第 2 部　CTD の概要

一般名：カミゼストラント

版番号：■

2.6.6　毒性試験の概要文
カミゼストラント

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

標題ページ 1
目次 2
略語及び専門用語一覧表 5
2.6.6.1　まとめ 7
2.6.6.2　単回投与毒性試験 11
2.6.6.3　反復投与毒性試験 12
2.6.6.3.1　マウスを用いた試験 12
2.6.6.3.1.1　マウスを用いた 14 日間強制経口投与 DRF 試験（試験 20377186） 12
2.6.6.3.1.2　マウスを用いた 6 週間強制経口投与毒性試験（試験 20377187） 14
2.6.6.3.2　ラットを用いた試験 16
2.6.6.3.2.1　ラットを用いた 14 日間用量設定試験（試験 505104） 16
2.6.6.3.2.2　ラットを用いた 1 か月間反復投与毒性及び回復性評価試験（試験 506480） 17
2.6.6.3.2.3　ラットを用いた 3 か月間強制経口投与用量設定試験（試験 521854） 19
2.6.6.3.2.4　ラットを用いた雄の受胎能を評価を含む 6 か月間反復投与毒性試験（試験 509329） 21
2.6.6.3.3　イヌを用いた試験 23
2.6.6.3.3.1　イヌを用いた MTD 及び 14 日間用量設定試験（試験 505120） 23
2.6.6.3.3.2　イヌを用いた 1 か月間反復投与毒性及び回復性評価試験（試験 506464） 25
2.6.6.3.3.3　イヌを用いた 9 か月間反復投与毒性試験（試験 509313） 27
2.6.6.4　遺伝毒性試験 28
2.6.6.4.1　In vitro 試験 28
2.6.6.4.2　In vivo 試験 29
2.6.6.5　がん原性試験 29
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 29
2.6.6.6.1　受胎能及び初期胚発生に関する試験 29
2.6.6.6.1.1　雄の受胎能評価 29
2.6.6.6.1.2　雌ラットの受胎能及び初期胚・胎児発生に関する経口投与試験（試験 490021） 30
2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験 30
2.6.6.6.2.1　ラットにおける出生前及び出生後の評価を含む経口投与用量設定胚・胎児発生試験（試験 490005） 30
2.6.6.6.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 32
2.6.6.6.4　幼若動物を用いた毒性試験 32
2.6.6.7　局所刺激性試験 32
2.6.6.8　その他の毒性試験 32
2.6.6.8.1　抗原性試験 33
2.6.6.8.2　免疫毒性試験 33

2.6.6.8.3 毒性発現機序検討試験 33
2.6.6.8.3.1 テレメトリー装置装着雄 Han Wistar ラットを用いた反復経口投与後の迷走神経切断が心血管系に及ぼす影響の麻酔下における評価（試験 BE001764-30） 33
2.6.6.8.3.2 電気生理学的アッセイを用いた組換え hHCN4 に対する作用の in vitro での検討（試験 BE003624-95） 34
2.6.6.8.3.3 電気生理学的アッセイを用いた組換え hHCN4 に対する作用の in vitro での検討（試験 BE003624-96） 34
2.6.6.8.3.4 ヒト胚性幹細胞由来洞房結節細胞拍動数に対する作用の in vitro での検討（試験 BE002385-25） 35
2.6.6.8.3.5 ヒト洞房結節細胞の活動電位に及ぼす影響の in vitro での検討（試験 BE003624-97） 35
2.6.6.8.3.6 ヒト胚性幹細胞由来洞房結節細胞におけるペースメーカー電流に及ぼす影響の in vitro での検討（試験 BE003624-98） 35
2.6.6.8.3.7 哺乳類培養細胞に発現したイオンチャネルに対する作用の検討（試験 211108.BAQ_01 及び 211108.BAQ_02） 36
2.6.6.8.3.8 カミゼストラントを最長 7 日間投与したラットから単離した洞房結節心筋細胞における心臓ペースメーカー電流に対するカミゼストラントの影響（試験 4577SR） 37
2.6.6.8.3.9 雌雄 Long Evans ラットにおける単回及び反復経口投与後の網膜曝露量及び分布の評価（試験 BE003082-27） 37
2.6.6.8.3.10 雌 Long Evans ラットにおけるカミゼストラントの 1 日 1 回 7 日反復経口投与及び 7 日間回復期間後の ERG に対する影響（試験 8498695） 38
2.6.6.8.3.11 雌 Long Evans ラットにおけるカミゼストラントの 1 日 1 回 7 日間反復経口投与及び 7 日間回復期間後の ERG に対する影響（試験 8518228） 40
2.6.6.8.3.12 雌 Long Evans ラットにおけるカミゼストラントの 1 日 1 回 7 日間反復経口投与及び 7 日間回復期間後の ERG に対する影響：組織学的検討（試験 6977DV） 41
2.6.6.8.3.13 雌 Long Evans ラットにおけるカミゼストラントの 1 日 1 回 7 日間反復経口投与及び 7 日間回復期間後の ERG に対する影響：組織学的検討（試験 7181DV） 42
2.6.6.8.4 依存性 42
2.6.6.8.5 代謝物の試験 42
2.6.6.8.6 不純物の試験 42
2.6.6.8.6.1 ラットを用いたカミゼストラント不純物の 4 週間反復強制経口投与試験（試験 20500689） 43
2.6.6.8.7 その他の試験 44
2.6.6.8.7.1 雌 Han Wistar ラットを用いた 7 日間経口投与毒性試験（試験 BE001738-15） 44
2.6.6.8.7.2 カミゼストラントの 9 か月間投与がイヌの血清中副甲状腺ホルモンに及ぼす影響の評価（試験 3801030） 45
2.6.6.8.7.3 光毒性試験（試験 20136267） 45
2.6.6.9 考察 46
2.6.6.9.1 一般状態及び体重の変化 46
2.6.6.9.2 雌生殖器への影響 47
2.6.6.9.3 雄生殖器への影響 49
2.6.6.9.4 内分泌腺への影響 50

2.6.6.9.5　生殖発生毒性 51
2.6.6.9.6　リン脂質症 51
2.6.6.9.7　心筋症 52
2.6.6.9.8　心血管系機能への影響 52
2.6.6.9.9　心拍数変化の機序検討 53
2.6.6.9.10　網膜電図検査による視覚への影響の機序検討 53
2.6.6.9.11　主要な毒性試験におけるカミゼストラントの曝露量 55
2.6.6.10　結論 61
2.6.6.11　参考文献 61

表目次

表 1　カミゼストラントの実施済み毒性試験 8
表 2　雌雄の CByB6F1（非トランスジェニック同腹仔）マウスにカミゼストラントを経口投与したときの TK 結果の要約 12
表 3　雌雄の CByB6F1（非トランスジェニック同腹仔）マウスにカミゼストラントを経口投与後 1 及び 42 日目の TK 結果の要約 14
表 4　ラットにおける TK の要約（試験 505104） 16
表 5　ラットにおける TK の要約（試験 506480） 18
表 6　雌雄ラットにカミゼストラントを単回及び 1 日 1 回反復強制経口投与したときの血漿中 TK 結果の要約（試験 521854） 19
表 7　ラットにおける TK の要約（試験 509329） 21
表 8　イヌにおける TK の要約（試験 505120） 24
表 9　イヌにおける TK の要約（試験 506464） 25
表 10　イヌにおける TK の要約（試験 509313） 27
表 11　第 2 段階 GD 16 の TK の要約（試験 490005） 31
表 12　Long Evans ラットの網膜電図パラメータに及ぼすカミゼストラントの影響 40
表 13　ラットにおける TK の要約（試験 BE001738-15） 44
表 14　カミゼストラントの毒性試験における主要所見及び曝露量、並びに臨床用量 75 mg 単剤投与に対する曝露量比 56

図目次

図 1　溶媒、カミゼストラント 25 又は 75 mg/kg/日を投与したラットからの明（A）及び暗（B）順応下の網膜電図 39
図 2　カミゼストラントの UV 吸収スペクトル 46

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
ALT	Alanine aminotransferase：アラニン・アミノトランスフェラーゼ
ALP	Alkaline phosphatase：アルカリホスファターゼ
APD90	Action potential duration at 90% repolarisation：90%再分極時の活動電位持続時間
AST	Aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{(0-8)}$	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to 8 hours：投与後 0 時間から 8 時間までの血血漿濃度－時間曲線下面積
$AUC_{(0-24)}$	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to 24 hours：投与後 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{(0-t)}$	Area under plasma concentration-time curve from time zero to the time of the last quantifiable concentration：投与後 0 時間から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{ss}	Area under the plasma concentration-time curve at steady state：定常状態における 1 投与間隔の血漿中濃度－時間曲線下面積
CK	Creatine kinase：クレアチンキナーゼ
C_{max}	Maximum plasma drug concentration：最高血漿中濃度
DDR	Diastolic depolarisation rate：拡張期脱分極速度
DMSO	Dimethyl sulfoxide：ジメチルスルフォキシド
DRF	Dose range finding：用量設定
ERG	Electroretinogram：網膜電図
GD	Gestation day：妊娠日数
GLDH	Glutamate dehydrogenase：グルタミン酸脱水素酵素
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
HCN	Hyperpolarisation-activated cyclic nucleotide-gated：過分極活性化環状ヌクレオチド依存性
HER2	Human epidermal growth factor receptor 2：ヒト上皮成長因子受容体 2
hESC	Human embryonic stem cell：ヒト胚性幹細胞
HR	Hormone receptor：ホルモン受容体
IC_{50}	Half maximal inhibitory concentration：50%阻害濃度
ICH	International Council on Harmonisation：医薬品規制調和国際会議
I_f	Cardiac pacemaker current：心臓ペースメーカー電流
I_h	Hyperpolarization-activated current：ハイパーポーラライゼーション活性化電流
LD	Lactation day：授乳日数
LH	Luteinizing hormone：黄体形成ホルモン
LH-RH	Luteinizing hormone-releasing hormone：黄体形成ホルモン放出ホルモン

略語及び専門用語	用語の説明
MTD	Maximum tolerated dose：最大耐量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development：経済協力開発機構
TK	Toxicokinetic：トキシコキネティクス
t_{max}	Time to maximum plasma concentration：最高血漿中濃度到達時間

2.6.6.1　まとめ

カミゼストラント（camizestrant、AZD9833 及び AZ14066724）は、次世代経口選択的エストロゲン受容体分解薬であり、エストロゲン受容体に対する完全拮抗薬である。カミゼストラントはエストロゲン受容体αのリガンド結合ドメインへの結合においてエストラジオールと競合し、野生型エストロゲン受容体α及び臨床的に意義のある変異を含むエストロゲン受容体αの両方の活性に拮抗し、エストロゲン受容体を活性化させることなくエストロゲン受容体αのプロテアソーム依存性分解を引き起こす。

本製造販売承認申請は、ホルモン受容体陽性 HER2 陰性の局所進行又は転移性乳癌患者（ICH S9 ガイドライン適応となる患者集団）への適応を目的としている。

カミゼストラントの非臨床安全性評価を目的として、ラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験（ラットは最長 6 か月間及びイヌは最長 9 か月間）、今後実施される可能性があるがん原性試験で用いる用量の選択のためのラット 3 か月間試験を実施した。進行中のトランスジェニックマウスを用いた 6 か月間試験で用いる用量の選択の参考とするためのマウスを用いた試験（14 日間及び 6 週間）が完了している。これらの試験は本製造販売承認申請には必須ではないが、将来的に ICH S9 ガイドラインが適用されない患者集団への適応の可能性があり、その際に必要なものである。更に、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験（ラット 6 か月間毒性試験における雄受胎能の評価、ラットの出生前及び出生後の評価を含む胚・胎児発生の評価、並びに雌ラットの受胎能及び初期胚発生の評価）、並びに *in vitro* 光毒性試験を実施した。心拍数減少及び視覚への影響の機序を検討する *in vitro* 及び *in vivo*（ラット）試験が完了している。また、不純物の安全性確認を目的として、ラット 1 か月間試験を実施した。一連の試験パッケージは、本製造販売承認申請に必須ではない試験も含まれるが、将来的に ICH S9 ガイドラインが適用されない患者集団への適応をサポートするために立案された。

カミゼストラントの非臨床安全性は、2.6.2 項に記載した安全性薬理試験、副次的薬理試験及び心臓イオンチャネルスクリーニング試験においても評価された。

主要な毒性試験は、OECD の加盟国において、OECD テストガイドライン及び GLP 原則、並びに関連する ICH ガイドラインに従って実施した。

ラット、イヌ及びマウスは、標的関連及びオフターゲット関連の毒性を評価するのに薬理学的に適した試験動物種である。

肝細胞を用いた *in vitro* 試験の結果、カミゼストラントが直接的な N-グルクロン酸抱合に加え、多数の酸化反応を受けることが示された。*In vitro* においてヒト肝細胞で生成された酸化代謝物の全てがラット又はイヌの肝細胞でも生成された（2.6.4.9 項参照）。複数の酸化代謝物はマウス肝細胞においても生成された。

[^{14}C]-カミゼストラントを投与したヒトマスバランス試験では、カミゼストラント N-グルクロン酸抱合体（M4）及び酸型代謝物の N-グルクロン酸抱合体（M14）は、全曝露量の 10%を超える曝露を示した。M4 は、ラット及びイヌ肝細胞を用いた *in vitro* 試験、ラット及びイヌを用いた毒性試験で採取した血漿試料、並びにラット及びイヌに[^{14}C]-カミゼストラントを投与した試験で採取した血漿試料中には検出されなかった。M14 はヒト、ラット及びイヌの肝細胞からは検出されず、[^{14}C]-カミゼストラントを投与したラット及びイヌの血漿からも検出されなかった。M4 又は M14 に関する追加の安全性評価は実施していない。一般に、ICH S9 ガイドラインでは、不均衡性代謝物を用いた個別の安全性評価は不要であり、安定的なグルクロン酸抱合体は安全性の観点から懸念はないと考えられている（FDA 2020）。

In vivo 毒性試験で用いた媒体は、pH 4.8～5.5 に調整した水であったが、ラットを用いた探索試験（試験 BE001738-15）では pH 6.0～6.5 に調整した水を媒体として用いた。

カミゼストラントの実施済み毒性試験を表 1 に示した。

表 1　　カミゼストラントの実施済み毒性試験

Study type and duration	Route of administration	Species (strain)	Study number (AstraZeneca reference number)	GLP compliant
Repeat Dose Toxicity:				
14-day DRF	Oral (gavage)	Mouse (CByB6F1 non-transgenic littermates)	20377186 (1212DM)	No
6-week	Oral (gavage)	Mouse (CByB6F1 non-transgenic littermates)	20377187 (1213DM)	Yes
MTD/DRF	Oral (gavage)	Rat (Han Wistar)	505104 (4208DR)	No
1-month + 1-month recovery	Oral (gavage)	Rat (Han Wistar)	506480 (4229AR)	Yes
3-month	Oral (gavage)	Rat (Han Wistar)	521854 (4517PR)	Yes
6-month + male fertility	Oral (gavage)	Rat (Han Wistar)	509329 (4306PR)	Yes
MTD/DRF	Oral (gavage)	Dog (Beagle)	505120 (1624DD)	No
1-month + 1-month recovery	Oral (gavage)	Dog (Beagle)	506464 (1634AD)	Yes
9-month	Oral (gavage)	Dog (Beagle)	509313 (1695FD)	Yes
Genetic Toxicology:				
Bacterial Reverse Mutation (Ames)	*In vitro*	Salmonella typhimurium and E. coli	8379660 (4247BV)	Yes
Micronucleus	*In vitro*	Mouse lymphoma L5178Y cells	8379661 (4248QV)	Yes
Micronucleus	Oral (gavage)	Rat (Han Wistar)	8379662 (4234QR)	Yes
Reproductive and developmental toxicity:				
Oral Fertility and Early Embryofetal Development	Oral (gavage)	Rat (Han Wistar)	490021 (4308TR)	Yes
Oral Dose Range Finding Embryofetal Development Study with Pre and Post Natal Assessments	Oral (gavage)	Rat (Han Wistar)	490005 (4307RR)	Yes
Other studies:				
Mechanistic	Oral (gavage)	Rat (Han Wistar)	BE001764-30	No
Mechanistic	*In vitro*	CHO cells	BE003624-95	No
Mechanistic	*In vitro*	CHO cells	BE003624-96	No
Mechanistic	*In vitro*	Human embryonic stem cell derived sinoatrial node cells	BE002385-25	No

表 1 カミゼストラントの実施済み毒性試験

Study type and duration	Route of administration	Species (strain)	Study number (AstraZeneca reference number)	GLP compliant
Mechanistic	*In vitro*	Human embryonic stem cell derived sinoatrial node cells	BE003624-97	No
Mechanistic	*In vitro*	Human embryonic stem cell derived sinoatrial node cells	BE003624-98	No
Mechanistic	*In vitro*	HEK293 cells	211108.BAQ_01 211108.BAQ_02	No
Mechanistic	*In vitro*/oral (gavage)	Rat (Han Wistar)	4577SR	No
Mechanistic	Oral (gavage)	Rat (Long Evans)	BE003082-27	No
Mechanistic Electroretinogram (ERG)	Oral (gavage)	Rat (Long Evans)	8498695 (6084SV)	No
Mechanistic Electroretinogram (ERG)	Oral (gavage)	Rat (Long Evans)	8518228 (4711PR)	No
Mechanistic Histology assessment (eye) [a]	Oral (gavage)	Rat (Long Evans)	6977DV	No
Mechanistic Histology assessment (eye) [b]	Oral (gavage)	Rat (Long Evans)	7181DV	No
Impurity studies:				
4-week	Oral	Rat (Han Wistar)	20500689 (4880AR)	Yes
Other studies:				
Investigative	Oral (gavage)	Rat (Han Wistar)	BE001738-15	No
Determination of parathyroid hormone (PTH) in Dog Serum[c]	Oral (gavage)	Dog (Beagle)	3801030	No
Phototoxicity	*In vitro*	Balb/c 3T3 mouse fibroblasts	20136267 (4249BV)	Yes

[a] Samples collected on Study 8498695
[b] Samples collected on Study 8518228
[c] Samples collected on Study 509313

本概要文に示した安全域は、日本人患者にカミゼストラント 75 mg 投与（単剤投与又はアベマシクリブ若しくはパルボシクリブとの併用投与）時の血漿中曝露量に基づいている。

毒性試験で得られた主な所見について、以下に要約する。試験デザインの詳細及び重要な所見を 2.6.7 項に示した。

- 14 日間 DRF 試験でラットに 150 mg/kg/日及びマウスに 300 mg/kg/日を反復投与したところ、忍容性がなく、一般状態変化、体重減少及び摂餌量減少が認められた。イヌに 50 mg/kg を単回投与又は 40 mg/kg/日を反復投与したとき、一般状態変化（協調運動障害、異常歩行、円背位又は振戦及び／又は活動性低下、横臥、異常発声増加）及び体重減少が認められ、忍容性は認められなかった。イヌの 9 か月間試験では低用量

（5 mg/kg/日）の雌 1 例が、触診時の腹部違和感、進行性の摂餌量減少、及び体重減少により 35 週時に早期屠殺された。剖検で嚢胞性卵巣腫瘤が認められ、過去にカミゼストラントを投与された雌の計画剖検時の卵巣でみられた腫瘤より大型であった。

- 14 日間以上の反復投与毒性試験で確認された主要標的器官は、ラット、イヌ及びマウスで雌雄の生殖器であり、影響はカミゼストラントの薬理作用に関連すると考えられ（Greaves 2012）、進行性であった。大部分の所見は、カミゼストラントを LH-RH アゴニストと併用投与した場合の閉経後の女性又は閉経前若しくは閉経周辺期の女性又は男性に対し重要ではないと考えられる。
- 長期の反復投与毒性試験において、雌生殖器での所見として、子宮頸部、子宮、卵管（ラットのみ）及び膣の萎縮、卵巣嚢胞、並びに乳腺の肥厚／過形成が認められた。過形成は卵巣（ラットの顆粒膜細胞及びイヌの性索間質）にも認められ、両動物種でみられた良性の顆粒膜細胞腫の前病変と考えられた。雌ラットでは、カミゼストラントによる性周期、交尾行動、受胎能及び初期胚生存率への有害な影響が認められたが、1 か月間の回復期間後に完全に回復した。
- マウス 6 週間試験では、卵巣に出血卵胞が認められ、黄体数の減少を伴っていた。雌マウス 1 例において卵胞嚢胞も認められた。子宮内膜又は卵管及び膣上皮の萎縮も認められた。
- ラット 6 か月間試験では、前立腺、精嚢及び精巣の萎縮及び／又は変性と、それに伴う精巣上体での精子の減少が認められた。精細胞／精子数の減少、異常精子率の増加、精子運動性の低下、交尾率及び妊娠率の低下が認められ、雄の受胎能への影響が示唆された。イヌ 9 か月間試験では、精巣で間質細胞（ライディヒ細胞）の肥大／過形成及び精細管変性／萎縮が、精巣上体では細胞残屑が認められた。中用量の雄 1 例の精巣に間質細胞（ライディヒ細胞）腺腫が認められた。マウスにカミゼストラントを反復投与したところ、ライディヒ細胞（間質細胞）の肥大が生じ、精細管上皮及び精細管腔に異型遺残体（大きさ及び数の増加）が認められた。
- ラット 3 か月間試験及びマウス 6 週間試験では雌で副腎皮質萎縮が認められた。更に、雌マウスでは副腎皮髄境界部（X 帯）における黄色～褐色色素（形態的にリポフスチンに一致）の増加、下垂体前葉の限局性肥大、乳腺の乳細管上皮及び腺胞上皮の萎縮、並びに下顎唾液腺における細管内顆粒の増加も認められた。これらの所見はカミゼストラントの薬理作用に起因すると考えられた。
- ラットを用いた試験では、肺、脾臓、胸腺及び腸間膜リンパ節におけるマクロファージ集簇、並びに肝臓の胆管上皮における空胞化が認められた。透過型電子顕微鏡法による検査結果から、肺のマクロファージ集簇はラット 1 か月間試験でリン脂質症であることが確認され、雌ラットでは 6 か月間の投与で重症度が悪化した。この雌ラットでの所見は、重症度が悪化し、炎症性細胞浸潤を伴うことから有害と判断された。イヌの 14 日間 DRF 試験では、忍容性の認められない用量を投与した雌 1 例に肺胞マクロファージ集簇が認められたが、イヌ 1 か月間及び 9 か月間試験ではマクロファージ集簇及び空胞化はいずれも認められなかった。14 日間以上投与したマウスの肺でも肺胞マクロファージの増加が認められた。
- マウス 6 週間試験では、肝臓において細胞質淡明化の減少を伴う小葉中間帯肝細胞空胞化（主に明瞭な細胞質内微小空胞からなり、明瞭な細胞質内大空胞が認められることもある）及び軽微な小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

- ラット 6 か月試験では、中用量及び高用量の雌で心筋症が認められた。イヌ 9 か月間試験では、同様の変化は認められなかった。14 日間以上投与したマウスの胸腺において、リンパ系細胞充実性低下が認められた。
- 認められた所見の回復性については、ラット及びイヌを用いた 1 か月間毒性試験で評価した。28 日間の回復期間後に肝臓及び精巣の病理組織学的所見は回復し、卵巣、膣、子宮頸部、子宮、乳腺及び肺の所見は部分的に回復していた。
- イヌの DRF 試験及び 1 か月間試験では、全用量で心血管系機能への影響が認められた。認められた影響は、用量依存的な拡張期血圧低下、平均動脈圧低下、QA 間隔短縮、心拍数減少、PR 間隔短縮であった。反復投与後に脈圧上昇、QT 間隔延長、QTca 間隔延長、心房期外収縮増加も認められた。イヌ 9 か月間試験では、時間依存的かつ用量依存的な心拍数減少及び QTca 間隔延長が認められ、用量に依存しない PR 間隔短縮も認められた。毒性試験において心血管機能への影響に関する無作用量は明らかにならなかった。イヌ 1 か月間試験で回復性を評価した結果、28 日間の回復期間後に認められた QA 間隔の延長を除き、他のパラメータは試験開始前のベースライン値にほぼ回復した。毒性発現機序検討試験の結果から、洞房結節の過分極活性化環状ヌクレオチド依存性（HCN）チャネル電流／心臓ペースメーカー電流（I_f）をカミゼストラントが減少させることにより心拍数が減少すると考えられた。
- 有色 Long Evans ラットを用いた探索的な網膜電図（ERG）の検討では、カミゼストラント投与により、暗順応下の B 波及び律動様小波の振幅が用量依存的に減少した。また、明順応下の B 波のフリッカー刺激に反応した振幅及び潜時の増加並びに正弦波刺激後の振幅増加が認められた。また、カミゼストラントを投与すると、明順応下の早期に B 波が顕著に減少し、10 分間の明順応の終了までに対照群の値まで回復した。これらの影響は、概して 1 日目と 7 日目で同程度であり、カミゼストラント最終投与 7 日後に対照群と同程度に戻った。以上から、カミゼストラントは網膜に可逆的な機能的影響を及ぼすことが示された。病理組織学的検査では眼に構造的変化は認められなかった。反復投与毒性試験では、投与に関連した眼科学的変化又は眼の病理組織学的変化は認められなかった。
- *In vitro* の細菌復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ L5178Y 細胞を用いた小核試験、並びにラットを用いた *in vivo* 小核試験の結果は陰性であった。
- 器官形成期のラットにカミゼストラントを投与した結果、胚・胎児の生存、成長及び発生に対する有害な影響は認められなかった。しかし、母動物への投与を分娩時及び授乳時まで延長した結果、妊娠期間の延長及び分娩異常がみられ、出生児の生存及び成長に対する影響が認められた。
- Balb/c 3T3 細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験の結果は陰性であった。

非臨床毒性試験の結果から、ホルモン受容体陽性 HER2 陰性の局所進行又は転移性乳癌患者（ICH S9 ガイドラインが適応となる患者集団）への適応がサポートされる。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

ICH M3 (R2)ガイドラインに従い、カミゼストラントの単回投与毒性試験は実施していないが、急性経口毒性については、マウス（試験 20377186、2.6.6.3.1.1 項参照）、ラット（試験

BE001738-15、2.6.6.8.7.1 項参照、及び試験 505104、2.6.6.3.2.1 項参照）及びイヌ（試験 505120、2.6.6.3.3.1 項参照）への短期投与により MTD を確認した他の試験から情報が得られている。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

ラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験（ラットは最長 6 か月間、イヌは最長 9 か月間）でカミゼストラントの毒性を評価した。今後実施される可能性があるがん原性試験で用いる用量の選択のためのラット 3 か月間試験も実施した。ラット及びイヌを用いた 1 か月間試験では、最高用量での投与終了 1 か月後に回復性を評価した。進行中のトランスジェニックマウス試験で用いる用量の選択の情報を得るために、マウスを用いた最長 6 週間の試験を実施した。これは将来的に ICH S9 ガイドラインが適用されない患者集団へのカミゼストラントの適応をサポートするために実施している。

2.6.6.3.1　マウスを用いた試験

2.6.6.3.1.1　マウスを用いた 14 日間強制経口投与 DRF 試験（試験 20377186）

本試験の目的は、カミゼストラントを 1 日 1 回 14 日間強制経口投与したときの毒性を明らかにすることであった。また、カミゼストラントの TK を評価した。

各群雌雄各 3 例からなる CByB6F1 ハイブリッド（非トランスジェニック同腹仔）マウスの 4 群に、カミゼストラントを溶媒（1N 塩酸及び／又は 1N 水酸化ナトリウムで pH 4.8～5.5 に調整した逆浸透脱イオン水）に溶解して 1 日 1 回、50 及び 100 mg/kg/日を 14 日間、あるいは 300 mg/kg/日を 5 日間経口投与した。300 mg/kg/日群は 14 日間投与する予定であったが、忍容性不良のため 6 日目で終了した。TK 評価のために追加の動物（各群雌雄各 12 例）を組み入れ、同じ用法用量で投与を行った。

以下のパラメータを評価した。生死、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、血漿中カミゼストラント濃度、器官重量、肉眼的及び病理組織学的検査。

TK 評価の結果から、概ね単回投与後には 50 mg/kg/日から 300 mg/kg/日まで C_{max} は用量比を下回って増加し、$AUC_{(0-24)}$は用量に比例して増加することが示された。また、14 日間の反復投与後に 50 mg/kg/日から 100 mg/kg/日までは、C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は用量に比例して増加した。単回投与時と比較して 1 日 1 回 14 日間反復投与後の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$に、明らかな差は認められなかった。マウスにおいて曝露量に性差がないことが示唆された。TK の要約を以下に示す。

表 2　雌雄の CByB6F1（非トランスジェニック同腹仔）マウスにカミゼストラントを経口投与したときの TK 結果の要約

Dose level (mg/kg)	50		100		300
Day	1	14	1	14	1
t_{max} (h)	1	1	3	1	3
C_{max} (± SD) (nmol/L)	6210 (±1190)	5540 (±663)	6680 (±1220)	8360 (±1470)	15400 (±3350)
$AUC_{(0-24)}$ (± SE) (h·nmol/L)	48100 (±3280)	51800 (±1780)	85800 (±11400)	107000 (±3290)	217000 (±10200)

50 又は 100 mg/kg/日では予定外の死亡は認められなかった。しかし、主試験群及び TK 群の 300 mg/kg/日において、有害な一般状態の変化（活動性低下、脱水、円背位、立毛及び／又は異常な呼吸音／異常な呼吸数等）が投与 2 日目から認められ、平均体重減少（個々の動物で最大 21%）及びこれに対応した 1 日目からの摂餌量減少により、6 日目に群全体が早期屠殺に至った。

50 mg/kg/日での一般状態の変化は、8 日目に始まった TK 群の雄 1 例の立毛のみであった。100 mg/kg/日では、一過性の一般状態の変化として 8 日目又は 9 日目にのみ、脱水、立毛及び／又は努力呼吸が TK 群の雄 2 例、主試験群の雌 1 例及び TK 群の雌 1 例に認められた。50 及び 100 mg/kg/日では、主試験群の 15 日目（及び TK 群の 14 日目）の平均体重が対照群と比較して増加した（用量非依存性、雄で最大 10%、雌で最大 16%）。同様に、平均体重増加量（主試験群の 1～15 日目及び TK 群の 1～14 日目）も対照群と比較して顕著に増加した（主試験群及び TK 群の雌雄で最大 4 倍）。摂餌量は変動が大きかったが、これらの用量では摂餌量に明らかな変化はなかった。いずれの用量においても、カミゼストラントに関連した眼科学的変化は認められなかった。

カミゼストラントに関連した臨床病理学的パラメータの変化は 50 mg/kg/日以上で認められ、300 mg/kg/日と他の用量との間に影響の差が認められた。

300 mg/kg/日では、雌で赤血球量（平均ヘモグロビン、ヘマトクリット及び赤血球数）の軽微な減少及び雌雄で平均絶対網状赤血球数の軽度の増加がみられた。50 mg/kg/日以上の雄及び 100 mg/kg/日以上の雌では、平均リンパ球数の軽度～中等度の減少が認められ、それに伴って平均総白血球数が減少した。また、100 mg/kg/日の雌雄では、平均好中球数、単球数及び好酸球数の軽微～軽度の減少が認められた。300 mg/kg/日の雄では、平均好中球数の軽微な増加がみられた。300 mg/kg/日の雌雄では、大型非染色細胞数（一般的に反応性リンパ球、単球及び未熟白血球から構成される）の軽微な増加、及び平均グロブリン濃度の軽微～軽度の増加が認められた。これらの変化は、カミゼストラント投与に関連すると考えられた。

300 mg/kg/日の雄及び 50 mg/kg/日以上の雌では、軽度～中等度の平均リン濃度の上昇及び軽度の平均カリウム濃度の上昇が認められた。100 mg/kg/日以上の雄及び 300 mg/kg/日の雌では、平均 GLDH、ALT 及び／又は AST が軽度～中等度に高値を示した。100 mg/kg/日以上の雄及び 50 mg/kg/日以上の雌では、平均尿素窒素濃度の中等度の低下がみられた。50 mg/kg/日以上の雄（TK 群）では、平均グロブリン濃度の軽微な低下が認められた。50 mg/kg/日以上の雌（主試験群及び TK 群）では、平均トリグリセリド濃度の軽度低下が認められた。これらの変化は、カミゼストラント投与に関連すると考えられた。

100 及び 300 mg/kg/日で胸腺の小型化が認められ、全ての用量で器官重量及び病理組織学的変化が認められた。50 mg/kg/日以上では胸腺に（胸腺の小型化及び胸腺重量低値と相関した軽微～中等度の用量依存的なリンパ系細胞充実性低下）、100 mg/kg/日では骨髄（軽度の骨髄細胞充実性上昇）で血液リンパ系の変化が認められた。また、100 mg/kg/日では肝臓（肝細胞の軽度な淡明化減少）、50 mg/kg/日以上では肺（軽微な肺胞マクロファージの増加）、50 mg/kg/日以上では精巣（軽微なライディヒ細胞の肥大）に変化が認められた。更に、カミゼストラントに関連した器官重量の変化（50 mg/kg/日以上で雌雄の副腎重量の用量依存的減少、雄の腎臓重量の用量依存的増加及び精巣重量の用量依存的減少）がみられたが、この重量変化に関連するような肉眼的及び病理組織学的所見は認められなかった。300 mg/kg/日では、腎臓（軽微から軽度の尿細管上皮空胞化）、肝臓（軽微～軽度の肝細胞空胞化）、膵臓（軽度の腺房細胞空胞化及び中等度の腺房細胞分泌枯渇）、脾臓（中等度の細胞充実性低下）及び胃（軽微な非腺潰瘍）で変化が認められた。

以上より、CByB6F1 ハイブリッド（非トランスジェニック同腹仔）マウスへ 50 及び 100 mg/kg/日を 1 日 1 回 14 日間強制経口投与した結果、一過性及び／又は有害ではない一般状態の変化又は体重変化がみられたのみで忍容性が認められた。しかし、300 mg/kg/日では、有害な一般状態の変化及び平均体重減少により 6 日目に試験を早期に中止した。標的器官への影響は 50 mg/kg/日以上（胸腺のリンパ系細胞充実性低下（100 mg/kg/日以上では相関する胸腺重量低下）、肺胞マクロファージの軽微な増加、精巣のライディヒ細胞の軽微な肥大及び関連する病理組織学的所見を伴わない器官重量の変化（副腎重量及び精巣重量の減少、腎臓重量の増加））又は 100 mg/kg/日以上（骨髄細胞充実性上昇、軽度な肝細胞淡明化減少）で認められた。
300 mg/kg/日では、忍容性が認められず更に他の変化も認められた。

2.6.6.3.1.2 マウスを用いた 6 週間強制経口投与毒性試験（試験 20377187）

本試験の目的は、カミゼストラントをマウスに 1 日 1 回 6 週間強制経口投与したときの毒性を明らかにすることであった。毒性の用量反応性について評価したが、無毒性量を明らかにすることはできなかった。投与動物のカミゼストラントへの曝露、並びに対照群動物が曝露していないことを確認するため、血漿試料を分析した。

対照群及び 3 被験物質投与群（各群雌雄各 10 例）の CByB6F1 ハイブリッド（非トランスジェニック同腹仔）マウスに、溶媒（逆浸透脱イオン水を 1N 塩酸及び／又は 1N 水酸化ナトリウムで pH 4.8～5.5 に調整）に溶解したカミゼストラントを 25、75 又は 150 mg/kg/日で 1 日 1 回 42 日間経口投与した。TK 評価のために追加の動物（各群雌雄各 12 例）を組み入れ、同じ投与レジメンで投与を行った。

以下のパラメータを評価した。生死、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、血漿中カミゼストラント濃度、器官重量、肉眼的及び病理組織学的検査。

TK 評価の結果から、単回投与後及び 42 日間反復投与後の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は 25 mg/kg から 150 mg/kg まで、概して用量に比例して増加することが示された。単回投与後の値と比較して 42 日間にわたり連日投与しても、C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$には明らかな差はなかった。マウスにおいて曝露量に性差がないことが示唆された。

表 3 雌雄の CByB6F1（非トランスジェニック同腹仔）マウスにカミゼストラントを経口投与後 1 及び 42 日目の TK 結果の要約

Dose level (mg/kg)	25		75		150	
Day	1	42	1	42	1	42
t_{max} (h)	1	3	1	1	3	1
C_{max} (± SD) (nmol/L)	3360 (± 1040)	3840 (± 415)	8330 (± 1980)	11700 (± 1210)	11700 (± 2270)	16800 (±3580)
$AUC_{(0-24)}$ · (± SE) (h·nmol/L)	22700 (± 1380)	31900 (± 1370)	78200 (± 5550)	117000 (± 8890)	160000 (± 12600)	191000 (± 11400)

試験期間中、カミゼストラントに起因する死亡は認められなかった。

カミゼストラントに関連した一般状態の変化として、25 mg/kg/日以上の雄、75 mg/kg/日以上の雌で立毛が認められた。75 mg/kg/日以上の雄、25 mg/kg/日の雌で脱水が認められた。

25 mg/kg/日以上の雌では、対照群と比較して 1 日目から 43 日目までの平均体重増加量が増加し（25、75 及び 150 mg/kg/日でそれぞれ 1.8 倍、2.65 倍及び 2.3 倍）、それに対応して 43 日目に平均体重が増加した（25、75 及び 150 mg/kg/日でそれぞれ 8.22%、19.86%及び 14.80%）。しかし、雄では平均体重又は平均体重増加量に変化は認められなかった。

25 mg/kg/日以上の雌では、1 日目から 42 日目までの平均摂餌量が対照群と比較して減少したが（25、75 及び 150 mg/kg/日でそれぞれ-17.38%、-9.00%及び-26.56%）、全ての雌で認められた平均体重の増加とは相関しなかった。

試験期間中、カミゼストラントに関連した眼科学的検査所見は認められなかった。

カミゼストラントに関連する血液学的パラメータの変化が 25 mg/kg/日以上の雌雄（リンパ球数の軽度の減少）及び 75 mg/kg/日以上の雌雄（総白血球数の軽度減少）で認められた。対照群と比較して、血液生化学的パラメータの軽微～軽度の変化が、25 mg/kg/日以上の雄（コレステロールの軽微減少）及び雌（グロブリンの軽微増加）、75 mg/kg/日以上の雌（リンの軽度減少、トリグリセリドの軽微減少）、及び 150 mg/kg/日の雄（トリグリセリドの軽微減少）で認められた。血液学的検査パラメータ及び血液生化学的検査パラメータの変化に関連する剖検所見及び病理組織学的所見は認められなかった。

カミゼストラントに関連する肉眼的変化、器官重量の変化及び病理組織学的変化は、25 mg/kg/日以上で認められ、内分泌系（副腎及び下垂体）、肝臓、雌雄生殖器（卵巣、卵管、子宮／子宮頸部及び膣、精巣）、外分泌腺（乳腺及び下顎唾液腺）、腎臓、胸腺及び肺が標的器官であった。

内分泌系の病理組織学的変化は、25 mg/kg/日以上の雌の副腎（副腎重量の減少と関連する皮質萎縮及び X 帯における色素増加）及び下垂体（前葉の限局性肥大）で認められた。

肝臓の病理組織学的変化として、25 mg/kg/日以上の雄及び 75 mg/kg/日以上の雌で細胞質の淡明化の減少及び小葉中間帯肝細胞空胞化が認められた。150 mg/kg/日の雌数例に軽微な小葉中心性肝細胞肥大が認められた。肝細胞の空胞化及び肥大は肝重量の増加と相関していた。

25 mg/kg/日以上の全ての群において、雌雄生殖器に病理組織学的変化が認められた。卵巣では出血卵胞（肉眼的な暗色化及び腫大と相関し卵巣重量増加を伴う）、黄体数減少及び卵胞嚢胞が認められた。子宮では、子宮内膜の萎縮（子宮重量の減少及び子宮の小型化と相関）がみられた。卵管及び膣では、上皮の萎縮（卵管及び膣）及び粘液分泌（膣）がみられた。精巣ではライディヒ細胞の肥大及び異型遺残体が認められた。

25 mg/kg/日以上の雌の腎臓（ボーマン嚢上皮化生）、乳腺（乳細管上皮及び腺胞上皮の萎縮）及び下顎唾液腺（細管内顆粒の増加）にも病理組織学的変化が認められた。肺では、75 mg/kg/日以上の雌雄で肺胞マクロファージの軽微な増加が認められた。

胸腺のリンパ系細胞充実性低下が 25 mg/kg/日以上の雄及び 25 又は 150 mg/kg/日の雌で認められ、剖検時に認められた器官重量の減少及び胸腺の小型化と相関していた。

25 mg/kg/日以上の雌雄で心臓及び腎臓重量の増加、並びに脾臓重量の減少が認められたが、関連する肉眼的及び病理組織学的所見は認められなかった。

以上より、CByB6F1 ハイブリッド（非トランスジェニック同腹仔）マウスにおいて、25、75 及び 150 mg/kg/日の 1 日 1 回 6 週間強制経口投与は忍容性を示した。しかし、標的器官として内分泌系（副腎、下垂体）、肝臓、雌雄の生殖器（卵巣、卵管、子宮／子宮頸部、膣、精巣）、外分泌腺（乳腺及び下顎唾液腺）、腎臓、胸腺及び肺で病理組織学的変化が認められた。全ての用量における雌の卵巣（出血卵胞、黄体数の減少及び卵胞嚢胞）及び子宮（子宮内膜萎縮）、雄の

胸腺（リンパ系細胞充実性低下）で認められた病理組織学的所見の重症度に基づき、無毒性量は確認できなかった。

2.6.6.3.2 ラットを用いた試験

2.6.6.3.2.1 ラットを用いた 14 日間用量設定試験（試験 505104）

本試験の目的は、器官毒性を評価し、その後に実施予定の反復投与試験における適切な高用量を決定することであった。

最初に、Han Wistar ラット雌雄各 3 例からなる各群に、それぞれ 15 mg/kg/日を 14 日間又は 150 mg/kg/日を 7 日間、反復強制経口投与した（150 mg/kg/日は、忍容性不良のため 8 日目に早期屠殺した）。対照群の雌雄各 3 例には溶媒を投与した。別の雌雄各 3 例の群には、75 mg/kg/日を 14 日間投与し、追加の対照（雌雄各 3 例）には溶媒を投与した。

以下のパラメータを評価した。一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、血漿中カミゼストラント及びシス異性体濃度、器官重量、肉眼的及び病理組織学的検査。

表 4 ラットにおける TK の要約（試験 505104）

	15 mg/kg/day		75 mg/kg/day		150 mg/kg/day [a]	
	Day 1	Day 14	Day 1	Day 14	Day 1	Day 7
Males						
Median t_{max} (h)	2	1	2	4	12	1
Mean C_{max} (SD) (µmol/L)	0.541 (0.0772)	0.793 (0.136)	3.77 (1.11)	3.59 (0.230)	4.90 (1.80)	6.18 (-)
Mean $AUC_{(0-t)}$ (SD) (µmol·h/L)	3.24 (0.452)	4.56 (0.736)	57.4 (15.2)	54.8 (4.70)	92.7 (38.8)	100 (-)
Females						
Median t_{max} (range) (h)	2 (2, 4)	2 (1, 2)	4 (2, 4)	4 (1, 4)	12 (2, 12)	2 (2, 2)
Mean C_{max} (SD) (µmol/L)	1.02 (0.267)	1.46 (0.0404)	7.04 (2.10)	8.95 (1.41)	6.94 (1.32)	15.4 (-)
Mean $AUC_{(0-t)}$ (SD) (µmol·h/L)	7.28 (1.26)	11.8 (1.39)	104 (32.2)	167 (15.9)	134 (18.9)	332 (-)

[a] Animals terminated prematurely on Day 8

$AUC_{(0-t)}$: At 15 mg/kg/day t = 12 h, At 75 and 150 mg/kg/day, t = 24 h

For males and females n is 3 at all dose levels on Day 1 and at 15 and 75 mg/kg/day on Day 14. On Day 7, n is 1 for males and 2 for females at 150 mg/kg/day.

