ムンデシンカプセル 100mg

第 2 部（モジュール 2）: CTD の概要（サマリー）

2.6.6　毒性試験の概要文

ムンディファーマ株式会社

目次

1　まとめ 6
2　単回投与毒性試験 9
3　反復投与毒性試験 10
3.1　マウス 10
3.1.1　マウス 21 日間反復経口投与試験 10
3.2　ラット 10
3.2.1　ラット 14 日間反復静脈内投与用量設定試験 10
3.2.2　ラット 28 日間反復静脈内投与試験 11
3.2.3　ラット 6 ヵ月間反復経口投与試験 12
3.3　サル 13
3.3.1　サル 14 日間反復静脈内投与試験 13
3.3.2　サル 28 日間反復経口及び静脈内投与試験 14
3.3.3　サル 6 ヵ月間反復経口投与試験 14
3.3.4　サル用量漸増及び 7 日間経口投与試験（MTD 試験） 15
3.3.5　サル 13 週間反復経口投与試験（追加試験） 16
4　遺伝毒性 17
4.1　*In vitro* 17
4.1.1　細菌を用いる復帰突然変異試験 17
4.1.2　*In vitro* 染色体異常試験 18
4.2　*In vivo* 18
4.2.1　*In vivo* ラット小核試験 18
5　がん原性試験 19
6　生殖発生毒性試験 19
6.1　受胎能及び初期胚発生試験 19
6.2　胚・胎児発生に関する試験 19
6.2.1　ラット用量設定試験 19

6.2.2　　ラット胚・胎児発生に関する試験 20

6.2.3　　ウサギ用量設定試験 21

6.2.4　　ウサギ胚・胎児発生に関する試験 22

6.3　　出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験 22

7　　局所刺激性試験 23

8　　その他の毒性試験 23

8.1　　フォロデシンのベンダムスチン及びリツキシマブとの併用投与試験 23

9　　考察及び結論 24

10　　図表 25

11　　参考文献 26

表目次

表 2.6.6- 1　フォロデシン塩酸塩の毒性試験プログラム.....9

表 2.6.6- 2　群構成.....23

略号一覧

略号	日本語	英語
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	aspartate aminotransferase
AUC	濃度－時間曲線下面積	area under the concentration time curve
$AUC_{0\text{-}12h}$	時間 0 から 12 時間までの濃度－時間曲線下面積	area under the concentration time curve from time 0 to 12 hour
$AUC_{0\text{-}24h}$	時間 0 から 24 時間までの濃度－時間曲線下面積	area under the concentration time curve from time 0 to 24 hour
AUC_{last}	時間 0 から濃度定量可能最終時点までの濃度－時間曲線下面積	area under the concentration time curve from time 0 to the last quantifiable time point
CHO	チャイニーズハムスター卵巣	chinese hamster ovary
C_{max}	最高血漿中濃度	maximum plasma concentration
dCK	2'-デオキシシチジンキナーゼ	deoxycytidine kinase
dGuo	2’-デオキシグアノシン	2’-deoxyguanosine
ECG	心電図	electrocardiogram
F	絶対的バイオアベイラビリティ	absolute bioavailability
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	Good Laboratory Practice
MPCE	小核を有する多染性赤血球	micronucleated polychromatic erythrocytes
MTD	最大耐量	maximum tolerated dose
NOAEL	無毒性量	no-observed adverse effect level
PCE/NCE	正染性赤血球数に対する多染性赤血球数の比	polychromatic erythrocytes/ normochromatic erythrocytes
PD	薬力学	pharmacodynamic
PNP	プリンヌクレオシドホスホリラーゼ	purine nucleoside phosphorylase
SD	-	Sprague-Dawley
TK	トキシコキネティクス	toxicokinetics

1　まとめ

フォロデシン塩酸塩（開発番号：BCX-1777、7-[(2*S*,3*S*,4*R*,5*R*)-3,4-Dihydroxy-5-(hydroxymethyl)pyrrolidin-2-yl]-1,5-dihydro-4*H*-pyrrolo[3,2-*d*]pyrimidin-4-one monohydrochloride）は、強力なプリンヌクレオシドホスホリラーゼ（PNP）の新規アナログ阻害剤である。フォロデシン塩酸塩は、再発又は難治性の末梢性 T 細胞リンパ腫治療薬で、フォロデシンとして 300 mg を 1 日 2 回経口投与する。

生体内で 2'-デオキシグアノシン（dGuo）を基質とする酵素には、PNP 及び 2'-デオキシシチジンキナーゼ（dCK）の 2 つがある。PNP は、dGuo の加リン酸分解を触媒し、グアニンとデオキシリボース-1-リン酸に代謝する。dCK は dGuo を 2'-デオキシグアノシン一リン酸（dGMP）に変換する。dGMP はキナーゼによってリン酸化され、最終的には 2'-デオキシグアノシン三リン酸（dGTP）になる。なお、dGuo は dCK よりも PNP に対して高い親和性を示すため、主に PNP によりリン酸化される［1］。

PNP 欠損症の小児患者では、PNP がほぼ皆無（<5%）であるため、血漿中 dGuo の蓄積とともに赤血球中 dGTP 濃度の上昇が認められ、T 細胞の枯渇が生じる［2］ことから、正常なヒト T 細胞増殖には PNP が必要であることが示唆される。フォロデシンによる PNP 阻害により、血漿中及び T 細胞内 dGuo 濃度が増加し、dGTP が T 細胞内に蓄積すると 2'-デオキシヌクレオチド（dNTP）プールの不均衡が生じ、アポトーシスによる細胞死が生じる。T 細胞は他の細胞と比較して細胞内キナーゼ活性が高く、ヌクレオチダーゼ活性が低いことから、細胞内で dGuo のリン酸化を行う細胞の大部分は T 細胞である。このように、フォロデシンは選択的に T 細胞増殖を抑制することから、T 細胞に起因する疾患である T 細胞白血病または T 細胞リンパ腫に対して有効性を示すことが期待されている。

フォロデシン塩酸塩は当初静脈内投与で開発が進められたことから、初期の毒性試験は静脈内投与で実施され、経口剤での開発に伴い、経口投与により検討された。

医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に適合した毒性試験として、マウスを用いた 21 日間経口反復投与毒性試験、ラット用いた 14 日間（静脈内）、28 日間（静脈内）及び 6 ヵ月間（経口）反復投与毒性試験、サルを用いた 14 日間（静脈内）、28 日間（静脈内及び経口）及び 6 ヵ月間（経口）反復投与毒性試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験を実施した。また、追加試験として、GLP 適合下で、サルを用いた経口投与での用量漸増及び 7 日間投与試験［最大耐量（MTD）試験］及び 13 週間反復投与毒性試験を実施した（表 2.6.6- 1）。なお、本項に示す毒性試験の投与量は特に記載のない限り、フォロデシン塩酸塩の投与量を記載した。

反復投与毒性試験には、特性が明らかな動物種である Sprague-Dawley（SD）及び Wistar ラット、カニクイザル並びに CD-1 マウスを使用した。また、PNP 阻害に対する感受性がイヌに比べて高いことから、非げっ歯類としてサルを選択した（2.6.2.2.1.1 項）。

マウス 21 日間経口投与試験（0、5 及び 50 mg/kg/日、1 日 1 回投与）では、投薬に関連した明らかな毒性は観察されず、無毒性量（NOAEL）は 50 mg/kg/日であった（本項 3.1.1 章）。

Wistar ラット 28 日間静脈内投与試験（10、30 及び 100 mg/kg/日、1 日 2 回投与）では、投薬に関連した死亡及び有害作用は観察されず、NOAEL は 30 mg/kg/日であった（本項 3.2.2 章）。

ラット 6 ヵ月間経口投与毒性試験（30、90 及び 270 mg/kg/日、1 日 1 回投与）では、30 mg/kg/日群で、胸腺のリンパ球壊死（雌）、骨髄細胞充実性亢進、脾臓重量高値を伴う脾臓のリンパ球過形成、腎臓（雌）及び尾部の炎症性変化、副腎重量高値を伴う副腎皮質過形成及び褐色色素沈着（雌）が認められ、NOAEL は 30 mg/kg/日未満であった。トキシコキネティクス（TK）試験では、フォロデシン曝露量は投与量増加に伴い投与量比を下回る増加を示し、概して雄より雌で高値であったが、性差及び反復投与による蓄積性はなかった。30 mg/kg/日投与時の時間 0 から濃度定量可能最終時点までの濃度－時間曲線下面積（AUC_{last}）は雄で 3291 ng·h/mL、雌で 3498 ng·h/mL（試験第 179 日）であった（本項 3.2.3 章）。

サル 28 日間経口及び静脈内投与毒性試験［10、30 及び 90 mg/kg/日（静脈内）並びに 90 mg/kg/日（経口）、1 日 1 回投与］では、90 mg/kg/日群（静脈内）で軽度の臨床検査値変動及び重度の胸腺のリンパ球枯渇が胸腺重量減少と共に観察されたことから、NOAEL は 30 mg/kg/日（静脈内投与）と判断した。90 mg/kg/日の経口投与も同様の所見を認めた。一方、90 mg/kg/日経口投与後の絶対的バイオアベイラビリティ（F）は約 6%であり、経口投与と比較して静脈内投与後の最高血漿中濃度（C_{max}）は 100 倍以上高値であった（本項 3.3.2 章）。

サル 6 ヵ月間経口投与毒性試験（13、39 及び 117 mg/kg/日、1 日 1 回投与）では、全投薬群で胸腺重量の低値、胸腺のリンパ球枯渇及び胸腺細胞のアポトーシス増加が認められ、39 mg/kg/日群以上の雌及び 117 mg/kg/日群の雄でリンパ球数の低値が観察されたが、これらの所見のほとんどは 28 日間の休薬期間により回復し、全ての所見はフォロデシンの薬理作用によるものであったことから、NOAEL は 117 mg/kg/日と判断した。フォロデシン曝露量は、投与量増加に伴い投与量比を下回る増加を示した。反復投与による蓄積性はなく、明らかな性差もなかった。NOAEL（117 mg/kg/日）での試験第 175 日の AUC_{last} は雌雄それぞれ 6964 及び 5457 ng·h/mL であった（本項 3.3.3 章）。

追加試験として経口投与によるサル MTD 試験及び 13 週間反復投与毒性試験を実施した。MTD 試験では、最大用量の 1440 mg/kg/日（720 mg/kg を 1 日 2 回）まで良好な忍容性を示した。軽度の白血球数の変動及びリンパ組織（特に胸腺を含む）の萎縮が認められ、いずれもフォロデシンの薬理作用に関連していた。用量補正した C_{max} 及び濃度－時間曲線下面積（AUC）の結果から、高用量では吸収の飽和が示唆された（本項 3.3.4 章）。フォロデシン塩酸塩の長期投与による影響をより詳細に評価するため、MTD 試験に基づき、最大 1440 mg/kg/日（720 mg/kg を 1 日 2 回）での 13 週間経口投与試験を実施した。本試験において全投薬群でみられたリンパ球数減少は、カニクイザルを用いたこれまでの毒性試験の所見と一致しており、薬理作用に関連するものであり、毒性学的意義はないと考えられる。病理組織学的検査において、胸腺萎縮が全投薬群で認められた。高用量を投与した数匹の動物で、リンパ組織過形成が認められた。リンパ組織過形成の意義は不明であったが、胸腺萎縮に対する二次的薬理作用の可能性が考えられた。休薬期間後の剖検に異常所見は観察されず、病理組織学的検査では部分的回復が認められた。TK 試験ではフォロデシンの全身曝露が確認され、曝露量（AUC 及び C_{max}）の増加は投与量比を下回った。フォロデシン曝露量は雄と比較して雌で高値であった。反復投与による蓄積性は認められ

なかった。したがって、投与に関連した所見はフォロデシンで想定される薬理作用に限定され、NOAEL は 1440 mg/kg/日と判断した。NOAEL におけるフォロデシンの試験第 90 日の時間 0 から 24 時間までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24h}$）は雌雄それぞれ 66178 及び 51493 ng·h/mL であった（本項 3.3.5 章）。

以上のとおり、マウス、ラット及びサルを用いた種々の反復投与毒性試験では、高曝露量でも臓器毒性は認められなかった。

一連の標準的 *in vitro* 及び *in vivo* 試験で遺伝毒性は認められず（本項 4 章）、妊娠ラット及びウサギを用いた発生毒性試験で催奇形性も認められなかった（本項 6.2 章）。

その他の毒性試験として、サルを用いて、臨床で併用の可能性があるベンダムスチン（静脈内投与）及びリツキシマブ（静脈内投与）とフォロデシン（経口投与）の併用投与毒性試験を実施した。その結果、フォロデシン／リツキシマブ又はフォロデシン／リツキシマブ／ベンダムスチン併用投与の忍容性は良好であり、毒性学的に意義ある所見を認めなかった（本項 8.1 章）。

結論として、広範囲のフォロデシン塩酸塩での毒性試験結果に、臨床使用を妨げるような有害作用は認められなかった。

表 2.6.6-1　フォロデシン塩酸塩の毒性試験プログラム

試験の種類、試験系及び期間	試験番号	投与経路	GLP 適否	被験物質
反復投与毒性				
マウス／21 日間	806-010	経口 [a]	適	FDS·HCl
ラット／14 日間	806-014	静脈内 [b]	適 [c]	FDS·HCl
	806-015	静脈内 [b]	適 [c]	FDS·HCl
	P00-001-012	静脈内 [b]	否	FDS·HCl
ラット／28 日間	708D-101-530-03	静脈内 [b]	適 [c]	FDS·HCl
ラット／6 ヵ月間	WIL-196041	経口 [a]	適	FDS·HCl
サル／14 日間	806-013	静脈内 [b]	適 [c]	FDS·HCl
サル／28 日間	806-017	静脈内及び経口 [a]	適 [c]	FDS·HCl
サル／6 ヵ月間	WIL-196042	経口 [a]	適	FDS·HCl
サル／用量漸増及び 7 日間	FDS-TOXICOL-001	経口 [b]	適	FDS·HCl
サル／13 週間	FDS-TOXICOL-002	経口 [b]	適	FDS·HCl
遺伝毒性				
細菌を用いた復帰突然変異試験				
（*S. typhimurium* 菌及び *E.coli* 菌）	P00-001-004	*In vitro*	適	FDS·HCl
In vitro 染色体異常試験				
（ヒトリンパ球）	39/001	*In vitro*	適	FDS·HCl
（CHO 細胞）	19046	*In vitro*	否	FDS·HCl
In vivo ラット小核試験	39/002	静脈内	適	FDS·HCl
生殖発生毒性試験				
胚・胎児発生試験				
ラット／用量設定試験	KRS00001	静脈内 [a]	適	FDS·HCl
ラット／胚・胎児発生試験	KRS00002	静脈内 [a]	適	FDS·HCl
ウサギ／用量設定試験	KRS00003	静脈内 [a]	適	FDS·HCl
ウサギ／胚・胎児発生試験	KRS00004	静脈内 [a]	適	FDS·HCl
その他の毒性試験				
サル／ベンダムスチン及びリツキシマブとの併用投与試験	FDS-TOXICOL-004	経口 [a]	適	FDS·HCl

a：1 日 1 回、b：1 日 2 回、c：TK 試験は GLP 非適合
CHO 細胞：チャイニーズハムスター卵巣細胞、FDS·HCl：フォロデシン塩酸塩、GLP：Good Labolatory Practice

2　単回投与毒性試験

独立した試験は実施していない。しかし、ラット 6 ヵ月間及びサル 13 週間反復経口投与毒性試験において、それぞれ最高用量である 270 mg/kg/日（1 日 1 回）及び 1440 mg/kg/日（1 日 2

回）投与で投薬に関連した死亡は認められなかった。したがって、ラット及びサルにおける経口投与での概略の致死量はそれぞれ 270 mg/kg 及び 720 mg/kg を超えると考えられた。

3　反復投与毒性試験

3.1　マウス

3.1.1　マウス 21 日間反復経口投与試験

（試験番号 806-010、添付資料 4.2.3.2.1、評価資料）

CD-1 マウス（対照群及び高用量群：雄 10 匹／群、低用量群：雄 5 匹／群）にフォロデシン塩酸塩 0（溶媒）、5 及び 50 mg/kg/日を 1 日 1 回 21 日間経口投与し、毒性を検討した。溶媒には 0.5%カルボキシメチルセルロースを使用した。投与期間終了後、各群雄 5 匹を剖検した。対照群及び高用量群は、残る各群雄 5 匹を 14 日間の休薬期間後剖検し、回復性を検討した。生死及び一般状態観察、体重測定、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量測定、剖検並びに病理組織学的検査（対照群及び高用量群）を実施した。

投薬に関連した明らかな毒性は観察されず、NOAEL は 50 mg/kg/日と判断した。50 mg/kg/日群で対照群と比較して赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の軽度低値が観察されたが、休薬期間後、対照群との差は認められなかった。50 mg/kg/日群で心臓重量が軽度高値であったが、関連した病理組織学的検査所見は観察されなかった。

3.2　ラット

3.2.1　ラット 14 日間反復静脈内投与用量設定試験

（試験番号 806-014、添付資料番号 4.2.3.2.2、参考資料）
（試験番号 806-015、添付資料番号 4.2.3.2.3、参考資料）
（試験番号 P00-001-012、添付資料番号 4.2.3.2.4、参考資料）

GLP 下で、SD ラット 14 日間反復静脈内投与毒性試験をクエン酸緩衝生理食塩液又は乳酸加リンゲル液を溶媒として実施した。クエン酸緩衝生理食塩液を溶媒として実施した試験では、SD ラット（雌雄各 10 匹／群）にフォロデシン塩酸塩 0、0.3、3.0、30 及び 300 mg/kg/日を約 12 時間間隔で 1 日 2 回 14 日間静脈内投与した。投与容量は 10 mL/kg とした（試験番号 806-014）。乳酸加リンゲル液を溶媒として実施した試験では、フォロデシン塩酸塩 0、10、30、100 及び 300 mg/kg/日を SD ラット（雌雄各 10 匹／群）に同様に投与した（試験番号 806-015）。その結果、クエン酸緩衝生理食塩液を溶媒とした試験では、0、0.3、3.0、30 及び 300 mg/kg/日の各投与群でぞれぞれ雄 1 匹、雄 4 匹、雄 5 匹雌 1 匹、雄 2 匹及び雄 9 匹雌 6 匹が死亡し、0.3 mg/kg/日群の雌 1 匹を切迫屠殺した。一方、乳酸加リンゲル液を溶媒とした試験に死亡は認められなかった。乳酸加リンゲル液又はクエン酸緩衝生理食塩液を溶媒としてフォロデシン塩酸塩をラット（雌雄各 5 匹／群）に反復静脈内投与し、溶媒の影響を比較検討した試験（試験番号 P00-001-

