ボンビバ錠100mg
（イバンドロン酸ナトリウム水和物）
［骨粗鬆症］

第2部（モジュール 2）

CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6 毒性試験の概要文

中外製薬株式会社

略語一覧

略語	英名	和名
A/G	Albumin/globulin	アルブミン/グロブリン
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the concentration-time curve	濃度－時間曲線下面積
BP	Bisphosphonate	ビスホスホネート
BUN	Blood urea nitrogen	血液尿素窒素
C_{max}	Maximum concentration	最高濃度
F1	First filial generation	第一世代
F2	Second filial generation	第二世代
FPPS	Farnesyl pyrophosphate synthase	ファルネシルピロリン酸合成酵素
GGT	Gamma-glutamyl transferase	γ-グルタミン酸転移酵素
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性試験の実施に関する基準
Hb	Hemoglobin	ヘモグロビン
HCT	Hematocrit	ヘマトクリット
LD_{50}	Median lethal dose	50%致死量
MCH	Mean corpuscular hemoglobin	平均赤血球ヘモグロビン量
MCV	Mean corpuscular volume	平均赤血球容積

目次

頁

2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 7
2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 7
2.6.6.3.1 ラットにおける 4 週間経口投与試験 7
2.6.6.3.2 ラットにおける 6 カ月間経口投与試験（自由摂餌） 7
2.6.6.3.3 ラットにおける 6 カ月間経口投与試験（制限給餌） 8
2.6.6.3.4 ラットにおける 1 年間経口投与試験 9
2.6.6.3.5 イヌにおける 4 週間経口投与試験 10
2.6.6.3.6 イヌにおける 6 カ月間経口投与試験 10
2.6.6.3.7 イヌにおける 1 年間経口投与試験 11
2.6.6.4 遺伝毒性試験 12
2.6.6.5 がん原性試験 12
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 12
2.6.6.6.1 ラットにおける雌雄生殖能試験（生後観察を含む） 12
2.6.6.6.2 ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（帝王切開試験） 13
2.6.6.6.3 ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（自然分娩試験） 13
2.6.6.6.4 ウサギにおける胎児器官形成期経口投与試験 14
2.6.6.6.5 ラットにおける周産期及び授乳期経口投与試験 14
2.6.6.7 局所刺激性試験 14
2.6.6.8 その他の毒性試験 15
2.6.6.9 考察及び結論 15
2.6.6.9.1 イバンドロン酸ナトリウム水和物の経口投与後の主な毒性発現臓器 15
2.6.6.10 図表 17
2.6.6.11 参考文献 17

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

イバンドロン酸ナトリウム水和物（以下，本薬）は，月1回静脈内投与製剤（以下，本薬注射剤）が骨粗鬆症を効能・効果として2013年6月に本邦で承認されている。本薬注射剤の製造販売承認申請（以下，承認申請）時に提出した毒性試験からは，以下の成績が得られている（本薬注射剤の承認申請時資料2.6.6参照）。

- 単回静脈内投与による LD_{50}は，マウスが47.8 mg/kg，ラットが30 mg/kg であり，イヌの概略の致死量は5 mg/kg より上であった。また，単回経口投与による LD_{50}はマウスが1494 mg/kg，ラットが811 mg/kg であった（イヌの概略の致死量はイバンドロン酸換算での重量表示，その他はイバンドロン酸ナトリウム水和物としての重量表示）。
- 本薬の反復静脈内投与毒性試験における主な毒性発現臓器は腎臓であり，動物種によらず毒性（近位尿細管の変性/壊死，尿細管拡張，遠位尿細管及び集合管の上皮過形成/肥大，BUN及びクレアチニンの増加など）が認められた。肝臓における変化（脂肪変性，空胞化，単細胞壊死など）は腎毒性が発現する用量よりも高用量で発現した。また，本薬の薬理作用に関連した変化（骨組織における軟骨内骨化領域の拡張，骨梁形成，血清カルシウム及び無機リンの減少など）及びその二次的変化（軽度の造血系の変化）が観察された。
- 遺伝毒性及びがん原性（経口投与）は陰性であった。
- ラット及びウサギを用いた静脈内投与による生殖発生毒性試験では，本薬に起因した催奇形性は認められなかったが，ラットでは母動物において血中カルシウム低下に起因したと考えられる分娩障害，それに関連した周産期の母動物の死亡及び出生児の生存率の低下が認められ，F1出生児において尿管及び腎盂拡張（内臓変異）の増加，下側切歯の損失あるいは位置異常が観察された。また，親動物で精子形成に対する影響（精子濃度減少及び異常形態精子の増加），交尾にいたるまでの日数の増加，黄体数の減少，着床前胚損失率の増加及び着床率の減少などがみられた。ウサギでは流産，着床後胚損失率の増加，生存胎児数及び胎児体重の減少などが観察された。
- 本薬の単回血管周囲及び単回皮下投与では，投与局所に炎症性浮腫，皮下組織の変化などが認められたが，単回静脈内投与では局所刺激性は認められなかった。

今回，本薬経口剤の承認申請を行うにあたり，ラット及びイヌを用いた強制経口投与（連日投与）による反復投与毒性試験並びにラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験の成績を示した。なお，イヌの1年間経口投与試験は，本薬注射剤の承認申請時資料として提出しているが，反復経口投与毒性試験の一部として概略を再掲した。

経口投与による反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験は，試験実施当時の主要規制当局（欧州医薬品委員会，米国食品医薬品局及び厚生省）の関連するガイドラインに準じて実施され，すべて GLP 適合下で実施した。

主要毒性試験一覧を表 2.6.6.1-1に示した。なお，毒性試験における本薬の重量は特に断りのない限りイバンドロン酸換算での重量表記を基本とし，塩を含む重量表記を併記した場合にはその旨を記載した。

反復投与毒性

本薬の反復経口投与毒性試験として，ラット及びイヌともに最長1年間までの経口投与毒性試験を実施した。ラットでは絶食の影響を検討するため，摂餌を自由摂餌又は制限給餌とした6カ月間経口投与毒性試験を実施した。反復経口投与毒性試験における主な毒性発現臓器は反復静脈内投与毒性試験と同様に腎臓であり，腎毒性が発現する用量と同じか，それ以上の高用

量で肝臓に変化が認められた。また，本薬の薬理作用に起因した骨組織の変化が全試験で観察され，ラットでは更に，歯の損失及び骨組織に対する影響の二次的変化（軽度の造血系の変化）がみられた。反復経口投与において特徴的に認められた所見は，一部の試験で観察された本薬の刺激性に起因する消化管及び呼吸器の変化であった。ラットの骨組織の病理組織学的変化を除く主な変化には回復又は回復傾向が認められた。

腎毒性：ラットでは，4週間経口投与試験の8.85 mg/kg/日で軽度の尿細管腎症が観察され，6カ月間経口投与試験（制限給餌）の10.13 mg/kg/日以上で尿細管の拡張，腫大，好塩基性変化，30.34 mg/kg/日でクレアチニンの増加，尿細管の壊死が認められた。また，1年間経口投与試験では，10 mg/kg/日以上で髄質尿細管上皮の肥大が認められた。イヌでは6カ月間経口投与試験の13 mg/kg/日で尿細管拡張，BUN，クレアチニンの増加，尿蛋白及び尿糖排泄の増加が認められた。また，1年間経口投与試験の5 mg/kg/日以上で尿細管上皮の過形成，好塩基性尿細管，10 mg/kg/日で尿細管拡張などが認められ，主に切迫殺例で BUN 及びクレアチニンが増加した。

肝毒性：ラットでは4週間経口投与試験の8.85 mg/kg/日で肝細胞壊死及び肝細胞の分裂像が認められた。イヌでは6カ月間経口投与試験の13 mg/kg/日で肝臓の脆弱化，1年間経口投与試験の10 mg/kg/日の切迫殺例で肝細胞空胞化及び肝小葉中心性の単細胞壊死などが認められた。

消化管毒性：ラットでは6カ月間経口投与試験（制限給餌）の30.34 mg/kg/日（主に死亡/切迫殺例）で胃の筋層に水腫様変性が認められた。イヌでは6カ月間経口投与試験の2及び13 mg/kg/日で食道における急性食道炎（ごく軽度～中等度）がみられ，更に13 mg/kg/日の切迫殺例で消化管への刺激性に関連した症状（嘔吐，赤色便）と食道の潰瘍が観察された。イヌ1年間経口投与試験でも10 mg/kg/日の切迫殺例で食道炎及び食道の糜爛などの消化管毒性がみられた。

呼吸器障害：ラット1年間経口投与試験の3 mg/kg/日以上で，肺における病理組織学的所見（肺組織中の微細顆粒，浮腫，肺炎など）から投与過誤（誤嚥）と判断された死亡例がみられ，投与薬液濃度に依存して増加していたことから投与薬液の刺激性に起因したものと推察された。イヌ6カ月間経口投与試験では2 mg/kg/日以上でごく軽度の気管炎，13 mg/kg/日の切迫殺例で気管支肺炎がみられ，1年間経口投与試験でも10 mg/kg/日の切迫殺例で気管支肺炎，気管支肺胞上皮の過形成などの呼吸器障害がみられた。

薬理作用に関連した変化：ラット及びイヌで，本薬の薬理作用に起因した骨組織の変化（軟骨内骨化領域の拡張，骨梁の拡張など）が各試験の全投薬群で認められ，しばしば，血清カルシウムないしは無機リンの減少を伴った。ラットでは更に，1年間経口投与試験の10 mg/kg/日以上の雄で歯の損失も観察された。また，骨組織に対する影響の二次的変化である造血系の変化（貧血を示唆する赤血球パラメータの変化，脾臓における髄外造血の増加など）が，ラット6カ月間（自由摂餌及び制限給餌）及び1年間経口投与試験の全投薬群で観察された。

生殖発生毒性

ラット雌雄生殖能試験（生後観察を含む）において，1 mg/kg/日以上で母動物に分娩障害が認められ，1 mg/kg/日及び4 mg/kg/日の各1例，16 mg/kg/日の4例が分娩日付近に死亡又は切迫殺された。帝王切開群の1 mg/kg/日以上で着床前胚損失率の増加による着床数の軽度減少が認められ，16 mg/kg/日で胎児体重が減少した。自然分娩群の16 mg/kg/日で黄体数，着床数及び生存出生児数などが減少し，着床後胚損失率が増加したが，F1出生児の発達・分化，生殖機能に薬物の影響は認められなかった。

ラット胎児器官形成期経口投与試験において，薬物に起因する催奇形性はみられなかった。帝王切開試験では，60 mg/kg/日以上の母動物で一般状態の悪化がみられ，60 mg/kg/日の 1例及び100 mg/kg/日の16例が死亡又は切迫殺された。100 mg/kg/日では一般状態の悪化に一致して妊娠期間中の体重が軽度に減少した。胎児体重に有意差はないものの，用量依存的な減少傾向がみられた。胎児の内臓検査では10 mg/kg/日以上で腎盂尿管拡張（内臓変異）が増加した。自然分娩試験（妊娠末期にカルシウム補充）では，分娩障害による母動物の死亡が6 mg/kg/日

以上で散見され，用量に依存した着床後胚損失率の増加と生存出生児数の減少がみられたが，いずれの投薬群においても母動物の体重，妊娠期間の長さ及びその他の子宮内検査項目に薬物の影響は認められなかった。また，F1出生児の発達・分化，生殖機能にも薬物の影響は認められなかった。

ウサギ胎児器官形成期経口投与試験では，一般状態の悪化から1 mg/kg/日以上で母動物が死亡した。これらの動物で出血を伴う肺浮腫及び腸炎が認められ，母動物の状態悪化/死亡はこれらに関連したものと推察された。母動物の生殖機能に投薬の影響はみられず，いずれの用量においても，胚・胎児毒性及び催奇形性はみられなかった。

ラット周産期及び授乳期経口投与試験では，5 mg/kg/日以上で分娩障害及びそれに関連した母動物の死亡が認められ，授乳4日目までに5 mg/kg/日では2例，20 mg/kg/日では5例が死亡した。また，5 mg/kg/日以上で着床後胚損失数が増加し，20 mg/kg/日ではF1出生児の出生後死亡数の増加もみられた。

表 2.6.6.1-1　イバンドロン酸ナトリウム水和物の主要毒性試験一覧表

試験項目	動物種	投与経路, 期間	投与量 (mg/kg/日)	試験成績 (mg/kg/日)	GLP 適合性
反復投与毒性					
	ラット	経口, 連日 4週間	0 (溶媒c), 0.88, 2.65, 8.85 (0, 1, 3, 10a)	無毒性量：2.65	適
	ラット	経口, 連日 6カ月間 (自由摂餌)	0 (溶媒d), 1.01, 3.04, 10.13	無毒性量：<1.01	適
	ラット	経口, 連日 6カ月間 (制限給餌)	0 (溶媒d), 10.13, 30.34	無毒性量：<10.13	適
	ラット	経口, 連日 1年間	0 (溶媒d), 3, 10, 20	無毒性量：<3	適
	イヌ	経口, 連日 4週間, カプセル投与	0 (プラセボe), 0.9, 2.69, 8.95 (0, 1, 3, 10b)	無毒性量：2.69	適
	イヌ	経口, 連日 6カ月間, カプセル投与	0 (カプセル), 2, 5, 13	無毒性量：5	適
	イヌf	経口, 連日 1年間, 錠剤投与	0 (プラセボ), 2, 5, 10	無毒性量：2	適
生殖発生毒性					
雌雄生殖能（生後観察を含む）	ラット	経口, 連日 雄:交配前60日～交配確認まで，雌:交配前14日～妊娠21日(帝王切開群)及び交配前14日～授乳21日(自然分娩群)	0 (溶媒d), 1, 4, 16	無毒性量 親動物の一般毒性：16 生殖機能: <1 F1胚・胎児：4 F1出生児：16	適
胎児器官形成期(帝王切開試験)	ラット	経口, 連日 妊娠6～15日	0 (溶媒d), 10, 30, 60, 100	無毒性量 母動物の一般毒性：10 生殖機能：60 F1胚・胎児：<10	適
胎児器官形成期(自然分娩試験)	ラット	経口, 連日 妊娠6～15日 (妊娠18日～授乳0日までカルシウム16 mg/kg を1日2回皮下投与)	0 (溶媒d), 6, 20, 60	無毒性量 母動物の一般毒性：60 生殖機能：<6 F1/F2出生児：60	適

試験項目	動物種	投与経路, 期間	投与量 （mg/kg/日）	試験成績 （mg/kg/日）	GLP 適合性
胎児器官形成期	ウサギ	経口, 連日 妊娠6～18日	0 (溶媒d), 1, 4, 20	無毒性量 母動物の生殖機能：20 F1胚・胎児：20	適
周産期及び授乳期	ラット	経口, 連日 妊娠17日～授乳21日	0 (溶媒d), 1, 5, 20	無毒性量 母動物：1 F1/F2出生児：20	適

a：イバンドロン酸ナトリウム水和物での重量表示, b：イバンドロン酸ナトリウムでの重量表示
溶媒；c：0.5%カルボキシメチルセルロース溶液（1% cremophor EL, 0.9% NaCl 含有），d：0.5%カルボキシメチルセルロース溶液，e：lactose K, microcrystalline cellulose, polyvinylpyrrolidone 25.00, cleaned water, sodium carboxymethyl starch, magnesium stearate 含有，f：本薬注射剤の承認申請時資料（4.2.3.2-7）として提出済み

2.6.6.2　単回投与毒性試験

該当資料なし。
（本薬注射剤の承認申請時に提出済み。）

2.6.6.3　反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

反復投与毒性試験として，ラット及びイヌを用いた4週間経口投与試験，6カ月間経口投与試験（ラットでは絶食の影響を検討するため，摂餌を自由摂餌又は制限給餌とした2試験を実施）及び1年間経口投与試験を実施し，いずれも連日投与とした。

なお，イヌを用いた1年間経口投与試験については本薬注射剤の承認申請時に既に提出しているが（本薬注射剤の承認申請時資料4.2.3.2-7），本薬経口剤の毒性評価にあたり概略を再掲する。

2.6.6.3.1　ラットにおける4週間経口投与試験

（資料番号4.2.3.2-1）

1群雌雄各10例の SD ラットに本薬を0（溶媒），0.88，2.65，8.85 mg/kg/日（イバンドロン酸ナトリウム水和物換算での投与量は1，3，10 mg/kg/日）の用量で4週間経口投与した。

投与量は本試験に先行して実施されていた薬理試験の成績を基に設定した。低用量（0.88 mg/kg/日）は薬効用量の10倍と推察される用量，高用量（8.85 mg/kg/日）は毒性が予想される用量とし，中用量（2.65 mg/kg/日）は低用量と高用量の対数平均を設定した。試験方法及び成績を表2.6.7.7-1に示した。

いずれの用量においても死亡例は認められなかった。血液学的検査及び血液生化学的検査では8.85 mg/kg/日の雄で分節核好中球数が増加し，0.88 mg/kg/日以上の雄で血清カルシウムが減少した。尿検査では8.85 mg/kg/日の雄で尿蛋白が増加した。病理組織学的検査では8.85 mg/kg/日で尿細管腎症（ごく軽度～軽度），肝細胞壊死（雄）及び肝細胞の分裂像がみられた。また，0.88 mg/kg/日以上で，薬理作用に基づく骨への影響（軟骨内骨化領域の拡張，緻密骨の拡張）が認められ，8.85 mg/kg/日では更に破骨細胞の活性低下がみられた。

本試験条件下における無毒性量は2.65 mg/kg/日と推定された（薬理作用に基づく骨組織の変化及び血清カルシウムの減少を除く）。

2.6.6.3.2　ラットにおける6カ月間経口投与試験（自由摂餌）

（資料番号4.2.3.2-2）

1群雌雄各30例の Wistar ラットに本薬を0（溶媒），1.01，3.04，10.13 mg/kg/日の用量で6カ月間経口投与した。各群雌雄各10例は13週間の回復試験に供した。本試験では餌を自由摂取とした。

投与量はラット4週間経口投与試験の成績を基に，高用量として10.13 mg/kg/日を設定し，以

下公比約3で3.04，1.01 mg/kg/日を中及び低用量に設定した。試験方法及び成績を表2.6.7.7.2-1に示した。

いずれの用量においても薬物に関連した死亡は認められず，一般症状の変化も認められなかった。10.13 mg/kg/日で体重増加が抑制され，摂餌量が軽度減少した。

血液学的検査では，3.04 mg/kg/日以上で赤血球系パラメータの変化（赤血球数，Hb の減少）が散見された。3.04 mg/kg/日以上の雌で赤血球分布幅が増加し，10.13 mg/kg/日の雄では更に分節核好中球比の増加，リンパ球比の減少傾向がみられた。プロトロンビン時間の軽度の短縮が1.01 mg/kg/日以上の雄で散見されたが用量との関連性はみられなかった。血液生化学的検査では，1.01 mg/kg/日以上で無機リンの減少及びクレアチンキナーゼの低値がみられ，3.04 mg/kg/日以上で塩素が増加した。

器官重量では，1.01 mg/kg/日以上で脾臓重量の増加傾向又は増加がみられ，1.01 mg/kg/日以上の雄で肝臓重量，3.04 mg/kg/日以上の雄で腎臓重量の減少がみられた。病理組織学的検査では，1.01 mg/kg/日以上で脾臓での髄外造血の増加が認められたが，肝臓及び腎臓には関連する病理組織学的所見は認められなかった。1.01 mg/kg/日以上では更に，薬理作用に基づく骨への影響（骨梁の拡張とそれに伴う骨髄腔の減少）が認められた。13週間の回復期間終了時においても，体重増加抑制，赤血球系パラメータの変化，プロトロンビン時間の短縮，クレアチンキナーゼ及び無機リンの減少，骨への影響，脾臓重量の増加や脾臓での髄外造血がみられたが，それ以外の変化には回復が認められた。

トキシコキネティクス試験では，投与26週における C_{max} の中央値は3.04 mg/kg/日で雄0.741及び雌0.335 ng/mL，10.13 mg/kg/日で雄3.637及び雌0.724 ng/mL であった。また，$AUC_{0\text{-}24h}$ の中央値は3.04 mg/kg/日で雄7.6及び雌4.4 ng·h/mL，10.13 mg/kg/日で雄18.8及び雌6.3 ng·h/mL であった。

本試験条件下における無毒性量は1.01 mg/kg/日未満と推定された。

2.6.6.3.3 ラットにおける6カ月間経口投与試験（制限給餌）

（資料番号4.2.3.2-3）

1群雌雄各30例の Wistar ラットに本薬を0（溶媒），10.13，30.34 mg/kg/日の用量で6カ月間経口投与した。各群雌雄各10例は13週間の回復試験に供した（30.34 mg/kg/日は雌4例のみ）。本試験では投薬期間中の摂餌を投与後2時間からおよそ10時間までに制限し（少ない場合で1日6時間），毒性発現における絶食の影響を検討した。

投与量はラットを用いた6カ月間経口投与試験（自由摂餌）同様，ラット4週間経口投与試験の成績を基に設定し，低用量として6カ月間経口投与試験（自由摂餌）と同じ，10.13 mg/kg/日を設定した。また，より高用量の毒性の確認のため，30.34 mg/kg/日を高用量に設定した。試験方法及び成績を表2.6.7.7.3-1に示した。

30.34 mg/kg/日の雄30例全例，雌22例が死亡で発見又は切迫殺され，薬物関連性と判断された。死亡/切迫殺例では沈静，円背位，蒼白，頭位傾斜，呼吸困難，非協調運動，削痩，脱水，切歯の破折，眼球の暗色化などが観察された。

