	0	2	0	0	0
Lung (number examined)	25	25	25	25	25	25	25	25
- Bronchioalveolar adenoma	1	2	0	1	2	1	1	0
- Bronchioalveolar carcinoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Total number of animals with bronchioalveolar adenoma or carcinoma	*1*	*2*	*0*	*1*	*0*	*1*	*2*	*0*
Preputial gland (number examined)	25	N/A	25	N/A	25	N/A	24	N/A
- Hemangioma	0	N/A	0	N/A	1	N/A	0	N/A
Heart (number examined)	25	25	25	25	25	25	25	25
- Hemangioma	0	0	1	0	0	0	0	0
Liver (number examined)	25	25	25	25	25	25	25	25
- Hemangioma	0	0	1	0	0	0	0	0
Ovary (number examined)	N/A	25	N/A	25	N/A	25	N/A	25
- Hemangioma	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0

F=female; M=male; N/A=not applicable.
[a]= At the end of dosing (*i.e.* Day 182). For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

表 2.6.7.10.3-1 試験番号 48943[redacted]/[redacted]2858、資料番号 4.2.3.4.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**30**		**80**	
Gender	M	F	M	F	M	F	M	F
Main animals	25	25	25	25	25	25	25	25
Uterus (number examined)	N/A	25	N/A	25	N/A	25	N/A	25
- Hemangioma	N/A	0	N/A	0	N/A	1	N/A	0
Total Number of Animals with Hemangioma at any Sites	*0*	*1*	*1*	*0*	*2*	*1*	*0*	*0*
Kidney (number examined)	25	25	25	25	25	25	25	25
- Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Skeletal muscle (number examined)	25	25	25	25	25	25	25	25
- Hemangiosarcoma	1	1	0	0	0	0	0	0
Spleen (number examined)	25	25	25	25	25	25	25	25
- Hemangiosarcoma	0	1	0	0	0	2	1	0
Uterus (number examined)	N/A	25	N/A	25	N/A	25	N/A	25
- Hemangiosarcoma	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	1
Total Number of Animals with Hemangiosarcoma at any Sites	*1*	*2*	*0*	*0*	*0*	*3*	*1*	*1*
Total Number of Animals with Hemangioma or Hemangiosarcoma at any Sites	*1*	*3*	*1*	*0*	*2*	*4*	*1*	*1*
Liver (number examined)	25	25	25	25	25	25	25	25
- Adenoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Mandibular lymph node (number examined)	23	23	24	25	22	23	24	23
- Lymphangioma	0	0	1	0	0	0	0	1
Hemolymphoreticular tissue (number examined)	25	25	25	25	25	25	25	25
- Lymphoma	0	0	0	1	0	1	0	0
Esophagus (number examined)	25	25	25	25	25	25	25	25
- Squamous cell papilloma	0	0	1	0	0	0	0	0
Thymus (number examined)	25	25	25	25	25	25	25	25
- Thymoma, benign	0	0	1	0	0	0	0	0
Urinary bladder (number examined)	25	25	25	25	25	24	24	24
- Transitional cell papilloma	0	0	1	0	0	0	0	0
F=female; M=male; N/A=not applicable.								

表 2.6.7.10.3-1　試験番号 48943[redacted]/[redacted]2858、資料番号 4.2.3.4.2.3（続き）

Number of animals:	**Main**		**Number of animals:**		**Main**		**Number of animals:**	
Gender **Main animals**	M 25		F 25		M 25		F 25	
Non-neoplastic findings **(Scheduled euthanasia)**								
Spleen (number examined)	24	24	25	24	23	25	25	24
- Extramedullary hematopoiesis (number with the finding)	7	6	12	6	15	14	13	19
Minimal	7	6	12	3	14	11	13	14
Mild	0	0	0	3	0	3	0	4
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
- Cellularity, Decreased, Lymphoid								
Minimal	1	0	0	0	0	0	21	18
F=female; M=male.								

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

ウサギを用いて重要な試験以外の生殖発生毒性試験を 1 件実施した。

2.6.7.11.1 ウサギを用いた生殖発生毒性試験（用量設定）

表 2.6.7.11.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.2

Report Title: Oral (gavage) range-finding study of embryo-fetal development in the rabbit

Species/Strain: Rabbit/Hra (NZW)SPF
Initial Age: not reported
Date of First Dose: 05 [redacted] 20[redacted]
Special Features: None

Duration of Dosing: GD7-GD20
Day of Mating: GD0
Day of C-Section: GD29
Method of Administration: Once daily oral gavage
Vehicle/Formulation: Solution in 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80

Test Article: Leniolisib
Study Number: [redacted]
Location in CTD: Section: 4.2.3.5.2.2

GLP Compliance: No

No Observed Adverse Effect Level:
F0 Females: 30 mg/kg/day
F1 Litters: 120 mg/kg/day

表 2.6.7.11.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**30**	**90**	**120**
Females				
Toxicokinetics				
GD7				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	N/A	38,700	141,000	339,000
C_{max} (ng/mL)	N/A	25,300	48,000	82,200
GD20				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	N/A	26,500	124,000	180,000
C_{max} (ng/mL)	N/A	19,000	31,000	44,500
Number pregnant	6	6	6	6
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0
Number aborted or with total resorption of litter	0	0	0	0
Clinical observations	-	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-	-
Body Weight Change (%)[a,b]				
GD7-GD21	0.24 kg	-25	-88#H	-121#H
GD21-GD29	0.20 kg	0	-5	50
Gestation food consumption (%)[a]				
GD7-GD21	28.7 g/animal/day	-17.0	-34.5	-49.3
Mean number corpora lutea	10.5	10.0	10.2	10.8
Mean number implantations	9.8	8.8	8.5	9.7
Mean % pre-implantation loss	6.1	10.4	13.4	10.4

-=no noteworthy findings; GD=gestation day; N/A=not applicable.
[a]=Control values are group mean absolute weights. Treated group values are the % change from control absolute means in the direction indicated. Statistical significance is based on the actual data (not on the percentage differences).
[b]=Dunnett exact homogeneous test significant: #H=0.001 level.

表 2.6.7.11.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**30**	**90**	**120**
Litters:				
Number litters evaluated	6	6	6	6
Mean number live fetuses	9.3	8.7	7.7	9.5
Mean number total resorptions	0.5	0.2	0.8	0.2
Number of litters with dead fetuses	0	0	0	0
Mean % post-implantation loss	5.0	2.1	9.1	1.5
Mean fetal body weight (g)	38.3	40.5	36.6	34.5
Mean % male fetuses	47.4	58.5	35.4	57.2
Fetal anomalies:				
External malformations				
Omphalocoele				
Incidence (litters)	0 (0)	0 (0)	1 (1)[a]	0 (0)
Spina bifida				
Incidence (litters)	0 (0)	0 (0)	1 (1)[a]	0 (0)
Head – misshapen				
Incidence (litters)	0 (0)	0 (0)	1 (1)[a]	0 (0)
External variations				
Limb – hyperflexion				
Incidence (Litters)	0 (0)	0 (0)	1 (1)[a]	0 (0)
General – abdomen-distended				
Incidence (Litters)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Mouth – incisor-not interrupted				
Incidence (Litters)	5 (3)	1 (1)	21 (4)	14 (4)
Total affected fetuses - malformations (litters)	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
Total affected fetuses – variations (litters)	5 (3)	1 (1)	21 (4)	14 (4)

[a]=These findings are seen on occasion in control animals at the test facility. These findings in two isolated fetuses in the group receiving 90 mg/kg/day only show no dose response, and no correlation with other fetal or intrauterine findings seen and are therefore considered to be unlikely to be caused by treatment.

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（重要な試験）

受胎能及び初期胚発生は、ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに 10 週間の幼若毒性試験の一部とした（それぞれ 2.6.7.14 及び 2.6.7.15.2 参照）。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚及び胎児発生への影響に関する試験（重要な試験）

2.6.7.13.1 ラットを用いた生殖発生毒性試験

表 2.6.7.13.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.1

Report Title: CDZ173: Oral (gavage) study of embryo-fetal development in the rat

Test Article: Leniolisib

Duration of Dosing: GD6-GD17

Study Number: [redacted]

Day of Mating: Day 0
Species/Strain: Rat: Crl:WI(Han)
Initial Age: 9 to 11 weeks
Date of First Dose: 13[redacted] 20[redacted]

Day of C-Section: GD21
Method of Administration: Once daily oral gavage
Vehicle/Formulation: suspension in aqueous 0.5% (w/w) methylcellulose + 0.5% (w/w) Tween 80 (Polysorbate 80)

Location in CTD: Section: 4.2.3.5.2.1

GLP Compliance: Yes

Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
F0 Females: 30 mg/kg/day
No Observed Effect Level
F1 Litters: 30 mg/kg/day

表 2.6.7.13.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.1（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**120**
Toxicokinetics (GD17):				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	N/A	12,800	65,000	248,000
C_{max} (ng/mL)	N/A	3,520	7,730	17,000
Dams				
Number pregnant evaluated	20	20	20	20
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0
Number aborted or with total resorption of litter	0	0	0	0
Clinical observations	-	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-	-
Gestation body weight change (g)[a,b]				
GD6 to GD18	68.5	58.7*H	63.4	58.6*H
GD18 to GD21	36.2	35.6	35.8	34.5
Gestation food consumption[a]				
GD6 to GD9	58.8	56.0	54.1	51.9*H
GD9 to GD12	62.9	59.2	62.8	57.1
GD12 to GD15	63.4	60.0	63.8	63.7
GD15 to GD18	70.7	63.9	68.4	68.7
GD18 to GD21	69.1	64.9	67.3	67.9
Mean Number corpora lutea	12.7	11.4	11.9	12.1
Mean Number implantations sites	11.2	10.4	10.9	10.8
Mean pre-implantation loss	1.6	1.0	1.1	1.4
Mean % pre-implantation loss	11.7	9.3	8.2	12.3

-=no noteworthy findings; N/A=not applicable.
[a]=Values are group mean of absolute weight (in grams).
[b]=Dunnett exact homogeneous test significant: *H=0.05 level.