カミゼストラントを投与した全例で、カミゼストラントへの曝露が確認された（表 4）。対照群動物の試料では、カミゼストラントは検出されなかった。雌雄において、血漿中カミゼストラント曝露量は、15 mg/kg/日と 75 mg/kg/日の間では 1 日目及び 14 日目に用量比を上回って増加したが、75 mg/kg/日と 150 mg/kg/日の間の増加は 1 日目及び反復投与後（それぞれ 14 日目及び 7 日目）に用量比を下回った。反復投与後のカミゼストラント曝露量は、雄では単回投与後と同程度であったが、雌では全用量で単回投与後よりもわずかに高かった。血漿中カミゼストラント曝露量は概して雄よりも雌の方が高かった。血漿試料中で有意なシス異性体ピークが認められなかったことから、シス体はカミゼストラント濃度の 1%未満の濃度であることが示唆された。

150 mg/kg/日の雌雄で、活動性低下、立毛、鋤起こし様動作（床敷きを鼻口部で擦ること）、円背位、軽度の体重減少及び摂餌量減少等の毒性所見が認められたため、8 日目に全例を早期屠殺した。一般状態の変化は 3 日目から認められ、8 日目の早期屠殺まで重症度が増した。15 及び 75 mg/kg/日では 14 日間の投与でも忍容性が認められたが、75 mg/kg/日では鋤起こし様動作が散発的に認められた。

雄の生殖器（75 mg/kg/日以上における精巣での精細管の変性／萎縮）及び雌の生殖器（15 mg/kg/日以上における卵巣の重量増加を伴う嚢胞性卵胞、子宮重量の減少を伴う子宮萎縮並びに子宮頸部及び膣の上皮変性）に変化が認められ、これらはカミゼストラントの薬理作用によるものと考えられた。

75 mg/kg/日以上の雌雄の肺で、肺重量増加を伴う肺胞マクロファージ集簇が認められた。75 mg/kg/日以上の雌では、肺の肺胞中隔、肝臓の胆管並びに脾臓、胸腺（器官重量の増加を伴う）及び腸間膜リンパ節のマクロファージの空胞化が認められた。150 mg/kg/日の雌の肝臓における追加の所見として、クッパー細胞及び肝細胞の空胞化並びに肝細胞の単細胞壊死が認められた。150 mg/kg/日では、肝臓の所見と関連する可能性がある AST、ALT 及び ALP の増加が認められた。150 mg/kg/日の雄 1 例では、腸間膜リンパ節の空胞化マクロファージも認められた。150 mg/kg/日の雌 1 例の前胃に軽度の混合細胞性炎症が認められた。

以上より、150 mg/kg/日の連日強制経口投与は忍容性が認められず、有害な一般状態の変化がみられたため全ての動物は 8 日目に早期安楽殺した。15 又は 75 mg/kg/日の 14 日間投与では忍容性がみられたが、病理組織学的所見が生殖器系（精巣、卵巣、子宮、子宮頸部及び膣）、肺、リンパ細網系（脾臓、胸腺及び腸間膜リンパ節）及び肝臓（酵素の変化を含む）で認められた。14 日間反復投与時の MTD は 75 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.2.2　ラットを用いた 1 か月間反復投与毒性及び回復性評価試験（試験 506480）

本試験の目的は、ラットにカミゼストラント及び低濃度のシス異性体（有効成分の 2%は意図的にシス異性体を含む、以下「AZ14107577」という）を 1 日 1 回 28 日間強制経口投与したときの毒性、及び 28 日間の回復期間を設けて認められた所見の回復性を評価することであった。シス異性体は潜在的な副生成物と考えられたため、本試験で評価を行った。

各群雌雄各 10 例からなる 4 群の Han Wistar ラットに、カミゼストラントを 0、10、25 又は 75 mg/kg/日で経口投与した。また、雌雄各 5 例を対照群及び高用量群に追加し、投与終了 28 日後に所見の回復性を評価した。

以下について評価した。一般状態、体重、摂餌量、摂水量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査及び尿化学的検査、血漿中カミゼストラント濃度、器官重量、肉眼的及び病理組織学的検査並びに電子顕微鏡検査。

カミゼストラントを投与された全例で、カミゼストラントへの曝露が確認された（表 5）。対照群動物の血漿試料では、検出下限（0.0100 μM）を超える濃度のカミゼストラントは検出されなかった。概ね 1 日目及び 28 日目の C_{max} は用量に比例して増加したが、AUC は全用量範囲で用量比を上回って増加した。カミゼストラントを 28 日間にわたり連日投与しても、C_{max}、$AUC_{(0-8)}$ 及び $AUC_{(0-24)}$には、単回投与後の値と比較して明らかな差はなかった。28 日目のカミゼストラントの曝露量には性差が認められ、雌の C_{max}、$AUC_{(0-8)}$及び $AUC_{(0-24)}$は雄よりも高値を示し、雌／雄比の最大値は 2.7 であった。

表 5　　ラットにおける TK の要約（試験 506480）

Dose level (mg/kg/day)	10		25		75	
Day	1	28	1	28	1	28
Males						
t_{max} (h)	2	1	2	2	8	2
C_{max} (SE) (µmol/L)	0.530 (0.0740)	0.635 (0.114)	1.81 (0.177)	1.78 (0.166)	3.88 (0.323)	5.27 (0.621)
$AUC_{(0-8)}$ (µmol·h/L)	2.58	3.21	10.5	9.26	26.2	35.1
$AUC_{(0-24)}$ (SE) (µmol·h/L)	4.03 (0.319)	4.95 (0.435)	19.1 (1.74)	15.9 (0.627)	63.3 (4.20)	67.7 (9.12)
Females						
t_{max} (h)	0.5	2	2	2	8	4
C_{max} (SE) (µmol/L)	0.733 (0.113)	1.35 (0.135)	2.93 (0.314)	3.21 (0.181)	6.05 (0.418)	10.4 (0.558)
$AUC_{(0-8)}$ (µmol·h/L)	4.39	6.59	17.4	20.4	42.2	73.5
$AUC_{(0-24)}$ (SE) (µmol·h/L)	6.97 (0.588)	10.3 (1.05)	27.7 (2.48)	37.8 (2.56)	108 (6.25)	182 (14.0)

5 animals per sex per timepoint; one composite TK profile/sex/dose/day
Note: exposure only quantifiable up to 24h in 1 out of 5 rats on Day 1 in the 10mg/kg/day dose group. $AUC_{(0-8)}$ used to aid interpretation.

25 又は 75 mg/kg/日において流涎の発現率が用量依存的に増加し、鋤起こし様動作の発現率増加と相関していた。

25 及び 75 mg/kg/日の雄で体重増加量の低値が認められた（それぞれ対照群より 25%又は 45%低値）。75 mg/kg/日の雄で 1 週目以降に摂餌量の減少も認められ（対照群より 15%減少）、25 mg/kg/日の雄では 3 週目以降に摂餌量のわずかな減少がみられた（対照群より 9%減少）。

全ての用量の雌で、対照群と比較して非用量依存的な体重増加量の増加が認められ、これは摂餌量の増加と相関していた。

全ての用量の雌で、対照群と比較して副腎及び下垂体の重量減少が認められた。これらの影響は回復期間終了時には認められず、これらの器官重量変化に関連する病理組織学的変化は認められなかった。

75 mg/kg/日では肺にマクロファージ集簇がみられ、これに関連して一部の動物では肺重量の増加及び肺の硬さの異常の剖検所見が認められた。雌では、この所見は主に中等度であったが、雄では軽微～軽度であった。電子顕微鏡検査では、これらのマクロファージ集簇内にリン脂質症と一致するミエリン様物質の蓄積が認められた。28 日間の回復期間後には雌で部分的に、雄で完全な回復が認められた。

75 mg/kg/日の雌の肝臓では、胆管上皮の空胞化が認められた。回復期間終了時には同様の変化は認められなかった。

雌の生殖器では、全ての用量で卵巣（変色、嚢胞及び重量増加）、乳腺（肥大／過形成）、子宮（重量減少を伴う萎縮）、子宮頸部及び膣（両器官の上皮萎縮）に変化が認められ、重症度は全ての用量で同程度であった。28 日間の回復期間後、乳腺肥大／過形成及び子宮萎縮は完全に回

復していたが、他の生殖器の所見が低頻度で認められた。回復期間終了時の雌では、膣上皮上層に軽度の粘液分泌も認められた。これらの変化は、カミゼストラントの薬理作用に関連すると考えられる。

その他、臨床病理学的検査パラメータを含むいずれのパラメータにも、カミゼストラント投与に関連すると考えられる毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

以上より、75 mg/kg/日の連日強制経口投与は、体重増加量（雄の増加量減少及び雌の増加量増加）及び摂餌量に影響を及ぼしたが、忍容性は良好であった。10 mg/kg/日以上では、生殖器系（卵巣、子宮、子宮頸部及び膣）、肺（リン脂質症を伴うマクロファージ集簇）及び肝臓（雌のみに胆管上皮の空胞化）に病理組織学的所見が認められた。生殖器の病理組織学的所見のため、雌における無毒性量は確認できなかった。雄における無毒性量は 75 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.2.3 ラットを用いた 3 か月間強制経口投与用量設定試験（試験 521854）

本試験の目的は、ラットに 12 週間経口投与したときのカミゼストラントの毒性を明らかにし（被験物質が不足したため、投与期間を 13 週間から 12 週間に短縮した）、将来的に実施する可能性のあるがん原性試験の用量設定に必要な情報を得ることであった。投与動物での曝露の確認及び対照群動物において曝露がないことを確認するため血漿試料を分析し、TK 特性を評価した。

5 群の Han Wistar ラット（各群雌雄各 10 例）に、溶媒（1N 塩酸で pH 4.8～5.5 に調整した脱イオン精製水）に溶解したカミゼストラントを 1 日 1 回 12 週間経口投与した。用量は 0、0.1、0.25、1 又は 5 mg/kg/日とした。

本試験では以下の項目を評価した。生死、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査及び尿化学的検査、生物分析及び TK パラメータ、器官重量、肉眼的及び病理組織学的検査。

表 6 雌雄ラットにカミゼストラントを単回及び 1 日 1 回反復強制経口投与したときの血漿中 TK 結果の要約（試験 521854）

Group	2		3		4		5	
Dose level (mg/kg/day)	0.1		0.25		1		5	
Sampling Occasion	Day 1	Week 12	Day 1	Week 12	Day 1	Week 12	Day 1	Week 12
Males								
t_{max} (h)	2	2	2	2	2	2	2	2
C_{max} (± SD) (nmol/L)	0.528 (0.143)	0.689 (0.0588)	1.52 (0.230)	1.58 (0.924)	6.00 (1.18)	10.7 (1.40)	56.3 (20.3)	113 (63.2)
$AUC_{(0\text{-}t)}$ (± SE) (nmol · h/L)	2.46 (0.256)	4.01 (0.415)	6.72 (0.385)	8.04 (1.67)	46.3 (4.82)	79.1 (5.86)	376 (31.7)	858 (231)
$AUC_{(0\text{-}8)}$ (nmol · h/L) [a]	2.46	4.01	6.72	8.04	32.2	52.4	265	579
$T_{(last)}$ (h)	8	8	8	8	24	24	24	24

表 6 雌雄ラットにカミゼストラントを単回及び 1 日 1 回反復強制経口投与したときの血漿中 TK 結果の要約（試験 521854）

Group	2		3		4		5	
Dose level (mg/kg/day)	0.1		0.25		1		5	
Sampling Occasion	Day 1	Week 12	Day 1	Week 12	Day 1	Week 12	Day 1	Week 12
Females								
t_{max} (h)	2	1	2	2	2	1	0.5	1
C_{max} (± SD) (nmol/L)	1.31 (0.585)	0.760 (0.308)	3.67 (1.75)	2.02 (0.802)	21.0 (5.71)	15.0 (5.54)	299 (427)	174 (77.4)
$AUC_{(0-t)}$ (± SE) (nmol · h/L)	5.70 (0.866)	3.81 (0.571)	15.6 (2.44)	11.9 (3.56)	130 (10.1)	94.8 (13.3)	1430 (216)	1140 (213)
$AUC_{(0-8)}$ (nmol · h/L) [a]	5.70	3.81	15.6	11.9	90.4	68.9	1030	839
$T_{(last)}$ (h)	8	8	8	8	24	24	24	24

[a] A partial area up to 8 hours, $AUC_{(0-8)}$, was calculated and reported to aid interpretation

n = 10 animals per group/sex/day; 5 animals per sex were sampled per timepoint, each animal sampled on 3 occasions; one TK profile per group/sex/day on Day 1 and 3 animals were sampled at all time points for per dose group/sex on Week 12

カミゼストラントを投与された全例で、カミゼストラントへの曝露が確認された。対照群動物の試料では、カミゼストラントは検出されなかった。

雌雄の曝露量に性差があり、単回投与後の C_{max}、$AUC_{(0-8)}$及び $AUC_{(0-t)}$値は雄より雌で高かったが、反復投与後の C_{max}、$AUC_{(0-8)}$及び $AUC_{(0-t)}$値は同等であった。

0.1 mg/kg/日から 5 mg/kg/日までの C_{max}、$AUC_{(0-8)}$及び $AUC_{(0-t)}$は、雌雄ともに単回投与後及び 12 週間反復投与後に用量比を上回って増加した。

雄では 12 週間反復投与した後の C_{max}、$AUC_{(0-8)}$及び $AUC_{(0-t)}$値は、0.1、0.25 又は 1 mg/kg/日において単回投与後と概ね同程度であり、5 mg/kg/日では反復投与後に高値を示した。雌では反復投与後の C_{max}、$AUC_{(0-8)}$及び $AUC_{(0-t)}$値は、単回投与後と概ね同程度であった。

0.1 mg/kg/日以上の雄及び 0.1、0.25 及び 1 mg/kg/日の雌で体重増加量の減少が認められた。5 mg/kg/日では、雌の体重増加量は対照群と同程度であった。雌雄の摂餌量及び摂水量の減少傾向がみられたが、高用量群の雌では摂餌量の明らかな減少傾向はみられなかった。

全用量の雌雄で、血液生化学的検査パラメータに軽微～軽度の変化が認められたが、血液学的検査パラメータ、尿検査及び尿化学的検査パラメータには変化は認められなかった。全用量の雌において、ALP 活性の軽微～軽度の上昇及びアルブミン濃度の軽微な低下が認められた。全用量の雌雄で、血漿中コレステロール濃度の軽微～軽度の低下が認められた。

雌のみにおいて、副腎、下垂体及び乳腺、並びに卵巣、子宮／子宮頸部／卵管及び膣に変化が認められた。5 mg/kg/日では、副腎重量の減少及びそれに伴う病理組織学的な皮質（束状帯）の萎縮、並びに卵巣重量の増加及びそれに伴う病理組織学的な黄体数の増加及び顆粒膜細胞過形成が認められた。1 mg/kg/日以上では膣上皮の萎縮が病理組織学的に認められた。

0.1 mg/kg/日以上では雌の下垂体重量が減少したが、関連する肉眼的又は病理組織学的所見は認められなかった。卵巣嚢胞が病理組織学的に認められ、1 mg/kg/日以上の一部の動物の卵巣に肉

眼的に認められる暗色（黒色）巣と相関する嚢胞内出血の領域を含むこともあった。また、1 mg/kg/日以上では子宮／子宮頸部の萎縮（子宮／子宮頸部／卵管重量の減少と相関）も認められ、膣における粘液分泌の増加が病理組織学的に認められた。

その他の全ての検査パラメータには、カミゼストラント投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

以上より、雌雄に 0.1、0.25、1 又は 5 mg/kg/日を 12 週間経口投与したとき忍容性は良好であったが、雄では 5 mg/kg/日まで、雌では 1 mg/kg/日までで用量依存的な体重増加量の減少、それに伴う摂餌量及び摂水量の変化が認められた。全用量で雌の生殖器（卵巣、子宮、子宮頸部、膣及び卵管）に有害な影響が認められた。雌における病理組織学的所見として、副腎皮質（束状帯）萎縮、乳腺肥大／過形成、卵巣嚢胞、黄体数増加、顆粒膜細胞過形成、子宮／子宮頸部及び膣上皮の萎縮並びに膣上皮の粘液分泌増加が認められた。全用量で雌雄ともに血液生化学的パラメータに軽微な変化が認められた。以上の結果に基づき、雄における無毒性量を 5 mg/kg/日と判断した。雌では無毒性量を確認することはできなかった。

2.6.6.3.2.4 ラットを用いた雄の受胎能を評価を含む 6 か月間反復投与毒性試験（試験 509329）

本試験の目的は、カミゼストラント（0.5% AZ14107577 (シス異性体) 及び 0.5% AZ14110264 (鏡像異性体)を含有）をラットに 1 日 1 回 26 週間強制経口投与したときの毒性を評価することであった。

3 群の Han Wistar ラット（各群雌雄各 15 例）に、カミゼストラントを 1 日 1 回 26 週間経口投与した。用量は 10、25 又は 75 mg/kg/日とした。雌雄各 15 例からなる対照群には溶媒（1N 塩酸で pH 4.8～5.5 に調整した脱イオン精製水）を投与した。雄の受胎能を評価するため、更に各群 15 例の未投与雌を組み入れた。全ての投与用量は、カミゼストラントの親化合物の用量で表している。

以下の項目について評価した。一般状態、体重、摂餌量、摂水量、眼科学的検査、交尾観察、血液学的検査、血液生化学的検査、尿分析、尿化学的検査、血漿中カミゼストラント濃度、器官重量、肉眼的及び病理組織学的検査並びに精子検査。未投与の雌では、性周期及び妊娠状況を評価した。

表 7 ラットにおける TK の要約（試験 509329）

Group	2		3		4	
Dose level (mg/kg/day)	10		25		75	
Day	1	180	1	180	1	180
Males						
t_{max} (h)	2.12	2	2	2	2	4
C_{max} (± SD) (µmol/L)	0.242 (0.0373)	0.611 (0.308)	0.890 (0.221)	1.59 (0.248)	2.04 (0.417)	4.21 (1.04)
$AUC_{(0\text{-}t)}$ (± SE) (µmol·h/L)	0.983 (0.0425)	4.51 (0.463)	3.58 (0.250)	14.9 (1.25)	24.8 (2.38)	59.1 (4.76)
Females						
t_{max} (h)	2	1	2	4	2	2
C_{max} (± SD) (µmol/L)	0.522 (0.152)	0.802 (0.260)	1.94 (0.103)	2.12 (1.37)	5.76 (1.84)	7.35 (2.01)

表 7　　ラットにおける TK の要約（試験 509329）

Group	2		3		4	
Dose level (mg/kg/day)	10		25		75	
Day	1	180	1	180	1	180
Males						
$AUC_{(0\text{-}t)}$ (± SE) (μmol·h/L)	2.53 (0.239)	5.02 (0.558)	16.2 (0.382)	24.2 (5.82)	75.7 (8.28)	133 (20.4)

n = 5 animals per sex per timepoint

カミゼストラントを投与した全例で、カミゼストラントへの曝露が確認された。対照群動物の血液試料では、カミゼストラントは検出されなかった。10、25 又は 75 mg/kg/日の単回又は反復投与後に C_{max} は、雄では用量に比例して増加し、雌では用量比をわずかに上回って増加したが、AUC は雌雄とも概ね用量に比例して増加した。反復投与後の曝露量は、雄では単回投与後よりも高かったが、雌では同程度であった。曝露量は雌の方が雄よりも高かった。

全用量の雄で用量に依存的な体重増加量の減少及び摂餌量の減少が認められた。雌では、非用量依存的な体重増加量の増加及び摂餌量の増加が認められた。

25 mg/kg/日以上では雄の交尾率が低下した。75 mg/kg/日では、着床胚損失の増加を伴う生存胎児数の減少が認められた。全用量において、精巣の精細胞数及び精巣上体の精子数が用量依存的に減少し、25 mg/kg/日以上では異常精子数の増加が認められた。75 mg/kg/日では、精子運動性の低下も認められた。

10 mg/kg/日以上の雌では子宮頸部、卵管及び子宮の萎縮（子宮重量の減少と相関）、卵巣嚢胞、卵巣の顆粒膜細胞過形成及び乳腺の肥大／過形成が認められた。25 mg/kg/日以上では卵巣の萎縮が認められ、10 及び 25 mg/kg/日では黄体数の増加（卵巣重量増加と相関）が認められた。75 mg/kg/日の雌 3 例で良性の卵巣顆粒膜細胞腫が認められた。10 mg/kg/日以上の雌では、副腎重量及び下垂体重量の低下が認められたが、関連する病理組織学的変化はみられなかった。

10 mg/kg/日以上の雄では、前立腺及び精嚢の萎縮（前立腺重量の減少と相関）、精細管拡張、精細管の変性／萎縮並びに精巣上体の精子細胞の減少が認められた。

75 mg/kg/日では、肝内胆管の上皮の空胞化、並びに脾臓の白脾髄（雌 1 例のみ）、腸間膜リンパ節（発生率の増加）及び肺におけるマクロファージ集簇が認められた。雌の肺には混合性炎症性細胞浸潤も認められた。肺の病理組織学的所見は、雌における肺重量並びに循環血中の好中球、リンパ球、単球及び好酸球の増加と相関していた。マクロファージ集簇の重症度及び炎症性細胞浸潤が認められたことから、75 mg/kg/日の雌におけるこれらの所見は有害と判断した。

心筋症が 25 mg/kg/日の雌 2 例及び 75 mg/kg/日の雌 2 例で認められ、有害と判断した。

その他の血液学的検査パラメータ、血液生化学的検査パラメータ（酵素、胆汁酸、コレステロール、アルブミン及びグロブリン）及び尿化学的検査パラメータの変化は概して小さく、関連する病理組織学的変化がみられなかったため毒性学的意義はないと判断した。

その他の全てのパラメータについて、カミゼストラントの投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

以上より、ラットに 10、25 又は 75 mg/kg/日を 26 週間強制経口投与したときに忍容性が認められたが、雄の体重増加量の減少と雌の体重増加量の増加とそれに伴う摂餌量の変化が認められ

た。全ての用量で雌雄の生殖器に有害な影響が認められ、雄においては生殖能に対する有害な影響も認められた。

雄においては、精巣上体での精子減少を伴う前立腺、精嚢及び精巣の萎縮及び／又は変性（並びに精細管拡張）が認められた。精細胞／精子数の減少、精子異常率の上昇、精子運動性の低下、交尾率及び妊娠率の低下が認められた。

雌においては、子宮頸部、卵巣、卵管、子宮及び膣の萎縮、乳腺及び卵巣の過形成／肥大（顆粒膜細胞過形成）、卵巣嚢胞、黄体数の増加並びに卵巣腫瘍が認められた。

その他の病変として、25 mg/kg/日以上で心筋症、75 mg/kg/日で胆管上皮の空胞化、肺のマクロファージ集簇及び混合性細胞浸潤、腸間膜リンパ節及び脾臓のマクロファージ集簇等が認められた。

全用量で雌雄生殖器への影響が認められたため、無毒性量は確認できなかった。

2.6.6.3.3 イヌを用いた試験

2.6.6.3.3.1 イヌを用いた MTD 及び 14 日間用量設定試験（試験 505120）

本試験は、MTD を確認するための 3 日間用量漸増反復投与期、それに続く標的器官毒性を評価するための 14 日間固定用量反復投与期からなり、その後の反復投与試験における適切な高用量の設定をサポートする目的で実施した。

MTD 期

雌雄各 1 例のビーグル犬に 50 mg/kg を単回投与した。しかし、50 mg/kg 投与後の雄の早期中止により、残りの MTD 期で雌のみに 15、30 及び 40 mg/kg/日を 3 日間投与した。50 mg/kg から 15 mg/kg/日投与の間隔は 14 日間であったが、15、30 及び 40 mg/kg/日の各用量の投与 1 日目の間隔は 7 日間であった。

以下のパラメータを評価した。一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、肉眼的及び病理組織学的検査。

雄への 50 mg/kg の単回投与では忍容性が認められず、協調運動障害、異常歩行及び円背位等の有害な一般状態の変化（投与約 20 時間後）が発現したため、2 日目に早期屠殺した。小発作と一致する一般状態の変化が認められた。40 mg/kg/日までを 3 日間連日投与した雌では、忍容性が認められた。

血液学的検査における変化は、網状赤血球及びリンパ球の減少であった。血液生化学的検査での変化は、雌のみで認められ、ALT 及び GLDH の増加等であった。

剖検では、卵巣に両側性の透明な嚢胞が認められた。病理組織学的検査では、卵巣の中等度の嚢胞性卵胞、子宮頸部及び膣の軽微な上皮変性等が認められた。投与 2 日目に安楽殺した雄の病理組織学的検査（脳を含む）では、カミゼストラントに関連すると考えられる所見は認められなかった。

DRF 期

雌雄各 1 例からなる追加の 3 つの群に、10、20 又は 40 mg/kg/日を最長 14 日間連日強制経口投与した。40 mg/kg/日の反復投与では忍容性は認められず、5 日目に動物を早期屠殺した。

以下のパラメータを評価した。一般状態、体重、摂餌量、心電図、血液学的検査、血液生化学的検査、血漿、心臓及び前脳中のカミゼストラント濃度、血漿中のシス異性体濃度、器官重量、肉眼的及び病理組織学的検査。

表 8　　イヌにおける TK の要約（試験 505120）

Dose level (mg/kg/day)	10		20		40
Day	1	14	1	14	1
Male and female combined					
Median t_{max} (range) (h)	2 (2, 2)	2 (2, 2)	2 (2, 2)	2 (1, 4)	2 (2, 2)
Mean C_{max} (µmol/L)	2.58	2.44	6.04	6.90	11.9
Mean $AUC_{(0\text{-}t)}$ (µmol·h/L)	15.0	23.8	50.4	84.9	129

$AUC_{(0\text{-}t)}$: 10 mg/kg/day t = 12 h, 20 and 40 mg/kg/day t = 24 h
Note: Animals, dosed at 40 mg/kg/day were euthanised on Day 5 due to adverse clinical signs
n = 2 for sexes combined

カミゼストラントを投与された全例で、カミゼストラントへの曝露が確認された（表 8 参照）。単回投与後、$AUC_{(0\text{-}t)}$は用量比を上回って増加したが、C_{max} は用量範囲全体で用量に比例して増加した。14 日目の曝露量の増加は 10 mg/kg/日から 20 mg/kg/日の間で概ね用量比を上回って増加した。雌雄ともに T_{max} は、1 日目の投与 2 時間後及び 14 日目の 1、2 又は 4 時間後に一貫して認められた。10 又は 20 mg/kg/日を 14 日間反復投与したときの曝露量は、雌雄とも概ね 1 日目と同程度であったが、20 mg/kg/日の雄では 14 日目の曝露量が投与 1 日目よりも大きかった。概してカミゼストラントの曝露量に性差は認められなかった。

10 及び 20 mg/kg/日では、15 日目の心臓中のカミゼストラント濃度は対応する脳中濃度及び血漿中濃度より高く（投与 24 時間後）、血漿中濃度は心臓中濃度及び脳中濃度の両方と比較して最も低かった。心臓中濃度は血漿中濃度と比較して 10 mg/kg/日では約 28 倍、20 mg/kg/日では雄で 19 倍、雌で 25 倍であった。脳中濃度は血漿中濃度と比較して、10 mg/kg/日では雄で約 5.8 倍、雌で 6.6 倍、20 mg/kg/日では雄で 2.6 倍、雌で 2.9 倍であった。

40 mg/kg/日の 4 日間反復投与では忍容性が認められず、協調運動障害、異常歩行、円背位又は振戦及び／又は活動性低下、横臥、異常発声増加及び体重減少等を含む有害な一般状態変化が主に雌で認められたため、5 日目に雌雄ともに早期屠殺した。雌は検査時にてんかん性痙攣を起こし、顎が動かなくなり左側臥位で反弓状の姿勢で四肢のパドル動作を約 3 分間続けた。

10 及び 20 mg/kg/日の 14 日間反復投与の忍容性は良好であり、主に投与開始後最初の 4 日間に軽度の体重減少が認められた。

10、20 及び 40 mg/kg/日における心血管系所見は、心拍数の持続的減少（試験前の 101±25 bpm に対し、20 mg/kg/日では最大で 55±12 bpm に減少）、及び関連する持続的な QT 間隔及び QTc 間隔の延長（QTc 間隔は試験前の 229±3 ms に対し、20 mg/kg/日では最大で 255±1 ms に増加）であった。また、10 及び 20 mg/kg/日では、カミゼストラントの投与後に PR 間隔の全般的な短縮（試験前の 81±5 ms に対し、20 mg/kg/日では最大で 77±0 ms に短縮）が認められた。心電図の波形に変化は認められなかった。

血液学的検査では、全動物における用量依存的な網状赤血球の減少（0.20～0.70 倍）及びリンパ球の減少（0.54～0.85 倍）等が認められた。血液生化学的検査パラメータでは、20 mg/kg/日以

上において ALT（1.45～2.36 倍）、GLDH（2.18～2.39 倍）及び／又は CK（2.50～4.26 倍）の用量依存的な増加が認められた。

10 mg/kg/日以上の雌、又は 20 mg/kg/日以上の雄では、病理組織学的所見が精巣（精細管の変性／萎縮）、卵巣（嚢胞性卵胞）、子宮（萎縮）、子宮頸部（上皮変性）及び膣（上皮変性）に認められた。卵巣の所見は、両側性の透明な嚢胞がみられたことと関連していた。雌雄の生殖器の所見はカミゼストラントの薬理作用によるものと考えられた。更に、40 mg/kg/日の反復投与後に途中死亡した雌では、肺（肺胞のマクロファージ集簇）及び十二指腸（陰窩変性）における病理組織学的所見及び関連する剖検所見が認められた。脳に投与関連の病理組織学的所見は認められなかった。

以上より、雄への 50 mg/kg の単回強制経口投与、又は雌雄への 40 mg/kg/日の 4 日間反復強制経口投与は忍容性が認められず、有害な一般状態変化のため早期屠殺に至った。10 又は 20 mg/kg/日の 14 日間反復投与は忍容性良好であり、心拍数の減少（PR 間隔の短縮及び QT/QTc 間隔の延長を含む）、網状赤血球及びリンパ球の減少、酵素（ALT、GLDH 及び CK）の増加、並びに生殖器（精巣、卵巣、子宮、子宮頸部及び膣）の病理組織学的所見が認められた。14 日間反復投与時の MTD は 20 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.3.2 イヌを用いた 1 か月間反復投与毒性及び回復性評価試験（試験 506464）

本試験の目的は、カミゼストラントをイヌに 1 日 1 回 28 日間強制経口投与したときの毒性及び、28 日間の回復期間後に所見の回復性を評価することであった。

各群雌雄各 3 例からなる 4 群のビーグル犬に、カミゼストラントを 0、5、10 又は 20 mg/kg/日で投与した。また、雌雄各 2 例を対照群及び高用量群に追加し、投与終了 28 日後の所見の回復性を評価した。

以下の項目について評価した。一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、瞳孔径（μ-オピオイド作動性リスクを評価するため）、心血管系評価、血液学的検査、凝固検査、血液生化学的検査、尿分析及び尿化学的検査、血漿、心臓及び前脳中のカミゼストラント濃度、器官重量、肉眼的及び病理組織学的検査。

カミゼストラントを投与された全例で、カミゼストラントへの曝露が確認された。対照群動物の試料中には、カミゼストラントは検出されなかった。単回投与後及び 1 日 1 回反復投与後、曝露量（平均 $AUC_{(0-t)}$及び C_{max}）は、検討した用量範囲にわたって用量比を上回って増加した。平均 C_{max} は、単回投与後と 28 日間反復投与後で概ね同程度であった。28 日間投与後の平均 $AUC_{(0-t)}$は、単回投与後よりわずかに高かった。曝露量に性差は認められなかった。29 日目及び回復期間終了後（57 日目）の剖検時に脳及び心臓の試料を採取した。低用量の 5 例中 2 例、中及び高用群の全ての動物で、28 日間反復投与後の心臓及び脳中でカミゼストラント濃度が定量可能であった。57 日目の回復性評価動物ではカミゼストラント濃度は定量下限未満であった。29 日目の 5、10 及び 20 mg/kg/日では、心臓中のカミゼストラント濃度は対応する脳中濃度及び血漿中濃度より高く（投与 24 時間後）、血漿中濃度は心臓中濃度及び脳中濃度の両方と比較して最も低かった。

表 9 イヌにおける TK の要約（試験 506464）

Dose (mg/kg/day)	5		10		20	
Day	1	28	1	28	1	28
Males and females						

表 9　　イヌにおける TK の要約（試験 506464）

Dose (mg/kg/day)	5		10		20	
Day	1	28	1	28	1	28
Median t_{max} (range) (h)	2 (1,4)	1.5 (1,2)	1.5 (1,2)	2 (2,4)	1 (1,4)	2 (1,4)
Mean C_{max} (SD) (μM)	0.815 (0.259)	1.17 (0.179)	2.24 (0.378)	2.78 (0.596)	5.8 (0.812)	7.8 (1.68)
Mean $AUC_{(0-t)}$ (SD) (μM·h)	4.69 (1.78)	8.49 (1.92)	16.1 (3.13)	30.4 (10.8)	54.4 (11.0)	97.2 (26.5)

n is 6 at 5 and 10 mg/kg/day and 10 at 20 mg/kg/day for males and females combined
t was 12 h in one male animal in the 5 mg/kg dose group and all females dosed at 5 mg/kg/day on Day 1. In all other animals and at all dose levels t was 24 h.

