

2.6.6.6 幼若ラットにおける 8 週間反復投与による毒性試験及び 4 週間休薬による回復性試験 (試験番号：J-193, 4.2.3.5.4.2 項参照)

レンバチニブメシル酸塩を雌雄 SD ラットに 0.4, 2 及び 10 mg/kg の投与量で 21 日齢から 8 週間反復投与した (10 匹/群/性)。対照群には、媒体 (注射用水) を同様に投与した。対照群と 2 及び 10 mg/kg 群については 4 週間休薬して回復性を検討する群 (各群雌雄各 6 例) を設定した。死亡あるいは瀕死動物は発見後剖検し、生存動物はいずれも 8 週間の投与期間あるいは 4 週間の休薬期間の後、剖検を実施した。各群雌雄 8~16 例をトキシコキネティクス群として設定した。検査項目としては、死亡の有無、臨床症状観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、身体及び機能発達 (包皮分離、膣開口、瞳孔反射、耳介反射、聴覚反射及び痛覚反射)、行動検査 (オープンフィールドテスト及び水迷路テスト)、トキシコキネティクス、臓器重量測定、骨計測、肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

その結果、10 mg/kg は致死量であり、雄 6 例及び雌 7 例が水様便、体重及び摂餌量の減少を示した後、投与 26 日から投与 51 日の間に瀕死あるいは死亡発見された。死因は、主として十二指腸病変とそれに関連した諸変化であると考えられた。

10 mg/kg では、水様便及び切歯の破折が投与 18 日及び投与 22 日よりそれぞれみられ、黒色便や口及び鼻周囲の汚れもみられた。投与期間を通して著しい摂餌量の減少及び体重増加抑制がみられ、それに伴って二次的に身体機能発達の検査項目に変化 (包皮分離及び膣開口の遅延) がみられた。オープンフィールドテストでは、反応潜時の延長、区画移動数の減少、立ち上がり回数の減少などがみられた。臨床検査では、赤血球系パラメータ、白血球数、グルコース、総蛋白、アルブミン、グロブリン及びカルシウムの減少、好中球数、ALT, AST, ALP, BUN 及び総コレステロールの上昇がみられた。

被験物質による病理組織学的変化は、いずれも薬理作用に起因した変化と考えられ、成熟ラットの反復投与毒性試験 (最長 26 週間) においてみられた変化と同様であった。即ち、切歯 (異形成)、骨 (骨端軟骨成長板及び軟骨の肥厚)、腎 (蛋白尿を伴う糸球体病変及び糸球体腎症)、副腎 (類洞拡張及び皮質壊死)、消化管 (十二指腸腺の炎症及びのう胞状拡張)、脳 (脈絡叢における動脈フィブリノイド壊死及び好酸性滲出物) に組織学的変化が認められた。骨計測においてみられた変化 (短く細い骨) については、成長遅延あるいは骨の病理変化に関連するものと考えられた。瀕死及び死亡は主として十二指腸病変に起因するものと考えられ、時に細菌感染などによる二次的変化を伴っていた。

2 mg/kg では切歯の破折が投与 31 日以降にみられ、摂餌量の減少及び体重増加抑制もみられた。臨床検査では白血球数、好中球数及び ALT の増加がみられ、骨測定においても 10mg/kg と同様の変化が軽度にもみられた。オープンフィールドテストでは雄で立ち上がり回数の減少が見られた。病理組織学的変化は切歯、大腿骨及び腎にのみ認められた。

回復群では 10 mg/kg 群で水様便が散見され、2 mg/kg 群で切歯の破折がみられた。体重及び摂餌量については、2 及び 10 mg/kg 群では対照群に比べ低い値を示したが、回復傾向がみられた。また、蛋白尿や骨の短縮/狭小化は依然認められたものの大腿骨の短径は正常レベルに回復し、その他の検査項目についても回復性が確認された。病理組織学的変化についても、切歯、大腿骨、腎、副腎及び十二指腸に遺残性の軽度な病変がみられたものの、回復性は明らかであった。0.4 mg/kg では毒性変化はみられなかった。

トキシコキネティクスでは、投与用量に相関して C_{max} 及び $AUC_{(0-24)}$ の増加がみられた。雌雄差はなく、反復投与による暴露量に対する明らかな影響は認められなかった。

表 2.6.6-19 幼若ラットを用いた 8 週間投与による毒性試験及び 4 週間回復性試験におけるトキシコキネティクスまとめ

Dose (mg/kg)	Day	Male		Female	
		C _{max} (ng/mL)	AUC ₍₀₋₂₄₎ (ng·h/mL)	C _{max} (ng/mL)	AUC ₍₀₋₂₄₎ (ng·h/mL)
0.4	1	259.19	1806.13	272.16	1956.97
	56	254.49	1371.36	416.43	1641.99
2	1	1459.98	11030.94	1396.81	10682.33
	56	1556.88	8323.30	2234.45	8827.68
10	1	8341.75	52475.56	7535.77	60508.84
	56	5199.33	45905.68	7512.60	31115.09

Data represent the mean of 3 or 4 animals.

AUC₍₀₋₂₄₎ = area under the concentration-time curve from zero time to 24 hours, C_{max} = maximum observed concentration.

Source: Study No. J-193

以上、レンバチニブメシル酸塩の 0.4, 2 及び 10 mg/kg を雌雄の SD ラットに生後 21 日齢から 8 週間投与した結果、2 mg/kg 以上で薬理作用に起因した種々の変化と成長遅延がみられた。10 mg/kg では瀕死・死亡がみられたが、主として十二指腸病変とそれに関連した諸変化によるものと判断された。4 週間の休薬期間終了後では、いくつかの組織で遺残性の軽度な病変がみられたが、投与終了時に認められた殆どの変化は回復可能な変化と考えられた。幼若ラットにおけるレンバチニブの毒性プロファイルは成熟ラットと同様であった。0.4 mg/kg では毒性変化はみられなかった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

局所刺激性に特化した試験は実施されていない。経口投与による消化管への影響は経口投与毒性試験で評価された。

2.6.6.8 その他の毒性試験

不純物を含む原薬を用いてレンバチニブの遺伝毒性を Ames 試験及びマウスリンフォーマ tk 試験で評価した。また、レンバチニブは 290～700 nm の波長領域に吸収波長を持ち (3.2.S.7.3 項参照)、メラニンに対する親和性を有し、メラニンを含む組織での消失が遅いことから (2.6.4.4 項参照)、in vitro 光毒性試験を行いレンバチニブの光毒性について評価した。

2.6.6.8.1 不純物等に関する試験

レンバチニブの原薬中に含まれる不純物 * 不純物C 及び * 不純物D の規格値はそれぞれ 0.1%以下及び 0.1%以下と設定されている (2.6.7.4 項参照)。この規格値のうち、in silico 解析によって変異原性不純物と判断されなかった * 不純物D については、先に実施された in vitro 遺伝毒性試験において用いられた原薬中の含量 (0.1%以下, ロット番号: 1301225, 2.6.7.4 項参照) よりも高かったことから、* 不純物D をより高く (0.5%) 含む原薬を使用して Ames 試験 (試験番号: K-066) 及びマウスリンフォーマ tk 試験 (試験番号: K-067) を実施した。

* 不純物D を 0.5%含むレンバチニブメシル酸塩 (ロット番号: 126P0801) を用いた Ames 試験 (試験番号: K-066) は、プレインキュベーション法によりネズミチフス菌 (TA100, TA1535, TA98, TA1537) 及び大腸菌 (WP2 *uvrA* [pKM101]) を使用し、S9 mix の存在下及び非

存在下で、レンバチニブメシル酸塩（ロット番号：126P0801）の投与量として 5000 µg/plate まで実施した。その結果、いずれの菌株についても S9 mix 存在下及び非存在下で 5000 µg/plate まで生育阻害及び復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

マウスリンフォーマ tk 試験（試験番号：K-067）では、マイクロタイター法で二つの処理方法（①S9 mix の存在下及び非存在下での 3 時間処理による短時間処理法、②S9 mix 非存在下での 24 時間連続処理法）を用いて遺伝子突然変異誘発作用及び染色体異常誘発作用を検討した。

薬物処理濃度としては S9 mix 存在下及び非存在下での短時間処理条件ではレンバチニブメシル酸塩の被験物質の沈殿がみられる量を基に 15～200 µg/mL、S9 mix 非存在下での 24 時間連続処理条件では相対増殖率の著しい減少がみられる量を基に 10～25 µg/mL の濃度で実施された。その結果、短時間処理での 50 µg/mL まで、24 時間連続処理での 25 µg/mL までのいずれの条件でも突然変異頻度の有意な増加はみられなかった。以上、*不純物D を 1%含むレンバチニブメシル酸塩は、突然変異誘発作用あるいは染色体異常誘発作用を示さなかった。

上記の結果から、不純物 *不純物D の遺伝毒性は、本薬の不純物含有濃度として 1%まで適切に評価できたものと考えられた。

合成段階におけるその他の不純物あるいは分解物についての遺伝毒性試験（Ames 試験）結果については、3.2.S.2.6 及び 3.2.S.3.2 項に記載した。

2 つの不純物（*不純物A、*不純物B）については変異原性不純物であることが示唆された。これらの不純物についてはそれぞれに規格値が設定され、*不純物A については毒性的懸念の閾値（TTC）未満の濃度に管理される。一方、*不純物B については不純物であることに加え、分解物としても検出されるため、保存状況により製剤中の含有量が高くなることが考えられることから、長期投与される薬剤として TTC レベル内での管理は難しい。しかしながら、レンバチニブは進行性の甲状腺がんの治療に用いられる薬剤であることから、リスク・ベネフィットの観点より、TTC レベルではなく、実現可能なできるだけ低い含量で管理することが許容されうると考えられる（3.2.S.2.6 及び 3.2.S.3.2 項参照）。

2.6.6.8.2 光毒性

レンバチニブの光毒性を評価する in vitro 光毒性試験として、3T3NRU 光毒性試験を実施した（試験番号：T-002[GLP 適用外試験]及び 070[GLP 適用試験]）。

