2.6.6　毒性試験の概要文の目次

2.6.6.1　まとめ 3

2.6.6.2　単回投与毒性試験 8
2.6.6.2.1　げっ歯類の単回投与毒性試験 8
2.6.6.2.1.1　マウスの単回静脈内投与毒性試験 8
2.6.6.2.1.2　ラットの単回静脈内投与毒性試験 9
2.6.6.2.2　非げっ歯類の単回投与毒性試験 10
2.6.6.2.2.1　イヌの単回静脈内投与毒性試験 10

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） 12
2.6.6.3.1　ラットの反復投与毒性試験 12
2.6.6.3.1.1　ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり） 12
2.6.6.3.1.2　ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験 15
2.6.6.3.2　イヌの反復投与毒性試験 17
2.6.6.3.2.1　イヌの反復静脈内投与毒性試験 17

2.6.6.4　遺伝毒性試験 19

2.6.6.5　がん原性試験 19

2.6.6.6　生殖発生毒性試験 19
2.6.6.6.1　幼若動物における試験 19

2.6.6.7　局所刺激性試験 20
2.6.6.7.1　ウサギの局所刺激性試験 20

2.6.6.8　その他の毒性試験 20
2.6.6.8.1　抗原性試験 20
2.6.6.8.2　免疫毒性試験 20
2.6.6.8.3　メカニズム検討試験 20
2.6.6.8.4　依存性試験 20
2.6.6.8.5　代謝物の試験 21
2.6.6.8.6　不純物の毒性 21
2.6.6.8.7　その他 21
2.6.6.8.7.1　ドセタキセルとの併用投与毒性試験 21
2.6.6.8.7.1.1　ラットの単回併用静脈内投与毒性試験（ドセタキセルとの併用） 21

2.6.6.8.7.1.2　ラットの単回併用静脈内投与毒性試験（ドセタキセルとの併用、12 週間の観察期間あり）..... 22
2.6.6.8.7.1.3　ラットの 22 週間併用静脈内投与毒性試験（ドセタキセルとの併用、4 週間の観察期間含む）..... 23
2.6.6.8.7.2　光毒性試験..... 24
2.6.6.9　考察及び結論..... 25
2.6.6.10　図表..... 29
引用文献一覧　..... 29

2.6.6.1　まとめ

骨転移のある前立腺癌患者に対して、塩化ラジウム（^{223}Ra）を臨床使用するに当たり、塩化ラジウム（^{223}Ra）の包括的な非臨床毒性試験を実施し、その毒性プロファイルを明らかにした。毒性試験一覧を**表 2.6.6.1- 1**に示す。

非臨床リスク評価及び安全域の算出は、ヒトに 4 週間ごとに 6 回投与した場合の臨床推奨用量を基に行った。

毒性試験における投与経路は、臨床適用経路に準じた静脈内投与とした。単回投与毒性試験はマウス、ラット及びイヌを用いて実施した。骨転移のある前立腺癌患者への投与を支持するため、反復投与毒性試験として、ラットでは 12 ヵ月間まで、イヌでは 6 ヵ月間までの間欠投与（4 週間ごとに 1 回）による試験を実施した。トキシコキネティクス（TK）評価はイヌの単回及び反復投与毒性試験内で実施しており、臓器・組織分布あるいは排泄については、マウス及びラット単回投与毒性試験の単回投与後並びにイヌ毒性試験の単回及び反復投与後に検討した（2.6.4 及び 2.6.5 参照）。

ウサギを用いた単回静脈周囲投与試験を実施し、塩化ラジウム（^{223}Ra）製剤が誤って静脈周囲へ漏れた場合を想定した局所刺激性を検討した。

更に、ラットを用いた塩化ラジウム（^{223}Ra）とドセタキセルの併用投与毒性試験を 3 試験実施し、併用投与時の毒性を評価した。

主要な試験は、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施に関する基準（Good Laboratory Practice；GLP）に従って実施した（表 2.6.6.1- 1参照）。マウス及びラットの単回投与毒性試験の一部〔Algeta ASA 社（現 Bayer AS 社）において放射能を測定した試験〕、イヌの単回及び反復投与毒性試験並びにラットの単回併用静脈内投与毒性試験（ドセタキセルとの併用）は非 GLP 下で実施した。すべての試験は医薬品開発業務受託機関施設において実施した（試験施設については 2.6.7.1 参照）。

ラットの単回及び反復投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）は、米国食品医薬品局（Food and Drug Administration; FDA）のドラフトガイダンス「Nonclinical Evaluation of Late Radiation Toxicity of Therapeutic Radiopharmaceuticals」（2005 年 6 月）に準拠して実施した。本試験の試験デザイン及び観察項目は、最終ガイダンス（2011 年 11 月）での推奨内容と一致している。ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（12 回投与後 4 週間の観察期間あり）の試験デザインは、ドラフトガイダンスを踏まえたものである。イヌの単回静脈内投与毒性試験（4 週間の観察期間あり）及び 6 ヵ月間静脈内投与毒性試験（6 回投与後 4 週間の観察期間あり）も実施した。

表 2.6.6.1- 1 毒性試験一覧表

Type of Study/Duration	Species and Strain	Method of Admin.	Compound administered	GLP	Report no./ Study no.
Single-Dose Toxicity					
Single dose toxicity (+ 29 days post dosing); biodistribution	Mouse, Balb/c	Intravenous	Radium-223 chloride	Yes[a]	R-8660/ [redacted] No. 52158
Single dose toxicity (+ 29 days post dosing); biodistribution	Rat, Wistar	Intravenous	Radium-223 chloride	Yes[a]	R-8661/ [redacted] No. 52159
Single dose toxicity (+ 30 days post dosing); biodistribution	Dog, Beagle	Intravenous	Radium-223 chloride	No	R-8668, R-8669, R-8668A, R-8668B/ [redacted] Study No.: MS RA1
Repeat-Dose Toxicity					
Single and repeat dose toxicity, once every 4 weeks x 1 or 4 (+ 12 months post dosing)	Rat, Wistar	Intravenous	Radium-223 chloride	Yes	R-8662, R-8662A, STATE-MENT/ [redacted] Study No. 62985
Repeat dose toxicity, once every 4 weeks x 12 (+ 4 weeks post dosing)	Rat, Wistar	Intravenous	Radium-223 chloride	Yes	R-8663, STATE-MENT/ [redacted] Study No. 67071
Repeat dose toxicity, once monthly x 6 (+ approximately 35 days post dosing); biodistribution	Dog, Beagle	Intravenous	Radium-223 chloride	No	R-8670, R-8670A, R-8670B/ [redacted] Study No.:MS RA2

表 2.6.6.1- 1 毒性試験一覧表（続き）

Type of Study/Duration	Species and Strain	Method of Admin.	Compound administered	GLP	Report no./ Study no.
Local Tolerance					
Local irritation Single dose (+ 7 days post dosing)	Rabbit, New Zealand White	Perivenous	Radium-223 chloride	Yes	R-8667/ [redacted] Study No. 69865
Other toxicity studies Other, combination with docetaxel					
Single dose, dose finding pilot (+ 14 days post dosing)	Rat, Wistar	Intravenous	Docetaxel; Radium-223 chloride	No	R-8664/ [redacted] Study No. 68997
Single dose (+ 12 weeks post dosing)	Rat, Wistar	Intravenous	Docetaxel; Radium-223 chloride	Yes	R-8665/ [redacted] Study No. 69120
Repeat dose, intermittent (7 occasions over 18 weeks) (+ 4 weeks post dosing)	Rat, Wistar	Intravenous	Docetaxel; Radium-223 chloride	Yes	R-8666/ [redacted] Study No. 69202

GLP: Good Laboratory Practice
biodistribution =including blood TK and/or tissue and organ distribution
a =The part of the study (radioactivity measurements) performed by Algeta ASA was non-GLP.

以下に、塩化ラジウム（^{223}Ra）の毒性プロファイルを要約する。

・マウス、ラット及びイヌにおいて、塩化ラジウム（^{223}Ra）の忍容性は概して良好であった。

・主な毒性所見は、放射線誘発性の造血抑制に関連するものであった。臨床推奨用量と同じ用量である 55kBq/kg を 4 週間ごとに 1 回、ラット及びイヌに反復投与（ラット：12 回、イヌ：6 回）した場合にも、用量制限毒性は認められなかった。

・本薬は消化管壁を介して排出される薬剤であるが、病理組織学的検査で大腸及び小腸に放射線誘発性の細胞毒性を示唆する変化は認められなかった。ラジウム 223 の排出に関与する器官に病理組織学的な変化はみられなかった。

・マウス及びラットの単回投与毒性試験では、高用量（1000kBq/kg 超）で骨髄毒性を示す種々の血液学的変化に加え、体重増加抑制が認められた。また、病理組織学的検査では、骨髄毒性が認められており、脾臓において代償性の髄外造血亢進がみられた。げっ歯類の 10%に重篤な毒性を発現する塩化ラジウム（^{223}Ra）の投与量（STD_{10}）は、マウスで 2762kBq/kg、ラットで 2270kBq/kg であった。

・ラットの単回（22、88、359 及び 1436kBq/kg）及び反復（22、359 及び 718kBq/kg を 4 週間隔で 4 回投与）静脈内投与毒性試験では、投与終了後に 12 ヵ月間の観察期間を設けて遅発性放射線毒性を評価したところ、体重及び摂餌量の減少並びに血液学的、血液生化学的及び尿検査で変化が認められた。投薬に対する初期の急性反応は、単回投与後に認められた血液学的パラメータの変化であり、特に白血球の減少がみられたが、これらの変化には回復性が認められた。反復投与では、白血球の減少は投与終了から約 40 週間後まで回復しなかった。

・単回及び反復投与後の長期観察期間中に、放射線の骨形成に対する影響に関連したげっ歯類特異的な歯の成長障害がみられ、それによる摂餌量の減少が認められた。

・ラットでは、予測されたように、単回及び反復投与試験の試験期間中（7～12 ヵ月）に骨肉腫が認められた。塩化ラジウム（^{223}Ra）の単回及び反復投与開始から 6 ヵ月以上経過後に、投薬に関連した死亡／早期屠殺例がみられたが、その主な原因は骨肉腫によるものであった。これらラットの長期毒性試験（ラットの 12～15 ヵ月間毒性試験）では、骨肉腫以外の腫瘍性変化もみられた。本薬の作用機序に基づくと、塩化ラジウム（^{223}Ra）には二次性悪性腫瘍を誘発する可能性がある。

・イヌに 497kBq/kg を単回投与したところ、用量制限毒性として骨髄毒性が認められた。変化の認められた血液学的パラメータのいくつかでは、投与終了後に回復性がみられた。

・イヌに 166 及び 497kBq/kg（それぞれ臨床推奨用量の 3 及び 9 倍）を単回投与したところ、網膜剥離が認められたが、イヌに臨床推奨用量と同じ用量である 55kBq/kg を 4 週間ごとに 1 回、6 ヵ月間（6 回）投与しても本所見はみられなかった。ヒトの眼はタペタムを有しておらず、イヌの眼においてラジウムはタペタムに特異的に取り込まれることが知られていることから、これら所見の臨床的意義は薄いと考えられる。

・ラットに塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg とドセタキセルの 4mg/kg を反復併用投与したところ、血液学的パラメータに対する影響が各単剤投与時よりも増強される傾向が認められた。しかし、この種の変化は投与終了後に回復することが知られている。

・アルファ線放出核種は DNA に対して直接傷害作用を有している。放射線放出核種から放出されるアルファ線は、線源にかかわらず、*in vivo* でヒトに遺伝子突然変異及びヒトの循環リンパ球に染色体異常を誘発することが知られている。

・放射線は生殖発生に影響を及ぼすことが知られている。

以上のことから、マウス、ラット及びイヌを用いた塩化ラジウム（^{223}Ra）の単回及び反復投与毒性試験では、アルファ線曝露により予測される影響が認められており、本薬の非臨床安全性評価は適切と考えられた。

2.6.6.2　　単回投与毒性試験

マウス、ラット及びイヌを用いて塩化ラジウム（^{223}Ra）の静脈内投与による単回投与毒性試験を実施した。

2.6.6.2.1　　げっ歯類の単回投与毒性試験

2.6.6.2.1.1　　マウスの単回静脈内投与毒性試験

参照項目：4.2.3.1.1　R-8660

塩化ラジウム（^{223}Ra）をマウスに単回静脈内投与し、本薬の毒性及び臓器・組織分布を検討した。予備的な用量設定（DRF）試験群、臓器・組織分布試験群及び主試験群を設定した。試験にはBalb/cマウスを使用した（2.6.7.5参照）。

DRF 試験群ではマウス（各群雌雄各 2 匹）に塩化ラジウム（^{223}Ra）の 1381、2072、2418 及び 2762kBq/kg を、臓器・組織分布試験群ではマウス（雄 6 匹）に塩化ラジウム（^{223}Ra）の 1381kBq/kg を、主試験群ではマウス（各群雌雄各 5 匹）に塩化ラジウム（^{223}Ra）の 0、1381、2762 及び 4144kBq/kg を単回静脈内投与した。媒体として生理食塩液を使用した。

DRF 試験群では投与から 29 日後（Day30）に屠殺し、剖検時に採取した組織はホルマリン保存した。臓器・組織分布試験群では投与から 1 及び 14 日後（Day2 及び 15）にそれぞれ 3 例ずつ屠殺し、採取した組織の放射能を測定した。主試験群は Day30 に屠殺した。剖検前にすべての動物から採血し、血液検査を実施した。剖検時に器官重量を測定し、病理組織学的検査を実施した。

組織中放射能測定の結果、ラジウム 223 は骨及び軟骨などの石灰化組織に対して顕著な親和性を有していた。

DRF 及び臓器・組織分布試験群では、一般状態に変化はみられなかった。

主試験群では、投与から約 1 週間後に 2762kBq/kg 群の雌 1 例及び 4144kBq/kg 群の雌 2 例で立毛、円背位及び受動的行動が認められた。4144kBq/kg 群の雌 1 例が死亡し、2762 及び 4144kBq/kg 群の雌各 1 例を早期屠殺した。死亡／早期屠殺例の病理組織学的検査では、2762kBq/kg 群の雌 1 例で骨髄における造血細胞の減少(重度）並びに脾臓及び胸腺のびまん性萎縮（軽度）が、4144kBq/kg 群の雌 2 例で骨における骨細胞及び骨芽細胞の減少（ごく軽度）、骨髄における造血細胞の減少（重度）並びに脾臓及び胸腺の萎縮が認められた。その他の動物では、一般状態に変化はみられなかった。

体重増加抑制が 1381kBq/kg 以上の群で投与から 30 日以内に認められた。

摂餌量の減少傾向が 1381kBq/kg 以上の群でみられた。

血液学的検査では、主に赤血球の減少（軽度、1381kBq/kg 群の雌）並びに白血球・リンパ球（1381 及び 2762kBq/kg 群の雄、2762kBq/kg 群の雌）及び好酸球（1381 及び 4144kBq/kg 群の雄、2762kBq/kg 群の雌）の減少がみられた。これら所見は、投薬に起因した骨髄における造血細胞の減少によるものと考えられた。

血液生化学的検査では、アルカリホスファターゼ（ALP）の減少が 1381kBq/kg 以上の群で認められた。本所見は、後述する病理組織学的検査でみられた骨芽細胞の減少と関連するものと考えられた。

剖検では、特記すべき所見はみられなかった。

脾臓重量の増加が 1381kBq/kg 以上の群で認められた。本所見は、後述する病理組織学的検査でみられた髄外造血の亢進によるものと考えられた。

計画屠殺例の病理組織学的検査では、骨における骨細胞及び骨芽細胞の減少（用量依存性、ごく軽度～中等度）が 1381kBq/kg 以上の群の多くの雌雄で、更に骨髄における造血細胞の減少（ごく軽度～重度）が同じ動物で認められた。脾臓における髄外造血の亢進（ごく軽度～軽度）が 1381kBq/kg 以上の群で、下顎及び腸間膜リンパ節における髄外造血の亢進（ごく軽度～軽度）が 4144kBq/kg 群で認められた。

マウスに塩化ラジウム（^{223}Ra）の 1381、2762 及び 4144kBq/kg を単回静脈内投与したところ、体重増加抑制、骨における骨細胞及び骨芽細胞の減少（用量依存性、ごく軽度～中等度）、骨髄における造血細胞の減少（ごく軽度～重度）並びに脾臓、下顎リンパ節及び腸間膜リンパ節における髄外造血の亢進（ごく軽度～軽度）が認められた。STD_{10} は 2762kBq/kg と考えられた。本試験における概略の致死量は雄で 4144kBq/kg 超、雌で 2762kBq/kg であった。

2.6.6.2.1.2　　ラットの単回静脈内投与毒性試験

参照項目：4.2.3.1.2　R-8661

塩化ラジウム（^{223}Ra）をラットに単回静脈内投与し、本薬の毒性を検討した。試験は予備試験群と主試験群に分けて実施した（2.6.7.5 参照）。

予備試験群では、ラット〔系統：Wistar (BrlHan:WIST@Mol (GALAS))〕（各群雌雄各 2 匹）に塩化ラジウム（^{223}Ra）の 1390、2433、3475 及び 4170kBq/kg を単回静脈内投与した。試験 30 日（Day30）に全例を剖検し、採取した組織はホルマリン保存した。1390kBq/kg 群から採取した組織については放射能を測定した。

主試験群では、ラット（各群雌雄各 5 匹）に塩化ラジウム（^{223}Ra）の 0、1135、2270 及び 3404kBq/kg を単回静脈内投与した。媒体として生理食塩液を使用した。Day3 及び 30 に全例から採血し、血液検査を実施した。Day30 に全例を剖検し、病理組織学的検査を実施した。

予備及び主試験群の全例について、一般状態を毎日観察し、体重及び摂餌量を毎週記録した。

組織中放射能測定の結果から、ラジウム 223 は骨組織への結合性が高いことが示された（2.6.4.4.2 及び 2.6.5.5-3 参照）。

予備試験群では、試験期間中に死亡はなく、一般状態及び摂餌量に変化はみられなかった。体重増加抑制が 1390kBq/kg 以上の群で認められた。

主試験群では、試験期間中に死亡はなく、一般状態に変化はみられなかった。

体重増加抑制が、1135kBq/kg 以上の群の雄及び 2270kBq/kg 以上の群の雌で認められた。

摂餌量の減少が 1135kBq/kg 以上の群の雄でみられた。

血液学的検査では、主な変化として、白血球、好中球及びリンパ球の減少が 1135kBq/kg 以上の群の雌雄で、好酸球の減少が 1135kBq/kg 以上の群の雄で、赤血球の減少が 1135 及び 2270kBq/kg 群の雄及び 1135kBq/kg 群の雌で認められたが、これら所見は投薬に関連した骨髄における造血細胞の減少によるものと考えられた。

血液生化学的検査では、ALP の減少が 1135kBq/kg 以上の群の雌雄で認められた。後述する病理組織学的検査の結果から、本所見は骨芽細胞の減少と関連するものと考えられた。

剖検では、投薬に関連した所見はみられなかった。

器官重量測定では、脾臓重量の増加が 1135kBq/kg 以上の群の雌雄でみられた。本所見は、脾臓における髄外造血の亢進によるものと考えられた。また、胸腺重量の減少が 1135kBq/kg 以上の群の雄でみられた。本所見は、後述する病理組織学的検査で認められた胸腺の萎縮に関連するものと考えられた。

病理組織学的検査では、骨における骨細胞及び骨芽細胞の減少（用量依存性、ごく軽度～中等度）が 1135kBq/kg 以上の群の雌雄でみられており、関連して大腿骨における線維骨増生及び胸骨骨髄の線維化も認められた。更に、骨髄における造血細胞の減少（用量依存性、ごく軽度～重度）が 1135kBq/kg 以上の群の雌雄でみられており、関連して脾臓における代償性の髄外造血亢進も認められた。胸腺の萎縮（ごく軽度）／リンパ球溶解反応（ごく軽度）が 2270kBq/kg 以上の群の雄及び 3404kBq/kg 群の雌で認められた。精巣においてごく少数の異常精母細胞が 2270kBq/kg 以上の群の雄でみられた。肺胞水腫（ごく軽度～軽度）が 2270kBq/kg 以上の群の雌及び 3404kBq/kg 群の雄で認められたが、本所見は死戦期の変化あるいは一般状態悪化による二次的な変化と考えられた。

以上の結果から、STD_{10} は 2270kBq/kg と考えられた。本試験における概略の致死量は雌雄ともに 3404kBq/kg 超であった。

2.6.6.2.2　非げっ歯類の単回投与毒性試験

2.6.6.2.2.1　イヌの単回静脈内投与毒性試験

参照項目：4.2.3.1.3　R-8668/R-8669/R-8668A/R-8668B

塩化ラジウム（^{223}Ra）をイヌに単回静脈内投与し、本薬の TK、臓器・組織分布及び急性毒性を検討した（2.6.7.5 参照）。

ビーグル（各群雌雄各 2 匹）に塩化ラジウム（^{223}Ra）を 0、55、166 及び 497kBq/kg で単回静脈内投与した。媒体として生理食塩液を使用した。

投与終了後 30 日間の観察期間を設けた。体重、一般状態及び糞の性状について評価した。血液及び尿を採取し、臨床検査（血液学的、血液生化学的及び尿検査）を実施した。また、血液を採取し TK 評価を、尿及び糞を採取し放射能測定を実施した。更に骨及び軟部組織中の残留放射能測定並びに骨のオートラジオグラフィも実施した（2.6.4.3、2.6.4.4、2.6.4.6、2.6.5.3-4、2.6.5.5-4、2.6.5.13-6 及び 2.6.5.13-7 参照）。剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

塩化ラジウム（^{223}Ra）をイヌに投与したときの忍容性は全般的に良好であり、試験期間中に重篤な所見はみられなかった。

497kBq/kg 群の雌 1 例では、好中球減少を伴う誤嚥性肺炎を発症し、試験終了前の試験 12 日（Day12）に屠殺した。

試験期間を通じて、投薬に関連した体重、糞の性状、尿、下垂体及び甲状腺機能に対する影響はみられなかった。

血液学的検査では、白血球、顆粒球及び血小板の減少（用量依存性）が 55kBq/kg 以上の群で認められ、Day7～14 に最小値に達した。これらの変化は、55kBq/kg 群では 30 日間の観察期間終了時までに正常範囲下限までの回復が認められたが、166 及び 497kBq/kg 群ではこのような回復傾向はみられなかった。

顆粒球が最小値に達した Day7～14 に、一過性の体温上昇が 497kBq/kg 群で認められた。

試験終了時の体重及び器官重量に用量依存性の変化や、投薬に関連した剖検所見は認められなかった。

病理組織学的検査では、肝臓、腎臓、十二指腸、空腸、回腸及び結腸に投薬に関連した変化はみられなかった。497kBq/kg 群の生存例 3 例で、網膜色素上皮の肥厚を伴う網膜剥離がみられた。これらの所見は、眼の病理組織学的検査の専門家による peer review によっても確認され、これら動物では網膜の無色素上皮に肥厚が生じていることも追加確認された。更に、166kBq/kg 群の 4 例中 1 例に網膜の無色素上皮の肥厚を伴う網膜剥離及び脈絡膜／網膜下出血が認められた。これら所見には、文献[1, 2] で報告されているように、ラジウムがイヌのタペタムに取り込まれることが関連している可能性がある。骨髄における骨髄球／赤芽球（M/E）比の減少（用量依存性）が 55kBq/kg 以上の群でみられた。第二腰椎椎体における造血細胞密度の低下及び骨髄細胞の減少（用量依存性）が 55kBq/kg 以上の群でみられており、本所見は血液学的検査で認められた変化と一致するものであった。

以上の結果から、最高用量である 497kBq/kg において用量制限毒性である骨髄毒性がみられた。本試験における概略の致死量は雄で 497kBq/kg 超、雌で 497kBq/kg であった。

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）

塩化ラジウム（^{223}Ra）を反復投与したときの影響を、最長投与期間 12 ヵ月までの静脈内反復投与毒性試験において、間欠投与により検討した。

ラット及びイヌを用いて以下の反復投与毒性試験を実施した。

・ラット：0、22、359 及び 718kBq/kg を 4 週間隔で 4 回投与

・ラット：0、28、55 及び 110kBq/kg を 4 週間隔で 12 回投与

・イヌ：0 及び 55kBq/kg を 4 週間隔で 6 回投与

2.6.6.3.1　ラットの反復投与毒性試験

2.6.6.3.1.1　ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）

参照項目：4.2.3.2.1　R-8662/R-8662A/STATEMENT

ラットに塩化ラジウム（^{223}Ra）を a）単回静脈内投与（単回投与群）あるいは b）静脈内投与を 4 週間隔で 4 回投与（反復投与群）し、その後 12 ヵ月間観察を行い、本薬の遅発性放射線毒性を検討した。試験には、Wistar (BrlHan:WIST@Mol(GALAS))ラットを使用した（2.6.7.7.1 参照）。

単回投与群では、ラット（各群雌雄各 8 匹）に塩化ラジウム（^{223}Ra）の 0、22、88、359 及び 1436kBq/kg を単回投与した。反復投与群では、ラット（各群雌雄各 8 匹）に塩化ラジウム（^{223}Ra）の 0、22、359 及び 718kBq/kg を 4 週間隔で 4 回投与した。媒体としてクエン酸ナトリウム緩衝液を使用した。試験期間中、一般状態観察並びに体重及び摂餌量測定を実施した。眼科学的検査及び臨床検査（血液学的、血液生化学的及び尿検査）も実施した。試験終了時に剖検し、器官重量を測定した。摘出した器官及び組織を固定後、病理組織学的検査を実施した。