012、GLP 非適合）では、0、3 及び 300 mg/kg/日の 14 日間静脈内投与で、クエン酸緩衝生理食塩液を使用した場合に死亡例（300 mg/kg/日投与群の雄 2 匹及び雌 1 匹、並びに溶媒対照群の雌 1 匹）がみられたが、乳酸加リンゲル液を溶媒とした場合には死亡例は観察されなかった。これらの所見から、クエン酸緩衝生理食塩液（10 mL/kg）は毒性があり、300 mg/kg/日で作用が増強する可能性が示唆された。死亡を認めなかった乳酸加リンゲル液を溶媒とした試験番号 806-015 試験では、毒性所見として主に 100 mg/kg/日以上の群で赤血球パラメーター及び血小板数の低値、白血球数の高値、また、腎臓、肝臓、脾臓及び肺重量増加などが観察された。病理組織学的検査では、全投薬群で脾臓での髄外造血、胸腺細胞のアポトーシス、種々の臓器の炎症性変化（亜急性炎症／細胞浸潤）が観察され、30 mg/kg/日以上の群で脾臓のリンパ球過形成が観察された。

3.2.2　ラット 28 日間反復静脈内投与試験

（試験番号 708D-101-530-03、添付資料番号 4.2.3.2.5、参考資料）

Wistar ラット（対照群及び高用量群：雌雄各 7 匹／群、低及び中用量群：雌雄各 5 匹／群）にフォロデシン塩酸塩 0（溶媒）、10、30 及び 100 mg/kg/日を約 12 時間間隔で 1 日 2 回 28 日間静脈内投与し、毒性を検討した。溶媒は乳酸加リンゲル液とした。投与期間終了後、各群雌雄各 5 匹を剖検した。対照群及び高用量群は、残る各群雌雄各 2 匹を 21 日間の休薬期間後剖検し、回復性を検討した。生死及び一般状態観察、体重及び摂餌量測定、身体検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量測定、剖検並びに病理組織学的検査（対照群及び高用量群並びに途中死亡動物）を実施した。

TK 及び薬力学（PD）評価のため、サテライト群のラット（投薬群：雌雄各 8 匹／群）を追加し、試験第 1、8 及び 28 日に、フォロデシンの血漿中濃度を測定した。さらに、血漿中 dGuo 濃度も測定した。

投薬に関連した死亡は観察されなかった。毒性評価動物の 30 mg/kg/日群の雄 1 匹が試験第 10 日に死亡した。死因は溶媒又は投与手技に関連した血栓塞栓髄膜脳炎であった。サテライト群の 30 mg/kg/日群の雄 2 匹雌 1 匹及び 100 mg/kg/日群の雄 2 匹雌 3 匹を死亡又は切迫屠殺した。サテライト群の動物の死因は採血によるストレス及び投与レジメンに関連すると考えられた。100 mg/kg/日群雄にヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値がみられた。総タンパク質及びグロブリン濃度の低値が全投薬群の雄に、血清アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）の高値が 100 mg/kg/日雌雄に、コレステロールの低値が 30 mg/kg/日群雌及び 100 mg/kg/日群雌雄に認められた。剖検に投薬に関連した所見は観察されなかった。臓器重量測定では、100 mg/kg/日群雄で腎臓、肝臓、肺及び甲状腺／副甲状腺の絶対重量及び対体重比に高値が認められた。病理組織学的検査では、膵臓及び腎臓の間質での間質細胞浸潤及び肝臓のクッパー細胞突出が用量に依存して観察された。観察された所見はいずれも回復性を示した。

TK 及び PD 評価では、フォロデシン曝露量［C_{max} 及び時間 0 から 12 時間までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}12h}$）］は投与量増加に伴い増加した。dGuo の $AUC_{0\text{-}12h}$ 及び C_{max} も投与量増加に伴い増加した。

以上の結果から、NOAEL は 30mg/kg/日と判断した。NOAEL でのフォロデシンの $AUC_{0\text{-}12h}$ は 19660 ng·h/mL（試験第 28 日、雌雄合算）であった。

3.2.3　ラット 6 ヵ月間反復経口投与試験

（試験番号 WIL-196041、添付資料番号 4.2.3.2.6、評価資料）

SD ラット（対照群及び高用量群：雌雄各 30 匹／群、低及び中用量群：雌雄各 20 匹／群）にフォロデシン塩酸塩 0（溶媒）、30、90 及び 270 mg/kg/日を 1 日 1 回 6 ヵ月間経口投与し、毒性を検討した。溶媒は脱イオン水とした。投与期間終了後、各群雌雄各 20 匹を剖検した。対照群及び高用量群は、残る各群雌雄各 10 匹について 28 日間の休薬期間を設定し、回復性を検討した。生死及び一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量測定、剖検並びに病理組織学的検査を実施した。

TK 及び PD 評価のため、サテライト群のラット（投薬群：雌雄各 10 匹／群）を追加し、試験第 0（投与初日）、88 及び 179 日に、フォロデシン及び dGuo の血漿中濃度を測定した。

投薬に関連した死亡は観察されなかった。90 mg/kg/日群の雄 2 匹及び雌 1 匹が死亡した。90 mg/kg/日群の雄 1 匹の死因は尿管閉塞であった。他の 2 匹の死因は投与過誤と推察された。また、270 mg/kg/日群の雄 1 匹を尾部外傷による状態悪化のため切迫屠殺した。体重、摂餌量、血液生化学的検査及び眼科学的検査に投薬の影響は観察されなかった。一般状態観察では、投薬に関連した所見として全投薬群で尾部の落屑、肛門性器部及び泌尿生殖器部の痂皮形成、膨張及び赤色化並びに耳介部の赤色化及び膨張が観察された。これらの所見は、概して用量関連性があり、休薬期間終了時には消失した。

血液学的検査では、270 mg/kg/日群雌に軽微な好酸球数の低値がみられたのみで、白血球数及びリンパ球数に投薬による変動は観察されなかった。

病理組織学的検査では、リンパ系組織において、胸腺のリンパ球壊死が全投薬群の雌に観察され、270 mg/kg/日群雌の胸腺萎縮に関連した。胸腺のリンパ球壊死は 270 mg/kg/日群雄にも認められた。骨髄細胞充実性亢進が全投薬群の雌雄で認められた。脾臓重量高値を伴う脾臓のリンパ球過形成が全投薬群の雌雄で観察され、雌では褐色色素沈着を伴った。

また、単核球浸潤及び炎症がいくつかの臓器で観察された。腎臓の炎症性変化は全投薬群の雌及び 90 mg/kg/日群以上の雄で観察され、これに関連して尿比重増加を伴う尿量減少が全投薬群の雌で、腎臓重量の高値が 270 mg/kg/日群雌で認められた。肝臓では 90 mg/kg/日群以上の雌及び 270 mg/kg/日群雄に観察され、雌では肝臓重量の高値を伴った。心臓では 270 mg/kg/日群雌雄で観察され、雌では心臓重量の高値を伴った。尾部の炎症性変化は全投薬群の雌雄で観察された。肺では 90 mg/kg/日群以上の雌及び 270 mg/kg/日群雄に観察された。耳介部の炎症性変化は 90 mg/kg/日群以上の雌雄で観察された。膵臓では 270 mg/kg/日群雌雄で観察され、雌では膵外分泌細胞の単細胞壊死を伴った。

このほか、副腎重量高値を伴う副腎皮質過形成及び褐色色素沈着が全投薬群雌に観察された。肝臓のうっ血が 90 mg/kg/日群以上の雄で認められ、甲状腺の C 細胞過形成が 270 mg/kg/日群雄で認められた。

28 日間の休薬期間後も 270 mg/kg/日群で低頻度かつ重症度が低いものの投薬に関連した次の所見が観察された：骨髄細胞充実性亢進、脾臓重量高値（雌）、肺の炎症性変化（雌）、副腎皮質過形成及び褐色色素沈着（雌）並びに肝臓のうっ血（雌）。

フォロデシン曝露量（AUC_{last} 及び C_{max}）は、30～270 mg/kg/日の用量範囲でいずれの測定時点でも投与量増加に伴い増加したが、投与量比を下回った。フォロデシン曝露量（AUC_{last} 及び C_{max}）は、概して雄より雌で高値であったが、性差は 2 倍未満であった。反復投与による増加も 2 倍未満であった。

dGuo の AUC_{last} 及び C_{max} は、30～270 mg/kg/日の用量範囲で、試験第 88 日の雄の C_{max} が 30 mg/kg/日より 90 mg/kg/日で軽度低値であった以外、投与量増加に伴い増加したが、投与量比を下回った。dGuo の AUC_{last} 及び C_{max} の性差は、試験第 88 日で雌の AUC_{last} が雄の 2.5 倍（一部は雌の投与 24 時間後の個体間差によるとみられる）であった以外、2 倍未満であった。試験第 0 日で雌雄同程度か、軽度に雌より雄で高値であった以外、概して雄より雌で高値であった。反復投与による増加は、雌では 2 倍未満であった。一方、雄では試験第 88 日と比較して試験第 0 日の AUC_{last} 及び C_{max} はそれぞれ 3 倍及び 2 倍高値であったが、試験第 88 日及び 179 日の AUC_{last} 及び C_{max} の差はいずれも 2 倍未満であった。

以上のとおり、本試験では主に胸腺のリンパ球壊死、脾臓重量増加を伴う脾臓のリンパ球過形成、骨髄細胞充実性亢進、耳介、心臓、腎臓、肝臓、肺及び尾部の炎症性変化並びに褐色色素沈着を伴う副腎皮質過形成が観察された。28 日間の休薬期間後も骨髄細胞充実性亢進が 270 mg/kg/日群雌雄で観察され、雌では脾臓重量高値、肺の炎症性変化、慢性進行性腎症、肝臓のうっ血、並びに副腎皮質の過形成及び褐色色素沈着が観察された。本試験の NOAEL は 30 mg/kg/日未満であった。30 mg/kg/日投与時のフォロデシンの AUC_{last} は雄で 3291 ng·h/mL、雌で 3498 ng·h/mL（試験第 179 日）であった。

3.3　サル

3.3.1　サル 14 日間反復静脈内投与試験

（試験番号 806-013、添付資料 4.2.3.2.7、参考資料）

カニクイザル（雌雄各 3 匹／群）にフォロデシン塩酸塩 0（溶媒）、7、20、60 及び 180 mg/kg/日を少なくとも 12 時間間隔で 1 日 2 回 14 日間静脈内投与し、毒性を検討した。溶媒はクエン酸緩衝生理食塩液とした。生死及び一般状態観察、体重測定、身体検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、TK 及び PD（高用量群のみ）、臓器重量測定、剖検並びに病理組織学的検査（対照群及び高用量群、胸腺は全群）を実施した。

試験第 10 日に対照群の雄 1 匹が死亡した以外、試験期間中、死亡は認められなかった。一般状態観察、身体検査、体重、尿検査及び剖検に投薬の影響はみられなかった。投薬に関連した軽度の赤血球数、ヘマトクリット値及びヘモグロビン量の低値が 180 mg/kg/日群の雌雄に観察された。赤血球数及びヘモグロビンの低値は 60 mg/kg/日群の雌にも観察された。AST の高値（180 mg/kg/日の雌で対照群と比較して 60%高値）並びに全投薬群の雌雄で用量関連性の胸腺重

量低値が観察され、関連した病理所見（リンパ球枯渇）を伴った。しかし、リンパ球壊死は観察されず、対照群を含む全群で軽度のアポトーシスが認められた。アポトーシスはストレスによるコルチコステロイド遊離に関連した所見と推察される。TK 試験ではフォロデシンの高い血漿中曝露量が確認され、反復投与による蓄積性はなかった。血漿中 dGuo 濃度は初回投与後速やかに上昇し、4 時間後以降は 0.5 μg/mL 以上であった。

3.3.2　サル 28 日間反復経口及び静脈内投与試験

（試験番号 806-017、添付資料番号 4.2.3.2.8、評価資料）

カニクイザル（雌雄各 3 匹／群）に 1 日 1 回 28 日間、フォロデシン塩酸塩を 0（溶媒）、10、30 及び 90 mg/kg/日を静脈内投与又は 90 mg/kg/日を経口投与し、毒性を検討した。投与溶媒にはそれぞれ乳酸加リンゲル液及び注射用滅菌水を使用した。90 mg/kg/日の静脈内投与及び経口投与群には 1 群雌雄各 2 匹を追加し、2 週間の休薬期間後の回復性を検討した。生死及び一般状態観察、体重測定、眼科学的検査、身体検査、心電図（ECG）、血液学的検査、血液生化学的検査、凝固系検査、尿検査、臓器重量測定、剖検並びに病理組織学的検査（対照群及び高用量群）を実施した。TK 及び PD 評価のため、90 mg/kg/日群（静脈内及び経口投与）の動物から試験第 1 及び 28 日に採血し、フォロデシン及び dGuo 濃度を測定した。

死亡、一般症状、体重、眼科学的検査、身体検査、ECG、尿検査及び剖検に投薬に関連した所見は認められなかった。血液学的検査及び血液生化学的検査では、静脈内投与の 90 mg/kg/日群雄に好中球数減少（60%）が認められ、経口及び静脈内投与の 90 mg/kg/日群雄にクレアチニン上昇（1.4 倍）が認められたが、回復群では、いずれの所見も認められなかった。病理組織学的検査では、全投薬群で胸腺のリンパ球枯渇が観察され、90 mg/kg/日群（静脈内及び経口投与）で重症化がみられた。関連する所見として全投薬群で胸腺の絶対及び相対重量の中等度減少が観察された。回復群では、胸腺のリンパ球枯渇は観察されなかったが、重症度は軽減したものの 90 mg/kg/日群（静脈内及び経口投与）で胸腺重量減少は遷延した。

TK 及び PD 評価では、経口投与後の F は約 6%であり、経口投与と比較して静脈内投与後の C_{max} は 100 倍以上高値であったが、90 mg/kg/日の経口及び静脈内投与後の dGuo 反応に明らかな差は認められなかった。

以上のとおり、本試験では、90 mg/kg/日群（静脈内投与）で軽度の臨床検査値変動及び重度の胸腺のリンパ球枯渇が胸腺重量減少と共に観察されたことから、NOAEL は 30 mg/kg/日（静脈内投与）と判断した。90 mg/kg/日の経口投与も同様の所見を認めた。胸腺重量減少は休薬期間終了後も認められた。

3.3.3　サル 6 ヵ月間反復経口投与試験

（試験番号 WIL-196042、添付資料番号 4.2.3.2.9、評価資料）

カニクイザル（対照群及び高用量群：雌雄各 6 匹／群、低及び中用量群：雌雄各 4 匹／群）にフォロデシン塩酸塩 0（溶媒）、13、39 及び 117 mg/kg/日を 1 日 1 回 6 ヵ月間経口投与し、毒性

を検討した。溶媒は脱イオン水とした。投与期間終了後、各群雌雄各 4 匹を剖検した。対照群及び高用量群は、残る各群雌雄各 2 匹を 28 日間の休薬期間後剖検し、回復性を検討した。生死及び一般状態観察、体重測定、摂餌量測定（定性的）、眼科学的検査、ECG、血液学的検査、血液生化学的検査、凝固系検査、尿検査、臓器重量測定、剖検、病理組織学的検査並びに免疫組織学的検査（回腸パイエル板及び胸腺）を実施した。TK 及び PD 評価のため、全ての動物から試験第 0、87 及び 175 日に採血し、フォロデシン及び dGuo 濃度を測定した。

死亡、一般症状、体重、摂餌量、眼科学的検査、ECG、血液生化学的検査及び尿検査に投薬に関連した所見は認められなかった。血液学的検査では、投与期間中、全投薬群の雌雄で白血球数の低値が観察され、39 mg/kg/日群以上の雌及び 117 mg/kg/日群の雄でリンパ球数の低値が観察された。回復群では、白血球数及びリンパ球数は 117 mg/kg/日群及び対照群の値に差がなかった。

胸腺重量（絶対並びに対体重比及び対脳重量比）の低値が全投薬群の雌雄で認められ、剖検では 39 mg/kg/日群の雄及び全投薬群の雌で胸腺の小型化が、病理組織学的検査では全投薬群の雌雄に胸腺のリンパ球枯渇が認められた。これら胸腺の所見は薬理作用によると考えられた。回復群では、117 mg/kg/日群雄の胸腺重量に対照群との差はみられなかったが、雌では依然低値であった。免疫組織学的検査では、TUNEL 法により全投薬群の胸腺で対照群と比較して細胞のアポトーシスが増加した。休薬期間終了後、胸腺に病理組織学的変化は認められなかった。

フォロデシン曝露量（AUC_{last} 及び C_{max}）は、13～117 mg/kg/日の用量範囲でいずれの評価日でも投与量増加に伴い増加したが、投与量比を下回った。雌雄共に反復投与による蓄積性はみられなかった。39 及び 117 mg/kg/日群では、雌雄共に反復投与による C_{max} の軽度低下が認められた。曝露量（AUC_{last} 及び C_{max}）に明らかな性差は認められなかった。

dGuo の AUC_{last} 及び C_{max} は、13～117 mg/kg/日の用量範囲で、ほぼ投与量増加に伴い増加したが、投与量比を下回った。試験第 87 日の dGuo 濃度は、雌雄いずれも試験第 0 日と比較して低下傾向を示したが、試験第 175 日では試験第 87 日と比較して増加した。dGuo 濃度に明らかな性差は認められなかった。

