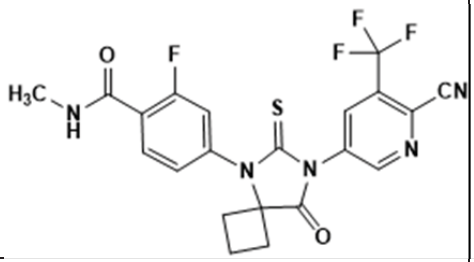
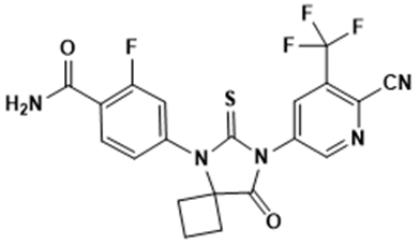
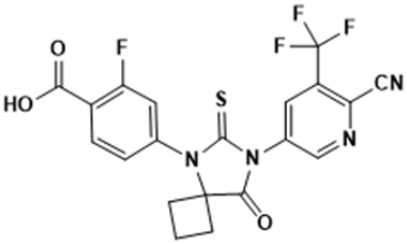
目次

2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 8
2.6.6.3 反復投与毒性試験 9
2.6.6.4 遺伝毒性試験 25
2.6.6.5 がん原性試験 30
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 34
2.6.6.7 局所刺激性試験 36
2.6.6.8 その他の毒性試験 36
2.6.6.9 考察及び結論 44
2.6.6.10 図表 49
2.6.6.11 参考文献 50
2.6.7 毒性試験概要表 1

略号一覧表

略号又は略称	化学名又は一般名	構造式	由来
アパルタミド（JNJ-56021927, ARN-509）	4-{7-[6-Cyano-5-(trifluoromethyl)pyridin-3-yl]-8-oxo-6-thioxo-5,7-diazaspiro[3.4]octan-5-yl}-2-fluoro-*N*-methylbenzamide		主薬
JNJ-56142060（ARN000308, ARN-308）	*N*-脱メチル体（M3）		代謝物
JNJ-56142021（ARN000066, ARN-66）	アミド加水分解体（カルボン酸）（M4）		代謝物

略号又は略称	名称及び内容
ALP	アルカリホスファターゼ（alkaline phosphatase）
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ（alanine aminotransferase）
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間（activated partial thromboplastin time）
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（aspartate aminotransferase）
AR	アンドロゲン受容体［androgen receptor(s)］
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積（area under the plasma concentration-time curve）
C_{max}	最高血漿中濃度（maximum plasma concentration）
CNS	中枢神経系（central nervous system）
CRPC	去勢抵抗性前立腺癌（castration-resistant prostate cancer）
CSF	脳脊髄液（cerebrospinal fluid）
CYP	チトクローム P450（cytochrome P450）
DMSO	ジメチルスルホキシド（dimethyl sulfoxide）
DPBS	ダルベッコ リン酸緩衝生理食塩液（Dulbecco’s phosphate buffered saline）
ECG	心電図（electrocardiography）
FDA	米国食品医薬品局（Food and Drug Administration）
FOB	機能観察総合評価法（functional observational battery）
GABA	γ-アミノ酪酸（γ-aminobutyric acid）
GGT	γ-グルタミルトランスフェラーゼ（γ-glutamyl transferase）
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）
HDL	高密度リポタンパク質（high-density lipoprotein）
HPMC	ヒドロキシプロピルメチルセルロース（hydroxypropylmethyl cellulose）