一般状態観察では、試験開始から 1 ヵ月間は投薬に関連した所見はみられなかった。その後、主に単回投与の 359 及び 1436kBq/kg 群並びに反復投与の 359 及び 718kBq/kg 群において、鼻孔及び眼周囲部における赤色分泌物、立毛、結節／腫脹、頭部の位置異常、常同行動、前後肢の無力性歩行、前後肢の反射抑制／喪失、肢の全／部分麻痺、喘鳴、努力性呼吸、活動性の低下／受動性、無気力／無関心、蒼白、生殖器からの出血、歯の異常、異常神経行動あるいは痙攣がみられた。死亡／早期屠殺例が 39 例〔単回投与の 22kBq/kg 群：1 例（採血後に死亡、試験 281 日（Day281））、88kBq/kg 群：1 例（採血に関連、Day101）、359kBq/kg 群：7 例（Day234～354）、1436kBq/kg 群：5 例（採血に関連した死亡例 1 例を含む、Day15～288）、反復投与の 0kBq/kg 群:1 例（Day366）、22kBq/kg 群：2 例（Day342～343）、359kBq/kg 群：10 例（Day320～446）、718kBq/kg 群：12 例（採血に関連した死亡例 1 例を含む、Day190～435）〕みられたが、採血操作に関連して死亡した単回投与の 22、88、1436kBq/kg 群・反復投与の 718kBq/kg 群の各 1 例及び反復投与の対照群の 1 例の死亡は投薬に関連したものではないと考えられた。投薬に関連した死亡／早期屠殺例では、死亡前に一般状態の悪化、麻痺あるいは腫脹／結節などが認められた。反復投与の 718kBq/kg 群では生存例が少なくなった。これら早期死亡例のうちの数例は、後肢の麻痺により切迫屠殺を行ったが、これら切迫屠殺例の数例（単回投与の 359kBq/kg 群の 2 例

及び 1436kBq/kg 群の 1 例）では、病理組織学的検査で脊柱椎骨に骨肉腫が認められたことから、麻痺は脊髄の圧迫によるものと考えられた。また、投与開始から約 6 ヵ月後に、高用量群（単回投与の 1436kBq/kg 群並びに反復投与の 359 及び 718kBq/kg 群）の数例に歯の成長抑制（これに起因した摂餌量の減少あり）及び著しい体重減少がみられたことから軟性餌に切り替えたところ、これらの動物では体重増加がみられた。更に、単回投与の 359kBq/kg 群では、下顎歯に成長異常（かなり長い歯）がみられ、これら動物の上顎では短い歯がみられた。なお、本所見はラットで特異的に認められている。

体重の減少（統計学的に有意）が、単回投与の 359 及び 1436kBq/kg 群並びに反復投与の 359 及び 718kBq/kg 群でみられた。

摂餌量の減少が、単回投与の 359 及び 1436kBq/kg 群並びに反復投与の 359 及び 718kBq/kg 群で、特に投与開始から 6 ヵ月間に認められた。

眼科学的検査では、投薬に関連した変化はみられなかった。

血液学的検査では、単回及び反復投与群において、投与から 2 週間後（Day15）に白血球の減少（用量依存性）が 88kBq/kg 以上の群でみられた。その他の所見として、ヘモグロビン（単回投与の 359kBq/kg 以上の群の雌、反復投与の 359kBq/kg 以上の群）、赤血球（単回・反復投与の 359kBq/kg 以上の群）、ヘマトクリット（単回・反復投与の 359kBq/kg 以上の群）及び血小板（単回投与の 88kBq/kg 以上の群、反復投与の 359kBq/kg 以上の群）の減少並びに平均赤血球容積（MCV）（反復投与の 359kBq/kg 以上の群の雄）及び平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）の増加（単回投与の 1436kBq/kg 群の雄）がみられた。また、好中球、好酸球あるいはリンパ球の減少（単回投与の 88kBq/kg 以上の群、反復投与の 22kBq/kg 以上の群）も認められた。単回投与群において、統計学的に有意な変化を示したパラメータは、投与後の時間の経過とともに減少し、投与から 12 ヵ月後（Week52）に統計学的に有意な変化として認められた所見は、MCV の増加（1436kBq/kg 群）及び白血球／リンパ球の減少（22kBq/kg 以上の群）のみであった。反復投与群においても単回投与群と同様の変化がみられたが、単回投与群と比較すると、投薬に関連した変化の程度はより重度（変化の認められたパラメータ数が増加し、低用量群から変化がみられた）であった。このことから、単回投与後（低用量群）には明らかな回復性を示すが、反復投与後ではその回復の程度が減少あるいは遅延することが示された。反復投与の 359 及び 718kBq/kg 群で、投与終了から 12 ヵ月後（Week64）に MCV 及び平均赤血球ヘモグロビン量（MCH）の増加が認められたが、その他多くのパラメータでは回復性がみられた。

血液生化学的検査では、単回あるいは反復投与群において初回投与から 2 週間後(Day15)に、統計学的に有意な所見として ALP（単回投与の 88kBq/kg 以上の群）、マグネシウム（単回投与の 1436kBq/kg 群、反復投与の 718kBq/kg 群の雌）あるいはアルブミン／グロブリン（A/G）比（反復投与の 359kBq/kg 以上の群）の減少並びにクロール（単回投与の 1436kBq/kg 群の雌、反復投与の 359kBq/kg 以上の群の雄）あるいはグロブリン（反復投与の 359kBq/kg 以上の群）の増加が認められた。ALP の減少は単回投与の 88kBq/kg 以上の群で認められたが、反復投与群の同じ投与量範囲（359 及び 718kBq/kg）の投薬群では統計学的に有意な変化ではなかった。単回投与の 1436kBq/kg 群では、投与から 12 ヵ月後（Week52）に統計学的に有意な変化としてアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の増加がみられた。更に、同群では、コレステロール及びカルバミドにも変化が認められた。単回投与の 359kBq/kg 以上の群では、カリウムの減少及びリンの増加も認められた。反復投与の 359kBq/kg 以上の群では、最終投与から 12 ヵ月後（Week64）に ALT、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、クレアチニン及びリンの増加並びにトリグリセリド及びクロールの減少がみられた。

尿検査では、単回及び反復投与群とも初回投与から 2 週間後（Day15）には、投薬に関連した変化はみられなかった。試験期間中に、γ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT）の減少、クレアチニンの増加あるいは電解質（ナトリウム、カルシウム、カリウム、クロールあるいはリン）の変化が認められた。クレアチニンの減少が単回投与群では投与から 12 ヵ月後（Week52）に 88kBq/kg 以上の群の雄で、反復投与群では最終投与から 12 ヵ月後（Week64）に 359kBq/kg 以上の群でみられた。

器官重量測定では、心臓（雄のみ）及び副腎重量の減少が単回投与の 1436kBq/kg 群で、肝臓及び腎臓重量の減少が単回投与の 359kBq/kg 以上の群及び反復投与の 359kBq/kg 以上の群でみられた。

早期屠殺例の剖検では、投薬に関連した所見として、上腕部における皮下腫瘤、後肢における結節、胸椎における結節、上顎損傷及び口唇部の肥厚（各 1 例）が単回投与の 359kBq/kg 群で、肩甲骨及び腰椎における腫瘤（1 例）並びに下顎の変形（短い）（1 例）が単回投与の 1436kBq/kg 群で、下顎の腫脹（硬い）（1 例）、下顎における腫瘤／結節（3 例）、下顎における腫瘤及び下顎損傷（1 例）、下顎／頭部における皮下結節（1 例）、肩部筋肉における腫瘤（1 例）及び子宮ポリープ（1 例）が反復投与の 359kBq/kg 群で、子宮角（左側）の肥厚（1 例）が反復投与の 718kBq/kg 群でみられた。

計画屠殺例の剖検では、歯の破折及び口唇部の肥厚並びに子宮角（左側）の肥厚（各 1 例）が反復投与の 359kBq/kg 群で、頭部における結節（1 例）が反復投与の 718kBq/kg 群でみられた。

病理組織学的検査では、歯槽骨、肝臓、腎臓、子宮、脾臓及び骨に投薬に関連した変化が認められた。

歯槽骨における線維骨病変が単回投与の計画屠殺例の1436kBq/kg群並びに反復投与の早期・計画屠殺例の359及び718kBq/kg群でみられた。

大腿骨あるいは胸骨では、骨髄における細胞密度の低下が単回・反復投与の早期・計画屠殺例のすべての投与群（対照群を含む）で、骨細胞／骨芽細胞の減少が単回投与の早期屠殺例の359kBq/kg以上の群及び計画屠殺例の22kBq/kg以上の群並びに反復投与の早期・計画屠殺例の359kBq/kg以上の群で、過骨症が単回・反復投与の早期・計画屠殺例の359kBq/kg以上の群で、成長線の破壊が単回投与の早期屠殺例の359kBq/kg以上の群及び計画屠殺例の88kBq/kg以上の群並びに反復投与の早期屠殺例の359kBq/kg以上の群及び計画屠殺例の22kBq/kg以上の群で、線維骨病変が単回投与の早期・計画屠殺例の1436kBq/kg群並びに反復投与の早期屠殺例の359kBq/kg以上の群及び計画屠殺例の718kBq/kg群でみられた。

子宮内膜間質ポリープが単回投与の早期屠殺例の1436kBq/kg群及び計画屠殺例の359kBq/kg以上の群並びに反復投与の早期・計画屠殺例の359kBq/kg以上の群でみられた。膣において同様のポリープが単回投与の計画屠殺例の1436kBq/kg群の1例で認められた。

肝臓における核の肥大が対照群を含むほぼすべての動物でみられたが、単回投与の計画屠殺例の1436kBq/kg 群の雌及び反復投与の早期・計画屠殺例の718kBq/kg 群の雌ではその程度に増加がみられた（脾臓における髄外造血亢進による二次的変化と推定）。また、腎臓における核の肥大が高用量群の早期・計画屠殺例でみられた。肝臓において、胆管の過形成が単回投与の計画屠殺例並びに反復投与の早期屠殺例の359kBq/kg 以上の群及び計画屠殺例で認められたが、対照群においても認められる変化であった。

脾臓における髄外造血の亢進も単回投与の早期屠殺例の88kBq/kg以上の群及び計画屠殺例のすべての投与群（対照群含む）並びに反復投与群の早期屠殺例の22kBq/kg以上の群及び計画屠殺例

のすべての投与群（対照群含む）で認められたが、本所見は骨髄における細胞密度低下（骨髄抑制）の代償性変化と考えられた。

試験期間中に、死亡／早期屠殺例で 12 例、生存例で 3 例の計 15 例（単回投与の 359kBq/kg 群：5 例、単回投与の 1436kBq/kg 群：1 例、反復投与の 359kBq/kg 群：8 例、反復投与の 718kBq/kg 群：1 例）で骨肉腫が認められた。骨肉腫は、主に骨に認められたが、骨格筋にもみられており、2 例では肺へ転移していた。骨肉腫は主に単回・反復投与の 359kBq/kg 群でみられており、投薬に関連した所見と考えられた。単回・反復投与の 359kBq/kg 群の死亡／早期屠殺例で骨肉腫が最初に確認された試験日は単回投与で Day323、反復投与で Day320 であり、同時期であった。反復投与の 359kBq/kg 群で骨肉腫が確認された時期は Day320、329、369、385、392、411、446 及び 449 であり、単回投与の 359kBq/kg 群での計画屠殺日である Day366 よりも遅いものが多かった。骨肉腫と最も早期に診断されたのは、Day247 に早期屠殺した単回投与の 1436kBq/kg 群の雄であった。単回投与の 1436kBq/kg 群及び反復投与の 718kBq/kg 群において骨肉腫の発生率が低かった理由としては、単回投与の 1436kBq/kg 群では早期屠殺時期がより早かったこと（Day15～288）が挙げられ、また反復投与の 718kBq/kg 群では早期屠殺時期が早かったこと（Day190～435）に加え、試験初期に多くの早期屠殺例がみられたこと（16 例中 12 例）が可能性として考えられる。骨肉腫以外の腫瘍の発生率は、使用したラットの系統及び週齢における自然発生腫瘍発生率の背景値の範囲内であったが、腫瘍の発生率は用量依存性に増加しており、また腫瘍の数や比較的若齢の動物で発生していることを考えると、投薬に関連している可能性がある。

臨床検査でみられた変化は病理組織学的所見と関連しており、遅発性放射線毒性によるものと考えられた。

以上、病理所見を基にした無毒性量は 22kBq/kg あるいは 22kBq/kg の 4 回投与と考えられた。しかし、22kBq/kg 群で白血球及びリンパ球に変化が認められたことから、本試験における無毒性量は決定できなかった。

2.6.6.3.1.2　　ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験

参照項目：4.2.3.2.2　R-8663/STATEMENT

ラットに塩化ラジウム（^{223}Ra）を 4 週間隔で計 12 回の静脈内投与後、4 週間の観察期間を設け、遅発性放射線毒性を含めた本薬の毒性を検討した（2.6.7.7.2 参照）。

ラット〔系統：Wistar (HanTac:WH (GALAS))〕（各群雌雄各 12 匹）に塩化ラジウム（^{223}Ra）の 0、28、55 及び 110kBq/kg を静脈内投与した。媒体としてクエン酸ナトリウム緩衝液を使用した。

試験期間中、一般状態観察を毎日実施し、体重及び摂餌量は毎週測定した。歯の状態については、試験 3 週（Week3）から毎週確認した。採血は投与前及び 4 週ごと（投与から 25 日後）に実施した。試験終了時に剖検し、摘出した器官及び組織を固定後、病理組織学的検査を実施した。

一般状態観察では、試験開始から 6 ヵ月間は投薬に関連した所見はみられなかった。それ以降に、一般状態の変化として、28kBq/kg 以上の群で、鼻孔及び眼周囲部における赤色分泌物、立毛、歯の異常、腫脹、腫瘤（触診による）、頭部の位置異常、異常行動、前後肢の無力性歩行、異常呼吸、受動性／活動性の低下、蒼白あるいは軟便／乾燥便の付着（肛門周囲）あるいは異常発声が認められた。なお、歯の異常が認められた 55kBq/kg 以上の群では、軟性餌を給餌した。投薬群の 25 例〔28kBq/kg 群：5 例（Day273～329）、55kBq/kg 群：10 例（Day223～330）、

110kBq/kg 群：10 例（Day271～331）〕は死亡あるいは早期屠殺したが、死亡前に一般状態の悪化、歩行困難、腫脹、腫瘤などがみられた。対照群では死亡はみられなかった。死因／早期屠殺に至った原因は、主に投薬群の 19 例（死亡例：18 例、生存例：1 例）（28kBq/kg 群：3 例、55kBq/kg 群：8 例、110kBq/kg 群：8 例）で認められた骨肉腫によるものと考えられた。骨肉腫を発症した生存例 1 例は、110kBq/kg 群の動物であった。

体重の減少が 28kBq/kg 以上の群の雄及び 110kBq/kg 群の雌でみられた。

摂餌量の減少（統計学的に有意）が 55kBq/kg 以上の群の雄で認められており、特に Week15～29 で顕著であった。以降の試験期間では軟性餌を給餌したことから、投薬群と対照群間で摂餌量に大きな差異はみられなかった。

血液学的検査では、試験期間を通じて白血球及び赤血球の減少（用量依存性）並びにそれに伴う網状赤血球の代償性増加が雌雄でみられた。また、これらの変化は最終投与から 25 日後（Day335）においても認められた。更に、MCH 及び MCV の増加（統計学的に有意）もみられており、Day335 においても 28kBq/kg 以上の群で認められた。試験期間中に、ヘモグロビンの減少が主に 110kBq/kg 群で、ヘマトクリットの減少が主に 110kBq/kg 群の雌でみられた。

また、多くの白血球分画（好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球あるいは単球）の絶対数の有意な減少が雌雄でみられた。しかし、これら白血球分画の相対数（%）にはごく限定的な変化しか認められなかったことから、白血球の減少が特定の白血球分画でみられたものかは明らかではなかった。

血液凝固系検査では、試験期間中に、プロトロンビン時間の短縮が 28kBq/kg 以上の群で認められた。また、血小板の減少が 55kBq/kg 以上の群の雌で認められており、110kBq/kg 群の雄では Day335 にみられた。

血液生化学的検査では、主に肝機能に関する検査項目で変化がみられており、雄でより顕著であった。ALT の増加（軽度、統計学的に有意）が 110kBq/kg 群[雄：試験 10 ヵ月終了時（Day279、79%増加）及び 12 ヵ月終了時（Day335、77%増加）、雌：試験 12 ヵ月終了時（Day335、70%増加）]で認められた。特に Day335 の ALT 値には大きなばらつきがあり、対照群と同程度の値を示すものもあれば、2 倍以上の高値を示すものもあった。ALP の減少が 55kBq/kg 以上の群の雄及び 110kBq/kg 群の雌で認められた。更に、リンの増加が 110kBq/kg 群の雌雄で顕著であったが、28kBq/kg 以上の群の雄及び 55kBq/kg 群の雌でもみられた。また、アルブミン（及び A/G 比）の減少が 28kBq/kg 以上の群の雄で、クロールの減少が特に 110kBq/kg 群の雌雄で、ナトリウムの減少が特に 110kBq/kg 群の雄で認められた。

脾臓重量の増加が 28kBq/kg 以上の群の雄及び 55kBq/kg 群の雌でみられた。

早期屠殺例の剖検では、大腿部骨格筋における結節及び肺における白点（1 例）並びに頭部における結節（1 例）が 28kBq/kg 群で、下顎部皮膚／皮下、前肢皮膚／皮下、大腿部骨格筋、肺及び椎骨における結節（各 1 例）並びに肢における骨肉腫（1 例）が 55kBq/kg 群で、大腿部及び下腿部骨格筋における結節（それぞれ 1 例及び 3 例）、脊髄における結節（1 例）、脊髄における結節及び肺における赤色巣（1 例）並びに関節における結節（1 例）が 110kBq/kg 群で認められた。計画屠殺例の剖検では、投薬に関連した変化はみられなかった。

早期屠殺例及び計画屠殺例の病理組織学的検査では、骨、骨髄、骨格筋、肺及び脾臓に変化が認められた。

非腫瘍性の変化として、大腿骨では成長線の異常を伴う骨量減少／線維化が 28kBq/kg 以上の群で、骨芽細胞／骨細胞の減少が 110kBq/kg 群の雌の多く（12 例中 10 例）で認められた。胸骨では、骨髄における細胞密度の低下が 110kBq/kg 群の雄の多く（12 例中 10 例）でみられ、また骨量の減少（時折、限局性の線維化を伴う）が 110kBq/kg 群の全例で認められた。これらの変化は、対照群ではみられなかった。

また、肝細胞における核の肥大が 110kBq/kg 群の 2 例で、脾臓における髄外造血の程度の亢進が 110kBq/kg 群で認められた。脾臓における髄外造血の亢進は脾臓重量の増加と相関しており、投薬に関連した二次的な変化と考えられた。

腫瘍性変化として、投薬群の 19 例（死亡例：18 例、生存例：1 例）で骨組織及び骨格筋に骨肉腫がみられ、しばしば肺への転移もみられたが、1 例では副腎へも転移していた。28kBq/kg 群と 55kBq/kg 群では、骨肉腫を発症した動物数に用量依存的な増加が認められたが、明らかな時間依存性はみられなかった。骨肉腫と最も早期に診断された動物は、Day223 に早期屠殺した 55kBq/kg 群の雄であり、その他骨肉腫を有していた死亡／早期屠殺例の剖検時期と同様であった（28kBq/kg 群：Day273～322、55kBq/kg 群：Day223～330、110kBq/kg 群：Day271～331）。骨肉種以外の腫瘍の発生率は、使用したラットの系統及び週齢における自然発生腫瘍発生率の背景値の範囲内であったが、腫瘍の数や比較的若齢の動物で発生していることを考えると、投薬に関連している可能性がある。

以上の結果から、本試験における無毒性量は決定できなかった。

2.6.6.3.2　　イヌの反復投与毒性試験

非げっ歯類を用いた反復投与毒性試験では、イヌに塩化ラジウム（^{223}Ra）を最長 6 ヵ月間（4 週間隔で 6 回）投与した。

2.6.6.3.2.1　　イヌの反復静脈内投与毒性試験

参照項目：4.2.3.2.3　R-8670/R-8670A/R-8670B

長期放射線毒性試験である本試験では、イヌに塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg を 4 週間隔で 6 回投与し、本薬の反復静脈内投与による安全性を評価した。更に、反復投与により骨髄毒性が生じる可能性についても検討した（2.6.7.7.3 参照）。

ビーグル（対照群：雌雄各 2 匹、投薬群：雌雄各 4 匹）に塩化ラジウム（^{223}Ra）の 0 及び 55kBq/kg を 4 週間隔で 6 回投与した。媒体として生理食塩液を使用した。一般状態観察は毎日実施し、体重は毎週測定した。眼科学的検査を実施した。1～6 回の各投与から 14 及び 25 日後、4、5 及び 6 回の投与後並びに計画屠殺前に採血し血液学的検査を、投与前及び 1～6 回の各投与から 25 日後に血液及び尿を採取し血液生化学的検査及び尿検査を実施した。また、血液を採取し TK 評価を、尿及び糞を採取し放射能測定を実施した。更に、骨及び軟部組織中の残留放射能測定並びに骨のオートラジオグラフィも実施した（2.6.4.3、2.6.4.4、2.6.4.6、2.6.5.4-1、2.6.5.5-5、2.6.5.13-8 及び 2.6.5.13-9 参照）。最終投与（6 回目）から約 35 日後に屠殺し、剖検及び骨髄穿刺を含む病理組織学的検査を実施した。また、片側骨盤、大腿骨近位部及び腰椎ユニットの DEXA スキャンを実施し、骨密度（BMD）を測定した。

試験期間中に死亡はみられなかった。

試験期間中、すべての測定時点で、投薬に関連した体重増加量への影響はみられなかった。

一般状態観察では、消化管に関連した所見は認められず、発熱した動物もみられなかった。投与 5 回目と 6 回目の間に、投薬群の 2 例で非転位性の骨盤骨折が認められたが、ケージ内で安静にさせるとともに鎮痛薬を投与した保存的療法により治癒した。その後、全例を対象に実施した DEXA スキャンによる BMD 測定では、腰椎、大腿骨近位部及び片側骨盤において、対照群と投薬群の平均 BMD に差はみられなかった。

眼科学的検査では変化はみられなかった。

血液学的検査では、投薬群において白血球及び顆粒球の減少がみられたが、3 回目の投与までに安定し、残りの試験期間を通じて徐々に回復した。また、血小板にわずかな減少がみられたが、3 回目の投与後、残りの試験期間を通じて徐々に回復した。骨髄穿刺検査では、M/E 比の平均値は 3 回目の投与から 25 日後には投薬群で有意に低かったが、6 回目の投与から 25 日後には対照群と投薬群の間に差は認められなかった。その他の血液学的パラメータは、試験期間終了まで正常範囲内であった。

血液生化学的検査では、投薬群における骨特異的 ALP は、対照群と比較して、投与開始後の試験期間中のいずれの時点においても減少した。血清 N-テロペプチドは、4 回目の投与から 25 日後においてのみ、対照群と比較して投薬群で有意に低かった。

尿検査では、投薬に関連した変化はみられなかった。

器官重量測定では、投薬に関連した変化はみられなかった。

投薬群の骨髄は全体的に暗褐色～赤紫色で、脂肪組織は認められなかった。大腿骨近位部の骨髄は投薬群でより膠様であった。病理組織学的には、投薬群で胸骨あるいは椎骨骨髄の造血細胞密度に全体的な低下がみられた。投薬群において認められた骨髄での細胞密度の低下は、骨髄線維症（線維組織による骨髄腔の置換）及び空胞／顆粒を有する組織球の浸潤によるものと考えられた。投薬群で骨梁の骨融解も認められた。また、脾臓及び肝臓における髄外造血の亢進並びに色素蓄積増加が投薬群でみられたが、これら所見は骨髄での細胞密度低下に対する代償性反応と考えられた。

以上、イヌに塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg を 4 週間隔で 6 回投与しても、問題となりうる所見は認められなかった。本薬の標的器官は骨及び骨髄であり、骨髄及び造血細胞に認められた変化の生じる部位に相当する。これらの変化は軽度なものであった。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

アルファ線放出核種は DNA に対して直接傷害作用を有しており[3]、アルファ線を放出する放射性医薬品の投与により遺伝子突然変異及び染色体異常が誘発される可能性は極めて高いと考えられることから、塩化ラジウム（^{223}Ra）の遺伝毒性試験は実施しておらず、今後も実施する予定はない。線源にかかわらず、放射線放出核種から放出されるアルファ線がヒトの *in vivo* で遺伝子突然変異や循環リンパ球の染色体異常を誘発することが示されている[4, 5, 6]。

2.6.6.5　がん原性試験

塩化ラジウム（^{223}Ra）は進行した骨転移のある前立腺癌患者の治療を目的として開発されていることから、本薬のがん原性試験は実施しておらず、今後も実施する予定はない。更に、アルファ線放出核種は DNA と相互作用し発がん性を増加させる可能性がある。国際がん研究機関（The International Agency for Research on Cancer：IARC）が発表した報告書[5]には、アルファ線を放出する放射性核種が体内に取り込まれた場合、ヒトに対して発がん性を示すことが記載されている。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

精子形成上皮[7]及び発生／発育中の胚／胎児[8]など急速に分化・増殖する組織は放射線障害に対して感受性が高いことが知られており、また、患者集団は進行がんを有する者のみであることから、塩化ラジウム（^{223}Ra）の生殖発生毒性試験は実施しなかった。これら試験については今後も実施する予定はないが、上述のように単回及び反復投与毒性試験において雌雄動物の生殖器官の病理組織学的検査を実施した。ラットの単回静脈内投与毒性試験では、2270kBq/kg 以上の群の雄で精巣においてごく少数の異常精母細胞が認められた（2.6.7.5 参照）。また、ラットの単回及び反復投与毒性試験では、359kBq/kg 以上を単回及び反復投与した雌で子宮内膜間質ポリープが認められた（2.6.7.7.1 参照）。

2.6.6.6.1　幼若動物における試験

塩化ラジウム（^{223}Ra）は骨転移のある前立腺癌を適応としており、小児患者は対象集団に含まれないことから、塩化ラジウム（^{223}Ra）の幼若動物を用いた毒性試験は実施していない。

2.6.6.7　局所刺激性試験

2.6.6.7.1　ウサギの局所刺激性試験

参照項目：4.2.3.6.1　R-8667

ウサギの耳静脈周囲に塩化ラジウム（^{223}Ra）を単回投与し、本薬が静脈周囲へ漏れた場合を想定した局所刺激性を検討した（2.6.7.16 参照）。

New Zealand White ウサギ（雌 3 匹）の右耳に塩化ラジウム（^{223}Ra）の 829kBq/動物を単回静脈周囲投与（静脈近傍だが静脈を穿刺しない部位）した。左耳には塩化ラジウム（^{223}Ra）製剤に使用されるクエン酸溶液の相当量を静脈周囲投与した。注射部位は投与直後及び投与 1 時間後に観察し、以降 1 週間は 1 日 1 回観察した。特に出血、紅斑及び腫張に注意して観察した。投与から 7 日後に剖検し、注射部位の病理組織学的検査を実施した。