探索的光毒性試験（試験番号：T-002）の用量設定実験では、レンバチニブメシル酸塩は媒体の DMSO で溶解可能であった濃度を最高濃度として、0.172～180 µg/mL の 8 濃度で BALB/c 3T3 線維芽細胞に 60 分間暴露し、擬似太陽光の存在下及び非存在下で 50 分間の処理（UVA で約 7.6～7.7 J/cm² の照射線量）を行った。細胞の生存率はニュートラルレッドの取り込みを指標として測定された。光毒性の評価パラメータとしては、Photo Irritation Factor (PIF) 及び Mean Photo Effect (MPE) を算出して評価した。用量設定実験ではレンバチニブメシル酸塩は 22 µg/mL 以上で析出がみられた。細胞に対する致死作用がみられなかったため、光照射の有無による IC₅₀ 及び PIF は算出できなかった。MPE 値については 0.019 であった。

これらの結果より、1.17～20 µg/mL の 8 濃度を選択して本試験が実施された。その結果、20 µg/mL で析出がみられ、光照射の有無に関わらず IC₅₀ 及び PIF は算出できなかった。MPE 値は 0.043 であった。以上の結果から探索的光毒性試験で陰性であることが示された。

GLP 適用試験としての光毒性主試験（試験番号：070）では、探索的光毒性試験の結果より、レンバチニブメシル酸塩の 1.17～20 µg/mL の 8 濃度を選択し、注射用蒸留水を陰性対照として用いた。薬物処理した BALB/c 3T3 線維芽細胞に擬似太陽光の照射下（UVA として約 5 J/cm²）及び非照射下で 50 分間処置した。探索的光毒性試験同様、レンバチニブは光照射の有無に関係なく細胞毒性を示さず、IC₅₀ 値は算出できなかった。PIF も算出されず、MPE 値は -0.024 であった。以上の結果から、GLP 適用光毒性試験で陰性であることが示された。

以上の in vitro 3T3 NRU 光毒性試験の結果から、レンバチニブは光毒性のリスクが低いことが

示された。

2.6.6.9 考察及び結論

レンバチニブの毒性を評価するために、単回投与及び反復投与毒性試験（ラット、イヌ、サル）、標準的な遺伝毒性試験の組み合わせ、胚・胎児発生毒性試験（ラット及びウサギ）、幼若ラットを用いた幼若動物毒性試験、in vitro 光毒性試験、不純物に関する遺伝毒性試験を実施した。以上の毒性試験パッケージにより、進行がんの治療を目的とするレンバチニブの製造承認申請に必要な毒性評価を実施した。

ラット及びサルで実施した長期反復投与毒性試験では、腎、消化管、種々の臓器組織における動脈、骨、雌雄生殖器についてはいずれの動物種にも変化がみられ、ラットでは歯、副腎にも毒性変化がみられた。これらの変化は、同様の薬理作用を有する類薬（イマチニブ：Cohen, et al., 2002, スニチニブ：Patyna, et al., 2008, BMS-645737：Fletcher, et al., 2010）においても報告されている変化であり、レンバチニブの薬理作用に起因した変化であると考えられた。また、これらの毒性変化に関しては、4週間の休薬期間により回復性がみられた。

長期毒性試験における非結合型薬物暴露量と主な毒性所見の一覧を表 2.6.6-20 及び図 2.6.6-1 に示した。毒性所見と薬物暴露量の比較の結果、サルの NOAEL における薬物暴露量は、ヒトにおける用量（24 mg/日）での薬物暴露量の約 10%であり、ラットに比べてサルの方が、より毒性に関する感受性が高いものと考えられた。サルにおける腎、骨、卵巣及び動脈の変化は、ヒトにおける用量での暴露量より低い暴露量でみられたが、ラットの NOAEL での暴露量はヒトの用量での暴露量とほぼ同程度であった。

表 2.6.6-20 ラット及びサルにおける長期毒性試験での主な毒性所見と薬物暴露量

	主な毒性所見	投与量 (mg/kg)	C _{max} ^a (µg/mL)	AUC ₍₀₋₂₄₎ ^a (µg·h/mL)
ラット	• 無毒性量	0.4	0.5053 (×1.1) 0.9497 (×2.0)	3.2102 (×0.8) 3.5546 (×0.9)
	• 切歯の変化 (白色化, 歯折, 異形成) • 腎の変化 (BUN の増加, 蛋白尿, 糸球体病変) • 赤血球系パラメータの変化	2	4.0121 (×8.4) 3.9652 (×8.4)	18.2235 (×4.8) 17.0003 (×4.5)
	• 骨の変化 (骨端軟骨成長板の肥厚) • 精巣の変化 (精上皮細胞の減少) • 卵巣の変化 (卵胞閉鎖) • 消化管の変化 (軟便, 十二指腸腺の拡張及び炎症) • 副腎の変化 (類洞拡張, 皮質壊死) • 骨髄の変化 (骨髄細胞数減少) • 動脈の変化 (動脈中膜壊死, 脾・腎・精巣・心・消化管・脈絡叢におけるフィブリノイド壊死) • 死亡	10	10.1696 ^b (×21.4) 19.2626 (×40.6)	55.6223 ^b (×14.7) 71.1701 (×18.8)
サル	• 無毒性量	0.1	0.0332 (×0.1) 0.0388 (×0.2)	0.2051 (×0.1) 0.2649 (×0.1)
	• 腎の変化 (糸球体病変) • 骨の変化 (骨端軟骨成長板の肥厚) • 動脈の変化 (動脈変性, 十二指腸・胆嚢・脈絡叢におけるフィブリノイド壊死) • 卵巣の変化 (卵胞閉鎖) • 月経の減少	0.5	0.2904 (×1.3) 0.2310 (×1.0)	1.5418 (×0.9) 1.2944 (×0.7)
	• 腎の変化 (蛋白尿, BUN の上昇, 血中電解質の異常) • 消化管の変化 (軟便, 水様便, 十二指腸陰窩過形成, 十二指腸腺萎縮, 結腸・直腸粘膜炎症性細胞浸潤) • 死亡	3	1.8855 (×8.4) 1.7407 (×7.8)	11.1901 (×6.3) 8.3662 (×4.7)

C_{max} 及び AUC₍₀₋₂₄₎については上段に雄の値を, 下段に雌の値を示し, カッコ内にはそれぞれの動物種とヒトの暴露量 (血漿中非結合型薬物として) の比を示した (蛋白結合率は 2.6.4.4.2 項参照)。ヒトの暴露量については, 臨床試験 (治験番号: E7080-J081-105) における 24 mg の 1 日 1 回反復投与, 第 1 サイクル, 投与 15 日の値を使用した (C_{ss,max}: 518 ng/mL, AUC₍₀₋₂₄₎: 4140 ng·h/mL)。

a: 特にコメントのない限り, ラットでは 26 週間反復投与毒性試験 (試験番号: S-037) における投与 181 日のデータを, サルでは 39 週間反復投与毒性試験 (試験番号: -031) における投与 273 日のデータを使用した。

b: 投与 149 日のデータを示した。

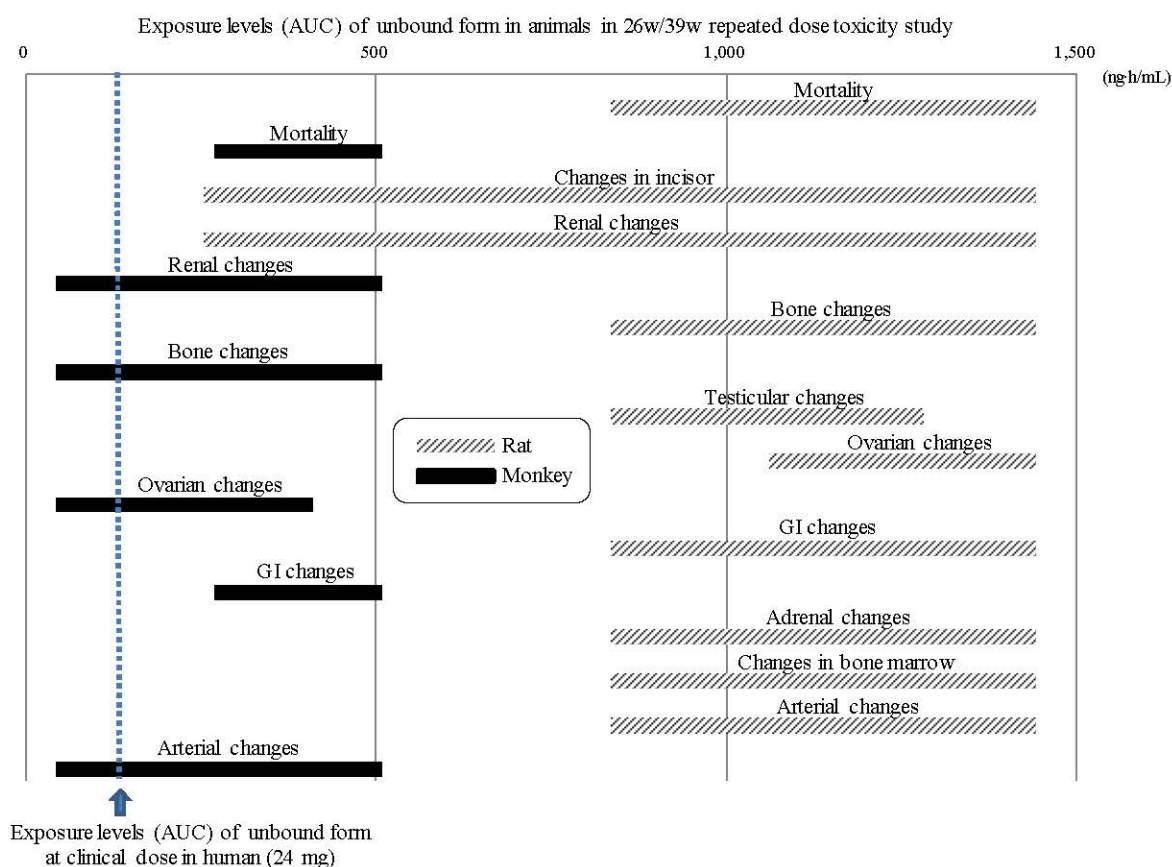


図 2.6.6-1 ラット及びサルにおける反復投与毒性試験での主な毒性所見と血漿中非結合型薬物の暴露量の関係

腎病変：均質好酸性物質から成るメサンギウム領域の拡大による糸球体腫大を特徴とする糸球体病変がラット、イヌ及びサルでみられ、時に蛋白尿や BUN の上昇を伴っていた。VEGF は糸球体の機能維持に重要な役割を担っており (Eremina, et al., 2003), 他の VEGF 阻害剤をマウスの新生児に投与することで同様な変化がみられていることから (Gerber, et al., 1999), この変化は、レンバチニブの薬理学的作用に起因するものと考えられた。また、上記の腎の変化はラット (26 週間反復投与毒性試験), イヌ (4 週間反復投与毒性試験) 及びサル (39 週間反復投与毒性試験) で、それぞれ、2 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.5 mg/kg 以上でみられ、また、全ての動物種において 4 週間の休薬期間によって回復性がみられた。