生存中に認められた所見は、10 又は 20 mg/kg/日の 1 日目の投与 1 又は 2 時間後の瞳孔径の増加のみであった。この変化は投与 4 時間後までに消失し、28 日目には瞳孔径の変化は認められなかった。

カミゼストラントの投与により用量依存的な心血管系への影響が認められ、20 mg/kg/日では拡張期血圧の低下（最大-29 mmHg、10 日目）、平均動脈圧の低下（-25 mmHg、10 日目）、QA 間隔の短縮（-12 ms、10 日目）、心拍数の減少（-53 bpm、25 日目）及び PR 間隔の短縮（-4 ms、2 日目）、並びに脈圧の上昇（+25 mmHg、10 日目）、QT 間隔の延長（+43 ms、10 日目）及び QTca 間隔の延長（+18 ms、25 日目）が認められた。これらの変化は遅発性であり、概して 10 日目に最高に達し、25 日目には同程度で持続するか又はやや減弱した。低用量で脈圧の上昇並びに PR 間隔及び QA 間隔の短縮が認められたため、心血管系機能への影響に対する無作用量は確認できなかった。拡張期血圧、平均動脈圧、QA 間隔、心拍数及び PR 間隔の変化は、31 日目（最終投与の 3 日後）までにほぼ試験前のベースライン値まで回復した。脈圧、QT 間隔及び QTca 間隔の変化は、50 日目（最終投与の 22 日後）までにほぼ試験前のベースライン値に回復した。回復期間終了時の 50 日目には、試験前と比較し 20 mg/kg/日の QA 間隔の延長が認められた。定量的心電図解析では、評価した全例の 23 時間における心房期外収縮の自然発生数は 0～29 であった。20 mg/kg/日の雌 1 例（10 日目）では、23 時間に 60 回の心房期外収縮が認められ、これはカミゼストラント投与によるものと考えられた。

5 mg/kg/日以上で認められた病理組織学的所見は、卵巣の黄体肥大及び黄体嚢胞等であり、それに関連して卵巣重量が増加した。雌では 28 日間の回復期間後も黄体の肥大が認められたが、黄体嚢胞は認められず、黄体細胞が微細に空胞化しており、回復傾向が認められた。投与期間終了時に、卵巣及び子宮の重量は対照群と比較して増加し、28 日間の回復期間後には完全又は部分的な回復が認められた。5 mg/kg/日以上の雄では、精巣重量が増加し、病理組織学的には精巣に間質細胞（ライディヒ細胞）細胞の肥大／過形成が認められた。これらの所見は 28 日間の回復期間後には回復した。

その他、臨床病理学的パラメータを含むいずれのパラメータにも、カミゼストラント投与に関連すると考えられる毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

以上より、ビーグル犬に最大 20 mg/kg/日のカミゼストラントを強制経口投与したときの忍容性は良好であり、10 mg/kg/日以上で投与 1 日目に一過性の瞳孔径の増加のみが認められた。また、拡張期血圧の低下、平均動脈圧の低下、QA 間隔の短縮、心拍数の減少及び PR 間隔の短縮並びに脈圧の上昇、QT 間隔及び QTca 間隔の延長といった心血管系への影響が認められた。これらの所見は可逆的であることが示されたが、その後、回復期間の最終週には QA 間隔の延長が認められた。心房期外収縮の発生が 20 mg/kg/日の雌 1 例に認められた。病理組織学的所見は全用量で認

められ、重症度はいずれの用量においても同程度であり、器官重量の増加（精巣、卵巣及び子宮）を伴う雌雄生殖器系の変化のみであった。これらの所見は可逆的であることが示された。雄の無毒性量は 20 mg/kg/日と判断されたが、雌では生殖器の所見のため無毒性量は確認できなかった。

2.6.6.3.3.3 イヌを用いた 9 か月間反復投与毒性試験（試験 509313）

本試験の目的は、イヌにカミゼストラントを 1 日 1 回 39 週間強制経口投与したときの毒性を評価することであった。

各群雌雄各 4 例からなる 4 群のビーグル犬に、カミゼストラントを 1 日 1 回 39 週間経口投与した。用量は 0、5、10 又は 20 mg/kg/日とした。対照群には溶媒（1N 塩酸で pH 4.8～5.5 に調整した脱イオン精製水）を投与した。全ての用量は、カミゼストラントの用量で表している。

以下の項目を評価した。一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図、血液学的検査、凝固検査、血液生化学的検査、尿化学的検査を含む尿分析、血漿中カミゼストラント濃度、甲状腺刺激ホルモン濃度、チロキシン濃度、器官重量、肉眼的及び病理組織学的検査。

本試験で副甲状腺ホルモン測定用血液試料を採取し、その測定結果は別試験で示した（試験 3801030、2.6.6.8.7.2 項参照）。

表 10 イヌにおける TK の要約（試験 509313）

Dose level (mg/kg/day)	5		10		20	
Day	Day 1	Week 39	Day 1	Week 39	Day 1	Week 39
Males and females combined						
Median t_{max} (range) (h)	1.5 (1, 2)	2 (1, 4)	1.5 (1, 2)	2 (2, 4)	2 (2, 2)	2 (1, 4)
Mean C_{max} (± SD) (µmol/L)	0.952 (0.147)	0.973 (0.371)	2.48 (0.226)	2.50 (0.191)	5.47 (0.708)	9.31 (4.27)
Mean $AUC_{(0-t)}$ (± SD) (µmol·h/L)	4.17 (0.947)	7.72 (3.01)	16.6 (1.82)	29.7 (5.28)	53.1 (12.7)	115 (40.0)

n=8 for males and females combined; except animals dosed at 5 mg/kg/day in Week 39, where n = 7 due to the premature termination of F2502 on Day 244 for welfare reasons

カミゼストラントを投与した全例で、カミゼストラントへの曝露が確認された。対照群動物の試料ではカミゼストラントは検出されなかった。カミゼストラントの曝露量に性差は認められなかった。

5～20 mg/kg/日までの用量において、平均 C_{max} は、単回投与後は用量に比例して増加し、39 週間反復投与後は用量比を上回って増加した。単回投与後及び反復投与後の平均 $AUC_{(0-t)}$は用量比を上回って増加した。

39 週間反復投与後、C_{max} 値は単回投与の場合と概ね同程度であったが、$AUC_{(0-t)}$値は反復投与後にわずかに高くなった。

5 mg/kg/日の雌 1 例は、腹部腫瘤（剖検で嚢胞性卵巣腫瘤が認められた）、発声及び触診時の腹部違和感が認められ、動物愛護の観点から 244 日目（35 週目）に安楽殺した。進行性の摂餌量減少及び体重減少も屠殺前に認められた。試験期間を通して数回、血漿中カルシウムの高値が認められた。この動物では 13、26 及び 35 週目に認められたその他の臨床病理学的変化から、一過性のストレス及び／又は脱水／血液濃縮（赤血球量、好中球、総タンパク質及び尿素の高値とリ

ンパ球及び好酸球の低値）が示唆された。剖検時に肉眼で嚢胞性卵巣腫瘤が認められたが、この嚢胞性卵巣腫瘤は計画剖検した雌における腫瘤よりも大型であった。この雌 1 例の病理組織学的所見は、投与期間終了時の他の動物で認められた所見と同様であった。

5 mg/kg/日以上で、投与期間中に非用量依存的な体重増加量の増加が認められた。

心拍数の減少及び QTca の延長がみられ、これらの変化は、主に 10 及び 20 mg/kg/日では初回評価時（4 週目）に、5 mg/kg/日投与では 2 回目評価時（13 週目）に認められ、以降の 26 週目及び 39 週目の評価時点では変化の程度が更に増していた。また、用量に依存しない PR 間隔の短縮が 5 及び 10 mg/kg/日で認められた。

カミゼストラント投与により心拍数減少が認められたため、観察された心拍数範囲（RR 間隔は心拍数と逆相関する）における QT 間隔と RR 間隔の関連を説明するために QT/RR 解析を個体別に実施した。10 及び 20 mg/kg/日のプロットは、大半の動物で QT/RR 関係に明らかな上方シフトが認められたため、QTca 延長作用が認められたのは、心拍数減少のアーチファクトではなく、カミゼストラント投与に関連することが示された。

5 mg/kg/日以上の雌では、子宮頸部、膣及び子宮の萎縮（子宮重量の減少と相関）、膣の好中球浸潤、黄体細胞充実性上昇及び卵巣の嚢胞（卵巣重量の増加と相関）が認められた。雌 2 例（5 及び 20mg/kg/日の各 1 例）では良性の卵巣顆粒膜細胞腫が認められ、雌 2 例（20 mg/kg/日）では卵巣に性索間質性過形成が認められた。20 mg/kg/日の雌 1 例で乳腺の限局性過形成が認められた。5 又は 10 mg/kg/日の雌 3 例では、子宮粘膜の壊死及び炎症が認められ（グロブリン及びフィブリノゲンの増加と相関）、更にこれら 3 例の雌のうち 2 例（10 mg/kg/日）では、子宮及び子宮頸部に嚢胞性子宮内膜過形成が認められた。

5 mg/kg/日以上の雄では、精巣に間質細胞（ライディヒ細胞）の肥大／過形成及び精細管の変性／萎縮（5 又は 10 mg/kg/日のみ）並びに精巣上体に細胞残屑（5 又は 20 mg/kg/日）が認められた。10 mg/kg/日の雄 1 例の精巣に間質細胞（ライディヒ細胞）腺腫が認められた。

その他には、カミゼストラントに関連すると考えられる毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

以上より、イヌに 5、10 又は 20 mg/kg/日を 39 週間強制経口投与した結果、概ね忍容性が認められたが、非腫瘍性の卵巣肥大に関連すると考えられる腹部違和感のため、35 週目に 5 mg/kg/日の雌 1 例を早期屠殺した。この動物では高カルシウム血症もみられた。

全用量で、時間依存的及び用量依存的に心拍数が減少し、QTca が延長した。用量に依存しない PR 間隔の短縮も認められたが、これは 5 及び 10 mg/kg/日に限られた。

全用量で雌雄の生殖器に有害な影響と考えられる病理組織学的所見（精巣、精巣上体、子宮頸部、膣、子宮又は卵巣）が認められ無毒性量は確認できなかった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

カミゼストラントの遺伝毒性を *in vitro* 及び *in vivo* 試験で評価した。細菌を用いた復帰突然変異試験により、突然変異誘発性を評価し、*in vitro* 及び *in vivo* の小核試験で染色体異常誘発性を評価した。

2.6.6.4.1 In vitro 試験

カミゼストラントの突然変異誘発性を GLP 適用の細菌を用いた復帰突然変異試験（試験 8379660）で評価した。ラット肝代謝活性化系（S-9）の存在下及び非存在下で最高 5000 μg/プ

レートの濃度で試験したが、カミゼストラントはヒスチジン要求性のネズミチフス菌 4 菌株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及びトリプトファン要求性の大腸菌 1 菌株（WP2 *uvrA* pKM101）に突然変異を誘発しなかった。

カミゼストラントの染色体異常誘発性を GLP 適用の *in vitro* 小核試験（試験 8379661）で評価した。Aroclor-1254 誘導ラット肝代謝活性化系（S-9）の存在下及び非存在下において、細胞毒性は発現する濃度までカミゼストラントを処理したが、マウスリンフォーマ L5178Y 細胞に小核を誘発しなかった。

2.6.6.4.2　In vivo 試験

カミゼストラントの染色体異常誘発性を GLP 適用の *in vivo* 小核試験（試験 8379662）で評価した。雌 Han Wistar ラットに最高 400 mg/kg/日（本試験における MTD と考えられる用量）を 2 日間強制経口投与した結果、骨髄の小核未熟赤血球の発現率は増加しなかった。

2.6.6.5　がん原性試験

カミゼストラントのがん原性試験は実施していない。長期反復投与試験では、ラット（6 か月間投与）及びイヌ（9 か月間投与）の卵巣に良性の顆粒膜細胞腫が認められた。イヌ 9 か月間試験では、1 例の精巣に間質細胞（ライディヒ細胞）腺腫が認められた。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

ラットの 6 か月間経口投与毒性試験の一環として、雄の受胎能に対するカミゼストラントの影響を評価した（試験 509329）。雌ラットの受胎能に対するカミゼストラントの影響を雌ラットの受胎能及び初期胚発生試験で評価した（試験 490021）。

ラットを用いて胚・胎児発生試験を実施し、着床前投与期と、妊娠 6 日（GD 6）から授乳 6 日（LD 6）まで母動物にカミゼストラントを投与する妊娠～分娩期を設けた（試験 490005）。ラットでは、臨床用量である 75 mg を投与したときに観察される血漿中濃度よりも明らかに低い血漿中濃度で胚・胎児発生に対する影響が認められた。リスク評価のための更なる情報は得られないと考えられたため、他の動物種での胚・胎児発生の評価は実施しなかった。

2.6.6.6.1　受胎能及び初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1　雄の受胎能評価

カミゼストラントが雄の受胎能に及ぼす影響についての評価は、ラット 6 か月間経口投与毒性試験の一部として実施し、この試験では 10 mg/kg/日以上で病理組織学的変化（前立腺及び精嚢の萎縮、精細管拡張、精細管の変性／萎縮、並びに精巣上体での精子減少）が認められた（試験 509329、2.6.6.3.2.4 項）。

溶媒又は 10、25 若しくは 75 mg/kg/日を投与した雄ラット（15 例/群）を、10 週目に未投与の雌ラットと 1:1 で交配させたとき、25 mg/kg/日以上で交尾率の低下が認められた。75 mg/kg/日では、着床胚損失の増加を伴う生存胎児数の減少が認められた。全用量において、精巣の精細胞数及び精巣上体の精子数が用量依存的に減少し、25 mg/kg/日以上では異常精子数の増加が認められた。75 mg/kg/日では、精子運動性の低下も認められた。

2.6.6.6.1.2 雌ラットの受胎能及び初期胚・胎児発生に関する経口投与試験（試験 490021）

本試験の目的は、カミゼストラントを経口投与した雌ラットの受胎能及び発生過程への影響を評価することであった。本試験は、性腺機能、交尾行動、妊娠率、着床及び子宮内での形態学的発生への影響について評価した。本試験は以下の 2 期で実施した。

主試験期：

各群雌 16 例からなる 4 群の Han Wistar ラットに、交配前 14 日間及び交配期間中、続いて GD 6 までカミゼストラントを経口投与した。用量は 0、0.001、0.075 又は 0.75 mg/kg/日とした。対照群には、溶媒である 1N 塩酸で pH 4.8～5.5 に調整した脱イオン精製水を投与した。

回復期：

雌 16 例からなる 2 群の Han Wistar ラットに、カミゼストラントを 21 日間経口投与し、その後交配前 4 週間は投与せずに飼育した。交配中又は妊娠中の投与は行わなかった。用量は 0、0.75 mg/kg/日とした。対照群では、溶媒である 1N 塩酸で pH 4.8～5.5 に調整した脱イオン精製水を投与した。64 例の未投与雄を雌と交配させた。

以下の項目について評価した。一般状態、体重、摂餌量、性周期、交尾行動、GD 12～14 の妊娠検査及び剖検。

0.075 mg/kg/日以上で性周期の変化が認められ、発情期像の減少及び発情間期像の増加がみられた。交尾行動に関する評価では、交尾徴候がみられた動物数及び複数の交尾徴候を示した動物数の用量依存的な増加を含む変化が認められた。

カミゼストラント投与により雌の受胎率の低下、0.075 mg/kg/日以上での妊娠動物数の減少が認められた。卵巣及び子宮の検査では、全用量で黄体数、着床数及び生存胚数の減少、それに関連した妊娠子宮重量の減少等の影響が認められた。着床前胚損失率及び着床後胚損失率も対照より顕著に高かった。28 日間の回復期間後には、受胎能に対する影響は認められなかった。

その他の全てのパラメータに、カミゼストラントの投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

以上より、雌ラットに対するカミゼストラントの経口投与は、性周期、交尾行動及び受胎能の変化をもたらした。0.075 mg/kg/日以上では、受胎能の明らかな低下が認められ、妊娠率が低下した。0.001 mg/kg/日では、着床数（胚数）の減少、着床前及び着床後胚損失率の増大が認められた。受胎能への影響は、28 日間の回復期間後に完全に回復した。この試験では無毒性量は確認できなかった。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 ラットにおける出生前及び出生後の評価を含む経口投与用量設定胚・胎児発生試験（試験 490005）

本試験では、ラットの出生前及び出生後の評価を含む胚・胎児発生を 3 段階で評価した。最初に卵管輸送及び胚・胎児発生期（第 1 段階）、次に胚・胎児発生期（第 2 段階）、その後出生前及び出生後期（第 3 段階）の評価を実施した。また、3 つの試験期の全てにおいて、TK を評価した。対照群の動物には溶媒（1N 塩酸で pH 4.8～5.5 に調整した脱イオン水）を投与した。

第 1 段階では、GD 2～20 の卵管輸送及び胚・胎児発生に対するカミゼストラントの投与の影響を評価した。雌 6 例からなる Han Wistar ラット 1 群に、GD 2～20 の期間 0.1 mg/kg/日を 1 日 1 回強制経口投与した。雌 6 例からなる追加の群を対照群とし、溶媒を投与した。

第 2 段階では、GD 6～16 にカミゼストラントを雌ラットに投与したときの器官形成及び胚・胎児発生に対する影響を評価した。各群雌 6 例からなる 4 群の Han Wistar ラットに、GD 6～16 の期間に 0.001、0.01、0.025 又は 0.075 mg/kg/日を 1 日 1 回強制経口投与した。0.025 及び 0.075 mg/kg/日の実際の投与量は、GD 6～12 は 0.024 又は 0.073 mg/kg/日、GD 13～16 は 0.030 又は 0.091 mg/kg/日であった。したがって、これらの用量は 0.024/0.030 又は 0.073/0.091 mg/kg/日と試験報告書に記載されている。雌 6 例からなる追加の群を対照群とし、溶媒を投与した。

第 3 段階では、妊娠／分娩／授乳中の雌ラットへのカミゼストラント投与の影響、並びに胎児及び出生児の発生に対する母動物へのカミゼストラント投与の影響を評価した。各群雌 6 例からなる 2 群の Han Wistar ラットに、カミゼストラントを GD 6～LD 6 まで 0.075 又は 0.75 mg/kg/日で 1 日 1 回強制経口投与した。雌 6 例からなる追加の群を対照群とし、溶媒を投与した。

以下の項目を評価した。一般状態、体重、補正体重及び妊娠子宮重量（第 1 段階及び第 2 段階のみ）、摂餌量、交尾行動（第 1 段階のみ）、授乳中の母動物の観察（第 3 段階のみ）、血漿中カミゼストラント濃度、妊娠検査、胎児検査（第 2 段階のみ）及び剖検所見。

表 11　　第 2 段階 GD 16 の TK の要約（試験 490005）

Dose level (mg/kg/day)	0.001	0.01	0.024/0.030 [a]	0.073/0.091 [b]
t_{max} (h)	BLQ	2	2	2
C_{max} (± SD) (nmol/L)	BLQ	0.113 (-)	0.293 (0.114)	0.858 (0.243)
$AUC_{(0-8)}$ (± SE) (nmol·h/L)	BLQ	ND	1.65 (0.316)	5.17 (0.743)
$T_{(last)}$ (h)	BLQ	2	8	8

[a] Animals dosed GD 6 to GD 12 at 0.024 mg/kg/day and GD 13 to GD 16 at 0.030 mg/kg/day

[b] Animals dosed GD 6 to GD 12 at 0.073 mg/kg/day and GD 13 to GD 16 at 0.091 mg/kg/day

Animals were dosed daily from GD 6 to 16 (11 doses administered). Animals 4506 and 6502 were excluded from the analysis due to the animal not being pregnant or total uterine deaths, respectively.

n = Up to 6 animals per group; up to 3 animals sampled per timepoint, each animal was sampled on three occasions.

BLQ = All concentrations below the limit of quantification; ND = Not determined, less than three consecutive concentrations were quantified.

'-' = Not applicable as n = 2

いずれの段階においても溶媒投与後の母動物及びその胎児又は出生児の血液試料でカミゼストラントは検出されなかった。第 1 段階では、投与 2 時間後のカミゼストラントの群平均血漿中濃度は 0.767 nM であった。

第 2 段階では、0.01 又は 0.001 mg/kg/日における曝露量は限定的であり、0.001 mg/kg/日ではカミゼストラントは検出されず、0.01 mg/kg/日では 2 試料のみで定量可能であった。また、1 日 1 回 11 日間反復投与後の C_{max} は、0.01～0.073/0.091 mg/kg/日へと用量に比例して増加した。11 日間の反復投与後の $AUC_{(0-8)}$は、0.024/0.030～0.073/0.091 mg/kg/日で用量に比例して増加した。

第 3 段階では、0.75 mg/kg/日の全ての母動物／出生児を予定外に安楽殺したため、血液試料が採取できなかった。GD 6 から LD 6 まで、カミゼストラントを母動物に 0.075 mg/kg/日で 1 日 1 回投与すると、投与 2 時間後に母動物で定量可能な濃度が検出され、第 2 段階で 0.073/0.091 mg/kg/日を投与した雌の対応する時点の濃度と同程度であった。LD 6 の出生児から採取した試料ではカミゼストラントの濃度は定量不可能であった。

第 1 段階では、GD 2～20 に 0.1 mg/kg/日を投与したところ、いずれの雌でも着床が認められなかった。これらの雌では、他に投与に関連した影響は認められなかった。

第 2 段階では、GD 6～16 に 0.001、0.01、0.024/0.030 又は 0.073/0.091 mg/kg/日を投与したところ、一般状態、体重、補正体重、妊娠子宮重量、摂餌量、母体の機能、胎児検査及び剖検に対する影響は認められなかった。

第 3 段階では、GD 6 から LD 6 まで 0.075 又は 0.75 mg/kg/日を投与した結果、体重及び摂餌量への影響、分娩の遅延及び延長、並びに出生児死亡率の上昇が認められた。分娩困難及び有害な一般状態変化により、0.75 mg/kg/日の全ての雌及び 0.075 mg/kg/日の雌 1 例を GD 22/23 に早期安楽殺した。0.075 mg/kg/日の生存母動物では、出生児の生存率低下及び出生児の体重減少が認められ、更に明瞭な乳首がみられない母動物が多かった。

以上より、雌ラットに GD 2～20 に 0.1 mg/kg/日を 1 日 1 回強制経口投与した結果、雌の妊娠は認められなかった（着床の証拠なし）。本試験のこの段階では、他に毒性は認められなかった。

妊娠雌ラットに対し、GD 6～16 に 0.001、0.01、0.024/0.030 又は 0.073/0.091 mg/kg/日を 1 日 1 回強制経口投与した結果、明らかな母体毒性又は胚・胎児毒性は認められなかった。

妊娠雌ラットに GD 6～LD 6 に、0.075 又は 0.75 mg/kg/日を 1 日 1 回強制経口投与したところ、分娩困難及びその後の母動物の早期安楽殺、母動物の体重及び摂餌量に対する影響、並びにそれらに相関する出生児の生存及び出生児の体重に対する影響が認められた。

2.6.6.6.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

出生前及び出生後の発生に関する試験は実施していない。しかし、ラット胚胎児発生試験には妊娠～分娩期の評価が含まれており、GD 6～LD 6 に母動物にカミゼストラントを投与した（所見の詳細については 2.6.6.6.2.1 項を参照）。

2.6.6.6.4　幼若動物を用いた毒性試験

本製造販売承認申請は、成人患者への適応を対象としているため、幼若動物を対象とした試験は実施していない。

2.6.6.7　局所刺激性試験

独立した局所刺激性試験は実施していない。カミゼストラントを経口投与した反復投与毒性試験において、消化管での毒性は評価されている。

2.6.6.8　その他の毒性試験

非臨床安全性試験（2.6.6.3.3 項及び 2.6.2.4.2 項）及び臨床試験（2.7.4.2.1.7.1.1 項参照）において心拍数の減少が認められている。また、カミゼストラントの臨床試験において視覚への影響が報告されている（2.7.4.2.1.7.1.2 項参照）。これらの変化の発現機序を検討する試験の結果を 2.6.6.8.3 項に要約する。

不純物の安全性確認を目的としてラットの 1 か月間試験を実施した（2.6.6.8.6 項）。

ラットの経口投与毒性試験を実施し、28 日間反復投与後と 7 日間反復投与後のリン脂質症の発現率及び重症度を比較検討した（2.6.6.8.7.1 項）。

更に、*in vitro* で光毒性試験を実施し、カミゼストラントの光毒性を評価した（2.6.6.8.7.3 項）。

2.6.6.8.1 抗原性試験

カミゼストラントの反復投与後に免疫原性や免疫活性化の証拠が認められなかったため、抗原性試験は実施していない。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

反復投与毒性試験は、カミゼストラントの免疫毒性の可能性を適切に評価するのに十分であると考えられたため、特定の免疫毒性試験は実施していない。

2.6.6.8.3 毒性発現機序検討試験

2.6.6.8.3.1 テレメトリー装置装着雄 Han Wistar ラットを用いた反復経口投与後の迷走神経切断が心血管系に及ぼす影響の麻酔下における評価（試験 BE001764-30）

本試験の目的は、覚醒下の Han Wistar ラットにカミゼストラントを 4 日間反復経口投与後の心拍数減少に対する迷走神経切断術の影響を評価することであった。

覚醒下の雄のラット（5 例/群）に 1 日 1 回、溶媒又は 75 mg/kg のカミゼストラント（投与容量 10 mL/kg）を 4 日間強制経口投与した（覚醒期）。4 日目に麻酔下において両群の動物に迷走神経切断術及びフェニレフリンによる圧反射試験を実施した（麻酔期）。動脈血圧、心拍数及び深部体温を、投与 1、2 及び 3 日目には投与の約 1 時間前から投与 22 時間後まで、投与 4 日目には試験終了時までテレメトリーにより測定した。投与 2 日目の投与 1、2、4、6、8 及び 24 時間後並びに試験終了時に、曝露を確認するため血液試料（マイクロサンプリングにより 32 µL を採取）を採取した。組織曝露評価のため試験終了時に全例から脳組織を採取した。

試験 4 日目にフェニレフリンを静脈内注入し（2 mL/h で 5 分間）、自律神経系（副交感神経活動の刺激及び交感神経活動の抑制）を介して血圧上昇と同時の心拍数低下（圧反射）を引き起こした。この評価を迷走神経切断の前後に実施し、圧反射の抑制による施術の成功（副交感神経反応の欠如）を確認した。

血行動態パラメータ（収縮期、拡張期及び平均動脈血圧並びに心拍数）及び深部体温データを毎分取得し、覚醒期の投与前 1 時間及び投与後 22 時間の記録を 15 分毎に要約し、麻酔期は毎分のデータを示した。

カミゼストラントを投与した全ラットで全身性及び脳への曝露が認められた。2 日目のカミゼストラント 75 mg/kg の投与後の平均 C_{max} は 1.62 ± 0.41 µmol/L、平均 $AUC_{(0-t)}$は 24.0 ± 9.23 µmol·h/L であった。投与 4 日目の最終平均血漿中濃度は 1.99 ± 1.19 µmol/L、最終平均脳中濃度は 1.24 ± 0.462 µmol/kg であった。

75 mg/kg 投与群では、1 日目に心拍数の増加傾向が認められ、その後は心拍数の持続的な減少が認められた。この作用は麻酔下又は迷走神経切断術中に変化しなかったことから、副交感神経

系は心拍数低下に関与していないことが示唆された。カミゼストラントによる処理はフェニレフリンによって引き起こされる圧反射反応には影響しなかった。

2.6.6.8.3.2 電気生理学的アッセイを用いた組換え hHCN4 に対する作用の in vitro での検討（試験 BE003624-95）

本試験の目的は、*in vitro* 電気生理学的アッセイを用いて、CHO 細胞に安定的に発現している HCN4 チャネルに対するカミゼストラントの影響を評価することであった。

本試験では、[redacted]プラットフォーム上の組換えヒト HCN4 チャネルに対するカミゼストラントの影響を *in vitro* 電気生理学的アッセイを用いて検討した。濃度依存的な影響を検討するために、細胞をカミゼストラント（0.1、0.3、1、3 及び 10 μM）で 72 時間持続的に処理した（カミゼストラントを含む培地を毎日交換した）。既知の I_f 阻害剤であるイバブラジン（10 μM）を陽性対照とし、0.1%（v/v）DMSO を溶媒対照とした。陽性対照及び漏れ電流の補正のため既知の HCN4 チャネル阻害剤である CsCl（3 mM）を適用した。時間依存性のカミゼストラントの影響を評価するため、一濃度のカミゼストラントにおいて 1、6、24、48 及び 72 時間の 5 時点での評価を行った。

カミゼストラントによる持続処理により、72 時間処理後の hHCN4 チャネル電流が 1、3、10 μM でそれぞれ 32.7%、50.0%、80.6%と濃度に依存して有意に減少した（IC_{50} 値 2.5 μM）。10 μM 処理の 1 時間後の hHCN4 チャネル電流に影響は認められなかったが、その後は 6、24、48 及び 72 時間後にそれぞれ 39.1%、72.2%、84.2%及び 79.9%と時間に依存した電流の減少が生じた。

2.6.6.8.3.3 電気生理学的アッセイを用いた組換え hHCN4 に対する作用の in vitro での検討（試験 BE003624-96）

本試験の目的は、*in vitro* 電気生理学的アッセイを用いて、CHO 細胞に安定的に発現している HCN4 チャネルに対するカミゼストラントの急性及び慢性作用を評価することであった。

本試験では、[redacted]（[redacted]、デンマーク）上の組換え hHCN4 チャネルに対するカミゼストラントの影響を *in vitro* 電気生理学的アッセイを用いて評価した。急性の濃度依存的な影響を評価するため、細胞を累積濃度（0.17、0.5、1.67、5、16.7 及び 50 μM）のカミゼストラントで 3 分間処理した。既知の I_f 阻害剤であるイバブラジン（10 μM）を陽性対照とし、0.1%（v/v）DMSO を溶媒対照とした。-90 mV 及び-120 mV で hHCN4 チャネル電流を刺激することにより、カミゼストラントの電圧依存的な影響も評価した。長期的な時間依存的な影響については、一濃度のカミゼストラントで 24 時間、48 時間及び 72 時間の 3 時点での評価を行った（カミゼストラントを含む培地は毎日交換した）。長期評価では、陽性対照として既知の hHCN4 チャネル阻害剤である CsCl（3 mM）を組み入れた。

カミゼストラントの急性処理では、チャネルが-120 mV の電圧ステップで開いている際に、50 μM で 23.7%のブロックが認められたが、IC_{50} は確認できなかった。しかし、カミゼストラントは-90 mV で過分極すると濃度依存性の活性を示した（IC_{50} 値 14.2 μM）。10 μM での持続処理により、24 時間後に I_f が時間依存的に減少した。

以上より、カミゼストラントは-90 mV で過分極した CHO 細胞に発現する hHCN4 チャネル電流を急激に遮断した（IC_{50} 値 14.2 μM）。また、10 μM で CHO 細胞に発現する hHCN4 チャネルの機能的発現を時間依存的に有意に減少させ、処理 24 時間後、48 時間後、72 時間後にそれぞれ 34.0%、54.0%、54.3%の減少が認められた。

2.6.6.8.3.4 ヒト胚性幹細胞由来洞房結節細胞拍動数に対する作用の in vitro での検討（試験 BE002385-25）

本試験の目的は、hESC 由来の洞房結節細胞の拍動数に対するカミゼストラントの影響を評価することであった。

hESC 由来の洞房結節細胞をカミゼストラント（0.1、1、10 及び 30 μM）で 7 日間処理した。カミゼストラントを含む培地を毎日交換した。拍動数は、xCELLigence インピーダンスプラットフォームを使用して 7 日間 24 時間ごとに測定した。陽性対照として 2 種類の既知の I_f 阻害剤（イバブラジン 3 μM、ZD7288 5 μM）、溶媒対照として 0.1%（v/v）DMSO を用いた。

カミゼストラントは時間及び濃度依存的に拍動数を減少させたが、その影響は 48 時間で頭打ちとなった。7 日目の拍動数の IC_{50} は 11 μM であった。陽性対照であるイバブラジン及び ZD7288 では拍動数が直ちに（30 分以内）減少したことから、既知の心臓ペースメーカーは、これらの hESC 由来の洞房結節細胞における拍動数に寄与していることが確認された。

2.6.6.8.3.5 ヒト洞房結節細胞の活動電位に及ぼす影響の in vitro での検討（試験 BE003624-97）

本試験の目的は、hESC 由来の洞房結節細胞における心活動電位に対するカミゼストラントの影響を評価することであった。洞房結節細胞では、活動電位の自発性拡張期脱分極速度（DDR）が拍動数調節の主要な決定因子である。

hESC 由来の洞房結節細胞を、カミゼストラント（0.1、1、及び 10 μM）で急性的（約 10 分）又は 48 時間持続的（カミゼストラントを含む培地を毎日交換した）のいずれかで処理した。既知の I_f 阻害剤であるイバブラジン（10 μM）を陽性対照として、0.1%（v/v）DMSO を溶媒対照として用いた。活動電位の記録は、カミゼストラントの急性処理後又は 48 時間持続処理後にホールセルパッチ法で行った。

10 μM の急性処理により DDR が有意に減少したが、拍動数、90%再分極時の活動電位持続時間（APD90）、最大脱分極速度（dV/dtmax）に変化は認められなかった。

48 時間処理により、DDR は 1 μM 及び 10 μM のいずれにおいても有意に減少した。更に、10 μM の長期処理により、拍動数が減少し APD90 が短縮したが、その他の濃度では変化は認められなかった。活動電位閾値（活動電位が誘発される電圧）及び dV/dtmax（活動電位の立ち上がり速度）に変化は認められなかった。

以上より、カミゼストラントは 1 μM 及び 10 μM で 48 時間培養したときに、hESC 由来洞房結節細胞における活動電位の DDR をそれぞれ 44.3%及び 86.9%減少させた。

2.6.6.8.3.6 ヒト胚性幹細胞由来洞房結節細胞におけるペースメーカー電流に及ぼす影響の in vitro での検討（試験 BE003624-98）

本試験の目的は、hESC 由来の洞房結節細胞における I_f に対するカミゼストラントの影響を評価することであった。洞房結節細胞では、I_f 活性によって自発性 DDR、すなわち拍動数が決まる。

hESC 由来の洞房結節細胞をカミゼストラント（0.01、0.1、1、10 μM）で 72 時間処理した（カミゼストラントを含む培地を毎日交換した）。既知の I_f 阻害剤であるイバブラジン 30 μM を陽性対照、0.1%（v/v）DMSO を溶媒対照として用いた。漏れ電流の補正のため 30 μM のイバブラジンを添加した。

カミゼストラントを 0.01、0.1、1 及び 10 μM で 72 時間処理した後、電圧クランプをホールセル法で記録した。更に、1 μM を 24 時間処理し、時間依存的な影響を評価した。

長時間処理（72 時間）により、0.01、0.1、1 及び 10 μM で I_f の機能的発現が濃度依存的に減少した。最低処理濃度（0.01 μM）では、I_f の機能的発現が 23.7%減少した。更に、1 μM では 24 時間後の I_f が時間依存的に減少した。

以上より、カミゼストラントにより hESC 由来の洞房結節細胞に発現する I_f の機能的発現が濃度及び時間依存的に減少した。

2.6.6.8.3.7　哺乳類培養細胞に発現したイオンチャネルに対する作用の検討（試験 211108.BAQ_01 及び 211108.BAQ_02）

本試験の目的は、以下のイオンチャネルに対するカミゼストラント及びイバブラジンの短期及び長期（48 時間）処理の影響を *in vitro* で検討することであった。

- 過分極活性化陽イオン電流（I_f 及び I_h）に関与するクローン化 hHCN1 チャネル（hHCN1 遺伝子によってコード化され HEK293 細胞に発現）
- 過分極活性化陽イオン電流（I_f 及び I_h）に関与するクローン化 hHCN2 チャネル（hHCN2 遺伝子によってコード化され CHO 細胞に発現）、
- 過分極活性化陽イオン電流（I_f 及び I_h）に関与するクローン化 hHCN4 チャネル（hHCN4 遺伝子によってコード化され HEK293 細胞に発現）

カミゼストラント及びイバブラジン（HCN チャネル阻害剤）の短期処理による影響を、室温下で自動平行パッチクランプシステムである [redacted]（[redacted]、デンマーク）を用い *in vitro* で評価した。各イオンチャネル発現細胞にカミゼストラントを 10 μM 及び 50 μM、並びにイバブラジンは 10 μM で、各々4 個以上の細胞に処理した。陽性対照として zatebradine を hHCN1 及び hHCN4 に 10 μM で、hHCN2 に 100 μM で処理した。各被験物質濃度への曝露時間は 5 分以上とした。陽性対照の zatebradine により、電流阻害に対する試験系の感度が確認された。カミゼストラントの処理により hHCN1 電流が 10 μM で 4.3%、50 μM で 9.4%阻害された。また hHCN2 電流は、カミゼストラントの処理により 10 μM で 12.4%、50 μM で 31.9%阻害された。HCN4 電流は、カミゼストラントの処理により 10 μM で 7.7%、50 μM で 37.5%阻害された。イバブラジン 10 μM で短期処理したとき、hHCN1、hHCN2 及び hHCN4 電流はそれぞれ 81.2%、78.2%及び 62.4%阻害された。

[redacted]（[redacted]）システムを用い、[redacted]（[redacted]）モードで *in vitro* でのカミゼストラント及びイバブラジンの長期処理の影響を室温下で評価した。カミゼストラントの 48 時間処理により、濃度依存的で統計学的に有意な hHCN1 チャネルの阻害が生じた。3 回の実験において、1 及び 10 μM でそれぞれ約 76%～81%及び 90%～96%の電流が阻害された。同じ処理により、hHCN2 イオンチャネル電流は部分的に阻害され、3 回の実験において 1 及び 10 μM での電流阻害は、それぞれ 10%未満及び 50%未満であった。

1 回の実験におけるカミゼストラント処理（10 μM で 48 時間）により、統計学的に有意な hHCN4 チャネル電流の阻害が生じ、1 及び 10 μM で、それぞれ約 44%及び 71%の阻害が認められた。イバブラジン処理により 3 回の実験で hHCN1 チャネル電流は 74%～77%、hHCN2 チャネル電流は 23%～52%阻害され、1 回の実験で hHCN4 チャネル電流は 51%阻害された。

2.6.6.8.3.8 カミゼストラントを最長 7 日間投与したラットから単離した洞房結節心筋細胞における心臓ペースメーカー電流に対するカミゼストラントの影響（試験 4577SR）

本試験の目的は、雄の Han Wistar ラットから単離した洞房結節細胞からパッチクランプ電気生理学的手法を用いて I_f に対するカミゼストラントの影響を評価することであった。

未処理ラットから単離した洞房結節細胞における I_f に対するカミゼストラントの影響を、*in vitro* において急性処理後に測定した。カミゼストラントは I_f を IC_{50} 値 10.3 μM で可逆的に阻害した。

次いで、事前のカミゼストラント投与が I_f に及ぼす影響を評価した。雄ラットに 0 mg/kg/日（pH 4.8～5.5 に調整した脱イオン水）又はカミゼストラント 75 mg/kg/日を強制経口投与し、単回投与後（1 日目）又は 7 回連続投与（7 日目）の最終投与の 2 時間後に洞房結節細胞を単離した。1 日目に単離した洞房結節細胞において、カミゼストラント 75 mg/kg を投与した結果、I_f の活性化に対する電圧依存性を対照群と比較し軽度に正シフト（+4.87 mV）させた。しかし、カミゼストラントの投与は I_f の最大コンダクタンスには影響を及ぼさなかった。7 日目では、カミゼストラント 75 mg/kg/日投与は活性化の電圧依存性の正シフト（+5.8 mV）及び I_f の最大コンダクタンスの 37.7%低下を誘発した。カミゼストラント 75 mg/kg/日投与の 2 時間後の血漿中濃度は、1 日目及び 7 日目にそれぞれ 2.68 μM 及び 2.12 μM であった。

2.6.6.8.3.9 雌雄 Long Evans ラットにおける単回及び反復経口投与後の網膜曝露量及び分布の評価（試験 BE003082-27）

本試験の目的は、Long Evans ラットに経口投与後、質量分析イメージングを用いてカミゼストラントが網膜の視細胞領域に分布するかどうかを評価することであった。この試験の結果から、Long Evans ラットがその後実施予定の探索的 ERG 試験での使用に適しているかどうかを判断した。