塩化ラジウム（^{223}Ra）の静脈周囲投与により、媒体の静脈周囲投与よりわずかに強い局所反応（紅斑のみ、浮腫及び出血なし）がみられた。媒体投与と比較して、投薬による反応は投与 1 時間後にわずかに強い傾向が認められたが、投与に対する反応の差は数日で消失し、剖検時に変化はみられなかった。また、病理組織学的検査でも差異はみられなかった。投薬による全身性の影響は認められなかった。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　抗原性試験

塩化ラジウム（^{223}Ra）は低分子の非ペプチド化合物であることから、抗原性試験は実施しなかった。

2.6.6.8.2　免疫毒性試験

反復投与毒性試験において標準的な血液学的パラメータの測定、剖検及び病理組織学的検査を実施していることから、免疫毒性に特化した試験及び免疫原性に関連した検討は実施しなかった。

2.6.6.8.3　メカニズム検討試験

毒性学的メカニズムを検討する試験は実施しなかった。

2.6.6.8.4　依存性試験

塩化ラジウム（^{223}Ra）の作用機序を考慮し、また、安全性薬理試験、単回及び反復投与毒性試験などの非臨床安全性試験において中枢神経系への影響はみられなかったことから、依存性試験は実施しなかった。なお、臨床において依存性に関連するような中枢神経系の副作用も認められなかった。

2.6.6.8.5　代謝物の試験

ラジウム 223 の性質から、塩化ラジウム（^{223}Ra）に代謝物の試験は該当しない（2.6.4.5 参照）。

2.6.6.8.6　不純物の毒性

独立した不純物の毒性に関する試験は実施しなかった。

2.6.6.8.7　その他

2.6.6.8.7.1　ドセタキセルとの併用投与毒性試験

塩化ラジウム（^{223}Ra）とドセタキセルを併用投与したときの毒性を検討するため、ラットを用いた毒性試験を 3 試験実施した。

2.6.6.8.7.1.1　ラットの単回併用静脈内投与毒性試験（ドセタキセルとの併用）

参照項目：4.2.3.7.7.1　R-8664

第Ⅰ相試験では、ラットにドセタキセルを単回静脈内投与し、ドセタキセルの最大耐量（MTD）を検討した。また、第Ⅱ相試験では、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg とドセタキセルの MTD（第Ⅰ相試験にて設定）を併用静脈内投与したときの影響を検討し、今後実施する試験における適切な用量設定を目的とした。試験には、Wistar（HanTac:WH(GALAS)）ラットを使用した（2.6.7.17 参照）。

第Ⅰ相試験では、ラット（各群雌雄各 4 匹）にドセタキセルの 1、3、5 及び 4mg/kg を投与日をずらして単回投与した。第Ⅱ相試験では、ラット（雌雄各 4 匹）にドセタキセルの 4mg/kg と塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg を単回併用投与した。一般状態観察は投与終了から 1 時間後及びその後の試験期間中は 1 日 2 回実施し、体重及び摂餌量は毎週測定した。投与開始前並びに投与から 7（Day7）及び 14 日後（Day14）に採血し、血液検査を実施した。各投薬群とも Day14 に剖検し、肉眼観察を実施した。

一般状態観察では、ドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群の 1 例で投与直後に活動性の低下、過呼吸及び立毛（軽度）が認められたが、同日の午後には回復した。また、同群では投与部位（尾）に局所反応（軽度）もみられた。

体重増加抑制及び摂餌量の減少傾向が、すべてのドセタキセル群（用量依存性）及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群で、Day14 と比較して Day7 でより強く認められた。

血液学的検査では、すべてのドセタキセル群並びにドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群において赤血球、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少並びに網状赤血球及び血小板の増加が Day7 にみられたが、これら変化の多くは Day14 には正常値まで回復した。ドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群においては、白血球の減少（統計学的に有意）が Day14 まで認められた。

血液生化学的検査では、すべてのドセタキセル群及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群においてクレアチニンの増加が、ドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群においてカルバミドの

増加がみられた。また、ALP の減少傾向（用量依存性）が Day7 にすべてのドセタキセル群及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群で認められたが、Day14 には回復した。

剖検では、投薬に関連した所見は認められなかった。

ラットにドセタキセルを単回静脈内投与したところ、MTD は 4mg/kg であった。本試験におけるドセタキセルの無毒性量は決定できなかった。血液学的検査で認められた変化は、骨髄抑制に続発した代償性反応と考えられた。すべてのドセタキセル群及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群でクレアチニンの増加がみられたが、本所見はタキサン系薬剤の毒性として知られている腎毒性によるものである。ドセタキセルの 4mg/kg と塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg の併用は、次に実施する単回併用投与毒性試験（12 週間の観察期間あり）の投与量として適していることが示された。

2.6.6.8.7.1.2　ラットの単回併用静脈内投与毒性試験（ドセタキセルとの併用、12 週間の観察期間あり）

参照項目：4.2.3.7.7.2　R-8665

ラットにドセタキセル及び塩化ラジウム（^{223}Ra）をそれぞれ単独あるいは併用により単回静脈内投与し、その後 85 日間（12 週間）の観察期間を設け、両薬の毒性を評価した（2.6.7.17 参照）。

ラット〔系統：Wistar（HanTac:WH(GALAS)）〕（各群雌雄各 12 匹）に生理食塩液、ドセタキセルの 4mg/kg、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg 及びドセタキセルの 4mg/kg と塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg を単回投与した。一般状態観察は毎日実施し、体重及び摂餌量は毎週測定した。投与開始前並びに投与から 2、4、8 及び 12 週後（Week2、4、8 及び 12）に採血し、血液検査を実施した。剖検では肉眼観察を実施し、骨髄塗抹用に全例の大腿骨から骨髄を採取した。

ドセタキセル群では、雄 1 例の死亡が Day4 にみられたが、この動物の死因は不明であった。また、同群では雌 1 例の右後肢に大結節が認められたことから、この動物を Day29 に早期屠殺した。剖検したところ、この結節は皮下組織に存在していた。ドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群の雌 1 例で尾根部に硬性小結節が認められた。しかし、これら結節の病理組織学的検査は実施しておらず、投薬との関連性は不明である。

ドセタキセル群及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群では、体重の減少が Day8 にみられ、これに関連した摂餌量の減少が投与終了から 1 週間認められた。

血液学的検査では、赤血球の減少がドセタキセル群、塩化ラジウム（^{223}Ra）群及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群で Week2 に認められた。本所見は、塩化ラジウム（^{223}Ra）群及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群の雄では Week4 及び 8 でもみられており、ドセタキセル群よりも長期間認められた。網状赤血球の代償性増加が、ドセタキセル群及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群で Week2 にみられた〔塩化ラジウム（^{223}Ra）群ではみられず〕。ドセタキセルあるいは塩化ラジウム（^{223}Ra）群と比較して、MCHC の増加がドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群で Week2 に認められた。白血球の減少が、ドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群の雄で Week2 及び 4 にみられており、同様の傾向が塩化ラジウム（^{223}Ra）群の雄でも認められた。好中球（絶対／相対）、好酸球及び単球の減少が、塩化ラジウム（^{223}Ra）群及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群で Week2 にみられた。

血液生化学的検査では、トリグリセリドの増加が塩化ラジウム（^{223}Ra）群の雄で Week2、4、8 及び 12 に、ドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群の雄で Week8 及び 12 に認められた。雌では、ドセタキセル群及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群で Week2 にみられた。グルコースの増加（軽度だが、統計学的に有意）がドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群の雄で Week2 にみられた。電解質（ナトリウム、マグネシウム及びクロール）の減少がドセタキセル群、塩化ラジウム（^{223}Ra）群及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群で Week4 及び 8（雌：Week4、雌雄：Week8）に認められたが、最も大きな変化を示したのはドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群であった。

器官重量及び骨髄塗抹とも、投与群間で差異は認められなかった。

剖検では、投薬に関連した所見はみられなかった。

ドセタキセルの 4mg/kg あるいは塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg を単回投与したところ、体重、摂餌量並びに血液学的及び血液生化学的検査でのいくつかのパラメータに明らかな影響がみられ、その影響は Week2 で最も顕著であった。塩化ラジウム（^{223}Ra）の血液学的パラメータに対する影響は雌よりも雄で顕著であり、その影響はドセタキセルよりも長時間持続する傾向にあった。なお、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg とドセタキセルの併用投与により明らかな相加的あるいは相乗的な影響を示す所見は認められなかった。

2.6.6.8.7.1.3　ラットの 22 週間併用静脈内投与毒性試験（ドセタキセルとの併用、4 週間の観察期間含む）

参照項目：4.2.3.7.7.3　R-8666

ラットにドセタキセル及び塩化ラジウム（^{223}Ra）をそれぞれ単独あるいは併用により間欠的に最長 18 週間反復静脈内投与し、その後 4 週間の観察期間を設け、両薬の毒性を評価した（2.6.7.17 参照）。

ラット〔系統：Wistar（HanTac:WH(GALAS)）〕（各群雌雄各 12 匹）に生理食塩液、ドセタキセルの 4mg/kg、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg 及びドセタキセルの 4mg/kg と塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg を投与した。18 週間の投与期間中に、塩化ラジウム（^{223}Ra）を 6 週間隔で 4 回（Week0、6、12 及び 18）、ドセタキセルを 3 週間隔で 7 回（Week0、3、6、9、12、15 及び 18）の間欠的投与を行った。一般状態は毎日、歯の状態は Week12 以降週 1 回観察した。体重及び摂餌量は毎週測定した。投与開始前、Week3、6、9、12、15 及び 18 並びに Week22 の試験終了前に採血し、血液検査を実施した。試験終了時には器官重量を測定し、骨髄塗抹及び剖検を実施した。

試験期間中に投薬に関連した死亡はみられず、一般状態にも投薬に関連した変化は認められなかった。

体重増加抑制及び摂餌量の減少がドセタキセル群でみられており、ドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群ではより重度の変化として認められた。

血液学的検査では、ヘモグロビン、赤血球及びヘマトクリットの減少がすべての投薬群の雌雄で認められたが、本所見は雌よりも雄で、また併用投与群でより顕著であった。また、赤血球の減少に対する正常な反応として、網状赤血球の増加もみられた。更に、MCHC の変化とともに MCV 及び MCH の増加も認められた。全体として、反復投与により赤血球パラメータに対する影響が増強されることはなかった。

白血球、好中球、リンパ球及び好酸球の減少がすべての投薬群の雌雄で認められたが、本所見は雌よりも雄で、また併用投与群でより顕著であった。反復投与により、特にドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群で白血球パラメータに対する影響が増強されており、この傾向は雄でより顕著であった。また、これら白血球パラメータに対する変化は次の投与時までに完全に回復しなかった。

血液生化学的検査では、カルバミドの減少がすべての投薬群の雌で、クレアチニンの減少がすべての投薬群の雄で、トリグリセリドの減少が塩化ラジウム（^{223}Ra）群及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群の雄で認められた。

骨髄塗抹検査では、赤血球の増加並びに M/E 比の減少がドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群の雄で認められた。本所見は、血液学的検査での所見と一致するものであった。

剖検では、投薬に関連した変化はみられなかった。

器官重量測定では、精巣上体及び精巣重量の減少がドセタキセル群及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群の雄で、心臓、腎臓、肝臓及び胸腺重量の減少がドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群の雄で認められた。しかし、病理組織学的検査は実施していないことから、器官重量の変化との関連性については明らかにできなかった。

以上の結果から、投薬に関連した体重増加抑制、摂餌量の減少、赤血球パラメータ（網状赤血球の増加を含む）の減少及び白血球パラメータの減少が認められた。更に、血液生化学的パラメータ（カルバミド、クレアチニン及びトリグリセリドの減少）及び器官重量に変化がみられた。全体として、本試験で認められた変化は、雄及びドセタキセル＋塩化ラジウム（^{223}Ra）群においてより顕著であった。反復投与により赤血球パラメータに対する変化は増強されなかったものの、白血球パラメータに対する変化は次の投与時までに完全に回復しなかった。

2.6.6.8.7.2　光毒性試験

塩化ラジウム（^{223}Ra）の臨床推奨用量 55kBq/kg を体重 60kg のヒトに投与する場合の総投与放射能量 3300kBq は、塩化ラジウム（^{223}Ra）の総投与量（マスドーズ）として約 1.7ng に相当し（0.58ng/1100kBq）、ヒトに投与される塩化ラジウム（^{223}Ra）は微量である。さらに、本薬のマウス、ラット及びイヌを用いた臓器・組織分布試験において、ラジウム 223 は主に骨組織に分布し、その親和性は軟部組織よりはるかに高いことが明らかとなっている（2.6.4.4.2 参照）。また、イヌにラジウム同位体であるラジウム 224 を静脈内投与したとき、ラジウム 224 の大部分は速やかに骨に分布し、皮膚における残存量は投与 1 日後には投与量の約 2%、眼における残存量は投与 1 時間後から 0.1%～0.3%と極わずかであったことが報告されている[9]。よって、ヒトへの塩化ラジウム（^{223}Ra）の総投与量（マスドーズ）が微量であることに加え、ラジウム 223 の多くは速やかに骨に分布し、眼及び皮膚における分布は極めて少ないと考えられることから、本薬の非臨床光毒性試験は実施しなかった。

ヒトにおいては、第Ⅲ相臨床試験（試験 BC1-06）での「眼障害」の発現割合は BAY 88-8223 群の方がプラセボ群より低く（それぞれ 3.8%、5.6%）、「皮膚および皮下組織障害」の発現割合には BAY 88-8223 群とプラセボ群との間で差異は認められなかった（それぞれ 11.7%及び 11.3%）（2.7.4.2.1.5 参照）。

以上のことから、塩化ラジウム（^{223}Ra）の臨床使用時に光毒性が問題となる可能性は低いと考えられた。

2.6.6.9　考察及び結論

マウス、ラット及びイヌを用いて塩化ラジウム（^{223}Ra）の非臨床安全性プロファイルを広範囲に検討したところ、アルファ線曝露により予測された影響が認められた。

マウス、ラット及びイヌにおいて、塩化ラジウム（^{223}Ra）の忍容性は全般的に良好であった。主な毒性所見は、放射線誘発性の造血抑制に関連したものであった。げっ歯類を用いた単回投与毒性試験では、STD_{10} はマウスで 2762kBq/kg、ラットで 2270kBq/kg であり、臨床推奨用量（55kBq/kg）の約 40（ラット）～50（マウス）倍であった。イヌの単回投与毒性試験では、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 497kBq/kg（臨床推奨用量の 9 倍）を投与したところ、用量制限毒性として骨髄毒性が認められた。ラット及びイヌの反復静脈内投与毒性試験（4 週間隔）では、55kBq/kg を投与しても用量制限毒性はみられなかった。ラットでは、ドセタキセルの 4mg/kg と塩化ラジウム（^{223}Ra）の 55kBq/kg を反復併用投与したところ、血液学的パラメータへの影響が各単剤投与時よりも増強される傾向が認められた。しかし、この種の変化は投与終了後に回復することが知られている。

本薬は消化管壁を介して排出される薬剤であるが、病理組織学的検査で大腸及び小腸に放射線誘発性の細胞毒性を示唆する変化は認められなかった。

塩化ラジウム（^{223}Ra）の単回及び反復投与毒性試験では、ラットで認められた主な所見（摂餌量の減少、体重増加抑制、歯に対する影響、血液学的変化、血清 ALP の減少並びに骨髄、脾臓及び骨における病理組織学的変化）は放射線誘発性の造血障害（骨髄毒性）及び骨形成に対する影響に、イヌで認められた主な所見は放射線誘発性の骨髄毒性に関連したものであった。病理組織学的検査においても骨髄毒性が確認されており、代償性の反応としてラットでは脾臓における髄外造血亢進が、イヌでは色素蓄積を伴う脾臓及び肝臓における髄外造血亢進が認められた。初期の非臨床研究の結果から、他のラジウム同位体を投与後、造血細胞が骨幹端から速やかに消失し、膠様髄に置換され、その後非定型の線維骨に置換されることが明らかとなっている[10]。

ラットに塩化ラジウム（^{223}Ra）を単回あるいは反復投与したところ、投与開始から約 6 ヵ月後に、歯の異常（成長異常、破折及び喪失）並びに歯の異常に起因した摂餌量及び体重の減少が認められた。本所見は放射線誘発性の骨形成及び象牙芽細胞に対する影響に起因した、げっ歯類特異的な歯の成長障害と考えられた。

血液学的変化

ラットでは、塩化ラジウム（^{223}Ra）投与による初期の急性反応は、単回投与後に認められた血液学的パラメータの変化であり、特に白血球の減少がみられたが、これらの変化には回復性が認められた。しかし、塩化ラジウム（^{223}Ra）の反復投与では、例えば白血球数の減少は投与終了から約 40 週間後まで回復しなかった。低用量の 22kBq/kg 群で白血球及びリンパ球に変化が認められたことから、ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）において無毒性量は決定できなかった。

塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与した被験者において、骨髄抑制、特に血小板減少症、好中球減少症、白血球減少症及び汎血球減少症が報告されている。第Ⅲ相臨床試験（試験 BC1-06）（2011 年 7 月カットオフ）において、最も発現割合の高かった有害事象は血小板減少症及び好中球減少症であった。血小板減少症（全グレード）が塩化ラジウム（^{223}Ra）群の 11.5%で、プラセボ群の 5.6%で発現しており、また好中球減少症（全グレード）が塩化ラジウム（^{223}Ra）群の 5.0%で、プラセボ群の 1.0%で認められている（2.7.4.2.1.1.1 参照）。

アルファ線の予測された放射線生物学的作用であるが、動物試験で認められた骨髄抑制及び続発する造血抑制はヒトよりも重篤であると考えられる。その理由として、アルファ線は一定した飛程を有しており、小型の動物では影響を受ける骨の割合がヒトよりも大きいこと、更に骨の大きさも種によって異なっており、骨梁幅の平均値はイヌの脛骨頭部とヒトの大腿骨頭部で同程度（それぞれ 201μm 及び 288μm）であるが、髄腔の幅には 2～3 倍の差（それぞれ 488μm 及び 1156μm）があると示唆されている[11] ことが挙げられる。

骨肉腫

ラットでは、359kBq/kg の単回及び 359kBq/kg 以上の反復投与（4 週間隔で 4 回投与）後の長期観察期間中（7～12 ヵ月間）並びに 28kBq/kg 以上の反復投与期間中（4 週間隔で 12 回投与）に骨肉腫が認められた。一般的に、ラジウムなどの骨親和性核種の主な長期確率的影響は骨腫瘍の誘発であることが知られている[12] 。骨肉腫は、ラットの骨に電離放射線[13, 14] やラジウム 224[15] など短半減期放射性核種を曝露することにより容易に誘発される。ラジウム 224 に関して、2 段階クローン性拡大モデルに当てはめて解析すると、総投与量を同一とした単回投与と比較して、反復投与では骨肉腫の発生頻度の増加及び潜伏期間の短縮がみられたと報告されている[16, 17] 。染色体変化や遺伝子突然変異の関与に焦点を当てた細胞遺伝学的及び分子学的研究についても公知である[18] 。よって、ラジウム同位体を投与した動物、特に骨が成長過程にある動物では骨腫瘍の発生が予測される。

イヌを用いた塩化ラジウム（^{223}Ra）の単回及び反復投与毒性試験では、骨肉腫は認められなかったものの、ラジウム 224 を単回（投与から死亡までの最速日数：3066 日）あるいは反復投与（投与開始から死亡までの最速日数：1636 日）[19] 及びラジウム 226 を投与（推定ラグタイム 2.35 年）[12] したイヌでは、投薬に関連した遅発性骨肉腫の発生が報告されている。イヌ 243 匹にラジウム 226 を投与し生存時間を検討した試験において、骨腫瘍を発症したイヌでの骨への放射線量率及び曝露開始から死亡までの時間を対数変換すると、直線関係が認められた[18, 20] 。同様の関係性がマウス及びヒトでも示されており、骨腫瘍により死亡に至る累積投与量（あるいは時間）の中央値は、イヌではマウスの 2.9 倍、ヒトではイヌの 3.6 倍大きい[18, 20] 。

ヒトでは、放射線誘発性肉腫の発生は緩徐である[18, 21, 22] 。乳癌患者では、放射線誘発性肉腫発生までの潜伏期間の中央値は 9.5 年（4～24 年）であり、照射から 10 年後の時点での累積発生率は 0.2%（0.09%～0.47%）であった。肉腫と診断されてからの生存期間の中央値は 2.4 年（4 ヵ月～9 年）であった[21] 。また、乳癌患者 16,705 例のうち 13,472 例が「メガボルト」放射線療法を受けていたが、肉腫を発症するまでの潜伏期間はその種類（軟組織、硬組織など）によらず、3～20.3 年であった。放射線誘発性肉腫の累積発生率は、5 年の時点で 0.07%、10 年の時点で 0.27%、15 年の時点で 0.48%であった。照射患者及び非照射患者における標準化罹患比は、それぞれ 10.2 及び 1.3 であった[22] 。

非臨床試験の結果から、塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与した被験者には骨肉腫を発症するリスクがあることが示唆されている。しかし、塩化ラジウム（^{223}Ra）を用いた臨床試験では骨肉腫の発症例は報告されていない。現時点では、塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与された患者が骨肉腫を発症するリスクについては明らかではない。

骨肉腫以外の腫瘍性変化

ラットを用いた長期試験では骨肉腫以外の腫瘍性変化が認められた。これら腫瘍の発生率はこの系統及び週齢のラットでみられる自然発生腫瘍発生率の背景値の範囲内にあったが、12 ヵ月間投与試験よりも高用量を含む単回及び反復投与試験では、特に高用量群で原発性腫瘍が多く認められる傾向にあり、比較的若齢の動物で腫瘍が発生していることから、いくつかの腫瘍では投

薬によって誘発された可能性は否定できなかった。塩化ラジウム（^{223}Ra）の作用機序並びに通常放射線療法及びその他の放射線療法による腫瘍の発生を考慮すると[23]、塩化ラジウム（^{223}Ra）は二次性悪性腫瘍を誘発する可能性がある。

イヌに塩化ラジウム（^{223}Ra）の臨床推奨用量と同じ用量である 55kBq/kg を 4 週間隔で 6 ヵ月間投与しても、用量制限毒性はみられなかった。血液学的検査では、いくつかのパラメータに変化がみられたが、投与終了後に回復性を示したものもあった。また、白血球及び血小板の減少についても、試験期間中に軽度な変化を超えることはなかった。骨髄細胞密度の全般的な低下が認められたが、塩化ラジウム（^{223}Ra）を反復投与しても骨密度に対する影響はみられなかった。ラジウム 223 の排出に関与する器官に組織学的変化は認められなかった。

網膜剥離

イヌの単回投与毒性試験では、塩化ラジウム（^{223}Ra）の 166kBq/kg 以上（臨床推奨用量の 3～9 倍）を投与したところ、網膜無色素上皮あるいは色素上皮の肥厚を伴う網膜剥離が認められたが、臨床推奨用量と同じ用量で反復投与（55kBq/kg を 6 回投与）した試験で本所見はみられなかった。イヌの単回投与毒性試験では投与前に眼科学的検査を実施しておらず、塩化ラジウム（^{223}Ra）の投与と網膜で認められた変化との因果関係を明らかにすることは難しいが、イヌの眼は明らかにラジウムの標的であり[24, 25, 26]、ヒトにおいてもおそらく標的であることから[27, 28, 29]、因果関係はあると考えられる。一方で、ヒトで体外照射療法を実施する際に、適切な用量を分割投与することで放射線網膜症の発症を最小限に抑えられることが知られており[30, 31]、イヌに累積投与量として高用量（330kBq/kg）となる塩化ラジウム（^{223}Ra）を分割投与しても、網膜に変化が認められなかったことと一致している。しかし、ヒトでは内部被曝後に眼に放射線障害が認められることは稀で、きわめて高い曝露を受けた場合には長い潜伏期間（成人で 26 年）を経て発現しており、更に、イヌの生涯試験において骨親和性放射性核種を内部曝露したときに認められた眼の放射線障害とは、標的（水晶体）及び臨床転帰（白内障）が異なっている[32]。

イヌにおけるラジウム誘発性網膜症の主な標的組織は、色素細胞及びタペタムであることが示されている[2, 33]。イヌに高用量の塩化ラジウム（^{223}Ra）を単回静脈内投与した際に網膜剥離がみられたが、これはラジウムがイヌの色素上皮に親和性を有することから、二次的に眼組織に対するアルファ線の照射が増強された結果による可能性がある[2, 33]。これには、色素上皮、特にタペタムに多数存在するカルシウム結合部位が関わっている可能性があり、おそらくカルシウムが視細胞シグナル伝達及び光順応において重要な役割を担っていることを示すものと考えられる[34, 35, 36]。ヒトの眼はタペタムを有していないことから、塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与した前立腺癌患者でイヌにみられた網膜症の発症リスクが上昇する可能性については明らかではなく、イヌでの網膜症発症にはラジウムがイヌの眼の有色素構造に種特異的に蓄積することを示している可能性がある。第Ⅲ相臨床試験（試験 BC1-06）では、「眼障害」が塩化ラジウム（^{223}Ra）群の 3.8%で、プラセボ群の 5.6%で認められたが、網膜症を発症した被験者はみられなかった（2.7.4.2.1.4.1.3 参照）。

放射線は生殖発生に影響を及ぼすことが知られていることから、塩化ラジウム（^{223}Ra）の生殖発生毒性試験は実施しなかった。

骨転移のある前立腺癌患者を対象に、塩化ラジウム（^{223}Ra）の線量測定を実施したところ、精巣にラジウム（^{223}Ra）の特異的な分布は認められず、算出された吸収線量は非常に低かった（日本人患者：0.00003Gy/MBq、非日本人患者：0.00008Gy/MBq）（それぞれ 2.7.2.2.4 及び 2.7.2.2.2 参照）。よって、骨転移のある前立腺癌患者に塩化ラジウム（^{223}Ra）を投与しても、男性生殖器に有害な作用を及ぼす可能性は低いと考えられる。

線源にかかわらず、放射性核種から放出されるアルファ線は、*in vivo* でヒトに遺伝子突然変異及びヒトの循環リンパ球に染色体異常を誘発し、ヒトにおいて発がん性を有することが知られていることから[4, 5, 6, 22]、塩化ラジウム（^{223}Ra）の遺伝毒性及びがん原性試験は実施しなかった。