略号又は略称	名称及び内容
ICH	医薬品規制調和国際会議（International council for harmonisation）
LDL	低密度リポタンパク質（low-density lipoprotein）
LH	黄体形成ホルモン（luteinizing hormone）
MCH	平均赤血球血色素量（mean corpuscular hemoglobin）
MCV	平均赤血球容積（mean corpuscular volume）
MPE	mean photo effect
MTD	最大耐量（maximum tolerated dose）
NOAEL	無毒性量（no-observed-adverse-effect level）
OECD	経済協力開発機構（Organization for Economic Co-operation and Development）
PEG	ポリエチレングリコール（polyethylene glycol）
PIF	photo-irritation factor
PT	プロトロンビン時間（prothrombin time）
RDW	赤血球分布幅（red blood cell distribution width）
$t_{1/2}$	消失半減期（elmination half-life）
TK	トキシコキネティクス（toxicokinetics）
UVR	紫外線（ultraviolet radiation）
VitE-TPGS	水溶性ビタミンE（D-α-トコフェロール・ポリエチレングリコール・コハク酸エステル） ［water-soluble vitamin E (D-α-tocopherol polyethylene glycol succinate conjugate)］

2.6.6 毒性試験の概要文

アパルタミド（JNJ-56021927，ARN-509）は，経口投与可能な選択的アンドロゲン受容体（AR）阻害薬であり，去勢抵抗性前立腺癌（CRPC）に対する治療薬として開発された薬剤である。

2.6.6.1 まとめ

非臨床開発プログラムは，医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」及びその他の安全性に関する ICH ガイドラインに従って実施した。アパルタミドの毒性試験として，最長 26 週間の雄ラット反復投与毒性試験，最長 39 週間の雄イヌ反復投与毒性試験，*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験，雄ラット受胎能試験及び *in vitro* 光毒性試験を実施した。本薬投与に関連した毒性の回復性を評価するために，雄ラット 13 週間反復投与毒性試験では 30 日間，雄イヌ 13 週間反復投与毒性試験では 60 日間の休薬期間を設けた。ヒト血漿中の主要活性代謝物 JNJ-56142060（ARN000308，ARN-308，M3）について *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験，並びに *in vitro* 光毒性試験を実施した。M3 の全身曝露量を雄ラット及び雄イヌの 13 週間以上の反復投与毒性試験において測定した。ヒト血漿中に微量に存在する不活性代謝物 JNJ-56142021（ARN000066，ARN-66，M4）について *in vitro* 遺伝毒性試験を実施し，M4 の曝露量をアパルタミドの *in vivo* 遺伝毒性試験において測定して間接的に評価した。合成不純物及び分解物の安全性確認を行った。

将来的ながん原性試験の実施に備えて，雌雄マウスを用いた用量設定試験を実施した。適応症は前立腺癌に対するものであるが，適応拡大の可能性を考慮し，雌動物を用いてラットでは最長 26 週間，イヌでは最長 13 週間の反復投与毒性試験も実施し，それぞれ 2 カ月間及び 1 カ月間の休薬期間を設けた。

毒性試験の一覧を表 2.6.6-1 に示す。主要な毒性試験は，米国食品医薬品局（FDA）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）（21 CFR Part 58）及び経済協力開発機構（OECD）加盟国における OECD の GLP 原則（指令 2004/10/EC）に準拠して実施した。試験の GLP 適用の有無及び試験施設に関する情報を毒性試験概要表【2.6.7.1】に示す。

非臨床毒性試験では，げっ歯類としてラットを，非げっ歯類としてイヌを選択した。ラット及びイヌは，本薬の *in vitro* 及び *in vivo* の代謝物プロファイルがヒトと類似していることから適切な動物種と考えられる。さらに，これらの動物種の成熟雄動物では，本薬の薬理／毒性作用がアンドロゲン依存性生殖器において認められることからも，これらの動物種を使用することの妥当性が支持される。

In vivo 試験では，Acconon MC8-2 EP/NF，Capmul MCM EP，ポリエチレングリコール（PEG）400 USP 及び水溶性ビタミン E（D-α-トコフェロール･ポリエチレングリコール･コハク酸エステル：VitE-TPGS NF）（10：45：30：15% w/w/w/w）から成る脂肪性エマルジョンを溶媒として使用した。イヌの試験では嘔吐の発現を低減させるため，アパルタミドを硬ゼラチンカプセルに充填して投与した。特に断りのない限り，試験にはアパルタミドのエタノール付加物（JNJ-56021927-ZAH）を用いた。投与量は塩基当量で示した。

