トレアキシン点滴静注用 25 mg

トレアキシン点滴静注用 100 mg

（ベンダムスチン塩酸塩）

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）CTD の概要

2. 6. 6 毒性試験の概要文

シンバイオ製薬株式会社

目次

2.6.6　毒性試験の概要文 4
2.6.6.1　まとめ 4
2.6.6.2　単回投与毒性試験 6
2.6.6.3　反復投与毒性試験 6
2.6.6.4　遺伝毒性試験 6
2.6.6.5　がん原性試験 6
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 7
2.6.6.7　局所刺激性試験 10
2.6.6.8　その他の毒性試験 10
2.6.6.9　考察及び結論 11
2.6.6.10　図表 11
2.6.6.11　参考文献 12

略語一覧

略語	内容
$C_{0.5hr}$	注入開始後 30 分での血漿中濃度
C_{1hr}	注入開始後 1 時間での血漿中濃度
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level 無毒性量

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

再発又は難治性の低悪性度 B 細胞性非ホジキンリンパ腫及びマントル細胞リンパ腫に対する効能取得時（2010 年 10 月 27 日付）、ベンダムスチン塩酸塩（以後、「ベンダムスチン」又は「本薬」と表す）の非臨床毒性試験の成績は既に評価されている。

本薬は細胞毒性を示す抗腫瘍薬であり、構造と薬効から生殖発生毒性を示すことが容易に推定される。生殖発生毒性試験については、マウス及びラットで検討しているが、当該試験は非 GLP 試験であり、現行ガイドラインに基づくものではなかった。[redacted]について医薬品[redacted]相談（平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日付で申し込み、[redacted]年[redacted]月[redacted]日付で相談記録を入手）を実施したが、[redacted]との医薬品医療機器総合機構の意見が得られたことから[redacted]しなかった。

米国においてベンダムスチンを開発している TEVA 社は、20[redacted]年[redacted]月に[redacted][redacted]申請前相談において[redacted]している。

本申請に際し、新たな試験結果が得られたことから、これらの生殖発生毒性試験の GLP 適合試験及び用量設定試験一覧を表 1 に示すとともに試験結果を 2.6.6.6 項に要約した。

表 1: 生殖発生毒性試験一覧

Study Type and Number	Route of Administration and Dose Levels	Species	Compound Administered	Regulatory Compliance
An Intravenous Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation of Bendamustine in Rats DS-2011-016	30 minute intravenous infusion 0, 2.5, 7.5, 12.5 mg/kg/dose	Rat	Bendamustine HCl	GLP
A Pilot Intravenous Delivery Study for a Pre- and Postnatal Study in Sprague Dawley Rats DS-20[redacted]-043	30 minute intravenous infusion 0, 5, 10, 15 mg/kg/dose	Rat	Bendamustine HCl	Non-GLP
An Intravenous Study of the Effects of Bendamustine on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats DS-2011-002	30 minute intravenous infusion 0, 2.5, 5, 7.5, 12.5 mg/kg/dose	Rat	Bendamustine HCl	GLP

2.6.6.2　単回投与毒性試験

該当なし

2.6.6.3　反復投与毒性試験

該当なし

2.6.6.4　遺伝毒性試験

該当なし

2.6.6.5　がん原性試験

該当なし

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

GLP 適用試験として、ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、トキシコキネティクス試験及びラット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を検討した。トキシコキネティクス試験は、ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験と同時に検討した。

2.6.6.6.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1　ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（トキシコキネティックス評価を含む）

［DS-2011-016 試験（4.2.3.5.1-1 項）参照］

ベンダムスチンの 2.5、7.5 及び 12.5 mg/kg/日を 1 群雌雄各 25 匹の CD(SD)ラットに毎週 2 回連日で 30 分間静脈内投与した。溶媒対照には注射用生理食塩液を用いた。雄の投与期間は交配前 5 週間から交配期間を経て剖検 4～5 日前までとし、計 18 回投与した。雌の投与期間は交配前 3 週間から交配期間を経て妊娠 11 日までとし、計 10～14 回投与した。雌は全例を妊娠 15 日に帝王切開した。

トキシコキネティクス試験のため、初回投与時（雄では試験 0 日目及び雌では 12 日目）、また雄の 8 回目投与時（試験 22 日目）及び雌では 4 回目投与時（試験 20 日目）の注入開始後 30 分（$C_{0.5hr}$）及び 1 時間（C_{1hr}）において、4 匹/性/群のラットから血液サンプルを採取した。