体重/体重増加量及び摂餌量が10.13 mg/kg/日以上で減少した。

血液学的検査では10.13 mg/kg/日以上で赤血球系パラメータの変化（赤血球，Hb，HCT の減少，赤血球分布幅の増加），30.34 mg/kg/日でリンパ球比の減少傾向及び好中球比の増加傾向が認められた。血液生化学的検査では10.13 mg/kg/日以上で種々の電解質の変化（血清カルシウム及びカリウムの減少，ナトリウム及び塩素の増加），AST の増加及び ALP の減少，30.34 mg/kg/日でグルコース，アルブミン及び総蛋白質の減少，クレアチニン及び ALT の増加が認められた。尿検査では10.13 mg/kg/日以上で pH の低下などがみられた。

器官重量では10.13 mg/kg/日以上で脾臓及び腎臓重量の増加並びに肝臓重量の減少が認められた。剖検では30.34 mg/kg/日で腎臓の退色及び髄質の暗赤色化，胃の表面不整及び出血がみられた。病理組織学的検査では，10.13 mg/kg/日以上で腎臓に尿細管の拡張，腫大及び好塩基

性変化がみられ，30.34 mg/kg/日（主に死亡/切迫殺例）では更に，尿細管壊死，胃の筋層に水腫様変性が観察された。10.13 mg/kg/日以上で薬理作用に基づく骨への影響（骨梁の拡張）及び脾臓での髄外造血の増加がみられた。骨梁拡張の結果，骨髄腔では造血組織が減少した。13週間の回復期間終了時に，体重の減少，貧血傾向，血清カルシウムの減少，アルブミン及び総蛋白質の減少，脾臓での髄外造血の増加，及び骨の病理組織学的変化などが認められたものの，その他の変化には回復又は回復傾向がみられた。

トキシコキネティクス試験は，10.13 mg/kg/日のみで実施し，投与26週における C_{max} の中央値は雄24.4及び雌27.2 ng/mL，$AUC_{0\text{-}24h}$ の中央値は雄142.4及び雌79.3 ng·h/mL であった。本試験（6カ月間制限給餌試験）と6カ月間自由摂餌試験の曝露量及び毒性を10.13 mg/kg/日で比較したとき，自由摂餌に比べて制限給餌で曝露量が高くなり，それと一致して腎毒性が制限給餌において観察された。

本試験条件下における無毒性量は10.13 mg/kg/日未満と推定された。

2.6.6.3.4 ラットにおける1年間経口投与試験

（資料番号4.2.3.2-4）

1群雌雄各40例の SD ラットに本薬を0（溶媒），3，10，20 mg/kg/日の用量で1年間経口投与した。各群雌雄各5例は6カ月間の回復試験に供した。

投与量はラットを用いた6カ月間経口投与試験（自由摂餌：0, 1.01, 3.04, 10.13 mg/kg/日，制限給餌：0, 10.13, 30.34 mg/kg/日）及びラット14週間がん原性予備試験（0, 8.9, 17.8, 26.7, 35.6, 44.4 mg/kg/日，本薬注射剤の承認申請時資料）を基に設定した。試験方法及び成績を表2.6.7.7.4-1に示した。

投与期間及び回復期間を通して，対照群で雄3例，雌2例，3 mg/kg/日群で雄5例，雌4例，10 mg/kg/日群で雄7例，雌15例，20 mg/kg/日群で雄16例，雌14例が死亡した。3 mg/kg/日群の雄2例，20 mg/kg/日群の雄1例は剖検，病理組織学的検査で死因と推察される所見が認められなかったが，その他の動物の多くは肺における病理組織学的所見（肺組織中の微細顆粒，浮腫，肺炎など）から投与過誤（誤嚥）と判断した。投与過誤（誤嚥）例は用量（投与薬液濃度）に依存して増加し，投与薬液の刺激性に起因したものと推察された。その他，腫瘍，下顎骨骨折，脊柱脱臼による死亡が散見された。

主に10 mg/kg/日以上で喘鳴，被毛の悪化が認められ，飲水量が減少し，雄では更に体重増加抑制及び歯の損失がみられた。また，20 mg/kg/日の雄で摂餌量が減少した。

血液学的検査では，3 mg/kg/日以上で赤血球系パラメータの変化（赤血球及び HCT の減少，MCV の増加など），血小板数の減少，白血球百分率で顆粒球（好中球）の増加，リンパ球の減少などが認められた。これらの造血系の変化はいずれも対照群との比較において有意差が認められたものの，生理的変動内にあるごく軽度から軽度の変化であった。血液生化学的検査では，3 mg/kg/日以上で血清カルシウム及び無機リンの減少がみられた。

器官重量測定では，3 mg/kg/日以上で軽度の脾臓重量（絶対・相対重量）の増加が認められ，20 mg/kg/日の雄で腎臓の相対重量が増加した。病理組織学的検査では，3 mg/kg/日以上で脾臓の髄外造血の増加，10 mg/kg/日以上で腎臓の髄質尿細管上皮の肥大が認められた。また，薬理作用に基づく骨への影響（軟骨内骨化領域の拡張）が3 mg/kg/日以上で認められた。20 mg/kg/日の雄（生存例：8/19例，死亡例：1/16例）のみで大脳血管周囲に好塩基性小体が認められた。病理組織学的に更に検討した結果，好塩基性小体は PAS 染色陽性であり，ヒト及び動物で自然発生性にみられる脳の鉱質沈着の病理組織像と一致した[1)–5)]。好塩基性小体の認められた動物の脳には，その他の器質的傷害は認められず，一般症状に関連する変化も認められなかった。

投与終了時に認められた変化の多くに回復又は回復傾向が認められたが，大脳血管の好塩基性小体，脾臓の髄外造血及び骨組織の変化は回復期間終了時にも観察された。

トキシコキネティクス試験は先行して実施したラット6カ月間経口投与試験との比較のため，

10 mg/kg/日で実施した。50週目における10 mg/kg/日の C_{max} の中央値は雄5.99 ng/mL，雌5.79 ng/mL，$AUC_{0\text{-}24h}$ の中央値は雄34.99 ng·h/mL，雌45.70 ng·h/mL であった。

本試験条件下における無毒性量は3 mg/kg/日未満と推定された。

2.6.6.3.5 イヌにおける4週間経口投与試験

（資料番号4.2.3.2-5）

1群雌雄各4例のビーグル犬に本薬を0，0.9，2.69，8.95 mg/kg/日（イバンドロン酸ナトリウム換算での投与量は1，3，10 mg/kg/日）の用量で4週間経口（カプセル）投与した。

投与量は本試験に先行して実施されていた薬理試験の成績を基に設定した。5 mg/kg/日の8日間投与により軽度に体重が減少し，血清カルシウムの減少が認められた。15 mg/kg/日の15日間投与では投与5日目に1例が死亡した。これらの結果から，本試験においては高用量として8.95 mg/kg/日を設定し，以下公比約3で2.69，0.9 mg/kg/日を中及び低用量に設定した。試験方法及び成績を表2.6.7.7.5-1に示した。

いずれの用量においても死亡例は認められなかった。一般症状，体重，摂餌量，反射試験，心拍数，心電図，眼科学的検査，尿検査及び剖検に薬物に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査では8.95 mg/kg/日の雄で白血球数が増加した。血液生化学的検査では2.69 mg/kg/日以上で血清カルシウムが軽度減少し，8.95 mg/kg/日の雄2例でそれぞれ ALP 及び AST の増加が認められた。

器官重量では0.9 mg/kg/日以上の雄で脾臓及び腎臓の相対重量がごく軽度から軽度増加したが，組織学的な変化はみられなかった。病理組織学的検査では薬理作用に基づく骨への影響（軟骨内骨化領域の拡張）が0.9 mg/kg/日以上の全例で認められた。また，8.95 mg/kg/日の雌雄各1例では，それぞれ軟骨内骨化領域における限局性の亜急性炎症及び壊死が観察された。

本試験条件下における無毒性量は2.69 mg/kg/日と推定された（薬理作用に基づく骨組織の変化及び血清カルシウム減少を除く）。

2.6.6.3.6 イヌにおける6カ月間経口投与試験

（資料番号4.2.3.2-6）

1群雌雄各5例のビーグル犬に本薬を0，2，5，13 mg/kg/日の用量で6カ月間経口（カプセル）投与した。高用量を除く各群雌雄各1例は13週間の回復試験に供した。

投与量は予備的に実施した4週間経口投与試験の成績を基に設定した。この試験では30 mg/kg/日で腎毒性及び肝毒性が認められたが，10 mg/kg/日の毒性は軽度であったことから，高用量を13 mg/kg/日とし，低用量は試験実施時に推定した臨床用量の約3倍である2 mg/kg/日，中用量（5 mg/kg/日）は高用量及び低用量の対数平均とした。試験方法及び成績を表2.6.7.7.6-1に示した。

13 mg/kg/日で48～101日に雄5例，雌3例が一般状態の悪化から切迫殺された。

一般症状の変化は主に高用量である13 mg/kg/日の切迫殺例に認められ，雌雄で自発運動低下，脱水症状，蒼白，チアノーゼ，雄で消化管の刺激性に関連した症状（嘔吐，赤色便）などが認められた。これらの動物では種々の剖検及び病理組織学的所見が観察された。同群では更に，体重及び摂餌量が減少した。

血液学的検査では，13 mg/kg/日の主に切迫殺例で血液濃縮あるいは貧血を示唆する赤血球系パラメータ（赤血球，HCT，Hb，MCV，MCH）の変化などが認められた。血液生化学的検査では，2 mg/kg/日以上で無機リンの減少又は減少傾向がみられた。13 mg/kg/日で腎臓及び肝臓の障害に関連する変化が認められ，BUN，クレアチニン，ビリルビン，総脂質，総コレステロール，リン脂質，GGT などが増加（軽度から重度）した。また，血清鉄，カルシウム，ALP が減少（軽度から重度）し，蛋白質の電気泳動パターンに変動がみられた（アルブミン及び A/G 比の減少，α1, α2, γ-グロブリンの増加）。尿検査では13 mg/kg/日で尿蛋白の増加，尿糖排泄の増加が認められた。

剖検では，13 mg/kg/日で肺の退色/硬化/水様液含有，腎臓の結節，肝臓の脆弱化，肋軟骨接合部の肥厚などが認められた。器官重量では13 mg/kg/日の生存例で腎臓相対重量が軽度増加した。病理組織学的検査では，2 mg/kg/日以上で薬物の経口投与による軽度の局所刺激性を示唆する，気管炎（ごく軽度，各群1例のみ）及び急性食道炎（ごく軽度～中等度，2 mg/kg/日では1例のみ）が散見された。13 mg/kg/日の切迫殺例では更に，食道の潰瘍（中等度），気管支肺炎（重度）が認められた。また，同群では腎臓における尿細管の拡張（ごく軽度～中等度）がみられた。薬理作用に基づく骨への影響（骨髄腔内における骨梁の拡張）は2 mg/kg/日以上でみられ，5 mg/kg/日以上で骨髄腔内における間葉組織の沈着，13 mg/kg/日では肋軟骨での骨端軟骨幅の増加，骨髄の出血，壊死性変化などが観察された。

投与終了時に認められた変化は13週間の休薬後に回復を示した。

トキシコキネティクス試験では，2 mg/kg/日の投与26週における C_{max} の中央値は雄33.5，雌2.3 ng/mL，$AUC_{0\text{-}24h}$ の中央値は雄99.1，雌17.3 ng·h/mL であり，5 mg/kg/日の投与26週における C_{max} の中央値は雄295.4，雌6.3 ng/mL，$AUC_{0\text{-}24h}$ の中央値は雄611.8，雌93.9 ng·h/mL であった（13 mg/kg/日は致死量のため測定せず）。

本試験条件下における無毒性量は5 mg/kg/日（薬理作用に基づく骨組織の変化及び物性に依存した局所刺激性変化である軽度の急性食道炎，気管炎を除く）と推定された。

2.6.6.3.7　イヌにおける1年間経口投与試験

（本薬注射剤の承認申請時資料4.2.3.2-7）

1群雌雄各5～6例のビーグル犬に本薬を0，2，5，10 mg/kg/日で1年間経口（錠剤）投与した。試験に使用した動物の月齢は平均6カ月齢であったが，本薬の骨組織に対する影響を確認するため，5 mg/kg/日を除く各群には骨端が閉鎖した成熟動物（21～22カ月齢）雌雄各1例（5 mg/kg/日は雄1例のみ）を含めた。6カ月間の回復試験として各群雌雄各2例を設置した。

投与期間中10 mg/kg/日の雄1例及び雌2例が投与 268～330日に一般状態の悪化から切迫殺された。また，回復期間1週目（投与370日）に同群雄1例が死亡した。

10 mg/kg/日の死亡/切迫殺例で食欲不振，無関心，嘔吐，削痩などが認められ，体重増加が抑制された。同群の生存例でも嘔吐が観察され，摂餌量減少（雌）及びごく軽度の体重増加抑制（雌雄）がみられた。

血液学的検査において，10 mg/kg/日の雄で赤血球沈降速度が亢進し，雄1例で赤血球系パラメータ（赤血球，Hb，HCT）が減少した。血液生化学的検査において，10 mg/kg/日の雄で AST がごく軽度増加し，主に切迫殺例でクレアチニン及び BUN の増加がみられた。また，2 mg/kg/日以上でごく軽度から軽度血清カルシウム及び無機リンが減少した。

器官重量測定において，10 mg/kg/日の雌で腎臓重量が軽度増加した。剖検において主に切迫殺例で，腎臓及び肝臓の変色，消化管に刺激性を示唆する所見などが観察された。また，5 mg/kg/日以上で肋骨軟骨部における結節性変化が認められた。病理組織学的検査において，5 mg/kg/日以上で腎臓の髄質外帯の尿細管上皮の過形成，巣状の好塩基性尿細管，間質への細胞浸潤，尿細管腎症などが，10 mg/kg/日では更に，皮質の尿細管上皮の肥大，尿細管拡張などが観察された。切迫殺例ではこれらの変化に加えて，肝臓に肝細胞空胞化，肝小葉中心部に単細胞壊死，類洞拡張などが，一般状態の悪化に関連した変化として精巣及び胸腺に萎縮が，本薬の刺激性に起因した変化として肺に巣状壊死を伴う気管支肺炎，気管支肺胞上皮の過形成，食道に食道炎及び糜爛などが認められた。2 mg/kg/日以上で長骨の軟骨内骨化領域の拡張が認められたが，投与開始時に骨端が閉鎖していた成熟動物では軟骨内骨化領域の拡張は観察されなかった。5 mg/kg/日以上では成熟動物も含めて骨梁形成及び肋軟骨接合部の伸張がみられ，若齢動物では，急激な肋骨の伸張の結果として，骨基質の壊死及びそれに対する反応性仮骨形成，間隙形成が観察された。これらの群では更に，骨髄に浮腫，出血を伴う線維化などが認められた。これらの所見のうち，骨組織に対する影響は6カ月間の休薬後にも認められたが，その他の所見には回復又は回復傾向が認められた。

トキシコキネティクス試験は2及び5 mg/kg/日で実施し，51週における C_{max} の中央値（雄と雌を合わせた値）は2 mg/kg/日で14.8 ng/mL，5 mg/kg/日で148.5 ng/mL，$AUC_{0\text{-}24h}$ の中央値（雄と雌を合わせた値）は2 mg/kg/日で89.2 ng·h /mL，5 mg/kg/日で381.7 ng·h /mL であった。

本試験条件下における無毒性量は2 mg/kg/日（薬理作用に関連した骨組織の変化並びに血清カルシウム及び無機リンの減少を除く）と推定された。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

該当資料なし。

（本薬注射剤の承認申請時に提出済み。）

2.6.6.5　がん原性試験

該当資料なし。

（本薬注射剤の承認申請時に提出済み。）

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験として，ラットを用いた雌雄生殖能試験（生後観察を含む），ラット及びウサギを用いた胎児器官形成期経口投与試験及びラットを用いた周産期及び授乳期経口投与試験を実施した。ラット胎児器官形成期経口投与試験では帝王切開試験と自然分娩試験を実施した。

2.6.6.6.1　ラットにおける雌雄生殖能試験（生後観察を含む）

（資料番号4.2.3.5.1-1）

1群雌雄各30例のラットに本薬を0（溶媒），1，4，16 mg/kg/日の用量で経口投与した。投与期間は雄では交配前60日から交配確認まで，雌では交配前14日から帝王切開群は妊娠21日，自然分娩群は授乳21日までとした。交配確認日を妊娠0日とし，帝王切開は妊娠21日に実施した。

投与量はラット6カ月間経口投与試験（制限給餌）の結果を基に設定した。この試験では，30.34 mg/kg/日で死亡が発現したが，10.13 mg/kg/日では軽度の毒性が認められたのみであり，投与13週目においては体重の減少もごく軽度であった。以上より，本試験では投与期間が12週間までであることも考慮し，高用量を16 mg/kg/日，低用量を薬理作用が発現する1 mg/kg/日に設定し，中用量は幾何平均である4 mg/kg/日とした。試験方法及び成績を表2.6.7.12.1-1に示した。

雌雄親動物では，交配前の投与期間の一般症状観察及び体重，交配に至る期間に投薬による影響はみられなかった。

1 mg/kg/日以上で妊娠期間中の母動物の体重が対照群と比較してわずかに減少した。更に，1 mg/kg/日以上で分娩障害が認められ，1 mg/kg/日及び4 mg/kg/日の各1例，16 mg/kg/日の4例が分娩日付近に死亡又は切迫殺された。その他，16 mg/kg/日の1例が妊娠17日に死亡したが，この動物では死亡前に一般症状の変化はみられなかった。分娩障害は本薬の薬理作用により骨からのカルシウム吸収が阻害された結果，血中カルシウムが低下したことに起因すると推察された。帝王切開群では，1 mg/kg/日以上で着床前胚損失率の増加による着床数の軽度減少が認められた。16 mg/kg/日の母動物1例では全胎児で呼吸が確認されなかった。また，同群で胎児体重が減少した。自然分娩群の16 mg/kg/日では母動物1例で全出生児の死亡が認められた。同群で黄体数，着床数及び生存出生児数が有意に減少し，着床後胚損失率が有意に増加した。しかし，出生児の発達・分化，生殖機能に薬物の影響は認められなかった。

帝王切開群及び自然分娩群ともに，いずれの用量においても催奇形性を示唆する所見は認められなかった。

以上，本試験条件下において，親動物の一般毒性に対する無毒性量は16 mg/kg/日，生殖機能

に対する無毒性量は1 mg/kg/日未満，胚・胎児の発生に関する無毒性量は4 mg/kg/日，出生児（F1出生児）の発達に関する無毒性量は16 mg/kg/日と推察された。

2.6.6.6.2 ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（帝王切開試験）

（資料番号4.2.3.5.2-1）

1群各18～24例の妊娠ラットに本薬を0（溶媒），10，30，60，100 mg/kg/日の用量で妊娠6～15日に経口投与した。交配確認日を妊娠0日とし，帝王切開は妊娠21日に実施した。

投与量はラット胎児器官形成期経口投与用量設定試験（自然分娩試験：0，10，20，40 mg/kg/日，資料番号4.2.3.5.2-2），ラット4週間及び6カ月間経口投与試験の結果を基に設定した。胎児器官形成期経口投与用量設定試験では，周産期における低カルシウム血症により，全投薬群で母動物が死亡した。このため，本試験では自然分娩群を設置しなかった。4週間及び6カ月間経口投与試験の成績を参考にして高用量を100 mg/kg/日とし，低用量は薬効用量の約10倍と推察される10 mg/kg/日に，中用量として薬理作用は認められるが，毒性発現がないと推察される30 mg/kg/日を設定した。試験開始後，100 mg/kg/日では毒性によりほとんどの母動物が死亡したため，60 mg/kg/日を追加した。試験方法及び成績を表2.6.7.13.1-1に示した。

100 mg/kg/日では16例が死亡又は一般状態の悪化から切迫殺され，一般状態の悪化に一致して妊娠期間中の体重が軽度減少した。60 mg/kg/日では4例で一般状態が悪化し，うち1例が切迫殺された。30 mg/kg/日では肛門生殖器部及び鼻付近の被毛の汚れが散見された。妊娠21日の血液生化学的検査では，60 mg/kg/日で無機リンの減少，クレアチニン及び BUN の増加が認められ，10 mg/kg/日以上で用量に依存して血清カルシウムが減少した。なお，100 mg/kg/日は生存母動物数が少なく，血液生化学的パラメータの十分な評価ができなかった。子宮内検査（着床数，着床後胚損失数，生存/死亡胎児数，性比）に薬物の影響は認められなかった。胎児体重に有意差はないものの，用量依存的な減少傾向がみられた。内臓検査では10 mg/kg/日以上で腎盂尿管拡張（内臓変異）が増加し，その結果，内臓変異出現頻度が10及び60 mg/kg/日で有意に増加したが，催奇形性を示唆する所見は認められなかった。

以上，本試験条件下において，母動物の一般毒性に対する無毒性量は10 mg/kg/日，生殖機能に対する無毒性量は60 mg/kg/日，胚・胎児の発生に関する無毒性量は10 mg/kg/日未満と推察された。