ウサギを用いて実施した局所刺激性試験では、塩化ラジウム（^{223}Ra）を静脈周囲投与したところ、媒体投与時よりもわずかに強い局所反応（紅斑のみ、浮腫及び出血なし）が認められた。投与に対する反応の差異は数日で消失し、投与から 7 日後に実施した病理組織学的検査で差異はみられなかった。また、マウス、ラット及びイヌを用いて実施した静脈内投与による単回及び反復投与毒性試験では、投与部位に投薬に関連した所見は認められなかった。

以上のことから、マウス、ラット及びイヌを用いた塩化ラジウム（^{223}Ra）の単回及び反復投与毒性試験による本薬の非臨床安全性評価は適切と考えられ、アルファ線放出核種で予測される影響が認められた。これら毒性試験で認められた所見は、放射線の生物学的影響によるものと考えられる。従って、骨転移のある前立腺癌患者に対して塩化ラジウム（^{223}Ra）を使用しても、その使用を妨げる予測不能なあるいは重篤な毒性は認められないものと考えられる。

2.6.6.10 図表

図表は本文中に適切に記載した。

引用文献一覧

1) Lloyd RD et al., Health Phys 1997:72:100-110 (4.3.14 添付)

2) Taylor GN et al., Health Phys 2000:79:196-198 (4.3.15 添付)

3) Ritter MA et al., Nature 1977:266:653-655 (4.3.16 添付)

4) WHO:IARC working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 43, Lyon IARCPress 1988:173 (4.3.17 添付)

5) WHO:IARC working group on the evaluation of carcinogenic risks to humans, Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 78, Lyon IARCPress 2001:479 (4.3.18 添付)

6) El Ghissassi F et al., Lancet Oncol 2009:10:751-752 (4.3.19 添付)

7) Howell RW et al., Radiat Res 1997:147:342-348 (4.3.20 添付)

8) Brent R, Pregnancy and radiation exposure fact sheet Health Physics Society http://www.hps.org/hpspublications/articles/pregnancyandradiationexposureinfosheet.html, accessed 5/26/2011 9:14:53 AM (4.3.21 添付)

9) Lloyd RD et al., Radiat Res 1982:92:280-295 (4.3.4 添付)

10) Bloom MA, Histopathology of irradiation from external and internal sources, McGraw-Hill Book Co., New York 1948:162-242 (4.3.22 添付)

11) Vaughan JM, The effects of irradiation on the skeleton Oxford University Press, London 1973:1-37 (4.3.23 添付)

12) Bijwaard H et al., Radiat Res 2004:162:171-184 (4.3.24 添付)

13) Solheim OP, Acta Radiol Ther Phys Biol 1977:16:433-446 (4.3.25 添付)

14) Boorman GA and Everitt JI, The Laboratory Rat Elsevier Academic Press, London 2006:479-511 (4.3.26 添付)

15) Müller WA, Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med 1971:20:27-38 (4.3.27 添付)

16) Heidenreich WF et al., Radiat Res 1999:151:209-217 (4.3.28 添付)

17) Heidenreich WF et al., Radiat Environ Biophys 2005:44:61-67 (4.3.29 添付)

18) Raabe OG, Health Phys 2010:98:515-536 (4.3.30 添付)

19) Muggenburg BA et al., Radiat Res 1996:146:171-186 (4.3.31 添付)

20) Raabe OG et al., Science 1980:208:61-64 (4.3.32 添付)

21) Taghian A et al., Int J Radiat Oncol Biol Phys 1991:21:361-367 (4.3.33 添付)

22) Kirova YM et al., Cancer 2005:104:856-863 (4.3.34 添付)

23) Brenner DJ et al., Cancer 2000:88:398-406 (4.3.35 に添付)

24) Momeni MH and Muggli FM, Ophthalmic Res 1977:9:112-122 (4.3.36 添付)

25) Thompson RC, PNL-6822, US Department of Energy Battelle Press 1989:1-323 (4.3.37 添付)

26) Raabe OG et al., Federal Demonstration Project Department of Energy Grant No. DOE DE-FG03-89ER60914/92. University of California, Davis (4.3.38 添付)

27) Spiess H and Gerspach A, Health Phys 1978:35:61-81 (4.3.39 添付)

28) ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, US Public Health Service), Toxicological profile for radium December 1990 (4.3.40 添付)

29) Chmelevsky D et al., Radiat Res 1988:115:238-257 (4.3.41 添付)

30) Parsons JT et al., Int J Radiat Oncol Biol Phys 1994:30:765-773 (4.3.42 添付)

31) Monroe AT et al., Int J Radiat Oncol Biol Phys 2005:61:856-864 (4.3.43 添付)

32) Griffith TP et al., Br J Ophthalmol 1985:69:219-227 (4.3.45 添付)

33) Taylor GN et al., Radiat Res 1964:21:285-298 (4.3.46 添付)

34) Dräger UC, Proc Natl Acad Sci USA 1985:82:6716-6720 (4.3.44 添付)

35) Szikra T and Krizaj D, Neuroscience 2006:141:143-155 (4.3.47 添付)

36) Bush WD and Simon JD, Pigment Cell Res 2007:20:134-139 (4.3.13 添付)

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表

Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride

Overview of Toxicological Studies with Radium-223 chloride

Type of Study/ Treatment Duration	Species/ Strain	Method of Administration	Doses/ Concentrations	GLP	Test Facility	Report Number/ Study Number	Location in CTD
Single-Dose Toxicity							
Rodent Preliminary Dose Range Finding Single dose + 29 days post dosing Biodistribution Single dose + 1 or 14 day(s) post dosing Main Single dose + 29 days post dosing	Mouse/ SPF Balb/c	Intravenous	Preliminary Dose Range Finding: 1381, 2072, 2418, 2762 kBq/kg Biodistribution: 1381 kBq/kg Main: 0, 1381; 2762, 4144 kBq/kg	Yes[a]	[redacted]* Denmark Algeta ASA** Oslo Norway	R-8660/ [redacted] No.52158	4.2.3.1.1
Rodent Single dose + 29 days post dosing	Rat/ SPF Wistar, BrlHan:WIST @Mol (GALAS)	Intravenous	Preliminary: 1390, 2433, 3475, 4170 kBq/kg Biodistribution: 1390 kBq/kg[b] Main: 0, 1135, 2270, 3404 kBq/kg	Yes[a]	[redacted]* Denmark Algeta ASA** Oslo Norway	R-8661/ [redacted] No.52159	4.2.3.1.2

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表（続き）

Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride

Overview of Toxicological Studies with Radium-223 chloride

Type of Study/ Treatment Duration	Species/ Strain	Method of Administration	Doses/ Concentrations	GLP	Test Facility	Report Number/ Study Number	Location in CTD
Single-Dose Toxicity (continued)							
Non-rodent Single dose + 30 days post dosing + biodistribution	Dog/ Beagle	Intravenous	0, 55, 166, 497 kBq/kg	No	[redacted] USA [redacted] USA	R-8668 + R-8669 + R-8668A + R-8668B / [redacted] Study No.: MS RA1	4.2.3.1.3

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表（続き）

Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride

Overview of Toxicological Studies with Radium-223 chloride

Type of Study/ Treatment Duration	Species/ Strain	Method of Administration	Doses/ Concentrations	GLP	Test Facility	Report Number/ Study Number	Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity							
Rodent Single-dose and repeated-dose (once every 4 weeks) x 1 or 4 + 12 months post dosing	Rat/ SPF Wistar, BrlHan:WIST @Mol (GALAS)	Intravenous	Single-dose: 0, 22, 88, 359, 1436 kBq/kg Repeated-dose: 0, 22, 359, 718 kBq/kg	Yes	[redacted]* [redacted] Denmark	R-8662 + R-8662A + STATEMENT/ [redacted] Study No.62985	4.2.3.2.1
Rodent (once every 4 weeks) x 12 + 4 weeks post dosing	Rat/ SPF Wistar, HanTac:WH (GALAS)	Intravenous	0, 28, 55, 110 kBq/kg	Yes	[redacted]* [redacted] Denmark	R-8663 + STATEMENT/ [redacted] Study No.67071	4.2.3.2.2

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表（続き）

Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride

Overview of Toxicological Studies with Radium-223 chloride

Type of Study/ Treatment Duration	Species/ Strain	Method of Administration	Doses/ Concentrations	GLP	Test Facility	Report Number/ Study Number	Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity (continued)							
Non-rodent (once monthly) x 6 + approximately 35 days post dosing + biodistribution	Dog/ Beagle	Intravenous	0, 55 kBq/kg	No	[redacted] USA [redacted] USA	R-8670 + R-8670A + R-8670B / [redacted] Study No.: MS RA2	4.2.3.2.3
Local Tolerance							
Local irritation Single dose + 7 days post dosing	Rabbit/ New Zealand White	Perivenous	0, 829 kBq/animal	Yes	[redacted])* Denmark	R-8667/ [redacted] Study No.69865	4.2.3.6.1

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表（続き）

Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride

Overview of Toxicological Studies with Radium-223 chloride

Type of Study/ Treatment Duration	Species/ Strain	Method of Administration	Doses/ Concentrations	GLP	Test Facility	Report Number/ Study Number	Location in CTD
Other toxicity studies							
Other, combination with docetaxel							
Rodent Single-dose, dose finding pilot + 14 days post dosing	Rat/ SPF Wistar, HanTac:WH (GALAS)	Intravenous	Docetaxel alone: 1, 3, 4, 5 mg/kg, Combination: 55 kBq/kg BAY 88-8223 + 4 mg/kg docetaxel	No	[redacted]* Denmark	R-8664/ [redacted] Study No.68997	4.2.3.7.7.1
Rodent Single-dose + 12 weeks post dosing	Rat/ SPF Wistar, HanTac:WH (GALAS)	Intravenous	0, 4 mg/kg docetaxel, 55 kBq/kg BAY 88-8223, Combination (55 kBq/kg BAY 88-8223 + 4 mg/kg docetaxel)	Yes	[redacted]* Denmark	R-8665/ [redacted] Study No.69120	4.2.3.7.7.2

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表（続き）

Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride

Overview of Toxicological Studies with Radium-223 chloride

Type of Study/ Treatment Duration	Species/ Strain	Method of Administration	Doses/ Concentrations	GLP	Test Facility	Report Number/ Study Number	Location in CTD
Other toxicity studies (continued)							
Other, combination with docetaxel (continued)							
Rodent Repeat-dose, intermittent (7 occasions over 18 weeks) + 4 weeks post dosing	Rat/ SPF Wistar, HanTac:WH (GALAS)	Intravenous	0, 4 mg/kg docetaxel (every 3 weeks), 55 kBq/kg BAY 88-8223 (every 6 weeks), Combination (55 kBq/kg BAY 88-8223 + 4 mg/kg docetaxel)	Yes	[redacted]* Denmark	R-8666/ [redacted] Study No.69202	4.2.3.7.7.3

GLP: Good Laboratory Practice
a. The part of each study (analysis of radioactivity levels) performed by Algeta ASA was non-GLP.
b. Selected tissues from the animals in 1390 kBq/kg group of preliminary study were sampled.
* [redacted]
** Currently Bayer AS

2.6.7.2　トキシコキネティクス：　トキシコキネティクス試験の一覧表

Biodistribution determinations including blood toxicokinetics were performed as part of the single-dose and repeat-dose dog biodistribution and toxicity studies.

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

Blood toxicokinetic parameters of radium-223 in Beagle dogs after single-dose administration of radium 223 chloride (BAY 88-8223) are summarized in 2.6.5.3-4, 2.6.5.3-5 and 2.6.5.3-6 and after repeat-dose administration of radium 223 chloride (BAY 88-8223) are summarized in 2.6.5.4-1 and 2.6.5.4-2.

2.6.7.4 毒性試験： 被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride

Drug Product – Basic Characteristics* of Batches used in Toxicological Studies

Batch No. Proposed Specification [e]	Radiochemical Purity [a] [redacted] [%]	Radioactive Conc.[b] [redacted] [kBq/mL]	[redacted]	pH 6.0 – 8.0	LAL-test [c] [redacted] [EU/mL]	Identity [d]	Type of Study	Location in CTD (Report No./ Study No.)
A306004 A309004	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Single dose mouse toxicity study	4.2.3.1.1 (R-8660/ [redacted] No. 52158)
A309004 A311003	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Single dose rat toxicity study	4.2.3.1.2 (R-8661/ [redacted] No. 52159)
A708003 A709002 A710005 A710009	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Single dose dog toxicity study	4.2.3.1.3 (R-8668, R-8669, R-8668A, R-8668B / [redacted] Study No.: MS RA1)

2.6.7.4 毒性試験： 被験物質（バッチ毎）一覧（続き）

Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride

Drug Product – Basic Characteristics* of Batches used in Toxicological Studies

Batch No.	Radiochemical Purity [a]	Radioactive Conc.[b]	[redacted]	pH	LAL-test [c]	Identity [d]	Type of Study	Location in CTD
Proposed Specification [e]	[%]	[kBq/mL]		6.0 – 8.0	[EU/mL]			(Report No./ Study No.)
A606007 [f]							Single and repeat dose rat toxicity study (1 and 4 doses)	4.2.3.2.1 (R-8662, R-8662A, STATEMENT/ [redacted] Study No.62985)
A606006 [f]								
A607004 [f]								
A607003 [f]								
A608002 [f]								
A608001 [f]								
A608006 [f]								
A605009 [f]								
A605008 [f]								

2.6.7.4 毒性試験： 被験物質（バッチ毎）一覧（続き）

Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride

Drug Product – Basic Characteristics* of Batches used in Toxicological Studies

Batch No.	Radiochemical Purity [a]	Radioactive Conc.[b]	[redacted]	pH	LAL-test [c]	Identity [d]	Type of Study	Location in CTD
Proposed Specification [e]	[%]	[kBq/mL]		6.0 – 8.0	[EU/mL]			(Report No./ Study No.)
A710008 [g] (diluted from A710005)							Repeat dose rat toxicity study (12 doses)	4.2.3.2.2 (R-8663, STATEMENT/ [redacted] Study No.67071)
A711009 [g] (diluted from A711006)								
A712006 [g] (diluted from A712002)								
A801004 [g] (diluted from A801001)								
A802002 [g] (diluted from A802001)								
A803002 [g] (diluted from A803001)								
A804001 [g] (diluted from A803004)								
A805003 [g] (diluted from A805001)								
A806011 [g] (diluted from A806009)								
A807001 [g] (diluted from A806020)								
A808005 [g] (diluted from A808004)								
A808012 [g] (diluted from A808011)								

2.6.7.4 毒性試験： 被験物質（バッチ毎）一覧（続き）

Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride

Drug Product – Basic Characteristics* of Batches used in Toxicological Studies

Batch No.	Radiochemical Purity [a]	Radioactive Conc.[b]	[redacted]	pH	LAL-test [c]	Identity [d]	Type of Study	Location in CTD
Proposed Specification [e]	[%]	[kBq/mL]		6.0 – 8.0	[EU/mL]			(Report No./ Study No.)
A803004 A805001 A806009 A806020 A808004 A809004							Repeat dose dog toxicity study	4.2.3.2.3 (R-8670, R-8670A, R-8670B/ [redacted] Study No.:MS RA2)
A903008							Local irritation study in rabbits	4.2.3.6.1 (R-8667/ [redacted] Study No.69865)
A811005 [h] (diluted from A810007)							Pilot, combination single dose pilot study in rats with docetaxel	4.2.3.7.7.1 (R-8664/ [redacted] Study No.68997)
A812009 [h] (diluted from A812004)							Combination single dose study in rats with docetaxel	4.2.3.7.7.2 (R-8665/ [redacted] Study No.69120)

2.6.7.4 毒性試験： 被験物質（バッチ毎）一覧（続き）

Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride

Drug Product – Basic Characteristics* of Batches used in Toxicological Studies

Batch No.	Radiochemical Purity [a]	Radioactive Conc.[b]	[redacted]	pH	LAL-test [c]	Identity [d]	Type of Study	Location in CTD
Proposed Specification [e]	[redacted] [%]	[redacted] [kBq/mL]	[redacted]	6.0 – 8.0	[redacted] [EU/mL]			(Report No./ Study No.)
A903009 [h] (diluted from A902012)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Combination repeat dose study in rats with docetaxel	4.2.3.7.7.3 (R-8666/ [redacted] Study No.69202)
A904014 [h] (diluted from A904005)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
A906017 [h] (diluted from A905016)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		
A907018 [h] (diluted from A907022)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]		

EU = endotoxin unit, LAL = limulus amebocyte lysate, [redacted]

* More detailed in 3.2.P.5.4.1 and 3.2.S.4.4.1

a Radiochemical purity: Precipitation test with barium sulfate

b Data is given as re-calculated values and are approximately 10.5 % higher than actually measured values at time of analyses [the National Institute of Standards and Technology (NIST) change].

c LAL test for endotoxin levels

d Identity evaluated by Gamma peaks, 154, 323 and 338 keV or 144.2, 154.2, 269.5, 323.9, 338.3, 351.1, 401.8, 427.1, 704.6 and 832.0 keV.

e Specifications listed in the available certificates of analysis varied as the development program progressed. Values in this table for “Proposed Specification” list either the lowest value for any certificate of analysis included in a nonclinical report or if applicable, the full range of acceptable values.

f Values from 3.2.P.5.4.1. Certificates of analysis not included in R-8662+R-8662A+STATEMENT (4.2.3.2.1).

g Radioactive concentration were given ‘on documentation following each vial’ per R-8663+STATEMENT (4.2.3.2.2) and not included in the preclinical certificates of analysis provided in R-8663+STATEMENT (4.2.3.2.2). Values for radioactive concentration listed in table from 3.2.P.5.4.1. Batch numbers listed include preclinical batch number and the corresponding clinical batch number from which the preclinical batch was diluted. Certificates of analysis of the clinical batches listed were not included in R-8663+STATEMENT (4.2.3.2.2).

h Specifications of drug product not listed in reports, only batch numbers. Values for radioactive concentration listed in table from 3.2.P.5.4.1. Batch numbers listed include preclinical batch number and the corresponding clinical batch number from which the preclinical batch was diluted. Certificate of analysis not included in R-8664 (4.2.3.7.7.1), R-8665 (4.2.3.7.7.2) and R-8666 (4.2.3.7.7.3).

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: BAY 88-8223 / Radium-223 chloride

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Study Outline	Doses [kBq/kg]	No. of animals per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose/ Approximate Lethal Dose [kBq/kg]	Noteworthy findings	Report Number/ Study Number	Location in CTD
Mouse/ Balb/c	Intravenous (Vehicle: 0.9 % saline) Necropsy : - 29 days after administration (Preliminary Dose Range Finding & Main study), -1 and 14 days after administration (Biodistribution study)	Preliminary Dose Range Finding study: 1381,2072, 2418, 2762 Biodistribu-tion study: 1381 Main study: 0, 1381, 2762, 4144	2 M, 2 F 6 M 5 M, 5 F	1381/ 2762	<u>Preliminary Dose Range Finding study</u> • No adverse clinical findings <u>Biodistribution study</u> • Ra-223 had pronounced affinity to calcified tissues, e.g. bone, cartilage (time points, 1 and 14 days post dose)	R-8660/ [redacted] No. 52158	4.2.3.1.1

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

Test Article: BAY 88-8223 / Radium-223 chloride

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Study Outline	Doses [kBq/kg]	No. of animals per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose/ Approximate Lethal Dose [kBq/kg]	Noteworthy findings	Report Number/ Study Number	Location in CTD
(continued)					Main study • One animal at 2762 kBq/kg and 2 animals at 4144 kBq/kg were found dead or were euthanized after showing clinical signs (piloerection, hunched posture and passive behavior) about one week after treatment • Reduced body weight gain within a period of 30 days after treatment at ≥ 1381 kBq/kg • A tendency towards lower food consumption at ≥ 1381 kBq/kg • Slightly lower RBC counts in females at 1381 kBq/kg, lower WBC and lymphocyte counts in males at 1381 & 2762 kBq/kg and in females at 2762 kBq/kg, lower eosinofil counts in males at 1381 & 4144 kBq/kg and in females at 2762 kBq/kg • A lower serum activity of ALP at ≥ 1381 kBq/kg • Increased weight of the spleen at ≥ 1381 kBq/kg • Minimal to moderate depletion of osteocytes/osteoblasts (dose-related) in the bone at ≥ 1381 kBq/kg	R-8660/ [redacted] No. 52158	4.2.3.1.1

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

Test Article: BAY 88-8223 / Radium-223 chloride

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Study Outline	Doses [kBq/kg]	No. of animals per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose/ Approximate Lethal Dose [kBq/kg]	Noteworthy findings	Report Number/ Study Number	Location in CTD
(continued)					Main study (continued) • Minimal to marked depletion of hematopoietic cells in bone marrow at ≥ 1381 kBq/kg • Minimal to slight increase of extramedullary hematopoiesis of spleen at ≥ 1381 kBq/kg & lymph nodes (mandibular and mesenteric) at 4144 kBq/kg • Decedent animals: marked atrophy of hematopoietic cells in bone marrow and slight diffuse atrophy of spleen and thymus. Minimal depletion of osteocytes and osteoblasts in the bones (only 2 animals at 4144 kBq/kg) • STD_{10}: 2762 kBq/kg	R-8660/ [redacted] No. 52158	4.2.3.1.1

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

Test Article: BAY 88-8223 / Radium-223 chloride

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Study Outline	Doses [kBq/kg]	No. of animals per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose/ Approximate Lethal Dose [kBq/kg]	Noteworthy findings	Report Number/ Study Number	Location in CTD
Rat/ Wistar, BrlHan: WIST @Mol (GALAS)	Intravenous (Vehicle: 0.9% saline) Necropsy: 29 days after administration (Day30) Blood samples for haematology and clinical chemistry: on Days 3 and 30	Preliminary study: 1390, 2433, 3475, 4170 Biodistribu-tion study: 1390[a] Main study: 0, 1135, 2270, 3404	2 M, 2 F 5 M, 5 F	3404/ >3404	Preliminary study • Body weight gain reduction at ≥ 1390 kBq/kg Biodistribution study • Radium-223 adhered to bone tissues, with little or no adhesion to other tissues (only 1390 kBq/kg group sampled from Preliminary study, final necropsy) Main Study • Body weight gain reduction in males at ≥ 1135 kBq/kg and in females at ≥ 2270 kBq/kg • Reduced food consumption in males at ≥ 1135 kBq/kg • Decrease in RBC count in males at 1135& 2270 kBq/kg and in females at 1135 kBq/kg • Decrease in eosinophile count in males at ≥ 1135 kBq/kg • Decrease in WBC, lymphocyte and neutrophil counts in males and females at ≥ 1135 kBq/kg • Decrease in ALP in males and females at ≥ 1135 kBq/kg • Increase in relative spleen weight in males and females at ≥ 1135 kBq/kg • Decreased absolute thymus weight in males at ≥ 1135 kBq/kg	R-8661/ [redacted] No. 52159	4.2.3.1.2

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

Test Article: BAY 88-8223 / Radium-223 chloride

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Study Outline	Doses [kBq/kg]	No. of animals per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose/ Approximate Lethal Dose [kBq/kg]	Noteworthy findings	Report Number/ Study Number	Location in CTD
(continued)					Main Study (continued) • Dose-related minimal to moderate depletion of osteocytes and osteoblasts in the bone in males and females at ≥ 1135 kBq/kg • Fibro-osseous proliferation of the femur in males and females at ≥ 1135 kBq/kg and a bone marrow fibrosis in the sternum in males at ≥ 2270 kBq/kg and in females at 3404 kBq/kg • Dose-related minimal to marked depletion of the haematopoietic cells in the bone marrow in males and females at ≥ 1135 kBq/kg • Increase in extramedullary hematopoiesis in the spleen in males and females at ≥ 1135 kBq/kg • Minimal atrophy and/or minimal increased lymphocytolysis in thymus in males at ≥ 2270 kBq/kg and in females at 3404 kBq/kg • Minimal to slight alveolar edema in lung in females at ≥ 2270 kBq/kg and in males at 3404 kBq/kg • A minimal numbers of abnormal spermatocytes (giant cell) formation in the testes in males at ≥ 2270 kBq/kg • STD_{10}: 2270 kBq/kg	R-8661/ [redacted] No. 52159	4.2.3.1.2

F = Female, M =Male, ALP = alkaline phosphatase, RBC = red blood cell, WBC = white blood cell, STD_{10} = the Severely Toxic Dose in 10% of the animals in rodents
a. Selected tissues from the animals in 1390 kBq/kg group of preliminary study were sampled (see 2.6.4.4.2 and 2.6.5.5-3).

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

Test Article: BAY 88-8223 / Radium-223 chloride

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Study Outline*	Doses [kBq/kg]	No. of animals per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose/ Approximate Lethal Dose [kBq/kg]	Noteworthy findings	Report Number/ Study Number	Location in CTD
Dog/ Beagle	Intravenous (Vehicle: 0.9% saline) Necropsy: 30 days after administration	0, 55, 166, 497	2 M, 2 F	166/ 497	• Dose dependent decrease in WBC, granulocyte and platelet counts with nadir at days 7-14 at ≥ 55 kBq/kg • Transient elevation in body temperature at 497 kBq/kg corresponding to granulocyte nadir days 7-14[a] • 1 dog at 497 kBq/kg was sacrificed on day 12 due to aspiration pneumonia with a neutropenia	R-8668, R-8669, R-8668A, R-8668B/ [redacted] Study No.: MS RA1	4.2.3.1.3

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

Test Article: BAY 88-8223 / Radium-223 chloride

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Study Outline*	Doses [kBq/kg]	No. of animals per Group	Observed Maximum Non-Lethal Dose/ Approximate Lethal Dose [kBq/kg]	Noteworthy findings	Report Number/ Study Number	Location in CTD
(continued)					• A rebound in hematology parameters to the low reference range was observed in the 55 kBq/kg group by the end of the 30 day study period • Segmented retinal detachment and choroidal and subretinal hemorrhage with hypertrophy of the retinal unpigmented epithelium in 1 dog at 166 kBq/kg • Retinal detachment with hypertrophy of the retinal unpigmented and pigmented epithelium in 3/3 surviving dogs at 497 kBq/kg • Histology and histomorphometry of the L2 vertebral body confirmed a dose related decrease in bone marrow hematopoietic cellularity and percentage bone marrow at ≥ 55 kBq/kg • Dose related decrease of myeloid to erythroid cells ratio for the bone marrow smears at ≥ 55 kBq/kg	R-8668, R-8669, R-8668A, R-8668B/ [redacted] Study No.: MS RA1	4.2.3.1.3

F = Female, M =Male, WBC = white blood cell

a These dogs were treated with broad spectrum oral antimicrobials and subcutaneous fluids. All of the treated dogs except one dog (sacrificed on day 12) had uneventful outcomes.

