2.6.6 毒性試験の概要文

カプレルサ®錠 100 mg

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　　頁

目次 2
略語及び専門用語一覧表 4
1 まとめ 5
2 単回投与毒性試験 11
2.1 マウス単回経口投与毒性試験 11
2.2 マウス単回静脈内投与毒性試験 11
2.3 ラット単回経口投与毒性試験 11
2.4 イヌの MTD 及び 14 日間反復投与試験 12
3 反復投与毒性試験 13
3.1 ラット 1 カ月間反復経口投与毒性試験 13
3.2 ラット 6 カ月間反復経口投与毒性試験 15
3.3 ラット 10 日間反復静脈内投与毒性試験 17
3.4 ラット 2 週間反復静脈内投与毒性試験 18
3.5 イヌ 1 カ月間反復経口投与毒性試験 19
3.6 イヌ 9 カ月間反復経口投与毒性試験 20
3.7 イヌ 10 日間反復静脈内投与毒性試験の用量設定試験 21
3.8 イヌ 2 週間反復静脈内投与毒性試験 21
4 遺伝毒性試験 22
4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 22
4.2 培養ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験 23
4.3 ラットの経口投与による小核試験 23
5 がん原性 23
5.1 マウスを用いた 7 日間経口投与用量設定試験 23
5.2 マウスを用いた 1 カ月間経口投与用量設定試験 24
5.3 rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 6 カ月間経口投与がん原性試験 24
6 生殖発生毒性試験 25
6.1 雄ラットの経口投与による受胎能試験 25
6.2 雌ラットの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 25
6.3 ラットの経口投与による胚・胎児発生毒性試験の用量設定試験 26

6.4 ラットの経口投与による胚・胎児発生に関する試験 26
6.5 ラットの経口投与による出生前・出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験の用量設定試験 27
6.6 ラットの経口投与による出生前・出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 28
7 局所刺激性試験 29
8 その他の毒性試験 29
8.1 不純物の試験 29
8.1.1 遺伝毒性を有する不純物の管理戦略の概要 29
8.1.2 遺伝毒性の可能性のある不純物の遺伝毒性試験 30
8.1.2.1 *不純物B（ *不純物B ） 30
8.1.2.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験による遺伝毒性の検討 30
8.1.2.2 *不純物C （ *不純物C ） 30
8.1.2.2.1 細菌を用いた復帰突然変異試験による遺伝毒性の検討 30
8.1.2.2.2 マウスを用いた骨髄小核試験 31
8.1.2.3 *不純物D 31
8.1.2.3.1 細菌を用いた復帰突然変異試験による遺伝毒性の検討 31
8.1.2.4 *不純物E 31
8.1.2.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験による遺伝毒性の検討 31
8.1.3 原薬中の不純物 32
8.1.3.1 [redacted] 32
8.1.3.2 *不純物A 32
8.2 光毒性試験 32
8.2.1 BALB/c 3T3 細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験 32
9 考察 33
10 結論 37
11 参考文献一覧 37

表目次

表 1 毒性試験の一覧 5
表 2 ラット、イヌ、マウス、ヒトにおける $AUC_{0\text{-}24}$（ng·h/mL）の比較 7
表 3 ラット、イヌ、マウス、ヒトにおける C_{max}（ng/mL）の比較 8

*新薬承認情報提供時に置き換えた

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	用語の解説
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血漿中濃度-時間曲線下面積
C_{max}	最高血漿中濃度
CYP	チトクローム P450
EC_{50}	50%影響濃度
EGF	上皮増殖因子
EGFR	上皮増殖因子受容体
GLDH	グルタミン酸脱水素酵素
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HPMC	ヒドロキシプロピルメチルセルロース
ICH	日米欧医薬品規制調和国際会議
MNU	メチルニトロソ尿素
MTD	最大耐量
PIF	photo irritation factor
QTcV	Van de Water 法で補正した QT 間隔
RET	トランスフェクション中の再構成（癌原遺伝子）、受容体チロシンキナーゼの一種
S9-mix	ラット肝ホモジネートの代謝活性化系
Tg	遺伝子組換
TK	トキシコキネティクス
TTC	毒性学的懸念の閾値
UVA	紫外線 A 波
VEGF	血管内皮細胞増殖因子
VEGFR	血管内皮細胞増殖因子受容体

毒性試験の概要文

1　　まとめ

バンデタニブ（ZD6474）は血管内皮増殖因子（VEGF）刺激による血管新生を阻害し、更に上皮増殖因子受容体（EGFR）及び RET を介した腫瘍の増殖も阻害する。バンデタニブは根治切除不能な局所進行又は転移を伴う甲状腺髄様癌（MTC）の治療を目的として開発され、臨床推奨用量は 300 mg 1 日 1 回の経口投与である。

バンデタニブの全身性の毒性を、マウス及びラット単回経口投与毒性試験、イヌの経口投与による最大耐量（MTD）試験、マウス単回静脈内投与毒性試験、ラットの最長 6 カ月間反復経口投与毒性試験、イヌの最長 9 カ月間反復経口投与毒性試験で検討した。更に、バンデタニブを静脈内投与したときの影響をラット及びイヌの 14 日間までの反復投与毒性試験で検討した。[redacted]、これらの静脈内投与毒性試験を行ったが、結果として[redacted]。この他、バンデタニブ及び不純物の遺伝毒性試験、バンデタニブの遺伝子組換（Tg）マウスを用いたがん原性試験、生殖発生毒性試験、*in vitro* の光毒性試験を実施した。すべての毒性試験を表 1 に示した。

表 1　　毒性試験の一覧

試験の種類	投与経路	動物種	GLP 準拠の有無	試験番号
単回投与毒性				
単回	経口	マウス	準拠	TLM1135
単回	静脈内	マウス	準拠	TLM1136
単回	経口	ラット	準拠	TLR2935
MTD 試験	経口	イヌ	非準拠	TAD1041*
反復投与毒性				
1 カ月	経口	ラット	準拠	TAR2937
6 カ月	経口	ラット	準拠	TPR2939
10 日間用量設定	静脈内	ラット	非準拠	0567AR*
2 週間用量設定	静脈内	ラット	準拠	0266AR*
1 カ月	経口	イヌ	準拠	TAD1042
9 カ月	経口	イヌ	準拠	TPD1043
10 日間用量設定	静脈内	イヌ	非準拠	0142AD*
2 週間	静脈内	イヌ	準拠	0143AD*
遺伝毒性				
復帰突然変異	*In vitro*	*S. typhimurium* 及び *E. coli*	準拠	TMV777
In vitro 染色体異常	*In vitro*	ヒトリンパ球	準拠	TYX103
小核試験	経口	ラット	準拠	TQR2942
がん原性				
7 日間	経口	マウス	非準拠	0871DM*
1 カ月	経口	マウス	準拠	0858HM*
6 カ月	経口	rasH2 Tg マウス	準拠	0862CM
生殖発生毒性				
雄受胎能試験	経口	ラット	準拠	TGR3138

表 1　　毒性試験の一覧

試験の種類	投与経路	動物種	GLP 準拠の有無	試験番号
雌受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	経口	ラット	準拠	TGR2940
胚胎児発生に関する試験の用量設定試験	経口	ラット	非準拠	TRR3073*
胚胎児発生に関する試験	経口	ラット	準拠	TTR2938
出生前及び出生後の発生に関する試験の用量設定試験	経口	ラット	準拠	1107WR*
出生前及び出生後の発生に関する試験	経口	ラット	準拠	1251WR
その他の毒性				
不純物の試験				
*不純物B （*不純物B）	*In vitro* (Ames)	*S. typhimurium*	非準拠	1953BV*
*不純物C	*In vitro* (Ames)	*S. typhimurium* 及び *E. coli*	非準拠	8664*
	In vivo (小核)	マウス	非準拠	SM1003*
*不純物D	*In vitro* (Ames)	*S. typhimurium* 及び *E. coli*	準拠	1338BV*
*不純物E	*In vitro* (Ames)	*S. typhimurium* 及び *E. coli*	準拠	1339BV*
光毒性	*In vitro*	Balb/c 3T3 fibroblasts	準拠	TKU9

*　参考資料

主たる毒性試験（マウス及びラット単回投与毒性試験、ラット 1 及び 6 カ月間反復投与毒性試験、イヌ 1 及び 9 カ月間反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、Tg マウスがん原性試験、生殖発生毒性試験、光毒性試験）は、すべて医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠した試験として実施した。用量設定試験は必ずしも全て GLP に準拠した試験ではなかったが、GLP 適合施設において実施した。ラット及びイヌの反復静脈内投与毒性試験は、予定される臨床適応に必須な試験とはみなさなかった。

動物及びヒト（日本人 MTC 患者）の定常状態の曝露量データ（臨床薬理試験 2.7.2.2.1.6.1 項参照）を表 2（AUC）及び表 3（C_{max}）で比較した。ヒトにおける 300 mg/日（約 5 mg/kg/日）投与後の定常状態の AUC_{SS}（28448 ng·h/mL）は、ラット 6 カ月間反復経口投与毒性試験の最大耐用量（10 mg/kg/日）で得られた $AUC_{0\text{-}24}$ 値の約 3.5 倍で、イヌ 9 カ月間反復投与毒性試験の最大耐用量（15 mg/kg/日）で得られた $AUC_{0\text{-}24}$ 値に比べて約 12.5 倍高値であった。同様にヒトにおける 300 mg/日投与時の $C_{ss,max}$（1315 ng/mL）は、これらの長期投与毒性試験のものと比べ概して高値であった。

イヌでは、経口投与に比較して静脈内投与で高い曝露量が得られ、C_{max} で約 20 倍、$AUC_{0\text{-}24}$ では約 4 倍高値であった。ラット静脈内投与のデータは技術的理由により一部のデータ除外せざるを得なかったため、ラットの静脈内投与と経口投与の曝露量の正確な比較はできなかった。

*新薬承認情報提供時に置き換えた

表 2　　ラット、イヌ、マウス、ヒトにおける AUC_{0-24}（ng·h/mL）の比較

投与量 (mg/kg/日)	ラット経口	イヌ経口	マウス経口	ヒト経口[#] (AUC_{SS})	ラット静脈内 ($AUC_{0.667-24}$)	イヌ静脈内
1	799[a]	218[d]	-	-	-	-
2.5	-	-	-	-	2350[e]	1010[f]
3	-	-	9620[i]	-	-	-
4.75	-	-	-	-	-	2310[g]
5	4257[a]	678[c], 1035[d]	-	28448	-	-
7	-	-	-	-	-	2100[f]
9.5	-	-	-	-	-	4000[g]
10	8114[a]	-	27860[h], 37400[i], 200967[j]	-	7450[e]	-
15	-	2380[c], 2273[d]	-	-	-	-
16.5	-	-	-	-	-	6410[f]
17.5	-	-	-	-	12000[e]	-
19	-	-	-	-	-	9410[g]
25	22685[b]	-	-	-	-	-
30	-	-	73010 [h], 78700[i]	-	-	-
75	34448[b]	-		-	-	-
100	-	-	140650[h]	-	-	-
300	-	-	285425[j]	-	-	-

ヒトの投与量は 60 kg 換算し、試験 98 のデータを用いた。5.0 mg/kg/日は 300 mg/日に相当
a TPR2939：6 カ月間反復投与毒性試験、　b TAR2937：　1 カ月間反復投与毒性試験
c TAD1042：1 カ月間反復投与毒性試験（最高用量の 40 mg/kg/日の曝露量のデータなし）
d TPD1043：9 カ月間反復投与毒性試験、　e 0266AR：2 週間反復投与毒性試験
f 0143AD：2 週間反復投与毒性試験、　g 0142AD：10 日間反復投与毒性試験
h 0858HM：1 カ月間反復投与毒性試験　i 0862CM：がん原性試験
j 0871DM：7 日間反復投与毒性試験

表 3　　ラット、イヌ、マウス、ヒトにおける C_{max}（ng/mL）の比較

投与量 (mg/kg/day)	ラット経口	イヌ経口	マウス経口	ヒト経口# $C_{ss,max}$	ラット静脈内	イヌ静脈内
1	39.6[a]	11.7[d]	-	-	-	-
2.5	-	-	-	-	254[e]	312[f]
3	-	-	476[i]	-	-	-
4.75	-	-	-	-	-	648[g]
5	225[a] 97[b]	54.3[c], 61.4[d]	-	1315	-	-
7	-	-	-	-	-	684[f]
9.5	-	-	-	-	-	1450[g]
10	427[a]	-	1400[h], 1870[i], 1090[j]	-	603[e]	-
15	-	156[c], 160[d]	-	-	-	-
16.5	-	-	-	-	-	2210[f]
17.5	-	-	-	-	960[e]	-
19	-	-	-	-	-	3230[g]
25	1213[b]	-	-	-	-	-
30	-	-	3500[h], 3430[i]	-	-	-
75	1853[b]	-	-	-	-	-
100	-	-	6360[h]	-	-	-
300	-	-	12900[j]	-	-	-

ヒトの投与量は 60 kg 換算し、試験 98 のデータを用いた。5 mg/kg/日は 300 mg/日に相当
a TPR2939：6 カ月間反復投与毒性試験、　b TAR2937：　1 カ月間反復投与毒性試験
c TAD1042：1 カ月間反復投与毒性試験（最高用量の 40 mg/kg/日の曝露量のデータなし）
d TPD1043：9 カ月間反復投与毒性試験、　e 0266AR：2 週間反復投与毒性試験
f 0143AD：2 週間反復投与毒性試験、　g 0142AD：10 日間反復投与毒性試験
h 0858HM：1 カ月間反復投与毒性試験　i 0862CM：がん原性試験
j 0871DM：7 日間反復投与毒性試験

毒性試験でみられた主要所見は以下のとおりである。

単回投与毒性

マウスの単回経口投与毒性試験で、バンデタニブ 2000 mg/kg 投与では忍容性がみられず、投与 1 日目に全例が死亡するか又は安楽死させた。1000 mg/kg 投与では 10 例中 1 例が死亡した。2000 mg/kg 投与群の 1 例の胃に潰瘍を認めたのを除き、特記すべき病理組織学的所見は認められなかった。概略の致死量は雄で 1000 mg/kg、雌で 1000 mg/kg 超～2000 mg/kg 未満と判断した。

マウスの単回静脈内投与毒性試験で、50 mg/kg 投与群の 10 例中 1 例が投与 1 日目に死亡した。概略の致死量は雄で 50 mg/kg 超、雌で 50 mg/kg と判断した。

ラットの単回経口投与毒性試験で、2000 mg/kg の投与では忍容性がみられず、全例が 4 日目までに死亡するか又は安楽死させたが、1000 mg/kg を投与したラットには毒性所見は認められなかった。概略の致死量は雌雄ともに 1000 mg/kg 超～2000 mg/kg 未満と判断した。

イヌの MTD 試験では、100 mg/kg/日の用量で嘔吐、軟便、摂餌低下、体重減少等の消化管毒性を示唆する変化がみられた。

反復投与毒性

1 カ月、6 カ月、9 カ月間反復投与毒性試験では、用量制限毒性としてイヌの消化管への影響、ラットの皮膚毒性及び肝毒性がみられた。高用量群でこれらの主要所見の発現及び死亡がみられたため、減量するか（ラット 6 カ月間反復投与毒性試験の高用量群の 20 mg/kg/日を 13 週以降 10 mg/kg/日に減量、イヌ 9 カ月間反復投与毒性試験の高用量群の 20 mg/kg/日を 17 週に 15 mg/kg/日に減量）あるいはラット 1 カ月間反復投与毒性試験（25 又は 26 日）及びイヌ 1 カ月間反復投与毒性試験（15 日）では高用量群の投与を早期に中止した。

イヌ 1 カ月及び 9 カ月間反復投与毒性試験では、軟便/異常便、嘔吐、体重減少などの消化管への影響が用量制限毒性としてみられたが、関連した消化管の病理組織学的所見は認められなかった。

ラット 1 カ月間反復投与毒性試験の 75 mg/kg/日投与群で、血漿アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）及びグルタミン酸脱水素酵素（GLDH）の上昇がみられ、2 例の雌には急性胆管炎がみられた。4 週間の回復期間終了時でも ALT の軽度な上昇など、一部の影響は持続した。ラットの 6 カ月の試験で 20 mg/kg/日投与群の数例にみられた死亡は、急性胆管炎ないしは膵炎が一部寄与したと考えられた。なお、急性胆管炎は 10 mg/kg/日に減量後は認められなかった。更に、5 及び 25 mg/kg/日を 1 カ月投与、あるいは 20/10 mg/kg/を 6 カ月投与した数例のラットに ALT、アルカリホスファターゼ（ALP）、AST の上昇が認められたが、病理組織学的所見はみられなかった。肝胆道系所見は、イヌ 1 カ月及び 9 カ月間反復投与毒性試験においては認められなかった。

ラット経口投与毒性試験及び静脈内投与毒性試験でヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球及び白血球数の増加、網状赤血球数の減少など、用量に相関した軽度な血液学的変化がみられたが、投与中止後に回復傾向がみられた。

ラット 1 カ月間反復経口投与毒性試験で、25 及び 75 mg/kg/日投与群に用量に相関した大腿脛骨関節骨端軟骨板の可逆的異形成が、40 mg/kg/日投与群のイヌでは大腿骨骨端軟骨板の可逆的異形成がみられた。

ラット 1 カ月間反復投与毒性試験の 25 及び 75 mg/kg/日投与群で、鼻口部の皮膚に急性毛包炎及び上皮微小膿瘍形成が用量に相関してみられた。6 カ月間反復投与毒性試験の 20/10 mg/kg/日、5 mg/kg/日投与群のラットでも毛包炎が観察された。これらは 6 カ月の投与終了後 3 カ月の休薬期間終了時までに回復した。

ラット 1 カ月間反復投与毒性試験の 75 mg/kg/日投与群で、投与終了後 4 週間の回復期間に切歯形成異常がみられ、6 カ月間反復投与毒性試験の 20/10 mg/kg/日投与群の数例の死亡例にも同様の所見が認められた。

ラット 1 カ月間反復経口投与毒性試験の 25 及び 75 mg/kg/日投与群で腎乳頭壊死がみられ、4 週間の回復試験終了時でも引き続き認められた。腎乳頭壊死は、ラット 6 カ月間反復投与毒性試験及びイヌの試験では認められなかった。

リン脂質症発現に関連する病理組織学的変化及び超微細形態的変化（ラット 1 カ月間反復投与毒性試験の特定組織の電子顕微鏡による観察）がラットの 1 カ月間反復経口投与毒性試験（肺、リンパ節、脾臓、小葉中心性肝細胞、尿細管上皮）、6 カ月間反復経口投与毒性試験（肺）及び静脈内投与毒性試験（主に肺及び脾臓、但し、リン脂質症は媒体投与群でも発現）で観察された。イヌでは、経口投与毒性試験でリン脂質症の組織学的所見はみられなかったが、2 週間静脈内投与毒性試験でバンデタニブ投与群のイヌの肺胞及び腸間膜リンパ節にリン脂質症の組織学的所見が認められた。バンデタニブは、細胞内リン脂質の過度の蓄積を誘発することが知られる陽イオン両親媒性の物理化学的性質を有する。

遺伝毒性

バンデタニブは細菌を用いた復帰突然変異試験において突然変異を誘発せず、*in vitro* 染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験において染色体異常誘発性を示さなかった。

がん原性

rasH2 Tg マウスに最高 30 mg/kg/日の用量でバンデタニブを 6 カ月間反復経口投与したところ、腫瘍発生頻度の増加はみられなかった。

生殖発生毒性

バンデタニブの顕著な影響が、雌ラットの生殖のあらゆる段階で認められた。ラット 1 カ月間反復投与毒性試験の 75 mg/kg/日投与群で卵巣の黄体数の減少が観察されているが、雌ラット生殖能試験では、母動物の一般毒性所見はみられなかった。しかし、10 及び 25 mg/kg/日群で不規則な発情周期が増加する傾向が認められ、生存胚数の減少及び着床後死亡の増加につながる早期子宮内死亡増加が用量に相関して認められ、無毒性量は 1 mg/kg/日であった。4 週間の休薬期間後、発情周期、着床前及び着床後死亡、又は同腹生存胚数に対する影響は認められなかった。

妊娠雌ラットの妊娠 1～7 又は 7～16 日にバンデタニブを経口投与したとき、20 mg/kg/日群で着床後死亡のわずかな増加を認めた。妊娠 7～16 日に 10 及び 20 mg/kg/日を投与した群では、胎児体重の低下が認められた。ラットの胚・胎児発生毒性試験では、25 mg/kg/日投与群で、胚・胎児死亡、胎児発育遅延、心血管系の異常、頭蓋骨の早期骨化を認めた。低用量の 1 mg/kg/日投与群で、胎児 1 例に心血管系の異常がみられたため、無毒性量は確定できなかった。

ラットに 1 及び 10 mg/kg/日のバンデタニブを妊娠 6 日から、10 mg/kg/日を妊娠 16 日から投与した出生前及び出生後の発生に関する試験で、体重増加抑制、摂餌量の減少などの母動物に対する軽度な毒性が妊娠及び授乳期間中にみられ、出生前死亡の増加が妊娠 6 日から 10 mg/kg/日を投与した群でみられた。すべての投与群において出生児の生後発育の遅延がみられた。妊娠 6 日、あるいは妊娠 16 日に投与を開始したいずれの高用量群でも、出生児の生後発育の遅延が身体発育分化の軽度遅延として認められた。F1 出生児の行動発達試験で影響は認められず、交尾能、受胎能、妊娠能への影響も観察されなかった。

雄ラット生殖能に対するバンデタニブの影響は認められなかった。

その他の毒性

遺伝毒性を有する可能性のある 4 種類の不純物（ *不純物B (*不純物B)、 *不純物C 、 *不純物D 及び *不純物E ）について試験を行い、遺伝毒性がないことが確認された。

バンデタニブの反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験の結果から、バンデタニブ中に存在する不純物である *不純物A の規格限度値（[redacted]）は適切であると考えられた。

紫外線照射下及び非照射下で実施された *in vitro* 光毒性試験において、バンデタニブの光毒性作用が認められた。

*新薬承認情報提供時に置き換えた

2 単回投与毒性試験

マウス及びラットで単回経口投与毒性試験を実施した。マウスの単回静脈内投与毒性試験は実施したが、ラットでは、媒体調製液（45% hydroxypropyl-β-cyclodextrin/pH 7 Sorensen リン酸緩衝液）が投与容量で忍容性を示さず、意味のあるバンデタニブ投与は行えないと判断して、ラットの単回静脈内投与毒性試験は実施しなかった。その後、媒体調製液を変更して（15% w/v hydroxypropyl-β-cyclodextrin、1.6% w/v マンニトール添加、pH7 の水溶液）、忍容性を確認し、ラットの 10 日及び 14 日間反復静脈内投与毒性試験を実施した。この媒体によるラット単回静脈内投与毒性試験は実施しなかった。

2.1 マウス単回経口投与毒性試験

（毒性試験概要表 2.6.7.5 参照）TLM1135

本試験では、バンデタニブを単回経口投与したときのマウスの忍容性を評価し、毒性変化の性質及び持続期間を検討した。

雌雄各 5 例からなる 2 群の Alpk:AP$_f$CD-1 マウスにバンデタニブ 1000 又は 2000 mg/kg（0.5% w/v ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）/ 0.1% w/v polysorbate 80 水溶液に懸濁）を単回経口投与し、投与後 14 日間観察した後、剖検して肉眼的観察を行った。異常がみられた組織については病理組織学的検査を実施した。

2000 mg/kg の単回経口投与では忍容性はみられず、円背位、攻撃性、間代性痙攣、半眼、腹部膨満、振戦/震え、低体温、呼吸数減少、鎮静、立毛などの症状がみられ、投与 1 日目にすべてのマウスは死亡するか又は安楽死させた。1 例の胃に潰瘍を認めたのを除き、病理組織学的異常所見は認められなかった。1000 mg/kg 投与群では 10 例中 1 例が死亡したが（死亡前の異常所見なし）、残りのマウスはすべて観察期間中生存した。雄 1 例で投与 1 日目に円背位及び鎮静がみられた。本試験における概略の致死量は雄で 1000 mg/kg、雌で 1000 mg/kg 超～2000 mg/kg 未満と判断した。

2.2 マウス単回静脈内投与毒性試験

（毒性試験概要表 2.6.7.5 参照）TLM1136

本試験では、バンデタニブを単回静脈内投与したときのマウスの忍容性を評価し、毒性変化の性質及び持続期間を検討した。

雌雄各 5 例の Alpk:AP$_f$CD-1 マウスにバンデタニブ 50 mg/kg（45% w/v hydroxypropyl-β-cyclodextrin/pH7 Sorensen リン酸緩衝液で調製）を単回静脈内投与し、投与後 14 日間を観察した後、剖検して肉眼的観察を行った。異常がみられた組織については病理組織学的検査を実施した。

50 mg/kg 単回静脈内投与直後に 10 例中 1 例が死亡した。このマウスでは死亡前に不整呼吸、鎮静、痙攣がみられた。生存例においても不整呼吸、鎮静、円背位、半眼の症状がみられたが、投与後 90 分以内に回復した。病理組織学的な異常所見は認められなかった。本試験における概略の致死量は雄で 50 mg/kg 超、雌で 50 mg/kg と判断した。

2.3 ラット単回経口投与毒性試験

（毒性試験概要表 2.6.7.5 参照）TLR2935

本試験では、バンデタニブ単回経口投与したときのラットの忍容性を評価し、毒性変化の性質及び持続期間を検討した。

雌雄各 5 例からなる 2 群の Alpk:AP$_f$SD Wistar 系ラットにバンデタニブ 1000 又は 2000 mg/kg（0.5% w/v HPMC/ 0.1% w/v polysorbate 80 水溶液に懸濁）を単回経口投与し、投与後 14 日間観察した後、剖検して肉眼的観察を行った。異常がみられた組織については病理組織学的検査を実施した。

2000 mg/kg 投与群の雌 2 例が投与の約 5 時間後に死亡した。生存例（雌雄）はすべて 4 日目に安楽死させた。すべての生存雌で投与 1 日目に立毛、円背位、腹部膨満の症状が認められたが、雄では投与 1 及び 2 日目に所見はみられなかった。その後、痩削、皮膚の緊張性低下、爪先歩行、腹部の凹み、腹部膨満、半眼、円背位、鎮静、立毛、尿の付着、鼻周囲の汚れが観察されたため、投与 4 日目に安楽死させた。病理組織学的検査では、肝細胞空胞化、肝の脂肪沈着、壊死、胃潰瘍、十二指腸粘膜の単細胞壊死及びびらん、脾臓のマクロファージ空胞化が認められた。1000 mg/kg 投与群のラットには一般状態及び病理組織学的検査で異常所見は認められなかった。本試験における概略の致死量は雌雄ともに 1000 mg/kg 超～2000 mg/kg 未満と判断した。

2.4 イヌの MTD 及び 14 日間反復投与試験

（毒性試験概要表 2.6.7.5 参照）TAD1041

非げっ歯類の単回投与毒性は、Alderley Park ビーグルイヌを用いた 1 カ月間反復経口投与毒性試験の用量設定のために実施した MTD 試験で評価した。雌雄各 1 例からなる 1 群のイヌに 25、50 及び 100 mg/kg/日を 3 又は 4 日間連日投与した。バンデタニブは 0.5%w/v HPMC/ 0.1% w/v polysorbate 80 水溶液に懸濁して投与した。

50 mg/kg/日投与では下痢がいずれのイヌにおいても認められた。更に、100 mg/kg/日投与では嘔吐及び行動抑制もみられた。体重も投与前に比して 50 mg/kg/日投与で約 5%、100 mg/kg/日投与では約 15%減少した。25、50 及び 100 mg/kg/日投与のいずれの群においても、摂餌量低下が認められた。臨床検査値の変動として、50 及び 100 mg/kg/日投与後の第 8 及び 11 日に血漿中コレステロール値の上昇がみられた。100 mg/kg/日の用量では、消化管毒性を示唆する嘔吐、軟便、摂餌低下、体重減少が発現し、当該用量では忍容性がみられなかったが、投与終了後の剖検及び病理組織学的検査では異常は認められなかった。

MTD 試験に続いて 1 群雌雄各 1 例からなる別の群のイヌに 5、25 及び 40 mg/kg/日を 14 日反復投与した。

MTD 試験及び 14 日反復投与毒性試験のいずれにおいても、100 mg/kg/日を投与し、投与後に嘔吐を認めた雄イヌを除き、用量の増加に比例した C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ の増加がみられた。反復投与後に 5 mg/kg/日投与群では曝露の蓄積性がみられたが、高用量の 2 群では認められなかった。40 mg/kg/日投与群に軽度であるが消化管毒性を示唆する摂餌低下、軟便、体重減少がみられた。これらの一般状態は、同群の小腸軽度粘膜びらん及び大腸粘膜萎縮の病理組織学的変化と関連があると考えられた。一方、25 mg/kg/日の 14 日投与群では軟便、5%未満の体重減少などの軽微な影響がみられたのみであった。本試験における無影響量は 5 mg/kg/日、無毒性量は 25 mg/kg/日と考えられた。