2.6.6.6.3 ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（自然分娩試験）

（資料番号4.2.3.5.2-3）

1群各11～15例の妊娠ラットに本薬を0（溶媒），6，20，60 mg/kg/日の用量で妊娠6～15日に経口投与した。交配確認日を妊娠0日とし，母動物は授乳期間終了時に剖検した。また，全群にボログルコン酸カルシウム（カルシウムとして16 mg/kg）を妊娠18日から授乳0日まで1日2回皮下投与した。

投与量はラット胎児器官形成期経口投与用量設定試験（自然分娩試験：0，50，70 mg/kg/日，資料番号4.2.3.5.2-4）の結果を基に設定した。この用量設定試験では，周産期における低カルシウム血症に起因する分娩障害を回避する目的でボログルコン酸カルシウムが投与された。ボログルコン酸カルシウム（カルシウムとして16 mg/kg）を妊娠18日から授乳0日まで1日2回皮下投与したとき，イバンドロン酸 70 mg/kg/日投与における分娩障害が軽減した。これより，本試験はボログルコン酸カルシウムを投与するレジメンにて，高用量を60 mg/kg/日に設定し，低用量は薬効用量の約6倍と推察される6 mg/kg/日に，中用量は20 mg/kg/日に設定した。試験方法及び成績を表2.6.7.13.2-1に示した。

分娩障害による母動物の死亡は6 mg/kg/日以上で散見された（6，20，60 mg/kg/日で各1例：妊娠22又は23日）。また，60 mg/kg/日の1例が瀕死状態から妊娠19日に切迫殺された（全胎児が子宮内で死亡）。用量に依存した着床後胚損失率の増加と生存出生児数の減少がみられたが，母動物の体重，妊娠期間の長さ及びその他の子宮内検査項目に薬物の影響は認められなかった。

出生児（F1出生児）に薬物投与に起因する催奇形性はみられず，発達・分化の遅延及び異常は観察されなかった。また，F1出生児の生殖機能にも薬物の影響は認められなかった。

以上，本試験条件下において，母動物の一般毒性に対する無毒性量は60 mg/kg/日，生殖機能に対する無毒性量は6 mg/kg/日未満，F1出生児及び F2出生児の発生に関する無毒性量は60 mg/kg/日と推察された。

2.6.6.6.4 ウサギにおける胎児器官形成期経口投与試験

（資料番号4.2.3.5.2-5）

1群各15～17例の妊娠ウサギに本薬を0（溶媒），1，4，20 mg/kg/日の用量で妊娠6～18日に経口投与し，妊娠29日に帝王切開した。人工授精日を妊娠0日とした。

投与量はウサギ胎児器官形成期経口投与用量設定試験（0，3，10，30 mg/kg/日，資料番号4.2.3.5.2-6）を基に設定した。この試験では， 30 mg/kg/日で母動物の体重及び摂餌量が顕著に減少し，1例が死亡した。これより，高用量として何らかの毒性が推察される20 mg/kg/日を，低用量として無毒性量と推察される1 mg/kg/日を設定した。また，中用量は幾何平均である4 mg/kg/日とした。試験方法及び成績を表2.6.7.13.3-1に示した。

1，4，20 mg/kg/日で各々2，4，6例の母動物が死亡し，これらの動物で出血を伴う肺浮腫及び腸炎が認められた。一般症状観察，剖検所見及び用量設定試験成績等から死亡原因は，局所刺激性を有する本薬が誤投与により肺に流入したことによる肺組織への障害，又は対照群にもみられた腸炎によって示唆される内毒素血症の発現，あるいはその両方によるものと考えられた。

母動物の生殖機能に投薬の影響はみられず，いずれの用量においても，胚・胎児毒性及び催奇形性はみられなかった。

以上，本試験条件下において，母動物の生殖機能に対する無毒性量は20 mg/kg/日，胚・胎児の発生に関する無毒性量は20 mg/kg/日と推察された。

2.6.6.6.5 ラットにおける周産期及び授乳期経口投与試験

（資料番号4.2.3.5.3-1）

1群各23～25例の妊娠ラットに本薬を0（溶媒），1，5，20 mg/kg/日の用量で妊娠17日～授乳21日に経口投与した。交配確認日を妊娠0日とした。

投与量はラット6カ月間経口投与試験（制限給餌）の結果を基に設定した。この試験では，30.34 mg/kg/日は致死量であったが，10.13 mg/kg/日では軽度の毒性が認められたのみであった。これより，高用量に何らかの毒性は認められるが死亡発現がないと推察される20 mg/kg/日を，低用量に薬効用量である1 mg/kg/日を設定した。中用量は高用量と低用量の幾何平均である5 mg/kg/日とした。試験方法及び成績を表2.6.7.14-1に示した。

妊娠期間中（妊娠21日まで），母動物の体重，摂餌量及び一般症状観察に薬物の影響は認められなかった。授乳4日目までに5 mg/kg/日以上で分娩障害及びそれに関連した母動物の死亡（5 mg/kg/日で2例，20 mg/kg/日で5例）がみられ，20 mg/kg/日では F1出生児の出生後死亡数も増加した。また，5 mg/kg/日以上で着床後胚損失数が増加した。

授乳期間中，5 mg/kg/日以上で母動物の摂餌量が減少したが，F1出生児の生存率，発育分化，行動及び生殖機能に薬物の影響は認められなかった。また，出生児（F1及び F2）に対する催奇形性作用はみられなかった。

以上，本試験条件下において，母動物の無毒性量は1 mg/kg/日，F1出生児及び F2出生児の発生/発育に関する無毒性量は20 mg/kg/日と推察された。

2.6.6.7 局所刺激性試験

本薬の臨床投与経路は経口であることから該当なし。

2.6.6.8 その他の毒性試験

該当なし。

2.6.6.9 考察及び結論

ビスホスホネート（BP）系薬剤は骨に対しては高親和性を示すが，分子極性が高いことから，排泄器官である腎臓を除き，他の軟組織への分布は少ない。BP 系薬剤の主たる毒性発現臓器は腎臓（尿細管）である。BP 系薬剤は糸球体及び尿細管分泌により排泄されるが，この排泄経路において，尿細管上皮細胞内に取り込まれ，細胞内の代謝（メバロン酸経路の主要酵素である FPPS）を阻害するため，尿細管上皮に毒性が認められると考えられる。一方，腎臓以外の組織で認められる毒性は，BP 系薬剤と多価陽イオンとの複合体の取り込みに関連していると考えられる。破骨細胞のみならず，貪食細胞（脾臓，肝臓のマクロファージなど）も BP 系薬剤の複合体を取り込むことが推察されており，貪食細胞中に取り込まれた薬剤により細胞内代謝が阻害された結果，毒性が発現するものと推察される（本薬注射剤の承認申請時資料2.6.6.9.1参照）。

2.6.6.9.1 イバンドロン酸ナトリウム水和物の経口投与後の主な毒性発現臓器

本薬の反復経口投与により認められた毒性のうち，腎毒性と肝毒性は静脈内投与時にもみられている。経口投与においても腎毒性は動物種にかかわらずみられ，腎毒性が発現する用量と同じか，それ以上の高用量で肝臓に変化が認められた。更に，静脈内投与時同様，すべての反復投与毒性試験の全投薬群で，本薬の薬理作用（破骨細胞の機能抑制）に起因する骨組織の変化（軟骨内骨化領域の拡張，骨梁の拡張など）が観察され，しばしば，血清カルシウムないしは無機リンの減少を伴った。また，ラットでは歯の損失及び薬理作用の二次的変化として造血系の変化（貧血，髄外造血など）がみられた。反復経口投与において特徴的に認められた毒性は本薬の刺激性に起因する消化管及び呼吸器の変化であり，主に致死量で観察された。

ラット及びイヌの反復経口投与試験では13週間（6カ月間経口投与試験）あるいは6カ月間（1年間経口投与試験）の回復期間を設定して，毒性試験で認められた変化の回復性を検討した。その結果，ラットの骨の病理組織学的変化を除く主な変化には回復又は回復傾向が認められた。ラットでは骨の病理組織学的変化には明らかな回復傾向はみられなかったが，これは本薬の骨における半減期が長く（440～500日），6カ月間の回復期間終了時においても薬理作用が持続していたためと考えられた。

(1) 腎毒性

腎臓における毒性発現部位は尿細管であった。ラットでは3 mg/kg/日を1年間まで経口投与したとき腎臓に対する影響は認められなかった。4週間経口投与試験の8.85 mg/kg/日で軽度の尿細管腎症が観察され，6カ月間経口投与試験（制限給餌）の10.13 mg/kg/日以上で腎尿細管の拡張，腫大，好塩基性変化，30.34 mg/kg/日でクレアチニンの増加，尿細管の壊死が認められた。また，1年間経口投与試験の10 mg/kg/日以上で髄質尿細管上皮の肥大がみられた。イヌでは4週間経口投与試験の8.95 mg/kg/日まで腎臓に対する影響は認められなかった。6カ月間経口投与試験の13 mg/kg/日で腎尿細管拡張などが認められ，1年間経口投与試験の5 mg/kg/日以上で腎髄質尿細管上皮の過形成，好塩基性尿細管，10 mg/kg/日で尿細管拡張などが認められた。また，主に10 mg/kg/日の切迫殺例で BUN 及びクレアチニンが増加した。このように，本薬の腎毒性はラットでは10 mg/kg/日付近から，イヌでは5 mg/kg/日付近から認められた。

(2) 肝毒性

ラットでは，4週間経口投与試験の8.85 mg/kg/日で肝細胞壊死及び肝細胞の分裂像が認められた。イヌでは，6カ月間経口投与試験の13 mg/kg/日で肝臓の脆弱化，1年間経口投与試験の10 mg/kg/日の切迫殺例で肝細胞空胞化及び肝小葉中心性の単細胞壊死などが認められた。肝毒性はラット，イヌともに腎毒性が認められる用量と同じか，より高用量で発現した。

(3) 消化管毒性

ラットにおいて，1年間経口投与試験の20 mg/kg/日まで消化管に薬物の影響はみられなかったが，6カ月間経口投与試験（制限給餌）の30.34 mg/kg/日の死亡/切迫殺例で胃の筋層に水腫様変性が認められた。イヌにおいて，6カ月間経口投与試験の2 mg/kg/日以上（2 mg/kg/日は1例のみ）で急性食道炎（ごく軽度～中等度）がみられ，13 mg/kg/日の切迫殺例では消化管への刺激性に関連した症状（嘔吐，赤色便）と食道の潰瘍（中等度）が観察された。1年間経口投与試験では10 mg/kg/日の切迫殺例で食道炎及び食道の糜爛などがみられた。このように，消化管毒性は主に致死量で観察された。消化管毒性は他の BP 系薬剤の経口投与でも報告されている。BP 系薬剤は刺激性を有しており，薬物が直接消化管に接触することにより消化管粘膜が傷害され，消化管毒性が発現すると推察されている[6),7)]。

(4) 呼吸器障害

ラットでは，1年間経口投与試験の3 mg/kg/日以上で，病理組織学的所見（肺組織中の微細顆粒，浮腫，肺炎など）から投与過誤（誤嚥）と判断された死亡が認められた。投与過誤による死亡は用量（投与薬液濃度）に依存して増加したことから，投与薬液の刺激性に起因したものと推察された。イヌでは， 6カ月間経口投与試験の2 mg/kg/日以上（各群1例のみ）でごく軽度の気管炎が散見され，薬物の刺激性に関連して発現したものと考えられた。気管支肺炎は致死量でのみ観察され，6カ月間経口投与試験の13 mg/kg/日，1年間経口投与試験の10 mg/kg/日で認められた。1年間経口投与試験の10 mg/kg/日では更に，気管支肺胞上皮の過形成が認められた。他の BP 系薬剤でも呼吸器障害は薬物の刺激性に関連して発現することが報告されている[8)]。

(5) 薬理作用に関連した変化

本薬の静脈内投与試験同様，薬理作用（破骨細胞の機能抑制）に関連した変化が認められた。

薬理作用に起因した変化（軟骨内骨化領域の拡張，骨梁の拡張などの骨組織における変化）は，動物種にかかわらず，反復経口投与毒性試験の全投薬群で認められ，しばしば血清カルシウムないしは無機リンの減少を伴った。しかし，正常な血中カルシウム調整機能を有する動物を用いた本薬の反復経口投与毒性試験では，血清カルシウムの低下はみられたものの，致死量においても低カルシウム血症は認められなかった。

更に，ラットでは1年間経口投与試験の10 mg/kg/日以上の雄で歯の損失も観察された。本薬の静脈内投与によるラット周産期及び授乳期投与試験（本薬注射剤の承認申請時資料2.6.6.6.5）においても，離乳後の F1児で下側切歯の損失あるいは位置異常が認められた。アレンドロン酸ナトリウム水和物のラット13週間反復経口投与試験で切歯の短小化が報告されており[9)]，歯に対する影響は BP 系薬剤の薬理作用に起因した変化と推察された。なお，本薬ではイヌにおいて歯の変化は観察されなかった。

成熟動物においても長骨の長軸方向への成長が続いているラットでは，本薬の反復経口投与により，薬理作用に関連した二次的変化（骨髄腔の減少の結果として，赤血球数，Hb 及び HCT の減少，髄外造血の増加，脾臓重量の増加）が観察された。

(6) 生殖発生毒性

ラット及びウサギを用いた経口投与による生殖発生毒性試験では，静脈内投与同様，分娩障害，それに関連した母動物の周産期死亡及び出生児の生存率低下，着床前及び着床後胚損失率の増加，黄体数/着床数の減少，生存出生児数の減少，胎児体重の減少，胎児における腎盂尿管拡張（内臓変異）の増加などが認められたが，催奇形性を示唆する所見はみられなかった。

ラット雌雄生殖能試験（生後観察を含む）の1 mg/kg/日以上，ラット胎児器官形成期経口投与試験（自然分娩試験）の6 mg/kg/日以上，並びにラット周産期及び授乳期経口投与試験の5 mg/kg/日以上で分娩障害が認められた。また，それに関連して母動物の周産期死亡が増加し，出生児の生存率が低下した。分娩障害は他の BP 系薬剤でも報告されており，薬理作用に関連して血中カルシウムが低下した結果と考えられる（本薬注射剤の承認申請時資料2.6.6.9.2(6)）。

更に，ラット雌雄生殖能試験（生後観察を含む）では，帝王切開群の1 mg/kg/日以上で着床前胚損失率の増加，着床数の減少が認められ，16 mg/kg/日で胎児体重が減少した。また，自然分娩群の16 mg/kg/日で黄体数，着床数及び生存出生児数の減少，着床後胚損失率の増加がみられた。ラット胎児器官形成期経口投与試験（自然分娩試験）においても用量に依存した着床後胚損失率の増加及び生存出生児の減少が認められた。

ラット胎児器官形成期経口投与試験（帝王切開試験）では，10 mg/kg/日以上で腎盂尿管拡張（内臓変異）の増加が観察された。腎盂尿管拡張の原因としては BP 系薬剤に共通して認められる腎毒性あるいは発達遅延の可能性が考えられている（本薬注射剤の承認申請時資料2.6.6.9.2(6)）。

ウサギ胎児器官形成期経口投与試験では，一般状態の悪化から1 mg/kg/日以上で母動物の死亡が認められたが，局所刺激性を有する本薬が誤投与により肺に流入したことによる肺組織への障害，又は対照群にもみられた腸炎によって示唆される内毒素血症の発現，あるいはその両方によるものと考えられた。いずれの用量においても母動物の生殖機能及び胚・胎児に対する影響はみられなかった。

以上，本薬の経口投与により認められた毒性の多くは，静脈内投与によって認められた毒性と同様であった。経口投与において特徴的に認められた毒性は，本薬の刺激性に起因する消化管毒性及び呼吸器障害であったが，これらの毒性は他の BP 系薬剤の経口投与で報告されているものであった。

2.6.6.10　図表

図表は本文中に挿入した。

2.6.6.11　参考文献

1) Murphy MJ. Clinical correlations of CT scan-detected calcifications of the basal ganglia. Ann Neurol 1979;6:507-11.
2) Yanai T, Masegi T, Ueda K, Manabe J, Teranishi M, Takaoka M, et al. Vascular mineralization in the monkey brain. Vet Pathol 1994;31:546-52.
3) Morgan KT, Johnson BP, Frith CH, Townsend J. An ultrastructural study of spontaneous mineralization in the brains of aging mice. Acta Neuropathol (Berl) 1982;58: 120-4.
4) Yanai T, Masegi T, Ueda K, Manabe J, Teranishi M, Takaoka M, et al. Spontaneous globoid mineralization in the cerebellum of rats. J Comp Path 1993;109:447-51.
5) Burek JD. Pathology of aging rats. CRC Press Inc., West Palm beach, FL, 1978, p139-44.
6) Elliott SN, McKnight W, Davies NM, MacNaughton WK, Wallance JL. Alendronate induces gastric

injury and delays ulcer healing in rodents. Life Sci 1998;62:77-91.

7） Wallace JL, Dicay M, McKnight W, Bastaki S, Blank MA. N-bisphosphonates cause gastric epithelial injury independent of effects on the microcirculation. Aliment Pharmacol Ther 1999;13:1675-82.

8） Motoie H, Okazaki A, Kanoh H, Shikama H, Fujikura T. Increase of bone mass and mechanical strength in rats after treatment with a novel bisphosphonate, YM175, for two years. Pharmacol Toxicol 1997;81:42-7.

9） 金谷浩，松澤景子，伊澤義弘，末武和己，那須雄三，神村英利 他. アレンドロネートの毒性研究（第2報）－ラットにおける13週間反復投与毒性試験－. 基礎と臨床 1994;28:3244-84.

ボンビバ錠100mg
（イバンドロン酸ナトリウム水和物）
［骨粗鬆症］

第2部（モジュール 2）

CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.7 毒性試験概要表

中外製薬株式会社

略語一覧

略語	英名	和名
A/G ratio	Albumin/globulin ratio	アルブミン/グロブリン比
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
anm	animal	動物
AST	Aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the concentration time curve	濃度－時間曲線下面積
b.m.	Before mating	交配前
BUN	Blood urea nitrogen	血液尿素窒素
BW	Body weight	体重
C_{max}	Maximum concentration	最高濃度
CL	Corpus luteum	黄体
ECG	Electrocardiogram	心電図
F	Female	雌
F0	-	親世代
F1	First filial generation	第一世代
F2	Second filial generation	第二世代
GGT	Gamma-glutamyl transferase	γ-グルタミン酸転移酵素
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性試験の実施に関する基準
Hb	Hemoglobin	ヘモグロビン
HCT	Hematocrit	ヘマトクリット
IS	Implantation site	着床部位
M	Male	雄
MCH	Mean corpuscular hemoglobin	平均赤血球ヘモグロビン量
MCV	Mean corpuscular volume	平均赤血球容積
NA	Not applicable	適用なし
ND	Not done	実施せず
p.c.	Post coitum	交尾後
p.o.	Per os (oral)	経口
p.p.	Postpartum	出産後
RBC	Red blood cell	赤血球
RDW	Red cell distribution width	赤血球分布幅
RPU	Renal pelvis ureter syndrome	腎盂尿管症候群
SD	Standard deviation	標準偏差
SEM	Standard error of the mean	標準誤差
WIST	Wistar	−

目次

頁

2.6.7 毒性試験概要表 4
2.6.7.1 毒性試験一覧表 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 7
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧表 8
2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧表 9
2.6.7.5 単回投与毒性試験 11
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 11
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 12
2.6.7.7.1 ラットにおける 4 週間経口投与試験 12
2.6.7.7.2 ラットにおける 6 カ月間経口投与試験（自由摂餌） 14
2.6.7.7.3 ラットにおける 6 カ月間経口投与試験（制限給餌） 19
2.6.7.7.4 ラットにおける 1 年間経口投与試験 26
2.6.7.7.5 イヌにおける 4 週間経口投与試験 31
2.6.7.7.6 イヌにおける 6 カ月間経口投与試験 34
2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験 43
2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験 43
2.6.7.10 がん原性試験 43
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 44
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する経口投与試験 45
2.6.7.12.1 ラットにおける雌雄生殖能試験（生後観察を含む） 45
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する経口投与試験 49
2.6.7.13.1 ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（帝王切開試験） 49
2.6.7.13.2 ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（自然分娩試験） 53
2.6.7.13.3 ウサギにおける胎児器官形成期経口投与試験 56
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する経口投与試験 59
2.6.7.15 新生児を用いた試験 61
2.6.7.16 局所刺激性試験 61
2.6.7.17 その他の毒性試験 61

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験一覧表

表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧表

Test Article: Ibandronate

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity								
4-week	Rat, Sprague-Dawley	p.o.	4-week	0, 0.88, 2.65, 8.85 [b] (0, 1, 3, 10[a])	Yes	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	G1	4.2.3.2-1
6-month (feed ad libitum)	Rat, Wistar	p.o.	26-week (13-week recovery)	0, 1.01, 3.04, 10.13 [b]	Yes	[redacted], The Netherlands	H3	4.2.3.2-2
6-month (restricted feeding)	Rat, Wistar	p.o.	26-week (13-week recovery)	0,10.13, 30.34 [b]	Yes	[redacted], The Netherlands	H1	4.2.3.2-3
1-year	Rat, Sprague-Dawley	p.o.	12-month (6-month recovery)	0, 3, 10, 20 [b]	Yes	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	H4	4.2.3.2-4
4-week	Dog, beagle	p.o. (capsule)	4-week	0, 0.9, 2.69, 8.95 [b] (0, 1, 3, 10 [c])	Yes	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	G3	4.2.3.2-5
6-month	Dog, beagle	p.o. (capsule)	26-week (13-week recovery)	0, 2, 5, 13 [b]	Yes	[redacted], Switzerland	H2	4.2.3.2-6

a: Doses expressed as ibandronate $Na.H_2O$; b: Doses expressed as the free acid equivalent; c Doses expressed as ibandronate Na