血管病変：フィブリノイド壊死、中膜変性あるいは出血を特徴とする動脈の変化が種々の臓器組織 (ラット：脾、腎、精巣、心臓、消化管、脈絡叢, イヌ：消化管、胆嚢、肝、膀胱、心、卵巣、子宮、膈、副腎、坐骨神経、視神経、乳腺, サル：消化管、胆嚢、脈絡叢) でみられた。しかし、サルにみられたこれらの血管病変は、イヌに比べてその程度は軽度であった。イヌ (0.5 mg/kg) 及びサル (3 及び 30 mg/kg) でみられた血管病変については、休薬により回復することが確認された。VEGF は血管新生と内皮細胞の生存に必要な生理的制御因子であり (Street, et al., 2002, Gerber, et al., 1999), VEGF は血管拡張による血圧低下を誘発し、VEGF 受容体のシグナルが血圧の上昇を抑制することが報告されている (Li, et al., 2002)。したがって、レンバチニブなど VEGF 受容体キナーゼ拮抗薬は、脈管系及び血管新生に直接あるいは間接的に影響を及

ぼすと考えられている。レンバチニブの毒性試験では、イヌ（0.5 mg/kg まで）及びサル（30 mg/kg まで）に平均血圧に異常はみられなかったが、レンバチニブの臨床試験において、薬物投与に起因すると考えられる血圧の上昇がみられた。同様の作用を持つ類薬の臨床試験においても、血圧の上昇がみられることが報告されている。

消化管の変化：消化管への影響として、イヌ及びサルで軟便、水様便がみられ、病理組織学的変化としても出血、炎症、びらん/潰瘍、粘膜下組織における浮腫、陰窩過形成及び粘膜萎縮がみられた。特にイヌでは、致死量で血便あるいは黒色便がみられた。イヌ及びサルのいずれにおいても摂餌量の減少が高用量でみられ、一般状態の悪化がみられた。しかし、これらの変化は薬物投与の中止により徐々に回復した。

切歯（ラットのみ）及び骨の変化：レンバチニブはラット及びサルにおいて軟骨層の拡大を特徴とする骨端軟骨成長板及び軟骨の肥厚を誘発した。同様の骨の変化はスニチニブ（Patyna, et al., 2008）など、レンバチニブと同様な薬理作用を持つ薬剤のげっ歯類やサルの反復投与毒性試験においても共通してみられる変化である。VEGF は軟骨細胞の死、軟骨吸収細胞の機能、細胞外マトリクスの再構成、血管新生、骨端軟骨成長板における骨の形成に重要な役割を担っている（Gerber, et al., 1999）。VEGF はまた、軟骨細胞による傍分泌を通して肥大軟骨新生血管形成にも関連している（Carlevaro, et al., 2000）。

切歯の異形成はラットのみにおいてみられ、切歯の白色化あるいは破折、病理組織学的変化として象牙芽細胞の減少、歯髄における骨様象牙質形成の異常、エナメル層、象牙質層、セメント質層の菲薄化がみられた。同様の変化はスニチニブ（Patyna, et al., 2008）及びBMS-645737（Fletcher, et al., 2010）でもみられており、VEGF シグナルの阻害による、歯の成長における象牙芽細胞やエナメル質の形成をサポートする微小血管の成長・維持の阻害作用、象牙芽細胞やエナメル芽細胞あるいはその前駆体の機能に対する影響が考えられた（Fletcher, et al., 2010）。げっ歯類においては生涯を通じて切歯や骨端軟骨が成長することから（Kilborn, et al., 2002）、これらの変化はサルに比較してラットにおいて特に明らかであった。骨の成長に関するヒトとげっ歯類の違い、さらにヒトでは15歳から18歳前後で骨端軟骨成長板が閉鎖（Kilborn, et al., 2002）することを考慮すると、レンバチニブ投与によりラット及びサルでみられた骨の変化や、ラットにおいてのみみられた切歯の変化については、成人では大きな問題にならないものと考えられた（Greaves, 2012; Woodard et al., 2002）。

雄性及び雌性生殖器における変化：雌における卵胞閉鎖あるいは閉鎖卵胞の増加といった卵巣の変化はラット、イヌ及びサルでみられた。サルでは39週間反復投与毒性試験において、月経の頻度減少もみられた。同様の変化は他の VEGF 阻害薬でもみられている（Ferrara, et al., 1998）。雄では精上皮細胞の減少がラット、イヌ及びサルでみられた。VEGF 受容体は精巣における微小血管の機能及び精祖細胞の最初の増殖段階や精子形成に重要な役割を果たしていることが報告されており（Ergun, et al., 1997; Nalbandian, et al., 2003）、雌雄の生殖器官においてみられた毒性変化についても、レンバチニブの薬理作用に起因するものと考えられた。

副腎及び肝における変化：副腎における変化がラット及びイヌで、肝における変化がラットへの投与でみられた。これらの変化についても類薬で報告されている変化であり（Mahasreshti, et al., 2003; Li, et al., 2003）、レンバチニブの薬理作用に起因した変化であると考えられた。

ラット、イヌ及びサルの反復投与毒性試験においてみられた変化のうち、上記に示した変化以外の所見については、消化管や腎への変化や状態悪化に起因した二次的な影響によるものと考えられた。

レンバチニブは *in vitro* の遺伝子突然変異作用を評価する細菌を用いた復帰突然変異試験, *in vitro* の突然変異誘発作用及び染色体異常誘発作用を評価する哺乳類細胞を用いたマウスリンフォーマ tk 試験, また, *in vivo* の骨髄細胞における染色体異常誘発作用を評価するラット小核試験を含む, 遺伝毒性試験の標準的組み合わせで陰性であった。

合成段階における不純物及びレンバチニブ関連物質については *in silico* プログラムを利用した解析と Ames 試験が 14 化合物について実施された。このうちレンバチニブ原薬中に含まれる 2 つの不純物（*不純物A 及び *不純物B）については Ames 試験が陽性となり, 変異原物質であることが確認された。*不純物A については TTC (threshold of toxicologic concern: 毒性学的懸念の閾値) レベルを下回る含量 (■ ppm 以下) で品質管理される。原薬中不純物であり, 保存中の分解物でもある *不純物B については, 長期投与における TTC レベルを下回る含量で品質管理することは困難である。そこで, 毒性試験で用いられた原薬における含量 (■ ppm) を超えない値であり, 製造上想定される最大含量が ■ ppm であることから, ■ ppm 以下を *不純物B の原薬中の規格値として設定した。レンバチニブが抗がん剤として進行がんの治療に使用されることを考慮すると, コントロール可能な最も低い含量 (ALARP) を規格値として設定することは適切と考えられた (3.2.S.2.6 及び 3.2.S.3.2 項参照)。

レンバチニブは器官形成期における投与によりラット及びウサギにおいて胚致死及び催奇形性を発現した。胎児の内臓異常はウサギでのみ認められたが, 外表異常及び骨格異常はラット並びにウサギでみられた。ウサギにおける胚・胎児発生毒性に関する NOAEL は 0.03 mg/kg であったが, ラットについては 0.1 mg/kg 未満と考えられた。胚致死及び催奇形性といった同様な胚・胎児発生に対する影響については類薬においてもみられており (イマチニブ: Cohen, et al., 2002, スニチニブ: US FDA, 2006, アキシチニブ: US FDA, 2012, ソラフェニブ: US FDA, 2005), これらの変化についても血管新生を阻害する薬理作用に起因した変化と考えられた。

幼若ラットを用いた 2 週間投与による用量設定毒性試験では, 7 日齢で投与を開始した場合, 5 mg/kg では雌雄各 5 例の全例が投与 8 日から 12 日の間に死亡した。21 日齢で投与を開始したグループでは, 5 mg/kg で 2 週間の投与期間中に死亡はみられなかった。8 週間反復投与毒性試験では, 同一投与量で実施した成熟ラットの試験と比較し, 高用量群 (10 mg/kg) での死亡がより早期に認められた。しかし, 幼若動物におけるレンバチニブの標的臓器は成熟動物と同様であり, 幼若動物に特異的な新たな毒性変化は認められなかった。幼若ラットでは, 成長遅延とそれに伴う二次的な身体発育の遅れも認められた。これらの所見は, 他の RTK 阻害剤でも既に報告されている変化と同様であった (SPC Glivec®, 2013; SPC Votient®, 2013)。

ヒトに特異的な代謝物は特定されておらずヒトにおける主要な代謝物として同定されている M2 (脱メチル体) は, ラット, イヌ及びサルにおいても検出されている (2.6.4.5 項参照)。代謝物の濃度については, 非臨床試験では測定されていないが ICH S9 ガイドラインに示されているよう, 本剤は進行がんの治療に用いられる薬剤であることから, 代謝物の毒性を個別に調べる必要はないと考えられた。

主要な毒性試験に使用されたレンバチニブメシル酸塩の純度は ■% から ■% であり (2.6.7.4 項参照)。規格値として設定されるレンバチニブメシル酸塩の純度 (■% ~ ■%) とほぼ同程度であった。一方, 被験物質中には 4 種の同定された不純物が含まれており, そのうちの 2 種の不純物含有量については安全性評価を必要とする閾値レベル (0.15%) を超えていた。反復投与毒性試験, 胚・胎児発生毒性試験及び変異原性試験 (不純物の含量を増加させて追加実施した試験 [試験番号 K■066, K■067]を含む) に使用された被験物質はこれらの不純物を適

切なレベルで含んでおり、設定される規格値（3.2.S.3.2.4 項参照）に問題はないものと考えられた。

レンバチニブは in vitro 3T3 NRU 光毒性試験において光毒性を示さなかったことから、ヒトにおける光毒性のリスクは低いものと考えられた。

以上のとおり、反復投与毒性試験や胚・胎児発生毒性試験でみられたレンバチニブによる毒性の多くは、強力な VEGF 受容体キナーゼ阻害剤である、レンバチニブの薬理作用に起因した変化であった。発現した毒性所見については、4 週間の休薬により、反復投与毒性試験に用いた全ての動物種で回復性がみられた。

レンバチニブを用いて実施された毒性試験プログラムは、ICH S9 ガイドラインに記載されている抗がん剤としての安全性評価に十分であり、得られた結果から十分にレンバチニブの抗がん剤としての安全性に関する評価がなされたものと考えられた。

2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.6.11 参考文献

Carlevaro MF, Cermelli S, Cancedda R, Cancedda FD. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in cartilage neovascularization and chondrocyte differentiation: auto-paracrine role during endochondral bone formation. J Cell Sci. 2000;113:59-69.