7.5 mg/kg/日の雄 1 例及び 12.5 mg/kg/日の雄 7 例で 6～8 週間の投与後に注射部位（尾）の変化により投与不能となったため、早期屠殺した。これらの動物以外には、雌雄ともに本薬投与に起因する死亡はなかった。一般状態の変化として、用量に依存した注射部位反応（紅斑、浮腫、落屑、壊死等）、12.5 mg/kg/日の雄に泌尿生殖器周囲の黄色物質及び鼻周囲の赤色物質、並びに 12.5 mg/kg/日の雌に腹部の黄色物質がみられた。剖検時に注射部位のびらん、痂皮、開放創が、2.5、7.5 及び 12.5 mg/kg/日の雌雄ラットにみられた。7.5 及び 12.5 mg/kg/日の雄雄ラットにおいて各投与後に平均体重及び平均体重増加量の減少並びに平均摂餌量の低下、雌ラットにおいて妊娠期間中の投与後に平均体重及び平均体重増加量の減少並びに各投与後に平均摂餌量の低下がみられた。本薬は、生殖能力・精子形成に対し影響しなかった。7.5 及び 12.5 mg/kg/日では精巣上体及び精巣上体尾部の重量の減少がみられた。12.5 mg/kg/日で着床前胚損失率の高値、7.5 及び 12.5 mg/kg/日で着床後胚損失率の高値並びに生存胎児及び同腹児当たり平均生存胎児数の減少がそれぞれみられた。また、$C_{0.5hr}$ における血漿中本薬未変化体濃度は用量に依存して増加し、雌雄間あるいは各投与間に一貫した差は認められなかった。

これらの試験結果より、生殖・胚毒性における無毒性量（NOAEL）は 2.5 mg/kg/日とした。

2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験

該当なし

2.6.6.6.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.6.6.3.1　ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する予備試験

［DS-20■20■-043 試験（4.2.3.5.3-2 項）参照］

ベンダムスチンの 5、10 及び 15 mg/kg/日を 1 群雌 10 匹の CD(SD)ラットの妊娠 7 日及び 8 日並びに分娩後 7 日及び 8 日の計 4 回反復静脈内投与した。溶媒対照には注射用生理食塩液を用いた。全ての F0 母動物は、自然分娩させて分娩後 21 日まで F1 出生児を哺育させた。F1 出生児については、生後 21 日まで飼育した。

F0 母動物に関しては、本薬投与に起因する死亡、一般状態変化及び注射部位変化はみられなかった。

本薬投与群全てにおいて妊娠 7 及び 8 日並びに分娩後 7 及び 8 日の投与後、平均体重減少が認められた。しかしながら、対照群でも同様であったことから、一部は投与手技に起因すると考えられた。この平均体重減少は一過性で、妊娠中のいずれの投与群及び分娩後の 5 及び 10 mg/kg/日の平均体重に影響するものではなかった。平均体重減少は、15 mg/kg/日において分娩後の 2 回目投与後にみられ、その結果、分娩後 8～21 日に対照群に比べ平均体重が 5.4%～8.7%低下した。これに関連した平均摂餌量の減少が 15 mg/kg/日において妊娠 7～8 日目、分娩後 7～8 及び 8～10 日にみられた。5 及び 10 mg/kg/日は摂餌量に影響しなかった。平均妊娠期間、分娩プロセス、着床痕及び着床後胚損失数は、本薬いずれの投与群においても影響されなかった。

F1 出生児に関しては、15 mg/kg/日の平均体重増加量は出生後 7～8 及び 8～10 日に対照群よりも低く、分娩後 7～8 日に認められた F0 母動物の体重減少に一致した。分娩後 7～8 日の平均出生児体重増加量は対照群においても低く、体重増加に対する影響は、一部は投与手技に起因したものと考えられた。5、10 及び 15 mg/kg/日における平均新生児数、同腹生存胎児数、出生時に同腹児に占める雄の割合、出生後の生存、一般状態、及び平均出生児体重、また 5 及び 10 mg/kg/日群の平均体重増加量は、対照群と同等であった。

結論として、F0 母動物への 15 mg/kg/日の投与は、対照群と比べ分娩後の平均体重と体重増加量の低下、それらの変化と関連した妊娠中及び分娩後の摂餌量減少、並びに出生児における生後 7～8 日の平均体重増加量の低下を示したことから、2.5、5、7.5 及び 12.5 mg/kg/日が、ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関するベンダムスチンの静脈内投与本試験の用量段階として選択された。

2.6.6.6.3.2　ラット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

［DS-2011-002 試験（4.2.3.5.3-1 項）参照］

1 群 25 匹の妊娠 CD(SD)ラットに、本薬の 2.5、5、7.5 及び 12.5 mg/kg/日の用量で妊娠 7、8、14 及び 15 日並びに分娩後 7、8、14 及び 15 日の計 8 回反復静脈内投与した。溶媒対照には注射用生理食塩液を用いた。全ての F0 母動物は、自然分娩させて分娩後 21 日まで F1 出生児を哺育させた。F1 出生児については、発育・分化に関する各種検査を実施し、性成熟に至るまで飼育した後、生殖能を評価するために交配・妊娠させ、胚・胎児発生に及ぼす影響を検討した。