表 2.6.7.13.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.1（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	120
Litters:				
Number litters evaluated	20	20	20	20
Mean Number live fetuses per litter	10.7	9.9	9.9	10.5
Mean Number of total resorptions	0.5	0.5	1.0	0.4
Number of litters with dead fetuses	0	0	0	0
Mean post-implantation loss	0.5	0.5	1.0	0.4
Mean % post-implantation loss	4.7	5.6	8.1	3.1
Mean fetal body weight (g)	5.31	5.30	5.31	5.01
Fetal gender ratios (% male fetuses)	53.3	48.8	46.0	48.5
Fetal anomalies:				
Gross external malformations				
Eye bulge: small				
Number fetuses (%)[a]	0	0	0	8 (3.66)
Number litters (%)	0	0	0	6 (30)*
Limb: malrotated				
Number fetuses (%)	1 (0.42)	0	3 (1.50)	1 (0.45)
Number litters (%)	1 (5)	0	1 (5)	1 (5)
Visceral malformations[b]				
Blood vessel: aorta - right-sided (Fresh)				
Number fetuses (%)	0	0	0	1 (1.00)
Number litters (%)	0	0	0	1 (5)
Blood vessel: aorta arc - right-sided (Fresh)				
Number fetuses (%)	0	0	0	1 (1.00)
Number litters (%)	0	0	0	1 (5)
Eye: anophthalmia				
Number fetuses (%) (Fresh/fixed)	0/0	0/0	0/0	4 (3.83)/4 (3.83)
Number litters (%) (Fresh/fixed)	0/0	0/0	0/0	2 (10)/3 (15)

[a]=Fisher 1-tail ascending test significant: *=0.05 level.
[b]=Visceral examinations were performed in Bouin fixed fetuses (fixed) and, in addition, in fetuses that were processed for skeletal examinations (fresh).

表 2.6.7.13.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.1（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	120
Visceral malformations				
Eye: microphthalmia				
Number fetuses (%) (Fresh/fixed)[b]	0/0	0/0	0/0	7 (5.76)/7 (6.50)
Number litters (%)[a] (Fresh/fixed)[b]	0/0	0/0	0/0	6 (30)*/4 (20)
Liver: liver lobe - abnormal lobulation (Fresh)				
Number fetuses (%)	0	1 (0.83)	0	0
Number litters (%)	0	1 (5)	0	0
Skeletal malformations				
Skull: orbital socket – small				
Number fetuses (%)	0	0	0	10 (8.76)
Number litters (%)[a]	0	0	0	6 (30)*
Vertebra: thoracic vertebra – misaligned				
Number fetuses (%)	0	**0**	0	1 (1.00)
Number litters (%)	0	0	0	1 (5)
Vertebra: thoracic arch – misaligned				
Number fetuses (%)	0	0	0	1 (1.00)
Number litters (%)	0	0	0	1 (5)
Vertebra: thoracic centrum – fused				
Number fetuses (%)	0	0	0	1 (1.00)
Number litters (%)	0	0	0	1 (5)
Vertebra: thoracic centrum – hemicentric				
Number fetuses (%)	0	0	0	1 (1.00)
Number litters (%)	0	0	0	1 (5)
Rib: abnormal attachment				
Number fetuses (%)	0	0	0	1 (1.00)
Number litters (%)	0	0	0	1 (5)
Rib: absent				
Number fetuses (%)	0	0	0	1 (1.00)
Number litters (%)	0	0	0	1 (5)

[a]=Fisher 1-tail ascending test significant: *=0.05 level.
[b]=Visceral examinations were performed in Bouin fixed fetuses (fixed) and, in addition, in fetuses that were processed for skeletal examinations (fresh).

表 2.6.7.13.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.1（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**120**
Skeletal malformations				
Rib: fused				
Number fetuses (%)	0	0	0	1 (1.00)
Number litters (%)	0	0	0	1 (5)
Total affected fetuses – malformations (litters)	1 (1)	1 (1)	3 (1)	26 (10)

2.6.7.13.2 ウサギを用いた生殖発生毒性試験

表 2.6.7.13.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.3

Report Title: CDZ173: Oral (gavage) study of embryo-fetal development in the rabbit

Test Article: Leniolisib

Duration of Dosing: GD7-GD20

Study Number: [redacted]

Day of Mating: Day 0

Species/Strain: Hra:(NZW)SPF strain (New Zealand White rabbit)

Day of C-Section: GD29

Location in CTD: Section: 4.2.3.5.2.3

Initial Age: not reported

Date of First Dose: 26 [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Once daily oral gavage

Vehicle/Formulation: suspension in aqueous 0.5% (w/w) methylcellulose + 0.5% (w/w) Tween 80 (Polysorbate 80)

GLP Compliance: Yes

Special Features: None

No Observed Adverse Effect Level:

F0 Females: 30 mg/kg/day

F1 Litters: 30 mg/kg/day

表 2.6.7.13.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**100**
Toxicokinetics (GD20)				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	N/A	5,210	13,200	87,300
C_{max} (ng/mL)	N/A	2,820	7,720	26,400
Dams				
Number evaluated/number nonpregnant/number pregnant	22/2/20	22/4/18	22/3/19	22/1/21
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0
Number aborted or with total resorption of litter	0	1	0	0
Clinical observations				
Appearance (Day 29): Thin	-	-	-	2
Necropsy observations				
Thin	-	-	-	2
Gestation mean body weight change (kg)[a,b,c]				
GD7 – GD21	0.31	0.30	0.29	0.11#H
GD21 – GD29	0.14	0.16	0.18	0.24#H
Gestation mean food consumption (g/day)[c]				
GD7 – GD21	155.9	148.6	147.0	98.3&
GD21 – GD29	118.8	121.8	121.3	120.1
Mean number corpora lutea	10.1	10.3	10.4	10.0
Mean number implantation sites	9.5	8.9	9.4	8.5
Mean pre-implantation loss	0.6	1.4	1.1	1.5
Mean % pre-implantation loss	5.1	12.6	9.9	14.7

-=no noteworthy findings; N/A=not applicable.
[a]=Values are group mean of absolute weights.
[b]=Dunnett Exact Homogeneous Test Significant: # H=0.001 level.
[c]=Number examined reduced due to excluded data: 20, 17, 19 and 21 animals in the 0 (control), 10, 30 and 100 mg/kg/day groups, respectively.
&=food consumption by animals of the high-dose group was statistically significantly lower than in control animals at all days during the dosing period (GD7 to GD21).

表 2.6.7.13.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**100**
Litters:				
Number litters evaluated	20	18	19	21
Mean number live fetuses per litter	9.2	8.5	9.0	8.2
Mean number of total resorptions	0.3	0.9	0.4	0.3
Number of litters with dead fetuses	1	0	0	0
Mean post-implantation loss	0.3	0.9	0.4	0.3
Mean % post-implantation loss	3.0	11.0	4.1	3.8
Mean fetal body weight (g)	37.4	40.8	37.9	38.1
Fetal gender ratios (% male fetuses)	52.9	49.5	45.0	49.9
Fetal anomalies:				
Gross external malformations				
General: Umbilicus - malpositioned				
Number of fetuses	1	0	0	0
Number of litters	1	0	0	0
Head: Agnathia				
Number of fetuses	0	0	1	1
Number of litters	0	0	1	1
Head: Flattened				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters		0	0	1
Mouth: Aglossia				
Number of fetuses	0	0	1	1
Number of litters	0	0	1	1
Mouth: Microstomia				
Number of fetuses	0	0	1	1
Number of litters	0	0	1	1
Sternum: Sternoschisis				
Number of fetuses	1	0	0	0
Number of litters	1	0	0	0

