ジロキシメルフマラート

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

バイオジェン・ジャパン株式会社

目次

頁

略語・略号一覧表 4
1 まとめ 6
1.1 プログラムに関する一般的情報 6
1.2 DRF 及びその代謝物の非臨床安全性評価 6
2 単回投与毒性試験 12
3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 13
3.1 マウスを用いた 5 日間／28 日間反復経口投与毒性試験 13
3.1.1 5 日間用量設定試験 13
3.1.2 28 日間反復投与試験 14
3.2 ラットを用いた 5 日間反復経口投与毒性試験 15
3.3 ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験 16
3.4 ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験 17
3.5 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 19
3.6 サルを用いた単回及び 5 日間反復経口投与毒性試験 21
3.6.1 単回投与試験 21
3.6.2 5 日間反復投与試験 22
3.7 サルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験 23
3.8 サルを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験 24
3.9 サルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 26
4 遺伝毒性 37
4.1 DRF の細菌を用いる復帰突然変異試験 37
4.2 MMF の細菌を用いる復帰突然変異試験 37
4.3 HES の細菌を用いる復帰突然変異試験 38
4.4 DRF のほ乳類細胞を用いる in vitro 染色体異常試験 39
4.5 MMF のほ乳類細胞を用いる in vitro 染色体異常試験 40
4.6 HES のほ乳類細胞を用いる in vitro 染色体異常試験 41
4.7 DRF の in vivo ラット小核及びコメット試験 41
5 がん原性（トキシコキネティクス評価を含む） 45
5.1 ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験 45
5.2 rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間経口投与がん原性試験 48
6 生殖発生毒性（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 52
6.1 雄ラットの受胎能に関する試験 52
6.2 雌ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 53
6.3 ラットの胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験 55
6.4 ラットの胚・胎児発生に関する試験 56
6.5 ウサギの胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験 57
6.5.1 忍容性試験 57
6.5.2 胚・胎児発生試験 57

6.6 ウサギの胚・胎児発生に関する試験 58
6.7 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 60
6.8 幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験 62
7 局所刺激性試験 70
7.1 サルを用いた DRF 徐放製剤の 2 週間反復経口投与局所刺激性試験及び 2 週間回復性試験 70
8 その他の毒性試験 72
8.1 毒性発現の機序に関する試験 72
8.1.1 DMF 及びヒドロキシ尿素のサルを用いた 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験 72
8.1.2 ヒト及びサルの骨髄及び PBMC 由来 T リンパ球コロニー形成細胞における DMF（[redacted]）及び MMF（[redacted]）の血液毒性試験 75
8.1.3 DMF 治療患者におけるリンパ球減少の作用機序を明らかにするための in vitro 転写プロファイリングの実行可能性パイロット試験 76
8.2 依存性 77
8.2.1 DMF のラットを用いた自己投与試験の用量設定試験 77
8.2.2 DMF のラットを用いた自己投与試験 78
8.2.3 DMF のラットを用いた薬物弁別試験 78
8.3 *不純物C 不純物含有 DRF のラット 28 日間反復経口投与毒性試験 79
8.4 DRF の光安全性評価 80
9 考察及び結論 85
9.1 DRF の安全性評価 85
9.2 全身毒性 86
9.2.1 腎臓 86
9.2.2 消化器系 87
9.2.3 心臓 87
9.2.4 骨 87
9.2.5 精巣 88
9.3 遺伝毒性 88
9.4 がん原性 89
9.5 生殖発生毒性及び幼若動物毒性 89
9.6 臨床安全性リスクと関連する非臨床安全性データ 90
9.6.1 リンパ球減少症 90
9.6.2 肝臓に対する影響 92
9.7 DRF のヒト主代謝物の安全性評価 93
9.8 結論 95
10 参考文献 97

*新薬承認情報提供時に置き換え

略語・略号一覧表

略語・略号	略していない表現	
	英語	日本語
APTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AUC	area under the concentration-time curve	濃度時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24h}$	area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours	0 時間から 24 時間までの濃度時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration	0 時間から最終定量可能時間までの濃度時間曲線下面積
BID	bis in die	1 日 2 回
CD	cluster of differentiation	—
C_{max}	maximum observed concentration	最高血漿中濃度
DEG	differentially expressed gene	発現変動遺伝子
DMF	dimethyl fumarate	フマル酸ジメチル
DRF	diroximel fumarate	ジロキシメルフマラート
ECG	electrocardiogram	心電図
EFD	embryo-fetal development	胚・胎児発生
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
GD	gestation day	妊娠日数
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
hERG	human ether-a-go-go-related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
HES	2-hydroxyethyl succinimide	2-ヒドロキシエチルスクシンイミド
HPBL	human peripheral blood lymphocyte	ヒト末梢血リンパ球
HU	hydroxyurea	ヒドロキシ尿素
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
KIM-1	kidney injury molecule-1	—
LD	lactation day	授乳日数
MCH	mean corpuscular hemoglobin	平均赤血球ヘモグロビン量
MCV	mean corpuscular volume	平均赤血球容積
MMF	monomethyl fumarate	フマル酸モノメチル
MRHD	maximum recommended human dose	最大推奨臨床用量
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸

略語・略号	略していない表現	
	英語	日本語
MS	multiple sclerosis	多発性硬化症
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NA	not applicable	該当せず
NGAL	neutrophil gelatinase-associated lipocalin	—
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
PBMC	peripheral blood mononuclear cell	末梢血単核細胞
PO	per os	経口
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
PND	postnatal day	出生後日数
QTc	interval corrected for heart rate	心拍数で補正した QT 間隔
RNA	ribonucleic acid	リボ核酸
RRMS	relapsing-remitting multiple sclerosis	再発寛解型多発性硬化症
T-CFC	T-lymphocyte colony forming cell	T リンパ球コロニー形成細胞
Tg	transgenic	トランスジェニック
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
T_{max}	time to reach maximum observed concentration	最高濃度到達時間

1 まとめ

1.1 プログラムに関する一般的情報

ジロキシメルフマラート（DRF、別名 BIIB098、ALKS 8700、又は RDC-5108）は、再発寛解型多発性硬化症（RRMS）の再発予防及び身体的障害の進行抑制の治療薬として開発した。DRF は経口投与後、全身循環に入る前に速やかに加水分解され、主活性代謝物のフマル酸モノメチル（MMF）、主不活性代謝物の 2-ヒドロキシエチルスクシンイミド（HES、別名 RDC-6567）及びマイナーな代謝物の RDC-8439（ヒトに DRF を投与したときの全身曝露量の 1%未満）を生成する。

DRF 462 mg を経口投与すると、多発性硬化症（MS）の再発予防及び身体的障害の進行抑制を適応症として現在市販されているテクフィデラ®（フマル酸ジメチル［DMF］240mg）の経口投与と生物学的に同程度の MMF の曝露量を示した［M2.7.1.2.3.1、ALK8700-A103 試験］;［M2.7.1.2.3.2、ALK8700-A104 試験］。DRF 及び DMF は両者とも、経口投与後全身循環に入る前にエステラーゼにより速やかに加水分解されて主活性代謝物である MMF に変換され、血漿中では定量できない［M2.7.1.2.3.1、ALK8700-A103 試験］;［M2.7.1.2.3.2、ALK8700-A104 試験］。そのため、DMF で実施された薬物動態（PK）解析と同様に、DRF に関するすべての PK パラメータは、その代謝物である MMF 及び HES の血漿中濃度から算出した。

1.2 DRF 及びその代謝物の非臨床安全性評価

DRF の承認申請を裏付けるため、DRF、ヒト主活性代謝物（MMF）、及びヒト主不活性代謝物（HES）の安全性を包括的に評価する非臨床安全性プログラムを実施した。ヒトのマイナーな代謝物である RDC-8439 も非臨床試験でルーチンに測定した。非臨床安全性として、安全性薬理（M2.6.2）、反復投与毒性、遺伝毒性、がん原性、生殖発生毒性、局所刺激性、及び不純物の安全性を評価し、DMF 及び MMF を用いたリンパ球減少の作用機序検討試験（DMF の市販後に対応するために実施）を実施した。DRF 及び活性代謝物 MMF の毒性プロファイルを明らかにするため、DMF の開発中に実施した一部の試験も DRF の承認申請に含めた。毒性試験の一覧を表 1 に示し、以降の項で詳細に毒性試験を説明する。

DMF の開発を裏付ける補足的試験を含む DRF 及びその代謝物を評価するすべての毒性試験は、用量設定試験及び 2 つの探索的試験を除き、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を適用して実施した。ラット及びサルは、DRF の代謝がヒトと類似しているためそれぞれげっ歯類及び非げっ歯類の一般毒性試験動物種として選択した。一般毒性試験は、ラットで 6 ヵ月まで、サルで 9 ヵ月までの投与期間で実施し、回復性を検討するため、すべての試験に休薬期間を設けた。生殖発生毒性試験は、標準的な動物種（ラット及びウサギ）を用いて受胎能、胚・胎児発生、並びに出生前及び出生後の発生に対する影響を評価した。遺伝毒性は、in vitro［細菌を用いる復帰突然変異及びヒト末梢血リンパ球（HPBL）を用いる染色体異常試験］及び in vivo（ラット小核・コメット試験）で評価した。DRF のがん原性は、rasH2 トランスジェニック（Tg）マウスの 26 週間投与試験及びラットの 2 年間投与試験で評価した。

DRF の非臨床安全性試験は、以下の医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドラインに従った。

- 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［ICH 2009］

- 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［ICH 2011］
- ICH S1B 医薬品のがん原性を検出するための試験に関するガイダンス［ICH 1997］
- ICH S1C(R2) 医薬品のがん原性試験に関するガイドライン［ICH 2008］
- ICH S5(R2) 医薬品の生殖発生毒性探索のための試験法ガイドライン［ICH 2000］
- ICH S3A トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンス［ICH 1994］
- ICH S10 医薬品の光安全性評価ガイドライン［ICH 2013］

主活性代謝物である MMF の安全性は、in vitro 及び in vivo で適切に評価した。MMF の in vitro 遺伝毒性試験は、DMF 申請下の非臨床プログラムの一部として実施した。さらに、DRF の毒性プログラムでは、in vivo 主代謝物として MMF の安全性も評価し、最大耐量に基づくアプローチを、一般毒性試験、in vivo 遺伝毒性試験、及びがん原性試験における高用量の規定に用いた。生殖発生毒性試験では、高用量を選択するために軽微な親動物毒性発現に基づくアプローチを用いた。

DRF 関連曝露量の大部分を占める HES の安全性を濃度時間曲線下面積（AUC）に基づき適切に評価するためには、一般毒性、胚・胎児発生、幼若動物毒性、及びがん原性試験において少なくとも 1 種の動物種の曝露量（AUC）が、DRF の最大推奨臨床用量（MRHD）での臨床曝露量を超える必要がある（ICH M3 (R2) Q&As）［ICH 2012］。DRF の非臨床試験はこれらの基準を満たしていることから、HES の安全性は in vivo で適切に評価されている。また、HES を用いた in vitro 遺伝毒性試験も実施した。非臨床での曝露量（AUC）は臨床曝露量を上回ったため、RDC-8439 の安全性も適切に評価された。

表 1　　DRF 及び DMF の毒性試験の一覧表

Study	Study Number/ Location in CTD	Concentration or Dose (mg/kg) [a]	Compliance	Tabulated Summary
Single-Dose Toxicity (single-dose evaluation in monkeys was performed as part of Study AT-5108-06)				
Repeat-Dose Toxicity				
Oral 5-/28-Day Range-Finding in CByB6F1 Mice[b]	AT-5108-29/ 4.2.3.2-1	5-day: 0, 50, 100, 200, 600, 1000, 3000 28-day: 0, 30, 100, 300, 1000 DRF	GLP	2.6.7.7A
5-Day Oral Dose Range-Finding in Rats	AT-5108-04/ 4.2.3.2-2	0, 100, 300, 1000 DRF	Non-GLP	2.6.7.6A
14-Day Oral Toxicity with 14-Day Recovery in Rats	AT-5108-05/ 4.2.3.2-3	0, 60, 150, 600 DRF	GLP	2.6.7.7B
91-Day Oral Toxicity with 28-Day Recovery in Rats	AT-5108-13/ 4.2.3.2-4	0, 60, 150, 450 DRF	GLP	2.6.7.7C
26-Week Oral Toxicity with 28-Day Recovery in Rats	AT-5108-15/ 4.2.3.2-5	0, 50, 100, 300 DRF	GLP	2.6.7.7D

Study	Study Number/ Location in CTD	Concentration or Dose (mg/kg) [a]	Compliance	Tabulated Summary
Single Maximum Tolerated Dose and 5-Day Oral Repeat Dose Range-Finding in Monkeys	AT-5108-06/ 4.2.3.2-6	Escalating: 0, 100, 300, 1000 Dose Range-Finding: 0, 100, 300, 1000 DRF	Non-GLP	2.6.7.6B
14-Day Oral Toxicity with 14-Day Recovery in Monkeys	AT-5108-07/ 4.2.3.2-7	0, 25, 75, 400 DRF	GLP	2.6.7.7E
91-Day Oral Toxicity with 28-Day Recovery in Monkeys	AT-5108-14/ 4.2.3.2-8	0, 25, 75, 250 DRF	GLP	2.6.7.7F
39-Week Oral Toxicity with 28-Day Recovery in Monkeys	AT-5108-16/ 4.2.3.2-9	0, 15, 50, 150 DRF	GLP	2.6.7.7G
Genotoxicity				
In Vitro Bacterial Reverse Mutation[c]	AT-5108-11/ 4.2.3.3.1-1	15–5000 µg/plate DRF	GLP	2.6.7.8A
In Vitro Bacterial Reverse Mutation	P00012-08-02[d,e]	1.6–5000 µg/plate MMF	GLP	-
In Vitro Bacterial Reverse Mutation	P098-20-01/ 4.2.3.3.1-2	100–5000 µg/plate HES	GLP	2.6.7.8B
In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration[c]	AT-5108-12/ 4.2.3.3.1-3	+S9: 50–255 µg/mL −S9: 15–225 µg/mL DRF	GLP	2.6.7.8C
In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration[c]	P00012-08-03[d,e]	+S9: 100-245 µg/mL −S9: 20.2-41.0 µg/mL MMF	GLP	-
In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration	P098-20-02/ 4.2.3.3.1-4	35.8-143 µg/mL HES	GLP	2.6.7.8D
In Vivo Micronucleus and Comet Assay in Rats	AT-5108-23/ 4.2.3.3.2-1	0, 500, 1000, 2000 DRF	GLP	2.6.7.9A
Carcinogenicity				
2-Year Oral Carcinogenicity in Rats	AT-5108-26/ 4.2.3.4.1-1	0, 15, 50, 150 DRF	GLP	2.6.7.10A
6-Month Oral Carcinogenicity in rasH2 Transgenic Mice	AT-5108-31/ 4.2.3.4.2-1	Males: 0, 30, 100, 300 Females: 0, 30, 100, 300, 1000 DRF	GLP	2.6.7.10B
Reproductive and Developmental Toxicity				
Male Fertility in Rats	AT-5108-19/ 4.2.3.5.1-1	0, 40, 120, 400 DRF	GLP	2.6.7.12A

Study	Study Number/ Location in CTD	Concentration or Dose (mg/kg) [a]	Compliance	Tabulated Summary
Female Fertility and Early Development to Implantation in Rats	AT-5108-20/ 4.2.3.5.1-2	0, 40, 120, 450 DRF	GLP	2.6.7.12B
Oral Dose Range-Finding in Pregnant Rats	AT-5108-17/ 4.2.3.5.2-1	0, 100, 200, 400, 600 DRF	Non-GLP	2.6.7.11A
Embryofoetal Development in Rats	AT-5108-21/ 4.2.3.5.2-2	0, 40, 100, 400 DRF	GLP	2.6.7.13A
Oral Dose Range-Finding in Pregnant Rabbits	AT-5108-18/ 4.2.3.5.2-3	Nonpregnant: 50, 200, 500 DRF Pregnant: 0, 50, 100, 200, 350 DRF	Non-GLP	2.6.7.11B
Embryofoetal Development in Rabbits	AT-5108-22/ 4.2.3.5.2-4	0, 50, 150, 350 DRF	GLP	2.6.7.13B
Prenatal and Postnatal Development in Rats	AT-5108-30/ 4.2.3.5.3-1	0, 40, 100, 400 DRF	GLP	2.6.7.14
6-Week Oral Toxicity with 6-Week Recovery in Juvenile Rats	AT-5108-38/ 4.2.3.5.4-1	0, 60, 150, 600 DRF	GLP	2.6.7.15A
Local Tolerance (Gastrointestinal)				
14-Day Oral Local Tolerance Study in Monkeys (Extended-Release Formulation)	AT-5108-24/ 4.2.3.6-1	0, 125, 375, 840 DRF	GLP	2.6.7.16A
Other Toxicology Studies				
DMF and HU: 3-Month Oral Combination Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys	P00012-15-05[d]/ 4.2.3.7.3-1	DMF/HU: 0/0, 25/0, 0/60, 5/60, 25/60	GLP	2.6.7.17A
DMF and MMF: Haemotoxicity on Human and Monkey T-CFCs	PD15-73[d]/ 4.2.3.7.3-2	DMF: 3.469–1388 µmol/L, MMF: 3.843–5380 µmol/L	Non-GLP	2.6.7.17B
In Vitro Transcriptional Profiling Feasibility and Pilot Study	RSCH-2018-30[d]/ 4.2.3.7.3-3	DMF: 10 and 30 µmol/L MMF: 10 and 30 µmol/L	Non-GLP	2.6.7.17C
Dose Range Finding for DMF Self-Administration in Rats	P00012-13-04/ 4.2.3.7.4-1	DMF: 0, 12.5, 25, 50 (IV)	Non-GLP	2.6.7.17D
DMF Self-Administration Assessment in Rats	P00012-13-07[d,e]	DMF: 0.625, 1.25, 2.5 mg/kg/infusion (IV)	GLP	-
DMF Drug Discrimination Assessment in Rats	P00012-14-01[d,e]	DMF: 0, 25, 100, 250	GLP	-

Study	Study Number/ Location in CTD	Concentration or Dose (mg/kg) [a]	Compliance	Tabulated Summary
28-Day Oral Toxicity in Rats Evaluating DRF with or without *Impurity C Impurity	AT-5108-25/ 4.2.3.7.6-1	DRF/*Impurity C: 0 (vehicle), 150/0, 600/0, 150/2, 600/9	GLP	2.6.7.17E
Ultraviolet and Visible range absorption of DRF and its metabolites	702-08693/ 4.2.3.7.7-1	DRF, MMF, HES, and RDC-8439: 10 and 100 µmol/L	Non-GLP	2.6.7.17F

DMF = dimethyl fumarate; DRF = diroximel fumarate; GLP = Good Laboratory Practice; HES = 2 hydroxyethyl succinimide; HU = hydroxyurea; IV = intravenous; MMF = monomethyl fumarate; T-CFC = T-lymphocyte colony forming cell.

[a] Doses are in mg/kg unless specified otherwise.

[b] The mouse range-finding study included 5-day and 28-day evaluations in wild-type littermates to define dose levels for the definitive 6-month carcinogenicity study in rasH2-Tg mice.

[c] DRF, MMF, and HES concentrations in the in vitro genetic toxicity assays are reported in µg/plate or µg/mL.

[d] Studies were conducted to support DMF (Tecfidera) development.

[e] Studies have been submitted at the filing of Tecfidera in Japan.

マウス、ラット、及びサルを用いたそれぞれ 4、26、及び 39 週間までの反復投与毒性試験では、1 種以上の動物種に DRF に関連した影響が認められた。腎臓、消化管、心臓、骨、及び精巣における毒性所見は、ALK8700-A107 試験で DRF の MRHD（924 mg/日、462 mg の 1 日 2 回［BID］）を投与したときの MMF の曝露量（AUC）のそれぞれ約 1、4、4、15、及び 15 倍以上で発現した。HES の曝露量（AUC）は、MRHD の DRF を投与したときの HES の曝露量の約 1、4、4、4、及び 6 倍以上であった。幼若ラットを含む試験で一貫して認められた所見は、腎臓（ラット及びサルにおける再生を伴う尿細管変性／壊死）及び消化管（マウス及びラットにおける前胃粘膜過形成）であった。心臓（雄ラットにおける心臓炎症及び壊死）、骨（サルにおける大腿骨及び脛骨の骨端軟骨異形成）、及び精巣（マウスにおける変性）への影響は 1 試験のみで認められ、再現性はなかった。同様の標的器官毒性は幼若ラットの腎臓及び前胃にも認められた。骨への影響は幼若ラットでも認められ、大腿骨の大きさ、骨量、及び密度の減少、骨形状の変化、並びに体重減少が認められた。これらの毒性と考えられる標的器官への影響は、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ 6 及び 5 倍で認められた。

遺伝毒性試験では、DRF は in vitro 変異原性を示さなかった。In vitro 試験で染色体異常性を示したが、in vivo 試験では染色体異常誘発性及びデオキシリボ核酸（DNA）損傷誘発性を示さなかった。In vitro 復帰突然変異試験及び染色体異常試験では、MMF 及び HES は変異原性及び染色体異常誘発性を示さなかった。ほ乳類細胞を用いる染色体異常試験における弱陽性は細胞毒性濃度の MMF のみで観察された。rasH2-Tg マウスに DRF を投与した結果、がん原性は認められなかったが、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が DRF の MRHD における臨床曝露量の約 2 倍で、雄ラットの精巣にライディッヒ細胞腺腫の発現率増加が認められた。

DRF の生殖発生毒性試験では、ウサギ（骨格変異及び異常）及びラット（骨格変異、出生時体重、及び体重パラメータの減少）の発生に影響が認められた。ウサギ及びラットにおけるこれらの発生／出生後の影響は、MMF の曝露量（AUC）が DRF の MRHD における臨床曝露量のそれぞれ約 6 及び 10 倍以上、HES の曝露量（AUC）が臨床曝露量のそれぞれ約 2 及び 5 倍以上で認

められた。また、ウサギでは、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が DRF の MRHD における臨床曝露量のそれぞれ約 13 及び 4 倍で、着床後胚損失の増加及び胎児生存性の低下も認められた。幼若ラットでは、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が DRF の MRHD における臨床曝露量のそれぞれ約 6 及び 5 倍以上であっても、神経行動、精子、及び性周期パラメータ、生殖能及び交配結果に影響は認められなかった。

DRF とそのヒト主活性代謝物（MMF）、ヒト主不活性代謝物（HES）及びヒトのマイナーな代謝物（RDC-8439）のトキシコキネティクス（TK）プロファイルを、毒性試験で使用したマウス、ラット、ウサギ、及びサルで評価した。DRF、MMF、及び RDC-8439 はすべての in vivo 毒性試験で測定したが、HES は生体試料中濃度分析法がバリデーションされた開発プログラム後期に評価した。分析法が利用可能になる前に完了した毒性試験については、既存の試験（ウサギ）又は DRF を用いてラット及びサルで実施した GLP ブリッジング PK 試験から HES の曝露量を推定した。その結果、MMF、HES、及び RDC-8439 は DRF 投与後にすべての動物種の血漿中で測定可能であったが、DRF では測定できなかった。

毒性試験で用いた動物種に DRF を投与したときにみられた標的器官への影響（腎毒性等）は、DMF 投与に関連した所見に類似しており、DMF の MRHD と比較して同程度の MMF の曝露倍数で発現したことから、MMF に関連するものと考えられた。幼若ラットの標的器官は成熟動物と重複しており、幼若ラットの DMF 投与時に認められたものと類似していた。

DRF は 290～700 nm の波長の光を吸収しなかったことから光毒性を引き起こすほどの光反応性はないと考えられ、また、DRF による薬物乱用の可能性は低いと判断された。

2　　単回投与毒性試験

DRF の単回投与毒性試験は実施しなかった。試験デザインに単回投与フェーズを含めたサルの用量設定試験［AT-5108-06 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-6）を 3.6 項に要約する。

3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

反復投与毒性試験で DRF の調製に使用した溶媒は、0.5%（w/w）Methocel E 50 Premium LV 及び 0.2%（w/w）ポリソルベート 20 を脱イオン水中に含む 50 mM クエン酸緩衝液であり、pH は 4 ± 0.1 であった。この溶媒を対照群にも使用した。

DRF、MMF、及び RDC-8439 の TK 評価は、すべての反復投与毒性試験で実施した。HES の曝露量は、開発プログラムの後期に実施した試験ではバリデートされた生体試料中濃度分析法が利用可能となった時点で測定した（rasH2-Tg マウスと同腹の野生型における用量設定試験［AT-5108-29 試験］［添付資料番号 4.2.3.2-1］、ラットの 26 週間投与試験［AT-5108-15 試験］［添付資料番号 4.2.3.2-5］、サルの 39 週間投与試験［AT-5108-16 試験］［添付資料番号 4.2.3.2-9］）。分析法が利用可能になる前に完了した試験については、M2.6.4.3 に記載したとおり、HES はラット（AT-5108-27 試験）（添付資料番号 4.2.2.2-3）及びサル（AT-5108-28 試験）（添付資料番号 4.2.2.2-4）を用いた DRF を評価するブリッジング PK 試験から推定した。

反復投与毒性試験の概要を以下に示し、表 2、M2.6.7.6、及び M2.6.7.7 に概要表を示す。

3.1 マウスを用いた 5 日間／28 日間反復経口投与毒性試験

AT-5108-29（添付資料番号 4.2.3.2-1）

本試験は、CByB6F1 マウス（rasH2-Tg マウスと同腹の野生型）に反復経口投与（強制経口）したときの DRF の毒性を評価した。最初に 5 日間反復投与用量設定試験を実施し、28 日間反復経口投与毒性試験及び TK 試験の用量を設定した。後者の評価結果は、rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間がん原性試験の用量設定に用いた（5.2 項）。

3.1.1 5 日間用量設定試験

雌雄マウス（各群雌雄各 4～5 例）に溶媒又は DRF の 50、100、200、600、1000、若しくは 3000 mg/kg を 5 日間連日投与し、生存例は Day 6（投与日：Day 1）に安楽死させた。毒性評価は、死亡、一般状態及び体重パラメータに基づいて行った。

3000 mg/kg 群の雌雄全例が Day 3 又は 4 に死亡又は瀕死状態のため安楽死させた。DRF に関連した一般状態の変化は 3000 mg/kg 群のみにみられ、全例で Day 1～3 に自発運動の低下、雌雄各 1 例で Day 3 に振戦、雌 1 例で Day 3 に腹臥位が認められた。Day 4 に瀕死状態で安楽死させた 3000 mg/kg 群の雌 1 例に被毛粗毛が認められた。いずれの DRF 投与群の平均体重も対照群との間に統計学的に有意又は顕著な差は認められなかった。しかし、1000 mg/kg 群の雌雄の Day 1～6 の平均体重増加量は対照群と比較して統計的に有意に低く、平均体重は Day 1 の平均体重よりそれぞれ 2.62%及び 4.55%減少した。3000 mg/kg 群では試験終了時まで生存しなかったため、体重への影響は評価できなかった。

5 日間用量設定試験の所見に基づき、28 日間反復投与試験の DRF の高用量として 1000 mg/kg を選択した。

3.1.2 28 日間反復投与試験

雌雄マウス（各群雌雄各 10 例）に溶媒又は DRF の 30、100、300、若しくは 1000 mg/kg を 28 日間連日投与した。死亡、一般状態、体重パラメータ、摂餌量、器官重量、臨床検査、及び病理学的検査に基づき毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF、HES、及び RDC-8439）の TK 評価は、同じ投与レジメンのサテライト動物（対照群：雌雄各 8 例、DRF 投与群：雌雄各 20～38 例）を用いて Day 1 及び 27 に行った。

1000 mg/kg 群の雄 1 例を Day 7 に瀕死状態のため安楽死させ、1000 mg/kg の TK 群の雄 1 例の死亡を Day 4 に発見した。正確な死因は特定されなかったが、DRF 投与と関連ありと判断された。DRF に関連した一般状態変化として、300 mg/kg 群の雌雄各 1 例及び 1000 mg/kg 群の全例に自発運動の低下が認められた。1000 mg/kg 群で認められたその他の DRF 関連の一般状態変化は、努力性／浅速呼吸、被毛粗毛、腹臥位、及び削痩であった。DRF 投与に関連した体重減少が 1000 mg/kg 群の雌雄で Day 1～8 にみられ、摂餌量の減少も伴った。しかし、28 日間反復投与時の 1000 mg/kg 群の平均体重及び体重増加量は対照群と同程度であった。平均体重及び体重増加量への影響は毒性とは判断されなかった。

DRF に関連した血液学的パラメータの変化が、平均赤血球数、ヘモグロビン、及びヘマトクリット値に認められ、対照群と比較して 1000 mg/kg 群の雄では軽度に低く、1000 mg/kg 群の雌では軽微に低かった。これらの赤血球パラメータの差に伴って、1000 mg/kg 群の雌雄では網状赤血球数が軽度に高かった。DRF に関連した血液生化学的パラメータの変化として、全投与群の雄及び 300 mg/kg 以上の雌にアルカリホスファターゼの軽度な低値、並びに 300 mg/kg 以上の雄及び 1000 mg/kg 群の雌にグルコース濃度の軽度な高値が認められた。DRF に関連した血液及び血液生化学的パラメータの変化はいずれも毒性とは判断されなかった。

1000 mg/kg 群で DRF に関連した精巣の変化が認められ、これらは軽微な変性を示唆する精細管における巨大精子細胞の発現率増加及び精子細胞の軽微な減少であった。これらの所見は精巣の絶対及び相対重量の低値と関連し、毒性と判断された。さらに、300 mg/kg 以上の群で精巣上体管内の細胞残屑増加がみられたが、これは精巣の重症度の低い変性の下流変化と一致するものであり、毒性とは判断されなかった。

1000 mg/kg 群ではその他の DRF 関連の病理組織学的所見として、雌雄の前胃に過角化を伴う軽微～中等度の上皮過形成、雌雄の鼻腔に軽微な慢性活動性炎症、並びに脾臓に髄外造血の発現頻度（雄）又は重症度（雌）の軽度な増加が認められた。これらの変化は軽度の局所刺激性に一致するものであり、毒性ではないと判断された。また、300 mg/kg 群（腎臓は雌のみ）及び 1000 mg/kg 群（腎臓は雌のみ、肝臓は雌雄）で肝臓及び腎臓に適応性変化（細胞肥大を伴う絶対及び／又は相対器官重量の増加）が認められた。

rasH2-Tg マウスと同腹の野生型に DRF を経口（強制）投与したときの最大耐量は、雄では死亡並びに精巣及び精巣上体における毒性所見に基づき 300 mg/kg と考えられ、雌では毒性所見が認められなかったことから 1000 mg/kg と考えられた。

DRF の 300 mg/kg を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（最高血漿中濃度［C_{max}］/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 13

倍以上／2 倍及び 6 倍以上／0.9 倍以上であった。DRF の 1000 mg/kg を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD における臨床曝露量のそれぞれ 35 倍以上／11 倍以上及び 18 倍／4 倍以上であった。非臨床試験で曝露が認められたものの、臨床試験では測定可能な曝露が認められなかったことから、両用量での RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

マウス及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため、DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 2 及び M2.6.7.7A に示す。

3.2 ラットを用いた 5 日間反復経口投与毒性試験

AT-5108-04（添付資料番号 4.2.3.2-2）

雌雄 Sprague Dawley ラット（各群雌雄各 5 例）に DRF を 0（溶媒）、100、300、又は 1000 mg/kg の用量で 5 日間反復経口投与した。死亡、一般状態、体重パラメータ、摂餌量、臨床検査、及び病理学的検査に基づいて毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK 評価は、同じ投与レジメンのサテライト動物（対照群：雌雄各 3 例、各 DRF 投与群：雌雄各 6 例）を用いて Day 5 に行った。HES（代謝物）の曝露量は、ラットを用いた DRF の 5 日間ブリッジング PK 試験［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）の結果を用いて推定した。

DRF に関連した所見として、1000 mg/kg 群で一般状態変化（立毛、削痩、食欲不振、円背位、及び異常発声）並びに体重及び摂餌量の減少が認められた。1000 mg/kg 群の雌に血清 γ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT）及びアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の軽度な増加が認められ、DRF に関連すると考えられた。しかし、これらの所見に関連する病理組織学的所見は認められなかった。DRF に関連すると考えられる病理組織学的所見が、300 mg/kg 以上の前胃及び 1000 mg/kg 群の腺胃（粘膜過形成、びらん／潰瘍、急性／亜急性炎症、出血、浮腫、線維増殖、及び／又は管腔滲出液）、十二指腸（1000 mg/kg 群で粘膜過形成）及び腎臓（全用量群の雌及び 1000 mg/kg 群の雄に両側尿細管変性）に認められた。腎臓の病理組織学的変化と関連する臨床検査所見は認められなかった。

1000 mg/kg で毒性と考えられた一般状態の変化、体重及び摂餌量減少、並びに胃の病理組織学的変化に基づき、DRF の最大耐量は 300 mg/kg であった。最大耐量の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max} 及び AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 10 倍以上／5 倍以上及び 5 倍／3 倍であった。非臨床試験で曝露が認められたものの、臨床試験では測定可能な曝露が認められなかったため、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。ラット及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため、DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 2 及び M2.6.7.6A に示す。

3.3 ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

AT-5108-05（添付資料番号 4.2.3.2-3）

雌雄 Sprague Dawley ラット（各群雌雄各 15 例）を用いた 2 週間反復経口投与試験では、DRF の 0（溶媒）、60、150、及び 600 mg/kg を評価した。14 日間の投与後に各群雌雄各 10 例を剖検し、各群雌雄各 5 例には観察された変化の可逆性を評価するため 14 日間の投与後観察期間を設けた。死亡、一般状態、体重パラメータ、摂餌量、眼科学的検査、器官重量、臨床検査、及び病理学的検査に基づいて毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK 評価は、同じ投与レジメンのサテライト動物（対照群：雌雄各 3 例、各 DRF 投与群：雌雄各 6 例）を用いて Day 1 及び 14 に行った。HES（代謝物）の曝露量は、ラットを用いた DRF の 5 日間ブリッジング PK 試験［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）の結果を用いて推定した。

すべての動物が計画屠殺時まで生存した。DRF に関連すると考えられる一般状態観察又は眼科学的検査における変化、群平均体重及び／若しくは体重増加量、又は摂餌量の変化は認められなかった。

DRF に関連した臨床検査における影響として、150 mg/kg 以上の雌に軽度の血清トリグリセリド増加、600 mg/kg 群の雌雄いずれか又は両方に軽度の網状赤血球増加、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）短縮、及び血清リン増加が認められた。150 mg/kg 群の雄及び 600 mg/kg 群の雌雄で血清 ALT の軽微ではあるが統計学的に有意な増加が認められた。変化の程度が小さく、関連する病理組織学的所見が認められなかったことから、これらの所見に毒性学的意義はないと考えられた。いずれの変化も休薬期間中に回復したことから、毒性ではないと判断された。

DRF に関連した剖検所見は、600 mg/kg 群の雌雄における前胃の黄褐色病巣及び不規則な表面に限られ、これは病理組織学的検査での上皮過形成と関連していた。600 mg/kg 群の雌雄の胃、腎臓、及び肝臓重量（絶対及び相対重量）に、DRF に関連した増加が認められた。回復群の剖検では、すべての器官重量所見に完全又は部分的な回復性が認められたが、回復群の動物には関連する病理組織学的所見が認められなかったため、すべての所見に完全な回復性がみられなかったことは機能的に重要ではないと考えられた。DRF に関連した病理組織学的所見が、600 mg/kg 群の前胃（雌雄に扁平上皮過形成）、腎臓（雌に両側性尿細管変性／壊死）、及び十二指腸（雄に粘膜過形成）に認められた。剖検時に認められた DRF に関連した病理組織学的所見は、いずれも回復群の剖検時に完全に回復した。DRF に関連した病理学的所見は可逆性であり、臓器に機能的な影響がなかったことから、毒性ではないと判断された。

要約すると、ラットに DRF を 60、150、又は 600 mg/kg の用量で 14 日間反復経口投与した結果、試験期間中に DRF の有害作用は認められなかった。これらの結果に基づき、無毒性量は 600 mg/kg であった。無毒性量の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 14 倍以上／9 倍以上及び 8 倍／5 倍であった。非臨床試験で曝露がみられたものの、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

ラット及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため、DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 2 及び M2.6.7.7B に示す。

3.4 ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験

AT-5108-13（添付資料番号 4.2.3.2-4）

雌雄 Sprague Dawley ラット（対照群及び高用量群：雌雄各 15 例、低用量群及び中用量群：雌雄各 10 例）を用いた 91 日間反復経口投与試験では、0（溶媒）、60、150、又は 450 mg/kg の用量で DRF を評価した。91 日間投与後に各群雌雄各 10 例を剖検し、対照群及び高用量群の雌雄各 5 例に 28 日間の投与後観察期間を設けて、観察された変化の可逆性を評価した。死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、器官重量、臨床検査、及び病理学的検査に基づいて毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK 評価は、同じ投与レジメンのサテライト動物（対照群：雌雄各 3 例、各 DRF 投与群：雌雄各 6 例）を用いて Day 1 及び 91 に行った。HES（代謝物）の曝露量は、ラットを用いた DRF の 5 日間ブリッジング PK 試験［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）の結果を用いて推定した。

91 日間の投与後に DRF に関連した眼科学的所見は認められなかった。

450 mg/kg 群で、雄 3 例が Day 54 及び 58 に死亡した（1 例は安楽死前に死亡、1 例は死亡発見、1 例は切迫と殺）。雄 3 例中 2 例で円背位、削痩、活動性低下、及び鼻周囲の赤色物質などの臨床症状が認められた。3 例全例の死亡／瀕死状態の原因は病理組織学的に心臓の炎症／壊死と判断され、所見は DRF 関連と判断された。1 例には主に心尖部に限局性の中等度の炎症／壊死が認められた。心筋壊死が集中した領域は、周囲の心筋に伸展して増殖した間葉細胞により囲まれていた。心房の心外膜組織及び心臓に付着する大動脈の外膜組織に、心内膜過形成及び炎症の限局巣が認められた。残りの 2 例の心臓の病理組織学的所見は類似しており、鉱質沈着を伴う筋線維のびまん性で中等度の変性／壊死であった。他の 450 mg/kg 群の雄及び他の用量群の雌雄の心臓に炎症／壊死は認められなかった。安楽死させた 3 例中 1 例以上に認められたその他の病理組織所見は、胸腺及び脾臓のリンパ球減少（全身毒性に続発したと推定される）、腎臓の両側性の軽度な尿細管変性／再生、十二指腸の軽微な粘膜過形成、腺胃の軽度なびらん／潰瘍、両側性の副腎皮質肥大、骨髄の造血細胞壊死、及び膵臓の分泌物（顆粒）減少であった。

DRF に関連した一般状態変化は、450 mg/kg 群における流涎、円背位、削痩及び活動性低下であった。これらの所見は休薬期間中には認められなかった。DRF に関連した群平均体重及び／又は体重増加量の減少（対照群との比較）が認められた。体重は、雄では投与期間を通して 6%～17%、雌では投与期間中の間欠的な間隔で 5%～9%減少した。これらの変化は、450 mg/kg 群の雌雄における平均摂餌量の DRF に関連した減少、及び削痩の一般状態変化と関連した。休薬期間中、雌雄の体重増加量は対照群と同程度であった。

450 mg/kg 群の雄では、DRF に関連した赤血球量の減少がみられたが、網状赤血球に意義のある変化は認められなかった。450 mg/kg 群の雌では再生性の赤血球造血反応に一致する網状赤血球の増加がみられた。赤血球及び網状赤血球の変化は軽度で骨髄に重大な変化を引き起こすには不十分であり、これらの変化に関連する骨髄所見は 450 mg/kg 群の雌雄にみられなかった。150 mg/kg 以上の雄における APTT 及び 450 mg/kg 群の雄におけるフィブリノゲン減少は、DRF に関連する可能性があるが、変化が軽微であったことから生物学的意義はないと考えられた。450 mg/kg 群の雌雄でみられた DRF に関連したグロブリンの減少により、総タンパクは減少し、アルブミン／グロブリン比は増加した。60 mg/kg 以上の雌雄におけるクレアチニン減少は、特に

450 mg/kg 群における体重及び／又は摂餌量の減少に起因する可能性があり、間接的に DRF に関連した可能性が考えられた。450 mg/kg 群の雌では、リンの増加、尿素窒素の減少及びトリグリセリドの増加などの血液生化学的パラメータのいくつかの変化も間接的に DRF に関連しており、摂餌量減少に起因した可能性がある。同様の変化は 450 mg/kg 群の雄には認められなかった。450 mg/kg 群では、尿比重の低下に伴って、尿量の増加が認められた。尿量の増加及び尿比重の低下は、尿産生の増加及び／又は尿濃縮の低下を示し、腎臓の病理組織学的変化（尿細管変性／再生）と関連していた。いずれの変化も休薬期間終了時までに回復した。

DRF に関連した剖検所見は、450 mg/kg 群の雄 1 例における前胃の白色結節のみであった（軽度な扁平上皮過形成の病理組織学的所見と関連）。回復群の剖検では所見は認められなかった。

DRF に関連した器官重量変化は、すべての DRF 投与群の雌雄における腎臓及び胃重量の用量依存的な増加、並びに 150 及び／又は 450 mg/kg 群の雌雄における肝臓重量の増加であった。休薬期間後、腎臓及び胃の平均重量は高値であったが、剖検時の重量よりも低かったことから、部分的な回復が示唆された。450 mg/kg 群の雌雄の平均肝重量は完全に回復したと考えられた。

DRF 関連の病理組織学的所見は、腎臓（主に皮質内層）の軽微～軽度の尿細管変性／再生、前胃及び十二指腸の軽微～軽度の粘膜過形成、並びに肝臓の軽微な汎小葉性肝細胞肥大／過形成であった。これらの腎臓の病理組織学的変化は、450 mg/kg 群の雌雄では毒性と考えられた。毒性の判断基準は、細胞消失及びその後の再生の原因となる尿細管変性変化、尿量の増加と尿比重の減少によって示される潜在的機能変化、及び腎臓重量の増加とした。病理組織学的変化は、150 mg/kg 群の雄及び 450 mg/kg 群の雌では可逆的であり、450 mg/kg 群の雄では回復の可能性が認められた。回復群で DRF に関連する可能性のある病理組織学的所見は、450 mg/kg 群の雄の腎臓における両側性好塩基性尿細管の重症度増加のみであった。好塩基性尿細管はラットでは自然発生所見であり、好塩基性尿細管の重症度増加は個体差又は不完全な回復を示している可能性がある。

150 及び／又は 450 mg/kg 群の雄及び／又は雌では、上部消化管（前胃及び十二指腸）の粘膜過形成の発現率増加が認められた。上部消化管の病理組織学的所見は、450 mg/kg 群では DRF に関連しており、毒性と考えられたが、回復性が認められた。機能的変化を示す特異的な一般状態や血液生化学検査項目に変化がみられなかったため、上部消化管粘膜過形成を毒性とみなすことはできない。本試験では摂餌量減少及びその後の体重／体重増加量減少は、上部消化管の病理組織学的変化に関連した機能的変化である可能性がある。上部消化管における DRF に関連した変化を毒性と判断する基準は、胃重量の増加、2 週間から 3 ヵ月間の試験における粘膜過形成（有糸分裂増加を含む）の持続性、摂餌量の減少、並びに体重及び体重増加量の減少とした。

450 mg/kg 群の一部の雌雄に肝細胞肥大／過形成が認められたが、肝細胞傷害や関連する血液生化学的パラメータの増加は認められなかった。肝臓重量の増加及び軽微な肝細胞過形成／肥大は DRF に関連するが、毒性ではないと考えられた。

要約すると、ラットに 450 mg/kg の用量で 1 日 1 回 91 日間強制経口投与した結果、雄 3 例が心臓の炎症／壊死により死亡した。450 mg/kg 群ではその他の所見として、尿細管変性／再生の病理組織学的所見、それに関連した尿量増加及び尿比重低下、対照群と比較して平均体重減少が認められた。これらは毒性所見と判断された。150 mg/kg 群における DRF に関連した病理組織学的所見は、重症度が低く完全に回復したことから、毒性ではないと判断した。したがって、DRF の無

毒性量は 150 mg/kg と判断された。

無毒性量の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 6 倍以上／2 倍以上及び 3 倍／2 倍であった。非臨床試験で曝露がみられたものの、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

ラット及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため、全身曝露と DRF の関係は算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 2 及び M2.6.7.7C に示す。

3.5 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

AT-5108-15（添付資料番号 4.2.3.2-5）

雌雄 Sprague Dawley ラット（対照群及び高用量群：雌雄各 20 例、低用量群及び中用量群：雌雄各 15 例）を用いた 26 週間反復経口投与試験では、0（溶媒）、50、100、又は 300 mg/kg の用量で DRF を評価した。死亡、一般状態、体重パラメータ、摂餌量、眼科学的検査、器官重量、臨床検査及び病理学的検査に基づいて毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF、HES 及び RDC-8439）の TK 評価は、同じ投与レジメンのサテライト動物（対照群：雌雄各 3 例、各 DRF 投与群：雌雄各 6 例）を用いて Day 1（HES を除く）及び Day 182 に行った。進行中の生体試料中濃度分析法が開発されたことにより、投与最終日の HES 測定はバリデートされた方法で行った。

投与群の 7 例（雌 5 例及び雄 2 例）及び TK 群の 1 例が Day 33～159 に死亡又は切迫と殺された。いずれの死亡も DRF と関連なしと判断された。

DRF に関連した一般状態の変化、腫瘤所見、眼科学的所見及び摂餌量の変化は認められなかった。

DRF に関連した群平均体重及び／又は体重増加量の減少（対照群との比較）が 300 mg/kg 群に認められた。体重減少は軽度であり、雄では Day 35～183 に 5%～7%、雌では投与期間中に間欠的に 5%～6%の範囲で認められた。群平均体重の軽度減少は影響の程度、関連する一般状態変化及び／又は摂餌量の変化がなかったことから、毒性ではないと考えられた。300 mg/kg 群の休薬期間中の平均体重増加量は、対照群の雄 45%及び雌 46%であった。

DRF に関連した臨床検査パラメータの変化のうち、毒性と判断された変化は、尿検査、血液生化学的検査及び血液学検査で認められた。腎障害及び／又は腎機能の変化に起因する可能性がある所見として、尿中バイオマーカー（KIM-1［kidney injury molecule-1］、NGAL［neutrophil gelatinase-associated lipocalin］、アルブミン、及び／又はオステオポンチン／クレアチニン比）の増加、血清リン濃度増加、電解質変化（雌雄で血清カリウム増加、雌でクロール減少）、尿量増加及びそれに伴う尿比重低下、タンパク尿増加が認められた。これらの変化は概して、100 及び 300 mg/kg 群の雄並びに 300 mg/kg 群の雌に発現率及び重症度が最も高く認められ、病理組織学的検査での腎臓の尿細管壊死／変性、肥大、再生、及び／又はタンパク様物質と関連した。100 及び 300 mg/kg 群の雌雄における一連の臨床検査所見は、発現率、重症度、並びに臨床検査及び病理組織学的所見の範囲に基づき、毒性と判断された。これらの影響は、300 mg/kg 群の雌におけるカリウム及びリン並びに 300 mg/kg 群の雄における尿量／比重及び KIM-1／クレアチニン比の変化を除き、4 週

間の休薬期間後に部分的又は完全に回復した。

100 及び 300 mg/kg 群の雄では二次的な血清タンパク減少がみられ、尿中へのタンパク喪失に起因すると推定された。300 mg/kg 群の雄では休薬期間終了時にも血清タンパクの減少が持続した。100 及び 300 mg/kg 群の雄で赤血球溶血に起因する変化が認められ、赤血球量減少並びにそれに伴う網状赤血球増加（300 mg/kg 群の雄のみ）及び血液塗抹標本の顕微鏡検査における球状赤血球の出現を伴った。これらの変化（網状赤血球増加を除く）は休薬期間終了時にも持続し、100 及び 300 mg/kg 群の雄では赤血球溶血との関連性から毒性と判断された。

毒性ではないと判断された DRF に関連した血液生化学的パラメータの変化も認められた。肝細胞損傷を示す影響が 300 mg/kg 群で認められ、具体的には、血清アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）及び ALT の中等度増加が雌の 25%（3/12 例）に認められた。これらの所見は雌では休薬期間終了時にも持続したが（同程度の発現率）、関連する肝臓の病理組織学的所見は認められなかった。また、すべての用量群の雌雄に脂質ホメオスタシスの変化が認められ、具体的には 100 及び 300 mg/kg 群の雄及びすべての用量群の雌におけるトリグリセリド濃度の増加、並びに 100 及び 300 mg/kg 群の雌におけるコレステロール濃度の増加が認められた。4 週間の休薬期間後、300 mg/kg 群の雌ではコレステロール増加が持続し、300 mg/kg 群の雌雄ではトリグリセリドの回復傾向が認められた。クレアチニン濃度の減少がすべての用量群の雌雄に認められ、体重減少に起因した可能性がある。クレアチニン減少は、4 週間の休薬期間後に 300 mg/kg 群の雌雄で部分的（雄）から完全（雌）に回復した。

その他の軽微な臨床検査所見として、すべての用量群の雄に血清アルカリホスファターゼ活性の低下が認められたが、生物学的意義はないと考えられ、100 及び 300 mg/kg 群の雄（プロトロンビン時間延長）並びに 300 mg/kg 群の雌（APTT 短縮）における凝固時間の変化は、DRF との関連性が不明であった。これらの所見は、4 週間の休薬期間後に 300 mg/kg 群の雌雄で回復した。

DRF に関連した剖検所見として、100 及び 300 mg/kg 群の雄並びに回復群の 300 mg/kg 群の雄に軽度の腎臓肥大が認められた。この所見は、病理組織学的検査で投与群及び回復群の雄にみられた尿細管変性／壊死、肥大、及び／又は再生と関連した。

DRF に関連した絶対及び相対器官重量変化として、すべての DRF 投与群の雌雄に腎臓重量の増加（病理組織学的検査で 100 及び 300 mg/kg 群の雄並びに 300 mg/kg 群の雌にみられた尿細管変性／壊死、肥大、及び／又は再生と関連）、100 及び／又は 300 mg/kg 群の雌雄に胃重量の増加（病理組織学的検査で 300 mg/kg 群の雄にみられた前胃扁平上皮過形成と関連）及び肝臓重量の増加（関連する病理組織学的所見なし）が認められた。回復群では、腎臓、胃及び肝臓の絶対及び相対重量の群平均値が、雌雄の DRF 投与群で増加した。回復群における腎臓重量の増加に関連した病理組織学的所見として、雌雄にタンパク様物質及び尿細管再生、雄に尿細管変性／壊死及び線維化が認められた。回復群における腎臓、肝臓及び胃重量の増加は、投与群と比較して軽度であったことから、部分的な回復が示された。心臓の絶対及び相対重量の増加が 300 mg/kg 群の雄に認められ、休薬後も軽度に増加したままであった。関連する病理組織学的所見は認められず、心臓重量の増加と DRF との関連性は不明と判断された。

腎臓（主に皮質の尿細管壊死／変性、肥大及び再生）及び前胃（粘膜過形成）に DRF に関連した病理組織学的所見が認められた。100 及び 300 mg/kg 群の雌雄における腎臓の病理組織学的所

見は毒性と考えられた。毒性とした基準は、雌雄における細胞消失及びその後の再生の原因となる尿細管変性変化、腎臓重量の増加、腎障害、及び／又は腎機能変化に起因する臨床検査の変化であった。休薬期間後、300 mg/kg 群の雄で尿細管変性／壊死及び再生尿細管周囲の線維化が認められた。回復群の対照群と比較して、300 mg/kg 群の雌雄で尿細管内タンパク様物質、及び尿細管再生の発現率及び／又は程度の増加が認められた。4 週間の休薬期間では、腎臓の DRF に関連した変化は完全には回復しなかった。前胃の粘膜過形成は 300 mg/kg 群の雄のみに認められ、回復群には認められなかった。前胃の所見は DRF に関連するが毒性ではないと判断された。

要約すると、ラットに DRF を 100 及び 300 mg/kg の用量で 1 日 1 回 26 週間強制経口投与した結果、臨床検査及び病理組織学的検査で毒性所見が認められた。これらの変化は腎障害及び／又は腎機能変化を示し、病理組織的に腎尿細管壊死／変性、肥大、再生、及び／又はタンパク様物質と関連した。これらの影響は、雌の血清カリウム及びリン並びに雄の尿量／比重及び KIM-1／クレアチニン比の変化を除き、4 週間の休薬期間後に部分的又は完全な回復を示した（300 mg/kg）。100 及び 300 mg/kg 群の雄における赤血球量の減少とそれに伴う網状赤血球の増加（300 mg/kg 群の雄のみ）並びに血液塗抹標本の顕微鏡検査における球状赤血球の出現は、網状赤血球の増加を除き、休薬期間後も持続し、赤血球溶血と関連した。以上に基づき、DRF の無毒性量は 50 mg/kg であった。

無毒性量の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ 3 倍以上／0.7 倍以上及び 2 倍／0.4 倍以上であった。非臨床試験で曝露がみられたものの、臨床試験では測定可能な曝露はみられなかったため、RDC-8439 の C_{max} での全身曝露比は無限大に近かった。連続した定量値が 3 時点未満であったため、RDC-8439 の AUC 値は算出できなかった。

ラット及びヒトにおける DRF の曝露量は、血漿中濃度が定量限界未満であったため算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 2 及び M2.6.7.7D に示す。

3.6 サルを用いた単回及び 5 日間反復経口投与毒性試験

AT-5108-06（添付資料番号 4.2.3.2-6）

一般毒性試験の用量設定を行うため、カニクイザルに単回及び反復投与したときの DRF の毒性を評価した。

3.6.1 単回投与試験

雌雄カニクイザル（雌雄各 1 例）に用量漸増法（投与間に 3～4 日間の休薬期間を設けて、同じ 2 例の動物に DRF を投与）により DRF を 0（溶媒）、100、300、又は 1000 mg/kg の用量で単回強制経口投与した。死亡、一般状態、体重、摂餌量及び臨床検査パラメータに基づいて毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK 評価を行った。

1000 mg/kg の雌の嘔吐を除き、DRF に関連した所見は認められなかった。血液生化学的パラメータにおける DRF に関連した可能性のある変化として、1000 mg/kg の雌に試験前値と比較してカルシウムの中等度減少並びに尿素窒素及びクレアチニンの軽度増加が認められた。

1000 mg/kg 投与後の平均 C_{max} 及び AUC_{0-24h}（雌雄合算）は、MMF でそれぞれ 82300 ng/mL 及び 168000 ng*h/mL、RDC-8439 でそれぞれ 1190 ng/mL 及び 2600 ng*h/mL であった。

3.6.2 5 日間反復投与試験

単回投与試験の結果に基づき、雌雄カニクイザル（各群雌雄各 2 例）に DRF を 0（溶媒）、100、300、又は 1000 mg/kg の用量で 5 日間反復強制経口投与した。死亡、一般状態、体重パラメータ、摂餌量、臨床検査及び病理学的検査に基づいて毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK 評価を Day 1 及び Day 5 に行い、サルを用いた DRF の 5 日間ブリッジング PK 試験［AT-5108-28 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-4）の結果を用いて HES（代謝物）の曝露量を推定した。

体重、摂餌量及び臨床検査パラメータには、DRF に関連した明らかな影響は認められなかった。試験前値と比較してリンパ球の軽度減少が 300 mg/kg 群の雄及び 300 mg/kg 以上の雌に認められたが、明らかな用量反応関係が認められず、予想された範囲と重なっており、関連する病理組織学的所見が認められなかったことから、偶発と判断された。

DRF に関連した一般状態の変化として、300 mg/kg 群の雌及び 1000 mg/kg 群の全例に水様便を伴う又は伴わない嘔吐／嘔吐物が認められた。さらに、300 mg/kg 以上の雌雄に対照群と比較して血清総ビリルビンの軽度増加が認められ、1000 mg/kg 群の雌 1 例に試験前値と比較して血清 AST 及び ALT の軽度増加が認められた。これらの血液生化学的所見に関連する明らかな病理組織学的所見は認められず、DRF との関連性は不明と判断された。

DRF に関連した剖検所見として、100 mg/kg 群の雌雄各 1 例、300 mg/kg 群の雌 1 例並びに 1000 mg/kg 群の雄 1 例及び雌 2 例の心臓、胃底部、又は幽門部に赤色巣が認められた。これらの所見は、1000 mg/kg 群では出血の病理組織学的所見と関連した。

胃の DRF 関連所見は粘膜刺激に一致し、出血、急性炎症及び腺拡張が胃底に最も顕著に認められ、概して軽微であった。100 及び 1000 mg/kg 群では、軽微から軽度の出血が、胃のすべての領域、特に粘膜先端に認められた。300 mg/kg 以上の数例では、胃底に好中球浸潤を特徴とする軽微な急性粘膜炎が認められた。300 mg/kg 以上の群の胃底及び／又は幽門部に軽微な腺拡張が認められた。100 mg/kg 群の雄 1 例に認められた幽門部の軽微な限局性粘膜変性／壊死も、DRF に関連する可能性があった。1000 mg/kg 群の雌 1 例でみられた軽度の胃底筋層の限局性筋線維変性／壊死は、強制経口投与による損傷に関連したものか、胃粘膜に対する DRF の作用に続発したものと考えられた。1000 mg/kg 群の雌 1 例では、噴門に接する下部食道の軽微な粘膜過形成が認められ、これは DRF に関連した粘膜刺激を反映したものと考えられた。

腎臓の DRF に関連した変化として、軽微から軽度の両側性尿細管変性（再生の徴候を伴う場合と伴わない場合がある）が 100 mg/kg 群の雌 1 例及び 300 mg/kg 以上の全例に認められた。これらの変化は主に直腸部に影響を及ぼし、まれな上皮細胞の壊死及び管内の細胞残屑を伴う変性と一致する細胞の腫脹及び空胞化、並びに／又は上皮細胞再生の所見を特徴とした。尿細管の病理組織学的所見に関連する臨床検査所見は認められなかった。

対照群を含むすべての群で肝臓に小葉中心性肝細胞空胞化が認められたが、DRF との関連性は

不明であると判断された。

300 mg/kg 以上で毒性と判断された一般状態及び腎臓の病理組織学的所見に基づき、5 日間反復投与時の最大耐量は 100 mg/kg であった。最大耐量の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 6 倍／2 倍以上及び 5 倍／2 倍であった。非臨床試験では曝露がみられたが、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の C_{max} での全身曝露比は無限大に近かった。連続した定量値が 3 時点未満であったため、RDC-8439 の AUC 値は算出できなかった。

サル及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため、DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 2 及び M2.6.7.6B に示す。

3.7 サルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

AT-5108-07（添付資料番号 4.2.3.2-7）

雌雄カニクイザル（各群雌雄各 5 例）を用いた 2 週間反復経口投与試験で、DRF を 0（溶媒）、25、75 及び 400 mg/kg の用量で評価した。14 日間の投与後に各群雌雄各 3 例を剖検し、各群雌雄各 2 例について観察された変化の可逆性を評価するために 14 日間の投与後観察期間を設けた。死亡、一般状態、摂餌量及び体重パラメータ、心拍数、血圧、心電図（ECG）検査、眼科学的検査、器官重量、臨床検査及び病理学的検査に基づいて毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK 評価を Day 1 及び 14 に行った。HES（代謝物）の曝露量は、サルを用いた DRF の 5 日間ブリッジング PK 試験［AT-5108-28 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）の結果を用いて推定した。

すべての動物が計画剖検まで生存し、DRF に関連した眼科学的所見、心拍数及び血圧変化は認められなかった。

DRF に関連した一般状態変化として、400 mg/kg 群で活動性低下、円背位、嘔吐及び食欲不振が認められた。一般状態変化の発現率及び／又は持続性、並びに獣医学的介入の必要性から、これらは毒性所見と考えられた。活動性低下及び／又は円背位は 75 mg/kg 群で認められたが、発現動物数及び頻度が少なかったことから、これらの所見は毒性ではないと判断された。

DRF に関連した軽度の群平均体重減少が 400 mg/kg 群の雄に認められ、嘔吐の一般状態変化と関連した。この体重減少は減少の程度が小さかったことから毒性ではないと判断された。

DRF に関連した QT 間隔及び心拍数で補正した QT 間隔（QTc）の延長が対照群と比較して 400 mg/kg 群の Day 11 に認められた。QTc 延長は雌では統計的に有意であったが、雄では有意ではなかった。QTc の変化は 10%未満であり、ヒトに QT 延長を引き起こす薬剤はサルでは 10%を超える平均 QTc の延長を起こすことから、毒性ではないと考えられた［Ando 2005］。また、QT 間隔及び QTc の変化には回復性が認められた。

400 mg/kg 群では、DRF に関連した赤血球量減少が骨髄細胞減少と関連して認められた。また、400 mg/kg 群では DRF に関連したリンパ球減少が胸腺重量減少、胸腺リンパ球枯渇及び脾臓胚中

心減少に関連して認められた。血小板数も 400 mg/kg 群で増加した。400 mg/kg 群の血清リン、コレステロール（雌）及びグルコース（雄）の減少並びにトリグリセリド（雄）増加は、DRF に関連した食欲不振に起因したものと考えられた。臨床検査に関連したすべての変化は 2 週間の休薬期間後に消失したことから、毒性ではないと判断された。

400 mg/kg 群で DRF 関連と考えられる剖検所見の胸腺小型化は、胸腺の重量減少及びリンパ球枯渇と関連した。両側性尿細管上皮変性／再生と関連した腎臓の絶対及び相対重量増加が 400 mg/kg 群の雌雄に認められた。休薬期間後、DRF に関連した剖検所見及び明らかな器官重量の変化は認められなかった。

DRF に関連した病理組織学的所見は、400 mg/kg 群の雌雄における腎臓（両側性尿細管上皮変性／再生）、舌（上皮過形成）、骨髄（細胞成分減少）、胸腺（リンパ球枯渇）、脾臓（胚中心数減少）及び膵臓（食欲不振に続発したと考えられる分泌顆粒減少）のみであった。400 mg/kg 群でみられた DRF に関連した腎臓所見である両側性尿細管上皮の変性／再生は、回復期間後では再生反応に移行した。400 mg/kg 群の雌雄の胸腺でみられたリンパ球枯渇は、部分的又は完全に回復した。投与群で認められたその他の DRF 関連変化は、いずれも完全に回復したと考えられた。DRF に関連した剖検及び病理組織学的所見はいずれも毒性とは判断されなかった。

要約すると、カニクイザルに DRF を 25、75、又は 400 mg/kg の用量で 14 日間反復経口投与した結果、400 mg/kg 群で一般状態の変化として活動性低下、円背位、嘔吐及び食欲不振が認められた。これらの所見は、一般状態の変化の発現率及び／又は持続性、並びに獣医学的介入の必要性から、毒性と判断された。これらの結果に基づき、無毒性量は 75 mg/kg であった。無毒性量の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 11 倍以上／6 倍及び 4 倍／2 倍であった。非臨床試験で曝露がみられたものの、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

サル及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため、DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 2 及び M2.6.7.7E に示す。

3.8 サルを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験

AT-5108-14（添付資料番号 4.2.3.2-8）

雌雄カニクイザルを用いた 91 日間反復経口投与試験（対照及び高用量群：雌雄各 5 例；低用量及び中用量群：雌雄各 3 例）で、DRF を 0（溶媒）、25、75、又は 250 mg/kg の用量で評価した。91 日間投与後に各群雌雄各 3 例を剖検し、対照及び高用量群の雌雄各 2 例については観察された変化の可逆性を評価するために 28 日間の投与後観察期間を設けた。死亡、一般状態、体重パラメータ、摂餌量、心拍数、血圧、心電図検査、眼科学的検査、器官重量、臨床検査、及び病理学的検査に基づいて毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK 評価を Day 1 及び Day 91 に行った。HES（代謝物）の曝露量は、サルを用いた DRF の 5 日間ブリッジング PK 試験［AT-5108-28 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-4）の結果を用いて推定した。

全例が計画剖検まで生存し、DRF に関連した眼科学的所見や心拍数、血圧、定性的又は定量的

ECG パラメータへの影響は認められなかった。

DRF に関連した一般状態変化として、250 mg/kg 群の雄に活動性低下、削痩、食欲不振、及び被毛粗毛が、250 mg/kg 群の雌雄に円背位、嘔吐及び／又は嘔吐物が認められた。全般に、一般状態変化は雌より雄で顕著であり、発現時期は雄が約 Week 4、雌が約 Week 9 であったが、例外は嘔吐／嘔吐物であり、雌雄共に試験の早期に認められた。これらの一般状態変化は休薬期間中には認められなかった。

DRF に関連した群平均体重及び／又は体重増加量の減少（対照群との比較）が 250 mg/kg 群の雄（Day 8～92）及び雌（Day 15～92）に認められた。これらの変化は雄では削痩と関連していた。休薬期間中、250 mg/kg 群の雌雄の体重パラメータに回復傾向が認められた。

250 mg/kg 群における血液及び尿検査パラメータの毒性変化は DRF 投与に関連した。DRF に関連した赤血球量減少が 250 mg/kg 群で認められ、試験前値と比較して、網状赤血球増加並びにそれに伴って平均赤血球容積（MCV）及び平均赤血球ヘモグロビン量（MCH）の増加が認められた。網状赤血球増加は赤血球再生反応を示し、骨髄中の骨髄細胞：赤血球比の減少と関連した。赤血球溶血が認められ、これは 250 mg/kg 群の雌雄に認められた血清リンの有害な減少に起因した可能性がある。DRF に関連した尿量増加とそれに伴う尿比重低下が 250 mg/kg 群で認められ、尿生成量増加又は尿濃縮低下が示された。これらの所見は腎臓の病理組織学的変化と関連しており、血清リン及び尿素窒素減少の一因となったと推定された。250 mg/kg 群では尿 pH の低下も認められ、DRF に関連すると考えられた。250 mg/kg 群で認められたすべての変化は、雄における網状赤血球数、MCV 及び MCH の増加を除き、休薬期間後に回復した。75 mg/kg 以上で認められた血液生化学的パラメータの DRF 関連所見（尿素窒素、クレアチニン、及びコレステロールの減少、及び／又はトリグリセリド増加など）は、雌雄共に食欲不振及び／又は体重減少に起因するものであり、毒性ではないと判断された。