3 反復投与毒性試験

3.1 ラット 1 カ月間反復経口投与毒性試験

（毒性試験概要表 2.6.7.7.1 参照）TAR2937

1 群雌雄各 10 例又は 20 例の Alpk:AP$_f$SD Wistar 系ラットにバンデタニブ 0、5、25 及び 75 mg/kg/日を 1 カ月間反復経口投与し、本薬の毒性を検討した。0、5、25 mg/kg/日群は連続 29 日間投与し、30 日目に剖検した。75 mg/kg/日群も当初 30 日目に剖検の予定であったが、毒性症状が発現して体重減少を認めたことから 25 又は 26 日目に剖検した。更に雌雄各 10 例のラットを対照群及び高用量群に振り分けて、媒体又は本薬を 25 日間経口投与した後、31 日間の休薬期間を設け、57 日目に剖検した。バンデタニブは 0.5%w/v HPMC/0.1% w/v polysorbate 80 水溶液に懸濁して投与し、対照群には媒体のみを投与した。

全例について試験期間中を通じて、症状、死亡の有無を定期的に観察し、体重、摂餌量、摂水量を記録した。眼科学的検査を実施し、血液学的検査値、血液生化学検査値、尿検査値を投与期間中定期的に測定し、更に回復期間終了時にも測定した。すべてのラットの剖検を実施し、主要の臓器の重量を測定し、病理組織学的検査を実施した。

更にトキシコキネティクス（TK）試験及び肝チトクローム P450（CYP）活性を検討する群を設けた。

雌のバンデタニブ血漿中濃度は、雄に比べて概ね高値であった。25 及び 75 mg/kg/日投与群のバンデタニブ曝露量の増加は用量の増加に比べて少なく、この用量レベルで最終投与後の AUC は、吸収の遅延（投与 8 時間後に最高血漿中濃度に到達）を示し、続いて緩徐な消失相がみられた。TK データは表 2 及び表 3 にまとめた。

75 mg/kg/日投与群の計 9 例に一般状態の悪化、摂餌低下及び体重減少が発現し、試験途中で死亡するか又は安楽死させた。この群の一般状態の悪化（鼻の汚れ、軟便、円背位、四肢/足腫脹、立毛、口/鼻口部の痂皮形成、鱗屑状尾部、鎮静、痩せ、皮膚弾力性低下、尿による身体の汚れ及び鼻口部周囲の汚れ）は 12 日目以降に観察された。これらのラットでは体重増加量、摂餌量、飲水量も試験期間中を通じて減少した。投与期間の後期に 75 mg/kg/日投与群の数例に体重減少を認めたため、22 日に安楽死させ、この群の他の動物は 26 日目で試験を中止した。75 mg/kg/日投与群では回復期間中に一般状態のある程度の回復傾向がみられた。円背位、軟便、鎮静などの一般状態は 25～31 日目以降にはみられず、体重及び摂餌量は回復期間の早期に一定の改善がみられた。しかしながら、36 日目以降に 75 mg/kg/日群の数例の回復試験群例で歯牙異常（切歯の破折、欠損を含む）がみられ、摂餌低下、体重減少及び全身状態の悪化を来した。

一般状態の変化（軟便、鼻の汚れ）、摂餌量の軽度減少、体重増加の軽度抑制、飲水量の軽度増加（雌のみ）は、25 mg/kg/日投与群でもみられた。5 mg/kg/日投与群では、一般状態あるいは体重、摂餌量、飲水量への影響はみられなかった。本薬投与に関連した眼科学的所見は観察されなかった。

75 mg/kg/日投与群で投与期間終了時に赤血球パラメータの軽度増加、網状赤血球数の減少、総白血球数の著明な増加が観察された。75 mg/kg/日投与群の赤血球パラメータ、白血球数（雄）、血小板数は回復期間終了時までに一部回復したが、ヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球数、血小板数は 57 日目時点でも軽度増加が持続し、雌では回復期間終了時でも総白血球数の有意増加（主に好中球数及びリンパ球数の増加による）がみられた。ヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球数の軽微な増加が、25 mg/kg/日投与群及び 5 mg/kg/日投与群の雌で 30 日目にみられた。更に、25 mg/kg/日投与群の雄で 30 日目に網状赤血球数の軽微減少がみられた。総白血球数の増

加が 25 mg/kg/日投与群及び 5 mg/kg/日投与群の雄で 30 日目にみられたが、主に好中球数及び単球数の増加によるものであった。

75 mg/kg/日投与群において投与期間終了時に ALT 及び AST 値の有意な上昇がみられた。これらの変化とともに、クレアチニン及びカリウムの増加（回復性評価群）、GLDH 値の上昇、及びグルコース（回復性評価群）、トリグリセリド、総カルシウム、総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比、ナトリウム、塩素及び無機リンの減少が 75 mg/kg/日投与群で観察された。これらの値の変化の大部分は回復期間終了時までに回復を示したが、アルブミン、トリグリセリド及びアルブミン/グロブリン比の低下、ALT 値の軽度上昇は 75 mg/kg/日投与群で持続した。無機リンの増加も回復期間終了時に同群で認められた。AST 及び ALT 値の有意な上昇、ALP 値の軽度上昇、アルブミン/グロブリン比の低下（雌のみ）が 25 mg/kg/日投与群で 30 日目にみられた。ALT、AST 及び ALP 値の軽度上昇が 5 mg/kg/日投与群の雄の 30 日目にみられた。75 mg/kg/日投与群で、尿量の減少（とこれに伴う尿比重の増加）及び尿中カリウム、ナトリウム、クレアチニンの減少、尿蛋白の増加が 23 日目にみられた。回復期間に、大部分の変化は回復したが、75 mg/kg/日投与群の雄の尿中クレアチニン減少、雌の尿中カリウム増加、雌雄の尿中ナトリウム増加は第 53 日目にも観察された。5、25 mg/kg/日投与群の雄の尿中カリウム、ナトリウムは減少し、25 mg/kg/日投与群の雌 2 例で 23 日目に尿中蛋白の増加がみられた。

75 mg/kg/日投与群の投与期間終了時に、本薬投与に関連する病理組織学的変化が副腎（皮質空胞化、出血）、胆管（2 例の雌で急性胆管炎）、大腿骨（骨端軟骨板異形成）、腎臓（乳頭壊死、皮質尿細管空胞化）、肝臓（泡沫マクロファージ、肝細胞グリコーゲン空胞減少、死亡例で急性肝細胞壊死）、肺（泡沫肺胞マクロファージ）、リンパ節（泡沫マクロファージ）、卵巣（黄体数減少）、膵臓（腺房上皮アポトーシス）、皮膚（鼻口部上皮微小膿瘍形成、急性毛包炎）、脾臓（泡沫マクロファージ）、胸腺（萎縮）、甲状腺（濾胞上皮萎縮）、気管（泡沫マクロファージ）、子宮（萎縮）、膣（萎縮）でみられた。75 mg/kg/日投与群の死亡例でも類似の所見がみられた。同様な病理組織学的変化が 25 mg/kg/日投与群の副腎、大腿骨、腎臓、肺、リンパ節、皮膚、脾臓でみられた。

回復期間終了時に、高用量群でみられた大部分の変化はほとんど回復を示さず、更に切歯形成異常が発現した。回復期間終了時に、本薬投与に関連した病理組織学的変化が 75 mg/kg/日投与群の副腎（皮質空胞化）、腎臓（乳頭壊死）、肝臓（泡沫マクロファージ）、肺（泡沫肺胞マクロファージ）、リンパ節（泡沫マクロファージ）、皮膚（鼻口部の上皮微小膿瘍形成、急性毛包炎）、脾臓（泡沫マクロファージ）にみられた。大腿頸骨関節の骨端軟骨板異形成は、本薬投与に関連した黄体数の減少と同様に完全に回復した。

高用量群のラットでみられた副腎皮質の空胞化及び出血は、胸腺萎縮とともに、ストレスに関連した変化と考えられた。更に、高用量群のラットでみられた膵臓の腺房上皮細胞アポトーシス及び甲状腺の濾胞上皮萎縮は、この投与群のラットにおける重度の一般状態悪化を反映していると考えられる。

75 mg/kg/日投与群の腎臓、肝臓、肺、腸間膜リンパ節、脾臓でみられた細胞質空胞化の組織所見は、電顕検査でリン脂質であるミエリンに富む渦の形成により生じたことが確認された。肺、肝臓、腸間膜リンパ節、脾臓に存在するマクロファージが特に影響を受けた。ミエリンの渦状形成は、小葉中心性肝細胞、腎尿細管上皮細胞を含めて他の細胞でもみられた。

CYP 誘導は、75 mg/kg/日までの用量範囲で認められなかったが、25 及び 75 mg/kg/日投与群の雌で CYP1A あるいは CYP2B の高度活性低下がみられた。

以上を要約すると、75 mg/kg/日投与群で、重度の一般状態変化と体重減少及び摂餌量減少が発現し、数例は安楽死させる必要があった。骨、歯牙、腎臓、皮膚、卵巣にみられた病理変化は、血管内皮増殖因子（VEGF）又は EGF 阻害によるものと考えられた。更に、バンデタニブは肝胆道毒性を示し、広範囲の組織（特に肺）にリン脂質症を誘発した。これらの大部分の変化は 31

日間の回復期間終了後も回復しなかったが、大腿頸骨の骨端軟骨板異形成は、本薬に関連した黄体数の減少とともに完全に回復した。

25 mg/kg/日投与群で、一般状態、体重増加及び摂餌量に対する軽度な影響、肝機能異常を示唆する血液生化学検査値の変化及び各種組織のリン脂質症の発現がみられた。大腿骨、腎臓、皮膚の病理所見は、バンデタニブの薬理作用に起因すると考えられた。5 mg/kg/日投与群で血液学的検査値、血液生化学検査値の軽度変化がみられたが、一般状態の変化又は病理組織学的所見を伴わず、毒性学的に重要でないと考え、この用量を無毒性量と判断した。

3.2 ラット 6 カ月間反復経口投与毒性試験

（毒性試験概要表 2.6.7.7.2 参照）TPR2939

1 群雌雄各 20 例の Alpk:AP$_f$SD Wistar 系ラットにバンデタニブ 0、1、5 及び 20/10 mg/kg/日を 6 カ月間反復経口投与し、本薬の毒性を検討した。バンデタニブは 0.5% w/v HPMC/ 0.1% w/v polysorbate 80 水溶液に懸濁して投与した。初期投与量はラットの 1 カ月間反復投与毒性試験（TAR2937）の結果に基づいて設定した。当初、高用量群には 20 mg/kg/日を投与したが、死亡、顕著な摂餌量及び体重減少等の毒性所見がみられたため、13 週目より 10 mg/kg/日に減量した。更に、雌雄各 10 例のラットを回復試験の対照群及び高用量群とし、媒体又は本薬 20/10 mg/kg/日を 26 週間経口投与した後、更に 13 週間観察して回復性を検討し、40 週目に剖検した。全例について試験期間中を通じて、一般状態、死亡の有無を定期的に観察し、体重及び摂餌量を記録した。眼科学的検査を実施し、血液学的検査値、血液生化学検査値、尿検査値を投与期間中定期的に測定し、更に回復期間終了時にも測定した。TK 用の血液試料を初回投与後及び 26 週に採取した。終了時に、すべてのラットの剖検を実施した。本試験では、精巣上体の精子数及び精子運動性も観察した。主要の臓器の重量を測定し、病理組織学的検査を実施した。

雌雄ラットのバンデタニブの血漿中濃度に性差はみられなかった。6 カ月の投与期間終了時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ データから、バンデタニブの曝露量は用量に比例して増加することが示された。バンデタニブの血漿中濃度は 6 カ月の投与期間中に増加し、蓄積性が示唆された。TK データは表 2 及び表 3 にまとめた。

20/10 mg/kg/日投与群の計 8 例は、投与期間中に死亡するか安楽死させた。20 mg/kg/日投与群の雌 1 例は、本薬投与と関連のない頭部の外傷のため、2 週目に安楽死させた。20 mg/kg/日投与群の雌 5 例に症状の悪化又は重度の体重減少が発現したため、10～14 週目に死亡するか安楽死させ、13 週目に用量を 10 mg/kg/日に減量した。このうち 4 例は、重度の急性胆管炎あるいは膵炎が死因となったと考えられた。高用量群を 10 mg/kg/日に減量した後に、雄 1 例が偶発的な投与ミスの結果死亡し、雌 1 例を安楽死させた。

回復試験群の 2 例が試験途中に死亡したが、本薬投与には関連しないと考えられた。回復期間に、20/10 mg/kg/日投与群の雌 1 例を 33 週に安楽死させた。子宮内腔に出血及び壊死がみられた。20/10 mg/kg/日投与群の雄 1 例も 38 週に安楽死させたが、肺の近傍に大きな膿瘍がみられ、投与期間後期の偶発的投与ミスによるものと考えられた。

投与期間中に、対照群で 2 例、1 mg/kg/日投与群で雄 5 例及び 5 mg/kg/日投与群で雌 1 例が死亡するか安楽死させた。これらの死亡は本薬投与と関連しないと判断した。これらの 6 例の肺、食道、胸腔にみられた病理所見は、偶発的投与ミスによるものと考えられた。対照群の雄 1 例及び 1 mg/kg/日投与群の雄 1 例の死因は確認できなかった。

20/10 mg/kg/日投与群の生存例において、歯牙異常（切歯の緩み、亀裂、破折、欠損又は変色）、体重減少及び摂餌量減少が投与期間を通じてみられた。軽度な体重減少及び摂餌量減少が 5 mg/kg/日投与群の雄でもみられた。20/10 mg/kg/日投与群の雄は、回復期間中も対照群に比べて

体重及び摂餌量が低値を持続した。同群の雌でも摂餌量が低値であったが、体重は回復期間中を通じて対照群と同程度であった。

本薬に関連した眼科学的所見は認められなかった。

20/10 mg/kg/日投与群の雌雄で、投与期間中にヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球数、血小板数及び好中球数の軽度な増加、雌で総白血球数、リンパ球数、単球数及び好酸球数の軽度な増加が認められた。これらの赤血球パラメータは、回復期間終了時には対照群値と同程度となったが、雌の総白血球数、好中球数及び単球数は軽度に高値を示した。更に、投与期間中にヘモグロビン及びヘマトクリットの軽度な増加が 1 mg/kg/日投与群の雄及び 5 mg/kg/日投与群の雌雄で、白血球数、好中球数、リンパ球数、単球数及び好酸球数の軽度増加が 5 mg/kg/日投与群の雌でみられた。

20/10 mg/kg/日投与群で、ALT 及び AST 値の上昇がみられ、総蛋白、アルブミン及びコレステロールの減少、尿素及びクレアチニンの増加がみられた。ALT 及び AST 値の上昇並びに血漿総蛋白の減少は、20/10 mg/kg/日投与群の回復期間終了後も認められた。ALT 及び AST 値上昇、尿素及びクレアチニンの増加が 1 mg/kg/日投与群でみられた。5 mg/kg/日投与群で、ALT 及び AST 値上昇、クレアチニンの増加、同群の雄では総蛋白及びコレステロールの減少も認められた。

尿検査では、投与期間中に 20/10 mg/kg/日投与群で尿量の軽度減少及び尿蛋白の増加が認められた。

剖検では、主試験及び回復試験群の臓器重量に毒性学的に重要な変化はみられなかった。試験終了時の剖検で、本薬投与に関連した変化として 20/10 mg/kg/日投与群の 2/60 例の肺で不規則な淡黄色表面、5 及び 20/10 mg/kg/日投与群の主試験動物の腸間膜リンパ節の腫瘤/結節・変色及び腫大が認められた。回復期間終了後でも、高用量群の数例では腸間膜リンパ節の変化が認められた。

投与終了時に、本薬投与に関連した病理組織学的変化として主試験の 5 及び 20/10 mg/kg/日投与群で腸間膜リンパ節の類洞出血性嚢胞変性、腎臓の皮質上皮褐色色素沈着の重篤度増加・皮質尿細管好塩基性増加、肺の泡沫肺胞マクロファージ、皮膚の毛包炎がみられた。20/10 mg/kg/日投与群の数例の死亡例でみられた歯牙形成異常は、主試験のラットでは 27 週時には観察されなかった。また、20/10 mg/kg/日投与群の 2 例でみられた肺の不規則な淡黄色表面と関連した組織学的所見は認められなかった。回復期間終了時にみられた本薬投与に関連した病理組織学的変化は、20/10 mg/kg/日投与群の副腎で皮質壊死（雌 1 例）、腎臓の皮質上皮褐色色素沈着、腸間膜リンパ節の類洞出血性嚢胞変性であった。

本薬を 26 週間反復投与後に実施した精子検査では、精巣上体の精子数及び精子運動性の変化は認められず、精巣の病理組織学的変化も観察されなかった。

以上を要約すると、20 mg/kg/日投与により重度の一般状態変化及び顕著な摂餌量及び体重減少が発現したことから、数例を安楽死させる必要があった。高用量を 13 週目から 10 mg/kg/日に減量した結果、残る試験期間では忍容性がみられた。

20/10 mg/kg/日投与群の数例の死因は、急性胆管炎あるいは膵炎であった。本薬に関連した病理組織学的変化が高用量投与群の腸間膜リンパ節、腎臓、肺、歯牙、皮膚にみられた。歯牙及び皮膚の病変は、本薬の薬理作用に起因した変化と考えられた。13 週間の回復期間終了時に、大部分の変化は回復性を示した。5 mg/kg/日投与群の忍容性は良好で、肺、腸間膜リンパ節、皮膚に同様な本薬に関連した変化がみられたものの軽度であった。

1 mg/kg/日投与群では血液学的検査値、血液生化学検査値の軽度な変化が認められたが、一般状態又は病理組織学的所見を伴わず、毒性学的に問題となるものではないと考えて、1 mg/kg/日をこの試験の無毒性量と判断した。

3.3 ラット 10 日間反復静脈内投与毒性試験

（毒性試験概要表 2.6.7.6 参照）0567AR

ラットにバンデタニブを 10 日間反復静脈内投与し、その毒性を検討した。1 群雌雄各 5 例からなる 3 群の Alpk:AP$_f$SD Wistar 系ラットにバンデタニブ 0、10 及び 25 mg/kg/日を 10 日間反復静脈内投与（尾静脈内に約 4 分間かけて投与）し、11 日目に屠殺した。第 4 群は 50 mg/kg/日の高用量を 10 日間投与する予定であったが、この群の最初の雄 2 例が投与 1 日目に死亡したため、残る 8 例は投与せずに試験から除外した。バンデタニブ投与群には、固定濃度のバンデタニブ調製液を投与量に応じて投与容量を調節して投与した。媒体は 15% w/v hydroxypropyl-β-cyclodextrin、1.6% w/v マンニトール添加、pH7 の注射用水とした。一般状態を観察し、眼科学的検査、体重、摂餌量、摂水量の測定、血液学的検査、血液生化学検査、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

50 mg/kg/日投与群 2 例が投与 1 日の投与操作中に死亡したため、この群の残りの試験は中止した。病理組織学的検査で死因を特定できなかったが、1 例に呼吸数の変化、強直性痙攣の症状がみられた。

25 mg/kg/日投与群の大部分のラットは 10 日間の静脈内投与に対して忍容性を示したが、雄 1 例は投与 1 日に死亡した。このラットの死因は確認できなかったが、対照群の雄 1 例も 1 日の投与中に死亡したことから、この中用量群の死亡が投与に関連したのか、投与操作の結果であったのかは明らかでない。

25 mg/kg/日投与群の残りに、呼吸の変化及び活動性低下等の一般状態変化、体重減少、体重増加の抑制、雄の摂餌量減少がみられた。更に、25 mg/kg/日投与群では血液学的検査で網状赤血球球数、赤血球分布幅及び血小板数の軽度増加が、血液生化学検査では総蛋白、アルブミン及びトリグリセリドの軽度減少、尿素及びクレアチニンの軽度増加等の変化がみられた。また、25 mg/kg/日投与群の雌 1 例において AST 及び GLDH の著明な上昇並びに ALT の上昇がみられたが、肝障害を示す病理組織学的所見は認められなかった。

10 mg/kg/日静脈内投与の忍容性は良好で、一般状態、体重及び摂餌量への影響は認められず、毒性学的に問題となる血液学的検査値、血液生化学検査値の変化はみられなかった。

病理組織学的検査で 25 mg/kg/日投与群の雄 1 例の大腿脛骨に限局性骨端軟骨板異形成がみられ、バンデタニブの薬理作用に起因する所見と考えられた。10 及び 25 mg/kg/日投与群の脾臓（泡沫状空胞化細胞質を認める脾マクロファージ）及び 25 mg/kg/日投与群の雌の肺（泡沫肺胞マクロファージの頻度・程度の増強）にみられた変化は、リン脂質症によるものと考えられた。泡沫肺胞マクロファージは、対照群を含む他の投与群の肺にもみられ、媒体である cyclodextrin 投与に起因した変化と考えられた。

全投与群の一部にみられた尾の症状（損傷、腫脹、乾燥皮膚、痂皮）及び投与部位の病理組織学的変化（出血、炎症細胞浸潤、血管壁変性、潰瘍性皮膚炎、痂皮形成）は、投与操作ないしは媒体に起因した変化と考えられた。

対照群を含むすべての投与群で腎皮質空胞化がみられたが、媒体の cyclodextrin の静脈内投与に起因した変化と考えられた。

以上を要約すると、50 mg/kg/日静脈内投与は忍容性を示さず、1 日で投与を中止した。25 mg/kg/日 10 日間反復静脈内投与は大部分で忍容性を示したが、雄 1 例は投与 1 日目に死亡した。この死因は確認できなかったが、投与に関連した死亡であるのか、投与操作の結果であったのかは明らかでない。この用量で、一般状態の変化（呼吸変化）、体重及び摂餌量の減少、血液学的検査値、血液生化学検査値の変化がみられた。雌 1 例で血漿 ALT、AST 及び GLDH の上昇がみられたが、肝障害を示す病理組織学的所見は認められなかった。投与に関連した病理組織学的所見が大腿脛骨（骨端軟骨板異形成）にみられた。投与に関連した肺（泡沫肺胞マクロファー

ジの頻度・程度の増強）及び脾臓（泡沫マクロファージ）の変化は、リン脂質症の発現と一致した。

10 mg/kg/日静脈内投与の忍容性は良好で、一般状態、体重及び摂餌量への影響は認められず、毒性学的に重要な血液学的検査値、血液生化学検査値の変化はみられなかった。投与に関連した病理組織学的所見として脾臓の泡沫マクロファージがみられ、リン脂質症の発現が示された。この試験で無影響量は確定できなかったが、忍容性から 10 mg/kg/日が無毒性量と考えられた。

3.4 ラット 2 週間反復静脈内投与毒性試験

（毒性試験概要表 2.6.7.6 参照）0266AR

ラットにバンデタニブを 2 週間反復静脈内投与し、その毒性を検討した。雌雄各 10 例からなる 4 群の Alpk:AP$_f$SD Wistar 系ラットに媒体（15% w/v hydroxypropyl-β-cyclodextrin、1.6% w/v マンニトール添加、pH7 の注射用水）、2.5、10 及び 17.5 mg/kg/日のバンデタニブを 1 日 1 回 2 週間静脈内に投与（尾静脈内に約 4 分間かけて投与）した。バンデタニブ投与群には、固定濃度のバンデタニブ調製液を投与量に応じて投与容量を調節して投与した。更に雌雄各 6 例からなるサテライト群に同様の投与を行い、TK を評価した。1 日目に高用量群の雄ラット 4 例に 25 mg/kg/日を投与したが、投与直後に死亡したため、残りの主試験動物及び TK 動物は用量を 17.5 mg/kg/日に減量して投与した。一般状態を観察し、眼科学的検査、体重、摂餌量、飲水量の測定、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査、TK、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

2.5、10 及び 17.5 mg/kg/日 8 日間の反復投与後に、曝露量はそれぞれ 1.7、1.5 及び 1.2 倍に増加した。投与 1 日の $AUC_{0.667\text{-}24}$ は、この用量範囲で用量にほぼ比例したが、投与 8 日には用量の増加に比べて低くなった。4～24 時間の観察期間は正確に測定するには不十分であったが、消失相の観察により長い半減期が示唆された。TK を表 2 及び表 3 にまとめた。

17.5 mg/kg/日の用量の忍容性は良好であったが、サテライト群の雄 1 例が 1 日目の投与直後に死亡した。他のラットでは投与後に呼吸の変化、活動性低下等の一般状態変化、体重増加の抑制、摂餌量減少、血液学的検査ではヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球数、網状赤血球数及び一部の白血球数の増加がみられた。これらの所見は高用量群では更に重度であったが、10 mg/kg/日投与群でもみられた。2.5 mg/kg/日投与群では、雄でヘマトクリット値の軽微増加を認めたのみであった。また、17.5 mg/kg/日投与群の雌において軽度 ALT 及び AST 値上昇、軽度肝細胞壊死、軽微肝重量減少等の軽度な肝毒性所見がみられた。

17.5 mg/kg/日投与群でみられた肺重量の増加を伴う泡沫肺胞マクロファージの頻度・程度の増強、10 及び 17.5 mg/kg/日投与群ラットの脾臓の泡沫マクロファージは、投与に関連したリン脂質症の発現・悪化と考えられた。

10 及び 17.5 mg/kg/日投与群の卵巣重量の減少は、バンデタニブの血管内皮増殖因子受容体（VEGFR）に対する薬理作用によると考えられた。10 及び 17.5 mg/kg/日投与群の尾の乾燥皮膚、変色、腫脹、痂皮等の一般状態は、投与経路・媒体に起因すると考えられるものの、本薬の薬理作用により増強されたと思われる。

10 mg/kg/日投与群の肺にみられた軽度泡沫肺胞マクロファージは対照群と同程度であり、cyclodextrin により発現したと考えられ、結果的にこの群の肺重量が増加した。更に、血液生化学検査での尿素値の軽度増加、尿検査での比重、蛋白の増加、尿量減少等の軽度な腎臓への影響がみられ、腎重量の減少及び淡色変色、皮質尿細管空胞化の所見も認めた。これらの所見は対照群を含む全投与群でみられ、各投与群の所見の程度に著しい差はなかった。したがって、これらの所見も媒体として使用した cyclodextrin に起因すると考えられた。

以上を要約すると、25 mg/kg バンデタニブ静脈内投与にラットは忍容性を示さず、単回投与後に雄 4 例中 3 例が死亡し、2 日目から用量を 17.5 mg/kg/日に減量することとなった。2 週間反復静脈内投与でラットは 17.5 mg/kg/日までの各用量において忍容性を示したが、17.5 mg/kg/日投与群の雄 1 例は投与 1 日に死亡した。毒性所見として、投与後の一般状態変化、体重増加の抑制、摂餌量減少、血液学的検査値の変化が、10 及び 17.5 mg/kg/日群でみられた。17.5 mg/kg/日投与群では、リン脂質症の発現を示す軽度な肝毒性、肺での泡沫肺胞マクロファージの頻度・程度の増強、脾臓の泡沫マクロファージが観察された。2.5 mg/kg/日投与群の雄では、投与に関連したヘマトクリット値の増加がみられたが、軽微変化であり 2.5 mg/kg/日が無毒性量と考えられた。

3.5 イヌ 1 カ月間反復経口投与毒性試験

（毒性試験概要表 2.6.7.7.3 参照）TAD1042

1 群雌雄各 3 又は 6 例からなる Alderley Park ビーグルにバンデタニブを 1 カ月間反復強制経口投与した際の毒性を評価した。バンデタニブは 0.5% w/v HPMC/ 0.1% w/v polysorbate 80 水溶液に懸濁して投与した。最初の投与量は 0、5、15 及び 40 mg/kg/日としたが（予備試験 TAD1041 の成績に基づき設定）、高用量は忍容性がみられず、この群は 15 日目以降投与しなかった。対照群及び高用量群の雌雄各 3 例については 15 日目から 4 週間の回復期間をおき、高用量群の他のイヌは 15 日目に剖検した。残りの対照群、低用量群、中用量群は 29 日間反復投与を行った。すべてのイヌについて、一般状態観察及び眼科学的検査を定期的に実施した。試験中に体重、摂餌量を測定し、生理学的検査、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査を行い、TK を評価した。全例について剖検を行い、主要臓器の重量を測定し、病理組織学的検査を実施した。

5 及び 15 mg/kg 投与群（40 mg/kg/日投与群は採血しなかった）でバンデタニブの全身曝露量が確認され、雌雄は同様な血漿中濃度を示した。5 mg/kg の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は 1 カ月の投与期間中に増加し蓄積が示唆された。TK データは表 2 及び表 3 に示す。

40 mg/kg/日投与群の 6 例は、全身状態が悪化し、摂餌低下及び体重減少を認めたため、15 日目に安楽死させた。回復期間終了時に、40 mg/kg/日投与群の残りのイヌの体重及び摂餌量は対照群と差がなかった。5 及び 15 mg/kg/日投与群の体重及び摂餌量に影響は認められなかった。

15 及び 40 mg/kg/日投与群のすべてのイヌに軟便/便異常がみられた。高用量群では、更に嘔吐、皮膚の色合いの悪化、鎮静などの症状がみられた。いずれの投与群でも、本薬に関連した生理学的検査値の変化は観察されなかった。