[redacted]

表 2.6.7.1-1　毒性試験一覧表（続）

Test Article: Ibandronate

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Reproductive Toxicity								
Fertility/developmental toxicity, cesarean section/spontaneous delivery, main study (Segment I)	Rat, Sprague-Dawley	p.o.	M: 60 days b.m. to the day copulation had taken place F: 14 days b.m. to Day 21 p.c. (C-section) or to Day 21 p.p. (littering)	0, 1, 4, 16 [b]	Yes	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	K2	4.2.3.5.1-1
Embryofetal toxicity, cesarean section, main study (Segment II)	Rat, Sprague-Dawley	p.o.	Days 6 to15 p.c.	0, 10, 30, 60, 100 [b]	Yes	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	K17	4.2.3.5.2-1
Embryofetal toxicity, spontaneous delivery, dose-range finding (Segment II)	Rat, Sprague-Dawley	p.o.	Days 6 to 15 p.c.	0, 10, 20, 40 [b]	Yes	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	K16	4.2.3.5.2-2
Embryofetal toxicity, spontaneous delivery, main study (Segment II)	Rat, Sprague-Dawley	p.o.	Days 6 to 15 p.c.	0, 6, 20, 60 [b]	Yes	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	K9	4.2.3.5.2-3
Embryofetal toxicity, spontaneous delivery (Ca suppl.), dose-range finding (Segment II)	Rat, Sprague-Dawley	p.o.	Days 6 to 15 p.c.	0, 50, 70 [b]	Yes	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	K8	4.2.3.5.2-4
Embryofetal toxicity, main study (Segment II)	Rabbit, CHbb:HM	p.o.	Days 6 to 18 p.c.	0, 1, 4, 20 [b]	Yes	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	K1	4.2.3.5.2-5

a: Doses expressed as ibandronate Na·H_2O; b: Doses expressed as the free acid equivalent; c: Doses expressed as ibandronate Na

表 2.6.7.1-1 毒性試験一覧表（続）

Test Article: Ibandronate

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Embryofetal toxicity, pregnant females, dose-range finding (Segment II)	Rabbit, CHbb:HM	p.o.	Days 6 to 18 p.c.	0, 3, 10, 30 [b]	Yes	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	K4	4.2.3.5.2-6
Peri- and postnatal toxicity, main study (Segment III)	Rat, Wistar	p.o.	Days 17 p.c. to 21 p.p.	0, 1, 5, 20 [b]	Yes	[redacted], Switzerland	K15	4.2.3.5.3-1

a: Doses expressed as ibandronate $Na \cdot H_2O$; b: Doses expressed as the free acid equivalent ; c: Doses expressed as ibandronate Na

[redacted]

2.6.7.2　トキシコキネティクス試験の一覧表

表 2.6.7.2-1　トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: Ibandronate

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
6-month (feed ad libitum)	Rat, Wistar	p.o. (gavage)	0, 1.01, 3.04, 10.13 [b]	Yes	H3	4.2.3.2-2
6-month (restricted feeding)	Rat, Wistar	p.o. (gavage)	0, 10.13, 30.34 [b]	Yes	H1	4.2.3.2-3
1-year	Rat, Sprague-Dawley	p.o. (gavage)	0, 3, 10, 20 [b]	Yes	H4	4.2.3.2-4
6-month	Dog, beagle	p.o. (capsule)	0, 2, 5, 13 [b]	Yes	H2	4.2.3.2-6

a: Doses expressed as ibandronate Na·H_2O; b: Doses expressed as the free acid equivalent; c: Doses expressed as ibandronate Na

2.6.7.3　トキシコキネティクス試験成績の一覧表

表 2.6.7.3-1　トキシコキネティクス試験成績の一覧表

Test Article: Ibandronate

Study Description	Doses (mg/kg/day)	Route	Sex	Time of Toxicokinetics	Dose Group (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	Comment
6-month (feed ad libitum), rat	0,1.01, 3.04, 10.13 [b]	p.o. (gavage)	Male Female	26 Weeks	3.04 10.13 3.04 10.13	0.7 3.6 0.3 0.7	7.6 18.8 4.4 6.3	Kinetics assessed at 3.04 and 10.13 mg/kg/day.
6-month (restricted feeding), rat	0,10.13, 30.34 [b]	p.o. (gavage)	Male Female	26 Weeks	10.13 10.13	24.4 27.2	142 79	Kinetics assessed only at 10.13 mg/kg/day.
1-year, rat	0, 3, 10, 20 [b]	p.o. (gavage)	Male Female	50 Weeks	10 10	5.9 5.8	36 48	Kinetics assessed only at 10 mg/kg/day
6-month, dog	0, 2, 5, 13 [b]	p.o. (capsule)	Male Female Male Female	Day 1 26 Weeks	2 5 13 2 5 13 2 5 2 5	34 67 2511 25 271 499 34 295 2.3 6.3	60 91 5032 42 602 1004 99 612 17 94	The high dose was toxic/lethal, thus there are no data at Week 26.
Human	100 [b] mg	p.o. (tablet)	Females	Repeated dose (1^{st})	100	96	AUC_{inf}：288	Japanese patients with primary osteoporosis (JP18499)

C_{max} and AUC_{0-24h} were medians in animals and mean in human.

a: Doses expressed as ibandronate $Na{\cdot}H_2O$; b: Doses expressed as the free acid equivalent; c: Doses expressed as ibandronate Na

2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧表

表 2.6.7.4-1 毒性試験：被験物質一覧表

Test Article: Ibandronate

Analysis Batch No.	Study Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities									Study Number	Type of Study
			A	B	C	D	E	F	G	H	I		
[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	-	[redacted]%	-	[redacted]%	[redacted]%	-	-	-	G1	4 weeks repeated dose, rat, p.o.
[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	-	[redacted]%	-	[redacted]%	[redacted]%	-	-	-	G3	4 weeks repeated dose, dog, p.o.
[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	-	-	-	-	-	-	-	-	H3	6 months repeated dose, rat, p.o. (feed ad libitum)
[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	-	-	-	-	-	-	-	-	H1	6 months repeated dose, rat, p.o. (restricted feeding)
[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	-	-	-	-	-	-	-	-	H2	6 months repeated dose, dog, p.o.
[redacted]	[redacted]	[redacted]%#	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	-	H4	1year repeated dose, rat, p.o.
[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	-	[redacted]%	[redacted]%	-	-	-	-	-	K2	Fertility/developmental toxicity, cesarean section/spontaneous delivery, main study (Segment I), rat, p.o.
[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	-	[redacted]%	[redacted]%	-	-	-	-	-	K17	Reproductive Toxicity: Embryofetal toxicity, cesarean section, main study (Segment II), rat, p.o.
[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	-	[redacted]%	[redacted]%	-	-	-	-	-	K16	Reproductive Toxicity: Embryofetal toxicity, spontaneous delivery, dose-range finding (Segment II), rat, p.o.
[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	-	[redacted]%	[redacted]%	-	-	-	-	-	K9	Reproductive Toxicity: Embryofetal toxicity, spontaneous delivery, main study (Segment II), rat, p.o.
[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	-	[redacted]%	[redacted]%	-	-	-	-	-	K8	Embryofetal toxicity, spontaneous delivery (Ca suppl.), dose-range finding (Segment II), rat, p.o.

Impurities: A = [redacted], B = [redacted], C = [redacted], D = [redacted], E = [redacted], F = [redacted], G = [redacted], H = [redacted], I = [redacted]

- : not determined, #: anhydrous basis

表 2.6.7.4-1 毒性試験：被験物質一覧表（続）

Test Article: Ibandronate

Analysis Batch No.	Study Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities									Study Number	Type of Study
			A	B	C	D	E	F	G	H	I		
[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	-	[redacted]%	[redacted]%	-	-	-	-	-	K1	Reproductive Toxicity: Embryofetal toxicity, main study (Segment II), rabbit, p.o.
[redacted]	[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	-	[redacted]%	[redacted]%	-	-	-	-	-	K4	Reproductive Toxicity: Embryofetal toxicity, pregnant females, dose-range finding (Segment II), rabbit, p.o.
[redacted]	[redacted]	[redacted]%#	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	-	K15	Reproductive Toxicity: Peri-postnatal toxicity, main study (Segment III), rat, p.o.

Impurities: A = [redacted], B = [redacted], C = [redacted], D = [redacted], E = [redacted], F = [redacted], G = [redacted], H = [redacted], I = [redacted]

- : not determined, #: anhydrous basis.

2.6.7.5　単回投与毒性試験

該当なし

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当なし

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1　ラットにおける4週間経口投与試験

表 2.6.7.7.1-1　ラットにおける4週間経口投与試験

Test Article: Ibandronate

Species/Strain:	Rat, SPF Crl:CD(SD)BR	Duration of Dosing:	4 weeks	Location in CTD:	4.2.3.2-1
Initial Age:	4 weeks	Duration of Postdose:	none	Study No.:	G1
Initial Weight:	79 – 84 g	Method of Administration:	p.o.	Report No.:	G1
Date of First Dose:	[redacted]	Vehicle/Formulation:	0.5% Sodium carboxymethylcellulose/1% Cremophor EL/0.9% NaCl	GLP Compliance:	yes
Special Features:	none				
No Observed Adverse Effect Level :	2.65 mg/kg/day				

Performed Examinations:				
Clinical Observations:	☒ yes ☐ no	Clinical Chemistry:	☒ yes	☐ no
Food Consumption:	☒ yes ☐ no	Urine Analysis:	☒ yes	☐ no
Water Consumption:	☐ yes ☒ no	Organ Weights:	☒ yes	☐ no
Body Weight:	☒ yes ☐ no	Necropsy:	☒ yes	☐ no
Hematology:	☒ yes ☐ no	Histology:	☒ yes	☐ no
ECG:	☐ yes ☒ no	Others: Ophthalmoscopy	☒ yes	☐ no

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		0.88		2.65		8.85	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
	10	10	10	10	10	10	10	10
Toxicokinetics: AUC	Not performed							
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	No drug-related deaths							
Body weight (g): Week 4	345.160±32.694	208.200±17.230	336.390±23.854	216.130±16.862	342.640±20.099	219.220±19.630	331.870±26.281	215.990±11.508
Food Consumption (g/anm/day): Week 4	29.145±2.002	19.915±2.982	27.345±2.893	19.950±2.562	28.700±1.658	20.100±2.045	27.985±1.648	20.880±1.677

Data are shown in Mean±SD.

表 2.6.7.7.1-1　ラットにおける4週間経口投与試験（続）

Test Article:　Ibandronate

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		0.88		2.65		8.85	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
	10	10	10	10	10	10	10	10
Clinical Observations	No drug-related changes							
Ophthalmoscopy	No drug-related changes							
Hematology :Week 4								
Segmented Neutrophils (%)	8.4000±4.0988	17.2000±7.4632	10.8000±5.8907	11.0000±3.0000	12.0000±5.3852	10.8000±7.5961	20.8000±2.9496	8.8000±3.8341
Clinical Chemistry: Week 4								
Calcium (mmol/L)	2.4580±0.0642	2.2800±0.0430	2.2920±0.1593	2.2780±0.1320	2.2360±0.1045	2.2620±0.0923	2.1420±0.0205	2.2760±0.0826
Urinalysis :Week 4								
Protein (mg%)	0.300±0.000	0.720±0.383	0.300±0.000	0.440±0.313	0.440±0.313	0.580±0.383	1.000±0.000	0.300±0.000
Organ Weight								
Adrenal (g/100g Body Weight)	0.0179±0.0040	0.0451±0.0075	0.0148±0.0036	0.0368*±0.0052	0.0191±0.0050	0.0356*±0.0047	0.0209±0.0030	0.0330*±0.0065
Gross Pathology	No drug-related changes							
Histopathology								
Liver								
Necrosis	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	3/10	0/10
Dissociation of liver cells	4/10 (+)	1/10 +	7/10 (+)〜+	3/10 (+)〜+	2/10 (+)	2/10 +	9/10 (+)〜+	5/10 (+)〜+
Kidneys								
Tubulonephrosis	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	7/10, (+)〜+	7/10, (+)〜+
Bone								
Enlarged enchondral ossification	0/10	0/10	10/10 (+)	9/10 (+)〜+	10/10 (+)〜+	10/10 (+)〜+	10/10 +〜++	10/10 +〜++
Enlargement of the compact substance	0/10	0/10	9/10 (+)〜++	6/10 (+)〜+	10/10 +	1/10 (+)	9/10 +〜++	7/10 +〜++
Decrease in the activity of osteoclasts	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	8/10 +	7/10 +〜++

Data are shown in Mean±SD; (+) very mild; + mild; ++ moderate; +++ severe; Statistical analysis: * = p <0.05: Kruskal Wallis Anova+Mann-Whitney u-tests

2.6.7.7.2　ラットにおける6カ月間経口投与試験（自由摂餌）

表 2.6.7.7.2-1　ラットにおける6カ月間経口投与試験（自由摂餌）

Test Article: Ibandronate

Species/Strain:	Rat, SPF Wistar	Duration of Dosing:	26 weeks	Location in CTD:	4.2.3.2-2
Initial Age:	about 6 weeks	Duration of Postdose:	13 weeks	Study No.:	H3
Initial Weight (g) at 6 weeks:	males: 146-195 g; females: 103-151 g	Method of Administration:	p.o.	Report No.:	H3
Date of First Dose:	[redacted]	Vehicle/Formulation:	0.5% Sodium carboxymethylcellulose	GLP Compliance:	yes
Special Features:	none				
No Observed Adverse Effect Level:	< 1.01 mg/kg/day				

Performed Examinations:

Clinical Observations:	☒ yes	☐ no	Clinical Chemistry:	☒ yes ☐ no
Food Consumption:	☒ yes	☐ no	Urine Analysis:	☒ yes ☐ no
Water Consumption:	☐ yes	☒ no	Organ Weights:	☒ yes ☐ no
Body Weight:	☒ yes	☐ no	Necropsy:	☒ yes ☐ no
Hematology:	☒ yes	☐ no	Histology:	☒ yes ☐ no
ECG:	☐ yes	☒ no	Others: Toxicokinetics Ophthalmoscopy	☒ yes ☐ no

表 2.6.7.7.2-1　ラットにおける6カ月間経口投与試験（自由摂餌）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		1.01		3.04		10.13	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)
Toxicokinetics: Week 26								
C_{max} (ng/mL) Median (Range)	NE	NE	NE	NE	0.741 (0.421-76.463)	0.335 (0.107-0.438)	3.637 (1.201-489.390)	0.724 (0.319-2.865)
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL) Median (Range)	NE	NE	NE	NE	7.6 (4.9-844.6)	4.4 (3.4-6.0)	18.8 (8.7-769.9)	6.3 (4.0-9.4)
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	No drug-related deaths							
Body Weight Gain (%)								
Week 26	190±24.5	107±12.9	185±22.8	103±11.0	182±26.8	105±9.3	170**±21.7	99*±10.7
Week 39	214±24.3	108±8.3	205±30.7	115±17.7	198±32.1	111±14.6	174**±27.9	101±13.0
Food Consumption (g/anm /day)								
Week 25-26	26±1.2	19±0.6	25*±1.1	18±0.4	25±0.9	18±0.9	24**±0.6	17**±0.7
Week 38-39	21±0.2	15±0.3	22±0.6	15±0.1	21±0.4	15±0.3	20±0.3	14±1.1
Water Consumption	Not performed.							

Data are shown in Mean±SD for body Weight and Food Consumption; Statistical analysis: * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$: Dunnett – test

NE: not evaluated

表 2.6.7.7.2-1 ラットにおける6カ月間経口投与試験（自由摂餌）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		1.01		3.04		10.13	
Number of Animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)
Clinical Observations		No drug-related changes							
Ophthalmoscopy		No drug-related changes							
Electrocardiography		Not performed							
Hematology									
Erythrocytes	Week 26	8.02±0.32	7.42±0.60	8.02±0.56	7.25±0.41	7.99±0.26	6.94*±0.28	7.65±0.25	7.15±0.35
(T/L)	Week 39	8.16±0.21	7.16±0.33	8.04±0.53	6.66**±0.27	7.64**±0.27	6.75*±0.30	7.04**±0.37	6.57**±0.31
Hemoglobin	Week 26	9.4±0.3	9.3±0.4	9.3±0.5	9.1±0.3	9.4±0.3	8.8*±0.3	9.3±0.5	9.0±0.4
(mmol/L)	Week 39	9.2±0.3	9.0±0.3	9.3±0.6	8.7±0.2	9.2±0.4	8.8±0.3	8.8±0.4	8.5*±0.4
HCT(l/1)	Week 13	0.43±0.01	0.44±0.02	0.44±0.02	0.42±0.02	0.43±0.02	0.42±0.02	0.43±0.02	0.42*±0.01
	Week 39	0.45±0.01	0.41±0.02	0.45±0.03	0.40±0.01	0.43±0.02	0.41±0.02	0.41**±0.02	0.39±0.01
RDW	Week 26	13.3±0.4	11.7±0.5	14.5±1.8	12.1±0.5	14.3±0.5	12.4**±0.4	14.2±0.7	12.3*±0.4
	Week 39	13.7±0.4	13.2±0.5	14.4*±0.7	13.4±0.7	14.7**±0.7	14.1*±0.7	15.0**±0.6	14.8**±0.6
Segmented	Week 26	0.180±0.035	0.163±0.032	0.212±0.022	0.208±0.049	0.238±0.055	0.215±0.056	0.254^{+}±0.066	0.200±0.071
Neutrophils (l)	Week 39	0.211±0.045	0.221±0.068	0.239±0.045	0.219±0.047	0.273±0.063	0.238±0.038	0.211±0.041	0.216±0.034
Lymphocytes	Week 26	0.746±0.036	0.751±0.036	0.701^{+}±0.029	0.704±0.059	0.673±0.080	0.707±0.067	0.669±0.087	0.721±0.082
(l)	Week 39	0.687±0.066	0.692±0.081	0.673±0.060	0.694±0.054	0.640±0.072	0.689±0.040	0.709±0.049	0.700±0.045
Prothrombin	Week 26	17.3±2.8	14.3±0.4	15.3*±1.0	14.2±1.4	14.5**±0.7	13.9±0.3	15.7±1.4	13.6±0.2
Time (sec)	Week 39	13.7±1.1	12.8±0.3	13.0±0.4	12.6±0.7	12.7*±0.7	12.2±0.4	12.7*±0.5	12.4±1.0

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: Dunnett-test; +=p <0.05: Steel-test

表 2.6.7.7.2-1 ラットにおける6カ月間経口投与試験（自由摂餌）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		1.01		3.04		10.13	
Number of Animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)
Clinical Chemistry									
Inorganic phosphorus (mmol/L)	Week 26	1.47±0.11	1.38±0.14	1.32*±0.10	1.14**±0.12	1.25**±0.16	0.99**±0.15	1.17**±0.11	1.04**±0.13
	Week 39	1.43±0.15	1.17±0.19	1.45±0.13	0.96**±0.13	1.32±0.13	0.88**±0.12	1.18**±0.09	0.94**±0.13
Creatine kinase (μkat/L)	Week 26	15.85±10.25	12.15±5.91	9.19*±2.87	7.86*±2.99	5.75**±1.86	6.78**±2.10	4.94**±2.27	7.06*±2.72
	Week 39	11.23±6.32	7.57±3.06	8.47±2.71	8.22±3.25	4.61**±1.04	6.21±2.57	8.48±2.54	7.94±2.71
Sodium (mmol/L)	Week 13	137 ± 2	135± 4	137 ± 4	138± 4	138 ± 4	140*± 5	141* ± 3	141**± 3
	Week 39	143 ± 1	142 ± 1	143 ± 1	141** ± 1	142 ± 1	141 ± 2	143 ± 2	142 ± 1
Chloride (mmol/L)	Week 26	107±2	106±1	108±2	106±2	109±1	108*±2	109**±1	108**±1
	Week 39	105±1	105±1	106±2	105±1	106±1	105±2	106±2	106±2
Urinalysis		No drug-related changes							
Organ Weight									
Spleen (g)	Week 26	0.924±0.158	0.733±0.097	0.961±0.136	0.807±0.138	1.030±0.163	0.791±0.147	1.088**±0.188	0.846*±0.168
	Week 39	0.979±0.149	0.739±0.121	1.040±0.170	0.884±0.090	1.215*±0.124	1.045**±0.223	1.307**±0.239	0.982**±0.117
Liver (g)	Week 26	15.07±1.47	8.76±0.87	13.03**±1.58	8.37±0.79	13.59**±1.69	8.76±1.09	13.80*±1.32	8.45±0.94
	Week 39	15.38±1.64	8.72±1.15	14.02±2.30	9.14±1.21	13.68±1.55	8.71±1.77	13.54±2.92	8.26±1.25
Kidney (g)	Week 26	2.55±0.24	1.62±0.14	2.38±0.23	1.55±0.12	2.33*±0.28	1.62±0.15	2.33*±0.26	1.56±0.14
	Week 39	2.50±0.29	1.63±0.19	2.43±0.26	1.63±0.17	2.39±0.23	1.60±0.23	2.23±0.22	1.54±0.15