DRF に関連した剖検所見として、250 mg/kg 群の雌雄に腎臓黄褐色化（尿細管肥大及び／又は尿細管変性／再生の病理組織学的所見と関連）及び胸腺小型化（全身性リンパ球枯渇の病理組織的所見と関連）が認められた。250 mg/kg 群の 1 例に中等度の体脂肪減少がみられ、これに関連した一般状態変化として持続性の慢性嘔吐が認められた。回復群では、DRF に関連する剖検所見は認められなかった。

DRF に関連した器官重量の変化として、250 mg/kg 群に腎臓の絶対及び相対重量の増加（尿細管肥大、尿細管変性／再生、及び尿細管拡張の病理組織学的所見と関連)、肝臓の絶対及び相対重量の増加（関連する病理組織学的所見なし）並びに胸腺の絶対及び相対重量の減少（リンパ球枯渇の病理組織学的所見と関連）が認められた。回復群では、DRF に関連した器官重量の変化として、250 mg/kg 群で腎臓及び脾臓の絶対及び相対重量の増加、並びに胸腺の絶対及び相対重量の減少が認められた。

DRF に関連した病理組織学的所見が腎臓、骨、食道、舌、胸腺、脾臓、骨髄、及び膵臓に認められた。腎臓及び骨の所見は休薬期間後も持続した。

腎臓の病理組織学的変化として、75 mg/kg 以上の雄及び 25 mg/kg 以上の雌で尿細管変性／再生、尿細管肥大、尿細管拡張、及び／又は間質線維化が認められ、尿細管再生及び線維化は回復

群の 250 mg/kg 群の雌雄でも認められた。これらの所見は、250 mg/kg 群の臨床検査でみられた尿量増加及び血清リン減少と関連した。骨（大腿骨近位部及び遠位部、脛骨近位部）では、250 mg/kg 群の 5/6 例に骨端軟骨異形成が認められ、250 mg/kg 群の 1/4 例（雌）では休薬期間後も認められた。食道及び／又は舌の病理組織学的所見（軽微な扁平上皮過形成）が、75 mg/kg 以上の雄及び 25 mg/kg 以上の雌に認められた。25 及び 250 mg/kg 群の雄並びに 75 及び 250 mg/kg の雌の胸腺にリンパ球枯渇が認められた。脾臓では、250 mg/kg 群の雌雄にリンパ球枯渇がみられ、25 及び 75 mg/kg 群の雌雄並びに 250 mg/kg 群の雌 1 例に用量非依存的な胚中心過形成が認められた。250 mg/kg 群の雄 1 例の胸骨に骨髄細胞減少（赤血球量減少に関連した可能性あり）が認められ、250 mg/kg 群の雄の膵臓に分泌顆粒減少が認められた。分泌顆粒減少はストレス及び／又は摂餌量減少と関連する可能性があるため、この所見と DRF との関連性は不明であった。

250 mg/kg 群でみられた腎臓及び骨の所見は毒性と判断され、その他の病理組織学的所見は毒性所見ではないと判断された。250 mg/kg 未満の群で認められた腎臓の所見（軽微な尿細管肥大）は、発現率及び重症度が低く、関連するその他の病理組織学的所見が腎臓にみられず、関連する臨床検査所見も認められなかったことから、毒性ではないと考えられた。

要約すると、カニクイザルに DRF を 25、75、又は 250 mg/kg の用量で 1 日 1 回 91 日間強制経口投与した結果、250 mg/kg 群の血液生化学的検査並びに腎臓及び骨の病理組織学的検査で毒性所見がみられ、病理組織学的所見は休薬期間後も認められた。これらのデータに基づき、DRF の無毒性量は 75 mg/kg と判断された。無毒性量の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 10 倍以上／5 倍及び 4 倍／2 倍であった。

非臨床試験では曝露がみられたが、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の C_{max} での全身曝露比は無限大に近かった。連続した定量値が 3 時点未満であったため、RDC-8439 の AUC 値は算出できなかった。サル及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため、DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量の曝露量パラメータを表 2 及び M2.6.7.7F に示す。

3.9 サルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

AT-5108-16（添付資料番号 4.2.3.2-9）

雌雄カニクイザルを用いた 39 週間反復経口投与試験（対照及び高用量群：雌雄各 6 例、低用量及び中用量群：雌雄各 4 例）で、DRF を 0（溶媒）、15、50、又は 150 mg/kg の用量で評価した。273 日間投与後に各 4 例/性/群を剖検し、対照及び高用量群の各 2 例/性を 28 日間の投与後観察期間維持して観察された変化の可逆性を評価した。死亡、一般状態、体重パラメータ、及び摂餌量、眼科学的検査、血圧及び心電図検査、器官重量、臨床検査、及び病理学的検査に基づいて毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF、HES、及び RDC-8439）の TK 評価を Day 1（HES を除く）及び Day 273 に行った。進行中の生体試料中濃度分析法が開発されたことにより、最終投与日の HES 測定はバリデートされた方法で行った。

DRF に関連する死亡、眼科学的所見、並びに心拍数、血圧、定性的又は定量的 ECG パラメータ、血液学的パラメータ、凝固時間及びフィブリノゲン値への影響は認められなかった。

DRF に関連した一般状態変化は、150 mg/kg 群の雄 3 例及び雌 2 例における流涎のみであった。流涎は雄では Day 57 から投与期間を通してみられ、雌では Day 183～267 に認められた。雄 1/3 例では Day 274（休薬期間）にも流涎が認められた。発現率が低かったため、この一般状態変化は毒性ではないと判断された。

対照群との比較で群平均体重及び／又は体重増加量の減少が全投与群の雄及び 150 mg/kg 群の雌に認められたが、統計学的有意差はなく、150 mg/kg 群の雌雄の体重減少（対照群との比較）は休薬期間中にも認められた。全投与群にみられた群平均体重増加量の減少は、関連する一般状態変化（食欲不振、削痩など）を伴わなかったことから、DRF に関連した毒性変化ではないと考えられた。

DRF に関連した血液生化学的パラメータの変化として、150 mg/kg 群の雌に総タンパク及びアルブミンの毒性ではない増加が認められたが、これは消化管からの水分喪失に関連した軽度の無症候性脱水（嘔吐）を反映したものと推定された。さらに、150 mg/kg 群の雌雄で投与期間終了時にリン減少が認められたが、これは腎臓への影響に関連又は体重への影響によって裏付けられるタンパク質摂取量の減少に関連した可能性がある。総タンパク、アルブミン、及びリンに対する影響は休薬期間後に回復した。

DRF に関連した尿検査パラメータの変化として、投与期間終了時に 150 mg/kg 群の雌雄に尿 pH 及び尿比重の低下がみられ、Week 17 までに 50 mg/kg 以上の雌及び 150 mg/kg 群の雄に尿中バイオマーカー（アルブミン、NGAL、及び／又はシスタチン C : クレアチニン比）の増加が認められた。これらの所見は尿細管の病理組織学的所見と関連し、休薬により部分的に回復したが、50 mg/kg 以上の群におけるこれらの尿検査値の変化及び血清リン濃度低下は毒性と判断された。

DRF に関連した剖検所見として、150 mg/kg 群の雌雄に腎臓黄褐色化（尿細管変性／再生及び／又は皮質間質性線維化の病理組織学的所見に関連すると推定される）及び腎臓肥大（雌のみ腎皮質尿細管肥大の病理組織学的所見と関連）が認められた。回復群では、DRF に関連する剖検所見は認められなかった。

DRF に関連した器官重量の変化として、150 mg/kg 群の雌雄で腎臓の絶対及び相対重量増加（腎皮質尿細管肥大の病理組織学的所見と関連）が認められた。回復群では、腎臓の絶対及び相対重量が対照群よりも高かったが、個別値は投与期間終了時の対照群の範囲内かそれに近い値であり、部分的又は完全に回復した。

DRF に関連した病理組織学的変化として、50 及び 150 mg/kg 群の雌雄に腎皮質尿細管変性／再生及び／又は腎皮質尿細管肥大が認められ、150 mg/kg 群の雄 1 例に皮質間質性線維化が認められた。これらの病理組織学的所見は、50 mg/kg 以上の雌及び 150 mg/kg 群の雄に認められた腎糸球体及び尿細管への影響を示す尿中バイオマーカーの増加と関連した。腎臓所見は回復群でも認められたが、重症度が低いか又は部分的な回復が認められた。50 及び 150 mg/kg 群にみられた腎臓の病理組織学的変化は毒性と判断された。150 mg/kg 群では、これらの変化は休薬期間後に部分的に回復した。

要約すると、カニクイザルに 15、50、又は 150 mg/kg の用量で 1 日 1 回 39 週間強制経口投与した結果、50 mg/kg 以上の雌及び 150 mg/kg 群の雄の血液生化学的パラメータに影響がみられ、

50 mg/kg 以上の投与群及び回復群の腎臓に病理組織学的所見が認められた。得られた結果に基づき、DRF の無毒性量は 15 mg/kg と判断された。無毒性量の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 2 倍／0.7 倍及び 0.6 倍以上／0.3 倍以上であった。

サル及びヒトにおける DRF 及び RDC-8439 の曝露量は、血漿中濃度が定量限界未満であったため算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 2 及び M2.6.7.7G に示す。

表 2　　DRF の反復投与毒性試験で認められた特記すべき所見及び曝露量データの要約

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/ Route of Admin/Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
5-Day/28-Day Range-Finding (AT-5108-29/ 4.2.3.2-1)	Wild-type littermates of rasH2-Tg mice/PO/ 28-Day Phase: 0, 30, 100, 300, 1000 mg/kg[e]	300 mg/kg: Cellular debris in tubules of the epididymides in 1 M (non-adverse); decreased motor activity in 1 M and 1 F at 300 mg/kg; increased absolute/relative kidney weights correlating with tubular hypertrophy (F, non-adverse); MTD in males	15700 (M)/ 31200 (M) 10400 (F)/ 21100 (F)	2 (M)/ 19 (M) 2 (F)/ 13 (F)	243000 (M)/ 103000 (M) 197000 (F)/ 65900 (F)	1.1 (M)/ 9 (M) 0.9 (F)/ 6 (F)
		1000 mg/kg: Mortality (M); decreased motor activity; ↓body weights; ↓food consumption; decreased weight of testes; minimal degeneration of testes with cellular debris in the tubules of epididymides (M, adverse); mucosal hyperplasia and hyperkeratosis in the nonglandular stomach (non-adverse); increased absolute/relative kidney weights correlating with renal tubular hypertrophy (F, non-adverse); MTD in F	97400 (M)/ 67600 (M) 70400 (F)/ 56100 (F)	15 (M)/ 42 (M) 11 (F)/ 35 (F)	1380000 (M)/ 198000 (M) 935000 (F)/ 199000 (F)	6 (M)/ 18 (M) 4 (F)/ 18 (F)

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/ Route of Admin/Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
5-Day Dose Range-Finding (AT-5108-04/ 4.2.3.2-2)	Rat/PO/ 0, 100, 300, 1000 mg/kg	100 mg/kg: Tubular degeneration in kidney in 1 F	11300 (M)/ 10700 (M) 10600 (F)/ 11000 (F)	2 (M)/ 7 (M) 2(F)/ 7 (F)	243000 (M)/ 29000 (M) 243000 (F)/ 29000 (F)	1.1 (M)/ 3 (M) 1.1 (F)/ 3 (F)
		MTD = 300 mg/kg Mucosal hyperplasia in nonglandular stomach; tubular degeneration in kidney (F)	34600 (M)/ 16400 (M) 38600 (F)/ 25100 (F)	5 (M)/ 10 (M) 6 (F)/ 15 (F)	629000 (M)/ 53000 (M) 629000 (F)/ 53000 (F)	3 (M)/ 5 (M) 3 (F)/ 5 (F)
		1000 mg/kg: Inappetence, hunched posture, thin appearance, piloerection, and vocalisation; ↓body weights; ↓food consumption; erosion/ulcer, mucosal hyperplasia in nonglandular and glandular stomach; tubular degeneration in kidney	125000 (M)/ 78800 (M) 105000 (F)/ 33700 (F)	19 (M)/ 49 (M) 16 (F)/ 21 (F)	>1180000[f] (M)/ >84000[f] (M) >1180000[f] (F)/ >84000[f] (F)	>5 (M)/ >8 (M) >5 (F)/ >8 (F)
2-Week Toxicity with 2-Week Recovery (AT-5108-05/ 4.2.3.2-3)	Rat/PO/ 0, 60, 150, 600 mg/kg	NOAEL = 600 mg/kg[g] ↓body weight in males[h]; ↑stomach, kidney, and liver weights; squamous epithelial hyperplasia in nonglandular stomach of both genders; mucosal hyperplasia in duodenum of males; bilateral tubular degeneration/necrosis in kidneys of females. Microscopic findings were completely reversible.	87300 (M)/ 22600 (M) 59500 (F)/ 31000 (F)	13 (M)/ 14 (M) 9 (F)/ 19 (F)	1180000 (M)/ 84000 (M) 1180000 (F)/ 84000 (F)	5 (M)/ 8 (M) 5 (F)/ 8 (F)

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/ Route of Admin/Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
91-Day Toxicity with 28-Day Recovery (AT-5108-13/ 4.2.3.2-4)	Rat/PO/ 0, 60, 150, 450 mg/kg	NOAEL = 150 mg/kg[i]; ↑ kidney, stomach, and liver (F) weights; minimal renal tubular degeneration/regeneration (M) and ↑ mucosal hyperplasia of nonglandular stomach and duodenum (M and/or F)	10800 (M)/ 9920 (M) 22700 (F)/ 23600 (F)	2 (M)/ 6 (M) 4 (F)/ 15 (F)	354000 (M)/ 37000 (M) 354000 (F)/ 37000 (F)	2 (M)/ 3 (M) 2 (F)/ 3 (F)
		450 mg/kg: ↓ mean body weights and ↓ food consumption; mortality in 3 M (heart inflammation/necrosis); ↑ kidney, stomach, and liver weights; ↑ renal tubular degeneration/regeneration with ↑ urine volume and ↓ urine specific gravity; ↑ mucosal hyperplasia of nonglandular stomach and duodenum (M and/or F); microscopic findings in nonglandular stomach were completely reversible and those in kidney were completely reversible in F but not in M	28000 (M)/ 17300 (M) 48200 (F)/ 21600 (F)	4 (M)/ 11 (M) 7 (F)/ 13 (F)	905000 (M)/ 69000 (M) 905000 (F)/ 69000 (F)	4 (M)/ 6 (M)/ 4 (F)/ 6 (F)

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/ Route of Admin/Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
26-Week Toxicity with 4-Week Recovery (AT-5108-15/ 4.2.3.2-5)	Rat/PO/ 0, 50, 100, 300 mg/kg	NOAEL = 50 mg/kg ↑ renal biomarkers (ratio of albumin to creatinine in urine), proteinuria, ↑ phosphorus (M), and ↑ potassium; ↑ kidney weights; microscopic findings in kidney (tubular regeneration and proteinaceous material) occurred at similar incidence and severity as controls; findings were considered non-adverse.	4460 (M)/ 4060 (M) 7230 (F)/ 9600 (F)	0.7 (M)/ 3 (M) 1.1 (F)/ 6 (F)	115000 (M)/ 24500 (M) 101000 (F)/ 26900 (F)	0.5 (M)/ 2 (M) 0.4 (F)/ 2 (F)
		100 mg/kg: ↓ red cell mass with associated regenerative response; ↑ renal biomarkers (ratios of KIM-1, NGAL, albumin, and/or osteopontin relative to creatinine in urine), proteinuria, ↑ phosphorus (M), and ↑ potassium (M); ↑ kidney, stomach, and liver weights; ↑ tubular degeneration/necrosis with associated proteinaceous material, hypertrophy, and regeneration; renal findings were considered adverse.	8430 (M)/ 9590 (M) 17700 (F)/ 20600 (F)	1.3 (M)/ 6 (M) 3 (F)/ 13 (F)	432000 (M)/ 39200 (M) 321000 (F)/ 40300 (F)	2 (M)/ 4 (M) 1.4 (F)/ 4 (F)
		300 mg/kg: ↓ mean body weight and ↓ body weight gains; ↓ red cell mass with associated regenerative response; persistent serum protein decrease in M; ↑ renal biomarkers (ratios of KIM-1, NGAL, albumin, and/or osteopontin relative to creatinine in urine), ↑ urine volume, ↓ urine specific gravity, increased proteinuria, ↑ phosphorus, ↑ potassium and ↓ chloride (F); ↑ kidney, stomach, and liver weights; ↑ tubular degeneration/necrosis with associated proteinaceous material, hypertrophy, and regeneration (adverse); ↑ mucosal hyperplasia of nonglandular stomach (M; non-adverse).	22200 (M)/ 12800 (M) 40400 (F)/ 24100 (F)	3 (M)/ 8 (M) 6 (F)/ 15 (F)	1330000 (M)/ 90300 (M) 856000 (F)/ 69500 (F)	6 (M)/ 8 (M) 4 (F)/ 6 (F)

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/ Route of Admin/Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
5-Day Dose Range-Finding (AT-5108-06/ 4.2.3.2-6)	Monkey/PO/ 0, 100, 300, 1000 mg/kg	MTD = 100 mg/kg; renal tubular degeneration in 1 F; haemorrhage in stomach of 1 F	19500 (M)/ 9910 (M) 14600 (F)/ 9730 (F)	3 (M)/ 6 (M) 2 (F)/ 6 (F)	528000 (M)/ 50000 (M) 528000 (F)/ 50000 (F)	2 (M)/ 5 (M) 2 (F)/ 5 (F)
		300 mg/kg: Emesis with or without watery faeces; inflammation and glandular dilatation in stomach; mild ↓ in lymphocytes[j]; minimal to mild tubular degeneration with or without regeneration in kidney of all animals	80400 (M)/ 40900 (M) 95700 (F)/ 44800 (F)	12 (M)/ 25 (M) 15 (F)/ 28 (F)	983000 (M)/ 95000 (M) 983000 (F)/ 95000 (F)	4 (M)/ 9 (M) 4 (F)/ 9 (F)
		1000 mg/kg: Emesis with or without watery faeces; mild ↓ in lymphocytes (F)[j]; inflammation, glandular dilatation, and haemorrhage in stomach; minimal tubular degeneration with or without regeneration in kidney of all animals	170000 (M)/ 130000 (M) 140000 (F)/ 103000 (F)	26 (M)/ 80 (M) 22 (F)/ 64 (F)	> 1210000[f] (M)/ > 117000[f] (M) > 1210000[f] (F)/ > 117000[f] (F)	5 (M)/ 11 (M) 5 (F)/ 11 (F)
2-Week Toxicity with 2-Week Recovery (AT-5108-07/ 4.2.3.2-7)	Monkey/PO/ 0, 25, 75, 400 mg/kg	NOAEL = 75 mg/kg[k]; renal tubular epithelial degeneration/regeneration in 1 F that was not considered adverse	41100 (M)/ 19600 (M) 36200 (F)/ 18600 (F)	6 (M)/ 12 (M) 6 (F)/ 11 (F)	471000 (M)/ 44200 (M) 471000 (F)/ 44200 (F)	2 (M)/ 4 (M) 2 (F)/ 4 (F)
		400 mg/kg: ↓ activity, hunched posture, vomitus, and inappetence with veterinary intervention; ↓ mean body weight (M) (correlated with vomitus); ↑ QT and QTc (non-adverse); ↓ red cell mass; ↓ lymphocytes[l]; bilateral tubular epithelial degeneration/regeneration in kidney and ↑ kidney weight; epithelial hyperplasia in tongue; decrease in cellularity in bone marrow; lymphoid depletion in thymus; ↓ number of germinal centers in spleen; ↓ secretory granules pancreas	294000 (M)/ 54200 (M) 209000 (F)/ 51900 (F)	45 (M)/ 33 (M) 32 (F)/ 32 (F)	1210000 (M)/ 117000 (M) 1210000 (F)/ 117000 (F)	5 (M)/ 11 (M)/ 5 (F)/ 11 (F)/

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/ Route of Admin/Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
91-Day Toxicity with 28-Day Recovery (AT-5108-14/ 4.2.3.2-8)	Monkey/PO/ 0, 25, 75, 250 mg/kg	NOAEL = 75 mg/kg Tubular hypertrophy and degeneration/regeneration in kidney; epithelial hyperplasia of tongue and esophagus (F); lymphoid depletion in thymus; lymphoid hyperplasia in germinal centers of spleen	30800 (M)/ 22300 (M) 31200 (F)/ 17000 (F)	5 (M)/ 14 (M) 5 (F)/ 10 (F)	471000 (M)/ 44200 (M) 471000 (F)/ 44200 (F)	2 (M)/ 4 (M) 2 (F)/ 4 (F)
		250 mg/kg: ↑ renal tubular degeneration/regeneration, hypertrophy, dilation, and interstitial fibrosis with regeneration and fibrosis persisting into recovery; clinical pathology correlates in urine (↑ volume, ↓ specific gravity, and ↓ pH); ↑ physeal dysplasia in femur and tibia persisting into recovery in 1 F; other microscopic changes in tongue, esophagus, spleen, thymus, bone marrow, and pancreas were considered non-adverse	99700 (M)/ 31500 (M) 106000 (F)/ 28600 (F)	15 (M)/ 19 (M) 16 (F)/ 18 (F)	869000 (M)/ 83000 (M) 869000 (F)/ 83000 (F)	4 (M)/ 8 (M) 4 (F)/ 8 (F)

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/ Route of Admin/Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES NOAEL/MTD (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
39-Week Toxicity with 4-Week Recovery (AT-5108-16/ 4.2.3.2-9)	Monkey/ PO/ 0, 15, 50, 150 mg/kg	NOAEL = 15 mg/kg ↓ body weight/weight gain (M)	4690 (M)/ 3440 (M) 4480 (F)/ 2920 (F)	0.7 (M)/ 2 (M) 0.7 (F)/ 2 (F)	95500 (M)/ 7440 (M) 78900 (F)/ 6550 (F)	0.4 (M)/ 0.7 (M) 0.3 (F)/ 0.6 (F)
		50 mg/kg: ↓ body weight/weight gain (M) Adverse renal effects included: ↑ urinary biomarkers (albumin/creatinine, NGAL/creatinine, and/or cystatin C/creatinine ratios); ↑ cortical tubular degeneration/regeneration and hypertrophy	16900 (M)/ 10100 (M) 19100 (F)/ 8390 (F)	3 (M)/ 6 (M) 3 (F)/ 5(F)	243000 (M)/ 21000 (M) 248000 (F)/ 21400 (F)	1.1 (M)/ 2 (M) 1.1 (F)/ 2 (F)
		150 mg/kg: ↓ body weight/weight gain Adverse renal effects included: ↓ serum phosphorus, ↓ urine pH, ↓ urine specific gravity, ↑ urinary biomarkers (albumin/ creatinine, NGAL/creatinine, and/or cystatin C/creatinine ratios); ↑ kidney weights; ↑ cortical tubular degeneration/regeneration, hypertrophy, and fibrosis (M); renal pathology exhibited partial reversibility following recovery period.	62600 (M)/ 25900 (M) 57400 (F)/ 26500 (F)	10 (M)/ 16 (M) 9 (F)/ 16 (F)	607000 (M)/ 63400 (M) 601000 (F) 57700 (F)	3 (M)/ 6 (M) 3 (F)/ 5 (F)

Admin = administration; AUC = area under the concentration-time curve; BID = bis in die; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; KIM-1 = kidney injury molecule-1; M = male; MMF = monomethyl fumarate; MTD = maximum tolerated dose; NGAL = neutrophil gelatinase-associated lipocalin; NOAEL = no observed adverse effect level; PK = pharmacokinetic; PO = per os; QTc = QT interval corrected for heart rate.

[a] AUC (reported as AUC_{last} or AUC_{0-24h}) and C_{max} for MMF and HES were calculated from plasma concentrations obtained on the last day of dosing or estimated from bridging PK studies conducted in rats (AT-5108-27 / M4.2.2.2-3) and monkeys (AT-5108-28 / M4.2.2.2-4) with diroximel fumarate (DRF).

[b] Clinical exposure parameters for MMF were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 BID) mg/day of DRF; AUC_{0-24} and C_{max} values were 6470 ng*h/mL and 1620 ng/mL, respectively.

[c] Clinical exposure parameters for HES were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 BID) mg/day of DRF; AUC_{0-24} and C_{max} values were 227,000 ng*h/mL and 11,000 ng/mL, respectively.

[d] Plasma concentrations of HES were not measured in toxicology studies conducted before the HES analytical method became available. In studies where HES was not measured, systemic exposure parameters for HES were estimated by linear extrapolation of the AUC and C_{max} values using data from the respective bridging PK rat (AT-5108-27 / M4.2.2.2-3) and monkey (AT-5108-28 / M4.2.2.2-4) studies with DRF.

[e] Dose levels were based on results from the 5-day tolerability phase, which showed that 1000 mg/kg of DRF was tolerated; animals receiving a maximum feasible dose of 3000 mg/kg either died or were euthanised in moribund condition on Days 3 or 4.

[f] In Studies AT-5108-06 (M4.2.3.2-6) and AT-5108-04 (M4.2.3.2-2), HES exposure was not measured directly, but was estimated by linear extrapolation of AUC and C_{max} values from bridging PK Studies AT-5108-28 (M4.2.2.2-4) and AT-5108-27 (M4.2.2.2-3), respectively, where HES was measured. The highest dose of DRF evaluated in AT-5108-06 (M4.2.3.2-6) and AT-5108-04 (M4.2.3.2-2) was greater than the highest dose evaluated in the respective study from which the linear extrapolation was made; therefore, a greater than (>) symbol was used to indicate the projected exposure for HES was presumed to be higher.

[g] In Study AT-5108-05 (M4.2.3.2-3), the Study Director and Study Pathologist at the test facility did not interpret microscopic changes in stomach, duodenum, and kidney at 600 mg/kg to be adverse. A more conservative interpretation of the data suggests a NOAEL of 150 mg/kg.

[h] In Study AT-5108-05 (M4.2.3.2-3), the Study Director at the test facility did not interpret body weight decreases in 600 mg/kg males to be DRF related.

[i] In Study AT-5108-13 (M4.2.3.2-4), the Study Pathologist at the test facility did not interpret microscopic changes in the kidney of 150 mg/kg males to be adverse as there were no correlative clinical pathology findings indicative of renal functional changes.

[j] In Study AT-5108-06 (M4.2.3.2-6), the Clinical Pathologist at the test facility interpreted the mildly decreased lymphocyte counts to be incidental due to the lack of dose-response relationship, overlap with expected ranges, and lack of microscopic correlates.

[k] In Study AT-5108-07 (M4.2.3.2-7), the Study Director and Study Pathologist at the test facility did not interpret microscopic changes in the kidney of one 75 mg/kg female to be adverse. A more conservative interpretation of the data suggests a NOAEL of 25 mg/kg in females.

[l] In Study AT-5108-07 (M4.2.3.2-7), the Clinical Pathologist at the test facility interpreted the mildly decreased lymphocyte counts to be possibly DRF related but not adverse due to the small magnitude of change and resolution at the recovery collection.

4 遺伝毒性

DRF について、in vitro 変異原性［AT-5108-11 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-1）、染色体異常誘発性を in vitro［AT 5108-12 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-3）及び in vivo（ラット、［AT-5108-23 試験］［添付資料番号 4.2.3.3.2-1］）で評価した。MMF について in vitro 変異原性［P00012-08-02 試験］（テクフィデラ申請資料）及び in vitro 染色体異常誘発性［P00012-08-03 試験］（テクフィデラ申請資料）を評価した。また、HES について in vitro 変異原性［P098-20-01 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-2）及び in vitro 染色体異常誘発性［P098-20-02 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-4）を評価した。これらの試験結果の概要を以下に示し、概要表を表 3 並びに M2.6.7.8（in vitro）及び M2.6.7.9（in vivo）に示す。

4.1 DRF の細菌を用いる復帰突然変異試験

AT-5108-11（添付資料番号 4.2.3.3.1-1）

DRF 及び溶媒（ジメチルスルホキシド［DMSO］）について、Aroclor 誘導ラット肝 S9 の存在下及び非存在下で、ネズミチフス菌試験菌株 TA98、TA100、TA1535、及び TA1537、並びに大腸菌試験菌株 WP2*uvrA* を用いた細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。プレート法を用いて 2 つの試験フェーズで実施した［Ames 1975］;［Maron 1983］。第 1 試験フェーズの予備毒性試験で、変異原性試験の用量範囲を設定した。第 2 試験フェーズの変異原性試験で DRF の変異原性を評価した。

予備毒性試験では DRF の最大用量を 5000 µg/plate（100 mg/mL の濃度で 50 µL）とした。試験用量は 6.7、10、33、67、100、333、667、1000、3333、及び 5000 µg/plate とした。沈殿物は認められなかった。毒性は S9 活性化非存在下でのみ、1000 又は 3333 µg/plate 以上で認められた。予備試験の所見に基づき、変異原性試験における最高用量は 5000 µg/plate とした。

変異原性試験では、S9 活性化の有無にかかわらず、いずれの試験菌株においても陽性の変異原性反応は認められなかった。検討した DRF の用量は 15、50、150、500、1500、及び 5000 µg/plate であり、3 枚のプレートで評価した。沈殿物は認められなかった。毒性は S9 活性化非存在下でのみ、1500 µg/plate 以上又は 5000 µg/plate で認められた。

本試験の条件下では、DRF は細菌を用いる復帰突然変異試験で陰性であると結論した。これらの試験結果の要約を表 3 及び M2.6.7.8A に示す。

4.2 MMF の細菌を用いる復帰突然変異試験

P00012-08-02（テクフィデラ申請資料）

DMF の活性代謝物である MMF 及び溶媒（DMSO）について、外因性ほ乳類代謝活性化系（S9）の存在下又は非存在下で、ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535、及び TA1537）及び大腸菌 WP2 *uvrA* 株を用いた細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。プレート法を用いて 2 つのフェーズで実施した［Ames 1975］;［Maron 1983］。第 1 試験フェーズの予備毒性試験で変異原性試験の用量範囲を設定した。第 2 試験フェーズの変異原性試験で MMF の変異原性を評価した。

最初の変異原性試験では、5 つの試験菌株すべてを用いて S9 存在下及び非存在下で 1.60、5.00、16.0、50.0、160、500、1600、及び 5000 µg/plate の MMF について評価した。すべての濃度の被験物質並びに陽性対照及び溶媒対照物質を 2 枚のプレートで評価した。MMF は、S9 存在下及び非存在下において、すべての濃度で水性上層寒天に溶けやすかった。増殖抑制（復帰変異頻度の減少及び／又はバックグランドローンの菲薄化を特徴とする）は、S9 存在下及び非存在下で評価した 1600 及び 5000 µg/plate で 5 試験菌株すべてに認められた。すべての用量の MMF の復帰変異頻度は、S9 存在下及び非存在下で、すべての試験菌株で溶媒対照の発現頻度と同程度又はそれ以下であった。

確認試験では、S9 存在下及び非存在下で、50.0、160、500、1600、3330、及び 5000 µg/plate の MMF について再評価した。すべての用量の MMF 並びに陽性対照及び溶媒対照物質を 3 枚のプレートで評価した。MMF は、S9 存在下及び非存在下で検討したすべての用量で溶解した。S9 存在下の試験菌株 TA1535 及び S9 非存在下の 5 試験菌株のいずれにも、3330 µg/plate 以上の用量で再び増殖抑制が認められた。S9 存在下及び非存在下ですべての試験菌株におけるすべての濃度の MMF の復帰変異頻度は、溶媒対照の発現頻度と同程度又はそれ以下であった。すべての陽性及び溶媒対照の値は許容範囲内であり、試験の妥当性基準をすべて満たした。

本試験の条件下では、MMF は細菌を用いる復帰突然変異試験で陰性と判断された。これらの試験結果の要約を表 3 に示す。

4.3 HES の細菌を用いる復帰突然変異試験

P098-20-01（添付資料番号 4.2.3.3.1-2）

DMF の不活性代謝物である HES 及び溶媒（DMSO）について、外因性ほ乳類代謝活性化系（S9）の存在下又は非存在下で、ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535、及び TA1537）及び大腸菌 WP2*uvrA* 株を用いた細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。プレート法を用いて 2 つの試験フェーズで実施した［Ames 1975］；［Maron 1983］。第 1 試験フェーズの予備試験で変異原性試験の用量範囲を設定した。第 2 試験フェーズの変異原性試験で HES の変異原性を評価した。

予備毒性試験では、5 試験菌株すべてを用いて S9 存在下及び非存在下の 6.67、10.0、33.3、66.7、100、333、667、1000、3333、及び 5000 µg/plate の濃度で HES を評価した。被験物質のすべての濃度並びに陽性対照及び溶媒対照物質を、各条件につき 1 枚のプレートで評価した。HES は、すべての試験濃度で処理培地に溶解し、細胞毒性は認められなかった（溶媒対照と比較して 50%を超える復帰突然変異数の用量依存的な減少はみられず、バックグランドローンの減少も認められなかった）。

その後実施した変異原性試験では、S9 存在下及び非存在下で 100、333、667、1000、3333、及び 5000 µg/plate の濃度で HES を評価した。すべての用量の HES 並びに陽性対照及び溶媒対照物質を 3 枚のプレートで評価した。沈殿及び毒性は認められなかった。S9 活性化の有無にかかわらず、いずれの試験菌株にも陽性の変異原性反応は認められなかった。

本試験の条件下では、HES は細菌を用いる復帰突然変異試験で陰性と判断された。これらの試験結果の要約を表 3 及び M2.6.7.8B に示す。

4.4 DRF のほ乳類細胞を用いる in vitro 染色体異常試験

AT-5108-12（添付資料番号 4.2.3.3.1-3）

DRF 及び溶媒（DMSO）について、HPBL を用いた染色体異常試験を Aroclor 誘導ラット肝 S9 代謝活性化系の非存在下及び存在下で実施した。本試験の用量範囲を設定するため、1 系列で培養した細胞を用いて予備毒性試験を実施した。本試験（染色体異常試験）では、2 系列で培養した細胞を用いて DRF の染色体異常誘発能を評価した。両試験フェーズで、HPBL を非活性化系で 4 時間及び 20 時間、S9 活性化系で 4 時間処理した。処理開始後 20 時間に全細胞を回収した。シクロホスファミド及びマイトマイシン C をそれぞれ S9 存在下及び非存在下処理の陽性対照として評価した。

DRF の溶解性及び標的細胞に影響しないことに基づき、溶媒として DMSO を用いた。溶解性試験では、24.3°C で 5 分間超音波処理することにより、DRF は DMSO 中で約 150 mg/mL で使用可能な懸濁液となり、約 100 mg/mL で澄明な溶液となった。

予備毒性試験における用量は 0.0255～255 µg/mL（1 mmol/L）とした。明らかな毒性（溶媒対照と比較して有糸分裂指数が 50%以上減少）が、S9 活性化系非存在下及び存在下の 4 時間処理群では 255 µg/mL で、S9 非存在下 20 時間処理群では 76.5 µg/mL 以上の用量で認められた。これらの所見に基づき、染色体異常試験の用量は、S9 非存在下及び存在下の 4 時間処理群では 15～225 µg/mL、S9 非存在下 20 時間処理群では 15～100 µg/mL を選択した。

最初の染色体異常試験では、代謝活性化系非存在下 4 時間処理群の 150 µg/mL 以上の用量及び代謝活性化系非存在下 20 時間処理群の 60 µg/mL 以上の用量で明らかな毒性が認められた。S9 存在下 4 時間処理群では、細胞毒性を示さなかったため、15～225 µg/mL の用量範囲で染色体異常試験（確認試験）を実施した。確認試験で、S9 存在下 4 時間処理群のいずれの用量でも明らかな毒性は認められなかった。各処理条件で解析した最高用量は、分裂指数が約 50%低下したか又は染色体異常試験に用いた最高用量であり、この試験の試験ガイドラインで推奨される用量限界を満たしていた。

S9 非存在下 4 時間処理群では、染色体構造異常を有する細胞の割合が、50 及び 150 µg/mL の用量で溶媒対照群と比較して統計学的に有意に増加した（$p \leq 0.01$、Fisher’s Exact test）。Cochran-Armitage test でも正の用量反応関係（$p \leq 0.05$）を示した。数的染色体異常を有する細胞の割合は、溶媒対照群と比較していずれの用量においても有意な増加は認められなかった（$p > 0.05$、Fisher’s Exact test）。

S9 非存在下 20 時間処理群では、構造異常を有する細胞の割合が、40 及び 60 µg/mL の用量で溶媒対照群と比較して統計学的に有意に増加した（$p \leq 0.01$、Fisher’s Exact test）。数的異常を有する細胞の割合は、60 µg/mL の用量で溶媒対照群と比較して統計学的に有意に増加した（$p \leq 0.05$、Fisher’s Exact test）。Cochran Armitage test でも構造と数的異常の両方に対して正の用量反応関係（$p \leq 0.05$）を示した。

S9 存在下 4 時間処理群では、構造異常を有する細胞の割合が 255 µg/mL の用量で溶媒対照群と比較して統計学的に有意に増加した（$p \leq 0.01$、Fisher’s Exact test）。Cochran-Armitage test でも構造異常に対して正の用量反応関係（$p \leq 0.05$）を示した。数的異常を有する細胞の割合は、溶媒対照

群と比較していずれの用量でも有意な増加は認められなかった（p>0.05、Fisher's Exact test）。

すべての溶媒対照の値は背景データの範囲内であり、陽性対照では異常分裂中期の割合が有意に増加した（p≤0.01）。したがって、試験の妥当性基準をすべて満たした。

本試験条件下では、DRF は HPBL を用いた in vitro 染色体異常試験の非活性化系で染色体の構造及び数的異常誘発性が陽性であると結論した。DRF は、HPBL を用いた in vitro 染色体異常試験の S9 活性化系で染色体構造異常誘発性が陽性であり、染色体数的異常誘発性が陰性であると結論した。これらの試験結果の要約を表 3 及び M2.6.7.8C に示す。

4.5 MMF のほ乳類細胞を用いる in vitro 染色体異常試験

P00012-08-03（テクフィデラ申請資料）

MMF 及び溶媒（DMSO）について、HPBL を用いた染色体異常試験を代謝活性化系非存在下及び存在下で実施した。本試験では MMF の最高濃度を 1300 µg/mL（約 10 mmol/L）とした。

最初の染色体異常試験では、代謝活性化系存在下及び非存在下で 3 時間処理し、処理開始から約 22 時間後に培養細胞を回収した。代謝活性化系非存在下及び存在下で、8.82、12.6、18.0、25.7、36.7、52.5、74.9、107、153、218、312、446、637、910、及び 1300 µg/mL の濃度を評価した。代謝活性化系非存在下で 153、312、及び 446 µg/mL、代謝活性化系存在下で 74.9、153、及び 218 µg/mL の濃度で処理した細胞について、染色体異常を分析した。分析した結果、倍数性又は核内倍加を有する細胞の有意な増加は認められず、代謝活性化系存在下の培養では染色体異常を有する細胞の有意な増加は認められなかった。染色体異常を有する細胞の統計学的に有意な増加が、代謝活性化系非存在下の 312 及び 446 µg/mL で認められ、分裂指数はそれぞれ 39%及び 56%低下した。

確認試験では、代謝活性化系非存在下では約 22 時間、代謝活性化系存在下では約 3 時間処理し、処理開始から約 22 時間後に培養細胞を回収した。代謝活性化系非存在下で 2.50、5.00、10.0、20.2、28.8、41.0、58.0、80.0、100、125、156、196、245、350、及び 500 µg/mL の濃度、また代謝活性化系存在下で 64.0、80.0、100、125、156、196、245、及び 350 µg/mL の濃度を評価した。分裂中期の頻度が低かったため、試験を中止して再試験を行った。

確認試験の再試験は同一の条件下で行った。代謝活性化系非存在下では 20.2、28.8、及び 41.0 µg/mL の濃度、また代謝活性化系存在下では 100、156、及び 245 µg/mL の濃度で処理した細胞の染色体異常を分析した。分析した結果、倍数性又は核内倍加を有する細胞の有意な増加は認められなかった。染色体異常を有する細胞の統計学的に有意な増加が、代謝活性化系非存在下の 41.0 µg/mL で認められた。この培養条件では、溶媒対照と比較して分裂指数は 54%低下した。異常細胞数の増加（染色体及び染色分体ギャップを除いて 4%）は、溶媒対照に異常細胞が存在しなかったことによる統計学的な変則性であり、生物学的意義はないと考えられる。代謝活性化系存在下の 245 µg/mL で染色体異常を有する細胞の有意な増加（ギャップを除いて 6%）が認められた。この培養条件では、溶媒対照と比較して分裂指数は 56%低下した。

単一の高濃度で観察された増加は、恐らく細胞毒性によって誘導されたものであり、被験物質の真の染色体異常誘発作用によるものではないことを示す十分な証拠がある［Galloway 2000］；［Hilliard 1998］；［Kirkland and Müller 2000］。比較的細胞毒性が高い濃度でわずかな増加（ほとん

どすべてが単純切断）が観察され（分裂指数の約 50%低下）、比較的細胞毒性が低い濃度では増加が観察されなかったため、染色体異常は細胞毒性に起因したものと考えられる。

溶媒対照は、染色体異常を有する細胞が背景データの範囲内にあり、陽性対照では、染色体異常を有する細胞が溶媒対照と比較して有意に増加した。分析用に選択した高用量では、経済協力開発機構（OECD）試験ガイドラインのこの試験法に対する推奨事項のとおり、分裂指数が 50%以上低下した。

被験物質である MMF は、最初の試験では、代謝活性化系非存在下で分裂指数を減少させる（39%～56%）比較的細胞毒性の高い濃度で弱陽性と判定された。確認試験では、代謝活性化系の有無にかかわらず、細胞毒性があると考えられる条件下（50%を超える分裂指数の減少）でのみ陽性結果が得られた。本試験条件下では、MMF は染色体異常誘発性ではないと判断された。これらの試験結果の要約を表 3 に示す。

4.6 HES のほ乳類細胞を用いる in vitro 染色体異常試験

P098-20-02（添付資料番号 4.2.3.3.1-4）

HES の染色体構造異常誘発能を評価する HPBL を用いた試験を外因性代謝活性化系の非存在下及び存在下で実施した。溶媒には DMSO を用いた。

予備毒性試験に用いた用量範囲は 0.0143～143 µg/mL（1 mmol/L）であり、ICH S2(R1)ガイドラインの推奨事項に従ったこの試験法の限界量とした。細胞毒性（溶媒対照と比較して 50%±5%の分裂指数の減少）は、3 つの処理条件（代謝活性化系非存在下で 4 時間及び 20 時間処理、代謝活性化系存在下で 4 時間処理）のいずれの用量でも認められなかった。これらの結果に基づき、染色体異常試験のために選択した用量は、3 つの処理条件すべてで 17.9～143 µg/mL の範囲とした。

染色体異常試験では、3 つの処理条件のいずれの用量でも細胞毒性は認められなかった。染色体異常を評価するために選択した用量は、3 つの処理条件すべてで 35.8、71.5、及び 143 µg/mL であった。代謝活性化系存在下及び非存在下で検討したいずれの用量においても、溶媒対照と比較して HES 投与による構造異常及び数的異常への影響は認められなかった（$p>0.05$；Fisher’s Exact test 及び Cochran Armitage test）。

これらの結果から、HPBL を用いた in vitro 染色体異常試験で代謝活性化系の有無にかかわらず、HES は染色体の構造及び数的異常誘発性が陰性であることが示された。これらの試験結果の要約を表 3 及び M2.6.7.8D に示す。

4.7 DRF の in vivo ラット小核及びコメット試験

AT-5108-23（添付資料番号 4.2.3.3.2-1）

コメット試験を用いて Sprague Dawley ラットの肝臓及び十二指腸細胞における DNA 傷害性に基づいて DRF の遺伝毒性を評価し、ラット骨髄の多染性赤血球の小核を検出することによって被験物質の in vivo 染色体異常誘発能及び／又は分裂装置の損傷を評価した。

用量設定試験では、0.5%メトセル E50 プレミアム LV 及び 0.2%ポリソルベート 20 を含有する

50 mM クエン酸緩衝液（pH 4 ± 0.1）で調製した DRF を 500、1000、又は 2000 mg/kg の用量で、各群雌雄各 3 例のラットに 3 日間反復強制経口投与した。すべての群で DRF の忍容性は良好であった。

用量設定試験で忍容性に性差が認められなかったため、本試験では、同じ用量の DRF 投与群と溶媒対照群を設定し、各群雄 5 例に 3 日間反復投与した。さらに、陽性対照としてメタンスルホン酸エチルを Day 2 及び 3 に雄 5 例に経口投与した。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK 評価は、同じ投与レジメンのサテライト群雄動物（対照群 3 例及び DRF 投与群 6 例）を用いて Day 3 に実施した。HES（代謝物）の曝露量は、ラットを用いた DRF の 5 日間ブリッジング PK 試験［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）の結果を用いて推定した。

肝細胞を用いたコメット試験では、溶媒対照群との比較で DRF 投与により % clouds の増加は認められなかった。低用量（500 mg/kg）のみで% tail DNA の統計学的に有意な増加が認められ、用量依存的な増加はなく、すべての% tail DNA 値は背景データの範囲内であった。陽性対照及び溶媒対照群の% tail DNA は予想範囲内であった。

十二指腸細胞を用いたコメット試験では、溶媒投与群との比較で DRF 投与により % clouds が低下した。1000 及び 2000 mg/kg 群では、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な% tail DNA の低下が認められた。これらの低下は回帰分析により用量依存的であった（$p<0.01$）。陽性対照及び溶媒対照群の% tail DNA は予想範囲内であった。

肝臓及び十二指腸細胞により評価した本試験条件下で、2000 mg/kg までの DRF はコメット試験で陰性であると結論した。小核の評価では、雄 Sprague Dawley ラットに DRF を 2000 mg/kg までの用量で 1 日 1 回 3 日間反復経口投与した結果、溶媒対照群と比較して、骨髄多染性赤血球の小核出現頻度の有意な増加はなかった。したがって、本試験条件下では、DRF は小核試験で陰性であると結論した。DRF の 2000 mg/kg を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 41 倍／33 倍及び 14 倍超／8 倍超であった。非臨床試験で曝露がみられたものの、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

ラット及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため、DRF の曝露量は算出できなかった。これらの試験結果の要約を表 3 及び M2.6.7.9A に示す。

表 3　　DRF 遺伝毒性試験における主な所見及び曝露データの要約

Study Type and Duration (Study Reference Number / Location in CTD)	**Species/Route of Admin/Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF at Highest Dose Evaluated [AUC (ng*h/mL)/C_{max} (ng/mL)]**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a] of HES at Highest Dose Evaluated [AUC (ng*h/mL)/C_{max} (ng/mL)]**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
Bacterial Mutagenicity (AT-5108-11/ 4.2.3.3.1-1)	In vitro/ 15–5000 µg/plate DRF	Negative	N/A	N/A	N/A	N/A
Bacterial Mutagenicity (P00012-08-02 [e])	In vitro/ 1.6–5000 µg/plate MMF	Negative	N/A	N/A	N/A	N/A
Bacterial Mutagenicity (P098-20-01/ 4.2.3.3.1-2)	In vitro/ 100–5000 µg/plate HES	Negative	N/A	N/A	N/A	N/A
Mammalian Chromosomal Aberration (AT-5108-12/ 4.2.3.3.1-3)	In vitro/ 15–255 µg/mL DRF	Positive at ≥ 40 µg/mL	N/A	N/A	N/A	N/A
Mammalian Chromosomal Aberration (P00012-08-03 [e])	In vitro/ +S9: 100-245 µg/mL -S9: 20.2-41.0 µg/mL MMF	Negative Weakly positive at cytotoxic concentrations	N/A	N/A	N/A	N/A
Mammalian Chromosomal Aberration (P098-20-02/ 4.2.3.3.1-4)	In vitro/ 35.8–143 µg/mL HES	Negative	N/A	N/A	N/A	N/A
In Vivo Micronucleus and Comet Assay (AT-5108-23/4.2.3.3.2-1)	Sprague Dawley rats/PO/ 0, 500, 1000, 2000 mg/kg DRF	Negative up to 2000 mg/kg	213000 (M)/ 66300 (M)	33 (M)/ 41 (M)	> 1810000[d] (M)/ > 159000[d] (M)	> 8 (M)/ > 14 (M)

Admin = administration; AUC = area under the concentration-time curve; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration; BID = bis in die; C_{max} = maximum observed concentration; DRF = diroximel fumarate; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; M = male; MMF = monomethyl fumarate; N/A = not applicable; PO = per os.

[a] AUC (reported as AUC_{last} or $AUC_{0\text{-}24h}$) and C_{max} for MMF and HES were calculated from plasma concentrations on the last day of dosing for applicable studies or were estimated from a bridging PK study with DRF in rats (AT-5108-27 / M4.2.2.2-3).

[b] Clinical exposure parameters for MMF were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 BID) mg/day of DRF; $AUC_{0\text{-}24h}$ and C_{max} values were 6470 ng*h/mL and 1620 ng/mL, respectively.

[c] Clinical exposure parameters for HES were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 BID) mg/day of DRF; $AUC_{0\text{-}24h}$ and C_{max} values were 227,000 ng*h/mL and 11,000 ng/mL, respectively.

[d] A number of toxicology studies were completed before validated bioanalytical assays for HES were available. In Study AT-5108-23 (M4.2.3.3.2-1), HES exposure was not measured directly, but was estimated by linear extrapolation of plasma AUC and C_{max} values from a bridging PK study with DRF in rats (AT-5108-27 / M4.2.2.2-3). The highest dose of DRF evaluated in Study AT-5108-23 (M4.2.3.3.2-1) was greater than the highest dose evaluated in Study AT-5108-27 (M4.2.2.2-3); therefore, a greater than (>) symbol was used to indicate the projected exposure for HES was presumed to be higher.

[e] Studies have been submitted at the filing of Tecfidera in Japan.

5 がん原性（トキシコキネティクス評価を含む）

ラットを用いた 2 年間がん原性試験［AT-5108-26 試験］（添付資料番号 4.2.3.4.1-1）及び rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間がん原性試験［AT-5108-31 試験］（添付資料番号 4.2.3.4.2-1）では、DRF を調製するための溶媒として、0.5%（w/w）Methocel E50 Premium LV 及び 0.2%（w/w）ポリソルベート 20 を脱イオン水中に含む pH 4 ± 0.1 の 50 mM クエン酸緩衝液を使用した。両試験では溶媒対照動物にもこの溶媒を投与した。

がん原性試験のデザイン及び用量選択は、ICH S1A、S1B、及び S1C(R2)ガイドラインに従い、FDA の Executive Carcinogenicity Assessment Committee の推奨事項も取り入れた。

がん原性試験の概要を以下に示し、表 4 及び M2.6.7.10 に示す。

5.1 ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験

AT-5108-26（添付資料番号 4.2.3.4.1-1）

雌雄 Sprague Dawley ラット（各群雌雄各 60～70 例）に DRF を 0（水）、0（溶媒）、15、50、又は 150 mg/kg の用量で雄では 90 週間まで、雌では 94 週間まで 1 日 1 回強制経口投与して DRF のがん原性を評価した。死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床検査及び病理学的検査に基づいて毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF、HES、及び RDC-8439）の TK 評価は、同じ投与レジメンのサテライト群ラット（水及び溶媒対照群：雌雄各 3 例、各 DRF 投与群：雌雄各 9 例）を用いて Day 1 及び Day 182 に行った。

一般状態及び触知可能な腫瘤、摂餌量及び眼科学的検査では、DRF に関連した影響は認められなかった。

雌雄で DRF に関連した腫瘍性病変に起因する死亡はなかった。150 mg/kg 群の雄では、水及び溶媒対照群と比較して、非腫瘍性腎病変（慢性進行性腎症／尿毒症）に起因した DRF に関連し、統計学的に有意な死亡数の増加が観察された。150 mg/kg 群における慢性進行性腎症の発現頻度及び重症度の増加は、腎臓の剖検及び病理組織学的所見並びに他の器官の二次的所見と関連した。150 mg/kg 群の雌 2 例で、計画外の安楽死／死亡の原因と判断された慢性進行性腎症／尿毒症が認められたが、対照群及び DRF 投与群の雌のその他の死亡は慢性腎疾患に起因しなかった。これらの雌 2 例の死亡は、水及び溶媒対照群と比較して、この用量群の雌全体における病理組織学的所見の慢性進行性腎症の重症度が DRF に関連して高かったことを反映していると推定された。

150 mg/kg 群の雄では、水及び溶媒対照群と比較して、DRF に関連した群平均体重の減少が認められた。この群の雄では、水及び／又は溶媒対照群と比較して、Week 16 から Week 88（最後の体重測定日）まで一貫して統計学的に有意な群平均体重の減少（Week 16 と Week 88 の減少率はそれぞれ 5%及び 12%）が認められた。雌の平均体重には、DRF に関連した変化は認められなかった。

DRF に関連した臨床検査所見として、150 mg/kg 群の雄に赤血球量（赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値）の軽微な減少及びフィブリノゲン濃度の軽度増加が認められた。赤血球系パラメータの減少（水及び溶媒対照と比較して 10%まで）は、腎臓の進行性の病理組織学的

変化による二次的変化と考えられた。150 mg/kg 群の雄における最終採取時のフィブリノゲン濃度は、水対照群（+32%）及び溶媒対照群（+19%）と比較して軽度に増加した。

腫瘍性所見：

DRF 関連の病理組織学的腫瘍所見は、150 mg/kg 群の雄の精巣におけるライディッヒ細胞腺腫の発現頻度の統計学的に有意な増加のみであった。ライディッヒ細胞腺腫（良性間細胞腫）は 150 mg/kg 群の雄 13/70 例（18.57%）に発現したのに対し、水対照群では 2/70 例（2.86%）及び溶媒対照群では 1/70 例（1.43%）にのみ発現した。ライディッヒ細胞腺腫は 50 mg/kg 群の雄 1/60 例（1.67%）にも発現したが、15 mg/kg 群の雄には発現しなかった。本試験の 150 mg/kg 群の雄におけるライディッヒ細胞腺腫の発現率は試験施設の背景データの範囲を超えていたが、対照群及び他の DRF 投与群におけるこの腫瘍の発現率は背景データの範囲内であった。ライディッヒ細胞腺腫は、剖検では 150 mg/kg 群の雄の 7/13 例に黄褐色の病巣又は黄褐色～黄色の変色が認められた。150 mg/kg 群の雄におけるライディッヒ細胞腫の発現に関連した二次的所見として、水及び溶媒対照群と比較して精巣の精細管変性／萎縮及び精巣上体の精子減少／生殖細胞残屑の発現頻度及び重症度の増加が認められた。

さらに、150 mg/kg 群の雄では、ライディッヒ細胞過形成の発現頻度及び全体的な重症度が水及び溶媒対照の雄と比較して増加した。150 mg/kg 群の雄 12/70 例（17.14%）の精巣に軽微～中等度のライディッヒ細胞過形成が認められたのに対し、水対照群の雄 4/70 例（5.71%）及び溶媒対照群の雄 2/70 例（2.86%）では軽微～軽度の過形成が認められた。150 mg/kg 群の雄におけるライディッヒ細胞過形成の発現頻度の増加は、試験施設の背景データの範囲を超えていたこと、並びにこれと共に同用量群の雄におけるライディッヒ細胞腺腫の発現頻度の増加が水及び溶媒対照群と比較して統計学的に有意であったことから、DRF に関連するものと考えられた。

非腫瘍性所見：

50 mg/kg 以上の雌雄の腎臓及び 150 mg/kg 群の雌雄の前胃に、DRF に関連した病理組織学的非腫瘍性所見が認められた。

50 mg/kg 以上の雌雄の腎臓では、水及び溶媒対照と比較して慢性進行性腎症の発現頻度及び重症度が DRF に関連して増加したが、慢性進行性腎症はラットによくみられる病因不明の非腫瘍性加齢性腎疾患である。また、50 mg/kg 以上の雄では、水及び溶媒対照群と比較して、DRF に関連した尿細管過形成の発現頻度及び重症度の増加が認められた。DRF 投与群の腎臓の剖検所見は慢性進行性腎症と関連しており、50 mg/kg 以上の雌雄で腫大、50 mg/kg 以上の雄に表面不整、150 mg/kg 群の雄及び 50 mg/kg 以上の雌に黄褐色変色が認められた。剖検時に 150 mg/kg の雄で赤血球量減少が認められたが、進行性腎症に続発して生じたものと推定された。

尿細管過形成が、重度の慢性進行性腎症、特に末期の腎症があった 50 mg/kg 以上の雄の腎臓に最も高頻度に認められた。この所見は異型尿細管過形成と一致しており、単一の尿細管に限局された複雑な増殖を特徴としており、充実性尿細管、乳頭状突起又は数層の厚さの細胞層からなる内層を形成する単一細胞層以上の尿細管があり、影響を受けた尿細管は拡張又は嚢胞状となる［Frazier 2012］。異型尿細管過形成は一般的に前がん病変として認められており、腺腫と連続して

いる病変と考えられているが［Hard 2012b］、本試験の水対照、溶媒対照及び DRF 投与群の雄に尿細管腫瘍は認められなかった。慢性試験の対照ラットの腎臓に関する最近のレトロスペクティブな病理組織学的調査に基づくと、異型尿細管過形成は慢性進行性腎症の増悪を介した間接的な影響である可能性がある［Hard 2012a］。

慢性進行性腎症に起因する進行性腎疾患／尿毒症に関連した二次的な病理組織学的所見が 150 mg/kg 群の雄に認められ、その発現頻度及び／又は全体的な重症度は、水及び溶媒対照群よりも高かった。これらの所見は、心臓の心筋症及び筋線維鉱質沈着、腎臓、肺、大動脈、及び腺胃の鉱質沈着、骨の線維性骨異栄養症、上皮小体びまん性過形成、並びに複数器官における多発性動脈炎及び血管鉱質沈着の発現頻度及び／又は重症度の増加であった。150 mg/kg 群の雄における進行性慢性進行性腎症に続発した DRF 関連の剖検所見として、軽度～中等度の心臓の黄褐色変色（病理組織学的所見の筋線維鉱質沈着と関連）、大動脈の軽度の灰色変色及び軽度拡大（病理組織学的所見の鉱質沈着と関連）、並びに軽度の上皮小体腫大（病理組織学的所見のびまん性過形成と関連）が認められた。

150 mg/kg 群の雌雄の前胃では、水対照及び溶媒対照群と比較して粘膜過形成の発現頻度が増加し、粘膜過形成は腺胃との境界縁で最も顕著であった。この所見は DRF に関連しており、ラットを用いた他の反復投与毒性試験の結果と一致していた（3 項参照）。150 mg/kg における前胃の軽度の腫脹／肥厚及び軽度の表面不整は、境界縁の粘膜過形成と関連した。

要約すると、DRF のがん原性を、Sprague Dawley ラットに 0（水対照）、0（溶媒対照）、15、50、又は 150 mg/kg/日の用量で、雄では最長 90 週間、雌では最長 94 週間強制経口投与して評価した。DRF に関連した腫瘍として精巣のライディッヒ細胞腺腫が 150 mg/kg 群の雄で観察された。DRF に関連した非腫瘍性所見として、50 mg/kg 以上の腎臓で慢性進行性腎症及び尿細管過形成（雄のみ）、150 mg/kg 群の雌雄で前胃境界縁の粘膜過形成が認められた。その他の DRF 関連所見は 150 mg/kg 群の雄に限られており、水対照及び溶媒対照群と比較して非腫瘍性腎病変による死亡率の増加、フィブリノゲン濃度の軽度増加及び平均体重の減少が認められた。

50 mg/kg（腫瘍所見なし）の用量で DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 5 倍以上／1 倍及び 2 倍／0.4 倍以上であった。50 mg/kg での RDC-8439 の全身曝露比は、非臨床試験で曝露が認められたものの、臨床試験では測定可能な曝露が認められなかったため、C_{max} に基づくと無限大に近かった。RDC-8439 については、連続した定量値が 3 時点未満であったため、AUC 値を算出できなかった。150 mg/kg（腫瘍性所見）では、DRF 反復投与後の MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、MRHD における臨床曝露量のそれぞれ 7 倍以上／2 倍以上及び 4 倍／2 倍であった。

非臨床試験で曝露が認められたものの、臨床試験では測定可能な曝露が認められなかったことから、150 mg/kg での RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。ラット及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため、DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量群の全身曝露パラメータを表 4 及び M2.6.7.10A に示す。

5.2 rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間経口投与がん原性試験

AT-5108-31（添付資料番号 4.2.3.4.2-1）

ヘミ接合 rasH2-Tg（CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (+/- hemizygous c-Ha-*ras*)）マウス（各群雌雄各 25 例）に DRF を 1 日 1 回 26 週間反復（強制）経口投与したときのがん原性を評価した。雄マウスには DRF を 0（水）、0（溶媒）、30、100、又は 300 mg/kg の用量で投与し、雌マウスには DRF を 0（水）、0（溶媒）、30、100、300、又は 1000 mg/kg の用量で投与した。本試験の用量は、rasH2-Tg マウスと同腹の野生型を用いた 5 日間／28 日間用量設定試験［AT-5108-29 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-1）（3.1 項）の結果に基づいて設定した。陽性対照群（雌雄各 10 例）には、生理食塩液に溶解したウレタン（1000 mg/kg/回）を、Day 1、3 及び 5 に 1 回ずつ、計 3 回腹腔内投与した。死亡、一般状態、体重パラメータ、摂餌量及び病理組織学的検査に基づいて毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF、HES 及び RDC-8439）の TK 評価は、同様の投与レジメンの野生型 CByB6F1（CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (-/- homozygous c-Ha-*ras*)）マウス（水及び溶媒対照群：雌雄各 8 例、各 DRF 投与群：雌雄各 20 例）を用いて Day 177 に行った。

投与群と対照群間で、生存率に統計学的有意差は認められなかった。Day 183 における雄の生存率は、水対照群、溶媒対照群、30、100、及び 300 mg/kg 群でそれぞれ 92%、88%、100%、100%、及び 96%であった。同様に、Day 183 における雌の生存率は、水対照群、溶媒対照群、30%、100%、300%、及び 1000 mg/kg 群でそれぞれ 100%、100%、96%、96%、100%、及び 88%であった。

DRF 投与に関連する特記すべき臨床症状は認められなかった。さらに、水対照群及び溶媒対照群と比較して、群平均体重、体重増加量及び摂餌量に DRF に関連する又は特記すべき影響は認められなかった。

水対照群及び溶媒対照群と比較して、いずれの DRF 投与群の雌雄にも腫瘍性病変の発現頻度の増加は認められなかった。

300 及び／又は 1000 mg/kg 群の雌でみられた鼻腔の滲出性炎、食道粘膜過角化及び前胃過形成などの非腫瘍性所見は DRF 関連であり、DRF の物理化学的特性に関連する可能性があるが、毒性所見ではないと考えられた。雄では、鼻腔病変の発現頻度及び重症度が溶媒対照群と DRF 投与群で同程度であったことから、鼻腔は標的器官ではないと考えられた。300 及び 1000 mg/kg の雌でみられた食道粘膜過角化は雄では認められなかった。また、胃についても中等度の過形成は 300 mg/kg 群の雄 1 例のみで認められ、この孤発性病変は偶発的と考えられることから、標的器官ではないと考えられた。

ウレタンを投与した陽性対照群では、水対照群と比較して、肺腫瘍の発現頻度が統計学的に有意に増加したことから、この試験の感度と妥当性が示された。

要約すると、ヘミ接合 rasH2-Tg マウスに DRF を 1 日 1 回 26 週間反復経口投与した結果、DRF に関連する死亡及び剖検所見、並びに腫瘍発現頻度の増加は認められなかった。雌では、鼻腔、食道及び前胃に認められた非腫瘍性病変は DRF に関連するが、毒性所見ではないと考えられた。DRF（300 mg/kg）を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 23 倍以上／3 倍及び 7 倍以上／0.7 倍以上であった。DRF（1000 mg/kg）を反復投与したときの雌の MMF 及び HES の全身

曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、MRHD における臨床曝露量のそれぞれ 65 倍／13 倍及び 21 倍／4 倍であった。非臨床試験で曝露がみられたが臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったことから、両用量における RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

DRF の曝露量は、マウス及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 4 及び／又は M2.6.7.10B に示す。

表 4　　DRF がん原性試験の特記すべき所見及び曝露データの要約

Study Type and Duration (Study Reference Number / Location in CTD)	**Species/Route of Admin/Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a] of HES [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
2-Year Carcinogenicity in Rats (AT-5108-26/ 4.2.3.4.1-1)	Rat/PO/ 0, 15, 50, 150 mg/kg	15 mg/kg: No noteworthy findings	1580[d] (M) / 2010 (M) 2370 (F)/ 4680 (F)	0.2 (M)/ 1 (M) 0.4 (F)/ 3 (F)	57000 (M)/ 6630 (M) 24800 (F)/ 7330 (F)	0.3 (M)/ 0.6 (M) 0.1 (F)/ 0.7 (F)
		50 mg/kg: Neoplastic findings: none Non-neoplastic findings: ↑ incidence of chronic progressive nephropathy; ↑ incidence of renal tubular hyperplasia in M	6230 (M)/ 7660 (M) 8290 (F)/ 11500 (F)	1 (M)/ 5 (M) 1 (F)/ 7 (F)	177000 (M)/ 21600 (M) 83900 (F)/ 21100 (F)	0.8 (M)/ 2 (M) 0.4 (F)/ 2 (F)
		150 mg/kg: Neoplastic findings: ↑ incidence of Leydig cell adenomas and hyperplasia in testes in M Non-neoplastic findings: ↑ incidence of chronic progressive nephropathy; ↑ incidence of renal tubular hyperplasia in M; ↑ incidence of mucosal hyperplasia at the limiting ridge of the border with the glandular stomach Other findings: ↑mortality due to non-neoplastic renal lesions in M; ↓ group mean body weights in M; ↓ red cell mass in M; mild ↑ fibrinogen in M	11800 (M)/ 11100 (M) 23300 (F)/ 27100 (F)	2 (M)/ 7 (M) 4 (F)/ 17 (F)	572000 (M)/ 48000 (M) 374000 (F)/ 44200 (F)	3 (M)/ 4 (M) 2 (F)/ 4 (F)

Study Type and Duration (Study Reference Number / Location in CTD)	**Species/Route of Admin/Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a] of HES [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
26-Week Carcinogenicity in rasH2 Transgenic Mice (AT-5108-31/ 4.2.3.4.2-1)	rasH2-Tg mice [CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (+/- hemizygous C-Ha-*ras*)]/PO Males: 0, 30, 100, or 300 mg/kg Females: 0, 30, 100, 300, or 1000 mg/kg TK evaluation in wild-type littermates of rasH2-Tg mice	300 mg/kg (M/F)/1000 mg/kg (F) Neoplastic findings: none Non-neoplastic findings: exudative inflammation of the nasal cavity and hyperkeratosis of the esophageal mucosa in F, and hyperplasia of the nonglandular stomach in F	21600 (300 M)/ 41000 (300 M) 17400 (300 F)/ 36600 (300 F) 86200 (1000 F)/ 105000 (1000 F)	3 (300 M)/ 25 (300 M) 3 (300 F)/ 23 (300 F) 13 (1000 F)/ 65 (1000 F)	287000 (300 M)/ 116000 (300 M) 163000 (300 F)/ 80500 (300 F) 855000 (1000 F)/ 227000 (1000 F)	1 (300 M)/ 11 (300 M) 0.7 (300 F)/ 7 (300 F) 4 (1000 F)/ 21 (1000 F)

Admin = administration; AUC = area under the concentration-time curve; BID = bis in die; C_{max} = maximum observed concentration; DRF = diroximel fumarate; F = female; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; M = male; MMF = monomethyl fumarate; PO = per os; TK = toxicokinetic.