* Samples of blood, urine and feces were collected for biodistribution determinations; measurement of retained radioactivity in selected bone and soft tissues samples was performed as well as autoradiography of selected bone specimens (see 2.6.4.3, 2.6.4.4, 2.6.4.6, 2.6.5.3-4, 2.6.5.5-4, 2.6.5.13-6 and 2.6.5.13-7).

2.6.7.6　反復投与毒性試験：　重要な試験以外の試験

No data available

2.6.7.7 反復投与毒性試験： 重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）

Report Title:	Alpharadin (Radium-223) - Single and Repeated Dose Toxicity Study in Rats with an Extended Recovery Period		
Report No.:	R-8662, R-8662A, STATEMENT		
Location in CTD:	4.2.3.2.1		
Test Article:	BAY 88-8223 / Radium-223 chloride		
Species/Strain:	Rat/SPF Wistar, BrlHan:WIST@Mol (GALAS)	Study No.:	[redacted] Study No. 62985
Initial age:	Approximately 9 to 11 weeks		
Duration of Dosing:	Single-Dose portion: Single dose Repeat-Dose portion: Approximately 3 months (one dose every 4 weeks, 4 doses)	GLP compliance:	Yes
Duration of Postdose:	Single-Dose portion: 12 months Repeat-Dose portion: 12 months after last injection	Date of 1st dose:	[redacted]
Method of Administration:	Intravenous		
Vehicle/Formulation:	Sodium citrate buffer (pH 6.0 to 8.0)		
Special features:	Toxicokinetics was not performed.		
NOAEL	Single-Dose portion: Not established (less than 22 kBq/kg) Repeat-Dose portion: Not established (less than 22 kBq/kg)		

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Number of Animals	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Noteworthy Findings										
Died/Sacrificed Moribund[a, b, c]	0	1	0	3	3[d]	0	0	1[d]	4	2
Body Weight (%[e], g)										
Week 26 (Day 183)	490.1	-3	-3	-20**	-31**	276.9	+3	0	-8*	-16**
Week 52 (Day 365)	545.0	-4	-4	-22**	-23**	304.4	-1	-3	-12*	-11*

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Food Consumption (%[e], g/animal/week)[f]										
Week 26	172.4	-10	-3	-36**	-44**	117.8	+4	0	-6	-34**
Week 52	151.3	-5	-4	-3	+10	107.3	-10	-10	-7	+27*
Clinical Observations (Animals with finding, M + F)										
	M + F	M + F	M + F	M + F	M + F					
Test item-related clinical signs during first 1 month of study	-	-	-	-	-					
Red secretion around nostril	0	2	1	2	5					
Red secretion around eyes	0	2	3	3	13					
Piloerection	0	1	2	6	13					
Nodules/swellings	1	0	0	3	1					
Abnormal head position	0	0	0	1	1					
Stereotype behavior	0	0	0	1	0					
Limping, hind- or forelegs	0	0	0	1	1					
Slower/ absent reflexes, hind- or forelegs	0	0	0	1	0					
Paralytic hind-legs, partial or total	0	0	0	2	3					
Noisy respiration	0	0	0	0	1					
Passive/ less active	0	0	0	1	1					

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Clinical Observations (Animals with finding, M + F) (continued)										
	M + F	M + F	M + F	M + F	M + F					
Flaccid/ apathetic	0	0	0	1	0					
Pale	0	1	0	0	1					
Bleeding from genital opening	0	0	0	1	0					
Teeth worn down (short teeth, almost no teeth left, very long teeth etc)[g]	0	0	0	14	14					
Abnormal neurological behavior	0	0	0	0	1					
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology										
Day 15 (2 weeks after 1 dose)										
Hemoglobin (mmol/L)	9.93	9.84	9.60	9.05	9.45	9.38	9.56	9.11	8.28**	8.20**
Red blood cell count (10^{12}/L)	8.79	8.61	8.43	7.96*	8.19	8.28	8.53	7.91	7.15**	7.09**
Hematocrit (mL/100 mL)	50.3	49.1	48.3	45.6*	46.9	46.4	47.4	44.9	41.4**	40.4**
Mean cell volume (fL)	57.1	57.0	57.1	57.1	57.4	55.8	55.8	56.8	57.4	57.0
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.14	1.15	1.14	1.13	1.16	1.11	1.13	1.15	1.16	1.18
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	19.8	20.1**	19.9	19.9	20.1**	20.3	20.2	20.4	20.2	20.4
White blood cell count (10^9/L)	10.99	9.33	6.34**	4.88**	3.23**	10.48	9.40	8.41*	5.63**	3.75**
Neutrophils (10^9/L)	0.76	0.59	0.34**	0.18**	0.13**	0.85	0.71	0.65**	0.24**	0.20**
Neutrophils (%)	7.1	6.4	5.3**	3.5**	3.6**	8.1	7.4	7.5	4.1**	5.1**

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Hematology (continued)										
Day 15 (2 weeks after 1 dose) (continued)										
Lymphocytes (10^9/L)	10.14	8.68	5.99**	4.71**	3.09**	9.54	8.61	7.73	5.38**	3.56**
Lymphocytes (%)	92.4	93.3	94.3	96.0**	95.9**	91.0	91.8	91.8	95.5**	94.4**
Eosinophils (10^9/L)	0.05	0.04	0.01	0.00*	0.00*	0.09	0.06	0.03*	0.00**	0.00**
Eosinophils (%)	0.4	0.5	0.1	0.3	0.1	1.0	0.8	0.4*	0.0**	0.3**
Platelets (10^9/L)	527	482	476	277**	137**	549	511	450*	318**	155**
Week 27										
Hemoglobin (mmol/L)	9.81	9.55	10.19	9.70	9.76	9.24	9.85	9.51	9.49	9.54
Red blood cell count (10^{12}/L)	8.99	8.61	9.42	8.92	8.53	8.34	8.92	8.43	8.28	7.86
Hematocrit (mL/100 mL)	48.1	46.5	49.9	48.1	48.1	45.5	48.6	46.9	47.0	46.6
Mean cell volume (fL)	53.4	54.5	53.0	53.9	56.4	54.4	54.4	55.6	56.6*	59.5**
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.11	1.13	1.10	1.11	1.14	1.10	1.11	1.13	1.15	1.21**
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	20.4	20.5	20.4	20.2	20.3	20.3	20.3	20.3	20.3	20.5
White blood cell count (10^9/L)	7.04	6.04	6.81	7.36	4.67**	5.99	6.11	6.11	6.01	4.51*
Neutrophils (10^9/L)	0.71	0.65	0.74	0.79	0.53	0.93	0.74	0.84	0.78	0.61
Neutrophils (%)	10.0	10.5	10.8	11.0	11.4	15.6	12.1	13.4	13.4	13.9
Lymphocytes (10^9/L)	6.25	5.29	5.99	6.53	4.04**	5.00	5.29	5.20	5.19	3.83*
Lymphocytes (%)	89.1	88.1	88.0	88.3	86.6	83.3	86.8	85.0	85.8	85.0
Eosinophils (10^9/L)	0.08	0.10	0.11	0.05	0.07	0.05	0.06	0.09	0.06	0.05
Eosinophils (%)	1.0	1.6	1.5	0.9	1.7	1.1	1.3	1.3	1.0	1.1
Platelets (10^9/L)	529	505	466	506	425	487	465	516	503	456

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Hematology (continued)										
Week 52 (end of study)										
Hemoglobin (mmol/L)	9.89	9.76	10.05	9.96	9.68	9.61	9.93	9.61	9.55	9.72
Red blood cell count (10^{12}/L)	8.98	8.99	9.09	9.07	8.39	8.43	8.76	8.28	8.30	7.95
Hematocrit (mL/100 mL)	48.4	48.1	48.9	49.0	47.4	46.4	48.3	46.4	46.5	47.5
Mean cell volume (fL)	53.9	53.6	54.0	54.0	56.4	55.3	54.9	55.9	56.0	59.5**
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.13	1.10	1.11	1.10	1.16	1.14	1.14	1.19	1.15	1.22
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	20.5	20.3	20.5	20.4	20.4	20.7	20.6	20.8	20.6	20.6
White blood cell count (10^9/L)	6.60	5.21*	5.16*	5.14*	4.22**	3.94	3.43	3.79	3.85	3.20
Neutrophils (10^9/L)	0.96	1.11	0.95	0.92	0.80	0.54	0.66	0.87	0.90	0.75
Neutrophils (%)	14.4	21.6	18.4	18.0	19.4	14.1	19.6	23.0*	23.0	24.2*
Lymphocytes (10^9/L)	5.60	4.01**	4.23*	4.18*	3.40**	3.35	2.71	2.86	2.90	2.43
Lymphocytes (%)	85.1	77.0	81.3	81.0	80.0	84.5	78.5	75.6*	75.5	75.0*
Eosinophils (10^9/L)	0.04	0.07	0.00	0.02	0.00	0.05	0.60	0.01	0.03	0.02
Eosinophils (%)	0.4	1.1	0.0	0.2	0.4	1.4	1.8	0.9	1.0	0.7
Platelets (10^9/L)	542	547	486	563	490	521	493	473	492	496
Serum Chemistry										
Day 15 (2 weeks after 1 dose)										
Alanine aminotransferase (μkat/L)	0.79	0.85	0.80	0.80	0.81	0.77	0.72	0.75	0.76	0.75
Aspartate aminotransferase(μkat/L)	1.53	1.61	1.53	1.53	1.37	1.43	1.40	1.45	1.31	1.37
Alkaline phosphatase (μkat/L)	3.32	3.68	3.72	2.55*	2.51*	1.79	1.52	1.28**	0.96**	1.07**

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Serum Chemistry(continued)										
Day 15 (2 weeks after 1 dose) (continued)										
Cholesterol (mmol/L)	1.43	1.53	1.35	1.51	1.63	1.29	1.25	1.18	1.35	1.45
Triglycerides (mmol/L)	1.53	1.53	1.54	1.35	1.90	1.27	1.29	1.17	1.30	1.40
Carbamide (Urea) (mmol/L)	7.23	7.36	7.30	6.96	7.23	7.01	7.66	7.66	7.53	7.84
Creatinine (µmol/L)	23.0	23.5	23.0	23.6	24.0	22.3	23.6	23.9	20.9	22.1
Sodium (mmol/L)	153.8	153.0	155.7	154.2	156.0	151.4	153.0	153.0	154.6	155.9
Potassium (mmol/L)	6.39	6.53	6.89	6.62	6.38	6.92	6.94	6.82	6.37	6.73
Calcium (mmol/L)	2.68	2.66	2.70	2.60	2.64	2.48	2.43	2.51	2.64	2.45
Magnesium (mmol/L)	1.29	1.25	1.28	1.19	1.13*	1.26	1.20	1.25	1.21	1.11**
Inorganic phosphorus (mmol/L)	2.98	3.03	2.99	3.05	2.91	2.92	2.61	2.72	2.52*	3.05
Chloride (mmol/L)	105.5	105.9	106.8	106.1	107.3	106.3	106.5	106.9	108.6	109.5*
Protein (total) (g/L)	66.6	67.3	69.7	67.2	70.2	69.6	69.6	68.8	70.6	70.9
Albumin (g/L)	44.3	44.3	45.8	43.9	44.4	47.0	47.1	46.8	47.1	47.9
Globulin (g/L)	22.4	23.0	24.0	23.3	25.8	22.6	22.4	22.0	23.5	23.0
Albumin/Globulin ratio	1.99	1.93	1.92	1.90	1.75	2.09	2.11	2.13	2.01	2.08
Week 27										
Alanine aminotransferase (µkat/L)	1.11	1.11	1.10	1.15	1.24	1.14	0.98	1.00	1.33	3.24**
Aspartate aminotransferase(µkat/L)	1.35	1.46	1.40	1.50	1.74	1.71	1.46	1.36	1.67	4.79*
Alkaline phosphatase (µkat/L)	1.42	1.64	1.61	1.32	1.56	0.77	0.69	0.68	0.60	0.73
Cholesterol (mmol/L)	1.89	1.98	1.88	1.64	1.70	1.49	1.61	1.54	1.41	1.56
Triglycerides (mmol/L)	1.60	1.85	1.89	1.36	0.75*	1.57	2.05	1.37	1.71	1.16

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Serum Chemistry(continued)										
Week 27 (continued)										
Carbamide (Urea) (mmol/L)	7.54	7.36	7.85	6.25*	8.95**	6.94	7.26	7.92	7.79	9.98**
Creatinine (µmol/L)	27.6	30.9	29.0	32.9**	34.3**	27.6	27.0	26.9	27.0	34.5**
Sodium (mmol/L)	151.6	152.0	154.7*	150.6	153.6	145.7	145.5	145.3	146.8	147.7
Potassium (mmol/L)	6.73	6.73	6.93	6.52	6.17	6.00	6.27	6.60	6.28	6.11
Calcium (mmol/L)	2.81	2.84	2.94	2.79	2.70	2.84	2.88	2.86	2.94	2.89
Magnesium (mmol/L)	1.16	1.15	1.24	1.24	1.19	1.14	1.23	1.20	1.24	1.16
Inorganic phosphorus (mmol/L)	2.34	2.08	2.19	2.62	2.18	2.06	2.03	1.95	2.11	1.95
Chloride (mmol/L)	104.4	106.3	107.0*	104.0	106.8*	102.5	101.7	102.9	103.8	104.5
Protein (total) (g/L)	67.4	69.5	73.2	65.9	64.6	69.6	70.9	69.9	71.7	68.9
Albumin (g/L)	43.9	44.5	46.1	40.3	41.6	48.1	49.5	48.7	49.0	48.0
Globulin (g/L)	23.5	25.0	27.1*	25.6	23.0	21.4	21.4	21.2	22.7	20.9
Albumin/Globulin ratio	1.88	1.79	1.72	1.59**	1.81	2.25	2.32	2.32	2.16	2.32
Week 52 (end of study)										
Alanine aminotransferase (µkat/L)	1.08	1.07	1.12	1.83	2.00**	1.29	1.27	1.11	1.43	1.73
Aspartate aminotransferase(µkat/L)	1.47	1.38	1.40	1.88	1.91	2.12	1.96	1.58	2.02	2.13
Alkaline phosphatase (µkat/L)	1.57	1.99	2.01	1.63	2.03	0.91	0.75	0.68	0.59	0.72
Cholesterol (mmol/L)	2.39	2.31	2.34	2.14	2.42	2.01	1.99	2.04	1.95	2.90*
Triglycerides (mmol/L)	1.79	1.76	1.87	1.80	1.50	1.78	1.80	2.10	1.65	2.04
Carbamide (Urea) (mmol/L)	6.75	6.73	7.00	5.94	5.36**	7.67	7.38	7.81	7.22	6.97
Creatinine (µmol/L)	28.9	29.1	28.4	30.6	31.8	31.4	32.5	32.0	32.0	33.0

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Serum Chemistry(continued)										
Week 52 (end of study) (continued)										
Sodium (mmol/L)	147.3	148.2	148.8	147.8	146.6	146.5	147.4	146.7	148.2	148.2
Potassium (mmol/L)	6.30	6.59	6.58	6.65	6.24	6.36	6.18	6.07	5.75**	5.81**
Calcium (mmol/L)	2.95	2.96	3.00	2.95	2.97	3.14	3.18	3.19	3.22	3.29
Magnesium (mmol/L)	1.19	1.22	1.22	1.22	1.17	1.43	1.42	1.37	1.34	1.39
Inorganic phosphorus (mmol/L)	1.90	2.08	2.04	2.44**	2.52**	1.86	1.80	1.90	1.98	2.31**
Chloride (mmol/L)	102.3	103.0	102.7	103.1	101.3	102.6	102.7	102.2	102.3	101.3
Protein (total) (g/L)	72.4	73.2	74.4	71.8	70.5	81.4	81.0	80.2	84.0	83.6
Albumin (g/L)	46.8	46.4	47.1	44.8	44.4	55.4	55.6	55.3	57.3	57.7
Globulin (g/L)	25.7	26.8*	27.3	27.0	26.1	26.0	25.3	24.9	26.8	25.9
Albumin/Globulin ratio	1.83	1.74	1.74	1.67	1.70	2.13	2.21	2.24	2.16	2.25
Urinalysis										
Day 15 (2 weeks after 1 dose)										
Notable findings	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Week 27										
Creatinine (µmol/L)	5264	8300	3767	3102	6819	4483	4910	3329	20411	30628**
Gamma-glutamyl transferase (µkat/mmol creatinine)	2.70	2.92	2.81	2.22	1.31**	1.76	1.20	1.03	0.68*	0.02**
Sodium (mmol/L)	26.1	36.1	<18.6	<15.5	25.2	<10.8	<10.5	<11.1	<17.1	<26.6**
Potassium (mmol/L)	86.4	121.5	55.2	38.5	90.8	58.2	57.3	44.8	80.1	60.5
Calcium (mmol/L)	0.94	1.69*	0.60	1.43	2.79	4.22	3.99	2.47	3.43	2.67
Phosphate (mmol/L)	17.6	20.2	9.3	6.2	25.8	17.0	16.4	10.9	19.5	7.2

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Urinalysis (continued)										
Week 27 (continued)										
Chloride (mmol/L)	38.6	53.3	24.5	19.5**	34.9	52.4	39.3	32.0	59.8	44.6
Week 52 (end of study)										
Creatinine (µmol/L)	7917	8538	4561*	4655	5163	3560	3361	4026	4660	3380
Gamma-glutamyl transferase (µkat/mmol creatinine)	2.24	2.71	4.22	5.10	2.39	1.34	1.03	1.25	1.36	1.21
Sodium (mmol/L)	<32.5	44.2	<26.8	32.4	<31.2	`<29.1	18.1	<18.2	<26.2	<22.3
Potassium (mmol/L)	116.1	150.9	103.4	90.1	75.3	55.3	47.2	58.7	76.7	68.0
Calcium (mmol/L)	2.36	3.12	2.31	2.13	1.92	5.76	4.97	5.33	5.44	4.14
Phosphate (mmol/L)	13.0	13.6	8.6	20.4	26.3	10.2	8.0	12.0	16.4	13.5
Chloride (mmol/L)	49.6	66.3	45.4	35.6	42.6	<48.0	37.5	41.0	50.5	46.7
Organ Weights (%[e])										
Number evaluated	8	7	8	5	5	8	8	7	4	6
Adrenals, absolute (mg)	54.3	+3.9	-6.4	-5.7	-20.4*	69.4	-6.6	-14.8	-11.7	-25.5**
Adrenals, % of body weight	0.0101	+6.9	-3.0	+19.8*	+4.0	0.0230	-6.1	-12.2	-0.4	-17.0
Heart, absolute (mg)	1414	-2.6	+2.1	-10.8	-22.3**	941	+0.1	-4.5	-2.7	-12.4
Heart, % of body weight	0.264	-0.4	+6.1	+13.3	+0.8	0.311	+0.6	-1.9	+10.0	-1.9
Kidneys, absolute (mg)	2914	-0.9	-3.6	-16.4*	-23.0**	1994	-4.9	-3.6	-1.1	-12.7
Kidneys, % of body weight	0.542	+1.8	-0.2	+6.5	0.0	0.657	-3.8	-0.8	+12.0	-2.1
Liver, absolute (mg)	15392	-2.2	-4.8	-30.2**	-34.3**	9317	-7.1	-8.3	-11.3	-20.2**
Liver, % of body weight	2.84	+1.1	-0.7	-10.2	-14.1*	3.07	-6.2	-5.5	+0.7	-10.4

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Gross Pathology										
Early deaths										
Number examined	0	1	0	3	3	0	0	1	4	2
Jaw	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Upper jaw, broken		-		-	-			-	1	-
- Mandible, short, misshapen		-		-	1			-	-	-
Skin	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Lip, thickened area		-		-	-			-	1	-
- Subcutis, mass, right arm		-		1	-			-	-	-
Hindleg	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Nodule		-		1	-			-	-	-
Vertebrae	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Thoracic, nodules		-		-	-			-	1	-
- Lumbar, masses		-		-	1			-	-	-
Scapula	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Masses		-		-	1			-	-	-
Scheduled necropsy										
Number examined	8	7	8	5	5	8	8	7	4	6
- Notable findings	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology										
Early deaths										
Number examined	0	1	0	3	3	0	0	1	4	2

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Histopathology (continued)										
Early deaths (continued)										
Lung	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Osteosarcoma		-		-	1			-	-	-
Liver	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Karyomegaly		-		1	1			1	3	2
- Grade 1, minimal				1	1			1	1	1
- Grade 2, slight				-	-			-	2	1
Kidneys	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Karyomegaly		-		-	1			-	-	-
Adrenal Glands	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Adenoma, cortex		-		1	-			-	-	-
Spleen	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Increased extramedullary hematopoiesis		-		2	3			1	3	1
- Grade 1, minimal				1	-			-	-	1
- Grade 2, slight				1	2			1	3	-
- Grade 3, moderate				-	-			-	-	-
- Grade 4, marked				-	1			-	-	-
Uterus	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.			
- Polyp, endometrial stroma								-	-	2
Epididymides	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
- Mononuclear cell leukemia, bilateral		1		-	-					

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Histopathology (continued)										
Early deaths (continued)										
Muscle, skeletal	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Osteosarcoma		-		1	-			-	-	-
Vertebrae	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Osteosarcoma		-		-	1			-	2	-
Bones	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Osteosarcoma, front leg		-		1	-			-	-	-
- Osteosarcoma, scapula		-		-	1			-	-	-
Bone, Femur	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Bone marrow, decreased cellularity		-		3	2			-	3	1
- Depletion osteocytes/ osteoblasts		-		3	2			-	4	1
- Hyperostosis		-		2	2			-	3	1
- Physis, abnormal/disorganized		-		2	2			-	2	1
Sternum	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Bone marrow, decreased cellularity		-		3	3			-	3	1
- Depletion osteocytes/ osteoblasts		-		2	2			-	1	2
- Fibro-osseous lesion		-		-	1			-	-	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Histopathology (continued)										
Early deaths (continued)										
Systemic tumors	n.a.		n.a.			n.a.	n.a.			
- Large Granular Lymphocyte Lymphoma [h]		1		-	-			-	-	-
- Lymphoma [i]		-		-	-			-	-	1
Scheduled termination										
Number examined	8	7	8	5	5	8	8	7	4	6
Brain										
- Astrocytoma	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Teeth										
- Bone socket, fibro-osseous lesion	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
Liver										
- Karyomegaly	-	-	-	-	-	6	4	6	3	5
- Grade 1, minimal						6	2	4	3	3
- Grade 2, slight						-	2	2	-	1
- Grade 3, moderate						-	-	-	-	1
- Bile duct hyperplasia	-	-	1	1	1	1	2	1	1	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Histopathology (continued)										
Scheduled termination (continued)										
Kidneys										
- Karyomegaly	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-
Thyroid Gland										
- Adenoma, C-cell	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
- Adenocarcinoma	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
Spleen										
- Increased extramedullary hematopoiesis	3	6	5	4	5	3	4	4	3	6
- Grade 1, minimal	3	6	3	3	-	2	3	2	3	-
- Grade 2, slight	-	-	2	1	-	1	1	2	-	2
- Grade 3, moderate	-	-	-	-	5	-	-	-	-	4
Uterus	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.					
- Polyp, endometrial stroma						-	-	-	1	3
Vagina	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.					
- Polyp						-	-	-	-	1
Bones										
- Osteosarcoma, tibia	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F
Histopathology (continued)										
Scheduled termination (continued)										
Bone, Femur										
- Bone marrow, decreased cellularity	6	6	8	5	5	1	1	4	3	4
- Depletion osteocytes/ osteoblasts	-	-	-	5	5	-	-	-	4	6
- Hyperostosis	-	-	-	4	5	1	-	-	3	6
- Physis, abnormal/ disorganized	-	-	1	2	5	-	-	-	2	6
Sternum										
- Bone marrow, decreased cellularity	1	1	7	5	5	3	3	2	2	6
- Depletion osteocytes/ osteoblasts	-	5	2	2	5	-	-	-	1	6
- Fibro-osseous lesion	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
Injection Site										
- Carcinoma, squamous cell	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Single-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	22	88	359	1436	0 Control	22	88	359	1436
Gender	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F

F = Female, M =Male

- = No noteworthy finding n.e. = Not examined n.a. = Not applicable

< = For urinalysis, limit of detection value used for calculation of mean, 10 mmol/L for Sodium and Chloride

Statistical analysis: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Analysis of variance followed by Dunnett's test, Student's t-test or Kruskal-Wallis's test. Ranked type of urine analysis data was analyzed with Wilcoxon Rank-Sum test.)

Note: Histopathology findings in CTD table based on pathology report within final study report (Appendix I).

a. Animals died/sacrificed moribund on the following days: 22 kBq/kg group: one male on Day 281; 88 kBq/kg group: one female on Day 101; 359 kBq/kg group: 3 males on Days 234, 323 and 354, 4 females on Days 300, 330, 338 and 351; 1436 kBq/kg group: 3 males on Days 15, 212 and 247, 2 females on Days 275 and 288.

b. Prior to death/early sacrifice, large weight loss, piloerection, subdued, forced respiration, vocalizing, swelling (on front/hind legs or maxilla), cannot use leg, paralysis of hindlegs, abnormal very impaired gait on hindlegs, bone mass on shoulder, abnormal stereotype behavior or head tilted to the left were observed in 359 or 1436 kBq/kg groups. One animal in 22 kBq/kg group was very pale (eyes almost white) and died after blood sampling.

c. Treatment-related dead or sacrificed animals were observed more than 6 month after start of treatment.

d. One male in 1436 kBq/kg group (animal number 72) and one female in 88 kBq/kg group (animal number 43) died related to blood sampling.

e. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

f. Animals with broken teeth and related weight loss in 1436 kBq/kg group were offered diet softened with water in the last 6-9 months of the study.

g. Teeth worn down were observed approximately 6 month after start of treatment.

h. Large Granular Lymphocyte (LGL) Lymphoma included findings in multiple organs for a single animal in 22 kBq/kg group (animal number 23, male, found dead on Day 281).

i. Lymphoma included findings in multiple organs for a single animal in 1436 kBq/kg group (animal number 75, female, terminated moribund on Day 288).