以上のとおり、本試験では、全投薬群で胸腺重量の低値、胸腺のリンパ球枯渇及び胸腺細胞のアポトーシス増加が認められた。胸腺に認められたこれらの変化及び関連する病理組織学的検査所見並びに 39 mg/kg/日群以上の雌及び 117 mg/kg/日群の雄で観察されたリンパ球数の低値は、フォロデシンの薬理作用に一致した。これらの所見のほとんどは 28 日間の休薬期間により回復し、全ての所見は PNP 阻害による T 細胞抑制に関連したことから、NOAEL は 117 mg/kg/日と判断した。NOAEL におけるフォロデシンの試験第 175 日の AUC_{last} は雌雄それぞれ 6964 及び 5457 ng·h/mL、C_{max} は 623 及び 565 ng/mL であった。

3.3.4　サル用量漸増及び 7 日間経口投与試験（MTD 試験）

（試験番号 FDS-TOXICOL-001、添付資料番号 4.2.3.2.10、評価資料）

経口投与後のヒト全身曝露量におけるフォロデシンの安全域を確認するためにサル用量漸増及び 7 日間経口投与試験を実施した。

用量漸増試験（第 1 期）では、雌雄各 2 匹のカニクイザルに、フォロデシン塩酸塩 120 mg/kg/日を 1 日 1 回 3 日間経口投与した後、120、360 及び 720 mg/kg の用量でそれぞれ 1 日 2 回 3 日間経口漸増投与した（ぞれぞれ 240、720 及び 1440 mg/kg/日）。溶媒には精製水を使用した。各投与は 4 日間の休薬期間を設けた。用量固定試験（第 2 期）では、雌雄各 2 匹のカニクイザルに 720 mg/kg の用量で 1 日 2 回 7 日間経口投与した（1440 mg/kg/日）。TK 評価のため、用量漸増試験ではすべての投与群で投与 2 日目に、用量固定試験では投与 1 及び 7 日目に採血し、フォロデシン濃度を測定した。さらに、21 日間の休薬期間後の第 1 期に使用した雌雄各 2 匹及び新たな雌雄各 2 匹のカニクイザルを用いて曝露確認試験（第 3 期）を実施した。曝露確認試験では 120 mg/kg 単回投与後の血漿中濃度を測定した。

全例に対し、死亡及び一般状態観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、骨髄検査を実施した。さらに、用量固定試験動物は剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

1440 mg/kg/日（720 mg/kg の 1 日 2 回）の 7 日間投与まで、忍容性は良好であった。試験期間中、死亡は認められず、一般状態観察、体重、摂餌量、血液生化学的検査、臓器重量に投薬に関連した所見も認められなかった。血液学的検査では白血球数の変動が観察された。特に用量漸増試験及び用量固定試験のそれぞれ雌 1 匹に薬理作用に関連したリンパ球数の低値が観察された。剖検では胸腺の小型化（雄 1 匹及び雌 2 匹）が観察された。病理組織学的検査では、リンパ組織、脾臓、腸間膜及び下顎リンパ節、パイエル板並びに特に胸腺の萎縮が散見された。胸腺萎縮は剖検での胸腺の小型化に関連した。リンパ組織の萎縮はアポトーシス小体及び染色性マクロファージを伴うリンパ様細胞枯渇として特徴付けられた。

フォロデシンの全身曝露は用量依存的であったが非線形性を示し、高用量では吸収の飽和が示唆された（用量漸増試験）。反復投与後の蓄積性はみられなかった（用量固定試験）。

以上のとおり、本試験条件下では、1440 mg/kg/日（720 mg/kg の 1 日 2 回）の 7 日間投与まで忍容性は良好であった。観察された白血球数の変動及びリンパ組織の萎縮は軽度であり、薬理作用に関連すると考えられた。本試験の結果から、次の 13 週間投与試験の高用量に 1440 mg/kg/日（720 mg/kg の 1 日 2 回）を選択した。

3.3.5　サル 13 週間反復経口投与試験（追加試験）

（試験番号 FDS-TOXICOL-002、添付資料番号 4.2.3.2.11、評価資料）

カニクイザル（雌雄各 4 匹／群）にフォロデシン塩酸塩を 0（精製水）、240、600 及び 1440 mg/kg/日の用量で、1 日 2 回 13 週間経口投与した。さらに、対照群及び高用量群は、雌雄各 4 匹／群を追加して投与期間終了後 4 週間の休薬期間を設定し、遅発毒性及び回復性を検討した。生死及び一般状態観察、体重測定、摂餌量測定（定性的）、TK 測定、眼科学的検査、ECG、血液学的検査、血液生化学的検査、凝固系検査、骨髄検査、尿検査、臓器重量測定、剖検並びに病理組織学的検査を実施した。TK 評価のための血液試料は試験第 1、22 及び 90 日に採取した。

試験期間中、死亡は認められなかった。600 mg/kg/日群の雌 1 匹に、試験第 57～58 並びに 70～74 日に皮膚の乾燥が観察された。本所見は通常観察される一般症状ではないが孤発性であり

投薬に関連しない所見と考えられた。蒼白化した便が 1440 mg/kg/日群の雌の多くに観察され、同群の雄及び 600 mg/kg/日群の雌（1 匹のみ）にも観察された。また、試験第 3 週から 13 週に全投薬群に床敷きに鮮黄色の汚染物又は尿が観察されたが、毒性学的意義は不明である。

体重又は体重増加量に重要な影響はみられなかった。試験第 1～4 週の雄の体重増加量に有意な用量反応性（$p<0.05$）が認められ、試験第 1～13 週における 1440 mg/kg/日群の雄の体重増加量が対照群と比較して有意に高値であったが、投与期間終了時の対照群及び 1440 mg/kg/日群の雄の体重は類似した。その他の投薬群の雄及び全投薬群の雌の体重に同様の所見はなかった。

血液学的検査、血液生化学的検査、凝固系検査及び尿検査に毒性学的意義ある所見は認められなかった。全投薬群で白血球数及びリンパ球数の減少が認められたが、本所見は薬理作用に関連した所見であり、毒性学的に重要とはみなさなかった。眼科学的検査、ECG 及び臓器重量に投薬の影響は認められなかった。剖検では、全投薬群で胸腺の小型化が観察され、各投薬群の雄 1 匹に胸腺の暗色化が認められた。病理組織学的検査では全投薬群に胸腺萎縮が観察された。1440 mg/kg/日群の動物数匹でリンパ系（下顎／腸間膜リンパ節及び脾臓）にリンパ組織過形成が認められた。1440 mg/kg/日群の雌 1 匹でいくつかのリンパ節に中等度のリンパ組織過形成が観察された以外、本所見の重症度は軽度であった。

回復群動物の剖検に投薬に関連した所見は観察されなかった。病理組織学的検査では、1440 mg/kg/日群の雄 2 匹の脾臓に軽度のリンパ組織過形成が観察されたが、胸腺萎縮は認められず、投与終了時に観察された所見の回復性が示唆された。

TK 試験では、フォロデシンの全身曝露（AUC 及び C_{max}）の増加は投与量比を下回った。いずれの投薬群にも反復投与による蓄積性は認められなかった。同用量でのフォロデシン曝露量は雄と比較して雌で高値であった。

以上のとおり、本試験で観察された所見はいずれもフォロデシンの薬理作用に関連した所見であり、NOAEL は 1440 mg/kg/日と判断した。NOAEL におけるフォロデシンの試験第 90 日の $AUC_{0\text{-}24h}$ は雌雄それぞれ 66178 及び 51493 ng·h/mL、C_{max} は 5041 及び 3483 ng/mL であった。

4　遺伝毒性

4.1　*In vitro*

4.1.1　細菌を用いる復帰突然変異試験

（試験番号 P00-001-004、添付資料番号 4.2.3.3.1.1、参考資料）

Salmonella typhimurium 株（TA98、TA100、TA1535、TA1537）及び *Escherichia coli* 株 WP2 *uvrA* を用いて S9mix 存在下又は非存在下、フォロデシン塩酸塩 5000 µg/プレートまでの濃度で、復帰突然変異試験を実施した。フォロデシンは、全ての細菌株で S9mix の存在下及び非存在下のいずれにおいても 5000 µg/プレートの濃度まで復帰変異コロニー数を有意に増加させなかった。陽性対照及び溶媒対照（水）の結果は本試験の基準に適合していた。以上のとおり、本試験条件下ではフォロデシンは変異原性を示さなかった。

4.1.2　*In vitro* 染色体異常試験

（試験番号 39/001、添付資料番号 4.2.3.3.1.2、評価資料）
（試験番号 19046、添付資料番号 4.2.3.3.1.3、参考資料）

ヒト末梢リンパ球を用いて、S9mix 存在下又は非存在下、フォロデシンの染色体異常誘発性を検討した（試験番号 39/001）。注射用水を溶媒及び陰性対照に使用した。細胞毒性試験結果に基づき、濃度を選択した。最初の試験（試験 1）では、S9mix 存在下又は非存在下共に、細胞を 256、800 及び 2500 µg/mL のフォロデシン塩酸塩と duplicate で 4～5 時間培養し、処理開始 24 時間後に染色体標本を作製した。2 回目の試験（試験 2）では、S9mix 非存在下、細胞をフォロデシン塩酸塩と duplicate で 24 又は 48 時間培養し、それぞれ処理開始 24 又は 48 時間後に染色体標本を作製した。フォロデシン塩酸塩の濃度はそれぞれ 784、1400 及び 2500 µg/mL（24 時間処理）並びに 138、246 及び 439 µg/mL（48 時間処理）とした。さらに、試験 2 では、S9mix 存在下、細胞を 784、1400 及び 2500 µg/mL のフォロデシン塩酸塩と duplicate で 4～5 時間培養し、処理開始 48 時間後に染色体標本を作製した。いずれも各標本の 100 個の分裂中期細胞の染色体異常を評価した。その結果、S9mix 非存在下、24 時間処理において、染色体の構造異常及び異数性（数的異常）が、観察された。S9mix 非存在下、48 時間処理並びに、S9mix 存在下又は非存在下での短時間（4～5 時間）処理では、影響は認められなかった。いずれの試験でも陰性対照及び陽性対照の結果は本試験の基準に適合していた。

以上のとおり、本試験条件下ではフォロデシンはヒト末梢リンパ球に対し染色体異常誘発性を認めた。本作用は、ヒトリンパ球におけるフォロデシンの選択的薬理作用、すなわち、アポトーシス誘導に関連するものであり、遺伝性ではない（すなわち、致死的であり、娘細胞に遺伝しない）と考えられる。

なお、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた非 GLP 試験では、S9mix 存在下（6 時間処理）又は非存在下（24 時間処理）のいずれにおいても、5000 µg/mL の濃度まで染色体異常誘発性は認められなかった（試験番号 19046）。

4.2　*In vivo*

4.2.1　*In vivo* ラット小核試験

（試験番号 39/002、添付資料番号 4.2.3.3.2.1、評価資料）

SD ラット（雌雄各 5 匹／群）にフォロデシン塩酸塩を 1 日 2 回 4 時間間隔で 2 日間連日静脈内投与し、小核試験を実施した。用量設定試験の結果に基づき、投与量は 188、336 及び 600 mg/kg/日とした。溶媒は乳酸加リンゲル液を使用した。適切な陰性対照（乳酸加リンゲル液）及び陽性対照（60 mg/kg のシクロフォスファミドを単回腹腔内投与）を用いた。投与 24 時間及び 48 時間後に骨髄標本を作製し、正染性赤血球数に対する多染性赤血球数の比（PCE/NCE）及び小核を有する多染性赤血球（MPCE）を評価した。フォロデシンは、投与 24

時間及び 48 時間後のいずれにおいても陰性対照群と比較して MPCE に有意な上昇を認めなかった。PCE/NCE 比にも有意な変化はなかった。陽性対照は適切な反応を示した。

以上のとおり、フォロデシンは本試験条件下で小核試験の結果は陰性であった。

5　がん原性試験

フォロデシン塩酸塩は重篤かつ生命を脅かすがんの患者の治療を目的としているため、がん原性試験は実施しなかった。

6　生殖発生毒性試験

6.1　受胎能及び初期胚発生試験

フォロデシン塩酸塩は重篤かつ生命を脅かすがんの患者の治療を目的としているため、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施しなかった。

6.2　胚・胎児発生に関する試験

6.2.1　ラット用量設定試験

（試験番号 KRS00001、添付資料番号 4.2.3.5.2.1、評価資料）

SD 妊娠ラット（8 匹／群）にフォロデシン塩酸塩を妊娠 7～17 日まで 1 日 1 回静脈内投与し、用量設定試験を実施した。フォロデシン塩酸塩は 0（溶媒）、15、30、60 及び 120 mg/kg/日の用量で投与した。溶媒は注射用生理食塩液を使用した。母動物は妊娠 21 日に剖検し、子宮内検査及び胎児検査（胎児体重、性比及び外観検査）を実施した。

試験期間中、母動物死亡は認められなかった。15 mg/kg/日群以上の母動物に鼻部の腫脹及び 15、30 及び 60 mg/kg/日群に四肢の腫脹が観察された。これらの所見は一過性で遷延せず、被験物質の薬理作用によると考えられた。母動物の剖検所見に異常はなかった。120 mg/kg/日群では、投与開始後 3 日間に 33%までの体重増加抑制が観察され、19%の摂餌量低下もみられた。体重及び摂餌量への影響も一過性で遷延しなかった。120 mg/kg/日の用量まで子宮内検査及び胎児パラメーター並びに胎児の外観に投薬の影響は認められなかった。

以上の結果より、ラット胚・胎児発生毒性試験のフォロデシン塩酸塩の投与量には 15、45 及び 120 mg/kg/日を選択した。

6.2.2　ラット胚・胎児発生に関する試験

（試験番号 KRS00002、添付資料番号 4.2.3.5.2.2、評価資料）

SD 妊娠ラット（25 匹／群）にフォロデシン塩酸塩を 0（溶媒）、15、45 及び 120 mg/kg/日の用量で妊娠 7～17 日まで 1 日 1 回静脈内投与し、胚・胎児発生に関する試験を実施した。溶媒は注射用生理食塩液を使用した。母動物は死亡及び一般状態観察、体重及び摂餌量測定を実施した。母動物は妊娠 21 日に剖検し、子宮内検査及び胎児検査（胎児体重、性比並びに外観、内臓及び骨格検査）を実施した。

投薬に関連した母動物死亡は認められなかった。45 mg/kg/日群の母動物 1 匹に切迫早産の兆候を認めたため、妊娠 20 日に剖検し、子宮内検査を実施した。本所見は、用量関連性がなく、切迫早産は予定外妊娠の結果であると考えられたことから、投薬に関連しないと判断した。全投薬群の母動物（15、45 及び 120 mg/kg/日群でそれぞれ 25 匹中 13、19 及び 17 匹）で、投与初日に一過性の鼻部の腫脹の有意な発現増加が観察された。さらに、45 mg/kg/日群以上の母動物（45 及び 120 mg/kg/日群でそれぞれ 25 匹中 7 及び 10 匹）で、1 又は 2 日間の一過性の耳介（両側又は片側）の腫脹が観察された。これらの所見はフォロデシンの薬理作用によると考えられた。剖検に投薬の影響はみられなかった。対照群と比較して 45 mg/kg/日群以上の母動物で妊娠 10～12 日に体重増加抑制が観察され、120 mg/kg/日群では引き続き妊娠 12～15 日にも体重増加抑制が観察された。投与期間後半（妊娠 15～18 日）には統計学的に有意な体重増加量の高値が認められたため、投与期間全体の体重増加量は対照群と比較して同程度か 45 mg/kg/日群以上で高値であった。投与後（妊娠 18～21 日）の体重増加量は、対照群と比較して、全投薬群で低値であった。対照群と比較して 45 mg/kg/日群以上で投与開始後 3 日間の絶対及び相対摂餌量の低値が観察された。本所見は一過性で遷延しなかった。いずれの群にも子宮内検査及び胎児パラメーターに投薬の影響は認められなかった。120 mg/kg/日群において、尾椎及び後肢中足骨に対照群と比較して有意な骨化遅延が観察された。120 mg/kg/日群まで胎児の外観、内臓及び骨格検査に奇形や変異は観察されなかった。

以上の結果から、母動物の NOAEL は 15 mg/kg/日と判断した。45 mg/kg/日群以上で投与初期の一過性の体重増加抑制及び摂餌量低下が認められた。全投薬群で認められた一過性の鼻部の腫脹及び 45 mg/kg/日群以上で認められた一過性の耳介の腫脹は薬理作用によると考えられた。胎児の発育に関する NOAEL は 45 mg/kg/日と判断した。120 mg/kg/日群で認められた尾椎及び後肢の中足骨の有意な骨化遅延は母動物毒性に関連すると推察される。

本試験においてフォロデシンに催奇形性は認められなかった。

6.2.3　ウサギ用量設定試験

（試験番号 KRS00003、添付資料番号 4.2.3.5.2.3、評価資料）

A)　忍容性試験

雌性 New Zealand White ウサギ（3 匹／群）に、15、30、60 及び 120 mg/kg/日のフォロデシン塩酸塩を 1 日 1 回 5 日間（試験第 1～5 日）静脈内投与し、忍容性を検討した。溶媒には注射用生理食塩液を使用し、ウサギは試験第 6 日に剖検した。

試験期間中、死亡は認められなかった。30 mg/kg/日群以上で一過性の鼻部の腫脹が観察され、120 mg/kg/日群の 1 匹に運動量低下、ケージ床の糞便量減少又は糞便なしが観察され、同群の他の 1 匹では身づくろいの低下が認められた。投与期間中、120 mg/kg/日群に体重減少が観察され、他の投薬群と比較して摂餌量低下も観察された。摂餌量は 15 及び 30 mg/kg/日群と比較して、60 mg/kg/日群でも低下した。剖検所見に異常は認められなかった。

以上の結果から、妊娠ウサギを用いた用量設定試験には、15、45 及び 120 mg/kg/日の用量を選択した。

B)　用量設定試験

New Zealand White 妊娠ウサギ（5 匹／群）に 0（溶媒）、15、45 及び 120 mg/kg/日のフォロデシン塩酸塩を妊娠 7～19 日まで 1 日 1 回静脈内投与し、用量設定試験を実施した。溶媒には注射用生理食塩液を使用した。母動物は死亡及び一般状態観察、体重及び摂餌量測定を実施し、妊娠 7、13 及び 19 日に TK 及び PD 評価のためにフォロデシン及び dGuo の血漿中濃度を測定した。母動物は妊娠 29 日に剖検し、子宮内検査及び胎児検査（胎児体重、性比及び外観検査）を実施した。