[a] AUC (reported as AUC_{last} or AUC_{0-24h}) and C_{max} for MMF and HES were calculated from plasma concentrations on the last day of dosing for Study AT-5108-31 (M4.2.3.4.2-1) and Day 182 for Study AT-5108-26 (M4.2.3.4.1-1).

[b] Clinical exposure parameters for MMF were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 BID) mg/day of DRF; AUC_{0-24h} and C_{max} values were 6470 ng*h/mL and 1620 ng/mL, respectively.

[c] Clinical exposure parameters for HES were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 BID) mg/day of DRF; AUC_{0-24h} and C_{max} values were 227,000 ng*h/mL and 11,000 ng/mL, respectively.

[d] In Study AT-5108-26 (M4.2.3.4.1-1), Day 1 MMF AUC_{0-24h} was reported given Day 182 AUC_{last} and AUC_{0-24h} values were not reportable due to less than 3 consecutive quantifiable concentrations.

6 生殖発生毒性（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

すべての生殖発生毒性試験及び幼若動物の毒性試験で DRF の調製に使用した溶媒は、脱イオン水中に 0.5%（w/w）Methocel E50 Premium LV 及び 0.2%（w/w）ポリソルベート 20 を含む 50 mM クエン酸緩衝液、pH 4 ± 0.1 であった。すべての試験でこの溶媒を対照動物にも使用した。

すべての生殖発生毒性試験及び幼若動物の毒性試験で DRF、MMF、及び RDC-8439 の TK を評価した。HES の曝露量は、バリデートされた生体試料中濃度分析法が利用可能だった場合に測定した（ラット［AT-5108-21 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.2-2）及びウサギ［AT-5108-22 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.2-4）を用いた胚・胎児発生試験、ラットを用いた出生前及び出生後発生試験［AT-5108-30 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.3-1）、並びに幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与試験［AT-5108-38 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.4-1））。その他の生殖発生毒性試験については、M2.6.4.3.2.3 に記載したとおり、ラットを用いた DRF のブリッジング PK 試験［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）から HES を推定した。

生殖発生毒性試験及び幼若動物の毒性試験の概要文を以下に示し、表 5 及び M2.6.7.11～M2.6.7.15 に示す。

6.1 雄ラットの受胎能に関する試験

AT-5108-19（添付資料番号 4.2.3.5.1-1）

雄 Sprague Dawley ラット（各群 25 例）に DRF を 0（溶媒）、40、120、又は 400 mg/kg の用量で 1 日 1 回強制経口投与し、雄受胎能及び生殖能に及ぼす影響を評価した。雄ラットの交配 28 日前から交配期間を通じ、安楽死の 1 日前まで計 63～64 回投与した。雌ラット（各群 25 例）には溶媒及び DRF は投与しなかった。交尾成立雌は、妊娠 15 日に子宮を摘出した。最後の雌の剖検後にすべての雄を安楽死させた。雄受胎能の評価には、受胎能及び生殖機能障害の特定（リビドーの変化及び精巣上体内の精子成熟）が含まれた。死亡、一般状態、体重パラメータ、摂餌量（雄のみ）、雄の器官重量（脳、下垂体、精巣上体、及び精巣）及び剖検に基づいて毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK 評価は、サテライト群の雄動物（対照群 3 例、各 DRF 投与群 6 例）を用いて Day 0（初回投与日）及び Day 27 に行った。雄における HES（代謝物）の曝露量は、ラットを用いた DRF の 5 日間ブリッジング PK 試験［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）の結果を用いて推定した。

400 mg/kg 群の雄 1 例が Day 21 に死亡した。この動物には、特記すべき一般状態変化、体重及び摂餌量の変化、並びに剖検所見は認められなかった。この用量では他の毒性徴候が認められたが、死亡と DRF との関連性は不明であった。他の雄はすべて計画剖検時まで生存した。

Days 19～27 の投与 0.25～1 時間後、400 mg/kg 群の雄に、口周囲の赤色及び／又は透明物質の DRF に関連した一般状態変化が認められた。その他に DRF に関連する一般状態変化は、40、120、及び 400 mg/kg 群の毎日の観察時及び投与 0.25～1 時間後には認められなかった。

400 mg/kg 群では、対照群と比較して主に最初の数日間（Days 0～3）に平均体重増加量の減少が認められ、その結果、全交配前期間（Days 0～27）の体重増加量が有意に減少した。400 mg/kg

群では、対照群と比較しておおむね交配前期間を通じて平均摂餌量の減少が認められた。この群の平均体重増加量及び摂餌量は、おおむね残りの投与期間を通じて対照群と同程度であった。400 mg/kg では交配前期間中に認められた変化により、Days 3～63 の平均体重は対照群より 2.5%～5.3%低かった。400 mg/kg 群におけるこれらの体重及び摂餌量の減少は、DRF に関連し、毒性と考えられた。40 及び 120 mg/kg 群では、平均体重、体重増加量、及び摂餌量に DRF に関連した影響は認められなかった。

雄の交尾能、受胎能、及び交尾率及び精子形成の評価項目に DRF に関連した影響はいずれの用量においても認められなかった。さらに、平均交尾成立日数はすべての群で同程度であった。

いずれの用量においても DRF に関連した剖検所見及び器官重量への影響、並びに胎児生存率への影響は認められなかった。

要約すると、死亡、一般状態の変化（口周囲の赤色及び／又は透明物質）、及び 400 mg/kg 群の雄に認められた平均体重、体重増加量、及び摂餌量の減少に基づき、雄の全身毒性に対する無毒性量は 120 mg/kg と判断された。120 mg/kg の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 5 倍／2 倍及び 3 倍／1.3 倍であった。非臨床試験で曝露が認められたものの、臨床試験では測定可能な曝露が認められなかったため、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

生殖能及び胚生存率に対する影響はいずれの用量でも認められなかったことから、雄ラットに DRF を経口投与したときの雄生殖毒性及び初期胚毒性に対する無毒性量は 400 mg/kg と判断された。400 mg/kg の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD における曝露量のそれぞれ 15 倍／7 倍及び 6 倍／4 倍であった。非臨床試験で曝露がみられたものの、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

ラット及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため、DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 5 及び M2.6.7.12A に示す。

6.2 雌ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

AT-5108-20（添付資料番号 4.2.3.5.1-2）

雌 Sprague Dawley ラット（各群 25 例）に DRF を 0（溶媒）、40、120、又は 450 mg/kg の用量で 1 日 1 回強制経口投与し、雌受胎能及び生殖能に対する DRF の有害作用を評価した。雌に交配 14 日前から妊娠 7 日まで計 22～25 回投与した（交配前から受精までと受精から着床まで）。交尾が成立しなかった雌には、安楽死の前日又は当日まで計 35～44 回投与した。雄ラット（各群 25 例）には溶媒も DRF も投与しなかった。交尾成立雌は、妊娠 15 日に子宮を摘出した。雌受胎能の評価には、受胎能、性周期、卵管内輸送、着床及び着床前段階の胚発生における障害の特定を含めた。死亡、一般状態、体重パラメータ、摂餌量、器官重量（脳、下垂体、卵巣）及び剖検（雌のみ）に基づいて毒性を評価した。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK は、サテライト群の雌動物（対照群 3 例、各 DRF 投与群 6 例）を用いて Day 0（初回投与日）及び Day 13 に評価した。HES（代謝物）の曝露量は、ラットを用いた DRF の 5 日間ブリッジング PK 試験の

結果を用いて推定した［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）。

DRF 投与群の雌全例が計画剖検時まで生存した。対照群の雌 1 例の死亡が Day 12 に発見され、誤投与の可能性を示す一般状態及び剖検所見が認められた。DRF に関連した一般状態変化は、投与後 0.25～1 時間に口周囲の赤色透明物質が 450 mg/kg 群の雌におおむね投与期間を通して認められた。さらに、この用量では投与液排出及び投与中の投与困難の発現率増加が認められたことから、嗜好性に問題がある可能性がある。その他には毎日の観察時にも投与後 0.25～1 時間にも DRF に関連した一般状態変化は認められなかった。

経時的な平均体重減少が 450 mg/kg 群の雌の交配前期間 Day 3 及び 7 に認められ、その結果、全交配前期間（Days 0～13）の平均体重は対照群の平均体重より最大 4.2%減少した。またこれに対応して、450 mg/kg 群の雌では Days 0～10 に平均摂餌量の減少が認められた。交配前期間中に 450 mg/kg で認められたこれらの所見は、DRF に関連した毒性（体重への影響のみ）と考えられた。DRF に関連した平均体重増加量の減少が 120 mg/kg 群の雌の交配前期間 Days 0～3 に認められた。しかし、平均体重及び摂餌量パラメータには、対応する影響は認められなかった。したがって、120 mg/kg 群における投与初期の体重増加量への影響は毒性ではないと考えられた。その他に DRF に関連した影響は、いずれの用量の妊娠期間中の平均体重、体重増加量及び摂餌量にも認められなかった。

交尾能、受胎率（fertility index：妊娠雌数／交配雌数）、妊娠率（conception index：妊娠雌数／交尾成立雌数）、及び性周期を含む雌の生殖能力に対する DRF 関連の影響はなかった。加えて、胚の子宮内生存率は 40、120 及び 450 mg/kg の用量で DRF 投与の影響を受けなかった。

DRF に関連した肉眼所見や卵巣及び下垂体重量への影響は、いずれの用量の雌にも認められなかった。

要約すると、450 mg/kg 群でみられた一般状態変化、投与初期の経時的な平均体重減少及び平均体重の低値（対照群との比較）に基づき、雌の全身毒性に対する無毒性量は 120 mg/kg と判断された。120 mg/kg の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 14 倍／3 倍及び 3 倍／1.3 倍であった。非臨床試験で曝露がみられたものの、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

生殖能及び胚生存率への影響はいずれの用量でも認められなかったことから、生殖毒性及び初期胚毒性に対する無毒性量は、最高用量の 450 mg/kg と判断された。450 mg/kg の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD における臨床曝露量のそれぞれ 23 倍／9 倍及び 6 倍／4 倍であった。非臨床試験で曝露がみられたものの、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

ラット及びヒトでは、血漿中濃度が定量下限未満であったため、DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 5 及び M2.6.7.12B に示す。

6.3 ラットの胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験

AT-5108-17（添付資料番号 4.2.3.5.2-1）

胚・胎児発生に関する試験の用量設定を行うため、ラットを用いて DRF を評価する用量設定試験を実施した。交配済み雌ラット（各群 7 例）に DRF を 0（溶媒）、100、200、400、又は 600 mg/kg の用量で器官形成期（妊娠 6～17 日）に 1 日 1 回強制経口投与した。妊娠 20 日に剖検し、子宮を摘出した。子宮、胎盤、及び卵巣を検査し、胎児数、早期及び後期吸収胚数、総着床数、並びに黄体数を記録した。妊娠子宮重量を記録し、正味体重（子宮及び子宮内容物重量を除いた体重）と正味体重変化を算出した。胎児体重測定、性別判定、並びに外表異常及び変異の検査を行った。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK 評価は、同じ投与レジメンで DRF を投与した雌動物のサテライト群（各群 6 例）を用いて妊娠 6 及び 17 日に行った。ラットを用いた DRF の 5 日間ブリッジング PK 試験［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）の結果を用いて、HES（代謝物）の曝露量を推定した。

雌全例が妊娠 20 日の計画剖検時まで生存した。一般状態観察では、投与後 0.25～1 時間に口周囲の赤色及び／又は透明物質が投与期間（妊娠 6～18 日）を通して 200、400、及び 600 mg/kg 群で発現率が増加したが、用量依存的ではなかった。100 mg/kg 群では特記すべき一般状態の変化は認められなかった。

400 及び 600 mg/kg 群では、母動物に経時的な平均体重減少及び平均体重の低値（対照群との比較）が認められ、その結果、投与期間全体を通して平均体重増加量の減少及び摂餌量の減少が認められた。これらの群における平均正味体重及び正味体重増加量は対照群の値よりも低かった。100 及び 200 mg/kg 群における母動物の平均体重、体重増加量、正味体重及び正味体重増加量は、対照群と同程度であった。200 mg/kg 群に妊娠 6～9 日及び妊娠 9～12 日の平均摂餌量の減少が対照群と比較して認められたが、その差はわずかであり、対応する平均体重への影響は認められなかった。100 mg/kg 群の平均摂餌量は、試験期間を通じて対照群と同程度であった。

妊娠 20 日の剖検では、母動物に特記すべき剖検所見はいずれの用量にも認められなかった。

400 及び 600 mg/kg 群の平均胎児体重は対照群よりも低かった。100 及び 200 mg/kg 群の平均胎児体重及び全用量群の平均妊娠子宮重量に影響は認められなかった。

胎児生存率（着床後胚損失率、生存胎児数、及び性比を含む）は、100、200、400、及び 600 mg/kg 群で対照群と同程度であった。胎児の外表異常及び変異は認められなかった。

要約すると、交配済み雌ラットの妊娠 6～17 日に DRF を強制経口投与した結果、400 及び 600 mg/kg 群で母動物及び胎児の体重減少並びに母動物の摂餌量減少が認められた。400 mg/kg の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 42 倍／10 倍及び 6 倍／4 倍であった。非臨床試験で曝露がみられたものの、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

ラット及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため、DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量群の曝露パラメータを表 5 及び M2.6.7.11A に示す。

これらの所見に基づき、交配済み雌ラットを用いた胚・胎児発生試験（6.4 項）における DRF 用量として 40、100、及び 400 mg/kg を選択した。

6.4 ラットの胚・胎児発生に関する試験

AT-5108-21（添付資料番号 4.2.3.5.2-2）

交配済み雌 Sprague Dawley ラット（各群 25 例）の器官形成期（妊娠 6～17 日）に DRF を 0（溶媒）、40、100 及び 400 mg/kg の用量で 1 日 1 回強制経口投与し、発生毒性を評価した。妊娠 20 日に子宮を摘出した。子宮、胎盤及び卵巣を検査し、胎児数、早期及び後期吸収胚数、総着床数及び黄体数を記録した。妊娠子宮重量を記録し、正味体重と正味体重変化を算出した。胎児体重測定、性別判定、並びに外表、内臓及び骨格の形態異常及び変異の検査を行った。DRF 及びその代謝物（MMF、HES 及び RDC-8439）の TK 評価は、同じ投与レジメンのサテライト群の雌動物（対照群 4 例、各 DRF 投与群 8 例）を用いて、妊娠 6 及び 17 日に行った。

雌全例が妊娠 20 日の計画剖検まで生存し、DRF に関連した剖検所見はいずれの用量でも認められなかった。

400 mg/kg 群の雌では、投与期間を通して、投与後 0.25 時間～1 時間の観察時に、口周囲の赤色物質及び／又は透明物質の発現率が増加し、DRF に関連した一般状態の変化が認められた。これらの所見は毎日の観察では持続しなかったため、毒性ではないと考えられた。40 及び 100 mg/kg 群では、DRF に関連した一般状態の変化は認められなかった。

400 mg/kg 群では、投与の最初の 3 日間（妊娠 6～9 日）に DRF に関連した母動物の平均体重減少又は体重増加量の減少が認められ、全投与期間（妊娠 6～18 日）の平均体重増加量は対照群と比較して低かった。400 mg/kg 群の平均体重は、妊娠 8 日から妊娠 18 日まで対照群より最大 5.5%低かった。投与後期間（妊娠 18～20 日）には、400 mg/kg 群で代償性の平均体重増加量の増加が認められた。400 mg/kg 群では DRF に関連した平均正味体重増加量の減少も認められた。これに対応して、400 mg/kg 群では投与期間を通して平均摂餌量の減少が認められ、DRF に関連すると考えられた。40 及び 100 mg/kg 群では、体重、体重増加量、正味体重、正味体重増加量及び摂餌量に DRF に関連した影響は認められなかった。

DRF に関連した平均胎児体重の減少（対照群より約 5%低値 ; 雌及び雌雄合算）が 400 mg/kg 群に認められ、骨格変異（頭蓋骨及び椎弓の骨化遅延）の同腹児当たりの平均発現率の増加と関連した。400 mg/kg 群では、胎児生存率（胚吸収及び胎児死亡）に DRF に関連した影響は認められなかった。40 及び 100 mg/kg 群では、胚・胎児の発育及び生存性に対する影響は認められなかった。40 及び 100 mg/kg 群では胎児に DRF に関連した変異は認められず、いずれの用量でも胎児に形態異常は認められなかった。

要約すると、400 mg/kg 群でみられた母動物の体重及び摂餌量減少、胎児体重減少、並びに胎児の骨格変異に基づき、母動物毒性及び発生毒性に対する無毒性量は 100 mg/kg と判断された。無毒性量の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 11 倍／2 倍及び 4 倍／2 倍であった。非臨床試験で曝露がみられたものの、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったた

め、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

ラット及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため、DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 5 及び M2.6.7.13A に示す。

6.5 ウサギの胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験

AT-5108-18（添付資料番号 4.2.3.5.2-3）

胚・胎児発生に関する試験の用量を設定するため、DRF を評価するウサギを用いた用量設定試験を実施した。

6.5.1 忍容性試験

この用量設定試験の胚・胎児発生試験の用量を決定するために、非妊娠雌ウサギを用いて 14 日間投与忍容性予備試験を実施した。1 及び 2 群（各群雌 3 例）には、Days 0（初回投与日）～13 に DRF をそれぞれ 50 及び 200 mg/kg の用量で 1 日 1 回強制経口投与した。Day 7 以降、3 群の雌 3 例に DRF を 500 mg/kg の用量で投与した。一般状態観察、体重、摂餌量及び剖検所見に対する影響に基づいて忍容性を評価した。TK 評価は行わなかった。MMF 及び HES の曝露量は、ウサギを用いた胚・胎児発生の本試験［AT-5108-22 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.2-4）の TK データから推定した。

50 及び 200 mg/kg 群では良好な忍容性を示し、全例が Day 14 まで生存した。500 mg/kg 群の全例は、過剰な毒性（顕著な摂餌量減少及び体重減少並びにそれに伴う排便減少の一般状態変化）により、8 回投与後の Day 14 に安楽死させた。これらの結果に基づき、350 mg/kg の DRF を胚・胎児発生試験における高用量として選択した。

6.5.2 胚・胎児発生試験

交配済み雌ウサギ（各群 6 例）の器官形成期（妊娠 7～20 日）に DRF を 0（溶媒）、50、100、200 又は 350 mg/kg の用量で 1 日 1 回強制経口投与した。妊娠 29 日に子宮を摘出した。子宮、胎盤及び卵巣を検査し、胎児数、早期及び後期吸収胚数、総着床数、及び黄体数を記録した。妊娠子宮重量を記録し、正味体重と正味体重変化を計算した。胎児の体重を測定し、外表異常及び変異の検査を行った。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK 評価を妊娠 20 日に行った。ウサギを用いた胚・胎児発生の本試験［AT-5108-22 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.2-4）の TK データから、HES（代謝物）の曝露量が推定された。

溶媒対照群、50、100、200、及び 350 mg/kg 群の全例が計画剖検まで生存し、DRF に関連した一般状態変化及び剖検所見はいずれの用量でも認められなかった。

350 mg/kg 群の平均体重増加量及び摂餌量が全投与期間（妊娠 7～21 日）で低かったが、これらは主に 350 mg/kg 群の 1 例における体重減少及び顕著な摂餌量減少によるものであった。この群では、平均体重の減少は認められなかった。また、350 mg/kg 群の平均正味体重、正味体重増加量、及び妊娠子宮重量は対照群と同程度であった。投与後期間（妊娠 21～29 日）の 350 mg/kg 群の平均体重増加量及び平均摂餌量は高かった。200 mg/kg 群における一過性の平均体重増加量の低値

（主に妊娠 10～13 日）は、平均体重を減少させるほどではなかった。50 及び 100 mg/kg 群の平均体重及び体重増加量、並びに 50、100、及び 200 mg/kg 群の平均正味体重、正味体重増加量、妊娠子宮重量、及び摂餌量は、妊娠 7 日から妊娠 21 日まで対照群と同程度であった。

50、100、200、及び 350 mg/kg 群の胚・胎児発育（胎児体重）及び生存率は、対照群と同程度であった。ただし、350 mg/kg 群の 1 例に着床後胚損失率の増加及び生存胎児数の減少が認められた。この動物では体重減少と共に顕著な摂餌量減少も認められた。胎児の外表異常及び変異はいずれの用量にも認められなかった。

要約すると、交配済み雌ウサギの妊娠 7～20 日に DRF を投与した結果、350 mg/kg 群の平均体重増加量及び摂餌量が全投与期間（妊娠 7～21 日）で低かった。これらの所見は主に 350 mg/kg 群の 1 例における体重減少及び顕著な摂餌量減少によるものであった。胎児の外表異常及び変異はいずれの用量にも認められなかった。350 mg/kg の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 35 倍／14 倍及び 12 倍／4 倍であった。非臨床試験で曝露がみられたものの、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

血漿中濃度が定量限界未満であったため、ウサギ及びヒトにおける DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 5 及び M2.6.7.11B に示す。

これらの所見に基づき、交配済み New Zealand White ウサギを用いた胚・胎児発生の本試験では、50、150、及び 350 mg/kg を設定した（6.6 項）。

6.6 ウサギの胚・胎児発生に関する試験

AT-5108-22（添付資料番号 4.2.3.5.2-4）

交配済み雌 New Zealand White ウサギ（各群 22 例）に DRF を 0（溶媒）、50、150、及び 350 mg/kg の用量で器官形成期（妊娠 7～20 日）に 1 日 1 回強制経口投与し、発生毒性を評価した。妊娠 29 に、生存雌の子宮を摘出した。子宮、胎盤及び卵巣を検査し、胎児数、早期及び後期吸収胚数、総着床数、及び黄体数を記録した。妊娠子宮重量を記録し、正味体重と正味体重変化を算出した。胎児体重測定、性別判定、並びに外表、内臓、及び骨格の形態異常及び変異の検査を行った。DRF 及びその代謝物（MMF、HES、及び RDC-8439）の TK 評価は、同じ投与レジメンのサテライト群動物（溶媒対照群を含む各群 4 例）を用いて妊娠 7 及び 20 日に行った。

DRF に関連した瀕死状態（排便減少、体重減少、及び摂餌量減少）及び流産が 350 mg/kg 群に認められた。雌 3 例は妊娠 14～18 日に切迫と殺され、雌 1 例はおおむね投与開始から安楽死／流産までこれらの一般状態を示した後、妊娠 20 日に流産した。50 mg/kg 群の雌 1 例は、妊娠 18～21 日にケージ床面に赤色物質がみられ、妊娠 21 日に流産した。50 mg/kg 群で他の毒性徴候が認められず、150 mg/kg 群で流産が認められなかったことから、50 mg/kg 群での流産は DRF に関連しないと判断された。

DRF に関連した一般状態変化として、350 mg/kg 群ではおおむね妊娠 10～22 日の毎日の観察時に排便減少の発現率増加が認められた。50 及び 150 mg/kg 群では DRF に関連した一般状態変化は認められなかった。

DRF に関連した体重パラメータの変化が 350 mg/kg 群に認められた。妊娠 7～16 日に平均体重増加量の減少又は平均体重減少が認められ、全投与期間（妊娠 7～21 日）で対照群と比較して平均体重増加量の減少が認められた。その結果、350 mg/kg 群の妊娠 10～21 日の平均体重は対照群に比べて 5.1%～9.8%低かった。これに対応して、この用量ではおおむね投与期間を通して平均摂餌量の減少が認められ、DRF 関連と考えられた。投与後期間（妊娠 21～29 日）では、対照群と比較して 350 mg/kg 群に代償性の平均体重増加量及び摂餌量の増加が認められた。350 mg/kg 群の平均正味体重増加量は対照群よりもわずかに低く、平均正味体重及び妊娠子宮重量は対照群と同程度であった。

150 mg/kg 群では、平均体重増加量の減少及びそれに伴う平均摂餌量の減少がそれぞれ妊娠 7～13 日及び妊娠 7～15 日に認められた。150 mg/kg 群の平均体重の減少はごく軽度（最大 4%）であり、対照群と比較して統計学的に有意ではなかったが、投与第 1 週の体重増加量及び摂餌量の減少は DRF に関連しており、母動物毒性を示す影響と考えられた。50 mg/kg 群では、平均体重、体重増加量、又は摂餌量に DRF に関連した影響は認められなかった。50 及び 150 mg/kg 群の平均正味体重、正味体重増加量、及び妊娠子宮重量に DRF 投与の影響は認められなかった。

DRF に関連した剖検所見は 50、150、及び 350 mg/kg 群に認められなかった。

350 mg/kg 群では、平均着床後胚損失率の増加及びそれに伴う平均生存胎児数の減少が認められ、DRF 関連と考えられた。この用量では、DRF に関連した平均骨格異常数（椎体異常、肋骨異常を伴う椎骨異常、及び重度の胸骨分節配列異常）及び骨格変異数（第 13 肋骨）の増加も認められた。骨格異常（椎体異常及び重度の胸骨分節配列異常）が 150 mg/kg 群の 3 例（同腹児）に認められ、DRF 関連と判断された。50、150、及び 350 mg/kg 群の胚・胎児発育、50 及び 150 mg/kg 群の胚・胎児生存率、並びに 50 mg/kg 群の胎児形態には、DRF 投与の影響は認められなかった。

要約すると、350 mg/kg 群（瀕死、流産、体重減少、平均体重減少、平均摂餌量減少、及びそれに伴う排便減少）及び 150 mg/kg 群（母動物の体重増加量及び平均摂餌量の一過性減少）での所見に基づき、母動物毒性に対する無毒性量は 50 mg/kg であると判断された。150 mg/kg で骨格異常がみられたこと、350 mg/kg で着床後胚損失率が高く、それに伴い平均生存胎児数が減少したこと、骨格異常及び変異の発現率が増加したことに基づき、発生毒性に対する無毒性量は 50 mg/kg と判断された。

50 mg/kg（無毒性量）の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 6 倍／2 倍及び 2 倍／0.7 倍であった。非臨床試験では曝露がみられたものの、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の C_{max} での全身曝露比は無限大に近かった。RDC-8439 は、連続した定量値が 3 時点未満であったため、AUC 値を算出できなかった。血漿中濃度が定量限界未満であったため、ウサギ及びヒトにおける DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 5 及び M2.6.7.13B に示す。

6.7 ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

AT-5108-30（添付資料番号 4.2.3.5.3-1）

DRF 及びその代謝物の母動物（F0 雌）への全身曝露による母動物の妊娠時の着床から離乳まで、分娩及び授乳、並びに F1 世代の発育、生存性、発達及び生殖能に及ぼす影響を評価した。交配済み雌 Sprague Dawley ラット（各群 24 例）に DRF を 0（溶媒）、40、100、又は 400 mg/kg の用量で妊娠 6 日から分娩後 20 日まで（計 36～38 回）1 日 1 回強制経口投与した。分娩のない雌には、DRF を交配後 24 日まで計 19 回投与した。DRF 及びその代謝物（MMF、HES、及び RDC-8439）の TK 評価は、妊娠及び授乳ラット（対照群 4 例、各 DRF 投与群 8 例）で行い、離乳前期間中の出生児の血漿中濃度を測定した。

すべての F0 雌を分娩させ、分娩後 21 日まで出生児（F1 世代）を哺育させた。F1 同腹児数を標準化し、腹児間のばらつきを抑えるために、出生後 4 日に同腹児当たり 8 例（可能な場合は雌雄各 4 例）を無作為に選択した。発達の指標（亀頭包皮分離及び膣開口）について、無作為に選択した F1 出生児（同腹児当たり雌雄各 2 例）の身体的及び機能的発達を評価した。選択しなかった出生児を出生後 21 日に安楽死させ剖検した。選択した同腹児当たり雌雄各 2 例の出生児の雌雄各 1 例（可能な場合は n = 24）について行動検査を実施した。行動検査は出生後 60 日に聴覚性驚愕反応、出生後 61 日に自発運動、出生後 62 日から学習・記憶（Biel 水迷路）を評価した。選択した残りの同腹児当たり雌雄 1 例については発達指標の到達後に剖検した。行動検査用に選択した F1 出生児については、生殖機能評価を含む F1 動物の成熟評価を行った。各群の F1 動物（最大同腹児雌雄各 1 例）は、兄妹交配を避けて交配させた。交尾成立雌について、妊娠 13 日に子宮を摘出し、黄体数、着床数、吸収胚数、生存胚数、及び死亡胚数を記録した。最後の雌の剖検後にすべての雄を安楽死させ剖検した。

母動物（F0 雌）の評価項目は、一般状態、体重パラメータ、摂餌量、妊娠期間、分娩、並びに着床数及び着床不明部位数を含む剖検とした。F1 出生児の評価項目は、同腹児数、性別、一般状態、及び生存性、体重パラメータ、神経行動機能、性成熟、生殖能、並びに剖検とした。

F0 雌の所見

F0 雌の生存率への DRF に関連した影響は、いずれの用量でも認められなかった。また、DRF に関連する一般状態変化は、試験期間中の毎日の観察時及び投与後 0.25～1 時間に認められなかった。

対照群と比較して、400 mg/kg 群では妊娠期間の大部分（妊娠 6～20 日）で体重減少を示し、妊娠期間全体の平均体重増加量の減少が認められた。その結果、平均体重の減少（最大 12.6%）が妊娠 9～20 日に認められた。体重パラメータの所見は DRF に関連した有害作用であった。400 mg/kg 群では平均摂餌量の減少が対照群と比較して妊娠 6～9 日に認められ、DRF 関連と判断された。哺育期間中（分娩後 1～21 日）の 400 mg/kg 群の平均体重変化量は、対照群と同程度か高かった。分娩後 1 日の平均体重は対照群より 10%低かったが、残りの哺育期間（分娩後 4～21 日）は対照群と同程度であった。400 mg/kg 群の平均摂餌量は、授乳期間を通して対照群とおおむね同程度であった。

40 及び 100 mg/kg 群の平均体重、体重増加量及び摂餌量は、妊娠及び授乳期間中に DRF 投与の影響は認められなかった。

いずれの用量の F0 雌においても、妊娠期間及び分娩に DRF に関連した影響は認められなかった。また、いずれの群の F0 雌にも、剖検所見や平均着床数又は平均着床不明部位数に DRF に関連した影響は認められなかった。

F1 雌雄の所見

400 mg/kg 群の F1 雌雄の平均出生時（出生後 1 日）体重は対照群よりも約 10%低かった。この群の平均体重増加量は、出生後 1～10 日では対照群と同程度であったが、出生後 10～17 日では対照群よりも低かった。その結果、出生後 4～21 日の 400 mg/kg 群の F1 雌雄の平均体重は、対照群と比較して低かった（それぞれ最大 9.0%及び 8.7%）。体重の低値は低体長の一般状態変化と関連し、この群では対照群と比較して出生児数が多かった。出生後 1 日及び出生後 14～21 日の 400 mg/kg 群における出生児体重への影響は、DRF に関連した有害作用と判断された。40 及び 100 mg/kg 群の F1 出生児の平均体重及び体重増加量に、F0 母動物への DRF 投与の影響は認められなかった。

F1 出生児の平均出生児数、生存児数、出生時の雄の割合及び剖検所見に対して DRF に関連した影響は、いずれの用量でも認められなかった。また、F1 出生児の発達指標（亀頭包皮分離及び膣開口）及び神経行動評価（驚愕反応、自発運動、学習、及び記憶）に DRF に関連した影響は認められなかった。生存率及び一般状態に対する DRF に関連した影響は認められなかった。400 mg/kg 群の出生児体重に DRF に関連した影響に起因する同腹児全死亡を除き、出生後の生存率に DRF に関連した影響は認められなかった。

離乳後期間（雄は出生後 21～112 日、雌は出生後 21～84 日）、400 mg/kg 群の F1 雌雄における平均体重増加量は対照群と同程度であった。しかし、400 mg/kg 群の雌雄における平均体重は、出生後 21～84 日（雌）及び出生後 21～56 日（雄）で、対照群よりも低いままであった（それぞれ最大 7.5%及び 8.8%）。同様に、妊娠中の 400 mg/kg 群の F1 雌の平均体重増加量は対照群と同程度であったが、平均体重は対照群よりも 4.7%～6.1%低かった。400 mg/kg 群の F1 雌雄におけるこれらの体重減少は、離乳前における体重増加量減少の結果であり、母動物への DRF 投与に関連すると考えられた。40 及び 100 mg/kg 群の離乳後期間（F1 雌の妊娠期間を含む）の F1 の平均体重及び体重増加量に、母動物への DRF 投与の影響は認められなかった。

F1 生殖エンドポイント（交尾成立日数、性周期長、交尾率、受胎率、及び妊娠率）、黄体数、着床、及び F2 胚生存率に、F0 母動物への DRF 投与の影響は認められなかった。DRF に関連する剖検所見は、いずれの用量の F1 雌雄にも認められなかった。

離乳前期間（出生後 4 及び 10 日）では、いずれの用量においても F1 出生児に DRF、MMF、及び RDC-8439 は測定されなかった。HES は F1 出生児の両試料採取日で測定可能であり、出生後 4 日（投与後 2 時間の試料採取）及び出生後 10 日（投与後 0.75 及び 2 時間の試料採取）における出生児濃度は F0 雌のそれぞれ約 2%～6%及び約 0.2%～3%であった。

要約

F0 妊娠ラットに DRF を妊娠 6 日から分娩後 20 日まで経口投与した結果、400 mg/kg 群で平均体重、体重増加量、及び摂餌量の低値が認められた。また、400 mg/kg 群の F1 動物では、平均出生児体重の低値並びに離乳前期間の体重及び体重増加量が低く、離乳後も低いままであった（F1 雌の妊娠中を含む）。これらの結果に基づき、F0 母動物の全身毒性及び F1 出生後発生毒性に対する無毒性量は 100 mg/kg と判断された。100 mg/kg の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露値のそれぞれ 11 倍／3 倍及び 4 倍／1.1 倍であった。非臨床試験では曝露がみられたが、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の C_{max} での全身曝露比は無限大に近かった。連続した定量値が 3 時点未満であったため、RDC-8439 の AUC 値は算出できなかった。

F1 生存率及び離乳後の体重増加量、F1 出生児の性成熟、驚愕反射、自発運動、学習、及び記憶を含む神経行動機能、性周期を含む生殖能、並びに F2 胚生存率に影響は認められなかった。したがって、F1 出生児の離乳後の発達、行動、及び生殖機能に対する無毒性量は 400 mg/kg と判断された。400 mg/kg の DRF を反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD における臨床曝露量のそれぞれ 17 倍／10 倍及び 6 倍／3 倍であった。非臨床試験で曝露がみられたものの、臨床試験では測定可能な曝露がみられなかったため、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

F0 及び F1 ラットにおいて血漿中 DRF はいずれの用量及び測定日でも測定されず、ヒトにおける DRF 曝露は測定可能ではなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 5 及び M2.6.7.14 に示す。

6.8 幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験

AT-5108-38（添付資料番号 4.2.3.5.4-1）

雌雄幼若 Sprague Dawley ラット（各群雌雄各 50 例）に DRF を 0（溶媒）、60、150、又は 600 mg/kg の用量で 6 週間（出生後 25～63 日）反復経口投与して毒性を評価した。投与群の動物（各群雌雄各 10 例）は、投与期間終了後（出生後 64 日）に安楽死させ、回復群の動物（各群雌雄各 20 例）は、6 週間の休薬期間後（出生後 100 日）に安楽死させた。別の 1 群の動物（各群雌雄各 20 例）を交配させ、雌雄の受胎率を評価するために、雄は出生後 130～137 日に、雌は妊娠 15 日に安楽死させた。評価項目は、瀕死状態／死亡、一般状態、体重、摂餌量、性周期、生殖能及び交配結果（交尾率及び受胎率）、発達指標、神経行動、眼科学的検査、臨床検査（血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査、及び尿検査）、末梢血イムノフェノタイピング、精子検査、大腿骨長及び骨密度測定、器官重量、剖検、並びに病理組織学的検査とした。TK 評価は、同じ投与レジメンのサテライト動物（対照群：雌雄各 9 例、各 DRF 投与群：雌雄各 21 例）を用いて出生後 25 及び 63 日に行った。

生存率、神経行動（聴覚性驚愕反応、自発運動、学習、及び記憶）、生殖能（雌雄の受胎能及び交尾率、雄の交尾率、雌の受胎率、性周期及び周期長、交配所要日数）、精子運動性、精子数、精子形態、眼科学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査、及び剖検所見に DRF に関連した影響は認められなかった。

DRF に関連した影響は主に高用量（600 mg/kg/日）群で認められ、これらの所見の性質及び範

囲から、これらの動物の全身健康状態への影響が示唆されたため、大部分は毒性と判断された。

600 mg/kg/日群では、対照群と比較して、投与期間（出生後 25～63 日）を通して雌雄に摂餌量の有意な低下を伴った体重増加量の低値が認められた。その結果、投与期間中の雌雄の平均体重は、対照群よりもそれぞれ最大 7.9%及び 10.5%低かった。休薬期間終了時でも、雄の平均体重は有意に低かった（−6%）。600 mg/kg/日群の雌における膣開口の平均日齢は対照群よりも 3.6 日遅く、膣開口時の平均体重は対照群よりも 12.4%高かった。この変化は DRF 投与に関連すると考えられ、少なくとも一部は雌の発育遅延によるものであり、性成熟に対する特異的な影響ではないと考えられた。投与期間終了後（出生後 64 日）では、600 mg/kg/日群の雄に、対照群と比較して骨サイズ［大腿骨長（−3%）及び大腿骨遠位部総スライス面積（−15%）］の減少が認められ、大腿骨遠位部骨幹端の骨量減少（−16%）を伴った。これは体重減少と一致したことから、消化管への影響による栄養障害に関連したものと推定された。また、600 mg/kg/日群の雄（骨幹中央部）及び雌（骨幹中央部及び遠位骨幹端の両方）では、骨量及び骨密度の減少（−9%～−24%）並びに骨幹中央部の骨形態の変化がみられ、骨への直接作用も示唆された。休薬期間終了時には、骨サイズ、骨量、骨密度、及び骨形態の変化は完全に回復した。病理組織学的検査では、関連する骨変化は認められなかった。

600 mg/kg/日群では、対照群と比較して、投与期間終了時（出生後 64 日）に雌雄で平均尿中ナトリウム、カリウム、クロール、カルシウム、クレアチニン、リン、及び浸透圧の低下が認められた。また、600 mg/kg/日群の雌では毒性ではないリンパ球数（対照群に対して+28.3%）の増加、雄（対照群に対して約+30%）及び雌（対照群に対して約+50%）では総 T リンパ球、ヘルパーT リンパ球、及び細胞傷害性 T リンパ球の増加が認められた。これらの変化は 6 週間の休薬期間終了後（出生後 100 日）に完全に回復した。

600 mg/kg/日群での病理組織学的変化は腎臓及び胃に認められた。投与群の剖検では、雌雄に腎臓重量の増加がみられ、これに伴って近位曲尿細管細胞の肥大が認められた。回復群の剖検では、雌雄に腎臓重量の増加が依然として認められたが、雌では尿細管細胞肥大はみられず、雄では重症度の低下が認められたため、腎臓の所見は部分的に回復した。投与群の雌雄の前胃に扁平上皮過形成が認められ、炎症（雄 1 例）又はびらん（雌 1 例）が単発的に認められた。回復群では、雄に扁平上皮過形成が依然として認められたが、発現率及び重症度ははるかに低く、雌では胃の所見は完全に回復した。投与群の雄に胸腺重量の減少が認められたが、関連する病理組織学的所見はみられず、回復群の剖検時では認められなかった。

中用量（150 mg/kg/日）及び低用量（60 mg/kg/日）で認められた DRF 関連所見は、いずれも発現率が低く、軽度で、変動は小さかったことから、毒性ではないと考えられた。150 mg/kg/日群の雌雄では、全般に、投与期間を通して平均体重増加量の軽度な減少（雄）又は散発的な減少（雌）及びそれに伴う平均摂餌量の軽度な減少が認められ、その結果、雄の平均体重は対照群より 4.1%低かったが、雌の体重は対照群とおおむね同程度であった。150 mg/kg/日群の雄における統計学的に有意な大腿骨遠位部の総スライス面積の軽微な減少（対照群と比較して−14%）は、総及び皮質／皮質下骨塩量の軽微な減少（−8%～−9%）を伴い、これらの動物における体重減少と一致した。体重及び骨の変化は休薬期間終了後には認められなかった。投与群の剖検では、DRF に関連した腎臓相対重量の増加が 60 及び 150 mg/kg/日群の雌雄に認められ、150 mg/kg/日群では尿細管細胞肥大を伴った。休薬期間終了後の剖検でも、腎臓重量の増加は 150 mg/kg/日群の雌雄に認められ

たが、関連する病理組織学的所見は認められなかった。

結論として、出生後 25 日から 63 日まで幼若ラットに 60、150、及び 600 mg/kg/日の用量で DRF を毎日経口投与した結果、600 mg/kg/日群で複数の評価項目で毒性所見が認められたが、150 及び 60 mg/kg/日群における影響は限定的で、毒性所見ではなかった。600 mg/kg/日群では、体重／体重増加量／摂餌量の減少、発育遅延による雌の膣開口の遅延、雌のリンパ球数の軽度増加、雌雄の総 T 細胞数、ヘルパーT 細胞数、及び細胞傷害性 T 細胞数の軽度増加、尿検査値の変化、大腿骨サイズ、骨量、及び骨密度の減少、骨形状の変化、病理組織学的所見の腎尿細管細胞肥大並びにそれに関連する腎臓重量の増加及び前胃の扁平上皮過形成などの影響が認められた。150 mg/kg/日以下の DRF の影響は、150 mg/kg/日群での軽度及び／又は散発的な体重／体重増加量の減少のみであり、150 mg/kg/日群では雄で大腿骨遠位部の総スライス面積及び骨量の軽微な減少、60 及び 150 mg/kg/日群で腎臓重量の増加、並びに 150 mg/kg/日群の雌雄で尿細管細胞肥大を伴った。DRF の投与により、血液生化学的検査、血液凝固検査、眼科学的検査、神経行動検査、精子運動性／精子数／精子形態、性周期、及び性周期長、並びに生殖能及び交配結果に影響は認められなかった。本試験の条件下で、幼若ラットに出生後 25 日から 63 日まで 1 日 1 回経口投与したときの無毒性量は 150 mg/kg/日と判断された。無毒性量の出生後 63 日における MMF 及び HES の曝露量（C_{max} 及び AUC）は、MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 6 倍以上／1.4 倍以上及び 4 倍以上／1.5 倍以上であった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 5 及び M2.6.7.15A に示す。

表 5　　DRF の生殖発生毒性試験における特記すべき所見及び曝露データの要約

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/Route of Admin/ Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF at NOAEL/ MTD [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES at NOAEL/MTD [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
Fertility and Reproduction in Male Rats (AT-5108-19/ 4.2.3.5.1-1)	Rat/PO/ 0, 40, 120, 400 mg/kg	NOAEL (male systemic toxicity) = 120 mg/kg	11900 (M)/ 8040 (M)	2 (M)/ 5 (M)	287000 (M)/ 32000 (M)	1.3 (M)/ 3 (M)/
		NOAEL (male reproductive toxicity) = 400 mg/kg: Early death in 1 M with uncertain relationship to DRF; red and/ or clear material around the mouth, ↓body weight, ↓body weight gain, and ↓food consumption considered adverse	44800 (M)/ 23900 (M)	7 (M)/ 15 (M)	813000 (M)/ 63000 (M)	4 (M)/ 6 (M)
Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Female Rats (AT-5108-20/ 4.2.3.5.1-2)	Rat/PO/ 0, 40, 120, 450 mg/kg	NOAEL (systemic toxicity) = 120 mg/kg ↓body weight gain in premating period (non-adverse)	18000 (F)/ 23300 (F)	3 (F)/ 14 (F)	287000 (F)/ 32000 (F)	1.3 (F)/ 3 (F)
		NOAEL (reproductive and early embryonic development) = 450 mg/kg Clinical observations of red and clear material around the mouth generally throughout the treatment period; ↑dose expulsion and difficulty during dose administration; body weight loss, ↓body weight, and ↓food consumption considered adverse	55800 (F)/ 37200 (F)	9 (F)/ 23 (F)	905000 (F)/ 69000 (F)	4 (F)/ 6 (F)
Dose Range-Finding Embryofoetal Development Study in Rats (AT-5108-17/ 4.2.3.5.2-1)	Rat/PO/ 0, 100, 200, 400, 600 mg/kg	100 mg/kg: No noteworthy findings	18600 (F)/ 27100 (F)	3 (F)/ 17 (F)	243000 (F)/ 29000 (F)/	1.1 (F)/ 3 (F)
		200 mg/kg: Maternal findings: red and/or clear material around the mouth and ↓food consumption	37000 (F)/ 38700 (F)	6 (F)/ 24 (F)	446000 (F)/ 42000 (F)	2 (F)/ 4 (F)
		400 mg/kg: Maternal findings: red and/or clear material around the mouth; body weight loss, ↓body weight, ↓body weight gain, ↓net body weight, and ↓net body weight gain; ↓food consumption Foetal findings: ↓foetal body weight	63600 (F)/ 68500 (F)	10 (F)/ 42 (F)	813000 (M)/ 63000 (M)	4 (F)/ 6 (F)
		600 mg/kg: Same maternal and foetal findings as at 400 mg/kg	93100 (F)/ 64600 (F)	14 (F)/ 40 (F)	1180000 (F)/ 84300 (F)	5 (F)/ 8 (F)

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/Route of Admin/ Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF at NOAEL/ MTD [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES at NOAEL/MTD [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
Embryofoetal Development in Rats (AT-5108-21/ 4.2.3.5.2-2)	Rat/PO/ 0, 40, 100, 400 mg/kg	NOAEL (maternal and EFD toxicity) = 100 mg/kg	14200 (F)/ 18000 (F)	2 (F)/ 11 (F)	352000 (F)/ 42600 (F)	2 (F)/ 4 (F)
		400 mg/kg: Maternal findings: red and/or clear material around the mouth; body weight loss, ↓body weight, ↓body weight gain, and ↓net body weight gain; and ↓food consumption Foetal findings: ↓mean foetal body weight (F and combined sex data) that correlated with ↑mean litter incidences of skeletal developmental variations (reduced ossification of the skull and vertebral arches)	63100 (F)/ 32300 (F)	10 (F)/ 20 (F)	1180000 (F)/ 102000 (F)	5 (F)/ 9 (F)
Dose Range-Finding Embryofoetal Development Study in Rabbits (AT-5108-18/ 4.2.3.5.2-3)	Rabbit/PO/ Nonpregnant: 50, 200, 500 mg/kg	50 mg/kg: Well tolerated	11300 (F)[e] / 9820 (F)[e]	2 (F)/ 6 (F)	155000 (F)[e] / 24600 (F)[e]	0.7 (F)/ 2 (F)
		200 mg/kg: Well tolerated	47300 (F)[e] / 32500 (F)[e]	7 (F)/ 20 (F)	508000 (F)[e] / 69000 (F)[e]	2 (F)/ 6 (F)
		500 mg/kg: All animals euthanised after 8 doses due to ↓food consumption, body weight loss, and ↓defaecation	>87700[f] (F)[e] / >60700[f] (F)[e]	>14 (F)/ >37 (F)	>1030000[f] (F)[e] / >135000[f] (F)[e]	>5 (F)/ >12 (F)
Dose Range-Finding Embryofoetal Development Study in Rabbits (AT-5108-18/ 4.2.3.5.2-3)	Rabbit/PO/ Pregnant: 0, 50, 100, 200, 350 mg/kg	50 mg/kg: No noteworthy findings	14300 (F)/ 13500 (F)	2 (F)/ 8 (F)	155000 (F)[e]/ 24600 (F)[e]	0.7 (F)/ 2 (F)
		100 mg/kg: No noteworthy findings	21500 (F)/ 17800 (F)	3 (F)/ 11 (F)	288000 (F)[e]/ 41500 (F)[e]	1.3 (F)/ 4 (F)
		200 mg/kg: ↓maternal body weight gain (transient)	63000 (F)/ 45800 (F)	10 (F)/ 28 (F)	508000 (F)[e]/ 69000 (F)[e]	2 (F)/ 6 (F)
		350 mg/kg: ↓maternal body weight and ↓food consumption; ↑post-implantation loss and ↓viable fetuses from 1 animal	88700 (F)/ 55900 (F)	14 (F)/ 35 (F)	1030000 (F)[e]/ 135000 (F)[e]	4 (F)/ 12 (F)

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/Route of Admin/ Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF at NOAEL/ MTD [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES at NOAEL/MTD [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
Embryofoetal Development in Rabbits (AT-5108-22/ 4.2.3.5.2-4)	Rabbit/PO/ 0, 50, 150, 350 mg/kg	NOAEL (maternal and EFD toxicity) = 50 mg/kg	11300 (F)/ 9820 (F)	2 (F)/ 6 (F)	155000 (F)/ 24600 (F)	0.7 (F)/ 2 (F)
		150 mg/kg: Maternal findings: ↓ mean body weight gain and ↓ food consumption Foetal findings: skeletal malformations (vertebral centra anomaly and severely malaligned sternebra[e])	40600 (F)/ 27600 (F)	6 (F)/ 17 (F)	421000 (F)/ 57900 (F)	2 (F)/ 5 (F)
		350 mg/kg: Maternal findings: 3 F euthanised in extremis GD 14-18; 1 (F) aborted GD 20; ↓ defaecation; body weight loss, ↓ body weight, and ↓ body weight gain; ↓ food consumption; ↑ mean litter proportion of post-implantation loss with ↓ mean litter proportion of viable fetuses Foetal findings: skeletal malformations (vertebral centrum anomaly, vertebral anomaly with associated rib anomaly, and severely malaligned sternebra[e]) and skeletal variations (thirteenth full rib[s])	87700 (F)/ 60700 (F)	14 (F)/ 37 (F)	1030000 (F)/ 135000 (F)	5 (F)/ 12 (F)
Prenatal and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats (AT-5108-30/ 4.2.3.5.3-1)	Rat/PO/ 0, 40, 100, 400 mg/day	100 mg/kg: NOAEL for F_0 maternal and F_1 neonatal/developmental toxicity	17900 (F)/ 18300 (F)	3 (F)/ 11 (F)	246000 (F)/ 43500 (F)	1.1 (F)/ 4 (F)
		400 mg/kg: NOAEL for F_1 postweaning development, behaviour, and reproductive function F_0 maternal findings: ↓ body weights, ↓ body weight gains, ↓ food consumption during the gestation period (GD 6-20); ↓ body weight on LD 1 of the lactation period (LD 1-21) F_1 pup findings: ↓ birth weights and small stature, ↓ body weights on PND 14-21, and ↓ body weight gains on PND 10-17; ↓ body weight on PND 21-56 (M) and PND 21-84 (F) of the postweaning period	63000 (F)/ 27000 (F)	10 (F)/ 17 (F)	622000 (F)/ 70600 (F)	3 (F)/ 6 (F)

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/Route of Admin/ Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF at NOAEL/ MTD [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES at NOAEL/MTD [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
6-Week Oral Juvenile Toxicity with 6-Week Recovery (AT-5108-38/ 4.2.3.5.4-1)	Rat/PO/ 0, 60, 150, 600 mg/kg	60 mg/kg: ↑ kidney relative weight Kidney weight changes resolved following recovery period.	5760 (M)/ 8020 (M) 4790 (F)/ 7870 (F)	0.9 (M)/ 5 (M) 0.7 (F)/ 5 (F)	199000 (M)/ 32200 (M)/ 145000 (F)/ 20700 (F)	0.9 (M)/ 3 (M) 0.6 (F)/ 1.9 (F)
		NOAEL = 150 mg/kg ↓ Body weight gain, ↓ food consumption, ↓ distal femur total slice area and bone mass, ↑ kidney weight, renal tubule cell hypertrophy All the findings fully resolved following recovery period, except for the kidney weight that were partially resolved.	9250 (M)/ 10500 (M) 14500 (F)/ 18100 (F)	1.4 (M)/ 6 (M) 2 (F)/ 11 (F)	400000 (M)/ 45900 (M) 335000 (F)/ 50900 (F)	1.8 (M)/ 4 (M) 1.5 (F)/ 5 (F)
		600 mg/kg: Non-adverse findings: clear material around mouth in at 0.25-1 hour after dosing, ↑ absolute lymphocytes (F), total T, T helper, and T cytotoxic lymphocytes, ↓ thymic weight (M). Adverse effects on growth: ↓ body weight gain/body weight, ↓ food consumption, later vaginal opening attainment (F), ↓ femur size (M), mass, density, and changes in bone geometry. Adverse renal effects: urine ↓ sodium, ↓ potassium, ↓ chloride, ↓ calcium, ↓ creatinine, ↓ phosphorus, ↓ osmolality, ↑ kidney weight, renal tubule cell hypertrophy. Renal weight and pathology partial reversibility following recovery period. Adverse GI effects: squamous epithelial hyperplasia of the nonglandular stomach, with single instances of inflammation (M) or erosion (F). Histopathology in the stomach fully (F) or partially (M) reversed following recovery period.	56100 (M)/ 20900 (M) 39600 (F)/ 28600 (F)	9 (M)/ 13 (M) 6 (F)/ 18 (F)	1750000 (M)/ 171000 (M) 1140000 (F)/ 143000 (F)	8 (M)/ 16 (M) 5 (F)/ 13 (F)

Admin = administration; AUC = area under the concentration-time curve; BID = bis in die; C_{max} = maximum observed concentration; DRF = diroximel fumarate; EFD = embryo-foetal development; F = female; F_0 = parental generation; F_1 = first generation; GD = gestation day; GI = gastrointestinal; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; LD = lactation day; M = male; MMF = monomethyl fumarate; MTD = maximum tolerated dose; NOAEL = no observed adverse effect level; PK = pharmacokinetic; PND = postnatal day; PO = per os.

[a] AUC (reported as AUC_{last} or AUC_{0-24h}) and C_{max} for MMF and HES were calculated from plasma concentrations on the last day of dosing for all studies except for Study AT-5108-30 (M4.2.3.5.3-1) (LD 10), or they were estimated from a bridging PK study with DRF in rats (AT-5108-27 / M4.2.2.2-3) or from Study AT-5108-22 (M4.2.3.5.2-4) in rabbits.

[b] Clinical exposure parameters for MMF were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 BID) mg/day of DRF; AUC_{0-24h} and C_{max} values were 6470 ng*h/mL and 1620 ng/mL, respectively.

[c] Clinical exposure parameters for HES were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 BID) mg/day of DRF; AUC_{0-24h} and C_{max} values were 227,000 ng*h/mL and 11,000 ng/mL, respectively.

[d] Plasma concentrations of HES were not measured in toxicology studies conducted before the validated HES analytical method was available. In studies where HES was not measured, systemic exposure parameters for HES were estimated by linearly extrapolating the AUC and C_{max} values using data from a bridging PK study with DRF in rats (AT-5108-27 / M4.2.2.2-3).

[e] MMF and HES AUC and C_{max} values were estimated from the systemic exposures in Study AT-5108-22 (M4.2.3.5.2-4).

[f] In Study AT-5108-18 (M4.2.3.5.2-3) (tolerability phase in nonpregnant rabbits), MMF and HES exposures were not measured, but were estimated by linear extrapolation of AUC and C_{max} values from Study AT-5108-22 (M4.2.3.5.2-4) where HES was measured. The highest dose of DRF evaluated in Study AT-5108-18 (M4.2.3.5.2-3) was greater than the highest dose evaluated in Study AT-5108-22 (M4.2.3.5.2-4); therefore, a greater than (>) symbol was used to indicate the projected exposure for MMF and HES in Study AT-5108-18 (M4.2.3.5.2-3) was presumed to be higher than the observed exposure in Study AT-5108-22 (M4.2.3.5.2-4).

7 局所刺激性試験

反復投与毒性試験（3 項）で、ラット及びサルに DRF の原薬を経口投与したときの消化管局所忍容性を評価した。DRF を下部消化管に送達することを目的とした徐放製剤もサルで評価した［AT-5108-24 試験］（添付資料番号 4.2.3.6-1）。この製剤は臨床開発を目的としていないが、この GLP 適用試験の結果を以下に報告し、要約を表 6 及び M2.6.7.16 に示す。

7.1 サルを用いた DRF 徐放製剤の 2 週間反復経口投与局所刺激性試験及び 2 週間回復性試験

AT-5108-24（添付資料番号 4.2.3.6-1）

本試験では、カニクイザル（対照、中用量及び高用量群：雌雄各 5 例、低用量群：雌雄各 3 例）に DRF 徐放製剤を 2 週間経口カプセル投与したときの消化管毒性を評価した。DRF の 0（プラセボ対照をミニタブレットに含まれる高用量の添加剤と同量含む；2 カプセル/日）、125 mg/日（1 カプセル/日）、375 mg/日（1 カプセル/日）、又は 840 mg/日（2 カプセル/日）を DRF 徐放性ミニタブレットとしてサルに投与した。高用量の 840 mg/日は、試験実施施設の動物実験委員会に従って毎日投与可能なカプセルの最大数及びサイズに基づき、投与可能な最大量と考えられた。14 日間投与後に各群雌雄各 3 例を剖検し、対照、中用量、及び高用量群の雌雄各 2 例を 14 日間の休薬期間を設けて、観察された変化の可逆性を評価した。死亡、一般状態、体重パラメータ、摂餌量、臨床検査、器官重量、及び消化管の病理組織学的検査に基づいて毒性評価した。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK 評価は Day 1 及び 14 に行った。本試験では HES（代謝物）の曝露量を測定せず、DRF 原薬を用いて実施した他のサル試験からも推定できなかった。

すべての動物が計画剖検まで生存し、一般状態、体重、摂餌量、臨床検査（下記を除く）、器官重量、剖検、及び病理組織学的パラメータに DRF に関連した影響は認められなかった。

375 及び 840 mg/日の雌の Day 15 に軽度の赤血球量減少が認められ、DRF に関連すると考えられた。この変化は可逆的であり、重症度が低く、関連する病理組織的所見がみられなかったことから、毒性ではないと判断された。

要約すると、カニクイザルに DRF の徐放性ミニタブレット製剤を経口投与した結果、125、375、及び 840 mg/日の用量で毒性所見は認められなかった。したがって、DRF の無毒性量は 840 mg/日であり、この用量の Day 14 における MMF の $AUC_{0\text{-}24h}$ は雄で 6280 ng*h/mL 及び雌で 12300 ng*h/mL、C_{max} は雄で 484 ng/mL 及び雌で 831 ng/mL であった。血漿中濃度が定量下限未満であったため、DRF 及び RDC-8439 の曝露量は算出できなかった。本試験の曝露量パラメータを表 6 及び M2.6.7.16 に示す。

表 6　　DRF の局所刺激性試験の特記すべき所見及び曝露データの要約

Study Type and Duration (Study Reference Number / Location in CTD)	**Species/Route of Admin/ Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF at NOAEL [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[c] of HES at NOAEL [AUC (ng*h/mL)/ C_{max} (ng/mL)]**	**HES Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
2-Week Local Tolerance with an Extended-Release Formulation of DRF with 2-Week Recovery (AT-5108-24/ 4.2.3.6-1)	Monkey/PO/ 0, 125, 375, 840 mg/day	NOAEL = 840 mg/day ↓ red cell mass in F (mild, reversible, and non-adverse)	6280 (M)/ 484 (M) 12300 (F)/ 831 (F)	1 (M)/ 0.3 (M) 2 (F)/ 0.5 (F)	NM[c]	N/A

Admin = administration; AUC = area under the concentration-time curve; BID = bis in die; C_{max} = maximum observed concentration; DRF = diroximel fumarate; F = female; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; M = male; MMF = monomethyl fumarate; N/A = not applicable; NM = not measured; NOAEL = no observed adverse effect level; PO = per os.

[a] AUC_{0-24h} and C_{max} were calculated from plasma concentration on last day of dosing.

[b] Clinical exposure parameters for MMF were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 BID) mg/day of DRF; AUC_{0-24h} and C_{max} values were 6470 ng*h/mL and 1620 ng/mL, respectively.

[c] HES exposure could not be estimated; no monkey studies were conducted with the extended-release formulation of DRF following availability of a validated bioanalytical assay for HES.