表 2.6.7.13.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	100
Fetal Anomalies:				
Visceral Malformations:				
Adrenal: Absent				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters	0	0	0	1
Adrenal: Malpositioned				
Number of fetuses	0	1	0	0
Number of litters	0	1	0	0
Blood vessel: Aorta - malpositioned				
Number of fetuses	0	0	1	0
Number of litters	0	0	1	0
Blood vessel: Aorta – right sided				
Number of fetuses	1	0	0	0
Number of litters	1	0	0	0
Blood vessel: Aortic arch – retro-esophageal				
Number of fetuses	0	0	1	0
Number of litters	0	0	1	0
Blood vessel: Aortic arch – right-sided				
Number of fetuses	1	0	0	0
Number of litters	1	0	0	0
Blood vessel: Carotid artery – malpositioned				
Number of fetuses	0	0	1	0
Number of litters	0	0	1	0
Blood vessel: Ductus arteriosis – dilated				
Number of fetuses	0	0	1	0
Number of litters	0	0	1	0
Blood vessel: Subclavian artery – malpositioned				
Number of fetuses	0	0	1	0
Number of litters	0	0	1	0

表 2.6.7.13.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**100**
Fetal Anomalies:				
Visceral Malformations:				
Blood vessel: Subclavian artery – retroesophageal				
Number of fetuses	0	1	0	2
Number of litters	0	1	0	2
Blood vessel: Vein - supernumerary				
Number of fetuses	0	1	0	0
Number of litters	0	1	0	0
Eye: Discolored				
Number of fetuses	1	0	0	0
Number of litters	1	0	0	0
Eye: Microphthalmia				
Number of fetuses	0	0	0	2
Number of litters	0	0	0	1
Gall Bladder: Absent				
Number of fetuses	0	0	3	0
Number of litters	0	0	2	0
Kidney: Hydronephrosis				
Number of fetuses	0	1	0	0
Number of litters	0	1	0	0
Kidney: Absent				
Number of fetuses	1	0	0	0
Number of litters	1	0	0	0
Lung: Lung lobe - small				
Number of fetuses	0	0	1	0
Number of litters	0	0	1	0
Esophagus: Malpositioned				
Number of fetuses	0	0	1	0
Number of litters	0	0	1	0

表 2.6.7.13.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**100**
Fetal Anomalies:				
Visceral Malformations:				
Spleen: Asplenia				
Number of fetuses	0	1	0	0
Number of litters	0	1	0	0
Thyroid: Absent				
Number of fetuses	1	0	1	0
Number of litters	1	0	1	0
Ureter: Absent				
Number of fetuses	1	0	0	0
Number of litters	1	0	0	0
Diaphragm: Absent				
Number of fetuses	1	0	0	0
Number of litters	1	0	0	0
Diaphragm: Diaphragmatic hernia				
Number of fetuses	0	0	1	0
Number of litters	0	0	1	0
Skeletal malformations:				
Skull: Hyoid - absent				
Number of fetuses	0	0	1	1
Number of litters	0	0	1	1
Skull: Mandible - absent				
Number of fetuses	0	0	1	1
Number of litters	0	0	1	1
Skull: Orbital socket - small				
Number of fetuses	0	0	0	2
Number of litters	0	0	0	1
Skull: Palatine - split				
Number of fetuses	0	0	1	1
Number of litters	0	0	1	1

表 2.6.7.13.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**100**
Fetal Anomalies:				
Skeletal Malformations:				
Skull: Squamosal - misshapen				
Number of fetuses	0	0	1	1
Number of litters	0	0	1	1
Skull: Tympanic annulus - malpositioned				
Number of fetuses	0	0	1	1
Number of litters	0	0	1	1
Skull: Zygomatic arch - misshapen				
Number of fetuses	0)	0	1	1
Number of litters	0	0	1	1
Sternebra: Fused				
Number of fetuses	0	0	1	0
Number of litters	0	0	1	0
Sternebra: Split				
Number of fetuses	1	0	0	0
Number of litters	1	0	0	0
Sternebra: Supernumerary				
Number of fetuses	0	0	0	2
Number of litters	0	0	0	2
Vertebra: Cervical arch - absent				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters	0	0	0	1
Vertebra: Cervical arch - misaligned				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters	0	0	0	1
Vertebra: Cervical arch - small				
Number of fetuses	0	0	0	3
Number of litters	0	0	0	2

表 2.6.7.13.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	100
Fetal Anomalies:				
Skeletal Malformations:				
Vertebra: Cervical centrum - absent				
Number of fetuses	0	0	0	2
Number of litters	0	0	0	2
Vertebra: Cervical centrum - fused				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters	0	0	0	1
Vertebra: Cervical centrum - large				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters	0	0	0	1
Vertebra: Cervical centrum - misshapen				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters	0	0	0	1
Vertebra: Lumber vertebra - hemivertebra				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters	0	0	0	1
Vertebra: Lumbar centrum - fused				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters	0	0	0	1
Vertebra: Thoracic arch - small				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters	0	0	0	1
Vertebra: Thoracic arch - supernumerary				
Number of fetuses	0	1	0	0
Number of litters	0	1	0	0
Vertebra: Thoracic centrum - fused				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters	0	0	0	1

表 2.6.7.13.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	120
Fetal Anomalies:				
Skeletal Malformations:				
Vertebra: Thoracic centrum - hemicentric				
Number of fetuses	0	0	1	0
Number of litters	0	0	1	0
Vertebra: Thoracic centrum - large				
Number of fetuses	0	0	1	0
Number of litters	0	0	1	0
Rib: Abnormal attachment				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters	0	0	0	1
Rib: Absent				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters	0	0	0	1
Rib: Branched				
Number of fetuses	0	2	1	1
Number of litters	0	2	1	1
Rib: Malpositioned				
Number of fetuses	0	0	0	2
Number of litters	0	0	0	1
Rib: Short				
Number of fetuses	1	0	1	0
Number of litters	1	0	1	0
Rib: Supernumerary articulated, full				
Number of fetuses	0	1	0	0
Number of litters	0	1	0	0
Rib: Supernumerary non-articulated, full				
Number of fetuses	0	1	0	0
Number of litters	0	1	0	0

表 2.6.7.13.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.2.3（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	100
Fetal anomalies:				
Skeletal malformations:				
Rib: Thick				
Number of fetuses	0	0	0	1
Number of litters	0	0	0	1
Rib: Fused				
Number of fetuses	0	0	1	1
Number of litters	0	0	1	1
Total affected fetuses – Malformations (litters)	5	6	11	9

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（重要な試験）

ラットを用いて重要な出生前及び出生後の発生（PPND）試験（着床から授乳そして離乳までの期間に雌が曝露された結果生じる出生児の発生）を1件実施した。観察はF1世代の出生児が性成熟するまで続けた。

2.6.7.14.1 ラットを用いた出生前及び出生後の発生（PPND）毒性試験

表 2.6.7.14.1-1 試験番号 [redacted]2830、資料番号 4.2.3.5.3.1

Report Title: CDZ173 (PH-E6 leniolisib phosphate) - An oral (gavage) administration study of the effects on pre- and postnatal development, including a postnatal behavioral/functional evaluation in rats.

Test Article: Leniolisib

Day of Mating: GD 0
Species/Strain: Rat:Crl:WI(Han)

Duration of Dosing: GD7-LD20

Study Number: [redacted]2830

Location in CTD: Section: 4.2.3.5.3.1

Initial Age: approximately 60-70 days of age
Date of First Dose: 09[redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Once daily oral gavage
Vehicle/Formulation: Methylcellulose (1500 cps) and 0.5% (w/w) TWEEN® 80 in Ultra-Pure Water

GLP Compliance: Yes

Special Features: concentration of leniolisib determined in the F0 mother milk (2.6.5 Pharmacokinetic Tabulated Summary, Table 16)

No Observed Adverse Effect Level:
Maternal F0 rats: 90 mg/kg/day
Preweaning F1 rats: 30 mg/kg/day
Postweaning F1 rats: 90 mg/kg/day

表 2.6.7.14.1-1 試験番号 [redacted]2830、資料番号 4.2.3.5.3.1（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	90
F0 generation				
Number mated females	22	22	22	22
Number died or sacrificed moribund	0	0	1[c]	0
Number that did not deliver a litter	1 (no. 1514)	2 (no. 2504 and 2521)	2 (no. 3510 and 3511)	0
Clinical observations gestation period	-	-	-	-
Clinical observations lactation period: salivation				
Number of animals affected (%)	0 (0)	0 (0)	1 (5)	8 (36)
Number of times recorded	0	0	3	26
First to last seen	-	-	12-15	3-18
Gestation body weight gain (g)[a,b]				
GD7 to GD10	12.8	11.4	11.1	7.5**
GD7 to GD20	84.6	80.8	80.7	75.7
Gestation food consumption (g) per animal[a]				
GD7 to GD10	19.8	18.9	18.5	17.3*
GD10 to GD12	22.1	21.0	20.9	20.1
GD12 to GD15	22.3	20.5*	20.9	21.2
GD15 to GD18	23.5	20.8	22.2	22.0
GD7 to GD18	21.9	21.0	20.6*	20.2**
GD18 to GD20	22.2	20.05	22.21	21.14
Lactation body weight gain (g)[a,b]				
LD1 to LD4	7.8	6.0	9.6	10.2
LD4 to LD7	14.1	12.2	10.0	9.7
LD7 to LD10	13.8	7.5**	10.2	9.0
LD10 to LD14	9.4	10.9	9.8	9.7
LD14 to LD18	0.7	3.7	-2.1	1.0
LD18 to LD21	5.0	-1.4	3.8	3.8
LD1 to LD21	50.7	38.8**	41.2*	43.4
Lactation food consumption (g) per animal[a]				
LD1 to LD4	32.17	31.75	31.62	32.18
LD4 to LD7	45.59	41.83	43.82	43.85
LD7 to LD10	53.75	48.60	51.40	47.86
LD10 to LD14	60.46	54.98	57.16	53.84
LD1 to LD14	48.32	45.11	46.46	45.16
Life birth index (%)	99.52	98.5	100.00	99.68