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: Dunnett-test

表 2.6.7.7.2-1　ラットにおける6カ月間経口投与試験（自由摂餌）（続）

Test Article:　Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		1.01		3.04		10.13	
Number of Animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)
Gross Pathology		No drug-related changes							
Histopathology									
Bone (Femur with joint)									
Increase in trabecular bone extension	Week 26	-	-	20/20 ++～+++	20/20 ++～+++	20/20 ++～++++	19/19 ++～+++	20/20 ++++	20/20 ++++
	Week 39	-	-	10/10 ++～+++	10/10 ++～+++	10/10 ++～+++	9/9 ++～+++	10/10 ++++	10/10 ++++
Reduction of marrow space	Week 26	-	-	20/20 +～+++	20/20 +～++	20/20 +～++	19/19 +～++	20/20 +++～++++	20/20 +++～++++
	Week 39	-	-	10/10 +～+++	10/10 +～++	10/10 +～++	9/9 +～++	10/10 +++～++++	10/10 +++～++++
Spleen									
Hematopoiesis	Week 26	18/20 (+)～+	20/20 (+)～+	20/20 (+)～++	20/20 (+)～++	20/20 +～++	20/20 (+)～+++	20/20 +～+++	20/20 (+)～+++
	Week 39	10/10 (+)～+	10/10 (+)～+	10/10 (+)～+	10/10 +～+++	10/10 +～+++	9/9 +～+++	10/10 ++～+++	10/10 ++～+++

- No noteworthy findings; (+) very mild; + mild; ++ moderate; +++ severe

2.6.7.7.3　ラットにおける6カ月間経口投与試験（制限給餌）

表 2.6.7.7.3-1　ラットにおける6カ月間経口投与試験（制限給餌）

Test Article: Ibandronate

Species/Strain:	Rat, SPF Wistar	Duration of Dosing:	26 weeks	Location in CTD:	4.2.3.2-3
Initial Age:	about 6 weeks	Duration of Postdose:	13 weeks	Study No.:	H1
Initial Weight:	Males: 91-129 g Females: 79-110 g	Method of Administration:	p.o.	Report No.:	H1
Date of First Dose:	[redacted]	Vehicle/Formulation:	0.5% Sodium carboxymethylcellulose	GLP Compliance:	yes
Special Features:	To study the effect of fasting, animals were allowed to access to food only between 2 and about 10 hours after dosing each day (at least 6 hours/day).				
No Observed Adverse Effect Level:	< 10.13 mg/kg/day				

Performed Examinations:

Clinical Observations:	☒ yes	☐ no	Clinical Chemistry:	☒ yes	☐ no
Food Consumption:	☒ yes	☐ no	Urine Analysis:	☒ yes	☐ no
Water Consumption:	☐ yes	☒ no	Organ Weights:	☒ yes	☐ no
Body Weight:	☒ yes	☐ no	Necropsy:	☒ yes	☐ no
Hematology:	☒ yes	☐ no	Histology:	☒ yes	☐ no
ECG:	☐ yes	☒ no	Others: Toxicokinetics Ophthalmoscopy	☒ yes	☐ no

表 2.6.7.7.3-1　ラットにおける6カ月間経口投与試験（制限給餌）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		10.13		30.34	
Number of Animals		M	F	M	F	M	F
(recovery animals[$])		30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)
Toxicokinetics: week 26							
C_{max} (ng/mL) Median (Range)		NE	NE	24.4 (6.7-90.3)	27.2 (6.6-128.2)	NE	NE
AUC_{0-24h} (ng·h/mL) Median (Range)		NE	NE	142.4 (58.0-477.3)	79.3 (37.5-266.8)	NE	NE
Noteworthy Findings							
Died or Sacrificed Moribund		At 30.34 mg/kg/day, all males were either sacrificed in extremis or found dead and 22/30 females were either sacrificed in extremis or found dead during the study period. Other death (one female from 10.13 mg/kg/day group) was considered not to be drug-related.					
Body Weight(g)	Week 13	292±26.3	204±18.4	283±31.3	197±14.6	211**±35.9	168**±18.3
	Week 26	349±32.5	225±20.0	322**±31.8	218±16.0	NA	185**±25.9
	Week 39	426±57.7	262±12.3	356*±38.4	253±17.9	NA	180**±42.5
Food Consumption	Week 12-13	18±0.6	14±0.9	17±1.0	13±1.0	11**±1.4	10**±1.4
(g/anm/day)	Week 25-26	18±0.7	14±1.1	16**±0.8	14±0.4	NA	11**±1.0
	Week 38-39	21±0.2	17±0.3	18±0.3	16±0.4	NA	10±2.5
Water Consumption		Not performed					
Clinical Observations		At 30.34 mg/kg/day, sedation, hunched posture, pale appearance, head tilt, uncoordinated movements, respiratory distress, pale extremities, emaciation, rough appearance of the coat, dehydration, broken incisors and dark appearance of the eyes were observed.					
Ophthalmoscopy		No drug-related changes					
Electrocardiography		Not performed					

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$: Dunnett-test

$: Due to high mortality rate, recovery animals in 30.34 mg/kg/day were 0 for male and 4 for female.

NE: not evaluated

表 2.6.7.7.3-1 ラットにおける6カ月間経口投与試験（制限給餌）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		10.13		30.34	
Number of Animals		M	F	M	F	M	F
(recovery animals[$])		30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)
Hematology							
Erythrocytes (T/L)	Week 13	8.06±0.33	7.81±0.30	7.50±0.46	7.36±0.34	6.61**±0.87	7.07**±0.69
	Week 26	8.10±0.32	7.58±0.33	7.41**±0.52	7.16±0.32	NA	6.64*±1.09
	Week 39	8.15±0.25	7.34±0.37	7.48**±0.33	6.83**±0.33	NA	7.35±0.13
Hemoglobin (mmol/L)	Week 13	9.7±0.2	9.5±0.2	9.2±0.4	9.2±0.3	7.8**±1.0	8.4**±0.6
	Week 26	9.7±0.2	9.3±0.3	9.1**±0.4	9.1±0.4	NA	8.0**±1.1
	Week 39	9.4±0.3	9.4±0.3	9.1*±0.4	9.0±0.4	NA	9.3±0.4
HCT (l/l)	Week 13	0.44±0.02	0.43±0.01	0.42±0.02	0.42±0.02	0.35**±0.05	0.39**±0.03
	Week 26	0.45±0.01	0.43±0.02	0.42**±0.02	0.43±0.02	NA	0.38**±0.05
	Week 39	0.43±0.01	0.42±0.02	0.43±0.02	0.41±0.01	NA	0.44±0.02
RDW	Week 13	13.2±0.5	11.6±0.4	13.4±0.4	12.8**±0.4	14.2±1.1	12.5**±0.8
	Week 26	13.4±0.4	12.0±0.4	13.9**±0.3	12.9**±0.5	NA	13.7**±0.6
	Week 39	14.8±0.5	13.6±0.8	15.5*±0.6	14.5*±0.4	NA	15.3**±1.2
Segmented neutrophils (l)	Week 13	0.155±0.075	0.143±0.038	0.168±0.036	0.170±0.078	0.386[+]±0.149	0.243[+]±0.061
	Week 26	0.178±0.070	0.146±0.031	0.227±0.066	0.207[+]±0.051	NA	0.274±0.118
	Week 39	0.206±0.065	0.188±0.038	0.262±0.040	0.234±0.101	NA	0.342±0.165
Lymphocytes (l)	Week 13	0.759±0.080	0.793±0.049	0.755±0.048	0.752±0.089	0.544[+]±0.146	0.668[+]±0.053
	Week 26	0.744±0.088	0.773±0.055	0.697±0.064	0.725±0.063	NA	0.651±0.138
	Week 39	0.677±0.083	0.698±0.059	0.628±0.068	0.655±0.106	NA	0.553±0.203
Monocytes (l)	Week 13	0.030 ± 0.040	0.016 ± 0.006	0.020 ± 0.013	0.024 ± 0.017	0.020 ± 0.010	0.030[+] ± 0.018
	Week 26	0.013 ± 0.006	0.015 ± 0.006	0.018[+] ± 0.004	0.016 ± 0.004	NA	0.021 ± 0.008
	Week 39	0.018 ± 0.012	0.017 ± 0.007	0.019 ± 0.009	0.015 ± 0.005	NA	0.020 ± 0.09

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: Dunnett-test; + = p <0.05: Steel-test

$: Due to high mortality rate, recovery animals in 30.34 mg/kg/day were 0 for male and 4 for female.

表 2.6.7.7.3-1　ラットにおける6カ月間経口投与試験（制限給餌）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		10.13		30.34	
Number of Animals		M	F	M	F	M	F
(recovery animals[$])		30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)
Clinical Chemistry							
Calcium (mmol/L)	Week 13	2.76±0.05	2.76±0.13	2.65*±0.06	2.73±0.06	2.72±0.11	2.72±0.12
	Week 26	2.41±0.07	2.52±0.08	2.45±0.06	2.52±0.07	NA	2.44±0.12
	Week 39	2.45±0.06	2.44±0.10	2.39±0.07	2.34*±0.07	NA	2.22**±0.09
Potassium (mmol/L)	Week 13	5.0±0.3	4.9±0.3	4.9±0.4	5.0±0.2	4.6±0.5	4.5**±0.3
	Week 26	4.5±0.4	4.0±0.4	4.2*±0.3	4.1±0.3	NA	4.3±0.2
	Week 39	4.2±0.2	3.7±0.3	4.1±0.2	3.7±0.2	NA	4.1±0.5
Sodium (mmol/L)	Week 13	155±2	156±2	157±1	155±1	159**±3	155±1
	Week 26	143±1	145±2	142±1	147*±2	NA	149**±2
	Week 39	143±1	144±1	144±1	143±1	NA	143±1
Chloride (mmol/L)	Week 13	119±2	120±3	122±1	120±1	126**±4	123*±3
	Week 26	106±1	108±2	106±1	111**±1	NA	116**±1
	Week 39	106±1	106±1	108**±1	106±1	NA	106±1
AST (μkat/L)	Week 13	1.98±0.20	2.05±0.31	2.50**±0.33	2.28±0.38	3.19**±0.46	3.32**±1.07
	Week 26	1.85±0.19	1.96±0.49	2.07±0.33	2.03±0.34	NA	2.19±0.49
	Week 39	1.69±0.10	2.15±0.37	1.79±0.29	3.07±2.04	NA	2.58±0.91
ALP (μkat/L)	Week 13	2.33±0.36	1.35±0.43	2.02±0.31	1.06±0.24	1.80**±0.34	1.20±0.20
	Week 26	1.54±0.30	1.06±0.39	1.44±0.25	0.98±0.33	NA	1.29±0.33
	Week 39	1.22±0.21	0.62±0.16	1.27±0.18	0.63±0.19	NA	1.10*±0.60

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: Dunnett-test

$: Due to high mortality rate, recovery animals in 30.34 mg/kg/day were 0 for male and 4 for female.

表 2.6.7.7.3-1　ラットにおける6カ月間経口投与試験（制限給餌）（続）

Test Article:　Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		10.13		30.34	
Number of Animals		M	F	M	F	M	F
(recovery animals[$])		30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)
Glucose (mmol/L)	Week 13	9.7±0.9	8.1±0.9	9.5±0.8	8.1±1.2	8.3**±1.0	7.6±1.2
	Week 26	8.6±0.9	8.2±0.8	8.7±0.6	7.6±0.7	NA	7.9±1.2
	Week 39	8.6±0.7	6.5±1.1	8.4±0.6	6.5±0.7	NA	8.3±3.2
Albumin (g/L)	Week 13	41±1	45±5	41±2	45±3	38**±3	40*±4
	Week 26	36±1	41±4	35±2	41±3	NA	33**±3
	Week 39	34±2	41±3	34±2	41±3	NA	34**±4
Total Protein (g/L)	Week 13	69±2	71±6	67±2	70±4	65*±4	66±5
	Week 26	64±2	69±4	63±2	67±4	NA	62*±3
	Week 39	64±2	70±4	64±2	69±3	NA	64*±5
Creatinine (μmol/L)	Week 13	39±5	32±2	36±3	33±5	47**±7	47**±9
	Week 26	31±4	33±3	29±4	31±4	NA	37±6
	Week 39	35±5	33±6	28**±3	33±4	NA	33±8
ALT (μkat/L)	Week 13	0.86±0.10	0.79±0.14	0.90±0.13	0.79±0.17	1.29**±0.26	1.00**±0.13
	Week 26	0.77±0.15	0.82±0.23	0.93±0.26	0.82±0.27	NA	0.82±0.15
	Week 39	0.64±0.08	0.69±0.19	0.62±0.10	1.22±0.93	NA	0.65±0.39
Urinalysis							
pH	Week 13	7.7±0.3	7.6±0.5	7.3±0.6	7.2±0.5	6.0**±0.5	6.2**±0.4
	Week 26	7.9±0.4	7.8±0.5	7.6±0.4	7.1*±0.6	NA	6.3**±0.6
	Week 39	7.1±0.3	5.7±0.4	7.0±0.3	5.9±0.5	NA	6.5±1.1
RBC	Week 13	0	1	0	2	3^+	3^+
Score 0/9 (median)	Week 26	1	1	2	0	NA	2
	Week 39	0	1	0	0	NA	1
Specific gravity (1)	Week 13	1.030 ± 0.010	1.025 ± 0.002	1.038 ± 0.012	1.034* ± 0.012	1.041 ± 0.012	1.033* ± 0.008
	Week 26	1.027 ± 0.009	1.024 ± 0.002	1.025 ± 0.04	1.032* ± 0.011	NA	1.031 ± 0.004
	Week 39	1.023 ± 0.003	1.040 ± 0.008	1.028* ± 0.006	1.042 ± 0.014	NA	1.025 ± 0.011
Occulturi	Week 13	0	0	0	0	5^+	2
Score 0/6 (median)	Week 26	0	0	0	0	NA	2
	Week 39	0	0	0	0	NA	0

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: Dunnett-test; + = p <0.05: Steel-test

$: Due to high mortality rate, recovery animals in 30.34 mg/kg/day were 0 for male and 4 for female.

表 2.6.7.7.3-1　ラットにおける6カ月間経口投与試験（制限給餌）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		10.13		30.34	
Number of Animals		M	F	M	F	M	F
(recovery animals[$])		30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)
Organ Weight							
Spleen (g)	Week 26	0.774±0.117	0.665±0.108	0.999**±0.210	0.763±0.370	NA	0.679±0.065
	Week 39	0.941±0.126	0.883±0.178	1.285**±0.209	1.323**±0.270	NA	0.892±0.329
Kidney (g)	Week 26	1.71±0.13	1.39±0.17	1.89**±0.26	1.35±0.13	NA	1.68**±0.37
	Week 39	2.13±0.23	1.72±0.11	1.92±0.23	1.56±0.11	NA	1.38**±0.29
Liver (g)	Week 26	8.69±0.94	6.23±0.90	7.57**±0.88	5.48**±0.52	NA	4.81**±0.74
	Week 39	12.44±1.70	8.52±0.65	10.40*±1.80	8.00±1.00	NA	5.33**±2.20
Gross Pathology		At 30.34 mg/kg/day, pale kidneys, reddening of the kidney medulla, irregular surface of the stomach and occasional hemorrhage in the stomach were observed.					
Histopathology: Intercurrent Deaths (n)		(1)	(1)	(0)	(1)	(30)	(22)
Kidney							
Cortical tubular basophilia		0/1	0/1	0/0	0/1	28/30	21/22
Tubular dilatation		0/1	0/1	0/0	0/1	15/30	10/22
Medullary tubular swelling		0/1	0/1	0/0	0/1	25/30	20/22
Cortical tubular necrosis		0/1	0/1	0/0	0/1	3/30	9/22
Stomach							
Hydropic degeneration		0/1	0/1	0/0	0/1	29/30	20/22
Spleen							
Extramedullary hematopoiesis		1/1	1/1	0/0	1/1	0/30	6/22
Bone (Femur)							
Trabecular extension		0/1	0/1	0/0	1/1	30/30	22/22

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: Dunnett-test

$: Due to high mortality rate, recovery animals in 30.34 mg/kg/day were 0 for male and 4 for female.

表 2.6.7.7.3-1　ラットにおける6カ月間経口投与試験（制限給餌）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		10.13		30.34	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F
(recovery animals[$])	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)	30(10)
Histopathology: Terminal Kill; Week 26 (n)	(20)	(20)	(20)	(20)	(0)	(4)
Kidney						
Cortical tubular basophilia	0/20	0/20	1/20	0/20	NA	4/4
Tubular dilatation	0/20	0/20	1/20	1/20	NA	1/4
Medullary tubular swelling	0/20	0/20	18/20	12/20	NA	3/4
Cortical tubular necrosis	0/20	0/20	0/20	0/20	NA	0/4
Stomach						
Hydropic degeneration	0/20	0/20	0/20	0/20	NA	2/4
Spleen						
Extramedullary hematopoiesis	9/20	4/20	15/20	16/20	NA	4/4
Bone (Femur)						
Trabecular extension	0/20	0/20	20/20	20/20	NA	4/4
Histopathology: Recovery; week 39 (n)	(9)	(9)	(10)	(9)	(0)	(4)
Kidney						
Cortical tubular basophilia	0/9	0/9	0/10	0/9	NA	0/4
Tubular dilatation	0/9	0/9	0/10	1/9	NA	0/4
Medullary tubular swelling	0/9	0/9	6/10	2/9	NA	4/4
Cortical tubular necrosis	0/9	0/9	0/10	0/9	NA	0/4
Stomach						
Hydropic degeneration	0/9	0/9	0/10	0/9	NA	0/4
Spleen						
Extramedullary hematopoiesis	9/9	9/9	10/10	9/9	NA	0/4
Bone (Femur)						
Trabecular extension	0/9	0/9	10/10	9/9	NA	4/4

$: Due to high mortality rate, recovery animals in 30.34 mg/kg/day were 0 for male and 4 for female.

2.6.7.7.4　ラットにおける1年間経口投与試験

表 2.6.7.7.4-1　ラットにおける1年間経口投与試験

Test Article: Ibandronate

Species/Strain:	Rat, SPF Crl:CD(SD)BR	Duration of Dosing:	12-month	Location in CTD:	4.2.3.2-4
Initial Age:	about 6 weeks	Duration of Postdose:	6-month	Study No.:	H4
Initial Weight (g) (mean) at 6 weeks:	males: 229 g females: 183 g	Method of Administration:	p.o.	Report No.:	H4
Date of First Dose:	[redacted]	Vehicle/Formulation:	0.5% Sodium carboxymethylcellulose	GLP Compliance:	yes
Special Features:	none				
No Observed Adverse Effect Level:	< 3 mg/kg/day				

Performed Examinations:

Clinical Observations:	☒ yes	☐ no	Clinical Chemistry:	☒ yes	☐ no
Food Consumption:	☒ yes	☐ no	Urine Analysis:	☒ yes	☐ no
Water Consumption:	☒ yes	☐ no	Organ Weights:	☒ yes	☐ no
Body Weight:	☒ yes	☐ no	Necropsy:	☒ yes	☐ no
Hematology:	☒ yes	☐ no	Histology:	☒ yes	☐ no
ECG:	☐ yes	☒ no	Others: Toxicokinetics Ophthalmoscopy	☒ yes	☐ no

表 2.6.7.7.4-1　ラットにおける1年間経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		3		10		20	
Number of Animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)
Toxicokinetics: week 50									
C_{max} (ng/mL)		NE	NE	NE	NE	5.93±0.87 (Median: 5.99)	5.75±0.64 (Median: 5.79)	NE	NE
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)		NE	NE	NE	NE	36.10±2.80 (Median: 34.99)	47.80±4.93 (Median: 45.70)	NE	NE
Noteworthy Findings									
Died or Sacrificed Moribund (Total deaths of treatment and recovery period)		3	2	5	4	7	15	16	14
Signs of misgavaging in lungs		1	1	1	2	5	11	13	13
Fatal tumor		2	1	1	2	0	4	0	1
Vertebral dislocation		0	0	1	0	2	0	1	0
Mandibular fracture		0	0	0	0	0	0	1	0
No typical macroscopic or histological findings		0	0	2	0	0	0	1	0
Body Weight(g)	Week 51	773.2±94.1	430.9±80.1	762.7±79.5	426.7±70.6	724.4*±82.8	415.9±83.0	677.8***±98.5	435.4±68.1
	Week 78	891.3±60.1	537.7±40.8	795.2±64.6	380.9±78.4	696.1*±108.3	419.8±89.1	733.9*±75.7	533.4±79.8
Food Consumption	Week 25	29.5±4.6	18.3±2.8	29.5±3.9	19.7±4.0	33.0±13.8	18.9±2.1	26.8*±4.8	19.8±2.4
(g/anm/day)	Week 49	30.3±3.2	23.8±5.5	29.6±4.3	22.6±5.0	28.8±4.2	23.3±4.3	27.1±4.9	22.9±2.6
	Week 75	27.2±11.9	26.1±2.8	28.1±6.5	15.6±8.4	27.9±3.8	22.2±5.0	31.0±2.7	23.3±4.0
Water Consumption	Week 22	48.5±9.6	48.1±14.3	45.2±9.1	44.9±17.2	43.1*±7.3	39.3**±11.0	41.4***±10.6	39.6**±14.3
(g/anm/day)	Week 50	44.7±14.6	51.1±15.4	43.7±8.9	50.9±14.1	38.9±7.8	41.7**±10.3	39.5±10.4	44.9±12.2
	Week 76	42.7±13.0	45.5±5.2	51.5±12.7	30.9±18.7	33.8±5.6	54.5±14.0	54.9±28.8	55.7±22.1