F0 母動物に関しては、異常分娩による死亡が 5 mg/kg/日の 1 例に分娩後 1 日目にみられた。注射部位における本薬投与に関連した落屑が、7.5 及び 12.5 mg/kg/日で妊娠中に、5、7.5 及び 12.5 mg/kg/日において分娩後にそれぞれみられた。さらに、5、7.5 及び 12.5 mg/kg/日で尾部の痂皮が分娩後 6 日以降認められた。平均体重の減少及び平均摂餌量の低下が、毎週 2 日の本薬投与期間中（妊娠及び分娩後 7～8 日と 14～15 日）、7.5 及び 12.5 mg/kg/日で認められた。その結果、F0 母動物における妊娠中及び分娩後の 12.5 mg/kg/日の毎週 2 日投与により平均体重の低下が認められた。5 日間の非投与期間では、これらの用量群における平均体重増加量及び摂餌量は、溶媒対照群と全般的に同様であった。2.5 及び 5 mg/kg/日では、妊娠中又は分娩後に一過性の平均体重減少及び摂餌量の低下が認められたが全般的には平均体重増加量あるいは体重に影響しなかった。本薬投与に関連した白血球及びリンパ球数の低下が、2.5、5、7.5 及び 12.5 mg/kg/日の F0 母動物で認められた。また、対照群に比較して好塩基球数の低下が、7.5 及び 12.5 mg/kg/日でみられた。さらに、本薬投与に関連した平均網状赤血球数及び好中球数の絶対数の増加が 12.5 mg/kg/日で認められた。F0 母動物の本薬投与に関連した平均腎臓相対重量の増加は、2.5、5、7.5 及び 12.5 mg/kg/日で認められた。腎臓重量の増加は、全ての本薬投与群において観察された巨大細胞及び巨大核、並びに 7.5 及び 12.5 mg/kg/日でみられた異型の過形成と関連していた。F0 母動物の平均妊娠期間及び分娩プロセスは、いずれの投与量でも影響を受けなかった。2.5、5、7.5 及び 12.5 mg/kg/日における平均着床痕及び着床後胚損失数は、対照群と同様であった。F1 同腹生存胎児数及び出生後の生存は F0 母動物への本薬投与に影響されなかった。

F1 出生児に関しては、平均体重増加量の低下が 12.5 mg/kg/日の雌雄で離乳前の出生後 8～16 日に認められた。この変化は、分娩後 7～9 及び 14～16 日の F0 母動物に対する本薬投与と関連していた。12.5 mg/kg/日の F1 雌雄において平均体重の低下が出生後 9～21 日にみられた。F1 雌ラットにおける平均体重の低下は、離乳後も継続した。F1 雌における平均体重の低下は、2.5、5、7.5 及び 12.5 mg/kg/日で交配前に認められたが、妊娠中又は分娩後にはみられなかった。聴覚性驚愕反応、自発運動、学習能及び記憶能、及び包皮分離と腟開口の到達齢は、F0 母動物への本薬投与の影響を受けなかった。F0 母動物への本薬投与に関連した死亡や所見は、離乳後の F1 世代において認められなかった。また、F1 生殖能力、妊娠期間、分娩プロセス、肉眼的所見、あるいは平均黄体、着床痕及び着床後胚損失数に対する影響はなかった。F1 動物の予定剖検時に、血液検査、血液生化学検査あるいは尿検査における本薬関連の変化は認められなかった。

F2 出生児に関しては、平均出生児数、出生後 0 日目の生存率、出生後の生存、一般状態、平均体重、体重増加量、あるいは剖検所見に影響はみられなかった。

結論として、肉眼的所見と関連する一般状態と注射部位の変化が、5、7.5 及び 12.5 mg/kg/日の F0 母動物で認められた。さらに、F0 母動物における体重及び摂餌量の影響は 7.5 及び 12.5 mg/kg/日で認められ、12.5 mg/kg/日では、F1 出生児の離乳期での体重低下と関連していた。白血球数及びリンパ球数の低下、並びに病理組織学的所見に関連する腎臓相対重量の増加が 2.5、5、7.5 及び 12.5 mg/kg/日の F0 母動物で認められた。さらに好塩基球数の低下と網状赤血球数及び好中球数の増加が、12.5 mg/kg/日の F0 母動物で認められた。したがって、F0 母動物への全身毒性に関する NOAEL は、ベンダムスチン 2.5 mg/kg/日未満とした。F1 新生児毒性に関する NOAEL は 7.5 mg/kg/