表 2.6.7.14.1-1 試験番号 [redacted]2830、資料番号 4.2.3.5.3.1（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**30**		**90**	
Concentration leniolisib (ng/mL) in milk on LD10 (2 h post dose)	<3.00±0		9077±995		12600±2095		22267±6093	
F1 generation								
Lactation index (%)	99.40		95.45		98.13		90.91*	
Mean pup body weight (g)[b] [%Diff]								
D1 PP	6.62 [N/A]		6.67 [0.86]		6.4 [-3.35]		5.89** [-10.92]	
D4 PP	10.51 [N/A]		10.60 [0.88]		10.04 [-4.45]		9.28** [-11.70]	
D7 PP	16.61 [N/A]		16.73 [0.76]		16.17 [-2.65]		15.14** [8.83]	
D10 PP	23.88 [N/A]		23.92 [0.19]		23.15 [-3.05]		21.90** [-8.29]	
D14 PP	34.08 [N/A]		33.64 [-1.29]		32.44 [-4.82]		30.80** [-9.62]	
D18 PP	42.16 [N/A]		42.15 [-0.03]		40.20 [-4.65]		38.51** [-8.67]	
D21 PP	48.53 [N/A]		48.81 [0.57]		46.85 [-3.46]		45.28** [-6.70]	
Mean pup body weight (g)[b] [%Diff]	M	F	M	F	M	F	M	F
D1 PP	6.81 [N/A]	6.33 [N/A]	6.82 [0.22]	6.53 [3.11]	6.58 [-3.31]	6.24 [-1.43]	6.10** [-10.40]	5.74** [-9.38]
D4 PP	10.73 [N/A]	10.10 [N/A]	10.76 [0.31]	10.76 [0.31]	10.26 [-4.39]	10.76 [0.31]	9.51** [-11.36]	9.12** [-9.76]
D7 PP	16.94 [N/A]	16.04 [N/A]	16.97 [0.20]	16.97 [0.20]	16.41 [-3.08]	16.97 [0.20]	15.40** [-9.06]	14.89* [-7.12]
D10 PP	24.29 [N/A]	23.17 [N/A]	24.24 [-0.23]	24.24 [-0.23]	23.41 [-3.63]	24.24 [-0.23]	22.14** [-8.86]	21.59* [-6.81]
D14 PP	34.63 [N/A]	33.20 [N/A]	34.96 [-1.95]	34.96 [-1.95]	32.66 [-5.68]	34.96 [-1.95]	30.95** [-10.64]	30.49** [-8.18]
D18 PP	42.98 [N/A]	40.96 [N/A]	42.74 [-0.55]	42.74 [-0.55]	40.74 [-5.20]	42.74 [-0.55]	38.90** [-9.50]	37.97* [-7.31]
D21 PP	49.32 [N/A]	47.28 [N/A]	49.47 [0.31]	49.47 [0.31]	47.56 [-3.56]	49.47 [0.31]	45.67* [-9.38]	44.72 [-5.40]
Mean body weight (g)[b] [%Diff]								
Premating	F		F		F		F	
D22	50.0 [N/A]		49.8 [-0.4]		48.2 [-3.6]		48.3 [-3.3]	
D29	85.0 [N/A]		83.6 [-1.6]		84.5 [-0.6]		82.8 [-2.6]	
D36	128.4 [N/A]		124.9 [-2.8]		121.9** [-5.1]		118.5** [-7.7]	
D43	154.9 [N/A]		151.3 [-2.3]		146.4** [-5.5]		143.3** [-7.5]	
D50	175.1 [N/A]		169.5 [-3.2]		162.1** [-7.4]		159.7** [-8.8]	
D57	192.7 [N/A]		185.6 [-3.7]		179.1** [-7.1]		175.0** [-9.2]	
D64	207.3 [N/A]		198.8 [-4.1]		192.5** [-7.1]		188.8** [-8.9]	
D71	218.5 [N/A]		208.5* [-4.6]		201.4** [-7.8]		199.0** [-8.9]	
D78	231.4 [N/A]		220.7 [-4.6]		213.5** [-7.7]		209.9** [-9.3]	
D85	241.2 [N/A]		226.7** [-6.0]		221.0** [-8.4]		216.9** [-10.1]	
D92	247.2 [N/A]		233.2 [-5.6]		226.4** [-8.4]		223.6** [-9.5]	

表 2.6.7.14.1-1 試験番号 [redacted]2830、資料番号 4.2.3.5.3.1（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	90
Mean BWG (g)[b] [%Diff]				
F1 generation (cnt.)	M	M	M	M
D71 to 78	23.7	27.5	25.1	24.0
D78 to 85	20.4	22.0	19.6	18.0
D85 to 92	14.2	16.8	17.7	16.1
D92 to 99	8.3	10.5	6.5	5.6
D99 to 106	12.2	12.5	11.4	12.2
D106 to 113	18.0	15.2	17.6	14.0
D22 to 113	398.4 [N/A]	404.3 [1%]	385.2 [-3%]	372.6 [-6%]
	F	F	F	F
Premating				
D29 to 36	39.0	35.4	36.0	37.8
D36 to 43	26.5	26.4	24.5	24.7
D36 to 50	20.2	108.25	15.7**	16.4*
D50 to 57	17.6	16.1	17.3	15.4
D57 to 64	14.6	13.2	13.5	13.7
D64 to 71	11.3	9.7	8.9	10.2
D71 to 78	12.9	12.3	12.1	10.9
D78 to 85	9.8	6.0	7.5	7.0
D85 to 92	6.0	6.5	5.3	6.7
D36 to 92	118.8 [N/A]	108.4 [-9%]	104.5** [-12%]	105.1** [-12%]
Gestation				
D0 to 3	13.6	7.5	11.0	10.6
D3 to 7	9.6	7.3	8.1	7.2
D7 to 10	7.1	9.9	10.8	10.7
D10 to 13	18.6	16.9	15.4	13.1
D0 to 13	48.8 [N/A]	41.6 [-15%]	45.4 [-7%]	41.6 [-15%]

表 2.6.7.14.1-1 試験番号 [redacted]2830、資料番号 4.2.3.5.3.1（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**	**30**	**90**
Mean food consumption (g per animal) [%Diff]				
F1 generation (cnt.)	M	M	M	M
D22 to 29	10.8 [N/A]	8.9 [-17.4%]	10.4 [-4.0%]	9.9 [-8.6%]
D29 to 36	18.5 [N/A]	17.7 [-4.4%]	17.4 [-5.8%]	16.7** [-9.7%]
D36 to 43	23.2 [N/A]	21.5 [-7.3%]	21.9 [-5.6%]	20.5 [-11.4%]
D43 to 50	25.2 [N/A]	23.9 [-5.3%]	23.2 [-7.9%]	22.1** [-12.4%]
D50 to 57	28.4 [N/A]	26.8 [-5.6%]	27.5 [-3.1%]	24.6 [-13.4%]
D57 to 64	26.9 [N/A]	26.7 [-1.1%]	27.1 [0.7%]	26.7 [-1.1%]
D64 to 71	27.7 [N/A]	26.6 [-4.1%]	25.9 [-6.5%]	25.6 [-7.6%]
D71 to 78	27.0 [N/A]	25.9 [-4.0%]	25.8 [-4.2%]	25.4 [-5.8%]
D78 to 85	25.5 [N/A]	26.2 [2.8%]	24.3 [-4.8%]	24.1 [-5.5%]
D85 to 92	25.9 [N/A]	26.1 [-0.5%]	23.6 [-9.1%]	24.0 [-7.6%]
D29 to 92	25.5 [N/A]	24.2 [-5.2%]	23.9 [-6.2%]	22.9 [-10.0%]
Premating	F	F	F	F
D22 to 29	10.6 [N/A]	9.6 [-9.8%]	9.4 [-11.3%]	9.5 [-10.3%]
D29 to 36	15.8 [N/A]	14.9 [-5.7%]	14.9 [-5.5%]	14.3** [-9.4%]
D36 to 43	17.2 [N/A]	16.1 [-6.4%]	16.9 [-1.5%]	15.5 [-9.6%]
D36 to 50	18.1 [N/A]	17.3 [-4.7%]	17.5 [-3.4%]	16.6 [-8.3%]
D50 to 57	19.1 [N/A]	18.8 [-1.8%]	19.5 [1.8%]	18.0 [-5.6%]
D57 to 64	19.8 [N/A]	23.6 [19.6%]	25.0* [26.3%]	23.0* [31.5%]
D64 to 71	19.1 [N/A]	14.6** [-23.3%]	15.3** [-19.9%]	14.0** [-26.6%]
D71 to 78	19.0 [N/A]	16.6** [-12.1%]	16.7** [-12.1%]	15.6** [-17.9%]
D78 to 85	18.5 [N/A]	16.7** [-12.0%]	16.3** [-12.0%]	16.0** [-13.2%]
D85 to 92	18.9 [N/A]	15.6** [-4.8%]	18.0 [-4.8%]	16.9 [-10.4%]
D29 to 92	18.5 [N/A]	17.1 [-4.4%]	17.7 [-4.4%]	17.0* [-7.9%]
Gestation				
D0 to 3	22.82 [N/A]	19.21 [-15.84%]	18.80 [-17.62%]	19.52 [-14.47%]
D3 to 7	23.04 [N/A]	21.14 [-8.22%]	23.35 [1.36%]	21.96 [-4.68%]
D7 to 10	23.98 [N/A]	21.35 [-10.96%]	22.29 [-7.02%]	20.19* [-15.80%]
D10 to 13	22.56 [N/A]	20.70 [-8.23%]	20.58 [-8.76%]	21.47 [-4.83%]
D0 to 13	23.18 [N/A]	20.89 [-8.89%]	21.16 [-8.73%]	20.74 [-10.54%]