Cohen MH, Williams G, Johnson JR, Duan J, Gobburu J, Rahman A, et al. Approval summary for imatinib mesylate capsules in the treatment of chronic myelogenous leukemia. Clin Cancer Res. 2002;8:935-942.

Eremina V, Sood M, Haigh J, Nagy A, Lajoie G, Ferrara N, et al. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. J Clin Invest. 2003;111(5):707-716.

Ergun S, Kilic N, Fiedler W, Mukhopadhyay AK. Vascular endothelial growth factor and its receptors in normal human testicular tissue. Mol Cell Endocrinol. 1997;131(1):9-20.

Ferrara N, Chen H, Davis-Smyth T, Gerber HP, Nguyen TN, Peers D, et al. Vascular endothelial growth factor is essential for corpus luteum angiogenesis. Nat Med. 1998;4(3):336-340.

Fletcher AM, Bregman CL, Woicke J, Salcedo TW, Zidell RH, Janke HE, et al. Incisor degeneration in rats induced by vascular endothelial growth factor/fibroblast growth factor receptor tyrosine kinase inhibition. Toxicol Pathol. 2010;38:267-279.

Gerber HP, Hillan KJ, Ryan AM, Kowalski J, Keller GA, Rangell L, et al. VEGF is required for growth and survival in neonatal mice. Development. 1999;126(6):1149-1159.

Gerber HP, Vu TH, Ryan AM, Kowalski J, Werb Z, Ferrara N. VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. Nat Med. 1999;5(6):623-628.

Greaves P. Mouth and oropharynx. In: Histopathology of preclinical toxicity studies. 4th ed. Amsterdam: Elsevier; 2012. p. 325-332.

Kilborn SH, Trudel G, Uthoff H. Review of growth plate closure compared with age at sexual maturity and lifespan in laboratory animals. Contemp Top Lab Anim Sci. 2002;41(5):21-26.

Li B, Ogasawara AK, Yang R, Wei W, He GW, Zioncheck TF, et al. KDR (VEGF receptor 2) is the major mediator for the hypotensive effect of VEGF. *Hypertension*. 2002;39(6):1095-1100.

Li B, Keller GA. An antibody to VEGF upregulates factor VIII via interleukin-1 in activated adrenal cortex-derived capillary endothelial cells. *Int. Immunopharmacol*. 2003;3:493-512.

Mahasreshti PJ, Kataram M, Wang MH, Stockard CR, Grizzle WE, Carey D, et al. Intravenous delivery of adenovirus-mediated soluble FLT-1 results in liver toxicity. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2701-2710.

Nalbandian A, Dettin L, Dym M, Ravindranath N. Expression of vascular endothelial growth factor receptors during male germ cell differentiation in the mouse. *Biol Reprod*. 2003;69(3): 985-994.

Patyna S, Arrigoni C, Terron A, Kim TW, Heward JK, Vonderfecht SL, et al. Nonclinical safety evaluation of sunitinib: A potent inhibitor of VEGF, PDGF, KIT, FLT3, and RET receptors. *Toxicol Pathol*, 2008;36:905-916.

Street J, Bao M, deGuzman L, Bunting S, Peale FV Jr, Ferrara N, et al. Vascular endothelial growth factor stimulates bone repair by promoting angiogenesis and bone turnover. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(15):9656-9661.

Summary of Product Characteristics-Glivec® [Internet]. eMC (Surrey): eMC (UK); 1999- . SPC Glivec [updated 2013 Nov 28; cited 2014 24 Apr]. Available from: https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/15014/SPC/GLIVEC+Tablets/#PRECLINICAL_SAFETY.

Summary of Product Characteristics – Votrient® 200 mg and 400 mg film coated tablets [Internet]. eMC (Surrey): eMC (UK); 1999- . SPC Votrient [updated 2013 Dec 12;cited 2014 24 Apr]. Available from: https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/23148/SPC/Votrient+200+mg+and+400+mg+film+coated+tablets/#PRECLINICAL_SAFETY.

United States Food and Drug Administration. Package insert for axitinib (INLYTA®); 2012 Jan 27.

United States Food and Drug Administration. Package insert for sorafenib (NEXAVAR). Drugs@FDA: c 2005 (updated 2013 Jun 11).

United States Food and Drug Administration. Package insert for sunitinib malate (SUTENT®). c 2006 (updated 2012 Nov 16).

Woodard JC, Burkhardt JE, Jee W. Bone and joints. In: Haschek WM, Rousseaux CG, Walling MA, editors. *Handbook of toxicologic pathology*. 2nd ed. San Diego: Academic Press; 2002. p. 457-508.

目次

2.6.7	毒性試験概要表	2
2.6.7.1	毒性試験：一覧表	2
2.6.7.2	トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表	7
2.6.7.3	トキシコキネティクス：トキシコキネティクス成績の一覧	8
2.6.7.4	毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧	10
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	14
2.6.7.7	反復投与毒性試験：重要な試験	17
2.6.7.8	In vitro 遺伝毒性試験	62
2.6.7.9	In vivo 遺伝毒性試験	67
2.6.7.10	がん原性試験	68
2.6.7.11	生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験	69
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	70
2.6.7.13	生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験	71
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	77
2.6.7.15	新生児を用いた試験：重要な試験以外の試験	78
2.6.7.16	新生児を用いた試験	79
2.6.7.17	局所刺激性試験	85
2.6.7.18	その他の毒性試験	86

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: lenvatinib mesilate

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg) ^a	GLP ^b	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity							
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Single	100, 300, 1000	No	Eisai	TKB-006	4.2.3.1
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Single	0, 500, 1000, 2000	Yes	Eisai	S-094	4.2.3.1
Dog/Beagle	Oral capsule	Single (Dose escalation method)	100, 300, 1000	No	Eisai	TKB-022	4.2.3.1
Monkey/Cynomolgus	Oral gavage	Single (Dose escalation method)	0, 30, 100, 300, 1000	No	Eisai	S-060	4.2.3.1
Repeated-Dose Toxicity							
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	1 week	0, 100, 300, 1000	No	Eisai	TKB-007	4.2.3.2
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	1 week	0, 10, 30, 100	No	Eisai	TKB-008	4.2.3.2
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	4 weeks	0, 10, 30, 100	Yes	Eisai	S-016	4.2.3.2
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	4 weeks	0, 1, 15	Yes	Eisai	S-001	4.2.3.2
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	13 weeks	0, 0.4, 2, 10	Yes	Eisai	S-039	4.2.3.2
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	26 weeks	0, 0.4, 2, 10	Yes	Eisai	S-037	4.2.3.2
Dog/Beagle	Oral capsule	1 week	0, 30, 100, 300	No	Eisai	TKB-027	4.2.3.2
Dog/Beagle	Oral capsule	4 weeks	0, 2, 6, 30	Yes		B-5108	4.2.3.2
Dog/Beagle	Oral capsule	4 weeks	0, 0.1, 0.5	Yes	Eisai	S-077	4.2.3.2
Monkey/Cynomolgus	Oral capsule	2 weeks	0, 1, 10, 100	No		-83	4.2.3.2
Monkey/Cynomolgus	Oral capsule	4 weeks	0, 0.3, 3, 30	Yes		-86	4.2.3.2
Monkey/Cynomolgus	Oral gavage	13 weeks	0, 0.1, 0.5, 3	Yes		-94	4.2.3.2
Monkey/Cynomolgus	Oral gavage	39 weeks	0, 0.1, 0.5, 3	Yes		-031	4.2.3.2

Test Article: lenvatinib mesilate

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg) ^a	GLP ^b	Testing Facility	Study Number	Location
Genotoxicity							
<i>Salmonella typhimurium</i> and <i>Escherichia coli</i>	In vitro	NA	Range-finding test: 39 to 5000 µg/plate Main test: 313 to 5000 µg/plate	Yes	Eisai	S-007	4.2.3.3.1
Mouse lymphoma L5178Y <i>tk</i> ^{+/+} cells	In vitro	NA	Cytotoxicity test: 1.56 to 100 µg/mL Mutagenicity test: 5 to 200 µg/mL	Yes	Eisai	S-008	4.2.3.3.1
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	Single	0, 500, 1000, 2000	Yes	Eisai	S-032	4.2.3.3.2
Reproduction Toxicity							
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	GD6 to GD17	0, 0.2, 2, 15, 100	No	Eisai	S-104	4.2.3.5.2
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	GD6 to GD17	0, 0.1, 0.3, 1	Yes	Eisai	S-152	4.2.3.5.2
Rabbit/NZW	Oral gavage	4 days	0, 25, 100, 400	No	Eisai	S-062	4.2.3.5.2
Rabbit/NZW	Oral gavage	GD6 to GD18	0, 0.8, 4, 20	No	Eisai	S-063	4.2.3.5.2
Rabbit/NZW	Oral gavage	GD6 to GD18	0, 0.03, 0.1, 0.3	No	Eisai	S-119	4.2.3.5.2
Rabbit/NZW	Oral gavage	GD6 to GD18	0, 0.03, 0.1, 0.5	Yes	Eisai	S-009	4.2.3.5.2
Studies in Juvenile Animals							
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	2 weeks	0, 0.2, 0.4, 1, 5, 25	No	■■■■	J-412	4.2.3.5.4
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage	8 weeks	0, 0.4, 2, 10	Yes	■■■■	J-193	4.2.3.5.4
Other Toxicity Studies							
Studies on Impurities							
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	313 to 5000 µg/plate	Yes	Sunplanet	K-066	4.2.3.7.6
Mouse lymphoma L5178Y <i>tk</i> ^{+/+} cells	In vitro	NA	10 to 200 µg/mL	Yes	Sunplanet	K-067	4.2.3.7.6