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Number of Animals	8	8	8	8	8	8	8	8
Noteworthy Findings								
Died/Sacrificed Moribund[a, b, c]	1	1	5	6[d]	0	1	5	6
Body Weight (%[e], g)								
Week 26 (Day 183)	492.3	-5	-26**	-33**	295.4	-5	-16**	-22**
Week 64 (Day 448/449)	567.7	-5	-25**	-33	346.1	-6	-20	-27
Food Consumption (%[e], g/animal/week)[f]								
Week 26	171.5	-6	-42**	-47**	123.8	-9	-26**	-37**
Week 64	144.9	-3	-26	-17	85.9	-12	+14	+18
Clinical Observations (Animals with finding, M + F)								
	M + F	M + F	M + F	M + F				
Test item-related clinical signs during first 1 month of study	-	-	-	-				
Red secretion around nostrils	1	3	6	2				
Red secretion around eyes	6	2	12	13				
Piloerection	3	3	12	14				
Nodules/ swellings	0	1	9	5				
Abnormal head position	0	0	1	0				
Limping, hind- or forelegs	0	0	4	10				
Slower/absent reflexes, hind- or forelegs	0	1	1	3				

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Clinical Observations (Animals with finding, M + F) (continued)								
	M + F	M + F	M + F	M + F				
Paralytic hind-legs, partial or total	0	1	2	3				
Noisy respiration	3	1	2	8				
Forced respiration	0	0	1	3				
Passive/less active	0	2	4	5				
Flaccid/apathetic	0	1	2	1				
Pale	1	1	1	1				
Bleeding from genital opening	0	0	2	0				
Teeth worn down (short teeth, almost no teeth left etc)[g]	0	0	16	15				
Convulsions	0	0	0	1				
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Day 15 (2 weeks after 1 dose)								
Hemoglobin (mmol/L)	9.93	9.61	9.10*	8.88**	9.23	9.18	8.08**	8.03**
Red blood cell count (10^{12}/L)	8.95	8.68	7.75**	7.70**	8.07	8.16	6.86**	6.92**
Hematocrit (mL/100 mL)	49.6	48.3	45.5*	44.8**	45.8	45.6	40.0**	39.9**
Mean cell volume (fL)	55.8	55.8	59.0**	58.0*	56.6	55.8	58.3	57.5
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.13	1.11	1.18	1.15	1.14	1.14	1.16	1.16
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	20.0	19.9	20.0	19.9	20.1	20.1	20.3	20.2

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Hematology (continued)								
Day 15 (2 weeks after 1 dose) (continued)								
White blood cell count (10^9/L)	10.39	9.21	4.36**	4.81**	10.09	8.48	5.43**	4.70**
Neutrophils (10^9/L)	0.90	0.65	0.25**	0.21**	0.63	0.55	0.18**	0.16**
Neutrophils (%)	9.1	7.1	5.8*	4.6**	6.4	6.5	3.4**	3.1**
Lymphocytes (10^9/L)	9.43	8.50	4.11**	4.56**	9.35	7.88	5.23**	4.54**
Lymphocytes (%)	90.0	92.4	93.8*	94.9**	92.8	92.9	96.4**	96.4**
Eosinophils (10^9/L)	0.08	00.0**	0.01**	0.01**	0.10	0.03**	0.00**	0.00**
Eosinophils (%)	0.8	0.3	0.4	0.1	1.0	0.5*	0.1**	0.3**
Platelets (10^9/L)	510	480	257**	192**	524	523	280**	226**
Week 27 (15 weeks after last dose)								
Hemoglobin (mmol/L)	10.61	10.49	10.63	9.90	9.95	9.69	9.31	8.79**
Red blood cell count (10^{12}/L)	9.04	9.41	8.55	8.02	8.46	8.30	7.15**	6.96**
Hematocrit (mL/100 mL)	46.5	49.6	49.4	46.4	46.5	45.5	43.4	41.1**
Mean cell volume (fL)	51.5	52.5	57.6**	57.8**	54.9	54.9	60.6**	59.0**
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.38	1.13	1.25	1.24	1.18	1.18	1.33**	1.25*
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	26.5	21.2	21.6	21.4	21.4	21.3	21.6	21.4
White blood cell count (10^9/L)	7.50	6.29	4.50**	4.01**	6.40	4.80**	3.40**	4.44**
Neutrophils (10^9/L)	1.65	0.78*	0.78*	0.53**	0.70	0.53	0.39**	0.50*
Neutrophils (%)	22.5	12.5	16.6	12.5	10.9	11.1	11.8	11.4
Lymphocytes (10^9/L)	5.74	5.44	3.70*	3.50*	5.65	4.24**	2.95**	3.90**
Lymphocytes (%)	75.9	86.1	82.0	86.9	88.3	87.6	86.5	87.9
Eosinophils (10^9/L)	0.13	0.11	0.05*	0.00**	0.06	0.03	0.05	0.01

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Hematology (continued)								
Week 27 (15 weeks after last dose) (continued)								
Eosinophils (%)	1.5	1.3	1.0	0.4**	1.1	0.8	1.5	1.6
Platelets (10^9/L)	448	520	393	436	496	517	399**	432
Week 52 (40 weeks after last dose)								
Hemoglobin (mmol/L)	10.01	9.97	9.70	9.10	9.46	9.40	9.38	9.52
Red blood cell count (10^{12}/L)	9.34	9.14	8.15**	7.60**	8.21	8.26	7.40**	7.64
Hematocrit (mL/100 mL)	48.8	48.6	47.0	44.0*	46.0	46.1	45.2	46.4
Mean cell volume (fL)	52.3	53.3	57.7**	58.0**	56.1	55.6	61.5**	60.4**
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.08	1.09	1.19**	1.20**	1.18	1.14	1.28**	1.28**
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	20.5	20.5	20.6	20.7	20.5	20.5	20.7	20.6
White blood cell count (10^9/L)	5.84	6.26	4.81	4.23	4.68	3.74	3.60	5.38
Neutrophils (10^9/L)	1.44	1.13	1.27	0.80	0.64	0.79	0.60	0.90
Neutrophils (%)	26.8	18.4	27.6	19.0	14.0	21.6	16.0	16.6
Lymphocytes (10^9/L)	4.34	5.06	3.47	3.43	3.98	2.90	2.98	4.46
Lymphocytes (%)	72.1	80.3	71.1	80.7	84.4	77.6	82.8	83.0
Eosinophils (10^9/L)	0.08	0.07	0.04	0.00	0.04	0.00	0.03	0.00
Eosinophils (%)	1.0	0.9	1.3	0.3	1.1	0.6	1.0	0.0
Platelets (10^9/L)	487	494	507	555	541	498	458*	375**
Week 64 (end of study)								
Hemoglobin (mmol/L)	9.84	9.81	9.80	9.00	9.64	9.59	9.60	9.40
Red blood cell count (10^{12}/L)	9.17	8.97	8.20	7.77	8.34	8.33	7.56	7.36
Hematocrit (mL/100 mL)	48.0	48.1	47.0	44.0	47.1	46.7	46.3	45.5

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Hematology (continued)								
Week 64 (end of study) (continued)								
Mean cell volume (fL)	52.4	53.7	57.7**	56.5	56.4	56.1	61.0**	61.5
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.07	1.09	1.17*	1.20	1.16	1.17	1.30**	1.30
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	20.5	20.4	20.8	20.4	20.5	20.5	20.7	20.7
White blood cell count (10^9/L)	5.43	5.51	5.83	3.50	4.99	4.00	4.37	6.30
Neutrophils (10^9/L)	1.14	1.06	2.33	0.90	0.90	0.74	1.13	2.75
Neutrophils (%)	21.9	19.6	34.7	25.0	17.4	17.9	25.0	38.0
Lymphocytes (10^9/L)	4.23	4.40	3.50	2.60	4.05	3.19	3.20	3.50
Lymphocytes (%)	77.0	79.4	65.3	74.5	82.0	81.0	73.7	60.5
Eosinophils (10^9/L)	0.06	0.06	0.00	0.00	0.01	0.04	0.07	0.05
Eosinophils (%)	1.0	1.0	0.0	0.0	0.5	1.0	1.0	1.0
Platelets (10^9/L)	503	562	489	620	525	539	504	437
Serum Chemistry								
Day 15 (2 weeks after 1 dose)								
Alanine aminotransferase (µkat/L)	0.81	0.77	0.85	0.85	0.79	0.63*	0.80	0.73
Aspartate aminotransferase (µkat/L)	1.47	1.53	1.52	1.47	1.41	1.31	1.43	1.38
Alkaline phosphatase (µkat/L)	2.62	3.28*	2.42	2.45	1.52	1.78	1.42	1.19
Cholesterol (mmol/L)	1.46	1.56	1.75	1.74	1.38	1.30	1.38	1.34
Triglycerides (mmol/L)	2.14	1.52	1.43*	1.98	1.12	1.51	0.95	1.29
Carbamide (Urea) (mmol/L)	7.02	7.57	7.24	7.22	8.31	8.04	9.18	8.93
Creatinine (µmol/L)	23.1	23.3	22.5	22.4	24.9	23.3	25.3	24.6
Sodium (mmol/L)	155.3	156.2	157.9	158.9	153.0	151.6	154.8	155.9

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Serum Chemistry (continued)								
Day 15 (2 weeks after 1 dose) (continued)								
Potassium (mmol/L)	7.13	6.96	6.54	6.78	6.81	6.64	6.45	6.51
Calcium (mmol/L)	2.96	2.81	2.86	2.83	3.07	3.01	3.05	3.00
Magnesium (mmol/L)	1.21	1.23	1.19	1.14	1.27	1.21	1.20	1.16*
Inorganic phosphorus (mmol/L)	3.09	2.93	3.33	3.12	2.73	2.45	2.58	3.01
Chloride (mmol/L)	105.8	108.1	109.0*	109.6**	105.5	104.7	107.3	107.1
Protein (total) (g/L)	69.1	69.3	70.6	69.1	71.0	71.7	73.1	73.8
Albumin (g/L)	46.0	45.1	45.3	44.3	49.8	49.3	49.5	49.6
Globulin (g/L)	23.1	24.2	25.3**	24.9*	21.3	22.4	23.6*	24.1**
Albumin/Globulin ratio	1.99	1.87	1.79**	1.78**	2.34	2.21	2.11*	2.07**
Week 27 (15 weeks after last dose)								
Alanine aminotransferase (µkat/L)	1.17	1.18	3.95	1.01	1.00	0.92	1.84	2.63*
Aspartate aminotransferase (µkat/L)	1.56	1.47	3.99	1.49	1.28	1.21	2.22*	3.47**
Alkaline phosphatase (µkat/L)	1.32	1.56	1.40	1.23	0.70	0.75	0.56	0.63
Cholesterol (mmol/L)	2.03	1.98	2.40	1.96	1.84	1.83	1.79	1.53
Triglycerides (mmol/L)	2.19	1.74	1.18**	1.24**	1.29	1.95	1.34	1.23
Carbamide (Urea) (mmol/L)	5.99	5.63	9.12**	9.28**	5.92	5.55	8.68**	8.73**
Creatinine (µmol/L)	28.6	28.9	33.9**	43.5**	27.8	27.0	32.0	41.6**
Sodium (mmol/L)	153.3	150.5*	151.6*	150.3*	146.1	143.7*	144.7	145.9
Potassium (mmol/L)	6.73	6.10	6.41	5.86**	6.14	6.01	5.79	5.80
Calcium (mmol/L)	2.89	2.91	2.90	2.96	2.88	2.83	2.96	3.09**
Magnesium (mmol/L)	1.13	1.25	1.19	1.29	1.16	1.13	1.18	1.28*
Inorganic phosphorus (mmol/L)	2.34	2.47	2.48	3.20*	2.13	2.08	2.30	2.77**

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Serum Chemistry (continued)								
Week 27 (15 weeks after last dose) (continued)								
Chloride (mmol/L)	103.5	104.7	102.9	102.3	102.1	100.6	100.7	100.0
Protein (total) (g/L)	71.6	66.9*	67.8	63.2**	71.3	72.0	71.0	66.9
Albumin (g/L)	44.9	41.8*	42.1	40.1**	50.0	50.0	49.0	45.6**
Globulin (g/L)	26.8	25.2	25.7	23.1**	21.3	22.0	22.0	21.2
Albumin/Globulin ratio	1.68	1.68	1.64	1.75	2.36	2.28	2.23	2.17
Week 64 (end of study)								
Alanine aminotransferase (µkat/L)	1.28	1.36	2.45*	1.69	1.13	1.09	1.47	1.40
Aspartate aminotransferase (µkat/L)	1.43	1.52	2.79**	2.36	1.49	1.40	1.81	1.48
Alkaline phosphatase (µkat/L)	1.33	1.62	1.75	1.04	0.62	0.83	0.47	0.95
Cholesterol (mmol/L)	2.39	2.40	2.77	3.70	2.28	1.89	1.97	2.15
Triglycerides (mmol/L)	2.26	2.02	1.20*	1.37	1.88	3.13	1.07	1.63
Carbamide (Urea) (mmol/L)	6.02	5.68	5.71	6.56	6.49	6.39	5.98	5.92
Creatinine (µmol/L)	30.3	31.3	35.3*	44.0	30.4	28.4	34.3	38.5
Sodium (mmol/L)	147.1	146.5	147.4	146.4	144.5	143.6	143.0	145.7
Potassium (mmol/L)	6.16	5.98	5.82	5.11	5.88	6.07	5.49	5.52
Calcium (mmol/L)	2.85	2.92	2.93	2.90	2.86	2.86	2.98	2.98
Magnesium (mmol/L)	1.07	1.07	1.05	1.28	1.22	1.16	1.16	1.21
Inorganic phosphorus (mmol/L)	1.99	2.04	2.24	2.68	1.99	2.06	2.46*	2.69
Chloride (mmol/L)	100.9	101.1	98.0**	100.3	99.2	98.4	96.7*	96.3
Protein (total) (g/L)	69.7	70.4	72.5	65.3	73.4	72.7	77.5	72.8
Albumin (g/L)	45.6	44.7	46.0	39.5	51.6	50.3	54.0	44.0
Globulin (g/L)	24.2	25.7	26.5	25.8	21.8	22.4	23.5	28.8

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Serum Chemistry (continued)								
Week 64 (end of study) (continued)								
Albumin/Globulin ratio	1.90	1.75	1.74	1.53	2.37	2.25	2.30	1.55
Urinalysis								
Day 15 (2 weeks after 1 dose)								
Notable findings	-	-	-	-	-	-	-	-
Week 27 (15 weeks after last dose)								
Creatinine (µmol/L)	5043	5128	2824	7511	3798	6248	5198	6224
Gamma-glutamyl transferase (µkat/mmol creatinine)	2.36	1.82	1.30	0.96	1.66	1.56	0.96	1.49
Sodium (mmol/L)	33.2	40.7	36.0	36.6	25.0	48.7**	34.3	<24.6
Potassium (mmol/L)	89.7	91.1	53.1*	101.7	57.3	107.8**	93.2**	101.0*
Calcium (mmol/L)	1.55	1.84	1.47	6.78	4.26	7.16	5.15	10.22*
Phosphate (mmol/L)	17.6	12.6	6.7**	10.5	13.2	27.8**	15.6	27.1
Chloride (mmol/L)	52.1	60.4	41.5	57.8	33.1	60.4**	44.9	33.3
Week 64 (end of study)								
Creatinine (µmol/L)	6746	9562	2473	931	4141	4963	1090**	3305
Gamma-glutamyl transferase (µkat/mmol creatinine)	1.09	1.16	3.66	3.52	1.18	0.94	7.25	0.84
Sodium (mmol/L)	<28.2	<22.5	<26.6	18.5	<20.5	<29.5	<17.7	<12.0
Potassium (mmol/L)	93.3	106.4	66.5	74.0	53.4	77.7	96.8	69.4
Calcium (mmol/L)	2.07	3.01	3.13	2.08	3.10	5.53	4.16	5.04
Phosphate (mmol/L)	7.0	14.4	13.0	7.1	9.1	17.5	27.9	8.7
Chloride (mmol/L)	<39.4	44.9	<36.0	31.5	30.8	46.1	34.5	30.5

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Organ Weights (%[e])								
Number evaluated	7	7	3	2	8	7	3	2
Adrenals, absolute (mg)	52.0	-8.8	+14.8	+4.8	66.8	+2.7	-16.2	+0.3
Adrenals, % of body weight	0.0092	-3.3	+55.43*	+59.78	0.0198	+7.1	+3.5	+33.3
Heart, absolute (mg)	1350	-4.2	-14.2	-31.3	954	-4.5	-6.2	-25.8
Heart, % of body weight	0.239	+0.4	+14.6	+2.1	0.279	+0.4	+18.3	+1.4
Kidneys, absolute (mg)	2923	-4.5	-22.9**	-27.7	2092	-2.9	-15.3	-18.4
Kidneys, % of body weight	0.518	0.0	+2.5	+8.1	0.613	+2.1	+5.1	+10.4
Liver, absolute (mg)	15049	-2.9	-32.0**	-40.1	9470	+0.2	-28.3**	-18.0
Liver, % of body weight	2.65	+2.3	-9.4	-9.8	2.76	+5.1	-11.2	+12.0
Gross Pathology								
Early deaths								
Number examined	1	1	5	6	0	1	5	6
Jaw					n.a.			
- Mandible, hard swelling	-	-	1	-		-	-	-
- Lower jaw, mass /nodule	-	-	3	-		-	1	-
- Lower jaw, broken	-	-	-	-		-	1	-
Skin					n.a.			
- Subcutis, nodule, mandible/head	-	-	1	-		-	-	-
Muscle					n.a.			
- Mass, shoulder	-	-	-	-		-	1	-
Uterus	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.			
- Polyp						-	1	-
- Left horn thickened						-	-	1

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Gross Pathology (continued)								
Scheduled necropsy								
Number examined	7	7	3	2	8	7	3	2
Head								
- Nodule	-	-	-	-	-	-	-	1
Teeth								
- broken	-	-	1	-	-	-	-	-
Skin								
- Lip, thickened area	-	-	1	-	-	-	-	-
Uterus	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.				
- Left horn thickened					-	-	1	-
Histopathology								
Early deaths								
Number examined	1	1	5	6	0	1	5	6
Teeth					n.a.			
- Bone socket, fibro-osseous lesion	-	-	-	-		-	1	1
- Bone socket, osteosarcoma	-	-	4	-		-	1	-
- Sarcoma, NOS	-	-	-	-		-	1	-
Stomach, glandular					n.a.			
- Adenoma, exophytic	-	-	-	-		-	1	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Histopathology (continued)								
Early deaths (continued)								
Lung					n.a.			
- Osteosarcoma	-	-	1	-		-	-	-
- Sarcoma, NOS	-	-	-	-		-	1	-
- Adenoma, bronchiolo-alveolar	-	-	1	1		-	-	-
Liver					n.a.			
- Karyomegaly	-	-	1	1		1	5	6
- Grade 1, minimal			1	-		1	2	2
- Grade 2, slight			-	1		-	3	2
- Grade 3, moderate			-	-		-	-	2
- Bile duct hyperplasia	-	-	-	1		-	3	2
Kidneys					n.a.			
- Karyomegaly	-	-	5	6		-	3	6
Pituitary Gland					n.a.			
- Adenoma	1	-	-	-		-	1	-
- Pituicytoma [h]	-	-	-	-		-	-	1
Thyroid Gland					n.a.			
- Adenoma, C-cell	-	-	1	-		-	-	-
- Adenoma, follicular cell	-	-	1	-		-	-	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Histopathology (continued)								
Early deaths (continued)								
Spleen					n.a.			
- Increased extramedullary hematopoiesis	-	1	5	6		-	3	6
- Grade 1, minimal	-	-	-	-		-	-	1
- Grade 2, slight	-	1	3	-		-	-	-
- Grade 3, moderate	-	-	-	5		-	3	5
- Grade 4, marked	-	-	2	1		-	-	-
Mammary Gland					n.a.			
- Fibroadenoma	-	-	-	-		-	1	-
Uterus	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.			
- Polyp, endometrial stroma						-	5	2
Muscle, skeletal					n.a.			
- Osteosarcoma	-	-	-	-		-	1	-
Bones					n.a.			
- Osteosarcoma, mandible	-	-	4	-		-	1	-
- Osteosarcoma, front leg	-	-	1	-		-	-	-
Bone, Femur					n.a.			
- Bone marrow, decreased cellularity	1	1	4	5		-	5	2
- Depletion osteocytes/ osteoblasts	-	-	5	6		-	5	6
- Hyperostosis	-	-	5	6		-	5	6
- Physis, abnormal/disorganized	-	-	5	6		-	5	6

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Histopathology (continued)								
Early deaths (continued)								
Sternum					n.a.			
- Bone marrow, decreased cellularity	1	1	3	5		-	5	6
- Depletion osteocytes/ osteoblasts	-	-	5	6		-	5	6
- Fibro-osseous lesion	-	-	1	3		-	-	4
Head					n.a.			
- Rhabdomyosarcoma	-	-	-	-		-	-	1
Systemic tumors					n.a.			
- Large Granular Lymphocyte Lymphoma [i]	-	-	-	-		1	-	-
Scheduled termination								
Number examined	7	7	3	2	8	7	3	2
Teeth								
- Bone socket, fibro-osseous lesion	-	-	-	2	-	-	1	-
- Bone socket, osteosarcoma	-	-	-	-	-	-	-	1
Lung								
- Adenoma, bronchiolo-alveolar	-	-	-	1	-	-	-	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Histopathology (continued)								
Scheduled termination (continued)								
Liver								
- Karyomegaly	-	-	2	-	5	5	3	2
- Grade 1, minimal			1		4	3	1	-
- Grade 2, slight			1		1	2	2	1
- Grade 3, moderate			-		-	-	-	1
- Bile duct hyperplasia	1	-	1	1	5	2	2	1
Kidneys								
- Karyomegaly	-	-	2	2	-	-	1	2
- Renal Liposarcoma	-	-	-	1	-	-	-	-
- Renal Lipoma	-	-	1	-	-	-	-	-
Pituitary Gland								
- Adenoma	-	-	-	-	-	1	-	-
Thyroid Gland								
- Adenoma, C-cell	-	-	-	1	-	-	-	-
- Adenoma, follicular cell	1	1	1	2	1	-	-	-
Spleen								
- Increased extramedullary hematopoiesis	5	6	3	2	4	5	3	2
- Grade 1, minimal	3	4	1	-	3	2	-	-
- Grade 2, slight	2	2	2	1	1	3	2	-
- Grade 3, moderate	-	-	-	1	-	-	1	2
Mesenteric Lymph Node								
- Hemangiosarcoma	1	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Histopathology (continued)								
Scheduled termination (continued)								
Uterus	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.				
- Polyp, endometrial stroma					-	-	1	2
Testes					n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
- Adenoma, Leydig Cell	1	-	-	-				
Bones								
- Osteosarcoma, head	-	-	1	-	-	-	-	-
Bone, Femur								
- Bone marrow, decreased cellularity	5	7	3	2	2	2	1	2
- Depletion osteocytes/ osteoblasts	-	-	3	2	-	-	3	2
- Hyperostosis	-	-	3	2	-	-	3	2
- Physis, abnormal/disorganized	-	1	3	2	-	2	3	2
Sternum								
- Bone marrow, decreased cellularity	3	6	3	1	3	3	1	2
- Depletion osteocytes/ osteoblasts	-	-	3	2	-	-	3	2
- Fibro-osseous lesion	-	-	-	1	-	-	-	1

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットの単回及び反復静脈内投与毒性試験（単回投与あるいは 4 回投与後 12 ヵ月間の観察期間あり）（続き）

Single- and Repeat-Dose Toxicity in Rats (Repeat-Dose portion) Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8662, R-8662A, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718	0 Control	4 x 22	4 x 359	4 x 718
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F

F = Female, M =Male
- = No noteworthy finding n.e. = Not examined n.a. = Not applicable NOS = Not otherwise specified
< = For urinalysis, limit of detection value used for calculation of mean, 10 mmol/L for Sodium and Chloride
Statistical analysis: * p < 0.05, ** p < 0.01 (Analysis of variance followed by Dunnett's test, Student's t-test or Kruskal-Wallis's test. Ranked type of urine analysis data was analyzed with Wilcoxon Rank-Sum test.)
Note: Histopathology findings in CTD table based on pathology report within final study report (Appendix I).

a. Animals died/sacrificed moribund on the following days: 0 kBq/kg group: one male on Day 366; 4 x 22 kBq/kg group: one male on Day 343, one female on Day 342; 4 x 359 kBq/kg group: 5 males on Days 320, 369, 385, 392 and 411, 5 females on Days 329, 348, 400, 421 and 446; 4 x 718 kBq/kg group: 6 males on Days 190, 251, 274, 317, 317 and 435, 6 females on Days 323, 335, 335, 366, 391 and 410.
b. Prior to death/early sacrifice, swelling (lower jaw, mandibular region, mouth, shoulder, abdomen or nose), weight loss, paralytic legs, convulsions, abnormal very impaired gait on hind legs, respiratory problems, piloerection or limited use of hind legs were observed in 4 x 359 or 4 x 718 kBq/kg groups. Two animals in 4 x 22 kBq/kg group showed paralysis of hind legs or piloerection, pale or weight loss prior to early sacrifice.
c. Treatment-related dead or sacrificed animals were observed more than 6 month after start of treatment..
d. One male in 4 x 718 kBq/kg group (animal number 129) died related to blood sampling.
e. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
f. Animals with broken teeth and related weight loss in 4 x 359 & 4 x 718 kBq/kg groups were offered diet softened with water in the last 6-9 months of the study.
g. Teeth worn down were observed approximately 6 month after start of treatment.
h. Pituicytoma is a tumor of the neurohypophysis.
i. Large Granular Lymphocyte (LGL) Lymphoma included findings in multiple organs for a single animal in 4 x 22 kBq/kg group (animal number 106, female, terminated moribund on Day 342).