3 群の雄 Long Evans ラット（各群 3 例）に、溶媒（単回投与）又はカミゼストラント（6.8 mg/kg を単回又は 7 日間反復投与）を投与した。予定投与用量は 0 又は 75 mg/kg/日であったが、調製ミスにより実際の投与用量は 0 又は 6.8 mg/kg/日となった。

次いで、3 群の雌 Long Evans ラット（各群 3 例）に、溶媒（単回投与）又はカミゼストラント（75 又は 100 mg/kg/日）を 7 日間反復投与した。

1 日目又は 7 日目の投与 2 時間後に動物を屠殺し、以下のパラメータを評価した。一般状態、体重、摂餌量、血漿中カミゼストラント濃度、眼の質量分析イメージング、眼の病理組織学的検査。心臓及び大静脈を採取したが、検査は実施しなかった。

カミゼストラントを投与された全例で、カミゼストラントへの曝露が確認された。対照群の試料からは、カミゼストラントは検出されなかった。

6.8 mg/kg の 1 日 1 回 4 日間反復投与後の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$ 値は、単回投与後の値と比較して明らかな差はなかった。75 mg/kg から 100 mg/kg の単回投与後に平均 C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$ は、用量比をわずかに上回って増加した。

カミゼストラントを最大 75 mg/kg/日で最長 7 日間経口投与したときの忍容性は良好であった。100 mg/kg/日の 1 例は、体重減少のため 5 日目に試験から除外した。

質量分析イメージングでは、カミゼストラントを投与したラットの眼組織でカミゼストラントが検出された。カミゼストラントの分布は、主に色素が沈着した眼組織（網膜の脈絡膜及び網膜色素上皮細胞層、並びに虹彩及び毛様体領域）で認められた。6.8 mg/kg/日を 1 及び 7 日間投与した動物における眼全体の曝露量に統計学的有意差が認められ、反復投与による眼内での累積が示された。75 及び 100 mg/kg/日の 7 日間の投与後の眼全体への曝露量は、同程度であった。

高空間分解能の測定法を用いて、網膜後層におけるカミゼストラントの空間的セグメンテーション及び相対的な存在量を測定した。6.8 mg/kg の 7 日間反復投与では、1 日目と比較すると網膜色素上皮／脈絡膜領域の相対存在量が外節／内節（OS/IS）より顕著に多いことが示された。75 mg/kg/日及び 100 mg/kg/日の両用量において網膜神経層でのカミゼストラントの存在量は、眼以外の組織と同程度であった。更に、IS/OS と比較して強膜組織又は筋組織中でのカミゼストラントの存在量は少なく、カミゼストラントの領域特異的定量結果から、網膜色素上皮/脈絡膜領域から網膜内層へカミゼストラントが浸透するという仮説は否定された。

眼において投与に関連した組織学的変化は認められなかった。

以上より、これらのデータはカミゼストラントが Long Evans ラットの網膜の視細胞領域に移行することを示しており、Long Evans ラットはカミゼストラントを用いた探索的 ERG 試験に適していると考えられた。

2.6.6.8.3.10 雌 Long Evans ラットにおけるカミゼストラントの 1 日 1 回 7 日反復経口投与及び 7 日間回復期間後の ERG に対する影響（試験 8498695）

本試験の目的は、雌 Long Evans ラットにカミゼストラントを 1 日 1 回 7 日間反復強制経口投与し、最終投与後 7 日間の回復期間後の ERG に対する影響を評価することであった。本試験ではカミゼストラントを評価する前に、この ERG モデルの感度確認のため、対照薬であるイバブラジン（HCN チャネル阻害剤）を評価した。

試験の第 1 段階では、対照物質（滅菌生理食塩水）又はイバブラジン 12 mg/kg を単回急速静脈内投与した（それぞれ第 1 群及び第 2 群）。第 2 段階では別のラットに対照物質（1N 塩酸で pH 4.8～5.5 に調整した脱イオン精製水）、25 又は 75 mg/kg のカミゼストラントを 1 日 1 回 7 日間強制経口投与した（それぞれ第 3、4 及び 5 群）。

眼科学的検査を投与前に 1 回、第 1 段階の 2 日目、並びに第 2 段階の 8 及び 15 日目（剖検前）に実施した。

全視野 ERG 検査は、投与前期間中に 1 回（全投与群）、第 1 段階の 1 日目（第 1 群及び第 2 群）、第 2 段階の 1、7 日目（第 3 群及び第 5 群）及び第 2 段階の 14 日目（最終投与の 7 日後；第 5 群）に実施した。ERG 検査として、各眼について暗順応検査、明順応検査及び正弦波反応を行った。暗順応検査前には 1 時間以上動物を暗順応させた。投与日の ERG 検査は、投与約 90 分（±15 分）後に実施した。

イバブラジン（1 日目の ERG 検査後）又はカミゼストラント（1 日目及び 7 日目の ERG 検査後）の血漿中濃度を測定するため、血液試料を採取した。別の試験（6977DV、2.6.6.8.3.12 項参照）で実施する組織学的評価のために、第 1 段階の 2 日目及び第 2 段階の 15 日目に眼及び視神経を採取した。

カミゼストラント又はイバブラジンを投与した全てのラットにおいて、カミゼストラント又はイバブラジンの全身曝露が認められた。25 及び 75 mg/kg/日の投与約 2 時間後の ERG 検査終了後に測定されたカミゼストラントの血漿中総濃度（及び遊離型濃度）の群平均値（μM）は、1 日目

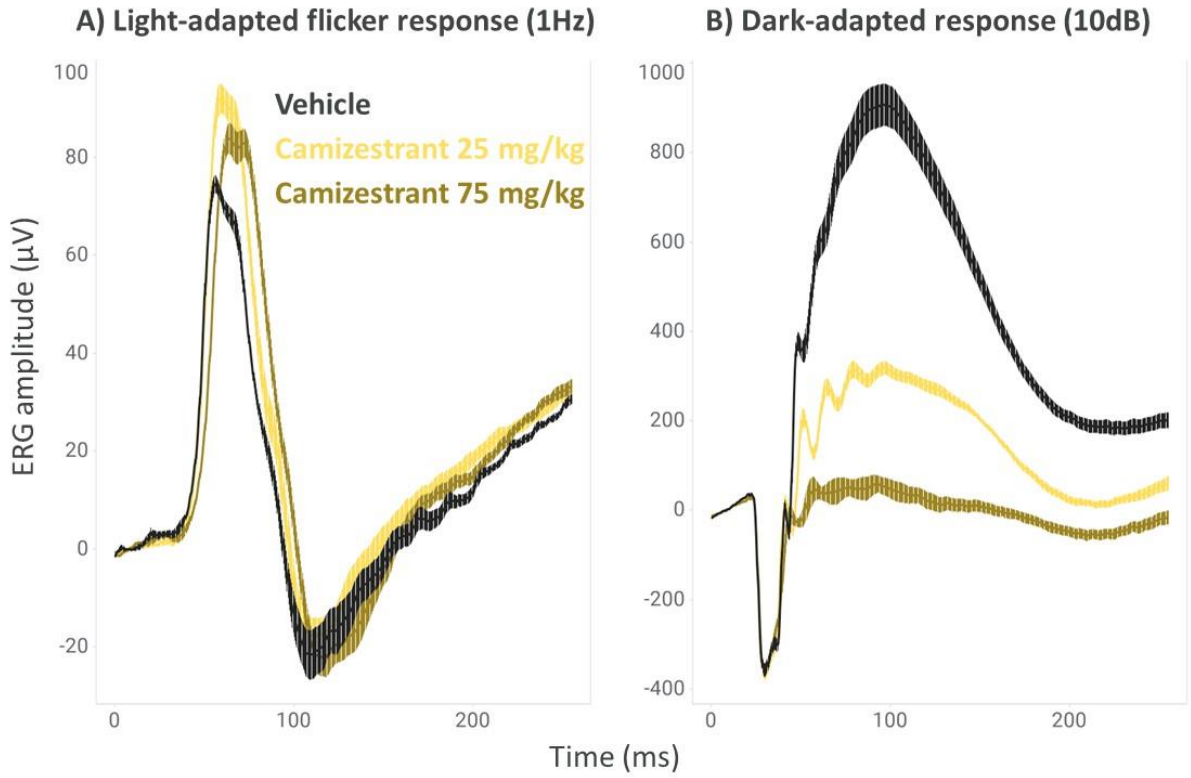
でそれぞれ 2.37（0.69）及び 5.43（1.59）、7 日目でそれぞれ 1.91（0.56）及び 5.36（1.57）であった。

カミゼストラントを投与した動物の眼科学的検査及び眼の組織学的検査において、変化は認められなかった。

対照群と比較しイバブラジン投与は、暗順応下の律動様小波の振幅減少を伴い、更に、明順応下の B 波のフリッカー刺激に反応した潜時の増加及び正弦波刺激後の振幅増加が認められた。

カミゼストラント 25 mg/kg/日を投与したラットの ERG に暗順応下の B 波の減少が認められた。75 mg/kg を投与したラットの大部分では B 波の顕著な減少又は電気陰性化及び律動様小波の減少が認められた。カミゼストラント投与後の明順応下の ERG の波形は対照群と類似していたが、程度はより大きかった。図 1 に ERG の波形に及ぼすカミゼストラントの影響を示した。

図 1　　溶媒、カミゼストラント 25 又は 75 mg/kg/日を投与したラットからの明（A）及び暗（B）順応下の網膜電図



Data are Day 1 Group Mean ERG Traces Recorded Approximately 90 Mins Post-Dose

カミゼストラントを投与したとき、暗順応下の B 波及び律動様小波の振幅が用量依存的に減少するとともに、明順応下の B 波のフリッカー刺激に反応した振幅及び潜時の増加並びに正弦波刺激後の振幅増加が認められた。これらの影響は、1 日目及び 7 日目で同程度であり、カミゼストラント最終投与 7 日後に対照群と同程度に戻った。ERG パラメータに及ぼすカミゼストラントの影響を表 12 に示した。

表 12　　Long Evans ラットの網膜電図パラメータに及ぼすカミゼストラントの影響

ERG condition	ERG parameter	25 mg/kg/day camizestrant (peak change from control)	75 mg/kg/day camizestrant (peak change from control)
Dark adapted white flash (-36 to 10 dB)	A-wave latency	No effect on Day 1 or 7	No effect on Day 1 or 7
	A-wave amplitude	No effect on Day 1 or 7	No effect on Day 1 or 7
	B-wave latency	No effect on Day 1 or 7	No effect on Day 1 or 7
	B-wave amplitude	Day 1: -56% Day 7: -77%	Day 1: -52% Day 7: -59%
	Oscillatory potentials amplitude	Day 1: -58% Day 7: -54%	Day 1: -84% Day 7: -82%
	Oscillatory potentials latency	No effect on Day 1 or 7	No effect on Day 1 or 7
Light-adapted flash-flicker (1,3 & 30 Hz)	B-wave latency	Day 1: 4% Day 7: 8%	Day 1: 14% Day 7: 18%
	B-wave amplitude	Day 1: 34% Day 7: 33%	Day 1: 18% Day 7: No effect
Light-adapted sinusoidal stimulus (0.5-30 Hz)	wave amplitude	Day 1: 43% Day 7: 38%	Day 1: 40% Day 7: No effect

以上より、カミゼストラント投与により、暗順応下の B 波の振幅が減少したことから、桿体双極細胞の機能が著しく低下したことが示された。暗順応下の A 波は比較的影響を受けなかったことから明らかなように、桿体視細胞は影響を受けなかった。カミゼストラントは、様々な時間周波数でフリッカー刺激及び正弦波刺激の両方に対する明順応下の反応を増強した。ラット ERG に対するカミゼストラントの影響は 7 日間の回復期間後に回復した。ERG パラメータに対する変化は投与 1 日目から認められ、1 日目から 7 日目の間に重症度が悪化することはなく、可逆的であることが示された。これらのデータから、カミゼストラントは眼に対し、構造的影響ではなく可逆性の機能的影響を及ぼすと推察され、網膜機能に対するカミゼストラントの影響の発現機序について重要な情報が得られたと考えられる。

2.6.6.8.3.11　雌 Long Evans ラットにおけるカミゼストラントの 1 日 1 回 7 日間反復経口投与及び 7 日間回復期間後の ERG に対する影響（試験 8518228）

本試験は、試験 8498695（2.6.6.8.3.10 項）の追加試験であり、目的はラット ERG に対するカミゼストラントの影響の用量反応性を評価することであった。

ERG に対するカミゼストラントの影響について、雌 Long Evans ラットにカミゼストラントを 1 日 1 回 7 日間反復経口投与後、及び最終投与後 7 日間の回復性を評価した（15 日目に最終屠殺）。雌 Long Evans ラット 24 例に、対照物質（1N 塩酸で pH 4.8～5.5 に調整した脱イオン精製水）、5、12、又は 25 mg/kg のカミゼストラントを 1 日 1 回 7 日間強制経口投与した。眼科学的検査を投与前期間に 1 回、8 日目及び 15 日目（剖検前）に実施した。全視野 ERG 検査は、投与前に 1 回、投与期間は 1 日目及び 7 日目の投与約 90 分（±15 分）後、並びに 14 日目に（1 日目及び 7 日目のデータ取得時点と同様の時点で）実施した。ERG 検査として、各眼について暗順応検査、明順応評価及び明順応検査（フリッカー刺激及び正弦波刺激）を行った。暗順応検査前に

は動物を 1 時間以上暗順応させた。1 日目及び 7 日目の ERG 測定後に、カミゼストラントへの曝露を確認するため血漿試料を採取した。

カミゼストラントを投与したいずれのラットにも、カミゼストラントの全身曝露が確認された。投与約 2 時間後の ERG 検査終了後のカミゼストラントの血漿中総濃度（及び遊離型濃度）の群平均値（μM）は、5、12 又は 25 mg/kg/日についてそれぞれ、1 日目ではそれぞれ 0.158（0.046）、0.678（0.20）及び 1.75（0.51）、7 日目ではそれぞれ 0.177（0.052）、0.641（0.19）及び 1.82（0.53）であった。

カミゼストラントを投与した動物に眼科学的検査において影響は認められなかった。

1 日目では、25 mg/kg/日で暗順応下の B 波の 59.7%の減少、律動様小波の振幅の 64.0%の減少、明順応下の B 波振幅の 15.5%の増加及び明順応下の B 波の陰的時間の 6.7%の増加が認められた。5 又は 12 mg/kg/日では、ERG に対する一貫した影響は認められなかった。

12 mg/kg/日の 7 日目では、暗順応下の B 波が 18.3%減少し、明順応下の B 波が 32.0%増加した。25 mg/kg/日の 7 日目では、暗順応下の B 波が 62.5%、律動様小波が 50.0%減少し、明順応下の B 波の振幅が 37.0%増加し、明順応下の B 波の陰的時間が 14.2%増加した。また、25 mg/kg/日の 7 日目では、明順応下の早期に B 波が顕著に減少し、10 分間の明順応の終了までに対照群の値まで回復した。このことから、カミゼストラントは明所移行直後の明順応反応に影響を及ぼすことが明らかとなり、明順応の完了後に影響は減弱した。

全ての ERG への影響は、カミゼストラントの投与終了 7 日後に対照群の値まで回復した。

以上より、カミゼストラントは 12 及び 25 mg/kg で用量依存的に ERG に影響を及ぼし、25 mg/kg では試験 8498695 で観察された影響と同様の影響が認められた。カミゼストラントは、いずれの用量でも ERG の A 波に影響を及ぼさなかった。ERG への影響に関する無作用量は、5 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.8.3.12 雌 Long Evans ラットにおけるカミゼストラントの 1 日 1 回 7 日間反復経口投与及び 7 日間回復期間後の ERG に対する影響：組織学的検討（試験 6977DV）

本試験の目的は、雌 Long Evans ラットの ERG に対するカミゼストラントの影響を検討した *in vivo* 試験（試験 8498695、2.6.6.8.3.10 項）で採取した眼について組織学的評価を行うことであった。試験 8498695 の第 1 段階では、1 日目に溶媒又はイバブラジン 12 mg/kg を静脈内投与し、2 日目に剖検を行った。試験 8498695 の第 2 段階では、ラットに溶媒又はカミゼストラント 25 又は 75 mg/kg/日を 1 日 1 回 7 日間強制経口投与した。7 日間の回復期間後の 15 日目に動物を剖検に供した。第 1 段階及び第 2 段階では、全ての動物の両眼を採取し改良 Davidson 固定液中に 48～96 時間浸漬後、10%中性緩衝ホルマリン中で保存した。常法により組織のパラフィンブロックを作成し、切片を作成した後、ヘマトキシリン・エオシン染色し、スライド全体のデジタル画像を取得した。

イバブラジン 12 mg/kg の単回投与、又はカミゼストラント 25 mg/kg/日及び 75 mg/kg/日の 7 日間反復投与に関連すると判断された眼又は視神経の病理組織学的変化は認められなかった。

2.6.6.8.3.13 雌 Long Evans ラットにおけるカミゼストラントの 1 日 1 回 7 日間反復経口投与及び 7 日間回復期間後の ERG に対する影響：組織学的検討（試験 7181DV）

本試験の目的は、雌 Long Evans ラットの ERG に対するカミゼストラントの影響を検討した *in vivo* 試験（試験 8518228、2.6.6.8.3.11 項）で採取した眼について組織学的評価を行うことであった。

ラットに溶媒又はカミゼストラントを 5、12、25 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 7 日間強制経口投与した。規定の間隔で ERG の記録を収集し、7 日間の回復期間後の 15 日目に動物を剖検に供した。全ての動物の両眼を採取し、改良 Davidson 固定液中に 48～96 時間浸漬後、10%中性緩衝ホルマリン中で保存した。常法により組織のパラフィンブロックを作成し、切片を作成した後、ヘマトキシリン・エオシン染色し、スライド全体のデジタル画像を取得した。

それぞれ 5 mg/kg/日及び 25 mg/kg/日のカミゼストラントを投与された個体 R0103 及び R0303 の 2 例を除き、全ての動物が計画剖検時まで生存した。2 例は 14 日目に全身麻酔下で屠殺した。これら 2 例の死亡はカミゼストラントに起因するものではなく、投与手技によると判断された。早期屠殺した 2 例（R0103 及び R0303）の網膜には、両側性の変化が認められ、網膜内層の細胞核が凝縮し、細胞質空胞化を伴っていた。両動物とも死亡から剖検完了までの時間が長く（2.5～3 時間）、他の動物では同様の変化が認められなかったことから、これらの所見は死亡後に生じたものと考えられた。

5、12 及び 25 mg/kg/日の 7 日間反復投与では、眼あるいは視神経にカミゼストラント投与に関連すると考えられる病理組織学的変化は認められなかった。観察された変化はいずれも自然発生的なものであり、カミゼストラントとの関連はないと判断された。

2.6.6.8.4 依存性

依存性試験は実施していない。50 mg/kg を単回投与後の雄イヌ、並びに 40 mg/kg/日を 4 日間反復投与後した雄イヌ 1 例及び雌イヌ 1 例において、中枢神経系に関連する可能性のある一般状態変化が認められたが、これらの所見は臨床用量 75 mg で観察される総 C_{max} の約 70 倍で認められた。また、ICH S9 ガイドラインでは、薬物乱用性に関する非臨床試験は通常必要とされていない。

2.6.6.8.5 代謝物の試験

[^{14}C]-カミゼストラント投与によるヒトマスバランス試験では、カミゼストラントグルクロン酸抱合体（M4）及び酸型代謝物の N-グルクロン酸抱合体（M14）が主要な代謝物であることが明らかになった（薬剤関連曝露量の 10%超）。安定なグルクロン酸抱合体は安全性プロファイルに影響しないと考えられており（FDA 2020）、これら代謝物の独立した非臨床安全性試験は実施していない。更に、ICH S9 ガイドラインでは、動物で認められなかった代謝物がヒトにおいて認められた場合においても、通常その代謝物の個別の安全性評価は求められていない。

2.6.6.8.6 不純物の試験

カミゼストラントの製造工程中又は分解生成物として生成する可能性のある不純物は、試験 506480（2.6.6.3.2.2 項）、試験 509329（2.6.6.3.2.4 項）及び試験 20500689（2.6.6.8.6.1 項）のデータに基づいて安全性を評価した。規格及び試験方法の妥当性については、モジュール 3、S4.5 に示した。

2.6.6.8.6.1　ラットを用いたカミゼストラント不純物の 4 週間反復強制経口投与試験（試験 20500689）

本試験の目的は、ラットにカミゼストラント（関連する不純物を添加）を 1 日 1 回 4 週間反復強制経口投与したときの毒性を明らかにすることであった。

各群雌雄各 10 例からなる 3 群の Wistar Han IGS ラット（溶媒対照群及び被験物質群 2 群）に溶媒、あるいはカミゼストラント又は不純物を添加したカミゼストラントを溶媒（1N 塩酸で pH 4.8～5.5 に調整した逆浸透脱イオン水）に溶解し投与した。投与量はラット 1 か月間試験（試験 506480、2.6.6.3.2.2 項）の最低用量と同じ 10 mg/kg/日とし、1 日 1 回 28 日間反復経口投与した。カミゼストラントに添加した不純物は　不純物E*　、　不純物A*　及び　不純物B*　であった。

以下のパラメータを評価した。生死、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿化学的検査を含む尿検査、血漿中カミゼストラント濃度、器官重量、肉眼的及び病理組織学的検査。

カミゼストラント又は不純物添加カミゼストラントに関連した死亡、一般状態の変化、体重変化（雄のみ）、眼科学的検査所見、血液学的検査及び尿検査データの変化は認められなかった。

4 週間の投与期間中に、カミゼストラント又は不純物添加カミゼストラントを投与した雌ラットに統計学的に有意な体重増加量の増加が認められ、この期間の対照群と比較し体重がそれぞれ 16.5%及び 16.2%増加した。これらの体重増加量及び体重の変化は、毎週の摂餌量増加と相関していた。

有害な臨床病理学的所見はなく、不純物添加カミゼストラントを投与した雌の血清及び尿中グルコース値の軽微な増加のみが認められた。

TK 評価では、カミゼストラント又は不純物添加カミゼストラントを投与された全例で、カミゼストラントへの曝露が確認された。溶媒対照群では、採取した試料中に定量下限値を超える濃度のカミゼストラントは検出されなかった。カミゼストラント又は不純物添加カミゼストラントを 10 mg/kg/日で投与した群における全身曝露量（C_{max}、$AUC_{(0-t)}$及び $AUC_{(0-8)}$）は、1 日目及び 28 日目の雌雄ともに同様であった。

カミゼストラント又は不純物添加カミゼストラント投与群では、雌の生殖器、乳腺及び副腎、並びに雌雄の胃及び下垂体に同様の肉眼的変化、器官重量変化及び病理組織学的変化が認められた。雌生殖器の病理組織学的変化が卵巣（嚢胞及び黄体数の増加、肉眼的腫大と相関し卵巣重量の増加を伴う）、子宮／子宮頸部（萎縮、子宮／子宮頸部重量の減少と相関し肉眼的な子宮／子宮頸部の小型化を伴う）及び膣（上皮の萎縮及び粘液分泌）に認められた。雌の生殖器に関する所見を総合的に有害と判断した。雌の乳腺（びまん性腺胞の肥大／過形成）及び雌雄の胃（粘膜固有層の混合性細胞浸潤の増加を伴う境界縁の上皮変性の増加）に有害ではない病理組織学的変化が認められ、器官重量の差（雌における副腎の平均重量の減少及び雌雄における下垂体の平均重量の減少）は肉眼的及び病理組織学的所見を伴っていなかった。

以上より、カミゼストラント又は不純物添加カミゼストラントを 1 日 1 回 4 週間反復強制経口投与したとき認められた毒性に、意義のある差は認められなかった。

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.8.7　その他の試験

2.6.6.8.7.1　雌 Han Wistar ラットを用いた 7 日間経口投与毒性試験（試験 BE001738-15）

本試験の目的は、7 日間の投与における忍容性及び安全域を予備的に評価することであった。

本試験は、1 日目及び 7 日目の TK プロファイル及び忍容性を評価する用量漸増デザインを用いた 7 日間反復投与段階と、投与期間の延長が忍容性及び毒性に及ぼす影響を評価する 28 日間反復投与段階からなる。

雌 Han Wistar ラット（CRL:WI（Han））に溶媒（pH 6～6.5 の水）又はカミゼストラント 50、200 又は 400 mg/kg/日を最長 7 日間連日強制経口投与し、50 又は 200 mg/kg/日を投与した動物を 8 日目に剖検した。400 mg/kg/日の全 3 例を、溶媒対照群の 2 例とともに、4 日目に予定外に屠殺した。追加の雌ラットの 2 群に、溶媒又はカミゼストラント 50 mg/kg/日を 28 日間の延長反復投与期に投与し、29 日目に剖検を行った。ただし、50 mg/kg/日の 1 例は技術的理由により 15 日目及び 16 日目に投与できなかったため、16 日目に屠殺した。

以下の項目を評価した。体重、一般状態、TK、血液学的検査、血液生化学的検査（トロポニン I を含む）、尿検査、病理組織学的検査、リソソーム関連膜タンパク質 2 の免疫組織化学的検査及び電子顕微鏡検査。

カミゼストラントを投与された全例で、カミゼストラントへの曝露が確認された（表 13）。50 mg/kg から 400 mg/kg の単回投与及び 200 mg/kg/日の反復投与まで、平均 C_{max} 及び平均 $AUC_{(0-24)}$は、単回投与後は用量比を下回って増加し、7 日間反復投与後は用量比を上回って増加した。50 mg/kg/日の 7 日間及び 28 日間反復投与後、C_{max} 値及び $AUC_{(0-24)}$値に明らかな差は認められなかった。200 mg/kg/日の 7 日間反復投与後の C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$は、単回投与後に比べて高かった。

表 13　　ラットにおける TK の要約（試験 BE001738-15）

Dose level (mg/kg)	50 [a]		50 [b]		200		400 [c]
Day	1	7	1	28	1	7	1
t_{max} median (range) (h)	2 (2-4)	2 (2-4)	5 (4-6)	4 (2-4)	4 (4-6)	4 (2-6)	6 (4-6)
Mean C_{max} (± SD) (µmol/L)	3.38 (0.396)	4.59 (0.895)	2.50 (0.279)	4.00 (0.842)	7.94 (1.50)	33.3 (13.9)	9.31 (2.65)
Mean $AUC_{(0-24)}$ (± SD) (µmol·h/L)	41.7 (11.4)	65.0 (9.15)	38.2 (3.40)	57.2 (6.77)	149 (29.2)	535 (85.7)	175 (36.3)

[a] 7 day repeat phase

[b] 28 day repeat dose phase

[c] Animals terminated prematurely on Day 4

n = 3 females per group with the exception of the 28 day repeat dose phase on day 1 where n=4

400 mg/kg/日では、3 例中 3 例で 4 日目に有害な一般状態の変化（円背位、自発運動の低下、立毛、半眼／閉眼）及び顕著な体重減少（投与前と比較して-8%）が認められ忍容性は不良であった。この群の動物は動物愛護の観点から 4 日目に予定外で屠殺験した。最高 200 mg/kg/日を 7 日間あるいは 50 mg/kg/日を 28 日間投与したとき忍容性は良好であった。

7 日間反復投与後に好中球数及び単球数が用量依存的に増加した。200 及び 400 mg/kg/日をそれぞれ 7 及び 4 日間投与したところ、好酸球の減少が認められた。400 mg/kg/日のみでリンパ球数の減少が認められた。

50、200 及び 400 mg/kg/日では、AST、ALT 及び GLDH の上昇がみられた。また、50 及び 200 mg/kg/日で ALP の上昇が認められた。クレアチニンの増加が 200 及び 400 mg/kg/日で認められ、リン酸塩の増加が 400 及び 50 mg/kg/日の 28 日間投与で認められた。50 又は 200 mg/kg/日ではアルブミンの減少、200 mg/kg/日でコレステロールの増加、400 mg/kg/日ではトリグリセリドの減少が認められた。トロポニンに対する影響は認められなかった。

最長 7 日間の経口投与により、50 mg/kg/日以上で肺の肺胞マクロファージの増加、200 mg/kg/日以上及び 50 mg/kg/日の 28 日間投与で肺胞中隔の空胞化が認められた。50 mg/kg/日の 7 日間投与と 28 日間投与を比較したとき、投与期間が長くなるにつれて肺胞マクロファージの重症度（数及びサイズの増大）が高まった。200 mg/kg/日以上で、腸間膜リンパ節及び脾臓におけるマクロファージの空胞化が認められた。H&E 染色した病理組織標本で認められた空胞は、全てリソソーム関連膜タンパク質 2 が陽性であった。肝細胞空胞化及び単細胞変性（肝細胞）が 200 mg/kg/日以上で認められ、肝酵素値上昇を伴っていた。

肺、肝臓及び腸間膜リンパ節の電子顕微鏡検査により、H&E 染色標本で空胞化が認められた細胞にリン脂質蓄積に一致する膜性渦巻き状構造が確認された。

前胃の変化（過角化、扁平上皮の潰瘍及び粘膜下層の炎症）が 200 mg/kg/日で認められ、隆起領域の肉眼的所見と一致していた。

以上より、400 mg/kg/日の 4 日間投与では体重減少及び有害な一般状態の変化により、忍容性が認められなかった。最高 200 mg/kg/日を 7 日間投与したときの忍容性は良好であった。更に、50 mg/kg/日の 28 日間投与時の忍容性は良好であった。しかし、投与期間の延長に伴って肺胞マクロファージの重症度が増したことから（数及びサイズの増大）、長期投与に伴うリン脂質の蓄積が示唆された。

2.6.6.8.7.2　カミゼストラントの 9 か月間投与がイヌの血清中副甲状腺ホルモンに及ぼす影響の評価（試験 3801030）

本試験では、カミゼストラントのイヌを用いた 9 か月間反復投与試験（試験 509313）の 39 週時点の生存動物から採取した血清試料中の副甲状腺ホルモン濃度を測定した。9 か月間試験では、雌雄各 4 例の 4 群に 0、5、10 又は 20 mg/kg/日を投与した。副甲状腺ホルモンの測定は、バリデートされた免疫測定法を用いて行った。5 mg/kg/日の雌 1 例は、動物愛護の観点から 244 日目（35 週目）に安楽殺したため、検査用試料は得られなかった。

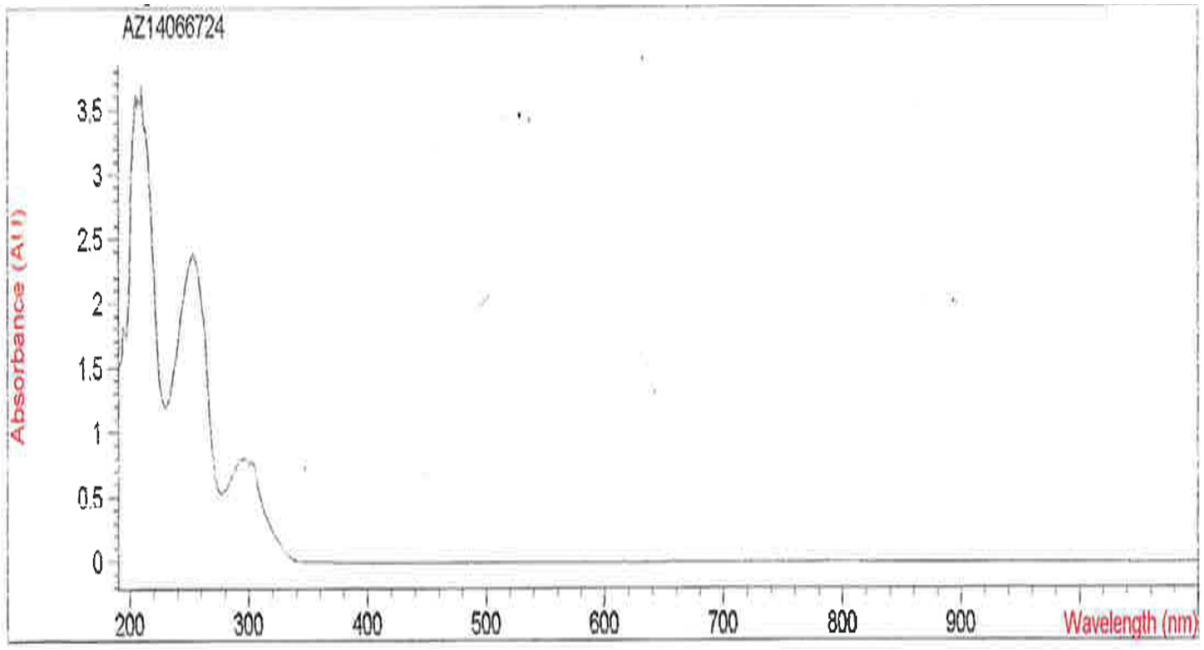
対照群とカミゼストラント投与群との間に、副甲状腺ホルモン値に明らかな差は認められなかった。

2.6.6.8.7.3　光毒性試験（試験 20136267）

カミゼストラントは 290～700 nm で紫外線の吸光を示し、296 nm に吸光ピークが認められた（図 2）。296 nm でのモル吸光係数は 7922 $L.mol^{-1}.cm^{-1}$ であった。したがって、カミゼストラントの光毒性を Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験により評価した。本試験では、陽性対照としてプロメタジンを使用した。

その結果、検討した最高濃度である 100 µg/mL まで、カミゼストラントに光毒性は認められなかった。

図 2　　カミゼストラントの UV 吸収スペクトル



2.6.6.9　　考察

ラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験（ラットは最長 6 か月間、イヌは最長 9 か月間）でカミゼストラントの毒性について評価した。進行中の 6 か月間のトランスジェニックマウス試験で用いる用量の選択をサポートするためのマウスを用いた試験（14 日間及び 6 週間）も実施済みである。これらマウスの試験は、本製造販売承認申請には必須ではないが、将来的に ICH S9 ガイドラインが適用されない患者集団への使用をサポートするのに必要なため実施した。更に、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験（ラット 6 か月間毒性試験における雄の受胎能評価、ラットの出生前及び出生後の評価を含む胚・胎児発生の評価、並びに雌ラットの受胎能及び初期胚発生の評価）、並びに *in vitro* 光毒性試験を実施した。心拍数減少及び視覚への影響の機序を検討する *in vitro* 及び *in vivo*（ラット）試験も実施している。不純物の安全性確認を目的として、ラット 1 か月間試験を実施した。

反復投与毒性試験における主要標的器官は、雌雄の生殖器、肺及び心臓であった。ラットでは雌雄の受胎能、胚・胎児発生及び分娩に対する影響が認められた。また、可逆的な心血管系機能への影響及び ERG の変化が認められた。

毒性試験における主な所見及び全身曝露量の比較を表 14 に示した。

2.6.6.9.1　　一般状態及び体重の変化

ラット及びマウスで実施した 14 日間 DRF 試験では、忍容性が認められなかった用量で活動性低下、立毛、鋤起こし様動作（ラット）、円背位（ラット）、脱水（マウス）及び呼吸異常（マウス）等、有害な一般状態の変化が認められた。

イヌの MTD/DRF 試験では、50 mg/kg を単回投与した雄（MTD 期）、並びに 40 mg/kg/日を 1 日 1 回 4 日間反復投与した雄及び／又は雌（DRF 期）で協調運動障害、異常歩行、円背位又は振

戦及び／又は活動性低下、横臥、異常発声増加等の有害な一般状態の変化、並びに痙攣発作／痙攣が認められ、雌の症状がより重度であった。これらの所見は、臨床用量である 75 mg 投与時の総 C_{max} の約 70 倍で認められた。

イヌでは 20 mg/kg/日までの用量を 1 か月間又は 9 か月間、ラットでは 75 mg/kg/日までの用量を 6 か月間反復投与したとき、又はラット Irwin 試験では 200 mg/kg を単回投与したときに、異常行動は認められなかった（2.6.2.4.1.1 項参照）。イヌ 1 か月間試験では、反復投与後の脳中のカミゼストラント濃度は血漿中濃度より高く、このことは比較的脂溶性が高いカミゼストラントの物理化学的特性と一致している。イヌ MTD/DRF 試験で認められた有害な一般状態変化の発現機序について、薬効薬理試験あるいは副次的薬理試験からは説明可能な情報は得られていない。

カミゼストラントの臨床試験において、現在までに神経学的影響を示唆する徴候及び症状の発現は報告されていない。

副次的薬理試験の結果、オフターゲットであるμオピオイド受容体へのアゴニスト作用に関連したリスクが特定された（2.6.2.6.2 項参照）。μオピオイドアゴニストはイヌにおいて、虹彩レベルではなく中枢神経系への作用を介して縮瞳を引き起こすことが知られている（Lee and Wang 1975）。イヌ 1 か月間試験では中枢μオピオイドアゴニスト活性のバイオマーカーとして瞳孔径測定を組み入れたが、瞳孔径の縮小は認められなかったため、有意な中枢μオピオイドアゴニスト作用はないと考えられた。

雌ラット及びマウスでの体重増加量の増加が認められたが、この変化はカミゼストラントの薬理作用によるものと考えられる。エストロゲン等の卵巣ホルモンは摂餌量及び体重の調節に関与することが広く知られており、ラットでは卵巣摘出後に急激に体重が増加する（Burch et al 2022）。

2.6.6.9.2　雌生殖器への影響

ラット、イヌ及びマウスの子宮、膣及び子宮頸部に病理組織学的変化が認められ、子宮では関連する肉眼的な変化及び器官重量の変化が認められた。これらの変化はいずれの動物種でも同様であった。

ラットの全ての試験において、子宮、膣及び子宮頸部に変化が認められた。14 日間以上の試験で子宮萎縮が認められた。子宮頸部及び膣上皮の変性が 14 日間試験で認められ、1 か月間及び 6 か月間試験で萎縮に進行した。ラット 3 か月間試験では、子宮頸部及び子宮の萎縮が認められた。マウス 6 週間試験でも子宮／子宮頸部及び膣上皮の萎縮が認められた。イヌでは、14 日間及び 9 か月間試験で子宮萎縮が認められた。イヌ 14 日間試験でみられた膣及び子宮頸部の上皮変性は、イヌ 9 か月間試験で萎縮に進行した。マウス、ラット及びイヌの子宮、子宮頸部及び膣にみられた変化は、カミゼストラントの薬理作用による組織に対するエストロゲン刺激の低下によると考えられた。ラット 1 か月間試験では、これらの変化の回復性が確認された。イヌにおいて回復期間を設けた唯一の試験であるイヌ 1 か月間試験では、これらの変化は認められなかったことから、イヌの子宮、子宮頸部及び膣における変化の回復性は評価されていない。しかしながら、変化の性質及びラットで確認された可逆性に基づき、イヌにおいてもこれらの変化は可逆性であると予測される。

マウス 6 週間試験及びラット 6 か月間試験では、卵管上皮萎縮が認められた。これはカミゼストラントの薬理作用によるものと考えられ、その特徴はその他の雌生殖器に認められた変化と類似していた。

更に、イヌ 9 か月間試験の雌 3 例では粘膜壊死を伴う子宮の炎症反応がみられ、そのうち 2 例には嚢胞性子宮内膜過形成も認められた。これらのイヌにみられた変化は、イヌの嚢胞性子宮内膜過形成-子宮蓄膿症の複合症状に特徴的なものであった。この所見はイヌによくみられる自然発生的な子宮病変であり、イヌにおける長期の発情間期に起因して発生し、ホルモンバランスの撹乱により実験的な誘発も可能である（Noakes et al 2001、Woźna-Wysocka et al 2021）。