8 その他の毒性試験

DRF の承認申請を裏付けるためにその他の非臨床試験を実施した。それらは、DMF 投与後の多発性硬化症（MS）患者に認められたリンパ球減少症の発現機序に関する検討の一部として実施した DMF の 3 試験（［P00012-15-05 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.3-1）、［PD15-73 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.3-2）、及び［RSCH-2018-30 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.3-3））、依存性評価（［P00012-13-04 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.4-1）、［P00012-13-07 試験］（テクフィデラ申請資料）、及び［P00012-14-01 試験］（テクフィデラ申請資料））、並びにラットを用いた不純物の安全性確認試験［AT-5108-25 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.6-1）であった。また、光安全性評価のために DRF 及びその代謝物の in vitro 紫外可視吸光度スペクトルを測定した［702-08693 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.7-1）。

AT-5108-25 試験では、DRF、MMF、及び RDC-8439 の TK 解析を行った。HES ではバリデートされた生体試料中濃度分析法が利用できなかったため、ラットにおける DRF のブリッジング PK 試験［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）からこの代謝物の曝露量を推定した（M2.6.4.3）。

P00012-15-05 試験（添付資料番号 4.2.3.7.3-1）、PD15-73 試験（添付資料番号 4.2.3.7.3-2）、RSCH-2018-30 試験（添付資料番号 4.2.3.7.3-3）、P00012-13-04 試験（添付資料番号 4.2.3.7.4-1）P00012-13-07 試験（テクフィデラ申請資料）、P00012-14-01 試験（テクフィデラ申請資料）、及び AT-5108-25 試験（添付資料番号 4.2.3.7.6-1）の概要を以下に示し、表 10 及び M2.6.7.17 に概要表を示す。

8.1 毒性発現の機序に関する試験

8.1.1 DMF 及びヒドロキシ尿素のサルを用いた 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験

P00012-15-05（添付資料番号 4.2.3.7.3-1）

カニクイザルに DMF 及びヒドロキシ尿素（HU）を 1 日 1 回 91 日間以上反復併用経口投与（経鼻胃管挿管）したときの毒性及び TK プロファイルを評価した。これまで、DMF は、HU が現在の標準治療である鎌状赤血球症の患者集団に対する治療薬として評価されていた。

サル（各群雌雄各 4 例）に、溶媒対照［DMF 溶媒（脱イオン水中 0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース）］、25 mg/kg/日（DMF）、60 mg/kg/日（HU）、5/60 mg/kg/日（DMF/HU）、及び 25/60 mg/kg/日（DMF/HU）を投与した。HU 単独の溶媒は脱イオン水とした。また、MMF 及び HU の末梢血中 TK プロファイルを評価した。92～93 日間反復投与後、MMF 濃度の骨髄評価を最適化するため、最終投与後約 3～6 時間に動物を安楽死させた。

安全性評価項目は、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図検査、心拍数、臨床検査（血液学的、血液生化学的、血液凝固、及び尿検査）、剖検、器官重量、及び病理組織学的検査とした。その他、特定の白血球サブセット［総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞、B 細胞、ナチュラルキラー（NK）細胞、及び単球］のイムノフェノタイピング（フローサイトメトリー）、全血中胎児ヘモグロビン及びその他の変異ヘモグロビンの解析、特定のマトリックス［末梢血単核細胞（PBMC）、腎臓、空腸、脾臓、腸間膜リンパ節、骨髄、肝臓、大脳皮質、及び頸髄］

の組織遺伝子発現プロファイリング、骨髄 MMF、及びγグロビンメッセンジャーリボ核酸（mRNA）レベル解析も評価した。

血液凝固検査、血液生化学的検査、尿検査、イムノフェノタイピング（総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞、B 細胞、NK 細胞、及び単球サブセット）、心電図、及び眼科学的検査には、DMF 及び HU に関連した影響は認められなかった。一般状態、血液学的検査、剖検、器官重量、及び病理組織学的検査に DMF 投与に関連した影響は認められなかった。

試験中に雄 2 例を切迫と殺した。60 mg/kg/日（HU）群の雄 1 例を Day 22 に安楽死させ、5/60 mg/kg/日（DMF/HU）群の雄 1 例を Day 78 に安楽死させた。いずれの動物にも消化管に関連する一般状態変化が認められ、脱水及び体重減少が認められた。いずれの動物も、安楽死させる前に、フードサプリメント、電解質、乳酸リンゲル液、抗生物質、及び下痢の治療を受けた。剖検では、いずれの動物も腸重積と診断された［60 mg/kg/日（HU）群の雄は結腸重積、5/60 mg/kg/日（DMF/HU）群の雄は空腸重積］。病理組織学的検査では、60 mg/kg/日（HU）群の雄は、結腸及び盲腸の消化管切片に他の病理組織学的変化を伴う結腸重積と診断された。5/60 mg/kg/日（DMF/HU）群の雄には、結腸内に軽度の炎症が認められた。その他の重要な剖検所見として、胸腺小型化が両動物に、脾臓小型化が 60 mg/kg/日群の雄に認められた。両動物の糞便培養から採取した試料では、カンピロバクター及びヘリコバクター・ピロリが陽性であった。これらは一般状態の変化の原因と考えられ、HU の免疫抑制作用に起因する可能性があると考えられた。病理組織学的に腸重積が認められたのは 1 例のみであったが（60 mg/kg/日［HU］群の雄）、その他の消化管の病理組織学的所見、2 例の腸重積の剖検所見及び関連する消化管症状が安楽死の原因と考えられた。過去の試験では、カニクイザルに HU を 40、80、及び 160 mg/kg/日の用量で 1 週間（7 日間）ごとに漸増して反復投与した。HU の 2 つの高用量（80 及び 160 mg/kg/日）は本試験での HU の用量（60 mg/kg/日）を上回っているが、死亡は認められなかった。したがって、HU 投与は早期安楽殺に直接関連していないと推定された。また、これらの早期安楽死は DMF にも関連していないと考えられた。

体重に明らかな DMF 及び HU 関連の影響は認められなかった。しかし、60 mg/kg/日（HU）群及び 5/60 mg/kg/日（DMF/HU）群の雌雄の複数例に、食欲不振の発現率増加と関連した体重減少及び全身状態悪化のため、フードサプリメントを与えた。サプリメント供与が体重変化の程度に影響したか又は影響がマスクされた可能性がある。

計画剖検まで生存した動物では、HU に関連した一般状態変化として、5/60 mg/kg/日（DMF/HU）群の雌 1 例に皮膚弛緩の発現率増加、5/60 mg/kg/日（DMF/HU）群の雌雄、並びに 60 mg/kg/日（HU）群及び 25/60 mg/kg/日（DMF/HU）群の雌に削痩が認められた。

計画剖検まで生存した残りの動物では、試験期間を通して血液学的変化が HU 投与群全例の赤血球系コンパートメント内に認められ、ある程度の貧血が裏付けられた。貧血を裏付けたパラメータの変化は、平均赤血球数、ヘモグロビン、及びヘマトクリットの統計学的に有意な減少、並びに MCV、赤血球分布幅、MCH、及び平均ヘモグロビン分布幅の統計学的に有意な増加が認められた。

病理組織学的検査では、HU に関連した変化として、胸腺内リンパ球減少が認められた。胸腺リンパ球減少（軽微～重度）の発現率及び／又は重症度の増加が、対照群（軽微～軽度）と比較して 6 mg/kg/日（HU）、5/60 及び 25/60 mg/kg/日（DMF/HU）群の雌雌に認められ、60 mg/kg/日

（HU）群の雌雄の発現率及び／又は重症度が最も高かった。リンパ球減少の所見は、60 mg/kg/日（HU）群及び 5/60 mg/kg/日（DMF/HU）群に認められた胸腺小型化の剖検所見と関連した。

MMF 及び HU の全身曝露がすべての投与動物に認められた。MMF の曝露量は、すべての評価日で MMF の用量が 5 mg/kg から 25 mg/kg に増加したとき、おおむね用量に比例して増加した。MMF 及び HU のいずれも、曝露量に明らかな性差はみられなかった。MMF 及び HU のいずれも、Day 28、56 及び 83 の曝露量は Day 0（初回投与日）の曝露量とおおむね同程度であり、平均蓄積比（$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max}）はおおむね 0.5～2 の範囲にあった。MMF の最高濃度到達時間（T_{max}）はおおむね投与後 0.25～0.5 時間であった。HU の T_{max} はおおむね投与後 0.5～2 時間であった。全体として、MMF 及び HU の TK プロファイルに DMF と HU の併用投与による明らかな影響は認められなかった。

投与後 3 時間に骨髄中に MMF が検出されたが、投与後 6 時間には骨髄中 MMF はほぼ消失したことから、末梢血中 MMF の TK パターンと類似していた。

DMF は、溶媒投与群と比較して、Day 92/93 の末梢血赤血球中胎児ヘモグロビンタンパク質レベルを有意に上昇させた。DMF 投与により、最終投与後 3 時間に測定したサルのγ-グロビン mRNA レベルは 6 倍に増加し、最終投与後 6 時間に測定したサルでは約 1.4 倍に増加した。これらの結果は、DMF が非貧血サルの胎児ヘモグロビンを上昇させることを示す。

25 mg/kg/日（DMF）を 3 ヵ月間反復投与後、7 種類の組織（腎臓、空腸、脾臓、リンパ節、肝臓、脳皮質、及び頸髄）から採取した高品質リボ核酸（RNA）試料の転写プロファイリング解析を、プラセボとの比較で実施した。RNA 試料の品質が不良であったため、PBMC 及び骨髄は RNA シーケンシングに適さなかった。RNA シーケンシング解析の結果、解析した 7 組織すべてで転写応答を示した。解析した全組織で、35～50 個の遺伝子が<0.05 の False Discovery Rate で差次的に調節される遺伝子として同定された。経路解析の結果、腎臓と空腸における Nrf2 遺伝子の有意な調節が明らかになったが、他の組織は様々な差次的調節経路を示した。Nrf2 は DMF 処理によって活性化されることが既知の転写調節因子であることから、10 種の標準的 Nrf2 調節遺伝子を直接検査した結果、プロファイリングした全組織でこれらの遺伝子のサブセットの顕著なアップレギュレーションが明らかになり、DMF が多くの異なる組織における Nrf2 調節遺伝子に薬力学的影響を及ぼすことを示している。

要約すると、カニクイザルに DMF 及び／又は HU を単独（25 mg/kg/日 DMF、60 mg/kg/日 HU）又は併用［5/60 及び 25/60 mg/kg/日（DMF/HU）］で 1 日 1 回 92～93 日間経鼻胃内投与した結果、赤血球系コンパートメント内に HU に関連した血液学的変化が認められ、ある程度の貧血が示唆された。また、胸腺小型化の剖検所見及び重量減少に関連した胸腺リンパ球減少が認められた。末梢血リンパ球数に影響がなかったこと、対照群で胸腺退縮（加齢に伴う自然な生理的過程）によるリンパ球減少がみられたこと、及び本試験では休薬期間を設けなかったことから、胸腺で認められた所見が毒性か回復性変化なのかは不明であった。DMF の影響は、赤血球濃厚液（packed RBC）中胎児ヘモグロビンの上昇、並びに腎臓、空腸、脾臓、リンパ節、肝臓、脳皮質、及び頸髄における Nrf2 調節遺伝子のアップレギュレーションに限られ、他に DMF 関連の影響（総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞、B 細胞、NK 細胞、及び単球サブセットのイムノフェノタイピングへの影響含む）は観察されなかった。DMF の無毒性量は 25 mg/kg/日と判断され、こ

の用量の Day 83 における MMF の平均 $AUC_{0\text{-}24h}$ は雄で 13.5 µg*h/mL、雌で 15.0 µg*h/mL、平均 C_{max} は雄で 12.1 µg/mL、雌で 15.9 µg/mL であった。DMF 及び HU のいずれの毒性プロファイルにも併用による影響は認められなかった。

8.1.2 ヒト及びサルの骨髄及び PBMC 由来 T リンパ球コロニー形成細胞における DMF（[redacted]）及び MMF（[redacted]）の血液毒性試験

PD15-73（添付資料番号 4.2.3.7.3-2）

[redacted]®-[redacted] プラットフォームを用いて、ヒト及びカニクイザルの骨髄及び PBMC 由来のリンパ球系 T リンパ球コロニー形成細胞（T-CFC）前駆幹細胞、及び T 細胞における DMF（[redacted]）及び MMF（[redacted]）の血液毒性を検討した。ヒト 3 例及びカニクイザル 3 例のドナーから採取した細胞を用いて、DMF（3.469～1388 µmol/L）、MMF（3.843～5380 µmol/L）、陰性対照オメプラゾール（0.001～10 µmol/L）及び陽性対照シクロヘキシミド（0.0001～10 µmol/L）の様々な用量で増殖因子カクテルを添加して試験を行った。これらの培養細胞を 6 日間培養後に細胞内アデノシン三リン酸（ATP）含量を測定することによって増殖を評価し、7 日間培養後に cluster of differentiation（CD）45 ゲーティングを用いた CD3/CD4/CD8 抗体を用いたフローサイトメトリーフェノタイピングによって分化を評価した。DMF 及び MMF は、それぞれ臨床推奨用量での生理的濃度以下又はサルでの最大耐量を超える濃度で、ヒト及びカニクイザルの骨髄及び PBMC 由来 T-CFC に対して細胞毒性を示さなかった。細胞毒性の程度に関して、DMF はヒト及びカニクイザルの骨髄及び末梢血に対して MMF よりも強い毒性を示し、50%阻害濃度（IC_{50}）は MMF の 4 倍以上低かった。IC_{50} 値の要約を表 7 に示す。

表 7 ヒト及びサルにおける T-CFC の IC_{50} 値

Test Article	Growth Factor Mix	IC_{50} for T-CFC (µmol/L)			
		Human		Monkey	
		Bone Marrow	Peripheral Blood	Bone Marrow	Peripheral Blood
DMF	IL-2	5.0 to 10.1	41.9 to 59.6	0.9 to 36.8	18.6 to 54.1
	IL-2+CD3+CD8	50.0 to 68.1	25.7 to 63.7	8.3 to 62.4	2.5 to 63.0
MMF	IL-2	170.7 to 309.0	339.2 to 422.1	307.2 to 691.7	342.7 to 505.8
	IL-2+CD3+CD8	344.8 to 426.4	260.8 to 519.9	348.1 to 511.1	288.0 to 442.8
IC_{50} ratio (MMF:DMF)	IL-2	≥17	≥6	≥8	≥6
	IL-2+CD3+CD8	≥5	≥4	≥6	≥5

CD = cluster of differentiation; DMF = dimethyl fumarate; IL-2 = interleukin-2; MMF = monomethyl fumarate.

CD3+、CD4+、及び CD8+細胞の減少は細胞毒性濃度でのみみられ、全般に用量依存的な傾向を示した。増殖阻害作用とは異なり、フェノタイピング評価では、リンパ球集団の見かけの減少は MMF では 336 µmol/L 以上でみられたのに対して、DMF では 51 µmol/L 以上でみられ、DMF は MMF よりも毒性が強いと考えられた。リンパ球集団減少の程度は、全般的に DMF と比較して MMF で低かった。DMF では、細胞毒性濃度で末梢血と比較したヒト及びカニクイザル骨髄中 CD3+細胞及び CD4+細胞の減少効果が大きく、MMF では減少効果はより小さかった。以上、ヒト及びカニクイザルの骨髄中前駆細胞集団及び T リンパ球集団に特異的な影響は認められなかった。カニクイザル及び他の毒性試験動物種を用いた過去の非臨床試験と同様に、細胞毒性がみら

れない範囲でリンパ球集団に対する影響は認められなかった。

8.1.3 DMF 治療患者におけるリンパ球減少の作用機序を明らかにするための in vitro 転写プロファイリングの実行可能性パイロット試験

RSCH-2018-30（添付資料番号 4.2.3.7.3-3）

本試験では、フマル酸塩を添加して in vitro 培養したヒトリンパ球の転写プロファイリングが可能なリンパ球分離、ポリクローナル刺激、RNA 分離及びシーケンシングのための適切な条件を選択するため、健康被験者から採取した末梢血を用いた。疾患修飾療法を受けていない MS 患者の血液検体検査と同様の in vitro アプローチを適用する追加試験の情報収集及び裏付けを目的として実施した。転写プロファイリングは、DMF 投与患者で認められたリンパ球減少の作用機序試験計画の一部である。

PBMC 並びに CD4+及び CD8+T 細胞を健康被験者の全血から分離し、T 細胞受容体刺激（CD3＋CD28 アゴニスト）の存在下及び非存在下で DMSO、10 及び 30 µmol/L の DMF、又は 10 及び 30 µmol/L の MMF と共に培養した。16～24 時間後に RNA を分離し、RNA シーケンシングを行った。仮説駆動型と教師なし（unsupervised）の両方で異なる遺伝子発現を決定した。

健康被験者の血液 140 mL から CD4+及び CD8+T 細胞並びに PBMC を分離した。Kyoto Encyclopedia of Genes の T 細胞活性化遺伝子モジュール及び Biocarta NF-κB 経路発現モジュールによって定義された遺伝子発現の予想された変化により確認した結果、ポリクローナル T 細胞受容体の活性化も成功した。既報と一致して、DMF は T 細胞のポリクローナル活性化及び NF-κB 活性を阻害したが、MMF はいずれの遺伝子発現特性にも影響を及ぼさなかった。リンパ球減少症の一因となっている可能性のある未知の新規経路を明らかにするため、遺伝子発現に対する DMF 及び MMF の作用の教師なし分析を実施した。DMF は休止及び活性化 T 細胞で数百の遺伝子発現変化を誘導したが、MMF は遺伝子発現変化を誘導しなかった。DMF 又は MMF 処理時の CD4 又は CD8 細胞における統計学的に有意な発現変動遺伝子数の要約を表 8 に示す。

表 8 DMF 又は MMF 処理時の CD4 又は CD8 細胞における統計学的に有意な発現変動遺伝子数

Cell Type A	Anti-CD3 ± Anti-CD28	Treatment 1	Treatment 2	DEGs Decreased	DEGs Increased
CD4	No	DMF 30 µmol/L	DMSO	107	68
CD4	No	MMF 30 µmol/L	DMSO	0	0
CD4	Yes	DMF 30 µmol/L	DMSO	532	329
CD4	Yes	MMF 30 µmol/L	DMSO	0	0
CD8	No	DMF 30 µmol/L	DMSO	159	35
CD8	No	MMF 30 µmol/L	DMSO	0	0
CD8	Yes	DMF 30 µmol/L	DMSO	168	86
CD8	Yes	MMF 30 µmol/L	DMSO	0	0

CD = cluster of differentiation; DEGs = differentially expressed genes; DMF = dimethyl fumarate; DMSO = dimethyl sulfoxide; MMF = monomethyl fumarate.

DMF は in vivo で速やかに全身循環血中の主代謝物である MMF に変換され、DMF は検出されないことから、これらのデータは MMF の作用機序が転写ではないことを示している。また、本試験データに基づくと、本試験と同様の転写プロファイルアッセイには、患者 1 人当たり（リンパ球絶対数によって）100～200 mL の新鮮分離血液が必要と見積もられる。

8.2 依存性

DRF、MMF、及び HES は、薬物乱用の可能性との関連が知られている受容体、リガンド依存性イオンチャネル又は酵素に有意な結合を示さなかった（M2.6.2.3.1）。DRF 及び in vivo 主代謝物（MMF 及び HES）は、ラットを用いた FOB に基づく中枢神経系に対する安全性薬理試験（M2.6.2.4.2.2）、その他の in vivo 非臨床試験の投与期間及び休薬観察期間中並びに臨床試験で、中枢神経系に対する作用を示さず、興奮又は鎮静作用の徴候も示さなかった。MMF は、DMF を用いて実施したラットの薬物弁別試験及び自己投与試験で作用を示さなかった。治療用量の DRF と DMF を投与したときの MMF の曝露量は比較可能であり、すでに完了している DMF の薬物乱用性評価結果を DRF の評価に利用できると考えている。

以上より、DRF 並びにその主活性代謝物である MMF 及び不活性代謝物である HES の包括的な in vitro 及び in vivo 評価により、DRF は精神及び身体依存性を有しておらず、薬物乱用の可能性は低いと判断された。

8.2.1 DMF のラットを用いた自己投与試験の用量設定試験

P00012-13-04（添付資料番号 4.2.3.7.4-1）

13 週齢雄 Sprague Dawley ラット（主試験 n = 4、TK 試験 n = 8）を用いて DMF の静脈内パルス投与による TK プロファイル及び作用の可能性を評価して、ラット自己投与試験での DMF の投与量を検討した。

12.5、25、及び 50 mg/kg/日（それぞれ 0.625、1.25、及び 2.5 mg/kg/投与）の DMF を、大腿静脈カテーテルを介して約 3 分間隔で静脈内投与（0.83 mL/kg/投与）し、60 分間で合計 20 回（合計約 4.3 mL）投与を繰り返すパルス投与を実施した。溶媒対照として、20%β-シクロデキストリンスルホブチルエーテルナトリウム塩を同様に投与した。TK 評価はサテライト動物を用い、血漿中 MMF 濃度解析のため最初のパルス静脈内投与前、並びに投与後約 5、10、20、40、60、63、66、70、75、90、及び 140 分に採血した。Day 1 にすべての動物を安楽死させた。

DMF 投与後に顕著な作用は認められなかった。60 分間の投与期間中、3 分間隔のパルス投与を開始後 MMF の血漿中濃度は徐々に上昇し、2 回目の採血（パルス投与開始 10 分後）までにほぼ最高濃度に達し、その後 60 分間の投与期間終了まで同程度かわずかに上昇した。投与期間終了後、血漿中濃度は投与開始後 140 分までおおむね二相性で速やかに減少した。クリアランスはすべての用量群で高く（肝血流量に近い値）、40.3～50.9 mL/min/kg の範囲であった。MMF の分布容積は体内総水分量の 3.7～4.7 倍と中程度であった。MMF の消失半減期は比較的短く、すべての投与群で 14.8～16.1 分であった。MMF の曝露量（0 時間から最終定量可能時間までの濃度時間曲線下面積［AUC_{last}］又は C_{max}）は、DMF の用量 12～50 mg/kg にほぼ比例して増加した。主要な TK パラメータを表 9 に要約する。

表 9　　雄ラットに DMF を静脈内投与したときの MMF の血漿中 TK パラメータ（平均値）

Dose (mg/kg/day)		12.5	25	50
AUC_{last}	(ng*h/mL)	4070	7370	20500
C_{max}	(ng/mL)	5040	7910	19500

AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration; C_{max} = maximum observed concentration; DMF = dimethyl fumarate; MMF = monomethyl fumarate.

8.2.2　　DMF のラットを用いた自己投与試験

P00012-13-07（テクフィデラ申請資料）

雄ラットを用いて DMF の薬物乱用性の自己投与の可能性を評価した。陽性対照（コカイン）（n = 56）及び陰性対照（生理食塩液）（n = 56）を用いて、ラットの DMF の強化効果を評価した。溶媒対照として、20%β-シクロデキストリンスルホブチルエーテルナトリウム塩を同様に投与した。他の毒性試験で MMF の曝露量に性差が認められなかったため、薬物乱用性に性差はないと予想されたことから、雄を使用した。

ラットを用いた最大 2.5 mg/kg/infusion までの DMF 投与で、生理食塩液の投与中断期間中の生理食塩液の自己投与回数と比較して顕著な差は認められなかった。DMF に置換後の平均投与回数に変動性は少なく、一般状態の顕著な変化又は死亡は認められなかった。したがって、溶媒対照及び試験で評価したすべての用量（0.625、1.25、及び 2.5 mg/kg/infusion）の DMF（n = 7～8）で、自己投与行動は維持されないと判断された。高用量群 2.5 mg/kg/infusion の MMF の C_{max} 推定値は約 19.5 µg/mL（［P00012-13-04 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.4-1）から推定）であり、MRHD での C_{max} の約 12 倍であった。

8.2.3　　DMF のラットを用いた薬物弁別試験

P00012-14-01（テクフィデラ申請資料）

雄 Sprague Dawley ラットに 25、100、及び 250 mg/kg の DMF を経口投与し、薬物弁別性を評価した。溶媒対照として、0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロースを用いた。他の毒性試験では MMF の曝露量に性差が認められなかったため、薬物乱用性に性差はないと予想されたことから、雄を使用した。試験に割り当てたラットにコカイン又は生理食塩液のいずれかを腹腔内投与し、左右 2 つのレバーのうちコカインを投与した場合は一方のレバーを押し、生理食塩液を投与した場合はもう一方のレバーを押すようラットを訓練した。32 匹の動物を最初の試験に組み入れた。

薬物弁別訓練を開始した 32 匹の動物のうち、12 匹の雄ラットが訓練を完了し、試験に含めた。予測されたように、陽性対照であるアンフェタミンでは、対照薬物（コカイン）の置換率が用量依存的に上昇した。DMF は 250 mg/kg までほぼ生理食塩液置換レベルで、対照薬物（コカイン）を十分に置換できなかった（25、100、及び 250 mg/kg で、それぞれ平均 2.9%、14.2%、及び 11.7%の対照薬物関連レバー選択率で用量依存性が認められなかった）。また、DMF 置換後に有意な一般状態、体重、及び摂餌量の変化、並びに死亡は認められなかった。したがって、DMF は 250 mg/kg まで薬物弁別性を示さないと判断された。高用量群（250 mg/kg）での MMF の C_{max} 推定値は約 30.77 µg/mL（［P00012-04-01 試験］（テクフィデラ申請資料）から推定）であり、MRHD での C_{max}

［ALK8700-A107 試験］の約 19 倍であった。

8.3 *不純物C 不純物含有 DRF のラット 28 日間反復経口投与毒性試験

AT-5108-25（添付資料番号 4.2.3.7.6-1）

製造工程由来不純物 *不純物C ［[redacted]］の安全性を、Sprague Dawley ラットを用いて DRF を併用投与した反復経口投与毒性試験で確認した。雌雄ラット（各群雌雄各 10 例）に DRF/ *不純物C を 0/0、150/0、150/2、600/0、及び 600/9 mg/kg の用量で 28 日間強制経口投与した。DRF 原薬及び *不純物C 含有 DRF 原薬の製造に用いた溶媒は、脱イオン水中の 0.5%（w/w）Methocel E50 Premium LV 及び 0.2%（w/w）ポリソルベート 20 を含有する 50 mM クエン酸緩衝液であり、pH は 4 ± 0.1 であった。死亡、一般状態、体重パラメータ、摂餌量、眼科学的検査、器官重量、臨床検査、及び病理学的検査に基づいて毒性評価した。DRF 及びその代謝物（MMF 及び RDC-8439）の TK 評価は、同じ投与レジメンのサテライト群動物（対照群：雌雄各 3 例、DRF を含む各投与群：雌雄各 6 例）を用いて Day 1 及び 28 に行った。HES（代謝物）の曝露量は、ラットを用いた DRF の 5 日間ブリッジング PK 試験［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）の結果を用いて推定した。 *不純物C の曝露量は測定しなかった。

全例が剖検まで生存し、投与に関連した一般状態変化や体重、摂餌量、及び眼科学的パラメータへの影響は認められなかった。

DRF に関連した軽度の血清コレステロール増加が、150/0 群、600/0 mg/kg 群、及び 600/9 mg/kg 群の雌に認められた。その他の投与に関連した臨床検査所見が高用量群（600/0 mg/kg 群及び 600/9 mg/kg 群）に認められ、赤血球量（雄のみ）、APTT 及び血清クレアチニンの軽度減少、網状赤血球及び血清リンの軽度増加が認められた。また、投与に関連した軽度の尿量増加が 600/0 mg/kg 群の雌雄及び 600/9 mg/kg 群の雄に認められた。これらの臨床検査所見は毒性ではないと判断された。

投与に関連した器官重量の増加が、150 mg/kg（150/0 及び 150/2 mg/kg 群の雌の腎臓重量、150/0 mg/kg 群の雌の胃重量）及び 600 mg/kg（600/0 及び 600/9 mg/kg 群の雌雄の腎臓、胃及び肝臓重量）で認められた。

投与関連の剖検所見は、600/9 mg/kg 群の雌雄に限られ、前胃の黄褐色巣、表面不整、腫脹／肥厚又は腫瘤が認められた。

投与関連の病理組織学的所見が腎臓、肝臓、膵臓、及び消化管に認められた。腎臓では、軽微な好塩基性尿細管が、150 及び 600 mg/kg の DRF を投与した雌雄（150/0、150/2、600/0、及び 600/9 mg/kg 群）に認められ、臨床検査の変化（尿量増加及び血清クレアチニン減少）との関連性は不明と判断された。軽微な汎小葉性肝細胞肥大及び軽微な膵腺房細胞のアポトーシス増加が 600/0 及び 600/9 mg/kg 群の雌雄に認められた。600/0 及び 600/9 mg/kg 群では消化管の変化もみられ、軽微～重度な前胃粘膜過形成及び軽微な十二指腸粘膜過形成が認められた。さらに、軽微～軽度の前胃のびらん／潰瘍が 600/0 mg/kg 群の雌に認められた。DRF 又は *不純物C 含有 DRF を投与した動物にみられた病理組織学的所見の発現率及び重症度に差は認められなかった。腎臓、前胃、十二指腸、肝臓、及び膵臓の病理組織学的所見は毒性ではないと判断された。

要約すると、 *不純物C 不純物の添加は、DRF に関連する試験パラメータの変化に影響しなかった。本試験の所見に基づき、9 mg/kg の *不純物C 併用又は非併用下での DRF の無毒性量は 600 mg/kg と判断された。DRF/ *不純物C を 600/0 mg/kg の用量で反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量のそれぞれ 13 倍以上／6 倍以上及び 8 倍／5 倍であった。DRF/ *不純物C を 600/9 mg/kg の用量で反復投与したときの MMF 及び HES の全身曝露パラメータ（C_{max}/AUC）は、DRF の MRHD における臨床曝露量のそれぞれ 14 倍以上／10 倍以上及び 8 倍／5 倍であった。非臨床試験では不純物 *不純物C の併用又は非併用下で DRF 投与後に曝露がみられたが、臨床試験では測定可能な曝露はみられなかったため、RDC-8439 の全身曝露比は無限大に近かった。

ラット及びヒトでは血漿中濃度が定量限界未満であったため、DRF の曝露量は算出できなかった。本試験の全用量群の曝露量パラメータを表 10 及び M2.6.7.17 に示す。

8.4 DRF の光安全性評価

702-08693（添付資料番号 4.2.3.7.7-1）

10 及び 100 µmol/L（溶媒：メタノール）の DRF とその代謝物（MMF、HES 及び RDC-8439）の紫外／可視吸収スペクトルを評価した結果、いずれも 190～280 nm の範囲でのみ吸収性を示し、最大 UV 値は約 205 nm であった。ICH S10 ガイダンス［ICH 2013］に基づき、DRF 及びその代謝物は 290～700 nm の範囲の光を吸収しなかったことから直接的な光毒性の懸念はないと考えられたため、追加の光毒性試験は実施しなかった。

表 10　　曝露データ及び *不純物C　不純物の安全性確認試験の特記すべき所見の要約

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/Route of Admin/ Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF at NOAEL (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
DMF and HU: 3-Month Oral Combination Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys (P00012-15-05/ 4.2.3.7.3-1)	Monkey/PO DMF/HU 0/0, 25/0, 0/60, 5/60, 25/60 mg/kg	DMF/HU: 0/60, 5/60, 25/60 mg/kg Thin body condition and/or skin atonia; ↓ red blood cells, haemoglobin, haematocrit; ↑ corpuscular volume, red cell distribution width, corpuscular haemoglobin, and haemoglobin distribution width; ↓ thymus weight consistent with gross observation of small thymus and correlating to histopathological incidences of decreased lymphocytes within the thymus	5 mg/kg DMF 3150 / 3760 (M) 2860 / 3480 (F) 25 mg/kg DMF 13100 / 7830 (M) 14200 / 15400 (F)	5 mg/kg DMF 0.5/2 (M) 0.4/2 (F) 25 mg/kg DMF 2/5 (M) 2/10 (F)	NA	NA
		DMF NOAEL = 25 mg/kg (DMF/HU: 25/0 mg/kg) ↑ foetal haemoglobin in the pRBCs and ↑ Nrf2-regulated genes in kidney, jejunum, spleen, lymph nodes, liver, brain cortex, and cervical spinal cord	25 mg/kg DMF 13500 / 12100 (M) 15000 / 15900 (F)	25 mg/kg DMF 2/7 (M) 2/10 (F)	NA	NA
DMF and MMF: Haemotoxicity on Human and Monkey T-CFCs (PD15-73/ 4.2.3.7.3-2)	Monkey and human/blood and bone marrow ex vivo DMF: 3.469-1388 µmol/L , MMF: 3.843-5380 µmol/L	DMF and MMF were not cytotoxic to T-CFCs derived from human and cynomolgus monkey bone marrow and peripheral blood at concentrations at or below the physiological level at the recommended human dose or above the MTD in monkey, respectively. In proliferation assays, DMF was more toxic than MMF; IC_{50} ratio (MMF: DMF) ≥ 5. In phenotype assays, DMF was more toxic than MMF. Apparent decline of the lymphocyte populations started at approximately 51 µmol/L for DMF, at approximately 336 µmol/L for MMF.	NA	NA	NA	NA

*新薬承認情報提供時に置き換え

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/Route of Admin/ Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF at NOAEL (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
In Vitro Transcriptional Profiling Feasibility Pilot Study (RSCH-2018-30/ 4.2.3.7.3-3)	Human/ peripheral blood ex vivo 0, 10 and 30 µmol/L (DMF and MMF)	CD4+ CD8+ T cells and PBMCs were successfully isolated, induced polyclonal T-cell activation, isolated RNA, and performed transcriptional profiling from 140 mL of whole blood. Up to 200 mL of blood was estimated to be needed from MS patient to perform these assays. MMF had no effects on NF-κB pathway and produced no statistically significant changes in gene expression in any pathway in CD4+, CD8+ T cells or PBMCs. DMF inhibited T-cell activation through inhibition of the NF-κB pathway and induced genes expression changes in hundreds of genes.	NA	NA	NA	NA
Self-administration/ potential of drug abuse liability in rats (P00012-13-07)[g]	Rat/IV/DMF:0, 0.625, 1.25, 2.5 mg/kg/infusion	DMF did not maintain self-administration behavior. NOEL: 2.5 mg/kg	NA / 19500 (M)[h]	NA / 12 (M)	NA	NA
Drug discrimination properties in rats (P00012-14-01)[g]	Rat/PO/DMF: 0, 25, 100, 250 mg/kg	DMF did not incur partial or full substitution, indicating significant differences to the interoceptive cues produced by the reference compound and positive control compound. NOEL: 250 mg/kg	NA / 30770 (M)[i]	NA / 19 (M)	NA	NA

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/Route of Admin/ Doses**	**Key Findings**	**Systemic Exposure[a] of MMF at NOAEL (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**MMF[b] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**	**Systemic Exposure[a,d] of HES (AUC [ng*h/mL]/ C_{max} [ng/mL])**	**HES[c] Nonclinical to Clinical Exposure Multiple (AUC/C_{max})**
28-Day Rat Impurity Qualification (*Impurity C[e]) (AT-5108-25/ 4.2.3.7.6-1)	Rat/PO/ DRF/ *Impurity C 0, 150/0, 150/2, 600/0, 600/9 mg/kg	150 mg/kg DRF ± 2 mg/kg *Impurity C ↑ serum cholesterol (F) in group without *Impurity C ; ↑ kidney weight (F); ↑ stomach weight (F) in group without *Impurity C; basophilic tubules in kidney (minimal severity)	Without *Impurity C 18000 (M)/ 16700 (M) 21700 (F)/ 25900 (F)	Without *Impurity C 3 (M)/ 10 (M) 3 (F)/ 16 (F)	Without *Impurity C 354000 (M)/ 37000 (M) 354000 (F)/ 37000 (F)	Without *Impurity C 2 (M)/ 3 (M) 2 (F)/ 3 (F)
			With *Impurity C 15900 (M)/ 12800 (M) 20500 (F)/ 21300 (F)	With *Impurity C 2 (M)/ 8 (M) 3 (F)/ 13 (F)	With *Impurity C 354000 (M)/ 37000 (M) 354000 (F)/ 37000 (F)	With *Impurity C 2 (M)/ 3 (M) 2 (F)/ 3 (F)
		NOAEL = 600 mg/kg (±9 mg/kg *Impurity C)[f] ↓ red cell mass (M), APTT, and serum creatinine; ↑ serum cholesterol (F) and phosphorus, reticulocytes, and urine volume; ↑ kidney, stomach, and liver weights; basophilic tubules in kidney (minimal severity); minimal apoptosis of pancreatic acinar cells; minimal panlobular hepatocyte hypertrophy; minimal mucosal hyperplasia of duodenum; minimal to severe mucosal hyperplasia of the nonglandular stomach, with mild erosion/ulceration (F only). Findings with/without addition of *Impurity C to DRF were similar.	Without *Impurity C 41400 (M)/ 21600 (M) 77200 (F)/ 28100 (F)	Without *Impurity C 6 (M)/ 13 (M) 12 (F)/ 17 (F)	Without *Impurity C 1180000 (M)/ 84300 (M) 1180000 (F)/ 84300 (F)	Without *Impurity C 5 (M)/ 8 (M) 5 (F)/ 8(F)
			With *Impurity C 73000 (M)/ 23100 (M) 65200 (F)/ 25300 (F)	With *Impurity C 11 (M)/ 14 (M) 10 (F)/ 16 (F)	With *Impurity C 1180000 (M)/ 84300 (M) 1180000 (F)/ 84300 (F)	With *Impurity C 5 (M)/ 8 (M) 5 (F)/ 8 (F)

Admin = administration; APTT = activated partial thromboplastin time; AUC = area under the concentration-time curve; BID = bis in die; CD = cluster of differentiation; C_{max} = maximum observed concentration; DMF = dimethyl fumarate; DRF = diroximel fumarate; F = female; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; HU = hydroxyurea; IC_{50} = half-maximal inhibitory concentration; M = male; MMF = monomethyl fumarate; MS=multiple sclerosis; NA=not applicable; NOAEL = no observed adverse effect level; NOEL = No observed effect level; PBMC = peripheral blood mononuclear cell; PO = per os; PK = pharmacokinetics; RNA = ribonucleic acid; T-CFC = T-lymphocyte colony forming cell.

[a] AUC (reported as AUC_{last} or AUC_{0-24h}) and C_{max} for MMF and HES were calculated from plasma concentrations on the last day of dosing or estimated from a bridging PK study with DRF in rats (AT-5108-27 / M4.2.2.2-3).

[b] Clinical exposure parameters for MMF were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 mg BID) mg/day of DRF; $AUC_{0\text{-}24h}$ and C_{max} values were 6470 ng*h/mL and 1620 ng/mL, respectively.

[c] Clinical exposure parameters for HES were obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 mg BID) mg/day of DRF; $AUC_{0\text{-}24h}$ and C_{max} values were 227,000 ng*h/mL and 11,000 ng/mL, respectively.

[d] Systemic exposure parameters for HES were estimated by linear extrapolation of the AUC and C_{max} values using data from a bridging PK study with DRF in rats (AT-5108-27 / M4.2.2.2-3).

[e] *Impurity C is a process-related impurity of DRF.

[f] In Study AT-5108-25 (M4.2.3.7.6-1), [redacted] did not interpret microscopic changes in the kidney at 600 mg/kg to be adverse as the changes were minimal in severity, and there were no clear correlative clinical pathology findings indicative of renal functional changes.

[g] Studies has been submitted at the filing of Tecfidera.

[h] C_{max} value was estimated from the DMF dose range-finding study for self-administration (P00012-13-04 / M 4.2.3.7.4-1).

[i] C_{max} value was estimated from the DMF 13-week rat repeat dose toxicity study (P00012-04-01[g]).

9 考察及び結論

本承認申請を裏付ける毒性プログラムには、マウス（4 週間投与）、ラット（最長 26 週間投与）及びサル（最長 39 週間投与）を用いた反復投与毒性試験、in vitro の 2 試験と in vivo の 1 試験を組み合わせた遺伝毒性試験、すべての生殖発生ステージを網羅した生殖発生毒性試験及び幼若動物の毒性試験、マウス及びラットを用いたがん原性試験が含まれる。さらに、DRF 及び活性代謝物である MMF の毒性プロファイルを明らかにすることが重要であることから、DMF を開発するために実施した複数の試験（MMF の in vitro 遺伝毒性試験、並びに MMF 及び／又は DMF のヒトリンパ球減少の探索的試験）も本承認申請に含めた。

重要な毒性試験はいずれも GLP 適用試験であり、DRF 及びそのヒト主活性代謝物（MMF）、ヒト主不活性代謝物（HES）、並びにヒトのマイナーな代謝物（RDC-8439）の TK 解析を含めた。バリデートされた HES の生体試料中濃度分析法は開発後期まで利用できなかったため、一部の in vivo 毒性試験では、HES 曝露量を推定するために、ラット［AT-5108-27 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-3）及びサル［AT-5108-28 試験］（添付資料番号 4.2.2.2-4）を用いた DRF の GLP 適用ブリッジング PK 試験、又は他のウサギを用いた毒性試験［AT-5108-22 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.2-4）を利用した。DRF 投与後に重要な非臨床安全性所見が認められた主代謝物（MMF 及び HES）の曝露量について、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）における臨床曝露量と比較して考察した。

また、DRF のヒト主不活性代謝物である HES の安全性評価は、ICH M3 (R2)ガイダンス［ICH 2009］及び FDA guidance for safety testing of drug metabolites［FDA 2016］に従って必要とされる試験（反復投与毒性、胚・胎児発生、幼若動物毒性、がん原性）を基準としている。主代謝物である MMF 及び HES のいずれについても、独立した in vitro ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）アッセイ及び in vitro 遺伝毒性試験と共に、DRF の in vivo 試験で十分に評価できると考えられた（9.1 項）。

9.1 DRF の安全性評価

DRF は新規化合物であることから、ICH M3(R2)ガイダンス［ICH 2009］に準拠し、承認申請を裏付ける適切な非臨床安全性評価として、げっ歯類 1 種及び非げっ歯類 1 種の一般毒性試験、生殖発生毒性試験、in vitro 変異原性並びに in vitro 及び in vivo で染色体への影響を評価する遺伝毒性試験、並びにげっ歯類 2 種のがん原性評価を実施する必要があると考えられた。DRF の一般毒性試験では、ラット及びサルに推奨される最長投与期間であるそれぞれ 26 及び 39 週間まで投与した。これらの反復投与試験では、DRF の高用量は標的器官毒性と関連していたことから、ICH M3(R2)ガイダンス［ICH 2009］における反復投与毒性試験の高用量選択基準を満たしていた。DRF 投与時に使用した動物種に認められた標的器官への影響（腎毒性など）は、DMF と関連した所見と類似し、DMF の MRHD における MMF の臨床曝露量と同程度の曝露量で発現したことから、MMF に関連したものと考えられた。生殖発生毒性試験、幼若動物の毒性試験、遺伝毒性試験、及びがん原性試験における DRF の用量設定も、ICH ガイドラインに従った（生殖発生毒性試験については ICH S5(R2)［ICH 2000］、遺伝毒性試験については ICH S2(R1)［ICH 2011］、がん原性試験については ICH S1B［ICH 1997］及び ICH S1C(R2)［ICH 2008］である）。さらに、がん原性試験の[redacted]及び[redacted]は FDA のレビューを受けている（具体的には FDA の [redacted]

[redacted]から助言を得た)。したがって、[redacted]及び[redacted]と考えられた。

9.2 全身毒性

マウス、ラット、及びサルを用いた 4 週間（マウス)、26 週間（ラット）又は 39 週間（サル）までの反復投与毒性試験で、腎臓、消化管、骨、心臓、及び精巣における DRF に関連した毒性が認められた。ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験では、骨格、出生時体重、出生後の発育、及び胎児の生存性に対する影響が認められた。腎臓、前胃、及び骨で DRF に関連した影響が認められた幼若ラットの標的器官は、成熟ラットで認められた器官と重複していた。主な毒性及び関連する MMF 及び HES の曝露量を、DRF の MRHD（924［462 BID］mg/日）を投与したときの臨床曝露量と比較して以下に考察する。これらの曝露量比の詳細は表 2 及び M2.4.5.5 に示されている。

9.2.1 腎臓

病理組織学的所見（再生を伴う尿細管変性／壊死、尿細管肥大、及び／又は間質線維化)、腎臓重量増加、並びに尿量、尿比重、及び腎障害バイオマーカーの変化を含む腎機能変化を示す臨床検査パラメータの変化に基づいて、腎臓はラット及びサルにおける標的器官として特定された。ラット 26 週間試験［AT-5108-15 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-5）では、これらの尿中バイオマーカーとして、KIM-1、NGAL、アルブミン、及び／又はオステオポンチン／クレアチニン比の増加が認められた。サル 39 週間試験［AT-5108-16 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-9）では、尿中バイオマーカーとして、アルブミン、NGAL、及び／又はシスタチン C／クレアチニン比の増加が認められた。腎臓所見は、病理組織学的変化に伴って腎機能変化を示す臨床検査における反応が認められた場合（13 週間以上の投与試験）に毒性と判断した。より短期間（2 週間）の試験のラット及びサルの腎臓に病理組織学的変化が認められたが、重症度が低く、可逆性であり、臨床検査で関連する機能変化がみられなかったことから、毒性ではないと判断した。

長期投与毒性試験において、サル及びラットで腎臓に毒性所見が認められた用量における MMF 及び HES の曝露量（AUC）は、MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のサルでそれぞれ約 3 倍及び 1.1 倍、ラットでそれぞれ約 1.3 倍以上及び 1.4 倍以上であった。MMF の臨床曝露量で動物にみられた腎毒性は、DMF で認められた非臨床所見と一致している［P00012-04-06 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-05-05 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-05-08 試験］（テクフィデラ申請資料)。

rasH2-Tg マウスと同腹の野生型における腎臓所見は、DRF の 28 日間投与後に MMF 及び HES の曝露量（AUC）が MRHD を投与したときの臨床曝露量と同程度以上で、腎臓重量増加及び腎皮質尿細管上皮細胞の軽微～軽度肥大が雌に認められた。しかしながら、尿細管変性／壊死及びその他の糸球体病変は認められなかったことから、これらの所見は適応性変化と考えられた。rasH2-Tg マウス 26 週間試験［AT-5108-31 試験］（添付資料番号 4.2.3.4.2-1）では腎毒性が認められなかったことから、マウスで明らかな腎毒性が認められなかったことは、試験期間が比較的短期間であったことと関連しないと考えられる。

9.2.2 消化器系

げっ歯類（ラット及び rasH2-Tg マウスと同腹の野生型）における摂餌量減少を伴う用量依存的な体重減少及びサルにおける嘔吐は、DRF の消化管刺激に起因した。ラット及びマウスにおける病理組織学的変化（前胃及び／又は十二指腸の粘膜過形成）に基づき、上部消化管が標的器官として特定された。サルでは、用量設定試験で高用量の DRF を投与したときに胃に病理組織学的変化が認められたが、これらの所見はその後のより長期間投与の試験では認められなかった。用量設定試験における消化管関連の一般状態所見及び体重／摂餌量所見と剖検及び病理組織学的所見との関連が、高用量の DRF 投与動物に認められた。しかし、用量設定試験後の本試験では、一般状態及び体重／摂餌量の変化に関連する病理組織学的所見は認められなかった。

ラット及びマウスの胃及び／又は十二指腸にみられた病理組織学的所見は、用量設定試験後の本試験で消化管障害を示唆する関連所見が認められなかったこと、病理組織学的変化の重症度は低く良性であったこと、及び／又は休薬期間後に回復性が認められたことから、毒性ではないと判断された。ラットの慢性毒性試験［AT-5108-15 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-5）では、前胃粘膜過形成が雄に認められ、MMF 及び HES の曝露量（AUC）は MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ約 3 倍及び 6 倍であった。この所見は、2 週間試験［AT-5108-05 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-3）及び 91 日間試験［AT-5108-13 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-4）では雄と同程度の MMF 及び HES の曝露量で雌に認められたため、雄ラットに特異的な所見ではなかった。マウス［AT-5108-29 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-1）では、前胃粘膜過形成は、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が臨床曝露量のそれぞれ約 11 倍以上及び 4 倍以上で認められた。げっ歯類の前胃における所見は、動物種間の胃の解剖学的な差異により、臨床との関連性はないと考えられる［Kararli 1995］。

消化管のその他の組織における病理組織学的変化は、毒性試験で一貫して認められなかった。サルでは、舌及び食道の上皮過形成が 2 週間［AT-5108-07 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-7）及び／又は 91 日間［AT-5108-14 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-8）投与試験で認められた。これらの所見は休薬期間後に回復し、DRF 投与に対する他の消化管組織の変化（過形成）と一致していた。

9.2.3 心臓

ラット 91 日間投与試験［AT-5108-13 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-4）では、高用量群（450 mg/kg）の雄 3 例が Day 54～58 に死亡又は切迫と殺され、死因は心臓の炎症／壊死と判断された。これらの病理組織学的所見は DRF 関連と考えられ、MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量（AUC）の約 4 倍の MMF 及び HES の曝露量で認められた。91 日間投与試験のその他のラット、より高い用量／曝露量でのより短期（2 週間）の投与試験、及びやや低い用量／曝露量でのより長期（26 週間）の投与試験では心臓所見は認められなかった。また、サルの毒性試験では、心臓に DRF 関連の病理組織学的所見は認められなかった。

9.2.4 骨

サル 91 日間試験［AT-5108-14 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-8）で DRF の 250 mg/kg（高用量）において、大腿骨近位部及び遠位部並びに脛骨近位部の骨端軟骨異形成が認められ、このときの

MMF 及び HES の曝露量は MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量（AUC）のそれぞれ約 15 倍以上及び 4 倍であった。骨端軟骨異形成は、主に肥大帯の拡大、隣接する血管の侵入減少、及び軟骨と石灰化骨基質の相互指状陥入の減少の結果として生じた成長板軟骨の拡大を特徴とする長骨成長板軟骨の変化と定義した。これらの骨の所見は、病理組織学的変化が、血管新生阻害活性を有する化合物（血管内皮細胞増殖因子阻害剤など）を反復投与したときの変化と類似しているため［Patyna 2008］;［Ryan 1999］、フマル酸エステルで報告されている血管新生阻害作用に関連する可能性がある［Arbiser 2011］;［García-Caballero 2011］。さらに重要なこととして、250 mg/kg で観察された毒性、特に消化管毒性（高い嘔吐率、食欲減退、削痩、低体重）の結果としての影響であったことを踏まえると、骨端軟骨の所見は栄養障害に起因した可能性もある［Frazier 2017］;［Guedes 2019］。

サル 91 日間試験［AT-5108-14 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-8）で認められた所見は回復性を示したが、骨端軟骨異形成は 4 週間の休薬期間後も高用量群の 1/4 例で認められた。DRF による同様の骨（骨端）所見は、サルではより短期投与（2 週間）のより高い用量／曝露量での試験及びより長期投与（39 週間）のより低い用量／曝露量での試験では認められなかった。また、カニクイザルを用いた DMF の慢性毒性試験［P00012-05-08 試験］（テクフィデラ申請資料）では、骨端軟骨異形成は報告されなかった。サルでは DMF による骨関連所見が認められなかったこと、及びこの試験における MMF の曝露量（AUC）は、DRF のサル慢性毒性試験［AT-5108-16 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-9）での所見及び MMF の曝露量と一致しており、DRF のサル 91 日間試験で認められた曝露量よりも有意に低かった。

DRF 及び DMF のサル試験データを総合すると、治療用量を超える用量又は高い MMF の曝露が骨端軟骨異形成の発現に必須であり、その作用発現には時間を要することが示唆される。骨への影響の最も可能性の高い原因は、消化管毒性に続発する栄養不良／体重減少である。

9.2.5 精巣

1000 mg/kg の DRF を投与した rasH2-Tg マウスと同腹の野生型に、軽微な変性を示す精巣の変化として、巨大精子細胞の発現率増加及び精細管内精子細胞の軽微減少が認められた［AT-5108-29 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-1）。これらの所見は精巣の絶対及び相対重量の減少と関連した。また、300 mg/kg 以上で精巣上体管内に細胞残屑の増加がみられたが、これは精巣の重症度の低い変性の下流変化と一致した。精巣／精巣上体の変化が毒性と判断された用量（1000 mg/kg）での MMF 及び HES の曝露量（AUC）は、MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ約 15 倍及び 6 倍であった。マウス、ラット、及びイヌでは、精巣毒性（生殖細胞変性、萎縮、精子減少及び／又は過形成）は臨床用量以上の DMF の用量で認められた［P00012-04-02 試験］（テクフィデラ申請資料）;［P00012-04-03 試験］（テクフィデラ申請資料）;［P00012-05-05 試験］（テクフィデラ申請資料）。

9.3 遺伝毒性

In vitro 遺伝毒性試験の結果、DRF は変異原性を示さなかったが［AT-5108-11 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-1）、肝代謝活性化系存在下及び非存在下で染色体異常誘発性であることが示された［AT-5108-12 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-3）。In vivo 小核／コメット試験［AT-5108-23 試験］

（添付資料番号 4.2.3.3.2-1）では、MRHD の DRF を投与したときの MMF 及び HES の臨床曝露量（AUC）のそれぞれ 33 倍及び 8 倍まで、DRF は染色体異常誘発性を示さず、十二指腸細胞及び肝細胞の DNA 損傷を誘発しなかった。これらの所見は、DMF で示された変異原性陰性［5403/89 試験］（テクフィデラ申請資料）；［5405/89 試験］（テクフィデラ申請資料）、in vitro 染色体異常誘発性陽性［5407/89 試験］（テクフィデラ申請資料）；［P00012-04-16 試験］（テクフィデラ申請資料）及びラット小核試験で in vivo 染色体異常誘発性陰性［P00012-04-04 試験］（テクフィデラ申請資料）と一致していた。肝代謝活性化系の存在下及び非存在下で、MMF 及び HES は変異原性［P098-20-01 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-2）；［P00012-08-02 試験］（テクフィデラ申請資料）を示さず、in vitro 染色体異常誘発性［P098-20-02 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-4）；［P00012-08-03 試験］（テクフィデラ申請資料）を示さなかった。

9.4 がん原性

DRF のがん原性を、ICH ガイダンス S1A、S1B、S1C(R2)に従い、FDA の [redacted] の助言も取り入れた [redacted] を用いて、ラット 2 年間試験［AT-5108-26 試験］（添付資料番号 4.2.3.4.1-1）及び rasH2-Tg マウス 26 週間試験［AT-5108-31 試験］（添付資料番号 4.2.3.4.2-1）により評価した。ラット 2 年間試験では、高用量（150 mg/kg）の雄に、非腫瘍性腎病変に起因すると考えられる DRF に関連した死亡率の増加が認められた。また、この用量では精巣のライディッヒ細胞腺腫の発現率増加が認められ、DRF 投与に関連すると考えられた。150 mg/kg での MMF 及び HES の曝露量（AUC）は、MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のいずれも約 2 倍であった。DMF を投与した雄ラットにライディッヒ細胞腺腫が報告されており［P00012-04-11 試験］（テクフィデラ申請資料）、ヒトへの外挿性は疑わしい［Steinbach 2015］。rasH2-Tg マウス試験では、いずれの用量においても DRF に関連した死亡及び腫瘍発現率の増加は認められなかった。雄マウスに高用量（300 mg/kg）を投与したときの MMF 及び HES の曝露量（AUC）は、MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ約 3 倍及び 1 倍であった。雌の高用量（1000 mg/kg）における MMF 及び HES の曝露量は、臨床曝露量のそれぞれ約 13 倍及び 4 倍であった。

9.5 生殖発生毒性及び幼若動物毒性

DRF はラットの受胎率に影響を及ぼさなかった。DRF はラット及びウサギに催奇形性を示さず、臨床用量でラットの出生前及び出生後の発生に影響を及ぼさなかった。胚・胎児への影響及び胎児発生への影響は、母動物毒性がみられた治療用量を上回る用量でのみ認められた。幼若ラットでは、DRF は神経行動、精子及び性周期パラメータ、並びに生殖能及び交配結果に影響を及ぼさなかったが、成熟動物で認められたものと同様の標的器官への影響が示された。

生殖発生毒性試験で DRF の受胎率への影響を評価した結果、最高用量で有害作用は認められず、この用量での MMF 及び HES の曝露量（AUC）は、雄ラット［AT-5108-19 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.1-1）では MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ約 7 倍及び 4 倍、雌ラット［AT-5108-20 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.1-2）では臨床曝露量のそれぞれ約 9 倍及び 4 倍であった。

ラット胚・胎児発生試験［AT-5108-21 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.2-2）では、DRF は胎児体重

の減少及び胎児の骨格骨化変異と関連し、MMF 及び HES の曝露量が臨床曝露量のそれぞれ約 10 倍及び 5 倍であった。DMF もラットの胎児体重（減少）及び骨格発生（骨化遅延）に同様の影響を及ぼした［P00012-06-02 試験］（テクフィデラ申請資料）。ウサギ胚・胎児発生試験［AT-5108-22 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.2-4）では、DRF は胎児の骨格異常（椎体異常及び重度の胸骨分節配列異常）と関連し、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ約 6 倍及び 2 倍であった。これらの曝露マージンにおける骨格異常の発現率は、試験施設の背景対照範囲内か、わずかに上回った。MMF 及び HES の高い曝露量（臨床曝露量のそれぞれ約 13 倍及び 4 倍）では、骨格異常に加えて、着床後胚損失率の増加及びそれに伴う平均生存胎児数の減少、並びに変異（第 13 肋骨）が認められた。

ラット出生前・出生後発生試験［AT-5108-30 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.3-1）では、高用量（400 mg/kg）で出生児の出生時体重及び離乳前体重／体重増加量の減少が認められた。いずれの用量でも離乳後の発生、行動及び生殖機能に変化は認められなかった。400 mg/kg での MMF 及び HES の曝露量（AUC）は臨床曝露量のそれぞれ約 10 倍及び 3 倍であった。

幼若ラット毒性試験［AT-5108-38 試験］（添付資料番号 4.2.3.5.4-1）では、高用量（600 mg/kg）の DRF に関連した発育遅延、すなわち、体重増加量／体重の減少、発育遅延による雌の膣開口遅延、雌のリンパ球数、雌雄の総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、及び細胞傷害性 T 細胞の軽度増加、大腿骨サイズ（雄のみ）、骨量及び骨密度の減少、並びに骨形態の変化がみられ、DRF の直接作用に関連する骨所見も認められたが、病理組織学的な関連所見はなかった。中用量（150 mg/kg）では、体重増加量の軽微な変化、並びに大腿骨遠位部総スライス面積及び骨量の軽度の減少が認められた。神経行動、精子運動性／精子数／精子形態、性周期及び周期長、並びに生殖能及び交配結果に対する影響は認められなかった。標的器官への影響は成熟動物で認められた影響と同様であり、600 及び 150 mg/kg で腎臓重量の増加を伴う腎尿細管細胞肥大、並びに 600 mg/kg で前胃の扁平上皮過形成が認められた。これらの標的器官の所見は 600 mg/kg で毒性と判断された。600 mg/kg での MMF 及び HES の曝露量（AUC）は臨床曝露量のそれぞれ約 6～9 倍及び 5～8 倍であった。

9.6 臨床安全性リスクと関連する非臨床安全性データ

医薬品安全性監視計画（M1.11）に詳述したように、DRF の臨床開発プログラム、確立された安全性プロファイル及び MS 患者における DMF の既知の重要な安全性リスクに基づき、重要な特定されたリスク及び重要な潜在的リスクを特定した。DRF の重要な安全性リスクを特定する際には、DRF 及び DMF の非臨床安全性データも考慮した。

リンパ球減少及び肝臓に対する影響（可逆的な血清トランスアミナーゼ上昇）は、DRF を評価した一般毒性試験で検討された。以下に示すように、マウス、ラット、及び／又はサルにおいて、関連評価項目に DRF に関連する所見が認められたが、これらの所見の発現に一貫性はなく、毒性ではないと判断された。腎障害及び悪性腫瘍も DRF を評価した非臨床安全性プログラムで検討され、これらの所見は DMF で報告された所見と一致した。

9.6.1 リンパ球減少症

すべての反復投与毒性試験において、血液学的検査で血中リンパ球数を測定した（3 項）。サル

では、軽度のリンパ球減少が 5 日間用量設定試験［AT-5108-06 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-6）及び 2 週間試験［AT-5108-07 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-7）でのみ認められた。これらの所見は休薬期間後に回復し、DRF 関連及び／又はストレスによる二次的変化と考えられたことから、毒性ではないと判断された。げっ歯類の試験では、血中リンパ球減少は認められなかった。ラット 5 日間用量設定試験［AT-5108-04 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-2）で軽度のリンパ球増加が認められ、これは胃病変に関連した炎症パターンと一致した。DMF のラット反復投与試験（2 年間がん原性試験を含む）のいずれにおいてもリンパ球減少は認められなかった。

リンパ球減少の作用機序を検討するため、製造販売承認後に DMF 及び MMF を用いた一連の非臨床試験を実施した。しかし、これらの試験では、RRMS 患者におけるこの所見に関する知見は得られなかった。

Ex vivo 及び in vivo リンパ球フェノタイピング試験では、リンパ球集団に対する DMF/MMF の特異的な影響は示されず、DMF 及び DRF の毒性試験データと一致した。

- Ex vivo 血液毒性試験［PD15-73 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.3-2）では、DMF 及び MMF は、推奨臨床用量での生理的濃度以下又はサルでの最大耐量を超える濃度で、ヒト及びカニクイザルの骨髄及び末梢血単核細胞由来 T-CFC に対する細胞毒性を示さなかった。細胞毒性レベルでは、DMF は MMF よりも強い毒性を示した。
- サルを用いた DMF 及び HU の 3 ヵ月間併用投与試験［P00012-15-05 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.3-1）では、DMF 単独投与又は DMF と HU の併用投与による末梢血イムノフェノタイピング（総 T 細胞、ヘルパーT 細胞、細胞傷害性 T 細胞、B 細胞、NK 細胞、及び単球サブセット）への影響は認められなかった。DMF の作用は、MMF の既知の薬理作用と一致し、赤血球濃厚液中胎児ヘモグロビンの上昇と複数の組織における Nrf2 調節遺伝子のアップレギュレーションに限定された。

Ex vivo 転写プロファイリングの実施可能性パイロット試験［RSCH-2018-30 試験］（添付資料番号 4.2.3.7.3-3）は、フマル酸添加 in vitro 培養ヒトリンパ球の転写プロファイリングに適切な試験条件を選択するために実施した。ドナー数は少なかったが、いくつかの所見が得られた。

- ヒト健康被験者の全血 140 mL から CD4+ T 細胞、CD8+ T 細胞、及び PBMC を分離し、ポリクローナル T 細胞活性化を行い、RNA を分離して転写プロファイリングを行った。試験は目的とした結果が得られた。抗 CD3 及び抗 CD28 活性化による遺伝子発現変化は、既知の T 細胞活性化反応と一致した。
- MS 患者における絶対リンパ球数の変動を考慮すると、これらのアッセイを実施するためには最大 200 mL の血液を採取する必要があると見積もられたが、この血液量はほとんどの治験審査委員会によって設定されている上限を超えている。さらに、複数の施設で実施することによる技術的なばらつきは、データの価値を限定することになる。
- DMF は NF-κB 誘導遺伝子の強力な阻害剤であり、その結果 T 細胞の活性化を阻害したが、MMF は作用を有さなかった。これらのデータは公表文献と一致している［Gillard 2015］。
- 休止状態又は T 細胞受容体を介したポリクローナル刺激後の CD4+及び CD8+ T 細胞における差次的遺伝子発現解析から、MMF は転写に対して統計学的に有意な作用を示さず、MMF の作用機序は転写ではないことが示唆された。

- 公表文献のエビデンスが蓄積されたことにより、リンパ球に対する DMF 及び MMF の多くの作用がシステインの翻訳後修飾を介しているため、トランスクリプトームに反映されない可能性があることが示されている［Blewett 2016］;［Kornberg 2018］。

9.6.2 肝臓に対する影響

マウス、ラット、及び／又はサルにおける DRF に関連した肝臓パラメータ変化は、表 11 に示すように、主に肝重量増加及び散発的な血清トランスアミナーゼ（ALT 及び AST 活性）の増加であった。DRF に関連した肝臓の明らかな病理組織学的変化は、マウス［AT-5108-29 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-1）及びラット［AT-5108-13 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-4）を用いた反復投与試験 2 試験で認められた肝細胞肥大／過形成のみであった。これらの病理組織学的所見は肝臓重量増加を伴っていたが、完全に回復した［AT-5108-13 試験］（添付資料番号 4.2.3.2-4）。肝毒性を示唆する臨床検査の変化が認められた試験を考慮すると、病理組織学的検査で肝細胞損傷が認められなかったため、肝臓関連の所見は DRF と関連しているが、毒性ではないと判断された。

表 11 DRF の反復投与毒性試験における肝臓関連所見

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	**Species/Route of Admin/Doses**	**Liver Parameters**		
		Weight (absolute and/or relative[a])	**Clinical Pathology Correlates in Serum**	**Microscopic Changes**
5-Day/28-Day Range-Finding (AT-5108-29/ 4.2.3.2-1)	Wild-type littermates of *ras*H2-Tg Mice/PO 28-Day Phase: 0, 30, 100, 300, 1000 mg/kg	↑ at 1000 mg/kg	None	Centrilobular hepatocellular hypertrophy at 1000 mg/kg (non-adverse)
5-Day Dose Range-Finding (AT-5108-04/ 4.2.3.2-2)	Rat/PO/ 0, 100, 300, 1000 mg/kg	NM	Mild ↑GGT and ↑ALT of 1000 mg/kg F[b]	No noteworthy findings
2-Week Toxicity With 2-Week Recovery (AT-5108-05/ 4.2.3.2-3)	Rat/PO/ 0, 60, 150, 600 mg/kg	↑ at 600 mg/kg (reversible)	Minimal ↑ALT at 150 (M) and 600 mg/kg (reversible and not considered to have toxicological relevance due to magnitude of effect)	No noteworthy findings
91-Day Toxicity With 28-Day Recovery (AT-5108-13/ 4.2.3.2-4)	Rat/PO/ 0, 60, 150, 450 mg/kg	↑ at ≥150 mg/kg (reversible)	None	Panlobular hepatocellular hyperplasia/ hypertrophy at 450 mg/kg (non-adverse)
26-Week Toxicity With 4-Week Recovery (AT-5108-15/ 4.2.3.2-5)	Rat/PO/ 0, 50, 100, 300 mg/kg	↑ at ≥100 mg/kg in M and/or F (partially reversible at 300 mg/kg)	Moderate ↑ALT and ↑AST in 25% of 300 mg/kg F (similar findings/incidence after recovery period)	No noteworthy findings

Study Type and Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	Species/Route of Admin/Doses	Liver Parameters		
		Weight (absolute and/or relative[a])	Clinical Pathology Correlates in Serum	Microscopic Changes
5-Day Dose Range-Finding (AT-5108-06/ 4.2.3.2-6)	Monkey/PO/ 0, 100, 300, 1000 mg/kg	NM	Mild ↑total bilirubin at ≥300 mg/kg; mild ↑ALT and ↑AST in one 1000 mg/kg F	No clear DRF-related findings[c]
2-Week Toxicity With 2-Week Recovery (AT-5108-07/ 4.2.3.2-7)	Monkey/PO/ 0, 25, 75, 400 mg/kg	No noteworthy findings	None	No noteworthy findings
91-Day Toxicity With 28-Day Recovery (AT-5108-14/ 4.2.3.2-8)	Monkey/PO/ 0, 25, 75, 250 mg/kg	↑ at 250 mg/kg (reversible in F)	None	No noteworthy findings
39-Week Toxicity With 4-Week Recovery (AT-5108-16/ 4.2.3.2-9)	Monkey/PO/ 0, 15, 50, 150 mg/kg	No noteworthy findings	None	No noteworthy findings

Admin = administration; ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; F = female; GGT = γ-glutamyltransferase; M = male; NM = not measured; PO = per os.

[a] Liver to body weight and liver to brain weight ratios.

[b] A minimal increase in serum total bilirubin was noted in males at 1000 mg/kg and had an uncertain relationship to diroximel fumarate (DRF).

[c] Centrilobular hepatocellular vacuolation was present in the livers of control and DRF-treated monkeys at all dose levels. This finding was not clearly dose-related and may have reflected normal background variation; hence, the relationship to DRF was uncertain.