15 mg/kg/日投与群でアルブミン及び総蛋白の軽微減少（<10%）がみられた。40 mg/kg/日投与群の 14 日投与後の検査は実施しなかったが、4 週間の回復期間後の検査値は対照群と同程度であった。

病理組織学的検査で、40 mg/kg/日投与群において大腿骨骨端軟骨板異形成が認められたが、バンデタニブの VEGF シグナル伝達阻害作用に起因するものであった。回復期間終了時には、この所見は観察されなかった。40 mg/kg/日投与群でみられたその他の病理組織学的変化は、全身状態の悪化による二次的影響と考えられた。死亡例の全身状態の悪化、摂餌低下及び体重減少の原因と考えられる病理所見は認められなかった。5 及び 15 mg/kg/日投与群では本薬に関連した剖検所見あるいは病理組織学的所見はみられなかった。

以上を要約すると、40 mg/kg/日投与群は忍容性を示さず、2 週後に投与を中止した。40 mg/kg/日投与群の一般状態は投与中止後に急速に回復した。15 mg/kg/日投与群は軽微な影響がみられたに過ぎないことから、15 mg/kg/日を無毒性量と判断した。

3.6　　イヌ 9 カ月間反復経口投与毒性試験

（毒性試験概要表 2.6.7.7.4 参照）TPD1043

1 群雌雄各 4 例からなる Alderley Park ビーグルに 0、1、5 及び 20 mg/kg/日のバンデタニブを 9 カ月間反復強制経口投与し、本薬の毒性を評価した。更に雌雄各 3 例の対照群及び高用量群のイヌについて、40 週間の投与期間終了後に 13 週間の回復期間をおき、毒性の回復性を確認した。バンデタニブは 0.5%w/v HPMC/0.1% w/v polysorbate 80 水溶液に懸濁して投与し、対照群には媒体のみを投与した。用量は 1 カ月間反復投与毒性試験（TAD1042）の結果に基づいて設定したが、高用量群で便の異常及び体重減少が頻発したため、主試験群は 17 週目に、回復試験群は 18 週目に 15 mg/kg/日に用量を減量した。一般状態及び眼科学的検査を定期的に実施した。試験中に体重、摂餌量を測定し、生理学的検査（心電図、血圧）、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査を実施した。5 mg/kg/日投与群の初回投与後、6 カ月投与後及びすべてのバンデタニブ投与群の 9 カ月投与後に血液試料を採取し、TK を評価した。全例について剖検を行い、主要臓器の重量を測定して病理組織学的検査を実施した。

すべての投与群でバンデタニブの全身曝露が確認され、雌雄の曝露量に一貫した性差はみられなかった。9 カ月投与後のバンデタニブの平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ の増加は、用量の増加に比べてわずかに低かった。5 mg/kg/日投与群で 9 カ月の投与期間中に血漿中バンデタニブ濃度がわずかに増加し、軽度な蓄積が示唆された。TK データは表 2 及び表 3 に示す。

本薬投与に関連した死亡はみられず、唯一の試験途中の死亡である 1 mg/kg/日投与群のイヌ 1 例は、イヌ同士の外傷によるものであった。

20 mg/kg/日投与群は、便の異常、主として軟便/液便が頻発し赤色便も散見されたが、15 mg/kg/日に減量後に発現頻度はわずかに低下した。回復期間中にこれらの所見は速やかに回復した。5 mg/kg/日投与群でも軟便/液便が散見された。

20 mg/kg/日投与群では、体重増加の抑制又は体重減少がみられた。用量を 15 mg/kg/日に減量した後に、大部分のイヌの体重はある程度増加し、回復期間中に回復がみられた。5 mg/kg/日投与群の一部でも体重増加の抑制がみられた。20/15 mg/kg/日投与群では、個々のイヌによって用量の減量前及び減量後に摂餌量の減少がみられる期間があった。20/15 mg/kg/日群の 8/14 例は、摂餌量減少あるいは体重減少がみられたため、投与期間中に給餌量を追加した。5 mg/kg/日群の 1 例は 26～28 週に摂餌量の減少がみられた。眼科学的検査及び生理的検査で投与に関連した変化は観察されなかった。

20 mg/kg/日投与群で血小板数の軽微な増加がみられたが、雌は減量後に回復し、雄は回復期間に回復した。20/15 mg/kg/日投与群において群平均アルブミン及び総蛋白の減少を認めたが、回復期間終了時までに回復がみられた。20/15 mg/kg/日投与群の雌で総カルシウムの減少がみられ、回復期間終了時にも回復を示さなかった。しかし、関連する病理組織学的所見を伴っておらず、これらの臨床検査値の変化は毒性学的に意義の低い所見と判断した。尿検査では、投与に関連した変化は認められなかった。

本薬投与に関連した剖検所見あるいは臓器重量の変化はみられなかった。また本薬投与に関連した病理組織学的変化もなかった。

以上を要約すると、バンデタニブ 20 mg/kg/日の反復経口投与により、便の異常、体重減少、摂餌量減少、臨床検査値の軽微変化が高頻度にみられた。17 あるいは 18 週目に用量を 15 mg/kg/日に減量した後も、便の異常は持続したが、体重はある程度の回復を示した。生存期間にイヌの状態に応じて投与可能な最大量を投与したが、投与期間終了時に本薬に関連した病理組織学的所見は認められなかった。回復期間中に便の異常はすみやかに回復し、体重増加を示した。雌の総カルシウム減少を除いて、すべての臨床検査値は回復期間に回復所見を示した。本試験では、5 mg/kg/日が無毒性量と考えられた。

3.7 イヌ 10 日間反復静脈内投与毒性試験の用量設定試験

（毒性試験概要表 2.6.7.6 参照）0142AD

イヌに 10 日間バンデタニブを反復静脈内投与し、本薬の毒性を検討した。雌雄各 1 例からなる 3 群の Alderley Park ビーグルに、バンデタニブ調製液（媒体：15% w/v hydroxypropyl-β-cyclodextrin、1.6% w/v マンニトール添加、pH7 の注射用水）を用いて、4.75、9.5 及び 19 mg/kg/日を 10 日間反復静脈内投与した。バンデタニブ調製液は固定濃度で、投与量に応じて投与容量を調節し、橈側皮静脈内に約 15 分間かけて投与した。全例を 11 日目に剖検した。一般状態を観察し、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査、TK、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

反復静脈内投与によりバンデタニブの蓄積性が認められた。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、用量に比例して増加し、投与終了後に血漿中濃度は二相性に減少した。TK データは表 2 及び表 3 に示す。

19 mg/kg/日投与群で、鎮静、流涎、液状便、円背位、振戦、嘔吐及び投与部位の腫脹/変色の症状が観察された。4.75 及び 9.5 mg/kg/日投与群の雄でも、軟便又は液状便がみられ、9.5 mg/kg/日投与群の雌で投与部位の腫脹/変色が観察された。

19 mg/kg/日投与群で、投与期間中に摂餌量減少が観察され、これに伴い雌のみ最大 6%までの体重減少がみられた。4.75 及び 9.5 mg/kg/日のバンデタニブ投与群では、毒性学的に問題となる摂餌量及び体重への影響は観察されなかった。

19 mg/kg/日投与群の雌で、10 日目に総白血球数、好中球数及び網状赤血球の減少が認められた。血液生化学検査及び尿検査では、いずれの投与群にも特記所見はみられなかった。

本薬投与に関連した剖検所見は観察されなかった。病理組織学的検査では、全てのバンデタニブ投与群で投与部位の炎症細胞浸潤、出血、血管内膜増殖及び肺の泡沫肺胞マクロファージが認められたが、静脈内投与操作又は媒体に関連した変化と考えられた。

媒体投与に関連したと考えられる顕著な病理組織学的所見が、9.5 及び 19 mg/kg/日投与群の腎臓（皮質尿細管空胞化）に観察された。

以上を要約すると、4.75、9.5 及び 19 mg/kg/日の 10 日間反復静脈内投与により一般状態に変化が発現し、19 mg/kg/日で摂餌量及び体重の減少がみられた。静脈内投与操作又は媒体に関連すると考えられる病理組織学的所見が 9.5 及び 19 mg/kg/日投与群の腎臓、肺及び投与部位に、また 4.75 mg/kg/日投与群の肺及び投与部位に認められた。無毒性量は 9.5 mg/kg/日と考えられた。無影響量は確定できなかった。

3.8 イヌ 2 週間反復静脈内投与毒性試験

（毒性試験概要表 2.6.7.6 参照）0143AD

イヌに 14 日間バンデタニブを反復静脈内投与し、本薬の毒性を検討した。雌雄各 3 例からなる 4 群の Alderley Park ビーグルに、媒体又はバンデタニブ調製液（媒体：15% w/v hydroxypropyl-β-cyclodextrin、1.6% w/v マンニトール添加、pH7 の注射用水）を用いて、2.5、7.0 及び 16.5 mg/kg/日を、14 日間 1 日 1 回反復静脈内投与した。バンデタニブ調製液は固定濃度で、投与量に応じて投与容量を調節し、橈側皮静脈内に約 15 分間かけて投与した。全例を 15～17 日目に剖検した。一般状態を観察し、体重、摂餌量、心電図、血圧、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査、TK、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

反復静脈内投与によりバンデタニブの軽度な蓄積性がみられ、平均終末相半減期は 7～10 時間であった。C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量に比例して増加し、投与終了後に血漿中濃度は二相性に減少した。

すべてのバンデタニブ投与群及び対照群で投与部位の腫脹がみられた。更に、赤色便、歩行異常、流涎、鎮静、振戦、嘔吐、低体温（触診での冷感）が、16.5 mg/kg/日投与群で散見された。

16.5 mg/kg/日投与群で、摂餌量減少とこれに伴う最大 8%までの体重減少がみられた。低用量の 2 群では、毒性学的に問題となる摂餌量及び体重への影響は観察されなかった。

試験前値及び投与前値に比して 16%の平均血圧上昇が 16.5 mg/kg/日投与群で 1 週にみられた。7.0 及び 16.5 mg/kg/日投与群の雄では、投与期間中に平均 QTcV（Van de Water 法で補正した QT 間隔）の軽微（8%）な延長がみられた。しかしながら、これらの変化は正常範囲内にあり、投与に起因した所見とは考えられなかった。

剖検では、対照群を含むすべての投与群の橈側皮静脈投与部位に変色あるいは汚れが観察された。臓器重量への影響は認められなかった。

静脈内投与操作又は媒体の投与に関連すると考えられる病理組織学的所見が、媒体投与群及びすべてのバンデタニブ投与群の投与部位（血管周囲混合型炎症細胞浸潤、血管内膜下増殖、血管周囲出血、血管周囲浮腫、血管周囲フィブリン沈着、限局性神経炎、脂肪組織炎症、血管壁線維化）、腎臓（皮質尿細管細胞質空胞化）、肺（泡沫肺胞マクロファージ、限局性肺胞炎、多巣性血管周囲性単核細胞浸潤）、腋下リンパ節（類洞泡沫マクロファージ、濾胞性リンパ球溶解）及び腸間膜リンパ節（多巣性濾胞性リンパ球溶解）に認められた。

媒体誘発性の泡沫マクロファージ集簇が、対照群を含むすべての群の腸間膜リンパ節類洞及び肺胞でみられた。しかしながら、16.5 mg/kg/日投与群の腸間膜リンパ節及び 7.0 及び 16.5 mg/kg/日投与群の肺胞にみられた高度な泡沫肺胞マクロファージ集簇は、媒体との相乗作用あるいはバンデタニブの直接作用によると考えられた。

軽度又は中等度の限局性肺胞炎が 16.5 mg/kg/日投与群の雌 2 例でみられたが、この所見の毒性学的意義は明らかでない。投与部位の炎症の二次的影響、すなわち、投与部位の炎症物質が血管内に侵入して肺血管床に達した可能性が考えられるが、投与に関連した直接の作用の可能性も除外はできない。

以上を要約すると、バンデタニブ 16.5 mg/kg/日 2 週間の反復静脈内投与で、投与部位の腫脹等の症状、摂餌量減少、体重減少、血圧上昇がみられた。2.5 又は 7.0 mg/kg/日投与の用量では忍容性を示したが、投与部位の局所反応はみられた。静脈内投与操作あるいは媒体に起因する病理組織学的所見が、媒体対照群及びバンデタニブ投与群でみられた。媒体誘発性の泡沫マクロファージ集簇が、対照群を含むすべての群の腸間膜リンパ節類洞及び肺胞で認められた。しかしながら、16.5 mg/kg/日投与群の腸間膜リンパ節及び 7.0 及び 16.5 mg/kg/日投与群の肺では高度の泡沫肺胞マクロファージ集簇がみられたことから、媒体との相乗作用あるいはバンデタニブの直接作用が示唆される。限局性肺胞炎が 16.5 mg/kg/日投与群の雌 2 例でみられたが、この所見の毒性学的意義は明らかではなかった。本試験での無毒性量は確定できなかった。

4 遺伝毒性試験

4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

（毒性試験概要表 2.6.7.8.1 参照）TMV777

ネズミチフス菌 4 菌株（TA1535、TA1537、TA98、TA100）及び大腸菌 2 菌株（WP2P、WP2 *uvrA*）を用いて、ラット肝ホモジネートの代謝活性化系（S9-mix）存在下と非存在下で、5～5000 μg/プレートの濃度範囲のバンデタニブを試験し、バンデタニブが細菌に突然変異を誘発するかどうかを検討した。

その結果、バンデタニブは、これらのネズミチフス菌及び大腸菌の菌株に対して突然変異誘発性を示さなかった。

4.2 培養ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

（毒性試験概要表 2.6.7.8.2 参照）TYX103

培養ヒト末梢血リンパ球を用いて、*in vitro* でバンデタニブの染色体異常誘発性の有無を検討した。本試験は、i) 主試験の染色体試験の用量を設定するための細胞毒性試験、ii) 主試験及び iii) 再試験（確認試験）の計 3 回実施した。培養ヒト末梢血リンパ球を、それぞれ 2 枚のプレートを用いて、S9-mix 存在下で 3 時間、あるいは非存在下で 3 時間及び 20 時間バンデタニブで処理した。ジメチルスルホキシドへの溶解性から、試験の最高濃度は 400 μg/mL とした。染色体異常試験の用量は、媒体対照群と比較して有糸分裂活性を高度阻害する用量に設定し、最高用量は、S9-mix 非存在下で 10 μg/mL、S9-mix 存在下で 4 μg/mL とした。

その結果、バンデタニブは、培養ヒト末梢血リンパ球に対して染色体異常誘発性を示さなかった。

4.3 ラットの経口投与による小核試験

（毒性試験概要表 2.6.7.9.1 参照）TQR2942

1 群 14 例の Alpk:AP$_f$SD Wistar 系雄ラットにバンデタニブ 100、330 及び 1000 mg/kg を単回経口投与し、染色体異常誘発性を評価した。投与後、24 及び 48 時間後に骨髄スメアを採取し、1 例あたり 2000 個の多染性赤血球について小核を有する細胞数を計数した。

その結果、バンデタニブ単回投与により、雄ラット骨髄細胞の小核を有する多染性赤血球の出現頻度の増加は認められず、バンデタニブは染色体異常誘発性を示さなかった。

5 がん原性

5.1 マウスを用いた 7 日間経口投与用量設定試験

（毒性試験概要表 2.6.7.10.1 参照）0871DM

本試験は、引き続き実施する予定の 28 日間試験の用量を選択するため、CByB6F1 マウス（rasH2 非 Tg 野生型マウス）にバンデタニブを 7 日間投与したときの毒性を評価する目的で実施した。各群あたり雌雄それぞれ 5 例の同腹の CByB6F1 マウスに 0（0.5% HPMC/ 0.1% w/v polysorbate 80 水溶液）、10、30、100、300 及び 1000 mg/kg/日の用量でバンデタニブを 7 日間反復強制経口投与した。試験中に検査した項目は、生存、一般状態、体重、臓器重量、及び剖検観察であった。

1000 mg/kg 日では 2 あるいは 3 日目に、300 mg/kg/日では 6 あるいは 7 日目に死亡が発生した。300 mg/kg/日では両性で体重が減少し、雌の胸腺及び卵巣重量が低下した。100 mg/kg/日において

雄の胸腺重量が低下したが、毒性ではないと考えられた。したがって本試験における無毒性量は100 mg/kg/日と判断された。

5.2 マウスを用いた 1 カ月間経口投与用量設定試験

（毒性試験概要表 2.6.7.10.1 参照）0858HM

本試験は、引き続き実施する予定の 6 カ月間がん原性試験の用量を選択するため、CByB6F1 マウス（rasH2 非 Tg 野生型マウス）にバンデタニブを 28 日間投与したときの毒性を評価する目的で実施した。各群あたり雌雄それぞれ 10 例の同腹の CByB6F1 マウスに 0（0.5% HPMC/ 0.1% w/v polysorbate 80 水溶液）、10、30 及び 100 mg/kg/日の用量でバンデタニブを 28 日間反復強制経口投与した。試験中に評価した項目は、TK、生存、一般状態、体重、摂餌量、摂水量、血液学的検査、血液生化学検査、臓器重量、剖検観察、及び病理組織学的検査であった。.

曝露に性差はみられず、28 日目の AUC_{0-24} 及び C_{max} は、10 及び 30 mg/kg/日の間で、ほぼ用量に依存して増加し、30～100 mg/kg/日の間では曝露の増加程度は用量比を若干下回った（約 2 倍）。28 日目の曝露は 1 日目と比較し 1.5～3 倍増加した。

バンデタニブ投与に起因する死亡は認められなかった。100 mg/kg/日において、体重及び摂餌量の低下がみられた。

100 mg/kg/日の雌雄で末梢血中の好中球数が増加した。全てのバンデタニブ投与群でリンパ球数が減少した。100 mg/kg/日の雌雄及び 30 mg/kg/日の雄で、赤血球分布幅の増加を伴う赤血球量の増加が認められた。肝臓の病理組織学的変化を伴わない AST 及び ALT の上昇が 30 及び 100 mg/kg/日でみられた。

30 及び 100 mg/kg/日の胸腺、脾臓、パイエル板、腸間膜及び下顎リンパ節等のリンパ組織において、リンパ球の枯渇が認められた。リンパ節では組織球浸潤もみられた。胸腺のリンパ球枯渇は、胸腺重量の低下を伴っていた。卵巣で他の生殖器の二次的変化を伴う顕著な黄体数及び重量低下がみられた。これらの用量の雄では、精巣上体及び精嚢の細胞質空胞化が認められた。30 及び 100 mg/kg/日では肺の泡沫肺胞マクロファージ、大腿遠位骨端軟骨異形性、及び切歯の異形成がみられた。

10 mg/kg/日の雄で病理組織学的変化を伴わない副腎重量の増加がみられた。

rasH2 非 Tg 野生型の同腹子マウスに 30 及び 100 mg/kg/日の用量でバンデタニブを 28 日間投与したとき、種々の臓器に影響がみられ、特にリンパ系（リンパ球枯渇）及び雌生殖器（黄体数減少）で顕著な影響が認められた。無毒性量は 10 mg/kg/日と判断された。

5.3 rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 6 カ月間経口投与がん原性試験

（毒性試験概要表 2.6.7.10.2 参照）0862CM

本試験の目的は、rasH2 Tg マウスにバンデタニブを 6 カ月間経口投与したときのがん原性を評価することであった。各群雌雄 25 例のヘミ接合 rasH2 Tg マウスに 0（0.5% HPMC/ 0.1% w/v polysorbate 80 水溶液）、3、10 及び 30 mg/kg/日のバンデタニブを 6 カ月間強制経口投与した。陽性対照群（25 例/性/群）にはメチルニトロソ尿素（MNU (0.1 M クエン酸緩衝 0.9%塩化ナトリウム[pH 4.5]に溶解)）を 75 mg/kg の用量で 1 日目に単回腹腔内投与した。TK 検討のため同腹子の rasH2 非 Tg 野生型マウスの 4 群（対照：5 例/性/群、バンデタニブ投与：20 例/性/群）を設けた。試験中に評価した項目は、生存、一般状態、体重、摂餌量、剖検観察及び病理組織学的検査であった。

C_{max} 及び AUC_{0-24} は、3～30 mg/kg/日の間でほぼ用量に依存して増加した。

バンデタニブ投与に起因した死亡は認められなかった。試験期間中を通じ、全バンデタニブ投与群で摂餌量、体重及び体重増加量の低下が認められた。

いずれの用量においてもバンデタニブ投与よると考えられる腫瘍の発生はなかった。MNU 投与群では、前胃扁平上皮癌（5/49 例）、前胃扁平上皮乳頭腫（15/49 例）、皮膚乳頭腫（6/13 例）、皮膚扁平上皮癌（3/13 例）、十二指腸腺癌（1/43 例）、空腸腺癌（1/39 例）、回腸腺癌（1/37 例）等の腫瘍発生頻度が増加し、本試験で用いた Tg マウスモデルの既知がん原性物質への反応性が確認された。

バンデタニブ投与に起因した一般状態変化として、30 mg/kg/日で切歯の損傷/喪失、及び白色化がみられた。これらの変化は、病理組織学的にみられた下顎切歯の象牙質層の鉱質化異常としみられる異形成と一致していた。10 及び 30 mg/kg/日投与群で、その他の非腫瘍病変が卵巣（色素沈着マクロファージの増加）、胸腺（泡沫マクロファージ増加）、及び脾臓（網内系の褐色色素発現頻度増加）にみられた。

rasH2 Tg マウスに最高 30 mg/kg/日の用量でバンデタニブを 6 カ月間反復経口投与したが、腫瘍の増加はみられなかった。30 mg/kg/日における C_{max} は 3430 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ は 78700 ng·hr/L であった。

6 生殖発生毒性試験

6.1 雄ラットの経口投与による受胎能試験

（毒性試験概要表 2.6.7.12.1 参照）TGR3138

雄ラットにバンデタニブを交配前から交配期間中投与し、雄ラットの受胎能に及ぼす影響を検討した。20 例からなる 4 群の未経産 Alpk:AP$_f$SD Wistar 系雌ラットを、6 カ月間反復経口投与毒性試験（TPR2939 参照）の雄ラットと交配させた。TPR2939 試験の雄は、交配前に、1、5 及び 20 mg/kg/日のバンデタニブを 8 週間反復強制経口投与されていた。雄への投与は 7 日間の交配期間（試験 TPR2939 の投与 9 週）中も継続した。雌には投与を行わず、妊娠 13 日に剖検し子宮内容を検査した。

20 mg/kg/日までの用量のバンデタニブを 9 週間反復投与した雄ラットの生殖能、交尾能、交尾前期間への影響は認められなかった。更に、バンデタニブを投与した雄ラットと交配した無投与雌ラットの妊娠又は胚の生存への有害な影響はみられなかった。

以上、バンデタニブは 20 mg/kg/日までの用量で雄ラットの受胎能に影響しないと結論した。雄ラットの受胎能に対する無毒性量は 20 mg/kg/日と考えられた。

6.2 雌ラットの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

（毒性試験概要表 2.6.7.12.2 参照）TGR2940

母動物にバンデタニブを交配前 14 日から妊娠 6 日（胚盤胞の着床期）まで投与し、母動物の受胎能及び初期胚発生に対する影響を検討した。22 例からなる 4 群の Alpk:AP$_f$SD Wistar 系雌ラットに 0、1、10 及び 25 mg/kg/日のバンデタニブ（媒体：0.5%w/v HPMC/ 0.1% w/v polysorbate 80 水溶液）を、無投与雄との交配前 14 日から妊娠 6 日まで経口投与した。更に、雌ラット 12 例にバンデタニブ 25 mg/kg/日又は媒体を 19 日間投与した後、4 週間の休薬期間をおいて無投与雄と

交配させ、交配能及び生殖能に対する影響の有無を試験した。妊娠 12 日にすべての雌を剖検し、卵巣及び子宮を検査した。

試験期間中の体重、体重増加又は摂餌量に、本薬投与による影響は認められなかった。投与期間中に、投与に関連した症状は観察されなかった。25 mg/kg/日を 19 日間投与した回復試験群で、回復期間中に歯牙の成長異常がみられた。

不規則な発情周期の増加傾向が 10 及び 25 mg/kg/日投与群の多数の雌で観察された。交尾率及び交尾前期間に対する影響は認められなかった。25 mg/kg/日投与群で妊娠率の軽度減少及び着床前死亡の増加が認められた。用量に関連した早期死亡胚の増加と、その結果として生存胚数の減少及び着床後死亡の増加が 10 及び 25 mg/kg/日投与群で観察された。これらの影響に関する無毒性量は 1 mg/kg/日であった。

本薬を 19 日間投与後に 4 週間の休薬期間をおいた雌の生殖能及び胎児指標は、25 mg/kg/日投与群と対照群で差はみられなかった。

以上を要約すると、用量に相関した不規則な発情周期の軽度増加、妊娠率の軽度減少及び着床前死亡の増加がみられた。25 mg/kg/日投与群で、母動物への一般毒性はみられず、着床後死亡率は 42%で、同腹生存胚数は対照群の 11.4 に比べて 6.3 であった。10 mg/kg/日投与群では、これらの影響は軽微であった。バンデタニブ 19 日間投与後に 4 週間の休薬期間をおいた群では、影響は観察されなかった。雌ラットの受胎能及び胎児に対する無毒性量は共に 1 mg/kg/日と考えられた。

6.3 ラットの経口投与による胚・胎児発生毒性試験の用量設定試験

（毒性試験概要表 2.6.7.11.1 参照）TRR3073

1 群 12 例の Alpk:AP$_f$SD Wistar 系雌ラットに 0、0.5、1、5、10 及び 20 mg/kg/日のバンデタニブ（媒体：0.5% w/v HPMC/ 0.1% w/v polysorbate 80 水溶液）を、各群の 6 例は妊娠 1～7 日に、残りの 6 例は妊娠 7～16 日に経口投与した。一般状態を試験期間中観察し、体重及び摂餌量を測定した。妊娠 13 日又は 22 日に屠殺して剖検し、黄体数、生存胎児数、吸収胚数を観察した。生存胎児の性別を判定し、外表異常を検査した。

試験の結果、妊娠 1～7 日又は妊娠 7～16 日のいずれの投与でも、着床後死亡の増加を認めたが、妊娠 1～7 日に投与した群の方が強い影響がみられた。10 及び 20 mg/kg/日投与群で妊娠 7～16 日に投与したラットでは、胎児体重の低下がみられ、高用量では統計学的有意差がみられた。20 mg/kg/日までの用量で、いずれの投与期間でも母動物への影響は観察されず、胎児の形態発生・発育への影響もみられなかった。

6.4 ラットの経口投与による胚・胎児発生に関する試験

（毒性試験概要表 2.6.7.13.1 参照）TTR2938

母動物にバンデタニブを胚盤胞着床時から胎児硬口蓋閉鎖時までの期間投与し、胚・胎児発生に及ぼす影響を検討した。22 例からなる 4 群の Alpk:AP$_f$SD Wistar 系雌ラットに 0、1、10 及び 25 mg/kg/日のバンデタニブ（媒体：0.5% w/v HPMC/ 0.1% w/v polysorbate 80 水溶液）を妊娠 6 日～15 日まで強制経口投与した。交配日を妊娠 0 日とした。妊娠 21 日の剖検日まで、母動物の体重増加、摂餌量、一般状態を観察した。卵巣及び子宮内容を検査し、胎児の外表異常、内臓異常及び骨格異常を検査した。

1、10 及び 25 mg/kg/日を 10 日間投与した妊娠 15 日に、1、10 及び 25 mg/kg/日投与群の最高血漿中濃度はそれぞれ 21.5、347 及び 867 ng/mL であり、用量にほぼ比例した曝露量の増加が観察された。

試験中に死亡はみられなかった。本薬投与に関連すると考えられる一般状態及び剖検所見として、軟便及び腎盂腔拡大が少数例でみられた。母動物に対する一般毒性は軽微で、体重増加の抑制が投与期間中及び投与期間終了時に、軽度摂餌量減少が投与期間終了時に観察された。妊娠 21 日での妊娠子宮重量を除いた母動物の体重に対する影響は認められなかった。

10 mg/kg/日投与群の 1 例を除くすべての雌が妊娠 21 日の子宮の検査で妊娠が確認された。25 mg/kg/日投与群で、早期及び後期胚・胎児死亡が増加し、着床後死亡の増加（対照群の 7%に対し 34%）、生存胎児数の減少が認められた。25 mg/kg/日投与群で一腹あたりの胎児体重の減少、10 及び 25mg/kg/日投与群では胎児体重の減少がみられた。両投与群では、胎盤重量の減少も観察されたが、胎児体重の減少に関連したものと考えられた。着床前死亡又は胎児の性比に対する影響はみられなかった。

25 mg/kg/日投与群で内臓奇形及び変異をもつ胎児及び腹数の発現頻度増加がみられた。内臓変異の発現頻度増加が 10 mg/kg/日投与群で観察された。バンデタニブ 10 及び 25 mg/kg/日投与群で、多数の各種心血管系の異常が認められ、25 mg/kg/日投与群の母動物の約 20%の胎児に異常がみられた。腎盂腔拡大、尿管拡張及び膀胱左側を走る臍動脈も観察された。