日とし、F1 雌雄の全身毒性、発生神経毒性及び生殖毒性、並びに F2 発生毒性に関する NOAEL は 12.5 mg/kg/日とした。

2.6.6.7 局所刺激性試験

該当なし

2.6.6.8 その他の毒性試験

該当なし

2.6.6.9 考察及び結論

交配前より交配後に渡る雌雄ラットに対するベンダムスチンの投与により、用量依存的な着床前後での胚損失の増加、並びに生存胎児及び同腹児当たり平均生存胎児数の減少が認められた。さらに F0 母動物に対する妊娠中及び分娩後のベンダムスチン投与により、F0 母動物における用量依存的な体重、摂餌量、白血球数及びリンパ球数の減少がみられ、F1 出生児の用量依存的な体重減少がみられた。しかしながら、F1 出生児における学習能、記憶能、行動及び生殖に関するパラメータに影響しなかった。

これらベンダムスチンのラット生殖発生毒性試験結果に基づき、男性及び女性患者へのベンダムスチン投与の際には生殖能に対する潜在的リスクを、さらに、女性患者へのベンダムスチン投与の際には胎児に対する潜在的リスクを注意喚起する必要がある。

2.6.6.10 図表

モジュール 2.6.7 項に記載した。

2.6.6.11 参考文献

該当なし

トレアキシン点滴静注用 25 mg

トレアキシン点滴静注用 100 mg

（ベンダムスチン塩酸塩）

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）CTD の概要

2. 6. 7 毒性試験概要表

シンバイオ製薬株式会社

目次

2.6.7.1　毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 4
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 5
2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 7
2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 8
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 9
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 11

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質: Bendamustine Hydrochloride

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number/ Location in CTD
Reproductive and Developmental Toxicity:							
Fertility and Early Embryonic Development to Implantation	Male and Female CD (SD) Rats	30 minute intravenous infusion	Males: 9 weeks (5 weeks prior to mating through 4-5 days prior to scheduled euthanasia) Females: 5-7 weeks (3 weeks prior to mating through Gestation Day 11)	0, 2.5, 7.5,12.5	GLP	WIL Research Laboratories	DS-2011-016 4.2.3.5.1-1
Pilot Pre- and Postnatal Development	Female CD (SD) Rats	30 minute intravenous infusion	Gestation Days 7 and 8; Lactation Days 7 and 8	0, 5, 10, 15	Non-GLP	WIL Research Laboratories	DS-20[redacted]-043 4.2.3.5.3-2
Pre- and Postnatal Development	Female CD (SD) Rats	30 minute intravenous infusion	Gestation Days 7,8,14, and 15; Lactation Days 7, 8, 14, and 15	0, 2.5, 5, 7.5, 12.5	GLP	WIL Research Laboratories	DS-2011-002 4.2.3.5.3-1

GLP = Good Laboratory Practice

.

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

被験物質: Bendamustine Hydrochloride

Type of study	**Test System**	**Method of Administration**	**Doses (mg/kg)**	**GLP Compliance**	**Study Number**
Fertility and Early Embryonic Development to Implantation	CD(SD) Rats	30 minute intravenous infusion	2.5, 7.5, 12.5	Yes	DP-20[redacted]-158

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

被験物質: Bendamustine Hydrochloride

Mean (SD) Plasma Concentrations of Bendamustine, γ -hydroxybendamustine (M3) and N-des-methylbendamustine (M4) in Male Rats

Study Day	Analyte	Dose (mg/kg)	$C_{0.5hr}$[a]	C_{1hr}[b]
0 (first dose)	Bendamustine	2.5	1380.57 (399.47)	61.70 (38.35)
		7.5	4538.57 (1368.94)	249.16 (73.64)
		12.5	10051.49 (4581.33)	744.05 (425.80)
	M3	2.5	39.12 (19.76)	9.31 (10.70)
		7.5	127.35 (76.81)	29.65 (24.43)
		12.5	327.37 (142.64)	107.41 (61.45)
	M4	2.5	BLQ<(0.95)	BLQ<(0.95)
		7.5	3.70 (1.52)	BLQ<(0.95)
		12.5	7.38 (1.52)	1.88 (0.62)
22 (eighth dose)	Bendamustine	2.5	1085.95 (515.91)	44.49 (34.21)
		7.5	4657.65 (1928.54)	107.63 (32.74)
		12.5	6743.99 (1523.49)	269.33 (111.20)
	M3	2.5	28.27 (20.31)	2.87 (3.36)
		7.5	101.62 (49.04)	9.12 (4.33)
		12.5	195.54 (91.96)	30.95 (15.54)
	M4	2.5	BLQ<(0.95)	BLQ<(0.95)
		7.5	4.54 (1.75)	BLQ<(0.95)
		12.5	7.92 (3.11)	BLQ<(0.95)

BLQ<(0.95): below the limit of quantitation of 0.95 ng/mL
[a] Sample was collected at the end of the 30-minute infusion.
[b] Sample was collected 1 hr after the start of the infusion.

トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

被験物質: Bendamustine Hydrochloride

Mean (SD) Plasma Concentrations of Bendamustine , γ-hydroxybendamustine (M3) and N-des-methylbendamustine (M4) in Female Rats

Study Day	Analyte	Dose (mg/kg)	$C_{0.5hr}$[a]	C_{1hr}[b]
12 (first dose)	Bendamustine	2.5	835.95 (184.38)	39.97 (14.57)
		7.5	3591.92 (1284.63)	99.54 (35.67)
		12.5	6091.22 (1199.41)	205.06 (26.09)
	M3	2.5	39.57 (21.71)	2.77 (2.45)
		7.5	117.39 (38.62)	8.59 (3.36)
		12.5	176.89 (113.56)	17.79 (13.51)
	M4	2.5	1.47 (1.21)	BLQ<(0.95)
		7.5	4.45 (0.35)	BLQ<(0.95)
		12.5	5.46 (1.39)	BLQ<(0.95)
20 (fourth dose)	Bendamustine	2.5	925.23 (223.14)	32.53 (12.79)
		7.5	3250.01 (1220.39)	131.50 (42.81)
		12.5	6233.03 (2038.36)	211.91 (70.18)
	M3	2.5	36.37 (16.38)	2.26 (1.99)
		7.5	121.16 (66.48)	10.21 (6.34)
		12.5	161.91 (81.90)	16.64 (9.23)
	M4	2.5	1.16 (0.81)	BLQ<(0.95)
		7.5	4.39 (1.08)	BLQ<(0.95)
		12.5	4.91 (1.50)	BLQ<(0.95)

BLQ<(0.95): below the limit of quantitation of 0.95 ng/mL
[a] Sample was collected at the end of the infusion 30-minute infusion.
[b] Sample was collected 1 hr after the start of the infusion.

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質: Bendamustine Hydrochloride

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities (%)						Study Number	Type of Study
		HP1	HP2	HP3	BM1 Dimer	BM1 mannitol ester	BM1 DCE		
Proposed Specification	90.0-110.0	≤1.5	≤0.3	≤0.2	≤0.9	≤0.5	≤0.6		
A445410	99.3	0.2	ND	ND	0.1	0.1	ND	DS-2011-016	Fertility and Early Embryonic Development to Implantation
								DS-20[redacted]-043	Pilot Pre- and Postnatal Development
								DS-2011-002	Pre- and Postnatal Development
A458902	99.1	NA	0.1	ND	0.1	ND	ND	DS-2011-016	Fertility and Early Embryonic Development to Implantation

ND; not detected, NA; not available

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質: Bendamustine Hydrochloride

Study Type	Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy findings	Study Number
A Pilot Intravenous Delivery Study for a Pre- and Postnatal Study in Sprague Dawley Rats	Rat/ CD (SD)	30 minute intravenous infusion/ 0.9% sodium chloride for injection	Gestation Days 7 and 8; Lactation Days 7 and 8	0, 5, 10, 15	10 pregnant females	Decreased body weight gain and food consumption during gestation and/or lactation, and a lower mean pup body weight gain during PND 7-8 at 15 mg/kg	DS-20[redacted]-043

PND = post natal day

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

Study No.: DS-2011-016　　被験物質: Bendamustine Hydrochloride

Report Title: An Intravenous Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation of Bendamustine in Rats

Design similar to ICH 4.1.1? Yes
Species/Strain: CD (SD) rats
Initial Age: 9-11 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Special Features: None
Duration of Dosing: Males; 9 weeks (5 weeks prior to mating through 4-5 days prior to scheduled sacrifice), Females; 5-7 weeks (3 weeks prior to mating through G11)
Method of Administration: Intravenous infusion over 30 minutes
Vehicle/Formulation: 0.9% saline
Study No.: DS-2011-016
Location in CTD: 4.2.3.5.1.1
GLP Compliance: Yes
No Observed Adverse Effect Level: 2.5 mg/kg/day