Test Article: lenvatinib mesilate

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg) ^a	GLP ^b	Testing Facility	Study Number	Location
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	39 to 5000 µg/plate	No	Sunplanet	K018	4.2.3.7.6
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	10 to 5000 µg/plate	No	Sunplanet	K027	4.2.3.7.6
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	39 to 5000 µg/plate	No	Sunplanet	K008	4.2.3.7.6
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	39 to 5000 µg/plate	No	Sunplanet	K019	4.2.3.7.6
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	Range-finding test: 4.88 to 5000 µg/plate Main test: 156 to 5000 µg/plate	No		037	4.2.3.7.6
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	Range-finding test: 4.88 to 5000 µg/plate Main test: 156 to 5000 µg/plate	No		038	4.2.3.7.6
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	Range-finding test: 4.88 to 5000 µg/plate Main test: 156 to 5000 µg/plate	No		039	4.2.3.7.6

Test Article: lenvatinib mesilate

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg) ^a	GLP ^b	Testing Facility	Study Number	Location
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	* 不純物A : Range-finding test: 4.88 to 5000 µg/plate Main test: 156 to 5000 µg/plate	No	■	■040	4.2.3.7.6
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	■ : 10 to 5000 µg/plate	No	Sunplanet	K■028	4.2.3.7.6
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	■ : Range-finding test : 39.1 to 5000 µg/plate Main test: 39.1 to 5000 µg/plate	Yes	■	■121	4.2.3.7.6
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	■ : Range-finding test: 4.88 to 5000 µg/plate Main test: 156 to 5000 µg/plate	No	■	■034	4.2.3.7.6
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	* 不純物B : Range-finding test : 4.88 to 5000 µg/plate Main test: 9.77 to 5000 µg/plate	No	■	■576	4.2.3.7.6
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	■ : 39 to 5000 µg/plate	No	Sunplanet	K■025	4.2.3.7.6

Test Article: lenvatinib mesilate

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg) ^a	GLP ^b	Testing Facility	Study Number	Location
<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	NA	39 to 5000 µg/plate	No	Sunplanet	K026	4.2.3.7.6
Phototoxicity							
BALB/c 3T3 cells	In vitro	NA	Range-finding test: 0.172 to 180 µg/mL Main test: 1.17 to 20 µg/mL	No	Eisai	T002	4.2.3.7.7
BALB/c 3T3 cells	In vitro	NA	1.17 to 20 µg/mL	Yes		070	4.2.3.7.7

GD = gestation day, GLP = Good Laboratory Practice, NA = not applicable, NOAEL = no observed adverse effect level, NZW = New Zealand White, Sunplanet = Sunplanet Co., Ltd., tk = thymidine kinase,

a: For repeated-dose toxicity studies, the highest NOAEL is underlined. Doses for all studies are expressed in terms of lenvatinib mesilate.

b: Indicates the study includes a GLP Compliance statement.

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

Test Article: lenvatinib mesilate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose (mg/kg)	GLP ^a	Study Number	Location
Single-Dose Study	Dog	Oral capsule	100, 300, 1000	No	TKB-022	4.2.3.1
Single-Dose Study	Monkey	Oral gavage	0, 30, 100, 300, 1000	No	S-060	4.2.3.1
1 Week DRF Study (1)	Rat	Oral gavage	0, 100, 300, 1000	No	TKB-007	4.2.3.2
1 Week DRF Study (2)	Rat	Oral gavage	0, 10, 30, 100	No	TKB-008	4.2.3.2
4-Week Toxicity Study (1)	Rat	Oral gavage	0, 10, 30, 100	Yes	S-016	4.2.3.2
4-Week Toxicity Study (2)	Rat	Oral gavage	0, 1, 15	Yes	S-001	4.2.3.2
13-Week Toxicity Study	Rat	Oral gavage	0, 0.4, 2, 10	Yes	S-039	4.2.3.2
26-Week Toxicity Study	Rat	Oral gavage	0, 0.4, 2, 10	Yes	S-037	4.2.3.2
1 Week DRF Study	Dog	Oral capsule	0, 30, 100, 300	No	TKB-027	4.2.3.2
4-Week Toxicity Study (1)	Dog	Oral capsule	0, 2, 6, 30	Yes	B-5108	4.2.3.2
4-Week Toxicity Study (2)	Dog	Oral capsule	0, 0.1, 0.5	Yes	S-077	4.2.3.2
2-Week DRF Study	Monkey	Oral capsule	0, 1, 10, 100	No	-83	4.2.3.2
4-Week Toxicity Study	Monkey	Oral capsule	0, 0.3, 3, 30	Yes	-86	4.2.3.2
13-Week Toxicity Study	Monkey	Oral gavage	0, 0.1, 0.5, 3	Yes	-94	4.2.3.2
39-Week Toxicity Study	Monkey	Oral gavage	0, 0.1, 0.5, 3	Yes	-031	4.2.3.2
2-Week DRF Study	Rat (Juvenile)	Oral gavage	0, 0.2, 0.4, 1, 5, 25	No	-412	4.2.3.5.4
8-Week Toxicity Study	Rat (Juvenile)	Oral gavage	0, 0.4, 2, 10	Yes	-193	4.2.3.5.4

DRF = Dose-Range Finding, GLP = Good Laboratory Practice.

a: Indicates study includes a GLP Compliance statement.

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス成績の一覧

Test Article: lenvatinib mesilate

	Steady State AUC ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)						
Species	Rat ^a		Dog ^{b, c}		Monkey ^d		Human ^e
Method of Administration	PO		PO		PO		PO
Gender	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male and Female
Dose (mg/kg)							4.224095
0.1	—	—	0.1413	0.1329	0.2051	0.2649	
0.4	3.2102	3.5546	—	—	—	—	
0.5	—	—	0.5576	0.5683	1.5418	1.2944	
2	18.2235	17.0003	2.6325	2.7832	—	—	
3	—	—	—	—	11.1901	8.3662	
6	—	—	7.1801	7.0213	—	—	
10	55.6223	71.1701	—	—	—	—	
30	—	—	15.3712	39.3136	—	—	

AUC = area under the concentration–time curve.

a: 26-week toxicity study (Study No. S-037).

b: 4-week toxicity study (1) (Study No. B-5108).

c: 4-week toxicity study (2) (Study No. S-077).

d: 39-week toxicity study (Study No. 031).

e: Dose administered was 25 mg, Cycle 2 Day 1, Study E7080-E044-101.

Test Article: lenvatinib mesilate

	Steady State C _{max} (µg/mL)						
Species	Rat ^a		Dog ^{b, c}		Monkey ^d		Human ^e
Method of Administration	PO		PO		PO		PO
Gender	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male and Female
Dose (mg/kg)							0.544718
0.1	—	—	0.0191	0.0208	0.0332	0.0388	
0.4	0.5053	0.9497	—	—	—	—	
0.5	—	—	0.1045	0.1016	0.2904	0.2310	
2	4.0121	3.9652	0.3668	0.3771	—	—	
3	—	—	—	—	1.8855	1.7407	
6	—	—	0.5244	0.9468	—	—	
10	10.1696	19.2626	—	—	—	—	
30	—	—	1.2482	2.4443	—	—	

C_{max} = maximum observed concentration.

a: 26-week toxicity study (Study No. S-037).

b: 4-week toxicity study (1) (Study No. B-5108).

c: 4-week toxicity study (2) (Study No. S-077).

d: 39-week toxicity study (Study No. S-031).

e: Dose administered was 25 mg, Cycle 2 Day 1, Study E7080-E044-101.

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article: lenvatinib mesilate

Batch No.	Purity or Assay value	Specified Impurities				Study Number	Type of Study
		* 不純物C	* 不純物D	* 不純物A	* 不純物B		
Proposed Specification:	■■■■% to ■■■■% ^a	≤■■■■%	≤■■■■%	≤■■■■ ppm	≤■■■■ ppm		
07608-023191	HPLC impurities: ■■■■%	ND	ND	ND	ND	TKB■■■006	Single-dose study in rats
						TKB■■■007	7-day DRF study in rats
						TKB■■■008	7-day DRF study in rats
06665-02X091	HPLC impurities: ■■■■%	ND	ND	ND	ND	TKB■■■022	Dose-escalation study in dogs
12112750	HPLC impurities: ■■■■%	ND	ND	ND	ND	TKB■■■027	7-day DRF study in dogs
13012251 ^b	HPLC impurities: ■■■■%	■■■■%	≤■■■■%	ND	ND	S■■■007	Ames test (1)
						S■■■008	Mouse lymphoma <i>tk</i> assay (1)
13033151 ^b	■■■■% ^a	■■■■%	■■■■%	■■■■ ppm	■■■■ ppm	S■■■094	Single-dose study in rats
						S■■■060	Dose-escalation study in monkeys
						S■■■016	4-week repeated-dose study in rats (1)
						S■■■001	4-week repeated-dose study in rats (2)
						S■■■039	13-week repeated-dose study in rats
						B-5108	4-week repeated-dose study in dogs (1)
						S■■■077	4-week repeated-dose study in dogs (2)
						■■■■83	2-week DRF study in monkeys
						■■■■86	4-week repeated-dose study in monkeys
						■■■■94	13-week repeated-dose study in monkeys
						S■■■032	Micronucleus study in rats
						S■■■152	EFD study in rats
						S■■■062	DRF study in rabbits
						S■■■009	EFD study in rabbits

* 新薬承認情報提供時に置き換え

Test Article: lenvatinib mesilate

Batch No.	Purity or Assay value	Specified Impurities				Study Number	Type of Study
		* 不純物C	* 不純物D	* 不純物A	* 不純物B		
13050753 ^b	■■■■ % ^a	■■■■ %	■■■■ %	■■■■ ppm	■■■■ ppm	S-104	Pre-EFD study in rats
						S-063	Pre-EFD study in rabbits
						S-119	Pre-EFD study in rabbits
175P2101 ^b	■■■■ % ^a	■■■■ %	■■■■ %	■■■■ ppm	■■■■ ppm	S-037	26-week repeated-dose study in rats
						■■■■-031	39-week repeated-dose study in monkeys
115P0901 ^b	■■■■ % ^a	■■■■ %	■■■■ %	≤ ■■■■ ppm	■■■■ ppm	T-002	In vitro phototoxicity test (non-GLP)
						■■■■-070	In vitro phototoxicity test (GLP)
126P0801 ^b	■■■■ % ^a	≤ ■■■■ %	■■■■ %	≤ ■■■■ ppm	■■■■ ppm	K-066	Ames test (2)
						K-067	Mouse lymphoma <i>tk</i> assay (2)
111P1101	■■■■ % ^a	■■■■ %	■■■■ %	≤ ■■■■ ppm	■■■■ ppm	J-412	2-week DRF study in juvenile rats
						J-193	8-week toxicity study in juvenile rats

DRF = dose-range finding, GLP = Good Laboratory Practice, EFD = embryofetal development, ND = not determined.

a: Mesilate, anhydrous basis.

b: Analytical results of these batches were obtained via retrospective analyses using the proposed analytical methods (Table 3.2.S.3.2-9 to Table 3.2.S.3.2-12, and Table 3.2.S.4.4-2 to Table 3.2.S.4.4-5).