胎児体重減少に関連して、胎児発育遅延を示す、頭蓋骨、椎骨及び胸骨分節の骨化遅延がみられた。胎児体重は少ないが一部頭蓋骨に早期骨化が認められた。1 mg/kg/日投与群では、投与に関連した胎児所見は観察されなかった。

以上を要約すると、バンデタニブ 25 mg/kg/日の妊娠雌への投与により、母動物に対する軽微な毒性として体重減少及び摂餌量減少がみられた。25 mg/kg/日投与群では、胚・胎児死亡、胎児発育遅延、心血管系の異常、頭蓋骨の早期骨化等の胚・胎児発生毒性がみられた。10 mg/kg/日投与群で、胎児体重減少及び一部心血管系の異常が認められた。1 mg/kg/日投与群でも、胎児 1 例に心血管系の異常がみられた。母動物の生殖能及び胎児に対する無毒性量は確定できなかった。

6.5 ラットの経口投与による出生前・出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験の用量設定試験

（毒性試験概要表 2.6.7.11.2 参照）1107WR

ラットの出生前・出生後の発生に関する試験の用量設定データを得るとともに、哺乳児における本薬の全身曝露量に関するデータを得る目的で実施した。

各 6 例からなる 3 群の交尾成立雌ラット（CRL-WI Han）に、0、1.0、10 及び 25 mg/kg/日のバンデタニブ（媒体：0.5% w/v HPMC/ 0.1% w/v polysorbate 80 水溶液）を妊娠 6 日～分娩後 8 日まで強制経口投与した。更に、6 例からなるもう 1 群の交尾成立雌ラットに、バンデタニブ 10 mg/kg/日を妊娠 16 日～分娩後 8 日まで投与した。試験期間中の雌の一般状態、体重及び摂餌量を観察して分娩させた。出産生児数、生存児数、出生児体重などの指標を分娩後 8 日まで記録した。生存母動物及び出生児を分娩後 8 日に剖検した。また、採血して TK を評価した。25 mg/kg/日投与群は分娩させずに、妊娠 24 日にすべての雌を屠殺して剖検した。高用量群の各雌について、妊娠状態、黄体数、着床数及び着床の状態を観察した。

分娩後 7 日にすべての投与群の雌の曝露量を測定し、分娩後 8 日に各群の全出生児のプール試料を用いて全身曝露量を測定した。分娩後 8 日の投与後 8 時間における哺乳児の平均血漿中濃度は、1.0、10 及び 25 mg/kg/日投与群の母動物の分娩後 7 日の投与後 8 時間での血漿中濃度のそれ

ぞれ 12.4、15.6 及び 18.0%であり、バンデタニブが母動物から乳汁を介して出生児に移行することが確認された。

高用量 25 mg/kg/日のバンデタニブは胚・胎児毒性を示し、すべての雌で完全な胚吸収がみられた。妊娠 6 日、妊娠 16 日に投与を開始したいずれの 10 mg/kg/日投与群でも、母動物に対する軽度な毒性として、妊娠中の軽度な平均体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。中用量群では、妊娠 6 日に投与を開始した群で軽度な生後成長遅延がみられた以外、出生児の発育指標への影響は観察されなかった。したがって、10 mg/kg/日をラットの出生前・出生後の発生に関する試験の高用量に設定した。

6.6 ラットの経口投与による出生前・出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

（毒性試験概要表 2.6.7.14.1 参照）1251WR

交尾成立雌ラットにバンデタニブを妊娠 6 日又は妊娠 16 日から離乳時まで投与し、胚・胎児発生、出生前・出生後の発生及び出生児の生殖能に対する影響を検討した。1 群各 25 例の 3 群の交尾成立雌ラット（CRL-WI Han）に、1 及び 10 mg/kg/日のバンデタニブ（媒体：0.5% w/v HPMC/ 0.1% w/v polysorbate 80 水溶液）を妊娠 6 日から、又は 10 mg/kg/日を妊娠 16 日から、離乳時まで強制経口投与した。対照群の交尾成立ラット 25 例には、妊娠 6 日から媒体のみを投与した。試験期間中、雌の一般状態、体重及び摂餌量を観察して分娩させた。出産生児数、生存児数、出生児体重などの指標を分娩後 21 日まで記録した。

分娩後 4 日目に、可能な限り、同腹児数を雌雄各 4 例に調整した。一腹あたり雌雄各 1 例の出生児を F1 動物として選択した。母動物及びその他の出生児は、分娩後 21 日に剖検した。F1 出生児は投与しないで離乳後の発育を観察し、行動発達試験、眼科学的検査を実施し、交配させて第 2 世代を得た。F1 雌の体重を交配前、交配期間中及び妊娠中に測定し、F1 雄の体重を選択時から 剖検時まで測定した。交尾後 13 日に、F1 雌の子宮内容を検査した後、F1 雄を剖検して試験を終了した。雌については、妊娠状態、黄体数、子宮の着床数及び着床の状態を観察した。

いずれの群においても、妊娠中及び授乳中の死亡はなく、異常な症状も観察されなかった。すべての投与群で、妊娠期間中の平均総体重増加は対照群に比べて低く、妊娠終了時に投与群の体重はわずかに低値となった。妊娠 6 日に投与を開始した 10 mg/kg/日投与群の雌の授乳 4 日目までの一過性の体重減少を除き、授乳時の体重に対する投与の明らかな影響は認められなかった。妊娠 6 日に投与を開始した高用量群（10 mg/kg/日）の妊娠期間及び授乳期間中の平均摂餌量は、統計学的に有意に低値であった。その他の投与群では、授乳期間中の摂餌量のみが対照群と比べて統計学的に有意に低値であった。

各群 23 例以上の雌の妊娠が確認された。妊娠期間又は分娩への影響は、いずれの群でも認められなかった。本薬を投与した群の同腹児数は、対照群に比べて低かった。この減少は、妊娠 6 日に投与を開始した群で統計学的有意差がみられたが、主に出生前死亡率の増加に起因していた。このため、分娩後 4 日の腹あたりの生存児数は、すべての投与群で対照群に比べて低値となった。その後の分娩後 5 日から離乳時までの出生児の生存率は、投与群と対照群で差はなかった。妊娠 6 日に投与を開始した高用量群の出生児では分娩後 1 日目から、他の投与群では分娩後 7 日目から生後発育の遅延が認められた。

本薬投与群で、母動物への投与に関連すると考えられる低体温（触診での冷感）、痩せて衰弱した蒼白な出生児が数例みられた。10 mg/kg/日投与した全ての群の母動物の出生児で、切歯萌出及び眼瞼開裂の軽度遅延が認められ、出生児の低体重に関連したものと考えられた。1 mg/kg/日投与群では影響はみられなかった。主に妊娠 6 日に投与を開始した高用量群の雌の出生児の体重

が低値を示したが、これは F1 動物を選択前の低体重が継続していたものと考えられた。妊娠 6 日に投与を開始した高用量群の母動物から生まれた F1 雌では、膣開口を指標とした二次性徴発現が他の群に比べて軽度の遅延を示した。

以上を要約すると、バンデタニブ 1 及び 10 mg/kg/日を妊娠 6 日から、10 mg/kg/日を妊娠 16 日からの投与により、母動物への影響として、妊娠及び授乳期間中の体重増加抑制及び摂餌量減少がみられた。出生前死亡の増加が妊娠 6 日から投与した 10 mg/kg/日群で観察された。本薬を投与した全ての群で出生児の生後発育遅延が観察された。妊娠 6 日、妊娠 16 日に投与を開始したいずれの高用量群の出生児も、身体発育分化の軽度な遅延が認められた。F1 出生児の行動発達、交尾能、受胎能への影響はみられなかった。母動物の生殖能及び出生児に対する無毒性量は確定できなかった。

7 局所刺激性試験

バンデタニブの臨床投与経路は経口であり、局所刺激性に関する安全性の検討・考察の必要性はないと判断した。

8 その他の毒性試験

8.1 不純物の試験

8.1.1 遺伝毒性を有する不純物の管理戦略の概要

バンデタニブの全合成経路における不純物及び分解産物を系統的に検討し、それらの生成を把握することにより、遺伝毒性不純物を制御することが可能である。毒性学的概念の閾値（TTC）を超える遺伝毒性不純物がバンデタニブ中に存在しないことを確認するために、適切な限度を設定した製造工程の管理戦略が作成されており、その詳細は第 3 部 S.3.2 項に記載されている。

本薬及び製剤の TTC は、医薬品中の遺伝毒性不純物の許容限度を定めた欧州医薬品委員会 the Committee for Medicinal Products for Human Use（CHMP）の「Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities」（EMEA/CHMP/QWP/251344/2006）に準拠する。TTC 値である 1.5 μg/日での遺伝毒性を有する不純物の摂取は、大部分の医薬品について許容可能なリスク（発癌の過剰リスクが生涯で 1/100000 未満）と考えられる。この 1.5 μg/日の限度（生涯曝露として）から、本薬の遺伝毒性不純物の許容限度は各不純物について [redacted]（本薬を 1 日 300 mg 投与した場合での換算）となる。このガイドラインで、遺伝毒性不純物とは「手法の確立された *in vitro* 又は *in vivo* 遺伝毒性試験で陽性所見が認められる物質（不純物）」と定義されている。この定義を本薬に適用して、個々の遺伝毒性不純物の総濃度がバンデタニブ原薬中で [redacted] を越えないことを保証できるように不純物を管理する。

リスク評価過程で、バンデタニブの合成経路で遺伝毒性の可能性のある 8 種の不純物が確認された。

- *不純物B（ *不純物B 、S3.2 その他の箇所で *不純物B と記載。）
- *不純物C （ *不純物C ）

- *不純物D
- [redacted]
- [redacted]、[[redacted]]
- [redacted]
- *不純物E
- [redacted]

上記遺伝毒性の可能性のある 8 種の不純物のうち、4 種（*不純物B、 *不純物C 、*不純物D 及び *不純物E ）は遺伝毒性がないと結論された（毒性試験の概要文 2.6.6.8.1.2 項参照）。理論的不純物の[redacted]は如何なる工程条件でも存在し得ないと判断された。残る 3 種の遺伝毒性不純物（[redacted]、[redacted]及び[redacted]）は、上流工程の規格限度により、バンデタニブ中[redacted]に完全に制御できる。したがって、これらの遺伝毒性不純物について試験する必要はないと考えられた。

8.1.2 遺伝毒性の可能性のある不純物の遺伝毒性試験

以下に示した遺伝毒性の可能性のある不純物は、いずれ原薬及び製剤に含まれる不純物として安全性の検討が必要なレベルを超えて規格設定されておらず、参考資料として示す。

8.1.2.1 *不純物B（ *不純物B ）

8.1.2.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験による遺伝毒性の検討

（毒性試験概要表 2.6.7.17.1 参照）1953BV

ネズミチフス菌 2 菌株（TA98、TA100）を用いて、S9-mix 存在下と非存在下で、16～5000 μg/プレートの濃度範囲の *不純物B を試験した。生育阻害が 1600 μg/プレートでみられ、被験物質の析出が認められたために 5000 μg/プレートでは評価ができなかった。

*不純物B は、本試験で使用した条件下で、毒性により決定した用量までネズミチフス菌 TA98、TA100 株に対して突然変異を誘発しなかった。

したがって、*不純物B には遺伝毒性はないと判断した。

8.1.2.2 *不純物C （ *不純物C ）

8.1.2.2.1 細菌を用いた復帰突然変異試験による遺伝毒性の検討

（毒性試験概要表 2.6.7.17.1 参照）8664

*不純物C は、バンデタニブの原料[redacted]中に不純物として含まれる可能性がある。本試験では、ネズミチフス菌 4 菌株（TA1535、TA1537、TA98、TA100）及び大腸菌 WP2P*uvrA*/pKM101 株を用いて、S9-mix 存在下と非存在下で、100～5000 μg/プレートの濃度範囲の *不純物C を試験した。

*不純物C は、S9-mix 存在下でネズミチフス菌 TA98 株の復帰変異コロニー数をプレート法で対照群値の 2.1 倍及びプレインキュベーション法で 1.8 倍に軽度増加させたが、陽性結果の判定基準を一貫して満たさなかった。

8.1.2.2.2 マウスを用いた骨髄小核試験

（毒性試験概要表 2.6.7.17.1 参照）SM1003

*不純物C は、バンデタニブの原料[redacted]中に不純物として含有される可能性がある。CD-1 雄マウスに 2000 mg/kg を単回経口投与した。媒体対照群及び被験物質投与群は投与後 24 及び 48 時間に、陽性対照群は投与後 24 時間に骨髄試料を採取した。各マウスにつき 2000 個の多染性赤血球を分析し、小核を有する多染性赤血球数を観察した。更に、スライドの計 1000 個の赤血球中の多染性赤血球の頻度（多染性/正染性赤血球）を求めて、細胞毒性所見を観察した。

*不純物C を投与したマウスのいずれの観察時点でも、媒体対照群値と比較して、小核を有する多染性赤血球数の出現頻度に関し統計学的及び生物学的に意味のある増加は観察されなかった。媒体対照群と *不純物C 投与群との多染性赤血球数の頻度の統計学的な有意差は、いずれの観察時点でもみられなかった。

本試験条件下において、*不純物C はマウスを用いた骨髄小核試験で染色体異常を誘発しないと判断した

以上、細菌を用いた復帰突然変異試験で *不純物C は軽微な突然変異誘発性を示したが、*in vivo* の試験では遺伝毒性を示さなかった。また、バンデタニブ原薬より数ステップ前の製造中間体中の *不純物C 含有量が [redacted] であることから、300 mg のバンデタニブを 1 日 1 回投与した時の *不純物C 摂取量は TTC である 1.5 µg/日を超えることはないと考えられる。したがって、*不純物C がヒトに遺伝毒性の危険性をもたらす可能性はないと判断した。

8.1.2.3 *不純物D

8.1.2.3.1 細菌を用いた復帰突然変異試験による遺伝毒性の検討

（毒性試験概要表 2.6.7.17.1 参照）1338BV

ネズミチフス菌 4 菌株（TA1535、TA1537、TA98、TA100）及び大腸菌 WP2P*uvrA*/pKM101 株を用いて、S9-mix 存在下と非存在下で、5～5000 µg/プレートの濃度範囲の *不純物D を試験した。

*不純物D は、本試験で使用した条件下で、プレートあたり 5000 µg/プレートの濃度まで、ネズミチフス菌 TA1535、TA100、TA98、TA1537 株及び大腸菌 WP2P*uvrA*/pKM101 株に対して突然変異誘発原性を示さないと結論された。

したがって、*不純物D には遺伝毒性はないと判断した。

8.1.2.4 *不純物E

8.1.2.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験による遺伝毒性の検討

（毒性試験概要表 2.6.7.17.1 参照）1339BV

ネズミチフス菌 4 菌株（TA1535、TA1537、TA98、TA100）及び大腸菌 WP2P*uvrA*/pKM101 株を用いて、S9-mix 存在下と非存在下で、1.6～1600 µg/プレートの濃度範囲の *不純物E を試験した。被験物質の析出が 1600 µg/プレートで認められた。

*新薬承認情報提供時に置き換えた

*不純物E は、本試験で使用した条件下で、毒性により決定した用量まで、ネズミチフス菌 TA1535、TA100、TA98、TA1537 株及び大腸菌 WP2P*uvrA*/pKM101 株に対して突然変異誘発性を示さないと結論された。
したがって、 *不純物E には遺伝毒性はないと判断した。

8.1.3 原薬中の不純物

バンデタニブ中に存在する 2 種類の不純物の規格限度値は、日米欧医薬品規制調和国際会議（ICH）のガイドラインで示されている構造決定の限度を超えることから、有効成分の規格に、[redacted]、及び *不純物A [redacted]と定めている（第 3 部 S.4.5 項参照）。
構造活性相関分析の結果、[redacted]、 *不純物A はいずれも、遺伝毒性の危険性は認められなかった。

8.1.3.1 [redacted]

[redacted]の予定規格限度 [redacted]は、ICH の安全性確認の必要な閾値の 0.15%を超えないため、安全性確認は必要とされない。

8.1.3.2 *不純物A

バンデタニブと類似構造をもつ *不純物A 不純物の予定規格限度は [redacted]に設定され、この予定規格限度は ICH の安全性確認の必要な閾値の 0.15%を超えることから、その妥当性を以下に示した。
この不純物の予定規格限度でバンデタニブ 300 mg/日の治療用量を服用した場合、ヒトにおける本不純物の摂取量は、[redacted]mg となる。すなわち、体重 60kg のヒトの場合、[redacted] mg/kg/日の摂取に相当する。1 カ月及び長期反復投与毒性試験で使用したロットのバンデタニブ（C267/1 及び C268/1）は [redacted]%の *不純物A を含有していた。この不純物の [redacted]mg/kg/日の用量（バンデタニブ [redacted]mg/kg/日の用量で達成）は、イヌの 1 カ月間反復投与毒性試験 TAD1042 の無影響量（5 mg/kg/日）、ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験（TAR2937）の無毒性量、並びにイヌの 9 カ月間反復投与毒性試験（TPD1043）の無毒性量に含まれる当該不純物の量に相当した。
以上から、ヒトの最大量に相当する *不純物A アナログ不純物を動物が摂取しても問題となる毒性は発現せず、 *不純物A の [redacted]の規格限度は、進行癌患者に重大な安全性上のリスクを与えないと考えられた。
更に、すべての遺伝毒性試験（細菌を用いた復帰突然変異試験、*in vitro* 培養細胞を用いた染色体異常試験、*in vivo* 骨髄小核試験）に使用した[redacted]不純物含量は [redacted]%で（規格では [redacted]）、[redacted]不純物を [redacted]%含有するバンデタニブの全 3 試験で遺伝毒性はみられず（毒性試験の概要文 2.6.6.4 項参照）、この不純物の規格が適切であると考えられた。

8.2 光毒性試験

8.2.1 BALB/c 3T3 細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験

（毒性試験概要表 2.6.7.17.2 参照）TKU9
バンデタニブの *in vitro* 光毒性作用の有無を Balb/c 3T3 線維芽細胞を用いて試験した。

Balb/c3T3 線維芽細胞に、紫外線 A 波（UVA）照射非存在下で 0.46～1000 μg/mL 及び UVA 照射存在下で 0.046～100 μg/mL の濃度範囲のバンデタニブを添加した。陽性対照（クロルプロマジン）及び陰性対照（1%ジメチルスルホキシド）も同様に処理した。細胞を 5 J/cm^2 の UVA 照射下又は暗所におき、ニュートラルレッド取込み法で細胞毒性を試験した。ニュートラルレッド取込みを 50%阻害する試験物質濃度（50%影響濃度 (EC_{50})）を陽性対照及び試験物質について計算し、Photo Irritation Factor（PIF）値（UVA 非存在下の EC_{50}/UVA 存在下の EC_{50}）を求めた。

陰性対照及び陽性対照は許容範囲の反応を示し、本試験は有効であると判定された。

UVA 波照射存在下及び非存在下で細胞毒性が観察され、バンデタニブで 19.9 の PIF 値が算出された。PIF 値が>5 を超えることから、バンデタニブは *in vitro* で光毒性があると判断した。

9 考察

バンデタニブの安全性を一般毒性試験、遺伝毒性試験（バンデタニブ及び不純物）、がん原性試験、生殖発生毒性試験及び光毒性試験で評価した。主な反復投与毒性試験では、臨床の投与経路に合わせて本薬を経口投与した。バンデタニブの臨床での経口バイオアベイラビリティ試験の一部として、ヒトの単回静脈内投与を実施するため、ラット及びイヌで 2 週間までの静脈内投与毒性試験を実施した。しかし、この臨床試験は実施されなかった。静脈内投与毒性試験（0567AR、0266AR、0142AD、0143AD）の結果は、バンデタニブの安全性評価に有用であるので、認められた所見の考察をおこなった。

ラット、イヌ及びヒトの定常状態の曝露量を比較すると（表 2）、ヒトへの 300 mg 投与時の定常状態における AUC_{SS} 28448 ng·h/mL は、6 カ月あるいは 9 カ月間反復投与毒性試験で得られた $AUC_{0\text{-}24}$ 値に比べて高値であった。これらの毒性試験の高用量群で顕著な毒性が確認されたが、抗癌剤では、安全性及び忍容性の限度での動物の血漿中濃度がヒトの濃度と同様かそれ以下であることは稀ではない（Collins et al 1990）。毒性試験に使用した動物種でのバンデタニブの体内動態はヒトとほぼ同様であり（2.6.4 参照）、本薬のヒトへの使用を裏付ける安全性試験にこれらの動物種を使用するのは適切と考えられる。

毒性試験でいくつかの重要な所見が認められた。大部分の所見（イヌの嘔吐・軟便、ラットの皮膚、肝臓、歯牙、腎臓、生殖器に対する影響、ラット及びイヌの骨端軟骨板に対する影響）は、バンデタニブの VEGFR 又は EGFR 阻害作用に起因するものであり、ラット及びイヌは薬理学的に適切な試験動物であると考えられた。RET 阻害作用のみに起因すると考えられる所見は確認されなかった。

1、6 及び 9 カ月間反復投与毒性試験で、用量制限毒性として消化管、皮膚への影響及び肝毒性がみられた。高用量群でこれらの所見を伴う一般状態の悪化及び死亡が発現したため、減量するか（ラット 6 カ月間反復投与毒性試験の高用量群の 20 mg/kg/日を 13 週以降 10 mg/kg/日に減量、イヌ 9 カ月間反復投与毒性試験の高用量群の 20 mg/kg/日を 17 週以降 15 mg/kg/日に減量）、あるいはラット 1 カ月間反復投与毒性試験（25 又は 26 日）及びイヌ 1 カ月間反復投与毒性試験（15 日）では高用量群の投与を途中で中止した。ラット 1 カ月間反復投与毒性試験の高用量群（75 mg/kg/日）には予定投与期間の大部分（25 日以上）を投与したが、イヌの試験では 40 mg/kg/日の高用量群は 2 週間しか投与できなかった。しかしながら、高用量を減量し、あるいは高用量群の投与を早期に中止しても、1 カ月間反復投与毒性試験でバンデタニブの毒性を評価することは可能であり、得られたデータは、続くラット 6 カ月間反復投与毒性試験、イヌ 9 カ月間反復投与毒性試験で補完された。

イヌ 1 カ月間反復投与毒性試験の 40 mg/kg/日（高用量群）は、主に消化管への影響により忍容性を示さず、上記のとおり 2 週間後に投与を中止した。主な変化は、体重減少、嘔吐、下痢であったが、病理組織学的所見を伴わなかった。これらの変化は 4 週間の回復期間中に回復した。同様にイヌ 9 カ月間反復投与毒性試験で、下痢及び体重減少が頻発し、17/18 週に高用量を 20 mg/kg/日から 15 mg/kg/日に減量する必要があったが、この場合も、消化管に関連した病理組織学的所見は認められなかった。しかしながら、用量設定試験で 40 mg/kg/日を 14 日間反復投与したイヌの小腸（軽度粘膜びらん）及び大腸（粘膜萎縮）に組織学的病変がみられた（毒性試験の概要文 2.6.6.2.4 項参照）。消化管機能の変化は VEGF と上皮増殖因子（EGF）又はそのいずれかの阻害の結果であると考えられた。EGF の全身投与は消化管に対して強い増殖作用を示すことから（Vinter-Jensen 1999）、その阻害薬は有害な影響を与えると考えられる。

ラット 1 カ月間反復投与毒性試験の高用量群（75 mg/kg/日）で、肝酵素値の上昇及び急性胆管炎の肝胆道系毒性が発現した。27 日目に安楽死させた 1 例については、急性の肝細胞壊死がみられた。4 週間の回復期間終了時でも一部の影響（ALT の上昇）はなお持続した。更に、1 例に胆管拡張がみられ、ラットの 6 カ月の試験でも、20 mg/kg/日投与群に肝酵素値の上昇及び急性胆管炎がみられた。ラット 1 カ月間反復投与毒性試験の 5 及び 25 mg/kg/日投与群、及び 6 カ月間反復投与毒性試験の 20/10 mg/kg/日投与群の生存例でも肝酵素値の上昇が認められたが、病理組織学的変化は認められなかった。ラットの静脈内投与毒性試験でも、肝酵素値の上昇及び肝細胞壊死がみられた。肝臓は高レベルの EGFR を発現しており、全身投与された EGF のクリアランスに肝臓が関与することから、これらの試験の肝毒性は薬理作用に起因した可能性が考えられた。肝細胞の EGF 刺激は、アルブミン合成増加（DeJuan et al 1992）及び血中 ALP 値低下（Breider et al 1996; Maraschin et al 1995）などに影響することが知られている。

ラット及びイヌの 1 カ月間反復投与毒性試験で、用量に相関した大腿脛骨関節の骨端軟骨板異形成がみられたが、6 カ月及び 9 カ月間反復投与毒性試験ではみられなかった。この異形成は、肥大軟骨細胞が増加して血管の軟骨板侵入が阻害されたものであると考えられた。この所見は、ラット及びイヌの試験で回復期間終了時に完全に回復した。軟骨内骨形成に VEGF シグナル伝達が不可欠であることから（Gerber et al 1999; Ryan et al 1999, Hall et al 2006）、骨端軟骨板の変化は VEGFR 阻害に起因したものと考えられた。

ラット 1 カ月間反復投与毒性試験の 75 mg/kg/日投与群の回復期間に、また 6 カ月間反復投与毒性試験の 20/10 mg/kg/日投与群の数例の死亡例で切歯異形成がみられたが、これらの所見は VEGFR 阻害に起因したものと考えられた。生存例では切歯の破折、欠損がみられた。この異形成は、歯原性上皮の低形成及び変性を伴う象牙質形成異常によるものである。ラットの切歯は生存期間中を通じて持続的に成長し、その先端は機能的磨耗により正常に磨耗される。歯原性上皮は血管新生が十分な歯髄腔により維持されることから、切歯形成異常は VEGFR が阻害されて、この持続的に成長する組織の血管形成が影響されたことに起因すると考えられる。

ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験で用量に相関した腎乳頭壊死が 25 及び 75 mg/kg/日投与群でみられ、75 mg/kg/日投与群では回復期間終了時にも持続した。ラット 6 カ月間反復投与毒性試験（最高用量 20/10 mg/kg/日）で同様の腎病変は確認されなかったが、両試験でみられた各種臨床検査値の変化（尿検査値の変化及び血漿尿素値及びクレアチニン値の軽度上昇）から腎機能異常が示唆された。EGF は腎臓で多量に産生され、尿中に高濃度で存在し腎細胞機能に影響することから（Hamm et al 1993）、過形成をもたらすと共に、ラット腎損傷モデルの治癒を促進すると報告されている（Breider et al 1996）。また、EGF をカニクイザルに投与すると、高度の乳頭集合管上皮過形成が認められ（Reindel et al 2001）、尿中 EGF は尿路上皮に対して栄養効果を示すことが知られている（Vinter-Jensen 1999）。

ラット 1 カ月間反復投与毒性試験の 25、75 mg/kg/日投与群で、鼻口部の皮膚に急性毛包炎及び上皮微小膿瘍形成が用量に対応してみられた。6 カ月間反復投与毒性試験の 20/10 mg/kg/日、

5 mg/kg/日投与群のラットでも毛包炎が観察された。これらの所見はそれぞれの休薬期間終了時までに回復性がみられた。EGF はケラチノサイトの増殖及び分化を調節する主要因子であることから（Murillas et al 1995, Lacouture 2006）、観察された皮膚の所見は EGFR 阻害によるものと考えられた。EGF 投与により、カニクイザルで各種臓器の上皮において過形成がみられている（Reindel et al 2001）。これらの皮膚病変とバンデタニブの薬理作用との関連は、EGFR のモノクローナル抗体（Busam et al 2001）及び EGFR の低分子阻害剤（Hidalgo et al 2001）を投与した患者で同様な皮膚病変が報告されたことから裏付けられる。好中球数及び単球数の増加は、本薬投与群ラットで炎症性皮膚病変が発現した結果、引き起こされたものと考えられる。

用量に相関した軽度な血液学的変化（ヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球数、一部の白血球分画の増加）がラットの経口投与及び静脈内投与毒性試験で認められたが、通常は投与中止により回復した。イヌでは唯一の血液学的変化として、9 カ月間反復投与毒性試験の 20 mg/kg/日（高用量群）で当初、血小板数の軽微増加がみられたが、雌は減量後に回復し、雄は回復期間に回復した。これらの血液パラメータに対する影響は、他の VEGF 阻害剤で報告されている事象と一致しており、赤血球新生の調整に VEGF が関与していることを示している（Tam et al 2006）。