臨床における重要な潜在的リスクのうち 2 つ（腎障害及び悪性腫瘍）については、DRF を評価した非臨床安全性プログラムでも検討した。3 項及び 9.2.1 項に記載したように、一般毒性試験で、DRF はラット及びサルで腎毒性を示した。DMF について報告されているように、DRF の長期投与後、腎臓所見は MMF の臨床曝露量で認められた。がん原性試験では、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量の約 2 倍で、雄ラットの精巣に腫瘍性ライディッヒ細胞腺腫が発現した［AT-5108-26 試験］（添付資料番号 4.2.3.4.1-1）（5.1 項、9.4 項）。これらの所見は DMF で報告された所見［P00012-04-11 試験］（テクフィデラ申請資料）と同様であり、ヒトへの外挿性は疑わしい［Steinbach 2015］。

9.7 DRF のヒト主代謝物の安全性評価

DRF は MMF、HES、及び RDC-8439 に代謝される。これまでの非臨床試験及び臨床試験では、DRF の全身曝露は測定されていない。臨床試験における MMF 及び HES の AUC が DRF 関連の総曝露量の 10%超であったことから、MMF 及び HES はヒトにおける DRF の主代謝物と考えられる。RDC-8439 は、非臨床試験で用いた動物種では測定可能であり、ヒトでも検出されたが、臨床試験での曝露量（AUC）は DRF 関連の総曝露量の 1%未満であったことから、ヒトの主代謝物ではないと考えられる。したがって、この代謝物の非臨床評価は、非臨床試験で十分な評価が得

られたが、規制要件ではない。

MMF は DRF の薬理活性成分であり、DRF の非臨床安全性試験で認められた毒性所見の原因と考えられる。このことを裏付ける証拠として、標的器官への影響のプロファイルは DMF と類似し、HES には既知の薬理活性がないことが確認されている（M2.6.2 参照）。

HES は、ヒトにおける DRF 関連曝露量（AUC）の大部分を占める。製造販売承認申請のために適切に HES の安全性を評価するためには、1 種類以上の動物種を用いた一般毒性、胚・胎児発生、幼若動物毒性及びがん原性試験における曝露量（AUC）が、MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量を超えていなければならない（ICH M3(R2)ガイダンス［ICH 2009］）。表 12 に示すとおり、DRF の非臨床試験はこれらの基準を満たしていることから、HES の安全性は適切に評価されている。

ICH M3 (R2)ガイダンスでは規定されていないが、The Center for Drug Evaluation and Research（CDER）Guidance for Industry: Safety Testing of Metabolites（2016）［FDA 2016］では、in vitro 遺伝毒性試験で変異原性及び染色体異常誘発性を評価する必要があるとしている。そのため、HES 及び MMF の in vitro 変異原性［P098-20-01 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-2）；［P00012-08-02 試験］（テクフィデラ申請資料）及び in vitro 染色体異常誘発性［P098-20-02 試験］（添付資料番号 4.2.3.3.1-4）；［P00012-08-03 試験］（テクフィデラ申請資料）を評価した。HES 及び MMF はいずれの試験においても陰性であった。また、DRF の in vivo ラット小核／コメット試験では、ラットにおける MMF 及び HES の曝露量（AUC）は、MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ 33 倍及び 8 倍超であり、骨髄中多染性赤血球の染色体異常誘発性、並びに十二指腸及び肝細胞中の DNA 損傷は認められなかった。

表 12　ヒト主代謝物の安全性評価に関連する毒性試験における HES の臨床に対する非臨床曝露比

Study Type	**Study Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)**	**Dose (High Dose, MTD, or NOAEL)**[a]	**Sex**	**HES AUC (µg*h/mL)**	**Nonclinical to Clinical Exposure AUC Multiples of HES at the MRHD of DRF (×)** [b]
General Toxicity	26-Week rat (AT-5108-15/ 4.2.3.2-5)	300 mg/kg: high dose and MTD	M+F	1090	4.8
	39-Week monkey (AT-5108-16/ 4.2.3.2-9)	150 mg/kg: high dose and MTD	M+F	604	2.7
Embryofoetal Development	Rat (AT-5108-21/ 4.2.3.5.2-2)	100 mg/kg: NOAEL	F	352	1.6
	Rabbit (AT-5108-22/ 4.2.3.5.2-4)	50 mg/kg: NOAEL	F	155	0.7
Juvenile Toxicity	Rat (AT-5108-38/ 4.2.3.5.4-1)	150 mg/kg: NOAEL	M+F	368	1.6
Carcinogenicity	26-Week rasH2-Tg mouse	300 (M)/1000 (F) mg/kg: high dose	M	287	1.3

Study Type	Study Duration (Study Reference Number/ Location in CTD)	Dose (High Dose, MTD, or NOAEL)[a]	Sex	HES AUC (µg*h/mL)	Nonclinical to Clinical Exposure AUC Multiples of HES at the MRHD of DRF (×) [b]
	(AT-5108-31/ 4.2.3.4.2-1)	with no tumour formation	F	855	3.8
	2-Year rat (AT-5108-26/ 4.2.3.4.1-1)	150 mg/kg (M): Leydig cell tumours in testes	M	572	2.5
		150 mg/kg (F): no neoplastic findings	F	374	1.6

AUC = area under the concentration-time curve; BID = bis in die; F = female; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; M = male; MRHD = maximum recommended human dose; MTD = maximum tolerated dose; NOAEL = no observed adverse effect level; Tg = transgenic

[a] Per M3(R2) Questions and Answers [ICH 2012], the high dose or MTD is considered to be the appropriate nonclinical endpoint for findings that can be readily monitored in the clinic. The NOAEL may be the most appropriate endpoint for findings that are not readily monitorable.

[b] Values were calculated by dividing the nonclinical AUC exposure values for HES by the corresponding clinical exposure $AUC_{0\text{-}24h}$ at the MRHD of DRF (924 [462 BID] mg/day) from Study ALK8700-A107 (227 µg*h/mL).

9.8 結論

ICH 及び FDA ガイダンスに従って、DRF の包括的な非臨床安全性評価を完了した。反復投与毒性試験では、腎臓（ラット及びサルで再生を伴う尿細管変性／壊死）、消化管（げっ歯類の前胃粘膜過形成）、心臓（ラットで心臓の炎症及び壊死）、骨（サルで大腿骨及び脛骨の骨端軟骨異形成）、及び精巣（マウスで変性）の病理組織に、ALK8700-A107 試験における MRHD（924［462 BID］mg/日）で投与したときの MMF 臨床曝露量のそれぞれ約 1、4、4、15、及び 15 倍以上の MMF 曝露量（AUC）で、有害影響が認められた。HES の曝露量（AUC）は、MRHD で DRF を投与したときの HES 臨床曝露量のそれぞれ約 1、4、4、4、及び 6 倍以上であった。腎臓及び消化管の所見は試験間で一貫して認められた。しかし、心臓、骨、及び精巣に対する影響は 1 試験に限られ、再現性はなかった。幼若ラットの標的器官は、DRF 関連影響が腎、前胃、及び骨に認められたため、成熟動物で認められた標的器官と重複した。幼若ラットでは、MMF 及び HES 曝露量が、MRHD で DRF を投与した臨床曝露量のそれぞれ 6 倍以上及び 5 倍以上でのみ有害影響と判断された。遺伝毒性試験では、DRF は in vitro 変異原性が陰性、in vitro 染色体異常誘発性が陽性、in vivo 染色体異常誘発性及び DNA 損傷が陰性であった。がん原性所見は、MMF 曝露量（AUC）が MRHD で DRF を投与したときの臨床曝露量の約 2 倍で、雄ラットの精巣におけるライディッヒ細胞腺腫の発現率増加に限られた。DRF の生殖発生毒性試験では、ウサギ（骨格変異及び奇形）及びラット（骨格変異；出生児の出生時体重及び体重パラメータの減少）に、MMF の曝露量（AUC）が MRHD で DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ約 6 倍以上及び 10 倍以上、HES の曝露量（AUC）がそれぞれ約 2 倍以上及び 5 倍以上で影響が認められた。ウサギでは、着床後胚損失率の増加及び胎児生存率の低下も、MMF 及び HES の曝露量（AUC）が MRHD で DRF を投与したときの臨床曝露量のそれぞれ約 14 倍及び 4 倍で認められた。

DMF が DRF 及び DMF の活性代謝物であることから、予測されたとおり、所見は DMF で報告された所見と全般的に類似していた。DRF で認められた DMF とは通常関連しない散発的な所見

（サルにおける骨端軟骨異形成、舌及び食道の上皮過形成など）は、フマル酸エステルの既知の血管新生阻害作用及び他の消化管、又は消化管関連組織における DRF に関連する影響と一致した。

特定された重要なリスク（リンパ球減少及び肝障害）及び潜在的な臨床におけるリスク（腎障害及び悪性腫瘍）について、DRF を評価する非臨床安全性プログラムで検討した。また、ヒトにおける DRF の主不活性代謝物である HES の安全性については、一般毒性試験、胚・胎児発生試験、及びがん原性試験における曝露量（AUC）が、MRHD の DRF を投与したときの臨床曝露量を上回ったため、適切に評価された。

DRF は光毒性を有していないと考えられ、薬物乱用の可能性は低いと判断された。

10 参考文献

Ames BN, Mccann J, Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. Mutat Res. 1975;31(6):347-64.

Ando K, Hombo T, Kanno A, et al. QT PRODACT: in vivo QT assay with a conscious monkey for assessment of the potential for drug-induced QT interval prolongation. J Pharmacol Sci. 2005;99(5):487-500.

Arbiser JL. Fumarate esters as angiogenesis inhibitors: key to action in psoriasis? J Invest Dermatol. 2011;131(6):1189-91.

Ames BN, Mccann J, Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. Mutat Res. 1975;31(6):347-64.

Ando K, Hombo T, Kanno A, et al. QT PRODACT: in vivo QT assay with a conscious monkey for assessment of the potential for drug-induced QT interval prolongation. J Pharmacol Sci. 2005;99(5):487-500.

Arbiser JL. Fumarate esters as angiogenesis inhibitors: key to action in psoriasis? J Invest Dermatol. 2011;131(6):1189-91.

Blewett MM, Xie J, Zaro BW, et al. Chemical proteomic map of dimethyl fumarate-sensitive cysteines in primary human T cells. Sci Signal. 2016;9(445):rs10. Epub 2016/09/13.

FDA. U.S. Department of Health and Human Services. Safety testing of Drug metabolites - Guidance for Industry. Revision 1.

Frazier KS. Drug-induced Physeal Abnormalities in Preclinical Toxicity Studies. Toxicol Pathol. 2017;45(7):869-875. Epub 2017/06/23.

Frazier KS, Seely JC, Hard GC, et al. Proliferative and nonproliferative lesions of the rat and mouse urinary system. Toxicol Pathol. 2012;40(4 Suppl):14S-86S.

Galloway SM. Cytotoxicity and chromosome aberrations in vitro: experience in industry and the case for an upper limit on toxicity in the aberration assay. Environ Mol Mutagen. 2000;35(3):191-201.

García-Caballero M, Marí-Beffa M, Medina MÁ, et al. Dimethylfumarate inhibits angiogenesis in vitro and in vivo: a possible role for its antipsoriatic effect? J Invest Dermatol. 2011;131(6):1347-55. Epub 2011/02/03.

Gillard GO, Collette B, Anderson J, et al. DMF, but not other fumarates, inhibits NF-κB activity in vitro in an Nrf2-independent manner. J Neuroimmunol. 2015;283:74-85.

Guedes PMSG, Zamarioli A, Botega II, et al. Undernutrition impairs the quality of growth plate and trabecular and cortical bones in growing rats1. Acta Cir Bras. 2019;34(3):e201900301. Epub 2019/03/18.

Hard GC. Expert report on histopathological re-evaluation of rat and mouse kidney from carcinogenicity studies with Orally administered bg00012 (dimethyl fumarate). New Zealand 2012a.

Hard GC, Betz LJ, Seely JC. Association of advanced chronic progressive nephropathy (CPN) with renal tubule tumors and precursor hyperplasia in control F344 rats from two-year carcinogenicity studies. Toxicol Pathol. 2012b;40(3):473-81. Epub 2012/01/31.

Hilliard CA, Armstrong MJ, Bradt CI, et al. Chromosome aberrations in vitro related to cytotoxicity of nonmutagenic chemicals and metabolic poisons. Environ Mol Mutagen. 1998;31(4):316-26.

ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. M3(R2). Step 4 version dated 11 June 2009.

ICH. M3(R2) Guideline: Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals: Questions & Answers (R2). Dated 5 March 2012.

ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Note for Guidance on Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies S3A. Step 4 version dated 27 October 1994.

ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals S1B. Step 4 version dated 16 July 1997.

ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products and Toxicity to Male Fertility, S5(R2). Step 4 version, parent guideline dated 24 June 1993; addendum dated 9 November 2000, incorporated in November 2005.

ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Dose Selection for Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals S1C(R2). Step 4 version, parent guideline dated 27 October 1994; addendum on a Limit Dose dated 17 July 1997 and incorporated in November 2005; revised on 11 March 2008.

ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Photosafety evaluation of pharmaceuticals S10. Step 4 version dated 13 November 2013.

ICH. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use S2(R1). Step 4 version dated 9 November 2011.

Kararli TT. Comparison of the gastrointestinal anatomy, physiology, and biochemistry of humans and commonly used laboratory animals. Biopharm Drug Dispos. 1995;16(5):351-80.

Kirkland DJ, Müller L. Interpretation of the biological relevance of genotoxicity test results: the importance of thresholds. Mutat Res. 2000;464(1):137-47.

Kornberg MD, Bhargava P, Kim PM, et al. Dimethyl fumarate targets GAPDH and aerobic glycolysis to modulate immunity. Science. 2018;360(6387):449-453. Epub 2018/03/29.

Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutat Res. 1983;113(3-4):173-215.

Patyna S, Arrigoni C, Terron A, et al. Nonclinical safety evaluation of sunitinib: a potent inhibitor of VEGF, PDGF, KIT, FLT3, and RET receptors. Toxicol Pathol. 2008;36(7):905-16. Epub 2008/11/03.

Ryan AM, Eppler DB, Hagler KE, et al. Preclinical safety evaluation of rhuMAbVEGF, an antiangiogenic humanized monoclonal antibody. Toxicol Pathol. 1999;27(1):78-86.

Steinbach TJ, Maronpot RR, Hardisty JF. Human Relevance of Rodent Leydig Cell Tumors. In: Harbison RD, Bourgeois MM, Johnson GT, editors. Hamilton and Hardy's Industrial Toxicology. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons; 2015.

ジロキシメルフマラート

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 毒性試験概要表

バイオジェン・ジャパン株式会社

目次

頁

1 毒性試験：一覧表 4
2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 10
3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 12
4 毒性試験：使用ロット 32
5 単回投与毒性試験 34
6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 35
6A ラットを用いた 5 日間反復経口投与毒性試験 35
6B サルを用いた単回及び 5 日間反復経口投与毒性試験 37
7 反復投与毒性試験：重要な試験 40
7A マウスを用いた 5 日間及び 28 日間反復経口投与毒性試験 40
7B ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験 44
7C ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験 48
7D ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 55
7E サルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験 64
7F サルを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験 70
7G サルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 80
8 In vitro 遺伝毒性試験 88
8A DRF の細菌を用いる復帰突然変異試験 88
8B HES の細菌を用いる復帰突然変異試験 90
8C DRF のほ乳類細胞を用いる in vitro 染色体異常試験 92
8D HES のほ乳類細胞を用いる in vitro 染色体異常試験 94
9 In vivo 遺伝毒性試験 95
9A DRF の in vivo ラット小核及びコメット試験 95
10 がん原性試験 98
10A ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験 98
10B rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間経口投与がん原性試験 115
11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 120
11A ラットの胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験 120
11B ウサギの胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験 121
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 122
12A 雄ラットの受胎能に関する試験 122
12B 雌ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 125
13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 127
13A ラットの胚・胎児発生に関する試験 127
13B ウサギの胚・胎児発生に関する試験 130
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 134
15 新生児を用いた試験 140
15A 幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験 140

16 局所刺激性試験 152
16A サルを用いた DRF 徐放製剤の 2 週間反復経口投与局所刺激性試験及び 2 週間回復性試験.....152
17 その他の毒性試験 156
17A 毒性発現の機序に関する試験：DMF 及びヒドロキシ尿素のカニクイザルを用いた 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験.....156
17B 毒性発現の機序に関する試験:ヒト及びサル骨髄及び末梢血単核細胞由来 T リンパ球コロニー形成細胞における [redacted] 及び [redacted] の血液毒性試験 162
17C 毒性発現の機序に関する試験：DMF 治療患者におけるリンパ球減少の作用機序を明らかにするための in vitro 転写プロファイリングの実行可能性パイロット試験 163
17D 依存性試験：ラットにおける DMF の静脈内投与時の用量設定試験 164
17E 不純物の毒性試験： *不純物C 不純物含有 DRF のラット 28 日間反復経口投与毒性試験 165
17F 光安全性試験：DRF 及びその代謝物の UV～可視光領域の吸収スペクトル 169

*新薬承認情報提供時に置き換え

1 毒性試験：一覧表

Test Article: DRF (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700), MMF, HES, and DMF								
Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] mg/kg/day	GLP Yes/No	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Single-Dose Toxicity								
No stand-alone single-dose toxicity studies have been performed.								
Repeat-Dose Toxicity[b]								
Repeat-dose carcinogenicity range-finding	Mouse, wild-type littermates of rasH2-Tg animals	Oral gavage	Phase 1: 5 days Phase 2: 28 days	Phase 1: 0, 50, 100, 200, 600, 1000, 3000 Phase 2: 0, 30, 100, 300, 1000	Yes	[redacted]	AT-5108-29	4.2.3.2-1
Range-finding, toxicity and TK	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	5 days	0, 100, 300, 1000	No	[redacted]	AT-5108-04	4.2.3.2-2
Repeat-dose Toxicity and TK	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	14 days + 14 day recovery	0, 60, 150, 600[c]	Yes	[redacted]	AT-5108-05	4.2.3.2-3
Repeat-dose toxicity and TK	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	91 days + 28 day recovery	0, 60, 150[d], 450	Yes	[redacted]	AT-5108-13	4.2.3.2-4
Repeat-dose toxicity and TK	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	26 weeks + 4 week recovery	0, 50, 100, 300	Yes	[redacted]	AT-5108-15	4.2.3.2-5
Range-finding and 5-day repeat-dose toxicity and TK	Monkey, cynomolgus	Oral gavage	4 escalating dose intervals; 5-days repeat doses	Escalating doses: 0, 100, 300, 1000 5-Day repeat doses: 0, 100, 300, 1000	No	[redacted]	AT-5108-06	4.2.3.2-6
Repeat-dose toxicity and TK	Monkey, cynomolgus	Oral gavage	14 days + 14 day recovery	0, 25, 75[e], 400	Yes	[redacted]	AT-5108-07	4.2.3.2-7
Repeat-dose toxicity and TK	Monkey, cynomolgus	Oral gavage	91 days + 28 day recovery	0, 25, 75, 250	Yes	[redacted]	AT-5108-14	4.2.3.2-8
Repeat-dose toxicity and TK	Monkey, cynomolgus	Oral gavage	39 weeks + 4 week recovery	0, 15, 50, 150	Yes	[redacted]	AT-5108-16	4.2.3.2-9

Test Article: DRF (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700), MMF, HES, and DMF								
Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] mg/kg/day	GLP Yes/No	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Genotoxicity								
Bacterial mutation	*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537) Escherichia coli (WP2 *uvr*A)	In vitro	NA	15–5000 µg/plate	Yes	[redacted]	AT-5108-11	4.2.3.3.1-1
Bacterial mutation	*Salmonella. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537; *E. coli* WP2 *uvr*A	In vitro	NA	100–5000 µg/plate HES	Yes	[redacted]	P098-20-01	4.2.3.3.1-2
Mammalian chromosome aberration	Human peripheral blood lymphocytes	In vitro	NA	15–150 µg/mL[f] 50–255 µg/mL[g]	Yes	[redacted]	AT-5108-12	4.2.3.3.1-3
Mammalian chromosome aberration	Human peripheral blood lymphocytes	In vitro	NA	35.8–143 µg/mL[f] 35.8–143 µg/mL[g] HES	Yes	[redacted]	P098-20-02	4.2.3.3.1-4
In vivo micronucleus and comet assay	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	3 days	0, 500, 1000, 2000	Yes	[redacted]	AT-5108-23	4.2.3.3.2-1
Carcinogenicity								
2-year carcinogenicity assessment	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	2 Years	0, 15, 50, 150	Yes	[redacted]	AT-5108-26	4.2.3.4.1-1

Test Article: DRF (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700), MMF, HES, and DMF								
Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] mg/kg/day	GLP Yes/No	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
6-month carcinogenicity assessment	Mouse,hemizygous *ras*H2-Tg (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (+/- hemizygous c-Ha-ras)	Oral gavage	26 Weeks	Males: 0, 30, 100, 300 Females: 0, 30, 100, 300, 1000	Yes	[redacted]	AT-5108-31	4.2.3.4.2-1
Reproductive and Developmental Toxicity								
Male fertility and reproductive toxicity	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	28 days prior to mating, through mating, and postmating to 1 day prior to euthanasia (63-64 total doses)	0, 40, 120, 400[h]	Yes	[redacted]	AT-5108-19	4.2.3.5.1-1
Female fertility and early embryonic development to implantation	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	14 days prior to cohabitation and through GD 7 (22-25 total doses); females with no evidence of mating dosed through day prior to or day of euthanasia (35-44 total doses)	0, 40, 120, 450[i]	Yes	[redacted]	AT-5108-20	4.2.3.5.1-2
Range-finding embryofetal development	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	GD 6 through GD 17	100, 200, 400, 600	No	[redacted]	AT-5108-17	4.2.3.5.2-1
Embryofetal development	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	GD 6 through GD 17	0, 40, 100[j], 400	Yes	[redacted]	AT-5108-21	4.2.3.5.2-2

Test Article: DRF (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700), MMF, HES, and DMF								
Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] mg/kg/day	GLP Yes/No	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Range-finding embryofetal development	Rabbit, New Zealand White	Oral gavage	Tolerability phase: 14 days for 50 and 200 mg/kg/day; 8 days for 500 mg/kg/day EFD Phase: GD 7 through GD 20	Tolerability Phase: 50, 200, 500 EFD Phase: 0, 50, 100, 200, 350	No	[redacted]	AT-5108-18	4.2.3.5.2-3
Embryofetal development	Rabbit, New Zealand White	Oral gavage	GD 7 through GD 20	0, 50[j], 150, 350	Yes	[redacted]	AT-5108-22	4.2.3.5.2-4
Pre- and post-natal development	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	GD 6 through LD 20	0, 40, 100[k], 400[l]	Yes	[redacted] (formerly [redacted])	AT-5108-30	4.2.3.5.3-1
Juvenile Studies								
Juvenile toxicity	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	PND 25 to PND 63 (inclusively)	0, 60, 150, 600	Yes	[redacted]	AT-5108-38	4.2.3.5.4-1
Local Tolerance								
Local tolerance	Monkey, cynomolgus	Oral capsule	14 days with 14-day recovery	0, 125, 375, 840[m]	Yes	[redacted]	AT-5108-24	4.2.3.6-1
Other Toxicity Studies								
Mechanistic studies								
DMF and HU: 3-Month Oral Combination Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys	Monkey, cynomolgus	Oral (nasogastric)	92 or 93 days	DMF/HU 0/0, 25/0, 0/60, 5/60, 25/60 mg/kg	Yes	[redacted]	P00012-15-05	4.2.3.7.3-1
DMF and MMF: Hemotoxicity on Human and Monkey T-CFC Cells	Monkey, cynomolgus and Human peripheral blood mononuclear cells and bone marrow	In vitro	Up to 7 days	DMF: 3.469–1388 µmol/L, MMF: 3.843–5380 µmol/L	No	[redacted].	PD15-73	4.2.3.7.3-2

Test Article: DRF (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700), MMF, HES, and DMF								
Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] mg/kg/day	GLP Yes/No	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
In Vitro Transcriptional Profiling Feasibility Pilot Study	Human/ Peripheral Blood	In vitro	Up to 24 hours	0, 10 and 30 µmol/L (DMF and MMF)	No	Biogen	RSCH-2018-30	4.2.3.7.3-3
Dependence (Dose range finding for DMF self-administration)	Rat/ Sprague Dawley	Intravenous	The pulsatile infusion session consisted of 1 infusion (0.83 mL/kg/infusion) every 3 minutes (approximately) over 1 hour for a total of 20 infusions.	DMF: 0, 12.5, 25, 50 mg/kg/day	No	[redacted]	P00012-13-04	4.2.3.7.4-1
Impurities	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	28 days	0, 150/0[n,o], 600/0[n,o], 150/2[n,o], 600/9[n,o]	Yes	[redacted]	AT-5108-25	4.2.3.7.6-1
Photosafety (Ultraviolet/visible absorption of DRF and its metabolites)	NA	In vitro	NA	DRF, MMF, HES, and RDC 8439: 10 and 100 µmol/L	No	Alkermes	702-08693	4.2.3.7.7-1

CFC = colony forming cells; [redacted] = [redacted]; CTD = common technical document; DMF = dimethyl fumarate; DRF = diroximel fumarate; EFD = embryofetal development; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; HU = hydroxyurea; LD = lactation day; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; NOAEL = no-observed adverse effect level; PND = postnatal day; T-CFC = T-lymphocyte colony forming cell; Tg = transgenic;TK = toxicokinetics.

Note: 10 DMF toxicology studies (P00012-04-11, P00012-05-08, P00012-04-06, P00012-06-02, P00012-05-05, 5403/89, 5405/89, 5407/89, P00012-04-16, and P00012-04-04) are referenced in Modules 2.6.6 and 2.4. However, no tabulated summaries have been provided for these studies as they are for reference purposes only.

[a] Unless specified otherwise, all doses are expressed as mg of DRF per kg of body weight per day.

[b] Unless specified otherwise, the NOAEL (no-observed adverse effect level) is underlined for repeat-dose toxicity studies.

[c] In Study AT-5108-05, [redacted] did not interpret microscopic changes in stomach, duodenum, and kidney at 600 mg/kg/day to be adverse. A more conservative interpretation of the data suggests a NOAEL of 150 mg/kg/day.

[d] In Study AT-5108-13, [redacted] did not interpret microscopic changes in the kidney of 150 mg/kg/day males to be adverse as there were no correlative clinical pathology findings indicative of renal functional changes; see Section 2.6.6.3.4.

[e] In Study AT-5108-07, [redacted]) did not interpret microscopic changes in the kidney of one 75 mg/kg/day female to be adverse. A more conservative interpretation of the data suggests a NOAEL of 25 mg/kg/day in females.

[f] Without metabolic activation.

[g] With metabolic activation.

[h] NOAEL for male reproductive toxicity and early embryonic toxicity.
[i] NOAEL for female reproductive toxicity and early embryonic toxicity.
[j] NOAELfor maternal toxicity and embryofetal development.
[k] NOAEL for F_0 maternal systemic and F_1 neonatal/developmental toxicity.
[l] NOAEL for F_1 offspring post-weaning development, behavior, and reproductive function.
[m] Doses are expressed as mg DRF/day.
[n] Doses are expressed as mg of DRF/*Impurity C per kg of body weight per day.
[o] In Study AT-5108-25, [redacted] did not interpret microscopic changes in the kidney at 150 and 600 mg/kg/day to be adverse as the changes were minimal in severity and there were no apparent correlative clinical pathology findings indicative of renal functional changes; see Section 2.6.6.8.3.

*新薬承認情報提供時に置き換え

2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study No.
Repeat-Dose Toxicity					
Repeat-dose carcinogenicity range-finding	Mouse, Wild-Type Littermates of rasH2-Tg animals	Oral gavage	0, 30, 100, 300, 1000	Yes	AT-5108-29
Range-finding, toxicity and TK	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 100, 300, 1000	No	AT-5108-04
Repeat-dose toxicity and TK	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 60, 150, 600	Yes	AT-5108-05
Repeat-dose toxicity and TK	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 60, 150, 450	Yes	AT-5108-13
Repeat-dose toxicity and TK	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 50, 100, 300	Yes	AT-5108-15
Range-finding and 5-day repeat-dose toxicity and TK	Monkey, cynomolgus	Oral gavage	Escalating doses: 0, 100, 300, 1000 5-Day repeat doses: 0, 100, 300, 1000	No	AT-5108-06
Repeat-dose toxicity and TK	Monkey, cynomolgus	Oral gavage	0, 25, 75, 400	Yes	AT-5108-07
Repeat-dose toxicity and TK	Monkey, cynomolgus	Oral gavage	0, 25, 75, 250	Yes	AT-5108-14
Repeat-dose toxicity and TK	Monkey, cynomolgus	Oral gavage	0, 15, 50, 150	Yes	AT-5108-16
Genotoxicity					
In vivo micronucleus and comet assay	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	500, 1000, 2000	Yes	AT-5108-23
Carcinogenicity					
2-year carcinogenicity assessment	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 15, 50, 150	Yes	AT-5108-26
6-month carcinogenicity assessment	Mouse, hemizygous *ras*H2-Tg (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (+/- hemizygous c-Ha-ras)	Oral gavage	0, 30, 100, 300, 1000	Yes	AT-5108-31

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study No.
Reproductive and Developmental Toxicity					
Male fertility and reproductive toxicity	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 40, 120, 400	Yes	AT-5108-19
Female fertility and early embryonic development to implantation	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 40, 120, 450	Yes	AT-5108-20
Range-finding embryofetal development	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	100, 200, 400, 600	No	AT-5108-17
Embryofetal development	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 40, 100, 400	Yes	AT-5108-21
Pre- and post-natal development	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 40, 100, 400	Yes	AT-5108-30
Range-finding embryofetal development	Rabbit, New Zealand White	Oral gavage	0, 50, 100, 200, 350	No	AT-5108-18
Embryofetal development	Rabbit, New Zealand White	Oral gavage	0, 50, 150, 350	Yes	AT-5108-22
Juvenile Studies					
Juvenile toxicity	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 60, 150, 600	Yes	AT-5108-38
Local Tolerance					
Local tolerance	Monkey, cynomolgus	Oral capsule	0, 125, 375, 840[b]	Yes	AT-5108-24
Other Toxicity Studies					
Impurity toxicity	Rat, Sprague Dawley	Oral gavage	0, 150/0[c], 600/0[c], 150/2[c], 600/9[c]	Yes	AT-5108-25
					Test Article: Dimethyl Fumarate
DMF and HU: 3-Month Oral Combination Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys	Monkey, cynomolgus	Oral (nasogastric)	DMF/HU: 0/0, 25/0, 0/60, 5/60, 25/60	Yes	P00012-15-05

DMF = dimethyl fumarate; DRF = diroximel fumarate; GLP = Good Laboratory Practice; HU = hydroxyurea; TK = toxicokinetics.

[a] Unless specified otherwise, all doses are expressed as mg of DRF per kg of body weight per day.

[b] Doses are expressed as mg DRF/day.

[c] Doses are expressed as mg of DRF/*Impurity C per kg of body weight per day.

*新薬承認情報提供時に置き換え

3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)													
Monomethyl Fumarate													
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)													
Dose[a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M + F
15	-	-	-	1580[aa,ee]	2370[aa]	1760[aa]	-	-	-	4690[o]	4480[o]	4620[o]	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8980[b]	9080[b]	9030[b]	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11800[n]	9930[n]	10900[n]	-
30	NA[x,z]	NA[x,z]	NA[x,z]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	NA[y,z]	NA[y,z]	NA[y,z]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	5490[t,r]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	4570[u,r]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	5610[ff]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	5740[v,r]	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	4460[m]	7230[m]	5850[m]	-	14300[s,r]	-	-	-	-	-
	-	-	-	6230[aa]	8290[aa]	7260[aa]	-	-	-	16900[o]	19100[o]	17800[o]	-
	-	-	-	-	-	-	-	11300[w,r]	-	-	-	-	-
60	-	-	-	5130[c]	8410[c]	6770[c]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	5080[k]	8360[k]	6720[k]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	5760[gg]	4790 [gg]	5280 [gg]	-	-	-	-	-	-	-
75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	41100[b]	36200[b]	38700[b]	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30800[n]	31200[n]	31000[n]	-
Human Dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6470[bb]

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)													
Monomethyl Fumarate													
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)													
Dose[a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M + F
100	NA[x,z]	NA[x,z]	NA[x]	11300[d]	10600[d]	11000[d]	-	21500[s,r]	-	31800[e]	37300[e]	34500[e]	-
	NA[y,z]	7820[y]	6400[y]	8430[m]	17700[m]	13000[m]	-	-	-	19500[f]	14600[f]	17000[f]	-
	-	-	-	-	18600[q,r]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	14200[v,r]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	17900[ff]	-	-	-	-	-	-	-	-
120	-	-	-	-	18000[t,r]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	11900[u,r]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
125[cc]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[p,j]	NA[p,j]	NA[p,j]	-
150	-	-	-	13500[c]	14900[c]	14200[c]	-	40600[w,r]	-	62600[o]	57400[o]	61300[o]	-
	-	-	-	18000[h]	21700[h]	19800[h]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	11800[aa]	23300[aa]	17600[aa]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	9250 [gg]	14500 [gg]	11900[gg]	-	-	-	-	-	-	-
150 (119)[l]	-	-	-	10800[k]	22700[k]	16700[k]	-	-	-	-	-	-	-
150/2[i]	-	-	-	15900[h]	20500[h]	18200[h]	-	-	-	-	-	-	-
200	-	-	-	-	37000[q,r]	-	-	63000[s,r]	-	-	-	-	-
250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	99700[n]	106000[n]	103000[n]	-
300	15700[x]	10400[x]	13800[x]	34600[d]	38600[d]	36300[d]	-	-	-	119000[e]	112000[e]	116000[e]	-
	21600[y]	17400[y]	19500[y]	22200[m,r]	40400[m,r]	NA[dd]	-	-	-	80400[f]	95700[f]	88100[f]	-
350	-	-	-	-	-	-	-	88700[s,r]	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	87700[w,r]	-	-	-	-	-
375[cc]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3540[p]	4970[p]	4150[p]	-
Human Dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6470[bb]

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)													
Monomethyl Fumarate													
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)													
Dose[a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M + F
400	-	-	-	44800[u,r]	-	-	-	-	-	294000[b]	209000[b]	266000[b]	-
	-	-	-	-	63600[q,r]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	63100[v,r]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	63000[ff]	-	-	-	-	-	-	-	-
450	-	-	-	28000[k,r]	48200[k]	NA[dd]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	55800[t,r]	-	-	-	-	-	-	-	-
500	-	-	-	47400[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
600	-	-	-	87300[c]	59500[c,r]	NA[dd]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	41400[h,r]	77200[h]	NA[dd]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	93100[q,r]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	56100[gg]	39600 [gg]	47800 [gg]	-	-	-	-	-	-	-
600/9[i]	-	-	-	73000[h]	65200[h,r]	NA[dd]	-	-	-	-	-	-	-
840[cc]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6280[p]	12300[p]	9310[p]	-
1000	97400[x]	70400[x]	83900[x]	125000[d]	105000[d]	114000[d]	-	-	-	82300[e]	254000[e]	168000[e]	-
	-	86200[y]	-	-	-	-	-	-	-	170000[f]	140000[f]	155000[f]	-
	-	-	-	121000[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2000	-	-	-	213000[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Human Dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6470[bb]

- = no data; AUC_{0-24h} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration >LLOQ; BID = bis in die; DRF = diroximel fumarate; F = female; LLOQ = lower limit of quantitation; M = male; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; PND = postnatal day.

[a] Unless specified otherwise, all doses are expressed as mg of diroximel fumarate (DRF) per kg of body weight per day.
[b] 14-Day Toxicity with 14-Day Recovery (Day 14: Study AT-5108-07).
[c] 14-Day Toxicity with 14-Day Recovery (Day 14: Study AT-5108-05).
[d] 5-Day Range-Finding Toxicity (Day 5: Study AT-5108-04).
[e] Dose Range-Finding and 5-Day Toxicity (Phase A, Single-Dose Escalation: Study AT-5108-06).

[f] Dose Range-Finding and 5-Day Toxicity (Phase B Day 5: Study AT-5108-06).
[g] In Vivo Micronucleus and Comet Assay (Study AT-5108-23).
[h] 28-Day Study Evaluating DRF and DRF Containing *Impurity C Impurity (Day 28: AT-5108-25).
[i] Doses are expressed as mg of DRF/*Impurity C per kg of body weight per day.
[j] $AUC_{0\text{-}24h}$ not reported due to a percent extrapolated greater than 25%.
[k] 91-Day Toxicity with 28-Day Recovery (Day 91: Study AT-5108-13).
[l] Actual dose for Day 91 was 119 mg/kg.
[m] 26-Week Toxicity with 4-Week Recovery (Day 182: Study AT-5108-15).
[n] 91-Day Toxicity with 28-Day Recovery (Day 91: Study AT-5108-14).
[o] 39-Week Toxicity with 4-Week Recovery (Day 273: Study AT-5108-16).
[p] 2-Week Local Tolerance with an Extended Release Formulation with 2-Week Recovery (Day 14: AT-5108-24).
[q] Dose Range-Finding Embryofetal Development (Gestation Day 17: AT-5108-17).
[r] Reported as $AUC_{last.}$
[s] Dose Range-Finding Embryofetal Development (Gestation Day 20: AT-5108-18).
[t] Fertility and Early Embryonic Development to Implantation (Study Day 13: AT-5108-20).
[u] Fertility and Reproduction (Study Day 27: AT-5108-19).
[v] Embryo/fetal Development (Gestation Day 17: AT-5108-21).
[w] Embryo/fetal Development (Gestation Day 20: AT-5108-22).
[x] 28-Day Dose Range-Finding Toxicity in CByB6F1 Mice (Study Day 27: AT-5108-29).
[y] 6-Month Transgenic Mouse Carcinogenicity (Study Day 177: AT-5108-31).
[z] AUC not reported due to less than 3 consecutive quantifiable concentrations.
[aa] 2-Year Rat Carcinogenicity (Study Day 182: AT-5108-26).
[bb] Clinical exposure for MMF ($AUC_{0\text{-}24h}$) was obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 mg/day DRF (462 mg BID).
[cc] Dose is expressed as mg DRF/day.
[dd] Combined M + F AUC values are not included due to reporting of AUC_{last} in males or females at this dose.
[ee] Day 1 $AUC_{0\text{-}24h}$ was reported given Day 182 AUC_{last} and $AUC_{0\text{-}24h}$ values were not reportable due to less than 3 consecutive quantifiable concentrations.
[ff] Pre- and Postnatal Development (Lactation Day 10: AT-5108-30).
[gg] Juvenile Rat Toxicology Study (PND Day 63: AT-5108-38).

3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDS-5108 and ALKS 8700)													
Monomethyl Fumarate													
C_{max} (ng/mL)													
Dose[a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M+F
15	-	-	-	2010[x]	4680[x]	3350[x]	-	-	-	3440[n]	2920[n]	3180[n]	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7310[b]	5190[b]	6250[b]	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9410[m]	6480[m]	7940[m]	-
30	2070[v]	2310[v]	2190[v]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3330[w]	4990[w]	4160[w]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	7010[s]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	9080[r]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	8720[t]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	7650[aa]	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	4060[l]	9600[l]	6830[l]	-	13500[q]	-	-	-	-	-
	-	-	-	7660[x]	11500[x]	9600[x]	-	9820[u]	-	10100[n]	8390[n]	9230[n]	-
60	-	-	-	5560[c]	15700[c]	10600[c]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	5610[j]	10300[j]	7960[j]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	8020 [bb]	7870 [bb]	7950[bb]	-	-	-	-	-	-	-
75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19600[b]	18600[b]	19100[b]	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22300[m]	17000[m]	19700[m]	-
100	9850[v]	4900[v]	7370[v]	10700[d]	11000[d]	10900[d]	-	17800[q]	-	27500[e]	34900[e]	31200[e]	-
	11000[w]	18800[w]	14900[w]	9590[l]	20600[l]	15100[l]	-	-	-	9910[f]	9730[f]	9820[f]	-
	-	-	-	-	18000[t]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	27100[p]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	18300[aa]	-	-	-	-	-	-	-	-
Human Dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1620[y]

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDS-5108 and ALKS 8700)													
Monomethyl Fumarate													
C_{max} (ng/mL)													
Dose[a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M+F
120	-	-	-	8040[s]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	23300[r]	-	-	-	-	-	-	-	-
125[z]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	89.3[o]	73.5[o]	81.4[o]	-
150	-	-	-	10500[c]	14600[c]	12500[c]	-	27600[u]	-	25900[n]	26500[n]	26200[n]	-
	-	-	-	16700[h]	25900[h]	21300[h]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	11100[x]	27100[x]	19100[x]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	10500[bb]	18100[bb]	14300[bb]	-	-	-	-	-	-	-
150 (119)[k]	-	-	-	9920[j]	23600[j]	16700[j]	-	-	-	-	-	-	-
150/2[i]	-	-	-	12800[h]	21300[h]	17100[h]	-	-	-	-	-	-	-
200	-	-	-	-	-	-	-	45800[q]	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	38700[p]	-	-	-	-	-	-	-	-
250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	31500[m]	28600[m]	30000[m]	-
300	31200[v]	21100[v]	26200[v]	16400[d]	25100[d]	19900[d]	-	-	-	64000[e]	52800[e]	58400[e]	-
	41000[w]	36600[w]	38800[w]	12800[l]	24100[l]	18500[l]	-	-	-	40900[f]	44800[f]	42800[f]	-
350	-	-	-	-	-	-	-	55900[q]	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	60700[u]	-	-	-	-	-
375[z]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	248[o]	279[o]	264[o]	-
400	-	-	-	23900[s]	-	-	-	-	-	54200[b]	51900[b]	53100[b]	-
	-	-	-	-	32300[t]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	68500[p]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	27000[aa]	-	-	-	-	-	-	-	-
600	-	-	-	20900[bb]	28600[bb]	23700[bb]	-	-	-	-	-	-	-
Human Dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1620[y]

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDS-5108 and ALKS 8700)													
Monomethyl Fumarate													
C_{max} (ng/mL)													
Dose[a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M+F
450	-	-	-	17300[j]	21600[j]	19400[j]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	37200[r]	-	-	-	-	-	-	-	-
500	-	-	-	20000[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
600	-	-	-	22600[c]	31000[c]	26800[c]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	21600[h]	28100[h]	24800[h]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	64600[p]	-	-	-	-	-	-	-	-
600/9[i]	-	-	-	23100[h]	25300[h]	24200[h]	-	-	-	-	-	-	-
840[z]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	484[o]	831[o]	658[o]	-
1000	67600[v]	56100[v]	61900[v]	78800[d]	33700[d]	56300[d]	-	-	-	59500[e]	105000[e]	82300[e]	-
	-	105000[w]	-	30900[g]	-	-	-	-	-	130000[f]	103000[f]	116000[f]	-
2000	-	-	-	66300[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Human Dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1620[y]

- = no data; BID = bis in die; C_{max} = maximum observed concentration; DRF = diroximel fumarate; F = female; M = male; MMF = monomethyl fumarate; PND = postnatal day.

[a] Unless specified otherwise, all doses are expressed as mg of DRF per kg of body weight per day.
[b] 14-Day Toxicity with 14-Day Recovery (Day 14: Study AT-5108-07).
[c] 14-Day Toxicity with 14-Day Recovery (Day 14: Study AT-5108-05).
[d] 5-Day Range-Finding Toxicity (Day 5: Study AT-5108-04).
[e] Dose Range-Finding and 5-Day Toxicity (Phase A, Single-Dose Escalation: Study AT-5108-06).
[f] Dose Range-Finding and 5-Day Toxicity (Phase B Day 5: Study AT-5108-06).
[g] In Vivo Micronucleus and Comet Assay (Study AT-5108-23).
[h] 28-Day Study Evaluating DRF and DRF Containing *Impurity C Impurity (Day 28: AT-5108-25).
[i] Doses are expressed as mg of DRF/*Impurity C per kg of body weight per day.
[j] 91-Day Toxicity with 28-Day Recovery (Day 91: Study AT-5108-13).
[k] Actual dose for Day 91 was 119 mg/kg.
[l] 26-Week Toxicity with 4-Week Recovery (Day 182: Study AT-5108-15).
[m] 91-Day Toxicity with 28-Day Recovery (Day 91: Study AT-5108-14).
[n] 39-Week Toxicity with 4-Week Recovery (Day 273: Study AT-5108-16).
[o] 2-Week Local Tolerance with an Extended Release Formulation with 2-Week Recovery (Day 14: AT-5108-24).

[p] Dose Range-Finding Embryo/fetal Development (Gestation Day 17: AT-5108-17).
[q] Dose Range-Finding Embryo/fetal Development (Gestation Day 20: AT-5108-18).
[r] Fertility and Early Embryonic Development to Implantation (Study Day 13: AT-5108-20).
[s] Fertility and Reproduction (Study Day 27: AT-5108-19).
[t] Embryo/fetal Development (Gestation Day 17: AT-5108-21).
[u] Embryo/fetal Development (Gestation Day 20: AT-5108-22).
[v] 28-Day Dose Range-Finding Toxicity in CByB6F1 Mice (Study Day 27: AT-5108-29)
[w] 6-Month Transgenic Mouse Carcinogenicity (Study Day 177: AT-5108-31)
[x] 2-Year Rat Carcinogenicity (Study Day 182: AT-5108-26)
[y] Clinical exposure for MMF (C_{max}) was obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 mg/day diroximel fumarate (462 mg BID).
[z] Dose is expressed as mg DRF/day.
[aa] Pre- and Postnatal Development (Lactation Day 10: AT-5108-30).
[bb] Juvenile Rat Toxicology Study (PND Day 63: AT-5108-38)

3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)													
RDC-8439													
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)													
Dose[a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M + F
15	-	-	-	NA[dd,s]	NA[dd,n]	NA[dd,n,s]	-	-	-	NA[q,n]	NA[q,n]	NA[q,n]	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[b,n]	NA[b,n]	NA[b,n]	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[p,n]	NA[p,n]	NA[p,n]	-
30	NA[aa,n]	NA[aa,n]	NA[aa,n]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	NA[cc,n]	NA[cc,n]	NA[cc,n]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	78.7[w,u]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	49.7[x,u]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	56.2[y,u]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	NA[hh]	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	NA[o,n]	NA[o,n]	NA[o,n]	-	26.1[v,u]	-	-	-	-	-
	-	-	-	NA[dd,n]	NA[dd,n]	NA[dd,n]	-	NR[z,u,bb]	-	NA[q,n]	NA[q,n]	NA[q,n]	-
60	-	-	-	NA[c,n]	NA[c,n]	NA[c,n]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	NA[l,n]	NA[l,n]	NA[l,n]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	NA [ii]	NA [ii]	NA[ii]	-	-	-	-	-	-	-
75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[b,i,n]	NA[b,i,n]	NA[b,i,n]	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[p,n]	NA[p,n]	NA[p,n]	-
100	NA[aa,n]	NA[aa,n]	NA[aa, n]	258[d]	262[d,g]	260[d]	-	15.3[v,u]	-	NA[e,n]	NA[e,n]	NA[e,n]	-
	NA[cc,n]	NA[cc,i]	NA[cc, i]	NA[o,n]	390[o]	298[o]	-	-	-	NA[f,n]	NA[f,n]	NA[f,n]	-
	-	-	-	-	242[t,u]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	336[y,u]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	NA[hh]	-	-	-	-	-	-	-	-
Human Dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[ee]

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)													
RDC-8439													
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)													
Dose[a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M + F
120	-	-	-	270[x,u]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	514[w,u]	-	-	-	-	-	-	-	-
125[ff]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[r,s]	NA[r,s]	NA[r,s]	-
150	-	-	-	411[c]	442[c]	427[c]	-	214[z,u]	-	348[q,u]	476[q]	NA[gg]	-
	-	-	-	485[j]	NA[j,n]	559[j]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	406[dd,u]	503[dd]	NA[gg]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	396 [ii]	436 [ii]	416[ii]	-	-	-	-	-	-	-
150 (119)[m]	-	-	-	226[l]	510[l]	368[l]	-	-	-	-	-	-	-
150/2[k]	-	-	-	NA[j,n]	NA[j,n]	NA[j, n]	-	-	-	-	-	-	-
200	-	-	-	-	766[t,u]	-	-	182[v,u]	-	-	-	-	-
250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	844[p]	884[p]	864[p]	-
300	531[aa,u]	550[aa]	NA[aa,i]	1140[d]	1080[d, g]	1100[d]	-	-	-	961[e]	939[e]	950[e]	-
	326[cc]	NA[cc,n]	339[cc]	959[o,u]	1710[o,u]	NA[o,i]	-	-	-	610[f]	1130[f]	784[f]	-
350	-	-	-	-	-	-	-	197[v,u]	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	275[z,u]	-	-	-	-	-
375[ff]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[r,s]	NA[r,s]	NA[r,s]	-
400	-	-	-	776[x,u]	-	-	-	-	-	2780[b]	1070[b,u]	NA[gg]	-
	-	-	-	-	1780[t,u]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	2140[y,u]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	2130[hh]	-	-	-	-	-	-	-	-
Human Dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[ee]

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)													
RDC-8439													
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)													
Dose[a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M + F
450	-	-	-	614[l,u]	1770[l]	NA[gg]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	2520[w,u]	-	-	-	-	-	-	-	-
500	-	-	-	1060[h]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
600	-	-	-	1690[c,u]	2970[c,u]	NA[c,i]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	2690[j]	4280[j]	3480[j]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	3260[t,u]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	1330[ii]	1180 [ii]	1260[ii]	-	-	-	-	-	-	-
600/9[k]	-	-	-	2040[j]	3570[j,u]	NA[j,i]	-	-	-	-	-	-	-
840[ff]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[r,s]	NA[r,s]	NA[r,s]	-
1000	2030[aa,u]	1970[aa,u]	NA[aa,i]	4870[d,g]	5530[d,g]	5180[d,g]	-	-	-	NA[e,n]	2600[e]	NA[e]	-
	-	2220[cc]	-	-	-	-	-	-	-	NA[f,n]	NA[f,n]	NA[f,n]	-
	-	-	-	4970[h]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2000	-	-	-	27400[h]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Human dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[ee]

- = no data; AUC_{0-24h} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration >LLOQ; F = female; DRF = diroximel fumarate; LLOQ = lower limit of quantitation; M = male; NA = not applicable; PND = postnatal day.

[a] Unless specified otherwise, all doses are expressed as mg of DRF per kg of body weight per day.
[b] 14-Day Toxicity with 14-Day Recovery (Day 14: Study AT-5108-07).
[c] 14-Day Toxicity with 14-Day Recovery (Day 14: Study AT-5108-05).
[d] 5-Day Range-Finding Toxicity (Day 5: Study AT-5108-04).
[e] Dose Range-Finding and 5-Day Toxicity (Phase A, Single-Dose Escalation: Study AT-5108-06).
[f] Dose Range-Finding and 5-Day Toxicity (Phase B Day 5: Study AT-5108-06).
[g] AUC_{0-24h} calculated with greater than 25% extrapolation.
[h] In Vivo Micronucleus and Comet Assay (Study AT-5108-23).
[i] AUC_{0-24h} not reported due to a percent extrapolated greater than 25%.
[j] 28-Day Study Evaluating DRF and DRF Containing *Impurity C Impurity (Day 28: AT-5108-25).
[k] Doses are expressed as mg of DRF/*Impurity C per kg of body weight per day.
[l] 91-Day Toxicity with 28-Day Recovery (Day 91: Study AT-5108-13).

*新薬承認情報提供時に置き換え

[m] Actual dose for Day 91 was 119 mg/kg.
[n] AUC not reported due to less than three consecutive quantifiable concentrations.
[o] 26-Week Toxicity with 4-Week Recovery (Day 182: Study AT-5108-15).
[p] 91-Day Toxicity with 28-Day Recovery (Day 91: Study AT-5108-14).
[q] 39-Week Toxicity with 4-Week Recovery (Day 273: Study AT-5108-16).
[r] 2-Week Local Tolerance with an Extended Release Formulation with 2-Week Recovery (Day 14: AT-5108-24).
[s] All samples below the limit of quantitation.
[t] Dose Range-Finding on Embryofetal Development (gestation day 17: AT-5108-17).
[u] Reported as $AUC_{last.}$
[v] Dose Range-Finding on Embryofetal Development (gestation day 20: AT-5108-18).
[w] Fertility and Early Embryonic Development to Implantation (Study Day 13: AT-5108-20).
[x] Fertility and Reproduction (Study Day 27: AT-5108-19).
[y] Embryofetal Development (Gestation Day 17: AT-5108-21).
[z] Embryofetal Development (Gestation Day 20: AT-5108-22).
[aa] 28-Day Dose Range-Finding Toxicity in CByB6F1 Mice (Study Day 27: AT-5108-29)
[bb] Insufficient data.
[cc] 6-Month Transgenic Mouse Carcinogenicity (Study Day 177: AT-5108-31)
[dd] 2-Year Rat Carcinogenicity (Study Day 182: AT-5108-26)
[ee] Exposure to RDC-8439 in humans often did not reach measurable levels (LLOQ = 25 ng/mL); thus, reliable AUC values could not be calculated.
[ff] Dose is expressed as mg DRF/day.
[gg] Combined M + F AUC values are not included due to reporting of AUC_{last} in males or females at this dose.
[hh] Pre- and Postnatal Development (Lactation Day 10: AT-5108-30).
[ii] Juvenile Rat Toxicology Study (PND Day 63: AT-5108-38)

3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)													
RDC-8439													
C_{max} (ng/mL)													
Dose[a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M + F
15	-	-	-	NA[y,p]	21.9[y]	10.9[y]	-	-	-	0[n]	0[n]	0[n]	-
25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	39.3[b]	14.0[b]	26.6[b]	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	57.1[m]	22.2[m]	39.7[m]	-
30	0.00[w]	18.9[w]	9.43[w]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	27.1[x]	67.1[x]	47.1[x]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	113[t]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	196[s]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	138[u]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	165[bb]	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	-	-	-	-	97.3[r]	-	-	-	-	-
	-	-	-	110[l]	258[l]	184[l]	-	-	-	74.3[n]	45.6[n]	59.9[n]	-
	-	-	-	204[y]	281[y]	242[y]	-	37.0[v]	-	-	-	-	-
60	-	-	-	211[c]	213[c]	212[c]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	141[j]	215[j]	178[j]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	202[cc]	206 [cc]	204[cc]	-	-	-	-	-	-	-
75	-	-	-	-	-	-	-	-	-	179[b]	156[b]	167[b]	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	170[m]	96.9[m]	133[m]	-
Human dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[z]

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)													
RDC-8439													
C_{max} (ng/mL)													
Dose[a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M + F
100	122[w]	69.6[w]	95.8[w]	311[d]	295[d]	303[d]	-	61.9[r]	-	432[e]	631[e]	532[e]	-
	138[x]	260[x]	199[x]	228[l]	572[l]	400[l]	-	-	-	100[f]	89.7[f]	94.9[f]	-
	-	-	-	-	472[q]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	416[u]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	367[bb]	-	-	-	-	-	-	-	-
120	-	-	-	280[t]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	611[s]	-	-	-	-	-	-	-	-
125[aa]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[o,p]	NA[o,p]	NA[o,p]	-
150	-	-	-	290[c]	387[c]	339[c]	-	248[v]	-	309[n]	276[n]	293[n]	-
	-	-	-	446[h]	932[h]	689[h]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	343[y]	608[y]	476[y]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	383 [cc]	622 [cc]	503[cc]	-	-	-	-	-	-	-
150 (119)[k]	-	-	-	247[j]	540[j]	393[j]	-	-	-	-	-	-	-
150/2[i]	-	-	-	464[h]	802[h]	633[h]	-	-	-	-	-	-	-
200	-	-	-	-	917[q]	-	-	300[r]	-	-	-	-	-
250	-	-	-	-	-	-	-	-	-	271[m]	293[m]	282[m]	-
300	402[w]	493[w]	447[w]	562[d]	685[d]	611[d]	-	-	-	588[e]	716[e]	652[e]	-
	570[x]	752[x]	661[x]	467[l]	1020[l]	743[l]	-	-	-	532[f]	540[f]	536[f]	-
350	-	-	-	-	-	-	-	326[r]	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	351[v]	-	-	-	-	-
375[aa]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[o,p]	NA[o,p]	NA[o p]	-
Human dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[z]

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)													
RDC-8439													
C_{max} (ng/mL)													
Dose[a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M + F
400	-	-	-	739[t]	-	-	-	-	-	647[b]	550[b]	598[b]	-
	-	-	-	-	2300[q]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	1270[u]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	1530[bb]	-	-	-	-	-	-	-	-
450	-	-	-	558[j]	934[j]	746[j]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	1370[s]	-	-	-	-	-	-	-	-
500	-	-	-	541[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
600	-	-	-	1190[c]	1450[c]	1320[c]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	1300[h]	1850[h]	1580[h]	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	2830[q]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	981 [cc]	1260 [cc]	1120[cc]	-	-	-	-	-	-	-
600/9[i]	-	-	-	825[h]	2280[h]	1550[h]	-	-	-	-	-	-	-
840[aa]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[o,p]	NA[o,p]	NA[o,p]	-
1000	998[w]	1360[w]	1180[w]	1990[d]	1530[d]	1760[d]	-	-	-	954[e]	1430[e]	1190[e]	-
	-	2650[x]	-	-	-	-	-	-	-	1240[f]	582[f]	911[f]	-
	-	-	-	2060[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2000	-	-	-	3850[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Human dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	NA[z]

- = no data; C_{max} = maximum observed concentration; DRF = diroximel fumarate; F = female; LLOQ = lower limit of quantitation; M = male; NA = not applicable; PND = postnatal day.

[a] Unless specified otherwise, all doses are expressed as mg of DRF per kg of body weight per day.
[b] 14-Day Toxicity with 14-Day Recovery (Day 14: Study AT-5108-07).
[c] 14-Day Toxicity with 14-Day Recovery (Day 14: Study AT-5108-05).
[d] 5-Day Range-Finding Toxicity (Day 5: Study AT-5108-04).
[e] Dose Range-Finding and 5-Day Toxicity (Phase A, Single-Dose Escalation: Study AT-5108-06).
[f] Dose Range-Finding and 5-Day Toxicity (Phase B Day 5: Study AT-5108-06).
[g] In vivo micronucleus and comet assay (Study AT-5108-23).

[h] 28-Day Study Evaluating DRF and DRF Containing *Impurity C Impurity (Day 28: AT-5108-25).
[i] Doses are expressed as mg of DRF/*Impurity C per kg of body weight per day.
[j] 91-Day Toxicity with 28-Day Recovery (Day 91: Study AT-5108-13).
[k] Actual dose for Day 91 was 119 mg/kg.
[l] 26-Week Toxicity with 4-Week Recovery (Day 182: Study AT-5108-15).
[m] 91-Day Toxicity with 28-Day Recovery (Day 91: Study AT-5108-14).
[n] 39-Week Toxicity with 4-Week Recovery (Day 273: Study AT-5108-16).
[o] 2-Week Local Tolerance with an Extended Release Formulation with 2-Week Recovery (Day 14: AT-5108-24).
[p] All samples below the limit of quantitation.
[q] Dose Range-Finding on Embryo/fetal Development (Gestation Day 17: AT-5108-17).
[r] Dose Range-Finding on Embryo/fetal Development (Gestation Day 20: AT-5108-18).
[s] Fertility and Early Embryonic Development to Implantation (Study Day 13: AT-5108-20).
[t] Fertility and Reproduction (Study Day 27: AT-5108-19).
[u] Embryo/fetal Development (Gestation Day 17: AT-5108-21).
[v] Embryo/fetal Development (Gestation Day 20: AT-5108-22).
[w] 28-Day Dose Range-Finding Toxicity in CByB6F1 Mice (Study Day 27: AT-5108-29).
[x] 6-Month Transgenic Mouse Carcinogenicity (Study Day 177: AT-5108-31).
[y] 2-Year Rat Carcinogenicity (Study Day 182: AT-5108-26).
[z] Exposure to RDC-8439 in humans often did not reach measurable levels (LLOQ = 25 ng/mL) and thus, a reliable C_{max} value was not obtained.
[aa] Dose is expressed as mg DRF/day.
[bb] Pre- and Postnatal Development (Lactation Day 10: AT-5108-30).
[cc] Juvenile Rat Toxicology Study (PND Day 63: AT-5108-38).

3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)													
HES (also referred to as RDC-6567)													
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)													
Dose [a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M + F
15	-	-	-	57000[j]	24800[b,j,f]	NA[l]	-	-	-	95500[d]	78900[d]	87200[d]	-
30	35700[h]	38400[h]	37100[h]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	42300[i]	37300[i]	39800[i]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	160000[e,f]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	103000[m]	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	115000[b,c,f]	101000[b, c,f]	NA[l]	-	-	-	243000[d]	248000[d]	245000[d]	-
	-	-	-	177000[j]	83900[b,j,f]	NA[l]	-	155000[g,f]	-	-	-	-	-
60	-	-	-	199000[n]	145000[n]	172000[n]	-	-	-	-	-	-	-
100	102000[h]	84800[h]	93500[h]	432000[c]	321000[c]	376000[c]	-	-	-	-	-	-	-
	123000[i]	97100[i]	110000[i]	-	352000[e,f]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	246000[m]	-	-	-	-	-	-	-	-
150	-	-	-	572000[j]	374000[j]	473000[j]	-	-	-	607000[d]	601000[d]	604000[d]	-
	-	-	-	-	-	-	-	421000[g,f]	-	-	-	-	-
	-	-	-	400000[n]	335000[n]	368000[n]	-	-	-	-	-	-	-
300	243000[h]	197000[h]	220000[h]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	287000[i]	163000[i]	225000[i]	1330000[c]	856000[c]	1090000[c]	-	-	-	-	-	-	-
350	-	-	-	-	-	-	-	1030000[g,f]	-	-	-	-	-
400	-	-	-	-	1180000[e,f]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	622000[m]	-	-	-	-	-	-	-	-
600	-	-	-	1750000[n]	1140000[n]	1440000[n]	-	-	-	-	-	-	-
1000	1380000[h]	935000[h]	1160000[h]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	855000[i]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Human dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	227000[k]

- = no data; AUC_{0-24h} = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration >LLOQ; BID = bis in die; DRF = diroximel fumarate; F = female; LLOQ = lower limit of quantitation; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; M = male; NA = not applicable; PND = postnatal day.

[a] Unless specified otherwise, all doses are expressed as mg of DRF per kg of body weight per day.
[b] AUC_{0-24h} not reported due to greater than 25% extrapolation
[c] 26-Week Toxicity with 4-Week Recovery (Day 182: Study AT-5108-15).
[d] 39-Week Toxicity with 4-Week Recovery (Day 273: Study AT-5108-16).
[e] Embryofetal Development (Gestation Day 17: AT-5108-21).
[f] Reported as $AUC_{last.}$
[g] Embryofetal Development (Gestation Day 20: AT-5108-22).
[h] 28-Day Dose Range-Finding Toxicity in CByB6F1 Mice (Study Day 27: AT-5108-29).
[i] 6-Month Transgenic Mouse Carcinogenicity (Study Day 177: AT-5108-31).
[j] 2-Year Rat Carcinogenicity (Study Day 182: AT-5108-26).
[k] Clinical exposure for HES (AUC_{0-24h}) was obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 mg BID) mg/day of DRF.
[l] Combined M + F AUC values are not included due to reporting of AUC_{last} in males or females at this dose.
[m] Pre- and Postnatal Development (Lactation Day 10: AT-5108-30).
[n] Juvenile Rat Toxicology Study (PND Day 63: AT-5108-38).

3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)													
HES (also referred to as RDC-6567)													
C_{max} (ng/mL)													
Dose [a]	Mouse			Rat			Rabbit			Monkey			Human
(mg/kg/day)	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M	F	M + F	M + F
15	-	-	-	6630[h]	7330[h]	6360[h]	-	-	-	7440[c]	6550[c]	6990[c]	-
30	17400[f]	16800[f]	17100[f]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	17400[g]	19200[g]	18300[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
40	-	-	-	-	21100[d]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	16200[j]	-	-	-	-	-	-	-	-
50	-	-	-	24500[b]	26900[b]	25700[b]	-	-	-	21000[c]	21400[c]	21200[c]	-
	-	-	-	21600[h]	21100[h]	21400[h]	-	24600[e]	-	-	-	-	-
60	-	-	-	32200[k]	20700[k]	26400[k]	-	-	-	-	-	-	-
100	46100[f]	33400[f]	39800[f]	39200[b]	40300[b]	39700[b]	-	-	-	-	-	-	-
	48500[g]	53900[g]	51200[g]	-	42600[d]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	43500[j]	-	-	-	-	-	-	-	-
150	-	-	-	48000[h]	44200[h]	44300[h]	-	-	-	63400[c]	57700[c]	60500[c]	-
	-	-	-	-	-	-	-	57900[e]	-	-	-	-	-
	-	-	-	45900[k]	50900[k]	45800[k]	-	-	-	-	-	-	-
300	103000[f]	65900[f]	84400[f]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	116000[g]	80500[g]	98200[g]	90300[b]	69500[b]	77400[b]	-	-	-	-	-	-	-
350	-	-	-	-	-	-	-	135000[e]	-	-	-	-	-
400	-	-	-	-	102000[d]	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	70600[j]	-	-	-	-	-	-	-	-
600	-	-	-	171000[k]	143000[k]	157000[k]	-	-	-	-	-	-	-
1000	198000[f]	199000[f]	199000[f]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	227000[g]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Human Dose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11000[i]

- = no data; BID = twice daily; C_{max} = maximum observed concentration; DRF = diroximel fumarate; F = female; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; M = male; PND = postnatal day.

[a] Unless specified otherwise, all doses are expressed as mg of DRF per kg of body weight per day.
[b] 26-Week Toxicity with 4-Week Recovery (Day 182: Study AT-5108-15).
[c] 39-Week Toxicity with 4-Week Recovery (Day 273: Study AT-5108-16).
[d] Embryofetal Development (Gestation Day17: AT-5108-21).
[e] Embryofetal Development (Gestation Day 20: AT-5108-22).
[f] 28-Day Dose Range-Finding Toxicity in CByB6F1 Mice (Study Day 27: AT-5108-29).
[g] 6-Month Transgenic Mouse Carcinogenicity (Study Day 177: AT-5108-31).
[h] 2-Year Rat Carcinogenicity (Study Day 182: AT-5108-26).
[i] Clinical exposure for HES (AUC_{0-24h}) was obtained from Study ALK8700-A107 at a daily dose of 924 (462 mg BID) mg/day of DRF.
[j] Pre- and Postnatal Development (Lactation Day 10: AT-5108-30).
[k] Juvenile Rat Toxicology Study (PND Day 63: AT-5108-38).

4 毒性試験：使用ロット

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Batch No.	Assay[a] (%)	Specified Impurities (wt%)		Study Number	Type of Study
		*Impurity A[a]	*Impurity B[a]		
Proposed Acceptance Criteria	[redacted]	NMT [redacted]	NMT [redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	AT-5108-04	Five-day oral dose range-finding toxicity study in rats
				AT-5108-05	2-week oral dose toxicity and toxicokinetics study in rats with a 2-week recovery period
				AT-5108-06	Oral dose range-finding toxicity study in cynomolgus monkeys
				AT-5108-07	2-week oral dose toxicity and toxicokinetics study in cynomolgus monkeys with a 2-week recovery period
				AT-5108-11	Bacterial reverse mutation assay
				AT-5108-12	In vitro mammalian chromosome aberration assay in human peripheral blood lymphocytes
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	AT-5108-13	91-day oral (gavage) toxicity and toxicokinetics study in rats with a 28-day recovery period
				AT-5108-14	91-day oral (gavage) toxicity and toxicokinetics study in monkeys with a 28-day recovery period
				AT-5108-23	In vivo micronucleus and comet assay in rats
				AT-5108-25	28-day oral (gavage) toxicity study evaluating DRF and DRF containing *Impurity C impurity in rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	AT-5108-13	91-day oral (gavage) toxicity and toxicokinetics study in rats with a 28-day recovery period
				AT-5108-14	91-day oral (gavage) toxicity and toxicokinetics study in monkeys with a 28-day recovery period
				AT-5108-24	14-day oral (gavage) local tolerance study with an extended release formulation in monkeys with a 14-day recovery period
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	AT-5108-25	28-day oral (gavage) toxicity study evaluating DRF and DRF containing *Impurity C impurity in rats

*新薬承認情報提供時に置き換え

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Batch No.	Assay[a] (%)	Specified Impurities (wt%)		Study Number	Type of Study
		*Impurity A[a]	*Impurity B[a]		
Proposed Acceptance Criteria	[redacted]	NMT [redacted]	NMT [redacted]		
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	AT-5108-15	26-week oral (gavage) toxicity and toxicokinetics study in rats with a 4-week recovery period
				AT-5108-16	39-week oral (gavage) dose toxicity and toxicokinetics study in monkeys with a 4-week recovery period
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	AT-5108-17	An oral (gavage) dose range-finding study of embryofetal development in rats
				AT-5108-18	An oral (gavage) dose range-finding study of embryofetal development in rabbits
				AT-5108-19	An oral (gavage) evaluation of fertility and reproduction in male rats
				AT-5108-20	An oral (gavage) evaluation of fertility and early embryonic development to implantation in female rats
				AT-5108-21	An oral (gavage) study on embryofetal development in rats
				AT-5108-22	An oral (gavage) study on embryofetal development in rabbits
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	AT-5108-26	A 104-week oral (gavage) carcinogenicity study in rats
				AT-5108-29	5-day/28-day oral (gavage) range-finding study in wild-type littermates of rasH2-Tg mice
				AT-5108-30	An oral (gavage) study of pre- and postnatal development, including maternal function in rats
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	AT-5108-31	A 26-week repeated dose oral (gavage) carcinogenicity study in rasH2-Tg mice
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	AT-5108-38	6-week oral (gavage) toxicity study in juvenile rats with a 6-week recovery period

DRF = diroximel fumarate; NMT = not more than; ND = not detected; Tg = transgenic; wt% = percent by weight.