2.6.7.7 反復投与毒性試験： 重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験

Report Title:	Alpharadin (Radium-223) - 12-Month Repeat Dose Toxicity Study in Rats
Report No.:	R-8663, STATEMENT
Location in CTD:	4.2.3.2.2
Test Article:	BAY 88-8223 / Radium-223 chloride
Species/Strain:	Rat/ SPF Wistar, HanTac:WH (GALAS)
Study No.:	[redacted] Study No. 67071
Initial age:	8 to 9 weeks
GLP compliance:	Yes
Duration of Dosing:	Approximately 11 months (one dose every 4 weeks, 12 doses)
Date of 1st dose:	[redacted]
Duration of Postdose:	1 month after last injection
Method of Administration:	Intravenous
Vehicle/Formulation:	Sodium citrate buffer (pH 6.0 to 8.0)
Special features:	No separate recovery group; 1 month treatment-free period after last injection before scheduled necropsy. Histopathological evaluations of low- and mid-dose animals were only performed 1) for early death animals (decendents) and 2) for animals with gross necropsy findings at scheduled termination. Toxicokinetics was not performed.
NOAEL	Not established (less than 28 kBq/kg)

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 88-8223/ Radium-223 chloride			Report No.:	R-8663, STATEMENT		
Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Number of Animals	12	12	12	12	12	12	12	12
Noteworthy Findings								
Died/Sacrificed Moribund[a, b]	0	4	7	3	0	1	3	7

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 88-8223/ Radium-223 chloride			Report No.:	R-8663, STATEMENT		
Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Body Weight (%[c], g)								
Week 24 (Day 167/169)	451.3	-3	-8**	-13**	271.5	+1	-2	-7*
Week 48 (Day 336)	505.5	-7*	-14**	-17**	299.5	-0.5	-2	-13*
Food Consumption (%[c], g/animal/week)[d]								
Week 15	176.7	-4	-10*	-11*	120.6	1	3	-3
Week 24	195.7	-2	-10	-25**	102.8	-4	-2	-9
Week 29	169.4	-3	-11*	-32**	110.8	-3	-5	-7
Week 48	170.0	-8	-0.5	+3	114.8	-4	+29*	+23
Clinical Observations (animals with findings)								
Test item-related clinical signs during first 6 months of study	-	-	-	-	-	-	-	-
Red secretion around nostrils	0	1	4	1	0	0	1	1
Red secretion around eyes	0	0	0	1	0	0	1	0
Piloerection	0	1	2	3	0	1	1	2
Teeth abnormalities including missing, reduced and irregular growth[e]	0	0	9	12	0	1	12	12
Swelling	0	1	3	1	0	1	1	4
Mass, palpitated [f]	0	1	2	1	1	0	1	3
Subcutaneous, firm, movable	0	0	0	0	1	0	0	0
Subcutaneous, firm, not movable	0	0	0	1	0	0	0	1
Bone-associated, firm, not movable	0	1	0	0	0	0	1	2

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats | Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride | Report No.: R-8663, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Clinical Observations (animals with findings) (continued)								
Mass, palpitated [f] (continued)								
Limb, firm, not movable	0	0	1	0	0	0	0	0
Neck, firm, not movable	0	0	1	0	0	0	0	0
Abnormal head position	0	0	0	0	0	0	1	0
Abnormal movements (circling, un-coordination)	0	0	1	1	0	0	0	0
Limping, hind- or forelegs	0	3	3	2	0	0	2	5
Abnormal respiration (noises, forced, labored, rapid)	1	1	3	0	0	0	0	1
Passive/ less active/ subdued	0	0	1	3	0	0	1	1
Pale	0	0	1	0	0	0	1	0
Feces, loose and/or dry, anus	0	0	0	1	0	0	0	0
Abnormal vocalization	0	0	0	0	0	0	0	1
Hematology								
Day 167 (25 days after dose 6)								
Hemoglobin (mmol/L)	10.51	10.20	10.05	10.13	9.57	9.53	9.36	9.01**
Red blood cell count (10^{12}/L)	9.74	8.95**	8.43**	8.19**	8.58	8.25	7.83**	7.17**
Reticulocyte count (10^{12}/L)	0.19	0.18	0.21	0.21	0.16	0.18	0.24**	0.24**
Reticulocytes (%)	2.0	2.0	2.5*	2.6**	1.9	2.2	3.2**	3.3**
Hematocrit (mL/100 mL)	50.7	49.1	48.8	48.8	46.4	45.9	45.8	43.8**
Mean cell volume (fL)	52.2	54.8**	57.9**	59.6**	53.8	55.7*	58.4**	61.3**
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.08	1.14*	1.20**	1.26**	1.11	1.15	1.21**	1.27**

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8663, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Hematology (continued)								
Day 167 (25 days after dose 6) (continued)								
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	20.8	20.8	20.6	20.8	20.7	20.8	20.4	20.6
White blood cell count (10^9/L)	6.57	4.73**	4.16**	3.74**	5.86	4.89	4.48	3.80**
Neutrophils (10^9/L)	0.81	0.49**	0.52**	0.36**	0.88	0.42	0.40	0.31
Neutrophils (%)	12.5	10.8	11.8	9.8*	11.8	8.4	8.5	7.9
Lymphocytes (10^9/L)	5.62	4.12**	3.53**	3.30**	4.71	4.28	3.93	3.40**
Lymphocytes (%)	84.8	86.8	84.6	88.1*	83.6	87.7	88.0	89.4
Eosinophils (10^9/L)	0.08	0.04	0.03**	0.01**	0.10	0.08	0.03**	0.02**
Eosinophils (%)	1.0	0.7	0.9	0.8	1.8	1.3	1.1*	1.0**
Basophils (10^9/L)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
Basophils (%)	0.2	0.0	0.1	0.3	0.2	0.1	0.2	0.1
Monocytes (10^9/L)	0.10	0.09	0.10	0.04**	0.18	0.13	0.10*	0.07**
Monocytes (%)	1.3	1.8	2.3*	1.3	2.9	2.5	2.3	1.5**
Platelets (10^9/L)	620	625	599	588	718	684	634	604**
Day 195 (25 days after dose 7)								
Hemoglobin (mmol/L)	10.19	10.16	10.00	10.10	9.82	9.80	9.47*	9.24**
Red blood cell count (10^{12}/L)	9.47	8.92*	8.33**	8.30**	8.85	8.57	7.83**	7.38**
Reticulocyte count (10^{12}/L)	0.19	0.19	0.25**	0.24	0.17	0.20	0.24**	0.28**
Reticulocytes (%)	2.0	2.2	3.0**	2.8**	1.9	2.3	3.0**	3.8**
Hematocrit (mL/100 mL)	49.5	49.1	48.8	49.3	47.5	47.8	45.8	44.8**
Mean cell volume (fL)	52.3	55.1**	58.5**	59.2**	53.5	55.7*	58.4**	61.0**

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats | Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride | Report No.: R-8663, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Hematology (continued)								
Day 195 (25 days after dose 7) (continued)								
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.09	1.14	1.22**	1.23**	1.13	1.14	1.20**	1.25**
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	20.6	20.6	20.5	20.6	20.7	20.6	20.7	20.6
White blood cell count (10^9/L)	7.06	5.09**	4.58**	4.18**	5.61	5.20	4.39*	3.75**
Neutrophils (10^9/L)	0.89	0.53**	0.57**	0.40**	0.59	0.52	0.46	0.38*
Neutrophils (%)	12.7	10.3	12.0	9.4*	10.9	9.8	9.7	9.7
Lymphocytes (10^9/L)	5.89	4.33**	3.83**	3.64**	4.72	4.38	3.74*	3.24**
Lymphocytes (%)	83.4	85.3	83.6	87.0*	84.0	84.8	85.6	86.3
Eosinophils (10^9/L)	0.09	0.03**	0.03**	0.02**	0.10	0.07*	0.01**	0.01**
Eosinophils (%)	1.0	0.9	1.1	0.8	1.1	1.3	0.9	0.9
Basophils (10^9/L)	0.05	0.00**	0.01*	0.00**	0.03	0.01	0.00	0.00
Basophils (%)	0.6	0.5	0.8	0.8	0.4	0.4	0.6	0.4
Monocytes (10^9/L)	0.19	0.18	0.15	0.11**	0.20	0.19	0.18	0.11*
Monocytes (%)	2.5	3.3	3.1	2.6	3.6	3.8	3.5	2.9
Platelets (10^9/L)	653	636	611	599	744	713	644**	625**
Day 223 (25 days after dose 8)								
Hemoglobin (mmol/L)	10.29	10.33	9.92	9.73*	9.77	10.02	9.73	9.61
Red blood cell count (10^{12}/L)	9.52	8.54*	8.06**	7.67**	8.60	8.64	7.95	7.59**
Reticulocyte count (10^{12}/L)	0.20	0.21	0.27**	0.29**	0.25	0.21	0.23	0.28
Reticulocytes (%)	2.1	2.5	3.4**	3.8**	3.6	2.5	2.9	3.7
Hematocrit (mL/100 mL)	49.7	47.7	47.8	46.4	47.3	48.5	47.2	46.2

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats | Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride | Report No.: R-8663, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Hematology (continued)								
Day 223 (25 days after dose 8) (continued)								
Mean cell volume (fL)	52.3	55.6**	59.4**	60.5**	55.3	56.2	58.5*	60.8**
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.09	1.25	1.23	1.28	1.14	1.17	1.22**	1.26**
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	20.8	22.6	20.7	21.0	20.7	20.6	20.6	20.8
White blood cell count (10^9/L)	6.45	4.83**	4.31**	3.92**	5.72	4.61	4.12	4.30
Neutrophils (10^9/L)	0.93	0.63*	0.65	0.47**	0.46	0.47	0.38	0.64
Neutrophils (%)	14.8	13.1	14.6	12.8	8.3	10.1	9.3	14.8**
Lymphocytes (10^9/L)	5.46	4.16**	3.63**	3.43**	5.23	4.08	3.72	3.64
Lymphocytes (%)	84.4	85.9	85.0	86.7	91.0	88.8	89.9	84.8**
Eosinophils (10^9/L)	0.04	0.03	0.02	0.01	0.04	0.04	0.01	0.01
Eosinophils (%)	0.7	1.0	0.4	0.5	0.7	0.9	0.8	0.4
Basophils (10^9/L)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Basophils (%)	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Monocytes (10^9/L)	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Monocytes (%)	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0
Platelets (10^9/L)	648	634	604	603	754	693	609**	630**
Day 251 (25 days after dose 9)								
Hemoglobin (mmol/L)	8.83	8.61	7.97*	7.82**	9.79	9.83	9.68	9.38**
Red blood cell count (10^{12}/L)	8.32	7.51**	6.50**	6.38**	8.66	8.46	7.81**	7.52**
Reticulocyte count (10^{12}/L)	0.29	0.32	0.33*	0.32	0.20	0.21	0.26*	0.28**
Reticulocytes (%)	3.4	4.3**	5.2**	5.0**	2.4	2.5	3.3**	3.7**

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 88-8223/ Radium-223 chloride			Report No.:	R-8663, STATEMENT		
Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Hematology (continued)								
Day 251 (25 days after dose 9) (continued)								
Hematocrit (mL/100 mL)	44.0	42.8	39.9*	38.9**	47.8	47.8	47.3	46.0*
Mean cell volume (fL)	52.8	56.7**	61.7**	60.8**	55.5	56.5	60.4**	61.2**
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.07	1.14*	1.25**	1.24**	1.15	1.17	1.24**	1.26**
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	20.1	20.2	20.1	20.1	20.5	20.6	20.5	20.4
White blood cell count (10^9/L)	7.24	4.83**	3.33**	3.02**	4.84	4.60	4.05	3.54**
Neutrophils (10^9/L)	1.25	0.79**	0.53**	0.54**	0.63	0.51	0.52	0.45
Neutrophils (%)	17.0	16.7	15.7	17.4	13.0	10.8	11.9	12.8
Lymphocytes (10^9/L)	5.73	3.87**	2.68**	2.40**	4.02	3.90	3.43	2.99**
Lymphocytes (%)	79.1	79.6	80.6	79.6	82.8	84.9	84.8	84.2
Eosinophils (10^9/L)	0.14	0.03*	0.00**	0.01**	0.09	0.05	0.04	0.03
Eosinophils (%)	1.8	0.9	0.6	0.9	1.7	1.2	0.9*	1.1
Basophils (10^9/L)	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Basophils (%)	0.2	0.2	0.3	0.3	0.1	0.2	0.2	0.3
Monocytes (10^9/L)	0.18	0.13	0.11*	0.07**	0.12	0.13	0.10	0.08
Monocytes (%)	2.4	2.8	2.9	1.9	2.4	3.0	2.1	1.8
Platelets (10^9/L)	657	652	601	636	716	647	591**	618*
Day 279 (25 days after dose 10)								
Hemoglobin (mmol/L)	10.04	9.85	9.81	9.75	9.76	9.73	9.26**	8.80**
Red blood cell count (10^{12}/L)	9.35	8.41**	8.01**	8.01**	8.66	8.35	7.52**	6.98**
Reticulocyte count (10^{12}/L)	0.20	0.20	0.26**	0.25**	0.19	0.23	0.25**	0.28**

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8663, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Hematology (continued)								
Day 279 (25 days after dose 10) (continued)								
Reticulocytes (%)	2.2	2.3	3.3**	3.1**	2.3	2.8	3.4**	4.0**
Hematocrit (mL/100 mL)	49.3	48.3	48.4	48.0	48.0	47.5	45.8**	43.3**
Mean cell volume (fL)	52.9	57.5**	60.3**	60.1**	55.6	56.9	60.5**	61.9**
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.08	1.16**	1.24**	1.23**	1.14	1.17	1.25**	1.28**
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	20.4	20.4	20.3	20.3	20.4	20.5	20.4	20.3
White blood cell count (10^9/L)	6.08	3.95**	3.44**	2.66**	4.27	3.59	3.28*	3.08**
Neutrophils (10^9/L)	0.75	0.55*	0.46**	0.31**	0.53	0.40	0.48	0.44
Neutrophils (%)	12.3	13.4	13.1	11.5	12.1	10.7	13.8	14.9
Lymphocytes (10^9/L)	5.08	3.27**	2.88**	2.29**	3.62	3.08	2.70*	2.54**
Lymphocytes (%)	83.8	82.7	83.3	85.9	84.2	85.6	82.8	81.8
Eosinophils (10^9/L)	0.08	0.01**	0.00**	0.00**	0.06	0.03	0.03	0.02
Eosinophils (%)	1.3	0.9	0.7	1.0	1.4	1.0	1.4	1.0
Basophils (10^9/L)	0.03	0.07	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
Basophils (%)	0.4	1.1**	1.0**	0.9*	0.8	1.0	0.8	0.4
Monocytes (10^9/L)	0.14	0.10	0.11	0.03**	0.08	0.09	0.03*	0.09
Monocytes (%)	2.3	2.3	2.7	1.5	1.9	1.9	1.3	2.3
Platelets (10^9/L)	589	607	592	549	745	626**	580**	572**
Day 307 (25 days after dose 11)								
Hemoglobin (mmol/L)	10.13	9.62*	9.84	9.76	9.56	9.53	9.30	8.96**
Red blood cell count (10^{12}/L)	9.41	8.27**	7.96**	8.05**	8.55	8.14	7.50**	7.02**

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats | Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride | Report No.: R-8663, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Hematology (continued)								
Day 307 (25 days after dose 11) (continued)								
Reticulocyte count (10^{12}/L)	0.20	0.24	0.29**	0.25*	0.18	0.21	0.23**	0.27**
Reticulocytes (%)	2.2	3.0*	3.7**	3.2**	2.1	2.6*	3.1**	3.9**
Hematocrit (mL/100 mL)	49.9	47.4*	48.3	48.1	47.1	46.8	46.0	43.9**
Mean cell volume (fL)	52.9	57.6**	60.4**	59.7**	55.2	57.5*	61.4**	62.6**
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.08	1.17*	1.24**	1.22**	1.12	1.17*	1.24**	1.30**
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	20.4	20.3	20.4	20.3	20.3	20.4	20.2	20.4
White blood cell count (10^9/L)	6.13	4.61**	4.30**	3.08**	4.29	3.68	3.35*	3.27*
Neutrophils (10^9/L)	0.78	0.73	0.81	0.41**	0.45	0.40	0.55	0.49
Neutrophils (%)	12.8	15.5	18.6**	13.0	10.9	10.3	15.4**	14.7
Lymphocytes (10^9/L)	5.04	3.67**	3.29**	2.55**	3.59	3.09	2.66**	2.67**
Lymphocytes (%)	82.3	80.1	76.3*	82.7	83.2	84.0	80.1	81.6
Eosinophils (10^9/L)	0.08	0.06	0.01	0.01*	0.11	0.05*	0.03**	0.04
Eosinophils (%)	1.0	1.5	0.9	1.2	2.0	1.3	1.1	1.3
Basophils (10^9/L)	0.00	0.01	0.01	0.01	0.07	0.00**	0.01**	0.00**
Basophils (%)	0.1	0.7*	0.9*	1.1**	1.1	0.8	0.9	0.7
Monocytes (10^9/L)	0.23	0.11**	0.14*	0.08**	0.12	0.15	0.10	0.07
Monocytes (%)	3.7	2.4*	3.6	2.4*	2.9	3.8	2.8	2.0
Platelets (10^9/L)	651	640	617	564	694	644	604**	608*

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats | Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride | Report No.: R-8663, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Hematology (continued)								
Day 335 (25 days after dose 12)								
Hemoglobin (mmol/L)	9.88	9.31	9.50	9.41	9.76	9.84	9.09*	9.00*
Red blood cell count (10^{12}/L)	9.07	7.75**	7.54**	7.65**	8.52	8.26	7.13**	7.17**
Reticulocyte count (10^{12}/L)	0.19	0.19	0.20	0.24**	0.17	0.23**	0.26**	0.25**
Reticulocytes (%)	2.1	2.5	2.7	3.2**	2.0	2.7*	3.6**	3.6**
Hematocrit (mL/100 mL)	47.8	44.8	45.2	45.3	46.6	47.2	43.9	44.2
Mean cell volume (fL)	52.8	58.3**	60.6**	59.3**	54.7	56.9*	61.3**	61.4**
Mean cell hemoglobin (fmol)	1.09	1.24**	1.26**	1.24**	1.15	1.21*	1.29**	1.28**
Mean cell hemoglobin concentration (mmol/L)	20.7	20.9	20.9	20.7	21.0	20.9	20.8	20.5
White blood cell count (10^9/L)	5.39	4.11**	4.66	2.91**	3.85	3.56	2.88**	3.12
Neutrophils (10^9/L)	0.85	0.64	0.64	0.54*	0.62	0.55	0.49	0.50
Neutrophils (%)	15.7	15.3	16.6	18.7	16.5	15.0	16.1	16.0
Lymphocytes (10^9/L)	4.29	3.23**	3.80	2.27**	3.03	2.85	2.24*	2.50
Lymphocytes (%)	79.1	79.8	79.0	77.4	78.2	79.7	78.8	79.4
Eosinophils (10^9/L)	0.08	0.01**	0.04	0.01**	0.09	0.05	0.01	0.02
Eosinophils (%)	1.1	1.1	1.2	0.8	2.1	1.3	1.2	0.8
Basophils (10^9/L)	0.03	0.05	0.02	0.01	0.02	0.00	0.06	0.02
Basophils (%)	0.5	0.9	0.6	1.0	0.8	1.0	1.7**	1.4*
Monocytes (10^9/L)	0.19	0.16	0.12	0.09*	.010	0.11	0.08	0.06
Monocytes (%)	3.7	3.8	2.6	2.3	2.5	3.5	2.4	2.2
Platelets (10^9/L)	641	577	543	521**	693	612	573*	570

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 88-8223/ Radium-223 chloride			Report No.:	R-8663, STATEMENT		
Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Coagulation								
Day 167 (25 days after dose 6)								
Prothrombin time (sec.)	17.7	18.0	17.5	17.9	16.4	16.2	16.1	15.9
Day 195 (25 days after dose 7)								
Prothrombin time (sec.)	18.7	17.1**	17.4**	17.5**	17.1	15.6**	16.2**	15.9**
Day 223 (25 days after dose 8)								
Prothrombin time (sec.)	18.1	17.4*	17.5	16.5**	16.3	16.3	16.0	15.5*
Day 251 (25 days after dose 9)								
Prothrombin time (sec.)	17.0	16.9	17.1	16.8	15.7	15.7	16.1	16.1
Day 279 (25 days after dose 10)								
Prothrombin time (sec.)	17.3	17.0	17.0	17.0	17.1	16.1**	17.1	16.8
Day 307 (25 days after dose 11)								
Prothrombin time (sec.)	16.9	16.8	16.9	16.5	15.0	15.3	14.9	14.8
Day 335 (25 days after dose 12)								
Prothrombin time (sec.)	16.6	17.1	16.6	16.9	16.1	15.9	15.9	15.8
Serum Chemistry								
Day 167 (25 days after dose 6)								
Alanine aminotransferase (µkat/L)	1.34	1.20	1.17	1.21	1.44	1.51	1.76	1.87
Aspartate aminotransferase (µkat/L)	1.45	1.29	1.26	1.27	1.51	1.64	1.89	1.86
Alkaline phosphatase (µkat/L)	2.04	1.73	1.48**	1.37**	0.90	0.61	0.84	0.63
Sodium (mmol/L)	148.3	145.7*	148.0	146.8	149.8	150.8	149.7	149.0
Inorganic phosphorus (mmol/L)	2.18	2.37	2.66**	2.76**	1.75	2.14**	2.08*	2.45**
Chloride (mmol/L)	106.6	104.6	104.6	103.4**	105.6	104.9	105.0	104.5

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 88-8223/ Radium-223 chloride			Report No.:	R-8663, STATEMENT		
Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Serum Chemistry (continued)								
Day 167 (25 days after dose 6) (continued)								
Protein (total) (g/L)	72.1	70.1	69.1	70.9	78.2	78.2	77.6	76.9
Albumin (g/L)	46.3	43.9*	43.8*	43.8*	51.8	52.5	51.1	51.6
Globulin (g/L)	25.7	26.2	25.3	27.1	26.5	25.7	26.5	25.3
Albumin/Globulin ratio	1.81	1.69	1.74	1.63**	2.01	2.05	1.96	2.05
Day 195 (25 days after dose 7)								
Alanine aminotransferase (µkat/L)	1.10	1.01	0.95	1.26	1.34	1.03	1.18	1.58
Aspartate aminotransferase (µkat/L)	1.29	1.28	1.25	1.43	1.53	1.21	1.46	1.87
Alkaline phosphatase (µkat/L)	1.85	1.55	1.30**	1.12**	0.71	0.53	0.74	0.48*
Sodium (mmol/L)	145.4	145.0	144.1	146.3	145.3	144.0	144.1	143.4
Inorganic phosphorus (mmol/L)	2.04	2.17	2.19	2.59	1.91	2.04	2.30*	2.45**
Chloride (mmol/L)	101.7	102.0	101.1	100.8	101.1	100.4	100.4	100.3
Protein (total) (g/L)	70.7	69.6	68.8	71.5	78.8	78.6	77.9	77.2
Albumin (g/L)	45.2	43.3	43.2	44.2	53.7	53.0	52.0	51.9
Globulin (g/L)	25.5	26.3	25.6	27.3	25.1	25.6	25.9	25.3
Albumin/Globulin ratio	1.78	1.65*	1.69	1.63*	2.15	2.08	2.02	2.06

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 88-8223/ Radium-223 chloride			Report No.:	R-8663, STATEMENT		
Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Serum Chemistry (continued)								
Day 223 (25 days after dose 8)								
Alanine aminotransferase (µkat/L)	1.18	1.05	0.97	1.58	1.22	1.12	1.17	1.91
Aspartate aminotransferase (µkat/L)	1.41	1.35	1.40	1.72	1.47	1.40	1.66	2.14
Alkaline phosphatase (µkat/L)	1.92	1.60	1.38**	1.09**	0.67	0.49	0.65	0.46*
Sodium (mmol/L)	146.6	147.0	146.3	142.8**	147.0	145.9	146.7	145.4
Inorganic phosphorus (mmol/L)	2.03	2.23	2.50**	3.04**	2.01	2.12	2.20	2.67**
Chloride (mmol/L)	101.8	102.9	102.3	99.9**	103.2	101.5**	102.7	100.5**
Protein (total) (g/L)	75.4	75.8	73.5	72.3	80.5	79.5	79.6	80.5
Albumin (g/L)	47.7	46.7	45.9	44.8*	54.1	53.1	52.3	53.0
Globulin (g/L)	27.7	29.1	27.5	27.5	26.4	26.4	27.3	27.5
Albumin/Globulin ratio	1.72	1.61	1.67	1.64	2.07	2.02	1.92	1.94
Day 251 (25 days after dose 9)								
Alanine aminotransferase (µkat/L)	1.19	1.15	1.21	1.55	1.39	1.12	1.37	1.77
Aspartate aminotransferase (µkat/L)	1.38	1.41	1.29	1.71	1.53	1.52	1.90	2.07
Alkaline phosphatase (µkat/L)	1.89	1.69	1.25**	1.12**	0.67	0.52	0.65	0.47
Sodium (mmol/L)	144.3	147.3**	145.9	145.4	141.2	141.1	141.4	141.5
Inorganic phosphorus (mmol/L)	2.22	2.63**	2.78**	3.14**	2.17	2.05	2.51*	2.85**
Chloride (mmol/L)	103.2	103.9	102.6	102.0	101.1	100.4	99.2**	99.4**
Protein (total) (g/L)	71.4	73.7	71.8	71.4	77.4	77.9	80.1	79.4
Albumin (g/L)	45.3	45.2	44.9	44.3	52.3	51.7	52.2	52.7
Globulin (g/L)	26.2	28.6	26.9	27.2	25.0	26.2	27.9*	26.7
Albumin/Globulin ratio	1.73	1.59*	1.68	1.64	2.11	1.99	1.88**	1.98