表 2.6.7.14.1-1 試験番号 [redacted]2830、資料番号 4.2.3.5.3.1（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10	30	90
F1 generation (cnt.)				
Group size females	22	22	22	22
Number of females pregnant	16	22	21	19
Female pregnancy index (%)	72.7	100.0*	95.5	86.4
Ovarian and uterine examinations				
Number of females with live embryos	16	22	21	22
Number of corpora lutea [%Diff]	14.8 [N/A]	14.0 [-5.1%]	14.1 [-4.1%]	13.7 [-7.9%]
Pre-implantation loss (%)[%Diff]	6.11 [N/A]	11.93 [95.42%]	4.32 [-29.24%]	8.42 [37.96%]
Number of dead embryos	0.6	0.6	0.9	0.7
Post-implant loss-embryo (%)[%Diff]	4.59 [N/A]	6.74 [46.66%]	6.20 [34.87%]	6.21 [35.22%]

-=no noteworthy findings. %Diff=%Difference compared to control; BWG =body weight gain; cnt.=continued; F=female; h=hours; M=male; PP=post partum; N/A=not applicable.
[a]=Values are group mean of absolute weight (in grams).
[b]=ANOVA & Dunnett test significant: * = $p \leq 0.05$; ** = $p \leq 0.01$
[c]=Euthanized on GD 23 due to difficulty during delivery, not a leniolisib-related death.

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験

2.6.7.15.1 ラットを用いた 3 週間幼若毒性試験（用量設定）

表 2.6.7.15.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.1

Report Title:	3-Week oral (gavage) administration range finding study in the juvenile rat				
Species/Strain:	Rat/not specified	**Duration of Dosing:**	22 Days (PND7 to PND28)	**Test Article:**	Leniolisib
Initial Age:	7 Days	**Duration of Postdose:**	-	**Study Number**	[redacted]
Date of First Dose:	Not specified	**Method of Administration:**	Oral (Gavage)	**CTD Section:**	4.2.3.5.4.1
		Vehicle/Formulation:	Suspension in Aqueous 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80	**GLP Compliance:**	No
Special Features:	No control group treated with vehicle only				
No Observed Adverse Effect Level:	80 mg/kg/day (dosages <100 mg/kg/day were recommended for a subsequent 10-week juvenile toxicity in rats)				

Dose (mg/kg/day)	**40**		**80**		**100[a]**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals	9	9	9	9	9	9
Toxicokinetics (Day 28):						
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	28,200	43,900	66,700	117,000	92,000	146,000
C_{max} (ng/mL)	6,040	9,840	14,100	18,000	17,700	17,600
Noteworthy findings						
Died or sacrificed moribund	0	0	0		0	0
Body weight change (%)[b]	71.1 g	66.3 g	-4	-9	-7	11
Food consumption (%)[c]						
dosing Days 15-18	6.7 g	7.0 g	6	-10	-5	-19
dosing Days 18-22	11.1 g	10.1 g	-5	-7	-7	-11

-=no remarkable observations; F=female; M=male.
[a]=Initially pups of high-dose group were exposed to 120 mg/kg/day but 2 pups died within one day and all pups showed (severe) clinical signs. All animals of this group were terminated, and new (naïve) pups were used to create a new group which was dosed at 100 mg/kg/day.
[b]=Mean pup weight gain different from the 40 mg/kg/day group after 22 Days of dosing.
[c]=Food consumption different from the 40 mg/kg/day group. Food consumption was measured only over two periods after weaning on PND21 (dosing Day 15).

表 2.6.7.15.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.1（続き）

Dose (mg/kg/day)	**40**		**80**		**100[a]**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals	9	9	9	9	9	9
Noteworthy findings						
Clinical observations	-	-	-	-	-	-
Postdosing observations						
Reduced activity at 2 hours after dosing for the first 2 dosing days	0	0	0	0	9	9
Mouth rubbing just after dosing	3	1	8	5	9	7
Pathology assessments						
Organ weights	-	-	-	-	-	-
Macroscopic observations	-	-	-	-	-	-

-=no remarkable observations; F=female; M=male.

2.6.7.15.2 ラットを用いた 10 週間幼若毒性試験

表 2.6.7.15.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2

Report Title:	10-Week oral (gavage) administration toxicity study in juvenile rat followed by a 7-week treatment-free period with a fertility and early embryonic development assessment				
Species/Strain:	Rat/Crl:WI(Han)	**Duration of Dosing:**	10 weeks	**Test Article:**	Leniolisib
Initial Age:	7 Days	**Duration of Postdose:**	7 weeks	**Study Number**	[redacted]
Date of First Dose:	13 [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:**	Oral (gavage)	**CTD Section:**	4.2.3.5.4.2
		Vehicle/Formulation:	Suspension in Aqueous 0.5% w/w methylcellulose + 0.5% w/w Tween 80	**GLP Compliance:**	Yes
Special Features:	• Lymphocyte immunophenotyping, anti-KLH antibody analysis • Fertility and early embryonic development assessment				
No Observed Adverse Effect Level:	10 mg/kg/day in males 30 mg/kg/day in females				

Dose (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**90**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of animals:								
Toxicity: main	10	10	10	10	10	10	10	10
Toxicity: treatment-free/recovery	10	10	10	10	10	10	10	10
Immunotoxicity PND28	10	10	10	10	10	10	10	10
Immunotoxicity PND78	10	10	10	10	10	10	10	10
Immunotoxicity treatment-free[c]	10	10	10	10	10	10	10	10
Fertility[a]	20	20	20	20	20	20	20	20
Toxicokinetics PND7[b]	24		60		60		60	
Toxicokinetics PND77[c]	10	10	10	10	10	10	10	10
Toxicokinetics PND7								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	N/A		43,900		129,000		358,000	
C_{max} (ng/mL)	N/A		4,570		10,700		23,200	
Toxicokinetics PND77								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	N/A	N/A	5,270	8,470	21,600	40,200	90,900	143,000
C_{max} (ng/mL)	N/A	N/A	2,330	4,030	6,010	12,000	12,100	24,100

F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.
[a]=The fertility subgroup was dosed after PND77 through pre-pairing, pairing and post-pairing/gestation.
[b]=On PND7 there is no difference between the genders for metabolism, therefore a single male and female combined sample was taken for analysis.
[c]=The animals used for toxicokinetic investigations on PND77 were maintained on study for a treatment-free period of at least 5 weeks for treatment-free immunotoxicity investigations.

表 2.6.7.15.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**90**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Noteworthy findings								
Died, missing or sacrificed moribund[a]	0	0	1	1	1	1	5[a]	4[a]
Body weight (%)[b]								
Toxicity (PND77)	320.2 g	204.2 g	-1	-4	-3	1	-6	-4
Immunotoxicity (PND28)	85.4 g	78.2 g	-2	4	-4	-5	-5	-3
Immunotoxicity (PND77)	324.5 g	204.8 g	-3	-1	2	0	-4	-3
Fertility (PND77)	316.9 g	196.3 g	-2	2	6	11***	-5	7**
Fertility: Pre-pairing (Day 15)	351.0 g	208.4 g	-2	1	-2	4	-5	7*
Fertility: Pairing (Day 16)	369.0 g	N/A	-2	N/A	-2	N/A	-6	N/A
Fertility: Post-pairing (Day 25)	401.7 g	N/A	-2	N/A	-2	N/A	-7	N/A
Fertility: Gestation Day 13	N/A	246.2 g	N/A	2	N/A	4	N/A	6
Toxicokinetics (PND77)	311.1 g	195.0 g	1	-5	-1	0	-9*	-1
Toxicity-Treatment free (Day 49 post-dosing)	385.8 g	223.0 g	-6	-5	-5	1	-6	0
Immunotoxicity-Treatment free (Day 39 postdosing)	371.8 g	212.5 g	0	2	-4	0	-9	1
Food consumption (%)[c]								
Toxicity (PND70-78)	21.1 g	15.4 g	5	-3	2	8	4	6
Fertility (PND63-70)	21.8 g	14.7 g	-3	13	3	6	2	18
Fertility: Pre-pairing (Days 8-15)	21.0 g	14.0 g	-6#	6	0	9	0	11
Fertility: Post-pairing (Days 22-25)	19.9 g	N/A	-1	N/A	2	N/A	5	N/A
Fertility: Gestation Days 12-13	N/A	19.2 g	N/A	2	N/A	6	N/A	8
Toxicity-Treatment free (Days 43-49 postdosing)	20.7 g	13.9 g	-6	-1	-1	2	-2	-1

-=no effects that were considered to be related to treatment; F=female; M=male; NA=not applicable/not assessed.
Statistics ANOVA and Dunnett's: * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 and statistics ANOVA and Dunnett's Rank Transformed Data: #p<0.05.
[a]=One male and one female of the 90 mg/kg/day group were missing on PND9 (presumed cannibalized) and were replaced. Mortality of other animals occurred mainly during the period up to weaning and therefore some of the pups were cannibalized and no clinical signs were obtained. Cause of death of others unconfirmed and/or considered to be not treatment related.
[b]=At the end of the (dosing) period. For controls, group means are shown in grams. For treated groups, percent difference from controls are shown.
[c]=During the last week of the (dosing) period. For controls, group means are shown in grams/animal/day. For treated groups, percent difference from controls are shown.