Data are shown in Mean±SEM for Toxicokinetics and Mean±SD for Body Weight, Food Consumption, and Water Consumption.
Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01; *** = p <0.001: Kruskal-Wallis ANOVA + Mann-Whitney u-tests (two-sided)
NE: not evaluated

表 2.6.7.7.4-1　ラットにおける1年間経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		3		10		20	
Number of Animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)
Clinical Observations		Wheezing, increased loss of teeth and rough pelt were observed in 10 mg/kg/day or more groups.							
Ophthalmoscopy		No drug-related changes							
Electrocardiography		Not performed							
Hematology									
Erythrocytes	Week 52	8.22±0.41	7.25±0.45	7.33**±0.58	6.86*±0.28	7.31**±0.34	6.75**±0.32	6.91***±0.53	6.82*±0.17
(10^6/μL)	Week 78	8.88±0.31	8.23±0.43	7.88*±0.78	7.13*±0.63	7.92±0.77	7.65±0.13	7.13*±0.71	7.65±0.19
HCT (%)	Week 52	43.3±2.0	40.6±2.4	39.5**±2.7	39.4±2.1	40.2**±1.3	37.7±1.5	39.3*±3.3	39.6±1.2
	Week 78	48.5±2.5	46.4±1.5	41.9±3.8	42.0*±2.2	44.5±3.3	46.9±1.9	43.6±4.0	48.1±1.4
MCH (pg)	Week 52	19.8 ± 0.5	21.9 ± 1.1	20.4 ± 1.0	22.9 ± 0.8	21.1** ± 1.0	22.5 ± 0.5	21.7*** ± 0.4	22.6 ± 0.9
	Week 78	18.4 ± 0.4	18.8 ± 1.2	18.0 ± 0.6	20.2 ± 1.1	18.7 ± 1.0	20.6 ± 0.5	20.7* ± 1.2	21.1 ± 0.8
MCV (fL)	Week 26	54.8±1.1	58.5±1.9	57.1**±1.7	61.3**±1.6	58.5**±3.3	60.4*±1.1	59.3***±1.6	60.9*±1.8
	Week 78	54.7±1.7	56.4±2.5	53.2±1.2	59.0±2.6	56.3±2.3	61.3±1.4	61.3*±3.4	62.9*±2.3
Platelet (10^3/μL)	Week 52	883.10 ±54.11	754.90 ±141.64	761.44** ±70.09	670.67 ±53.47	684.71*** ±84.29	660.86 ±86.75	730.00* ±130.60	610.50 ±100.98
	Week 78	1102.75 ±87.70	908.50 ±45.21	996.25 ±178.13	926.75 ±115.21	806.40* ±130.90	813.00 ±137.81	738.00* ±174.05	728.00 ±77.44
Leucocytes	Week 52	8.4 ± 1.1	4.2 ± 1.0	7.9 ± 1.4	4.1 ± 0.8	7.7 ± 1.0	4.2 ± 1.0	6.6 ± 1.3	3.5 ± 0.5
(10^3/μL)	Week 78	9.9 ± 1.1	5.1 ± 1.4	10.6 ± 3.1	5.3 ± 1.9	8.4 ± 3.3	4.8 ± 1.3	5.6* ± 1.0	3.8 ± 0.7
Segmented Neutrophils (%)	Week 9	10.50±4.45	12.60±7.86	19.80*±10.46	14.90±7.37	18.70**±5.79	13.44±7.13	20.20**±7.41	10.00 ±5.01
	Week 78	14.25±2.63	21.00±12.08	26.75±10.94	34.25±18.25	26.40±2.30	24.33±10.21	24.00±13.21	21.40±6.43
Lymphocytes	Week 9	84.80±5.63	81.50±8.71	74.60*±11.35	79.50±8.34	75.80**±5.88	82.00±7.37	76.40*±6.82	85.10±6.45
(%)	Week 78	78.50±6.56	71.50±11.73	69.25±12.04	63.25±19.91	69.20±4.55	73.67±9.29	73.00±15.67	75.40±5.68

Data are shown in Mean±SD.

Statistical analysis: * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; *** = $p < 0.001$: Kruskal-Wallis ANOVA + Mann-Whitney u-tests (two-sided)

表 2.6.7.7.4-1　ラットにおける1年間経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		3		10		20	
Number of Animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)
Clinical Chemistry									
Inorganic phosphorus	Week 52	1.87±0.18	1.91±0.25	1.46**±0.27	1.65*±0.15	1.43**±0.19	1.60*±0.18	1.61*±0.21	1.65*±0.07
(mmol/L)	Week 78	1.75±0.24	1.45±0.24	1.57±0.14	1.37±0.09	1.33±0.17	1.09±0.07	1.49±0.17	1.05±0.18
Calcium (mmol/L)	Week 52	2.61±0.13	2.47±0.09	2.46*±0.13	2.40±0.13	2.42*±0.13	2.31**±0.09	2.25**±0.18	2.22**±0.16
	Week 78	2.57±0.15	2.57±0.19	2.54±0.21	2.52±0.14	2.46±0.09	2.39±0.10	2.36±0.12	2.44±0.10
Urinalysis		No drug-related changes							
Gross Pathology		No drug-related changes							
Organ Weight									
Spleen (g/100 g BW) :	Week 52/53	0.1675 ±0.0291	0.1797 ±0.0294	0.1948*** ±0.0262	0.1908 ±0.0394	0.1982** ±0.0463	0.1843 ±0.0324	0.1894* ±0.0378	0.1851 ±0.0280
	Week 78	0.1328 ±0.0186	0.1735 ±0.0204	0.1903* ±0.0428	0.2159 ±0.0452	0.2301* ±0.0643	0.2198 ±0.0376	0.2202* ±0.0759	0.2192 ±0.0475
Kidney (g/100 g BW)	Week 52/53	0.6147 ±0.0568	0.7152 ±0.0918	0.5968 ±0.0765	0.7009 ±0.0982	0.6291 ±0.1034	0.6853 ±0.1273	0.6956** ±0.0984	0.7165 ±0.1085
	Week 78	0.5851 ±0.0524	0.6324 ±0.0473	0.6811 ±0.1010	0.7083 ±0.1227	0.7287 ±0.1020	0.8689 ±0.2503	0.6340 ±0.1555	0.6140 ±0.0558

Data are shown in Mean±SD.

Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01; *** = p <0.001: Kruskal-Wallis ANOVA + Mann-Whitney u-tests (two-sided)

表 2.6.7.7.4-1　ラットにおける1年間経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		3		10		20	
Number of Animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)	40(5)
Histopathology									
Spleen									
Extramedullary hematopoiesis	Premature deaths	-	-	-	1/2	-	4/13	-	1/14
	Week 52/53	-	-	18/31	8/33	25/28	7/22	16/19	6/21
Recovery (week 78 or premature deaths)		-	4/5	4/5	4/5	5/5	3/5	5/5	4/5
Kidney									
Epithelial hypertrophy of medullary tubules	Premature deaths	-	-	-	-	-	-	6/16	3/14
	Week 52/53	-	-	-	-	13/28	3/22	19/19	18/21
Recovery (week 78 or premature deaths)		-	-	-	-	-	-	-	-
Brain									
Basophilic bodies	Premature deaths	-	-	-	-	-	-	1/16	-
	Week 52/53	-	-	-	-	-	-	8/19	-
Recovery (week 78 or premature deaths)		-	-	-	-	-	-	3/5	-
Bone (Femur, sternum, ribs)									
Enlarged zone of enchondral ossification	Premature deaths	-	-	4/4	2/2	7/7	13/13	16/16	14/14
	Week 52/53	-	-	31/31	33/33	28/28	22/22	19/19	21/21
Recovery (week 78 or premature deaths)		-	-	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5

2.6.7.7.5　イヌにおける4週間経口投与試験

表 2.6.7.7.5-1　イヌにおける4週間経口投与試験

Test Article: Ibandronate

Species/Strain:	Dog, beagle	Duration of Dosing:	4 weeks	Location in CTD:	4.2.3.2-5
Initial Age:	12 months	Duration of Postdose:	none	Study No.:	G3
Initial Weight:	Males: about 11 kg Females: about 9 kg	Method of Administration:	p.o. (capsule)	Report No.:	G3
Date of First Dose:	[redacted]	Vehicle/Formulation:	Excipients: lactose K, microcrystalline cellulose, polyvinylpyrrolidone 25.00, cleaned water, sodium carboxymethyl starch, magnesium stearate	GLP Compliance:	yes
Special Features:	None				
No Observed Adverse Effect Level:	2.69 mg/kg/day				

Performed Examinations:

Clinical Observations:	☒ yes ☐ no	Clinical Chemistry:	☒ yes ☐ no	
Food Consumption:	☒ yes ☐ no	Urine Analysis:	☒ yes ☐ no	
Water Consumption:	☐ yes ☒ no	Organ Weights:	☒ yes ☐ no	
Body Weight:	☒ yes ☐ no	Necropsy:	☒ yes ☐ no	
Hematology:	☒ yes ☐ no	Histology:	☒ yes ☐ no	
ECG:	☒ yes ☐ no	Others: Ophthalmoscopy Reflex tests	☒ yes ☐ no	

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		0.9		2.69		8.95	
	M	F	M	F	M	F	M	F
Number of Animals	4	4	4	4	4	4	4	4
Toxicokinetics: AUC	Not performed							
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (g) : Week 4	10200.001 ±1258.969	9587.501 ±909.558	9962.501 ±1316.168	9712.501 ±1284.123	12237.501 ±2180.359	9375.001 ±1057.121	10725.001 ±1181.457	8962.501 ±564.770

Data are shown in Mean±SD.

表 2.6.7.7.5-1 イヌにおける4週間経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		0.9		2.69		8.95	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
	4	4	4	4	4	4	4	4
Food Consumption : Week 4 (g/anm/day)	400.179 ±0.000	395.225 ±5.792	400.133 ±0.000	377.033 ±26.760	400.213 ±0.000	399.683 ±0.559	400.238 ±0.000	400.238 ±0.000
Water Consumption	Not performed							
Clinical Observations	No drug-related changes							
Reflex Tests	No drug-related changes							
Electrocardiography	No drug-related changes							
Heart Rate	No drug-related changes							
Ophthalmoscopy	No drug-related changes							
Hematology: Week 4								
Leucocytes ($10^3/\mu L$)	8.825 ±2.272	10.875 ±1.830	8.400 ±0.804	7.375 ±0.299	11.175 ±1.863	8.975 ±1.902	11.725 ±1.477	7.525 ±0.419
Clinical Chemistry: Week 4								
Calcium (mmol/L)	2.6200 ±0.0800	2.7075 ±0.0670	2.5825 ±0.1021	2.6550 ±0.0404	2.5800 ±0.1039	2.6050 ±0.0998	2.4225 ±0.1457	2.4775 ±0.0950
ALP (U/L)	145.0875 ±78.8804	124.5650 ±46.4799	98.2700 ±50.3172	124.4250 ±23.4996	129.1800 ±45.0620	98.1675 ±47.9148	221.7825 ±164.2402	144.8250 ±46.1362
AST (U/L)	11.3500 ±1.9080	11.3675 ±0.8161	12.1550 ±2.9038	9.2750 ±1.1904	9.9375 ±3.7128	9.8075 ±2.6053	24.2250 ±14.9633	14.0975 ±1.9544
Urinalysis	No drug-related changes							

Data are shown in Mean±SD.

表 2.6.7.7.5-1　イヌにおける4週間経口投与試験（続）

Test Article:　Ibandronate

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		0.9		2.69		8.95	
Number of Animals	M	F	M	F	M	F	M	F
	4	4	4	4	4	4	4	4
Gross Pathology	No drug-related changes							
Organ Weight								
Spleen (g/100 g BW)	0.246 ±0.059	0.401 ±0.074	0.269 ±0.066	0.297 ±0.098	0.283 ±0.007	0.268 ±0.060	0.293 ±0.013	0.310 ±0.103
Kidneys (g/100 g BW)	0.4824 ±0.0510	0.5067 ±0.0433	0.4980 ±0.0468	0.5043 ±0.0743	0.5033 ±0.0560	0.5097 ±0.0291	0.5591 ±0.0481	0.5132 ±0.0145
Histopathology								
Bone								
Enlargement of zone of enchondral ossification	-	-	4/4 ++	4/4 +～++	4/4 +～++	4/4 +～++	4/4 ++	4/4 ++
Focal subacute inflammation at the zone of enchondral ossification	-	-	-	-	-	-	1/4 ++	-
Focal necrosis at the zone of enchondral ossification	-	-	-	-	-	-	-	1/4 +

Data are shown in Mean±SD.

- No noteworthy findings; (+) very mild; + mild; ++ moderate; +++ severe

2.6.7.7.6　イヌにおける6カ月間経口投与試験

表 2.6.7.7.6-1　イヌにおける6カ月間経口投与試験

				Test Article:	Ibandronate
Species/Strain:	Dog, beagle	Duration of Dosing:	6-month	Location in CTD:	4.2.3.2-6
Initial Age:	7.5-10.5 months	Duration of Postdose:	13-week	Study No.:	H2
Initial Weight:	Male: 7.2-11.2 kg Female: 6.6-11.4 kg	Method of Administration:	p.o. (capsule)	Report No.:	H2
Date of First Dose:	[redacted]	Vehicle/Formulation:	gelatin capsules	GLP Compliance:	yes
Special Features:	none				
No Observed Adverse Effect Level:	5 mg/kg/day				

Performed Examinations:

Clinical Observations:	☒ yes	☐ no	Clinical Chemistry:	☒ yes	☐ no
Food Consumption:	☒ yes	☐ no	Urine Analysis:	☒ yes	☐ no
Water Consumption:	☐ yes	☒ no	Organ Weights:	☒ yes	☐ no
Body Weight:	☒ yes	☐ no	Necropsy:	☒ yes	☐ no
Hematology:	☒ yes	☐ no	Histology:	☒ yes	☐ no
ECG:	☒ yes	☐ no	Others: Toxicokinetics Ophthalmoscopy	☒ yes	☐ no

表 2.6.7.7.6-1　イヌにおける6カ月間経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		2		5		13	
Number of animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(0)	5(0)
Toxicokinetics									
C_{max} (ng/mL) Median (Range)	Single dose	NE	NE	33.8 (20.4-44.6)	25.3 (4.9-138.9)	66.9 (20.4-975.4)	271.3 (55.5-498.9)	2511.2 (678.6-6433.0)	499.2 (126.1-6279.5)
	Week 26	NE	NE	33.5 (6.5-64.2)	2.3 (0.9-65.2)	295.4 (14.7-674.5)	6.3 (4.5-762.7)	ND	ND
AUC_{0-24h} (ng·h/mL) Median (Range)	Single dose	NE	NE	59.5 (41.7-107.6)	41.6 (15.6-154.3)	91.3 (51.6-1073.8)	601.7 (102.8-827.9)	5032 (1244-11039)	1004 (187-11116)
	Week 26	NE	NE	99.1 (53.0-151.5)	17.3 (4.4-124.3)	611.8 (130.4-1520.8)	93.9 (64.4-1612.0)	ND	ND

NE: not evaluated

表 2.6.7.7.6-1 イヌにおける6カ月間経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		2		5		13	
Number of animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(0)	5(0)
Noteworthy Findings									
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	5 Day 48, 93, 101	3 Day 58, 91, 101
Body Weight (kg)	Week 13	9.1±0.8	9.8±1.5	9.9±1.2	8.6±0.6	10.2±1.2	9.0±1.2	6.8*±1.4	6.7**±1.1
	Week 26	9.7±1.0	10.5±1.5	10.6±0.8	9.0±0.8	10.8±1.6	9.3±1.2	NA	8.5±0.8
Food Consumption	Week 12-13	350±0.2	349±2.2	380±67.1	318±35.8	350±0.2	301±44.5	113**±53.8	128**±95.7
(g/anm/day)	Week 25-26	347±7.2	319±53.4	379±63.9	270±61.4	321±60.8	262±64.6	NA	122**±50.3
Water Consumption		Not performed							
Clinical Observations		In animals killed in extremis, reduced activity, dehydration, pallidness, cyanosis, gastrointestinal irritation (isolated cases of vomiting, red-coloured faeces) were noted.							
ECG		No drug-related changes							
Ophthalmoscopy		No drug-related changes							
Hematology:									
RBC (T/L)	Week 13	7.18	6.95	6.78	6.84	6.82	6.37	5.83	7.40
	Week 25	7.66	6.98	6.90*	6.71	6.89*	6.99	NA	7.09
	Week 39	8.89	8.10	7.64	8.27	7.43	6.83	NA	NA
Hb (mmol/L)	Week 13	10.2	10.3	9.8	10.3	9.8	9.4	8.8	10.9
	Week 25	11.1	10.4	10.0*	10.1	10.1	10.3	NA	10.3
	Week 39	12.8	12.2	10.9	11.7	10.9	10.6	NA	NA
HCT (1/1)	Week 13	0.48	0.48	0.46	0.48	0.46	0.45	0.43	0.51
	Week 25	0.52	0.49	0.48	0.48	0.47	0.49	NA	0.50
	Week 39	0.62	0.57	0.53	0.57	0.55	0.51	NA	NA

Data are shown in Mean±SD for Body Weight and Food Consumption and Mean for Hematology; Statistical analysis: * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$: Dunnett-test

表 2.6.7.7.6-1 イヌにおける6カ月間経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		2		5		13	
Number of animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(0)	5(0)
MCV (fL)	Week 13	67.1	69.0	68.4	70.5	68.0	70.5	73.4**	69.7
	Week 25	67.5	70.1	69.0	72.2	68.5	70.0	NA	70.0
	Week 39	69.3	70.5	69.6	69.0	73.6	74.8	NA	NA
MCH (fmol)	Week 13	1.42	1.48	1.45	1.51	1.44	1.49	1.51**	1.48
	Week 25	1.44	1.49	1.44	1.51	1.46	1.48	NA	1.45
	Week 39	1.44	1.50	1.43	1.42	1.47	1.55	NA	NA
Clinical Chemistry:									
Urea (mmol/L)	Week 4	6.03	5.50	5.64	5.11	5.51	5.52	5.77	7.61*
	Week 25	6.31	5.75	6.62	6.14	5.45	4.88	NA	5.12
	Week 39	6.60	9.88	5.62	6.69	5.65	6.88	NA	NA
Creatinine (μmol/L)	Week 4	67	75	68	66	71	73	102**	115**
	Week 25	68	68	67	69	67	68	NA	62
	Week 39	85	91	69	83	65	74	NA	NA
Total bilirubin(mmol/L)	Week 4	5.3	5.5	4.7	5.6	4.3	4.9	9.8**	15.4**
	Week 25	4.4	5.6	4.7	5.1	4.2	4.8	NA	5.2
	Week 39	5.4	5.9	3.8	5.1	5.6	3.8	NA	NA
Total lipids(g/L)	Week 4	3.5	4.2	3.8	4.4	3.7	4.1	5.7**	5.3
	Week 25	3.5	5.1	3.6	3.9	3.8	3.3*	NA	3.7
	Week 39	3.4	4.4	3.7	3.7	3.0	4.4	NA	NA

Data are shown in Mean; Statistical analysis: * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$: Dunnett-test

表 2.6.7.7.6-1　イヌにおける6カ月間経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		2		5		13	
Number of animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(0)	5(0)
Total Cholesterol	Week 13	3.68	4.22	3.83	3.96	4.15	4.89	5.30*	5.90*
(mmol/L)	Week 25	3.48	5.40	3.53	4.48	4.03	3.92	NA	4.92
	Week 39	3.29	2.94	3.36	3.36	2.86	2.19	NA	NA
Triglycerides	Week 13	0.60	0.74	0.70	0.58	0.62	0.57*	0.64	0.72
(mmol/L)	Week 25	0.63	0.79	0.68	0.64	0.60	0.56	NA	0.54
	Week 39	0.64	0.90	0.73	0.68	0.62	1.07	NA	NA
Phospholipids	Week 4	3.83	4.34	3.94	4.73	4.11	4.32	5.51**	5.42*
(mmol/L)	Week 25	3.71	4.97	3.69	4.42	4.05	4.07	NA	4.74
	Week 39	4.23	3.75	3.86	4.00	3.15	2.46	NA	NA
Magnesium	Week 4	0.81	0.85	0.85	0.84	0.84	0.81	0.97*	1.00**
(mmol/L)	Week 25	0.80	0.80	0.78	0.82	0.80	0.81	NA	0.86
	Week 39	0.63	0.71	0.59	0.63	0.61	0.61	NA	NA
Iron (µmol/L)	Week 13	51.30	47.00	39.54	37.72	36.30*	36.00	25.18**	25.03**
	Week 25	43.46	41.48	41.88	42.54	37.00	32.72	NA	34.15
	Week 39	36.60	44.70	40.20	43.40	20.20	35.30	NA	NA
Calcium (mmol/L)	Week 13	2.83	2.86	2.71	2.90	2.80	2.89	2.18**	2.52
	Week 25	2.65	2.75	2.58	2.73	2.59	2.67	NA	2.65
	Week 39	2.81	2.74	2.73	2.75	2.57	2.63	NA	NA
Phosphorus (mmol/ L)	Week 4	1.84	1.74	1.15*	1.31*	1.21*	1.04**	1.45	1.41
	Week 25	1.38	1.45	1.11	1.17	1.26	1.10*	NA	1.24
	Week 39	1.03	1.17	1.55	0.97	1.30	1.34	NA	NA
Glucose (mmol/L)	Week 4	5.89	5.82	6.04	5.96	6.12	5.83	5.20*	5.71
	Week 25	6.16	5.48	6.08	5.48	5.71	5.69	NA	6.33*
	Week 39	5.59	6.26	5.31	6.42	5.96	6.44	NA	NA
Potassium (mmol/L)	Week 13	4.04	3.87	3.93	3.67	3.92	3.94	3.70	4.63
	Week 25	4.12	4.06	3.90	3.83*	3.98	3.93	NA	4.01
	Week 39	3.77	3.90	4.25	3.57	4.01	3.87	NA	NA