[a] Assay and related impurities (*Impurity A and *Impurity B) values reported in this table are from a bridging analysis using the current method and therefore, differ from the values reported on the Certificates of Analysis. The exception is Batch [redacted], for which the original data are reported.

*: Values from bridging analysis using the current method ([redacted]).

5 単回投与毒性試験

本薬の単回投与毒性試験は実施していない。

6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

6A ラットを用いた 5 日間反復経口投与毒性試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)							
Report Title: A Five-Day Oral Dose Range-Finding Toxicity Study of RDC-5108 in Rats						Study Number: AT-5108-04	
Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Location in CTD
Rat/ CD® [Crl: CD®(SD)]	Oral gavage, 10 mL/kg (50 mM citrate buffer containing 0.5% (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) polysorbate 20, pH ~4)	5 days	0, 100, 300, 1000[a]	5M/ 5F	NA	Vehicle control (0 mg/kg/day) and 100 mg/kg/day-treated animals had no noteworthy findings. One animal (F) treated with 100 mg/kg/day DRF had microscopic changes in the kidney (tubular degeneration). Animals at 300 mg/kg/day DRF had microscopic changes in the glandular (1M) and nonglandular stomach as well as the kidney (F). Animals treated with 1000 mg/kg/day DRF had inappetence, hunched posture, thin appearance, piloerection, and vocalization; decreased body weights and food consumption; and microscopic changes in the glandular and nonglandular stomach (e.g., erosion/ulcer and mucosal hyperplasia), duodenum (mucosal hyperplasia), and kidney (tubular degeneration). MTD was 300 mg/kg/day.	4.2.3.2-2

6A　　ラットを用いた 5 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: A Five-Day Oral Dose Range-Finding Toxicity Study of RDC-5108 in Rats			Study Number: AT-5108-04	
Dose Level (mg/kg/day)	0	100	300	1000
Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes): Monomethyl Fumarate				
Day 5				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA[b]	11000	36300	114000
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	10900	19900	56300
Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes): RDC-8439				
Day 5				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA[b]	260	1100	5180
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	303	611	1760

$AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; DRF = diroximel fumarate; F = female; M = male; LV = low viscosity; MTD = maximum tolerated dose; NA = not applicable; NOAEL = no-observed adverse effect level; w = weight.

[a] A separate control group received the vehicle, 50 mM citrate buffer containing 0.5% (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) polysorbate 20, pH ~4, on each day of dosing.

[b] All samples below the assay limit of quantitation (50 ng/mL).

6B　　サルを用いた単回及び５日間反復経口投与毒性試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)							
Report Title: An Oral Dose Range-Finding Toxicity Study of RDC-5108 in Cynomolgus Monkeys						Study Number: AT-5108-06	
Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Location in CTD
Monkey, Cynomolgus	Oral gavage (50 mM citrate buffer containing 0.5% (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) polysorbate 20, pH ~4)	Phase A: Single escalating dose on Days 1, 5, 8, 12 (M) or 13 (F)	0→100→300 →1000	1M/ 1F	NA	Vomitus, decreased calcium, and increased urea nitrogen and creatinine in F at 1000 mg/kg/day.	4.2.3.2-6

6B　　サルを用いた単回及び５日間反復経口投与毒性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)						
Report Title: An Oral Dose Range-Finding Toxicity Study of RDC-5108 in Cynomolgus Monkeys						Study Number: AT-5108-06
Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. Per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings
Monkey, Cynomolgus	Oral gavage (50 mM citrate buffer containing 0.5% (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) polysorbate 20, pH ~4)	Phase B: Repeat-dose for 5 Days	0 (vehicle control), 100, 300, 1000[a]	2M/ 2F	NA	Vehicle control (0 mg/kg/day) had no noteworthy findings. Animals treated with 100 mg/kg/day DRF had microscopic changes in stomach (mucosal degeneration/necrosis in 1M that was possibly DRF-related, hemorrhage in 1F) and kidney (tubular degeneration in 1F). Animals treated with 300 mg/kg/day DRF had emesis, vomitus, and watery feces (F); microscopic changes in stomach (acute inflammation, glandular dilatation in 1M) and kidney (mild to minimal tubular degeneration/ regeneration in all animals). Mild decreases in lymphocytes also were observed[a]. Animals treated with 1000 mg/kg/day DRF had emesis, vomitus, and watery feces; microscopic changes in stomach (hemorrhage in 1M and both F) and kidney (minimal tubular degeneration/ regeneration in all animals). Mild decreases in lymphocytes in F also were observed[a]. MTD was 100 mg/kg/day.

6B　　サルを用いた単回及び５日間反復経口投与毒性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: An Oral Dose Range-Finding Toxicity Study of RDC-5108 in Cynomolgus Monkeys			Study Number: AT-5108-06	
Dose Level (mg/kg/day)	0 (vehicle control)	100	300	1000
Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes) – Phase A (Single Dose): MMF				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA[b]	34500	116000	168000
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	31200	58400	82300
Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes) – Phase A (Single Dose): RDC-8439				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA[b]	NA[c]	950	2600
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	532	652	1190
Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes) – Phase B (Repeat-Dose): MMF				
Day 1				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA[b]	26000	81900	152000
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	16100	34400	114000
Day 5				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA[b]	17000	88100	155000
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	9820	42800	116000
Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes) – Phase B (Repeat-Dose): RDC-8439				
Day 1				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA[b]	264[d]	807	2130
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	214	570	1930
Day 5				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA[b]	NA[c]	784	NA[c]
C_{max} (ng/mL)	NA[b]	94.9	536	911

$AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; DRF = diroximel fumarate; F = female; LV = low viscosity; M = male; MTD = maximum tolerated dose; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; NOAEL = no-observed adverse effect level.

[a] The Clinical Pathologist at the test facility interpreted the mildly decreased lymphocyte counts to be incidental due to the lack of dose-response relationship, overlap with expected ranges, and lack of microscopic correlates.

[b] All samples below the assay limit of quantitation (50 ng/mL).

[c] AUC not reported due to less than three consecutive quantifiable concentrations.

[d] $AUC_{0\text{-}24h}$ value was calculated with greater than 25% extrapolation.

7 反復投与毒性試験：重要な試験

7A マウスを用いた 5 日間及び 28 日間反復経口投与毒性試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)													
Report Title: RDC-5108: 28-Day Repeated Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in CByB6F1 Mice with a Preliminary 5-Day Range-finding Phase													
Species/Strain: Mouse/CByB6F1 (rasH2-Tg non-transgenic wild-type littermates)				Duration of Dosing: 28 days						Study Number: AT-5108-29			
Initial Age: Phase 1: 7 and 9 weeks, Phase 2: 10-14 weeks (males) and 10-12 weeks (females)										Location in CTD: 4.2.3.2-1			
Date of First Dose: Phase 1: [redacted] and [redacted] 20[redacted] (Groups 1 to 6 males and females), [redacted] 20[redacted] (Group 7) Phase 2: [redacted] and [redacted] Dec 20[redacted]				Method of Administration: Oral gavage						GLP Compliance: Yes			
Vehicle/Formulation: 50 mM citrate buffer containing 0.5% (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) polysorbate 20 in deionized water, pH 4 ± 0.1													
Special Features: None													
Maximum Tolerated Dose: 300 mg/kg/day for males and 1000 mg/kg/day for females													
PHASE 1: 5-DAY													
Dose Level (mg/kg/day)	0 (vehicle control)		50		100		200		600		1000		3000	
Sex: Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5:	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 4	F: 4
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4
Noteworthy Findings														
Clinical Observations														
Decreased motor activity	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4
Tremors	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Prostrate posture	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

7A　　マウスを用いた 5 日間及び 28 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: 28-Day Repeated Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in CByB6F1 Mice with a Preliminary 5-Day Range-finding Phase								Study Number: AT-5108-29		
PHASE 2: 28-DAY, TOXICITY										
Dose Level (mg/kg/day)	0 (vehicle control)		30		100		300		1000	
Sex: Number of TK Animals	8	8	20	20	38	38	38	38	38	38
Toxicokinetics[a]:										
MMF										
C_{max} (ng/mL)										
Day 1	NA		NA		9040		25700		65800	
Day 27	NA		2190		7370		26200		61900	
AUC_{last} (ng*h/mL)										
Day 1	NA		NA		4060		13500		66400	
Day 27	NA		NA[b]		NA[b]		12200		65000	
RDC-6567										
C_{max} (ng/mL)										
Day 1	NA		NA		41500		97600		200000	
Day 27	NA		17100		39800		84400		199000	
AUC_{last} (ng*h/mL)										
Day 1	NA		NA		70700		279000		756000	
Day 27	NA		33600		83200		220000		1160000	
RDC-8439										
C_{max} (ng/mL)										
Day 1	NA		NA		150		451		1330	
Day 27	NA		9.43[c]		95.8		447		1180	
AUC_{last} (ng*h/mL)										
Day 1	NA		NA		NA[b]		348		2950	
Day 27	NA		NA[b]		NA[b]		541		2000	

7A　　マウスを用いた 5 日間及び 28 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: 28-Day Repeated Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in CByB6F1 Mice with a Preliminary 5-Day Range-finding Phase								Study Number: AT-5108-29		
PHASE 2: 28-DAY, TOXICITY										
Sex: Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Noteworthy Findings:										
Clinical Observations										
Decreased motor activity	0	0	0	0	0	0	1	1	10	10
Labored/rapid/shallow breathing	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6
Ruffled fur	0	0	0	0	0	0	1	0	9	0
Prostrate/hunched posture	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3
Thin appearance	0	0	0	0	0	0	0	0	9	1
Hematology[d]										
Red blood cells (M/µL)	13.224	11.796	-	-	-	-	-	-	↓ 10.6*	↓ 3.1
Hemoglobin (g/dL)	20.12	18.62	-	-	-	-	-	-	↓ 11.9*	↓ 6.8
Hematocrit (%)	71.94	63.58	-	-	-	-	-	-	↓ 12.8*	↓ 3.8
Absolute Reticulocytes (10^9/L)	322.68	265.72	-	-	-	-	-	-	↑ 26.6*	↑ 47.7*
Absolute Neutrophil (K/µL)	-	0.378	-	-	-	-	-	-	-	↑ 197.4*
Clinical chemistry[d]										
Glucose (mg/dL)	113.5	119.0	-	-	-	-	↑ 20.4*	-	↑ 22.8*	↑ 26.7*
Alkaline phosphatase (U/L)	137.2	174.4	↓ 16.8*	-	↓ 19.8*	-	↓ 21.3*	↓ 14.7*	↓ 26.7*	↓ 36.5*
Organ weight (g)[d]										
Absolute Kidney	0.47704	0.32925	-	-	-	-	-	↑ 7.7*	-	↑ 15.7*
Relative Kidney	1.78366	1.46844	-	-	-	-	↑ 12.6*	↑ 7.4*	-	↑ 13.8*
Absolute Liver	1.36031	1.10384	-	-	-	-	-	-	-	↑ 24.9*
Relative Liver	5.07533	4.92603	-	-	-	-	-	-	↑ 13.7*	↑ 22.9*
Absolute Testes	0.25192	NA	-	NA	-	NA	-	NA	↓ 31.8*	NA
Relative Testes	0.94471	NA	-	NA	-	NA	-	NA	↓ 27.7*	NA
Absolute Spleen	0.07751	-	↓ 14.2%*	-	-	-	-	-	-	-

7A　　マウスを用いた 5 日間及び 28 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: 28-Day Repeated Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in CByB6F1 Mice with a Preliminary 5-Day Range-finding Phase								Study Number: AT-5108-29		
PHASE 2: 28-DAY, TOXICITY										
Histopathology Findings										
Testes										
Giant Spermatids (Minimal)	1	NA	1	NA	0	NA	1	NA	8	NA
Decreased Spermatids (Minimal)	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Epididymides										
Debris (Minimal to Moderate)	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	5	NA
Non-Glandular Stomach										
Epithelial Hyperplasia (Minimal to Moderate)	0	0	0	0	0	0	0	0	7	6
Hyperkeratosis (Minimal to Moderate)	0	0	0	0	0	0	0	0	7	7
Nasal Cavity										
Inflammation, Chronic-Active (Minimal)	0	0	0	0	0	1	0	0	6	7
Kidney										
Epithelial Hypertrophy, Cortex (Minimal to Mild)	0	0	0	0	0	0	0	5	0	10
Liver										
Centrilobular Hypertrophy (Minimal to Mild)	0	0	0	0	0	0	0	0	5	6
Spleen										
Hematopoiesis (Minimal to Mild)	3	2	1	2	0	4	2	2	9	10

- = no noteworthy findings; ↓ = decreased, ↑ = increased; * = statistically significant ($p < 0.05$) when compared to vehicle controls; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration >LLOQ; BLQ = below the limit of quantitation; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; LLOQ = lower limit of quantitation; LV = low viscosity; M = male; NA = not applicable; TK = toxicokinetic.

[a] Toxicokinetic parameters were not determined at 30 mg/kg on Day 1 (samples were collected on Day 27 only).

[b] AUC not reported due to less than three consecutive quantifiable concentrations.

[c] All concentrations for males at 30 mg/kg on Day 27 were BLQ (< 50.0 ng/mL).

[d] Group means are presented for the vehicle control group; for other groups, percent differences from the vehicle control group are presented, if the group means are significantly different.

7B　　ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 2-week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 2-Week Recovery Period								
Species/Strain: Rat/ CD® [Crl: CD®(SD)]			Duration of Dosing: 14 Days			Study No. AT-5108-05		
Initial Age: Approximately 6 to 7 weeks at receipt			Duration of Postdose: 14 Days			Location in CTD: 4.2.3.2-3		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			Method of Administration: Oral gavage			GLP Compliance: Yes		
Vehicle/ Formulation: 50 mM citrate buffer containing 0.5% Methocel E50 Premium LV and 0.2% polysorbate 20, pH 4 ± 0.1								
Special Features: None								
No-Observed Adverse Effect Level: 600 mg/kg								
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		60		150		600	
Number of TK Animals	M: 3	F: 3	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Toxicokinetics[a]:								
MMF								
Day 1 (AUC) [b]	NA [c]		8520		24500		84300	
Day 14 (AUC) [b]	NA [c]		6770		14200		84800	
RDC-8439								
Day 1 (AUC) [b]	NA [c]		NR		NR		1250	
Day 14 (AUC) [b]	NA [c]		NR		383		2330	
Number of Main Study Animals	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-

7B　　ラットを用いた２週間反復経口投与毒性試験及び２週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 2-week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 2-Week Recovery Period							Study No. AT-5108-05	
MAIN STUDY ANIMALS								
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		60		150		600	
Number of Main Study Animals	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Hematology[d]								
Absolute Reticulocytes (10^3/mL)	277.64	176.89	316.23	185.66	295.28	193.43	399.79*	306.83**
Coagulation[d]								
APTT (sec)	16.06	14.19	16.73	13.92	15.40	14.30	14.54	11.92*
Clinical Chemistry[d]								
Phosphorus (mg/dL)	12.00	11.15	12.38	11.85	12.86	11.62	13.93**	12.12*
Triglyceride (mg/dL)	63.0	43.9	69.3	49.3	50.2	62.2**	53.3	67.4**
Organ Weights[e] (%)								
Kidneys (g)	2.876	1.922	+7	+8	+10	+9	+14*	+21**
Kidneys/BWt (%)	0.9048	0.9369	+7	+6	+13**	+10**	+22**	+24**
Kidneys/BrWt (ratio)	1.4331	1.0403	+12*	+9	+12*	+12*	+18**	+20**
Liver (g)	12.004	7.688	+3	+7	+8	+6	+11	+16**
Liver/BWt (%)	3.7691	3.7477	+3	+5	+12**	+7*	+18**	+19**
Liver/BrWt (ratio)	5.9745	4.16	+8	+7	+10	+9	+14**	+16**
Stomach (g)	2.124	1.604	+10	+11	+4	+8	+19**	+37**
Stomach/BWt (%)	0.6663	0.7841	+9	+8	+8	+9	+28**	+39**
Stomach/BrWt (ratio)	1.06	0.8675	+14*	+12	+6	+12	+23**	+37**

7B　　ラットを用いた２週間反復経口投与毒性試験及び２週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)							
Report Title: A 2-week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 2-Week Recovery Period						Study No. AT-5108-05	
MAIN STUDY ANIMALS							
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		60		150		600	
Number of Main Study Animals	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Gross Pathology[f]								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Stomach, nonglandular								
focus/foci, tan								
mild	0	0	0	0	0	0	1	1
irregular surface								
mild	0	0	0	0	0	0	1	2
moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology[f]								
Numbers Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Kidneys								
degeneration/necrosis, tubular								
minimal	0	0	0	0	0	0	0	4
Small intestines, duodenum								
hyperplasia, mucosal								
minimal	0	0	0	0	0	0	3	0
Stomach, nonglandular								
hyperplasia, squamous cell								
minimal	0	0	0	0	0	0	2	6
mild	0	0	0	0	0	0	0	3

7B　　ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 2-week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 2-Week Recovery Period						Study No. AT-5108-05		
RECOVERY ANIMALS								
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		60		150		600	
Number of Main Study Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrifice Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-

- = no noteworthy findings; * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; APTT = activated partial thromboplastin time; AUC = area under the concentration-time curve; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration >LLOQ; BWt = body weight; BrWt = brain weight; CTD = common technical document; GLP = Good Laboratory Practice; LLOQ = lower limit of quantitation; LV = low viscosity; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; NR = not recorded due to less than 3 consecutive quantifiable concentrations; TK = toxicokinetic.

[a] Group means (combined gender data) are shown for treated groups. There was insufficient exposure to diroximel fumarate in plasma to calculate toxicokinetic parameters.
[b] AUC was $AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL) for MMF and AUC_{last} (ng*h/mL) for RDC-8439.
[c] Only plasma concentrations of analytes were measured for the control group.
[d] Group means are shown.
[e] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.
[f] Reported as number observed

7C　　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)							
Report Title:　A 91-Day Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 28-Day Recovery Period							
Species/Strain: Rat /CD® [Crl: CD® (SD)]		Duration of Dosing: 91 days			Study Number: AT-5108-13		
Initial Age: Approximately 7.5 weeks at receipt		Duration of Postdose: 28 days			Location in CTD: 4.2.3.2-4		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Method of Administration: Oral gavage			GLP Compliance: Yes		
Vehicle/Formulation: 50 mM citrate buffer containing 0.5% Methocel E50 Premium LV and 0.2% polysorbate 20 in deionized water, pH 4 ± 0.1.							
Special Features: None							
No-Observed Adverse Effect Level: 150 mg/kg/day							
Dose Level (mg/kg/day)	0		60		150		450
Number of TK Animals	M: 3	F: 3	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Died or Sacrificed Moribund[a]	0		1		1		1
Toxicokinetics[b]:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes
MMF							
C_{max} (ng/mL)							
Day 1	NA		8000		25800		38800
Day 91	NA		7960		16700[c]		19400
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)							
Day 1	NA		5670		35300		87800
Day 91	NA		6720		16700[c]		43300
RDC-8439							
C_{max} (ng/mL)							
Day 1	NA		42.7		327		483
Day 91	NA		178		393[c]		746
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)							
Day 1	NA		NA[d]		413		NA[e]
Day 91	NA		NA[d]		368[c]		1340

7C　　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 91-Day Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 28-Day Recovery Period								
MAIN STUDY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	60	150	450	0	60	150	450
Number of Animals	15	10	10	15	15	10	10	15
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund[f]	0	0	0	3	0	0	0	1
Clinical Observations[g] (Weeks 1 to 13)								
Activity decreased	0/0	0/0	0/0	2/2	0/0	0/0	0/0	1/1
Posture hunched	0/0	0/0	0/0	3/2	0/0	0/0	0/0	11/1
Salivation	0/0	0/0	0/0	2/1	0/0	0/0	0/0	24/4
Thin	0/0	0/0	0/0	3/2	0/0	0/0	0/0	7/2
Mass Findings	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight[h] (g) (%)								
Day 7	361.1	-1	0	-7**	227.9	0	+1	-5*
Day 56	536.2	-4	-1	-17**	279.4	0	+1	-9*
Day 91	586.4	-3	0	-7*	293.9	+1	+4	-3
Food Consumption[h] (g/animal/day) (%)								
Week 1	26.61	-1	+1	-21**	17.47	0	-1	-32**
Week 8	28.63	-3	-1	-38**	18.07	-1	-1	-36**
Week 12	27.82	+1	+1	0	17.54	0	+8	-4
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology[i]								
Number Examined	10	10	10	7	10	10	10	9
Erythrocytes (10^6/μL)	9.034	9.099	8.970	8.049**	8.551	8.737	8.470	8.156
Hemoglobin (g/dL)	16.05	15.89	15.71	14.73**	15.78	16.11	15.90	15.67

7C　　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 91-Day Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 28-Day Recovery Period								
Hematocrit (%)	53.07	53.02	52.12	48.07**	51.10	52.14	51.78	50.97
Absolute Reticulocytes ($10^3/\mu L$)	152.29	194.65	194.38	179.04	158.05	163.34	187.72	216.92**
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	60	150	450	0	60	150	450
Coagulation[i]								
Number Examined	10	10	10	7	10	10	10	9
APTT (sec)	18.17	18.69	15.61*	15.61*	15.55	15.69	15.70	14.50
Fibrinogen (mg/dL)	342.1	314.7	335.9	293.9*	241.8	249.8	237.2	227.0
Clinical Chemistry[i]								
Number Examined	10	10	10	7	10	10	10	9
Phosphorus (mg/dL)	11.01	11.25	11.40	11.80	9.74	10.13	10.50	11.99**
Urea Nitrogen (mg/dL)	14.3	15.2	15.0	15.1	14.9	13.4	13.2	12.7*
Creatinine (mg/dL)	0.42	0.37	0.35**	0.30**	0.46	0.41	0.41	0.37**
Total Protein (g/dL)	6.75	6.75	6.89	6.43	7.77	7.59	7.65	7.23*
Globulin (g/dL)	3.30	3.25	3.31	2.93*	3.61	3.50	3.45	3.20**
Albumin/Globulin Ratio	1.06	1.08	1.09	1.20*	1.15	1.17	1.22	1.27**
Triglyceride (mg/dL)	70.9	62.1	80.5	71.7	45.2	43.7	52.7	62.4
Urinalysis[i]								
Number Examined	10	10	10	7	10	10	10	9
Volume (mL)	9.83	6.75	10.10	21.64*	4.92	5.53	4.57	13.39
Specific Gravity	1.0480[j]	1.0500[j]	1.0469	1.0284	1.0440[k]	1.0373[j]	1.0506[j]	1.0398[k]
Bone Marrow	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weight[h] (%)								
Number Examined	10	10	10	7	10	10	10	9
Kidneys (g)	3.907	+8	+21**	+43**	1.886	+17*	+25**	+44**
Kidneys/BWt (%)	0.7026	+12**	+24**	+58**	0.7194	+12	+18**	+45**
Kidneys/BrWt (ratio)	1.7865	+12	+25**	+50**	1.0068	+14*	+24**	+46**

7C　　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 91-Day Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 28-Day Recovery Period								
Liver (g)	16.660	+2	+11	+20**	7.742	+3	+16*	+25**
Liver/BWt (%)	2.9975	+5	+12	+33**	2.9420	-1	+10*	+26**
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	60	150	450	0	60	150	450
Liver/BrWt (ratio)	7.6110	+6	+13	+26**	4.1266	+1	+15**	+27**
Stomach (g)	2.463	+5	+21*	+36**	1.629	+11	+19**	+50**
Stomach/BWt (%)	0.4441	+9	+22**	+49**	0.6206	+8	+12	+53**
Stomach/BrWt (ratio)	1.1237	+10	+25**	+42**	0.8693	+9	+18**	+53**
Gross Pathology[l]								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Stomach, Nonglandular								
Nodule								
Present	0	0	0	1	0	0	0	0
Histopathology[l]								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Heart								
Inflammation/necrosis								
Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Kidneys								
Degeneration/regeneration, tubular								
Minimal	0	0	6	2	0	0	0	1
Mild	0	0	0	6	0	0	0	8
Liver								
Hypertrophy/hyperplasia, hepatocellular, panlobular								
Minimal	0	0	0	5	0	0	0	5
Small Intestine, Duodenum								
Hyperplasia, mucosal								

7C　　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 91-Day Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 28-Day Recovery Period								
Minimal	0	0	0	1	0	0	4	3
Mild	0	0	0	0	0	0	0	2

7C　　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 91-Day Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 28-Day Recovery Period								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	60	150	450	0	60	150	450
Histopathology[l] (Cont.)								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Stomach, Nonglandular								
Hyperplasia, squamous cell								
Minimal	0	0	1	5	0	0	1	6
Mild	0	0	2	2	0	0	0	3
RECOVERY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	NA	NA	0	0	NA	NA	0
Clinical Observations	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Mass Findings	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Dose Level (mg/kg/day)	0	60	150	450	0	60	150	450
Number of Recovery Animals	5	0	0	5	5	0	0	5
Body Weight[h] (g) (%)								
Day 98	561.8	NA	NA	-1	310.2	NA	NA	-13**
Day 119	600.2	NA	NA	-2	318.0	NA	NA	-9*
Food Consumption[h] (g/animal/day) (%)								
Week 14	25.10	NA	NA	+11	18.81	NA	NA	-6
Week 17	27.90	NA	NA	-6	18.45	NA	NA	-6
Ophthalmology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Hematology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Coagulation	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Clinical Chemistry	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Urinalysis	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-

7C　　ラットを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 91-Day Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 28-Day Recovery Period								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	60	150	450	0	60	150	450
Bone Marrow	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Organ Weights[h] (%)								
Number Examined	5	NA	NA	5	5	NA	NA	5
Kidneys (g)	3.959	NA	NA	+19**	2.029	NA	NA	+3
Kidneys/BWt (%)	0.6949	NA	NA	+21**	0.6861	NA	NA	+14*
Kidneys/BrWt (ratio)	1.8513	NA	NA	+20*	1.0518	NA	NA	+6
Stomach (g)	2.861	NA	NA	+6	1.974	NA	NA	+9
Stomach/BWt (%)	0.5011	NA	NA	+9	0.6672	NA	NA	+21*
Stomach/BrWt (ratio)	1.3323	NA	NA	+8	1.0232	NA	NA	+12
Gross Pathology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Histopathology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-

- = no noteworthy findings; * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; APTT = activated partial thromboplastin time; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; BWt = body weight; BrWt = brain weight; CTD = common technical document; GLP = Good Laboratory Practice; LV = low viscosity; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; TK = toxicokinetic.

[a] Three TK animals died or were euthanized during the study. One 60 mg/kg/day TK male was found dead on Day 23 and one 150 mg/kg/day TK male was euthanized in extremis on Day 75. One 450 mg/kg/day TK female died during blood collection on Day 91. These deaths were not considered to be test article-related.

[b] Group means (combined gender data) are shown for treated groups; only plasma concentrations of analytes were measured for the control group. There was insufficient exposure to diroximel fumarate in plasma to calculate TK parameters.

[c] The actual dose of 119 mg/kg/day was used on Day 91 instead of 150 mg/kg/day due to the formulations failing to meet the acceptance criteria for recovery (±15%).

[d] AUC not reported due to less than three consecutive quantifiable concentrations.

[e] $AUC_{0\text{-}24h}$ not reported due to a percent extrapolated greater than 25%.

[f] One 450 mg/kg/day male died on Day 54 and two 450 mg/kg/day males died or were sacrificed in extremis on Day 58. The cause of death for these three males was determined microscopically to be heart inflammation/necrosis. One 450 mg/kg/day female was found dead on Day 20. The cause of death for this animal was determined to be a dosing injury and was not considered to be test article-related.

[g] Presented as total number of times observed/total number of animals affected.

[h] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

[i] Group means are shown.

[j] Number of animals = 9.

[k] Number of animals = 8.

[l] Reported as number observed.

7D　　ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 26-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 4-Week Recovery Period								
Species/Strain: CD® [Crl: CD®(SD)] rat	Duration of Dosing: Up to 26 weeks				Study Number: AT-5108-15			
Initial Age: Approximately 8 weeks at receipt	Duration of Postdose: 4 weeks				Location in CTD: 4.2.3.2-5			
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral gavage				GLP Compliance: Yes			
Vehicle/Control: 50 mM citrate buffer containing 0.5% Methocel E50 Premium LV and 0.2% polysorbate 20 in deionized water, pH 4 ± 0.1								
Special Features: None								
No-Observed Adverse Effect Level: 50 mg/kg/day								
Dose Level (mg/kg/day)	0		50		100		300	
Number of TK Animals:	Male: 3	Female: 3	Male: 6	Female: 6	Male: 6	Female: 6	Male: 6	Female: 6
Toxicokinetics[a]:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
MMF								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA		8840		9380		25100	
Day 182	NA		6830		15100		18500	
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)								
Day 1	NA		6400		7220		26300	
Day 182	NA		5850		13000		NA[b]	
HES								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA		NA		NA		NA	
Day 182	NA		25700		39700		77400	
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)								
Day 1	NA		NA		NA		NA	
Day 182	NA		NA[b]		376000		1090000	
RDC-8439								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA		0.00		43.2		363	
Day 182	NA		184		400		743	
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)								
Day 1	NA		NA[c]		NA[c]		NA[c]	
Day 182	NA		NA[c]		298		NA[b]	

7D　　ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)							
Report Title: A 26-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 4-Week Recovery Period				Study Number: AT-5108-15			
MAIN STUDY ANIMALS							
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	50	100	300	0	50	100	300
Number of Main Study Animals	20	15	15	20	20	15	15	20
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund[d]	0	0	1	1	0	1	1	3
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight[e] (g) (%)								
Day 35	491.6	-4	-4	-5	282.2	-1	-2	-5
Day 42	514.6	-4	-3	-6	288.3	-1	-1	-4
Day 84	608.7	-4	-4	-6	321.4	0	-2	-4
Day 91	621.5	-4	-3	-6	326.8	-1	-2	-4
Day 133	666.0	-3	-3	-7	343.6	0	-2	-4
Day 140	677.5	-3	-3	-6	350.6	-2	-2	-6
Day 175	727.2	-4	-3	-7	369.2	-1	-2	-5
Day 182	726.0	-4	-4	-7	370.9	0	-1	-6
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology[f]								
Number Examined	15	15	13	14	15	14	14	12
Erythrocytes (10^6/μL)	9.167	8.795	8.593*	8.204**	8.042	8.157	8.108	8.025
Hemoglobin (g/dL)	15.75	15.79	15.06	14.66**	15.05	15.43	15.39	15.14
Hematocrit (%)	51.13	50.77	48.57	48.01*	47.90	49.00	48.78	48.01
Absolute Reticulocytes (10^3/μL)	167.01	173.25	168.41	211.78*	148.34	147.94	162.90	171.91
Percent Reticulocytes (%)	1.83	1.99	1.98	2.63*	1.86	1.84	2.04	2.15
Coagulation[f]								
Number Examined	13	15	14	14	15	14	14	12
APTT (sec)	18.17	19.19	17.46	17.40	17.35	16.96	16.11	14.68**
Prothrombin Time (sec)	15.68	16.17	16.62*	17.11*	15.07	15.12	14.84	14.63
Clinical Chemistry[f]								
Number Examined	15	15	14	14	15	14	14	12
Potassium (mEq/L)	7.74	9.01	9.70*	10.07**	8.83	9.16	9.24	9.96

7D　　ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 26-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 4-Week Recovery Period					Study Number: AT-5108-15			
MAIN STUDY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	50	100	300	0	50	100	300
Number of Main Study Animals	20	15	15	20	20	15	15	20
Clinical Chemistry[f] (Cont.)								
Chloride (mEq/L)	101.5	101.9	102.0	102.7	101.5	100.4	99.6*	98.9**
Calcium (mg/dL)	12.42	12.27	11.97*	11.94*	13.17	13.29	13.30	13.43
Phosphorus (mg/dL)	9.11	10.02	10.19	10.51*	9.05	9.16	9.31	9.91
Alkaline Phosphatase (U/L)	84.7	69.4	64.3*	66.7*	34.4	29.9	34.8	43.7
AST (U/L)	65.5	64.7	59.9	63.3	69.3	59.6	66.4	131.4
ALT (U/L)	30.7	34.9	34.1	40.4	33.9	27.4	32.9	81.8*
Creatinine (mg/dL)	0.39	0.35	0.29**	0.27**	0.44	0.40	0.38*	0.33**
Total Protein (g/dL)	7.24	7.05	6.91*	6.51**	8.29	8.40	8.36	8.29
Albumin (g/dL)	3.50	3.47	3.31*	3.21**	4.47	4.55	4.54	4.48
Globulin (g/dL)	3.74	3.59	3.60	3.30**	3.82	3.85	3.81	3.82
Albumin/Globulin Ratio	0.94	0.97	0.91	0.98	1.19	1.18	1.19	1.18
Triglyceride (mg/dL)	88.4	94.1	109.4	117.9	55.5	94.6	84.1	95.9
Cholesterol (mg/dL)	80.5	78.7	89.5	79.5	92.1	105.1	118.8*	136.9**
Urinalysis[f]								
Number Examined	15	15	14	14	15	14	13	11
Volume (mL)	14.63	16.60	16.14	26.79	4.71	4.49	6.58	16.00*
pH	8.13	8.04	7.92	7.07**	6.96	7.25	7.38	7.23
Urine Chemistry[f]								
Number Examined								
Pretest	20	15	15	20	20	13	13	14
Week 19	20	15	14	19	19	13	13	18
Terminal	15	15	14	14	14	12	13	11
KIM-1 (ng/mL)								
Pretest	1.462	1.237	1.279	1.039	2.251	1.876	1.500	2.392
Week 19	0.640#	0.758	1.286#	0.730	0.590	1.403*	3.320**	1.853**
Terminal	0.650	0.809	1.772**	1.753#	0.620#	0.941#	0.934#	1.195

7D　　ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)							
Report Title: A 26-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 4-Week Recovery Period				Study Number: AT-5108-15			
MAIN STUDY ANIMALS							
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	50	100	300	0	50	100	300
Number of Main Study Animals	20	15	15	20	20	15	15	20
NGAL (ng/mL)								
Pretest	254.49	214.55	183.15	213.61	152.80	176.11	104.14	334.54*
Week 19	132.20	106.21	91.91	38.44**	101.32	231.14*	246.32	175.76#
Terminal	137.28#	99.74#	99.74#	79.44#	132.96	204.88#	176.32#	192.14#
Albumin (µg/mL)								
Pretest	33.25	18.22	23.43	12.85	53.09	39.59	55.77	71.39#
Week 19	36.29#	72.88#	104.20**#	89.12*#	48.57	65.73#	66.71#	51.53#
Terminal	106.23#	99.63#	122.50#	104.66#	43.82#	84.05#	61.75#	59.00#
Osteopontin (ng/mL)								
Pretest	0.929#	0.739#	0.575#	0.856#	2.148#	1.857#	1.120#	2.772
Week 19	1.759#	1.493#	2.621#	0.178*#	3.624#	2.551#	4.756#	2.715#
Terminal	0.769#	0.782#	2.066#	2.664#	5.849#	3.183#	2.964#	1.527#
Organ Weights[e] (%)								
Number Examined	15	15	14	14	15	14	14	12
Kidneys (g)	4.197	+14**	+34**	+70**	2.287	+12*	+9	+21**
Kidneys/BWt (%)	0.6203	+17*	+38**	+81**	0.6974	+8	+7	+23**
Kidneys/BrWt (ratio)	1.9131	+15	+33**	+68**	1.1329	+15**	+12*	+21**
Liver (g)	18.626	+2	+9	+20**	9.554	+6	+7	+19**
Liver/BWt (%)	2.7357	+5	+13**	+28**	2.8985	+3	+5	+21**
Liver/BrWt (ratio)	8.4994	+3	+8	+18**	4.7272	+8	+10	+19**
Stomach (g)	3.05	+4	+8	+20**	2.207	-0	+7	+18**
Stomach/BWt (%)	0.4489	+7	+11*	+28**	0.6757	-4	+4	+18**
Stomach/BrWt (ratio)	1.3923	+4	+7	+18**	1.0913	+2	+9	+18**
Gross Pathology[g]								
Number Examined	15	15	15	15	15	15	15	15
Kidneys								
enlarged								
mild	0	0	1	3	0	0	0	0

7D　　ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 26-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 4-Week Recovery Period					Study Number: AT-5108-15			
MAIN STUDY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	50	100	300	0	50	100	300
Number of Main Study Animals	20	15	15	20	20	15	15	20
Histopathology[g]								
Number Examined	15	15	15	15	15	15	15	15
Kidneys								
degeneration/necrosis, tubular								
minimal	0	0	6	5	0	0	0	6
mild	0	0	4	6	0	0	0	1
moderate	0	0	1	2	0	0	0	0
hypertrophy, tubular								
minimal	0	0	6	4	0	0	0	2
mild	0	0	0	4	0	0	0	0
moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
proteinaceous material								
minimal	2	4	9	6	0	4	4	4
mild	0	0	2	1	0	0	0	1
regeneration, tubular								
minimal	5	7	11	4	0	3	2	2
mild	0	0	2	7	0	0	0	2
moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Stomach, nonglandular								
hyperplasia, squamous cell								
minimal	0	0	0	6	0	0	0	0

7D　　ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 26-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Rats with a 4-Week Recovery Period					Study Number: AT-5108-15			
RECOVERY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	50	100	300	0	50	100	300
Number of Recovery Animals	5	0	0	5	5	0	0	5
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	NA	NA	0	0	NA	NA	0
Clinical Observations	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Body Weight[e] (g) (%)								
Day 189	736.8	NA	NA	-9	393.8	NA	NA	-14*
Day 196	744.8	NA	NA	-8	401.0	NA	NA	-13
Day 203	753.8	NA	NA	-8	401.0	NA	NA	-12
Day 210	753.6	NA	NA	-7	405.6	NA	NA	-12
Food Consumption	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Ophthalmology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Hematology[f]								
Erythrocytes (10^6/μL)	8.738	NA	NA	8.124	7.942	NA	NA	8.180
Hemoglobin (g/dL)	15.24	NA	NA	14.22	14.76	NA	NA	15.08
Hematocrit (%)	50.34	NA	NA	45.78*	47.64	NA	NA	49.44
Absolute Reticulocytes (10^3/μL)	160.76	NA	NA	168.86	158.72	NA	NA	112.22*
Percent Reticulocytes (%)	1.84	NA	NA	2.12	2.02	NA	NA	1.38*
Coagulation	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Clinical Chemistry[f]								
Potassium (mEq/L)	7.54	NA	NA	7.76	8.86	NA	NA	9.90
Chloride (mEq/L)	101.2	NA	NA	101.8	100.8	NA	NA	99.8
Calcium (mg/dL)	12.24	NA	NA	11.12**	12.30	NA	NA	13.32*
Phosphorus (mg/dL)	9.30	NA	NA	8.82	8.98	NA	NA	10.08
Alkaline Phosphatase (U/L)	70.8	NA	NA	64.6	30.4	NA	NA	26.2
AST (U/L)	68.0	NA	NA	56.6	73.4	NA	NA	161.8
ALT (U/L)	32.6	NA	NA	25.2**	35.2	NA	NA	63.8
Creatinine (mg/dL)	0.42	NA	NA	0.34	0.46	NA	NA	0.46
Total Protein (g/dL)	7.18	NA	NA	6.58**	7.80	NA	NA	8.54*
Albumin (g/dL)	3.30	NA	NA	2.98*	4.04	NA	NA	4.38**
Clinical Chemistry[f] (Cont.)								

Globulin (g/dL)	3.88	NA	NA	3.60	3.76	NA	NA	4.16
Albumin/Globulin Ratio	0.86	NA	NA	0.84	1.06	NA	NA	1.06
Triglyceride (mg/dL)	101.4	NA	NA	132.6	64.6	NA	NA	81.4
Cholesterol (mg/dL)	90.2	NA	NA	133.0	80.4	NA	NA	135.0**
Urinalysis[f]								
Volume (mL)	6.70	NA	NA	12.50	5.80	NA	NA	3.25
pH	6.90	NA	NA	7.30	6.90	NA	NA	8.50
Urine Chemistry[f]								
KIM-1 (ng/mL)	0.983	NA	NA	2.664	2.196	NA	NA	2.888
Organ Weights[e] (%)								
Kidneys (g)	4.412	NA	NA	+40*	2.435	NA	NA	+13
Kidneys/BWt (%)	0.6137	NA	NA	+52**	0.6521	NA	NA	+28**
Kidneys/BrWt (ratio)	1.9534	NA	NA	+50**	1.1944	NA	NA	+17
Liver (g)	18.167	NA	NA	+15	10.043	NA	NA	+16
Liver/BWt (%)	2.5308	NA	NA	+25**	2.6841	NA	NA	+30*
Liver/BrWt (ratio)	8.0317	NA	NA	+23*	4.9098	NA	NA	+21
Stomach (g)	3.030	NA	NA	+9	2.179	NA	NA	+14
Stomach/BWt (%)	0.4239	NA	NA	+17	0.5814	NA	NA	+29*
Stomach/BrWt (ratio)	1.3478	NA	NA	+15	1.0649	NA	NA	+19
Gross Pathology[g]								
Kidneys								
enlarged								
mild	0	NA	NA	3	0	NA	NA	0

Histopathology[g]								
Kidneys								
degeneration/necrosis, tubular								
minimal	0	NA	NA	2	0	NA	NA	0
mild	0	NA	NA	1	0	NA	NA	0
moderate	0	NA	NA	1	0	NA	NA	0
fibrosis								
minimal	0	NA	NA	1	0	NA	NA	0
mild	0	NA	NA	1	0	NA	NA	0
proteinaceous material								
minimal	0	NA	NA	2	1	NA	NA	4
mild	0	NA	NA	2	0	NA	NA	0
regeneration, tubular								
minimal	4	NA	NA	2	0	NA	NA	3
mild	0	NA	NA	1	0	NA	NA	0
moderate	0	NA	NA	2	0	NA	NA	0

- = no noteworthy findings; # = calculation includes one or more individual values outside of linear range; * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; ALT = alanine aminotransferase; APTT = activated partial thromboplastin time; AST = aspartate aminotransferase; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; BWt = body weight; BrWt = brain weight; CTD = common technical document; GLP = Good Laboratory Practice; HES = 2-hydroxyethyl succinimide (RDC-6567); KIM-1 = kidney injury molecule-1; LV = low viscosity; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; NGAL = neutrophil gelatinase-associated lipocalin; TK = toxicokinetic.

[a] Group means (combined gender data) are shown for treated groups; only plasma concentrations of analytes were measured for the control group. There was insufficient exposure to diroximel fumarate in plasma to calculate TK parameters.

[b] Not reported due to a percent extrapolated greater than 25%.

[c] Not reported due to less than 3 consecutive quantifiable concentrations.

[d] Seven main study animals were found dead or euthanized in extremis during the study; however, none of the deaths were considered test article related.

[e] 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. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

[f] Group means are shown.

[g] Reported as number observed.

7E　　サルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 2-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Cynomolgus Monkeys with a 2-Week Recovery Period								
Species/ Strain: Cynomolgus monkey			Duration of Dosing: 14 Days			Study No. AT-5108-07		
Initial Age: Approximately 3 years and 7 months to 4 years and 4 months			Duration of Postdose: 14 Days			Location in CTD: 4.2.3.2-7		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			Method of Administration: Oral gavage			GLP Compliance: Yes		
Vehicle/ Formulation: 50 mM citrate buffer containing 0.5% Methocel E50 Premium LV and 0.2% polysorbate 20, pH 4 ± 0.1								
Special Features: None								
No-Observed Adverse Effect Level: 75 mg/kg								
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		400	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Toxicokinetics:								
MMF								
Day 1 (AUC)[b]	NA		7250		35000		185000	
Day 14 (AUC)[b]	NA		7470		27100		187000	
RDC-8439								
Day 1 (AUC)[b]	NA		NA		265		1590	
Day 14 (AUC)[b]	NA		NA		150		1400	

7E　　サルを用いた２週間反復経口投与毒性試験及び２週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 2-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Cynomolgus Monkeys with a 2-Week Recovery Period						Study No. AT-5108-07		
MAIN STUDY ANIMALS								
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		400	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[c] (Days 1 to 14)								
Activity decreased	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	4/2	37/4	36/3
Inappetence	0/0	0/0	2/2	0/0	0/0	0/0	40/5	15/3
Posture hunched	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/1	50/5	50/3
Vomitus, Clear	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	6/3	1/1
Vomitus, Tan	0/0	0/0	0/0	2/2	0/0	0/0	32/5	47/5
Vomitus, White	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	5/5	6/3
Vomitus, Yellow	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	12/3	0/0
Body Weight[d] (kg) (%)								
Day 5	2.81	2.76	+1	+4	+3	+3	-5	+3
Day 10	2.81	2.79	+5	+4	+5	+3	-10	-2
Day 12	2.80	2.77	+3	+5	+3	+1	-10	0
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography[e]								
QT Interval								
Day 11 (msec)	171.21	165.53	168.18	174.88	174.04	172.91	179.20	184.90*
QTc Interval (Bazett)								
Day 11 (msec)	326.34	315.07	323.20	330.57	324.28	336.32	337.12	354.14*
Heart Rate Values	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure Values	-	-	-	-	-	-	-	-

7E　　サルを用いた２週間反復経口投与毒性試験及び２週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 2-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Cynomolgus Monkeys with a 2-Week Recovery Period						Study No. AT-5108-07		
MAIN STUDY ANIMALS								
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		400	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Hematology [e]								
Erythrocytes (10^6/μL)	5.690	5.460	5.432	5.088	5.530	5.008*	4.884*	4.798**
Hemoglobin (g/dL)	13.56	13.04	13.02	12.38	13.24	12.04	11.62*	11.54**
Hematocrit (%)	42.86	41.38	40.90	39.02	41.52	38.28	35.38**	34.92**
Platelets (10^3/μL)	458.0	385.8	396.0	383.2	465.4	481.4	556.4	602.6**
Lymphocytes (10^3/μL)	5.580	4.266	4.086	3.852	5.378	3.644	2.822	3.952
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry [e]								
Phosphorus (mg/dL)	5.78	4.50	5.38	4.48	4.82	3.88	1.98**	2.04**
Triglyceride (mg/dL)	49.6	51.8	40.8	39.2	47.2	45.4	87.0*	69.0
Cholesterol (mg/dL)	141.6	141.0	132.2	126.4	123.0	112.0	124.0	82.8*
Glucose (mg/dL)	77.2	64.6	74.0	73.4	60.0	82.2	56.8*	65.2
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[d] (%)								
Kidneys (g)	12.241	11.95	+20	+12	+26	+15	+56	+75**
Kidneys/BWt (%)	0.4547	0.4447	+17	+11	+16	+23	+90**	+86**
Kidneys/BrWt (ratio)	0.1747	0.2094	+32	+6	+28	-2	+70	+66*
Thymus (g)	3.271	1.628	-5	+31	+7	-15	-56	-44
Thymus/BWt (%)	0.1219	0.0603	-4	+38	-3	-9	-48	-39
Thymus/BrWt (ratio)	0.0467	0.0292	+2	+21	+7	-30	-51	-48

7E　　サルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 2-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Cynomolgus Monkeys with a 2-Week Recovery Period						Study No. AT-5108-07		
MAIN STUDY ANIMALS								
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		400	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Gross Pathology[f]								
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Thymus								
small								
mild	0	0	0	0	0	0	1	0
severe	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology[f]								
Numbers Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Bone marrow, femur								
cellularity, decreased								
minimal	0	0	0	0	0	0	2	0
mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Bone marrow, rib								
cellularity, decreased								
minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Bone marrow, sternum								
cellularity, decreased								
minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
mild	0	0	0	0	0	0	1	1

7E　　サルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 2-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Cynomolgus Monkeys with a 2-Week Recovery Period						Study No. AT-5108-07		
MAIN STUDY ANIMALS								
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		400	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Histopathology[f] (Cont.)								
Numbers Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Kidneys								
degeneration/regeneration, tubular								
minimal	0	0	0	0	0	1	1	2
mild	0	0	0	0	0	0	2	1
Pancreas								
depletion, secretory granule								
minimal	0	0	0	0	0	1	1	2
mild	0	0	0	0	0	0	2	1
Spleen								
decreased number of germinal centers								
mild	0	0	0	0	0	0	2	1
Thymus								
depletion, lymphoid								
minimal	0	2	0	0	0	0	0	1
mild	0	0	0	0	0	0	1	1
moderate	0	0	0	0	0	0	1	1
Tongue								
Hyperplasia, epithelial cell								
minimal	0	0	0	0	1	0	3	3

7E　　サルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（続き）

Report Title: A 2-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetics Study of RDC-5108 in Cynomolgus Monkeys with a 2-Week Recovery Period							Study No. AT-5108-07	
RECOVERY ANIMALS								
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		400	
Number of Main Study Animals	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrifice Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Heart Rate Values	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure Values	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Kidneys								
regeneration, tubular								
minimal	0	0	0	0	1	1	1	1
mild	0	0	0	0	0	0	1	1

- = no noteworthy findings; * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration; BWt = body weight; BrWt = brain weight; CTD = common technical document; DRF = diroximel fumarate; GLP = Good Laboratory Practice; LV = low viscosity; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable.

[a] Group means (combined gender data) are shown for treated groups; only plasma concentrations of analytes were measured for the control group. There was insufficient exposure to diroximel fumarate in plasma to calculate toxicokinetic parameters.

[b] Reported as AUC_{last} (ng*h/mL).

[c] Reported as number observed/total number of animals affected.

[d] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

[e] Group means are shown. [f] Reported as number observed.

7F　　サルを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: A 91-Day Oral Dose Toxicity and Toxicokinetic Study of RDC-5108 in Monkeys with a 28-Day Recovery Period				
Species/Strain: Cynomolgus monkey		Duration of Dosing: 91 days		Study Number: AT-5108-14
Initial Age: Approximately 2 years 6 months to 4 years at transfer		Duration of Postdose: 28 days		Location in CTD: 4.2.3.2-8
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Method of Administration: Oral gavage		GLP Compliance: Yes
Vehicle/Formulation: 50 mM citrate buffer containing 0.5% Methocel E50 Premium LV and 0.2% polysorbate 20 in deionized water, pH 4 ±0.1				
Special Features: None				
No-Observed Adverse Effect Level: 75 mg/kg/day				
Dose Level (mg/kg/day)	0	25	75	250
Toxicokinetics[a]:	Combined Sexes	Combined Sexes	Combined Sexes	Combined Sexes
Number of Animals	10	6	6	10
MMF				
C_{max} (ng/mL)				
Day 1	NA	6300	16500	56500
Day 91	NA	7940	19700	30000
AUC_{last} (ng*h/mL)				
Day 1	NA	8380	33900	113000
Day 91	NA	9350	30500	91500
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)				
Day 1	NA	11200[b]	37500	117000[c]
Day 91	NA	10900	31000	103000
RDC-8439				
C_{max} (ng/mL)				
Day 1	NA	25.4	156	717
Day 91	NA	39.7	133	282
AUC_{last} (ng*h/mL)				
Day 1	NA	NA	193[d]	809
Day 91	NA	NA	NA	374
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)				
Day 1	NA	NA	NA	1320[e]
Day 91	NA	NA	NA	864[f]

7F　　サルを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 91-Day Oral Dose Toxicity and Toxicokinetic Study of RDC-5108 in Monkeys with a 28-Day Recovery Period					Study Number: AT-5108-14			
MAIN STUDY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	25	75	250	0	25	75	250
Number of Animals	5	3	3	5	5	3	3	5
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[g] (Weeks 1 to 13)								
Activity decreased	0/0	0/0	0/0	18/2	0/0	0/0	0/0	0/0
Emesis after dosing, Clear	2/2	2/2	8/2	11/2	0/0	1/1	0/0	12/2
Emesis after dosing, Red	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0
Emesis after dosing, Tan	0/0	1/1	5/3	52/2	1/1	4/2	0/0	58/2
Emesis after dosing, White	0/0	0/0	2/1	5/2	0/0	0/0	0/0	5/1
Emesis during dosing	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1
Emesis during dosing, Clear	0/0	1/1	0/0	2/2	4/1	0/0	0/0	0/0
Emesis during dosing, Tan	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	3/1	0/0	0/0
Emesis, Tan	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	2/1
Inappetence	0/0	0/0	0/0	58/2	0/0	0/0	0/0	2/2
Posture hunched	0/0	0/0	0/0	78/3	0/0	0/0	0/0	7/2
Thin	0/0	0/0	0/0	23/2	0/0	0/0	0/0	0/0
Unkempt appearance	0/0	0/0	0/0	99/2	0/0	0/0	0/0	0/0
Vomitus, Clear	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	2/2
Vomitus, Red	0/0	0/0	0/0	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0
Vomitus, Tan	0/0	0/0	0/0	3/1	0/0	0/0	0/0	12/5
Vomitus, White	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	1/1
Vomitus, Yellow	0/0	0/0	0/0	2/2	0/0	0/0	0/0	0/0
Body Weight[h] (kg) (%)								
Day 8	2.52	+3	-2	-5	2.81	-4	-2	-3
Day 15	2.49	+4	-1	-6	2.76	-5	-3	-6
Day 85	2.69	+11	-1	-14	2.94	-1	-4	-9
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Heart Rate	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure	-	-	-	-	-	-	-	-

Hematology[i]								
Erythrocytes (10^6/μL)	5.422	5.233	5.427	4.668	5.440	5.413	5.037	4.952
Hemoglobin (g/dL)	13.40	12.60	12.50	11.82	12.62	12.77	11.97	12.42
Hematocrit (%)	42.84	41.27	40.87	38.08	41.34	41.33	39.43	40.08
MCV (fL)	79.18	79.10	75.20	82.08	76.14	76.33	78.23	81.12*
MCH (pg)	24.76	24.20	23.03	25.56	23.18	23.57	23.77	25.08**
Absolute Reticulocytes (10^3/μL)	55.84	76.37	56.40	130.30*	60.66	56.70	60.57	111.80**
Percent Reticulocytes (%)	1.06	1.47	1.03	3.20	1.12	1.10	1.23	2.26**
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry[i]								
Phosphorus (mg/dL)	6.74	5.83	5.50	2.20**	6.60	5.67	4.73	2.52**
Urea Nitrogen (mg/dL)	19.2	19.3	14.3	13.8	19.8	18.7	17.0	14.0**
Creatinine (mg/dL)	0.68	0.50	0.43*	0.44*	0.62	0.53	0.50*	0.52
Triglyceride (mg/dL)	37.8	61.0	44.7	89.0*	47.0	37.7	39.3	48.0
Cholesterol (mg/dL)	125.2	119.0	110.7	97.2**	138.4	125.7	101.7	93.2*
Urinalysis[i]								
Volume (mL)	53.0	56.7	33.3	68.0	56.0	53.3	71.7	82.0
Specific Gravity	1.0200	1.0243	1.0273	1.0110	1.0198	1.0197	1.0257	1.0078**
pH	8.50	8.33	8.50	7.40**	8.20	8.17	8.17	7.10*
Bone Marrow[i]								
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Myeloid: Erythroid (M: E) Ratio	1.3	1.2	1.1	0.9	1.4	1.3	1.2	1.0

Organ Weights[h] (%)								
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Kidneys (g)	12.924	+16	+31	+113**	14.593	+11	+13	+103**
Kidneys/BWt (%)	0.5081	+5	+33	+169**	0.5066	+18	+23	+133**
Kidneys/BrWt (ratio)	0.1827	+21	+43	+142**	0.2306	+7	+19	+101**
Liver (g)	50.862	+7	+1	+19	55.424	+11	+10	+24
Liver/BWt (%)	1.9906	-3	+3	+50**	1.9213	+17	+20	+42**
Liver/BrWt (ratio)	0.7155	+12	+11	+35**	0.8662	+8	+18	+25*
Thymus (g)	3.354	-26	-6	-45	3.753	-14	-27	-46
Thymus/BWt (%)	0.1305	-31	-4	-32	0.1298	-9	-22	-38
Thymus /BrWt (ratio)	0.0468	-21	+4	-39	0.0573	-14	-21	-44
Gross Pathology[j]								
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Animal/Whole Body								
Body fat depleted								
moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Kidneys								
discoloration, tan								
mild	0	0	0	0	0	0	0	1
moderate	0	0	0	1	0	0	0	1
Thymus								
Small								
mild	0	0	0	0	0	0	0	1
moderate	0	0	0	1	0	0	0	0

Histopathology[j]								
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Bone Marrow, Sternum								
Cellularity, decreased								
minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Bone, Femur								
Dysplasia, physeal								
minimal	0	0	0	1	0	0	0	2
mild	0	0	0	1	0	0	0	1
Bone, Tibia								
Dysplasia, physeal								
minimal	0	0	0	1	0	0	0	1
mild	0	0	0	1	0	0	0	0
Esophagus								
Hyperplasia, squamous cell								
minimal	0	0	0	0	0	0	3	1
Kidneys								
Degeneration/regeneration, tubular								
minimal	2	1	0	0	0	0	2	0
mild	0	0	0	2	0	0	0	2
moderate	0	0	0	1	0	0	0	1
Dilation, tubular								
minimal	1	0	0	2	0	0	0	1
mild	0	0	0	1	0	0	0	0
Fibrosis								
minimal	0	0	0	2	0	0	0	1
mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology[j] (Cont.)								
Hypertrophy, tubular								
minimal	0	0	1	0	0	1	1	1
mild	0	0	0	3	0	0	0	2
Pancreas								
Depletion, secretory granule								
minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
mild	0	0	0	1	0	0	0	0
Spleen								
Depletion, lymphoid, generalized								

minimal	0	0	0	1	0	0	0	2
mild	0	0	0	1	0	0	0	0
Hyperplasia, lymphoid, germinal center								
minimal	0	1	3	0	0	1	1	1
mild	0	1	0	0	0	0	1	0
moderate	0	0	0	0	0	1	0	0
Thymus								
Depletion, lymphoid, generalized								
minimal	0	1	0	2	0	0	2	1
mild	0	0	0	0	0	0	0	1
moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
Tongue								
Hyperplasia, squamous cell								
minimal	0	0	2	3	0	1	2	1

7F　　サルを用いた 91 日間反復経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 91-Day Oral Dose Toxicity and Toxicokinetic Study of RDC-5108 in Monkeys with a 28-Day Recovery Period					Study Number: AT-5108-14			
RECOVERY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	25	75	250	0	25	75	250
Number of Animals	2	0	0	2	2	0	0	2
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	NA	NA	0	0	NA	NA	0
Clinical Observations	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Body Weight[h] (kg) (%)								
Day 92	2.78	NA	NA	-8	2.85	NA	NA	-9
Day 120	2.75	NA	NA	+7	2.85	NA	NA	-2
Ophthalmology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Electrocardiography	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Heart Rate	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Blood Pressure	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Hematology[i]								
MCV (fL)	81.85	NA	NA	83.65	76.85	NA	NA	82.50
Absolute Reticulocytes ($10^3/\mu L$)	81.95	NA	NA	120.10	100.70	NA	NA	80.60
Percent Reticulocytes (%)	1.50	NA	NA	2.25	1.75	NA	NA	1.40
Coagulation	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Clinical Chemistry	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Urinalysis	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Bone Marrow	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Organ Weights[h] (%)								
Number Examined	2	NA	NA	2	2	NA	NA	2
Kidneys (g)	11.773	NA	NA	+76	13.153	NA	NA	+37
Kidneys/BWt (%)	0.4585	NA	NA	+69	0.4954	NA	NA	+44
Kidneys/BrWt (ratio)	0.1674	NA	NA	+87	0.2061	NA	NA	+28
Spleen (g)	3.065	NA	NA	+51	2.727	NA	NA	+29
Spleen/BWt (%)	0.1187	NA	NA	+47	0.1042	NA	NA	+33
Spleen/BrWt (ratio)	0.0443	NA	NA	+58	0.0416	NA	NA	+24
Thymus (g)	5.752	NA	NA	-29	4.695	NA	NA	-40
Thymus/BWt (%)	0.2231	NA	NA	-30	0.1774	NA	NA	-37
Thymus/BrWt (ratio)	0.0828	NA	NA	-25	0.0731	NA	NA	-44

Gross Pathology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Histopathology[j]								
Number Examined	2	NA	NA	2	2	NA	NA	2
Bone, Femur								
Dysplasia, physeal								
mild	0	NA	NA	0	0	NA	NA	1
Bone, Tibia								
Dysplasia, physeal								
minimal	0	NA	NA	0	0	NA	NA	1
Kidneys								
Fibrosis								
minimal	0	NA	NA	1	0	NA	NA	1
Regeneration, tubular								
minimal	0	NA	NA	1	0	NA	NA	1
mild	0	NA	NA	1	0	NA	NA	1

- = No noteworthy findings; * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration; BWt = body weight; BrWt = brain weight; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; GLP = Good Laboratory Practice; LV = low viscosity; MCH = mean corpuscular hemoglobin; MCV = mean corpuscular volume; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable.

[a] Group means (combined gender data) are shown for treated groups; only plasma concentrations of analytes were measured for the control group. There was insufficient exposure to diroximel fumarate in plasma to calculate toxicokinetic parameters.

[b] Number of animals examined = 3.

[c] Number of animals examined = 9.

[d] Number of animals examined = 1.

[e] Number of animals examined = 5.

[f] Number of animals examined = 2.

[g] Presented as total number of times observed/total number of animals affected.

[h] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

[i] Group means are shown.

[j] Reported as number observed.