バンデタニブは陽イオン両親媒性（親油性）構造をもち、このような物理化学的性質を有する化合物は、細胞内リン脂質の過度の蓄積を起こすと考えられる（Halliwell 1997）。陽イオン性親油性構造をもつ多くの薬物は、*in vivo* で細胞内にリン脂質症を生じるが、ヒトでリン脂質症を起こす薬物は非常に少ないと報告されている（Reasor et al 2001）。リン脂質症発現による組織学的変化（細胞質泡沫空胞化）及び超微細形態学的変化（ミエリンに富む渦状形成）が、ラットの 1 カ月間反復経口投与毒性試験のバンデタニブ 25 及び 75 mg/kg/日投与群の肺、リンパ節、脾臓、小葉中心性肝細胞、気管、尿細管上皮に認められた。6 カ月間反復投与毒性試験では、5 mg/kg/日以上の投与群の肺に泡沫マクロファージがみられたが、13 週間の休薬により回復した。肺は、リン脂質症誘発物質の多くでみられるラットの標的臓器である（Reasor et al 2001）。1 カ月間反復投与毒性試験では、4 週間の回復期間に肺の変化は完全には回復しなかったが、6 カ月間反復投与毒性試験では投与中止後 13 週間で完全に回復した。ラットの 2 週間反復静脈内投与毒性試験で、10 及び 17.5 mg/kg/日群の脾臓に泡沫マクロファージがみられ、17.5 mg/kg/日投与群の泡沫肺胞マクロファージが顕著であったことから、媒体（hydroxypropyl-β-cyclodextrin）との相乗作用あるいはバンデタニブの直接作用に起因するものと思われた。

バンデタニブを経口投与したイヌでは、リン脂質症の組織学的所見は認められなかったが、2 週間静脈内投与したイヌは数種の組織に所見（腎皮質尿細管細胞質空胞化、腋下リンパ節及び腸間膜リンパ節の類洞泡沫マクロファージ、泡沫肺胞マクロファージ）がみられた。これらの変化は媒体投与群を含む全ての群でみられ、媒体（hydroxypropyl-β-cyclodextrin）にも起因すると考えられたが、腸間膜リンパ節及び肺胞の変化の強さは 7 mg/kg/日以上の投与群で増大しており、バンデタニブに相加的な作用があったと考えられた。

2 週間反復投与毒性試験（0143AD）でバンデタニブ静脈内投与により、C_{max} は 1 カ月及び 9 カ月間反復経口投与毒性試験の高用量群に比べて約 14 倍高値となり、AUC は約 3 倍高値となった。イヌでリン脂質症を発現した最低用量である 7 mg/kg/日における曝露量は、ヒトに 300 mg を投与したときの曝露量より低かった（表 2 参照）。

ラットとは異なり、イヌでは経口投与時に比べて静脈内投与時にかなり高い血漿中バンデタニブ濃度が得られた（表 2 及び表 3 参照）。イヌのリン脂質症以外に、静脈内投与後に重要な新規所見は認められなかった。経口投与毒性試験でみられたのと同様な非忍容性の症状が、イヌ、ラットともに、静脈内投与毒性試験の高用量群でみられた。

イヌの肺に、病因及び毒性学的意義は明確でないが、2 つの所見がみられた。2 週間反復静脈内投与毒性試験（0143AD）の高用量の 16.5 mg/kg/日投与群の雌イヌ 3 例中 2 例でみられた軽度

から中等度の限局性肺胞炎は、投与部位の炎症の二次的所見（すなわち、投与部位の炎症物質が血管内に侵入して肺血管床に達した）と思われるが、投与に関連した直接作用の可能性も排除できない。ラットの 6 カ月間反復経口投与毒性試験（TPR2939）で、20/10 mg/kg/日の高用量群の 2/60 例の肺にみられた剖検所見（不規則な淡黄色表面）は、本薬投与に関連すると考えられたが、病理組織学的所見を伴わず、その毒性学的意義は明らかではない。

薬理作用から予測されたように、バンデタニブの雌ラット生殖能への顕著な影響があらゆる生殖の段階で認められた。黄体形成期の周期的血管形成に VEGF が介在することから（Goede et al 1998）、卵巣所見（ラット 1 カ月間反復投与毒性試験の 75 g/kg/日投与群の黄体数の可逆的な減少）は VEGFR が阻害された結果と考えられた。また EGF は正常な卵巣機能の調節に関与し、多くの各種卵巣細胞に影響することが知られているため（Chabot et al 1986; Assarsson et al 1995）、本薬投与は卵巣機能を変化させると考えられる。

Tg マウスのがん原性試験の用量設定のために実施した CByB6F1 マウス（rasH2 の非 Tg 野生型）への 1 カ月までの反復投与では歯、骨端軟骨板、リンパ組織及び卵巣で変化がみられ、これらの変化はラットにおいても認められた。

雌ラット受胎能試験では、母動物の一般毒性所見はみられなかったが、10 及び 25 mg/kg/日群で不規則な発情周期の増加傾向が認められた。10 及び 25 mg/kg/日投与群で、用量に関連した早期死亡胚の増加と、その結果として生存胚数の減少及び着床後死亡の増加が認められた。雌ラットの受胎能及び胎児に対する無毒性量はともに 1 mg/kg/日であった。4 週間の休薬期間後、発情周期、着床前及び着床後死亡又は同腹生存胚数に対する影響は認められなかった。妊娠雌ラットの妊娠 1～7 又は 7～16 日にバンデタニブを経口投与すると、20 mg/kg/日群で着床後死亡の増加を認め、10 及び 20 mg/kg/日投与群で胎児体重の減少が認められた。ラットの胚・胎児発生毒性試験は、投与量 1、10 及び 25 mg/kg/日で試験し、25 mg/kg/日投与群で、胚・胎児死亡、胎児発育遅延、心血管系の異常、頭蓋骨の早期骨化を認めた。低用量の 1 mg/kg/日投与群で、胎児 1 例に心血管系の異常がみられたため、胎児に対する無毒性量は確定できなかった。

ラットに 1、10 mg/kg/日のバンデタニブを妊娠 6 日から、10 mg/kg/日を妊娠 16 日から投与した出生前及び出生後投与試験で、体重増加抑制、摂餌量の減少などの母動物に対する軽度な毒性が妊娠及び授乳期間中にみられ、出生前死亡の増加が 10 mg/kg/日群で観察された。すべての投与群において出生児の生後成長の遅延が観察され、妊娠 6 日、妊娠 16 日に投与を開始したいずれの高用量群でも、出生児の生後成長の遅延が身体発育分化の軽度遅延として認められた。

雄ラット生殖能に対するバンデタニブの影響は認められなかった。

バンデタニブは細菌を用いた復帰突然変異試験において突然変異を誘発せず、*in vitro* 染色体異常試験及び *in vivo* 小核試験においても染色体異常誘発性を示さなかった。

バンデタニブを 6 カ月間、最高 30 mg/kg/日の用量で rasH2 Tg マウスに強制経口投与しても、腫瘍発生頻度の増加は認められなかった。

安全性の確認が必要な原薬の不純物である　　*不純物A　　について、バンデタニブの反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験の試験成績から検討した結果、設定した規格限度において、進行癌患者に重大な安全性上のリスクを与えないと考えられた。

バンデタニブは、UVA 波照射存在下及び非存在下で実施した *in vitro* 光毒性試験で光毒性が認められた。

*新薬承認情報提供時に置き換えた

10 結論

バンデタニブ反復経口投与により、VEGFR 及び EGFR 活性阻害に一致した様々な変化が認められた。抗癌剤の安全性評価で一般にみられるように、毒性試験の動物における血漿中バンデタニブ濃度・曝露量は、ヒトで有効性を示すのに必要な濃度に比べて低かった。

1 カ月間反復投与毒性試験でラットの大腿脛骨関節骨端軟骨板及びイヌの大腿骨骨端軟骨板にみられた可逆的の異形成は、VEGFR が阻害された結果であると考えられた。イヌでみられた消化管毒性（体重減少、嘔吐、下痢）は、VEGF 及び EGF 又はそのいずれかの受容体のシグナル伝達の阻害によるものと考えられた。ラットの腎乳頭壊死及び皮膚の所見（急性毛包炎、上皮微小膿瘍形成）は、EGFR が阻害された結果であり、皮膚の影響は回復性がみられたが、腎乳頭壊死は 1 カ月間反復投与毒性試験の 4 週間の回復期間終了時でもなお持続した。

ラット 1 カ月、6 カ月間反復経口投与毒性試験及び 2 週間静脈内投与毒性試験で肝胆道毒性が発現したが、イヌでは認められなかった。この所見は、主として肝酵素値の上昇であったが、高用量の経口投与により胆管炎が発現し、6 カ月の試験でみられた数例の途中死亡の死因（膵炎が一部関与）となった。肝臓は高レベルの EGFR を発現していることから、バンデタニブの肝毒性は薬理作用に関連した可能性が考えられた。

バンデタニブの陽イオン両親媒性（親油性）に起因したリン脂質症が、1 カ月又は 6 カ月間反復経口投与したラットで発現し、一部で回復性がみられた。イヌでは、経口投与時にリン脂質症はみられなかったが、経口投与に比べて非常に高い曝露量となる 2 週間静脈内投与時に、肺、リンパ節等の臓器でリン脂質症がみられた。

薬理作用から予測されたように、バンデタニブの雌ラット生殖能への顕著な影響が、あらゆる生殖の段階で認められた。ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験で 75 mg/kg/日投与群の卵巣で黄体数の減少がみられた。雌ラット受胎能試験で、不規則な発情周期の増加傾向、妊娠率の軽度減少及び着床前死亡の増加がみられた。妊娠ラットにバンデタニブを投与した際に着床後死亡増加がみられた。ラットで胚・胎児発生毒性が胚・胎児死亡、胎児発育遅延、心血管系の異常、頭蓋骨の早期骨化として認められた。雄ラット生殖能に対するバンデタニブの影響は認められなかった。

バンデタニブは *in vitro* 光毒性試験で光毒性を示し、光過敏性性反応及び発疹の発現が臨床試験で報告されている（臨床に関する概括評価 2.5.5.3.1 項参照）。バンデタニブに遺伝毒性及び発がん性がないことが確認された。

以上、バンデタニブの非臨床安全性試験データから、今回の承認申請において根治切除不能な局所進行又は転移を伴う甲状腺髄様癌患者への 1 日 1 回 300 mg 投与が容認されると考えられた。

11 参考文献一覧

Assarsson et al 1995

Assarsson B, Nilsson I, Selstam G. Ovarian levels of Epidermal Growth Factor Receptor mRNA in the Rat-a Postovulatory Decrease. Acta Physiologica Scandinavica 1995; 154: 177-83.

Breider et al 1996

Breider MA, Bleavins MR, Reindel JF, Gough AW, De la Inglesia FA. Cellular Hyperplasia in Rats Following Continuous Intravenous Infusion of Recombinant Human Epidermal Growth Factors. Veterinary Pathology 1996; 33: 184-194.

Busam et al 2001

Busam KJ, Capodieci P, Motzer R, Kiehn T, Phelan D, Halpern AC. Cutaneous Side-effects in Cancer Patients Treated with the Antiepidermal Growth Factor Receptor Antibody C225. British Journal of Dermatology 2001; 144: 1169-1176.

Chabot et al 1986

Chabot JG, St-Arnaud R, Walker P, Pelletier G. Distribution of Epidermal Growth Factor Receptors in the Rat Ovary. Molecular and Cellular endocrinology 1986 : 44 : 99-108.

Collins et al 1990

Collins JM, Grieshaber CK, Chabner BA. Pharmacologically Guided Phase I Clinical Trials based upon Preclinical Drug Development. Journal of the National Cancer Institute 1990; 82: 1321-1326.

DeJuan et al 1992

DeJuan C, Benito M, Fabregat I. Regulation of Albumin Expression in Fetal Rat Hepatocytes Cultered under Proliferative Conditions; Role of Epidermal Growth Factor and Hormones. Journal of Cellular Physiology 1992; 152: 95-101.

Gerber et al 1999

Gerber HP, Vu TH, Ryan AM, Kowalski J, Werb Z, Ferrara N. VEGF couples hypertrophic cartilage remodelling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. Nature Medicine 1999; 5: 623-8.

Goede et al 1998

Goede V, Schmidt T, Kimmina S, Kozian D, Augustin HG. Analysis of blood vessel maturation processes during cyclical ovarian angiogenesis. Lab. Invest. 1998; 78: 1385-94.

Hall et al 2006

Hall PA, Westwood FR, Wadsworth PF. Review of the effects of anti-angiogenic compounds on the epiphyseal growth plate. Toxicol. Pathol. 2006; 34: 131-147

Halliwell 1997

Halliwell WH. Cationic amphiphilic drug-induced phospholipidosis. Toxicol. Pathol.1997, 25:53-60.

Hamm et al 1993

Hamm LL, Herring-Smith KS, Vehaskari VM. Epidermal growth factor and the kidney. Seminars in Nephrology 1993; 13: 109-15.

Hidalgo et al 2001

Hidalgo M, Siu LL, Nemunaitis J, Rizzo J, Hammond LA, Takimoto C, et al. Phase I and Pharmacologic Study of OSI-774, an Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, in Patients with Advanced Solid Malignancies. Journal of Clinical Oncology 2001; 19: 3267-3279.

Lacouture 2006

Lacouture ME. Mechanisms of Cutaneous Toxicities to EGFR Inhibitors. Nat Rev Cancer. 2006; 6: 803-812.

Maraschin et al 1995

Maraschin R, Bussi R, Gonz A, Orlando L, Pirovano R, Nyska A. Toxicological evaluation of u-hEGF. Toxicologic Pathology 1995; 23: 356-366.

Murillas et al 1995

Murillas R, Larcher F, Conti CJ, Santos M, Ullrich A, Jorcano JL. Expression of a dominant negative mutant of epidermal growth factor receptor in the epidermis of transgenic mice elicits striking alterations in hair follicle development and skin structure. EMBO Journal 1995; 14: 5216-5223.

Reasor et al 2001

Reasor MJ, Kacew S. Drug-Induced Phospholipidosis: Are There Functional Consequences? Exp Biol Med 2001; 226: 825-830.

Reindel et al 2001

Reindel JF, Gough AW, Pilcher GD, Bobrowski WF, Sobocinski GP, De La Iglesia FA. Systemic Proliferative Changes and Clinical Signs in Cynomolgus Monkeys Administered a Recombinant Derivative of Human Epidermal Growth Factor. Toxicologic Pathology 2001; 29: 159-173.

Ryan et al 1999

Ryan AM, Eppler DB, Hagler KE, Bruner RH, Thomford PJ, Hall RL, et al. Preclinical safety evaluation of rhuMAbVEGF, an antiangiogenic humanised monoclonal antibody. Tox Path 1999; 27: 78-86.

Tam et al 2006

Tam BYY, Wei K, Rudge JS, Hoffman J, Holash J, Park S-K, et al. VEGF modulates erythropoiesis through regualtion of adult hepatic erythropoietin synthesis. Nature Medicine 2006; 12: 793-800.

Vinter-Jensen 1999

Vinter-Jensen L. Pharmacological Effects of Epidermal Growth Factor (EGF) with Focus on the Urinary and Gastrointestinal Tracts. APMIS Supplement 1999; 107: 5-42.

2.6.7 毒性試験概要表

カプレルサ®錠 100 mg

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　　頁

1　毒性試験一覧表 4
2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表 8
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表 9
4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧表 10
5　単回投与毒性試験 11
6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 14
7　反復投与毒性試験：重要な試験 18
7.1　ラット 1 カ月間反復経口投与毒性試験 18
7.2　ラット 6 カ月間反復経口投与毒性試験 25
7.3　イヌ 1 カ月間反復経口投与毒性試験 31
7.4　イヌ 9 カ月間反復経口投与毒性試験 34
8　*In vitro* 遺伝毒性試験 37
8.1　細菌を用いた復帰突然変異試験 37
8.2　ヒトリンパ球培養細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 44
9　*In vivo* 遺伝毒性試験 47
9.1　ラットの経口投与による小核試験 47
10　がん原性試験 49
10.1　マウスを用いた経口投与用量設定試験 49
10.2　rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 6 カ月経口投与がん原性試験 51
11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 55
11.1　ラットの胚・胎児発生に関する用量設定試験 55
11.2　ラットの経口投与による出生前・出生後の胚発生並びに母動物の機能に関する試験の用量設定試験 56
12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期発生に関する試験 57
12.1　雄ラットの経口投与による受胎能試験 57
12.2　雌ラットの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 60
13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 63
13.1　ラットの経口投与による胚・胎児発生に関する試験 63
14　生殖発生毒性試験：出生前・出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 66
14.1　ラットの経口投与による出生前・出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 66
15　新生児を用いた試験 70
16　局所刺激性試験 71
17　その他の毒性試験 72

17.1 不純物の試験 72
17.2 光毒性試験 74

1 毒性試験一覧表

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location in CTD
Single-dose toxicity								
	Mouse Alpk:AP$_f$CD-1	Oral (gavage)	Single	1000 2000	Yes	AstraZeneca UK	TLM1135	4.2.3.1.1
	Mouse Alpk:AP$_f$CD-1	Intravenous	Single	50	Yes	AstraZeneca UK	TLM1136	4.2.3.1.2
	Rat Alpk:AP$_f$SD	Oral (gavage)	Single	1000 2000	Yes	AstraZeneca UK	TLR2935	4.2.3.1.3
	Dog AP beagle	Oral (gavage)	MTD: 3-4 days Sub-acute:Up to 14 days	MTD: 25, 50 and 100 (3-4days) Sub-acute: 5, 25 and 40 (14 days)	No	AstraZeneca UK	TAD1041	4.2.3.1.4
Repeat-dose toxicity								
	Rat Alpk:AP$_f$SD	Oral (gavage)	up to 29 days	0, 5, 25 and 75	Yes	AstraZeneca UK	TAR2937	4.2.3.2.1
	Rat Alpk:AP$_f$SD	Oral (gavage)	26 weeks	0, 1, 5 and 20/10	Yes	AstraZeneca UK	TPR2939	4.2.3.2.2
	Rat Alpk:AP$_f$SD	Intravenous	Up to 10 days	0, 10, 25 and 50	No	AstraZeneca UK	0567AR	4.2.3.2.3
	Rat Alpk:AP$_f$SD	Intravenous	14 days	0, 2.5, 10 and 17.5	Yes	AstraZeneca UK	0266AR	4.2.3.2.4
	Dog AP beagle	Oral (gavage)	Up to 4 weeks	0, 5, 15 and 40	Yes	AstraZeneca UK	TAD1042	4.2.3.2.5
	Dog AP beagle	Oral (gavage)	40 weeks	0, 1, 5 and 20/15	Yes	AstraZeneca UK	TPD1043	4.2.3.2.6

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location in CTD
	Dog AP beagle	Intravenous	10 days	0, 4.75, 9.5 and 19	No	AstraZeneca UK	0142AD	4.2.3.2.7
	Dog AP beagle	Intravenous	14 days	0, 2.5, 7 and 16.5	Yes	AstraZeneca UK	0143AD	4.2.3.2.8
Genotoxicity								
Bacterial reverse mutation assay	*S.typhimurium* and *E.coli*	*In vitro*		5 to 5000 µg/plate	Yes	[redacted] UK	TMV777 ([redacted])	4.2.3.3.1.1
In vitro cytogenetic study	Primary human lymphocytes	*In vitro*		Up to 10 µg/mL	Yes	AstraZeneca UK	TYX103	4.2.3.3.1.2
Micronucleus test	Rat Alpk:AP$_f$SD	Oral (gavage)	Single	100, 330 and 1000	Yes	AstraZeneca UK	TQR2942	4.2.3.3.2.1
Carcinogenicity								
Sighting	Mouse CByB6F1	Oral (gavage)	7 days	0, 10, 30, 100, 300 and 1000	No	[redacted] US	0871DM (11-2268)	4.2.3.4.2.1
Sighting	Mouse CByB6F1	Oral (gavage)	28 days	0, 10, 30 and 100	Yes	[redacted] US	0858HM (11-2269)	4.2.3.4.2.2
	Mouse rasH2 Tg	Oral (gavage)	6 months	0, 3, 10 and 30	Yes	[redacted] US	0862CM (11-2271)	4.2.3.4.2.3
Reproductive and developmental toxicity								
Fertility study in male rats	Rat Alpk:AP$_f$SD	Oral (gavage)	At least 8 weeks prior to pairing	0, 1, 5 and 20	Yes	AstraZeneca UK	TGR3138	4.2.3.5.1.1

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location in CTD
Fertility and early embryonic development study in the female rat	Rat Alpk:AP$_f$SD	Oral (gavage)	14 days prior to pairing through to Day 6 o.g.	0, 1, 10 and 25	Yes	AstraZeneca UK	TGR2940	4.2.3.5.1.2
Teratology sighting study	Rat Alpk:AP$_f$SD	Oral (gavage)	Day 1-7 or Day 7-16 o.g.	0, 0.5, 1, 5, 10 and 20	No	AstraZeneca UK	TRR3073	4.2.3.5.2.1
Embryofetal development study	Rat Alpk:AP$_f$SD	Oral (gavage)	Day 6-15 o.g.	0, 1, 10 and 25	Yes	AstraZeneca UK	TTR2938	4.2.3.5.2.2
Dose range-finding pre- and post-natal development study	Rat Wistar Crl:WI (Han)	Oral (gavage)	Day 6 o.g. to Day 8 of lactation	0, 1, 10 and 25	Yes	[redacted] France	1107WR (AA29682)	4.2.3.5.3.1
Pre- and post-natal development study	Rat Wistar Crl:WI (Han)	Oral (gavage)	Day 6 or 16 o.g. to Day 21 of lactation	0, 1 and 10	Yes	[redacted] France	1251WR (AA32728)	4.2.3.5.3.2
Studies in juvenile animals[b]								
Local tolerance[b]								
Other toxicity studies Impurities								
Bacterial reverse mutation assay *不純物B	*S.typhimurium*	*In vitro*		16 to 5000 µg/plate	No	AstraZeneca UK	1953BV	4.2.3.7.6.1
Bacterial reverse mutation assay *不純物C	*S.typhimurium* and *E.coli*	*In vitro*		100 to 5000 µg/plate	No	[redacted] UK	8664	4.2.3.7.6.2
Micronucleus test *不純物C	Mouse CD-1	Oral (gavage)	Single	2000	No	[redacted] UK	SM1003	4.2.3.7.6.3

*新薬承認情報提供時に置き換えた

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day[a])	GLP compliance	Testing facility	Study number	Location in CTD
Bacterial reverse mutation assay ZD6474 4-Amino MA	*S.typhimurium* and *E.coli*	*In vitro*		5 to 5000 µg/plate	Yes	AstraZeneca UK	1338BV	4.2.3.7.6.4
Bacterial reverse mutation assay 2,4-Dibromo-6-fluoroaniline	*S.typhimurium* and *E.coli*	*In vitro*		1.6 to 1600 µg/plate	Yes	AstraZeneca UK	1339BV	4.2.3.7.6.5
Other toxicity studies **Phototoxicity**								
	Balb/c3T3 fibroblasts	*In vitro*		0.46 to 1000 µg/mL	Yes	[redacted] Germany	TKU9 ([redacted])	4.2.3.7.7.1

[a] Unless otherwise specified, for repeat-dose toxicity, the NOAEL (No Observed Adverse-Effect Level) is underlined.

[b] Studies not required for the present indication.

o.g.: of gestation,

2 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表

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Type of Study	Test System	Method of administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number
One month repeat dose	Rat	Oral (gavage)	0, 5, 25 and 75	Yes	TAR2937
Six month repeat dose	Rat	Oral (gavage)	0, 1, 5 and 20/10	Yes	TPR2939
Two week repeat dose	Rat	Intravenous	0, 2.5, 10 and 17.5	Yes	0266AR
Pilot toxicity (MTD and 14 days repeat dose)	Beagle dog	Oral (gavage)	MTD phase: 25, 50 and 100 (3-4 days) Sub-acute phase: 5, 25 and 40 (14 days)	No	TAD1041
One month repeat dose	Beagle dog	Oral (gavage)	0, 5, 15 and 40	Yes	TAD1042
Nine month repeat dose	Beagle dog	Oral (gavage)	0, 1, 5 and 20/15	Yes	TPD1043
Ten day repeat dose	Beagle dog	Intravenous	4.75, 9.5 and 19	No	0142AD
Two week repeat dose	Beagle dog	Intravenous	0, 2.5, 7 and 16.5	Yes	0143AD
Seven day repeat dose	Mouse	Oral (gavage)	0, 10, 30, 100, 300 and 1000	No	0871DM
One month repeat dose	Mouse	Oral (gavage)	0, 10, 30 and 100	Yes	0858HM
Six month carcinogenicity	Mouse	Oral (gavage)	0, 3, 10 and 30	Yes	0862CM
Embryofetal development	Rat	Oral (gavage)	0, 1, 10 and 25	Yes	TTR2938
Dose range-finding pre- and post-natal development	Rat	Oral (gavage)	0, 1, 10 and 25	Yes	1107WR

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表

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Dose (mg/kg/day)	Rat oral[#] AUC_{0-24} (ng·h/mL)	Dog oral AUC_{0-24} (ng·h/mL)	Mouse oral AUC_{0-24} (ng·h/mL)	Human oral[##] AUC_{ss} (ng·h/mL)	Rat intravenous $AUC_{0.667-24}$ (ng·h/mL)	Dog intravenous AUC_{0-24} (ng·h/mL)
1	799[a]	218[d]	-	-	-	-
2.5	-	-	-	-	2350[e]	1010[f]
3	-	-	9620[i]	-	-	-
4.75	-	-	-	-	-	2310[g]
5	4257[a]	678[c], 1035[d]	-	28448	-	-
7	-	-	-	-	-	2100[f]
9.5	-	-	-	-	-	4000[g]
10	8114[a]	-	27860[h], 37400[i], 20097[j]	-	7450[e]	-
15	-	2380[c], 2273[d]	-	-	-	-
16.5	-	-	-	-	-	6410[f]
17.5	-	-	-	-	12000[e]	-
19	-	-	-	-	-	9410[g]
25	22685[b]	-	-	-	-	-
30	-	-	73010 [h], 78700[i]	-	-	-
75	34448[b]	-	-	-	-	-
100	-	-	140650[h]	-	-	-
300	-	-	285425[j]	-	-	-

[#] Although there was a small sex difference in the plasma concentration in the one month rat oral study (TAR2937), for reasons of clarity the data are presented for combined sexes in this table

[##] human doses assume 60 kg subject 5.0 mg/kg/day ~ 300 mg/day

[a] TPR2939 six month study [b] TAR2937 one month study [c] TAD1042 one month study (no exposure data at high dose 40 mg/kg/day) [d] TPD1043 nine month study

[e] 0266AR 14 day study [f] 0143AD 14 day study [g] 0142AD 10 day study [h] 0858HM 1 month study [i] 0862CM carcinogenicity study

j 0871DM 7 days study (Data of day4)

4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧表

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Batch number	Purity (%)	Specified impurities		Study number	Type of study
Proposed specifications:	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
C267/1	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TLM1135	Acute Mouse - Oral
				TLM1136	Acute Mouse - iv
				TLR2935	Acute Rat - Oral
				TAR2937	One Month Rat - Oral
				TAD1042	One Month Dog - Oral
				TMV777	Bacterial Mutation Assay
				TYX103	*In vitro* Cytogenetics
				TQR2942	Rat Micronucleus - Oral
C270/5	[redacted]	[redacted]	[redacted]	0567AR	10 Day Rat - iv
				0266AR	Two Week Rat - iv
				0142AD	10 Day Dog - iv
				0143AD	Two Week Dog - iv
C266/1	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TAD1041	Dog Pilot - Oral
C268/1	[redacted]	[redacted]	[redacted]	TPR2939	Six Month Rat - Oral
				TPD1043	Nine Month Dog - Oral
				TGR3138	Male Rat Fertility - Oral
				TGR2940	Female Rat Fertility and Early Embryonic Development - Oral
				TRR3073	Rat Teratology Sighting - Oral
				TTR2938	Rat Embryofetal Development - Oral
				TKU9	*In vitro* Phototoxicity
C357/3	[redacted]	[redacted]	[redacted]	AA29682 (1107WR)	Dose Range Finder for Rat Pre- and Post-natal Development - Oral
C357/6	[redacted]	[redacted]	[redacted]	AA32728 (1251WR)	Rat Pre- and Post-natal Development - Oral
[redacted] batch 21	[redacted]	[redacted]	[redacted]	0871DM	Seven Day Mouse - Oral
				0858HM	One Month Mouse - Oral
				0862CM	Six Month Mouse Carcinogenicity - Oral

Studies conducted using impurities are not included in the table. ND Not detected

5 単回投与毒性試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Species/ strain	Method of administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Mouse Alpk:AP$_f$CD-1	Oral (gavage) 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and 0.1% w/v aqueous polysorbate 80	1000 2000	5M, 5F	M: Not established F: 1000	M: 1000 F: >1000 ~ <2000	2000 mg/kg: all animals died or killed for humane reasons on Day 1. Clinical signs included hunched posture, trembling/shaking, clonic convulsions, cold to touch, breathing rate decreased, aggressive behaviour, eyes partly closed, distended abdomen, subdued behaviour and piloerection. No salient histopathological findings were seen except for ulceration of the stomach in 1 animal. 1000 mg/kg: 1 male died on Day 1 (no signs prior to death). All remaining mice survived the observation period. Atypical signs (hunched posture and subdued behaviour) were seen in 1 surviving male on Day 1.	TLM1135
Mouse Alpk:AP$_f$CD-1	Intravenous 45% w/v hydroxypropyl-β -cyclodextrin in pH 7 Sorensen's phosphate buffer	50	5M, 5F	M: 50 F: Not established	M: >50 F: 50	One female died on Day 1 immediately post dose. Observations prior to death included irregular breathing, subdued behaviour, and convulsions. Clinical signs in survivors included irregular breathing, subdued, hunched and eyes partially closed.	TLM1136