イヌ 9 か月間試験では、低用量の 5 mg/kg/日を投与した雌 1 例が、腹部腫瘤、触診時の腹部違和感等の有害な一般状態変化、並びに進行性の摂餌量減少及び体重減少により 244 日目（35 週目）に本試験から除外された。腹部の異常は顕著な卵巣肥大によるものと考えられ、卵巣肥大は 9 か月間投与後に屠殺した動物でも認められたが、9 か月間投与後の動物では重症度はより低かった。この雌 1 例の病理組織学的検査により、認められた卵巣腫瘤は非腫瘍性であることが確認され、腫瘤の所見として黄体細胞充実性の上昇及び嚢胞が認められ、9 か月間投与後の動物と同様であった。黄体細胞充実性の上昇及び嚢胞等の卵巣の変化は、カミゼストラントの薬理作用に関連する可能性が高いと考えられる。更に、この雌 1 例では顕著な高カルシウム血症が認められたが、関連する一般状態の変化は認められなかった。このような高カルシウム血症は、本試験の他の動物、あるいはカミゼストラントを用いた他の試験でも認められなかった。骨、副甲状腺及び腎臓の検査を含む病理組織学的検査において高カルシウム血症に関連する変化は認められず、この動物に腫瘍性変化はなかった。したがって、この動物で認められた高カルシウム血症の毒性学的意義は不明であった。

ラット、マウス及びイヌの卵巣に病理組織学的変化が認められ、関連する肉眼所見及び器官重量の変化も認められた。ラット及びイヌを用いた各試験並びにマウスを用いた 6 週間試験において、嚢胞（卵胞又は黄体）が認められた。ラット 6 か月間試験では、10 mg/kg/日のラット及び 25 mg/kg/日の大部分のラットで黄体数の増加が認められた。しかし、25 mg/kg/日の一部及び 75 mg/kg/日のラットでは卵巣の萎縮が認められた。イヌ 1 か月間及び 9 か月間試験では、黄体細胞充実性の上昇が認められた。マウス 6 週間試験では、卵胞嚢胞に加えて、全ての用量で出血卵胞及び黄体数の減少が認められた。イヌ及びラット 1 か月間試験で、28 日間の回復期間後に卵巣の変化の部分的回復が認められた。

ラット 6 か月間試験及びイヌ 9 か月間試験でのみ、卵巣において過形成性及び／又は腫瘍性病変が認められた。ラットでは、卵巣の顆粒膜細胞の過形成が全用量（10～75 mg/kg/日）で認められ、75 mg/kg/日でのみ良性顆粒膜細胞腫に進行した。イヌでは、20 mg/kg/日で性索間質性過形成が認められ、5 及び 20 mg/kg/日の各 1 例で良性顆粒膜細胞腫が認められた。卵巣の変化は、カミゼストラントの薬理作用に起因すると考えられる。卵巣嚢胞は、通常、性腺刺激ホルモンの分泌又は性腺刺激ホルモンに対する卵巣の反応に続発する（Greaves 2012）。黄体組織の増大（黄体数の増加及び黄体細胞充実性の上昇）は、視床下部／下垂体でエストロゲン受容体が分解され、負のフィードバックが欠損し、卵巣における LH 分泌の増加及び黄体組織の過剰刺激が引き起こされた結果として生じると考えられる。顆粒膜細胞の過形成／腫瘍性病変も同じ機序によってもたらされる可能性があり、LH の増加は、選択的エストロゲン受容体モジュレーターによるこれらの細胞における増殖性病変に関与していると考えられる（Long et al 2001）。マウスでは、他とは異なり黄体数の減少及び出血卵胞等が認められたが、これらもカミゼストラントの薬理作用によって生じたと考えられ、同様の病変がエストロゲン受容体ノックアウトマウスで報告されている（Dupont et al 2000）。

雌のラット、マウス及びイヌの乳腺で病理組織学的変化が認められた。マウス 6 週間試験では全用量で上皮の萎縮が認められた。ラットの 1 か月間、3 か月間及び 6 か月間試験では、全用量で乳腺の腺胞／乳管の肥大／過形成が認められた。ラット及びマウスで認められた変化はホルモンバランスの撹乱によると考えられ、カミゼストラントの薬理作用に起因すると考えられる。

ラットの乳腺には性的二型性が存在し（マウス又はイヌには存在しない）、性的に成熟した雄ラットの乳腺は“小葉状・胞状”の病理組織学的外観を示し、雌ラットの乳腺は“管状・胞状”の外観を示す（Long et al 2001、Lucas et al 2007）。選択的エストロゲン受容体モジュレーターを投与すると、ホルモンバランスが変化し、雌ラットの乳腺が雄ラットの乳腺と類似した形態に変化することがある（Rudmann et al 2005）。雌ラットで“乳腺肥大／過形成”と呼ばれるこの変化は、性的二型性がないマウスでは認められなかった。イヌで認められた乳腺の変化は、20 mg/kg/日を 9 か月間投与した雌 1 例における限局性過形成のみであった。

雌の生殖器で認められた所見を総合的に評価すると、生殖能力に有害な影響を及ぼす可能性があること及び腫瘍性病変が認められたことから、有害な変化であると判断される。閉経前又は閉経周辺期の女性に LH-RH アゴニストを投与すると、LH の産生が抑制される。閉経後の女性では、卵巣で卵胞及び関連する顆粒膜細胞コンパートメントの消失が認められる。したがって、LH による性腺の過剰刺激に続発する影響は、閉経後の女性、あるいはカミゼストラントを LH-RH アゴニストと併用して投与する閉経前又は閉経周辺期の女性においては問題とならないと考えられる。

カミゼストラントの臨床試験において、現在までに生殖器への影響を示唆する徴候及び症状の発現は報告されていない。

マウス 6 週間試験においては、雌でのみ下顎唾液腺にも病理組織学的変化が認められた。下顎唾液腺は生殖器ではないが、視床下部-下垂体-性腺軸への影響を示唆しており、雌の生殖器に認められた影響と関連していると考えられる。げっ歯類で性的二型がある組織である唾液腺において細管内顆粒の増加が報告されている（Jayasinghe et al 1990）。また、ホルモンバランスの変化は、唾液腺顆粒管の顆粒量の変化を引き起こす可能性がある（de Rijk et al 2003）。

2.6.6.9.3　雄生殖器への影響

75 mg/kg/日以上を 2 週間投与した雄マウスにおいて、精巣で精細管の変性／萎縮が認められた。マウス 6 週間試験では、25 mg/kg/日以上でライディヒ細胞の肥大及び精細管上皮における異型遺残体が認められた。

ラット及びイヌの DRF 試験では、精巣で精細管の変性／萎縮が最高用量、すなわちラットでは 75 mg/kg/日、イヌで 20 mg/kg/日のみで認められた。

ラット 6 か月間試験では、全用量で雄の生殖器に毒性所見が認められ、精子数の変化（全用量）、精子形態の変化（25 mg/kg/日以上）及び精子運動性の低下（75 mg/kg/日）を伴っていた。25 mg/kg/日以上では交尾率に影響が認められ、75 mg/kg/日のみで着床前胚損失率の高値及び生存胎児数の低値を含む受胎率への影響が認められた。全用量で認められた病理組織学的変化は、前立腺及び精嚢の萎縮（前立腺重量の減少と相関）、精細管拡張、精細管の変性／萎縮、並びに精巣上体での精子の減少であった。ラット 1 か月間試験では、雄の生殖器に影響は認められなかった。

イヌ 1 か月間試験では、全用量でイヌの精巣に間質細胞（ライディヒ細胞）の肥大／過形成が認められ、この変化は精巣重量の増加を伴っていた。28 日間の回復期間後にはこの所見は認められず、回復性が確認された。この所見はカミゼストラントの薬理作用に起因すると考えられ、負のフィードバックループの変化に続発した LH 刺激の増加による可能性が最も高い（Hess 2003）。精上皮（精子形成）及び副生殖器（前立腺）に変化が認められなかったことから、ライディヒ細胞の変化は有害ではないと判断された。

イヌ 9 か月間試験において雄の生殖器系で認められた病理組織学的変化は、精細管の変性／萎縮及び精巣上体での細胞残屑であった。雄全例の精巣で間質細胞の肥大／過形成がみられ、雄 1 例では間質細胞腺腫が認められた。腺腫は、間質細胞の肥大／過形成の進行を反映している可能性が高い。これらの所見はカミゼストラントの薬理作用に起因すると考えられるが、生殖能力及び／又は腫瘍発生に影響する可能性が高いことから、有害作用と判断した。

雄の生殖器に対する影響は、カミゼストラントの薬理作用に関連すると考えられる。イヌにおける間質細胞（ライディヒ細胞）の肥大／過形成及び腺腫は、LH の分泌増加及び間質細胞の刺激につながる負のフィードバックループの変化に続発する変化と考えられ（Hess 2003）、男性においてカミゼストラントを LH-RH アゴニストと併用投与された場合には問題とならないと考えられる。ラット及びマウスにおける精細管の変性及び／又は萎縮も、カミゼストラントの薬理作用に続発したものと考えられ、負のフィードバックループの変化及びエストロゲン受容体に対する直接作用による可能性がある。エストロゲン受容体は、ラット及びマウスの精巣及び精巣上体に広く発現しており、エストロゲン受容体αノックアウトマウスでは、精細管の変性並びに精子及び受胎能の異常が認められる（Dostalova et al 2017）。

2.6.6.9.4　内分泌腺への影響

マウス及びラットの反復投与毒性試験において、副腎及び下垂体に病理組織学的変化が認められた。ラット 3 か月間試験では、5 mg/kg/日の雌で副腎皮質の萎縮が認められ、器官重量の減少を伴っていた。同試験において、0.1 mg/kg/日以上の雌で下垂体重量の減少が認められたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。ラット 1 か月間及び 6 か月間試験では、全用量（10 mg/kg/日以上）で雌の副腎及び下垂体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認められなかった。1 か月間試験（ラットにおいて回復性を評価した唯一の試験）では、これらの重量の変化は 28 日間の回復期間後には完全に回復していた。

副腎重量の減少は、50 mg/kg/日以上を 14 日間以上投与した雌雄マウス及び 25 mg/kg/日以上を 6 週間投与した雌マウスでも認められ、皮質萎縮及び副腎の X 帯における色素増加と関連していた。25 mg/kg/日以上を 6 週間投与した雌マウスでは、病理組織学的検査で下垂体前葉の肥大も認められたが、関連する重量の変化は認められなかった。

イヌの試験では、下垂体又は副腎の病理組織学的変化又は器官重量の変化は認められなかった。

マウス及びラットの副腎及び下垂体にみられた病理組織学的変化の重症度は軽微～軽度であり、試験間で発現にばらつきがみられた。副腎及び下垂体における病理組織学的変化と器官重量の変化は、カミゼストラントの薬理作用に起因するものであると考えられる。エストロゲン受容体は視床下部及び下垂体内部に発現し、下垂体からの性腺刺激ホルモン放出を調節する負のフィードバックループに関連する（Chimento et al 2014）。雌ラット及び雌マウスの生殖器の所見は、性腺刺激ホルモンの分泌に変化があったことを示唆している。エストロゲン受容体は副腎にも発現し、雌ラット及び雌マウスの副腎は、雄の副腎と比べて著しく大きい。この性的二型性はイヌやヒトの副腎皮質には存在しない（Inomata and Sasano 2015）。成熟雌げっ歯類にエストロゲンを投与すると、副腎皮質の絶対的なサイズが顕著に増大する。したがって、カミゼストラントの投与は逆の影響をもたらし、副腎重量の減少や皮質萎縮を引き起こしたと考えられる。

2.6.6.9.5　　生殖発生毒性

雌ラットでは、カミゼストラントによる性周期、交尾行動、受胎能及び初期胚生存率への有害な影響が認められたが、1 か月間の回復期間後には完全に回復していた。これらの影響は、臨床用量 75 mg 投与時よりも低い総血漿中曝露量（AUC）で認められた。

ラット 6 か月間試験においてカミゼストラント 10、25 及び 75 mg/kg/日を 9 週間投与した雄では、精細胞／精子数の減少、精子異常率の上昇、精子運動性の低下、交尾率及び妊娠率の低下が認められ、雄の受胎能への影響が示唆された。臨床用量 75 mg 投与時の 2 倍以上の総血漿中曝露量（AUC）において影響が認められたが、無作用量は確認できなかった。

胚・胎児発生及び出生後早期の生存／成長に対する影響について、妊娠～分娩期の評価を含むラット胚・胎児発生に関する試験で評価した。0.75 mg/kg/日を投与したときに、母動物の体重減少及び妊娠中の体重増加の抑制が認められた。交配後 2 日目以降にカミゼストラントを 0.1 mg/kg/日の用量で投与した後の剖検では、全例で妊娠が認められなかった。この影響は、カミゼストラントの薬理作用に起因すると考えられる。マウスでは、卵管上皮細胞におけるエストロゲンシグナル伝達の障害により線毛機能が変化し、胚輸送が障害される可能性がある（Li et al 2017）。更に、子宮内のエストロゲン受容体αは受精卵の適切な着床に必要な子宮内膜の増殖を誘導する（Bondesson et al 2015）。着床から器官形成期（GD 6～GD 16）にわたり最高 0.075 mg/kg/日のカミゼストラントを投与したとき、胚・胎児の生存、成長及び発生に対する影響は認められなかった。0.075 又は 0.75 mg/kg/日を着床から妊娠、分娩及び授乳初期まで投与したところ、妊娠期間の延長、分娩困難（0.75 mg/kg/日では雌全例が早期安楽殺に至った）が発生し、死産が多く認められた。定期分娩に至る収縮反応にはエストロゲンが必要であることから（Condon et al 2020）、分娩への影響はカミゼストラントの薬理作用に関連すると考えられた。生存母動物では、出生児の生存率が低下し、出生児体重の低値が認められた。また、母動物において明瞭な乳首が全くあるいはほとんどないという変化も認められたが、エストロゲン受容体α ノックアウトマウスでは下垂体前葉からのプロラクチン放出が減少し乳腺の発達が阻害されることから（Lee et al 2012）、この所見もカミゼストラントの薬理作用によると考えられた。これらの影響は、臨床用量の 75 mg 投与時の曝露量よりも非常に低い曝露量で認められた。

妊娠可能な女性は、カミゼストラント投与中及び最終投与後少なくとも 4 週間は適切な避妊を行うことが推奨される。

2.6.6.9.6　　リン脂質症

リン脂質症に一致する病理組織学的変化が、マウス及びラットの複数の組織でみられたが、イヌでは認められなかった。透過型電子顕微鏡を用いた観察により、リン脂質症であることが確認された。

肺ではリン脂質症に一致すると考えられる病理組織学的変化として、ラットでは肺胞マクロファージの増加／肺胞マクロファージ集簇及び肺胞中隔の空胞化、マウスでは肺胞マクロファージの増加が認められた。ラットでは 7 日間、マウスでは 14 日間の反復投与により病理組織学的変化が認められた。ラットの肺でのみ、透過型電子顕微鏡によってリン脂質症が確認された。リン脂質症は適応反応と考えられている（Lenz et al 2018）。しかし、75 mg/kg/日を 6 か月間投与した雌ラットの肺では、炎症性細胞浸潤及び重症度の高いマクロファージ蓄積が認められたことから、この用量での影響は有害であると判断された。この用量での血漿中曝露量は、ヒトに 75 mg を投与したときの 58 倍であった。ラット 1 か月間試験で回復性を評価したが、肺胞マクロファージは数か月～数年の寿命を持つ生存期間の長い細胞であり（Murphy et al 2008）、肺胞マ

クロファージは 28 日間の回復期間では完全には回復しないと考えられた。しかし、病理組織学的変化について部分的な回復が認められた。

肝臓におけるリン脂質症と一致すると考えられる病理組織学的変化は、マウス及びラットの肝細胞の空胞化、並びにラットのクッパー細胞の空胞化及び胆管の空胞化であった。ラットの肝臓では透過型電子顕微鏡によりリン脂質症が確認されたが、マウスでは確認されなかった。ラットの 150 mg/kg/日以上では、その他の所見として、単一細胞の肝細胞変性並びに AST、ALT、ALP 及び GLDH 活性の上昇が認められた。マウスでは、300 mg/kg/日の 14 日間投与及び 25 mg/kg/日以上の 6 週間投与で肝細胞空胞化が認められたが、肝細胞変性は伴っていなかった。GLDH、ALT 及び AST 活性の上昇は、雄マウスでは 100 mg/kg/日以上、雌マウスでは 300 mg/kg/日で認められた。ラットでは、肝細胞及びクッパー細胞にリン脂質症と一致する超微細構造の変化が認められた（マウスでは評価せず）。肝細胞は再生能を有し、変性変化は高用量（150 mg/kg/日以上）でのみ認められ、この用量での血漿中曝露量は、臨床用量 75 mg 投与時の 145 倍を超えていた。

腎尿細管上皮及び膵臓腺房細胞の空胞化はマウスでのみ認められた。関連する臨床病理学的変化、炎症又は細胞変性／壊死を示す所見は認められなかった。リン脂質症を確認するための透過型電子顕微鏡による検査を実施しなかったが、病理組織学的変化（空胞化）は他の組織でみられた変化と一致していた。

いずれの動物種においても、終末分化細胞にはリン脂質症は認められなかった。

カミゼストラントの臨床試験において、現在までにリン脂質症を示唆する徴候及び症状の発現は報告されていない。

2.6.6.9.7　心筋症

ラット 6 か月試験の中用量及び高用量の雌で心筋症が認められた。このときの総血漿中曝露量は、臨床用量である 75 mg 投与時の曝露量の 11 倍以上であった。ラットにおける慢性進行性心筋症の発現は、自然発生所見として知られているが（Herman and Eldridge 2019）、6 か月間試験での所見の重症度（軽度～中等度）は、背景所見の正常範囲を超えると考えられることから、カミゼストラント投与に関連する変化と判断された。相対心臓重量の増加はなく、検査した他の脈管系に病理組織学的変化は認められなかった。マウス 6 週間試験では、25 mg/kg/日以上の雌雄において心臓重量（絶対及び相対）の増加が認められたが、心臓に病理組織学的所見は認められなかった。イヌを用いた試験では、心臓には投与に関連した病理組織学的変化は認められなかった。

ラット 6 か月間試験で心筋症が認められたため、臨床試験における検査項目として心エコーが追加され、関連する除外基準が設定された。SERENA6 試験における安全性データの評価から心筋症発生に関する新たな兆候は認められなかった。

2.6.6.9.8　心血管系機能への影響

体外ジャケット式テレメトリーを用いたイヌの DRF 試験、1 か月間及び 9 か月間毒性試験において、心血管系機能への影響が認められ、これはイヌテレメトリー試験（2.6.2.4.2 項参照）で認められた所見と一致していた。カミゼストラントは、動脈圧パラメータ、QA 間隔、心拍数、QTca、PR 間隔及び心房期外収縮に対して用量依存性の影響を示した。1 か月間試験では、心血管パラメータに対する作用の発現は遅発性であり、概して 10 日目に影響が最も大きく、25 日目には同程度で持続するか又はやや減弱した。これらのパラメータの変化は、最終投与から 3 日後

又は 22 日後までに試験前のベースライン値に戻った。QA 間隔は、最終投与の 3 日後には回復を示したが、その後最終投与の 22 日後には延長した（2.6.2.4.2 項参照）。

イヌ 9 か月間試験では、カミゼストラント投与により心拍数が減少し、QTca が延長した。これらの変化は、主に 10 及び 20 mg/kg/日では初回評価時（4 週目）に、5 mg/kg/日では 2 回目評価時（13 週目）に認められ、以降の評価時点（26 及び 39 週目）では変化の程度が更に増していた。QT/RR 解析によると、QTca 延長は観察された心拍数減少によるアーチファクトではなく、カミゼストラント投与に関連することが示唆された。用量に依存しない PR 間隔の短縮も認められたが、これは 5 及び 10 mg/kg/日のみでみられた。

臨床試験の安全性データ評価の結果、徐脈は重要なリスクとして特定された。臨床試験においてカミゼストラントに関連した徐脈が認められたが、徐脈により投与変更に至った症例は少なく、投与中止に至った症例もなく、またグレード 3 以上の事象の報告はなかった。カミゼストラント単剤を 75～300 mg で 1 日 1 回投与したときの QTcI（個別の補正 QT）延長に関する曝露反応解析を 30 例の患者で実施した。カミゼストラント 75 mg を連日投与した際の定常状態での平均 C_{max} において、薬剤関連の QTcI 延長作用の予測値の平均値は 2.99 msec（90%信頼区間: [-0.11, 6.09]）であり、90%信頼区間の上限は 6.09 msec であった。臨床推奨用量である 75 mg 投与時に 20 msec を超える平均 QTcI の増加は認められなかった。

2.6.6.9.9 心拍数変化の機序検討

カミゼストラントを投与した非臨床試験動物種及び臨床試験で、心拍数の減少が認められている。また臨床試験では視覚への影響が報告されている。HCN チャネル阻害剤であるイバブラジンでも、ヒトにおいて心拍数減少及び視覚への影響が報告されている。このことから、心拍数減少及び視覚への影響は HCN チャネルを介した機序によるとの仮説を立て検討試験を実施した。非生理的条件下で得られた初期データはカミゼストラントが HCN4 チャネルに対して不活性であることを示したが、その後に実施した心拍数減少に関する一連の *in vitro* 試験で得られたデータはこの仮説を支持するものであった。すなわち、カミゼストラントは組換え細胞で HCN4 チャネルの機能的発現を減少させ、また hESC 由来の洞房結節細胞で拍動数、DDR 及び I_f を減少させた。これらの *in vitro* 試験で、HCN チャネル評価項目に対するカミゼストラントの影響の発現は遅発性であり、*in vivo* のラット及びイヌ、並びにヒトで認められた心拍数減少が遅発性であったことと一致していた。麻酔下ラットにおいて、カミゼストラント投与後にみられた心拍数減少は迷走神経切断後も持続し、心拍数への影響が副交感神経活性を必要としないことが示されたことから、*in vivo* 非臨床データも、心拍数への影響に HCN チャネルが介在することに合致していた。イヌでは、心拍数を増加させる刺激（運動、アトロピン、グリコピロニウム臭化物、イソプレナリン）に対する反応が低下し、洞房結節で心拍数が減少していることと一致していた。更に、75 mg/kg（心拍数減少が認められた投与量）を投与したラットで、洞房結節細胞から発生する I_f が減少した。これは、I_f の減少が認められた *in vitro* 試験の結果を *in vivo* に外挿可能であることを示しており、心拍数減少は洞房結節における I_f の減少に起因するという仮説が更に支持された。

2.6.6.9.10 網膜電図検査による視覚への影響の機序検討

Long Evans ラットにカミゼストラントを投与したとき、暗順応下の B 波及び律動様小波の振幅が用量依存的に減少するとともに、明順応下の B 波のフリッカー刺激に反応した振幅及び潜時の増加、並びに正弦波刺激後の振幅増加が認められた。また、カミゼストラントを投与すると、明順応下の早期に B 波が顕著に減少し、10 分間の明順応の終了までに対照群の値まで回復した。このことから、カミゼストラントは明所移行直後の明順応反応に影響を及ぼすことが明らかとな

り、明順応の完了後に影響は減弱した。これらの影響は、1 日目及び 7 日目で概ね同程度であり、カミゼストラント最終投与 7 日後に対照群と同程度に戻った。

以上より、カミゼストラント投与により、暗順応下の B 波の振幅が減少したことから、桿体双極細胞の機能が著しく低下したことが示された。暗順応下の A 波は比較的影響を受けなかったことから明らかなように、桿体視細胞は影響を受けなかった。カミゼストラントは、様々な時間周波数でフリッカー刺激及び正弦波刺激の両方に対する明順応下の反応を増強した。ラット ERG に対するカミゼストラントの影響は 7 日間の回復期間後に回復した。

ラットにおける ERG の変化に関する無作用量は 5 mg/kg/日であった。5、12 及び 25 mg/kg/日投与時の遊離型の血漿中濃度は、臨床用量 75 mg における遊離型 C_{max} よりそれぞれ約 1、5 及び 13 倍高かった。

ラット ERG 検査で得られたデータ及び毒性試験（有色及び非有色動物）において眼に病理組織学的変化は認められなかったことから、カミゼストラントは眼に対し、構造的影響ではなく可逆的で機能的な薬理作用を示すと考えられた。

カミゼストラント投与後のラット網膜の HCN チャネル発現領域でカミゼストラントが検出され、カミゼストラントがこれらの部位で薬理作用を発現する可能性が示された。また、カミゼストラントの処理により、*in vitro* で HCN1 及び HCN2 チャネル電流の機能的発現が低下することも示された。

HCN チャネル阻害剤であるイバブラジンはヒトにおいて視覚機能に影響を及ぼし、ラット及びイヌの ERG に変化をもたらす（Ivabradine (Tradename Corlanor) 2014）。これらの影響は、網膜の HCN チャネルの薬理学的阻害によって引き起こされると考えられる。ラットの ERG 試験（試験 8498695）では、イバブラジン投与により、暗順応下の律動様小波の振幅が減少し、明順応下の B 波ではフリッカー刺激に反応して潜時が増加するとともに、正弦波刺激後に振幅が増加した。しかし、これらの影響は、これまでに公表されたイバブラジンの ERG に対する影響（Della Santina et al 2010）と一致しない。更に、低周波数正弦波刺激に反応して生じた変化は、HCN チャネル阻害を示すと考えられるが、カミゼストラント投与ラットの ERG 試験（試験 8498695 及び試験 8518228）ではみられなかった。ラットの ERG に対するカミゼストラントの最も顕著な影響は暗順応下の B 波の減少であった。これは試験 8498695 のイバブラジン投与では認められず、HCN チャネル阻害剤を用いた試験でも認められていない（Della Santina et al 2010、Umeya et al 2024）。

これまでに公表されているイバブラジンのラット ERG に対する影響が再現されなかったことから、ラット ERG に対するカミゼストラントの影響に、HCN チャネル阻害が果たす役割について、明確な結論を出すことはできなかった。イバブラジンとカミゼストラントはいずれも、ラット ERG の正弦波周波数反応関係を 0.8～10 Hz の範囲で増強させた。この影響が、HCN チャネルに対する作用によるものであるのか、別の機序によるものであるのかは不明である。更に、これまでに得られているデータから、カミゼストラントを投与したラットで認められた B 波の減少が HCN チャネルを介している可能性は低く、他の未知の機序が関与している可能性があることが示唆される。

臨床試験の安全性データ評価の結果、視覚への影響は重要なリスクとして特定された。カミゼストラントの投与に伴う視覚への影響は主にグレード 1 であり、通常は投与開始 2 週間以内に発現し、その発現は朝/晩で、持続時間は短く日常生活への影響は小さかった。非臨床試験結果と同様に、眼科検査においては、カミゼストラントに起因する眼の構造的変化は認められなかった。

2.6.6.9.11　主要な毒性試験におけるカミゼストラントの曝露量

イヌ DRF 試験、マウス 6 週間試験、及び主要なラット及びイヌ反復投与毒性試験における主な所見、最終投与日の TK データ、並びに日本人患者に 75 mg（単剤投与又はアベマシクリブ若しくはパルボシクリブとの併用投与）投与時の血漿中曝露量に対する比を表 14 に示す。雌ラットの受胎能及び初期胚・胎児発生に関する経口投与試験での血漿中濃度は、臨床用量 75 mg（単剤投与又はアベマシクリブ若しくはパルボシクリブとの併用投与）における濃度よりも著しく低かった。

表 14　　カミゼストラントの毒性試験における主要所見及び曝露量、並びに臨床用量 75 mg 単剤投与に対する曝露量比

Dose level (mg/kg/day)	Total C_{max} (μM)	Total $AUC_{(0-24)}$ (μM·h)	Free C_{max} (μM) [b]	Free $AUC_{(0-24)}$ (μM·h) [b]
	(Multiples to clinical 75 mg dose)			
6-week mouse study				
25	M: 3.96, F: 3.72 (M: 23, F: 22)	M: 32.4, F: 31.4 (M: 14, F: 14)	M: 0.832, F: 0.781 (M: 19, F: 19)	M: 6.80, F: 6.59 (M: 12, F: 12)
Females: dehydration, increased body weight gain, decreased food consumption Lower adrenal (F), uterus (F), cervix (F), spleen (M&F), thymus (M&F) weights; higher ovary (F), heart (M&F), kidney (M&F) weights Females: adrenal gland (cortical atrophy & increased pigment at corticomedullary junction), pituitary gland (hypertrophy of pars distalis), ovary (haemorrhagic follicles with decreased corpora lutea), uterus and oviduct (atrophy of endometrium), vagina (atrophy of epithelium, mucification), mammary gland (atrophy of ductular and alveolar epithelia), mandibular salivary gland (increased ductular granules), kidney (metaplasia of Bowman's capsule epithelium) Males: testis (hypertrophy of Leydig (interstitial) cells), liver (decreased cytoplasmic rarefaction accompanied by midzonal hepatocellular vacuolation) Males and females: thymus (decreased lymphoid cellularity)				
75	M: 11.5, F: 11.9 (M: 68, F: 70)	M: 98.6, F: 136 (M: 43, F: 60)	M: 2.42, F: 2.50 (M: 57, F: 60)	M: 20.7, F: 28.6 (M: 37, F: 50)
As 25 mg/kg/day plus: Males and females: erected fur Females: ovary (follicular cyst), liver (decreased cytoplasmic rarefaction accompanied by midzonal hepatocellular vacuolation) Males: testis (atypical residual bodies in tubular epithelium and lumen) Males and females: lung (increased alveolar macrophages)				
150	M: 19.7, F: 13.9 (M: 116, F: 82)	M: 182, F: 204 (M: 79, F: 89)	M: 4.137, F: 2.92 (M: 99, F: 70)	M: 38.2, F: 42.8 (M: 68, F: 75)
As 25 and 75 mg/kg/day plus: Higher liver/gallbladder weights (F) Females: liver (centrilobular hepatocellular hypertrophy)				
1-month rat study				
10	M: 0.635, F: 1.35 (M: 4, F: 8)	M: 4.95, F: 10.3 (M: 2, F: 5)	M: 0.186, F: 0.396 (M: 4, F:10)	M: 1.45, F: 3.02 (M: 3, F:6)
Females: increased body weight gain/food consumption, decreased pituitary/adrenal/uterus weights, increased ovary weight, discoloured ovaries, ovarian cysts, mammary gland (hypertrophy/hyperplasia), uterus (atrophy), cervix and vagina (epithelial atrophy)				
25	M: 1.78, F: 3.21 (M: 11, F: 19)	M: 15.9, F: 37.8 (M: 7, F: 16)	M: 0.522, F: 0.941 (M: 12, F: 22)	M: 4.66, F:11.1 (M: 9, F: 19)

Dose level (mg/kg/day)	Total C_{max} (μM)	Total $AUC_{(0-24)}$ (μM·h)	Free C_{max} (μM) [b]	Free $AUC_{(0-24)}$ (μM·h) [b]
	(Multiples to clinical 75 mg dose)			
As 10 mg/kg/day plus: Males and females: Salivation/ploughing Males: decreased body weight gain/food consumption				
75	M: 5.27, F: 10.4 (M: 31, F: 61)	M: 67.7, F: 182 (M: 30, F: 79)	M: 1.54, F: 3.05 (M: 37, F: 72)	M: 19.8. F: 53.3 (M: 35, F: 95)
As 10 and 25 mg/kg/day plus: Males and females: increased lung weight, lung abnormal consistency, lung (macrophage aggregation consistent with phospholipidosis) Female: liver (vacuolation of the biliary epithelium)				
3-month rat study				
0.1	M: 0.000689, F: 0.000760 (M: 0.004, F: 0.004)	M: 0.00401, F: 0.00381 (M: 0.002, F: 0.002)	M: 0.0002, F: 0.00022 (M: 0.004, F: 0.005)	M: 0.00117, F: 0.00112 (M: 0.002, F: 0.002)
Males and females: reduced body weight gain and food consumption Females: decreased pituitary gland, uterine, cervix, oviduct weights; ovarian cysts; uterus/cervix (atrophy) vagina (mucification)				
0.25	M: 0.00158, F: 0.00202 (M: 0.01, F: 0.01)	M: 0.00804, F: 0.0119 (M: 0.004, F: 0.005)	M: 0.00046, F: 0.00059 (M: 0.01, F: 0.02)	M: 0.00236, F: 0.00349 (M: 0.004, F: 0.006)
As 0.1 mg/kg/day				
1	M: 0.0107, F: 0.0150 (M: 0.06, F: 0.1)	M: 0.0791, F: 0.0948 (M: 0.04, F: 0.04)	M: 0.00314, F: 0.00440 (M: 0.07, F: 0.1)	M:0.0232, F: 0.0278 (M: 0.04, F: 0.05)
As 0.1 and 0.25 mg/kg/day plus: Females: black foci noted grossly in ovaries; vagina (epithelial atrophy)				
5	M: 0.113, F: 0.174 (M: 0.7, F: 1.1)	M: 0.858, F: 1.140 (M: 0.4, F: 0.5)	M: 0.0331, F: 0.0510 (M: 0.8, F: 1.2)	M: 0.251, F: 0.334 (M: 0.5, F: 0.6)
As 0.1, 0.25 and 1 mg/kg/day with the following differences/additions: Females: body weight comparable to controls Females: lower adrenal gland weights, increased ovary weight, adrenal gland (cortical (zona fasiculata) atrophy), ovary (increased numbers of corpora lutea and granulosa cell hyperplasia)				

Dose level (mg/kg/day)	Total C_{max} (μM)	Total $AUC_{(0-24)}$ (μM·h)	Free C_{max} (μM) [b]	Free $AUC_{(0-24)}$ (μM·h) [b]
	(Multiples to clinical 75 mg dose)			
6-month rat study + male fertility assessment				
10	M: 0.611, F: 0.802 (M: 4, F: 4)	M: 4.51, F: 5.02 (M: 2, F: 2)	M: 0.179, F: 0.235 (M: 4, F: 5)	M: 1.32, F: 1.47 (M: 2, F: 3)
Males: Lower body weight gain/food consumption, Females: higher body weight gain/food consumption Females: lower adrenal/pituitary weights, lower uterus weights, higher ovary weights Males: lower prostate weight Males: testis (decrease in spermatid and epididymal sperm counts), prostate gland and seminal vesicle (atrophy), seminiferous tubules (tubular dilation, degeneration/atrophy), epididymis (reduced sperm cellularity) Females: atrophy of cervix, oviduct and uterus (atrophy), ovary (cysts, granulosa cell hyperplasia, increased corpora lutea), mammary gland (hypertrophy/hyperplasia)				
25	M: 1.59, F: 2.12 (M: 10, F: 12)	M: 14.9, F: 24.2 (M: 7, F: 11)	M: 0.466, F: 0.621 (M: 11, F: 15)	M: 4.37, F: 7.09 (M: 8, F: 13)
As 10 mg/kg/day plus: Males: Decreased mating rate, increased number of abnormal sperm Females: ovary (atrophy), heart (cardiomyopathy)				
75	M: 4.21, F: 7.35 (M: 25, F: 43)	M: 59.1, F: 133 (M: 26, F: 58)	M: 1.23, F: 2.15 (M: 29, F: 51)	M: 17.3, F: 39.0 (M: 31, F: 68)
As 10 and 25 mg/kg/day with the following differences/additions: Males: Decrease in motile sperm Females: Lower number of live foetuses/higher implantation loss Males and females; increased lung weights Females: ovary (granulosa cell tumours). No effect on corpora lutea or ovary weights, spleen (macrophage aggregation in splenic white pulp), lung (mixed inflammatory cell infiltration with increased circulating neutrophils, lymphocytes, monocytes and eosinophils) Males and females: hepatic bile ducts, mesenteric lymph node and lung (epithelial vacuolation)				
Dog DRF				
10	2.44 (14)	23.8 (11)	0.386 (9)	3.76 (7)
Males and females: slight body weight loss, decreases in heart rate, PR interval, increases in QT interval and QTc interval, decreases in reticulocytes and lymphocytes Females: ovary (cystic follicles), uterus (atrophy), cervix and vagina (epithelial degeneration)				

Dose level (mg/kg/day)	Total C_{max} (μM)	Total $AUC_{(0-24)}$ (μM·h)	Free C_{max} (μM) [b]	Free $AUC_{(0-24)}$ (μM·h) [b]
	(Multiples to clinical 75 mg dose)			
20	6.90 (41)	84.9 (37)	1.09 (26)	13.4 (24)
As 10 mg/kg/day plus: Males and females; increases in ALT, GLDH and/or CK Males; testes (tubular degeneration/atrophy)				
40	11.9 [a] (70)	129 [a] (56)	1.88 [a] (45)	20.4 [a] (36)
As 10 and 20 mg/kg/day plus: Non-tolerated dose due to adverse clinical observations Female: lung (macrophage aggregation), duodenum (crypt degeneration)				
1-month dog study				
5	1.17 (7)	8.49 (4)	0.185 (4)	1.34 (2)
Males and females; decreases in QA interval, PR interval; increases in pulse pressure and QT interval Females; increased ovary and uterus weight, ovary (large corpora lutea, luteal cysts) Males; increased testes weight, testes (Leydig (interstitial) cell hypertrophy/hyperplasia)				
10	2.78 (17)	30.4 (14)	0.439 (11)	4.80 (8)
As 5 mg/kg/day plus: Males and females; decreases in diastolic blood pressure, mean arterial pressure, heart rate.				
20	7.80 (46)	97.2 (42)	1.23 (29)	15.4 (27)
As 5 and 10 mg/kg/day plus: Males and females; increases in QTca interval Females; atrial premature complexes (in one female)				
9-month dog study				
5	0.973 (5)	7.72 (3)	0.154 (4)	1.22 (2)

Dose level (mg/kg/day)	Total C_{max} (μM)	Total $AUC_{(0-24)}$ (μM·h)	Free C_{max} (μM) [b]	Free $AUC_{(0-24)}$ (μM·h) [b]
	(Multiples to clinical 75 mg dose)			
Female: premature euthanasia of one female on Day 244 due to abdominal mass, with abdominal discomfort on palpation, vocalisation, and progressive decrease in food consumption / body weight loss. On occasion, high plasma calcium observed. Cystic ovarian masses observed macroscopically (larger than camizestrant-dosed females at scheduled termination). Males and females; decreased heart rate and PR interval, QTca prolongation Males: testes (interstitial (Leydig) cell hypertrophy/hyperplasia, seminiferous tubule degeneration/atrophy), epididymis (cellular debris). Females: lower uterus weights, higher ovary weights, cervix, vagina and uterus (atrophy), uterus (mucosal necrosis and inflammation), vagina (neutrophilic infiltration), ovary (increased luteal cellularity, cysts benign ovarian granulosa cell tumours)				
10	2.50 (15)	29.7 (13)	0.395 (10)	4.69 (9)
As 5 mg/kg/day plus the following additions/differences: Females: uterus and cervix (cystic endometrial hyperplasia) Males: testes (interstitial (Leydig) cell adenoma) No evidence of benign ovarian granulosa cell tumours, or cellular debris in the epididymis				
20	9.31 (55)	115 (50)	1.47 (35)	18.2 (32)
As 5 mg/kg/day plus the following additions/differences: Females: ovary (sex cord stromal hyperplasia), mammary gland (focal hyperplasia) in the mammary gland No effect on PR interval No evidence of mucosal necrosis and inflammation in the uterus, cystic endometrial hyperplasia in the uterus and cervix, or seminiferous tubule degeneration/atrophy				

[a] Day 1

[b] Percentage unbound plasma protein in mouse= 21.0%, rat = 29.3%, dog = 15.8%, human = 24.7%

[c] Multiples presented are to median AUC_{ss} and C_{maxss} in Japanese patients at a clinical dose of 75 mg QD (monotherapy or combination with abemaciclib or palbociclib). Median AUC_{ss} and C_{maxss} of Japanese patients were 1090.5 ng·h/mL (2.29 μM·h) and 81.2 ng/mL (0.17 μM), respectively, which equates to free AUC_{ss} of 0.566 μM·h and free C_{maxss} of 0.042 μM.