Males		Dose (mg/kg/day)	0	2.5	7.5	12.5
	Toxicokinetics: $C_{0.5hr}$ #	First dose		1380.57±399.47	4538.57±1368.94	10051.49±4581.33
		Eighth dose		1085.95±515.91	4657.65±1928.54	6743.99±1523.49
	No. Evaluated		25	25	25	25
	No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	1	7
	Clinical Observations: 1)	Dried Yellow Material Urogenital Area	0/ 0	1/ 1	3/ 2	13/ 8
		Dried Red Material Around Nose	0/ 0	0/ 0	4/ 3	25/ 11
		Desquamation, Injection Site	105/ 5	338/ 13	621/ 19	574/ 20
	Necroscopy Observations		-	-	-	-
	Organ weight#	Epididymis (g), Left	0.66±0.051	0.65±0.064	0.62±0.071 (24)	0.58±0.074 (18)**
		Epididymis (g), Right	0.71±0.068	0.70±0.071	0.66±0.056 (24)*	0.61±0.053 (18)**
		Cauda Epid. (g), Left	0.3064±0.03450	0.2983±0.02647	0.2745±0.03120 (24)**	0.2557±0.03632 (18)**
		Cauda Epid. (g), Right	0.3174±0.03454	0.3081±0.03500	0.2925±0.03270 (24)*	0.2656±0.02702 (18)**
	Body Weight (%)#	Day31	399±29.5	+0.5	-4.5	-8.0**
	Body Weight Changes (g)#	Day30- 31	5±3.7	6±4.2	9±3.5	8±9.2
	Food Consumption (g/kg/day)#	Day30- 31	60±6.3	63±5.4 (24)	63±6.7	68±8.4 (24)**
	Mating Index (%)		100.0	100.0	96.0	96.0
	Fertility Index (%)		96.0	95.8	88.0	96.0
	Copulation Index (%)		96.0	95.8	91.7	100.0
	Sperm Evaluation		-	-	-	-

1)　Total occurrence/No. of animals, #: Mean±SD, ( ): No. of animals
*, **: Significantly different from the control group at 0.05 and 0.01, respectively, using Dunnett's test
G: gestation day, -: no noteworthy findings.

Study No.: DS-2011-016 (続き)

		Dose (mg/kg/day)	0	2.5	7.5	12.5
Females	Toxicokinetics: $C_{0.5hr}$[#]	First dose		835.95±184.38	3591.92±1284.63	6091.22±1199.41
		Fourth dose		925.23±223.14	3250.01±1220.39	6233.03±2038.36
	No. Evaluated		25	25	25	25
	No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0
	Clinical Observations [1)]	Dried Brown Material Ventral Abdominal Area	0/ 0	0/ 0	0/ 0	2/ 2
		Dried Yellow Material Ventral Abdominal Area	0/ 0	0/ 0	0/ 0	5/ 5
		Desquamation, Injection Site	0/ 0	47/ 6	396/ 16	351/ 18
	Body Weight Changes (g)[#]	Day12-31 (Pre-Mating Treatment Period)	27±9.6	30±9.7	20±9.1*	25±12.4
		Day0-12 (Gestation Treatment Period)	50±12.3	48±9.5	45±10.4	38±11**
		Day12-15 (Post-Treatment Period)	18±4.9	19±5	18±4.7	19±6.6
	Food Consumption (g/kg/day)[#]	Day30-31 (Pre-Mating Treatment Period)	69±7.4	71±7.4	70±8.9	73±9.3
	(g/animal/day)[#]	Day0-12 (Gestation Treatment Period)	23±2.2	23±2.9	22±2.4	22±2.2
		Day12-15 (Post-Treatment Period)	25±2.6	25±2.8	24±2.7	25±2.9
	Estrous Cycle Length (Days)[#]		4.0±0.30	4.0±0.34	4.0±0.20	4.2±0.42
	Pre-coital Intervals (Days)[#]		2.3±1.28	2.6±1.08	2.7±2.23	3.3±2.98
	No. Pregnant		24	24	23	25
	Corpora Lutea[#]		15.4±2.50	16.2±2.59	16.3±2.26	14.8±2.65
	Implantation Sites[#]		14.8±2.13	14.8±3.43	15.3±1.40	13.1±3.82
	Pre-implantation Loss (%)		3.7	8.8	4.6	13.0
Fetuses	Live Fetuses[#]		13.9±2.19	13.2±4.41	12.3±2.27	9.0 ±3.96**
	Resorption[#]		0.8±0.87	1.6±3.49	3.0±2.03	4.1±3.39
	Dead Fetuses		0	0	0	0
	Post-implantation Loss (%)		5.6	10.2	19.8**	31.4**
	Gross External Abnormalities		-	-	-	-

[1)] Total occurrence/No. of animals, #: Mean±SD

*, **: Significantly different from the control group at 0.05 and 0.01, respectively, using Dunnett's test

-: no noteworthy findings.