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8663, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Serum Chemistry (continued)								
Day 279 (25 days after dose 10)								
Alanine aminotransferase (µkat/L)	1.23	1.00	1.18	2.20*	1.31	1.22	1.44	2.09
Aspartate aminotransferase (µkat/L)	1.44	1.31	1.58	2.85*	1.59	1.85	1.86	2.64
Alkaline phosphatase (µkat/L)	1.77	1.46	1.18**	1.10**	0.60	0.48	0.58	0.58
Sodium (mmol/L)	144.2	143.4	144.4	145.2	145.4	144.2	143.2*	142.9*
Inorganic phosphorus (mmol/L)	2.11	2.43*	2.91**	3.21**	2.14	2.20	2.26	2.61*
Chloride (mmol/L)	101.7	101.7	101.3	100.8	103.1	101.0*	101.5	100.5**
Protein (total) (g/L)	68.3	69.4	69.2	69.5	77.6	75.5	76.1	74.0
Albumin (g/L)	43.9	43.1	42.7	43.3	52.5	50.5	49.8	49.2
Globulin (g/L)	24.4	26.3	26.5	26.2	25.1	25.0	26.3	24.8
Albumin/Globulin ratio	1.82	1.65**	1.61**	1.66*	2.11	2.04	1.91	1.99
Day 307 (25 days after dose 11)								
Alanine aminotransferase (µkat/L)	1.30	1.08	0.97	1.59	1.32	1.06	1.44	1.84
Aspartate aminotransferase (µkat/L)	1.63	1.90	1.18	1.81	1.64	1.36	1.44	1.86
Alkaline phosphatase (µkat/L)	1.88	1.85	1.17	0.90*	0.63	0.49	0.58	0.49
Sodium (mmol/L)	145.8	144.0	144.2	142.9	142.1	142.2	141.1	142.1
Inorganic phosphorus (mmol/L)	2.09	2.30	2.69**	3.16**	2.04	1.87	2.31	2.58**
Chloride (mmol/L)	102.1	102.5	101.2	100.2	101.1	100.9	100.1	99.8
Protein (total) (g/L)	72.9	70.0	70.2	68.0**	74.4	74.7	72.9	74.1
Albumin (g/L)	45.7	42.5**	42.1**	40.9**	50.8	50.1	47.5	49.1
Globulin (g/L)	27.2	27.5	28.1	27.1	23.7	24.6	25.4	25.0
Albumin/Globulin ratio	1.69	1.55*	1.51**	1.52**	2.17	20.5	1.89*	1.98

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 88-8223/ Radium-223 chloride			Report No.:	R-8663, STATEMENT		
Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Serum Chemistry (continued)								
Day 335 (25 days after dose 12)								
Alanine aminotransferase (µkat/L)	1.12	1.15	0.93	1.98*	1.41	1.17	2.05	2.39*
Aspartate aminotransferase (µkat/L)	1.31	1.51	1.47	1.79	2.12	1.57	2.46	2.41
Alkaline phosphatase (µkat/L)	2.02	1.65	1.42*	1.15**	0.77	0.52	0.61	0.54
Sodium (mmol/L)	147.1	143.1**	144.8	142.0**	145.5	140.6**	142.5*	142.6
Inorganic phosphorus (mmol/L)	1.99	2.43**	2.71**	3.13**	1.77	1.93	2.64**	2.85**
Chloride (mmol/L)	104.5	101.7**	102.4*	98.5**	102.5	99.4**	98.9**	98.9**
Protein (total) (g/L)	71.1	69.5	66.5*	67.9	77.3	74.1	73.5	75.2
Albumin (g/L)	45.8	43.0*	42.0**	42.3**	52.8	50.1	48.1**	50.6
Globulin (g/L)	25.4	26.5	24.5	25.6	24.5	24.0	25.4	24.6
Albumin/Globulin ratio	1.81	1.64*	1.72	1.66	2.17	2.10	1.93	2.06
Organ Weights[c, g] (%)								
Number evaluated	12	8	5	9	12	11	9	5
Spleen, absolute (mg)	862	+23*	+39**	+27*	762	+10	+25**	+6
Gross Pathology								
Early deaths								
Number examined	0	4	7	3	0	1	3	7
Head	n.a.				n.a.			
- Nodule		-	-	-		1	-	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats | Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride | Report No.: R-8663, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Gross Pathology (continued)								
Early deaths (continued)								
Skin/ subcutis	n.a.				n.a.			
- Nodule, mandibular region		-	1	-		-	-	-
- Nodule, foreleg		-	-	-		-	1	-
Muscle, skeletal	n.a.				n.a.			
- Nodule, upper leg		1	1	-		-	-	1
- Nodule, lower leg		-	-	-		-	-	3
Lung	n.a.				n.a.			
- Spots, white		1	-	-		-	-	-
- Focus, red		-	-	1		-	-	-
- Nodules		-	1	-		-	-	-
Spinal Cord	n.a.				n.a.			
- Nodule(s)		-	-	2		-	-	-
Bone, vertebrae	n.a.				n.a.			
- Nodule		-	1	-		-	-	-
Joints	n.a.				n.a.			
- Nodule(s)		-	-	1		-	-	-
Leg	n.a.				n.a.			
- Clinical observation, no macroscopic finding, microscopic finding osteosarcoma		-	-	-		-	1	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 88-8223/ Radium-223 chloride			Report No.:	R-8663, STATEMENT		
Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Gross Pathology (continued)								
Scheduled necropsy								
Number examined	12	8	5	9	12	11	9	5
Treatment-related findings	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Early deaths								
Number examined	0	4	7	3	0	1	3	7
Brain, cerebrum	n.a.				n.a.			
- Oligodendroglioma		-	-	-		-	-	1
Lung	n.a.				n.a.			
- Osteosarcoma, metastasis		2	3	2		-	-	3
- Adenoma, bronchiolo-alveolar		-	1	-		-	-	-
Liver	n.a.				n.a.			
- Karyomegaly, hepatocytes		-	-	-		-	-	1
Pituitary Gland	n.a.	-	- (1 LGL [h])	-	n.a.	-	-	-
Thyroid Gland	n.a.		-		n.a.			
- Adenoma, follicular cell		1	-	1		-	-	-
Adrenal Glands	n.a.				n.a.			
- Osteosarcoma, metastasis		-	-	-		-	-	1

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 88-8223/ Radium-223 chloride			Report No.:	R-8663, STATEMENT		
Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Histopathology (continued)								
Early deaths (continued)								
Spleen	n.a.				n.a.			
- Extramedullary hematopoiesis, diffuse		2	5	3		-	2	6
- Grade 1, minimal		2	1	-		-	-	-
- Grade 2, slight		-	1	-		-	-	1
- Grade 3, moderate		-	-	2		-	2	2
- Grade 4, marked		-	2	1		-	-	2
- Grade 5, massive		-	1	-		-	-	1
Mammary Gland	n.a.				n.a.			
- Carcinoma		-	-	-		1	-	-
Skin/ subcutis	n.a.				n.a.			
- Osteosarcoma, metastasis		-	1	-		-	1	-
Muscle, skeletal	n.a.				n.a.			
- Osteosarcoma, metastasis		1	2	1		1	-	4
Vertebrae	n.a.				n.a.			
- Osteosarcoma		-	1	1		-	1	-
Bones	n.a.				n.a.			
- Osteosarcoma, front leg		-	-	-		-	1	-

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8663, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Histopathology (continued)								
Early deaths (continued)								
Bone, Femur	n.a.				n.a.			
- Osteosarcoma		-	1	1		-	1	1
- Depletion osteocytes/ osteoblasts		1	2	-		-	-	6
- Bone depletion/ fibrosis with disorganized growth line		4	7	3		1	3	7
Sternum	n.a.				n.a.			
- Bone marrow, decreased cellularity		-	3	3		-	-	1
- Bone mass decrease with occasional focal fibrosis		-	-	3		-	-	7
Systemic tumors	n.a.				n.a.			
- Large Granular Lymphocyte Lymphoma [h]		-	1	-		-	-	-
Scheduled termination								
Number examined	12	n.e.	n.e.	9	12	n.e.	n.e.	5
Lung								
- Osteosarcoma, metastasis	-			-	-			1
- Adenoma, bronchiolo-alveolar	-			1	-			-
Liver								
- Karyomegaly, hepatocytes	-			-	-			1

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats	Test Article:	BAY 88-8223/ Radium-223 chloride			Report No.:	R-8663, STATEMENT		
Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Histopathology (continued)								
Scheduled termination (continued)								
Pituitary Gland								
- Adenoma, pars distalis	-			-	1			-
Spleen								
- Extramedullary hematopoiesis, diffuse	12			9	12			5
- Grade 1, minimal	6			-	-			-
- Grade 2, slight	6			-	9			-
- Grade 3, moderate	-			5	3			2
- Grade 4, marked	-			4	-			3
Mammary Gland								
- Carcinoma	-			-	1			-
Skin/ subcutis	-			-	-			-
- Hemangioma	-		1[i]	-	-			-
Bone, Femur								
- Depletion osteocytes/osteoblasts	-			1	-			4
- Bone depletion/fibrosis with disorganized growth line	-			9	-			5
- Hyperostosis	-			1	-			2

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.2 ラットの 12 ヵ月間静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity - 12-Month Toxicity Study in Rats Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8663, STATEMENT

Dose [kBq/kg]	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110	0 Control	12 x 28	12 x 55	12 x 110
Gender	M	M	M	M	F	F	F	F
Histopathology (continued)								
Scheduled termination (continued)								
Sternum								
- Bone marrow, decreased cellularity	-			7	-			1
- Bone mass decrease with occasional focal fibrosis	-			9	-			5

F = Female, M =Male
- = No noteworthy finding n.e. = Not examined n.a. = Not applicable
Statistical analysis: * p < 0.05, ** p < 0.01 (Analysis of variance followed by Dunnett's test, Student's t-test or Kruskal-Wallis's test. In the case of significant inter-group differences, subsequent group identification with Wilcoxon Rank-Sum test.)

a. Animals died/sacrificed moribund on the following days:12 x 28 kBq/kg group: 4 males on Days 273, 294, 307 and 329, one female on Day 322; 12 x 55 kBq/kg group: 7 males on Days 223, 224, 282, 283, 294, 310 and 322, 3 females on Days 322, 328 and 330; 12 x 110 kBq/kg group: 3 males on Days 271, 282 and 331, 7 females on Days 260, 269, 281, 293, 293, 329 and 330.
b. Prior to death/early sacrifice, lame on legs, sore, swelling (on hindleg, mandible or between front teeth in mandible), bladder enlarged, in pain when palpated in abdomen or piloerection (12 x 28 kBq/kg group), swelling (in shoulder/neck region or on legs), pale mucous membranes, anemia and high leucocyte counts in hematology, lame on legs, uncoordinated movements, piloerection, passive/less active, labored respiration or quickly growing mass in the neck area (12 x 55 kBq/kg group), some dry loose stool around anus, swelling (on back or legs), lame on legs, subdued, piloerection, circular movements, squealing or squinting (12 x 110 kBq/kg group) were observed.
c. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
d. The animals missing teeth in 12 x 55 and 12 x 110 kBq/kg groups were offered diet softened with water from Days 234 and 189, respectively.
e. The condition of the teeth was checked weekly starting from Week 3 of the study.
f. During the last 14 weeks of the study, weekly control for palpable masses was introduced.
g. Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Numbers indicate percent difference for the absolute organ weights.
h. Large Granular Lymphocyte (LGL) Lymphoma included findings in multiple organs for a single animal in 12 x 55 kBq/kg group (animal number 51, male, terminated moribund on Day 283).
i. A single animal in 12 x 55 kBq/kg group (animal number 58, male) had the gross necropsy finding (nodule in inguinal region) at scheduled termination.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.3 イヌの反復静脈内投与毒性試験

Report Title:	Long term radiotoxicity study of repeat dose intravenous Radium-223 in normal dogs.
Report No.:	R-8670, R-8670A, R-8670B
Location in CTD:	4.2.3.2.3
Test Article:	BAY 88-8223 / Radium-223 chloride

Species/Strain:	Dog/Beagle	Study No.:	[redacted] Study No.: MS RA2
Initial age:	1.4 – 3.5 years		
Number of animals	Control group: 2 males and 2 females Treatment group: 4 males and 4 females	GLP compliance:	No
Duration of Dosing:	6 injections over the course of about 6 months (intervals 30 – 35 days)	Date of 1st dose:	[redacted]
Duration of Postdose:	Approximately 35 days after last injection		
Method of Administration:	Intravenous		
Dose levels:	0, 55 kBq/kg		
Vehicle/Formulation:	0.9 % sodium chloride (2 mL/kg)		
Special features:	Toxicokinetic values are summarized in 2.6.5.4-1 and 2.6.5.4-2.		
NOAEL	Not established		
Comment:	To adequately address the time course of the findings lab data vs. baseline are presented. For histopathology findings in treated animals vs control animals are displayed.		

Repeat-Dose Toxicity Study in Dogs Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride Report No.: R-8670, R-8670A, R-8670B

Study Time Points	Baseline	2nd injection		3rd injection		6th injection		Necropsy
		14 day post	25 day post	14 day post	25 day post	6th inj.	25 day post	
Number of Animals (M + F)								
Control Group	4	4	4	4	4	4	4	4
Treatment Group (55 kBq/kg)	8	8	8	8	8	8	8	8

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.3 イヌの反復静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity Study in Dogs | Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride | Report No.: R-8670, R-8670A, R-8670B

Study Time Points	Baseline	2nd injection		3rd injection		6th injection		Necropsy
		14 day post	25 day post	14 day post	25 day post	6th inj.	25 day post	
Noteworthy Findings								
Died/Sacrificed Moribund								
Control group	-	-	-	-	-	-	-	-
Treatment group	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight								
Control group	-	-	-	-	-	-	-	-
Treatment group	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations								
Pelvic fractures, non-displaced								
Control group	-	-	-	-	-	-	-	-
Treatment group	-	-	-	-	-	2[a]	-	-
Ophthalmoscopy								
Control group	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-[b]
Treatment group	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-[b]
Hematology								
White cell count (10^9/L)								
Control group	8.08	10.84	9.75	11.20	7.76	7.65	6.97	9.79
Treatment group	10.34	2.60	4.28	3.07	3.12	4.78	3.72	5.71
Granulocytes (10^9/L)								
Control group	6.07	8.79	8.10	8.53	6.04	6.21	5.56	7.70
Treatment group	7.57	1.92	3.38	2.14	2.36	4.04	3.11	4.65
Platelet count (10^9/L)								
Control group	349.75	426.25	337.25	362.00	365.00	332.50	302.00	370.75
Treatment group	341.00	117.38	154.75	196.63	172.88	240.38	232.50	256.50

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.3 イヌの反復静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity Study in Dogs | Test Article: BAY 88-8223/ Radium-223 chloride | Report No.: R-8670, R-8670A, R-8670B

Study Time Points	Baseline	2nd injection		3rd injection		6th injection		Necropsy
		14 day post	25 day post	14 day post	25 day post	6th inj.	25 day post	
Bone marrow examination								
M:E ratios								
Control group	-	n.d.	n.d.	n.d.	1.4	n.d.	-	n.d.
Treatment group	-	n.d.	n.d.	n.d.	0.7	n.d.	-	n.d.
Serum Chemistry								
Study Time Points	Baseline	1st inj.	2nd inj.	3rd inj.	4th inj.	5th inj.	6th inj.	
(25 days after each injection)								
Bone specific alkaline phosphatase (U/L)								
Control group	6.7	8.7	10.8	8.7	8.7	12.1	8.7	
Treatment group	5.6	5.1	4.8	5.5	3.6	4.6	4.6	
N-telopeptide (nM BCE) [c]								
Control group	28.5	32.3	27.8	18.9	26.0	24.8	25.8	
Treatment group	27.0	30.4	24.1	20.7	14.5*	19.0	19.5	
Urinalysis								
Control group	-	-	-	-	-	-	-	
Treatment group	-	-	-	-	-	-	-	

F = Female, M =Male
- = No noteworthy finding n.d.= Not determined
Statistical analysis: * $p < 0.05$
a. These fractures were observed between the 5th and 6th test article injections, and healed with conservative management of cage rest and analgesics.
b. Performed in the week prior to euthanasia and necropsy.
c. nM BCE = nanoMolar of bone collagen equivalents

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.3 イヌの反復静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity Study in Dogs	Test Article:	BAY 88-8223/Radium-223 chloride	Report No.:	R-8670, R-8670A, R-8670B
Daily Dose [kBq/kg]	0	55	0	55
Gender	M	M	F	F
Number of Animals	2	4	2	4
Organ Weights (%)	-	-	-	-
Gross Pathology				
Number examined	2	4	2	4
Bone marrow	The bone marrow of control dogs appeared unremarkable with the discernible presence of minimal adipose tissue characterized by pale tan to yellow gelatinous material as compared to BAY 88-8223 treatment group dogs which had generalized dark brown to burgundy marrow with the absence of apparent adipose tissue.			
Histopathology				
Number examined	2	4	2	4
Bone and Bone marrow				
Decline in bone marrow hematopoietic cellularity (sternal and/or vertebral)	1	4	2	4
Myelofibrosis	0	4	1	4
Osteolysis, trabecular bone	0	4	0	4
Marrow infiltration of vacuolated/ granulated histiocytes	0	3	0	2

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.3 イヌの反復静脈内投与毒性試験（続き）

Repeat-Dose Toxicity Study in Dogs	Test Article:	BAY 88-8223/Radium-223 chloride	Report No.:	R-8670, R-8670A, R-8670B
Daily Dose [kBq/kg]	0	55	0	55
Gender	M	M	F	F
Histopathology (continued)				
Spleen				
Increased extramedullary hematopoiesis	0	4	0	4
Increased pigmented macrophages	0	3	0	3
Liver				
Increased extramedullary hematopoiesis	0	3	0	2
DEXA scan measurements of bone mineral density [lumbar vertebral segments (L3 to L7 inclusive), proximal left femur and hemipelves]	-	-	-	-

F = Female, M =Male
- = No noteworthy finding

2.6.7.8　In Vitro 遺伝毒性試験

No data available

2.6.7.9　In Vivo 遺伝毒性試験

No data available

2.6.7.10　がん原性試験

No data available

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：　重要な試験以外の試験

No data available

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

No data available

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：　胚・胎児発生に関する試験

No data available

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

No data available

2.6.7.15　新生児を用いた試験

No data available

2.6.7.16 局所刺激性試験

Local Tolerance Test Article: BAY 88-8223/Radium-223 chloride

Species/ Strain	Method of Administration	Doses [kBq/animal]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Report Number / Study Number	Location in CTD
Rabbit/ New Zealand White	Perivenous Single	0, 829 in 0.52 mL	3 F total each: left ear citrate buffer vehicle and right ear test article solution	• Marginally more pronounced local reaction [erythema only (slight, score 2 on a 0-4 scale), no edema or hemorrhage] compared to vehicle • Slightly more pronounced reaction to treatment with BAY 88-8223 compared to treatment with vehicle 1 hour post dosing • Difference in reaction compared to vehicle disappeared within days • No abnormalities reported at macroscopic examination • No difference from vehicle could be detected histologically 7 days post dosing • No systemic effects of treatment were observed	R-8667/ [redacted] Study No. 69865	4.2.3.6.1

F = Female

2.6.7.17 その他の毒性試験

Test Articles: Docetaxel and BAY 88-8223 / Radium-223 chloride

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Study Outline	Doses [mg/kg]	Gender (No. per Group)	Noteworthy findings	Report Number/ Study Number	Location in CTD
Rat/ SPF Wistar, HanTac: WH (GALAS)	Intravenous (docetaxel: Taxotere reconstituted with Taxotere solvent and further diluted with sterile saline for injection; BAY 88-8223: provided as a ready to use formulation) Single Each group was terminated 14-days after single-doing	Phase 1: Docetaxel alone: 1, 3, 4, 5 mg/kg Phase 2: Combination: (55 kBq/kg BAY 88-8223+ 4 mg/kg docetaxel)	Phase 1&2: M/F (4/4)	Phase 1: • A tendency towards lower food consumption and body weight gain with increasing doses (most pronounced during the first week post-dosing) • Decrease in RBC count, hemoglobin and hematocrit and increased in reticulocyte count and platelets in all treated groups on Day 7, largely back to normal by Day 14 • Increase in creatinine in all treatment groups • A tendency for dose-dependent reduction in ALP in all treatment groups (greatest on Day 7 and appeared to be reversible on Day 14) Phase 2: • Same as above • Clinical signs (n=1) of subdued, hyperventilating and slight piloerection immediately after dosing but recovered in the afternoon of the same day • Mild local reactions at the injection sites (tail) seen after dosing • Decrease in WBC count (statistically significant) by the end of the second week post dosing • Increase in Carbamide (Urea) MTD: 4 mg/kg docetaxel NOAEL: <1 mg/kg docetaxel	R-8664/ [redacted] Study No. 68997	4.2.3.7.7.1

2.6.7.17 その他の毒性試験（続き）

Test Articles: Docetaxel and BAY 88-8223 / Radium-223 chloride

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Study Outline	Doses	Gender (No. per Group)	NOAEL	Noteworthy findings	Report Number/ Study Number	Location in CTD
Rat/ SPF Wistar, HanTac: WH (GALAS)	Intravenous (control vehicle: saline; docetaxel: Taxotere reconstituted with Taxotere solvent and further diluted with sterile saline for injection; BAY 88-8223: provided as a ready to use formulation) Single dose + 12 week observation period	Group1: 0, Group 2: 4 mg/kg docetaxel, Group 3: 55 kBq/kg BAY 88-8223, Group 4: Combination (55 kBq/kg BAY 88-8223 + 4 mg/kg docetaxel)	M/F (12/12)	n.a.	• One male found dead on Day 4 in Group 2 (docetaxel). No clear cause of death established • One female in Group 2 (docetaxel) sacrificed on Day 29 due to large nodule (at necropsy in subcutis) on right hind leg. One female in Group 4 (combination) had small hard nodule at base of tail from Day 60 onward. No histological examination performed. Relationship of nodules to treatment unclear • Decreased body weights on Day 8 and decreased food consumption during first week of treatment in Group 2 (docetaxel) and Group 4 (combination) • Reduced RBC count comparable 2 weeks post dosing with Groups 2-4 (docetaxel, BAY 88-8223 and combination, respectively), remained significantly lower than in controls in males from Group 3 (BAY 88-8223) and Group 4 (combination) at 4 and 8 weeks after treatment, longer lasting than after treatment docetaxel alone • Compensatory increase in reticulocyte count 2 weeks post dosing in Group 2 (docetaxel) and Group 4 (combination) but not in Group 3 (BAY 88-8223)	R-8665/ [redacted] Study No. 69120	4.2.3.7.7.2

2.6.7.17 その他の毒性試験（続き）

Test Articles: Docetaxel and BAY 88-8223 / Radium-223 chloride

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Study Outline	Doses	Gender (No. per Group)	NOAEL	Noteworthy findings	Report Number/ Study Number	Location in CTD
(continued)					• Mean corpuscular hemoglobin concentration in 2 weeks after dosing was only parameter where the combination of BAY 88-8223 and docetaxel appeared to have a greater effect than either alone • Reduced WBC count in males from Group 4 (combination) at 2 and 4 weeks post treatment with a similar tendency also seen in males from Group 3 (BAY 88-8223) • Reduced absolute and/or relative neutrophils, eosinophils, and monocytes count in Group 3 (BAY 88-8223) and Group 4 (combination) at 2 weeks post treatment • Increased triglycerides in males from Group 3 (BAY 88-8223) at 2, 4, 8 and 12 weeks post treatment and from Group 4 (combination) at 8 and 12 weeks post treatment, and in females from Groups 2 (docetaxel) and 4 (combination) at 2 weeks post dosing • Minor but statistically significant increase in glucose levels in males from Group 4 (combination) at 2 weeks post dosing • Decreased electrolyte levels (generally sodium, magnesium, and chloride) in all groups (females, week 4; males and females, week 8) with most prominent changes in Group 4 (combination)	R-8665/ [redacted] Study No. 69120	4.2.3.7.7.2

2.6.7.17 その他の毒性試験（続き）

Test Articles: Docetaxel and BAY 88-8223 / Radium-223 chloride

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing, Doses	Gender (No. per Group)	NOAEL	Noteworthy findings	Report Number/ Study Number	Location in CTD
Rat/ SPF Wistar, HanTac: WH (GALAS)	Intravenous (control vehicle: saline; docetaxel: Taxotere reconstituted with Taxotere solvent and further diluted with sterile saline for injection; BAY 88-8223: provided as a ready to use formulation)	Intermittent (7 occasions over 18 weeks) + 4 weeks post dosing 0, 4 mg/kg docetaxel (every 3 weeks) 55 kBq/kg BAY 88-8223 (every 6 weeks) Combination [55 kBq/kg BAY 88-8223 (every 6 weeks) + 4 mg/kg docetaxel (every 3 weeks)]	M/F (12/12)	n.a.	• Reduced body weight gain and food consumption with 4 mg/kg docetaxel, further decreased with combination (4 mg/kg docetaxel and 55 kBq/kg BAY 88-8223) treatment • Decreased hemoglobin, RBCs and hematocrit with 4 mg/kg docetaxel or/and 55 kBq/kg BAY 88-8223, and the most significant changes after combination treatment particularly in males. A corresponding increase in the reticulocytes in both sexes as a normal reaction to decrease in RBC • Increased values of MCV and MCH in both sexes with corresponding changes in MCHC	R-8666/ [redacted] Study No. 69202	4.2.3.7.7.3

2.6.7.17 その他の毒性試験（続き）

Test Articles: Docetaxel and BAY 88-8223 / Radium-223 chloride

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing, Doses	Gender (No. per Group)	NOAEL	Noteworthy findings	Report Number/ Study Number	Location in CTD
(continued)					• Decreased WBC, neutrophils, lymphocytes and eosinophils, particularly in males, given 4 mg/kg docetaxel or/and 55 kBq/kg BAY 88-8223 and most significantly after combination treatment. The changes in WBC parameters did not fully recover between the dosing occasions • Decreases in Carbamide (Urea) in females at 4 mg/kg docetaxel or/and 55 kBq/kg BAY 88-8223, creatinine in males at 4 mg/kg docetaxel or/and 55 kBq/kg BAY 88-8223 and triglycerides in males at BAY 88-8223 alone or combination • Increased values of erythroid cells and decreased myeloid cells: erythroid cells ratio in males from combination (4 mg/kg docetaxel and 55 kBq/kg BAY 88-8223) treatment • Organ weights decreases of the epididymides and testes at 4 mg/kg docetaxel alone or combination, and of the liver, heart, kidney, and thymus in males at combination	R-8666/ [redacted] Study No. 69202	4.2.3.7.7.3

F = Female, M =Male, ALP = alkaline phosphatase, MCH = mean corpuscular hemoglobin, MCHC = mean corpuscular hemoglobin concentration, MCV = mean corpuscular volume, RBC = red blood cell, WBC = white blood cell
n.a.= Not applicable
MTD = maximum tolerated dose