2.6.6.10　結論

カミゼストラント投与時の主要標的器官は、ラット、マウス及びイヌで雌雄生殖器であり、ラット及びイヌを用いた 1 か月間毒性試験では 28 日間の回復期間後に完全又は部分的な回復が認められた。認められた変化は、ラット又はイヌにおける 1 か月間から 6 又は 9 か月間試験で進行性であり、カミゼストラントの薬理作用に起因すると考えられた。

肺のマクロファージ集簇はラット 1 か月間毒性試験の高用量でリン脂質症であることが透過型電子顕微鏡観察により確認され、1 か月間毒性試験の高用量では雌のみに、更に 6 か月間毒性試験の高用量では雌雄に肝臓の胆管上皮における空胞化が認められた。1 か月間投与毒性試験では、28 日間の回復期間後に部分的（雌の肺）又は完全（雄の肺及び雌の肝臓）な回復が認められた。雌ラットに 6 か月間投与すると肺のマクロファージ集簇の重症度が悪化した。この雌ラットでの所見は、重症度が悪化し、炎症性細胞浸潤を伴うことから有害と判断された。ラットでは 6 か月間投与後の雌で心筋症が認められた。

カミゼストラントによる性周期、交尾行動、受胎能及び初期胚生存率への有害な影響がラットで認められたが、1 か月間の回復期間後に完全に回復した。器官形成期の妊娠ラットにカミゼストラントを投与したところ、胚・胎児の生存、成長及び発生に対する有害な影響は認められなかった。しかし、母動物への投与を分娩時及び授乳時まで延長したところ、妊娠期間の延長及び分娩異常がみられ、出生児の生存及び成長が損なわれた。

イヌでは、用量依存的な心血管系機能への影響が認められた。心血管系パラメータに対する影響は遅発性であり、イヌ 1 か月間試験では 28 日間の回復期間後に試験前のベースライン値まで回復した。イヌ 9 か月間試験では、全用量で時間及び用量依存的に心拍数が減少し、QTca が延長した。機序検討試験の結果から、非臨床試験動物種及び臨床試験で認められた心拍数の減少が HCN チャネルを介した機序によることが示唆された。

ラットに反復投与を行った ERG 試験の結果から、カミゼストラントが網膜に対して可逆性の機能的影響を及ぼすことが示されたが、毒性試験では、眼に病理組織学的変化は認められなかった。

以上の毒性試験の結果から、ホルモン受容体陽性 HER2 陰性の局所進行又は転移性乳癌患者（ICH S9 ガイドライン適応となる患者集団）へのカミゼストラントの使用が支持される。

2.6.6.11　参考文献

Bondesson et al 2015

Bondesson M, Hao R, Lin CY, Williams C, Gustafsson JA. Estrogen receptor signaling during vertebrate development. Biochim Biophys Acta. 2015;1849(2):142-51.

Burch et al 2022

Burch KE, McCracken K, Buck DJ, Davis RL, SloanDK, Curtis KS. Relationship Between Circulating Metabolic Hormones and Their Central Receptors During Ovariectomy-Induced Weight Gain in Rats. Front Physiol. 2022;5:12:800266.

Chimento et al 2014

Chimento A, Sirianni R, Casaburi I, Pezzi V. Role of estrogen receptors and g protein-coupled estrogen receptor in regulation of hypothalamus-pituitary-testis axis and spermatogenesis. Front Endocrinol (Lausanne). 2014;5:1-8.

Condon et al 2020

Condon JC, Kyathanahalli C, Anamthathmakula P, Jeyasuria P. Estrogen/estrogen receptor action and the pregnant myometrium. Current Opinion in Physiology. 2020;13:135-40.

de Rijk et al 2003

de Rijk EP, Ravesloot WT, Hafmans TG, van Esch E. Multifocal ductal cell hyperplasia in the submandibular salivary glands of Wistar rats chronically treated with a novel steroidal compound. Toxicol Pathol. 2003;31(1):1-9.

Della Santina et al 2010

Della Santina L, Bouly M, Asta A, Demontis GC, Cervetto L, Gargini C. Effect of HCN channel inhibition on retinal morphology and function in normal and dystrophic rodents. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2010;51(2):1016-23.

Dostalova et al 2017

Dostalova P, Zatecka E, Dvorakova-Hortova K. Of Oestrogens and Sperm: A Review of the Roles of Oestrogens and Oestrogen Receptors in Male Reproduction. Int J Mol Sci. 2017;18(5):904.

Dupont et al 2000

Dupont S, Krust A, Gansmuller A, Dierich A, Chambon P, Mark M. Effect of single and compound knockouts of estrogen receptors alpha (ERalpha) and beta (ERbeta) on mouse reproductive phenotypes. Development. 2000;127(19):4277-91.

FDA 2020

FDA. Safety Testing of Drug Metabolites Guidance for Industry. 2020.

Greaves 2012

Greaves P. Female genital tract. Histopathology of Preclinical Toxicity Studies: Interpretation and Relevance in Drug Safety Evaluation, 4th ed Elsevier, Amsterdam. 2012;667-723.

Herman and Eldridge 2019

Herman E, Eldridge S. Spontaneously occurring cardiovascular lesions in commonly used laboratory animals. Cardiooncology. 2019;5(1):1-8.

Hess 2003

Hess RA. Estrogen in the adult male reproductive tract: a review. Reprod Biol Endocrinol. 2003;1:1-14.

Inomata and Sasano 2015

Inomata A, Sasano H. Practical approaches for evaluating adrenal toxicity in nonclinical safety assessment. J Toxicol Pathol. 2015;28(3):125-32.

Ivabradine (Tradename Corlanor) 2014

Ivabradine Tradename: Corlanor: Pharmacology Review section of the FDA Approval Package for ivabradine (Corlanor) NDA 206143; August 2014.

Jayasinghe et al 1990

Jayasinghe NR, Cope GH, Jacob S. Morphometric studies on the development and sexual dimorphism of the submandibular gland of the mouse. J Anat. 1990;172:115-27.

Lee and Wang 1975

Lee HK, Wang SC. Mechanism of morphine-induced miosis in the dog. J Pharmacol Exp Ther. 1975;192(2):415-31.

Lee et al 2012

Lee HR, Kim TH, Choi KC. Functions and physiological roles of two types of estrogen receptors, ERα and ERβ, identified by estrogen receptor knockout mouse. Lab Anim Res. 2012;28(2):71-6.

Lenz et al 2018

Lenz B, Braendli-Baiocco A, Engelhardt J, Fant P, Fischer H, Francke S et al. Characterizing Adversity of Lysosomal Accumulation in Nonclinical Toxicity Studies: Results from the 5th ESTP International Expert Workshop. Toxicol Pathol. 2018;46(2):224-46.

Li et al 2017

Li S, O'Neill SR, Zhang Y, Holtzman MJ, Takemaru KI, Korach KS et al. Estrogen receptor α is required for oviductal transport of embryos. FASEB J. 2017;31(4):1595-607

Long et al 2001

Long GG, Cohen IR, Gries CL, Young JK, Francis PC, Capen CC. Proliferative lesions of ovarian granulosa cells and reversible hormonal changes induced in rats by a selective estrogen receptor modulator. Toxicol Pathol. 2001;29(6):719-26.

Lucas et al 2007

Lucas JN, Rudmann DG, Credille KM, Irizarry AR, Peter A, Snyder PW. The rat mammary gland: morphologic changes as an indicator of systemic hormonal perturbations induced by xenobiotics. Toxicol Pathol. 2007;35(2):199-207.

Murphy et al 2008

Murphy J, Summer R, Wilson AA, Kotton DN, Fine A. The prolonged life-span of alveolar macrophages. Am J Respir Cell Mol Biol. 2008;38(4):380-5.

Noakes et al 2001

Noakes DE, Dhaliwal GK, England GC. Cystic endometrial hyperplasia/pyometra in dogs: a review of the causes and pathogenesis. J Reprod Fertil Suppl. 2001;57:395-406.

Rudmann et al 2005

Rudmann DG, Cohen IR, Robbins MR, Coutant DE, Henck JW. Androgen dependent mammary gland virilism in rats given the selective estrogen receptor modulator LY2066948 hydrochloride. Toxicol Pathol. 2005;33(6):711-9.

Umeya et al 2024

Umeya N, Yoshizawa Y, Fukuda K, Ikeda K, Kamada M, Inada H et al. Detection of retinal dysfunction induced by HCN channel inhibitors using multistep light stimulus and long-duration light stimulus ERG in rats. Exp Eye Res. 2024;241:109847.

Woźna-Wysocka et al 2021

Woźna-Wysocka M, Rybska M, Błaszak B, Jaśkowski BM, Kulus M, Jaśkowski JM. Morphological changes in bitches endometrium affected by cystic endometrial hyperplasia - pyometra complex - the value of histopathological examination. BMC Vet Res. 2021;17(1):174.

第 2 部　CTD の概要

一般名：カミゼストラント

版番号：[redacted]

2.6.7　毒性試験概要表
カミゼストラント

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

標題ページ 1
目次 2
2.6.7.1　毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 8
2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 9
2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 11
2.6.7.5　単回投与毒性試験 12
2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 13
2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験 15
2.6.7.7.1　マウス反復投与毒性試験 15
2.6.7.7.2　ラット反復投与毒性試験 21
2.6.7.7.3　イヌ反復投与毒性試験 41
2.6.7.8　In vitro 遺伝毒性試験 56
2.6.7.9　In vivo 遺伝毒性試験 62
2.6.7.10　がん原性試験 64
2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 65
2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 66
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 69
2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 75
2.6.7.15　新生児を用いた試験 76
2.6.7.16　局所刺激性試験 77
2.6.7.17　その他の毒性試験 78
2.6.7.17.1　毒性発現の機序に関する試験 78
2.6.7.17.2　不純物の毒性試験 84
2.6.7.17.3　その他の試験 85
2.6.7.17.4　光毒性試験 88

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP compliance	Testing facility	Study number (AstraZeneca reference number)	Location in CTD
2.6.7.5 Single-dose toxicity	No standalone single-dose toxicity studies were conducted.							
2.6.7.6/7 Repeat-dose toxicity								
14-day DRF	Mouse / CByB6F1 non-transgenic littermates	Oral (gavage)	14 days	0, 50, 100, 300	No	[redacted]., USA	20377186 (1212DM)	4.2.3.2.1
6-week	Mouse / CByB6F1 non-transgenic littermates	Oral (gavage)	42 days	0, 25, 75, 150	Yes	[redacted]., USA	20377187 (1213DM)	4.2.3.2.2
MTD/DRF	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	14 days	0, 15, 75, 150	No	[redacted], UK	505104 (4208DR)	4.2.3.2.3
1-month (+ 1-month recovery)	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	28 days	0, 10, 25, 75	Yes	[redacted], UK	506480 (4229AR)	4.2.3.2.4
3-month	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	12 weeks	0, 0.1, 0.25, 1, 5	Yes	[redacted], UK	521854 (4517PR)	4.2.3.2.5
6-month (+ male fertility)	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	26 weeks	0, 10, 25, 75	Yes	[redacted], UK	509329 (4306PR)	4.2.3.2.6

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP compliance	Testing facility	Study number (AstraZeneca reference number)	Location in CTD
MTD/DRF	Dog / Beagle	Oral (gavage)	MTD phase: dosed on Days 1, 15-17, 22-24 and 29-31 DRF phase: 4 days, 14 days	50; 15; 30; 40 40 10, 20	No	[redacted], UK	505120 (1624DD)	4.2.3.2.7
1-month (+ 1-month recovery)	Dog / Beagle	Oral (gavage)	28 days	0, 5, 10, 20 [b]	Yes	[redacted], UK	506464 (1634AD)	4.2.3.2.8
9-month	Dog / Beagle	Oral (gavage)	39 weeks	0, 5, 10, 20	Yes	[redacted], UK	509313 (1695FD)	4.2.3.2.9
2.6.7.8/9 Genotoxicity								
Bacterial reverse mutation assay	*S. typhimurium* and *E.coli*	*In vitro*	-	5 – 5000 µg/plate	Yes	[redacted]., UK	8379660 (4247BV)	4.2.3.3.1.1
Mammalian cell micronucleus test	L5178Y TK$^{+/-}$ Mouse Lymphoma 3.7.2.c	*In vitro*	-	6 – 60 µg/mL	Yes	[redacted]., UK	8379661 (4248QV)	4.2.3.3.1.2
Bone-marrow micronucleus test	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	2 days	0, 40, 200, 400	Yes	[redacted]., UK	8379662 (4234QR)	4.2.3.3.2.1
2.6.7.10 Carcinogenicity	Not applicable: studies not required for the present indication.							
2.6.7.11-14 Reproductive & development toxicity								

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP compliance	Testing facility	Study number (AstraZeneca reference number)	Location in CTD
Female fertility and early embryonic development	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	14 days prior to mating to Gestation Day 6	0, 0.001, 0.075, 0.75	Yes	[redacted], UK	490021 (4308TR)	4.2.3.5.1.1
Embryofetal development	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	Gestation Days 2 - 20	0, 0.001, 0.01, 0.024/0.030 [c], 0.073/0.091 [c]	Yes	[redacted], UK	490005 (4307RR)	4.2.3.5.2.1
2.6.7.15 Studies in juvenile animals	No studies were conducted.							
2.6.7.16 Local tolerance	No standalone studies were conducted.							
2.6.7.17 Other toxicity studies								
Mechanistic	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	4 days	0, 75	No	AstraZeneca R&D, UK	BE001764-30	4.2.3.7.3.2
Mechanistic	CHO cells	*In vitro*	-	0.1 – 10 µM	No	AstraZeneca R&D, UK	BE003624-95	4.2.3.7.3.3
Mechanistic	CHO cells	*In vitro*	-	0.17 – 50 µM	No	AstraZeneca R&D, UK	BE003624-96	4.2.3.7.3.4
Mechanistic	Human embryonic stem cell derived sinoatrial node cells	*In vitro*	-	0.1 – 30 µM	No	AstraZeneca R&D, UK	BE002385-25	4.2.3.7.3.5
Mechanistic	Human embryonic stem cell derived sinoatrial node cells	*In vitro*	-	0.1 – 10 µM	No	AstraZeneca R&D, UK	BE003624-97	4.2.3.7.3.6

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP compliance	Testing facility	Study number (AstraZeneca reference number)	Location in CTD
Mechanistic	Human embryonic stem cell derived sinoatrial node cells	*In vitro*	-	0.1 – 10 µM	No	AstraZeneca R&D, UK	BE003624-98	4.2.3.7.3.7
Mechanistic	HEK293 cells	*In vitro*	-	1 – 50 µM	No	[redacted], USA	211108.BAQ_01 211108.BAQ_02	4.2.3.7.3.8
Mechanistic	Rat / Han Wistar	*In vitro* /Oral (gavage)	- 1 or 7 days	0.3 – 30 µM 75	No	[redacted], Italy	4577SR	4.2.3.7.3.9
Mechanistic	Rat / Long Evans	Oral (gavage)	1 or 7 days 7 days	0, 6.8 0, 75, 100	No	AstraZeneca R&D, UK	BE003082-27	4.2.3.7.3.10
Electroretinogram (ERG)	Rat / Long Evans	Oral (gavage)	7 days	0, 25, 75	No	[redacted], USA	8498695 (6084SV)	4.2.3.7.3.11
Electroretinogram (ERG)	Rat / Long Evans	Oral (gavage)	7 days	0, 5, 12, 25	No	[redacted], USA	8518228 (7411PR)	4.2.3.7.3.12
Histology assessment (eye)	Rat / Long Evans	Oral (gavage)	7 days	0, 25, 75	No	AstraZeneca R&D, UK	6977DV	4.2.3.7.3.13
Histology assessment (eye)	Rat / Long Evans	Oral (gavage)	7 days	0, 5, 12, 25	No	AstraZeneca R&D, UK	7181DV	4.2.3.7.3.14
4-week – Impurities	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	28 days	0, 10	Yes	[redacted], USA	20500689 (4880AR)	4.2.3.7.6.1
Investigative	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	7 days 28 days	0, 50, 200, 400 0, 50	No	AstraZeneca R&D, UK	BE001738-15	4.2.3.7.3.1

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP compliance	Testing facility	Study number (AstraZeneca reference number)	Location in CTD
Determination of parathyroid hormone (PTH) in Dog Serum	Dog serum[d]	Oral (gavage)	9 months	0, 5, 10, 20	No	[redacted], Canada	3801030	4.2.3.7.7.2
In vitro phototoxicity	Balb/c 3T3 fibroblasts	*In vitro*	-	1.78 – 100.0 µg/mL	Yes	[redacted]., USA	20136267 (4249BV)	4.2.3.7.7.1

[a] Unless otherwise specified, for repeat-dose toxicity studies the highest NOAEL (No Observed Adverse-Effect Level) is underlined. In some studies a NOAEL was not identified.

[b] NOAEL in males, NOAEL not determined in females

[c] Animals dosed at lower dose on gestation day 6-12, and at higher dose on gestation day13-16

[d] Samples collected on Study 509313

MTD = Maximum tolerated dose; DRF = Dose-range finding

2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study number (AstraZeneca reference number)	Location in CTD
14-day DRF	Mouse / CByB6F1 non-transgenic littermates	Oral (gavage)	0, 50, 100, 300	No	20377186 (1212DM)	4.2.3.2.1
6-week	Mouse / CByB6F1 non-transgenic littermates	Oral (gavage)	0, 25, 75, 150	Yes	20377187 (1213DM)	4.2.3.2.2
MTD/DRF	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	0, 15, 75, 150	No	505104 (4208DR)	4.2.3.2.3
1-month	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	0, 10, 25, 75	Yes	506480 (4229AR)	4.2.3.2.4
3-month	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	0, 0.1, 0.25, 1, 5	Yes	521854 (4517PR)	4.2.3.2.5
6-month	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	0, 10, 25, 75	Yes	509329 (4306PR)	4.2.3.2.6
MTD/DRF	Dog / Beagle	Oral (gavage)	10, 20	No	505120 (1624DD)	4.2.3.2.7
1-month	Dog / Beagle	Oral (gavage)	0, 5, 10, 20	Yes	506464 (1634AD)	4.2.3.2.8
9-month	Dog / Beagle	Oral (gavage)	0, 5, 10, 20	Yes	509313 (1695FD)	4.2.3.2.9
Embryofetal development	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	0, 0.001, 0.01, 0.024/0.030 [a], 0.073/0.091 [a]	Yes	490005 (4307RR)	4.2.3.5.2.1
Mechanistic	Rat / Long Evans	Oral (gavage)	0, 6.8, 75, 100	No	BE003082-27	4.2.3.7.3.10
4-week (impurity qualification)	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	0, 10	Yes	20500689 (4880AR)	4.2.3.7.6.1
Investigative	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	0, 50, 200, 400	No	BE001738-15	4.2.3.7.3.1

[a] Animals dosed at lower dose on Gestation Days 6-12, and at higher dose on GD 13-16

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

Dose (mg/kg/day)	Plasma $AUC_{(0-24)}$ (h.µmol/L)						Plasma C_{max} (µmol/L)					
	Mouse		Rat		Dog		Mouse		Rat		Dog	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
0.001	-	-	-	BLQ [b]	-	-	-	-	-	BLQ [b]	-	-
0.01	-	-	-	ND [b]	-	-	-	-	-	0.000113 [b]	-	-
0.024/0.030 [a]	-	-	-	0.00165 [b]	-	-	-	-	-	0.000293 [b]	-	-
0.073/0.091 [a]	-	-	-	0.00517 [b]	-	-	-	-	-	0.000858 [b]	-	-
0.1	-	-	0.00401 [c]	0.00381 [c]	-	-	-	-	0.000689 [c]	0.000760 [c]	-	-
0.25	-	-	0.00804 [c]	0.0119 [c]	-	-	-	-	0.00158 [c]	0.00202 [c]	-	-
1	-	-	0.0791 [c]	0.0948 [c]	-	-	-	-	0.0107 [c]	0.0150 [c]	-	-
5	-	-	0.858 [c]	1.14 [c]	8.85 [d] 8.15 [e]	8.14 [d] 7.14 [e]	-	-	0.113 [c]	0.174 [c]	1.08 [d] 1.00 [e]	1.26 [d] 0.936 [e]
6.8	-	-	1.19 [f]	-	-	-	-	-	0.161 [f]	-	-	-
10	-	-	4.95 [g] 4.51 [h] 1.22 [i]	10.3 [g] 5.02 [h] 3.10 [i]	38.6 [d] 32.6 [e] 24.4 [j]	22.2 [d] 26.8 [e] 23.2 [j]	-	-	0.635 [g] 0.611 [h] 0.184 [i]	1.35 [g] 0.802 [h] 0.341 [i]	3.21 [d] 2.61 [e] 2.35 [j]	2.34 [d] 2.38 [e] 2.53 [j]
15	-	-	4.56 [k]	11.8 [k]	-	-	-	-	0.793 [k]	1.46 [k]	-	-
20	-	-	-	-	112 [d] 119 [e] 108 [j]	82.6 [d] 110 [e] 61.7 [j]	-	-	-	-	8.64 [d] 7.67 [e] 8.61 [j]	6.97 [d] 10.9 [e] 5.19 [j]
25	32.4 [l]	31.4 [l]	15.9 [g] 14.9 [h]	37.8 [g] 24.2 [h]	-	-	3.96 [l]	3.72 [l]	1.78 [g] 1.59 [h]	3.21 [g] 2.12 [h]	-	-
40	-	-	-	-	123 [j]	136 [j]	-	-	-	-	12.3 [j]	11.4 [j]
50	52.7 [m]	50.8 [m]	-	65.0 [n]	-	-	5.64 [m]	5.44 [m]	-	4.59 [n]	-	-
75	98.6 [l]	136 [l]	67.7 [g] 59.1 [h] 54.8 [k]	102 [f] 182 [g] 133 [h] 167 [k]	-	-	11.5 [l]	11.9 [l]	5.27 [g] 4.21 [h] 3.59 [k]	4.91 [f] 10.4 [g] 7.35 [h] 8.95 [k]	-	-

Dose (mg/kg/day)	Plasma $AUC_{(0-24)}$ (h.µmol/L)						Plasma C_{max} (µmol/L)					
	Mouse		Rat		Dog		Mouse		Rat		Dog	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
100	102 [m]	111 [m]	-	144 [f]	-	-	8.14 [m]	8.78 [m]	-	7.78 [f]	-	-
150	182 [l]	204 [l]	100 [k]	332 [k]	-	-	19.7 [l]	13.9 [l]	6.18 [k]	15.4 [k]	-	-
200	-	-	-	535 [n]	-	-	-	-	-	33.3 [n]	-	-
300	225 [m]	210 [m]	-	-	-	-	14.9 [m]	17.2 [m]	-	-	-	-
400	-	-	-	175 [n]	-	-	-	-	-	9.31 [n]	-	-

[a] Animals dosed at lower dose on Gestation Day 6-12, and at higher dose on GD 13-16

[b] Study 490005 – GD 16 data (AUC(0-8) values)

[c] Study 521854 – Week 12 data

[d] Study 506464 – Day 28 data

[e] Study 509313 – Week 39 data

[f] Study BE003082-27 – Day 1/4 data (males/females)

[g] Study 506480 – Day28 data

[h] Study 509329 – Day 180 data

[i] Study 20500689 – Day 28 data

[j] Study 505120 – Day 14 data (Day 1 for 40 mg/kg group: animals terminated on Day 4 due to adverse clinical signs)

[k] Study 505104 – Day 14 data (Day 7 for 150 mg/kg group: animals terminated on Day 8 due to adverse findings)

[l] Study 20377187 – Day 42 data

[m] Study 20377186 – Day 14 data (Day 1 for 300 mg/kg group: animals terminated on Day 6 due to poor tolerability)

[n] Study BE001738-15 – Day 7 data (Day 1 for 400 mg/kg group: animals terminated on Day 4 due to adverse clinical signs and bodyweight loss)

BLQ = All concentrations were below the limit of quantification; ND = Not determined (less than 3 consecutive concentrations were quantified)

- No data at specified dose level

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Batch number	Purity (%)	Specified impurities [a]						Study number (AstraZeneca reference number)	Type of study
		A	B	C	D	E	F		
Proposed specifications:		≤0.4% area			≤0.5% area	≤0.8% area	≤0.2% w/w		
[redacted]	98.7	0	0	2	0.06	0	0	506480 (4229AR)	1-month rat – oral
								506464 (1634AD)	1-month dog – oral
								8379660 (4247BV)	Bacterial mutation assay
								8379661 (4248QV)	Mouse lymphoma cell micronucleus test
								8379662 (4234QR)	Rat bone marrow micronucleus test
								20136267 (4249BV)	*In vitro* phototoxicity assay
[redacted]	99.0	0	0	0.14	0.09	1.09	0.6	20500689 (4880AR)	4-week rat – oral
[redacted]	98.9	0	0	0	0	0	0	20377187 (1213DM)	6-week mouse – oral
[redacted]	98.6	0.48	0	0.1	0.11	0	0	521854 (4517PR)	3-month rat – oral
[redacted]	99.1	0	0.5	0.5	0.09	0	0	509329 (4306PR)	6-month rat – oral
								509313 (1695FD)	9-month dog – oral
								490021 (4308TR)	Female fertility and early embryonic development – rat
								490005 (4307RR)	Embryofetal development – rat

[a] A: 不純物D* , B: 不純物F* , C: 不純物G* , D: 不純物C* , E: 不純物A* , F: 不純物B*

2.6.7.5　単回投与毒性試験

該当なし

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Species / Strain	Method of administration (Vehicle / Formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number
Mouse / CByB6F1 Hybrid (non-transgenic littermates)	Oral (gavage) (water adjusted to pH 4.8 to 5.5)	14 days	0, 50, 100 and 300	3/sex/group 12/sex/group for toxicokinetics	Not assigned	Adverse clinical signs and mean body weight losses resulted in early termination of 300 mg/kg/day group on Day 6. Increased body weight gain at 50 and 100 mg/kg/day. Treatment -related changes in clinical pathology parameters noted at ≥ 50 mg/kg/day. Treatment -related histopathology changes at ≥ 50 mg/kg/day in the thymus (decreased lymphoid cellularity correlating with small thymus and lower thymus weights), lung (increased alveolar macrophages) and testis (Leydig cell hypertrophy) and at 100 mg/kg/day in the bone marrow (increased myeloid cellularity) and liver (decreased hepatocellular rarefaction). Treatment -related organ weight changes (lower dose-related adrenal gland weights, higher dose-related [males] kidney weights and lower dose-related testis weights at ≥ 50 mg/kg/day). Additional findings at 300 mg/kg/day only in the kidney (vacuolation of the tubular epithelium), liver (hepatocellular vacuolation), pancreas (acinar cell vacuolation and acinar cell secretory depletion), spleen (decreased cellularity) and stomach (non-glandular ulceration).	[redacted], USA	20377186

Species / Strain	Method of administration (Vehicle / Formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number
Rat/Han Wistar	Oral (gavage) Solution in Milli-Q water adjusted to pH 4.8-5.5	14 days	0, 15, 75, 150	3M and 3F per treated group 6M+6F in Control group	Not assigned	Daily oral (gavage) administration of AZD9833 at 150 mg/kg/day was not tolerated and all animals were prematurely euthanised on Day 8 due to adverse clinical signs. Dose levels of 15 or 75 mg/kg/day were tolerated for 14 days in rats with histopathological findings observed in the reproductive system (testis, ovary, uterus, cervix and vagina), lung, lymphoreticular system (spleen, thymus and mesenteric lymph nodes) and liver (including enzyme changes). The maximum tolerated dose was considered to be 75 mg/kg/day.	[redacted], UK	505104
Dog / Beagle	Oral (gavage) Solution in purified water adjusted to pH 4.8-5.5	MTD phase: 3 days DRF phase: 14 days	MTD phase: 15, 30, 40 and 50 DRF phase: 10, 20 and 40	MTD phase: 1M+1F DRF phase: 3 groups of 1M+1F	Not assigned	Oral (gavage) administration of AZD9833 caused the premature termination of animals after either a single dose (50 mg/kg) or daily dosing for 4 days (40 mg/kg/day) due to adverse clinical signs. Daily doses of 10 or 20 mg/kg/day were well tolerated for 14 days, with decreased heart rate (including decreased PR and increased QT/QTc intervals), decreased reticulocytes and lymphocytes, increased enzymes (ALT, GLDH and CK) and histopathological findings in the reproductive system (testis, ovary, uterus, cervix and vagina). The maximum tolerated dose was considered to be 20 mg/kg/day for 14 days dosing.	[redacted], UK	505120

All non-pivotal repeat dose studies were non-GLP

F = female, M = male , NOAEL = No Observed Adverse Effect Level

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1　マウス反復投与毒性試験

Report Title: AZD9833: 6 Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the Mouse

Test Item: AZD9833

Species / Strain: Mouse / CByB6F1 Hybrid (non-transgenic littermates)

Duration of dosing: 6 weeks

Study number: 20377187
Sponsor reference number: 1213DM

Age at start of dosing: 9 weeks

Duration of post-dose: None

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)

Testing Facility: [redacted], [redacted]., US

Special features: None.

Vehicle / Formulation: Solution in reverse osmosis deionized water adjusted to pH 4.8 to 5.5 with 1N hydrochloric acid and/or 1N sodium hydroxide

No observed adverse-effect level: Not determined.

Conclusion: Administration of AZD9833 by once daily oral gavage for 6 weeks was tolerated in CByB6F1 Hybrid (non-transgenic littermates) mice at levels of 25, 75 and 150 mg/kg/day based on the lack of AZD9833-related mortality, lack of adverse clinical signs and absence of an effect (males) or increases (females) in body weights. However, AZD9833-related target organs with microscopic changes were determined in the endocrine system (adrenal and pituitary glands), liver, female and male reproductive tract (ovary, oviduct, uterus/cervix and vagina; testis), exocrine glands (mammary and mandibular salivary gland), kidney, thymus and lung. Based on the severity of the microscopic findings in the ovary (hemorrhagic follicles, decreased corpora lutea and follicular cysts) and uterus (endometrial atrophy) for females and the thymus (decreased lymphoid cellularity) for males at all dose levels, a no-observed-adverse-effect level (NOAEL) was not determined.

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		25		75		150	
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Toxicokinetics [a]:								
$AUC_{(0\text{-}24)}$ (h·nmol/L)			31900		117000		191000	
C_{max} (nmol/L)			3840		11700		16800	
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund [b]	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%) [c]	(g)							
Day 43		25.68		+8.22		+19.86**		+14.80*
Food Consumption (%) [c]	(g/animal/day)							
Day 1-42		9.43		-17.38***		-9.00		-26.56***
Clinical Observations [d]	-	-	+	+	++	+	+++	+
Haematology								
Lymphocytes (x $10^3/\mu L$)	4.858	3.826	4.234	2.916	3.816	2.882	3.566	2.614
White blood cells (x $10^3/\mu L$)	5.724	4.628	5.476	4.552	4.782	3.552	4.306	3.358
Serum Chemistry								
Cholesterol (mg/dL)	121.6		101.6		102.4		86.4**	
Globulin (g/dL)		1.02		1.24**		1.20*		1.20*
Phosphorus (mg/dL)		8.42		9.52		6.14		5.98
Triglycerides (mg/dL)	137.0	179.2	139.6	178.6	159.0	158.8	114.4	130.4
Organ Weights (%) [c,e]	(g)							
Adrenal gland	0.00326	0.00633	-3.37	-29.86*	+13.19	-30.02*	+4.60	-26.22
Heart	0.1471	0.1208	+10.27*	+13.91**	+14.41**	+23.01***	+13.87**	+21.19***
Kidney	0.4794	0.3125	+28.91***	+39.81***	+21.99***	+37.98***	+19.77**	+36.61***
Liver/gallbladder	1.3960	1.0438	-3.24	+13.02	+7.54	+17.07	+8.23	+21.79*
Ovary	NA	0.0132	NA	+100.76***	NA	+55.30**	NA	+47.73**
Spleen	0.0684	0.0875	-11.40*	-16.80	-5.70	-24.00*	-14.91**	-28.69**
Thymus	0.0347	0.0381	-56.20***	-60.37***	-69.16***	-44.09***	-74.35***	-48.03***
Uterus/cervix	NA	0.1457	NA	-29.51**	NA	-44.47***	NA	-50.72***

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		25		75		150	
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Gross Pathology								
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Ovary								
Dark discoloration	NA	0	NA	6	NA	7	NA	8
Enlargement	NA	0	NA	1	NA	1	NA	0
Thymus Small	0	0	1	1	4	0	5	0
Uterus/cervix Small	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Histopathology								
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Adrenal gland	(9)							
Atrophy, cortex								
Minimal	0	0	0	2	0	4	0	3
Mild	0	0	0	1	0	3	0	4
Increased pigment, X-zone								
Minimal	0	0	0	10	0	9	0	9
Kidney			(0)		(0)			
Metaplasia, capsular, epithelial								
Minimal	0	0		4		5	0	3
Mild	0	0		4		5	0	7

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		25		75		150	
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Liver								
Cytoplasmic rarefaction, decreased								
Minimal	0	0	3	0	2	4	0	1
Mild	0	0	0	0	4	4	4	6
Moderate	0	0	0	0	0	0	4	1
Hepatocellular vacuolation, midzonal								
Minimal	0	0	3	0	3	3	3	4
Mild	0	0	0	0	2	0	2	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	4	0
Hepatocellular hypertrophy, centrilobular								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	3
Lung								
Increased alveolar macrophages								
Minimal	0	0	0	0	2	2	5	3
Mammary gland			(0)		(0)			
Epithelial atrophy								
Minimal	0	0		0		0	0	1
Mild	0	0		0		0	0	1
Moderate	0	0		4		2	0	5
Marked	0	0		6		7	0	2
Severe	0	0		0		1	0	1
Mandibular salivary gland			(0)		(0)			
Increased ductular granules								
Moderate	0	0		1		0	0	0
Marked	0	0		9		10	0	10

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		25		75		150	
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Ovary Cyst, follicle	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1
Decreased number of corpora lutea								
Marked	NA	0	NA	9	NA	2	NA	1
Severe	NA	0	NA	1	NA	8	NA	9
Hemorrhage, follicle								
Mild	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Moderate	NA	0	NA	5	NA	6	NA	1
Marked	NA	0	NA	5	NA	3	NA	7
Severe	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1
Oviduct Epithelial atrophy								
Minimal	NA	0	NA	3	NA	4	NA	2
Mild	NA	0	NA	4	NA	4	NA	3
Moderate	NA	0	NA	2	NA	0	NA	3
Marked	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2
Pituitary Hypertrophy, pars distalis			(0)		(0)	(9)	(9)	(9)
Minimal	0	0		2		1	0	2
Testis								
Atypical residual bodies								
Minimal	0	NA	0	NA	7	NA	8	NA
Leydig cell hypertrophy								
Minimal	0	NA	8	NA	9	NA	8	NA
Mild	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Thymus	(9)		(7)		(8)	(8)	(9)	
Decreased lymphoid cellularity								
Minimal	0	0	1	1	0	0	0	3
Mild	0	0	0	0	3	0	2	0
Moderate	0	0	4	0	3	0	1	0
Marked	0	0	2	1	1	0	1	0
Severe	0	0	0	0	0	0	3	0

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		25		75		150	
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Uterus/cervix								
Endometrial atrophy								
Minimal	NA	0	NA	4	NA	1	NA	2
Mild	NA	0	NA	3	NA	5	NA	2
Moderate	NA	0	NA	1	NA	4	NA	5
Marked	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Vagina								
Epithelial atrophy								
Minimal	NA	0	NA	3	NA	0	NA	0
Mild	NA	0	NA	5	NA	7	NA	9
Moderate	NA	0	NA	2	NA	3	NA	1
Increased mucification								
Minimal	NA	0	NA	6	NA	0	NA	0

M = male; F = female; NA = not applicable; - No noteworthy findings; + Mild; ++ Moderate; +++ Marked.

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001. Body weight, food consumption, haematology, serum chemistry and organ weight data analysed using Dunnett's or Dunn's Test.

[a] Day 42 mean data shown. Additional satellite animals (12/sex/group) were included for toxicokinetic evaluation. There was a quantifiable concentration of AZD9833 in one Day 1 sample taken from a Group 1 animal (F1521, 18.3 nmol/L) dosed with vehicle (control dose**)** at the 24-hour interval only. The plasma concentration of AZD9833 in the sample from the control animal was 9 times the lower limit of quantification (LLOQ) and was approximately 2.5 times higher than the mean at the corresponding time point and sex in animals that had received the test compound at the lowest dose. Based on the low incidence, the quantifiable concentration may be the result of *ex vivo* or *in vivo* contamination and did not appear to impact the determination of dose exposure relationships, and was likely the result of an unknown source of *ex vivo* contamination and did not impact the integrity of the study.

[b] One satellite TK animal (150 mg/kg/day female) was found dead on Day 11. This was not considered AZD9833 related.

[c] 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).

[d] AZD9833-related clinical observation of erected fur was noted at ≥ 25 mg/kg/day in males and ≥ 75 mg/kg/day in females. Dehydration was noted at ≥ 75 mg/kg/day in males and at 25 mg/kg/day in females.

[e] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Displayed figures are for the absolute organ weight effects.

2.6.7.7.2　　ラット反復投与毒性試験

AZD9833: One Month Oral (Gavage) Toxicity Study with Assessment of Recovery in the Rat

Test Article: AZD9833

Species / Strain: Rat/ Han Wistar

Duration of dosing: 28 Days

Study number: 506480

Age at start of dosing: 10 Weeks

Duration of post-dose: 28 Days

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: Oral Gavage

Testing Facility: [redacted] UK

Special features: N/A

Vehicle / Formulation: Deionised, purified water adjusted to pH 4.8-5.5 with 1N hydrochloric acid (HCl).

No observed adverse-effect level: 75 mg/kg/day in males, not established in females.

Conclusion: In conclusion, daily oral (gavage) administration of AZD9833 at 75 mg/kg/day was well tolerated with effects on body weight gain (decreased gain in males and increased gain in females) and food consumption. At 10 mg/kg/day or above histopathological findings were observed in the reproductive system (ovary, uterus, cervix and vagina), lung (macrophage aggregation with phospholipidosis) and liver (vacuolation of the biliary epithelium in females only). A no observed adverse effect level (NOAEL) was not established in females due to reproductive histopathology findings. The male NOAEL was considered to be 75 mg/kg/day.