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: lenvatinib mesilate

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose	Noteworthy Findings	Study Number
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (75% PEG 400/suspension)	100, 300, 1000	3M/3F	1000	>1000 mg/kg	≤300 mg/kg: No toxicity 1000 mg/kg: Decreased food consumption (M); red spots on stomach; watery contents in small intestine (F)	TKB-006
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (75% PEG 400/suspension)	0, 500, 1000, 2000	5M/5F	500	1000 mg/kg	500 mg/kg: No toxicity 1000 mg/kg: Lethality (1M on Day 14), GI changes, decreased activity, decreased food consumption, suppression of body weight gain, discoloration of incisors 2000 mg/kg: Lethality (1M on Day 24, 1F on Day 15), GI changes, decreased activity, decreased food consumption, suppression of body weight gain, discoloration of incisors	S-094
Dog/Beagle	Oral capsule (3-fold trituration with lactose)	100, 300, 1000	1M/1F	1000	>1000 mg/kg	≤300 mg/kg: No change 1000 mg/kg: Vomiting	TKB-022

Test Article: lenvatinib mesilate

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose	Noteworthy Findings	Study Number
Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage (75% PEG 400/ suspension)	0, 30, 100, 300, 1000	2M	1000	>1000 mg/kg	≤100 mg/kg: No toxicity ≥300 mg/kg: Decreased food consumption 1000 mg/kg: Abnormal material and/or red spots in stomach, and watery contents in intestinal tract Vehicle related watery stool was observed in all groups.	S-060

F = female, GI = gastrointestinal, M = male, PEG = polyethylene glycol.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: lenvatinib mesilate

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (75% PEG 400/ suspension)	7 days	0, 100, 300, 1000	3M/3F	<100 mg/kg	≥100 mg/kg: Decreased platelet, increased AST and ALT, mineralization in kidney, stomach, heart and aorta, increased epiphysial growth plate, myocardial degeneration, and hypoplasia in bone marrow 1000 mg/kg: Lethality (2F), decreased activity, soft stool, watery stool, decreased food consumption and body weight	TKB-007
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage (water for injection/solution)	7 days	0, 10, 30, 100	3M/3F	<10 mg/kg	≥10 mg/kg: Increased epiphysial growth plate 100 mg/kg: Decreased platelets (F); mineralization in the stomach (M)	TKB-008

Test Article: lenvatinib mesilate

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number
Dog/Beagle	Oral by capsule (3-fold trituration with lactose in gelatin capsule)	7 days	0, 30, 100, 300	1M/1F	<30 mg/kg	≥30 mg/kg: Watery stool, decreased food consumption and body weight, decreased lymphocytes, increased AST, red mucosa in cecum Histopathologic changes in GI tract ≥100 mg/kg: Mucous stool, increased ALT, red foci in stomach, red mucosa in colon, vacuolation of hepatocytes 300 mg/kg: Mononuclear cell infiltration in liver	TKB-027

Test Article: lenvatinib mesilate

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number
Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage (2-fold trituration with lactose in gelatin capsule)	2 weeks	0, 1, 10, 100	1M/1F	1 mg/kg	1 mg/kg: No toxicity 10 mg/kg: decreased food consumption and body weight Histopathology: mucosal atrophy (colon; F), vascular lesion (arterial fibrinoid necrosis; colon; F) 100 mg/kg: soft stool, watery stool, decreased activity, decreased food consumption and body weight, increased AST, ALT, total bilirubin, blood urea nitrogen, and creatinine Histopathologic changes: mucosal atrophy (duodenum, cecum, colon, and rectum), vascular lesion (arterial fibrinoid necrosis; gallbladder; M), inflammation of duodenal glands (M)	83

ALT = alanine aminotransferase, AST = aspartate aminotransferase, F = female, GALT = gastrointestinal-associated lymphoid tissues, GI = gastrointestinal, M= male, PEG = polyethylene glycol.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.A

Test Article: lenvatinib mesilate

Report Title: A 4-Week Oral Toxicity Study in Rats		Study No. S-016
Species / Strain: Rat / Sprague Dawley	Duration of Dosing: 4 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2
Initial Age: 8 weeks old	Duration of Postdose: Not applicable	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: 20	Method of Administration: Oral by gavage	
Vehicle / Formulation: 75% PEG 400 / Suspension		
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: <10 mg/kg		

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		10		30		100	
Number of Animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Number of Animals for Toxicokinetics:	M: 0	F: 0	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Toxicokinetics: AUC ₍₀₋₂₄₎ (μg·h/mL)								
Day 1	NA	NA	73.2600	69.4600	284.2113	246.3499	633.4111	790.1303
Day 8	NA	NA	61.7585	60.7799	226.1693	216.1391	384.4484	550.6046
Day 27	NA	NA	66.6293	64.4502	186.4804	186.0266	188.0937	123.1119
Toxicokinetics: C _{max} (μg/mL)								
Day 1	NA	NA	24.4652	24.9212	64.7181	47.9748	83.3381	102.9775
Day 8	NA	NA	17.2257	24.2497	42.6547	48.4547	45.7809	63.7463
Day 27	NA	NA	16.7253	25.0045	21.2952	28.3237	10.2357	11.7576
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	1 ^a	4	2
Body Weight (%) ^b	337.7 g	206.7 g	0	0	-1	+1	-3	+2
Food Consumption (%) ^b	21 g	14 g	0	0	-19	-7	-33	-36
Clinical Observations:								
White discoloration of incisors	-	-	+	+	+	+	+	+
Staining	-	-	-	-	+	-	+	+
Salivation	-	-	-	-	-	+	+	+
Paleness	-	-	-	-	-	-	+	+
Soft stool	-	-	-	-	-	-	+	+
Decreased activity	-	-	-	-	-	-	+	+
Ophthalmoscopy:	-	-	-	-	-	-	-	-

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		10		30		100	
Number of Animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Hematology:								
Red Blood Cell count ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	8.74	8.27	8.49	8.03	8.62	8.00	6.21	4.66
Hemoglobin Concentration (g/dL)	16.8	16.2	17.4	16.3	17.7	16.4	12.8	9.7
Hematocrit (%)	46.3	44.1	47.1	43.6	48.3	44.1	35.3	26.7
Reticulocyte count ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	18.91	16.33	11.46	11.93	9.53	10.00	11.09	16.60
Platelet count ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1054	1071	836	912	758	798	769	949
Eosinophil count ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.21	0.17	0.12	0.10	0.11	0.07	0.03	0.03
Serum Chemistry:								
AST (mU/mL)	123	106	126	129	131	152	178	391
ALT (mU/mL)	35	22	58	43	102	94	173	285
Total Cholesterol (mg/dL)	67	82	77	101	104	121	181	140
Total Protein (g/dL)	6.2	6.6	6.1	6.3	6.1	5.8	4.6	3.7
Albumin (g/dL)	2.8	3.1	2.7	2.9	2.6	2.5	1.6	1.3
Globulin (g/dL)	3.4	3.5	3.4	3.4	3.5	3.3	3.0	2.4
A/G ratio	0.83	0.90	0.77	0.84	0.74	0.76	0.54	0.52
Ca (mg/dL)	9.5	9.5	9.5	9.5	9.7	9.4	8.7	7.5
Urea Nitrogen (mg/dL)	11.9	13.0	12.7	13.8	14.1	13.5	65.0	57.6
Creatinine (mg/dL)	0.26	0.32	0.27	0.32	0.25	0.30	0.54	0.38
Urinalysis:								
Number Evaluated:	10	10	10	10	10	9	6	9
Abnormal color	0	0	0	0	0	0	0	3
Protein ^c	0	0	2	0	5	2	6	8
Occult blood ^d	0	0	0	0	3	0	6	7
Epithelial cells ^d	0	0	0	0	3	1	5	6
Leucocytes ^d	1	0	0	0	1	0	1	3
Organ Weights:								
Kidneys, absolute (g)	2.674	1.716	2.685	1.766	2.766	1.765	3.420	2.009**
Adrenals, absolute (mg)	59	62	59	69	66	66	91	126 ^{###}
Ovaries, absolute (mg)	NA	76	NA	92*	NA	64	NA	43**
Testes, absolute (g)	3.106	NA	2.731	NA	2.295 ^{###}	NA	2.021 ^{###}	NA
Gross Pathology:								
Number Evaluated:	10	10	10	10	10	9 (1)	6 (4)	8 (2)
Abdominal cavity								
Fluid, clear	0	0	0	0	0	0	0	1

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		10		30		100	
Number of Animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Adrenals								
Enlarged, bilateral	0	0	0	0	0	0	1 (1)	4 (1)
Duodenum								
Edematous	0	0	0	0	1	2	0	4
Heart								
Discolored focus	0	0	0	0	0	0	0 (2)	1 (1)
Incisor								
Discoloration, white	0	0	2	2	10	5	6	8 (2)
Kidneys								
Discoloration	0	0	0	0	0	0	3 (1)	3 (1)
Discolored focus	0	0	0	0	0	0	0	1
Enlarged, bilateral	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver								
Enlarged	0	0	0	0	0	0	1	0
Stomach								
Discoloration, glandular stomach	0	0	0	0	0	0	0 (1)	0
Discolored area, glandular stomach, red	0	0	0	0	0	0	0 (2)	0
Discolored focus, glandular stomach, red	0	0	0	0	1	0	3	2 (2)
Edematous	0	0	0	0	1	2	0	4
Subcutis								
Edema	0	0	0	0	0	0	0	0 (1)
Testes								
Small	0	NA	1	NA	4	NA	5	NA
Thoracic cavity								
Fluid, clear	0	0	0	0	0	0	0 (1)	1
Thymus								
Small	0	0	0	0	0	0	0	2 (1)
Histopathology:								
Number Evaluated:	10	10	10	10	10	9 (1)	6 (4)	8 (2)
Heart								
Myocardial necrosis, focal	0	0	0	0	0	0	0 (1)	0
Myocardial fibrosis	0	0	0	0	0	0	1 (1)	0
Thrombosis	0	0	0	0	0	0	0 (1)	0
Focal bacterial myocarditis	0	0	0	0	0	0	0 (1)	1 (1)