試験期間中、死亡は認められず、一般状態観察及び剖検に投薬の影響は認められなかった。投与期間中、45 mg/kg/日群以上の母動物に体重増加抑制が認められた。120 mg/kg/日群では、投与開始後 3 日間に体重減少が認められた。投与終了後数日間（妊娠 20～24 日）にも用量依存性のない体重増加抑制が 45 mg/kg/日群以上に認められた。120 mg/kg/日群では摂餌量低下も観察された。120 mg/kg/日の用量まで子宮内検査及び胎児パラメーター並びに胎児の外観に投薬の影響は認められなかった。フォロデシン曝露量（AUC_{last} 及び C_{max}）は 15～45 mg/kg/日の用量範囲では投与量増加に比例して増加したが、45～120 mg/kg/日の用量範囲では投与量比を上回る増加を示した。フォロデシン及び dGuo に蓄積性はなかった。dGuo の AUC_{last} 及び C_{max} は、15 及び 45 mg/kg/日の用量で同程度であり、120 mg/kg/日で増加した。dGuo 曝露量は投与量比を下回る増加を示した。

以上の結果から、ウサギ胚・胎児発生毒性試験のフォロデシン塩酸塩の投与量には、15、45 及び 120 mg/kg/日を選択した。

6.2.4　ウサギ胚・胎児発生に関する試験

（試験番号 KRS00004、添付資料番号 4.2.3.5.2.4、評価資料）

New Zealand White 妊娠ウサギ（20 匹／群）に 0（溶媒）、15、45 及び 120 mg/kg/日のフォロデシン塩酸塩を妊娠 7～19 日まで 1 日 1 回静脈内投与し、胚・胎児発生に関する試験を実施した。溶媒には注射用生理食塩液を使用した。TK 及び PD 評価のため、サテライト群のウサギ（3 匹／群）を追加し、妊娠 7、13 及び 19 日に TK 評価のためにフォロデシン及び dGuo の血漿中濃度を測定した。母動物は死亡及び一般状態観察、体重及び摂餌量測定を実施した。母動物は妊娠 29 日に剖検し、子宮内検査及び胎児検査（胎児体重、性比並びに外観、内臓及び骨格検査）を実施した。

試験期間中、母動物に死亡は観察されなかった。認められた一般症状は、120 mg/kg/日群での投与中の啼鳴及び糞便量減少に限られた。120 mg/kg/日群において、投与期間中及び投与後に対照群と比較して体重増加抑制が観察され、摂餌量低下も認められた。妊娠 7～29 日の体重増加量は対照群と比較して 120 mg/kg/日群で 18%低値を示した。また、妊娠 7～20 日の摂餌量は 15、45 及び 120 mg/kg/日群でそれぞれ対照群の 107、104 及び 89%であった。120 mg/kg/日群まで子宮内検査及び胎児パラメーターに投薬の影響は認められなかった。胎児の外観、内臓及び骨格検査では、120 mg/kg/日群まで投薬に関連した所見（奇形及び変異）は認められなかった。しかし、15 mg/kg/日群以上で、可逆性の尾椎、前肢中足骨及び前肢指節骨に骨化遅延が観察された。120 mg/kg/日群の尾椎の骨化は、対照群と比較して有意に低値であった。さらに、前肢中足骨及び前肢指節骨の骨化はそれぞれ 15 及び 45 mg/kg/日以上の群で対照群と比較して有意に低値であった。これらの値は施設の背景値の範囲を下回っていた。フォロデシン曝露量（AUC_{last} 及び C_{max}）は 15～45 mg/kg/日の用量範囲では投与量増加に比例して増加したが、45～120 mg/kg/日の用量範囲では投与量比を上回る増加を示した。フォロデシンに反復投与による蓄積性はなかった。dGuo の AUC_{last} は、15～120 mg/kg/日の用量範囲で増加したが、投与量比を下回る増加であった。

以上の結果から、母動物の NOAEL は 45 mg/kg/日と判断した。NOAEL におけるフォロデシンの C_{max} は 14325 ng/mL、AUC_{last} は 45724 ng·h/mL であった。120 mg/kg/日群で投与中の一過性の啼鳴並びに投与期間及び投与後の体重増加抑制及び摂餌量低下が認められた。胎児の発育に関する NOAEL は 15 mg/kg/日と判断した。胎児の発育遅延は、45 mg/kg/日群以上で可逆性の尾椎及び前肢中足骨及び前肢指節骨に骨化遅延が観察された。15 mg/kg/日群で観察された所見は、前肢中足骨の骨化遅延のみであったことから、有害とはみなさなかった。

本試験においてフォロデシンに催奇形性は認められなかった。

6.3　出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験

フォロデシン塩酸塩は重篤かつ生命を脅かすがんの患者の治療を目的としているため、出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験は実施しなかった。

7　局所刺激性試験

該当する試験なし。

8　その他の毒性試験

8.1　フォロデシンのベンダムスチン及びリツキシマブとの併用投与試験

（試験番号 FDS-TOXICOL-004、添付資料番号 4.2.3.7.7.1、評価資料）

雌性カニクイザル（5 匹／群）にフォロデシンをベンダムスチン及びリツキシマブと併用投与したときの機能的影響及び毒性を検討した。群構成を表 2.6.6- 2 に示す。

表 2.6.6- 2　群構成

	被験物質
第 1 群	リツキシマブ
第 2 群	フォロデシン塩酸塩／リツキシマブ
第 3 群	リツキシマブ／ベンダムスチン塩酸塩
第 4 群	フォロデシン塩酸塩／リツキシマブ／ベンダムスチン塩酸塩

フォロデシン塩酸塩は、120 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 31 日間経口投与した。フォロデシン塩酸塩非投与群には水を同様に投与した。リツキシマブは、試験第 1 及び 29 日にそれぞれ 31.25 及び 41.66 mg/kg の用量で、ベンダムスチン塩酸塩は 5.83 mg/kg を試験第 1、2、29 及び 30 日にいずれも静脈内投与した。いずれの動物にもフォロデシン塩酸塩又は水、リツキシマブ、ベンダムスチン塩酸塩の順に投与した。各群 3 匹を試験第 32 日に剖検した。残る各群 2 匹は 4 週間の休薬期間後剖検し、回復性を検討した。本試験は、フォロデシンを含まない既存の治療法に対するフォロデシン併用時の毒性の相乗作用を検討する目的で実施したことから、溶媒対照群は設定しなかった。

死亡及び一般状態観察、体重、摂餌量、血圧、ECG、体温、呼吸数、TK、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査を実施した。概して、第 2 群は第 1 群と、第 4 群は第 3 群とそれぞれ比較検討した。

一般状態観察、体重、体温及び摂餌量に投薬の影響は認められなかった。第 4 群の 1 匹を右足の外傷により回復期間中に切迫屠殺した（試験第 27 日）。孤発性の嘔吐及び流涎増加が観察されたが、投薬との関連はなかった。心血管系パラメーター、血液生化学的検査、尿検査に投薬の影響は認められなかった。投薬に関連した唯一の所見として、リンパ球数の低値が認められ、相対的に単球数及び顆粒球数が増加した。絶対的単球数及び顆粒球数は正常値の範囲内であったことから、これらの細胞型への影響は薬剤の直接作用ではないと考えられた。第 1 群及び第 2 群ではリンパ球数低値は試験第 3 日に最も重度であり、その後回復した。第 3 群及び第 4 群では投与期間中の回復は認められなかった。本所見はリツキシマブの B 細胞抑制作用によると考えられるが、第 3 群及び第 4 群の投与終了時のリンパ球数が最も低値を示したことから、ベンダムスチン

の細胞増殖抑制作用の関連も示唆された。フォロデシンによる相加作用は認められなかった。いずれの群も休薬期間終了時にはリンパ球数は正常に回復した。フォロデシン投与に関連した臓器重量への影響は認められなかった。病理組織学的検査では、第 3 群及び第 4 群の動物において、ベンタムスチンのラット及びイヌにおける毒性学的標的臓器である腎臓に所見が観察された。第 3 群では、尿細管の核大小不同、尿細管細胞の単細胞壊死、尿細管細胞及び集合管細胞の有糸分裂が観察された。さらに、乳頭集合管の肥大が第 3 群の 3 匹中 2 匹に観察され、うち 1 匹に尿細管拡張が認められた。第 4 群では、尿細管の核大小不同及び尿細管細胞の単細胞壊死が観察された。さらに、第 4 群の 3 匹中 1 匹に尿細管細胞及び集合管細胞の有糸分裂、尿細管拡張及び乳頭集合管の肥大が認められた。全群で、様々な頻度及び重症度の脾臓及び腸間膜／下顎リンパ節のリンパ球枯渇及び胸腺萎縮が観察されたが、これらの所見は被験物質の過度の薬理作用によると考えられた。回復群動物では、第 3 群の動物及び第 4 群の切迫屠殺例で腎臓での尿細管の核大小不同が観察され、第 4 群の動物では尿細管拡張を伴った。これらの所見は、腎病変の回復が不完全であることを示している。脾臓、リンパ節及び胸腺でリンパ球枯渇又は萎縮が全群で数匹に認められた。これらの所見は、被験物質の過度の薬理作用が、回復期間中に完全には回復しなかったことを示している。

29 日間の試験期間にわたりフォロデシンの TK パラメーターに変化はみられなかった。フォロデシンの C_{max}、最高血漿中濃度到達時間及び AUC にリツキシマブ／ベンダムスチン又はリツキシマブ併用による影響は認められなかった。フォロデシンの血漿中消失半減期はリツキシマブ併用時（第 2 群）と比較して、リツキシマブ／ベンダムスチン併用（第 4 群）で低値であったが、個体値のばらつきによると考えられる。

以上のとおり、フォロデシン／リツキシマブ又はフォロデシン／リツキシマブ／ベンダムスチン併用投与の忍容性は良好であり、フォロデシンの追加併用投与による毒性学的に意義ある所見を認めなかった。循環血リンパ球減少並びに脾臓及び腸間膜／下顎リンパ節のリンパ球枯渇及び胸腺萎縮が全群で観察されたが、これらの所見は被験物質の過度の薬理作用によると考えられた。フォロデシンを追加で併用投与することにより、観察された所見（リンパ球枯渇、病理組織学的な腎病変）が重症化することはなかった。

9　考察及び結論

フォロデシン塩酸塩のラット、マウス及びサルを用いた種々の反復投与毒性試験では、主に高用量群で赤血球数の低値並びにヘモグロビン濃度及びヘマトクリットの低値がみられ、その程度はいずれも軽微であった。これらの所見は休薬期間終了時には消失しており、フォロデシンの薬理作用に基づく赤血球 PNP 阻害による二次的な赤血球代謝回転の亢進によるもので、毒性を意味するものではないと考えられた。

SD ラット 14 日間静脈内投与毒性試験では、しばしば炎症性変化が観察された。高用量投与群の雌雄いずれでも、投与に関連した亜急性炎症／細胞浸潤などの炎症性変化が、種々の臓器に認められた。脾臓リンパ球過形成及び胸腺細胞のアポトーシスは用量依存的に増加した。腎臓、肝臓、脾臓及び肺重量が投与に関連して増加し、病理組織学的所見とおおむね相関していた。

Wistar ラット 28 日間静脈内投与毒性試験では、膵臓及び腎臓の間質組織の細胞浸潤及び肝臓のクッパー細胞突出が用量依存的にみられたが、これらの変化は明らかな回復性を示した。高用量群の雄で認められた腎臓、肝臓、肺及び甲状腺／副甲状腺重量の増加も回復性を示した。SD ラット 6 ヵ月間経口投与毒性試験では、胸腺のリンパ球壊死、脾臓の重量増加を伴うリンパ球過形成、骨髄細胞充実性亢進、耳介、心臓、腎臓、肝臓、肺、膵臓、尾部の炎症性変化、及び副腎皮質の褐色色素を伴う過形成などの炎症作用がみられた。28 日間の休薬期間後も、明らかな骨髄細胞充実性亢進、脾臓重量高値、肺の炎症性変化、慢性進行性腎症、肝臓のうっ血並びに副腎皮質過形成及び褐色色素沈着がみられた。

カニクイザルを用いた 14 日間、28 日間及び 6 ヵ月間反復投与試験並びに MTD 試験及び 13 週間反復投与試験において、胸腺の小型化及び胸腺重量低下が認められ、関連した病理組織学的所見としてリンパ球減少が認められた。胸腺への影響はフォロデシンの薬理作用、すなわち、T リンパ球のアポトーシスに関連することから、毒性変化ではないと考えられた。

フォロデシンの薬理作用にはリンパ球のアポトーシス誘導が関与することから、種々のラット毒性試験でみられた炎症性変化は、単核球／マクロファージの遊走により遊離したサイトカイン及び免疫機能の低下に伴う非特異的な影響であると考えられる。サルを用いた毒性試験では、炎症性変化は認められなかった。

フォロデシンの遺伝毒性を、細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験及びラット骨髄小核試験を実施して評価した（いずれも GLP 適合）。ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験では、S9mix 非存在下、24 時間処理により構造異常及び異数性（数的異常）が誘発された。しかし、本所見はヒトリンパ球におけるフォロデシンの選択的薬理作用、すなわち、アポトーシス誘導に関連するものであり、遺伝性ではない（すなわち、致死的であり、娘細胞に遺伝しない）と考えられた。CHO 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験（非 GLP）及びラット骨髄小核試験で染色体異常誘発性が観察されなかったことから、総合的に判断して、フォロデシンに遺伝毒性はないと判断した。

ラット及びウサギ胚・胎児発生試験では、フォロデシンに催奇形性作用は認められず、子宮内検査及び胎児パラメーターに投薬の影響は認められなかった。ラット及びウサギにおいて、骨化遅延が観察されたが、母動物毒性のみられる用量に限られた。

サルを用いたフォロデシン／リツキシマブ又はフォロデシン／リツキシマブ／ベンダムスチン併用投与試験では、忍容性は良好であり、フォロデシンの追加併用投与による毒性学的に意義ある所見を認めなかった。

結論として、広範囲のフォロデシン塩酸塩での毒性試験結果に、臨床使用を妨げるような有害作用は認められなかった。

10 図表

表は文中に挿入した。

11　参考文献

1　Bantia S, Miller PJ, Parker CD, Ananth SL, Horn LL, et al. Purine nucleoside phosphorylase inhibitor BCX-1777 (Immucillin-H)-a novel potent and orally active immunosuppresive agent. Int Immunopharmacol 2001; 1:1199–1210. (4.3.2)

2　Markert ML. Purine nucleoside phosphorylase deficiency. Immunodef Rev 1991; 3:45–81. (4.3.7)

ムンデシンカプセル 100mg

第 2 部（モジュール 2）: CTD の概要（サマリー）

2.6.7　毒性試験概要表

ムンディファーマ株式会社

目次

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス： トキシコキネティクス試験の一覧表 7
2.6.7.3 トキシコキネティクス： トキシコキネティクス試験成績の一覧表（経口投与 TK 試験のみ） 8
2.6.7.4 毒性試験： 使用したロット 9
2.6.7.5 単回投与毒性試験 11
2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験 12
2.6.7.7 反復投与毒性試験 21
2.6.7.7.1 ラット 6 ヵ月間投与試験 21
2.6.7.7.2 サル 6 ヵ月間投与試験 29
2.6.7.7.3 サル 13 週間投与試験 33
2.6.7.8 遺伝毒性試験： *In Vitro* 36
2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 36
2.6.7.8.2 哺乳類細胞を用いる染色体異常試験 39
2.6.7.9 遺伝毒性：*In Vivo* 43
2.6.7.9.1 ラット小核試験 43
2.6.7.10 がん原性試験： 重要な試験以外の試験 44
2.6.7.11 がん原性試験 44
2.6.7.12 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験 45
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：受胎能及び初期胚発生に関する試験 47
2.6.7.14 生殖発生毒性試験： 胚・胎児発生に関する試験 48
2.6.7.14.1 ラット胚・胎児発生に関する試験 48
2.6.7.14.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験 51
2.6.7.15 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 54
2.6.7.16 新生児を用いた試験 54
2.6.7.17 局所刺激性試験 54

2.6.7.18　その他の毒性試験 55

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表

Test Article: Forodesine hydrochloride

Type of Study Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location
Repeated-Dose Toxicity							
Mouse / CD-1	Oral (Once daily)	21 days	0, 5, 50	Yes	[redacted] USA	806-010	4.2.3.2.1
Rat / SD	IV (Twice a day)	14 days	0, 0.3, 3.0, 30, 300	Yes	[redacted] USA	806-014 (P00-001-010 [f])	4.2.3.2.2
Rat / SD	IV (Twice a day)	14 days	0, 10, 30, 100, 300	Yes	[redacted] USA	806-015 (P01-001-003 [f])	4.2.3.2.3
Rat / SD	IV (Twice a day)	14 days	0, 3, 300	No	[redacted] USA	P00-001-012	4.2.3.2.4
Rat / Wistar	IV (Twice a day)	28 days	0, 10, 30, 100	Yes	[redacted] USA	708D-101-530-03 (P03-001-001 [f])	4.2.3.2.5
Rat / SD	Oral (Once daily)	6 months	0, 30, 90, 270	Yes	[redacted] USA	WIL-196041	4.2.3.2.6
Monkey / Cynomolgus	IV (Twice a day)	14 days	0, 7, 20, 60, 180	Yes	[redacted] USA	806-013 (P00-001-009 [f])	4.2.3.2.7
Monkey / Cynomolgus	IV and Oral (Once daily)	28 days	IV: 0, 10, 30, 90 Oral: 90	Yes	[redacted] USA	806-017	4.2.3.2.8
Monkey / Cynomolgus	Oral (Once daily)	6 months	0, 13, 39, 117	Yes	[redacted] USA	WIL-196042	4.2.3.2.9