表 2.6.7.15.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**90**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Noteworthy findings								
Functional observation battery	-	-	-	-	-	-	-	-
Locomotor activity assessment (minutes)								
Total activity count (PND64-66 of dosing)	1,326	1,079	1,031#	803	912##	1,108	793###	958
Total activity count (Days 20-22 post-dosing)	1,410	1,184	913**	817**	1,322	1,189	1,157	935
Total mobile count ((PND64-66 of dosing)	227	178	256	207	77***	288	164	304
Total mobile count (Days 20-22 post-dosing)	242	222	192	196	241	210	309	272
Clinical pathology								
Hematology (PND71-72 of dosing)								
Reticulocyte count (10^9/L)	207.8	180.8	188.3	192.0	198.7	228.3**	237.5	248.5***
White blood cells (10^9/L)	8.3	5.0	6.0*	4.5	6.1*	4.2	4.4**	4.0
Lymphocytes (10^9/L)	6.92	4.03	4.64*	3.69	4.89*	3.43	3.23**	2.81
Hematology (Days 41-43 post-dosing)								
Reticulocyte count (10^9/L)	183.3	192.3	180.3	176.3	181.0	174.7	178.9	194.7
White blood cells (10^9/L)	6.1	3.4	5.9	3.2	6.2	3.5	6.7	3.8
Lymphocytes (10^9/L)	4.35	2.68	4.24	2.51	4.34	2.75	4.91	3.08
Clinical Chemistry (PND71-72 of dosing)								
Cholesterol (mmol/L)	1.6	1.2	1.8	1.5	1.8	1.6	2.3**	2.1**
Clinical Chemistry (Days 41-43 post-dosing)								
Cholesterol (mmol/L)	1.6	1.4	1.6	1.3	1.6	1.2	1.6	1.2
Urinalysis (PND71-72 of dosing)								
Specific gravity	1.043	1.036	1.039	1.041	1.046	1.049**	1.059*	1.055***
Urinalysis (Days 41-43 post-dosing)								
Specific gravity	1.022	1.016	1.029	1.021	1.025	1.020	1.021	1.022

-=no effects that were considered to be related to treatment; F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.
Statistics ANOVA and Dunnett's: * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001 and statistics ANOVA and Dunnett's rank transformed data: # p<0.05, ## p<0.01, ### p<0.001.

表 2.6.7.15.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**90**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Noteworthy findings								
Sexual maturation								
Mean day of balanopreputial separation	44	N/A	44	N/A	44	N/A	45^	N/A
Mean weight at day of balanopreputial separation (g)	180.5	N/A	182.3	N/A	181.1	N/A	176.4	N/A
Mean day of vaginal opening	N/A	33	N/A	33	N/A	32	N/A	32
Mean weight at day of vaginal opening (g)	N/A	102.6	N/A	103.8	N/A	98.7	N/A	94.1#
Reproductive performance/Fertility								
Females cohabited		20		20		19		20
Females mated		20		20		19		19
Females pregnant/nonpregnant		20/0		18/2		19/0		19/1
Males cohabited	20		20		20		19	
Males mated	20		20		19		16	
Males of fertile males	20		18		19		16	

F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.
Statistics Wilcoxon rank sum test: ^ $p<0.01$and statistics Dunnett exact homogeneous test # $p<0.05$.

表 2.6.7.15.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**90**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Noteworthy findings								
Early embryo development	N/A		N/A		N/A		N/A	
Mean number corpora lutea		13.2		12.7		14.2		13.9
Mean number implantations		11.9		11.7		12.6		12.1
Mean pre-implantation loss		1.3		1.1		1.6		1.9
Mean % pre-implantation loss		8.6		7.9		11.0		14.0
Mean number early/late resorptions		1.0/0.0		0.5/0.0		0.9/0.0		0.6/0.0
Mean post-implantation loss		1.0		0.5		0.9		0.6
Mean % post-implantation loss		8.7		4.3		7.2		5.5
Live fetuses		10.9		11.2		11.7		11.4
Sperm analysis		N/A		N/A		N/A		N/A
Mean total sperm count (M/g)	874.7		813.1		661.3#r		698.8*r	
Mean % motile	85		84		83		81	
Mean abnormal sperm (%)	1.0		0.9		0.9		1.8	

-=no effects that were considered to be related to treatment; F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.
Statistics Wilcoxon rank sum test: *: $p<0.05$, **: $p<0.001$.

表 2.6.7.15.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**90**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Noteworthy findings								
Immunotoxicity								
Anti-KLH antibody response (Days 76-77)*								
Anti-KLH IgM	<557	<688	<425	<210	<140	<140	<100	<113
Anti-KLH IgG	36,987	33,777	15,002	18,328	4,893	7,202	<245	<649
Immunophenotyping								
Blood:								
Circulating B-cells Day 28(%)	34.6	38.1	29.6	29.1***	21.1***	23.9***	14.6***	13.0***
Circulating B-cells Day 78(%)	31.7	31.8	23.3*	29.8	28.2	22.3*	22.1**	24.1
Thymus (Days 28 and 78)	-	-	-	-	-	-	-	-
Spleen (Days 28 and 78)	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunoglobulin								
Serum level of IgM (MG/L)*								
Day 28	71	<58	<40	<32	<45	<38	<32	<35
Day 78	121	114	96	74	75	72	<44	<34
Serum level of IgG (G/L)								
Day 28	0.67	0.69	0.60*	0.62	1.43	0.59	0.37***	0.69
Day 78	1.30	1.69	1.05	0.92***	0.94	1.05***	0.43***	0.56***
Organ weights[a]								
Toxicity subgroup								
Testis	1.1091	N/A	-3	N/A	-5	N/A	-18***	N/A
Immunotoxicity subgroup (PND28±1)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Fertility subgroup	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

-=no effects that were considered to be related to treatment; F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.
<=values below the limit of quantification.
[a]=Adjusted for terminal body weight. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistics is based on actual data (and not on the percent difference).
Statistics ANOVA and Dunnet's: * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001.

表 2.6.7.15.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**90**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Noteworthy findings								
Microscopic findings[1]								
Toxicity subgroup								
Spleen – no. examined	10	10	10	10	10	10	8	9
Marginal zone depletion								
No effect	9	9	8	9	7	6	1	1
Grade 1	1	1	2	1	3	3	5	3
Grade 2	0	0	0	0	0	0	2	5
Grade 3	0	0	0	0	0	1	0	0
Mesenteric lymph node – no. examined	10	10	10	10	10	10	8	9
Decreased germinal centers								
No effect	10	10	10	8	5	6	2	0
Grade 1	0	0	0	2	5	3	2	4
Grade 2	0	0	0	0	0	1	4	5
GALT/Peyer’s patches – no. examined	9	10	9	10	9	10	7	9
Decreased germinal centers								
No effect	9	10	9	10	9	9	5	5
Grade 1	0	0	0	0	0	0	2	3
Grade 2	0	0	0	0	0	1	0	1
Mandibular lymph nodes – no. examined	10	10	10	10	10	10	8	9
Decreased germinal centers								
No effect	10	10	10	9	10	9	6	5
Grade 1	0	0	0	1	0	1	2	2
Grade 2	0	0	0	0	0	0	0	2
Popliteal lymph nodes – no. examined	10	10	10	10	10	10	7	9
Decreased germinal centers								
No effect	10	10	10	10	8	6	6	5
Grade 1	0	0	0	0	2	2	1	2
Grade 2	0	0	0	0	0	2	0	2

[1]:grade 1=minimal; grade 2=slight, grade 3=moderate.
F=female; M=male; No.=number.