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

Study No.: DS-2011-002　　被験物質: Bendamustine Hydrochloride

Report Title: An Intravenous Study of the Effects of Bendamustine on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats

Design similar to ICH 4.1.2? Yes
Species/Strain: CD (SD) Rats
Initial Age: 13 weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Special Features: None

Duration of Dosing: Gestation days 7, 8, 14, and 15 and on lactation days 7, 8, 14, and 15
Method of Administration: Intravenous infusion over 30 minutes
Vehicle/Formulation: 0.9% saline

Study No.: DS-2011-002
Location in CTD: 4.2.3.5.3.1
GLP Compliance: Yes

No Observed Adverse Effect Level: F_0 Females; > 2.5 mg/kg/day, F_1 neonatal toxicity; 7.5 mg/kg/day, F_1; 12.5 mg/kg/day, F_2; 12.5 mg/kg/day

F0 Females		**Dose (mg/kg/day)**	0	2.5	5	7.5	12.5
	No. Pregnant		25	24	23	24	24
	No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	1	0	0
	Females with Total Litter Loss		0	0	0	0	0
	Clinical Observations [1)]	Desquamation, Injection Site	0/ 0	2/ 2	8/ 3	32/ 7	39/ 8
	Organ Weights[#]	Kidneys (g/100 g final body weight)	0.832±0.0661	0.883±0.0536*	0.877±0.0642*	0.888±0.0529**	0.904±0.0597**
	Microscopic Observations	Kidneys: Cytomegaly and Karyomegaly	0	9	23	24	24
		Hyperplasia, Atypical	0	0	0	2	2
	Hematology[#]	WBC (thous/µL)	11.31±2.999	9.02±2.611**	8.11±1.823**	7.84±2.146**	7.08±2.363**
		Lymph Absolute (thous/µL)	7.63±2.144	5.54±1.918**	3.97±0.856**	3.25±0.995**	2.37±0.859**
		Baso Absolute (thous/µL)	0.03±0.018	0.03±0.014	0.02±0.010	0.02±0.010*	0.02±0.009**
		Retic Absolute (thous/µL)	188.2±40.94	193.3±37.90	202.2±46.19	213.3±35.60	238.8±59.83**
		Neu Absolute (thous/µL)	3.07±1.086	2.96±0.904	3.58±1.553	4.05±1.707	4.18±1.823*
	Body Weight Change (g)[#]	G7-16 (Entire Gestation Treatment Period)	48±14.0	42±8.8	44±7.6	38±8.8**	32±9.2**
		G16-20	62±10.9	56±6.4	61±10.9	62±8.1	62±9.0
		L1-7	33±14.1	35±11.5	31±10.3	34±11.2	29±9.9
		L7-16 (Entire Lactation Treatment Period)	16±7.3	14±10.3	15±13.7	6±12.6*	6±14.0**
		L16-21	-8±13.3	-2±13.0	-4±11.9	2±12.7*	11±16.7**
	Food Consumption (g/animal/day)[#]	G7-16 (Entire Gestation Treatment Period)	22±2.9	22±2.7	22±2.1	21±2.1	20±2.2*
		G16-20	25±3.4	25±2.7	26±2.8	26±2.7	26±2.5
		L1-7	38±4.3	38±4.2	42±6.9	40±5.5	39±4.7

Study No.: DS-2011-002 (続き)

	L7-16 (Entire Lactation Treatment Period)	55±5.7	55±5.4	57±6.1	53±5.5	52±4.8
	L16-21	67±7.3	69±6.9	71±8.1	68±7.4	71±4.6
Gestation Length (days)[#]		21.7±0.48	21.6±0.50	21.8±0.51	21.7±0.48	21.5±0.51
Dystocia		0	0	1	0	0

[1)] Total occurrence/No. of animals
*, **: Significantly different from the control group at 0.05 and 0.01, respectively, using Dunnett's test
G: gestation day, L: lactation day, -: no noteworthy findings, thous: thousands, #: Mean±SD

Study No.: DS-2011-002 (続き)