7G　　サルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)							
Report Title: A 39-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetic Study of RDC-5108 in Monkeys with a 4-Week Recovery Period							
Species/Strain: Cynomolgus monkey			Duration of Dosing: Up to 39 weeks			Study Number: AT-5108-16	
Initial Age: Approximately 2 years and 1 month to 3 years and 10 months at transfer			Duration of Postdose: 4 weeks			Location in CTD: 4.2.3.2-9	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			Method of Administration: Oral gavage			GLP Compliance: Yes	
Vehicle/Control: 50 mM citrate buffer containing 0.5% Methocel E50 Premium LV and 0.2% polysorbate 20 in deionized water, pH 4 ± 0.1							
Special Features: None							
No-Observed Adverse Effect Level: 15 mg/kg							
Dose Level (mg/kg/day)	0		15		50	150	
Number of Animals	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Toxicokinetics:[a]	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	Combined Sexes	
MMF							
C_{max} (ng/mL)							
Day 1	NA		3700		8360	35900	
Day 273	NA		3180		9230	26200	
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)							
Day 1	NA		6620		19900	79300	
Day 273	NA		4620		17800	61300	
$AUC_{0\text{-}24h\ Day\ 273}/AUC_{0\text{-}24h\ Day\ 1}$	NA		0.727		0.893	0.844	
HES							
C_{max} (ng/mL)							
Day 273	NA		6990		21200	60500	
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)							
Day 273	NA		87200		245000	604000	
$AUC_{0\text{-}24h\ RDC\text{-}6567}/AUC_{0\text{-}24h\ MMF}$	NA		19.2		14.0	9.70	
RDC-8439							
C_{max} (ng/mL)							
Day 1	NA		9.99		67.2	473	
Day 273	NA		0.00		59.9	293	
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)							
Day 1	NA		NA		NA	756	
Day 273	NA		NA		NA	476	
$AUC_{0\text{-}24h\ Day\ 273}/AUC_{0\text{-}24h\ Day\ 1}$	NA		NA		NA	NA	
$AUC_{0\text{-}24h\ RDC8439}/AUC_{0\text{-}24h\ MMF}$							
Day 1	NA		NA		NA	0.00906	
Day 273	NA		NA		NA	0.00721	

7G　　サルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 39-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetic Study of RDC-5108 in Monkeys with a 4-Week Recovery Period					Study Number: AT-5108-16			
MAIN STUDY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	15	50	150	0	15	50	150
Number of Animals	6	4	4	6	6	4	4	6
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund[b]	1	0	0	0	1	0	0	0
Clinical Observations[c] (Days 1 to 271)								
Salivation	0/0	0/0	0/0	44/3	0/0	0/0	0/0	17/2
Body Weight (kg) (%)[d]								
Week 4	2.91	+3	-1	-5	2.95	-1	-1	-7
Week 10	3.01	+2	-1	-6	3.04	-4	-4	-10
Week 12	3.03	+1	-2	-7	3.03	-4	-3	-9
Week 14	3.13	0	-2	-6	3.06	-2	-1	-8
Week 24	3.68	-8	-11	-19	3.18	-1	-4	-10
Week 36	4.26	-9	-13	-25	3.43	-2	-3	-13
Body Weight Change (kg) (%)[d]								
Week 2-3	-0.04	+16	-154*	+122*	0.02	-117	+0	-739**
Week 4-5	0.03	-178	-13	+19	0.01	-70	-450	+600*
Week 14-15	-0.02	-247	-324	-247	0.02	+47	-176	-294
Week 23-24	0.01	-230	-100	-930	-0.03	-17	+150	+123
Week 29-30	0.03	-100	+27	-127	0.01	+280	+650	-520
Week 38-39	-0.01	-100	+30	-100	0.04	-133	-258	-143
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry[e] (Terminal)								
Phosphorus (mg/dL)	5.32	4.95	5.28	3.12*	5.18	5.00	4.90	4.08
Urea Nitrogen (mg/dL)	22.2	24.8	16.3*	13.8**	20.4	16.8	15.8	13.2**
Creatinine (mg/dL)	0.72	0.68	0.50**	0.55*	0.66	0.50**	0.50**	0.45**
Total Protein (g/dL)	7.00	6.68	7.05	7.17	6.88	7.00	7.13	7.43*
Albumin (g/dL)	4.26	4.05	4.28	4.30	3.90	4.18	4.25	4.33**

7G　　サルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 39-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetic Study of RDC-5108 in Monkeys with a 4-Week Recovery Period					Study Number: AT-5108-16			
MAIN STUDY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	15	50	150	0	15	50	150
Number of Animals	6	4	4	6	6	4	4	6
Urinalysis[e] (Terminal)								
Specific Gravity	1.0164	1.0220	1.0195	1.0073*	1.0176	1.0188	1.0135	1.0120
pH	8.10	8.00	7.75	6.83**	7.40	7.75	7.63	6.75
Urine Chemistry[e]								
Albumin/Creatinine Ratio								
Week 17	10.03	11.84	17.41	39.34*	13.85	14.19	72.05*	46.68
Terminal	4.85	6.56	10.49*	33.52**	44.99	13.19	14.26	26.59
NGAL/Creatinine Ratio								
Week 17	0.020	0.021	0.019	0.203*	0.203	0.094	0.519	0.372
Terminal	0.011	0.015	0.025	0.131	0.173	0.035	0.118	0.209
Cystatin C/Creatinine Ratio								
Week 17	0.009	0.003	0.006	0.025*	0.005	0.004	0.017*	0.013
Terminal	0.001	0.000	0.000	0.016*	0.003	0.010	0.004	0.009
Bone Marrow	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)[d] (Terminal)								
Number Examined	3	4	4	4	3	4	4	4
Adrenal gland (g)	0.524	+29	+21	+24	0.557	+13	+23	+20
Adrenal gland/BWt (%)	0.0133	+38	+32	+79*	0.0160	+21	+38	+43
Adrenal gland/BrWt (ratio)	0.0073	+26	+25	+30	0.0080	+14	+28	+24
Kidneys (g)	17.786	-5	+23	+95	15.916	+9	+11	+102**
Kidneys/BWt (%)	0.3830	+21	+58	+218	0.4579	+16	+23	+140**
Kidneys/BrWt (ratio)	0.2418	-4	+30	+111	0.2253	+12	+17	+111**
Liver (g)	75.447	-2	-9	+5	63.446	+1	+10	+20
Liver/BWt (%)	1.8023	+12	+7	+51**	1.8292	+7	+21**	+43**
Liver/BrWt (ratio)	1.0394	-3	-5	+11	0.9044	+4	+16	+24

7G　　サルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 39-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetic Study of RDC-5108 in Monkeys with a 4-Week Recovery Period					Study Number: AT-5108-16			
MAIN STUDY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	15	50	150	0	15	50	150
Number of Animals	6	4	4	6	6	4	4	6
Gross Pathology[f] (Terminal)								
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Kidneys								
discoloration, tan								
mild	0	0	0	3	0	0	0	1
enlarged								
mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology[f] (Terminal)								
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Kidneys								
degeneration/regeneration, tubular								
minimal	0	0	2	0	0	0	1	1
mild	0	0	0	3	0	0	0	2
moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
fibrosis								
mild	0	0	0	1	0	0	0	0
hypertrophy, tubular								
minimal	0	0	2	2	0	0	1	0
mild	0	0	0	2	0	0	0	4

7G　　サルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 39-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetic Study of RDC-5108 in Monkeys with a 4-Week Recovery Period					Study Number: AT-5108-16			
RECOVERY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	15	50	150	0	15	50	150
Number of Animals	2	NA	NA	2	2	NA	NA	2
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	NA	NA	0	0	NA	NA	0
Clinical Observations [c] (Days 274 to 295)								
Salivation	0/0	NA	NA	1/1	0/0	NA	NA	0/0
Body Weight (kg) (%)[d]								
Week 40	4.51	NA	NA	-30	3.12	NA	NA	-11
Week 41	4.55	NA	NA	-25	3.23	NA	NA	-7
Week 42	4.60	NA	NA	-25	3.28	NA	NA	-8
Week 43	4.80	NA	NA	-24	3.25	NA	NA	-5
Ophthalmology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Electrocardiography	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Hematology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Coagulation	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Clinical Chemistry	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Urinalysis[e]								
Specific Gravity	1.0245	NA	NA	1.0145	1.0200	NA	NA	1.0305
pH	7.50	NA	NA	6.00	7.50	NA	NA	7.50
Urine Chemistry	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Bone Marrow	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Organ Weights	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-
Gross Pathology	-	NA	NA	-	-	NA	NA	-

7G　　サルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 39-Week Oral Dose Toxicity and Toxicokinetic Study of RDC-5108 in Monkeys with a 4-Week Recovery Period					Study Number: AT-5108-16			
RECOVERY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/kg/day)	0	15	50	150	0	15	50	150
Number of Animals	2	NA	NA	2	2	NA	NA	2
Noteworthy Findings:								
Histopathology[f]								
Number Examined	2	NA	NA	2	2	NA	NA	2
Kidneys								
degeneration/regeneration, tubular								
minimal	0	NA	NA	1	0	NA	NA	0
fibrosis								
minimal	0	NA	NA	1	0	NA	NA	0
increased cellularity								
minimal	0	NA	NA	1	0	NA	NA	1

- = no noteworthy findings; * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; BWt = body weight; BrWt = brain weight; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; DRF = diroximel fumarate; GLP = Good Laboratory Practice; HES = 2-hydroxyethyl succinimide (RDC-6567); LV = low viscosity; MMF = monomethyl Fumarate; NA = not applicable.

[a] Group means (combined gender data) are shown for treated groups; only plasma concentrations of analytes were measured for the control group. There was insufficient exposure to DRF in plasma to calculate toxicokinetic parameters.

[b] There were no DRF-related deaths. One male and one female control monkey were euthanized in extremis on Days 114 and 103, respectively. The male was euthanized in extremis due to health issues related to dose administration. The cause of death for the female was determined to be septicemia/inflammation due to a bacterial infection involving multiple tissues.

[c] Presented as total number of times observed/total number of animals affected.

[d] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

[e] Group means are shown.

[f] Reported as number observed.

8 In vitro 遺伝毒性試験

8A DRF の細菌を用いる復帰突然変異試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)							
Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay with RDC-5108						Study No. AT-5108-11	
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells		No. of Independent Assays: 1				Location in CTD: 4.2.3.3.1-1	
Strains: *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*		No. of Replicate Cultures: 3				GLP Compliance: Yes	
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9		No. of Cells Analyzed/Culture: 1.4 to 5.7 × 10^9 cells/plate				Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]	
Vehicles:	For Test Article: DMSO	For Positive Controls: DMSO, except water for sodium azide				Treatment: Plate incorporation	
Cytotoxic Effects: Toxicity was observed beginning at 1500 or at 5000 µg per plate in the absence of S9 activation only.							
Genotoxic Effects: None							
Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean ±SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvr*A
Without Activation	DMSO	50 µL/plate	12 ± 2	97 ± 4	16 ± 3	5 ± 3	18 ± 4
	DRF	15	11 ± 1	76 ± 8	12 ± 6	5 ± 1	15 ± 2
		50	8 ± 2	85 ± 18	16 ± 3	7 ± 1	18 ± 3
		150	9 ± 3	94 ± 18	14 ± 3	5 ± 1	16 ± 9
		500	7 ± 2	67 ± 7	13 ± 7	4 ± 3	19 ± 3
		1500	7 ± 1	22 ± 15 [a]	1 ± 1 [a]	2 ± 1 [a]	12 ± 2
		5000 [a]	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1
	2NF	1.0	268 ± 77				
	SA	1.0		552 ± 17	541 ± 58		
	9AAD	75				584 ± 149	
	MMS	1000					246 ± 47

8A　　DRF の細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay with RDC-5108 (ALKS 8700)			Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean ±SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvr*A
With Activation	DMSO	50 µL/plate	17 ± 1	113 ± 12	11 ± 1	7 ± 2	25 ± 5
	DRF	15	16 ± 2	89 ± 12	9 ± 2	6 ± 1	23 ± 2
		50	21 ± 6	101 ± 22	12 ± 3	3 ± 3	24 ± 5
		150	20 ± 1	103 ± 17	14 ± 3	7 ± 5	23 ± 0
		500	15 ± 4	83 ± 19	8 ± 0	11 ± 3	22 ± 3
		1500	16 ± 7	73 ± 8	8 ± 4	5 ± 2	29 ± 9
		5000	15 ± 4	97 ± 8	11 ± 5	4 ± 0	24 ± 4
	2AA	1.0	913 ± 407		156 ± 59		
	2AA	2.0		1073 ± 579		160 ± 108	
	2AA	15					251 ± 57

2AA = 2-aminoanthracene; 9AAD = 9-aminoacridine; 2NF = 2-nitrofluorene; CTD = common technical document; DMSO = dimethyl sulfoxide; DRF = diroximel fumarate; GLP = Good Laboratory Practice; MMS = methyl methanesulfonate; SA = sodium azide; SD = Standard Deviation.

[a] Toxicity was observed.

8B　　HES の細菌を用いる復帰突然変異試験

Report Title: RDC-6567 (2-hydroxyethyl succinimide): Bacterial Reverse Mutation Assay						Test Article: RDC-6567 (2-hydroxyethyl succinimide)	
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells			No. of Independent Assays: 1			Study No. P098-20-01	
Strains: *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537; *E. coli* WP2 *uvr*A			No. of Replicate Cultures: 3			Location in CTD: 4.2.3.3.1-2	
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9			No. of Cells Analyzed/Culture: 1.0 to 1.9 × 10^8 cells per plate				
Vehicles:	For Test Article: DMSO	For Positive Controls: DMSO, except sterile water for sodium azide				GLP Compliance: Yes	
Treatment: Plate incorporation						Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]	
Cytotoxic Effects: None							
Genotoxic Effects: None							

Metabolic Activation	Test Article	Dose (µg/plate)	Revertant Colony Counts (Mean ± SD)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvr*A
Without Activation	DMSO	50.0 µL/plate	19 ± 5	89 ± 12	10 ± 4	11 ± 2	22 ± 6
	RDC-6567 (2-hydroxyethyl succinimide)	100	23 ± 1	81 ± 7	9 ± 1	11 ± 3	22 ± 4
		333	15 ± 5	90 ± 9	8 ± 1	11 ± 4	22 ± 4
		667	15 ± 2	109 ± 2	11 ± 5	13 ± 3	31 ± 7
		1000	16 ± 6	75 ± 12	7 ± 1	12 ± 6	26 ± 3
		3333	18 ± 5	90 ± 9	11 ± 5	11 ± 2	22 ± 5
		5000	16 ± 7	87 ± 9	10 ± 4	14 ± 3	19 ± 5
	2NF	1.00	81 ± 5				
	SA	1.00		569 ± 25	549 ± 74		
	9AAD	75.0				889 ± 81	
	MMS	1000					290 ± 44

8B　　HES の細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

Report Title: RDC-6567 (2-hydroxyethyl succinimide): Bacterial Reverse Mutation Assay					Test Article: RDC-6567 (2-hydroxyethyl succinimide)		
With Activation	DMSO	50.0 μL/plate	28 ± 3	137 ± 9	11 ± 3	11 ± 3	35 ± 1
	RDC-6567 (2-hydroxyethyl succinimide)	100	23 ± 6	102 ± 8	10 ± 1	14 ± 6	28 ± 7
		333	31 ± 4	113 ± 10	10 ± 3	14 ± 4	24 ± 7
		667	28 ± 5	101 ± 12	10 ± 1	14 ± 5	29 ± 4
		1000	40 ± 8	125 ± 7	9 ± 1	13 ± 4	27 ± 3
		3333	26 ± 2	106 ± 11	12 ± 3	9 ± 4	35 ± 14
		5000	27 ± 3	115 ± 10	12 ± 2	13 ± 2	33 ± 3
	2AA	1.00	205 ± 12		65 ± 6		
	2AA	2.00		758 ± 25		40 ± 8	
	2AA	15.0					234 ± 26

2AA = 2-aminoanthracene; 2NF = 2-nitrofluorene; 9AAD = 9-Aminoacridine; CTD = common technical document; DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; MMS = Methyl Methanesulfonate; SA = Sodium Azide; SD = Standard Deviation.

8C　　DRF のほ乳類細胞を用いる in vitro 染色体異常試験

<table>
<tr><td colspan="4">Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)</td></tr>
<tr><td colspan="3">Report Title: In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Assay of RDC-5108 in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)</td><td>Study No. AT-5108-12</td></tr>
<tr><td colspan="2">Test for Induction of: Chromosome aberrations</td><td>No. of Independent Assays: 2</td><td>Location in CTD: 4.2.3.3.1-3</td></tr>
<tr><td colspan="2">Strains: Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)</td><td>No. of Replicate Cultures: 2</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td colspan="2">Metabolizing System:
Aroclor-induced rat liver S9</td><td>No. of Cells Analyzed/Culture:
Diroximel fumarate: 50 or 100 for structural, 100 for numerical;
Positive controls: 50 for structural, 100 for numerical</td><td>Date of Treatment:
[redacted] 20[redacted] (Initial Assay)
[redacted] 20[redacted] (Repeat Assay)</td></tr>
<tr><td>Vehicles:</td><td>For Test Article: DMSO</td><td colspan="2">For Positive Controls: Water (MMC, CP)</td></tr>
<tr><td colspan="4">Treatment: 20 hr without S9; 4 hr with 16 hr recovery period with and without S9</td></tr>
<tr><td colspan="4">Cytotoxic Effects:　In the initial chromosome aberration assay, substantial toxicity (≥ 50% reduction in mitotic index relative to the solvent control) was observed at dose levels ≥ 150 µg/mL in the non-activated 4-hour exposure group, and at dose levels ≥ 60 µg/mL in the non-activated 20-hour exposure group. In the repeat assay, substantial toxicity was not observed at any dose level in the S9-activated 4-hour exposure group.</td></tr>
<tr><td colspan="4">Genotoxic Effects:　DRF was concluded to be positive for the induction of structural and numerical chromosome aberrations in the non-activated test system in the in vitro mammalian chromosome aberration test using human peripheral blood lymphocytes. DRF was concluded to be positive for the induction of structural and negative for the induction of numerical chromosome aberrations in the S9-activated test system in the in vitro mammalian chromosome aberration test using human peripheral blood lymphocytes.</td></tr>
</table>

8C　　DRF のほ乳類細胞を用いる in vitro 染色体異常試験（続き）

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (μg/mL)	Cytotoxicity [a] (% of Control)	Aberrant Cells		Aberrations per Cell[b, d] (Mean ± SD)	Total Polyploid Cells (Mean %)[e]
				Structural (Mean %)[b]	Numerical (Mean %)[c]		
20-hr Continuous Treatment Without Activation (Initial Assay)	DMSO	NA	NA	0.5	0.0	0.005 ± 0.071	0.0
	DRF	15	8	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
	DRF	40	25	9.0**	1.0	0.120 ± 0.504	1.0
	DRF	60	54	35.0**	2.5*	0.940 ± 1.705	2.5*
	MMC	0.3	37	39.0**	0.0	0.480 ± 0.659	0.0
4-hr Treatment with 16 hr Recovery Without Activation (Initial Assay)	DMSO	NA	NA	1.0	0.0	0.010 ± 0.100	0.0
	DRF	15	5	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
	DRF	50	25	15.0**	1.0	0.190 ± 0.506	1.0
	DRF	150	55	24.0**	0.5	0.660 ± 1.571	0.5
	MMC	0.6	41	38.0**	0.5	0.500 ± 0.718	0.5
4-hr Treatment with 16 hr Recovery With Activation (Repeat Assay)	DMSO	NA	NA	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
	DRF	50	11	0.5	0.0	0.005 ± 0.071	0.0
	DRF	100	15	0.5	0.5	0.005 ± 0.071	0.5
	DRF	255	35	8.0**	0.0	0.080 ± 0.318	0.0
	CP	5	47	10.0**	0.0	0.120 ± 0.383	0.0

CP = cyclophosphamide; CTD = common technical document; DMSO = dimethyl sulfoxide; DRF = diroximel fumarate; GLP = Good Laboratory Practice; MMC = mitomycin C; NA = not applicable; SD = Standard Deviation.
Fisher's Exact Test: * = $p \leq 0.05$; ** = $p \leq 0.01$
[a] Based on mitotic inhibition relative to solvent control.
[b] Does not include cells with only gaps.
[c] Includes polyploid and endoreduplicated cells.
[d] Severely damaged cells counted as 10 aberrations.
[e] Does not include endoreduplicated cells.

8D　　HES のほ乳類細胞を用いる in vitro 染色体異常試験

Report Title: In Vitro Mammalian Chromosomal Aberration Assay in Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)			Test Article: RDC-6567 (2-hydroxyethyl succinimide)
Test for Induction of: Chromosome aberrations		No. of Independent Assays: 1	Study No. P098-20-02
Strains: Human Peripheral Blood Lymphocytes (HPBL)		No. of Replicate Cultures: 2	Location in CTD: 4.2.3.3.1-4
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9		No. of Cells Analyzed/Culture: RDC-6567 (2-hydroxyethyl succinimide): 150 for structural, 150 for numerical; Positive controls: 75 for structural, 150 for numerical	
Vehicles:	For Test Article: DMSO	For Positive Controls: Water (MMC, CP)	GLP Compliance: Yes
Treatment: 20 hour without S9; 4 hour with 16 hour recovery period with and without S9			Date of Treatment: [redacted] 20[redacted] (Definitive Assay)
Cytotoxic Effects: In the chromosomal aberration assay, cytotoxicity (50 ± 5% reduction in mitotic index relative to the vehicle control) was not observed at any dose in any of the three treatment conditions.			
Genotoxic Effects: None			

Metabolic Activation	Test Article	Dose (μg/mL)	Cytotoxicity[a] (% of Control)	Total Aberrant Cells		Aberrations per Cell[b, d] (Mean± SD)	Total Polyploid Cells (Mean %)[e]
				Structural (Mean%)[b]	Numerical (Mean%)[c]		
20-hr Continuous Treatment; Without Activation	DMSO	NA	NA	0.3	0.0	0.003 ± 0.058	0.0
	RDC-6567 (2-hydroxyethyl succinimide)	35.8	10	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
		71.5	14	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
		143	9	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
	MMC	0.3	52	20.0**	0.0	0.287 ± 0.617	0.0
4-hr Treatment; With 16 hr Recovery; Without Activation	DMSO	NA	NA	0.3	0.0	0.003 ± 0.058	0.0
	RDC-6567 (2-hydroxyethyl succinimide)	35.8	5	0.3	0.0	0.003 ± 0.058	0.0
		71.5	4	0.3	0.3	0.003 ± 0.058	0.3
		143	4	0.3	0.0	0.003 ± 0.058	0.0
	MMC	0.6	48	20.0**	0.0	0.233 ± 0.497	0.0
4-hr Treatment With 16 hr Recovery With Activation	DMSO	NA	NA	0.7	0.3	0.007 ± 0.082	0.3
	RDC-6567 (2-hydroxyethyl succinimide)	35.8	8	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
		71.5	11	0.0	0.0	0.000 ± 0.000	0.0
		143	12	0.3	0.0	0.003 ± 0.058	0.0
	CP	5	49	16.7**	0.0	0.207 ± 0.496	0.0

CP = Cyclophosphamide; CTD = common technical document; DMSO = Dimethyl sulfoxide; GLP = Good Laboratory Practice; HES ＝ 2-hydroxyethyl succinimide; MMC = Mitomycin C; NA = Not Applicable; SD = Standard Deviation.

Fisher's Exact Test: * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$.

[a] Based on mitotic inhibition relative to solvent control.

[b] Does not include cells with only gaps.

[c] Includes polyploid and endoreduplicated cells.

[d] Severely damaged cells counted as 10 aberrations.

[e] Does not include endoreduplicated cell.

9 In vivo 遺伝毒性試験

9A DRF の in vivo ラット小核及びコメット試験

<table>
<tr><td colspan="3">Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)</td></tr>
<tr><td colspan="2">Report Title: In Vivo Micronucleus and Comet Assay in Rats with RDC-5108</td><td>Study Number: AT-5108-23</td></tr>
<tr><td colspan="2">Tests for Induction of: DNA damage in liver and duodenum of male rats and bone marrow micronuclei</td><td>Location in CTD: 4.2.3.3.2-1</td></tr>
<tr><td>Sex/Species/Strain:
Male/ Rat/ Sprague Dawley (Hsd:SD)</td><td>Treatment Schedule: Once daily dose administration on three consecutive days</td><td>GLP Compliance: Yes</td></tr>
<tr><td>Age at Initiation: 6 weeks old</td><td>Method of Administration: Oral gavage</td><td>Cells Evaluated: Liver, duodenum and bone marrow</td></tr>
<tr><td>Body Weight at Randomization:
Definitive Assay 173.3 – 196.0 grams
BioAnalysis: 170.4 – 196.3 grams</td><td>Number of Cells Analyzed: 100 cells/animal for Comet, 2000 PCE/animal for Micronucleus</td><td>Days of Dosing: [redacted], [redacted], [redacted] 20[redacted] (Definitive Assay)
[redacted], [redacted], [redacted] 20[redacted] (TK analysis)</td></tr>
<tr><td>Negative Control Article:
50 mM citrate buffer containing 0.5% Methocel E50 Premium LV and 0.2% polysorbate 20, pH ~4</td><td>Vehicle for Positive Control Articles: 0.9% Saline</td><td>Positive Control:
Ethyl methanesulfonate (EMS)</td></tr>
<tr><td colspan="3">Toxic/Cytotoxic Effects: Piloerection was noted in rats dosed at 1000 and 2000 mg/kg. All other animals appeared normal throughout the course of the study conduct.
Genotoxic Effects: Definitive Assay
Liver – No increase in % clouds in the test article-dosed animals was observed compared to the vehicle control. There was a statistically significant increase in the % tail DNA at the low dose only; however, there was no dose-dependent increase, and the % tail DNA values were within the historical control range. Positive and vehicle control % tail DNA values were within the expected ranges.
Duodenum – The % clouds in the test article-dosed animals was lower than the vehicle control animals. There were statistically significant decreases in % tail DNA in the test article-dosed animals at 1000 and 2000 mg/kg/day compared to the vehicle control. These decreases were dose dependent by regression analysis ($p < 0.01$). Positive and vehicle control % tail DNA values were within the expected ranges.
Evidence of Exposure: None of the plasma samples contained any detectable levels of DRF with the exception of one 1000 mg/kg/day animal (Animal Number 241) at 0.25 h with a concentration of 817 ng/mL. Two metabolites of the test article, RDC-8439 and monomethyl fumarate (MMF) were measurable in plasma.</td></tr>
</table>

9A　　DRF の in vivo ラット小核及びコメット試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: In Vivo Micronucleus and Comet Assay in Rats with RDC-5108			Study Number: AT-5108-23	
Comet Assay– Liver and Duodenal Cells				
Treatment (20 mL/kg/day)	Dose (mg/kg/day)	No. of Male Rats	Definitive Assay	
			% Tail DNA[a] in Liver Cells (Mean ± SD)	% Tail DNA[a] in Duodenal Cells (Mean ± SD)
Vehicle[b]	0	5	0.68 ± 0.15	9.96 ± 4.62
DRF	500	5	1.59 ± 0.41#	9.18 ± 2.19+
	1000	5	0.82 ± 0.07	5.51 ± 1.09+#
	2000	5	0.98 ± 0.14	4.80 ± 1.35+#
Positive Control[c]	200	5	31.45 ± 2.40*	36.88 ± 2.58*
Micronucleus Assay – Bone Marrow Cells				
Treatment (20 mL/kg/day)	Dose (mg/kg/day)	No. of Males	PCE/Total Erythrocyte (Mean ± SD)	Number MnPCE/PCE scored
Vehicle[b]	0	5	0.525 ± 0.01	2 / 10000
Test Article	500	5	0.536 ± 0.00	1 / 10000
	1000	5	0.531 ± 0.01	1 / 10000
	2000	5	0.529 ± 0.01	5 / 10000
Positive Control[d]	200	5	0.556 ± 0.01	183* / 10000

9A DRF の in vivo ラット小核及びコメット試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: In Vivo Micronucleus and Comet Assay in Rats with RDC-5108				Study Number: AT-5108-23
Toxicokinetics[e]:		500 mg/kg/day	1000 mg/kg/day	2000 mg/kg/day
Parameter				
MMF				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)		47400	121000	213000
C_{max} (ng/mL)		20000	30900	66300
T_{max} (h)		0.25	0.75	0.25
RDC-8439				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)		1060	4970	27400
C_{max} (ng/mL)		541	2060	3850
T_{max} (h)		0.25	0.25	0.25

ANOVA = analysis of variance; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; DRF = diroximel fumarate; GLP = Good Laboratory Practice; LV = low viscosity; MMF = monomethyl fumarate; MnPCE = micronucleated polychromatic erythrocytes; PCE = polychromatic erythrocytes; SD = standard deviation; TK = toxicokinetic; T_{max} = time to reach maximum observed concentration.
# = $p < 0.05$ (ANOVA, Dunnett's post hoc); Statistically significant increase relative to the vehicle control, however within the historical vehicle control range; * = $p < 0.05$ (paired t-test); Statistically significant increase relative to the vehicle control; + = $p < 0.01$ (regression analysis to assess the dose response relationship); Statistically significant relative to the vehicle control;

[a] Mean of 5 animals' mean values
[b] 50 mM citrate buffer containing 0.5% Methocel E50 Premium LV and 0.2% polysorbate 20, pH ~4
[c] Ethyl methanesulfonate (EMS), positive control for Comet assay, orally administered at 10 mL/kg/day on Study Day 2 and on Study Day 3 at 3 to 4 hours prior to organ collection.
[d] Ethyl methanesulfonate (EMS), positive control for micronucleus assay, orally administered at 10 mL/kg/day on Study Day 2 and on Study Day 3 at 3 to 4 hours prior to organ collection. Statistically significant increase compared to the vehicle control, $p \leq 0.05$ (Kastenbaum-Bowman Tables, binomial distribution).
[e] Toxicokinetic parameters were evaluated following 3 daily doses of DRF.

10 がん原性試験

10A ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats				Study Number: AT-5108-26	
Species/Strain: CD®[Crl:CD®(SD)] rats	Duration of Dosing: Male: Once daily for up to 90 weeks Female: Once daily for up to 94 weeks			Location in CTD: 4.2.3.4.1-1	
Initial Age: Approximately 6 weeks of age at receipt	Method of Administration: Oral gavage			GLP Compliance: Yes	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Vehicle: 50 mM citrate buffer containing 0.5% (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) polysorbate 20 in deionized water, pH 4 ± 0.1			Control: Distilled water from deionized tap water at [redacted]	
Basis for High-Dose Selection: [redacted] Study Numbers 825-100 (Alkermes Study Number AT-5108-13) and 825-102 (Alkermes Study Number AT-5108-15) in rats that were 91 days and 26-weeks in durations, respectively.					
Special Features: Water control group					

Gender	Males and Females Combined									
Dose Level (mg/kg/day)	Control		Vehicle		15		50		150	
Number of TK Animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 9	F: 9	M: 9	F: 9	M: 9	F: 9
Toxicokinetics[a]:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
MMF										
C_{max} (ng/mL)										
Day 1	-		-		2020		6440		26300	
Day 182	-		-		3350		9600		19100	
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)										
Day 1	-		-		1500		5760		36200	
Day 182	-		-		1760		7260		17600	
HES										
C_{max} (ng/mL)										
Day 1	-		-		6980		19100		79100	
Day 182	-		-		6360		21400		44300	
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)										
Day 1	-		-		55100		150000		606000	
Day 182	-		-		50000		162000		473000	
RDC-8439										
C_{max} (ng/mL)										
Day 1	-		-		11.6		96.5		371	
Day 182	-		-		10.9		242		476	
AUC_{0-24h} (ng*h/mL)										
Day 1	-		-		NA[b]		NA[b]		385	
Day 182	-		-		NA[b]		NA[b]		533	

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
At Start of Study	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Died or Sacrificed Moribund[c]	37	50	35	41	48	45	50	44	40	46
Terminal Sacrifice	33	20	25	19	22	25	20	16	20	24
Survival of Carcinogenicity Animals (%)	47	29	42	32	31*	36	29	27	33	34
Noteworthy Findings:										
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight[d] (g)										
Week 16	633.9	652.4	638.9	631.2	620.5‡	325.5	323.4	325.4	332.1	328.4
Week 18	653.2	670.1	656.5	645.0	635.9‡	332.2	331.0	334.5	335.6	334.6
Week 20	674.4	689.8	671.5	665.8	655.4†	341.9	340.2	342.2	347.8	344.7
Week 22	691.8	702.5	688.3	679.7	668.2†	348.5	349.7	347.7	354.2	347.4
Week 24	708.2	718.6	704.9	696.9	681.7‡	356.4	354.0	354.7	360.0	357.0
Week 26	724.0	734.4	723.8	718.9	700.8	366.0	363.6	365.0	369.9	368.2
Week 28	731.4	743.2	727.1	726.3	703.8†	369.5	367.6	365.4	375.6	370.8
Week 32	757.5	766.6	753.4	748.7	730.3	382.7	377.8	380.5	391.0	390.5
Week 36	773.7	790.2	775.5	763.7	740.4‡	390.4	397.3	390.9	405.8	399.6
Week 40	797.5	814.2	796.1	792.3	759.8*,‡	416.2	415.0	411.4	424.2	416.1
Week 44	814.9	828.9	817.1	799.9	770.4*,‡	428.9	428.5	424.1	438.6	428.2
Week 48	838.8	842.9	843.0	817.9	788.4**,†	441.0	441.5	435.8	450.9	440.6
Week 52	852.8	850.2	852.2	821.3	790.9**,†	453.6	452.4	439.6	463.9	454.6
Week 56	866.7	854.7	866.2	841.0	800.2**,†	468.6	464.8	455.5	473.9	464.6
Week 60	867.8	860.2	867.7	835.1	782.8**,‡	476.3	475.5	464.9	473.5	471.8
Week 64	878.7	869.5	884.0	844.9	806.4**,†	487.9	488.6	475.7	485.3	480.4
Week 68	886.3	876.1	887.1	837.9	801.6**,‡	501.3	502.1	471.6	494.9	490.6
Week 72	893.2	879.2	895.8	848.3	803.8**,†	503.3	505.4	481.0	504.2	496.1
Week 76	893.5	866.8	899.6	852.6	812.7**	514.0	510.8	500.0	509.5	499.9
Week 80	903.6	855.0	900.6	857.6	789.3**	520.3	510.6	496.0	497.2	497.8
Week 84	894.7	843.1	902.0	858.1	772.0**	533.7	515.7	493.0	495.2	498.5
Week 88	879.5	868.8	900.3	843.6	774.4**,†	529.2	514.0	506.1	496.0	508.3

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats					Study Number: AT-5108-26					
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Caged Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mass Findings	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology[e]										
Erythrocytes (10^6 cells/μL)	8.054	7.871	7.850	7.535*	7.227**,†	7.157	7.248	7.276	7.286	6.893
Hemoglobin (g/dL)	14.67	14.48	14.57	14.29	13.35**,†	13.76	13.93	14.23	14.17	13.72
Hematocrit (%)	47.42	47.11	47.32	46.50	43.49**,†	44.97	45.87	47.12	46.79	44.57
Coagulation[e]										
Fibrinogen (mg/dL)	388.4	431.8	455.8	470.7	514.6**	283.1	274.5	250.3	323.5	297.5
Summary of Neoplastic Lesions[f]										
Drug-related										
testes										
adenoma, leydig cell	2	1	0	1	13	NA	NA	NA	NA	NA
Incidental/Spontaneous										
multicentric neoplasm										
Hemangiosarcoma	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0
Pancreas										
carcinoma, islet cell	1	0	0	5	0	0	0	0	0	1
prostate gland										
adenocarcinoma	0	0	0	2	0	NA	NA	NA	NA	NA
skin/skin, subcutis										
fibrosarcoma	1	0	5	3	0	0	1	0	2	1

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Neoplastic-related Gross Pathology[g]										
Number examined	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
testes										
discoloration, tan										
moderate	0	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA	NA
discoloration, yellow										
mild	0	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA	NA
focus/foci, tan										
mild	0	0	0	0	2	NA	NA	NA	NA	NA
moderate	0	0	0	0	3	NA	NA	NA	NA	NA
Neoplastic-related Histopathology[g]										
Number examined	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
epididymides										
oligospermia/germ cell debris, bilateral										
minimal	0	0	2	0	1	NA	NA	NA	NA	NA
mild	1	0	0	3	5	NA	NA	NA	NA	NA
moderate	1	0	1	1	1	NA	NA	NA	NA	NA
severe	1	1	0	1	8	NA	NA	NA	NA	NA
oligospermia/germ cell debris, unilateral										
minimal	1	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	NA
mild	1	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA	NA
moderate	0	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA	NA
severe	0	1	2	1	1	NA	NA	NA	NA	NA

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Neoplastic-related Histopathology[g] (Continued)										
testes										
degeneration/atrophy, seminiferous tubules, bilateral										
minimal	6	3	0	4	5	NA	NA	NA	NA	NA
mild	2	1	0	4	9	NA	NA	NA	NA	NA
moderate	0	1	0	1	4	NA	NA	NA	NA	NA
severe	1	0	1	0	7	NA	NA	NA	NA	NA
degeneration/atrophy, seminiferous tubules, unilateral										
minimal	5	3	2	0	3	NA	NA	NA	NA	NA
mild	1	0	0	3	0	NA	NA	NA	NA	NA
moderate	1	1	0	0	1	NA	NA	NA	NA	NA
severe	0	1	2	1	1	NA	NA	NA	NA	NA
hyperplasia, leydig cell										
minimal	2	1	0	1	3	NA	NA	NA	NA	NA
mild	2	1	1	2	5	NA	NA	NA	NA	NA
moderate	0	0	0	0	4	NA	NA	NA	NA	NA

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Non-neoplastic Gross Pathology[g]										
Number Examined	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Primary Findings										
kidneys										
discoloration, tan										
mild	1	0	0	0	4	0	0	0	1	1
moderate	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
enlarged										
mild	1	2	2	2	6	0	0	0	0	2
moderate	0	0	1	2	7	0	0	0	0	1
severe	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0
irregular surface										
mild	0	1	2	1	0	0	0	0	0	2
moderate	0	0	0	0	6	0	0	1	1	0
stomach, non-glandular										
irregular surface										
mild	0	1	0	0	2	1	1	0	0	0
swollen/thickened										
mild	0	0	1	0	4	0	0	0	0	1
Secondary Findings[h]										
aorta										
discoloration, gray										
mild	0	1	0	0	3	0	0	0	0	0
moderate	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
enlarged										
mild	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0
heart										
discoloration, tan										
mild	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
moderate	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Non-neoplastic Gross Pathology[g] (Continued)										
Secondary Findings[h] (Continued)										
parathyroid glands										
enlarged										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
mild	0	0	0	0	4	0	0	0	0	1
moderate	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Non-neoplastic Histopathology[g]										
Number Examined	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Primary Findings										
kidneys										
hyperplasia, tubular										
minimal	2	1	0	4	18	4	0	1	1	4
mild	0	0	0	1	11	0	0	0	0	0
nephropathy, chronic progressive										
minimal	28	24	22	11	6	22	23	30	18	16
mild	19	16	12	7	5	7	6	4	12	18
moderate	14	9	11	29	17	5	4	1	2	15
severe	6	8	11	13	40	1	0	0	5	8
stomach, nonglandular										
hyperplasia, limiting ridge										
minimal	1	1	1	1	12	1	1	1	3	10
mild	0	1	1	1	5	0	0	0	1	1

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Non-neoplastic Histopathology[g] (Continued)										
Secondary Findings[h]										
adrenal glands										
polyarteritis										
minimal	2	0	0	0	3	0	0	0	0	0
aorta										
mineralization										
minimal	1	0	0	0	3	1	0	0	1	2
mild	1	1	0	1	6	0	0	0	0	0
moderate	0	0	0	1	3	1	0	0	0	1
severe	1	1	0	0	3	0	0	0	0	0
bone marrow, sternum										
polyarteritis										
minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
bone, cranium										
fibrous osteodystrophy										
moderate	0	NE	0	NE	1	NE	NE	NE	NE	NE
severe	1	NE	0	NE	1	NE	NE	NE	NE	NE
bone, femur										
fibrous osteodystrophy										
minimal	0	1	0	0	8	0	0	0	0	2
mild	0	0	0	0	4	0	0	0	0	1
moderate	0	2	0	0	4	0	0	0	0	0
severe	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
bone, sternum										
fibrous osteodystrophy										
minimal	0	1	0	0	13	0	0	0	0	2
mild	1	1	0	0	3	0	0	0	0	1
moderate	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Non-neoplastic Histopathology[g] (Continued)										
Secondary Findings[h] (Continued)										
bone, tibia										
fibrous osteodystrophy										
minimal	0	0	0	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1
coagulating glands										
polyarteritis										
minimal	0	1	0	0	1	NA	NA	NA	NA	NA
mild	0	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA	NA
epididymides										
polyarteritis										
minimal	1	1	1	3	4	NA	NA	NA	NA	NA
mild	1	1	0	1	0	NA	NA	NA	NA	NA
heart										
cardiomyopathy										
minimal	46	33	33	31	28	32	24	19	26	18
mild	20	20	19	16	22	25	25	19	17	26
moderate	1	2	3	3	11	4	4	4	4	9
severe	0	1	0	1	3	0	0	0	1	0
mineralization, myofiber										
minimal	1	0	0	0	5	0	1	0	0	1
mild	1	0	0	1	2	0	0	0	0	0
moderate	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0
severe	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0
mineralization, vascular										
minimal	0	0	0	1	2	0	0	0	1	0
mild	1	1	0	2	9	1	0	0	0	1
moderate	0	1	0	0	2	0	0	0	0	1

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Non-neoplastic Histopathology[g] (Continued)										
Secondary Findings[h] (Continued)										
polyarteritis										
minimal	1	2	0	4	2	0	0	0	1	1
mild	0	1	0	0	3	0	0	0	0	1
kidneys										
mineralization										
minimal	3	1	0	4	7	4	8	6	1	1
mild	2	0	0	1	4	2	3	0	0	1
moderate	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0
mineralization, vascular										
minimal	2	1	0	1	4	0	0	0	0	0
mild	0	1	0	0	2	1	0	0	0	0
polyarteritis										
minimal	1	3	3	2	5	0	0	0	0	0
mild	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0
large intestine, cecum										
mineralization, vascular										
minimal	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
polyarteritis										
minimal	0	1	0	1	6	0	0	0	0	0
mild	1	0	1	1	4	1	0	0	0	0
moderate	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
large intestine, colon										
mineralization, vascular										
minimal	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
polyarteritis										
minimal	2	0	0	1	4	0	0	0	0	0
mild	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0
moderate	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Non-neoplastic Histopathology[g] (Continued)										
Secondary Findings[h] (Continued)										
large intestine, rectum										
mineralization, vascular										
minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
polyarteritis										
minimal	2	3	0	1	5	1	1	0	0	0
mild	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
moderate	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
larynx										
polyarteritis										
minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
lung										
mineralization										
minimal	0	0	0	1	3	1	0	0	0	0
mild	1	1	0	0	3	0	0	0	0	0
severe	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
mineralization, vascular										
minimal	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1
moderate	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
polyarteritis										
minimal	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
lymph node, mesenteric										
polyarteritis										
minimal	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
mild	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
mineralization, vascular										
minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Non-neoplastic Histopathology[g] (Continued)										
Secondary Findings[h] (Continued)										
mesentery										
mineralization, vascular										
moderate	NE	NE	NE	NE	1	NE	NE	NE	NE	NE
severe	NE	NE	NE	NE	1	NE	NE	NE	NE	NE
polyarteritis										
moderate	NE	NE	NE	NE	2	0	0	0	0	0
mesentery/peritoneum										
polyarteritis										
mild	1	0	0	0	0	NE	NE	NE	NE	NE
nerve, sciatic										
mineralization, vascular										
minimal	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0
mild	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0
nose										
fibrous osteodystrophy										
minimal	0	0	0	0	5	0	0	0	0	1
mild	0	1	0	0	7	0	0	0	0	1
moderate	0	1	0	0	3	0	0	0	0	0
pancreas										
mineralization, vascular										
minimal	1	2	0	1	2	0	0	0	0	0
mild	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1
moderate	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
polyarteritis										
minimal	2	2	4	1	7	0	0	0	0	2
mild	2	1	2	2	6	0	2	0	1	1
moderate	0	1	0	1	3	0	0	0	0	0

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Non-neoplastic Histopathology[g] (Continued)										
Secondary Findings[h] (Continued)										
parathyroid glands										
hyperplasia, diffuse										
minimal	0	1	1	1	6	1	0	0	0	0
mild	0	0	0	1	12	0	0	1	0	1
moderate	1	3	0	0	2	0	0	0	0	0
hyperplasia, focal										
minimal	1	3	2	2	2	0	0	0	0	0
mild	0	1	0	2	2	1	0	2	0	1
preputial glands										
polyarteritis										
minimal	0	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA	NA
prostate gland										
polyarteritis										
minimal	0	0	0	2	2	NA	NA	NA	NA	NA
mineralization, vascular										
minimal	0	1	0	0	0	NA	NA	NA	NA	NA
salivary gland, mandibular										
mineralization, vascular										
minimal	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0
salivary gland, parotid										
polyarteritis										
minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
mild	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
mineralization, vascular										
minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Non-neoplastic Histopathology[g] (Continued)										
Secondary Findings[h] (Continued)										
seminal vesicles										
polyarteritis										
minimal	0	0	0	0	3	NA	NA	NA	NA	NA
mild	0	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA	NA
mineralization, vascular										
minimal	0	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA	NA
skeletal muscle, biceps femoris										
polyarteritis										
minimal	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
skin										
mineralization, vascular										
minimal	0	1	0	0	3	0	0	0	0	0
mild	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
polyarteritis										
minimal	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
small intestine, duodenum										
polyarteritis										
minimal	0	0	0	1	2	0	0	0	0	2
mild	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
small intestine, ileum										
mineralization, vascular										
minimal	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
polyarteritis										
minimal	1	0	0	1	4	0	0	0	0	0
mild	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Non-neoplastic Histopathology[g] (Continued)										
Secondary Findings[h] (Continued)										
spleen										
polyarteritis										
minimal	0	1	0	1	2	0	0	0	0	0
stomach, glandular										
mineralization										
minimal	1	0	0	2	6	0	0	0	0	0
mild	0	1	0	0	5	1	0	0	0	1
moderate	1	1	0	0	4	0	0	0	0	0
mineralization, vascular										
minimal	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
polyarteritis										
minimal	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0
mild	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
stomach, nonglandular										
polyarteritis										
minimal	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
testes										
polyarteritis										
minimal	4	3	2	4	10	NA	NA	NA	NA	NA
mild	3	2	4	2	12	NA	NA	NA	NA	NA
moderate	1	3	1	3	10	NA	NA	NA	NA	NA
mineralization, vascular										
minimal	1	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA	NA
thymus										
polyarteritis										
minimal	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
mild	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

10A　　ラットを用いた 2 年間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)										
Report Title: RDC-5108: A 104-Week Oral Carcinogenicity Study in Rats						Study Number: AT-5108-26				
Gender	Males					Females				
Dose Level (mg/kg/day)	Control	Vehicle	15	50	150	Control	Vehicle	15	50	150
Number of Main Study Animals	70	70	60	60	70	70	70	60	60	70
Non-neoplastic Histopathology[g] (Continued)										
Secondary Findings[h] (Continued)										
thyroid gland										
mineralization, vascular										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
polyarteritis										
minimal	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
tongue										
mineralization, vascular										
minimal	1	1	0	0	6	0	0	0	0	0
mild	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
polyarteritis										
minimal	1	1	0	4	3	0	0	0	2	1
mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
uterus with cervix										
polyarteritis										
minimal	NA	NA	NA	NA	NA	0	0	0	0	1
vagina										
polyarteritis										
minimal	NA	NA	NA	NA	NA	0	1	0	0	0
zymbal’s gland										
polyarteritis										
minimal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

- = no noteworthy findings; * = significantly different from water control; ($p < 0.05$); ** = significantly different from water control; ($p < 0.01$); † = significantly different from vehicle; ($p < 0.05$); ‡ = significantly different from vehicle; ($p < 0.01$); $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; DRF = diroximel fumarate; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HES = 2-hydroxyethyl succinimide (RDC-6567); LV = low viscosity; M = male; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; NE = not examined; TK = toxicokinetic.

[a] Group means (combined gender data) are shown for treated groups; only plasma concentrations of analytes were measured for the control group. There was insufficient exposure to DRF in plasma to calculate toxicokinetic parameters.

[b] AUC not reported due to less than three consecutive quantifiable concentrations.

[c] DRF-related and statistically significant mortality was observed in males at 150 mg/kg due to non-neoplastic renal lesions. No male or female deaths were attributed to DRF-related neoplastic lesions.
[d] Group means are shown.
[e] Clinical pathology evaluations were conducted on all surviving animals at terminal necropsy. Group means are shown.
[f] Reported as number of animals bearing tumors.
[g] Reported as number observed.
[h] Findings secondary to advanced chronic progressive nephropathy.

10B rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間経口投与がん原性試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)											
Report Title: RDC-5108: 26-Week Repeated Dose Oral Carcinogenicity Study in Tg.*ras*H2 Mice									Study Number: AT-5108-31		
Species: Mouse Strain: Main Cohort - *ras*H2-Tg [CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (+/-hemizygous c-Ha-ras)] TK Cohort - CByB6F1 (rasH2-Tg non-transgenic wild-type littermates)					Duration of Dosing: Up to 184 Days (Main Cohort) Up to 177 Days (TK Cohort)				Location in CTD: 4.2.3.4.2-1		
Initial Age: 7 to 8 weeks (Main Cohort) 7 weeks (TK Cohort)					Duration of Recovery: None				GLP Compliance: Yes		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] (Males) 20[redacted] (Females)					Method of Administration: Oral gavage				Basis for High Dose Selection: 28-day study		
Special Features: Water control group					Vehicle Control Article: 50 mM citrate buffer containing 0.5% (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) polysorbate 20 in deionized water, pH 4 ± 0.1						
Maximum Tolerated Dose: 300 mg/kg/day for males and 1000 mg/kg/day for females, based upon a 28-day study (Study No. AT-5108-29)											
Toxicokinetics											
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (water control)		0 (vehicle control)		30		100		300		1000	
Sex:Number of Animals	M:8	F:8	M:8	F:8	M:20	F:20	M:20	F:20	M:20	F:20	M:0	F:20
Died or Sacrificed Moribund	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	ND	3
MMF												
Day 177 C_{max} (ng/mL)					3330	4990	11000	18800	41000	36600	ND	105000
Day 177 T_{max} (hr)					0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	ND	0.25
Day 177 $AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)					NA[a]	NA[a]	NA[a]	7820	21600	17400	ND	86200
HES												
Day 177 C_{max} (ng/mL)					17400	19200	48500	53900	116000	80500	ND	227000
Day 177 T_{max} (hr)					0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	ND	0.75
Day 177 $AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)					42300	37300	123000	97100	287000	163000	ND	855000
RDC-8439												
Day 177 C_{max} (ng/mL)					27.1	67.1	138	260	570	752	ND	2650
Day 177 T_{max} (hr)					0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	ND	0.25
Day 177 $AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)					NA[a]	NA[a]	NA[a]	NA[a]	326	NA[a]	ND	2220

10B　　rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)														
Report Title: RDC-5108: 26-Week Repeated Dose Oral Carcinogenicity Study in Tg.*ras*H2 Mice											Study Number: AT-5108-31			
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (water control)		0 (vehicle control)		30		100		300		1000		PC	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:0	F:25	M:10	F:10
Noteworthy Findings														
Died or Sacrificed Moribund	2	0	3	0	0	1	0	1	1	0	ND	3	1	0
Clinical Observations-Post Dose[b]														
Ataxia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	9	10
Decreased motor activity	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	ND	1	10	10
Rapid/shallow breathing	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	9	10
Ruffled fur	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	ND	7	0	0
Prostrate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	3	3
Thin appearance	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	0	0
Labored breathing	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	ND	0	0	0
Head tilt	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	5	2
Clinical Observations-Hands On[b]														
Decreased motor activity	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	0	0
Ruffled fur	1	1	0	2	1	0	0	2	3	0	ND	14	0	0
Thin appearance	1	3	0	5	1	3	1	1	3	0	ND	10	2	1
Labored breathing	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	0	0
Hunched	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	5	0	0
Mass	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	0	1
Nodule	1	1	0	1	0	2	0	0	0	0	ND	0	0	1
Scab	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	1	0	0
Swelling	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	0	1
Body Weight Day 183[c] (g)	28.49	23.33	27.80	22.74	-	-	-	-	-	-	ND	-	NA	NA
Body Weight Change Day 1-183[c] (g)	5.64	4.50	5.96	4.19	-	-	-	↑ 21*	-	-	ND	-	NA	NA
Food Consumption Day 1-183[c] (g/animal/day)	3.530	3.786	3.302	3.821	-	-	-	-	-	-	ND	↓ 13*	NA	NA

10B rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)														
Report Title: RDC-5108: 26-Week Repeated Dose Oral Carcinogenicity Study in Tg.*ras*H2 Mice									Study Number: AT-5108-31					
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (water control)		0 (vehicle control)		30		100		300		1000		PC	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:0	F:25	M:10	F:10
Noteworthy Findings														
Gross Observations														
Lungs with bronchi, nodule	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	8	10
Stomach, non-glandular, nodule	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	4	NA	NA
Histopathology														
Neoplastic Findings														
Lung, alveolar bronchiolar adenoma, single	2	0	1	1	4	0	2	1	2	1	ND	1	0	0
Lung, alveolar bronchiolar adenoma, multiple	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	ND	0	10^{++}	10^{++}
Lung, alveolar bronchiolar carcinoma	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	0	1^{d}
Number of Animals with Lung Tumors	3	3	1	1	5	0	2	1	2	1	ND	1	10^{++}	10^{++}
Spleen, hemangiosarcoma	2	0	0	0	2	2	2	1	0	3	ND	0	NA	NA
Nasal Cavity, hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	ND	0	NA	NA
Urinary Bladder, hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	NA	NA
Prostate Gland, hemangiosarcoma	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	ND	NA	NA	NA
Multicentric mesothelioma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	NA	NA
Thyroid, follicular adenoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	0	NA	NA
Heart, sarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	ND	0	NA	NA
Skin, papilloma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	ND	0	NA	NA
Thymus, thymoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	2	NA	NA
Harderian gland, adenoma	1	0	0	0	0	2	1	0	0	2	ND	0	NA	NA
Harderian gland, carcinoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	ND	1	NA	NA

10B　　rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間経口投与がん原性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)														
Report Title: RDC-5108: 26-Week Repeated Dose Oral Carcinogenicity Study in Tg.*ras*H2 Mice									Study Number: AT-5108-31					
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (water control)		0 (vehicle control)		30		100		300		1000		PC	
Sex:Number of Animals	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:25	F:25	M:0	F:25	M:10	F:10
Noteworthy Findings														
Non-neoplastic Findings														
Nasal cavity, exudative inflammation														
Minimal	0	1	0	0	0	0	0	0	0	4	ND	7	NA	NA
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	9	NA	NA
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	2	NA	NA
Esophageal mucosa, hyperkeratosis														
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	ND	0	NA	NA
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	11	NA	NA
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	13	NA	NA
Non-glandular stomach, hyperplasia														
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	5	NA	NA
Mild	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	ND	4	NA	NA
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	5	NA	NA
Marked	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	ND	3	NA	NA
Intersection of glandular/non-glandular stomach, hyperplasia														
Minimal	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	ND	4	NA	NA
Mild	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	ND	0	NA	NA

- = no noteworthy findings; ↓ = decreased; ↑ = increased; * = statistically significant ($p < 0.05$) when compared to vehicle control; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HES = 2-hydroxyethyl succinimide (RDC-6567); LV = low viscosity; M = male; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; ND = not done (no males dosed at 1000 mg/kg); PC = positive control, 1000 mg/kg/day urethane in saline, intraperitoneal injection on Days 1, 3 and 5; TK = toxicokinetic; T_{max} = time to reach maximum observed concentration.

[a] AUC not reported due to less than three consecutive quantifiable concentrations.

[b] Number of animals with the observation at any time during the study.

[c] Group means are presented for the water control and vehicle control group; for other groups, percent differences from the vehicle control group are presented, if the differences in group means are treatment related and/or statistically significant.

[d] One animal had carcinoma and multiple adenomas.

11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

11A ラットの胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)						
Report Title: An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of RDC-5108 on Embryo/Fetal Development in Rats					Study Number: AT-5108-17 Location in CTD: 4.2.3.5.2-1 GLP Compliance: No	
Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. Per Group	Noteworthy Findings	
Rat/ CD® [Crl: CD®(SD)]	Oral gavage, 10 mL/kg (Vehicle: 50 mM citrate buffer containing 0.5% [w/w] Methocel E50 Premium LV and 0.2% [w/w] polysorbate 20 in deionized water, pH 4 ± 0.1)	Gestation Days 6 through 17 (12 consecutive days)	0[a], 100, 200, 400, and 600	7F (timed-mated)	200, 400 and 600 mg/kg/day: Clinical findings of dried or wet red and/or clear material around the mouth 0.25 to 1 hour post dose. 400 and 600 mg/kg/day: Maternal and fetal body weight deficits and lower maternal food consumption.	
Dose Level (mg/kg/day)		100	200		400	600
Toxicokinetic Parameters: MMF						
Gestation Day 6						
C_{max} (ng/mL)		30400	41300		57700	68400
AUC_{last} (ng*h/mL)		22300	55000		88800	112000
Gestation Day 17						
C_{max} (ng/mL)		27100	38700		68500	64600
AUC_{last} (ng*h/mL)		18600	37000		63600	93100
Toxicokinetic Parameters: RDC-8439						
Gestation Day 6						
C_{max} (ng/mL)		210	491		1870	1060
AUC_{last} (ng*h/mL)		108	439		1080	2010
Gestation Day 17						
C_{max} (ng/mL)		472	917		2300	2830
AUC_{last} (ng*h/mL)		242	766		1780	3260

AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration >LLOQ; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; LLOQ = lower limit of quantitation; LV = low viscosity; MMF = monomethyl fumarate.

[a] A separate control group received the vehicle on each day of dosing.

11B　　ウサギの胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: An Oral (Gavage) Dose Range-Finding Study of the Effects of RDC-5108 on Embryo/Fetal Development in Rabbits					Study Number: AT-5108-18 Location in CTD: 4.2.3.5.2-3 GLP Compliance: No			
Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and No. Per Group	Noteworthy Findings			
Rabbit, New Zealand White [Hra: (NZW)SPF]	Oral gavage, 5 mL/kg (50 mM citrate buffer containing 0.5% (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) polysorbate 20, pH 4 ± 0.1)	Tolerability (Phase A): 14 days for 50 and 200 mg/kg/day; 8 days for 500 mg/kg/day	50, 200, 500	3F	500 mg/kg/day: Animals euthanized after 8 doses due to decreased defecation; reduced food consumption and body weight loss.			
		Embryofetal development (Phase B): Gestation Days 7 through 20	0[a], 50, 100, 200, 350	6F (time-mated)	200 mg/kg/day: Transient decrease in body weight gain. 350 mg/kg/day: Lower mean maternal body weight gain and food consumption primarily due to body weight loss and markedly reduced food consumption in one animal; increased postimplantation loss and decrease in viable fetuses in one animal.			
Dose Level (mg/kg/day)			0	50	100	200	350	
Toxicokinetic Parameters – Phase B: MMF								
Gestation Day 20								
C_{max} (ng/mL)			NA[b]	13500	17800	45800	55900	
AUC_{last} (ng*h/mL)			NA[b]	14300	21500	63000	88700	
Toxicokinetic Parameters – Phase B: RDC-8439								
Gestation Day 20								
C_{max} (ng/mL)			NA[b]	97.3	61.9	300	326	
AUC_{last} (ng*h/mL)			NA[b]	26.1	15.3	182	197	

AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration >LLOQ; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; LLOQ = lower limit of quantitation; LV = low viscosity; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable.

[a] A separate control group received the vehicle, 50 mM citrate buffer containing 0.5% (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) polysorbate 20, pH 4 ± 0.1, on each day of dosing.

[b] Samples collected but not analyzed.

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

12A 雄ラットの受胎能に関する試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: Evaluation of Orally (by Gavage) Administered RDC-5108 on Fertility and Reproduction in Male Rats				
Design similar to ICH 4.1.1: Yes		Duration of Dosing: Study Day 0-63		Study Number: AT-5108-19
Species/Strain: Rat/ CD® [Crl: CD®(SD)]		Day of Mating: Gestation Day 0		Location in CTD: 4.2.3.5.1-1
Initial Age: 8 weeks		Day of Laparohysterectomy: Gestation Day 15		GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Method of Administration: Oral gavage		Special Features: None
Vehicle/Formulation: 50 mM citrate buffer containing 0.5 (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) Polysorbate 20 in deionized water, pH 4 ± 0.1/ suspension				
No-Observed Adverse Effect Level:				
Male Systemic Toxicity: 120 mg/kg/day				
Reproductive Toxicity: 400 mg/kg/day				
Early Embryonic Toxicity: 400 mg/kg/day				
Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	40	120	400
Toxicokinetics:				
Males:				
Diroximel Fumarate	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
MMF				
Study Day 0				
AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	3970	15600	53800
C_{max} (ng/mL)	BLQ	5190	12400	34100
T_{max} (h)	BLQ	0.25	0.25	0.25
Study Day 27				
AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	4570	11900	44800
C_{max} (ng/mL)	BLQ	7010	8040	23900
T_{max} (h)	BLQ	0.25	0.25	0.25
RDC-8439				
Study Day 0				
AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	18.9	80.8	677
C_{max} (ng/mL)	BLQ	38.3	159	406
T_{max} (h)	BLQ	0.25	0.25	0.75
Study Day 27				
AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	49.7	270	776
C_{max} (ng/mL)	BLQ	113	280	739
T_{max} (h)	BLQ	0.25	0.25	0.25

12A　　雄ラットの受胎能に関する試験（続き）

					Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)
Report Title: Evaluation of Orally (by Gavage) Administered RDC-5108 on Fertility and Reproduction in Male Rats					
Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	40	120	400
Males:					
	No. Evaluated	25	25	25	25
	No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	1
	Clinical Observations [a]				
	0.25-1 Hour Following Dose Administration				
	Dried Clear Material Around Mouth	0/0	0/0	1/1	3/3
	Wet Red Material Around Mouth	0/0	1/1	0/0	3/3
	Dried Red Material Around Mouth	0/0	0/0	0/0	11/8
	Wet Clear Material Around Mouth	0/0	1/1	2/1	5/4
	Body Weight g [b]				
	Study Day 0	289	0.0	-0.3	0.3
	Study Day 27	425	-0.7	-0.7	-3.8
	Study Day 63	525	-1.5	-1.5	-5.3
	Body Weight Gains g				
	Study Days 0-27 (Pre-mating Period)	136	132	134	120**
	Study Days 0-63 (Entire Treatment Period)	236	228	229	208**
	Food Consumption g/animal/day				
	Study Days 0-3	23	23	23	20**
	Study Days 3-7	23	23	23	21**
	Study Days 7-10	23	23	22	21*
	Study Days 10-14	23	22	22	21**
	Mean No. of Days Prior to Mating	2.7	2.9	2.9	2.5
	Mean No. Males that Mated	25	25	25	24
	No. of Fertile Males	25	24	25	24
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Organ Weights	-	-	-	-
	Spermatogenic Endpoints	-	-	-	-

12A　　雄ラットの受胎能に関する試験（続き）

					Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)
Report Title: Evaluation of Orally (by Gavage) Administered RDC-5108 on Fertility and Reproduction in Male Rats					
Untreated Females:					
	No. Evaluated	25	25	25	25
	No. Pregnant	25	24	25	25
	Mean No. of Corpora Lutea	16.7	15.4	17.2	16.8
	Mean No. of Implantations	15.3	14.9	15.1	15.9
	Mean % Pre-implantation Loss	6.9	2.7	11.5	5.2
	Mean No. Live Conceptuses	14.5	14.5	14.1	14.7
	Mean No. Resorptions (%)	5.4	3.1	7.6	7.1
	Mean No. Dead Conceptuses	0.0	0.0	0.0	0.0
	Mean % Post-implantation Loss	5.4	3.1	7.6	7.1

- = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration >LLOQ; BLQ = below the lower limit of quantitation; C_{max} =maximum observed concentration; CTD = common technical document; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; LLOQ = lower limit of quantitation; MMF = monomethyl fumarate; T_{max} = time to reach maximum observed concentration.
Dunnett's Test = * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$
Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[a] Presented as the total occurrence/number of animals.
[b] For all groups, means are shown. For test diroximel fumarate-treated groups, percent differences from control are shown.

12B　　雌ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Report Title: Evaluation of Orally (by Gavage) Administered RDC-5108 on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Female Rats					
Design similar to ICH 4.1.1: Yes		Duration of Dosing: Study Day 0 – GD7		Study Number: AT-5108-20	
Species/Strain: Rat/ CD® [Crl: CD®(SD)]		Day of Mating: Study Day 13		Location in CTD: 4.2.3.5.1-2	
Initial Age: 10 weeks		Day of Laparohysterectomy: GD15		GLP Compliance: Yes	
		Method of Administration: Oral (gavage)		Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	
Vehicle/Formulation: 50 mM citrate buffer, 0.5% Methocel E50 Premium LV, 0.2% polysorbate 20 in DI water, pH 4 ± 0.1					
Special Features: None					
No-Observed Adverse Effect Level:					
F_0 Females: 120 mg/kg/day					
F_1 Litters: 450 mg/kg/day					
Dose Level (mg/kg/day)		0 (Control)	40	120	450
Females:	Toxicokinetics: AUC_{last} (ng*h/mL)				
	Study Day 13				
	MMF	NA	5490	18000	55800
	RDC-8439	NA	78.7	514	2520
	No. Evaluated	25	25	25	25
	No. Died or Euthanized in Extremis	1	0	0	0
	Clinical Observations [a]				
	Time of Dose				
	Undetermined amount of dose expelled	2/2	5/5	5/4	12/11
	Animal difficult to dose (more than 2 attempts)	3/3	2/2	2/2	6/6
	0.25-1 Hour Post-Dosing				
	Wet clear material around mouth	0/0	0/0	0/0	12/8
	Dried red material around mouth	0/0	0/0	1/1	16/13

12B　　雌ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Report Title: Evaluation of Orally (by Gavage) Administered RDC-5108 on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Female Rats			Study Number: AT-5108-20		
Dose Level (mg/kg/day)		0 (Control)	40	120	450
Females:	Premating Body Weight g (%) [b]	243	242 (-0.4)	242 (-0.4)	238 (-2.1)
	Gestation Body Weight g (%) [b]	317	318 (0.3)	316 (-0.3)	314 (-0.9)
	Premating Food Consumption g/animal/day (%) [b]	14	14 (0.0)	14 (0.0)	14 (0.0)
	Gestation Food Consumption g/animal/day (%) [b]	21	21 (0.0)	21 (0.0)	22 (4.8)
	Mean Estrous Cycle Length (days)	4.0	3.9	4.2	4.2
	Mean No. Days Prior to Mating	2.7	2.6	2.0	2.3
	No. of Females Sperm-Positive	24	25	25	23
	No. Pregnant	24	24	25	22
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Organ Weights	-	-	-	-
	Mean No. of Corpora Lutea	15.2	16.7	15.4	15.8
	Mean No. of Implantations	14.2	14.7	14.1	14.8
	Mean % Preimplantation Loss	6.1	11.1	7.7	6.7
	Mean No. Live Conceptuses	13.3	13.7	13.4	13.8
	Mean No. Resorptions	0.9	1.0	0.7	1.0
	Mean No. Dead Conceptuses	0	0	0	0
	Mean % Postimplantation Loss	5.6	6.7	5.1	7.3

- = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration >LLOQ; CTD = common technical document; DI = deionized water; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; LLOQ = lower limit of quantitation; LV = low viscosity; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable.

[a] Presented as the total occurrence/number of animals.