表 2.6.7.15.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**90**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Noteworthy findings								
Microscopic findings[1]								
Toxicity subgroup								
Testis - number examined	10	N/A	10	N/A	10	N/A	8	N/A
Decreased round spermatids								
No effect	10		10		10		6	
Grade 1	0		0		0		2	
Decreased spermatocytes								
No effect	10		10		10		7	
Grade 1	0		0		0		1	
Epididymides – number examined	10	N/A	10	N/A	10	N/A	8	N/A
Inflammatory cell foci								
No effect	9		8		7		1	
Grade 1	1		2		3		7	
Immunotoxicity subgroup (PND28±1)								
Spleen – number examined	10	10	10	10	10	10	9	9
PALS depletion								
No effect	10	10	9	9	8	8	8	6
Grade 1	0	0	1	0	0	0	0	2
Grade 2	0	0	0	1	1	1	0	1
Grade 3	0	0	0	0	1	1	1	0
Marginal zone depletion								
No effect	10	10	8	5	4	3	3	0
Grade 1	0	0	0	4	3	4	1	3
Grade 2	0	0	1	0	2	1	3	2
Grade 3	0	0	1	1	1	1	2	4
Grade 4	0	0	0	0	0	1	0	0

F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.
[1]:grade 1=minimal; grade 2=slight; grade 3=moderate; grade 4=marked.

表 2.6.7.15.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**90**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Noteworthy findings								
Microscopic findings[1]								
Thymus – number examined	10	10	10	10	10	10	9	9
Atrophy								
No effect	10	0	9	0	9	7	9	7
Grade 1	0	0	1	0	0	2	0	2
Grade 2	0	0	0	0	1	0	0	0
Grade 3	0	0	0	0	0	1	0	0
Lymphocytolysis								
No effect	10	10	10	10	9	7	9	9
Grade 1	0	0	0	0	1	3	0	0
Fertility subgroup								
Testis – number examined	20	N/A	20	N/A	20	N/A	19	N/A
Decreased round spermatids								
No effect	18		19		20		10	
Grade 1	2		1		0		9	
Decreased spermatocytes								
No effect	17		16		18		11	
Grade 1	3		4		2		8	
Epididymides – number examined	20	N/A	20	N/A	20	N/A	19	N/A
Inflammatory cell foci								
No effect	18		14		10		6	
Grade 1	2		6		10		13	

F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.
[1]:grade 1=minimal; grade 2=slight; grade 3=moderate.

表 2.6.7.15.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.5.4.2（続き）

Dose (mg/kg/day)	**0**		**10**		**30**		**90**	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Noteworthy findings in recovery animals								
Organ weights[a]								
Toxicity subgroup								
Testis	1.0090	N/A	0	N/A	-9	N/A	-8	N/A
Epididymides	0.3875	N/A	0	N/A	-2	N/A	-11	N/A
Immunotoxicology								
Anti-KLH antibody response (Days 34-35)								
Anti-KLH IgM	658	1,855	815	2,076	<642	<1,314	1,016	<1,335
Anti-KLH IgG	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunophenotyping								
Blood:								
Circulating B-cells (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Thymus	-	-	-	-	-	-	-	-
Spleen	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunoglobulin								
Serum level of IgM (MG/L)	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum level of IgG (g/L)	1.76	2.60	1.57	1.93*	1.48	2.15	1.50	1.56***
Macroscopic findings	-	-	-	-	-	-	-	-
Microscopic findings[1]								
Toxicity subgroup								
Spleen	-	-	-	-	-	-	-	-
Mesenteric lymph nodes	-	-	-	-	-	-	-	-
GALT/Peyer's patches	-	-	-	-	-	-	-	-
Mandibular lymph nodes	-	-	-	-	-	-	-	-
Testes	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A
Epididymides - number examined	10	N/A	10	N/A	10	N/A	10	N/A
Inflammatory cell foci								
No effect	9		8		6		3	
Grade 1	1		2		4		7	

-=no effects that were considered to be related to treatment; F=female; M=male; N/A=not applicable/not assessed.
[a]=Adjusted for terminal body weight. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistics is based on actual data (and not on the percent difference). Statistics: ANOVA and Dunnett's: ** p<0.01, *** p<0.001. [1]:grade 1=minimal.

2.6.7.16 局所刺激性試験

表 2.6.7.16-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.6.1

Species/Strain	Method of Admin. (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses	Gender and Number/Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number/ CTD Location
Rabbit/Dutch Belted	Topically to the right eye Suspension in 0.5% hydroxypropyl methylcellulose, 0.05% Polysorbate 80 0.2% dibasic sodium phosphate 0.75% sodium chloride pH 7.4	6 doses on one day, 1 hour apart	2 drops per dose (is about 60 µL/dose) of a concentration of 0.5%, 2% and 5%	3M/group	Not reported	≥0.5% No mortalities and no remarkable clinical signs and no effects on body weight 2% and 5% Minimal and transient conjunctival hyperemia (effect resolved after 24 hours)	[redacted] [4.2.3.6.1]
M=male.							

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17.1 *In vitro* 光毒性試験

表 2.6.7.17.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.7.7.1

Report Title: *In vitro* 3T3 NRU phototoxicity profiling Assay
Test for Induction of: Phototoxicity
Cell Type: Mouse Balb/c fibroblast cell line 3T3 clone A31
Metabolizing System: Not applicable
Test Article: Leniolisib
Number of Independent Assays: 2
Number Of Replicate Cultures: 3
Number of Cells Analyzed/Culture: 6 wells (negative control), 3 wells/per concentration (test article and positive control)
Study Number: [redacted]
Location in CTD Section: 4.2.3.7.7.1
Vehicles: **For Test Article**: HBSS with 1% DMSO
For Positive Controls: HBSS with 1% DMSO
GLP Compliance: No
Treatment: 50 minutes UVA treatment at a UVA dose of 5.0±0.3 J/cm^2.
Date of Treatment: Not reported
Phototoxic Effects: Weakly positive (PIF 5.3).

The likelihood of *in vivo* phototoxicity increases with the PIF value and, therefore, PIF values between 5 and 25 are considered weakly positive.

Main Experiment			
Test Article	**EC_{50} Absence of Irradiation**	**EC_{50} Presence of Irradiation**	**PIF Value**
Leniolisib	521 mM*	98 mM	5.3
Chlorpromazine	7.0-90.0 mg/mL	0.1-2.0 mg/mL	≥6**
* EC_{50} estimated close to solubility limit (extrapolation) ** Positive control met the acceptance criteria			
EC_{50}=the concentration of a drug that gives half-maximal response; DMSO= Dimethyl sulfoxide; HBSS= Hanks Balanced Salt Solution; PIF=photo irritation factor; UVA=ultraviolet A radiation.			

表 2.6.7.17.1-2 試験番号[redacted]、資料番号 4.2.3.7.7.2

Report Title: *In vitro* Balb/c 3T3 neutral red uptake phototoxicity assay
Test Article: Leniolisib
Test for Induction of: Phototoxicity
Number of Independent Assays: 2
Study Number: [redacted]
Cell Type: Balb/c 3T3 mouse fibroblast cells
Number Of Replicate Cultures: 6
Location in CTD Section: 4.2.3.7.7.2
Metabolizing System: Not applicable
Number of Cells Analyzed/Culture: 6 wells/concentration
Vehicles: **For Test Article**: Dimethyl sulfoxide (DMSO)
For Positive Controls: Hanks Balanced Salt Solution (HBSS)
GLP Compliance: Yes
Treatment: 1-hour exposure with the test article, + and - UVA 5 J/cm^2
Date of Treatment: 20[redacted] and 6[redacted] 20[redacted]
Phototoxic Effects: None

Range-Finder Experiment			
Test Article	**IC_{50} Absence of Irradiation (mg/mL)**	**IC_{50} Presence of Irradiation (mg/mL)**	**PIF Value**
Leniolisib	-*	-*	1.0*
Chlorpromazine	43.8	3.2	13.5**
* The cell survival at the highest concentration analysed (100 µg/mL) was more than 50% and hence IC_{50} and PIF values could not be calculated. PIF value formally set to "1" in the absence of IC_{50} values. ** PIF >6, therefore positive control response was acceptable.			
Main Experiment			
Test Article	**IC_{50} Absence of Irradiation (mg/mL)**	**IC_{50} Presence of Irradiation (mg/mL)**	**PIF Value**
Leniolisib	-*	226	1.8***
Chlorpromazine	52.8	3.8	14.0**
* The cell survival at the highest concentration tested (400 mg/mL) was more than 50% and hence an IC_{50} value could not be calculated. ** PIF >6, therefore positive control response was acceptable. *** Theoretical calculated PIF value			
IC_{50}=the concentration of a drug that gives half-maximal inhibition; PIF=photo irritation factor; UVA=ultraviolet A radiation.			