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表（続き）

Test Article: Forodesine hydrochloride

Type of Study Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location
Monkey / Cynomolgus	Oral (Once or twice a day)	Ascending dose: 3 days Fixed dose: 7 days Exposure confirmation phase: 1 day	Ascending dose: 120 (Once a day), 240, 720, 1440 (Twice a day) Fixed dose: 1440 Exposure confirmation phase: 120 (single dose)	Yes	[redacted] England	FDS-TOXICOL-001	4.2.3.2.10
Monkey / Cynomolgus	Oral (Twice a day)	13 weeks	0, 240, 600, 1440	Yes	[redacted] England	FDS-TOXICOL-002	4.2.3.2.11
Genotoxicity							
Ames/bacteria	*In vitro*	NA	33 – 5000 µg/plate	Yes	[redacted] USA	P00-001-004	4.2.3.3.1.1
Chromosome Aberration /human lymphocyte	*In vitro*	NA	up to 2500 µg/mL	Yes	[redacted] France	39/001	4.2.3.3.1.2
Chromosome Aberration /CHO cell	*In vitro*	NA	20 - 5000 µg/mL	No	[redacted] Scotoland	19046	4.2.3.3.1.3
In Vivo Micronucleus assay /rat	IV (Twice a day)	2 days	0, 188, 336, 600	Yes	[redacted] France	39/002	4.2.3.3.2.1
Embryofetal Developmental Toxicity							
Rat / SD	IV (Once daily)	GD 7 - 17	0, 15, 30, 60, 120	Yes	[redacted] US	KRS00001	4.2.3.5.2.1

2.6.7.1 毒性試験：　一覧表（続き）

Test Article: Forodesine hydrochloride

Type of Study Species / Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location
Rat / SD	IV (Once daily)	GD 7 - 17	0, 15, 45, 120	Yes	[redacted] US	KRS00002	4.2.3.5.2.2
Rabbit / New Zealand White	IV (Once daily)	Tolerability: 5 days Dose-finding: GD 7 - 19	Tolerability: 15, 30, 60, 120 Dose-finding: 0, 15, 45, 120	Yes	[redacted] US	KRS00003	4.2.3.5.2.3
Rabbit / New Zealand White	IV (Once daily)	GD 7 - 19	0, 15, 45, 120	Yes	[redacted] US	KRS00004	4.2.3.5.2.4
Other Toxicity: Others/ Combination repeat dose safety study							
Monkey / Cynomolgus	Oral (Once daily)	31 days	120	Yes	[redacted] Germany	FDS-TOXICOL-004	4.2.3.7.7.1

[a] Unless otherwise specified, for Repeated-Dose Toxicity, the highest No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) is underlined.
[b] An entry of "Yes" indicates that the study was performed in compliance with GLP.
[c] TK analysis was conducted at [redacted] USA and not performed in compliance with GLP.
[d] TK analysis was conducted at [redacted] USA and performed in compliance with GLP.
[e] TK analysis was conducted at [redacted] UK and performed in compliance with GLP.
[f] TK study number
CHO = Chinese hamster ovary, GD = gestation day, GLP = Good Laboratory Practice, IV = intravenous, NA = not applicable

2.6.7.2 トキシコキネティクス： トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: Forodesine hydrochloride

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose (mg/kg/day)	GLP[a]	Study Number	Location
14-day repeated dose toxicity study	SD rat	IV (Twice a day)	300	No	P00-001-010	4.2.3.2.2
14-day repeated dose toxicity study	SD rat	IV (Twice a day)	100	No	P01-001-003	4.2.3.2.3
28-day repeated dose toxicity study	Wistar rat	IV (Twice a day)	10, 30, 100	No	P03-001-001	4.2.3.2.5
6-month repeated dose toxicity study	SD rat	Oral (Once daily)	30, 90, 270	Yes	WIL-196041	4.2.3.2.6
14-day repeated dose toxicity study	Cynomolgus monkey	IV (Twice a day)	180	No	P00-001-009	4.2.3.2.7
28-day repeated dose toxicity study	Cynomolgus monkey	IV and Oral (Once daily)	90 (IV and Oral)	No	806-017	4.2.3.2.8
6-month repeated dose toxicity study	Cynomolgus monkey	Oral (Once daily)	13, 39, 117	Yes	WIL-196042	4.2.3.2.9
Ascending dose and 7-day repeated dose toxicity study	Cynomolgus monkey	Oral (Twice a day)	120, 240, 720, 1440 (ascending dose) 1440 (7-day dose) 120 (single dose)	Yes	FDS-TOXICOL-001	4.2.3.2.10
13-week repeated dose toxicity study	Cynomolgus monkey	Oral (Twice a day)	240, 600, 1440	Yes	FDS-TOXICOL-002	4.2.3.2.11
Dose range-finding study for effects on embryofetal development	New Zealand White rabbit	IV (Once daily)	15, 45, 120	Yes	KRS00003	4.2.3.5.2.3
Effects on embryofetal development study	New Zealand White rabbit	IV (Once daily)	15, 45, 120	Yes	KRS00004	4.2.3.5.2.4

[a] An entry of "Yes" indicates that the study was performed in compliance with GLP.
GLP = Good Laboratory Practice, IV = intravenous, SD = Sprague-Dawley

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表（経口投与 TK 試験のみ）

	Steady State Forodesine $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg•h/mL)				
Method of administration	Oral				
Species	Rat		Monkey		Human
Gender	M	F	M	F	M/F
Dosage (mg/kg/day)					
10 (300 mg/body, bid, as free base)					11.250[f]
13			2.529[b]	2.522[b]	
30	3.291[a]	3.498[a]			
39			3.779[b]	4.048[b]	
90	8.207[a]	9.128[a]	6.313[c]	7.771[c]	
117			5.457[b]	6.964[b]	
240 (120 mg/kg, bid)			19.645[d]	28.089[d]	
270	14.910[a]	23.331[a]			
600 (300 mg/kg, bid)			34.672[d]	49.121[d]	
1440 (720 mg/kg, bid)			51.493[d], 47.700[e]	66.178[d], 73.600[e]	

[a] Study Number WIL-196041
[b] Study Number WIL-196042
[c] Study Number P03-001-056
[d] Study Number FDS-TOXICOL-002
[e] Study Number FDS-TOXICOL-001
[f] Clinical Study Report BCX-1777-116
bid = Twice a day

2.6.7.4 毒性試験： 使用したロット

Test Article: Forodesine hydrochloride

Drug Substance Batch No.	Purity (%)	Specified impurity (NMT, %)										Study Number	Type of Study
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j		
Proposed Specification:	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	NA	NA
SPW-245-132	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	806-010	21-day oral toxicity study in mice
TLH-350-46A	[redacted]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	806-015	14-day intravenous toxicity study in rats
TLH-350-25A	[redacted]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	806-014 806-013	14-day intravenous toxicity study in rats 14-day intravenous toxicity study in monkeys
TLH-312-99D	[redacted]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	P00-001-004	Ames test
TLH-312-158A	[redacted]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	39/001 19046	Chromosomal aberration study
PFS-494-32	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	708D-101-530-03	28-day intravenous toxicity study in rats
04122MA	[redacted]	NA	NA	[redacted]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	806-017	28-day oral and intravenous toxicity study in monkeys
04624BB	[redacted]	NA	NA	ND	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	806-017	28-day oral and intravenous toxicity study in monkeys
04718TI	[redacted]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	P00-001-012 39/002	14-day intravenous toxicity study in rats Rat micronucleus study
G00055	[redacted]	NA	NA	NA	[redacted]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	WIL-196041 WIL-196042	6-month oral toxicity study in rats 6-month oral toxicity study in monkeys
U15256	[redacted]	NA	NA	NA	[redacted]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	WIL-196041	6-month oral toxicity study in rats

2.6.7.4 毒性試験： 使用したロット（続き）

Test Article: Forodesine hydrochloride

Drug Substance Batch No.	Purity (%)	Specified impurity (NMT, %)										Study Number	Type of Study
		a	b	c	d	e	f	g	h	i	j		
Proposed Specification:	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	NA	NA
G00782	[redacted]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	FDS-TOXICOL-001 FDS-TOXICOL-002 FDS-TOXICOL-004	Ascending dose followed by a 7-day fixed dose oral toxicity study in monkeys 13-week oral toxicity study in monkeys Combination repeat dose toxicity study in monkey
G00868	[redacted]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	[redacted]	ND	ND	FDS-TOXICOL-002	13-week oral toxicity study in monkeys
G00733	[redacted]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	NA	NA	[redacted]	[redacted]	KRS00001 KRS00002 KRS00003	Dose-finding developmental toxicity study in rats Developmental toxicity study in rats Dose-finding developmental toxicity study in rabbits
G00776	[redacted]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	[redacted]	[redacted]	ND	ND	KRS00004	Developmental toxicity study in rabbits

a = BCX-2860, b = BCX-2673, c = BCX-2884, d = BCX-4552, e = BCX-5101, f = BCX-4921, g = BCX-5266, h = BCX-5271, i = Each individual unknown impurity, j = Total unknown impurities, NA = not applicable, ND = not detected, NMT = not more than

2.6.7.5 単回投与毒性試験

該当資料なし

2.6.7.6 反復投与毒性試験：　重要な試験以外の試験

Test Article: Forodesine hydrochloride

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	No. and Gender per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number (Location)
Mouse / CD-1	Oral (gavage) Once a day (CMC/Solution)	21 days	0, 5, 50	Terminal sacrifice : 5M Recovery sacrifice (control and 50): 5M	50	No clear treatment toxicity was observed during the study. Terminal sacrifice : 50 mg/kg/day: slight lower RBC, Ht and Hb, slight higher heart weight. Recovery sacrifice : No noteworthy findings.	806-010 (4.2.3.2.1)
Rat / SD	IV bolus twice a day (Citric acid monohydrate/Solution)	14 days	0, 0.3, 3.0, 30, 300[a]	10M/10F (8M/8M for TK group)	NA	Mortality: 1/10, 4/10, 5/10, 2/10, 9/10 in males and 0/10, 0/10, 1/10, 0/10, 6/10 in females at 0, 0.3, 3.0, 30, 300 mg/kg/day dose groups, respectively were dead. In addition, 1/10 in females at 0.3 mg/kg/day group was sacrificed in extremis. Decreased activity, prostration, slow/difficult breathing and muscle weakness (primarily at 300 mg/kg/day and a lesser extent at 0.3 mg/kg/day). Decreased body weight gain correlated with the decreased food consumption (300 mg/kg/day, male only). Decreased RBC parameters (≥ 30 mg/kg/day), increased WBC and decreased PLT (300 mg/kg/day). Increased BUN and decreased Alb, total protein (300 mg/kg/day), decreased Tg (≥ 3 mg/kg/day), decreased Alb, Tg, cholesterol and increased glucose and Glb with decreased A/G ratio (one surviving 300 mg/kg/day male).	806-014 (TK: P00-001-010) (4.2.3.2.2)

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Forodesine hydrochloride

<table>
<tr><th>Species / Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle / Formulation)</th><th>Duration of Dosing</th><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>No. and Gender per Group</th><th>NOAEL (mg/kg/day)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number (Location)</th></tr>
<tr><td>(continues)
Rat / SD</td><td>IV bolus
twice a day
(Citric acid monohydrate/Solution)</td><td>14 days</td><td>0, 0.3, 3.0, 30, 300[a]</td><td>10M/10F
(8M/8M for TK group)</td><td>NA</td><td>Subacute inflammation (≥ 0.3 mg/kg/day), necrosis or apoptosis of lymphocytes (all groups), Thymic atrophy (≥ 30 mg/kg/day). Increased kidney (300 mg/kg/day) and
lung (≥ 30 mg/kg/day) weight.
The C_{max} and $AUC_{0\text{-}12}$ for plasma forodesine at 300 mg/kg/day are as follows.
<table>
<tr><th colspan="5">Dose: 300 mg/kg/day</th></tr>
<tr><th rowspan="2"></th><th colspan="2">C_{max} (μg/mL)</th><th colspan="2">$AUC_{0\text{-}12h}$ (hr·μg/mL)</th></tr>
<tr><th>M</th><th>F</th><th>M</th><th>F</th></tr>
<tr><td>Day 1</td><td>132.17</td><td>125.63</td><td>312.42</td><td>299.68</td></tr>
<tr><td>Day 7</td><td>118.06</td><td>154.17</td><td>283.95</td><td>363.46</td></tr>
<tr><td>Day 14</td><td>118.30</td><td>123.23</td><td>292.21</td><td>319.98</td></tr>
</table></td><td>806-014
(TK: P00-001-010)
(4.2.3.2.2)</td></tr>
</table>

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Forodesine hydrochloride

<table>
<tr><th>Species / Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle / Formulation)</th><th>Duration of Dosing</th><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>No. and Gender per Group</th><th>NOAEL (mg/kg/day)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number (Location)</th></tr>
<tr><td>Rat / SD</td><td>IV bolus twice a day (Lactated Ringer’s solution /Solution)</td><td>14 days</td><td>0, 10, 30, 100 [b], 300</td><td>10M/10F (8M/8M for TK group)</td><td>NA</td><td>No treatment related effects on mortality or clinical signs were observed.
Slight decreased body weight gain correlated with the slight decreased food consumption (300 mg/kg/day).
Decreased RBC parameters and PLT (≥ 30 mg/kg/day), increased WBC, Seg, Mono, LUC, Lympho (≥ 100 mg/kg/day).
Increased BUN and decreased Alb, total protein, ALP (100 mg/kg/day), decreased P and decreased cholesterol (300 mg/kg/day).
Enlarged spleen (≥ 100 mg/kg/day).
Subacute inflammation/cellular infiltrate, extramedullary hematopoiesis, thymic apoptosis (≥10 mg/kg/day), splenic lymphoid hyperplasia (≥30 mg/kg/day), Increased kidney, liver, lung (≥ 100 mg/kg/day) and spleen (≥ 30 mg/kg/day) weight.
The C_{max} and AUC_{0-12} for plasma forodesine at 100 mg/kg/day are as follows.
<table>
<tr><th colspan="5">Dose: 100 mg/kg/day</th></tr>
<tr><th rowspan="2"></th><th colspan="2">C_{max} (μg/mL)</th><th colspan="2">AUC_{0-12h} (hr·μg/mL)</th></tr>
<tr><th>M</th><th>F</th><th>M</th><th>F</th></tr>
<tr><td>Day 1</td><td>59.10</td><td>58.85</td><td>136.55</td><td>137.35</td></tr>
<tr><td>Day 7</td><td>48.48</td><td>58.76</td><td>116.74</td><td>140.84</td></tr>
<tr><td>Day 14</td><td>53.45</td><td>61.09</td><td>138.41</td><td>150.34</td></tr>
</table>
</td><td>806-015
(TK: P01-001-003)
(4.2.3.2.3)</td></tr>
</table>

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Forodesine hydrochloride

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg/day)	No. and Gender per Group	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number (Location)
Rat / SD	IV bolus twice a day (Lactated Ringer's solution or Citric acid monohydrate /Solution)	14 days	0, 3, 300,	5M/5F	NA	The main treatment associated observation were the deaths in the citrate buffer treated group (2 males and 1 female at 300 mg/kg/day and 1 female in the vehicle group). It also appeared that more citrate treated animals bled longer than did the lactated Ringer's treated animals.	P00-001-012 (4.2.3.2.4)

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Forodesine hydrochloride

<table>
<tr><th>Species / Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle / Formulation)</th><th>Duration of Dosing</th><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>No. and Gender per Group</th><th>NOAEL (mg/kg/day)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number (Location)</th></tr>
<tr>
<td>Rat / Wistar</td>
<td>IV slow bolus twice a day (Lactated Ringer’s solution /Solution)</td>
<td>28 days</td>
<td>0, 10, 30, 100</td>
<td><u>Main</u>:
0 and 100 mg/kg/day: 7M/7F
10 and 30 mg/kg/day: 5M/5F
<u>TK:</u>
10, 30 and 100 mg/kg/day: 8M/8F</td>
<td>30</td>
<td>There were no test article-related deaths.
Decreased Hb and Ht (100 mg/kg/day), decreased total protein and Glb (≥ 10 mg/kg/day), increased AST (100 mg/kg/day), decreased cholesterol (≥30 mg/kg/day), increased kidney, liver, lung and thyroid/parathyroids weight (100 mg/kg/day).
Dose related interstitial cellular infiltration (stroma of pancreas and kidneys and Kupffer cell prominence in the livers)
Forodesine induced a dose dependent increase in plasma dGuo.
There was a dose dependent increase in C_{max} and $AUC_{0\text{-}12}$ in both Day 1 and Day 28. The C_{max} and $AUC_{0\text{-}12}$ are as follows;
<table>
<tr><th rowspan="2">Dose (mg/kg /day)</th><th colspan="2">C_{max} (μg/mL)</th><th colspan="2">$AUC_{0\text{-}12h}$ (hr·μg/mL)</th></tr>
<tr><th>Day 1</th><th>Day 28</th><th>Day 1</th><th>Day 28</th></tr>
<tr><td>10</td><td>3.97</td><td>2.44</td><td>6.49</td><td>5.97</td></tr>
<tr><td>30</td><td>7.68</td><td>8.20</td><td>19.4</td><td>19.7</td></tr>
<tr><td>100</td><td>23.4</td><td>33.1</td><td>54.2</td><td>54.3</td></tr>
</table>
</td>
<td>708D-101-530-03 (TK: P03-001-001) (4.2.3.2.5)</td>
</tr>
</table>

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Forodesine hydrochloride

<table>
<tr><th>Species / Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle / Formulation)</th><th>Duration of Dosing</th><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>No. and Gender per Group</th><th>NOAEL</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number (Location)</th></tr>
<tr>
<td>Monkey / Cynomolgus</td>
<td>IV bolus twice a day (Citric acid monohydrate /Solution)</td>
<td>14 days</td>
<td>0, 7, 20, 60, 180</td>
<td>3M/3F</td>
<td>NA</td>
<td>No treatment related effects on mortality or clinical signs were observed.
Decreased RBC parameters (≥ 60 mg/kg/day), increased AST (180 mg/kg/day).
Decreased thymus weight (≥ 7 mg/kg/day, dose dependent).
Lymphoid cell depletion in thymus (≥7 mg/kg/day).