Data are shown in Mean; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: Dunnett-test

表 2.6.7.7.6-1 イヌにおける6カ月間経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		2		5		13	
Number of animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(0)	5(0)
ALP (μkat/L)	Week 4	3.57	3.93	3.75	3.08	2.30	2.70	2.65	1.45*
	Week 25	2.83	4.99	4.34	2.15	2.09	2.73	NA	1.87
	Week 39	2.68	2.22	2.58	3.28	1.20	3.47	NA	NA
GGT (nkat/L)	Week 4	41.39	35.40	42.82	41.69	49.25	50.02	107.21**	67.31*
	Week 25	44.89	50.06	41.68	52.38	41.46	43.95	NA	50.72
	Week 39	42.29	56.95	44.39	85.47	47.66	87.40	NA	NA
Albumin (g/L)	Week 4	30.2	31.7	28.9	30.0	28.7	30.0	26.9*	28.4*
	Week 25	31.5	31.0	29.3	31.9	30.0	31.1	NA	31.8
	Week 39	36.0	33.6	30.4	35.1	32.5	30.5	NA	NA
α1-globulin (g/L)	Week 4	7.9	8.6	8.1	9.3	8.5	9.0	9.3**	9.9
	Week 25	7.8	9.7	8.0	9.1	8.4	8.7	NA	9.2
	Week 39	6.2	6.4	6.3	6.6	5.9	5.4	NA	NA
α2- globulin (g/L)	Week 4	6.0	6.1	6.1	6.1	6.1	6.4	8.7*	7.7*
	Week 25	6.8	6.8	7.4	5.7	7.3	6.6	NA	6.3
	Week 39	6.6	4.9	6.3	4.3	5.8	5.6	NA	NA
γ- globulin (g/L)	Week 4	3.1	2.7	3.5	2.9	3.5	2.9	4.2*	3.7*
	Week 25	3.5	3.0	4.0	3.5	4.0	3.4	NA	3.2
	Week 39	3.9	3.4	4.7	4.0	3.2	5.1	NA	NA
A/G ratio	Week 4	1.10	1.14	1.03	1.07	1.00	1.06	0.81**	0.89
	Week 25	1.08	1.01	0.95	1.09	0.96	1.03	NA	1.05
	Week 39	1.14	1.22	0.96	1.27	1.14	0.98	NA	NA

Data are shown in Mean; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: Dunnett-test

表 2.6.7.7.6-1 イヌにおける6カ月間経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		2		5		13	
Number of animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(0)	5(0)
Urinalysis:									
Protein score (0 – 3)	Week 4	0	0	1	1	1	1	2#	2#
	Week 25	1	0	2	1	1	1	NA	1
	Week 39	2	1	1	3	1	1	NA	NA
Glucose score (0 – 3)	Week 4	0	0	0	0	0	0	3	0
	Week 25	0	0	0	0	0	0	NA	0
	Week 39	0	0	0	0	0	0	NA	NA
Organ weight: week 26									
Kidney (Left): body weight ratio (%)		0.25±0.05	0.25±0.04	0.28±0.07	0.21±0.02	0.27±0.05	0.22±0.02	NA	0.30±0.02
Kidney (Right): body weight ratio (%)		0.25±0.04	0.22±0.02	0.27±0.08	0.21±0.02	0.27±0.03	0.22±0.01	NA	0.27*±0.02
Gross pathology		Discoloured, hardened lungs containing watery fluid, friable liver, kidney nodule, and thickening of costochondral joint were seen in 13 mg/kg/day group.							
Histopathology									
Kidney									
Renal tubular dilatation	Week 26	-	-	-	-	-	-	5/5 +～++	3/5 (+)～++
	Week 39	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Esophagus									
Acute esophagitis	Week 26	-	-	1/4 +	-	-	-	1/5 +	3/5 (+)～++
	Week 39	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Acute ulceration	Week 26	-	-	-	-	-	-	1/5 ++	-
	Week 39	-	-	-	-	-	-	NA	NA

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: Dunnett-test; # = p <0.05: Steel-test

- No noteworthy findings; (+) very mild; + mild; ++ moderate; +++ severe

表 2.6.7.7.6-1　イヌにおける6カ月間経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		2		5		13	
Number of animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(0)	5(0)
Lung									
Bronchopneumonia	Week 26	-	-	-	-	-	-	2/5 +++	-
	Week 39	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Liver									
Fatty vacuolation of hepatocyte	Week 26	-	-	-	-	-	-	1/5	1/5
	Week 39	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Trachea									
Acute tracheitis	Week 26	-	-	-	1/4 (+)	1/4 (+)	-	1/4 (+)	-
	Week 39	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Bone (Sternum)									
Trabecular extension (Metaphyses)	Week 26	-	-	3/4 (+)～+	2/4 (+)	4/4 (+)～+	2/4 (+)	-	1/5 (+)
	Week 39	-	-	1/1 +	-	1/1 +	-	NA	NA
Trabecular extension (Diaphyses)	Week 26	-	-	-	-	2/4 ++～+++	2/4 +～+++	4/5 (+)～+	4/5 +～+++
	Week 39	-	-	-	-	-	1/1 (+)	NA	NA
Mesenchymatous tissue	Week 26	-	-	-	-	-	-	4/5 +～++	3/5 (+)
	Week 39	-	-	-	-	-	-	NA	NA

- No noteworthy findings; (+) very mild; + mild; ++ moderate; +++ severe

表 2.6.7.7.6-1　イヌにおける6カ月間経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		2		5		13	
Number of animals		M	F	M	F	M	F	M	F
(recovery animals)		5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(1)	5(0)	5(0)
Femur with Joint									
Mesenchymatous tissue	Week 26	-	-	-	-	2/4 (+)～+	-	5/5 (+)～++	4/5 (+)～++
	Week 39	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Trabecular extension (Metaphyses)	Week 26	-	-	3/4 (+)～+	2/4 (+)	4/4 (+)～+	3/4 (+)～+	5/5 (+)	3/5 (+)
	Week 39	-	-	1/1 +	-	1/1 +	-	NA	NA
Inflammatory cell infiltration	Week 26	-	-	-	-	-	-	1/5 +	-
	Week 39	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Costochondral Junction									
Increased epiphyseal cartilage	Week 26	-	-	-	-	-	-	3/5 +～++	1/5 +
	Week 39	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Trabecular extension (Metaphyses)	Week 26	-	-	4/4 ++	4/4 +～++	4/4 ++	4/4 ++	2/5 +	5/5 +～++
	Week 39	-	-	1/1 ++	1/1 +	1/1 ++	1/1 ++	NA	NA
Trabecular extension (Diaphyses)	Week 26	-	-	-	-	2/4 (+)～+	2/4 +～++	3/5 (+)～+	4/5 +
	Week 39	-	-	-	-	-	1/1 (+)	NA	NA
Medullary hemorrhage	Week 26	-	-	-	-	-	-	1/5 +	-
	Week 39	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Necrotic area with gap formation	Week 26	-	-	-	-	-	-	2/5	2/5
	Week 39	-	-	-	-	-	-	NA	NA

- No noteworthy findings; (+) very mild; + mild; ++ moderate; +++ severe

2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験

該当なし

2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験

該当なし

2.6.7.10 がん原性試験

該当なし

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

表 2.6.7.11-1　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Ibandronate

Segment II						
Study Description	Dose Route	Maternal Toxicity	Embryo-fetal Toxicity	Teratogenicity	Comments	Location in CTD Study Number
Rat, Sprague-Dawley; F_0 females: days 6 to 15 p.c.; spontaneous delivery, dose-range finding	0, 10, 20, 40 [b] mg/kg/day, p.o.	1/5 death at 10 mg/kg/day on day23 p.c., 3/5 deaths at 40 mg/kg/day on day22 p.c.; one dam in each of 20 and 40 mg/kg/day groups killed in extremis before delivery.	The number of live pups was markedly reduced in the high dose group (40 mg/kg/day).	None	There was no evidence for any fetal toxic or teratogenic effects in ibandronate treated rats.	4.2.3.5.2-2 K16
Rat, Sprague-Dawley; F_0 females: days 6 to 15 p.c.; spontaneous delivery (Ca suppl.), dose-range finding	0, 50, 70[b] mg/kg/day, p.o.	Ibandronate interfered with normal delivery resulting in death (27/48) of treatment dams. Calcium supplementation reduced the incidence of dystocia in rats of treatment 70 mg/kg/day.	None	None	There was no evidence for any fetal toxic or teratogenic effects in ibandronate treated rats.	4.2.3.5.2-4 K8
Rabbit, CHbb:HM; pregnant females: days 6 to 18 p.c., dose-range finding	0, 3, 10, 30[b] mg/kg/day, p.o.	Toxicity was observed at 30 mg/kg/day and one rabbit died: lower doses were well tolerated.	An increased resorption rate was noted at the high dose (30 mg/kg/day).	None	An increased resorption rate was noted at the high dose; however no teratogenic effects were observed.	4.2.3.5.2-6 K4

a: Doses expressed as ibandronate $Na.H_2O$; b: Doses expressed as the free acid equivalent

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

2.6.7.12.1 ラットにおける雌雄生殖能試験（生後観察を含む）

表 2.6.7.12.1-1 ラットにおける雌雄生殖能試験（生後観察を含む）

				Test Article:	Ibandronate
Design similar to ICH 4.1.1?	yes	Duration of Dosing: M:	From 60 days before mating to the day copulation had taken place	Location in CTD:	4.2.3.5.1-1
Species/Strain:	Rat, Crl: CD BR Sprague-Dawley	Duration of Dosing: F:	From 14 days before mating to Day 21 p.c. for C-section group/From 14 days before mating to Day 21 p.p. for littering group	Study No.:	K2
Initial Age:	Males: about 7-8 weeks Females: about 8-9 weeks	Day of Mating:	Day 0 p.c.	Report No.:	K2
		Day of C-Section:	Day 21 p.c. / natural delivery	GLP Compliance:	yes
Date of First Dose:	[redacted] (Male)	Method of Administration:	p.o.		
Special Features:	None	Vehicle/Formulation:	0.5% Sodium carboxymethylcellulose		
No Observed Adverse Effect Level:					
F_0 Males and Females:	16 mg/kg/day for general toxicity and < 1 mg/kg/day for reproduction				
F_1 Litters:	4 mg/kg/day for embryo-fetal toxicity, 16 mg/kg/day for postnatal development				

表 2.6.7.12.1-1　ラットにおける雌雄生殖能試験（生後観察を含む）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	1	4	16
Males	Toxicokinetics	Not performed			
	Number of Animals	30	30	30	30
	No. Died or Sacrificed Moribund	No drug-related deaths			
		3 (gavage accidents)	3 (gavage accidents)	1	1 (gavage accidents)
	Clinical Observations	No drug-related changes			
	Necropsy Observations	No drug-related changes			
	Body Weight (g) Day 59 of pre-mating period	553.4±43.4	557.7±45.9	561.6±46.5	556.2±40.0
	Days Until Successful Mating	No drug-related changes			

Data are shown in Mean±SD.

表 2.6.7.12.1-1 ラットにおける雌雄生殖能試験（生後観察を含む）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	1	4	16
Females	Toxicokinetics	Not performed			
	No. of Animals	30	30	30	30
	Clinical Observations	During pre-mating period no drug related changes were observed. Dystocia was noted in animals of all test compound groups. Additionally in 16 mg/kg/day group all fetuses of one dam in the caesarean section subgroup were not breathing and all pups of one dam in the littering subgroup were stillborn.			
	Body Weight (g) Day 13 of pre-mating period Day 21 p.c.	273.0±18.1 465.1±26.1	273.5±19.0 449.9±30.8	265.4±18.7 436.9±33.3	273.0±22.5 449.2±35.1
	No. of Animals Mated	27	27	29	29
	Days Until Successful Mating	No drug-related changes			
	No. of Non Pregnant Females	0	0	2	4
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	1 (Day 22 p.c.)	1(Day 22 p.c.)	5(Day 17, 21, 22, 23 p.c.)
	Necropsy Observations	No drug-related changes			
Females (Caesarean Section Subgroup)	No.of CL/animal	19.77±2.45	19.93±3.50	19.93±3.75	19.82±2.93
	Pre-implantation Loss (% of corpora lutea)	12.10±10.99	20.91±11.91	27.03**±15.65	18.44±13.87
	No. of IS/animal	17.15±1.14	15.71±3.17	14.53**±3.52	16.00±1.87$^{\#}$
	No. of Live Fetuses/IS (%)	98.28±4.76	98.33±3.45	93.17±15.35	100.00±0.00
	No. of Resorptions /IS (%)	1.72±4.76	1.68±3.46	6.83±15.35	0.00±0.00
	Fetal Body Weight (g) (male/female)	5.43 ± 0.19/5.10 ± 0.15	5.41 ± 0.23/5.12 ± 0.27	5.20 ± 0.78/4.92 ± 0.85	5.00** ± 0.37$^{\#\#}$ /4.84*± 0.27$^{\#}$
	Sex Ratio (% of male)	46.02±16.02	46.82±11.30	44.80±11.19	53.20±11.46
	Fetal Anomalies				
	Externally Visible Anomalies	Externally visible anomalies were not observed in any groups.			
	Visceral Findings: Malformations (%)	0.00 ± 0.00	0.89 ± 3.34	8.33 ± 26.16	1.52 ± 5.04
	Skeletal Findings: Malformations (%)	1.82 ± 4.44	1.61 ± 4.11	4.53 ± 8.57	1.01 ± 3.35

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: U-test ; $^{\#}$ = p <0.05; $^{\#\#}$=p <0.01: Jonckheere trend test

表 2.6.7.12.1-1 ラットにおける雌雄生殖能試験（生後観察を含む）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	1	4	16
Females (Littering Subgroup)	Duration of Gestation	No drug-related changes			
	No.of Corpora Lutea/animal	19.36±2.24	19.33±1.30	18.00±2.45	17.10*±3.00#
	Body Weight (g) Day 12 p.p.	382.5 ± 19.6	377.0 ± 26.5	362.5* ± 22.1	348.5* ± 35.0##
	Pre-implantation Loss (% of corpora lutea)	10.61±10.15	6.43±5.56	9.11±8.10	13.64±24.06
	No. of Implantation Sites(IS)/animal	17.14±1.41	18.00±1.53	16.50±2.11	14.83*±4.11#
	Post-implantation Loss/IS (%)	4.19±5.07	8.89*±7.07	7.04±5.97	9.06**±9.52#
	Live Pups/IS (%)	93.42±5.09	88.77±8.57	87.39±11.88	70.40***±29.87##
	Dead Pups/IS	2.41±3.62	2.37±2.95	5.60±10.03	19.56±31.21
	Sex Ratio (% of male)	54.71±12.23	48.43±9.66	47.08±12.93	46.68±14.39
	Fetal Anomalies Externally Visible Anomalies	No drug-related changes			
	Physical Development	No drug-related changes			
	Neuromuscular Coordination and Reflexes	No drug-related changes			
	Water-Maze Behavioral Test	No drug-related changes			
	Necropsy Observations	No drug-related changes			
	Reproduction test	No drug-related changes			

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: U-test; # = p <0.05; ## =p <0.01: Jonckheere trend test

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する経口投与試験

2.6.7.13.1 ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（帝王切開試験）

表 2.6.7.13.1-1 ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（帝王切開試験）

Test Article: Ibandronate

Design similar to ICH 4.1.3?	yes	Duration of Dosing:	Days 6 - 15 p.c.	Location in CTD:	4.2.3.5.2-1
Species/Strain:	Rat, Crl:CD BR Sprague-Dawley	Day of Mating:	Day 0 p.c.	Study No.	K17
Initial Age:	about 2 months	Day of C-Section:	Day 21 p.c.	Report No.:	K17
Date of First Dose:	[redacted]	Method of Administration:	p.o.	GLP Compliance:	yes
Special Features:	Blood parameters were determined in dams.	Vehicle/Formulation:	0.5% Sodium carboxymethylcellulose		
No Observed Adverse Effect Level:					
F_0 Females:	10 mg/kg/day for general toxicity, 60 mg/kg/day for reproduction				
F_1 Litters:	< 10 mg/kg/day				

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	10	30	60[1)]	100
Dams/Does	Toxicokinetics:	Not performed				
	No. Animals Pregnant	21	19	24	18	23
	No. Died or Sacrificed Moribund	1 (gavaging accident)	2 (gavaging accident)	0	1	16
	Clinical Observations	The high dose (100 mg/kg/day) proved to be toxic to the dams and resulted in the premature deaths of most of the animals. Severely impaired general well-being was also noted for 4 animals in the 60 mg/kg/day dose group, one of which had to be killed. Isolated findings of stained pelt in the anogenital or snout region were observed at 30 mg/kg/day.				
	No. Evaluated Pregnant Females	20	17	24	17	7
	Body Weight (g): Day 21 p.c.	404.8±32.2	419.7±39.3	405.8±26.9	405.2±49.3	376.2±61.1
	Food Consumption	Not determined				
	No. of CL/animal	Not determined				
	No. of IS/animal	12.90±4.57	13.21±4.26	13.33±3.99	14.72±2.97	13.74±3.88

Data are shown in Mean±SD.

1) Additional dose group was included due to numerous of fatalities at 100 mg/kg/day.

表 2.6.7.13.1-1 ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（帝王切開試験）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	10	30	60[1)]	100
Dams/Does	Necropsy Observations	Gastric hemorrhage, nephrotic edema, edema of the lung with and without parenchymal hemorrhage were among the pathological changes observed in the high dose group (100 mg/kg/day). The most notable pathological changes in the 60 mg/kg/day group were gastric hemorrhage, discoloured kidneys, and spleen atrophy.				
	Serum Calcium (mmol/L): Day 21 p.c.	2.32±0.36	2.22±0.40	2.19±0.33	2.11±0.58	1.94±0.89[#, 3)]
	Serum Inorganic Phosphorus (mmol/L): Day 21 p.c.	2.10±0.25	1.92±0.44	1.96±0.36	1.98*±0.76[#, 2)]	2.64±1.30
	Serum BUN (mmol/L): Day 21 p.c.	6.17±1.41	6.34±1.90	6.14±1.95	8.69*±5.76	14.02±13.19[#, 3)]
	Serum Creatine (μmol/L): Day 21 p.c.	47.0±6.1	45.3±3.2	47.1±5.9	67.8*±54.2[#, 2)]	108.0±128.2[#, 3)]
F1 Litters	Post-implantation Loss/IS (%)	6.9±8.0	4.0±6.9	4.3±5.4	4.6±5.8	17.3±36.9
	Live Fetuses (% of IS)	93.1±8.0	96.0±6.9	95.7±5.4	94.8±7.0	82.7±36.9
	Dead Fetuses (% of IS)	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.6±2.6	0.0±0.0
	Fetal Body Weight (g)(male/female)	5.58±0.46/ 5.26±0.40	5.48±0.40/ 5.31±0.57	5.41±0.51/ 5.08±0.39	5.19±0.74/ 4.93±0.73	5.19±1.00/ 4.74±0.94
	Fetal Sex Ratio (% males)	47.8±20.6	52.2±19.9	54.1±17.5	47.9±17.3	43.6±12.5
	Fetal Anomalies:					
	External Malformation	Apart from an abdominal hernia observed in one fetus in the 30 mg/kg/day group no externally visible anomalies were observed in any experimental group.				
	Visceral Variation (%)	57.1±30.5	75.6*±17.7	69.5±25.2	80.8*±15.2[#, ,2)]	65.7±22.2[#, 3)]
	Liver-Additional structure, Lobe	39/116	34/105	50/149	64/117	12/37
	Thyroid gland-Enlargement	1/116	0/105	0/149	2/117	0/37
	Thymus gland-Enlargement	7/116	13/105	6/149	9/117	3/37
	Vessel-Shortening, Truncus Brachiocephalicus	11/116	7/105	10/149	15/117	1/37
	Urinary organs- Renal Pervis Ureter (RPU)	29/116	59/105	60/149	56/117	18/37
	Visceral Malformation (%)	2.1±9.2	1.3±5.0	1.3±4.4	3.5±10.9	0.0±0.0
	Abdomen-Clefts, Hernia	0/116	0/105	1/149	0/117	0/37
	Diaphragm-Clefts, Hernia	0/116	0/105	1/149	0/117	0/37
	Brain-Dilatation, lateral ventricle	2/116	1/105	0/149	4/117	0/37

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: U-tests; # = p <0.05; ## =p <0.01: Jonckheere trend test

1) Additional dose group was included due to numerous of fatalities at 100 mg/kg/day; 2) Jonckheere trend test excluding 100 mg/kg/day dose group; 3) Jonckheere trend test including 100 mg/kg/day dose group

表 2.6.7.13.1-1 ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（帝王切開試験）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	10	30	60[1)]	100
F1 Litters	Skeletal Variation (%)	6.2±11.0	15.8*±16.9	15.1*±17.0	18.6*±23.6	2.1±5.1
	Arches of Cervical Vertebrae (7th) – Additional Structure	0/121	0/107	1/153	1/120	0/39
	Ribs (Thoracic Vertebrae)-Additional Structure, Rudimentary	3/121	13/107	18/153	14/120	0/39
	Scapula (Fore Legs)-Asymmetry	1/121	0/107	2/153	1/120	0/39
	Sternal Centres (6th)-Asymmetry	6/121	5/107	3/153	6/120	1/39
	Skeletal Malformation (%)	0.7±3.2	0.7±3.0	2.3±6.8	1.0±4.0	0.0±0.0
	Arches of Lumber Vertebrae (3rd)-Abnormal Shape	0/121	0/107	1/153	0/120	0/39
	Arches of Lumber Vertebrae-Additional Structure	0/121	1/107	0/153	0/120	0/39
	Centres of Lumber Vertebrae-Additional Structure	0/121	1/107	0/153	0/120	0/39
	Arches of Thoracic Vertebrae (13th)-Agenesis of Structure	0/121	0/107	1/153	0/120	0/39
	Centres of Thoracic Vertebrae (13th)-Agenesis of Structure	0/121	0/107	1/153	0/120	0/39
	Rib (13th)- Agenesis of Structure	0/121	0/107	2/153	0/120	0/39
	Arches of Lumber Vertebrae (4th)- Agenesis of Structure	0/121	0/107	1/153	0/120	0/39
	Centres of Lumber Vertebrae (3rd)- Agenesis of Structure	0/121	0/107	1/153	0/120	0/39
	Centres of Lumber Vertebrae (4th)- Agenesis of Structure	0/121	0/107	1/153	0/120	0/39
	Centres of Lumber Vertebrae (5th)- Agenesis of Structure	0/121	0/107	1/153	0/120	0/39
	Centre of Thoracic Vertebrae (10th)- Clefts	1/121	0/107	0/153	0/120	0/39

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: U-tests

1) Additional dose group was included due to numerous of fatalities at 100 mg/kg/day.