Species/ strain	Method of administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Rat Alpk:AP$_f$SD Wistar derived	Oral (gavage) 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and 0.1% w/v aqueous polysorbate 80	1000 2000	5M, 5F	M: 1000 F: 1000	M: >1000 ~ <2000 F: >1000 ~ <2000	2000 mg/kg: Two females died approximately 5 hours after dosing; all remaining animals were killed on Day 4. Signs including piloerection, hunched posture, and distended abdomen were recorded for all surviving female rats on Day 1. No toxicity was seen for male rats on Days 1 and 2. Subsequent observations included thin appearance, loss of skin tone, tip toe gait, distended abdomen, eyes partly closed, hunched posture, subdued behaviour, piloerection, urine staining, and deposits on the nose. Histopathological findings included hepatocyte vacuolation, fat deposition and necrosis in the liver, ulceration in the stomach, mucosal single cell necrosis and erosion in the duodenum, and macrophage vacuolation in the spleen. 1000 mg/kg: No observations or histopathological findings	TLR2935

Species/ strain	Method of administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Dog	Oral (gavage) 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and 0.1% w/v aqueous polysorbate 80	MTD phase: 25, 50 and 100 (3 days) Sub-acute phase: 5, 25 and 40 (14 days)	1M, 1F	>100	Not established	MTD phase: 100 mg/kg/day was not tolerated resulting in vomiting, loose faeces, inappetance and body weight loss. Sub-acute phase: 40 mg/kg/day resulted in inappetance, loose faeces and body weight loss. Histopathological changes were seen in the small and large intestines (mucosal erosions and atrophy). 25 mg/kg/day resulted in loose faeces and a minor (less than 5%) reduction in body weight. No effects were seen at 5 mg/kg/day.	TAD1041

M: Male, F: Female, MTD: maximum tolerated daily dose

6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	NOAEL[a] (mg/kg/ day)	Noteworthy findings	Testing facility	Study number
Rat Alpk: AP_fSD Wistar derived	Intravenous 15% w/v hydroxypropyl-β-cyclodextrin, 1.6% w/v mannitol (pH adjusted to 7) in water	Up to 10 days	0, 10, 25 and 50	5M, 5F	10	50 mg/kg/day: not tolerated, group terminated early due to deaths on Day 1. 25 mg/kg/day: tolerated in the majority of animals (1 male found dead Day 1). Evidence of toxicity included, adverse clinical signs (altered respiration and decreased activity), reductions in body weight and food consumption and minor changes in clinical pathology parameters. Histopathology findings were seen in the lungs (increased severity of pulmonary foamy alveolar macrophages) and spleen (macrophages with foamy vacuolated cytoplasm). Focal dysplasia of the epiphyseal growth plate in 1 male was attributed to the pharmacology of vandetanib. 10 mg/kg/day: well tolerated. Histopathology findings were seen in the spleen (foamy macrophages). Other histopathological findings including the presence of foamy alveolar macrophages in the lungs of other treatment groups, including controls, were considered likely to be related to administration of the dose vehicle.	Astra Zeneca UK	0567AR

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	NOAEL[a] (mg/kg/ day)	Noteworthy findings	Testing facility	Study number
Rat Alpk: AP_fSD Wistar derived	Intravenous 15% w/v hydroxypropyl-β-cyclodextrin, 1.6% w/v mannitol (pH adjusted to 7) in water	14 days	0, 2.5, 10 and 17.5[b]	10M, 10F	2.5	Dose levels up to 17.5 mg/kg/day were generally well tolerated (1 male at 17.5 mg/kg/day died on Day 1). Evidence of toxicity included, adverse clinical signs (altered respiration, decreased activity), reduced body weight gain and food consumption and changes in haematological parameters at 10 and 17.5 mg/kg/day. At 17.5 mg/kg/day, there was mild hepatotoxicity and changes in the lungs (increased severity of foamy alveolar macrophages together with an increase in lung weights). At 17.5 and 10 mg/kg/day, there were histopathological findings in the spleen (foamy macrophages). At 2.5 mg/kg/day, there was a minor increase in haematocrit in males. Effects due to the pharmacological action of vandetanib were seen on the ovaries (decreased weight) at 10 and 17.5 mg/kg/day. At 10 mg/kg/day, the severity of the finding of mild foamy alveolar macrophages in the lungs was similar to controls and is attributed to the use of cyclodextrin as a vehicle (and the increase in lung weights at this dose level). Changes in the kidney were also seen across all groups and were attributed to the vehicle.	Astra Zeneca UK	0266AR

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	NOAEL[a] (mg/kg/ day)	Noteworthy findings	Testing facility	Study number
Dog AP beagle	Intravenous 15% w/v hydroxypropyl-β-cyclodextrin, 1.6% w/v mannitol (pH adjusted to 7) in water	10 days	4.75, 9.5 and 19	1M, 1F	9.5	Administration of 19 mg/kg/day resulted in clinical signs including, subdued behaviour, hunched posture, trembling and emesis. At 19 mg/kg/day food consumption and body weight were reduced. Minor histopathological changes were seen at the injection sites and were considered to be related to the injection procedure. Mild to moderate cortical tubular vacuolation was seen in the kidneys of all animals dosed at 9.5 or 19 mg/kg/day and was considered to related to administration of the vehicle. In the absence of concurrent controls, the foamy alveolar macrophages observed in the lungs of animals at all dose levels were of uncertain relationship to treatment, and may also be associated with administration of the vehicle.	Astra Zeneca UK	0142AD

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	NOAEL[a] (mg/kg/ day)	Noteworthy findings	Testing facility	Study number
Dog AP beagle	Intravenous 15% w/v hydroxypropyl-β-cyclodextrin, 1.6% w/v mannitol (pH adjusted to 7) in water	14 days	0, 2.5, 7 and 16.5	3M, 3F	Not established	Administration of 16.5 mg/kg/day resulted reductions in food consumption and body weight, and an increase in blood pressure (16% during Week 1). Administration of 2.5 or 7 mg/kg/day was tolerated systemically. Adverse local reactions were seen at the injection sites of all groups and were considered to be related to the injection procedure. Histopathology findings observed at all dose levels (including controls) and attributed to administration of the vehicle and/or the dosing procedure were present in the kidneys (cortical tubular cytoplasmic vacuolation), lungs (intra-alveolar foamy macrophages) and lymph nodes (follicular lymphocytolysis or foamy macrophages). There was an increased severity of intra-alveolar macrophages in the lungs of animals dosed at 7 or 16.5 mg/kg/day and mild to moderate focal alveolitis in the lungs of 2/3 female dogs at 16.5 mg/kg/day. There was an increased severity of mesenteric lymph node sinusoidal macrophages for animals given 16.5 mg/kg/day.	Astra Zeneca UK	0143AD

[a] No Observed Adverse Effect Level.

[b] On day 1 (Study number: 0266AR), 4 males received a high dose level of 25 mg/kg/day. However, 3 out of the 4 died immediately after dosing and therefore the dose level was reduced to 17.5 mg/kg/day for the remainder of the study.

M: Male F: Female

7 反復投与毒性試験：重要な試験

7.1 ラット１カ月間反復経口投与毒性試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Species/strain: Rat
Alpk:AP$_f$SD Wistar derived

Duration of dosing: up to 29 days

Study number: TAR2937

Initial age: 41 to 47 days old

Duration of postdose: 31 days

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 19[redacted]

Method of administration: Oral gavage

Vehicle/formulation: Suspension in 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and 0.1% w/v aqueous polysorbate 80

Special features: None

No observed adverse-effect level: 5 mg/kg/day

Conclusion: The administration of 75 mg/kg/day vandetanib was associated with severe adverse clinical signs and significant reductions in body weight and food consumption, which required animals to be killed for humane reasons (killed on Days 25 to 26). Pathological changes were seen in bone, teeth, kidney, skin and ovary. In addition, vandetanib induced hepatobiliary toxicity and phospholipidosis (cells with a foamy vacuolated cytoplasm) in a wide variety of tissues (including lungs, liver, lymph nodes and spleen). The majority of these changes had not reversed following completion of a 31 day withdrawal period. However, dysplasia of the epiphyseal growth plates of the femorotibial joint showed complete recovery, as did the compound-related reduction in corpora lutea.
Administration of 25 mg/kg/day vandetanib was associated with some adverse clinical signs, slight effects on body weight gain and food consumption, clinical chemistry changes indicative of altered liver function and induction of phospholipidosis in selected tissues (including lungs, lymph nodes and spleen).
Small changes in haematology or clinical chemistry parameters in animals dosed at 5 mg/kg/day, in the absence of any adverse clinical changes or histopathological findings, were considered to be of minor toxicological significance.

Daily dose (mg/kg/day)	0		5		25		75	
Number of animals:								
Main	M 10	F 10	M 10	F 10	M 10	F 10	M 10	F 10
Recovery	M 10	F 10	M 0	F 0	M 0	F 0	M 10	F 10
Toxicokinetics[a]:								
AUC $_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL) Day 1			1167	1942				
AUC $_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL) Day 28			NC	NC	17910	27460	32318	36578
C_{max} (ng/mL) Day 1			70.4	124				
C_{max} (ng/mL) Day 28			NR	NR	946	1480	1751	1955
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund[$]	0/24	0/24	0/32	0/32	0/23	0/23	4/33	5/33
Body Weight (g) (%[b])	392	249	-1.0	-2.8	-5.9	-3.6	-34.2***	-24.5***
Food Consumption (g/animal/day) (%[b])	31.4	22.4	-3.5	-4.9	-10.5	-8.0	-57.0	-56.2
Water Consumption (g/animal/day) (Day 15-22)	32.1	26.7	+5.3	-0.7	-0.6	+18.7	-20.9	-25.5
Clinical Observations[d]	-	-	-	-	+	+	++	++
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology								
Haemoglobin (g/dL)	14.6	14.2	14.8	14.9*	16.0***	15.7***	18.8***	17.7***
Red blood cell count (x10*12/L)	7.8	7.4	8.2*	7.8*	8.4***	8.0***	9.9***	9.8***
Haematocrit (l/L)	0.44	0.42	0.45	0.44*	0.47**	0.46***	0.55***	0.53***
Reticulocyte (%)	2.86	3.18	2.94	3.28	2.40*	3.21	1.35***	1.13***
Platelet count (x10*9/L)	840	809	816	836	832	829	1078**	1087*
White blood cell count (x10*9/L)	6.6	6.4	8.0*	6.5	9.6***	9.0**	10.9***	9.0***
Plasma Chemistry								
ALT (IU/L)	42	36	58***	42	87***	84***	82***	98***
AST (IU/L)	81	84	87*	84	104***	105***	97***	123***
ALP (IU/L)	308	212	362#	238	378	244#	168	198
GLDH (u/L)	7	8	12	7	10	6	12	13*
Triglycerides (mmol/L)	1.10	0.74	1.26	0.80	1.20	0.58	0.86*	0.59
Total calcium (mmol/L)	3.05	2.94	2.92	2.94	3.02	2.88	2.72**	2.74***
Total protein (g/L)	60	58	58	57	58*	57	52***	50***
Albumin (g/L)	30	30	30	30	29	30	26***	25***
Albumin/globulin ratio	1.02	1.13	1.06	1.11	1.00	1.04*	0.96	1.00**
Sodium (mmol/L)	144	144	143	144	144	142	140**	139**
Chloride (mmol/L)	102	104	103	104	102	103*	100	100***
Inorganic phosphate (mmol/L)	2.76	2.56	3.08	2.80	2.77	2.64	2.26	1.78*

Daily dose (mg/kg/day)	0		5		25		75	
Number of animals: Main Recovery	M 10 M 10	F 10 F 10	M 10 M 0	F 10 F 0	M 10 M 0	F 10 F 0	M 10 M 10	F 10 F 10
Urinalysis								
Volume (mL)	15.0	13.0	15.5	14.5	12.0	8.5	3.0***	4.0***
Specific gravity	1.020	1.019	1.021	1.012	1.024	1.028	1.044***	1.038***
Protein						I	I	I
Potassium (mmol/L)	101.4	86.8	101.4	50.6	118.5	147.2	206.2***	202.4***
Sodium (mmol/L)	43.8	28.4	38.4	24.1	46.4	35.8	30.4*	72.6***
Creatinine (μmol/L)	4170	3455	4545	2465	5360	6005	11990 ***	9010***
Hepatic Cytochrome P450 activity								
Cytochrome P450 1A activity						D**		D**
Cytochrome P450 2B activity								D**
Organ Weights (g) (%[c])								
Adrenal gland	0.016	0.036	0	-2.8	+6.3	+8.3	+56.3***	+8.3
kidney	0.72	0.81	+6.9	0	+1.4	+6.2**	+16.7**	+8.6***
Liver	4.7	4.4	0	-6.8	-6.4**	-11.4**	-21.3***	-13.6***
Lung	0.415	0.508	-2.4	-3.9	+14.5**	+9.6	+104.3***	+91.1***
Ovary		0.050		-12.0		-12.0		-38.0***
Spleen	0.23	0.27	+8.7	0	-4.3	+7.4	+4.3	+18.5**
Thymus	0.142	0.218	+6.3	+1.8	+3.5	-6.4	-16.9*	-33.9***
Uterus		0.16		-6.2		+6.3		-43.7*
Gross Pathology								
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	9
Bile duct – dilatation/distension	0	0	0	0	0	0	0	2
Liver – pale	0	0	0	0	0	0	6	7
Lungs – spongy texture	0	0	0	0	2	0	10	8
Lungs – enlarged	0	0	0	0	0	0	2	1
Lymph nodes – enlarged	0	0	0	0	0	0	5	6
Ovaries – pale		0		0		0		3
Ovaries – small		0		0		0		3
Skin – scabs/deposits muzzle region	0	0	0	0	6	6	9	8
Spleen – pale	0	0	0	0	0	0	2	5
Uterus – thin		0		0		0		3

Daily dose (mg/kg/day)	0		5		25		75	
Number of animals:								
Main	M 10	F 10	M 10	F 10	M 10	F 10	M 10	F 10
Recovery	M 10	F 10	M 0	F 0	M 0	F 0	M 10	F 10
Histopathology								
Number examined (unless specified)	10	10	10	10	10	10	10	9
Adrenal gland:								
Cortical vacuolation	0	0	0	0	0	0	8	9
Cortical haemorrhage	0	0	0	0	0	1	3	1
Bile duct:								
Acute cholangitis								2/2
Femur:								
Epiphyseal growth plate dysplasia	0	0	0	0	10	10	10	9
Kidneys:								
Papillary necrosis	0	0	0	0	1	1	5	4
Cortical tubular vacuolation	0	0	0	0	0	0	8	7
Liver:								
Reduced hepatocyte glycogen vacuolation	0	0	0	0	0	0	6	2
Centrilobular hepatocyte vacuolation	0	0	0	0	0	0	1	0
Foamy macrophages	0	0	0	0	0	0	2	2
Lungs:								
Foamy alveolar macrophages	0	0	0	0	10	10	10	9
Lymph nodes:								
Foamy macrophages	0	0	0	0	9	10	10	9
Ovaries:								
Reduced corpora lutea		0		0		0		9
Pancreas:								
Acinar epithelial apoptosis	0	0	0	0	0	0	10	9
Skin, muzzle:								
Epidermal microabscesses	0	0	0	0	5	5	6	5
Acute folliculitis	0	0	0	0	2	5	4	6
Spleen:								
Foamy macrophages	0	0	0	0	6	10	10	9
Thymus:								
Atrophy	0	0	0	0	0	0	0	1
Thyroid gland								
Follicular epithelial atrophy	0	0	0	0	0	0	7	6/8
Trachea:								
Foamy macrophages	0	0	0	0	0	0	4	2
Uterus:								
Atrophy		0		0		0		8
Vagina:								
Epithelial atrophy		0		0		0		9

Daily dose (mg/kg/day)	0		5		25		75	
Number of animals: Main Recovery	M 10 M 10	F 10 F 10	M 10 M 0	F 10 F 0	M 10 M 0	F 10 F 0	M 10 M 10	F 10 F 10
Electron microscopy	-		NR		NR		Formation of abundant myelinic whorls histologically in the kidney, liver, lung, mesenteric lymph node and spleen	
Postdose Evaluation: **Number Evaluated**	M 10	F 10					M 10	F 10
Noteworthy Findings								
Body Weight (g) (%[b])	504	282					-34.1***	-9.2*
Food Consumption (g/animal/day) (%[b])	29.6	22.5					-47.0	-68.4
Water Consumption (g/animal/day) (Day 43-50)	34.0	34.1					-64.4	-66.0
Clinical Observations[e]	-	-					+	+
Haematology								
Haemoglobin (g/dL)	14.5	15.0					15.4**	16.1**
Red cell count (x10*12/L)	8.2	7.8					8.4	8.2*
Haematocrit (l/L)	0.43	0.44					0.47**	0.48***
Reticulocyte (%)	2.92	2.37					3.47*	3.24*
Platelet count (x10*9/L)	878	818					999	972*
White blood cell count (x10*9/L)	7.8	6.0					9.6**	10.8***
Plasma Chemistry								
ALT (IU/L)	44	37					45	58**
Triglycerides (mmol/L)	2.06	0.66					0.76***	0.60
Albumin (g/L)	30	32					28*	29***
Albumin/globulin ratio	0.96	1.05					0.91	0.84***
Inorganic phosphate (mmol/L)	2.34	2.03					2.70**	2.62**
Potassium (mmol/L)	4.8	4.5					4.8	5.2*
Urinalysis								
Potassium (mmol/L)	62.0	41.0					110.9	115.4*
Sodium (mmol/L)	11.2	20.1					82.5**	55.2*
Creatinine (μmol/sample)	86.50	52.22					63.96***	59.35

Daily dose (mg/kg/day)	0		5		25		75	
Number of animals:								
Main	M 10	F 10	M 10	F 10	M 10	F 10	M 10	F 10
Recovery	M 10	F 10	M 0	F 0	M 0	F 0	M 10	F 10
Organ Weights (g) (%[c])								
Kidney	0.67	0.79					+9.0**	+3.8
Liver	4.0	4.1					-10.0	-4.9
Lung	0.396	0.484					+18.7*	+29.3***
Ovary		0.044						-15.9**
Spleen	0.21	0.26					+33.3***	+30.8***
Thymus	0.114	0.167					+29.8*	+26.9*
Gross Pathology								
Number examined	10	10					8	8
Incisor teeth abnormalities	0	0					8	8
Histopathology								
Number examined (unless specified)	10	10					8	8
Adrenal gland:								
Cortical vacuolation	0	0					4	4
Bile duct:								
Luminal dilatation								1/1
Kidneys:								
Papillary necrosis	0	0					2	2
Liver:								
Acute necrosis	0	0					0	1
Foamy macrophages	0	0					1	5
Lungs:								
Foamy alveolar macrophages	0	0					7	8
Lymph nodes:								
Foamy macrophages	0	0					7	7
Oral cavity:								
Incisor teeth dysplasia	0	0					8	8
Skin, muzzle:								
Epidermal microabscesses	0	0					0	2
Acute folliculitis	0	0					3	4
Spleen:								
Foamy macrophages	0	0					5	7

- = No noteworthy findings; + = Mild; ++ = Moderate; +++ = Marked
*= p<0.05;** = p<0.01; *** = p<0.001 (trend tests), # = p<0.01 (pairwise comparison).

[$] A total of 9 animals dosed at 75 mg/kg/day died or were killed for humane reasons during the study following adverse clinical signs, inappetence and/or loss of body weight.

[a] Additional animals were used for the toxicokinetic assessment.

[b] At end of dosing period or recovery period. 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).

[c] Due to the decreases in body weight only differences in relative group median organ weights are presented. Number indicates percent difference from controls.

[d] At 75 mg/kg/day, adverse clinical signs included deposits on nose, loose faeces, hunched posture, limb/foot swollen, piloerection, scabs on mouth/muzzle, scaly tail, subdued, thin, loss of skin tone, urine staining and/or stains around muzzle. At 25 mg/kg/day clinical signs included deposits on nose and loose faeces.

[e] From Day 36 several animals dosed at 75 mg/kg/day had teeth abnormalities including missing or broken incisors.

I: Increased, D:Decreased, NC: Not calculated, NR: No result, M: Male, F: Female
Numerical data were analysed using the Jonckheere-Terpstra non-parametric trend test.

7.2 ラット 6 カ月間反復経口投与毒性試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Species/strain: Rat
Alpk:AP$_f$SD Wistar derived

Duration of dosing: 26 weeks

Study number: TPR2939

Initial age: 39 to 41 days old

Duration of postdose: 13 weeks

GLP compliance: Yes

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

Method of administration: Oral gavage

Vehicle/formulation: Suspension in 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and 0.1% w/v aqueous polysorbate 80

Special features: High dose group animals were originally dosed at 20 mg/kg/day, however, following adverse reactions the dose level was reduced to 10 mg/kg/day from day 2 of week 13.

No observed adverse-effect level: 1 mg/kg/day

Conclusion:
The administration of 20 mg/kg/day vandetanib was associated with severe adverse clinical signs and significant reductions in body weight and food consumption, which required several animals to be killed for humane reasons. The high dose level was then reduced to 10 mg/kg/day from week 13 and this dose level was tolerated for the remainder of the study.
The cause of death of several decedent rats dosed at 20 mg/kg/day was acute cholangitis and/or pancreatitis. Compound-related histopathological changes were found in the mesenteric lymph node, kidneys, lungs, teeth and skin of high dose group animals. Most of these changes showed evidence of reversibility on completion of a 13 week withdrawal period.
Administration of 5 mg/kg/day vandetanib was well tolerated, with similar but less severe compound-related pathological changes in the lungs, mesenteric lymph nodes and skin.
Small changes in haematology and clinical chemistry parameters in animals dosed at 1 mg/kg/day, in the absence of any adverse clinical changes or associated histopathological findings, were considered to be of minor toxicological significance.

Daily dose (mg/kg/day)	0		1		5		20/10	
Number of animals:								
Main	M 20	F 20	M 20	F 20	M 20	F 20	M 20	F 20
Recovery	M 10	F 10	M 0	F 0	M 0	F 0	M 10	F 10
Toxicokinetics:								
AUC $_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL) Day 1			NR		1338		NR	
AUC $_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL) Week 26			799		4257		8114	
C_{max} (ng/mL) Day 1			NR		71.2		NR	
C_{max} (ng/mL) Week 26			39.6		225		427	
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund[#]	1/30	1/30	5/20	0/20	0/20	1/20	2/30	8/30
Body Weight (g) (%[a]**)**	669	339	-1.2	-1.2	-5.5*	-4.4	-12.7***	-5.6*
Food Consumption (g/animal/day) (%[a]**)**	30.5	21.1	+4.3	+0.9	-3.3	+0.9	-13.8**	-14.2**
Clinical Observations[b]	-	-	-	-	+	+	++	++
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology (Week 26)								
Haemoglobin (g/dL)	15.4	15.2	15.8***	15.2	16.2***	15.8*	16.7***	16.3***
Red blood cell count (x10*12/L)	9.0	8.2	9.2	8.3	9.3	8.4*	9.8***	8.8***
Haematocrit (l/L)	0.43	0.42	0.43	0.43	0.44*	0.45	0.47***	0.46***
Neutrophil count (x10*9/L)	2.74	0.95	1.79	1.02	2.86	1.50**	2.46	2.35***
Monocyte count (x10*9/L)	0.28	0.08	0.19	0.10	0.28	0.14	0.32	0.16
White blood cell count (x10*9/L)	9.3	3.4	8.2	4.4	9.8	5.4**	9.8	6.2***
Plasma Chemistry (Week 26)								
ALT (IU/L)	70	60	81	96*	107**	109**	120***	156***
AST (IU/L)	109	98	115	175*	132	194***	141**	238***
Creatinine (μmol /L)	57	58	59*	60	61*	64**	62**	65***
Total protein (g/L)	74	74	73	76	71*	77	70***	72
Cholesterol (mmol/L)	3.7	3.2	3.8	3.3	3.2**	3.5	3.2***	3.3
Urinalysis (Week 25)								
Protein							I	
Organ Weights (g)	-	-	-	-	-	-	-	-

Daily dose (mg/kg/day)	0		1		5		20/10	
Number of animals: Main Recovery	M 20 M 10	F 20 F 10	M 20 M 0	F 20 F 0	M 20 M 0	F 20 F 0	M 20 M 10	F 20 F 10
Gross Pathology								
Number examined	20	20	20	20	20	20	20	20
Bile duct – mass/nodule	0	0	0	0	0	0	0	2
Intestine – mass/nodule	0	0	0	0	0	0	0	1
Lungs – irregular cream surface	0	0	0	0	0	0	1	1
Lymph node (mesenteric) – mass/nodule	0	0	0	0	1	0	13	5
Lymph node (mesenteric) – discolouration	0	0	0	0	9	1	7	11
Lymph node (mesenteric) – enlarged	0	0	0	0	1	0	4	7
Oral cavity – discolouration	0	0	0	0	0	0	0	1
Oral cavity – mis-shapen	0	0	0	0	0	0	0	1
Pancreas – mass/nodules	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology								
Number examined (unless specified)	20	20	20	20	20	20	20	20
Adrenal gland:								
Cortical necrosis	0	0	0	0	0	0	0	1
Cortical haemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	3
Bile duct:								
Cholangitis								4/4
Kidneys:								
Cortical epithelium brown pigmentation	0	18	0	20	0	19	0	19
Cortical tubular basophilia	2	2	4	1	4	3	14	0
Lungs:								
Foamy alveolar macrophages	1	3	3	1	7	10	13	18
Lymph nodes (mesenteric):								
Sinusoidal haemorrhagic cystic degeneration	0	0	0	0	5	0	19	11
Pancreas:								
Pancreatitis	1	2	1	1	1	1	4	6
Skin:								
Folliculitis	0	2	1	1	5	2	3	9
Teeth:								
Dental dysplasia	0	0	0	0	0	0	0	2
Sperm function	-	-	-	-	-	-	-	-

Daily dose (mg/kg/day)	0		1		5		20/10	
Number of animals: Main Recovery	 M 20 M 10	 F 20 F 10	 M 20 M 0	 F 20 F 0	 M 20 M 0	 F 20 F 0	 M 20 M 10	 F 20 F 10
Postdose Evaluation: **Number Evaluated**	 M 10	 F 10					 M 10	 F 10
Noteworthy Findings **Body Weight (g) (%[a])** **Food Consumption (g/animal/day) (%[a])** **Clinical Observations[b]**	 752 33.2 -	 358 20.7 -					 -13.3** -14.2 +	 -1.7 +15.5 +
Haematology (Week 38) Neutrophil count (x10*9/L) Monocyte count (x10*9/L) White blood cell count (x10*9/L)	 2.18 0.18 7.5	 0.96 0.06 3.5					 1.93 0.14 5.8	 1.96** 0.16 4.8*
Plasma Chemistry (Week 38) ALT (IU/L) AST (IU/L) Total protein (g/L)	 70 100 73	 55 114 74					 98 142** 71**	 106** 257 73
Gross Pathology Number examined Lymph node (mesenteric) – mass/nodule Lymph node (mesenteric) – discolouration Lymph node (mesenteric) – enlarged	 10 0 0 0	 10 0 0 0					 10 1 6 3	 10 0 5 2

Daily dose (mg/kg/day)	0		1		5		20/10	
Number of animals: Main Recovery	M 20 M 10	F 20 F 10	M 20 M 0	F 20 F 0	M 20 M 0	F 20 F 0	M 20 M 10	F 20 F 10
Histopathology								
Number examined	10	10					10	10
Adrenal gland:								
Cortical necrosis	0	0					0	2
Cortical haemorrhage	0	2					0	1
Kidneys:								
Cortical epithelium brown pigmentation	0	10					0	7
Cortical tubular basophilia	3	1					1	2
Lungs:								
Foamy alveolar macrophages	2	2					3	4
Lymph nodes (mesenteric):								
Sinusoidal haemorrhagic cystic degeneration	0	0					7	3
Pancreas:								
Pancreatitis	1	0					1	2
Skin:								
Folliculitis	1	1					1	1
Teeth:								
Dental dysplasia	0	0					0	2

- = No noteworthy findings; + = Mild; ++ = Moderate; +++ = Marked
* = $p<0.05$;** = $p<0.01$; *** = $p<0.001$ (trend tests)

[#] A total of eight animals dosed at 20/10 mg/kg/day died or were killed for humane reasons during the dosing period. One female dosed at 20 mg/kg/day was killed for humane reasons in Week 2 due to a head wound which was unrelated to administration of vandetanib. Five females dosed at 20 mg/kg/day died or were killed during Weeks 10 to 14, following adverse signs and/or marked body weight loss, and the dose level was reduced to 10 mg/kg/day in Week 13. For four of these animals, severe acute cholangitis and/or pancreatitis were considered to be the likely cause of death. After reduction of the high dose to 10 mg/kg/day, one male was found dead (showing evidence of accidental misdosing) and one female was killed for humane reasons. The early deaths of two withdrawal group animals were considered to be unrelated to administration of vandetanib. During the withdrawal phase, one female which had previously been dosed at 20/10 mg/kg/day was killed for humane reasons in Week 33 and uterine luminal haemorrhage and necrosis was found. One male which had been dosed at 20/10 mg/kg/day was also killed for humane reasons in Week 38. A large abscess adjacent to the lungs was seen in this animal and considered likely to be the result of accidental misdosing in the latter part of the dosing period. During the dosing period, a total of two control animals, five males dosed at 1 mg/kg/day and one female dosed at 5 mg/kg/day died or were killed for humane reasons. These deaths were considered to be unrelated to administration of vandetanib. For six of these animals, pathological changes in the lungs, oesophagus and/or thoracic cavity were consistent with accidental misdosing. The cause of death of one control male and one male dosed with 1 mg/kg/day was not established.