		Dose (mg/kg/day)	0	2.5	5	7.5	12.5
F1 Litters (Pre-weaning)	No. Litters Evaluated		25	24	24	24	24
	No. Born#		15.0±2.51	14.8±2.02	15.0±2.79	15.1±1.82	14.9±2.15
	Live Litter Size (PND0)#		14.7±2.95	14.7±2.08	14.8±2.88	15.0±1.85	14.7±2.14
	Found Dead (litters)		19 (8)	8 (6)	13 (10)	20 (14)	9 (6)
	Sex at Birth (% males per litter)#		51.4±11.34	46.3±9.33	50.5±12.84	50.9±15.74	52.7±13.70
	Postnatal Survival (% per litter)#	Birth to PND4 (Pre-selection)	95.6±11.16	96.5±5.76	96.9±3.74	93.9±8.99	97.0±5.13
		PND4 (Post-selection) to PND21	97.0±6.54	99.0±3.53	98.4±5.72	95.8±7.96	100.0±0.00
	Clinical Observations		-	-	-	-	-
	Body Weights (g)#	PND1 Males	6.8±0.60	7.0±0.67	7.0±0.55	6.8±0.62	6.7±0.68
		Females	6.4±0.68	6.5±0.57	6.5±0.56	6.4±0.56	6.3±0.62
		PND7 Males	15.5±1.67	15.6±2.55	16.0±1.65	15.8±2.21	15.3±1.92
		Females	14.8±1.69	14.5±2.38	15.0±1.40	14.4±2.58	14.3±1.73
		PND21 Males	50.4±5.15	50.4±6.12	52.2±4.58	50.7±6.34	48.6±4.74
		Females	48.9±4.88	48.0±6.09	49.2±4.38	47.8±5.76	46.3±4.41
F1 Males (Post-weaning)	No. Evaluated Post Weaning		25	24	23	24	24
	No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0
	Balanopreputial Separation (PND)#		43.8±1.42	44.7±1.57	44.6±1.58	44.4±1.63	44.6±2.11
	Neurobehavioral Function [1)]		-	-	-	-	-
	Clinical Observations		-	-	-	-	-
	Necropsy Observations		-	-	-	-	-
	Body Weight Changes (g)#	PND28-84 (Pre-mating Period)	399±36.0	386±40.9	402±42.1	399±45.4	394±39.3
		PND28-126 (Entire Post-weaning Period)	513±51.6	503±51.9	518±56.8	522±60.1	512±56.0
	Mating Index (%)		88.0	95.8	95.7	95.7	95.8
	Fertility Index (%)		88.0	91.7	91.3	82.6	91.7

[1)] Evaluated by auditory startle response, locomotor activity and Biel maze swimming trials (swimming ability, learning and memory).
PND: post natal day, -: no noteworthy findings, #: Mean±SD

Study No.: DS-2011-002 (続き)

		Dose (mg/kg/day)	0	2.5	5	7.5	12.5
F1 Females (Post-weaning)	No. Evaluated Post Weaning		25	24	23	23	24
	No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0
	Vaginal Patency (PND)#		32.6±0.6	32.8±1.09	32.5±1.40	33.2±1.52	32.8±1.06
	Neurobehavioral Function [1)]		-	-	-	-	-
	Clinical Observations		-	-	-	-	-
	Necropsy Observations		-	-	-	-	-
	Body Weight Changes (g)#	PND28-84 (Pre-mating Period)	221±27.5	204±21.8	204±20.1	203±23.1*	201±24.5*
		G0-20	141±15.4	137±17.3	147±16.3	147±22.0	144±17.5
		L1-4	12±10.7	15±12.2	20±8.2	16±7.5	16±10.1
	Estrous Cycle Length (days)#		4.4±1.01	4.1±0.78	3.9±0.80	4.3±0.76	4.3±0.51
	No. Pregnant (%)		24 (100)	23 (95.8)	21 (95.5)	20 (87.0)	23 (95.8)
	Gestation Length (days)#		21.9±0.28	21.9±0.46	21.9±0.62	21.8±0.62	21.7±0.47
	Corpora Lutea#		16.4±2.52	16.5±1.86	16.6±1.59	16.6±2.48	15.9±2.29
	Implantation Sites#		15.5±2.09	15.0±2.42	15.8±1.79	15.5±2.16	14.9±2.30
	Post-implantation Loss#		0.8±0.94	1.1±1.28	0.8±1.33	1.2±1.24	0.8±0.85
F2 Litters	No. Born#		14.8±1.96	13.9±2.44	15.0±2.27	14.3±2.10	14.1±2.64
	Sex at Birth (% males per litter)#		55.4±10.94	50.2±14.66	49.6±10.49	46.3±13.27	52.3±13.11
	Live Litter Size (PND0)#		14.4±1.95	13.6±2.73	14.8±2.18	13.7±2.46	14.0±2.70
	Postnatal Survival (% per litter)#	Birth to PND4 (Pre-selection)	95.9±7.69	96.2±9.28	98.0±4.20	88.2±20.59	97.5±4.10
	Body Weight Changes (g)#	PND1-4 Males	2.4±0.69	3.0±0.62	2.9±0.78	2.9±0.87	2.9±0.63
		Females	2.2±0.78	2.8±0.73	2.7±0.68	2.7±0.89	2.7±0.64
	Gross External Abnormalities		-	-	-	-	-
	Necropsy Observations		-	-	-	-	-

[1)] Evaluated by auditory startle response, locomotor activity and Biel maze swimming trials (swimming ability, learning and memory).
*: Significantly different from the control group at 0.05 using Dunnett's test G: gestation day, L: lactation day, PND: post natal day, -: no noteworthy findings, #: Mean±SD