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		10		30		100	
Number of Animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Liver								
Sinusoidal dilatation	0	0	0	0	3	3	4 (3)	8 (2)
Necrosis, hepatocytes, centrilobular	0	0	0	0	0	0	0	1 (1)
Extramedullary hematopoiesis	0	0	0	0	0	0	0	2
Kidneys								
Glomerulopathy	0	0	0	0	7	3	6 (4)	7 (2)
Hyaline droplets, glomeruli	0	0	4	0	3	6	0	0
Tubular dilatation	0	0	0	0	0	0	3 (2)	1
Bacterial colony	0	0	0	0	0	0	0 (1)	1
Thrombosis	0	0	0	0	0	0	1	0
Incisor								
Dysplasia	0	0	10	10	10	9	6 (4)	8 (2)
Inflammatory cell infiltration, pulp	0	0	0	3	3	1	0 (1)	2
Inflammatory cell infiltration, gingiva	0	0	0	3	1	1	0	2
Submaxillary glands								
Acinar atrophy, bilateral	0	0	0	0	0	0	0	1 (2)
Bacterial colony	0	0	0	0	0	0	0	1
Tongue								
Atrophy, epithelium	0	0	0	0	0	0	2 (3)	3 (1)
Ulcer	0	0	0	0	0	0	1	0
Stomach								
Mineralization, mucosa	0	0	0	0	9	5	6 (3)	4 (2)
Increased mucous cell	0	0	0	0	6	9	3 (3)	8
Hemorrhage, glandular lumina	0	0	0	0	1	0	3 (3)	4 (1)
Erosion, glandular stomach	0	0	0	0	0	0	3 (3)	0
Duodenum								
Inflammation, duodenal gland	0	0	0	0	2	4	4 (2)	7 (2)
Inflammatory cell infiltration, mucosa	0	0	0	0	2	1	1 (1)	4
Jejunum								
Foamy cell/ neutrophil accumulation	0	0	0	0	4	0	3 (2)	2
Ileum								
Inflammatory cell infiltration, mucosa	0	0	0	0	0	1	0	0
Erosion	0	0	0	0	0	0	0	1
Hemorrhage	0	0	0	0	0	0	0 (1)	0

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		10		30		100	
Number of Animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Cecum								
Edema, submucosa	0	0	0	0	1	2	4 (1)	5
Rectum								
Edema, mucosa	0	0	0	0	0	0	0	2
Pancreas								
Acinar cell atrophy, diffuse	0	0	0	0	0	0	4 (3)	2 (2)
Edema	0	0	0	0	0	0	2 (1)	3 (1)
Fatty necrosis	0	0	0	0	0	0	1 (1)	0
Pituitary								
Vacuolation, basophilic cell	0	0	0	0	7	0	5 (2)	0
Thyroid								
Bacterial colony	0	0	0	0	0	0	0	1
Adrenals								
Sinusoidal dilatation	0	0	0	0	4	5	5 (2)	8 (2)
Cortical necrosis	0	0	0	0	0	1	1 (1)	6 (1)
Bacterial colony	0	0	0	0	0	0	0 (2)	1
Testes								
Hypocellularity, seminiferous epithelium	0	NA	8	NA	10	NA	6 (4)	NA
Epididymides								
Desquamated seminiferous epithelial cells	0	NA	2	NA	10	NA	6 (4)	NA
Ovaries								
Follicular atresia	NA	0	NA	10	NA	9 (1)	NA	8 (2)
Vagina								
Atrophy, epithelium	NA	0	NA	0	NA	0	NA	7 (2)
Thymus								
Atrophy	0	0	0	0	0	0	1 (2)	5 (2)
Spleen								
Follicular hyperplasia	0	0	1	0	2	0	6 (4)	7 (2)
Mineralization, trabecula	0	0	0	0	0	4	2 (2)	8 (1)
Bone marrow (Femur)								
Hypocellularity, focal	0	0	4	6	8	9 (1)	6 (4)	8 (2)
Bone marrow (Sternum)								
Hypocellularity	0	0	2	2	3	7 (1)	6 (4)	8 (2)

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		10		30		100	
Number of Animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Femur								
Increased epiphysial growth plate	0	0	10	10	10	9 (1)	6 (4)	8 (2)
Sternum								
Increased epiphysial cartilage	0	0	9	9	10	9 (1)	6 (4)	8 (2)

–: No noteworthy findings, +: Observed. Number of animals found dead or moribund with a specific change is shown in parentheses.

A/G = albumin/globulin ratio, ALT = alanine aminotransferase, AST = aspartate aminotransferase, AUC₍₀₋₂₄₎ = area under the concentration–time curve from zero time to 24 hours, C_{max} = maximum observed concentration, CTD = Common Technical Document, F = female, GLP = Good Laboratory Practice, M = male, NA = not applicable, PEG = polyethylene glycol.

a: Accidental death.

b: At the end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

c: Number of animals with a grade greater than “2+”.

d: Number of animals with a grade greater than “Slight (±)”.

P*<0.05, *P*<0.01 (Dunnett’s test), #*P*<0.05, ##*P*<0.01 (Dunnett’s rank test).

2.6.7.7.B

Test Article: lenvatinib mesilate

Report Title: A 4-Week Oral Toxicity Study with 4-Week Recovery Period in Rats		Study No. S-001	
Species / Strain: Rat / Sprague Dawley	Duration of Dosing: 4 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2	
Initial Age: 8 weeks old	Duration of Postdose: 4 weeks	GLP Compliance: Yes	
Date of First Dose: 20	Method of Administration: Oral by gavage		
Vehicle / Formulation: 75% PEG 400 / Suspension			
Special Features: None			
No Observed Adverse Effect Level: <1 mg/kg			

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		1		15	
Number of Animals:	M: 16	F: 16	M: 10	F: 10	M: 16	F: 16
Number of Animals for Toxicokinetics:	M: 0	F: 0	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Toxicokinetics: AUC ₍₀₋₂₄₎ (µg·h/mL)						
Day 1	NA	NA	4.8827	7.4917	99.0042	146.6900
Day 27	NA	NA	6.9892	9.1576	88.4187	137.1546
Toxicokinetics: C _{max} (µg/mL)						
Day 1	NA	NA	1.1185	2.2135	29.6725	47.8954
Day 27	NA	NA	1.3540	2.7502	22.2624	41.4508
Noteworthy Findings						
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%) ^a	356.5 g	217.9 g	-1	-1	+1	0
Food Consumption (%) ^a	21 g	14 g	0	0	0	0
Clinical Observations:						
White discoloration of incisors	-	-	-	-	+	+
Hematology:						
Reticulocyte count (×10 ⁴ /µL)	17.53	15.54	16.49	15.05	12.18	11.46
Platelet count (×10 ³ /µL)	1006	1091	996	1064	847	826
Serum Chemistry:						
ALT (mU/mL)	31	19	38	25	70	52
Total Cholesterol (mg/dL)	62	84	65	84	74	102
ALP (mU/mL)	352	212	429	240	427	316
Urinalysis:						
Number Evaluated:	16	16	10	10	16	16
Protein ^b	0	0	0	0	1	0

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		1		15	
Number of Animals:	M: 16	F: 16	M: 10	F: 10	M: 16	F: 16
Organ Weights:						
Testes, absolute (g)	3.062	NA	2.960	NA	2.391**	NA
Gross Pathology:						
Number Evaluated:	10	10	10	10	10	10
Incisor						
Discoloration, white	0	0	0	0	10	4
Histopathology:						
Number Evaluated:	10	10	10	10	10	10
Kidneys						
Hyaline droplets, glomeruli	0	0	0	0	4	3
Glomerulopathy	0	0	0	0	2	0
Incisor						
Dysplasia	0	0	1	1	10	10
Inflammatory cell infiltration, pulp	0	0	0	0	1	1
Stomach						
Mineralization, mucosa	0	0	0	0	6	1
Pituitary						
Vacuolation, basophilic cell	0	0	0	0	2	0
Testes						
Hypocellularity, seminiferous epithelium	0	NA	0	NA	10	NA
Epididymides						
Desquamated seminiferous epithelial cells	0	NA	0	NA	2	NA
Ovaries						
Follicular atresia	NA	0	NA	0	NA	10
Spleen						
Follicular hyperplasia	0	0	0	0	5	1
Bone marrow (Femur)						
Hypocellularity, focal	0	0	0	0	5	8
Bone marrow (Sternum)						
Hypocellularity	0	0	0	0	2	5
Femur						
Increased epiphysial growth plate	0	0	0	0	10	10

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		1		15	
Number of Animals:	M: 16	F: 16	M: 10	F: 10	M: 16	F: 16
Sternum						
Increased epiphysial cartilage	0	0	0	0	10	9
Postdose Evaluation:						
Number Evaluated:	6	6	0	0	6	6
Died or Sacrificed Moribund	0	0	NA	NA	0	1
Body Weight (%) ^a						
Day 35	358.8 g	213.8 g	NA	NA	-4	-9
Day 55	406.4 g	236.4 g	NA	NA	+2	+6*
Food Consumption (%) ^a						
Day 35	21 g	14 g	NA	NA	-43	-43
Clinical Observations:						
White discoloration of incisors	-	-	NA	NA	+	+
Broken teeth	-	-	NA	NA	+	+
Piloerection	-	-	NA	NA	+	-
Decreased activity	-	-	NA	NA	-	+
Hypothermia	-	-	NA	NA	-	+
Chromaturia	-	-	NA	NA	-	+
Hematology:						
Reticulocyte count ($\times 10^4/\mu\text{L}$)	18.26	15.66	NA	NA	29.52	24.67
Blood Chemistry:	-	-	NA	NA	-	-
Urinalysis:	-	-	NA	NA	-	-
Organ Weights:						
Testes, absolute (g)	3.192	NA	NA	NA	2.239**	NA
Gross Pathology:						
Number examined	6	6	0	0	6	5 (1)
Incisor						
Discoloration, white	0	0	NA	NA	6	5 (1)
Broken teeth	0	0	NA	NA	5	3 (1)
Testes						
Small	0	NA	NA	NA	1	NA