[a] At end of dosing period or recovery period. 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)

[b] For surviving animals, teeth abnormalities (incisors loose, cracked, broken, missing and/or discoloured) were seen for 10 males and 13 females dosed at 20/10 mg/kg/day from Weeks 8 to 22. Masses were seen in the lower abdomen of 1 male at 5 mg/kg/day in Week 24, and of 7 males and 1 female dosed at 20/10 mg/kg/day from Weeks 13 to 40.

I: Increased, NR: No result, M: Male, F: Female

Numerical data were analysed using the Jonckheere-Terpstra non-parametric trend test.

7.3 イヌ１カ月間反復経口投与毒性試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Species/strain: AP Beagle Dog

Duration of dosing: up to 4 weeks

Study number: TAD1042

Initial age: 6 to 9 months

Duration of postdose: 4 weeks

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 19[redacted]

Method of administration: Oral gavage

Vehicle/formulation: Suspension in 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and 0.1% w/v aqueous polysorbate 80

Special features: The top dose level was not tolerated and animals in this group were not dosed from Day 15. Three dogs per sex in the control and top dose underwent a 4 week withdrawal period from Day 15 and the remaining animals in the top dose group were killed on Day 15.

No observed adverse-effect level: 15 mg/kg/day

Conclusion:
Systemic exposure was demonstrated at 5 and 15 mg/kg (no blood samples were obtained from the 40 mg/kg/day group) with similar plasma concentrations in both sexes. Administration of vandetanib at 40 mg/kg/day was not tolerated. Two female dogs given 40 mg/kg/day were killed on Days 11 and 13 and 1 female and 3 male dogs given this dose were killed on Day 15. These animals displayed poor general condition, moderate losses in appetite and a moderate or excessive reduction in body weight. Clinical observations included vomiting, thin appearance, loss of skin tone and subdued behaviour on Days 8 to 15 at 40 mg/kg/day only. Histopathological examination revealed femoral epiphyseal growth plate dysplasia in 2/6 animals at 40 mg/kg/day. This finding was attributed to the pharmacological effects of vandetanib on angiogenesis. Changes seen after 2 weeks administration of 40 mg/kg/day were rapidly reversed and no effects were seen after a 4 week withdrawal period.
Only minor effects were seen at 15 mg/kg/day (loose faeces, slightly decreased total protein and albumin and an increase in thyroid weight with no histopathological correlates). The no-effect dose was 5 mg/kg/day.

Daily dose (mg/kg/day)	0		5		15		40	
Number of animals: Main Recovery	M 3 M 3	F 3 F 3	M 3 M 0	F 3 F 0	M 3 M 0	F 3 F 0	M 3 M 3	F 3 F 3
Toxicokinetics: AUC $_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL) Day 1 AUC $_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL) Day 29 C_{max} (ng/mL) Day 1 C_{max} (ng/mL) Day 29			 598 678 45.1 54.3		 NS 2380 NS 156		 NS NS NS NS	
Noteworthy Findings								
Killed for humane reasons[#]	0/6	0/6	0/3	0/3	0/3	0/3	3/6	3/6
Body Weight (kg)[a]	10.2	8.9	10.0	8.5	8.9	8.0	9.5	7.6
Cumulative Body Weight Gain (kg)[a]	0.4	0.4	0.4	0.1	0.1	0.2	-0.2	-0.4
Food Consumption (g/animal/day)[a]	350	311	350	350	350	306	0S	49S
Clinical Observations[b]	-	-	-	-	+	+	++	++
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Physiological measurements (ECG, blood pressure and rectal temperature)	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Plasma Chemistry								
Albumin (g/L)	30	30	29	30	27	28	NS	NS
Total protein (g/L)	55	53	54	55	50	50	NS	NS
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%[c]**)**								
Relative Thyroid weight	0.007	0.009	+14.3	0	+42.9	+22.2	NR	NR
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-

Daily dose (mg/kg/day)	0		5		15		40	
Number of animals: Main Recovery	M 3 M 3	F 3 F 3	M 3 M 0	F 3 F 0	M 3 M 0	F 3 F 0	M 3 M 3	F 3 F 3
Histopathology								
Number examined (unless specified)	3	3	3	3	3	3	3	3
Bone and Marrow - Femur:								
Epiphyseal growth plate dysplasia	0	0	0	0	0	0	1	1
Liver:								
Reduced glycogenation	0	0	0	0	0	0	1	2
Lymph Node - Bronchial:								
Lymphocytolysis	0	0	0	0	0	0	0	3
Lymph Node - Cervical:								
Lymphocytolysis	0	0	0	0	0	0	3	3
Lymph Node - Mesenteric:								
Lymphocytolysis	0	0	0	0	0	0	0	2
Pancreas:								
Reduced zymogen granules	0	0	0	0	0	0	2	3
Spleen:								
Multifocal white pulp vacuolation	0	0	0	0	0	0	0	2
Thymus:								
Involution	0	0	0	0	0	0	1	2

= No noteworthy findings; + = Mild; ++ = Moderate; +++ = Marked

[#] Six animals were killed prematurely for humane reasons during the second week of dosing with 40 mg/kg/day because of poor general condition, loss of appetite and reduction in body weight

[a] Group median values at the end of dosing period. No statistical analysis performed.

[b] Loose/abnormal faeces were seen at 15 mg/kg/day on Days 8 to 30 and at 40 mg/kg/day on Days 2 to 17. Further salient observations included vomiting, thin appearance, loss of skin tone and subdued behaviour on Days 8 to 15 at 40 mg/kg/day.

[c] For controls, group medians are shown, for treated groups, percent differences from controls are shown. No statistical analysis performed.

NR: No result, NS: No samples taken, S: Supplementary food given, M: Male, F: Female

Numerical data presented in the report were analysed where appropriate using the Jonckheere-Terpstra non-parametric trend test.

7.4 イヌ９カ月間反復経口投与毒性試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Species/strain: AP Beagle Dog

Duration of dosing: 40 weeks

Study number: TPD1043

Initial age: 10 to 15 months

Duration of postdose: 13 weeks

GLP compliance: Yes

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

Method of administration: Oral gavage

Vehicle/formulation: Suspension in 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) and 0.1% w/v aqueous polysorbate 80

Special features: The top dose level was reduced to 15 mg/kg/day during week 17 for the main test animals and during week 18 for withdrawal animals due to adverse clinical findings and adverse effects on body weights.

No observed adverse-effect level: 5 mg/kg/day

Conclusion:
Systemic exposure to vandetanib was demonstrated at all dose levels of vandetanib with no consistent gender differences in exposure. Daily oral administration of vandetanib to dogs at a dose level of 20 mg/kg/day resulted in a high incidence of abnormal faeces, adverse effects on body weight, reduced food consumption (individual animals) and minor changes in clinical pathology. Following reduction of the dose level to 15 mg/kg/day in week 17/18 animals continued to show abnormal faeces, but did show some recovery in body weight. Despite dosing at the maximum possible dose level based on the condition of the animals during the live phase of the study, there were no compound-related histopathology findings at the end of the dosing period. During the withdrawal period there was rapid recovery in the incidence of abnormal faeces and animals showed body weight gain. All clinical pathology changes, except a reduction in total calcium in females, showed reversal during the withdrawal period. The no effect dose level in this study was 1 mg/kg/day.

Daily dose (mg/kg/day)	0		1		5		20/15	
Number of animals:								
Main	M 4	F 4	M 4	F 4	M 4	F 4	M 4	F 4
Recovery	M 3	F 3	M 0	F 0	M 0	F 0	M 3	F 3
Toxicokinetics:								
AUC $_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL) Day 1			NS		837		NS	
AUC $_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL) Month 6			NS		1280		NS	
AUC $_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL) Month 9			218		1035		2273	
C_{max} (ng/mL) Day 1			NS		52.8		NS	
C_{max} (ng/mL) Month 6			NS		77.7		NS	
C_{max} (ng/mL) Month 9			11.7		61.4		160	
Noteworthy Findings								
Killed for humane reasons	0/7	0/7	0/4	1/4[a]	0/4	0/4	0/7	0/7
Body Weight (kg)[b]	12.1	10.2	12.6	9.5	11.9	9.3	11.4	9.6
Cumulative Body Weight Gain (kg)[b]	1.1	1.0	1.0	1.0	0.6	0.7	0.5**	0.2***
Food Consumption (g/animal/day)[b]	350	251	336	252	300	242	336	272
Clinical Observations[c]	-	-	-	-	-	-	+	+
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Physiological measurements (ECG, blood pressure and rectal temperature)	-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology								
Platelet count (x10*9/L): Week 13	303	376	277	409	306	454	425*	525*
Platelet count (x10*9/L): Week 40	322	355	260	394	305	440	423	396
Plasma Chemistry (Week 40)								
Albumin (g/L)	30	32	30	32	30	30	28*	26***
Total protein (g/L)	56	58	58	60	60	56	53	49**
Total calcium (mmol/L)	2.48	2.53	2.46	2.50	2.50	2.48	2.51	2.38**
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (g)	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-

Daily dose (mg/kg/day)	0		1		5		20/15	
Number of animals: Main Recovery	 M 4 M 3	 F 4 F 3	 M 4 M 0	 F 4 F 0	 M 4 M 0	 F 4 F 0	 M 4 M 3	 F 4 F 3
Postdose Evaluation: **Number Evaluated**	 M 3	 F 3					 M 3	 F 3
Noteworthy Findings **Plasma Chemistry** Total calcium (mmol/L)	 2.43	 2.41					 2.40	 2.37

- = No noteworthy findings; + = Mild; ++ = Moderate; +++ = Marked
* = p<0.05;** = p<0.01; *** = p<0.001 (trend tests)
[a] One female dosed at 1 mg/kg/day sustained bite injuries and was terminated for humane reasons in Week 40.
[b] Group median values at the end of dosing period.
[c] At 20/15 mg/kg/day, abnormal faeces (loose/liquid faeces) were seen from Week 2 onwards for males, and generally from Week 10 onwards for females.
NS: No samples taken. M: Male, F: Female
Numerical data were analysed where appropriate using the Jonckheere-Terpstra non-parametric trend test.

8 *In vitro* 遺伝毒性試験

8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Test for induction of: reverse mutation in bacterial cells

No of independent assays: 3

Study number: TMV777

Strains: *S. typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98 and TA100) and *E. coli* (WP2P, WP2PuvrA)

No of replicate cultures: 5, 3, 2 (solvent control, ZD6474, positive control)

GLP compliance: Yes

Metabolizing system: Phenobarbital and β-naphthoflavone-induced rat liver S9, 10%

No of cells analysed/culture: Not applicable

Testing facility: [redacted] UK

Vehicles: **For test article:** DMSO

For positive controls: DMSO (acridine mutagen, 2-aminoanthracene, benzo(a)pyrene, daunomycin HCL and N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine) and water (sodium azide and mitomycin C)

Treatment: Assay 1 and 2 (-/+ S9), plate incorporation for 72 hours. Assay 3 (-/+ S9), pre-incubation (60 minutes) followed by 72 hours plate incubation

Date of treatment: [redacted] 19[redacted]

Cytotoxic effects: Sparse or no background lawn at concentrations of 500 µg/plate and above

Genotoxic effects: It was concluded that vandetanib was not a bacterial mutagen in the conditions of this assay. A statistically significant increase was seen in the initial plate-incorporation assay using TA100 in the presence of S9 but this was considered not to be biologically significant because a) the concurrent control revertant frequency was low and b) it was not related to test compound level. No increase was seen with a second plate-incorporation assay or an independent pre-incubation assay with TA100 in the presence of S9.

Metabolic activation	Test article	Concentration (μg/plate)	Assay 1: Revertant colony counts, mean (SD) TA100
Without activation	DMSO	100 μL/plate	122.0 (19.4)
	Vandetanib	5000	8.7 (4.5)
		2500	17.7 (4.5)
		1000	67.7 (34.4)
		500	47.3 (30.9)
		200	120.3 (42.1)
		100	136.3 (27.4)
		50	145.3 (32.7)
		20	149.3 (62.6)
		10	131.3 (26.0)
		5	124.3 (89.7)
	Sodium azide	2.0	1305.5 (19.1)**
		1.0	869.5 (111.0)**
		0.5	474.0 (24.0)**

Metabolic activation	Test article	Concentration (μg/plate)	Assay 1: Revertant colony counts, mean (SD) TA100
With activation	DMSO	100 μL/plate	59.8 (21.5)
	Vandetanib	5000	28.0 (14.7)
		2500	50.0 (19.3)
		1000	60.3 (1.5)
		500	59.7 (40.2)
		200	104.0 (29.5)*
		100	128.0 (20.0)**
		50	164.7 (17.6)**
		20	197.0 (19.7)**
		10	212.3 (6.5)**
		5	244.3 (18.7)**
	2-aminoanthracene	1.0	1747.0 (413.0)**
		0.5	861.5 (123.7)**
		0.2	652.0 (33.9)**

Metabolic activation	Test article	Concentration (μg/plate)	Assay 2: Revertant colony counts, mean (SD)					
			TA1535	TA1537	TA98	TA100	WP2P	WP2P uvrA
Without activation	DMSO	100 μL/plate	6.4 (2.4)	9.8 (4.4)	18.6 (5.2)		45.6 (8.6)	184.4 (24.0)
	Vandetanib	1000	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)		1.7 (2.9)	0.7 (0.6)
		500	1.0 (1.7)	1.0 (1.0)	5.3 (4.6)		26.0 (1.0)	49.3 (12.9)
		200	4.7 (1.5)	3.0 (2.0)	16.0 (6.1)		46.0 (9.8)	207.0 (30.4)
		100	6.7 (3.5)	6.3 (1.2)	16.0 (4.6)		42.3 (1.5)	212.7 (31.4)
		50	5.0 (1.7)	12.7 (3.8)	17.0 (1.0)		48.7 (14.5)	210.3 (9.0)
		20	8.7 (0.6)	11.3 (9.1)	18.0 (4.6)		53.7 (2.3)	219.7 (10.6)*
	Sodium azide	2.0	757.0 (1.4)**					
		1.0	466.5 (41.7)**					
		0.5	261.5 (0.7)**					
	Acridine mutagen	2.0		68.0 (0)**				
		1.0		11.5 (3.5)				
		0.5		11.5 (0.7)				
	Daunorubicin	1.0			440.0 (62.2)**			
		0.5			76.5 (6.4)**			
		0.2			28.0 (7.1)			
	Mitomycin	1.0					346.0 (2.8)**	
		0.5					283.0 (18.4)**	
		0.2					322.0 (43.8)**	
	N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine	1.0						1090.0 (53.7)**
		0.5						635.5 (46.0)**
		0.2						345.0 (26.9)**

Metabolic activation	Test article	Concentration (μg/plate)	Assay 2: Revertant colony counts, mean (SD)					
			TA1535	TA1537	TA98	TA100	WP2P	WP2P uvrA
With activation	DMSO	100 μL/plate	8.0 (3.7)	6.8 (3.3)	23.2 (5.4)	167.2 (12.3)	59.0 (4.2)	200.6 (21.7)
	Vandetanib	1000	1.0 (0.0)	1.0 (1.0)	1.0 (1.0)	30.7 (8.4)	12.0 (6.1)	6.3 (4.9)
		500	2.0 (1.7)	3.3 (0.6)	17.7 (10.6)	43.0 (10.8)	40.3 (2.1)	44.7 (9.1)
		200	4.0 (1.0)	7.7 (2.3)	22.3 (1.5)	124.7 (6.8)	54.3 (15.5)	121.0 (33.0)
		100	8.0 (4.6)	13.3 (5.9)*	21.3 (5.0)	156.3 (23.4)	56.3 (8.7)	137.0 (27.8)
		50	12.0 (2.6)	12.0 (5.6)	25.0 (4.4)	147.7 (13.6)	61.3 (8.1)	187.0 (36.6)
		20	6.0 (3.6)	8.7 (3.5)	22.3 (4.6)	162.7 (3.5)	62.3 (12.6)	172.0 (25.9)
	2-aminoanthracene	20					468.0 (38.2)**	
		10					302.0 (56.6)**	
		5					120.5 (0.7)**	
		2.0	135.0 (39.6)**	516.0 (46.7)**				
		1.0	161.5 (101.1)**	204.0 (2.8)**	3227.0 (289.9)**	1749.5 (14.8)**		
		0.5	47.5 (12.0)**	84.5 (4.9)**	1121.0 (241.8)**	823.0 (39.6)**		
		0.2			397.0 (19.8)**	391.5 (6.4)**		
	Benzo(a)pyrene	10.0						1132.0 (26.9)**
		5.0						750.0 (48.1)**
		2.0						422.0 (22.6)**

Metabolic activation	Test article	Concentration (μg/plate)	Assay 3: Revertant colony counts, mean (SD)					
			TA1535	TA1537	TA98	TA100	WP2P	WP2P uvrA
Without activation	DMSO	100 μL/plate	10.0 (2.8)	10.8 (3.0)	16.0 (4.4)	73.6 (9.0)	32.6 (7.5)	166.8 (10.6)
	Vandetanib	1000	0.0 (0.0)	0.3 (0.6)	5.7 (2.3)	5.7 (1.2)	2.0 (2.6)	17.7 (18.9)
		500	2.7 (1.5)	0.3 (0.6)	6.7 (2.9)	37.0 (9.6)	22.3 (8.3)	61.0 (12.3)
		200	8.3 (4.0)	3.3 (3.5)	15.0 (2.0)	73.3 (15.8)	40.0 (2.6)	224.3 (20.5)**
		100	6.7 (2.1)	9.7 (4.5)	16.7 (7.1)	105.3 (13.6)**	41.7 (8.6)	242.7 (1.5)**
		50	12.3 (0.6)	14.3 (3.8)	23.3 (6.0)*	98.0 (10.5)**	39.3 (8.3)	207.0 (24.3)**
		20	12.7 (3.1)	6.3 (4.9)	19.7 (9.1)	91.3 (12.7)*	48.0 (7.2)*	188.0 (11.1))*
	Sodium azide	2.0	821.5 (2.1)**			1184 (90.5)**		
		1.0	551.0 (14.1)**			777.0 (52.3)**		
		0.5	397.5 (6.4)**			560.5 (7.8)**		
	Acridine mutagen	2.0		55.5 (6.4)**				
		1.0		11.5 (4.9)				
		0.5		12.5 (2.1)				
	Daunorubicin	1.0			438.5 (9.2)**			
		0.5			68.5 (6.4)**			
		0.2			33.5 (6.4)**			
	Mitomycin	1.0					246.5 (29.0)**	
		0.5					232.5 (3.5)**	
		0.2					239.5 (0.7)**	
	N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine	1.0						1132 (24.0)**
		0.5						804.0 (35.4)**
		0.2						344.5 (19.1)**

Metabolic activation	Test article	Concentration (μg/plate)	Assay 3: Revertant colony counts, mean (SD)					
			TA1535	TA1537	TA98	TA100	WP2P	WP2P uvrA
With activation	DMSO	100 μL/plate	11.8 (3.3)	18.4 (3.2)	35.6 (7.6)	101.6 (27.4)	73.4 (17.9)	240.8 (20.1)
	Vandetanib	1000	24.0 (17.3)	0.7 (1.2)	7.7 (13.3)	0.7 (0.6)	2.0 (1.0)	33.3 (9.3)
		500	8.0 (6.9)	1.3 (1.5)	1.0 (1.7)	28.3 (3.1)	23.3 (14.2)	41.7 (13.2)
		200	3.0 (5.2)	7.3 (2.5)	29.0 (10.6)	84.3 (18.8)	45.0 (19.5)	127.0 (13.1)
		100	37.0 (54.7)	8.3 (5.0)	25.0 (5.3)	77.3 (48.6)	61.7 (11.4)	217.0 (10.0)
		50	7.0 (2.6)	17.3 (6.1)	43.3 (5.9)	86.3 (21.5)	65.3 (1.5)	206.0 (10.5)
		20	12.0 (2.0)	14.0 (0.0)	33.3 (0.6)	117.0 (11.8)	58.7 (6.5)	224.7 (32.6)
	2-aminoanthracene	20					151.0 (0.0)**	
		10					140.5 (38.9)*	
		5					80.5 (2.1)	
		2.0	318.5 (19.1)**	590.5 (58.7)**				
		1.0	203.0 (35.4)**	230.0 (4.2)**	2800.0 (274.4)**	1420.5 (105.4)**		
		0.5	105.0 (14.1)**	96.0 (1.4)**	1670.5 (296.3)**	489.0 (91.9)**		
		0.2			487.0 (22.6)**	148.5 (14.8)*		
	Benzo(a)pyrene	10.0						970.5 (99.7)**
		5.0						836.0 (17.0)**
		2.0						493.5 (7.8)**

*: $0.01 \leq p < 0.05$, **: $p < 0.01$. One sided t-Test assumes Test > Control

8.2 ヒトリンパ球培養細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Test for induction of: Chromosome aberrations	**No of independent assays:** 2	**Study number:** TYX103
Strains: Primary human lymphocytes	**No of replicate cultures:** 2	**GLP compliance:** Yes
Metabolizing system: Rat liver post-mitochondrial supernatant with cofactors (S9)	**No of cells analysed/culture:** 100 for solvent control and test compound concentrations or at least 25 (positive controls)	**Testing facility:** AstraZeneca UK
Vehicles **For test article:** DMSO	**For positive controls:** DMSO (cyclophosphamide) and water (mitomycin C)	**Date of treatment:** [redacted] 19[redacted]

Treatment: Assay 1, pulse treatment for 3 hour with 17 hour recovery in the presence and absence of S9. Assay 2, pulse treatment for 3 hour with 17 hour recovery in the presence of S9 and continuous treatment for 20 hour in the absence of S9.

Cytotoxic effects: Mitotic activity was almost totally suppressed at 10 μg/mL in the absence of S9 and 20 μg/mL in the presence of S9.

Genotoxic effects: None

Metabolic Activation	Test article	Concentration (μg/mL)	Assay1		
			Cytotoxicity[a] (% of control)	Aberrant cells (Mean %)[b]	Percentage cells with aberrations (Mean %)[b]
Without activation 3 hour treatment	DMSO	10 μL/mL	100	1.5	1.5
	Vandetanib	10	47	1	1
	Vandetanib	4	53	1	1
	Vandetanib	2	70	3	3
	Mitomycin C	0.5	37	18	48***
With activation	DMSO	10 μL/mL	100	1	1
	Vandetanib	4	65	1	1
	Vandetanib	2	66	1	1
	Vandetanib	0.2	92	0.5	0.5
	Cyclophosphamide	30	26	15	40***

[a] Based on mitotic indices, [b] Excluding gaps
Statistically significant increase, Fisher's Exact Test *: $p<0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p<0.001$

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (μg/mL)	Assay 2		
			Cytotoxicity[a] (% of control)	Aberrant cells (Mean %)[b]	Percentage cells with aberrations (Mean %)[b]
Without activation	DMSO	10 μL/mL	100	0	0
	Vandetanib	4	82	0	0
	Vandetanib	2	95	2.5	2
	Vandetanib	0.4	137	0	0
	Mitomycin C	0.5	39	31	56***
With activation	DMSO	10 μL/mL	100	0.5	0.5
	Vandetanib	2	64	0.5	0.5
	Cyclophosphamide	30	41	6	24***

[a] Based on mitotic indices, [b] Excluding gaps
Statistically significant increase, Fisher's Exact Test *: $p<0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p<0.001$

9 *In vivo* 遺伝毒性試験

9.1 ラットの経口投与による小核試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Test for induction of: Bone marrow micronuclei (MN)

Treatment schedule: Single dose

Study number: TQR2942

Species/strains: Rat Alderley Park (Wistar derived) Alpk:AP_fSD)

Sampling time: 24 or 48 hours after dosing

GLP compliance: Yes

Age: 6 weeks

Method of administration: Oral gavage

Testing facility: AstraZeneca UK

Cells evaluated: Polychromatic erythrocytes (PEs)

Vehicle/formulation: A suspension in 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose in 0.1% w/v aqueous polysorbate 80 (HPMC)

Number of cells analysed/animal: 2000 or 4000 PEs

Date of dosing: [redacted] 19[redacted]

Special features: Data from the initial sampling of 2000 cells was statistically different from controls (within the expected range for vehicle control animals) and extended scoring of micronuclei was deemed necessary (for 3 animals extended scoring was precluded for technical reasons).

Toxic/cytotoxic effects: None

Genotoxic effects: None

Evidence of exposure: The highest dose level (1000 mg/kg) was estimated to be (or be close to) the maximum tolerated dose for a single oral administration of vandetanib.

Sampling time	Test article	Dose (mg/kg)	Number of animals	Mean % PEs	Mean MN per 2000 PEs
24 Hour	HPMC	20 mL/kg	7 M	76.2	0.6
First sample	Vandetanib	100	7 M	72.4	1.4
	Vandetanib	330	7 M	77.7	1.9
	Vandetanib	1000	7 M	77.2	1.1
	Cyclophosphamide	20	3 M	58.9	35.0***
48 Hour	HPMC	20 mL/kg	7 M	70.2	0.3[a]
First sample	Vandetanib	100	7 M	74.7	1.0[a]
	Vandetanib	330	7 M	76.7	0.4[a]
	Vandetanib	1000	7 M	68.6	1.4[a]

Statistically significant increase, Pairwise comparison *: p<0.05, **: p < 0.01, ***: p<0.001
[a] Statistically significant trend with dosing at all dose levels Cochran-Armitage test.
M: Male

Sampling time	Test article	Dose(mg/kg)	Number of animals	Mean MN per 2000 Pes
24 Hour	HPMC	20 mL/kg	7 M	0.8
First and second samples combined	Vandetanib	100	7 M	1.6
	Vandetanib	330	7M	1.9
	Vandetanib	1000	7 M	1.4
	Cyclophosphamide	20	3 M	34.9***
48 Hour	HPMC	20 mL/kg	7M	0.6
First and second samples combined	Vandetanib	100	7 M	1.5[b]
	Vandetanib	330	7 M	0.7
	Vandetanib	1000	7 M	1.8[c]

Statistically significant increase, Pairwise comparison *: p<0.05, **: p < 0.01, ***: p<0.001
[b] 5/7 animals resampled
[c] 6/7 animals resampled
M: Male

10 がん原性試験

10.1 マウスを用いた経口投与用量設定試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

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, (Tg.rasH2 non-transgenic wild-type)	Oral, by gavage 0.5% hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) in 0.1% w/v aqueous polysorbate 80 (tween 80)	7 days	0 10 30 100 300 1000	5M + 5F	100	**300 mg/kg/day:** 4 of 5 males and 1 of 5 females were found dead on Days 6 or 7. The remaining male was found dead on the day of necropsy. Body weight loss in both sexes and decreased thymus and ovary weights in females. Moderately pale livers in 1 male and 3 females at terminal necropsy. **1000 mg/kg/day:** all animals were found dead or euthanized in moribund condition on Days 2 or 3 of dosing. Clinical signs included lethargy, irregular gait, and trembling/shaking.	[redacted] USA	11-2268 AZ ref: 0871DM
Mouse / CByB6F1, (Tg.rasH2 non-transgenic wild-type)	Oral, by gavage 0.5% hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) in 0.1% w/v aqueous polysorbate 80 (tween 80)	28 days	0 10 30 100	10M + 10F	10	**10 mg/kg/day:** slight decrease in lymphocytes (males), slight decreases in triglycerides, albumin (females) and increase in potassium (males). Increased adrenal gland weight (males). **30 mg/kg/day:** as 10 mg/kg/day, with an increase in red cell mass and red cell distribution width (males). Minimal to slight increases in AST, ALT and cholesterol (both sexes). Thymus weight decreased (male). Haemoglobin, haematocrit increased (males). Histopathologic changes include: mesenteric lymph nodes (lymphocytic depletion and histiocytic infiltrates) (both sexes). Corpora lutea	[redacted], USA	11-2269 AZ ref: 0858HM

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
						decreased in the ovaries with secondary change in other reproductive organs, alveolar macrophages with clear foamy cytoplasm were noted in the lungs (females). Cytoplasmic vacuolation was present in seminal vesicles. Dysplasia of the physis in the distal femur and dental dysplasia of the incisor teeth that were considered to be rodent specific (both sexes). **100 mg/kg/day:** as 30 mg/kg/day, with severe body weight loss noted during Week 4 (males), and mean body weight lower (females). Food consumption was decreased (both sexes). Neutrophils increased (both sexes). Red cell mass, red cell distributions width increased (now both sexes). Eosinophils decreased (males). Lower thymus (both sexes) and ovary weights. Histopathologic changes include: lymphocytic depletion including thymus, spleen, Peyer's patches, mesenteric lymph nodes and mandibular lymph nodes (both sexes). Cytoplasmic vacuolation was present in epididymides. Myeloid hyperplasia in bone marrow, vacuolation of tubular cortical epithelium in kidneys and in the transitional epithelium of kidneys and urinary bladder, hyperplasia of the non-glandular stomach mucosa and hypertrophy of the adrenal cortex (both sexes).		