2.6.7.18 その他の試験

2.6.7.18.1 その他の試験：*in vitro* メカニズム研究、甲状腺機能障害の検討

表 2.6.7.18.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.7.3.1

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses	No of independent assays/replicates per assay	Noteworthy Findings	Study Number/ CTD Location
Investigation of thyroid liabilities with PI3 Kinase δ inhibitor leniolisib using an *in vitro* model employing rat FRTL-5 cells						
Rat thyroid FRTL-5 cell line	*In vitro* (DMSO as vehicle, 1% final concentration in wells)	24 hours and 48 hours (viability and gene expression)/ 72 hours (iodide uptake)	Up to 100 µM	Cell viability: 3 separate experiments/duplicates Gene expression: 3 separate experiments/triplicates Iodide uptake: 3 separate experiments/duplicates TPO activity: duplicates	- Significant cytotoxicity was observed for the 24-hour time point at the two highest concentrations (100 µM and 30 µM) of leniolisib. At 48-hour after starting treatment, resulted in significant toxicity at 30 µM and 100 µM. - *NIS* gene expression was significantly up-regulated and its activity was increased at 100 µM. - Leniolisib showed a trend for increase in iodide accumulation at the higher concentrations, but results were not significant. - Evaluation of leniolisib involvement in affecting thyroid peroxidase (TPO) showed no significant effects on TPO activity.	[redacted] [4.2.3.7.3.1]

2.6.7.18.2 その他の試験：不純物及び分解物の遺伝毒性試験

被験物質：塩化プロピオニル（18.2.1）及び tBuMePhos（18.2.2）

2.6.7.18.2.1 Ames 試験

表 2.6.7.18.2.1-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.7.6.4

Report Title: Ames test	**Test Article:** Propionyl Chloride (batch 2011-02-28) salt: free base		
Test for Induction of: Reverse Mutations (Ames)	**No. of Independent Assays:** 2 (3 for TA98 with S9, and 3 for TA102 with and without S9)	**Study Number:** [redacted]	
Strains: *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA97a and TA102	**No. Of Replicate Cultures**: Not reported	**Location in CTD Section:** 4.2.3.7.6.4	**GLP Compliance**: No
Metabolizing System: Liver S9 mix from male rats, Aroclor 1254-pretreated	**No. of Cells Analyzed/Culture**: not reported		**Date of Treatment**: Not reported
Vehicles:	**For Test Article**: DMSO	**For Positive Controls**: DMSO	

Treatment:
Experiment 1: Strains TA98 and TA100; concentrations tested: 1.6, 8, 40, 200, 1,000, and 5,000 µg/plate.
Experiment 2: Strains TA1535, TA97a and TA102; concentrations tested: 0.064, 0.32, 1.6, 8, 40, 200 µg/plate.
Experiment 3: All strains with and without S9; concentrations tested: 15, 50, 150, 500, 1,500, 5,000 µg/plate (repetition done due to difference of toxicity observed between experiments 1 and 2 [in experiment 2 no toxicity was observed]).
Experiment 4: Strain TA98 with S9; concentrations tested: 15, 50,150, 300 µg/plate (repetition done to evaluate weak increases seen in experiment 3).
Experiment 4: Strain TA102 with and without S9; concentrations tested: 15, 50, 150, 300, 1,000 µg/plate (repetition done to evaluate weak increases seen in experiment 3).
Cytotoxic Effects: No precipitation was observed. Bacterio-toxicity was evident at ≥1,500 µg/plate using strain TA102 with S9 (experiment 3), at ≥500 µg/plate using strains TA1535 and TA97a; with and without S9 and TA102 without S9 (experiment 3) and at ≥40 µg/plate using strains TA98 and TA100 with and without S9 (experiment 1).
Genotoxic Effects: Propionyl chloride did not show evidence of a mutagenic potential. Week increases seen in Experiment 3 using strain TA98 with S9 (no doubling achieved) could not be confirmed in Experiment 4. In addition, increases in revertants were observed using strain TA102 with and without S9 in experiment 3 (factor of >1.5 only achieved in presence of S9). However, they were not seen in Experiment 2 and 4. Thus, propionyl chloride is considered to be devoid of a mutagenic potential.

Additional Information:
- The following positive controls were used: 2-aminoanthracene, benzo(a)pyrene, sodium azide, 9-aminoacridine, 2-nitrofluorene, mitomycin C.
- The mean mutant number of negative control plates lay within the range of acceptable negative control values.
- The positive controls induced a response equal to twice (or more) the negative control incidence, which is formally the criterion for a mutagenic activity of a compound. Exception is strain TA102 for which a factor of 1.5 is considered a positive result.

2.6.7.18.2.2 Ames 試験

表 2.6.7.18.2.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.7.6.5

Report Title: Bacterial reverse mutation assay

Test Article: Di-tert-butyl(2'-methyl-[1,1'-biphenyl]-2-yl)phosphine (tBuMePhos)

Test for Induction of: Reverse mutations (Ames)

Number of Independent Assays: 1 (2 for TA1535)

Study Number: [redacted]

Strains: *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA97a and TA102

Number Of Replicate Cultures: 5 (vehicle), 3 (test article and positive control)

Location in CTD Section: 4.2.3.7.6.5

Metabolizing System: Liver S9 mix from male rats, Aroclor 1254-pretreated

GLP Compliance: No

Vehicles:

For Test Article: Tert-butanol

For Positive Controls: DMSO (2NF, AAC, AAN, B[a]P), Water (NaN_3, MMC)

Date of Treatment: Not reported

Treatment: Experiment 1: with and without S9 using all strains.
Experiment 2: without S9 using TA1535.
Cytotoxic Effects: Following Experiment 1 treatments, evidence of toxicity in the form of a slight thinning of the background bacterial lawn, with or without a concurrent marked reduction in revertant numbers was observed at 250 µg/plate and above in strains TA100, TA1535, TA97a and TA102 in the absence of S9 and at 2,500 µg/plate in strains TA100, TA1535 and TA102 in the presence of S9. Following Experiment 2 treatments, evidence of toxicity in the form of a slight thinning of the background bacterial lawn was observed at 250 and 500 µg/plate in strain TA1535 in the absence of S9.
Genotoxic Effects: Not mutagenic. As the increases in revertants observed in Experiment 1 in TA1535 were not reproduced in an independent experiment there was considered to be insufficient evidence of a mutagenic potential in this strain.

表 2.6.7.18.2.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.7.6.5（続き）

			Experiment 1				
Metabolic activation	**Test article**	**Concentration (µg/plate)**	**Revertants/plate (mean)**				
			TA98	TA100	TA1535	TA97a	TA102
Without activation	Tert-butanol	-	27.8	163.8	13.4	118.2	261.6
	Untreated	-	35.6	154.0	11.8	130.8	246.8
	tBuMePhos	7.9	38.0	166.0	22.3	126.0	249.0
	tBuMePhos	25	40.3	158.7	34.0	131.7	233.7
	tBuMePhos	79	29.7	139.3	32.3	100.7	237.7
	tBuMePhos	250	29.3	116.7 S	23.7 S	84.7 S	213.3 S
	tBuMePhos	790	35.0 P	83.7 S P	15.7 P S	63.0 P S	172.0 P S
	tBuMePhos	2,500	36.7 P	73.0 S P	16.7 P S	68.0 P S	129.3 P S
	Positive Control	Compound	2NF	NaN_3	NaN_3	AAC	MMC
		Concentration (mg/plate)	5	2	2	100	0.2
		Revertants	798.3	876.7	778.3	738.3	897.7
			Experiment 1				
			TA98	TA100	TA1535	TA97a	TA102
With activation	Tert-butanol	-	39.6	113.4	18.6	145.4	220.2
	Untreated	-	42.4	121.8	18.0	174.2	256.4
	tBuMePhos	7.9	51.0	119.3	20.3	128.0	216.3
	tBuMePhos	25	38.0	127.3	20.7	158.7	213.0
	tBuMePhos	79	52.7	117.0	18.0	131.7	234.3
	tBuMePhos	250	40.3	143.3	20.7	131.0	240.7
	tBuMePhos	790	44.0 P	141.7 P	17.0 P	138.7 P	234.7 P
	tBuMePhos	2,500	48.7 P	109.7 P S	19.3 P S	154.3 P	158.7 P S
	Positive Control	Compound	B[a]P	AAN	AAN	AAN	AAN
		Concentration (mg/plate)	10	5	5	5	20
		Revertants	404.3	1,168.7	240.0	696.3	1,054.3

P=precipitation of test article observed; S=slight thinning of background bacterial lawn.
2NF=2-nitrofluorene; AAC=9-aminoacridine; AAN=2-aminoanthracene; B[a]P=benzo[a]pyrene; MMC=mitomycin C; NaN3=sodium azide.

表 2.6.7.18.2.2-1 試験番号 [redacted]、資料番号 4.2.3.7.6.5（続き）

			Experiment 2
Metabolic activation	**Test article**	**Concentration (µg/plate)**	**Revertants/plate (mean)**
			TA1535
Without activation	Tert-butanol	-	13.4
	Untreated	-	13.6
	tBuMePhos	12.5	15.3
	tBuMePhos	25	16.7
	tBuMePhos	50	18.7
	tBuMePhos	75	12.0
	tBuMePhos	100	12.0
	tBuMePhos	150	7.3 P
	tBuMePhos	250	11.3 P S
	tBuMePhos	500	11.3 P S
	Positive Control	Compound	NaN_3
		Concentration (mg/plate)	2
		Revertants	637.0

P=precipitation of test article observed; S=slight thinning of background bacterial lawn.
NaN_3=sodium azide.