表 2.6.7.13.1-1　ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（帝王切開試験）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	10	30	60[1)]	100
F1 Litters	Centres of Lumber Vertebra (6th)- Fusions	0/121	0/107	1/153	0/120	0/39
	Centres of Sacral Vertebra (1st)- Fusions	0/121	0/107	1/153	0/120	0/39
	Sternal Centres-Fusions	0/121	0/107	0/153	1/120	0/39
	Rib (13th)-Shortening	0/121	0/107	2/153	0/120	0/39
	Arches of Lumber Vertebra (4th)-Underdevelopment (Poor Development), too small	0/121	0/107	1/153	0/120	0/39
	Skeletal Retardation (%)	79.5±28.2	78.4±26.4	80.3±24.4	70.9±21.9	62.8±24.3

Data are shown in Mean±SD.

1) Additional dose group was included due to numerous of fatalities at 100 mg/kg/day.

2.6.7.13.2　ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（自然分娩試験）

表 2.6.7.13.2-1　ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（自然分娩試験）

Test Article: Ibandronate

Design similar to ICH 4.1.3?	yes	Duration of Dosing:	Days 6 - 15 p.c.	Location in CTD:	4.2.3.5.2-3
Species/Strain:	Rat, Crl:CD BR Sprague-Dawley	Day of Mating:	Day 0 p.c.	Study No.	K9
Initial Age:	about 2 months	Day of C-Section:	Natural delivery	Report No.:	K9
Date of First Dose:	[redacted]	Method of Administration:	p.o.	GLP Compliance:	yes
Special Features:	All groups received two daily s.c. injection of calcium borogluconate (16 mg Ca^{2+}/kg B.W.) from Day 18 p.c.-Day 0 .p.p.	Vehicle/Formulation:	0.5% Sodium carboxymethylcellulose		
No Observed Adverse Effect Level:					
F_0 Females:	60 mg/kg/day for general toxicity, < 6 mg/kg/day for reproduction				
F_1 Litters:	60 mg/kg/day				
F_2 Litters:	60 mg/kg/day				

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	6	20	60
Dams/Does	Toxicokinetics:	Not performed			
	No. Pregnant Females	15	11	15	14
	No. Females with Delivery	15	10	14	11
	No. Died or Sacrificed Moribund: during gestation	0	1(Day 22 p.c.)	1(Day 22 p.c.)	3 (Day 7, 19, 23 p.c.)
	Clinical Observations	Apart from dystocia, there were no drug-related clinical signs. One female in the high dose group had to be killed in extremis on day 19 p.c. following the intrauterine death of all implants.			
	Necropsy Observations	Apart from an intestinal hemorrhage found in 1 female in the 60 mg/kg/day group no pathological organ changes were observed.			
	Body Weight (g) : Day 21 p.c.	427.0±37.0	437.7±33.8	431.7±18.5	418.3±37.6
	Body Weight (g) : Day 21 p.p.	330.4±20.1	342.0±22.6	337.7±16.6	344.4±11.8
	No.of CL/animal	Not determined			
	No. of IS/animal	16.3±2.4	17.5±1.4	16.3±3.6	15.6±3.4
	Duration of Gestation (days)	No drug-related changes			

Data are shown in Mean±SD.

表 2.6.7.13.2-1　ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（自然分娩試験）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	6	20	60
F_1 Litters	Post-implantation Loss/IS (%)	4.0±6.0	6.8*±3.3	7.9*±6.8	11.2±14.6[#]
	Live Pups/IS (%)	93.9±9.2	90.0±8.8	90.1*±6.7	87.8±14.1
	Dead Pups/IS (%)	2.1±4.3	3.2±7.2	2.0±2.8	1.1±2.4
	Sex Ratio (% of live males)	49.5±15.6	46.2±12.8	54.3±11.6	53.8±10.7
	Body Weight (g)(males/females) : Day 0 p.p.	6.56±0.41/ 6.17±0.35	6.67±0.42/ 6.22±0.35	6.88±0.87/ 6.52±0.90	6.74±0.42/ 6.36±0.41
	Body Weight (g)(male/female): Day 21 p.p.	48.39±8.05/ 46.83±7.31	50.17±5.42/ 47.24±5.06	49.58±10.26/ 48.22±9.10	51.44±8.03/ 49.97±8.84
	Body Weight (g)(males/females): Day 42 p.p.	211.19±21.65/ 173.19±14.36	214.80±15.37/ 172.02±11.98	211.11±22.69/ 172.09±15.79	222.21±18.79/ 179.98±16.81
	Viability Indices (%): Day 4 p.p.	98.9±3.1	97.1±5.2	99.1±2.4	97.8±5.3
	Weaning Index (%)	97.0±5.0	97.1±5.2	98.2±2.9	97.3±5.3
	External Visible Anomalies at birth	No drug-related changes			
	Clinical Observations	No drug-related changes			
	Physical Development	No drug-related changes			
	Neuromuscular Coordination and Reflexes	No drug-related changes			
	Water-maze Behavioral Test	No drug-related changes			
	Necropsy Observations: 42 or 43 days p.p.	No drug-related changes			

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: U-tests; [#] = p <0.05; [##] =p <0.01: Jonckheere trend test

表 2.6.7.13.2-1　ラットにおける胎児器官形成期経口投与試験（自然分娩試験）（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	6	20	60
F_1 Litters	Reproduction test				
	Days until Successful Mating	No drug-related changes			
	No. Mated Females	15	9	14	11
	No. Females with Delivery	15	9	13	11
	Clinical Observations	No drug-related changes			
	Length of Pregnancy	No drug-related changes			
	Necropsy Observations	No drug-related changes			
	Body Weight (g): Day 21 p.c.	486.4±49.5	477.1±52.6	458.1±52.8	472.1±51.1
	Body Weight (g): 7 day p.p.	389.3±39.7	394.4±34.1	378.8±33.1	396.7±27.3
	No. of CL/animal	21.4±3.5	22.8±3.2	20.2±3.3	20.1±4.5
	No. of IS/animal	18.1±2.6	19.3±2.7	17.5±3.6	16.4±4.3
	Pre-implantation Loss/CL (%)	14.6±9.6	14.9±5.9	14.0±12.1	19.0±14.4
F2 Litters	Live Pups/IS (%)	89.9±7.8	84.2±10.5	89.9±5.3	82.7±17.5
	Dead Pups/IS (%)	1.0±2.8	4.5±8.1	0.5±1.7	2.9±6.7
	Sex Ratio (% live males)	50.8±14.8	44.6±13.7	40.8±12.9	51.9±10.5
	Body Weight (g)(males/females): Day 0 p.p.	6.63±0.61/ 6.30±0.65	6.76±0.30/ 6.32±0.35	6.79±0.48/ 6.36±0.52	7.24±0.78#/ 6.74±0.83
	Clinical Findings and Externally Visible Anomalies	No drug-related changes			
	Visceral and Skeletal Anomalies	No drug-related changes			

Data are shown in Mean±SD.
Statistical analysis: # = $p < 0.05$; ## = $p < 0.01$: Jonckheere trend test

2.6.7.13.3　ウサギにおける胎児器官形成期経口投与試験

表 2.6.7.13.3-1　ウサギにおける胎児器官形成期経口投与試験

Test Article: Ibandronate

Design similar to ICH 4.1.3?	yes	Duration of Dosing:	Days 6-18 p.c.	Location in CTD:	4.2.3.5.2-5
Species/Strain:	rabbit / CHbb:HM	Day of Mating:	Day 0 p.c.	Study No.	K1
Initial Age:	7~ 8 months	Day of C-Section:	Day 29 p.c.	Report No.:	K1
Date of First Dose:	[redacted]	Method of Administration:	p.o.	GLP Compliance:	yes
Special Features:	artificial insemination	Vehicle/Formulation:	0.5% Sodium carboxymethylcellulose		
No Observed Adverse Effect Level:					
F_0 Females:	20 mg/kg/day for reproduction				
F_1 Litters:	20 mg/kg/day				

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	1	4	20
Dams/Does	Toxicokinetics:	Not performed			
	No. of Dams	17	17	17	17
	No. Pregnant Females	17	15	17	16
	No. Evaluated	17	14	13	10
	No. Died or Sacrificed Moribund	The deaths that occurred among the drug-treated animals are not considered to be due to direct drug toxicity. Both gavaging accidents and/or endotoxemia may have caused premature mortalities.			
		0	2	4	6
	Clinical Observations	Treatment induced a statistically significantly increased incidence of dark red colored eyes in the 20 mg/kg/day. A significant trend with dose starting at 4 mg/kg/day was also observed for the incidences of gray-colored conjunctive and wheezing respiration.			
	Body Weight (g) : Day 29 p.c.	2943.2±136.3	2984.9±114.2	2903.3±199.2	2954.7±112.0
	Food Consumption	Not performed			
	Necropsy Observations	There was the increase in the incidence of mucous enteritis and pulmonary edema with parenchymal hemorrhage in the mid and high dose groups.			
	No. of CL/animal	Not determined			
	No. of IS/animal	6.35±1.77	6.13±1.26	5.38±1.71	5.93±0.96

Data are shown in Mean±SD.

表 2.6.7.13.3-1 ウサギにおける胎児器官形成期経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	1	4	20
F1 Pups	Resorptions/IS (%)	10.9±12.5	14.9±10.9	12.7±28.0	19.5±26.5
	Live Fetuses/IS (%)	89.1±12.5	85.1±10.9	87.3±28.0	80.5±26.5
	No. Dead Fetuses	No dead fetuses			
	Fetal Sex Ratio (% of males)	50.3±24.3	48.5±26.4	62.7±15.1	53.5±30.2
	Placenta Weights (g)	5.49±0.59	5.42±0.72	5.81±0.51	5.44±0.30
	Fetal Body Weight (g) (males/females)	41.19±3.51/ 40.97±4.46	39.55±5.01/ 40.34±4.60	41.32±3.20/ 41.34±3.20	41.15±1.97/ 41.64±3.94
	Fetal Anomalies:				
	Externally Visible Anomalies	No drug-related changes			
	Visceral Variation (%)	36.2±16.3	60.2**±30.5	39.8±31.0	57.0**±25.8
	Aorta Vessel-Additional Structure	12/96	27/75	16/66	10/51
	Thymus-Asymmetry	3/96	2/75	2/66	3/51
	Thymus-Enlargement	7/96	2/75	4/66	4/51
	Liver, Gall Bladder-Enlargement	5/96	2/75	6/66	12/51
	Thymus-Underdevelopment, too small	1/96	1/75	0/66	0/51
	Liver, Gall Bladder-Underdevelopment, too small	6/96	22/75	7/66	7/51
	Visceral Malformation (%)	1.0±4.0	0.0±0.0	1.2±4.1	0.0±0.0
	Liver, Gall Bladder-Agenesis of Structure	1/96	0/75	0/66	0/51
	Brain Encephaly-Agenesis of Structure	0/96	0/75	1/66	0/51
	Brain, Meninges-Clefts	1/96	0/75	0/66	0/51
	Skeletal Variation (%)	11.7±15.3	22.4±21.5	14.7±16.2	23.3±33.5
	Arches of Cervical Vertebrae (7^{th})-Additional Structure, Rib	0/96	1/75	0/66	0/51
	Ribs- Additional Structure	0/96	4/75	0/66	0/51
	Sternal Centres (1^{st})- Additional Structure, Extra Bone	0/96	1/75	0/66	0/51
	Frontal Bone- Additional Structure, Extra Bone	2/96	2/75	1/66	0/51
	Caudal Vertebrae (12^{th})-Asymmetry	1/96	0/75	0/66	0/51
	Caudal Vertebrae (14^{th})-Asymmetry	1/96	1/75	0/66	1/51

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: U-tests

表 2.6.7.13.3-1　ウサギにおける胎児器官形成期経口投与試験（続）

Test Article: Ibandronate

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	1	4	20
F1 Pups	Sternal Centres (1st)-Asymmetry	1/96	0/75	0/66	0/51
	Sternal Centres (4th)-Asymmetry	0/96	1/75	0/66	0/51
	Parietal Bone-Defective Structure, Covered by Membrane	0/96	3/75	2/66	1/51
	Sternal Centres (3rd)-Fusions	0/96	0/75	1/66	0/51
	Sternal Centres (4th)-Fusions	1/96	2/75	0/66	0/51
	Sternal Centres (5th)-Fusions	0/96	0/75	1/66	2/51
	Parietal Bone-Bipartite	5/96	4/75	4/66	3/51
	Skeletal Malformation (%)	7.6±15.3	6.9±12.6	7.6±12.8	3.1±6.5
	Head-Abnormal Shape	0/96	0/75	1/66	0/51
	Caudal Vertebrae (15th)-Additional Structure	0/96	0/75	1/66	0/51
	Head-Agenesis of Structure, Encephaly	0/96	0/75	1/66	0/51
	Centres of Cervical Vertebrae (4th)-Asymmetry	1/96	0/75	0/66	0/51
	Centres of Cervical Vertebrae (7th)-Asymmetry	1/96	0/75	0/66	0/51
	Caudal Vertebrae (2nd)-Asymmetry	0/96	0/75	1/66	0/51
	Caudal Vertebrae (8th)-Asymmetry	1/96	0/75	0/66	0/51
	Caudal Vertebrae (12th)-Asymmetry	0/96	0/75	1/66	0/51
	Caudal Vertebrae (13th)-Asymmetry	0/96	0/75	1/66	0/51
	Caudal Vertebrae (15th)-Asymmetry	0/96	1/75	0/66	0/51
	Fore legs, Clavicula, Fracture, intrauterine	0/96	0/75	1/66	0/51
	Thoracic Vertebrae, Rib (5th)-Fusions	0/96	0/75	0/66	2/51
	Caudal Vertebrae (9th)-Fusions	1/96	0/75	0/66	0/51
	Caudal Vertebrae (13th)-Fusions	1/96	0/75	0/66	0/51
	Tail Kinked	0/96	0/75	1/66	0/51
	Carpal Joint-Malposition, Arthrogryposis	0/96	4/75	2/66	0/51
	Thoracic Vertebrae, Rib (12th)-Shortening	1/96	0/75	0/66	0/51
	Skeletal Retardation (%)	61.0±31.9	73.2±27.9	64.6±28.3	62.3±24.8

Data are shown in Mean±SD.

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

表 2.6.7.14-1　ラットにおける周産期及び授乳期経口投与試験

				Test Article:	Ibandronate
Design similar to ICH 4.1.2?	yes	Duration of Dosing:	Day 17 p.c. to Day 21 p.p.	Location in CTD:	4.2.3.5.3-1
Species/Strain:	Rat, Hanlbm: WIST	Day of Mating:	Day 0 p.c.	Study No.	K15
Initial Age:	about 14 weeks	Day of C-Section:	Natural delivery	Report No.:	K15
Date of First Dose:	[redacted]	Method of Administration:	p.o.	GLP Compliance:	yes
Special Features:	Blood parameters were determined in dams.	Vehicle/Formulation:	0.5% Sodium carboxymethylcellulose		
No Observed Adverse Effect Level:					
F_0 Females:	1 mg/kg/day				
F_1 Litters:	20 mg/kg/day				
F_2 Litters:	20 mg/kg/day				

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	1	5	20
Dams/Does	Toxicokinetics:	Not performed			
	No. of Dams	25	25	25	25
	No. Pregnant Females	25	25	25	23
	No. Females with Deliver	25	25	23	18
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	2	5
	No. Females with Live Pups on Day 21 p.p.	25	25	22	15
	Clinical Observations	Severe signs of dystocia (tremor, exophthalmia, poor condition) were observed in 5 and 20 mg/kg/day groups. One female in 5 mg/kg/day group and three females in 20 mg/kg/day lost its entire litter by Day 2 p.p..			
	Body Weight (g): Day 21 p.p.	280±14.4	284±18.1	270±15.8	275±26.5
	Food Consumption (g/anm/day) : Day 4 p.p. -7 p.p.	39.9±4.6	40.9±5.1	37.2±3.2	35.2*±8.4
	No. of CL /animal	Not determined			
	Necropsy Observations	No drug-related changes			
	Duration of Gestation	21.3±0.48	21.4±0.51	21.2±0.39	21.5±0.52
	No. of IS/animal	12.7±1.89	13.4±2.16	11.8±1.59	12.1±3.13
	Blood parameters	No drug-related changes			

Data are shown in Mean±SD.
Statistical analysis: * = p <0.05; ** = p <0.01: Dunnett-test

表 2.6.7.14-1　ラットにおける周産期及び授乳期経口投与試験（続）

		Test Article:	Ibandronate		
Dose (mg/kg/day)		0 (Control)	1	5	20
F1 Pups	No. of Post-implantation Loss/animal	0.9 ± 1.01	0.8 ± 0.69	1.2 ± 1.53	2.3## ± 2.64
	No. Live Pups/animal	11.8±1.87	12.5±2.20	10.6+±1.65	9.7+±3.10
	No. Dead Pups/animal	0.1±0.28	0.1±0.33	0.2±0.66	0.5±1.25
	Pups Sex Ratio (% males/females)	45/55	50/50	48/52	47/53
	External Anomalies: at birth	No abnormal findings			
	No. Postnatal Loss: Day 0 p.p. – 4 p.p.	0.2 ± 0.50	0.4 ± 1.04	0.0 ± 0.21	0.4 ± 0.74
	Pups Body Weight (g)(males/females): Day 1 p.p.	5.8±0.49/ 5.5±0.46	5.7±0.42/ 5.4±0.48	5.7±0.32/ 5.4±0.34	5.9±0.99/ 5.6±0.90
	Pups Body Weight (g)(males/females): Day 21 p.p.	42.5±4.01/ 41.4±3.75	44.7±4.41/ 43.6±4.07	41.2±3.24/ 40.0±3.62	43.5±4.26/ 42.4±4.33
	Birth Index (%)	93.1	93.4	90.0	80.7##
	Viability Index (%)	98.3	96.8	99.6	95.9
	Weaning Index (%)	99.5	99.5	99.4	100.0
	Physical Development	No drug-related changes			
	Behavioral Tests and Water Maze Test	No drug-related changes			
	Clinical Observations	No drug-related changes			
	Necropsy Observations	No drug-related changes			
	Reproduction Test: No. Animals Mated (males/females)	25/25	25/25	25/25	25/25
	Precoital Time (days)	1.8	2.6	1.7	1.7
	No. Pregnant Females	25	24	25	25
	Body Weight(g): Day 21 p.c.	311±30.7	327±22.8	314±18.6	326±30.7
	Duration of Gestation	21.6±0.49	21.8±0.44	21.2+±0.44	21.5±0.51
	No of Implantations/animals	12.0±1.97	12.3±2.18	11.6±1.42	12.7±2.01
F2 Pups	No. Live Pups/animal	10.4±2.48	11.5±2.40	10.6±1.80	11.6±2.17
	Pups Sex Ratio (% males/females)	50/50	50/50	48/52	48/52
	Body Weight (g) (males/females): Day 1 p.p.	6.3±0.44/6.1±0.50	6.5±0.68/6.0±0.56	6.0±0.46/5.8±0.37	6.3±0.56/6.1±0.58
	External Examination	No drug-related changes			
	No. Postnatal Loss/animal: Days 0-4 p.p.	0.1±0.28	0.1±0.34	0.0±0.20	0.1±0.28
	Necropsy Observations	No drug-related changes			

Data are shown in Mean±SD; Statistical analysis: # = p <0.05; ## = p <0.01: Fisher's Exact Test; + = p <0.05: Steel-test

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当なし

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当なし

2.6.7.17 その他の毒性試験

該当なし