The C_{max} and $AUC_{0\text{-}12}$ for plasma forodesine at 180 mg/kg/day are as follows.
<table>
<tr><th colspan="5">Dose: 180 mg/kg/day</th></tr>
<tr><th rowspan="2"></th><th colspan="2">C_{max} (μg/mL)</th><th colspan="2">$AUC_{0\text{-}12h}$ (hr·μg/mL)</th></tr>
<tr><th>M</th><th>F</th><th>M</th><th>F</th></tr>
<tr><td>Day 1</td><td>76.32</td><td>101.69</td><td>211.58</td><td>283.34</td></tr>
<tr><td>Day 7</td><td>92.44</td><td>128.92</td><td>268.32</td><td>334.69</td></tr>
<tr><td>Day 14</td><td>96.36</td><td>89.93</td><td>274.49</td><td>261.62</td></tr>
</table>
</td>
<td>806-013 (TK: P00-001-009) (4.2.3.2.7)</td>
</tr>
</table>

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Forodesine hydrochloride

<table>
<tr><th>Species / Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle / Formulation)</th><th>Duration of Dosing</th><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>No. and Gender per Group</th><th>NOAEL (mg/kg/day)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number (Location)</th></tr>
<tr><td>Monkey / Cynomolgus</td><td>IV and Oral Once daily (IV: Lactated Ringer’s solution Oral: Water for injection /Solution)</td><td>28 days</td><td>IV: 0, 10, 30, 90
Oral: 90</td><td>0, 10 and 30 mg/kg/day: 3M/3F
90 mg/kg/day (IV and Oral): 5M/5F</td><td>30</td><td>No treatment related effects on mortality or clinical signs were observed.
Decreased neutrophils (90 mg/kg/day, IV), increased creatinine (90 mg/kg/day, IV and Oral).
Decreased thymus weight (all treated groups, IV and Oral).
Lymphoid cell depletion in thymus with dose related increasing severity (all treated groups, IV and Oral).
While no such microscopic findings were noted at recovery, decreases in thymus weight persisted at 90 mg/kg/day (both IV and oral), although at a lesser severity than at the terminal necropsy.
There was no significant difference in dGuo response between orally or IV with a single dose of 90 mg/kg/day even with bioavailability of around 6%.
The C_{max} and $AUC_{0\text{-}24}$ for plasma forodesine at 90 mg/kg/day (IV and Oral) are as follows.
<table>
<tr><th rowspan="2"></th><th colspan="2">C_{max} (μg/mL)</th><th colspan="2">$AUC_{0\text{-}24h}$ (hr·μg/mL)</th></tr>
<tr><th>M</th><th>F</th><th>M</th><th>F</th></tr>
<tr><td colspan="5">Dose: 90 mg/kg/day, IV</td></tr>
<tr><td>Day 1</td><td>161.1</td><td>179.1</td><td>242.8</td><td>280.2</td></tr>
<tr><td>Day 28</td><td>162.7</td><td>169.7</td><td>256.1</td><td>250.1</td></tr>
<tr><td colspan="5">Dose: 90 mg/kg/day, Oral</td></tr>
<tr><td>Day 1</td><td>0.5581</td><td>1.026</td><td>7.909</td><td>10.12</td></tr>
<tr><td>Day 28</td><td>1.080</td><td>0.7616</td><td>6.313</td><td>7.771</td></tr>
</table>
</td><td>806-017 (4.2.3.2.8)</td></tr>
</table>

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Forodesine hydrochloride

<table>
<tr><th>Species / Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle / Formulation)</th><th>Duration of Dosing</th><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>No. and Gender per Group</th><th>NOAEL (mg/kg/day)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number (Location)</th></tr>
<tr>
<td>Monkey / Cynomolgus</td>
<td>Oral
once or twice a day
(purified water /Solution)</td>
<td>Ascending dose phase:
3 days

Fixed dose phase:
7 days

Exposure confirmation phase:
1 day</td>
<td>Ascending dose phase:
120
(once a day)
240, 720, 1440
(twice a day)

Fixed dose phase:
1440
(twice a day)

Exposure confirmation phase:
120
(single dose)</td>
<td>Ascending dose phase:
2M/2F
Fixed dose phase:
2M/2F

Exposure confirmation phase:
4M/4F</td>
<td>NA</td>
<td>No treatment related effects on mortality or clinical signs were observed.
Lymphocytes consistent decreases were seen after both the dose ascending and fixed dose phases.
Macroscopically, small thymus and microscopically, atrophy in the spleen, mesenteric and mandibular lymph nodes, Peyer’s patches and thymus characterized by depletion of all lymphoid elements together with apoptotic bodies and tingible body macrophages.
Measurement of systemic exposure to Forodesine tended to indicate non-linear, dose dependent kinetics.
The C_{max} and $AUC_{0\text{-}24}$ for plasma forodesine are as follows.

<table>
<tr><th colspan="5">Ascending dose phase (Day 2)</th></tr>
<tr><th rowspan="2">Dose (mg/kg/day)</th><th colspan="2">C_{max} (μg/mL)</th><th colspan="2">$AUC_{0\text{-}24h}$ (hr·μg/mL)</th></tr>
<tr><th>M</th><th>F</th><th>M</th><th>F</th></tr>
<tr><td>120</td><td>1.030</td><td>1.725</td><td>8.610</td><td>16.00</td></tr>
<tr><td>240 [a]</td><td>1.550</td><td>2.305</td><td>26.20</td><td>30.10</td></tr>
<tr><td>720 [a]</td><td>2.060</td><td>3.540</td><td>30.90</td><td>50.70</td></tr>
<tr><td>1440 [a]</td><td>4.700</td><td>5.590</td><td>67.00</td><td>82.70</td></tr>
</table>
[a]: twice a day</td>
<td>FDS-TOXICOL-001
(4.2.3.2.10)</td>
</tr>
</table>

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Forodesine hydrochloride

<table>
<tr><th>Species / Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle / Formulation)</th><th>Duration of Dosing</th><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>No. and Gender per Group</th><th>NOAEL (mg/kg/day)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number (Location)</th></tr>
<tr>
<td>(continues)
Monkey / Cynomolgus</td>
<td>Oral
once or twice a day
(purified water /Solution)</td>
<td>Ascending dose phase:
3 days

Fixed dose phase:
7 days

Exposure confirmation phase:
1 day</td>
<td>Ascending dose phase:
120
(once a day)
240, 720, 1440
(twice a day)

Fixed dose phase:
1440
(twice a day)

Exposure confirmation phase:
120
(single dose)</td>
<td>Ascending dose phase:
2M/2F
Fixed dose phase:
2M/2F

Exposure confirmation phase:
4M/4F</td>
<td>NA</td>
<td>
<table>
<tr><th colspan="5">Fixed dose phase (Day 7)</th></tr>
<tr><th rowspan="2">Dose (mg/kg/day)</th><th colspan="2">C_{max} (μg/mL)</th><th colspan="2">$AUC_{0\text{-}24h}$ (hr·μg/mL)</th></tr>
<tr><th>M</th><th>F</th><th>M</th><th>F</th></tr>
<tr><td>1440</td><td>3.970</td><td>5.790</td><td>47.70</td><td>73.60</td></tr>
</table>
<table>
<tr><th colspan="5">Exposure confirmation phase (Day 1)</th></tr>
<tr><th rowspan="2">Dose (mg/kg/day)</th><th colspan="2">C_{max} (μg/mL)</th><th colspan="2">$AUC_{0\text{-}24h}$ (hr·μg/mL)</th></tr>
<tr><th>M</th><th>F</th><th>M</th><th>F</th></tr>
<tr><td>120</td><td>0.707</td><td>1.090</td><td>8.070</td><td>13.10</td></tr>
</table>
</td>
<td>FDS-TOXICOL-001
(4.2.3.2.10)</td>
</tr>
</table>

[a] The 300 mg/kg/day of forodesine hydrochloride was administered to rats in an additional treated group designated for TK evaluation.
[b] The 100 mg/kg/day of forodesine hydrochloride was administered to rats in an additional treated group designated for TK evaluation.
Alb = albumin, ALP = alkaline phosphatase, AST = aspartate aminotransferase, AUC = area under the concentration time curve, C_{max} = maximum concentration, F = female, Glb = globulin, Hb = hemoglobin, Ht = hematocrit, IV = intravenous, LUC = large unstained cell, Lympho = lymphocyte, M = male, Mono = monocyte, MPV = mean platelet volume, NA = not applicable, NOAEL = no-observed-adverse-effect level, P = phosphorus, PLT = platelet count, RBC = red blood count, WBC = white blood count, Seg = segmented neutrophil, Tg = triglyceride, TK = toxicokinetics

2.6.7.7 反復投与毒性試験

2.6.7.7.1 ラット 6 ヵ月間投与試験

Test Article: Forodesine hydrochloride

Report Title: A 6-Month Oral Toxicity And Toxicokintic Study of Forodesine Hydrochloride with A 28-Day Recovery Period in Rats — Study No. WIL-196041

Species / Strain: Rat / SD — Duration of Dosing: 6 months — Location: 4.2.3.2.6

Initial Age: 7 weeks — Duration of Postdose: 28 days — GLP Compliance: Yes

Date of First Dose: 13 April 2005 — Method of Administration: Oral (Once daily)

Vehicle / Formulation: Deionized water / Solution

Special Features: Plasma dGuo concentrations were also evaluated.

No Observed Adverse Effect Level: < 30 mg/kg/day

Dose (mg/kg/day):	0 (Control)		30		90		270	
Number of Animals [a]:	M: 30 (0)	F: 30 (0)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 30 (10)	F: 30 (10)
Toxicokinetics: Forodesine/ AUC_{last} (ng·h/mL)								
Day 0	NA	NA	3196	2329	7775	8476	17382	18738
Day 88	NA	NA	3693	3827	9147	10431	15973	21716
Day 179	NA	NA	3291	3498	8207	9128	14910	23331
Forodesine/ C_{max} (ng/mL)								
Day 0	NA	NA	470	630	1060	1535	2440	2542
Day 88	NA	NA	556	682	1477	1725	2268	2292
Day 179	NA	NA	439	608	1139	1492	2195	2657

2.6.7.7.1 ラット 6 ヵ月間投与試験（続き） WIL-196041

Test Article: Forodesine hydrochloride

Dose (mg/kg/day):	0 (Control)		30		90		270	
Number of Animals [a]:	M: 30 (0)	F: 30 (0)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 30 (10)	F: 30 (10)
dGuo/ AUC_{last} (ng·h/mL)								
Day 0	NA	NA	8621	6982	12645	ND	19505	17680
Day 88	NA	NA	4037	6023	4232	10409	8667	13069
Day 179	NA	NA	3950	4616	5810	8758	11087	15426
dGuo/ C_{max} (ng/mL)								
Day 0	NA	NA	892	774	990	ND	1189	1228
Day 88	NA	NA	459	642	400	739	653	982
Day 179	NA	NA	390	553	512	718	737	950
Noteworthy Findings[b]								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	2[c]	1[c]	1[c]	0
Clinical observation	Scaling of the tail, scabbed, swollen and reddened anogenital and urogenital areas, and reddened and swollen ears were generally occurred in a dose-related manner.							
Body weight	No treatment-related findings							
Food consumption	No treatment-related findings							
Hematology: (week 26)								
Eosinophils (%)	1.8	2.0	1.1	1.7	0.8**	1.3	1.0*	0.8**
Eosinophils (absolute count, $10^3/\mu L$)	0.15	0.15	0.14	0.12	0.10	0.11	0.09	0.07**

2.6.7.7.1 ラット 6 ヵ月間投与試験（続き） WIL-196041

Test Article: Forodesine hydrochloride

Dose (mg/kg/day):		0 (Control)		30		90		270	
Number of Animals [a]:		M: 30 (0)	F: 30 (0)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 30 (10)	F: 30 (10)
Serum chemistry		No treatment-related findings							
Ophthalmology		No treatment-related findings							
Urinalysis (week 26)									
Total volume (mL)		9.1	8.8	7.6	4.3**	8.8	4.2**	9.9	5.2*
Specific gravity		1.036	1.023	1.038	1.039**	1.043	1.046**	1.038	1.039**
Organ Weights:									
Liver	Absolute (g)	15.66	9.18	16.73	9.63	16.47	10.80**	17.28	11.53**
	Organ-to-Body Weight ratio (%)	2.806	3.037	2.864	3.216	2.893	3.420**	3.019*	3.742**
Kidney	Absolute (g)	4.07	2.43	4.14	2.39	4.15	2.61	4.18	2.64*
	Organ-to-Body Weight ratio (%)	0.732	0.806	0.713	0.798	0.730	0.828	0.732	0.858
Spleen	Absolute (g)	0.82	0.56	1.15**	0.76*	1.12**	0.85**	1.28**	1.00**
	Organ-to-Body Weight ratio (%)	0.146	0.184	0.197**	0.255**	0.198**	0.269**	0.225**	0.323**
Heart	Absolute (g)	1.68	1.15	1.69	1.15	1.69	1.21	1.69	1.25*
	Organ-to-Body Weight ratio (%)	0.302	0.383	0.292	0.386	0.299	0.383	0.296	0.408

2.6.7.7.1 ラット 6 ヵ月間投与試験（続き） WIL-196041

Test Article: Forodesine hydrochloride

Dose (mg/kg/day):	0 (Control)		30		90		270	
Number of Animals [a]:	M: 30 (0)	F: 30 (0)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 30 (10)	F: 30 (10)
Adrenal glands Absolute (g)	0.0577	0.0743	0.0668	0.1017**	0.0644	0.1054**	0.0722**	0.1072**
Organ-to-Body Weight ratio (%)	0.011	0.024	0.012	0.034**	0.011	0.033**	0.013**	0.035**
Gross Pathology (at Terminal Necropsy):								
Number Evaluated	20	20	20	20	18	19	20	20
Kidney - White area	0	0	0	0	0	0	0	2
Histopathology (at Terminal Necropsy):								
Sternal bone marrow [d]	20	20	20	20	20	20	21	19
Hypercellular	9	6	18	9	17	11	18	15
Femoral bone marrow [d]	19	20	20	20	20	20	21	20
Hypercellular	3	4	19	9	17	8	11	16
Spleen [d]	20	20	20	20	20	20	21	20
Lymphoid hyperplasia	0	3	5	13	9	18	13	16
Brown pigment	13	13	0	12	0	13	17	17
Thymus [d]	20	20	19	20	20	20	21	20
Lymphoid necrosis	3	7	7	15	6	9	13	13
Atrophy	3	0	2	1	5	2	4	4

2.6.7.7.1 ラット 6 ヵ月間投与試験（続き） WIL-196041

Test Article: Forodesine hydrochloride

Dose (mg/kg/day):	0 (Control)		30		90		270	
Number of Animals [a]:	M: 30 (0)	F: 30 (0)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 30 (10)	F: 30 (10)
Heart [d]	20	20	20	20	20	20	21	20
Cardiomyopathy	6	0	2	2	1	0	12	4
Mononuclear infiltrate	1	1	3	2	0	2	1	6
Kidney [d]	20	20	20	20	20	20	21	20
Mononuclear infiltrate	6	5	1	9	3	11	4	15
Chronic inflammation	0	1	0	0	3	1	5	0
Granulomatous inflammation	0	0	0	0	0	0	0	2
Liver [d]	20	20	20	20	20	20	21	20
Mononuclear infiltrate	12	12	10	7	6	11	20	19
Kupffer cell hyperplasia	0	6	3	8	1	12	4	17
Congestion	14	5	14	11	15	8	19	18
Lungs [d]	20	20	20	20	20	20	21	20
Perivascular infiltrate	8	6	5	6	6	15	12	17
Alveolar macrophages	6	7	6	5	5	10	11	15

2.6.7.7.1 ラット 6 ヵ月間投与試験（続き） WIL-196041

Test Article: Forodesine hydrochloride

Dose (mg/kg/day):	0 (Control)		30		90		270	
Number of Animals [a]:	M: 30 (0)	F: 30 (0)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 30 (10)	F: 30 (10)
Pancreas [d]	20	20	20	20	20	20	20	20
Mononuclear infiltrate	6	7	8	7	6	5	15	12
Single cell necrosis	3	2	1	2	2	3	1	8
Tail [d]	1	1	10	5	12	6	15	10
Chronic inflammation	0	0	6	4	10	4	10	10
Ulceration	0	1	3	3	2	3	4	2
Ear [d]	0	3	0	3	3	4	3	6
Chronic inflammation	0	0	0	0	1	2	3	1
Auricular chondropathy	0	3	0	3	1	2	0	5
Adrenal cortex [d]	20	20	20	20	20	20	21	20
Hyperplasia	0	0	0	3	4	13	5	16
Brown pigment	0	0	0	7	0	4	0	6
Thyroid gland [d]	20	20	20	20	19	20	21	20
C-cell hyperplasia	8	3	10	0	4	1	16	2

2.6.7.7.1 ラット 6 ヵ月間投与試験（続き） WIL-196041

Test Article: Forodesine hydrochloride

Dose (mg/kg/day):		0 (Control)		30		90		270	
Number of Animals [a]:		M: 30 (0)	F: 30 (0)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 30 (10)	F: 30 (10)
Postdose Evaluation (28-day recovery):									
Organ Weights:									
Spleen	Absolute (g)	0.89	0.57	NA	NA	NA	NA	0.99	0.87**
	Organ-to-Body Weight ratio (%)	0.151	0.184	NA	NA	NA	NA	0.170**	0.275**
Histopathology									
Sternal bone marrow [d]		10	10	NA	NA	NA	NA	9	10
Hypercellular		6	6	NA	NA	NA	NA	7	6
Femoral bone marrow [d]		10	10	NA	NA	NA	NA	9	10
Hypercellular		6	3	NA	NA	NA	NA	8	5
Lungs [d]		10	10	NA	NA	NA	NA	9	10
Perivascular infiltrate		1	1	NA	NA	NA	NA	1	7
Alveolar macrophages		1	1	NA	NA	NA	NA	0	6

2.6.7.7.1 ラット 6 ヵ月間投与試験（続き） WIL-196041

Test Article: Forodesine hydrochloride

Dose (mg/kg/day):	0 (Control)		30		90		270	
Number of Animals [a]:	M: 30 (0)	F: 30 (0)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 20 (10)	F: 20 (10)	M: 30 (10)	F: 30 (10)
Adrenal cortex [d]	10	10	NA	NA	NA	NA	9	10
Hyperplasia	0	0	NA	NA	NA	NA	0	3
Brown pigment	0	0	NA	NA	NA	NA	0	3
Liver [d]	10	10	NA	NA	NA	NA	9	10
Congestion	2	2	NA	NA	NA	NA	5	7

[a] Twenty animals per gender for terminal necropsy, and 10 extra animals in the Control and High Dose group for the recovery necropsy.
Number of animals for toxicokinetics evaluation in satellite groups were designated in ( ).
[b] Only findings that are significantly different from the Control group are reported (ie, $p < 0.05$).
[c] There were no test article-related deaths. The cause of death for male in the 90 mg/kg/day was determined to be a urinary tract obstruction. That for other 2 animals in the 90 mg/kg/day was indicated to be dosing trauma. One male in the 270 mg/kg/day was euthanized due to physical condition (tail sore).
[d] Number of tissues examined from each group.
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Significantly different from the control group (Dunnett's test)
AUC_{last} = area under the concentration time curve from time 0 to the last quantifiable time point, C_{max} = maximum concentration, dGuo = 2'-Deoxyguanosine, F = female, IV = intravenous, M = male, NA = not applicable, ND = no data available, SD = Sprague-Dawley

2.6.7.7.2 サル 6 ヵ月間投与試験

Test Article: Forodesine hydrochloride

Report Title: A 6-Month Oral (Nasogastric) Toxicity And Toxicokinetic Study of Forodesine Hydrochloride with A 28-Day Recovery Period in Cynomolgus Monkeys

Study No. WIL-196042

Species / Strain: Cynomolgus Monkey

Duration of Dosing: 6 months

Location: 4.2.3.2.9

Initial Age: approximately 11 months to 2.5 years

Duration of Postdose: 28 days

GLP Compliance: Yes

Date of First Dose: 6 June 2005

Method of Administration: Oral (once daily)

Vehicle / Formulation: deionized water / Solution

Special Features: Plasma dGuo concentrations were also evaluated.
TUNEL assay for apoptotic cells was performed on the ileum with Peyer's Patches and the thymus.