[b] At end of premating/gestation period. For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

13A ラットの胚・胎児発生に関する試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDC-5108 on Embryo/Fetal Development in Rats					
Design similar to ICH 4.1.3: Yes		Duration of Dosing: GD 6-17		Study Number: AT-5108-21	
Species/Strain: Rat/ CD® [Crl: CD®(SD)]		Day of Mating/Insemination: GD 0		Location in CTD: 4.2.3.5.2-2	
Initial Age: 14 weeks		Day of Laparohysterectomy: GD 20		GLP Compliance: Yes	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Method of Administration: Oral gavage		Special Features: None	
Vehicle/Formulation: 50 mM citrate buffer containing 0.5% (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) polysorbate 20 in deionized water, pH 4 ± 0.1					
No-Observed Adverse Effect Level (NOAEL):					
F_0 Female Maternal Toxicity: 100 mg/kg/day					
Embryofetal Development Toxicity: 100 mg/kg/day					
Dose Level (mg/kg/day)		0 (Control)	40	100	400
Dams:	Toxicokinetics:				
	Diroximel Fumarate	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	MMF				
	GD 6				
	AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	5430	14900	80200
	C_{max} (ng/mL)	BLQ	7270	13500	37400
	T_{max} (h)	BLQ	0.25	0.25	0.25
	GD 17				
	AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	5740	14200	63100
	C_{max} (ng/mL)	BLQ	8720	18000	32300
	T_{max} (h)	BLQ	0.25	0.25	0.25
	RDC-8439				
	GD 6				
	AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	36.7	257	1400
	C_{max} (ng/mL)	BLQ	82.6	255	1130
	T_{max} (h)	BLQ	0.25	0.25	0.25

13A　　ラットの胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDC-5108 on Embryo/Fetal Development in Rats				Study Number: AT-5108-21	
Dose Level (mg/kg/day)		0 (Control)	40	100	400
Dams:	GD 17				
	AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	56.2	336	2140
	C_{max} (ng/mL)	BLQ	138	416	1270
	T_{max} (h)	BLQ	0.25	0.25	0.25
	HES				
	GD 17				
	AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	160000	352000	1180000
	C_{max} (ng/mL)	BLQ	21100	42600	102000
	T_{max} (h)	BLQ	0.75	2	2
	No. Evaluated	25	25	25	25
	No. Pregnant	25	25	25	24
	No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Clinical Observations [a]				
	Dried red material around mouth	1/1	4/4	8/4	32/16
	Wet red material around mouth	0/0	0/0	0/0	1/1
	Wet clear material around mouth	0/0	0/0	0/0	8/4
	Dried clear material around mouth	0/0	0/0	0/0	1/1
	Body Weight (g) (%) [b]				
	GD 18	357	0.6	0.0	-4.5**
	GD 20	388	1.0	0.5	-2.3
	Body Weight Change (g)				
	GD 6-9	9	6	7	-9**
	GD 6-18	77	79	77	57**
	GD 18-20	30	33	33	38**
	Food Consumption (g/animal/day)				
	GD 6-9	20	20	19	13**
	GD 6-18	22	22	22	19**
	GD 18-20	25	25	25	27**
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Mean No. of Corpora Lutea	15.2	16.7*	15.5	16.7

13A　　ラットの胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDC-5108 on Embryo/Fetal Development in Rats					Study Number: AT-5108-21
Dose Level (mg/kg/day)		0 (Control)	40	100	400
Dams:	Mean No. of Implantations	14.4	15.5	14.6	15.3
	Mean % Pre-implantation Loss	5.0	6.1	5.0	7.8
Litters:	No. Litters Evaluated	25	25	25	24
	Mean No. of Viable Fetuses	13.8	14.7	14.2	14.5
	Mean No. Early Resorptions	0.5	0.8	0.4	0.8
	Mean No. Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
	Mean % Post-implantation Loss	3.7	4.8	2.8	5.3
	Mean % Viable Fetuses	96.3	95.2	97.2	94.7
	Mean Fetal Body Weight g (%) [b]	3.8	0.0	2.6	-5.3*
	Mean Sex Ratio (% Males per Litter)	49.9	52.1	51.7	45.8
	No. Fetuses/No. Litters Evaluated	346/25	368/25	356/25	348/24
	Fetal Malformations (No. Fetuses/Litters)				
	Gross External	1/1	0/0	0/0	0/0
	Visceral	2/2	0/0	0/0	0/0
	Skeletal	2/2	0/0	0/0	0/0
	Fetal Variations				
	Gross External	-	-	-	-
	Visceral	-	-	-	-
	Skeletal – Reduced ossification of vertebral arches	5/4	0/0	1/1	15/6
	Skeletal – Sternebrae nos. 5 and/or 6 unossified	8/7	7/6	14/5	23/9
	Skeletal – Reduced ossification of skull	1/1	1/1	1/1	14/7
	Total Affected Fetuses (Litters)	3/2	0/0	0/0	0/0

- = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration > LLOQ; BLQ = below the lower limit of quantitation; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; HES = 2-hydroxyethyl succinimide (RDC-6567); ICH = International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; LLOQ = lower limit of quantitation; LV = low viscosity; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; T_{max} = time to reach maximum observed concentration.
Dunnett's Test = * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$. Proportional (%) data compared using Dunn's Test
[a] Presented as the total occurrence/number of animals.
[b] For control group, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

13B　　ウサギの胚・胎児発生に関する試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDC-5108 on Embryo/Fetal Development in Rabbits					
Design similar to ICH 4.1.3: Yes		Duration of Dosing: GD 7-20		Study Number: AT-5108-22	
Species/Strain: Rabbit, New Zealand White [Hra: (NZW)SPF]		Day of Mating/Insemination: GD 0		Location in CTD: 4.2.3.5.2-4	
Initial Age: 6 months		Day of Laparohysterectomy: GD 29		GLP Compliance: Yes	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]		Method of Administration: Oral (gavage)		Special Features: None	
Vehicle/Formulation: 50 mM citrate buffer containing 0.5% (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) polysorbate 20 in deionized water, pH 4 ± 0.1/ suspension					
No-Observed Adverse Effect Level (NOAEL):					
Maternal Toxicity: 50 mg/kg/day					
Embryofetal Development Toxicity: 50 mg/kg/day					
Dose Level (mg/kg/day)		0 (Control)	50	150	350
Does:	Toxicokinetics:				
	Diroximel Fumarate	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	MMF				
	GD 7				
	AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	9250	42400	58900
	C_{max} (ng/mL)	BLQ	6750	25600	35100
	T_{max} (h)	BLQ	0.63	0.38	0.63
	GD 20				
	AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	11300	40600	87700
	C_{max} (ng/mL)	BLQ	9820	27600	60700
	T_{max} (h)	BLQ	0.58	0.25	0.38
	RDC-8439				
	GD 7				
	AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	67.3	139	93.4
	C_{max} (ng/mL)	BLQ	56.7	182	104
	T_{max} (h)	BLQ	0.25	0.25	0.81
	GD 20				
	AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	NR	214	275
	C_{max} (ng/mL)	BLQ	37.0	248	351
	T_{max} (h)	BLQ	0.25	0.25	0.25

13B　　ウサギの胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDC-5108 on Embryo/Fetal Development in Rabbits				Study Number: AT-5108-22	
Dose Level (mg/kg/day)		0 (Control)	50	150	350
Does:	Toxicokinetics:				
	HES				
	GD 7				
	AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	118000	436000	814000
	C_{max} (ng/mL)	BLQ	16400	64200	109000
	T_{max} (h)	BLQ	2.0	2.0	2.0
	GD 20				
	AUC_{last} (ng*h/mL)	BLQ	155000	421000	1030000
	C_{max} (ng/mL)	BLQ	24600	57900	135000
	T_{max} (h)	BLQ	1.6	2.0	2.0
	No. Evaluated	22	22	22	22
	No. Pregnant	20	19	22	22
	No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	3
	No. Aborted or Delivered	0	1	0	1
	Clinical Observations [a]				
	Decreased Defecation	2/2	1/1	5/3	66/12
	Body Weight (g) (%) [b]				
	GD 7	3245	0.5	-0.2	-0.7
	GD 16	3493	-1.1	-4.0	-9.8**
	GD 21	3609	-1.8	-2.7	-6.2*
	GD 29	3704	-0.3	-1.1	-1.2
	Body Weight Change (g)				
	GD 7-10	108	69	30**	-38**
	GD 10-13	59	46	21	-44**
	GD 13-21	196	166	224	193
	GD 7-21	364	281	274	162**
	GD 21-29	95	159	153	272**
	Mean Gravid Uterine Weight (g)	517.2	501.8	481.7	505.4

13B　　ウサギの胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDC-5108 on Embryo/Fetal Development in Rabbits				Study Number: AT-5108-22	
Dose Level (mg/kg/day)		0 (Control)	50	150	350
Does:	Food Consumption (g/animal/day)				
	GD 7-10	184	173	154	119**
	GD 10-13	166	152	122**	71**
	GD 13-21	162	149	146	123**
	GD 7-21	167	155	143*	117**
	GD 21-29	111	123	137**	169**
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Mean No. of Corpora Lutea	10.4	9.9	9.8	10.6
	Mean No. of Implantations	9.7	9.4	9.0	10.1
	Mean % Pre-implantation Loss	7.0	5.0	7.8	4.9
Litters:	No. Litters Evaluated	20	18	22	18
	Mean No. of Viable Fetuses	9.4	9.2	8.7	8.9
	Mean No. Resorptions (Early + Late)	0.4	0.3	0.3	0.7
	Mean No. Dead Fetuses	0	0	0	0.3
	Mean % Post-implantation Loss	3.9	3.2	3.0	12.1
	Mean % Viable Fetuses	96.1	96.8	97.0	87.9
	Mean Fetal Body Weight g [b]				
	Male	40.5	0.0	3.2	-3.5
	Female	39.6	-2.8	0.0	-7.3
	Combined	40.1	-1.2	1.5	-5.0
	Mean Sex Ratio (% Males per Litter)	49.5	52.7	48.8	53.3

13B　　ウサギの胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)					
Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDC-5108 on Embryo/Fetal Development in Rabbits				Study Number: AT-5108-22	
Dose Level (mg/kg/day)		0 (Control)	50	150	350
Litters:	No. Fetuses/No. Litters Evaluated	187/20	165/18	191/22	161/18
	Fetal Morphology No. Fetuses/No. Litters (% per Litter)				
	Malformations				
	Skeletal				
	Vertebral Centra Anomaly	0.0	0.0	3/1 (1.7)	7/5 (4.2)
	Vertebral Anomaly with or without Rib Anomaly	0.0	0.0	0.0	2/1 (1.2)
	Sternebra(e) Malaligned (severe)	1/1 (0.5)	0.0	2/1 (1.1)	1/1 (0.6)
	Variations				
	Skeletal				
	13th Full Rib	55/15 (29.8)	70/17 (43.8)	45/14 (22.9)	95/17 (57.8)

- = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration >LLOQ; BLQ = below the lower limit of quantitation; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; HES = 2-hydroxyethyl succinimide (RDC-6567); ICH = International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; LLOQ = lower limit of quantitation; LV = low viscosity; MMF = monomethyl fumarate; NR = not reportable; T_{max} = time to reach maximum observed concentration.

Dunnett's Test * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$

[a] Presented as the total occurrence/number of animals.

[b] For the control group, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

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

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDC-5108 on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats				
Design similar to ICH 4.1.2: Yes	Duration of Dosing: GD 6 through LD 20		Study No. AT-5108-30	
Species/Strain: Rat/ CD® [Crl: CD®(SD)]	Day of Mating: GD 0		Location in CTD: 4.2.3.5.3-1	
Initial Age: 13 weeks	Method of Administration: Oral (Gavage)		GLP Compliance: Yes	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Litters Culled/Not Culled: Culled			
Vehicle/Formulation: 50 mM citrate buffer containing 0.5% [w/w] Methocel E50 Premium LV and 0.2% [w/w] polysorbate 20 in deionized water, pH 4 ± 0.1/suspension				
Special Features: None				
No-Observed Adverse Effect Level:				
F_0 Maternal Systemic: 100 mg/kg/day				
F_1 Neonatal/developmental Toxicity: 100 mg/kg/day				
F_1 Parental Systemic: 400 mg/kg/day				
F_1 Reproductive: 400 mg/kg/day				
F_2 Embryonic Development: 400 mg/kg/day				
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)	40	100	400
F_0 Females:				
Toxicokinetics:				
Diroximel Fumarate				
GD 6	NA	NC	NC	NC
LD 10	NA	NC	NC	NC
MMF				
GD 6				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA	5940	18700	90300
AUC_{last} (ng*h/mL)	NA	4870	16400	66100
C_{max} (ng/mL)	NA	5690	16800	41200
T_{max} (h)	NA	0.25	0.25	0.75
LD 10				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA	5610	17900	63000
AUC_{last} (ng*h/mL)	NA	4760	16400	47100
C_{max} (ng/mL)	NA	7650	18300	27000
T_{max} (h)	NA	0.25	0.25	0.25

14　　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: An Oral (Gavage) Study of the Effects of RDC-5108 on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats			Study Number: AT-5108-30	
Dose Level (mg/kg/day)	0 (Control)	40	100	400
F_0 Females:				
HES				
GD 6				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA	111000	256000	909000
AUC_{last} (ng*h/mL)	NA	111000	256000	909000
C_{max} (ng/mL)	NA	16200	38300	92700
T_{max} (h)	NA	0.75	0.75	0.75
LD 10				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA	103000	246000	622000
AUC_{last} (ng*h/mL)	NA	103000	246000	622000
C_{max} (ng/mL)	NA	16200	43500	70600
T_{max} (h)	NA	0.25	0.75	2
RDC-8439				
GD 6				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA	NC	NC	1440
AUC_{last} (ng*h/mL)	NA	NC	NC	1220
C_{max} (ng/mL)	NA	95.6	336	1530
T_{max} (h)	NA	0.25	0.25	0.25
LD 10				
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)	NA	NC	NC	2130
AUC_{last} (ng*h/mL)	NA	NC	NC	1910
C_{max} (ng/mL)	NA	165	367	1530
T_{max} (h)	NA	0.25	0.25	0.25
No. Evaluated	24	24	24	24
No. Pregnant	24	24	24	23
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	2
Clinical Observations	-	-	-	-
Gestation Body Weight g (%) [a]				
GD 6	283	284 (0.4)	289 (2.1)	280 (-1.1)
GD 20	396	395 (-0.3)	398 (0.5)	352 (-11.1)**
Gestation Body Weight Change (GD 6-9),g	11	11	7	-24**
F_0 Females: Lactation Body Weight g (%) [a]				

	LD 1	299	301 (0.7)	302 (1.0)	269 (-10.0)**
	LD 21	337	336 (-0.3)	345 (2.4)	338 (0.3)
	Gestation Food Consumption, GD 6-20, g/animal/day	22	22	22	17**
	Lactation Food Consumption, LD 1-14, g/animal/day	48	51	52*	48
	Mean Duration of Gestation (days)	21.8	21.9	22.0	22.0
	Abnormal Parturition	-	-	-	-
	No. of Total Litter Losses	0	0	0	1
	Macroscopic Findings	-	-	-	-
F_1 Litters:	No. Litters Evaluated	24	24	24	21
Preweaning	Mean No. of Implantations	15.7	15.8	16.1	16.0
	Mean No. of Pups Born/Litter	14.8	14.8	15.5	14.7
	Mean No. Liveborn Pups/Litter	14.8	14.7	15.5	14.5
	Mean Postnatal Survival (% per Litter)				
	Birth to PND 4	99.1	97.6	97.4	92.7
	PND 4 to PND 21	100.0	100.0	99.0	99.4
	Pup Body Weight g (%)[a]				
	PND 1				
	Male	7.6	7.5 (-1.3)	7.4 (-2.6)	6.8 (-10.5)++
	Female	7.1	7.1 (0.0)	7.0 (-1.4)	6.4 (-9.9)++
	PND 21				
	Male	56.6	58.8 (3.9)	59.9 (5.8)*	52.2 (-7.8)**
	Female	54.5	56.7 (4.0)	56.8 (4.2)	50.2 (-7.9)**
	Mean Pup Sex Ratio (% Males per Litter)	47.9	50.6	50.4	52.7
	Pup Clinical Observations	-	-	-	-
	Pup Necropsy Observations	-	-	-	-
F_1 Males: Postweaning	No. Evaluated PND 21 through Sexual Developmental Endpoints	48	48	48	40
	Mean Age at Preputial Separation (days)	43.0	42.7	42.6	43.4

F_1 Males: Postweaning	No. Evaluated for Behavior and Reproduction	24	24	24	20
	No. Died or Euthanized in Extremis	1	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Body weight g (%)[a]				
	PND 21	57	59 (3.5)	60 (5.3)	52 (-8.8)*
	PND 112	573	567 (-1.0)	568 (-0.9)	542 (-5.4)
	Mean Body Weight Change g, PND 21-112	516	509	507	491
	Startle Response	-	-	-	-
	Locomotor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory – Biel Maze	-	-	-	-
	No. of Males that Mated	22[b]	24	24	20
	No. of Fertile Males	22	23	23	19
	Male Fertility Index (%) [c]	100.0	95.8	95.8	95.0
	Macroscopic Findings	-	-	-	-
F_1 Females: Postweaning	No. Evaluated PND 21 through Sexual Developmental Endpoints	48	48	48	40
	Mean Age at Vaginal Patency (days)	32.2	32.5	32.9	33.5
	No. Evaluated for Behavior and Reproduction	24	24	24	20
	No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Premating Body Weight g (%)[a]				
	PND 21	54	57 (5.6)	57 (5.6)	50 (-7.4)**
	PND 84	276	277 (0.4)	277 (0.4)	259 (-6.2)*
	Mean Premating Body Weight Change g, PND 21-84	222	220	221	210
	Gestation Body Weight g (%) [a]				
	GD 0	283	288 (1.8)	292 (3.2)	267 (-5.7)*
	GD 13	347	354 (2.0)	353 (1.7)	329 (-5.2)*
	Mean Gestation Body Weight Change g, GD 0-13	65	66	61	62
F_1 Females: Postweaning	Startle Response	-	-	-	-
	Locomotor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory – Biel Maze	-	-	-	-
	Mean Estrous Cycle Length (days)	4.3	4.1	4.2	4.2
	Mean Pre-coital Interval (days)	2.9	3.0	3.1	2.3

	No. of Females Mated (Sperm-Positive)	24	24	24	20
	No. Pregnant	24	23	23	19
	Female Fertility Index (%) [d]	100.0	95.8	95.8	95.0
	Maternal Macroscopic Findings	-	-	-	-
	Mean No. of Corpora Lutea	17.3	17.0	17.1	16.3
	Mean No. of Implantation Sites	16.2	16.5	15.3	15.7
	Mean Pre-implantation Loss (% per litter)	5.7	2.8	9.3	3.0
	Mean No. of Viable Embryos	15.2	15.4	14.2	15.0
	Mean No. of Early Resorptions	1.0	1.1	1.1	0.7
	Mean Postimplantation loss (% per litter)	6.6	7.0	8.6	4.4

- = no noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration >LLOQ; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; HES = 2-hydroxyethyl succinimide (RDC-6567); ICH = International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; LD = lactation day; LLOQ = lower limit of quantitation; LV = low viscosity; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; NC = not calculated; PND = postnatal day; T_{max} = time to reach maximum observed concentration.
Dunnett's Test = * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$; Dunn's Test = ++ = $p < 0.01$

[a] For all groups, means are shown. For diroximel fumarate-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[b] One control group male died during the mating period before evidence of mating was observed; excluded from the calculations.

[c] Male Fertility Index = No of males siring a litter/Total No. of males used for mating X 100.

[d] Female Fertility Index = No of females with confirmed pregnancy/Total No. of females used for mating X 100.

15 新生児を用いた試験

15A 幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Study Title: RDC-5108 (ALKS 8700): A 6-Week Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats with a 6-Week Recovery Period							Test Article: RDC-5108 (ALKS 8700; diroximel fumarate)	
Design similar to ICH: Yes	Duration of Dosing: PND 25–63						Study No. AT-5108-38	
Species/Strain: Rat/ CD® [Crl: CD®(SD)]	Method of Administration: Oral gavage						Location in CTD: 4.2.3.5.4-1	
Initial Age: 25 Days	Vehicle/Formulation: 50 mM citrate buffer containing 0.5% (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) polysorbate 20 in deionized water/Suspension							
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Litters Culled/Not Culled: Culled						GLP Compliance: Yes	
Special Features: NA								
No-Observed Adverse Effect Level:	Juveniles: 150 mg/kg/day							
RDC-5108 Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		60		150		600	
Males								
Toxicokinetics								
No. Evaluated	9		21		21		21	
	PND 25	PND 63	PND 25	PND 63	PND 25	PND 63	PND 25	PND 63
MMF								
AUC_{0-t} (ng*h/mL)	BLQ	BLQ	2600	5760	13200	9250	46,100	56,100
C_{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	2450	8020	6450	10500	33,500	20,900
T_{max} (h)	BLQ	BLQ	0.25	0.25	0.75	0.25	0.75	0.75
T_{last} (h)	BLQ	BLQ	2	2	6	2	6	6
$t_{½}$ (h)	BLQ	BLQ	NC	NC	NC	NC	NC	NC
RDC-6567								
AUC_{0-t} (ng*h/mL)	BLQ	BLQ	70700	199000	290000	400000	984000	1750000
C_{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	17400	32200	54700	45900	144000	171000
T_{max} (h)	BLQ	BLQ	0.75	0.75	0.75	2	0.75	2
T_{last} (h)	BLQ	BLQ	6	24	24	24	24	24
$t_{½}$ (h)	BLQ	BLQ	NC	3.16	2.15	NC	3.38	NC
RDC-8439								
AUC_{0-t} (ng*h/mL)	BLQ	BLQ	NR1	NR1	216	396	1320	1330
C_{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	95.6	202	168	383	976	981
T_{max} (h)	BLQ	BLQ	0.25	0.25	0.25	0.25	0.75	0.25
T_{last} (h)	BLQ	BLQ	0.75	0.75	2	2	2	2
$t_{½}$ (h)	BLQ	BLQ	NC	NC	NC	NC	NC	NC

15A　　幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: RDC-5108 (ALKS 8700): A 6-Week Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats with a 6-Week Recovery Period			Study Number: AT-5108-38	
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	60	150	600
Males				
Dosing Period				
No. Evaluated	50	50	50	50
No. Died or Euthanized in Extremis	0	1[a]	0	0
Clinical Observations[c]				
Wet clear material around mouth	0/0	0/0	2/2	48/21
Body Weight (g)[b]				
PND 63	401 g	398 (−0.7)	387 (−3.5)*	359 (−10.5)**
Body Weight Change (g)				
PND 25–63	325	322	311*	283**
Food Consumption (g/animal/day)				
PND 25-63	23	23	22	20**
Ophthalmology	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-
Immunophenotyping[b]				
Total T Lymphocytes (CD3+) (thous/µL)				
PND 64	3.61	3.96 (+9.7)	4.10 (+13.6)	4.74 (+31.3)
T Helper Lymphocytes (CD3+CD4+) (thous/µL)				
PND 64	2.46	2.71 (+10.2)	2.78 (+13.0)	3.27 (+32.9)
T Cytotoxic Lymphocytes (CD3+CD8a+) (thous/µL)				
PND 64	1.23	1.33 (+8.1)	1.40 (+13.8)	1.55 (+26.0)
Absolute Lymphocytes (thous/µL)				
PND 64	7.89	8.94 (+13.3)	8.59 (+8.9)	9.04 (+14.6)
Coagulation	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-

15A　　幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: RDC-5108 (ALKS 8700): A 6-Week Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats with a 6-Week Recovery Period							Study Number: AT-5108-38	
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		60		150		600	
Males								
Dosing Period Continued								
Urinalysis								
Urine Sodium (mEq/L)	51		45		54		24	
Urine Potassium (mEq/L)	126.8		125.1		96.4		57.3*	
Urine Chloride (mEq/L)	59		58		64		37	
Urine Calcium (mg/dL)	3.0		2.4		2.7		2.1	
Urine Creatinine (mg/dL)	56.5		55.1		44.1		23.3**	
Urine Phosphorus (mg/dL)	82.7		90.1		72.9		34.6*	
Osmolality (mOsm/kg)	700		674		573		316	
Gross Pathology	-		-		-		-	
Organ Weights	Subset A	Subset C	Subset A	Subset C	Subset A	Subset C	Subset A	Subset C
Final Body Weight (g)[b]	394	639	374 (−5.1)	653 (2.2)	371 (−5.8)	648 (1.4)	334 (−15.2)**	619 (−3.1)
Kidney								
Absolute Mean Weight (g)[b]	3.26	4.26	3.35 (2.8)	4.43 (4.0)	3.65 (12.0)	4.43 (4.0)	3.68 (12.9)*	4.64 (8.9)*
Mean to Body Weight Ratio (g/100 g)	0.83	0.669	0.896*	0.681	0.985**	0.686	1.102**	0.751**
Mean to Brain Weight Ratio (g/100 g)	153.885	193.349	158.545	200.121	178.783**	198.728	183.221**	212.619**
Liver								
Absolute Mean Weight (g)[b]	15.01	23.15	15.21 (1.3)	23.58 (1.9)	15.34 (2.2)	24.20 (4.5)	15.55 (3.6)	22.06 (-4.7)
Mean to Body Weight Ratio (g/100 g)	3.800	3.620	4.064	3.609	4.139*	3.728	4.645**	3.569
Mean to Brain Weight Ratio (g/100 g)	706.522	1052.551	719.051	1065.156	752.053	1084.859	774.406	1010.278
Thymus								
Absolute Mean Weight (g)[b]	0.7898	0.3603	0.7135 (−9.7)	0.3454 (−4.1)	0.6548 (−17.1)*	0.3339 (−7.3)	0.5907 (−25.2)**	0.3336 (−7.4)
Mean to Body Weight Ratio (g/100 g)	0.203	0.057	0.191	0.053	0.177	0.052	0.178	0.054
Mean to Brain Weight Ratio (g/100 g)	37.466	16.405	33.685	15.577	32.147	14.953	29.527*	15.293

15A　　幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: RDC-5108 (ALKS 8700): A 6-Week Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats with a 6-Week Recovery Period				Study Number: AT-5108-38
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	60	150	600
Males				
Dosing Period Continued				
Bone Densitometry (Right Femur)[b]				
Length (mm)	34.955	34.959 (0.011)	34.275 (−1.945)	33.987 (−2.769)**
Distal Metaphysis Site				
Total Slice Area (mm^2)	24.747	22.385 (−10)	21.219 (−14)**	21.127 (−15)**
Total BMC (mg/mm)	10.041	9.484 (−6)	9.109 (−9)	8.432 (−16)++
Cortical/subcortical BMC (mg/mm)	8.059	7.712 (-4)	7.418 (−8)	6.796 (−16)***
Diaphysis Site				
Cortical Thickness (mm)	0.6370	0.6296 (−1)	0.6396 (0)	0.5814 (−9)**
Cortical Area (mm^2)	6.733	6.505 (−3)	6.352 (−6)	5.893 (−12)***
Cortical BMC (mg/mm)	7.923	7.646 (−3)	7.467 (−6)	6.799 (−14)***
Cortical BMD (mg/cm^3)	1176.48	1175.54 (0)	1175.04 (0)	1154.17 (−2)***
Histopathology				
No. Examined	10	10	10	10
Kidneys				
Basophilia, Tubule	5	3	2	6
Minimal	5	3	2	6
Hypertrophy, Renal Tubule Cell	0	0	8	9
Mild	-	-	8	2
Moderate	-	-	0	7
Nephropathy, Chronic Progressive	1	1	1	1
Minimal	1	0	1	1
Mild	0	1	0	0

15A　　幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: RDC-5108 (ALKS 8700): A 6-Week Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats with a 6-Week Recovery Period				Study Number: AT-5108-38
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	60	150	600
Males				
Dosing Period Continued				
Histopathology (Cont.)				
No. Examined	10	10	10	10
Stomach				
Hyperplasia, Squamous Epithelium	0	0	4	10
Minimal	-	-	4	5
Mild	-	-	0	4
Moderate	-	-	0	1
Inflammation, Mixed Cell	0	0	0	1
Minimal	-	-	-	1
Recovery Period				
No. Evaluated	20	20	20	20
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (g) [d]				
PND 99	546	547 (0.2)	532 (−2.6)	513 (−6.0)**
PND 130	633	645 (1.9)	639 (0.9)	610 (−3.6)
Body Weight Change (g)				
PND 64–99	146	148	146	156
PND 64–130	240	242	248	251
Food Consumption	-	-	-	-
Mating Index (%)	95.0	100.0	100.0	100.0
Fertility Index (%)	85.0	95.0	100.0	95.0
Copulation Index (%)	89.5	95.0	100.0	95.0
Sperm Parameters	-	-	-	-
Balanopreputial Separation	-	-	-	-
Auditory Startle Response	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-
Biel Maze Swimming Trials	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-

15A　　幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: RDC-5108 (ALKS 8700): A 6-Week Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats with a 6-Week Recovery Period				Study Number: AT-5108-38
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	60	150	600
Males				
Recovery Period Continued				
No. Evaluated	20	20	20	20
Immunophenotyping	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-
Organ Weights				
Final Body Weight (g)[d]	508	496 (−2.4)	479 (−5.7)*	470 (−7.5)**
Kidney				
Absolute Mean Weight (g)[d]	3.62	3.68 (1.7)	3.71 (2.5)	3.95 (9.1)**
Mean to Body Weight Ratio (g/100 g)	0.713	0.745	0.776**	0.842**
Mean to Brain Weight Ratio (g/100 g)	164.123	167.863	169.542	182.919**
Femur Length and Densitometry	-	-	-	-
Histopathology				
No. Examined	10	10	10	10
Kidneys				
Basophilia, Tubule	3	4	4	6
Minimal	3	4	4	6
Hypertrophy, Renal Tubule Cell	0	0	0	10
Minimal	-	-	-	5
Mild	-	-	-	5
Stomach				
Hyperplasia, Squamous Epithelium	0	0	0	2
Minimal	-	-	-	2

15A 幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: RDC-5108 (ALKS 8700): A 6-Week Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats with a 6-Week Recovery Period						Study Number: AT-5108-38		
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		60		150		600	
Females								
Toxicokinetics								
No. Evaluated	9		21		21		21	
	PND 25	PND 63	PND 25	PND 63	PND 25	PND 63	PND 25	PND 63
MMF								
AUC_{0-t} (ng*h/mL)	BLQ	BLQ	3630	4790	7940	14500	44200	39600
C_{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	3700	7870	6200	18100	31800	28600
T_{max} (h)	BLQ	BLQ	0.25	0.25	0.75	0.25	0.75	0.25
T_{last} (h)	BLQ	BLQ	2	2	2	2	6	6
$t_{½}$ (h)	BLQ	BLQ	NC	NC	NC	NC	NC	0.845
RDC-6567								
AUC_{0-t} (ng*h/mL)	BLQ	BLQ	73700	145000	239000	335000	877000	1140000
C_{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	18900	20700	42000	50900	123000	143000
T_{max} (h)	BLQ	BLQ	0.75	0.75	2	0.75	0.75	2
T_{last} (h)	BLQ	BLQ	6	24	24	24	24	24
$t_{½}$ (h)	BLQ	BLQ	NC	2.50	NC	2.65	4.07	NC
RDC-8439								
AUC_{0-t} (ng*h/mL)	BLQ	BLQ	NR1	NR1	186	436	930	1180
C_{max} (ng/mL)	BLQ	BLQ	86.3	206	175	622	755	1260
T_{max} (h)	BLQ	BLQ	0.25	0.25	0.25	0.25	0.75	0.25
T_{last} (h)	BLQ	BLQ	0.75	0.25	2	2	2	2
$t_{½}$ (h)	BLQ	BLQ	NC	NC	NC	NC	NC	NC

15A 幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: RDC-5108 (ALKS 8700): A 6-Week Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats with a 6-Week Recovery Period			Study Number: AT-5108-38	
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	60	150	600
Females				
Dosing Period				
No. Evaluated	50	50	50	50
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	0	2[a]
Clinical Observations (total occurrence/number of animals)				
Wet Clear Material Around Mouth	0/0	1/1	0/0	28/16
Body Weight (g)[b]				
PND 63	245	243 (−0.8)	239 (−2.4)	230 (−6.1)**
Body Weight Change (g)				
PND 25–63	173	172	167	158**
GD 0–15	77	72	71	69
Food Consumption (g/animal/day)				
PND 25–63	16	16	16*	15**
GD 0–15	24	22**	22**	22**
Ophthalmology	-	-	-	-
Hematology				
Absolute Lymphocytes (thous/µL)				
PND 64	6.05	6.03 (−0.3)	5.83 (−3.6)	7.76 (28.3)
Immunophenotyping[b]				
Total T Lymphocytes (CD3+) (thous/µL)				
PND 64	3.10	3.10 (0.0)	3.23 (4.2)	4.66 (50.3)**
T Helper Lymphocytes (CD3+CD4+) (thous/µL)				
PND 64	2.15	2.17 (0.9)	2.22 (3.3)	3.24 (50.7)**
T Cytotoxic Lymphocytes (CD3+CD8a+) (thous/µL)				
PND 64	1.02	0.98 (−3.9)	1.09 (6.9)	1.50 (47.1)*
Absolute Lymphocytes (thous/µL)				
PND 64	6.05	6.03 (−0.3)	5.83 (-3.6)	7.76 (28.3)
Coagulation	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-

15A 幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: RDC-5108 (ALKS 8700): A 6-Week Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats with a 6-Week Recovery Period			Study Number: AT-5108-38	
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	60	150	600
Females				
Dosing Period Continued				
Urinalysis				
Urine Sodium (mEq/L)	64	59	48	27*
Urine Potassium (mEq/L)	139.5	105.8	101.9	52.1**
Urine Chloride (mEq/L)	75	58	57	27*
Urine Calcium (mg/dL)	7.7	4.9	4.6	1.6**
Urine Creatinine (mg/dL)	63.1	52.8	46.8	23.4**
Urine Phosphorus (mg/dL)	128.3	130.2	89.0	45.6*
Osmolality (mOsm/kg)	1034	829	730	406**
Gross Pathology	-	-	-	-
Organ Weights				
Final Body Weight (g)[b]	232	228 (−1.7)	222 (−4.3)	208 (−10.3)*
Kidney				
Absolute Mean Weight (g)[b]	1.95	2.12 (8.7)	2.11 (8.2)	2.38 (22.1)**
Mean to Body Weight Ratio (g/100 g)	0.844	0.929*	0.954**	1.147**
Mean to Brain Weight Ratio (g/100 g)	102.290	110.471	109.749	126.644**
Liver				
Absolute Mean Weight (g)[b]	8.91	9.20 (3.3)	9.28 (4.2)	9.61 (7.9)
Mean to Body Weight Ratio (g/100 g)	3.848	4.025	4.183**	4.617**
Mean to Brain Weight Ratio (g/100 g)	466.914	478.907	481.830	511.121
Bone Densitometry[b]				
Right Femur Length (mm)	31.659	31.658 (−0.003)	31.444 (−0.679)	31.262 (−1.253)
Distal Metaphysis Site				
Total BMC (mg/mm)	9.046	8.512 (−6)	8.244 (−9)**	7.629 (−16)***
Trabecular BMC (mg/mm)	2.072	1.795 (−13)	1.703 (−18)*	1.579 (−24)**
Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)	6.975	6.717 (−4)	6.539 (−6)*	6.048 (−13)***
Total BMD (mg/cm^3)	553.58	523.32 (−5)	537.13 (−3)	487.66 (−12)***
Trabecular BMD (mg/cm^3)	281.98	244.67 (−13)	245.98 (−13)	223.40 (−21)
Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)	776.37	752.24 (−3)	775.27 (0)	704.08 (−9)***
Diaphysis Site				
Cortical Thickness (mm)	0.5963	0.5851 (−2)	0.5860 (−2)	0.5259 (−12)***
Cortical area (mm^2)	5.297	5.213 (−2)	5.158 (−3)	4.752 (−10)$^{++}$

15A 幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: RDC-5108 (ALKS 8700): A 6-Week Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats with a 6-Week Recovery Period				Study Number: AT-5108-38
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	60	150	600
Females				
Dosing Period Continued				
Cortical BMC (mg/mm)[b]	6.204	6.115 (−1)	6.014 (−3)	5.450 (−12)***
Cortical BMD (mg/cm^3)[b]	1171.05	1172.94 (0)	1166.00 (0)	1146.62 (−2)***
Histopathology				
No. Examined	10	10	10	9
Kidneys				
Basophilia, Tubule	3	3	4	4
Minimal	3	3	4	4
Hypertrophy, Renal Tubule Cell	0	0	1	9
Minimal	-	-	1	3
Mild	-	-	0	4
Moderate	-	-	0	2
Stomach				
Hyperplasia, Squamous Epithelium	0	1	1	9
Minimal	-	1	1	7
Mild	-	0	0	1
Moderate	-	0	0	1
Erosion	0	0	0	1
Minimal	-	-	-	1
Recovery Period				
No. Evaluated	20	20	20	20
No. Died or Euthanized in Extremis	0	0	1[a]	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)[d]				
PND 99	297	294 (−1.0)	293 (−1.3)	284 (−4.4)
GD 15	383	372 (−2.9)	370 (−3.4)	365 (−4.7)
Body Weight Change (g)				
PND 64–99	50	51	54	54
GD 0–15	77	72	71	69
Food Consumption				
GD 0–15	24	22**	22**	22**

15A 幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: RDC-5108 (ALKS 8700): A 6-Week Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats with a 6-Week Recovery Period			Study Number: AT-5108-38	
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	60	150	600
Females				
Recovery Period Continued				
No. Evaluated	20	20	20	20
Vaginal Patency	31.8	32.1	32.7	35.4**
Mating Index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
Fertility Index (%)	85.0	95.0	100.0	95.0
Conception Index (%)	85.0	95.0	100.0	95.0
Estrous Cycle Length (days)	4.5	4.3	4.3	4.4
Pre-Coital Interval (days)	2.8	2.7	2.4	2.6
Auditory Startle Response	-	-	-	-
Motor Activity	-	-	-	-
Biel Maze Swimming Trials	-	-	-	-
Intrauterine survival parameters	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-
Immunophenotyping	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-
Organ Weights				
Final Body Weight (g)[d]	273	277 (1.5)	275 (0.7)	263 (−3.7)
Kidney				
Absolute Mean Weight (g)[d]	2.01	2.07 (3.0)	2.14 (6.5)	2.22 (10.4)**
Mean to Body Weight Ratio (g/100 g)	0.739	0.750	0.778	0.848**
Mean to Brain Weight Ratio (g/100 g)	99.623	103.686	107.292*	110.647**
Liver				
Absolute Mean Weight (g)[d]	8.71	9.03 (3.7)	9.34 (7.2)	9.24 (6.1)
Mean to Body Weight Ratio (g/100 g)	3.197	3.269	3.395*	3.519**
Mean to Brain Weight Ratio (g/100 g)	431.758	452.878	468.034	460.016

15A 幼若ラットを用いた 6 週間反復経口投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)				
Report Title: RDC-5108 (ALKS 8700): A 6-Week Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study in Sprague Dawley Rats with a 6-Week Recovery Period				Study Number: AT-5108-38
Daily Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	60	150	600
Females				
Recovery Period Continued				
No. Evaluated	20	20	20	20
Femur Length and Densitometry	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-

- = No noteworthy findings; AUC_{0-t} = area under the concentration-time curve from time 0 to time t; BLQ = Below the lower limit of quantitation; BMC = Bone mineral content; BMD = Bone mineral density; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = Common Technical Document; GD = Gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use; LV = low viscosity; MMF = monomethyl fumarate; NC = Not calculable; NR1 = Not reportable due to <3 consecutive timepoints with measurable concentrations; PND = Postnatal day; Subset A = Primary phase animals; Subset C = Neurological and reproductive phase animals; T_{last} = time to last observed concentration; T_{max} = time to reach maximum observed concentration; $t_{½}$ = elimination half-life.

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ ***$p < 0.001$ when compared to the control group using Dunnett's test; $^{++}$ $p < 0.01$ when compared to the control group using Dunn's test.

[a] Death not considered RDC-5108-related.

[b] At end of dosing period. For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[c] Presented as the total occurrence/number of animals.

[d] At end of recovery period. For all groups, means are shown. For test article-treated groups, percent differences from control are shown in parentheses. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

16 局所刺激性試験

16A サルを用いた DRF 徐放製剤の 2 週間反復経口投与局所刺激性試験及び 2 週間回復性試験

Test Article: Diroximel Fumarate ER Minitabs [a] (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 2-Week Local Tolerance Study with an RDC-5108 Extended Release Formulation in Monkeys with a 2-Week Recovery								
Species/Strain: Cynomolgus monkey			Duration of Dosing: 14 days			Study Number: AT-5108-24		
Initial Age: Approximately 5 years to 6 years and 7 months at receipt			Duration of Postdose: 14 days			Location in CTD: 4.2.3.6-1		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			Method of Administration [b]: Capsule			GLP Compliance: Yes		
Vehicle/Formulation: Diroximel Fumarate Placebo (also known as ALKS 8700 Placebo)								
Special Features: None								
No-Observed Adverse Effect Level: 840 mg/day								
Dose Level (mg/day)	0		125		375		840	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Toxicokinetics[c]:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
MMF[d]								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng*h/mL)								
Day 1	NA		NA		5370		7200	
Day 14	NA		NA		4150		9310	
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA		58.4		366		615	
Day 14	NA		81.4		264		658	

16A　　サルを用いた DRF 徐放製剤の 2 週間反復経口投与局所刺激性試験及び 2 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate ER Minitabs[a] (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 2-Week Local Tolerance Study with an RDC-5108 Extended Release Formulation in Monkeys with a 2-Week Recovery							Study Number: AT-5108-24	
MAIN STUDY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/day)	0	125	375	840	0	125	375	840
Number of Main Study Animals	5	3	5	5	5	3	5	5
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology[e]								
Erythrocytes (10^6/μL)	5.594	5.060	5.028*	5.268	5.282	5.120	4.710*	4.932
Hemoglobin (g/dL)	13.48	12.73	12.78	13.10	13.00	12.90	11.50*	11.56*
Hematocrit (%)	45.22	41.40	41.66	42.76	43.40	42.97	37.42**	38.18**
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-

16A　　サルを用いた DRF 徐放製剤の 2 週間反復経口投与局所刺激性試験及び 2 週間回復性試験（続き）

Test Article: Diroximel Fumarate ER Minitabs[a] (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)								
Report Title: A 2-Week Local Tolerance Study with an RDC-5108 Extended Release Formulation in Monkeys with a 2-Week Recovery					Study Number: AT-5108-24			
RECOVERY ANIMALS								
Gender	Males				Females			
Dose Level (mg/day)	0	125	375	840	0	125	375	840
Number of Recovery Animals	2	0	2	2	2	0	2	2
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	NA	0	0	0	NA	0	0
Clinical Observations	-	NA	-	-	-	NA	-	-
Body Weight	-	NA	-	-	-	NA	-	-
Hematology	-	NA	-	-	-	NA	-	-
Coagulation	-	NA	-	-	-	NA	-	-
Clinical Chemistry	-	NA	-	-	-	NA	-	-
Urinalysis	-	NA	-	-	-	NA	-	-
Organ Weights	-	NA	-	-	-	NA	-	-
Gross Pathology	-	NA	-	-	-	NA	-	-
Histopathology	-	NA	-	-	-	NA	-	-

- = no noteworthy findings; * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; DRF = diroximel fumarate; ER = extended release; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; LLOQ = lower limit of quantitation; M = male; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable.

[a] Also known as ALKS 8700 ER minitabs (7 mg)-QD-Medium.

[b] The control and 840 mg/day groups received the dose split between two capsules (approximately equal)/dose, the 125 and 375 mg/day groups received one capsule/dose. The control group received two capsules, each containing approximately 60 mg of DRF placebo; the quantity of excipients in each placebo capsule was equivalent to that in the core minitablets in each high-dose DRF capsule.

[c] Group means (combined gender data) are shown for treated groups; only plasma concentrations of analytes were measured for the control group. There was insufficient exposure to DRF in plasma to calculate toxicokinetic parameters.

[d] DRF (parent) and RDC-8439 (metabolite) toxicokinetic parameters were not calculated because plasma concentrations of these analytes were below the limit of quantitation (LLOQ, < 50 ng/mL).

[e] Group means are shown.

17 その他の毒性試験

17A 毒性発現の機序に関する試験：DMF 及びヒドロキシ尿素のカニクイザルを用いた 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験

Test Article: Dimethyl fumarate (DMF) and hydroxyurea (HU)									
Report Title: Dimethyl Fumarate and Hydroxyurea: A 3-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys									
Species/Strain: Cynomolgus monkey			Duration of Dosing: 92 or 93 Days				Study Number: P00012-15-05		
Initial Age: 3-4 years			Duration of Postdose: NA				Location in CTD: 4.2.3.7.3-1		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			Method of Administration: Oral (nasogastric)				GLP Compliance: Yes		
Vehicle/Formulation for DMF: 0.8% hydroxypropyl methylcellulose in deionized water/suspension									
Vehicle/Formulation for HU: Deionized water/solution									
Special Features: Immunophenotyping, bone marrow (monomethyl fumarate and gamma globin mRNA analysis), whole blood fetal hemoglobin, and PBMC/tissue gene expression profiling									
No-Observed Adverse Effect Level: 25 mg/kg/day for dimethyl fumarate (DMF); could not be determined for hydroxyurea (HU)									
Daily Dose (mg/kg)[a]	0/0 (Control)		25/0		0/60		5/60		25/60	
Sex:Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg*h/mL)										
MMF										
Study Day 0	NA	NA	18.8	17.1	NA	NA	3.32	2.99	17.1	16.0
Study Day 28	NA	NA	15.2	15.1	NA	NA	3.35	2.93	15.6	15.6
Study Day 56	NA	NA	14.2	17.7	NA	NA	2.87	3.06	14.8	16.3
Study Day 83	NA	NA	13.5	15.0	NA	NA	3.15	2.86	13.1	14.2
HU										
Study Day 0	NA	NA	NA	NA	172	172	180	155	171	160
Study Day 28	NA	NA	NA	NA	210	200	201	190	180	166
Study Day 56	NA	NA	NA	NA	193	190	186	168	157	156
Study Day 83	NA	NA	NA	NA	154	174	185	162	164	145
Noteworthy Findings:										
Found Dead/Euthanized In Extremis	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	0/0	0/1	0/0	0/0	0/0
Body Weight (%)[b]	2965 g	2886 g	−9.3%	−6.3%	2.2%	−5.8%	−6.8%	−5.8%	−3.6%	−7.0%

17A　毒性発現の機序に関する試験：DMF 及びヒドロキシ尿素のカニクイザルを用いた３ヵ月間反復経口投与毒性試験（続き）

Test Article: Dimethyl fumarate (DMF) and hydroxyurea (HU)										
Report Title: Dimethyl Fumarate and Hydroxyurea: A 3-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys							Study Number: P00012-15-05			
Daily Dose (mg/kg)[a]	0/0 (Control)		25/0		0/60		5/60		25/60	
Sex:Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Clinical Observations										
Hunched posture	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Inappetence[c]	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+
Piloerection	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-
Unkempt appearance	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Thin	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+
Dermal atonia	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
Pale gums	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Decreased defecation	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Soft feces	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Diarrhea	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-
Red material cage floor	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Watery diarrhea	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
Feces green in color	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Scabbing facial area	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Brown material anogenital area	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
Red material anogenital area	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Green material anogenital area	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Red material hindlimb(s)	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Reddened facial area	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
Prolapsed rectum	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

17A　毒性発現の機序に関する試験：DMF 及びヒドロキシ尿素のカニクイザルを用いた３ヵ月間反復経口投与毒性試験（続き）

Test Article: Dimethyl fumarate (DMF) and hydroxyurea (HU)										
Report Title: Dimethyl Fumarate and Hydroxyurea: A 3-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys								Study Number: P00012-15-05		
Daily Dose (mg/kg)[a]	0/0 (Control)		25/0		0/60		5/60		25/60	
Sex:Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Hematology										
Red blood cells (mil/µL)										
Study Day 26	6.05	6.27	6.06	6.12	5.03**	4.82**	5.27**	5.18**	5.43**	5.31**
Study Day 54	5.92	6.26	5.92	6.03	4.61**	4.35**	4.73**	4.83**	4.91**	4.90**
Study Day 91/92	5.55	5.60	5.48	5.49	3.47**	3.41**	3.88**	3.90**	4.29**	4.21**
Hemoglobin (g/dL)										
Study Day 26	13.8	14.4	13.4	13.8	12.3**	11.8**	12.2**	12.4**	13.4	13.3
Study Day 54	13.5	14.4	13.0	13.5	11.8**	11.6**	11.5**	12.3*	12.7	13.0
Study Day 91/92	12.8	12.9	12.2	12.5	9.5**	9.7**	10.7*	10.6*	12.0	11.8
Hematocrit (%)										
Study Day 26	45.7	47.0	43.3	45.6	39.6**	38.8**	40.6**	41.1*	44.4	44.9
Study Day 54	44.0	46.1	41.7	44.0	39.0**	37.4**	38.5**	41.1	41.3	42.5
Study Day 91/92	39.9	39.3	37.0	38.3	29.4**	30.2**	32.9*	33.0	36.9	36.4
Mean corpuscular volume (fL)										
Study Day 26	75.5	75.1	71.4	74.6	78.8	80.6*	77.1	79.3	81.9*	84.4**
Study Day 54	74.5	73.8	70.5	73.0	84.7**	85.8**	81.7*	85.1**	84.1**	86.9**
Study Day 91/92	71.9	70.2	67.5	69.8	85.0**	88.5**	84.9**	84.7**	86.1**	86.7**
Mean corpuscular hemoglobin (pg)										
Study Day 26	22.8	23.0	22.1	22.5	24.5	24.6*	23.1	23.9	24.6	25.1**
Study Day 54	22.8	23.0	22.0	22.3	25.6*	26.7**	24.5	25.4**	25.9*	26.5**
Study Day 91/92	23.2	23.2	22.3	22.7	27.6**	28.6**	27.5**	27.3**	27.9**	28.0**
Red cell distribution width (%)										
Study Day 26	12.6	12.4	12.3	12.3	17.5**	18.0**	18.2**	17.0**	17.5**	16.9**
Study Day 54	12.5	12.5	12.4	12.3	19.4**	20.0**	19.6**	17.9**	18.6**	18.1**
Study Day 91/92	13.1	13.0	13.0	12.6	19.2**	17.6**	17.6**	16.3**	16.4*	15.3*
Hemoglobin distribution width (g/dL)										
Study Day 91/92	2.05	2.10	2.19	1.94	2.60*	2.62**	2.67*	2.50*	2.30	2.00
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Immunophenotyping	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

17A　毒性発現の機序に関する試験：DMF 及びヒドロキシ尿素のカニクイザルを用いた３ヵ月間反復経口投与毒性試験（続き）

Test Article: Dimethyl fumarate (DMF) and hydroxyurea (HU)										
Report Title: Dimethyl Fumarate and Hydroxyurea: A 3-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys								Study Number: P00012-15-05		
Daily Dose (mg/kg)[a]	0/0 (Control)		25/0		0/60		5/60		25/60	
Sex:Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Gross Pathology										
Unscheduled Deaths										
Number Examined	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Colon										
Intussusception	NA	NA	NA	NA	1	NA	0	NA	NA	NA
Jejunum										
Intussusception	NA	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	NA	NA
Spleen										
Small	NA	NA	NA	NA	1	NA	0	NA	NA	NA
Thymus										
Small	NA	NA	NA	NA	1	NA	1	NA	NA	NA
Scheduled Necropsy										
Number Examined	4	4	4	4	3	4	3	4	4	4
Thymus										
Small	0	0	0	0	0	2	1	1	0	0
Organ Weights[d]										
Thymus, absolute (%)	1.89 g	1.49 g	−4.2%	4.7%	−59.8%	−66.4%**	−29.6%	−55.0%*	−10.6%	−46.3%
Thymus, relative to final body weight (%)	0.069 g/ 100 g	0.053 g/ 100 g	0.0%	13.2%	−60.9%	−64.2%*	−29.0%	−50.9%	−11.6%	−41.5%
Thymus, relative to brain weight (%)	2.788 g/ 100 g	2.526 g/ 100 g	1.1%	−0.8%	−62.5%	−68.9%**	−33.0%	−57.4%*	0.0%	−51.2%*

17A　毒性発現の機序に関する試験：DMF 及びヒドロキシ尿素のカニクイザルを用いた３ヵ月間反復経口投与毒性試験（続き）

Test Article: Dimethyl fumarate (DMF) and hydroxyurea (HU)										
Report Title: Dimethyl Fumarate and Hydroxyurea: A 3-Month Oral (Nasogastric) Toxicity and Toxicokinetic Study in Cynomolgus Monkeys								Study Number: P00012-15-05		
Daily Dose (mg/kg)[a]	0/0 (Control)		25/0		0/60		5/60		25/60	
Sex:Number of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Histopathology										
Unscheduled Deaths										
Number Examined	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Colon										
Congestion	NA	NA	NA	NA	1	NA	1	NA	NA	NA
Minimal					1		1			
Decreased lymphocytes	NA	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	NA	NA
Mild					-		1			
Submucosal edema	NA	NA	NA	NA	1	NA	0	NA	NA	NA
Mild					1		-			
Mixed cell inflammation	NA	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	NA	NA
Mild					-		1			
Intussusception	NA	NA	NA	NA	1	NA	0	NA	NA	NA
Present					1		-			
Protozoa parasites	NA	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	NA	NA
Present					-		1			
Rectum										
Congestion	NA	NA	NA	NA	1	NA	0	NA	NA	NA
Minimal					1		-			
Thymus										
Decreased lymphocytes	NA	NA	NA	NA	1	NA	1	NA	NA	NA
Severe					1		1			
Scheduled Necropsy										
Number Examined	4	4	4	4	3	4	3	4	4	4
Thymus										
Decreased lymphocytes	3	3	3	4	3	4	3	4	4	4
Minimal	2	3	2	3	0	0	1	0	2	1
Mild	1	0	1	1	1	0	1	2	2	3
Moderate	0	0	0	0	2	2	1	2	0	0
Marked	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0

- = no noteworthy findings, + = noteworthy findings; $AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; CTD = common technical document; DMF = dimethyl fumarate; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HU = hydroxyurea; M = male; MMF = monomethyl fumarate; mRNA = messenger ribonucleic acid; NA = not applicable; PBMC = peripheral blood mononuclear cell.
* = $p < 0.05$ and ** = $p < 0.01$ when compared to the control group using Dunnett's test

[a] Dosage levels are presented as DMF/HU.

[b] At end of the dosing period (study day 90). For controls, group means are shown. For test article-treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[c] Includes social housing observations.

[d] For controls, group means are shown. For test article-treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

17B　毒性発現の機序に関する試験：ヒト及びサル骨髄及び末梢血単核細胞由来Ｔリンパ球コロニー形成細胞における[redacted]及び[redacted]の血液毒性試験

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (µmol/L)	Gender and No. Per Group	NOAEL (µmol/L)	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Human and Non-Human Primate Bone Marrow and Peripheral Blood Mononuclear Cells	In vitro (Direct administration to cells)	Cultured up to 7 days	[redacted] (DMF): 3.469, 17.14, 51.34, 154.0, 462.8, 1388 [redacted] (MMF): 3.843, 20.98, 84.09, 336.3, 1345, 5380	1F/2M Human donors 3M Non-human primates	NA	DMF and MMF were not cytotoxic to T-CFC cells derived from human and cynomolgus monkey bone marrow and peripheral blood at concentrations at or below the physiological level at the recommended human dose or above the MTD in monkey, respectively. In proliferation assays, DMF was more toxic than MMF; IC50 ratio (MMF:DMF) ≥5. In phenotyping assays, DMF was more toxic than MMF. Apparent decline of the lymphocyte populations started at approximately 51 µmol/L for DMF, at approximately 336 µmol/L for MMF.	PD15-73	4.2.3.7.3-2

CTD = common technical document; DMF = dimethyl fumarate; F = female; IC50 = half-maximal inhibitory concentration; M = male; MMF = monomethyl fumarate; MTD = maximum tolerated dose; NA = not applicable; NOAEL = no-observed adverse effect level; T-CFC = T-lymphocyte colony forming cell.

17C 毒性発現の機序に関する試験 : DMF 治療患者におけるリンパ球減少の作用機序を明らかにするための in vitro 転写プロファイリングの実行可能性パイロット試験

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (µmol/L)	Gender and No. Per Group	NOAEL (µmol/L)	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Human / Peripheral Blood	In vitro	Up to 24 hours	0, 10 and 30 (DMF and MMF)	Unknown due to donor confidentiality (not included in report)	NA	CD4+ CD8+ T cells and PBMCs were successfully isolated, induced with polyclonal T cell activation, isolated RNA, and performed transcriptional profiling from 140 mL of whole blood. Up to 200 mL of blood was estimated to be needed from MS patients to perform these assays. MMF had no effects on NFκB pathway and produced no statistically significant changes in gene expression in any pathway in CD4+, CD8+ T cells or PBMCs. DMF inhibited T cell activation through inhibition of the NFκB pathway and induced expression changes in hundreds of genes.	RSCH-2018-30	4.2.3.7.3-3

CD = cluster of differentiation; CTD = common technical document; DMF = dimethyl fumarate; MMF = monomethyl fumarate; MS = multiple sclerosis; NA = not applicable; NFκB = nuclear factor-kappa B; NOAEL = no-observed adverse effect level; PBMC = peripheral blood mononuclear cell.

17D　　依存性試験：ラットにおける DMF の静脈内投与時の用量設定試験

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration [a]	Doses (mg/kg/day)	Number and Gender per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number/ Location in CTD
Dose range finding for DMF self-administration (TK profile in rat)	Rat/ Sprague Dawley	Intravenous	DMF: 0, 12.5, 25, 50	4M; TK cohorts: 8M	MMF had a moderate volume of distribution that was 3.7- to 4.7-fold greater than total body water. The resulting terminal half-life for MMF was relatively short and ranged from 14.8 to 16.1 minutes for all dose groups. Exposure to MMF in terms of AUC_{last} and C_{max} increased in a reasonably proportional manner from 12.5 to 50 mg/kg (AUC_{last} 4070, 7370, and 20500 ng*h/mL; AUC_{∞} 4100, 7400, and 20700 ng*h/mL; C_{max} 5040, 7910, and 19500 ng/mL for 12.5, 25, and 50 mg/kg respectively). No notable effects were observed.	No	P00012-13-04/ 4.2.3.7.4-1

AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration; AUC_{∞} = area under the concentration-time curve from time 0 to infinity; CTD = common technical document; C_{max} = maximum observed concentration; DMF = dimethyl fumarate; M = male; MMF = monomethyl fumarate; GLP = Good laboratory Practice; TK = toxicokinetic.

a: The pulsatile infusion session consisted of 1 infusion (0.83 mL/kg/infusion) every 3 minutes (approximately) over 1 hour for a total of 20 infusions.

17E　　不純物の毒性試験： *不純物C 不純物含有 DRF のラット 28 日間反復経口投与毒性試験

Test Articles: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)/ DRF containing *Impurity C					
Report Title: 28-Day Oral Toxicity Study in Rats Evaluating RDC-5108 and RDC-5108 Containing *Impurity C Impurity					
Species/Strain: Rat/ CD® [Crl: CD®(SD)]	Duration of Dosing: 28 days			Study Number: AT-5108-25	
Initial Age: Approximately 6 weeks at receipt	Duration of Postdose: None			Location in CTD: 4.2.3.7.6-1	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Oral gavage			GLP Compliance: Yes	
Vehicle/Formulation: 50 mM citrate buffer containing 0.5% (w/w) Methocel E50 Premium LV and 0.2% (w/w) polysorbate 20 in deionized water, pH 4 ± 0.1					
Special Features: None					
No-Observed Adverse Effect Level: 600 mg/kg/day DRF or 600 mg/kg/day DRF containing 9 mg/kg/day *Impurity C					
Dose Level [a] (mg/kg/day)	0	150	600	150[b]	600[b]
Number of TK Animals	M: 3 F: 3	M: 6 F: 6	M: 6 F: 6	M: 6 F: 6	M: 6 F: 6
Toxicokinetics[c]:	Combined Sexes	Combined Sexes	Combined Sexes	Combined Sexes	Combined Sexes
MMF					
C_{max} (ng/mL)					
Day 1	NA	10600	32300	18400	53300
Day 28	NA	21300	24800	17100	24200
AUC_{last} (ng*h/mL)					
Day 1	NA	7320	40500	16100	71900
Day 28	NA	18700	52000	17400	60400
$AUC_{last\ Day\ 28}/AUC_{last\ Day\ 1}$	NA	2.56	1.28	1.08	0.839
MMF: RDC-8439 Ratio ($AUC_{last\ MMF}/AUC_{last\ RDC\text{-}8439}$)					
Day 1	NA	NA	99.0	NA	79.1
Day 28	NA	34.8	19.5	NA	22.6
RDC-8439					
C_{max} (ng/mL)					
Day 1	NA	57.1	354	147	531
Day 28	NA	689	1580	633	1550
AUC_{last} (ng*h/mL)					
Day 1	NA	NA[d]	409	NA [d]	910
Day 28	NA	538	2670	NA [d]	2670
$AUC_{last\ Day\ 28}/AUC_{last\ Day\ 1}$					
Day 28	NA	NA	6.51	NA	2.94

17E　　不純物の毒性試験： *不純物C 不純物含有 DRF のラット 28 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Test Articles: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)/ DRF containing *Impurity C										
Report Title: 28-Day Oral Toxicity Study in Rats Evaluating RDC-5108 and RDC-5108 Containing *Impurity C Impurity								Study Number: AT-5108-25		
Gender	Males					Females				
Dose Level[a] (mg/kg/day)	0	150	600	150[b]	600[b]	0	150	600	150[b]	600[b]
Number of Animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Noteworthy Findings:										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology[e]										
Erythrocytes (10^6/μL)	8.853	8.449	8.059**	8.729	8.105**	8.219	8.341	7.984	8.311	7.901
Hemoglobin (g/dL)	17.01	16.31	15.46**	16.41	15.77**	15.77	16.13	15.93	16.18	15.88
Hematocrit (%)	55.62	53.12	50.64**	53.73	51.50**	50.20	51.22	50.92	50.86	50.05
Absolute Reticulocytes (10^3/μL)	174.53	174.77	337.05**	185.72	316.63**	160.04	181.38	330.04**	170.91	275.24**
Coagulation[e]										
APTT (sec)	17.96	18.53	14.94**	17.57	14.53**	15.11	13.62	13.09	14.61	12.62**
Clinical Chemistry[e]										
Phosphorus (mg/dL)	12.70	12.35	13.54	12.62	14.08*	11.62	12.16	12.89**	11.97	12.87
Creatinine (mg/dL)	0.38	0.33	0.30**	0.37	0.31**	0.40	0.37	0.34*	0.38	0.34*
Urinalysis[e]										
Volume (mL)	7.35	8.80	16.35*	11.85	19.75*	5.75	7.95	14.45*	5.75	7.45
Organ Weights[f] (%)										
Kidneys (g)	3.090	+9	+20**	+5	+14*	1.824	+18**	+25**	+12*	+25**
Kidneys/BWt (%)	0.8458	+11**	+28**	+6	+24**	0.7368	+21**	+30**	+15**	+32**
Kidneys/BrWt (ratio)	1.5690	+9**	+23**	+4	+15**	0.9704	+21**	+27**	+16**	+26**
Liver (g)	12.588	+8	+26**	+8	+15	8.292	+6	+26**	+5	+16**
Liver/BWt (%)	3.4464	+9	+33**	+8*	+24**	3.3457	+9*	+31**	+7*	+23**
Liver/BrWt (ratio)	6.3985	+7	+28**	+7	+15*	4.4087	+7	+28**	+9	+17**,§
Stomach (g)	2.064	+12	+44**	+13	+42**	1.703	+20**	+35**	+11	+32**
Stomach/BWt (%)	0.5661	+13	+53**	+13	+53**	0.6896	+23**	+40**	+14	+39**
Stomach/BrWt (ratio)	1.0486	+12	+47**	+11	+42**	0.9057	+23**	+37**	+15	+33**

17E　　不純物の毒性試験： *不純物C 不純物含有 DRF のラット 28 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Test Articles: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)/ DRF containing *Impurity C										
Report Title: 28-Day Oral Toxicity Study in Rats Evaluating RDC-5108 and RDC-5108 Containing *Impurity C Impurity								Study Number: AT-5108-25		
Gender	Males					Females				
Dose Level[a] (mg/kg/day)	0	150	600	150[b]	600[b]	0	150	600	150[b]	600[b]
Number of Animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Gross Pathology[g]										
Stomach, Nonglandular										
Focus/foci, tan										
mild	0	0	2	0	2	0	0	1	0	0
moderate	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
Irregular surface										
mild	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1
moderate	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Mass										
present	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Swollen/thickened										
mild	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3
Histopathology[g]										
Kidney										
Basophilic tubules										
minimal	3	5	9	5	7	0	3	4	3	6
Liver										
Hypertrophy, hepatocellular, panlobular										
minimal	0	0	6	0	5	0	0	3	0	4
Pancreas										
Apoptosis, increased, acinar cells										
minimal	0	1	3	1	3	0	0	6	1	5
Small Intestine, Duodenum										
Hyperplasia, mucosal										
minimal	0	0	4	0	7	0	0	5	0	8
mild	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0

17E　　不純物の毒性試験： *不純物C 不純物含有 DRF のラット 28 日間反復経口投与毒性試験（続き）

Test Articles: Diroximel Fumarate (also referred to as RDC-5108 and ALKS 8700)/ DRF containing *Impurity C										
Report Title: 28-Day Oral Toxicity Study in Rats Evaluating RDC-5108 and RDC-5108 Containing *Impurity C Impurity						Study Number: AT-5108-25				
Gender	Males					Females				
Dose Level[a] (mg/kg/day)	0	150	600	150[b]	600[b]	0	150	600	150[b]	600[b]
Number of Animals	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Histopathology[g] (Cont.)										
Stomach, Nonglandular										
Hyperplasia, squamous cell										
minimal	0	0	2	0	3	0	1	3	1	4
mild	0	0	2	0	2	0	0	2	0	1
moderate	0	0	4	0	2	0	0	3	0	1
severe	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1
Erosion/ulcer										
minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
mild	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0

- = no noteworthy findings; AUC_{last} = area under the concentration-time curve from time 0 to time of the last measurable concentration; APTT = activated partial thromboplastin time; BWt = body weight; BrWt = brain weight; C_{max} = maximum observed concentration; CTD = common technical document; DRF = diroximel fumarate; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; LV = low viscosity; M = male; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; TK = toxicokinetic.

* = significantly different from 0 mg/kg/day; ($p < 0.05$); ** = significantly different from 0 mg/kg/day; ($p < 0.01$); § = significantly different from 600 mg/kg/day; ($p < 0.05$).

[a] Animals were dosed on the basis of DRF. Dose levels are shown for Test Article 1 (DRF) and Test Article 2 (DRF/*Impurity C).

[b] Animals received DRF/*Impurity C (150 mg/kg/day DRF/2 mg/kg/day *Impurity C; 600 mg/kg/day DRF/9 mg/kg/day *Impurity C).

[c] Group means (combined gender data) are shown for treated groups; only plasma concentrations of analytes were measured for the control group. There was insufficient exposure to DRF in plasma to calculate toxicokinetic parameters.

[d] AUC not reported due to less than three consecutive quantifiable concentrations.

[e] Group means are shown.

[f] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data and not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

[g] Reported as number observed.

17F　　光安全性試験：DRF 及びその代謝物の UV～可視光領域の吸収スペクトル

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration	Doses	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number/ Location in CTD
Ultraviolet/visible absorption of DRF and its metabolites (MMF, HES, and RDC-8439)	NA	In vitro	DRF, MMF, HES, and RDC-8439: 10 and 100 µmol/L in solutions of methanol	The four compounds have similar profiles in that absorption was only observed in the 190-280 nm range; the UV maxima were circa 205 nm.	No	702-08693/ 4.2.3.7.7-1

CTD = common technical document; DRF = diroximel fumarate; GLP = Good Laboratory Practice; HES = 2-hydroxyethyl succinimide; MMF = monomethyl fumarate; NA = not applicable; UV = ultraviolet