Daily Dose (mg/kg/day)	0		10		25		75	
Number of Animals Main Recovery	M:10 M:5	F:10 F:5	M:10 M:0	F:10 F:0	M:10 M:0	F:10 F:0	M:10 M:5	F:10 F:5
Toxicokinetics[a]:								
C_{max} (µmol/L)			0.635	1.35	1.78	3.21	5.27	10.4
$AUC_{(0-8)}$ (µmol.h/L)			3.21	6.59	9.26	20.4	35.1	73.5
$AUC_{(0-24)}$ (µmol.h/L)			4.95	10.3	15.9	37.8	67.7	182
Noteworthy Findings (Main Study)								
Died or Premature Kill	0	0	0	0	0	0	0	1
Body Weight Gain (%)[b]								
Day 1-29	67.9	33.1	-16.1	+113.7***	-25.4**	+152.0***	-44.8***	113.0***
Food Consumption (%)[c]								
Day 1-8	27.16	19.47	+2.1	+16.0**	-2.6	+3.6	-14.9***	-7.5
Day 8-15	27.16	19.80	+0.3	+22.0***	-3.5	+17.4**	-10.2*	+6.1
Day 15-22	26.89	20.01	-4.9	+16.7**	-8.5	+19.1**	-13.1**	+8.2
Day 22-29	26.03	19.04	-6.0	+15.9***	-9.0	+18.7***	-12.2**	12.2**
Clinical Observations								
Salivation	-	-	-	-	+	+	+	+
Ploughing	-	-	-	-	+	+	+	+
limited usage of hind limb	-	-	-	-	-	-	+	+
Haematology[d]								

Daily Dose (mg/kg/day)	0		10		25		75	
Number of Animals Main Recovery	M:10 M:5	F:10 F:5	M:10 M:0	F:10 F:0	M:10 M:0	F:10 F:0	M:10 M:5	F:10 F:5
White Blood Cells (10^9/L)	7.08	4.19	1.10	1.45	0.99	1.53*	1.17	2.34***
Neutrophils (10^9/L)	1.22	0.76	0.92	1.04	0.86	1.20	1.08	2.14**
Lymphocytes (10^9/L)	5.57	3.23	1.14	1.55	1.01	1.60*	1.19	2.42***
Monocytes (10^9/L)	0.12	0.07	0.98	1.53	1.04	1.68	1.56	2.37**
Reticulocytes (10^9/L)	203.57	177.28	0.95	1.07	0.88	1.10	0.72***	1.13
Plasma Chemistry[e]								
Alkaline Phosphatase (U/L)	129.70	70.00	0.99	1.90**	0.93	1.99***	0.96	2.00***
Glutamate Dehydrogenase (U/L)	5.34	9.43	1.25	0.46	1.45*	0.48	2.66***	1.39*
Bile Acid Plasma (umol/L)	4.48	7.01	2.16	1.65	2.67	1.27	5.57***	2.96*
Albumin (g/L)	48.2	54.30	0.97	0.91	0.99	0.89	1.04	0.92*
Cholesterol (mmol/L)	1.69	1.59	0.69**	0.68	0.63***	0.72**	0.73*	0.72**
Phosphate (mmol/L)	1.69	1.20	1.11	1.55***	1.00	1.41*	0.83*	1.57***
Potassium (mmol/L)	5.30	5.03	1.04	1.20***	1.10***	1.16**	1.03	1.18***
Urine Chemistry[f]								
Protein: Creatinine ratio	75.97	25.88	2.32	1.34	1.28	1.39**	1.18	1.41*

Daily Dose (mg/kg/day)	0		10		25		75	
Number of Animals Main Recovery	M:10 M:5	F:10 F:5	M:10 M:0	F:10 F:0	M:10 M:0	F:10 F:0	M:10 M:5	F:10 F:5
Organ Weights[g]								
Adrenal Gland	0.835	0.0959	0.0688*	0.0729**	0.0639**	0.0771**	0.0657**	0.0694***
Pituitary Gland	0.0093	0.0125	0.0082	0.0088***	0.0083	0.0089***	0.0074**	0.0099***
Lung	1.6654	1.2846	1.6951	1.3747	1.6287	1.5167	2.1062**	3.5060***
Ovary	-	0.1074	-	0.2207***	-	0.2112***	-	0.1809***
Uterus	-	0.7399	-	0.2527***	-	0.2469***	-	0.2908***
Gross Pathology								
Lungs (No. examined)	10	10	10	10	10	10	10	10
Abnormal consistency	0	0	1	0	0	0	0	8
Ovary (No. examined)	-	10	-	10	-	10	-	10
Enlargement	-	0	-	5	-	3	-	4
Focus, dark	-	0	-	1	-	1	-	2
Cyst, clear	-	0	-	5	-	7	-	6
Cyst, dark	-	0	-	0	-	1	-	1
Histopathology								
Lung (No. examined)[h]	10	10	10	10	10	10	10	10
Macrophage aggregation; alveolar	0	0	0	0	0	0	8	10
Minimal	0	0	0	0	0	0	4	0
Mild	0	0	0	0	0	0	4	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	9

Daily Dose (mg/kg/day)	0		10		25		75	
Number of Animals Main Recovery	M:10 M:5	F:10 F:5	M:10 M:0	F:10 F:0	M:10 M:0	F:10 F:0	M:10 M:5	F:10 F:5
Liver (No. examined)	10	10	10	10	10	10	10	10
Vacuolation, bile duct	0	0	0	0	0	0	0	9
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	7
Cervix (No. examined)	-	10	-	10	-	9	-	10
Atrophy, epithelial	-	0	-	10	-	9	-	10
Mild	-	0	-	0	-	0	-	0
Moderate	-	0	-	10	-	9	-	10
Mammary Gland (No. examined)	-	10	-	10	-	10	-	10
Hypertrophy/ hyperplasia	-	0	-	10	-	10	-	10
Minimal	-	0	-	3	-	2	-	3
Mild	-	0	-	5	-	5	-	3
Moderate	-	0	-	2	-	3	-	4
Ovary (No. examined)	-	10	-	10	-	10	-	10
Cyst, follicle	-	0	-	10	-	10	-	10
Minimal	-	0	-	1	-	0	-	0
Mild	-	0	-	4	-	6	-	3
Moderate	-	0	-	5	-	4	-	7
Uterus (No. examined)	-	10	-	10	-	10	-	10

Daily Dose (mg/kg/day)	0		10		25		75	
Number of Animals Main Recovery	M:10 M:5	F:10 F:5	M:10 M:0	F:10 F:0	M:10 M:0	F:10 F:0	M:10 M:5	F:10 F:5
Atrophy	-	0	-	10	-	10	-	10
Moderate	-	0	-	10	-	10	-	10
Vagina (No. examined)	-	10	-	10	-	9	-	10
Atrophy, epithelial	-	0	-	10	-	9	-	10
Mild	-	0	-	0	-	0	-	0
Moderate	-	0	-	10	-	9	-	10
Mucification	-	0	-	0	-	0	-	0
Mild	-	0	-	0	-	0	-	0
Post-dose Examination (Recovery)								
Number evaluated	5	5	-	-	-	-	5	5
Noteworthy Findings	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight Gain[b]								
Day 29-57	38.0	22.0	-	-	-	-	-0.5	-39.8**
Haematology[d]								
Reticulocytes (10^9/L)	172.20	176.22	-	-	-	-	1.16*	0.71*
Plasma Chemistry[e]								
Albumin (g/L)	45.60	53.20	-	-	-	-	1.02	0.84*
Organ Weights (%)[g]								
Uterus	-	0.9486	-	-	-	-	-	0.3815**
Histopathology								

Daily Dose (mg/kg/day)	0		10		25		75	
Number of Animals Main Recovery	M:10 M:5	F:10 F:5	M:10 M:0	F:10 F:0	M:10 M:0	F:10 F:0	M:10 M:5	F:10 F:5
Lung (No. examined)	5	5	-	-	-	-	5	4
Macrophage aggregation	0	0	-	-	-	-	0	4
Minimal	0	0	-	-	-	-	0	3
Mild	0	0	-	-	-	-	0	1
Moderate	0	0	-	-	-	-	0	0
Cervix (No. examined)	-	5	-	-	-	-	-	4
Atrophy, epithelial	-	0	-	-	-	-	-	3
Mild	-	0	-	-	-	-	-	1
Moderate	-	0	-	-	-	-	-	2
Ovary (No. examined)	-	5	-	-	-	-	-	4
Cyst, follicle	-	0	-	-	-	-	-	4
Minimal	-	0	-	-	-	-	-	2
Mild	-	0	-	-	-	-	-	2
Vagina (No. examined)	-	5	-	-	-	-	-	4
Atrophy, epithelial	-	0	-	-	-	-	-	3
Mild	-	0	-	-	-	-	-	1
Moderate	-	0	-	-	-	-	-	2
Mucification	-	0	-	-	-	-	-	3
Mild	-	0	-	-	-	-	-	3

M = male,　F = female; -　No noteworthy findings; +　Mild; ++　Moderate; +++　Marked

[a] Day 28 presented

[b] Bodyweight significantly different from control group 1 value: *=p≤0.05, **=p≤0.01, ***=p≤0.001 (Dunnett)

[c] Food Consumption significantly different from control group 1 value: *=p≤0.05, **=p≤0.01, ***=p≤0.001 (Dunnett)

[d] Haematology significantly different from control group 1 value: *=p≤0.05, **=p≤0.01, ***=p≤0.001 (Dunn)

[e] Clinical Chemistry significantly different from control group 1 value: *=p≤0.05, **=p≤0.01, ***=p≤0.001 (Dunn)

[f] Urine Chemistry significantly different from control group 1 value: *=p≤0.05, **=p≤0.01, ***=p≤0.001 (Dunn)

[g] Absolute organ weight shown significantly different from control group 1 value: *=p≤0.05, **=p≤0.01, ***=p≤0.001 (Dunnett)

[h] Electron microscopy, at the end of the dosing period, ultrastructural findings of lysosomal accumulation of myelinoid material (lamellar bodies) in alveolar macrophages were noted in the lungs of male and female rats dosed at 75 mg/kg/day. Similar material accumulation within the lamellar bodies of Type II epithelial cells and rarely within the cytoplasm of endothelial cells were also seen. These findings were considered consistent with phospholipidosis. Increased numbers of alveolar macrophages and intra-alveolar accumulation of cellular debris and surfactant were also observed.

Report Title: AZD9833: A 13 Week Oral (Gavage) Dose Range Finding Toxicity Study in the Rat

Test Article: AZD9833

Species / Strain: Rat / Han Wistar CRL

Duration of dosing: 13 Weeks (due to lack of test item study terminated in Week 12)

Study number: 521854

Age at start of dosing: 6-7 weeks

Duration of post-dose: None

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)

Testing Facility: [redacted], [redacted], UK

Special features: None

Vehicle / Formulation: Deionised, purified water adjusted to pH 4.8-5.5 with 1N hydrochloric acid

No observed adverse-effect level: As stated in conclusion below.

Conclusion: Administration of AZD9833 orally at 0.1, 0.25, 1 or 5 mg/kg/day for 12 weeks was tolerated in males and females but with dose related lower body weight gains in males up to 5 mg/kg/day and females up to 1 mg/kg/day and associated changes in food and water consumption. There were adverse effects throughout the female reproductive organs (ovary, uterus, cervix, vagina and oviduct) at all dose levels. AZD9833-related histopatholgy findings in females included cortical (zona fasciculata) atrophy in the adrenal gland, mammary gland

hypertrophy/hyperplasia, ovarian cysts, increased number of corpora lutea, granulosa cellhyperplasia, atrophy in the uterus/cervix and vaginal epithelium and increased mucification of the vaginal epithelium. There were minor changes in plasma chemistry at all dose levels in both males and females. Based on these results the no-observed adverse effect level (NOAEL) for males was 5 mg/kg/day. For females, a no-observed adverse effect level was not established..

Daily Dose (mg/kg)	Vehicle (0)		0.1		0.25		1		5	
Nmber of Animals Main Recovery	M: 10 M: 0	F:10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M:0	F: 10 F:0
Toxicokinetics [a]:			4.01	3.81	8.04	11.9	52.4	68.9	579	839
$AUC_{(0-8)}$[b] (µmol h/L)										
C_{max} (µmol/L)			0.689	0.760	1.58	2.02	10.7	15.0	113	174
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bodyweight gain (%) [c]	(g)									
Day 1-84	256.2	88.3	-10.8	-20.6*	-12.8*	-25.9**	-20.1***	-32.4***	-26.3***	5.8
Serum Chemistry										
ALP (U/L)										
Day 26/27/28	217.8	111.0	244.0	170.6**	242.4	167.9**	244.5	189.3***	220.4	173.4**
Day 82/83/84	112.6	69.6	125.5	104.7	131.7	96.2	131.0	113.2**	130.2	139.2***
ALB (g/L)										
Day 26/27/28	45.88	50.67	45.35	44.03***	44.90	44.57***	45.69	45.70*	43.95	45.42**
Day 82/83/84	43.57	52.38	42.42	42.31***	43.84	43.24***	45.09	43.35***	41.76	43.99**
CHOL (mmol/L)										
Day 26/27/28	1.867	1.534	1.505	1.221	1.456*	1.502	1.387*	1.248	1.241***	1.086**
Day 82/83/84	1.921	1.876	1.431*	1.397	1.333**	1.714	1.442*	1.560	1.351**	1.005***
Gross Pathology										
Ovary (No. examined)		10		10		10		10		10
Focus, dark; black		0		0		0		2		5

Daily Dose (mg/kg)	Vehicle (0)		0.1		0.25		1		5	
Nmber of Animals Main Recovery	M: 10 M: 0	F:10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M:0	F: 10 F:0
Organ Weights[d]										
Adrenal gland (No. weighed)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Absolute value (g)	0.05737	0.08853	+11.8	1.17	-0.47	-6.20	-1.05	-5.51	-12.3	-38.1
Pituitary Gland (No. examined)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Absolute weight (g)	0.00820	0.01268	-0.24	-28.3***	-18.05	-31.9***	-1.71	-42.2***	-16.1	-41.2
Ovary (No. weighed)		10		10		10		10		10
Absolute value (g)		0.1177		-5.52		-23.8		3.40		81.6***
Uterus/cervix/oviduct (No. weighed)		10		10		10		10		10
Absolute value (g)		0.9516		-40.3***		-48.0***		-51.5***		-67.1***
Histopathology										
Number examined (unless otherwise specified)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Adrenal Gland (No. examined)	10	10	0	10	0	10	0	10	9	10
Atrophy; cortical	0	0		0		0		0	0	4
Minimal		0		0		0		0		4
Mammary gland (No. examined)	9	10	0	9	0	9	0	10	9	10

Daily Dose (mg/kg)	Vehicle (0)		0.1		0.25		1		5	
Nmber of Animals Main Recovery	M: 10 M: 0	F:10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M:0	F: 10 F:0
Hypertrophy/ hyperplasia; alveolus/ duct		0		0		0		0		10
Minimal	0	0		0		0		0	0	1
Mild	0	0		0		0		0	0	9
Ovary (No. examined)										
Cyst		0		2		2		9		10
Minimal		0		2		1		3		3
Mild		0		0		1		5		2
Moderate		0		0		0		1		5
Hyperplasia: granulosa cell		0		0		0		0		9
Minimal		0		0		0		0		7
Mild		0		0		0		0		2
Corpora lutea; number increased		0		0		0		0		8
Minimal		0		0		0		0		4
Mild		0		0		0		0		4
Uterus/cervix (No. examined)		10		10		10		10		10
Atrophy		0		7		9		10		10
Minimal		0		7		8		4		0

Daily Dose (mg/kg)	Vehicle (0)		0.1		0.25		1		5	
Nmber of Animals Main Recovery	M: 10 M: 0	F:10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M:0	F: 10 F:0
Mild		0		0		1		5		0
Moderate		0		0		0		1		10
Vagina (No. examined)		10		10		10		10		10
Atrophy; epithelial		0		0		0		5		10
Minimal		0		0		0		4		0
Mild		0		0		0		1		5
Moderate		0		0		0		0		4
Marked		0		0		0		0		1
Mucification; increased		0		3		4		6		6
Minimal		0		2		4		1		4
Mild		0		1		0		4		2
Moderate		0		0		0		1		0

M = male,　F = female.

- No noteworthy findings

*p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001. Haematology and serum chemistry data analysed using Kruskal-Wallis & Dunn and organ weight data analysed using Dunnett's test.

a　Week 12 mean data shown.

b　A partial area up to 8 hours, AUC(0-8), was calculated and reported to aid interpretation.

c　There was also a trend towards lower mean food and water consumption at dose levels up to 5 mg/kg/day in males and females compared with controls, however, in females at 5 mg/kg/day this trend was less apparent for food consumption.

[d]　For controls, actual group means are shown, for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not percent difference).　Changes noted in both absolute and relative to body weight, absolute values only presented.

Report Title: AZD9833: 26 Week Oral (Gavage) Toxicity Study with Assessment of Male Fertility in the Rat

Test Article: AZD9833

Species / Strain: Rat/Han Wistar

Duration of dosing: at least 26 weeks

Study number: 509329

Age at start of dosing:

4–6 weeks

Duration of post-dose: None

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)

Testing Facility: [redacted], [redacted], UK

Special features: An assessment of male fertility

Vehicle / Formulation: Deionised, purified water adjusted to pH 4.8-5.5 with 1N hydrochloric acid

No observed adverse-effect level: A no observed adverse effect level was not established.

Conclusion: Oral (gavage) administration of AZD9833 to rats at 10, 25 or 75 mg/kg/day for at least 26 weeks was tolerated but with lower body weight gains in males and higher body weight gains in females, plus associated changes in food consumption. At all dose levels there were adverse effects throughout the male and female reproductive organs and in males, an adverse effect on reproductive performance.

In males there was atrophy and/or degeneration in the prostate gland, seminal vesicle and testis (plus tubular dilatation) with decreased sperm cellularity in the epididymis. There was lower spermatid/sperm counts, a higher percentage of sperm abnormalities, lower sperm motility and lower mating and pregnancy rates.

In females there was atrophy of the cervix, ovary, oviduct, uterus, vagina, hyperplasia/hypertrophy of the mammary gland and ovary (granulosa cell hyperplasia), ovarian cysts, increased number of corpora lutea and ovarian tumours.

Other pathology included, cardiomyopathy, bile duct epithelial vacuolation in the liver macrophage aggregation and mixed cell infiltration in the lung and macrophage aggregation in the mesenteric lymph node and spleen.

A no observed adverse effect level was not established.

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		10		25		75	
Number of Animals Main	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Toxicokinetics [a]: Day 180								
$AUC_{(0\text{-}t)}$ (µmol·h/L)	-	-	4.51	5.02	14.9	24.2	59.1	133
C_{max} (µmol/L)	-	-	0.611	0.802	1.59	2.12	4.21	7.35
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight Gain (%) [b]	(g)							
Day 1 - 183	303.9	129.9	-25	+60	-27	+73	-36	+75
Food Consumption (%) [b]	(g/animal/day)							
Day 1-8	19.8	13.8	-5.1	19.1***	-7.1*	12.4**	-9.9**	16.1***
Day 85-92	22.2	15.3	-9.6*	13.7*	-9.4*	21.9***	-17.6***	25.4***
Day 176-183	21.9	14.6	-14.9***	13.3**	-19.1***	13.5**	-24.2***	13.5**
Haematology (Week 26) [d]								
Neutrophils (10^9/L)	0.967	0.494	0.77	1.11	0.84	1.03	1.06	2.39***
Lymphocytes (10^9/L)	3.857	2.478	0.97	1.54**	1.07	1.65**	1.46***	2.17***
Monocytes (10^9/L)	0.077	0.049	0.90	1.20	1.03	1.65	1.64	3.73***
Eosinophils (10^9/L)	0.111	0.086	0.90	1.19	1.03	1.31	1.05	1.36
Organ Weights (%) [b,c]	(g)							
Adrenal Gland	0.05121	0.06900	- 8.96	-37.26***	-10.49	-34.10***	-12.29	-28.97***
Pituitary Gland	0.00892	0.01209	-20.25*	-39.00***	-21.08*	-35.20***	-33.63***	-37.89***
Prostate Gland	0.6089		-41.22***		-56.86***		-50.62***	
Lung	1.6777	1.2297	-11.16	18.87	-13.37*	17.29	-3.28	213.84***
Ovary		0.1161		152.73***		90.58*		1.38

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		10		25		75	
Number of Animals Main	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Uterus		0.8994		70.43***		72.19***		74.68***
Histopathology								
Cervix (No. examined)	-	15	-	15	-	15	-	15
Atrophy	-	0	-	15	-	15	-	15
Moderate	-	0	-	15	-	15	-	15
Oviduct (No. examined)	-	15	-	15	-	15	-	15
Atrophy	-	0	-	15	-	11	-	11
Moderate	-	0	-	15	-	11	-	11
Uterus (No. examined)	-	15	-	15	-	15	-	15
Atrophy	-	0	-	15	-	15	-	15
Moderate	-	0	-	15	-	15	-	15
Ovary (No. examined)	-	15	-	15	-	15	-	15
Granulosa cell tumour, benign	-	0	-	0	-	0	-	3
Atrophy	-	0	-	0	-	4	-	15
Moderate	-	0	-	0	-	4	-	14
Marked	-	0	-	0	-	0	-	1
Cyst	-	0	-	15	-	14	-	13
Mild	-	0	-	3	-	2	-	10
Moderate	-	0	-	12	-	10	-	3
Marked	-	0	-	0	-	2	-	0
Hyperplasia, granulosa cell	-	0	-	1	-	1	-	5
Mild	-	0	-	0	-	0	-	1
Moderate	-	0	-	1	-	1	-	4
Increased number, corpora lutea	-	0	-	9	-	9	-	0
Moderate	-	0	-	9	-	9	-	0

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		10		25		75	
Number of Animals Main	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Gland, Prostate (No. examined)	15	-	15	-	15	-	15	-
Atrophy	0	-	4	-	15	-	12	-
Minimal	0	-	1	-	0	-	1	-
Mild	0	-	2	-	9	-	3	-
Moderate	0	-	1	-	6	-	8	-
Gland, Seminal Vesicle (No. examined)	15	-	15	-	15	-	15	-
Atrophy	0	-	3	-	14	-	11	-
Mild	0	-	2	-	8	-	4	-
Moderate	0	-	1	-	6	-	7	-
Testis (No. examined)	15	-	15	-	15	-	15	-
Degeneration/atrophy	0	-	3	-	6	-	8	-
Minimal	0	-	1	-	4	-	0	-
Mild	0	-	0	-	0	-	6	-
Moderate	0	-	2	-	2	-	2	-
Dilation, tubular	0	-	3	-	6	-	8	-
Minimal	0	-	1	-	4	-	1	-
Mild	0	-	0	-	0	-	5	-
Moderate	0	-	2	-	2	-	2	-
Epididymis (No. examined)	15	-	15	-	15	-	15	-
Decreased cellularity, sperm	0	-	3	-	6	-	8	-
Minimal	0	-	1	-	4	-	0	-
Mild	0	-	1	-	1	-	8	-
Moderate	0	-	1	-	1	-	0	-
Mammary Gland (No. examined)	15	15	0	15	0	15	15	15
Hypertrophy/hyperplasia	0	0	-	15	-	15	0	15
Mild	0	0	-	7	-	1	0	2
Moderate	0	0	-	8	-	14	0	13

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		10		25		75	
Number of Animals Main	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Heart (No. examined)	15	15	15	15	15	15	15	15
Cardiomyopathy	1	0	0	0	0	2	1	2
Minimal	1	0	0	0	0	0	1	1
Mild	0	0	0	0	0	2	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Liver (No. examined)	15	15	15	15	15	15	15	15
Vacuolation, epithelial, bile duct	0	0	0	0	0	0	15	15
Minimal	0	0	0	0	0	0	15	14
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Lung (No. examined)	15	15	15	15	15	15	15	15
Macrophage aggregation	2	1	3	2	0	3	10	15
Minimal	2	1	3	2	0	3	2	1
Mild	0	0	0	0	0	0	8	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	6
Marked	0	0	0	0	0	0	0	7
Infiltration, mixed cell	0	0	0	0	0	0	0	14
Mild	0	0	0	0	0	0	0	14
Haemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	5
Mild	0	0	0	0	0	0	0	5
Lymph node, mesenteric (No. examined)	15	15	15	15	15	15	15	15
Macrophage aggregation	2	3	1	1	0	0	10	11
Minimal	2	2	1	1	0	0	7	4
Mild	0	1	0	0	0	0	3	7

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		10		25		75	
Number of Animals Main	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Spleen (No. examined)	15	15	0	15	0	15	15	15
Macrophage aggregation Mild	0 0	0 0		0 0		0 0	0 0	1 1
Additional Examinations								
Salient sperm analysis findings								
Motility (CASA)[b]								
Motile sperm (%)	72	-	-7	-	-7	-	-36	-
Progressively motile sperm (%)	10	-	-20	-	-20	-	-30	-
VSL (μm/s)	123	-	-7	-	-7	-	-12	-
Sperm Counts[b]								
No. of sperm per gram of cauda ($x10^6$)	411	-	-3	-	-25	-	56	-
Total No. of sperm per cauda ($x10^6$)	130	-	-24	-	-45	-	-75	-
Sperm morphology[b]								
Abnormal sperm including tail defects (%)	0.6	-	1.2	-	1.7	-	9.4	-
Abnormal sperm excluding tail defects (%)	0.1	-	0.3	-	0.6	-	5.3	-
Spermatid Counts[b]								
No. of spermatid per gram of testis ($x10^6$)	86	-	-17	-	-15	-	-28	-
Total No. of spermatid per testis ($x10^6$)	165	-	-21	-	-19	-	-36	-

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		10		25		75	
Number of Animals Main	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Fertility Assessment								
Number of Females Pregnant	-	15	-	14	-	12	-	5
% [e]	-	100	-	93.3	-	80	-	33.3
Females with Live Fetuses	-	15	-	14	-	12	-	4
% [f]	-	100	-	100	-	100	-	80
Number of Implantations[b]	-	12.6	-	-15.0	-	-10.7	-	-38.1
Pre-implantation Loss (%)[b]	-	4.02	-	188.81	-	52.17	-	462.33
Post-implantation Loss (%)[b]	-	4.33	-	75.61	-	85.47	-	362

M = male,　F = female.

- No noteworthy findings

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001, Data analysed using Dunnett's Test.

[a] Day 180 (Week 26) mean data shown.

[b] For controls, group means are shown, for AZD9833 groups, percent differences from controls are shown.　Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[c] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated.　Displayed figures are for the absolute organ weight effects.

[d] For control, group means (absolute values) are shown; for AZD9833 groups, fold differences from control mean values are shown.

[e] Percentage value based on number of female animals pregnant compared to total number of females in a group.

[f] Percentage value based on number of female animals with live fetuses compared to total number of pregnant females per group.

2.6.7.7.3 イヌ反復投与毒性試験

AZD9833: One Month Oral (Gavage) Toxicity Study with Assessment of Recovery in the Dog

Test Article: AZD9833

Species / Strain: Dog/Beagle

Duration of dosing: 28 Days

Study number: 506464

Age at start of dosing: 13-14 Months

Duration of post-dose: 28 Days

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)

Testing Facility: [redacted] UK

Special features: N/A

Vehicle / Formulation: Deionised, purified water adjusted to pH 4.8-5.5 with 1N hydrochloric acid (HCl).

No observed adverse-effect level: In males the NOAEL was 20 mg/kg/day, however, it was not established in females.

Conclusion: Oral (gavage) administration of AZD9833 up to 20 mg/kg/day was well tolerated in beagle dogs with only a transient increase in pupil size on Day 1 at ≥ 10 mg/kg/day. In addition, the following cardiovascular effects were observed: decreases in diastolic blood pressure, mean arterial pressure, QA interval, heart rate and PR interval and increases in pulse pressure, QT interval, QTca interval. These findings were shown to be reversible, although a subsequent increase in QA interval was noted in the last week of the recovery period. Incidences of atrial premature complexes were also observed in one female dog at 20 mg/kg/day. Histopathological findings were seen at all dose levels at similar severity and were limited to changes in the reproductive system (testes, ovary, uterus, cervix and vagina), including organ weight increases (testes, ovary and uterus). These findings were shown to be reversible. In males the no adverse effect level (NOAEL) was 20 mg/kg/day but in females a NOAEL was not established due to the findings in the female reproductive tract.

Daily Dose (mg/kg/day)	0		5		10		20	
Number of Animals								
Main	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Toxicokinetics[a]:								
C_{max} (µmol/L)			1.08	1.26	3.21	2.34	8.64	6.97
$AUC_{(0-t)}$ (µmol.h/L)			8.85	8.14	38.6	22.2	112	82.6
Noteworthy Findings (Main Study)								
Died or Premature Kill[b]	1	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[b]	-	-	-	-	-	-	+	-
Pupil Size[c]	-	-	-	-	+	+	+	+
Electrocardiology and Blood Pressure[d]								
PR Interval (ms)								
Day 2 1.5hr post-dose	85.3		79.5		79.8		78.3	
Day 10 2hr post-dose	86.7		76.1		73.5		78.2	
Day 25 3.5hr post-dose	84.4		75.5		78.5		79.6	
QA Interval (ms)								
Day 10 2hr post-dose	103.7		97.8		94.5		93.5	
Day 10 2.5hr post-dose	103.7		97.0		95.7		93.8	
Day 10 16hr post-dose	103.6		98.4		97.0		94.0	
QT Interval (ms)								
Day 10 3hr pre-dose	212.6		217.2		222.8		243.9	

Daily Dose (mg/kg/day)	0		5		10		20	
Number of Animals Main Recovery	M:3 M:2	F:3 F:2	M:3 M:0	F:3 F:0	M:3 M:0	F:3 F:0	M:3 M:2	F:3 F:2
Day 10 4hr post-dose	213.3		222.8		225.8		245.9	
QTca Interval								
Day 25 1hr post-dose	214.0		219.2		222.3		232.1	
Heart Rate (bpm)								
Day 25 0.5hr post dose	127.4		114.0		100.5		90.2	
Day 25 1hr post-dose	110.0		106.6		85.9		75.4	
Pulse Pressure (mmHg)								
Day 10 3.5hr post-dose	75.6		84.8		90.9		104.2	
Day 10 6hr post-dose	78.1		86.5		93.7		103.3	
Day 10 12hr post-dose	81.3		90.3		96.1		101.5	
Day 25 2hr pre-dose	79.2		83.7		92.8		96.9	
Arterial pressure (mmHg)								
Day 10 1hr post-dose	143.3		139.4		128.6		124.7	
Day 10 3.5hr post-dose	139.3		133.6		119.0		125.8	
Diastolic blood pressure (mmHg)								
Day 10 1hr post-dose	113.3		106.7		94.7		88.6	
Day 10 3.5hr post-dose	110.0		100.5		84.9		89.0	

Daily Dose (mg/kg/day)	0		5		10		20	
Number of Animals Main Recovery	M:3 M:2	F:3 F:2	M:3 M:0	F:3 F:0	M:3 M:0	F:3 F:0	M:3 M:2	F:3 F:2
Waveform Morphology								
Atrial Premature Complexes[e]								
Day 2 pre-dose	1		0		0		0	
Day 10 pre-dose	1		0		0		1	
Day 10 6hr post-dose	0		1		0		0	
Day 10 12 hr post-dose	0		0		0		1	
Day 25 0.5hr post-dose	0		0		0		1	
Day 25 1.5hr post-dose	0		0		1		0	
Day 25 16hr post-dose	0		1		0		0	
Junctional Escape Complex[e]								
Day 2 16hr post-dose	1		0		0		0	
Junctional Complex[e]								
Day 25 20hr post-dose	0		1		0		0	
Second Degree Atrioventricular Block[e]								
Day 25 1hr post-dose	0		0		0		1	
Day 25 2.5hr post-dose	0		0		0		1	
Day 25 6hr post-dose	0		0		0		1	

Daily Dose (mg/kg/day)	0		5		10		20	
Number of Animals								
Main	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Ventricular Tachycardia[e]								
Day 25 1.5hr post-dose	0		0		0		1	
Ventricular Premature Complex[e]								
Day 25 12hr post-dose	0		1		0		0	
Total atrial premature complex (23 hr)								
Pre-study	12		30		4		7	
Day 2	20		17		17		18	
Day 10	19		11		5		67	
Day 25	34		18		25		49	
Plasma Chemistry								
Alanine Aminotransferase (U/L)	29.2	29.2	1.2	1.1	1.1	0.9	1.6	0.9
Glutamate Dehydrogenase (U/L)	3.12	4.88	1.50	1.20	1.52	0.65	1.96	0.97
Phosphate (mmol/L)	1.124	1.092	1.213	1.197	1.213	1.004	1.406	1.165
Urine Chemistry								
Protein: Creatinine ratio	11.268	11.998	1.145	0.931	2.363	1.021	1.803	1.364
NAG: Creatinine ratio	0.30	~	1.22	~	6.78	~	6.42	~

Daily Dose (mg/kg/day)	0		5		10		20	
Number of Animals								
Main	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Organ Weights[f]								
Ovary	-	0.9750	-	17.6413	-	22.8657	-	10.2480
Testis	13.7453		19.3050		17.5833		16.9113	
Uterus	-	7.1307	-	10.7623	-	13.2760	-	10.2100
Gross Pathology	3	3	3	3	3	3	3	3
Ovary (No. examined)	-	3	-	3	-	3	-	3
No visible lesions	-	3	-	0	-	0	-	1
Cyst, clear	-	0	-	3	-	3	-	2
Mass	-	0	-	2	-	2	-	1
Enlargement	-	0	-	1	-	1	-	1
Histopathology								
Testis (No. examined)	3	-	3	-	3	-	3	-
No visible lesion	3	-	0	-	0	-	0	-
Hypertrophy/ hyperplasia, interstitial (Leydig cell)	0	-	3	-	3	-	3	-
Minimal	0	-	1	-	0	-	0	-
Mild	0	-	1	-	1	-	2	-
Moderate	0	-	1	-	2	-	1	-
Ovary (No. examined)	-	3	-	3	-	3	-	3
No visible lesion	-	3	-	0	-	0	-	0

Daily Dose (mg/kg/day)	0		5		10		20	
Number of Animals								
Main	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Cyst, corpus luteum	-	0	-	3	-	2	-	3
Mild	-	0	-	1	-	2	-	3
Moderate	-	0	-	2	-	0	-	0
Increased cellularity, Luteal	-	0	-	3	-	3	-	3
Moderate	-	0	-	3	-	3	-	3
Noteworthy Findings (Recovery Phase)								
Electrocardiology and Blood Pressure[d]								
QA Interval (ms)								
Day 50	102.3						107.2	
Waveform Morphology								
Total atrial premature complex (23 hr)								
Day 31 (recovery)	9		0		0		1	
Day 50 (recovery)	4		0		0		3	
Clinical Chemistry								
Phosphate	-	1.275	-	-	-	-	1.345	1.086
Organ Weight[f]								
Ovary	-	1.0645	-	-	-	-	-	4.0545

Daily Dose (mg/kg/day)	0		5		10		20	
Number of Animals								
Main	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Recovery	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2
Gross Pathology								
Ovary (No.examined)	-	2	-	-	-	-	-	2
No visible lesions	-	2	-	-	-	-	-	0
Lobular Appearance	-	0	-	-	-	-	-	2
Histopathology								
Ovary (No. examined)	-	2	-	-	-	-	-	2
No visible lesion	-	2	-	-	-	-	-	0
Increased cellularity, luteal	-	0	-	-	-	-	-	2
Moderate	-	0	-	-	-	-	-	2

M = male,　F = female; -　No noteworthy findings; +　Mild; ++　Moderate; +++　Marked, ~ Data not available

[a] Day 28 data presented.

[b] From Day 36, the animal had a swollen paw that could not bear weight. The swelling failed to respond to Synulox and Carprieve between Days 39 – 44 and could not be resolved by surgery. Therefore, the animal was terminated for welfare reasons. On microscopic evaluation this was found to be caused by a fibroadnexal apocrine hamartomata, which are spontaneous background findings occasionally seen in dogs and located mainly on the limbs and digits. Therefore, the cause of death of this animal was considered unrelated to the vehicle or dosing procedure.

[c] An increase in pupil diameter (up to 1.2 fold) compared to controls or pre-dose values, was noted at 10 or 20 mg/kg/day on Day 1, at 1 or 2 hours post dose. This achieved statistical significance at both dose levels when the sexes were combined. Full recovery was noted by 4 hours post dose and no change in pupil size was evident in animals dosed at 5 mg/kg/day.

[d] Pooled means presented.

[e] Total number of incidences presented.

[f] Absolute organ weight values presented.

Report Title: AZD9833: Nine Month Oral (Gavage) Toxicity Study in the Dog

Test Article: AZD9833

Species / Strain: Dog / Beagle

Duration of dosing: 39 weeks

Study number: 509313

Age at start of dosing: 6 – 7 months

Duration of post-dose: None

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)

Testing Facility: [redacted], [redacted], UK

Special features: None.

Vehicle / Formulation: Deionised, purified water adjusted to pH 4.8-5.5 with 1N hydrochloric acid

No observed adverse-effect level: Not determined.

Conclusion: Oral (gavage) administration of AZD9833 to dogs at 5, 10 or 20 mg/kg/day for 39 weeks was generally tolerated but was associated with the premature termination of one female dosed at 5 mg/kg/day due to abdominal discomfort probably related to non-neoplastic enlargement of the ovaries. This animal was also hypercalcaemic.

At all dose levels, there was a time and dose dependent decrease in heart rate and QTca prolongation. Non-dose dependent decreases in PR intervals were also observed at 5 and 10 mg/kg/day but not at 20 mg/kg/day.

There were adverse histopathology findings in male and female reproductive tissues at all dose levels, and included findings in the testes, epididymis, cervix, vagina, uterus or ovary.

A no observed adverse effect level was not established.