No Observed Adverse Effect Level: 117 mg/kg/day

Dose (mg/kg/day):	0 (Control)		13		39		117	
Number of Animals[a]:	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Toxicokinetics: Forodesine/ AUC_{last} (ng·h/mL)								
Day 0	NA	NA	1430	1743	3972	3952	6171	6255
Day 87	NA	NA	2105	1759	3782	3887	6507	8278
Day 175	NA	NA	2529	2522	3779	4048	5457	6964
Forodesine/ C_{max} (ng/mL)								
Day 0	NA	NA	121	179	515	577	917	1070
Day 87	NA	NA	144	117	327	323	692	756
Day 175	NA	NA	171	167	289	292	565	623
dGuo/ AUC_{last} (ng·h/mL)								
Day 0	NA	NA	5093	5460	7996	ND	10192	7423
Day 87	NA	NA	3144	ND	ND	4450	5593	6308
Day 175	NA	NA	4659	4055	5380	5579	7413[†]	7417

2.6.7.7.2 サル 6 ヵ月間投与試験（続き） WIL-196042

Test Article: Forodesine hydrochloride

Dose (mg/kg/day):	0 (Control)		13		39		117	
Number of Animals[a]:	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
dGuo/ C_{max} (ng/mL)								
Day 0	NA	NA	358	389	438	ND	507	390
Day 87	NA	NA	161	ND	ND	207	270	305
Day 175	NA	NA	228	250	274	289	380†	363
Noteworthy Findings [b]								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observation	No treatment-related findings							
Body weight	No treatment-related findings							
Food consumption	No treatment-related findings							
Hematology (week 26)								
WBC (absolute count, $10^3/\mu L$)	9.53	11.62	8.63	7.87	7.14	9.81	6.01*	9.52
Lymphocyte (absolute count, $10^3/\mu L$)	6.12	6.40	6.09	5.42	5.50	4.15**	4.01*	3.73**
Serum Chemistry	No treatment-related findings							
Urinalysis	No treatment-related findings							
Ophthalmology	No treatment-related findings							
ECG	No treatment-related findings							

2.6.7.7.2 サル 6 ヵ月間投与試験（続き） WIL-196042

Test Article: Forodesine hydrochloride

Dose (mg/kg/day):	0 (Control)		13		39		117	
Number of Animals[a]:	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Organ Weights (at Terminal Necropsy):								
Thymus Absolute (g)	4.93	5.17	1.72**	1.53**	1.91**	1.12**	1.65**	1.12**
Organ-to-Body Weight ratio (g/100 g)	0.190	0.221	0.072**	0.064**	0.074**	0.048**	0.064**	0.050**
Organ-to-Brain Weight ratio (g/100 g)	7.284	8.997	2.480**	2.425**	2.992*	1.672**	2.379**	1.775**
Gross Pathology (at Terminal Necropsy):								
Number Evaluated	4	4	4	4	4	4	4	4
Thymus - Small	0	0	0	1	1	2	0	2
Histopathology (at Terminal Necropsy):								
Thymus[c]	4	4	4	4	4	4	4	3
Lymphoid depletion	0	0	4	4	4	4	4	3
Additional Examinations:								
TUNEL assay - Thymus	++ - +++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

2.6.7.7.2 サル 6 ヵ月間投与試験（続き） WIL-196042

Test Article: Forodesine hydrochloride

Dose (mg/kg/day):		0 (Control)		13		39		117	
Number of Animals[a]:		M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6
Postdose Evaluation:									
Organ Weights (at Terminal Necropsy):									
Thymus	Absolute (g)	4.08	5.45	NA	NA	NA	NA	5.39	2.56
	Organ-to-Body Weight ratio (g/100 g)	0.156	0.205	NA	NA	NA	NA	0.206	0.106
	Organ-to-Brain Weight ratio (g/100 g)	5.996	8.653	NA	NA	NA	NA	7.582	3.974

[a] Four animals per gender for terminal necropsy, and 2 extra animals in the Control and High Dose group for the recovery necropsy.
[b] Only findings that are significantly different from the Control group are reported (ie, $p < 0.05$).
[c] Number of tissues examined from each group.
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Significantly different from the control group (Dunnett's test)
† n = 2
AUC_{last} = area under the concentration time curve from time 0 to the last quantifiable time point, C_{max} = maximum concentration, dGuo = 2'-Deoxyguanosine, F = female, IV = intravenous, M = male, NA = not applicable, ND = no data available, TUNEL = TdT-mediated dUTP nick end labeling

2.6.7.7.3 サル 13 週間投与試験

Test Article: Forodesine hydrochloride

Report Title: Forodesine: 13 Week Oral (Gavage) Administration Toxicity Study in the Monkey Followed by a 4 Week Treatment-free Period

Study No. FDS-TOXICOL-002

Species / Strain: Cynomolgus Monkey

Duration of Dosing: 13 weeks

Location: 4.2.3.2.11

Initial Age: 119 - 194 weeks old

Duration of Postdose: 4 weeks

GLP Compliance: Yes

Date of First Dose: 9 December 2009

Method of Administration: Oral (twice daily)

Vehicle / Formulation: Purified water/ Solution

Special Features: Twice daily dosing approximately 6 hours apart.

No Observed Adverse Effect Level: 1440 mg/kg/day

Dose (mg/kg/day):	0 (Control)		240		600		1440	
Number of Animals[a]:	M: 8	F: 8	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 8	F: 8
Toxicokinetics: Forodesine/ $AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)								
Day 1	NA	NA	18872	22130	35549	38776	55940	66413
Day 22	NA	NA	20721	24196	40293	50333	51663	70037
Day 90	NA	NA	19645	28089	34672	49121	51493	66178
Forodesine/ C_{max} (ng/mL)								
Day 1	NA	NA	1845	2058	3103	3410	4820	6676
Day 22	NA	NA	1438	2013	2880	3835	3948	5190
Day 90	NA	NA	1548	1993	2255	3160	3483	5041
Noteworthy Findings [b]								
Died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical observation	-	-	"Bright yellow stained bedding and/or urine" recorded in all Forodesine treated groups from Weeks 3 to 13. Uncertain toxicological significance at this time.					

2.6.7.7.3 サル 13 週間投与試験（続き） FDS-TOXICOL-002

Test Article: Forodesine hydrochloride

Dose (mg/kg/day):	0 (Control)		240		600		1440	
Number of Animals[a]:	M: 8	F: 8	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 8	F: 8
Body weight	No treatment-related findings							
body weight - at start (kg)	3.66	3.11	3.36	3.06	3.52	3.06	3.44	3.04
body weight - week 13 (kg)	3.87	3.21	3.50	3.10	3.69	3.21	3.85	3.17
body weight gain – start to week 4 (kg)	0.00	-0.01	0.01	-0.11	0.01	-0.05	0.08#	0.00
body weight gain – start to week 13 (kg)	0.21	0.09	0.14	0.04	0.18	0.15	0.41*	0.13
Food consumption	No treatment-related findings							
Hematology (week 13)								
WBC (absolute count, $10^3/\mu L$)	9.2	10.8	6.2	8.6	8.2	8.4	7.8	6.2**
Lymphocyte (absolute count, $10^3/\mu L$)	4.9	6.0	3.7	3.5**	3.4	3.6**	3.4*	3.4**
Serum Chemistry	No treatment-related findings							
Urinalysis	No treatment-related findings							
Ophthalmology	No treatment-related findings							
ECG	No treatment-related findings							
Organ Weights	No treatment-related findings							
Gross Pathology (at Terminal Necropsy):								
Number Evaluated	4	4	4	4	4	4	4	4
Thymus - Small	0	0	1	2	3	3	2	4
Thymus - Dark	0	0	1	0	1	0	1	0

2.6.7.7.3 サル 13 週間投与試験（続き） FDS-TOXICOL-002

Test Article: Forodesine hydrochloride

Dose (mg/kg/day):	0 (Control)		240		600		1440	
Number of Animals[a]:	M: 8	F: 8	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 8	F: 8
Histopathology (at Terminal Necropsy):								
Thymus [c]	4	4	4	4	4	4	4	4
Atrophy	0	0	4	4	4	4	4	4
Mesenteric Lymph Nodes [c]	4	4	4	4	4	4	4	4
Lymphoid Hyperplasia	0	0	0	0	0	0	0	3
Spleen [c]	4	4	4	4	4	4	4	4
Lymphoid Hyperplasia	1	0	1	0	1	2	3	4
Mandibular Lymph Nodes [c]	4	4	4	4	4	4	4	4
Lymphoid Hyperplasia	1	0	0	0	0	0	2	3
Postdose Evaluation:								
Histopathology:								
Spleen [c]	4	4	0	0	0	0	4	4
Lymphoid Hyperplasia	0	0	NA	NA	NA	NA	2	0

[a] Four animals per gender for terminal necropsy, and 4 extra animals in the Control and High Dose group for the recovery necropsy.
[b] Only findings that are significantly different from the Control group are reported (ie, $p < 0.05$).
[c] Number of tissues examined from each group.
[#] $p < 0.05$, significant dose response test
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Significantly different from the control group (Dunnett's test)
F = female, IV = intravenous, M = male, NA = not applicable, WBC = white blood cell count

2.6.7.8 遺伝毒性試験： *In Vitro*

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

Test Article: Forodesine hydrochloride

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay		Study No. P00-001-004
Test for Induction of: Reverse mutation	No. of Independent Assays: 2	Location: 4.2.3.3.1.1
Strains: *Salmonella typhimurium* strains TA98, TA100, TA1535, and TA1537, and *Escherichia coli* strain WP2 uvrA	No. of Replicate Cultures: 3	GLP Compliance: Yes
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9 plus co-factors	No. of Cells Analyzed/Cultured: 1.0-5.2 x 10^8	
Vehicle for Test Article: water		Study Period: Jul 2000 - Oct 2000
Treatment: Plate Incorporation Method		

Cytotoxic Effects: forodesine was non-toxic at doses of ≤ 5000 µg/plate with or without S9.

Genotoxic Effects: forodesine at doses of ≤ 5000 µg/plate with or without S9 was negative in two independent assays in all strains tested. Both negative and positive controls fulfilled the requirements of the test.

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き） P00-001-004

Test Article: Forodesine hydrochloride

Metabolic Activation	Treatment	Dose Level (μg/plate)	Revertants/Plate (Mean ± SD)					
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2uvrA
Without Activation (confirmatory assay)	Water	-	12 ± 2	101 ± 9	10 ± 2	6 ± 2	11 ± 2
	Forodesine hydrochloride	75	14 ± 4	91 ± 13	16 ± 3	7 ± 2	14 ± 2
		200	19 ± 3	109 ± 12	18 ± 1	7 ± 2	11 ± 2
		600	22 ± 4	102 ± 3	17 ± 4	7 ± 2	14 ± 1
		1800	30 ± 3	94 ± 14	14 ± 4	3 ± 1	15 ± 3
		5000	33 ± 5	98 ± 2	13 ± 3	6 ± 1	15 ± 3
	2-nitrofluorene	1.0	122 ± 14	NA	NA	NA	NA
	sodium azide	1.0	NA	317 ± 18	309 ± 39	NA	NA
	9-aminoacridine	75	NA	NA	NA	405 ± 43	NA
	Methyl methanesulfonate	1000	NA	NA	NA	NA	111 ± 7
With Activation (confirmatory assay)	Water	-	24 ± 2	90 ± 4	15 ± 3	6 ± 2	14 ± 1
	Forodesine hydrochloride	75	19 ± 2	96 ± 2	18 ± 1	7 ± 3	16 ± 1
		200	28 ± 2	87 ± 7	16 ± 4	8 ± 2	17 ± 2
		600	15 ± 7	95 ± 2	13 ± 4	9 ± 3	16 ± 2
		1800	22 ± 8	95 ± 10	13 ± 3	9 ± 3	16 ± 1
		5000	24 ± 6	96 ± 3	15 ± 5	6 ± 1	14 ± 5
	2-aminoanthracene	a	122 ± 18	768 ± 39	136 ± 8	93 ± 12	346 ± 40

[a] TA98, TA100, TA1535 and TA1537 = 1.0 μg/plate, WP2uvrA = 10 μg/plate

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き） P00-001-004

Test Article: Forodesine hydrochloride

Metabolic Activation	Treatment	(Repeat assay 1)						(Repeat assay 2)			
		Dose Level (μg/plate)	Revertants/Plate (Mean ± SD)					Dose Level (μg/plate)	Revertants/Plate (Mean ± SD)		
			TA98			TA100			TA100		
Without Activation (confirmatory assay)	Water	-	19	±	6	160	± 18	-	90	±	8
	Forodesine hydrochloride	33	17	±	6	372	± 306	33	111	±	11
		100	15	±	5	147	± 26	100	108	±	6
		333	18	±	2	152	± 16	334	107	±	16
		1000	14	±	2	159	± 5	1003	88	±	3
		3333	13	±	1	163	± 5	3362	101	±	10
		5000	23	±	12	162	± 2	5000	94	±	2
	2-nitrofluorene	1.0	279	±	33	NA		-	NA		
	sodium azide	1.0	NA			517	± 39	1.0	411	±	41
With Activation (confirmatory assay)	Water	-	NA			133	± 11				
	Forodesine hydrochloride	33	NA			120	± 10				
		100	NA			117	± 11				
		333	NA			106	± 6				
		1000	NA			112	± 14				
		3333	NA			103	± 15				
		5000	NA			124	± 13				
	2-aminoanthracene	1.0	NA			1044	± 273				

Because a positive response was observed with TA98 without S9, and contamination was seen in TA100 with and without S9 in confirmatory assay, repeat assay 1 was conducted. Because the erratic revertant counts at the lowest dose level in TA100 without S9 in the repeat assay 1, repeat assay 2 was conducted.
No. = number, GLP = Good Laboratory Practice, NA = not applicable

2.6.7.8.2 哺乳類細胞を用いる染色体異常試験

A ヒト末梢リンパ球を用いた試験

Test Article: Forodesine hydrochloride

Report Title: BCX-1777(HCl salt)-*In Vitro* chromosome aberration test in human lymphocytes — Study No. 39/001

Test for Induction of: Chromosomal Aberrations	No. of Independent Assays: 2	Location: 4.2.3.3.1.2
Strains: human lymphocytes	No. of Replicate Cultures: 2	GLP Compliance: Yes
Metabolizing System: rat liver S9	No. of Cells Analyzed/Cultured: 200 metaphases scored (100 per culture)	

Vehicle for Test Article: Water for injection

Treatment: assay 1 - 4 to 5 hours treatment with test article with or without S9 followed by cell harvest 24 hours after initiation of treatment — Study Period: Oct 2000 – May 2001

assay 2 - 24 or 48 hours treatment with test article without S9 and cell harvest

4 to 5 hours treatment with test article with S9 followed by cell harvest 48 hours after initiation of treatment

Cytotoxic Effects: Three dose levels were selected in each experiment for chromosome aberrations analysis. The selection was based on the cytotoxicity – evaluated by a reduction in the mitotic index (maximum acceptable for analysis: ~ 50%).

Genotoxic Effects: The clastogenic (structural aberrations) and aneugenic (numerical aberrations) effects of forodesine was observed in the continuous 24-hour treatment period in the absence of metabolic activation. No effect were noted in continuous 48-hour treatment period without metabolic activation or in the short treatment (4-5 hours) either with or without metabolic activation. Both negative and positive controls fulfilled the requirements of the test.