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		1		15	
Number of Animals:	M: 16	F: 16	M: 10	F: 10	M: 16	F: 16
Histopathology:						
Number examined	6	6	0	0	6	5 (1)
Kidneys						
Glomerulopathy, focal	0	0	NA	NA	1	0
Tubular basophilia	0	0	NA	NA	1	0
Incisor						
Dysplasia, distal remnant	0	0	NA	NA	6	5 (1)
Stomach						
Erosion, glandular stomach	0	0	NA	NA	0	0 (1)
Duodenum						
Mucosal atrophy	0	0	NA	NA	0	0 (1)
Ileum						
Mucosal atrophy	0	0	NA	NA	0	0 (1)
Pancreas						
Acinar cell atrophy, diffuse	0	0	NA	NA	0	0 (1)
Testes						
Hypocellularity, seminiferous epithelium, focal	0	NA	NA	NA	5	NA
Hypocellularity, seminiferous epithelium	0	NA	NA	NA	1	NA
Epididymides						
Desquamated seminiferous epithelial cells	0	NA	NA	NA	5	NA
Ovaries						
Residual cystic follicles	NA	0	NA	NA	NA	2 (1)
Thymus						
Atrophy	0	0	NA	NA	0	0 (1)
Spleen						
Atrophy	0	0	NA	NA	0	0 (1)
Submaxillary lymph node						
Lymphoid atrophy	0	0	NA	NA	0	0 (1)
Mesenteric lymph node						
Lymphoid atrophy	0	0	NA	NA	0	0 (1)
Bone marrow (Femur)						
Hypocellularity, focal	0	0	NA	NA	0	0 (1)

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		1		15	
Number of Animals:	M: 16	F: 16	M: 10	F: 10	M: 16	F: 16
Bone marrow (Sternum)						
Hypocellularity	0	0	NA	NA	0	0 (1)
Femur						
Increased epiphysial growth plate	0	0	NA	NA	3	0 (1)
Sternum						
Increased epiphysial cartilage	0	0	NA	NA	0	0 (1)

–: No noteworthy findings, +: Observed. Number of animals found dead or moribund with a specific change is shown parentheses.

ALP = alkaline phosphatase, ALT = alanine aminotransferase, AUC₍₀₋₂₄₎ = area under the concentration–time curve from time zero to 24 hours, C_{max} = maximum observed concentration, CTD = Common Technical Document, F = female, GLP = Good Laboratory Practice, M = male, NA = not applicable, PEG = polyethylene glycol.

a: At the end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

b: Number of animals with a grade greater than “3+”.

c: For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

P*<0.05, *P*<0.01 (Dunnett’s test)

2.6.7.7.C

Test Article: lenvatinib mesilate

Report Title: A 13-Week Oral Toxicity Study in Rats		Study No. S-039
Species / Strain: Rat / Sprague Dawley	Duration of Dosing: 13 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2
Initial Age: 8 weeks old	Duration of Postdose: Not applicable	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: 20	Method of Administration: Oral by gavage	
Vehicle / Formulation: Water for injection / Solution		
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 0.4 mg/kg		

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		0.4		2		10	
Number of Animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Number of Animals for Toxicokinetics:	M: 0	F: 0	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Toxicokinetics: AUC ₍₀₋₂₄₎ (µg·h/mL)								
Day 1	NA	NA	1.9250	2.0946	12.5983	11.2323	57.6145	65.1744
Day 90	NA	NA	2.4136	2.8324	13.6960	17.4836	53.3090	86.9853
Toxicokinetics: C _{max} (µg/mL)								
Day 1	NA	NA	0.4273	0.6941	2.8569	2.8008	9.7052	13.0309
Day 90	NA	NA	0.5150	0.8786	2.6678	3.3869	6.9318	13.0558
Noteworthy Findings								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0 ^a	0
Body Weight (%) ^b	487.2 g	248.5 g	-3	+1	-7	+3	-19 ^{##}	+7 [*]
Food Consumption (%) ^b	21 g	14 g	0	0	0	-14	NA	NA
Clinical Observations:								
White discoloration of incisors	-	-	-	-	+	+	+	+
Broken teeth	-	-	-	-	+	+	+	+
Staining	-	-	-	-	+	+	+	+
Soft stool	-	-	-	-	-	-	+	+
Ophthalmoscopy:	-	-	-	-	-	-	-	-

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		0.4		2		10	
Number of Animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Hematology:								
Red Blood Cell count ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	8.78	7.46	8.47	7.77	8.16**	7.63	7.42**	7.57
Mean Corpuscular Volume (fL)	49.3	51.8	50.9	52.3	54.8 ^{##}	53.7	59.8 ^{##}	56.7**
Mean Corpuscular Hemoglobin (pg)	18.0	19.1	18.6*	19.2	19.9**	19.7	21.6**	21.0**
Platelet count ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1026	1006	903	977	855*	956	775**	856**
Eosinophil count ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.13	0.06	0.16	0.09	0.13	0.09	0.07**	0.11
Neutrophil count ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	1.51	0.64	2.05	0.78	1.38	1.40 [#]	1.60	1.37 ^{##}
Monocyte count ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	0.13	0.05	0.19	0.06	0.14	0.09*	0.21	0.14**
Serum Chemistry:								
AST (mU/mL)	118	77	146	98 [#]	84	88	97	104 ^{##}
ALT (mU/mL)	50	27	109	32	49	36	71 ^{##}	57 ^{##}
Total Cholesterol (mg/dL)	58	72	63	74	58	74	103**	107 ^{##}
Urea Nitrogen (mg/dL)	15.4	17.4	16.6	18.4	18.8 [#]	20.6*	21.8 [#]	24.1**
Glucose (mg/dL)	131	117	133	114	127	117	126	133*
Total Protein (g/dL)	5.8	6.2	5.9	6.1	5.5	5.9	4.9**	5.5 [#]
Albumin (g/dL)	2.5	2.9	2.5	3.0	2.4	2.7	2.1**	2.4**
Globulin (g/dL)	3.3	3.2	3.4	3.2	3.1	3.2	2.9**	3.1
A/G ratio	0.76	0.91	0.76	0.94	0.79	0.83*	0.73	0.77**
Urinalysis:								
Protein ^c	0	0	0	0	0	0	3	0
Phosphate crystal ^d	0	0	0	0	0	0	3	0
Organ Weights:								
Testes, absolute (g)	3.526	NA	3.406	NA	3.302	NA	2.825 ^{##}	NA
Adrenals, absolute (mg)	60	64	59	63	57	69	71	86 [#]
Gross Pathology:								
Number Evaluated:	10	10	10	10	10	10	10	10
Incisor								
Broken	0	0	0	0	8	7	2	6
Discoloration, white	0	0	0	0	9	9	2	6
Loss	0	0	0	0	1	2	10	10

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		0.4		2		10	
Number of Animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Adrenals								
Discoloration, red	0	0	0	0	0	0	3	2
Discoloration, focus, red	0	0	0	0	0	0	0	1
Enlarged	0	0	0	0	0	0	1	2
Thymus								
Small	0	0	0	0	0	0	4	0
Testes								
Small	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
Stomach								
Edema, glandular stomach, mucosa	0	0	0	0	0	0	2	3
Watery contents	0	0	0	0	0	0	4	1
Duodenum								
Edema, mucosa	0	0	0	0	0	0	3	2
Watery contents	0	0	0	0	0	0	4	1
Jejunum/Ileum								
Watery contents	0	0	0	0	0	0	4	1
Cecum								
Watery contents	0	0	0	0	0	0	2	1
Colon/Rectum								
Watery contents	0	0	0	0	0	0	2	0
Histopathology:								
Number Evaluated:	10	10	10	10	10	10	10	10
Incisor								
Dysplasia	0	0	0	0	10	10	10	10
Inflammation cell infiltration, pulp	0	0	0	0	0	2	9	5
Inflammation cell infiltration, gingival	0	0	0	0	0	1	6	2
Bone marrow (Femur)								
Hypocellularity, focal	0	0	0	0	0	0	3	2
Hypocellularity, diffuse	0	0	0	0	0	0	1	0
Femur								
Increased epiphysial growth plate	0	0	0	0	0	0	10	10
Bone marrow (Sternum)								
Hypocellularity, diffuse	0	0	0	0	0	0	1	0

Daily Dose (mg/kg):	0 (Control)		0.4		2		10	
Number of Animals:	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Sternum								
Increased epiphysial cartilage	0	0	0	0	0	0	2	0
Kidneys								
Glomerulopathy	0	0	0	0	0	0	10	2
Testes								
Hypocellularity, seminiferous, epithelium	0	NA	0	NA	0	NA	10	NA
Ovaries								
Follicular atresia	NA	0	NA	0	NA	6	NA	10
Vagina								
Mucification	NA	0	NA	0	NA	0	NA	4
Spleen								
Mineralization, trabecula	0	0	0	0	0	0	7	10
Extramedullary hematopoiesis	0	0	0	0	0	0	2	0
Pituitary								
Vacuolation, basophilic cell	0	0	0	0	0	0	5	0
Liver								
Sinusoidal dilatation	0	0	0	0	0	0	1	0
Pigmentation, Kupffer cells	0	0	0	0	0	0	1	0
Brain								
Eosinophilic exudates, choroid plexus	0	0	0	0	0	0	10	7
Arterial fibrinoid necrosis, choroids plexus	0	0	0	0	0	0	2	0
Adrenals								
Sinusoidal dilatation	0	0	0	0	0	0	5	8
Cortical necrosis	0	0	0	0	0	0	1	0
Vacuolation, cortex, bilateral	0	0	0	0	0	0	1	1
Stomach								
Mineralization, mucosa	0	0	0	0	0	0	8	0
Mucosal hyperplasia, glandular stomach	0	0	0	0	0	0	5	5
Inflammation cell infiltration, glandular stomach	0	0	0	0	0	0	1	0
Duodenum								
Inflammation, duodenal glands	0	0	0	0	0	0	5	5
Mucosal hyperplasia	0	0	0	0	0	0	5	2