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (vehicle)		5		10		20	
Number of Animals Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Toxicokinetics [a]:								
$AUC_{(0-t)}$ (µmol.h/L)			8.15	7.14	32.6	26.8	119	110
C_{max} (µmol/L)			1.00	0.936	2.61	2.38	7.67	10.9
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund [b]	0	0	0	1	0	0	0	0
Body Weight Gain (%) [c]	(kg)							
Day 1-274	2.23	1.18	44.8	239	110	233*	53.8	229*
Electrocardiography								
Heart Rate (bpm) [d]								
Day 23	↑1		↓8		↓22		↓31	
Day 86	↑1		↓18		↓31		↓36	
Day 177	↑1		↓16		↓29		↓33	
Day 269	↓2		↓21		↓34		↓40	
QTca interval (ms) [d]								
Day 23	↑2		0		↑3		↑12	
Day 86	0		↑5		↑7		↑20	
Day 177	0		↑5		↑10		↑19	
Day 269	↑2		↑6		↑13		↑23	

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (vehicle)		5		10		20	
Number of Animals Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
PR interval (ms) [e]								
Day 23								
2 hr	-0.7		-		-		↑4	
3.5 hr	-0.1		↓8		-		-	
4 hr	3.0		-		↓11		-	
Day 86								
2.5 hr	6.7		-		-		↓7	
3 hr	5.3		-		↓11		-	
10 hr	6.5		↓5		-		-	
Day 177								
2.5 hr	6.4		-		↓9		-	
3 hr	5.5		-		-		↓3	
4 hr	4.4		↓7		-		-	
Day 269								
1.5 hr	2.6		-		-		↑5	
3.5 hr	8.1		↓11		-		-	
4 hr	10.0		-		↓12		-	
Coagulation [f]								
Fibrinogen (g/L)								
Week 13	1.733	1.630	1.17	1.28	1.00	1.33	1.09	1.68
Week 26	1.768	1.855	1.10	1.16	0.98	1.54	0.96	1.26
Week 39	2.300	1.115	0.71	1.91*	0.54**	1.58	0.69	1.76

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (vehicle)		5		10		20	
Number of Animals Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Plasma chemistry [f]								
Globulin (g/L)								
Week 13	21.90	21.08	1.07	1.15	1.08	0.96	1.16*	1.25
Week 26	20.15	18.98	1.10	1.31	1.04	1.26	1.08	1.19
Week 39	23.10	17.93	0.98	1.48**	0.97	1.32	0.98	1.34
Organ Weights (%) [c]	(g)							
Ovary		1.4610		3433.03***		1140.52***		451.9*
Uterus		14.4450		-51.58		-20.08		-77.87
Histopathology								
Testis (No. examined)	4		4		4		4	
Interstitial (Leydig) cell adenoma	0		0		1		0	
Hypertrophy/hyperplasia, interstitial (Leydig) cell	0		4		4		4	
Minimal	0		3		1		2	
Mild	0		1		3		2	
Degeneration/atrophy, seminiferous tubule	0		2		2		0	
Minimal	0		1		0		0	
Mild	0		0		1		0	
Moderate	0		0		1		0	
Marked	0		1		0		0	

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (vehicle)		5		10		20	
Number of Animals Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Epididymis (No. examined)	4		4		4		4	
Cellular debris	0		3		0		3	
Minimal	0		2		0		3	
Mild	0		1		0		0	
Ovary (No. examined)		4		3		4		4
Granulosa cell tumour, benign		0		1		0		1
Hyperplasia, sex cord stromal, moderate		0		0		0		2
Increased cellularity, luteal, moderate		0		3		4		4
Cyst, luteal		0		1		1		4
Mild		0		1		1		3
Moderate		0		0		0		1
Cyst, follicle		0		2		3		1
Mild		0		0		2		0
Moderate		0		2		1		1
Cervix (No. examined)		4		3		4		4
Atrophy		0		2		3		4
Mild		0		2		2		3
Moderate		0		0		1		1
Cystic endometrial hyperplasia, minimal		0		0		2		0
Uterus (No. examined)		4		4		4		4
Atrophy		0		2		2		4

Daily Dose (mg/kg/day)	0 (vehicle)		5		10		20	
Number of Animals Main	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Mild		0		2		1		1
Moderate		0		0		1		3
Necrosis, mucosal		0		1		2		0
Moderate		0		0		2		0
Marked		0		1		0		0
Cystic endometrial hyperplasia		0		0		2		0
Mild		0		0		1		0
Moderate		0		0		1		0
Infiltration, mononuclear cell, wall		0		1		2		0
Mild		0		0		2		0
Moderate		0		1		0		0
Vagina (No. examined)		4		4		4		4
Atrophy, mild		0		3		3		4
Infiltration, neutrophilic		0		1		1		0
Minimal		0		0		1		0
Mild		0		1		0		0
Mammary gland (No. examined)		4		4		4		4
Focal hyperplasia, mild		0		0		0		1

M = male,　F = female.

- No noteworthy findings; * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$. Body weight data analysed using Dunnett's test, organ weigh data analysed using Anova & Dunnett and plasma chemistry and coagulation data analysed using Kruskal-Wallis & Dunn.

[a] Week 39 mean data shown.

[b] Animal 2502F was prematurely euthanised on Day 244 for welfare reasons due to an abdominal mass, with vocalisation and abdominal discomfort on palpation. A progressive decrease in food consumption and body weight loss were also noted prior to termination. On several occasions throughout the study, high plasma calcium was observed. Additional clinical pathology changes in this animal during Weeks 13, 26 and 39 were suggestive of transient stress and/or dehydration/haemoconcentration (higher red blood cell mass, neutrophils, total protein and urea with lower lymphocytes and eosinophils). Cystic ovarian masses were observed macroscopically at necropsy which were larger than those observed in females at scheduled termination

[c] For control group, absolute value is shown, and AZD9833 groups percentage change is shown.

[d] 23 hour mean change from pre-study shown with value rounded to nearest whole value.

[e] For control, group means (pooled male and female) are shown; for AZD9833 groups (pooled male and female) maximum absolute mean change from control shown with value rounded to nearest whole value.　Non-dose dependent increases in PR intervals were observed, with decreases following 5 and 10 mg/kg/day but not at 20 mg/kg/day.

[f] For control, group means (absolute values) are shown; for AZD9833 groups, fold differences from control mean values are shown.

2.6.7.8　In vitro 遺伝毒性試験

Report Title: Genetic Toxicity Evaluation Using the Bacterial Reverse Mutation Test in *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535 and TA1537 and *Escherichia coli* WP2 *uvrA* pKM101

Test Article: AZD9833

Test for induction of: Reverse mutation in bacterial cells.

Number of independent assays: 1

Study number: 8379660

Strains:
S. typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E. coli* (WP2 *uvrA* (pKM101))

Number of replicate cultures: 3

GLP compliance: Yes

Metabolizing system: Aroclor-induced rat liver S-9, 10%

Number of cells analysed/culture: Not applicable

Testing Facility: [redacted]., UK

Vehicles: **For Test Article:** Anhydrous analytical grade dimethyl sulphoxide (DMSO)

For positive controls: DMSO (2-nitrofluorene, 9-aminoacridine, 2-aminoanthracene, benzo[a]pyrene, 4-nitroquinoline 1-oxide) and water (sodium azide)

Treatment: (-/+S9), plate incorporation for 72 hours.

Date of treatment: [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic effects: Toxic effects extending down to either 1600 µg/plate or 5000 µg/plate in all strains in the absence and presence of S9.

Genotoxic effects: None.

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (μg/plate)	Assay 1: Revertant Colony Counts, Mean ± SD				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvrA* (pKM101)
Without activation	DMSO	100 μL/plate	25 ± 6	105 ± 10	15 ± 1	7 ± 4	185 ± 10
	AZD9833	5	20 ± 4	115 ± 21	14 ± 4	9 ± 2	177 ± 20
	AZD9833	16	19 ± 2	97 ± 5	17 ± 3	7 ± 2	165 ± 23
	AZD9833	50	16 ± 2	109 ± 7	16 ± 7	8 ± 1	179 ± 21
	AZD9833	160	25 ± 8	111 ± 11	12 ± 4	14 ± 3	152 ± 10
	AZD9833	500	20 ± 5	103 ± 15	13 ± 4	7 ± 3	162 ± 11
	AZD9833	1600	14 ± 2 [S]	41 ± 10 [S]	6 ± 5 [S]	5 ± 1 [S]	153 ± 10
	AZD9833	5000	- [T]	- [T]	- [T]	- [T]	10 ± 8 [V]
	2-Nitrofluorene	5	1140 ± 127	-	-	-	-
	Sodium Azide	2	-	523 ± 34	459 ± 41	-	-
	9-Aminoacridine	50	-	-	-	287 ± 23	-
	4-Nitroquinoline 1-oxide	2	-	-	-	-	811 ± 91

Means and Standard Deviation values are generated from unrounded values exported directly from data capture software, and so may appear to vary from those presented to 1 decimal place in the study report.

[S] Slightly reduced lawn

[T] Toxic, no revertant colonies

[V] Very reduced/absent lawn

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (μg/plate)	Assay 1: Revertant Colony Counts, Mean ± SD				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvrA* (pKM101)
With activation	DMSO	100 μL/plate	36 ± 12	111 ± 12	15 ± 3 [B M]	17 ± 3	234 ± 8
	AZD9833	5	46 ± 2	104 ± 18	14 ± 2	12 ± 3	215 ± 6
	AZD9833	16	38 ± 3	102 ± 12	16 ± 4	10 ± 4	199 ± 11
	AZD9833	50	41 ± 6	92 ± 14	17 ± 8	18 ± 3	204 ± 3
	AZD9833	160	35 ± 6	110 ± 13	15 ± 5	15 ± 7	207 ± 11
	AZD9833	500	40 ± 10	114 ± 4	17 ± 4	19 ± 6	200 ± 17
	AZD9833	1600	37 ± 6 [S]	31 ± 4 [S]	9 ± 2 [S]	8 ± 2 [S]	176 ± 13
	AZD9833	5000	- [T]	- [T]	- [T]	- [T]	21 ± 10 [S]
	Benzo[a]pyrene	10	458 ± 29	-	-	-	-
	2-Aminoanthracene	5	-	1279 ± 143	296 ± 7	396 ± 10	-
	2-Aminoanthracene	10	-	-	-	-	713 ± 73 [M]

Means and Standard Deviation values are generated from unrounded values exported directly from data capture software, and so may appear to vary from those presented to 1 decimal place in the study report.

[B] Plate scored manually

[M] Bubbles or Split in agar

[S] Slightly reduced lawn

[T] Toxic, no revertant colonies

Report Title: Genetic Toxicity Evaluation Using the *In Vitro* Micronucleus Assay in L5178Y Cells

Test Article: AZD9833

Test for induction of: Micronuclei.

Number of independent assays: 1

Study number: 8379661

Strains: L5178Y TK$^{+/-}$ Mouse Lymphoma 3.7.2.c

Number of replicate cultures: 2 analysed per concentration

GLP compliance: Yes

Metabolizing system: Aroclor-1254 induced rat liver S9, 1%

Number of cells analysed/concentration: 2000 in the absence of S-9 or 4000 in presence of S-9

Testing Facility: [redacted]., England

Vehicles: **For Test Article:** Dimethyl Sulphoxide (DMSO)

For positive controls: DMSO (cyclophosphamide and noscapine) and water (mitomycin C)

Treatment: 3+21 hour treatment in the presence and absence of S9, and 24+24 hour treatment in the absence of S9.

Date of treatment: [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic effects: Concentration-related cytotoxicity was induced. The highest concentration analysed for micronuclei under all three treatment conditions induced approximately 50% cytotoxicity as per current ICH S2R1 guidance.

Genotoxic effects: None.

Metabolic activation	Test Article	Concentration (µg/mL) [mmol/L]	Micronucleus Experiment (3+21 hour treatments)		
			Cytotoxicity (%)	Mean MNMOM Cell Frequency (%)	Statistical Significance †
Without activation	DMSO	10 µL/mL	-	0.35	-
	AZD9833	33.00 [0.069]	7	0.05	NS
	AZD9833	42.00 [0.088]	25	0.10	NS
	AZD9833	48.00 [0.101]	34	0.20	NS
	AZD9833	51.00 [0.107]	44	0.20	NS
	Mitomycin C	0.30	21	3.05	p≤0.001
With activation	DMSO	10 µL/mL	-	0.15	-
	AZD9833	18.00 [0.038]	9	0.13	NS
	AZD9833	36.00 [0.076]	30	0.28	NS
	AZD9833	45.00 [0.094]	40	0.23	NS
	AZD9833	51.00 [0.107]	52	0.30	NS
	Cyclophosphamide	15.0	12	6.60	p≤0.001

† Analysis conducted using Fisher's Exact Test; * p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001.
NS Not significant

Metabolic activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Micronucleus Experiment (24+24 hour treatments)		
			Cytotoxicity (%)	Mean MNMOM Cell Frequency (%)	Statistical Significance †
Without activation	DMSO	10 µL/mL	-	0.15	-
	AZD9833	6.000 [0.013]	12	0.20	NS
	AZD9833	12.00 [0.025]	11	0.15	NS
	AZD9833	18.00 [0.038]	14	0.25	NS
	AZD9833	24.00 [0.050]	46	0.30	NS
	Mitomycin C	0.15	27	8.85	p≤0.001
	Noscapine	35.0	50	0.60	p≤0.05
	Noscapine	40.0	59	1.75	p≤0.001

† Analysis conducted using Fisher's Exact Test; * p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001.
NS Not significant

2.6.7.9　In vivo 遺伝毒性試験

Report Title: AZD9833: Genetic Toxicity Evaluation Using the Rat Micronucleus Test After Two Oral Doses

Test Article: AZD9833

Test for induction of: Bone-marrow micronuclei (MN)

Treatment schedule: Two administrations 24 hours apart

Study number: 8379662

Species / Strain: Rat / Crl:WI(Han)

Sampling times:
Test Article and vehicle: 24 hours after the last dose administration (Day 3, equivalent to 48 hours)
Positive control: 24 hours after a single dose administration

GLP compliance: Yes

Age at start of dosing: 9 – 10 weeks

Method of administration: Oral gavage

Testing Facility: [redacted], UK

Cells evaluated: Immature erythrocytes (IEs)

Vehicle / Formulation: Solution in purified water, adjusted to pH 4.8-5.5 with HCl

Date of dosing:
[redacted]-[redacted] January 20[redacted] (preliminary test)
[redacted] [redacted] to [redacted] [redacted] 20[redacted] (main test)

Number of cells analysed/animal: 4000 IE

Special features: None.

Toxic/cytotoxic effects: Four females at 400 mg/kg/day showed clinical observations of toxicity from 4 hours post second dose administration which persisted until necropsy including piloerection, hunched posture, noisy respiration, reduced activity and/or a swollen abdomen. No cytotoxic effect on bone marrow was observed as would be indicated by a decrease on group mean %IE.

Genotoxic effects: None.

Test Article	Dose (mg/kg/day)	Number of Animals	Group Mean %IE	Mean MN per 4000 IE	Group Mean % Micronucleated IE (±SD)
Purified water	0	6F	48.53	0.34	0.34 ± 0.11
AZD9833	40	6F	46.90	0.31	0.31 ± 0.17 NS
AZD9833	200	6F	49.97	0.32	0.32 ± 0.07 NS
AZD9833	400	6F	48.63	0.25	0.25 ±0.12 NS
Cyclophosphamide	20	3F	50.00	2.54	2.54 ± 1.21 P≤0.05

F = Female SD=Standard Deviation Terpstra-Jonckheere trend test (Groups 1, 2, 3, 4; upper tail) P-value: 0.8823, not significant (NS)

2.6.7.10　　がん原性試験

該当なし

2.6.7.11　　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当なし

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

AZD9833: Oral Fertility and Early Embryofetal Development Study in the Female Rat

Test Article: AZD9833

Design similar to ICH S5 (R3)?
Yes

Duration of dosing:
Main study: 14 days prior to and during pairing, then up to Gestation Days 6.
Recovery phase: 21 days, then held without dosing for 4 weeks prior to pairing for mating.

Study number: 490021

Species / Strain:
Rat / Han Wistar CRL: WI (Han)

Day of mating: Gestation Day 0

GLP compliance: Yes

Initial age:
Approximately 10-12 weeks at the initiation of dosing.

Day of C-section: Gestation Day 12-15

Testing Facility: [redacted]., UK

Date of first dose:
Main study: [redacted] 20[redacted]
Recovery phase: [redacted] 20[redacted]

Method of administration:
Oral (gavage)

Special features:
Recovery groups included (control and high dose: 4 week post-dose recovery period prior to mating).

Vehicle / Formulation:
Solution in deionised, purified water adjusted to pH 4.8-5.5 with 1N hydrochloric acid

No Observed Adverse-Effect Level: N/A

Conclusion: Oral administration of AZD9833 to female rats was associated with changes in estrous cycles, mating behaviour and fertility. At a dose of 0.075 mg/kg/day and above substantial reductions in fertility were observed through reduced pregnancy rates. At 0.001 mg/kg/day, lower numbers of implants (and thus embryos) were observed with greater rates of pre-implantation and post-implantation losses. The effects on fertility were fully reversible after a 4-week period of recovery. A no observed adverse effect dose level (NOAEL) was not established on this study.

Daily dose (mg/kg)	0	0.001	0.075	0.75	0 (Recovery)	0.75 (Recovery)
Females						
Number evaluated	16	16	16	16	16	16
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0
Clinical observation	-	-	-	-	-	-
Body weight gain (%)	-	-	-	-	-	-
Food consumption (%)	-	-	-	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-	-	-	-
Disruption to Estrus Cycling						
During Dosing	-	-	++	+++	-	+++
During Recovery	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-
Mean number of days prior to mating	1.6	1.7	1.9	1.0	2.0	2.5
Number of females sperm positive or with copulatory plug	13	14	15	16	16	14
Total number of mating signs	13	14	34	66	21	19
Number of animals with repeated mating						
>1 mating	0	0	10	14	3	4
>2 mating	0	0	5	13	1	1
Number of pregnant females	12	13	8 [b]	3**	16	13
Number of pregnancies with live embryos at necropsy	12	13	5	1	16	13
Number with total resorption of litter	0	0	3 [b]	2*	0	0
Mean number of corpora lutea [a]	11.9	11.6	10.3	7.7	13.0	14.1
Mean number of implantations [a]	11.3	10.0	9.3	1.3*	12.1	13.5*

Daily dose (mg/kg)	0	0.001	0.075	0.75	0 (Recovery)	0.75 (Recovery)
Mean % pre-implantation loss [a]	6.24	15.82	8.22	58.89	7.12	3.77
Mean number of live embryos [a]	10.3	8.8	7.7	0.3*	11.6	12.8
Mean number of resorptions [a]	0.9	1.2	1.7	1.0	0.5	0.6
Mean number dead embryos [a]	0	0	0	0	0	0.2
Mean % post-implantation loss [a]	8.31	18.79	16.67	66.67	3.96	6.06
Mean gravid uterus weight (g)	7.51	6.04	1.30	0.85	8.19	6.92

- No noteworthy findings + Mild change ++ Moderate change +++ Marked change

* p≤0.05; ** p≤0.01; Maternal performance data analysed using Fisher's exact test. Ovarian and uterine examination data analysed using Kruskal-Wallis Anova & Dunnett's Test. All statistical analyses were performed within the respective study phase.

[a] Summary data excludes animals that were not pregnant or with no visible implants at necropsy.

[b] Includes Animals F3505 and F3511, which had no visible implants at necropsy but had evidence of implantation by enhanced examination (Salewski/ammonium sulfide staining).

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

Report Title: AZD9833: Oral Dose Range Finding Embryofetal Development Study with Pre and Post Natal Assessments in the Rat

Test Article: AZD9833

Design similar to ICH 4.1.1? No

Duration of dosing:

Phase 1: GD 2-20
Phase 2: GD 6-16
Phase 3: GD 6 - LD 6

Study number: 490005

Species / Strain:
Rat/Han Wistar CRL: WI(Han)

Day of mating: Day 0

GLP compliance: Yes

Initial age: 9- 10 weeks old

Day of Necropsy:

Phase 1: GD 20
Phase 2: GD 21
Phase 3:　LD 7

Testing Facility: [redacted], UK

Date of first dose:

Phase 1: [redacted] **20**[redacted]
Phase 2: [redacted] **20**[redacted] **/** [redacted] **20**[redacted]
Phase 3: [redacted] **20**[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)

Vehicle / Formulation: Deionised, purified water adjusted to pH 4.8-5.5 with 1N hydrochloric acid.

Special features: Study was conducted in 3 phases: Phase 1 to evaluate effects on fallopian transport and embryofetal development, Phase 2 to evaluate effects on organogenesis and embryofetal development and Phase 3 to evaluate effects on pregnant/parturient/lactating female rat and on the development of the conceptus and offspring.

Conclusion: Once daily administration of AZD9833 by oral gavage to pregnant female rats from Gestation Day 2-20 at 0.1 mg/kg/day resulted in no females becoming pregnant. There was no other evidence of toxicity in this phase of the study. Once daily administration of AZD9833 by oral gavage to pregnant female rats from Gestation Day 6-16 at 0.001, 0.01, 0.024/0.030 or 0.073/0.091 mg/kg/day resulted in no clear maternal or embryofetal toxicity. Once daily administration of AZD9833 by oral gavage to pregnant female rats from Gestation Day 6 to Lactation Day 6 at 0.075 or 0.75 mg/kg/day was associated with difficulties giving birth and subsequent premature dam euthanasia, effects on maternal body weight and food consumption and correlating effects on pup survival and pup weight.

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle)	0.1
Phase 1		
Dams:		
Number evaluated	6	6
Number died or sacrificed moribund	0	0
Clinical observations	-	-
Necropsy observations	-	-
Number of pregnant females	6	0
Number aborted or with total resorption of litter	0	0
Mean number of corpora lutea	13.8	0
Mean number of implantations	12.8	0
Mean % pre-implantation loss	8.12	NA
Mean number of live fetuses	11.8	0
Mean number of resorptions	1.0	0
Number dead fetuses	0.0	0
Mean % post-implantation loss	6.25	NA

- No noteworthy findings

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle)	0.001	0.01	0.024 / 0.030[a]	0.073 / 0.091[b]
Phase 2					
Dams:					
Toxicokinetics GD 16:					
$AUC_{(0-8)}$ (± SE) (nmol·h/L)	NA	BQL	ND	1.65 (0.316)	5.17 (0.743)
Mean C_{max} (± SD)(nmol/L)	NA	BQL	0.113 (-)	0.293 (0.114)	0.858 (0.243)
Number evaluated	6	6	6	6	6
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0
Clinical observations	-	-	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-	-	-
Gestation body weight gain (%)[c] GD 6-16 (g)	55.0	-	-	-	-
Gestation food consumption (%)[c] GD 6-7 (g/animal/day)	17.00	-	-	-	-
Number of pregnant females	5	5	5	6	6
Number aborted/total resorption of litter	0	0	0	1	0
Mean number of corpora lutea	12.0	11.4	12.2	12.0	10.2
Mean number of implantations	12.0	10.8	11.8	11.2	9.8
Mean % pre-implantation loss	0.00	4.29	3.08	5.74	3.18
Mean number of live fetuses	12.0	10.8	11.6	10.6	9.8
Mean number of resorptions	0.0	0.0	0.2	0.6	0.0
Mean % post-implantation loss	0.00	0.00	1.67	5.30	0.00

[a] Group 6: Animals dosed GD 6-12 at 0.024 mg/kg/day and GD 13-16 at 0.030 mg/kg/day.
[b] Group 7: Animals dosed GD 6-12 at 0.073 mg/kg/day and GD 13-16 at 0.091 mg/kg/day.
[c] For controls, group means are shown, for AZD8933 groups, percent differences from controls are shown.
- No noteworthy findings; GD = Gestation Day, NA = Not applicable; BQL = Below quantification limit

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle)	0.001	0.01	0.024 / 0.030[a]	0.073 / 0.091[b]
Phase 2					
Litters:					
Number of litters evaluated	5	5	5	5	6
Number of live fetuses	57	54	58	53	59
Mean fetal body weight (Combined) (g)	5.278	5.434	5.244	5.754	5.630
Fetal sex ratios (% Males)	46.23	51.38	62.00	43.53	48.86
Fetal anomalies (no. fetuses/no. litters):					
Visceral (all classifications)	4/3	2/2	4/3	5/4	9/5
Fixed Head (all classifications)	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Visceral Body only (all classifications)	1/1	1/1	6/4	1/1	7/3
Skeletal (all classifications)	30/5	26/5	28/5	29/5	31/6

[a] Group 6: Animals dosed GD 6-12 at 0.024 mg/kg/day and GD 13-16 at 0.030 mg/kg/day.
[b] Group 7: Animals dosed GD 6-12 at 0.073 mg/kg/day and GD 13-16 at 0.091 mg/kg/day.
[c] For controls, group means are shown, for AZD8933 groups, percent differences from controls are shown.

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle)	0.075	0.75
Phase 3			
F_0 females:			
Number pregnant	5	6	5
Number of females producing a live litter	5	6	2[a]
Abnormal parturition	0	1	4
Number died or sacrificed moribund	0	1	6
Number aborted or with total resorption of litter	0	0	1
Clinical observations	-	-[c]	-
Necropsy observations	-	-	-
Gestation body weight gain (%) [b] GD 6-20 (g)	90.4	-8.7	-16.8
Lactation body weight gain (%) [b] LD 1-7 (g)	6.8	-	NA[a]
Gestation food consumption (%) [b] GD 20-21 (g/animal/day)	23.2	-	-51.7***
Lactation food consumption (%) [b] LD 2-3 (g/animal/day)	33.2	-35.2*	NA[a]
Mean duration of gestation (days)	21.8	22.8	NA[a]

[a] All animals at 0.75 mg/kg/day were killed prematurely on GD 24 due to difficulties giving birth.

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001. Body weight and food consumption data analysed using Anova & Dunnett's Test.

[b] For controls, group means are shown, for AZD8933 groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[c] Observations limited to few prominent teats visible during lactation only.

- No noteworthy findings; NA = Not applicable; GD = Gestation Day: LD = Lactation day

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Vehicle)	0.075	0.75
F_1 litters:			
Mean number of implantations	9.6	11.0	9.6
Mean number pups born/litter	8.8	7.0	NA[a]
Mean number liveborn pups /litter	8.8	4.2	NA[a]
Number of litters with stillborn pups	0	4	NA[a]
Live Birth Index (%)	100	57	NA[a]
Viability Index (%) LD 0-4	98	72	NA[a]
LD 4-6	100	100	NA[a]
Number of total litter losses	0	2	NA[a]
Mean of litter mean pup weight (g)			
Males:			
LD 1	7.7	6.9	NA[a]
LD 4	12.6	11.6	NA[a]
LD 6	18.2	15.7	NA[a]
Females:			
LD 1	7.3	6.2	NA[a]
LD 4	12.0	10.0	NA[a]
LD 6	17.3	13.4	NA[a]

[a] All animals at 0.75 mg/kg/day were killed prematurely on GD 24 due to difficulties giving birth.
NA = Not applicable; LD = Lactation day

2.6.7.14　　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

該当なし

2.6.7.15　　新生児を用いた試験

該当なし

2.6.7.16　局所刺激性試験

該当なし

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17.1　毒性発現の機序に関する試験

Species / Strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	Title Noteworthy findings	Testing Facility	Study number
Rat/Han Wistar	Oral	4 days	75	5M	Cardiovascular Effects in Anaesthetised, Telemetered Male HanWistar Rats Following Repeated Oral Administration and Vagotomy Camizestrant at 75 mg/kg caused an increase (trend) in heart rate on Day 1 and a sustained decrease in heart rate on the rest of dosing days. This effect was not altered during anaesthesia or vagotomy procedure suggesting that parasympathetic nervous system is not involved in the HR reduction. Treatment with camizestrant did not affect the baroreflex response caused by phenylephrine.	AstraZeneca R&D, Cambridge, UK	BE001764-30
CHO cells	In vitro	Up to 72 hours	0.1, 0.3, 1, 3 and 10 µM	n/a	Investigating the effect on recombinant hHCN4 using electrophysiological assays in vitro Chronic treatment with camizestrant significantly reduced the functional expression of the recombinant hHCN4 expressed in CHO cells by 32.0 , 57.3 and 79.5% at 1, 3, and 10 µM respectively in a concentration-dependent manner after 72 h treatment (IC_{50} of 2.5 µM). Similarly, chronic treatment with 10 µM camizestrant significantly reduced the pacemaker current by 24.8% after 6 h treatment in a time-dependent manner.	AstraZeneca R&D, Cambridge, UK	BE003624-95

Species / Strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	Title Noteworthy findings	Testing Facility	Study number
CHO cells	In vitro	Up to 72 hours	0.17, 0.5, 1.67, 5, 16.7 and 50 µM	n/a	Investigating the effect on recombinant hHCN4 using electrophysiological assays in vitro Camizestrant acutely blocks the hHCN4 current expressed in CHO cells when hyperpolarising at - 90 mV with an IC_{50} of 14.2 µM. Additionally, camizestrant significantly reduced the functional expression of hHCN4 expressed in CHO cells in a time-dependent manner by 34.0, 54.0 and 54.3 % after 24, 48 and 72 hours incubation respectively	AstraZeneca R&D, Cambridge, UK	BE003624-96
Human embryonic stem cell-derived sinoatrial node cell	In vitro	Up to 7 days	0.1, 1, 10 and 30 µM	n/a	The effects on human embryonic stem cell-derived sinoatrial node cell beat rate in vitro Camizestrant reduced beat rate in a time and concentration-dependent manner with the effect plateauing at 48 hours. At Day 7, beat rate IC_{50} was 11 µM. Positive controls, Ivabradine and ZD7288 gave immediate (within 30 minutes) reductions in beat rate confirming the cardiac pacemaker contributes to beat rate in these hESC-derived sinoatrial node cells	AstraZeneca R&D, Cambridge, UK	BE002385-25

Species / Strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	Title Noteworthy findings	Testing Facility	Study number
Human embryonic stem cell-derived sinoatrial node cell	In vitro	Up to 48 hours	0.1, 1, and 10 µM	n/a	Investigating the effect on the action potential in human Sinoatrial Node cells in vitro Acute application of 10 µM camizestrant caused a significant reduction in the diastolic depolarisation rate (DDR), with no change in beat frequency, action potential duration at 90% repolarisation (APD90), or maximal depolarisation rate (dV/dtmax). Chronic treatment (48 hours) with camizestrant significantly reduced DDR by 44.3 and 86.9% at both 1 µM and 10 µM, respectively. Furthermore, chronic treatment with 10 µM camizestrant reduced beat frequency and APD90, with no changes observed at other concentrations. No changes in action potential threshold (voltage at which an action potential is triggered) or dV/dtmax (rate of action potential upstroke) were observed.	AstraZeneca R&D, Cambridge, UK	BE003624-97
Human embryonic stem cell-derived sinoatrial node cell	In vitro	Up to 72 hours	0.01, 0.1, 1 and 10 µM	n/a	Investigating the effect on the pacemaker current in human embryonic stem derived sinoatrial node cells in vitro Chronic treatment (for 72 hours) with camizestrant reduced the functional expression of the pacemaker current at 0.01, 0.1, 1, and 10 µM in a concentration-dependent manner. Additionally, 1 µM camizestrant reduced the pacemaker current after 24 hours in a time-dependent manner.	AstraZeneca R&D, Cambridge, UK	BE003624-98

Species / Strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	Title Noteworthy findings	Testing Facility	Study number
CHO cells and HEK 293 cells	In vitro	Up to 48 hours	1, 10 and 50 µM	n/a	Investigating the effect on cloned human HCN1, HCN2 and HCN4 channels in CHO or HEk293 cells in vitro Short term treatment with camizestrant produced 4.3% and 9.4% inhibition (HCN1 current), 12.4% and 31.9% inhibition (HCN2 current) and 7.7% and 37.5% inhibition (HCN4 current) at 10 and 50 µM, respectively Treatment with camizestrant (48 h) produced concentration-dependent, statistically significant inhibition at 1 and 10 µM, respectively:- HCN1 channel current (76-81% and 90-96%) HCN2 channel current (< 10% and 50%) HCN4 channel current (44% and 71%)	[redacted]	211108.BAQ_01 and 02
Sinoatrial node (SAN) cells Han Wistar	In vitro SAN cells) In vivo Oral	1 or 7 days	1 and 10 µM 75 mg/kg/day	N=22-24 cells	Effects of AZD9833 on the Cardiac Pacemaker Current (I_f) Recorded from Sinoatrial Node Cardiomyocytes Isolated from Rats Treated with AZD9833 for up to 7 Days (4577SR) Camizestrant reversibly inhibited the I_f current with an IC_{50} of 10.3 µM following direct acute application in vitro. In rats treated with 75 mg/kg the amount of pacemaker current recorded from SAN cells was reduced.	[redacted] Italy	4577SR

Species / Strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	Title Noteworthy findings	Testing Facility	Study number
Rat/Long Evans	Oral	Up to 7 days	0, 6.8, 75, 100	0 mg/kg - 3 M 6.8 mg/kg - 3M 75 and 100 mg/kg - 3F	An Assessment of Retinal Exposure and Distribution following a Single & Repeat Oral Administration in Male and Female Long Evans Rat Mass spectrometry imaging detected camizestrant in eye tissue of rats. Distribution was predominantly localised to the pigmented tissues of the eye (i.e. choroid and the RPE layer of the retina together with the iris and ciliary body regions). High spatial resolution determined the spatial segmentation and relative abundance of camizestrant in the posterior layers of the retina. There were no treatment related histology changes in the eyes. Data indicate rat is a suitable species for investigatory ERG work with camizestrant.	AstraZeneca R&D, Cambridge, UK	BE003082-27
Rat/Long Evans	Oral (camizestrant) IV (ivabradine)	7 days with 7 days recovery (camizestrant) Single dose (ivabradine)	0, 25 and 75 mg/kg (camizestrant) 12 mg/kg (ivabradine)	5 or 6 F per group	Effects on the Electroretinogram (ERG) in Female Long Evans Rats Following 7 Once-Daily Repeated Oral Administration of AZD9833, with a 7 Day Recovery Period (Non-GLP) Treatment with camizestrant was associated with dose-dependent decreases in the dark-adapted b-wave and oscillatory potential amplitudes and increases in light adapted b-wave amplitudes and latency times in response to flicker stimuli and increases in amplitudes following sinusoidal stimuli. These effects were similar in magnitude on Day 1 and Day 7 and showed reversal to control levels 7 days after the last camizestrant dose Treatment with ivabradine was associated with decreases in the dark-adapted oscillatory potential amplitudes; and increases in light adapted b-wave latency times in response to flicker stimuli and increases in amplitudes following sinusoidal stimuli.	[redacted], [redacted], [redacted]	8498695 (6084SV)

Species / Strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	Title Noteworthy findings	Testing Facility	Study number
Rat/Long Evans	Oral	7 days with 7 days recovery	0, 5, 12 and 25 mg/kg	6 F per group	Effects on the Electroretinogram (ERG) in Female Long Evans Rats Following 7 Once-Daily Repeated Oral Administration of AZD9833, with a 7 Day Postdose Observation Period Treatment with camizestrant was associated with a reduction in scotopic B-wave, reduction in oscillatory potential amplitude, increase in photopic B-wave amplitude and an increase in photopic B-wave implicit times. On Day 7 at 25 mg/kg/day there was a marked reduction of the photopic B-wave during the early stages of light adaptation that recovered to control levels by the end of the 10-minute adaptation period. Thus, camizestrant effects were evident in the photopic response immediately after transitioning to a lighted background and had diminished after light adaptation. All ERG changes recovered to control levels after 7 days without administration of camizestrant. The no effect level for ERG changes was 5 mg/kg/day	[redacted], [redacted], [redacted]	8518228 (7411PR)
Rat/Long Evans*	Oral (camizestrant) IV (ivabradine)	7 days with 7 days recovery (camizesrtant) Single dose (ivabradine)	0, 25 and 75 mg/kg (camizestrant) 12 mg/kg (ivabradine)	5 or 6 F per group	Effects on the Electroretinogram (ERG) in Female Long Evans Rats Following 7 Once-Daily Repeated Oral Administration of AZD9833, with a 7 Day Recovery Period (Non-GLP) – Histopathology Report No treatment-related microscopic changes in the eyes or optic nerves	AstraZeneca R&D, Cambridge, UK	6977DV
Rat/Long Evans**	Oral	7 days with 7 days recovery	0, 5, 12 and 25 mg/kg	6 F per group	Effects on the Electroretinogram (ERG) in Female Long Evans Rats Following 7 Once-Daily Repeated Oral Administration of AZD9833, with a 7 Day Postdose Observation Period Histopathology Report No treatment-related microscopic changes in the eyes or optic nerves	AstraZeneca R&D, Cambridge, UK	7181DV

All mechanistic studies were non-GLP　* histology assessment of eyes collected on Study 8498695

** histology assessment of eyes collected on Study 8518228 F = female; M = male; n/a = not applicable

2.6.7.17.2　不純物の毒性試験

Species / Strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number
Rat/Han Wistar	Oral	28 days	0 10 10 (spiked with impurities)	10 M and 10 F	There was no significant difference in toxicity between camizestrant or camizestrant spiked with impurities (不純物E* , 不純物A* and 不純物B*) when administered by once daily oral gavage for 4 weeks	[redacted], [redacted], USA	20500689 (4880AR)

Study 20500689 (4880AR) is GLP compliant
M = male; F = female

2.6.7.17.3　その他の試験

Species / Strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number
Rat/Han Wistar	Oral	7 or 28 days	0 50 200 400 0 50	7 day phase 6F (vehicle) or 3F (treated) 28 day phase 5F (vehicle) 4F (treated)	Investigative Oral Toxicity Study in Female Han Wistar Rats Camizestrant not tolerated for four days at 400 mg/kg/day due to bodyweight loss and adverse clinical signs. Doses up to 200 mg/kg/day for 7 days and 50 mg/kg/day for 28 days was well tolerated. Dose-dependent increase in neutrophils and monocytes and decreased eosinophils (200 and 400 mg/kg/day) and lymphocytes (400 mg/kg/day) were observed. Increases in AST, ALT and GLDH (50, 200, and 400 mg/kg/day), ALP (50 and 200 mg/kg/day), creatinine (200 and 400 mg/kg/day) and phosphate (400 mg/kg/day and 50 mg/kg/day for 28 days). Lower albumin (50 and 200 mg/kg/day) and triglycerides (400 mg/kg/day) and increased cholesterol (200 mg/kg/day). Increase in alveolar macrophages in the lung at doses ≥50 mg/kg/day, and vacuolation of the alveolar septae at doses ≥ 200 mg/kg/day, and at 50 mg/kg/day for 28 days. Increase in severity of alveolar macrophages (increased number and increased size) with increased duration of dosing at 50 mg/kg/day. Macrophage vacuolation in the mesenteric lymph node and spleen were present at doses ≥200 mg/kg/day. All vacuoles present in H&E sections were positive for Lysosome-associated membrane protein 2 (LAMP2). Hepatocellular vacuolation and single cell degeneration (hepatocellular) were seen at ≥200 mg/kg/day and were associated with elevated liver enzymes at these dose levels. Electron microscopy of the lung, liver and mesenteric lymph node confirmed the presence of	AstraZeneca R&D, Cambridge, UK	BE001738-15

Species / Strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number
					membranous whorls in cells which were identified as being vacuolated in H&E sections, an ultrastructural change consistent with the accumulation of phospholipid. Changes in the non-glandular stomach were seen in animals dosed with 200 mg/kg/day (hyperkeratosis, ulceration (squamous) and inflammation of the submucosa) and correlated with gross observations of raised areas.		

Study BE001738-15 does not claim GLP compliance.
F = female

Species / Strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number
Dog/Beagle*	Oral	9 months	0, 5, 10, 20	4M and 4F	None	[redacted]. [redacted], Canada	3801030

*Samples collected on Study 509313
Study 3801030 does not claim GLP compliance.

2.6.7.17.4　光毒性試験

Species / Strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses[a] (µg/mL)	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number
Fibroblasts / Mouse/ Balb/c 3T3	In vitro Incubation in cell plates	1.5 hours	1.78 3.16 5.62 10.0 17.8 31.6 56.2 100	n/a	No phototoxic potential	[redacted], [redacted]. [redacted], [redacted] United States	20136267

[a] Prepared in 1% dimethylsulfoxide (DMSO)/dulbecco's phosphate buffered saline supplemented with Ca^{2+} and Mg^{2+} ions (DPBS).

In Vitro Neutral Red Uptake Phototoxicity Test - Phototoxic potential evaluated in Balb/c 3T3 mouse fibroblasts as described in OECD Guideline 432. Cells in 96-well plates were exposed to UVA and UVB from a solar simulator or kept in the dark.

The study was conducted according to GLP.

n/a – Not applicable