2.6.7.8.2 哺乳類細胞を用いる染色体異常試験（続き） 39/001

Test Article: Forodesine hydrochloride

Metabolic activation	Test article	Concentration (μg/mL)	Structural abs.				Numerical abs.	
			Cells scored	Mean mitotic index	Cells with abs. including gap	Cells with abs. excluding gap	Cells scored	% with num abs
4 - 5-hour treatment without activation (24-hour harvest time)	Water	-	200	4.2	14	6	200	0
	Forodesine hydrochloride	256	200	4.8	7	4	202	1.0
		800	200	3.3	8	5	200	0
		2500	200	4.0	11	10	203	1.5
	NQO	1.25	100	NC	22	20**	101	1.0
4 - 5-hour treatment with activation (24-hour harvest time)	Water	-	200	4.9	5	2	201	0.5
	Forodesine hydrochloride	256	200	5.1	14	8*	200	0
		800	200	4.9	7	4	201	0.5
		2500	200	5.8	9	5	200	0
	Cyclophosphamide	12.5	100	NC	43	39**	100	0
24-hour treatment without activation	Water	-	200	2.8	18	9	202	1.0
	Forodesine hydrochloride	784	175	1.3	41	37**	256	31.6
		1400	123	1.6	48	45**	162	24.1
		2500	78	1.6	41	40**	98	20.4
	NQO	1.25	100	NC	30	23**	101	1.0

2.6.7.8.2 哺乳類細胞を用いる染色体異常試験（続き） 39/001

Test Article: Forodesine hydrochloride

Metabolic activation	Test article	Concentration (µg/mL)	Structural abs.				Numerical abs.	
			Cells scored	Mean mitotic index	Cells with abs. including gap	Cells with abs. excluding gap	Cells scored	% with num abs
48-hour treatment without activation	Water	-	200	4.9	14	10	203	1. 5
	Forodesine hydrochloride	138	200	4.1	7	6	201	0.5
		246	200	4.4	10	7	202	1.0
		439	200	2.5	14	5	202	1.0
4 - 5-hour treatment with activation (48-hour harvest time)	Water	-	200	3.6	8	6	201	0.5
	Forodesine hydrochloride	784	200	4.0	11	7	201	0.5
		1400	200	4.4	9	7	201	0.5
		2500	200	4.1	9	4	202	1.0
	Cyclophosphamide	12.5	100	NC	22	19**	100	0

Statistical method used: Fisher's exact test * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$
abs.= aberrations, NC = not calculated, num = numerical, NQO = 4-nitroquinoline-N-oxide

2.6.7.8.2 哺乳類細胞を用いる染色体異常試験（続き）

B （参考）CHO 細胞を用いた試験

Test Article: Forodesine hydrochloride

Strains: CHO cell　Study No. 19046　Location: 4.2.3.3.1.3, GLP Compliance: No

Metabolic activation	Test article	Concentration (μg/mL)	Cells scored	Structural abs.			Numerical abs.		
				Aberration frequency	Aberrant cell frequency including gap	Aberrant cell frequency excluding gap	% of cells with		
							AE	ER	PP
22-hour treatment without activation (24-hour harvest time)	Ham's F-10 medium	-	100	0.00	0	0	0	0	2
	Forodesine hydrochloride	1250	100	0.04	4	1	0	0	0
		2500	100	0.01	1	0	0	0	1
		5000	100	0.02	2	1	0	0	0
	Methyl methanesulfonate	30	50	1.02	44	44	6	0	0
6-hour treatment with activation (24-hour harvest time)	Ham's F-10 medium	-	100	0.00	0	0	0	2	0
	Forodesine hydrochloride	1250	100	0.01	1	1	1	0	0
		2500	100	0.01	1	1	0	1	0
		5000	100	0.01	1	0	0	0	0
	Cyclophosphamide	40	50	0.82	44	44	4	0	0

AE = Aneuploidy, GLP = Good Laboratory Practice, PP + ER = Polyploidy

2.6.7.9 遺伝毒性：*In Vivo*

2.6.7.9.1 ラット小核試験

Test Article: Forodesine hydrochloride

Report Title: BCX-1777(HCl salt)-Mammalian Erythrocyte Micronucles Test in the Rat Bone Marrow. Study No. 39/002

Test for Induction of: MPCE Treatment Schedule: twice a day for 2 days Location: 4.2.3.3.2.1

Species / Strain: rat/ SD Sampling Time: 24 and 48 hours after the final dose GLP Compliance: Yes

Age: approximately 5 - 6 weeks Method of Administration: IV injection

No. of Cells Evaluated / Animal: 2000 Study Period: Jan. 2001 - May 2001

Toxic / Cytotoxic Effects: No cytotoxic effect and no increase in the MPCE was observed up to 300 mg/kg in the preliminary experiment (toxicity study).

Genotoxic Effects: no significant increase in MPCE frequency was observed at forodesine hydrochloride doses of ≤ 600 mg/kg/day. The negative and positive controls fulfilled the requirements of the test.

Test Article	Dose (mg/kg/day)	Kill time: 24 hrs (N = 5 /gender/ group)				Kill time: 48 hrs (N = 5 /gender/ group)			
		Mean ratio PCE/NCE		Mean frequency of MPCE (per 1000)		Mean ratio PCE/NCE		Mean frequency of MPCE (per 1000)	
		M	F	M	F	M	F	M	F
Vehicle (Lactated Ringer)	-	1.05	0.52	1.55	1.58	0.64	0.56	0.99	1.20
Forodesine hydrochloride	188	0.80	0.67	0.89	1.49	0.58	0.47	1.18	0.40
	336	0.61	0.61	1.68	1.77	0.60	0.54	1.38	1.09
	600	1.28	0.59	1.79	1.89	0.64	0.56	1.40	1.39
Cyclophosphamide	60	0.23	0.25	8.75	11.08	NA	NA	NA	NA

GLP = Good Laboratory Practice, MPCE = micronucleated polychromatic erythrocyte, N = number, NA = not applicable, NCE = normochromatic erythrocytes, PCE = polychromatic erythrocyte

2.6.7.10　がん原性試験： 重要な試験以外の試験

該当資料なし

2.6.7.11　がん原性試験

該当資料なし

2.6.7.12 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験

Test Article: Forodesine hydrochloride

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rat / SD	IV Once daily (0.9% Sodium Chloride Injection, /Solution)	GD 7 - 17	0, 15, 30, 60, 120	8 females	All rats survived to scheduled sacrifice. Swelling of the snout (≥15 mg/kg/day), swelling of the fore- and/or hindpaw(s) (15 - 60 mg/kg/day). Decreased body weight gain and food consumption (120 mg/kg/day). No Caesarean-sectioning or litter parameters were affected. Dosages of 0 (Vehicle), 15, 45 and 120 mg/kg/day are recommended for the developmental toxicity study in rats.	KRS00001 (4.2.3.5.2.1)

GD = gestation day, IV = intravenous, SD = Sprague-Dawley

2.6.7.12 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: Forodesine hydrochloride

<table>
<tr><th>Species / Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle/ Formulation)</th><th>Dosing Period</th><th>Doses (mg/kg/day)</th><th>No. Per Group</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th></tr>
<tr><td>Rabbit / New Zealand White (Tolerability: Non-pregnant Dose-finding: Pregnant)</td><td>IV Once daily (0.9% Sodium Chloride Injection,/Solution)</td><td>Tolerability: 5 days

Dose-finding: GD 7 - 19</td><td>Tolerability: 15, 30, 60, 120

Dose-finding: 0, 15, 45, 120</td><td>Tolerability: 3 females

Dose-finding: 5 females</td><td>Tolerability:
All rabbits survived. Swelling of the snout (≥30 mg/kg/day), decreased motor activity, scant feces and no feces in cage pan (1 female of 120 mg/kg/day), ungroomed coat (1 female of 120 mg/kg/day).
Body weight loss (120 mg/kg/day), decreased food consumption (≥60 mg/kg/day).
Dosages of 0 (Vehicle), 15, 45 and 120 mg/kg/day are recommended for the development dose-finding study in rabbit.
Dose-finding:
All rabbits survived. Body weight loss (120 mg/kg/day), body weight gain (≥45 mg/kg/day), decreased food consumption (120 mg/kg/day)
No Caesarean-sectioning or litter parameters were affected.
Dose-dependent exposure was confirmed by TK analysis. There was no observed accumulation. TK parameters in pregnant rabbits on GD19 is as follows.
<table>
<tr><th>Dose group (mg/kg/day)</th><th>C_{max} (ng/mL)</th><th>AUC_{last} (ng·h/mL)</th></tr>
<tr><td>15</td><td>3700</td><td>13281</td></tr>
<tr><td>45</td><td>12210</td><td>40417</td></tr>
<tr><td>120</td><td>44530</td><td>151153</td></tr>
</table>
Dosages of 0 (Vehicle), 15, 45 and 120 mg/kg/day are recommended for the developmental toxicity study in rabbit.</td><td>KRS00003 (4.2.3.5.2.3)</td></tr>
</table>

AUC_{last} = area under the curve from time 0 to the last quantifiable time point, C_{max} = maximum concentration, GD = gestation day, NOAEL = no observed adverse effect level, TK = toxicokinetics

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：受胎能及び初期胚発生に関する試験

該当資料なし

2.6.7.14 生殖発生毒性試験： 胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.14.1 ラット胚・胎児発生に関する試験

Test Article: Forodesine hydrochloride

Report Title: Intravenous Developmental Toxicity Study of Forodesine HCl in Rats

Study No. KRS00002

Species / Strain: Rat / SD

Age at first dose: 11-12 weeks

Date of first dose: 11 Feb. 2008 (Gestation Day 7)

Special features: none

Basis for high dose selection: dose-range finding study

Duration of dosing: Gestation Day 7 - 17

Day of mating: Gestation Day 0 (04 - 07 Feb. 2008)

Day of necropsy:25 - 28 Feb. 2008 (Gestation Day 21)

Method of administration: IV (once daily)

Vehicle/Formulation: 0.9% Sodium Chloride Injection, /Solution

Location: 4.2.3.5.2.2

GLP compliance: Yes

Design Similar to ICH S5A, 4.1.3: Yes

No Observed Adverse Effect Level ; F_0 Females: 15 mg/kg/day and F_1 Litters: 45 mg/kg/day

Daily Dose GD7-17 (mg/kg/day):		0 (Control)	15	45	120
Number of Dams		25	25	25	25
Dams	No. Pregnant	25	25	24	25
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	1[a]	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Clinical Observations (No. of animals with observation)				
	Snout: Swollen	1	13**	19**	17**
	Both ears or right ear: Swollen	0	0	7*	10**
	Necropsy Observations	No treatment related findings			

2.6.7.14.1　ラット胚・胎児発生に関する試験（続き）　KRS00002

Test Article: Forodesine hydrochloride

Daily Dose GD7-17 (mg/kg/day):			0 (Control)	15	45	120
Number of Dams			25	25	25	25
Dams	Body Weights (g)	GD21	412.3	402.7	411.6	409.8
	Body Weight Gain (g)	GD 10-12	+ 10.0	+ 10.2	+ 7.8*	+ 7.7*
		GD 12-15	+ 22.1	+ 20.5	+ 21.7	+ 19.6
		GD 15-18	+ 38.4	+ 36.4	+ 43.5*	+ 45.7**
		GD 7-18	+ 81.1	+ 77.2	+ 86.6	+ 85.2
		GD 18-21	+ 58.6	+ 53.3*	+ 53.0*	+ 50.6**
	Total Food Consumption (g/kg/day)	GD 7-10	79.2	76.8	74.7*	68.6**
		GD 7- 18	81.5	80.3	79.8	77.4**
	Rats pregnant and Caesarean-sectioned on GD 21		25	25	23	25
	Mean No. Corpora Lutea		15.1	15.3	15.5	16.4
	Mean No. Implantations		14.9	14.6	15.3	15.4
Fetuses	No. Fetuses Evaluated		361	348	337	373
	No. Dead Fetuses	Total	0	1	0	0
	No. Live Fetuses	Total	361	347	337	373
		Mean	14.4	13.9	14.6	14.9
	No. Resorptions	Mean	0.5	0.7	0.6	0.5
	Early	Total	12	17	13	12
	Late	Total	0	1	1	0
	Fetal Sex Ratios (% males/litter)		52.6	53.6	50.3	52.1
	Mean Live Fetal Body Weight (g/ litter)		5.47	5.30	5.27	5.30

2.6.7.14.1 ラット胚・胎児発生に関する試験（続き） KRS00002

Test Article: Forodesine hydrochloride

Daily Dose GD7-17 (mg/kg/day):			0 (Control)	15	45	120
Number of Dams			25	25	25	25
	Fetal Alterations:		No treatment related findings			
	Litters with fetuses with any alteration observed	No. (%)	7 (28.0)	7 (28.0)	4 (17.4)	5 (20.0)
	Fetuses with any alteration observed	No. (%)	11 (3.0)	11 (3.2)	4 (1.2)	5 (1.3)
	% Fetuses with any alteration/litter	Mean	3.0	3.4	1.2	1.3
	Total Gross External Anomalies		No treatment related findings			
	Total Visceral Anomalies		No treatment related findings			
	Total Skeletal Anomalies		No treatment related findings			
	Fetal ossification sites (per fetus per litter)					
	Vertebrae – Caudal		7.40	7.06	7.08	6.59**
	Hindlimb – Metatarsals		4.86	4.74	4.58	4.53**

[a] One animal was sacrificed on day 20 of gestation due to impending parturition.
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, Significantly different from control (Dunnett's Test)
GLP = Good Laboratory Practice, IV = intravenous, ICH = International Conference on Harmonisation, GD = gestation day, No. = number

2.6.7.14.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験

Test Article: Forodesine hydrochloride

Report Title: Intravenous Developmental Toxicity Study of Forodesine HCl in Rabbits — Study No. KRS00004

Species / Strain: Rabbit / New Zealand White — Duration of dosing: Gestation Day 7 - 19 — Location: 4.2.3.5.2.4

Age at first dose: 6 months

Date of First Dose: 18 Aug. 2008 (Gestation Day 7) — Day of Necropsy: 9 - 12 Sep. 2008 (Gestation Day 29) — GLP Compliance: Yes

Special features: none — Method of administration: IV (Once daily)

Basis for high dose selection: dose-range finding study — Vehicle/Formulation: 0.9% Sodium Chloride Injection /Solution — Design Similar to ICH S5A, 4.1.3: Yes

No Observed Adverse Effect Level; F_0 Females: 45 mg/kg/day and F_1 Litters: 15 mg/kg/day

Daily Dose GD 7-19 (mg/kg/day):		0 (Control)	15	45	120
Number of Dams [a]		20 (3)	20 (3)	20 (2) [b]	20 (3)
Toxicokinetics: Forodesine/ AUC_{last} (ng·h/mL)	Day 7	NA	13905	44774	140840
	Day 19	NA	14470	45724	157730
Forodesine/ C_{max} (ng/mL)	Day 7	NA	4142	13825	44033
	Day 19	NA	4422	14325	47933
dGuo / AUC_{last} (ng·h/mL)	Day 7	NA	17337	20694	32684
	Day 19	NA	18053	22680	35069
dGuo / C_{max} (ng/mL)	Day 7	NA	1517	1440	2033
	Day 19	NA	1433	1400	1867

2.6.7.14.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き） KRS00004

Test Article: Forodesine hydrochloride

Daily Dose GD 7-19 (mg/kg/day):			0 (Control)	15	45	120
Number of Dams [a]			20 (3)	20 (3)	20 (2) [b]	20 (3)
Dams	No. Pregnant		17	15	19	20
	No. Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter		0	0	0	0
	Clinical Observations (No. of animals with observation) [c]					
	Vocalization		0	0	1	5**
	Scant feces		0	1	1	4
	Necropsy Observations		No treatment related findings			
	Body Weight Gain (kg)	GD 7-20	+ 0.25	+ 0.33	+ 0.34	+ 0.22
		GD 20-29	+ 0.15	+ 0.15	+ 0.14	+ 0.11
		GD 7-29	+ 0.40	+ 0.48	+ 0.48	+ 0.33
	Total Food Consumption (g/day)	GD7-20	159.7	170.5	166.8	141.8
		GD 20-29	136.8	134.0	131.7	118.7
		GD 7-29	150.5	155.6	152.4	132.4*
	Rabbits pregnant and Caesarean-sectioned on GD 29		17	15	19	20
	Mean No. Corpora Lutea		9.5	9.2	9.6	9.2
	Mean No. Implantations		9.2	8.7	8.9	9.0

2.6.7.14.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き） KRS00004

Test Article: Forodesine hydrochloride

Daily Dose GD 7-19 (mg/kg/day):		0 (Control)	15	45	120
Number of Dams [a]		20 (3)	20 (3)	20 (2) [b]	20 (3)
Fetuses	No. Fetuses Evaluated	149	129	162	169
	No. Dead Fetuses Total	0	0	0	0
	No. Live Fetuses Total	149	129	162	169
	Mean No. Resorptions	0.4	0.1	0.4	0.5
	Fetal Sex Ratios (% males/litter)	44.6	28.6	38.7	37.8
	Mean Fetal Body Weight (g/litter)	41.91	41.59	40.41	39.27
	Fetal Anomalies:	No treatment related findings			
	Litters with fetuses with any alteration observed No. (%)	9 (52.9)	7 (46.7)	10 (52.6)	10 (50.0)
	Fetuses with any alteration observed No. (%)	21 (14.1)	13 (10.1)	18 (11.1)	24 (14.2)
	Gross External Anomalies	No treatment related findings			
	Visceral Anomalies	No treatment related findings			
	Skeletal Anomalies	No treatment related findings			
	Fetal ossification sites (per fetus per litter)				
	Vertebrae – Caudal	16.58	16.63	16.06	16.28*
	Forelimb – Metacarpals	4.96	4.75*	4.67**	4.66**
	Forelimb – Phalanges	13.92	13.86	13.65**	13.74*

[a] Number of animals for toxicokinetics evaluation in satellite groups were designated in ( ).
[b] One rabbit was not pregnant, and the data was not included in TK analysis.
[c] Only findings that are significantly different from the Control group are reported (ie, $p < 0.05$).
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (Dunnett's Test)
AUC_{last} = area under the curve from time 0 to the last quantifiable time point, C_{max} = maximum concentration, GLP = Good Laboratory Practice, IV = intravenous, ICH = International Conference on Harmonisation, GD = gestation day, NA = not applicable, No. = number

2.6.7.15　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

該当資料なし

2.6.7.16　新生児を用いた試験

該当資料なし

2.6.7.17　局所刺激性試験

該当資料なし

2.6.7.18 その他の毒性試験

Test Article: Forodesine hydrochloride

Type of Study	Species / Strain	Method of Administration	Group	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Combination repeat dose safety study	Monkey / Cynomolgus	Forodesin: Oral (once daily) for 31 days (120 mg/kg/day) Rituximab: IV at Day 1 (31.25 mg/kg) and Day 29 (41.66 mg/kg) Bendamustine: IV at Day 1, 2, 29 and 30 (5.83 mg/kg)	1: Rituximab 2: Forodesine/ Rituximab 3: Rituximab/ Bendamustine 4: Forodesine/ Rituximab/ Bendamustine	5F	The combination treatment of Forodesine, Rituximab and Bendamustine was clinically well tolerated and did not show any toxicologic relevant findings. Depletion of lymphocytes and in all groups varying incidences and severities of lymphatic depletion of spleen and mesenteric/mandibular lymph nodes and thymic atrophy were present and regarded as exaggerated pharmacological effects of the test substances. Additional Forodesine treatment did not enhance any effects (like depletion of lymphocytes, microscopic renal changes) in any observed diagnostical parameters.	FDS-TOXICOL-004 (4.2.3.7.7.1)

F = female, IV = intravenous