0858HM was conducted to GLP. 0871DM was not GLP-compliant.

10.2 rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 6 カ月経口投与がん原性試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Species / Strain: Mouse / CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic mice (hemizygous)

Duration of dosing: 6 months

Study number: 11-2271
AZ reference number : 0862CM

Initial age: Approximately 5 to 6 weeks
Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: oral, by gavage
Vehicle / Formulation: water containing 0.5% hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) in 0.1% w/v aqueous polysorbate 80 (tween 80)

GLP compliance: Yes
Testing Facility: [redacted], USA

Treatment of controls: water in 0.5% hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) in 0.1% w/v aqueous polysorbate 80 (tween 80)

Basis for high-dose selection: The doses selected for this study were 3, 10 and 30 mg/kg/day. These doses were selected based on results of a previous one-month toxicity and toxicokinetic study in Tg.rasH2 wildtype mice [redacted] Sponsor Reference No. 0858HM). In the one-month study, there was no mortality at the high dose of 100 mg/kg/day, but severe body weight loss was present in males and decreased body weight in females. At the mid-dose of 30 mg/kg/day, there was no effect on body weight and 30 mg/kg/day was considered to be the maximum tolerated dose. Therefore, 30 mg/kg/day was selected as the high dose for the 6-month carcinogenicity study.

Special features: none

Conclusion: In conclusion, the incidence of neoplasms was not increased in Tg.rasH2 mice given vandetanib (formally known as ZD6474) by oral gavage at doses ≤30 mg/kg/day (63 μmol/kg/day) for 6 months. At 30 mg/kg/day, C_{max} was 3430 ng/mL and AUC_{0-24} was 78700 ng·hr/L.
Non-neoplastic findings included decreases in body weight in males at 30 mg/kg/day and females at ≤30 mg/kg/day. Histologic changes were present in the ovary and spleen in females at ≤30 mg/kg/day, in the thymus in males and females at 10 and 30 mg/kg/day, and in the incisor of males and females at 30 mg/kg/day. None of these changes was considered to be adverse.

Daily dose (mg/kg) Gender	0 M	 F	3 M	 F	10 M	 F	30 M	 F
Toxicokinetics[a]								
AUC_{0-24} (ng·h/mL)			10100	9080	36800	37800	80000	77300
C_{max} (ng/mL)			483	525	1800	2250	3920	4360
Noteworthy findings								
Number of animals:								
At start	25	25	25	25	25	25	25	25
Died/sacrificed moribund[b]	3	1	1	1	3	1	1	0
Terminal sacrifice	22	24	24	24	22	24	24	25
Survival (%)	88	96	96	96	88	96	96	100
Clinical Observations[c]	-	-	-	-	-	-	+	+
Body Weight Gain (%)[d,e]	9.7	7.8	+2.06	-28.21*	-4.12	-26.92*	-65.98***	-47.44***
Food consumption (%)[d,e]	3.1	3.4	+6.46	-2.94	+9.68*	-8.82	-3.23	-11.76

Daily dose (mg/kg) Number Evaluated[f]	0 M: 25	 F: 25	3 M: 25	 F: 25	10 M: 25	 F: 25	30 M: 25	 F: 25
Number of animals with neoplastic lesions (not compound related):								
Bone (other)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
Malignant hemangiosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Duodenum	(24)						(24)	
Benign adenoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Femeral marrow								
Metastatic/invasive neoplasm	0	0	0	0	1	0	0	0
Harderian gland								
Benign adenoma	0	1	0	0	0	0	1	0
Incisors								
Metastatic/invasive neoplasm	0	0	0	0	1	0	0	0
Liver								
Metastatic/invasive neoplasm	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymph node other	(0)	(1)	(0)	(0)	(1)	(0)	(1)	(0)
Metastatic/invasive neoplasm	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymphoreticular system								
Malignant lymphoma	0	1	0	2	1	0	0	0
Mediastinal lymph node	(21)	(24)	(24)	(24)		(24)	(24)	
Metastatic/invasive neoplasm	0	0	0	0	1	0	0	0
Mesenteric lymph node	(24)	(24)	(24)		(24)		(23)	
Metastatic/invasive neoplasm	0	0	0	0	1	0	0	0
Mesentery/peritoneum	(0)	(0)	(1)	(0)	(1)	(0)	(0)	(1)
Malignant hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	1
Muscle (other)	(2)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
Malignant hemangiosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Nose/turbinates								
Metastatic/invasive neoplasm	0	0	0	0	1	0	0	0
Skin (other)	(1)	(0)	(2)	(0)	(1)	(1)	(2)	(0)
Malignant hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Spleen								
Metastatic/invasive neoplasm	0	0	0	1	0	0	0	0
Malignant hemangiosarcoma	2	1	0	1	1	1	2	2
Sternal marrow							(24)	
Metastatic/invasive neoplasm	0	0	0	0	1	0	0	0

Daily dose (mg/kg) Number Evaluated[f]	0 M: 25	 F: 25	3 M: 25	 F: 25	10 M: 25	 F: 25	30 M: 25	 F: 25
Sternum	(24)						(24)	
Metastatic/invasive neoplasm, adjacent to bone	0	0	0	0	1	0	0	0
Stomach								
Benign forestomach:								
squamous cell papilloma	0	0	0	1	0	0	0	0
Thymus								
Metastatic/invasive neoplasm	0	1	0	1	1	0	0	0
Vessel								
Malignant hemangiosarcoma	3	1	0	1	3	1	2	3
Histopathology - non-neoplastic lesions:								
Incisors								
dental dysplasia	0	0	0	0	0	0	17	16
Ovary		(24)						
pigment-laden macrophages, increased		1		10		21		23
Spleen								
reticuloendothelial brown pigment, increased	0	1	1	1	0	4	6	7
vascular/fibrovascular proliferation	0	0	0	1	0	2	0	1
Sternal marrow								
macrophage brown pigment increased	0	6	0	1	9	1	12	4
Thymus								
foamy macrophages, increased	0	0	0	0	5	1	12	12

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

* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$. Bartlett's test for variance homogeneity.

[a] Additional (satellite) CByB6F1 (Tg.rasH2 non-transgenic wild-type) animals were used for the toxicokinetic assessment. Week 26 parent compound values shown.

[b] No mortality related to Vandetanib.

[c] Clinical observations include whitened and broken/missing incisors.

[d] At 6 months. 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).

[e] At end of dosing period.

[f] Tissues/organs were not always available from all animals for histopathological examination (different number evaluated shown in brackets).

11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

11.1 ラットの胚・胎児発生に関する用量設定試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Species/strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Dosing period	Doses (mg/kg/day)	Number per group	Noteworthy findings	Testing facility	Study number
Rat/AlpkAP$_f$SD strain, Wistar derived	Oral gavage (0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) solution containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80/suspension in vehicle)	Half of each dose group dosed Day 1 to 7 and killed on Day 13 Other half of each group: Dosed Day 7 to 16 and killed on Day 22 Day 1= day of mating	0, 0.5, 1, 5, 10 and 20	11 controls (6 killed on Day 13 & 5 killed on Day 22) and 12 per vandetanib dosed groups	Maternal findings: No adverse effects on body weights and food consumption attributable to dosing with vandetanib by either dosing regimen Implantation data: No effect of vandetanib dosing by either dosing regimen on numbers of corpora lutea or pre-implantation losses Increased post-implantation losses with 20 mg/kg/day with either dosing regimen, with effect greater after dosing between Days 1 to 7. Fetal data: Dosage related reduction in fetal weight after dosing with 10 or 20 mg/kg/day between Days 7 to 16. No effect of vandetanib dosing by either dosing regimen on fetal structural development.	Astra Zeneca UK	TRR3073

11.2 ラットの経口投与による出生前・出生後の胚発生並びに母動物の機能に関する試験の用量設定試験

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Dosing period	Doses (mg/kg/day)	Number per group	Noteworthy findings	Testing facility	Study number
Rat/ Wistar Crl – WI (Han)	Oral Gavage (0.5 % w/v hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) with 0.1 % w/v polysorbate 80/suspensions)	Day 6 of gestation to Day 8 of lactation, except Group 4 dosed at 10mg/kgf rom Day 16	0, 1, 10 (G6), 10 (G16), 25	6	Systemic exposure to vandetanib was shown in all treated females and corresponding pups. 25 mg/kg/day: Reduced mean maternal body weight and food consumption with total litter resorption early in gestation 10 mg/kg/day from G6/G16: Reduced mean maternal body weight and food consumption during gestation and lactation with no effects on pup development parameters, except a slightly reduced post-natal growth in the group treated from G6. 1 mg/kg/day: No effects on maternal and pup development parameters.	[redacted] France	AA29682 (1107WR)

G = gestation

12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期発生に関する試験

12.1 雄ラットの経口投与による受胎能試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Design similar to ICH 4.1.1? Yes

Duration of dosing: At least 8 weeks prior to pairing, on TPR2939. All animals paired during Week 9 of study.

Study number: TGR3138

Species/strain: Rat/Alpk:AP$_f$SD strain, Wistar derived

Day of mating: Day 1

GLP compliance: Yes

Initial age: 5 to 6 weeks at start of dosing

Day of C-section: Day 13

Testing facility: AstraZeneca, UK

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

Method of administration: Oral gavage

Special features: Male animals were from Study TPR2939 (6 Month Oral Toxicity Study in Rats (Section 2.6.7.7.2))

Vehicle/formulation: 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) solution containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80/suspensions in vehicle

No Observed Adverse-Effect Level:
F_0 Males: 5 mg/kg/day (up to pairing during Week 9) - general toxicology findings; 20 mg/kg/day for fertility and reproductive performance
F_1 Litters: 20 mg/kg/day

Conclusion: It was concluded that vandetanib at dosages up to and including 20 mg/kg/day had no adverse effects on either fertility or reproductive performance in male rats.

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	1	5	20
Males				
Toxicokinetics: AUC (ng·h/mL) [a]	Not assessed	799	4257	Not assessed (dose level reduced to 10 mg/kg/day in week 13)
Dosed Males				
Number evaluated	19	19	20	20
Number killed prematurely during the mating period	0	0	0	0
Clinical observations prior to pairing	-	-	-	+[b]
Body weight (%)[c]	490 g	-4.3%	-4.9%	-5.7%*
Food consumption (%)[d]	15.9	0.0%	-2.5%	-8.8%***
Mean number of days prior to mating	2.2	2.2	1.6	2.4
Number of males that mated	19	17	19	20
Number of fertile males	18	17	19	19
Undosed Females				
Number evaluated	19	19	20	20
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0
Clinical observations	-	-	-	-
Gestation body weight gain (%)[e]	21 g	-4.8%	-4.8%	0.0%
Number of females sperm positive	19	17	19	20
Number of pregnant females	18	17	19	19
Number with total resorption of litter	0	0	0	2
Median number of corpora lutea[f]	17	18	18	16
Median number of implantations[e]	16	15	16	15
Median number of live conceptuses[e]	14	15	16	15
Median number of resorptions[e]	1	2	2	1
Median postimplantation loss[e]	1	0	0	0

- No noteworthy findings; + = Mild; ++ = Moderate; +++ = Marked
* = $p<0.05$; ** = $p<0.01$; *** = $p<0.001$

[a] Reported in TPR2939

[b] Teeth abnormalities

[c] Median body weight for Week 8 for main test and withdrawal animals combined- data is reported in TPR2939. For controls, group medians are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). Data was analysed by Jonckheere-Terpstra non-parametric trend test.

[d] Median food consumption for Week 8/9 for main test and withdrawal animals combined- data is reported in TPR2939. For controls, group medians are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). Data was analysed by Jonckheere-Terpstra non-parametric trend test.

[e] Body weight gain between Days 10 to 13 for females with live fetuses using number of fetuses as a covariate. For controls, group medians are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). Data was analysed by linear trend between the groups on the ordinal scale.

[f] Analysed by Jonkheere trend test

12.2 雌ラットの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Design similar to ICH 4.1.1 Yes

Duration of dosing: 14 days prior to pairing and continuing through pairing to Day 6. Withdrawal animals dosed for 19 days before 4 week withdrawal, then paired.

Study number: TGR2940

Species/strain: Rat/Alpk:AP$_f$SD strain, Wistar derived

Day of mating: Day 0

GLP compliance: Yes

Initial age: at least 11 weeks at start of dosing

Day of C-section: Day 12 post-coitum

Testing facility: AstraZeneca UK

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

Method of administration: Oral gavage

Special features: Withdrawal animals included

Vehicle/formulation: 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) solution containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80/suspensions in vehicle

No Observed Effect Level: **F_0 Females: 1 mg/kg/day** **F_1 Litters: 1 mg/kg/day**

Conclusion: There was a slight dose-related increase in the incidence of irregular oestrous cycle pattern, slight reduction in pregnancy incidence and increased implantation loss after dosing with 10 or 25 mg/kg/day. At 25 mg/kg/day, there was significant embryo lethality in the absence of maternal toxicity. At 10 mg/kg/day these effects were very slight. The no effect dose level was 1 mg/kg/day. These effects were not observed following the 4 week withdrawal period after 19 doses of vandetanib.

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	1	10	25
Females				
Number evaluated (main test & withdrawal animals combined):	34	22	22	34
Number died or sacrificed moribund	3	0	1	0
Clinical observations	-	-	-	-/+ (During withdrawal)
Premating body weight (%[a])	290.5 g	0.3 %	1.0 %	1.3 %
Premating food consumption (%[b])	21.1 g	-6.6 %	-1.4 %	-2.4 %
Number evaluated (main test animals only)				
Gestation body weight gain (%[c])	29.7 g	-20.5 %*	-5.7 %	-6.1%
Number of females with oestrous cycles of regular pattern & duration/Total number assessed (%)	6/22 (27%)	8/22 (36%)	2/21 (10%)	2/22 (9%)
Mean number of days prior to mating	2.0	2.3	2.0	2.3
Number of females sperm positive	22	22	21	21
Number of pregnant females	21	20	19	18
Necropsy observations	-	-	-	-
Number with total resorption of litter	0	0	0	2
Mean number of corpora lutea[d]	15.6	15.8	15.3	18.7
Mean number of implantations[d]	11.9	12.6	12.2	11.9
Mean % preimplantation loss[d]	23.3	16.6	23.2	34.3
Mean number of live conceptuses[d]	11.4	12.1	11.1	6.3**
Number dead conceptuses	10	10	20	101
Mean % postimplantation loss[d]	5.1	4.0	9.8	42.0**
Number evaluated (recovery animals only)				
Gestation cumulative body weight gain (%)[e]	56.8 g			-7.4%
Number of females with oestrous cycles of regular pattern & duration /Total number assessed (%):				
during dosing	3/11 (27%)			3/12 (25%)
during recovery	2/9 (22%)			3/12 (25%)
Mean number of days prior to mating	2.1			2.3
Number of females sperm positive	9			12
Number of pregnant females	8			10
Necropsy observations	-			-
Number with total resorption of litter	0			0

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	1	10	25
Mean number of corpora lutea[d]	17.1			16.6
Mean number of implantations[d]	16.6			14.6
Mean % preimplantation loss[d]	2.9			14.1
Mean number of live conceptuses[d]	16.0			13.4
Number dead conceptuses[d]	5			12
Mean % postimplantation loss[d]	3.8			7.6

- = No noteworthy findings; + = Mild; ++ = Moderate; +++ = Marked
* = $p<0.05$; ** = $p<0.01$; *** = $p<0.001$

[a] After 13 days of dosing. 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). Analysed by Dunnett's test

[b] After 7 days of dosing (between day 7 to 13). 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). Analysed by Dunnett's test

c Between day 0 to 6 post-coitum. 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). Analysed by Dunnett's test

[d] Analysed by 2-sided Wilcoxon's rank sum test

[e] Between day 0 to 12 post-coitum. 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). Analysed by Dunnett's test

13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

13.1 ラットの経口投与による胚・胎児発生に関する試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Design similar to ICH 4.1.3? Yes

Duration of dosing: Day 6 to Day 15 post-cotuim

Study number: TTR2938

Species/strain: Rat/Alpk:AP$_f$SD strain, Wistar derived

Day of mating: Day 0

GLP compliance: Yes

Initial age: 10 to 13 weeks at start of dosing

Day of C-section: Day 21

Testing facility: AstraZeneca, UK

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

Method of administration: Oral gavage

Special features: None

Vehicle/formulation: 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) solution containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80/suspension in vehicle

No Observed Effect Level:
F_o Females: 10 mg/kg/day for maternal toxicity; not established for maternal reproductive performance
F_1 Litters: Not established

Conclusion: Minimal maternal toxicity was observed in the rat after maternal treatment with vandetanib at 25 mg/kg/day only, as indicated by reduced body weight and food consumption. Embryofetal developmental toxicity, indicated by embryofetal loss, delayed fetal development, heart vessel abnormalities and precocious ossification of some skull bones, was observed at 25 mg/kg/day. At 10 mg/kg/day, reduced fetal weight and some heart vessel abnormalities were observed. At 1 mg/kg/day one fetus had heart vessel abnormalities. Therefore, there was not a no-effect dose level for embryofetal developmental toxicity in this study.

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	1	10	25
Dams/does:				
Toxicokinetics: C_{max} (ng/mL)	Not assessed	21.5	347	867
Number pregnant	22	22	21	22
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0
Number aborted or with total resorption of litter	0	0	0	0
Clinical observation	-	+	+	+
Necropsy observations	-	+	+	+
Body weight (%)[a]	332 g	1.7 %	1.1 %	-1.1 %
Body weight gain (g)[b]	127 g	3.9%	3.1%	-20.5***
Food consumption (%)[c]	34.4	0.9 %	-1.7 %	-6.7 %*
Mean number of corpora lutea[d]	15.0	15.6	15.8	15.0
Mean number of implantations[d]	13.3	14.3	14.1	13.5
Mean % preimplantation loss[d]	12.7	8.2	11.3	11.0
Litters:				
Number of litters evaluated	22	22	21	22
Number of live fetuses	273	300	276	200
Mean number of live fetuses[d]	12.4	13.6	13.1	9.1**
Mean number of resorptions[d]	0.91	0.64	1.00	4.36***
Number of litters with dead fetuses	0	0	0	0
Mean % postimplantation loss[d]	7.1	4.4	7.7	33.6***
Mean fetal body weight (g)[e]	5.14	5.13	4.84***	4.20***
Fetal sex ratios (% Males)	48.8	53.1	49.7	53.0
Treatment-related fetal anomalies				
Gross external	-	-	-	-
Visceral anomalies (heart vessel abnormalities, kidney, ureters and umbilical artery)	-	One major abnormality	Two major abnormalities and increased incidence of variants	Increased incidence of variants, minor and major abnormalities
Skeletal anomalies	-	-	Increased incidence of variants and minor abnormalities	Increased incidence of variants and minor abnormalities
Major visceral abnormalities (heart vessel)				
No of fetuses (No of litters)	0 (0)	1 (1)	2 (2)	30 (16)

- = No noteworthy findings; + = Mild; ++ = Moderate; +++ = Marked

* = p<0.05; ** = p<0.01; *** = p<0.001

[a] At the end of the dosing period (Day 15). 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). Data analysed using Dunnett's test.

[b] Body weight gain between Day 6 to Day 21. 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). Data analysed using Dunnett's test.

[c] At the end of the dosing period (Day 15 to 18). 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). Data analysed using Dunnett's test.

[d] Data analysed by 2-sided Wilcoxon rank sum test

[e] Data analysed using Dunnett's test

14 生殖発生毒性試験：出生前・出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

14.1 ラットの経口投与による出生前・出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Design similar to ICH 4.1.2? Yes

Duration of dosing: G6 or G16 to L21

Study number: AA32728 (1251WR)

Species/strain: Rat/Wistar Crl: WI (Han)

Day of mating: G0

GLP compliance: Yes

Initial age: 11 to 14 weeks at mating

Method of administration: Oral gavage

Testing facility: [redacted], France

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

Vehicle/formulation: 0.5 % w/v HPMC with 0.1 % w/v polysorbate 80/Suspensions

Special features: Group 3 dosed from G16. Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Litters culled/not culled: Culled to 4/sex/litter

No Observed Adverse-Effect Level:
F_0 females: Not established
F_1 males: Not established
F_1 females: Not established

Conclusion: The test item vandetanib at the dose levels of 1 and 10 mg/kg/day from G 6 or at 10 mg/kg/day from G 16 induced slight maternal toxicity during gestation and/or lactation, characterised by reduced maternal weight gain and food consumption. An increased pre-birth loss was observed in the group given 10 mg/kg/day from G 6. Reduced post-natal pup growth was observed in all treated groups. The reduced post-natal growth was associated with a slightly delay in physical development in the pups born to the high dose dams treated from either G 6 or G 16. There were no effects of the test item in the behavioural tests, mating performance, fertility and gestation of the F1 generation.

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	1	10 (G16)	10 (G6)
F_0 females:				
Toxicokinetics on L7: AUC (µmol·h/L) [a]	0	2.61	24.2	29.0
Number pregnant	24	24	24	23
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0
Number aborted or with total res of litter	1	0	0	1
Clinical observations: Lame limbs during lactation	0/23	0/24	1/24	2/21
Necropsy observations	-	-	-	-
Gestation body weight at G20 (%)[b,c]	346.7 g	-2.6 %	-3.5 %	-5.2 %
Lactation body weight at L4 (%)[b,c]	282.4 g	- 1.7 %	- 2.4 %	- 4.4 %
Gestation food consumption G6 to G20 (%)[b,c]	24.3 g/animal/day	-5.3 %	-3.3 %	-8.6 %**
Lactation food consumption L1 to L21 (%)[b,d]	51.0 g/animal/day	- 9.8 %*	- 9.6 %**	- 14.9 %**
Mean duration of gestation (days)[d]	22.0	22.0	21.9	22.1
Abnormal parturition	-	-	-	-
F_1 litters (preweaning):				
Number litters evaluated	23	24	24	22
Mean number of implantations[c]	12.5	10.7	11.0	11.1
Mean number pups /litter[c]	11.5	9.8*	9.9	9.5*
Live Birth index (%)	100.0	100.0	99.6	98.6
Number of litters with stillborn pups	0	0	1	3
Postnatal survival to day 4 (%)[e]	100.0	99.6	98.7	94.1**
Postnatal survival to weaning (%)[e]	100.0	99.4	100.0	100.0
Number of total litter losses at L4	0	0	0	1
Number of total litter losses at L21	0	1	0	1
Change in pup body weights L4 to L21 (g)[c]	38.7	36.7	35.5**	33.9**
Pup sex ratios (% males) L0[e]	46.8	47.9	41.1	53.5
Reflex and physical development				
Incisor eruption (% pups positive) at L12	100	99	99	96
Incisor eruption (% pups positive) at L13	100	100	100	100
Eye opening (% pups positive) at L15	100	99	94	97
Eye opening (% pups positive) at L16	100	100	100	100
Pup Clinical Signs : Pale	0/265	0/234	0/237	7/205
Thin	0/265	2/234	3/237	13/205
Weak	0/265	0/234	0/237	0/205
Cold to touch	0/265	1/234	0/237	13/205

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	1	10 (G16)	10 (G6)
Pup necropsy observations	-	-	-	-
F_1 males (postweaning):				
Number evaluated postweaning per litter	25	25	25	25
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0
Clinical observations	-	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-	-
Body weight at Day 35 (g)[c]	278.1	279.8	278.0	262.6*
Preputial Separation (Day post partum)	44	44	45	45
Sensory function	-	-	-	-
Motor activity	-	-	-	-
Learning and memory	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-
Mean number of days prior to mating	2.28	2.35	2.44	3.22
Number of males that mated	25	25	25	24
F_1 female (postweaning):				
Number evaluated	25	25	25	25
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	1[f]
Clinical observations	-	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-	-
Premating body weight at Day 35 (g)[c]	199.2	194.2	193.5	188.3*
Gestation body weight at Day 13 (g)[c]	294.5	294.3	292.4	288.9
Mean age of vaginal patency (days)	32	33	33	35**
Sensory function	-	-	-	-
Motor activity	-	-	-	-
Learning and memory	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-
Mean number days prior to mating	2.28	2.35	2.44	3.22
Number of females sperm positive	25	25	25	24
Number of pregnant females	25	24	25	22
Mean number corpora lutea[c]	15	15	15	14
Mean number implantations[c]	13	13	13	13
Mean % preimplantation loss	10	12	11	12
F_2 litters:				
Number of litters evaluated	25	24	25	22

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	1	10 (G16)	10 (G6)
Mean number live conceptuses//litter[c]	13	12	13	12
Mean % postimplantation loss	4	6	3	7

= No noteworthy findings
* = p<0.05; ** = p<0.01
G = Gestation, L = Lactation
[a] Toxicokinetic data from Study AA29682 (1107WR).
[b] 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).
[c] Analysed by Anova/Dunnett test.
[d] Analysed by Kruskal-Wallis/Dunn test.
[e] Number of pups analysed by Chi2/Fisher Exact test.
[f] Not considered to be related to treatment.

15　新生児を用いた試験

該当試験なし

16　局所刺激性試験

該当試験なし

17 その他の毒性試験

17.1 不純物の試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Species/ strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing facility	Study number
Bacterial Reverse Mutation Test *S. typhi-murium*	*不純物B (*不純物B) in DMSO. In vitro. *S. typhimurium* LT2 (TA98 and TA100)		16 to 5000 µg/plate	Not specified	[redacted] *不純物B was not mutagenic in *Salmonella typhimurium* LT2 strains TA98 and TA100 either in the presence or absence of S9 mix, when tested under the conditions used in the assay up to doses determined by toxicity.	Astra Zeneca UK	1953BV
Bacterial Reverse Mutation Test *S. typhi-murium* and *E. coli*	*不純物C in DMSO. In vitro. *S. typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98 and TA100) and *E. coli* (WP2P uvrA)		100 to 5000 µg/plate	Not specified	*不純物C induced weak increases in mutant colonies in *Salmonella typhimurium* TA98 in the presence of S9-mix reaching 2.1x and 1.8x the control values in plate-incorporation and pre-incubation tests, respectively, but did not consistently fulfil the criteria for a positive result.	[redacted], UK	[redacted]

*新薬承認情報提供時に置き換えた

Species/ strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing facility	Study number
Mouse Bone Marrow Micron-ucleus Test CD-1 mouse	*不純物C in CMC by oral gavage	Single	2000	Groups of males	No statistically or biologically significant increases in the incidence of micronucleated polychromatic erythrocytes, over the vehicle control values, were observed for mice treated with *不純物C at either sampling time (24 and 48 hours). No statistically significant differences in the percentage of polychromatic erythrocytes, between the vehicle control and *不純物C treated animals, were observed at either sampling time. Under the conditions of test, *不純物C was not clastogenic in the mouse bone marrow micronucleus test.	[redacted] UK	[redacted]
Bacterial Reverse Mutation Test *S. typhi-murium* and *E. coli*	*不純物D in DMSO. In vitro. *S. typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98 and TA100) and *E. coli* (uvrA/pKM101)		5 to 5000 µg/plate	3 replicate cultures	For each strain and under each condition, the minimum dose showing evidence of cytotoxicity ranged from 1600 to 5000 µg per plate. The maximum dose level scored for revertant colonies was 5000 µg per plate. There were no genotoxic effects.	Astra Zeneca UK	1338BV
Bacterial Reverse Mutation Test *S. typhi-murium* and *E. coli*	*不純物E in DMSO. In vitro. *S. typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98 and TA100) and *E. coli* (uvrA/pKM101)		1.6 to 1600 µg/plate	3 replicate cultures	For each strain and under each condition, the minimum dose showing evidence of cytotoxicity was 160 µg (0.595 µmol) per plate. The maximum dose level scored for revertant colonies was 500 µg per plate. There were no genotoxic effects.	Astra Zeneca UK	1339BV

*新薬承認情報提供時に置き換えた

17.2 光毒性試験

被験物質：バンデタニブ（ZD6474）

Species/ strain	Method of administration	Doses (mg/kg)	Noteworthy findings	Testing facility	Study number
Evaluation of in vitro phototoxicity on Balb/c 3T3 fibroblasts using the Neutral Red Uptake Assay	In vitro	0.46 to 1000 µg/mL without UVA light. 0.046 to 100 µg/mL with UVA light.	Cytotoxicity was observed in the absence and presence of irradiation with artificial sunlight. The EC_{50} value in the presence of UVA light was 0.47 µg/mL and in the absence of UVA light was 9.29 µg/mL, resulting in a photo-irritancy factor (PIF) of 19.9. As the PIF was >5 (threshold value) ZD6474 was considered to be phototoxic in the test system.	[redacted] Germany	TKU9 ([redacted])