表 2.6.6-1 アパルタミド及び代謝物の毒性試験の一覧表

Study Type and Duration of Dosing	Route of Administration	Species/ Test System	Dose Level (mg/kg/day)	Recovery Period	Location in CTD
Repeat-Dose Studies					
14-day toxicity[(a)]	Oral (gavage)	Male rats	0, 0, 150, 300, 600	-	4.2.3.2.1
28-day toxicity	Oral (gavage)	Male rats	0, 0, 50, 150, 250	14 days	4.2.3.2.2
13-week toxicity	Oral (gavage)	Male rats	0, 25, 50, 100	30 days	4.2.3.2.3
26-week toxicity	Oral (gavage)	Male rats	0, 25, 75, 150	-	4.2.3.2.4
Single-dose + 28-day toxicity[(a)]	Oral (gavage)	Female rats	SD: 0, 50, 100, 150, 250 RD: 0, 25, 50, 100	-	4.2.3.2.5
26-week toxicity	Oral (gavage)	Female rats	0, 25, 50, 100, 150	2 months	4.2.3.2.6
21-day toxicity[(a)]	Oral (capsule)	Male dogs	0, 10, 20, 40	-	4.2.3.2.7
28-day toxixcity	Oral (capsule)	Male dogs	0, 5, 10, 25	28 days	4.2.3.2.8, 4.2.3.2.9
13-week toxicity	Oral (capsule)	Male dogs	0, 2.5, 5, 10	60 days	4.2.3.2.10
39-week toxicity	Oral (capsule)	Male dogs	0, 2.5, 5, 10	-	4.2.3.2.11
Single-dose escalation + 21-day toxicity[(a)]	Oral (capsule)	Female dogs	SD: 0, 5, 10, 20 RD: 0, 5, 10, 20	-	4.2.3.2.12
13-week toxicity	Oral (capsule)	Female dogs	0, 2.5, 5, 10	1 month	4.2.3.2.13
Genotoxicity Studies					
Bacterial reverse mutation (Ames) test	*In vitro*	*S. typhimurium/E. coli*	Apalutamide, M3 and M4: up to 5000 µg/plate	-	4.2.3.3.1.1, 4.2.3.3.1.2
Mammalian chromosome aberration test	*In vitro*	Human peripheral blood lymphocytes	Apalutamide, M3 and M4: up to 500 µg/mL	-	4.2.3.3.1.3, 4.2.3.3.1.4
In vivo micronucleus test	Oral (gavage)	Male rats	Apalutamide and M3: 0, 500, 1000, 2000	-	4.2.3.3.2.1
Dose range finder for Comet assay[(a)]	Oral (gavage)	Male and female rats	Apalutamide: 0, 50, 100, 150, 250, 500	-	4.2.3.3.2.2
Comet assay	Oral (gavage)	Male rats	Apalutamide: 0, 50, 100, 150	-	4.2.3.3.2.3
Studies in Mice					
Single-dose escalation + 10-day toxicity[(a)]	Oral (gavage)	Male and female mice	SD: 0, 20, 100, 500 RD: 0, 20, 50, 100	-	4.2.3.4.2.1
10-day toxicity[(a)]	Oral (gavage)	Male and female mice	0, 100, 175, 250	-	4.2.3.4.2.2
14-day toxicity[(a)]	Oral (gavage)	Male and female CByB6F1 Hybrid Mice	0, 75, 150	-	4.2.3.4.2.3
Fertility Study					
4-week fertility study	Oral (gavage)	Male rats	0, 25, 150	8 weeks	4.2.3.5.1.1
Impurity Studies					
不純物B* (1-month)	Oral (gavage)	Male rats	0, 25, 150/100	-	4.2.3.7.6.1
不純物D* (1-month)	Oral (gavage)	Male rats	0, 25, 100	-	4.2.3.7.6.2
不純物E* (28-day)	Oral (gavage)	Male rats	0, 25, 100	-	4.2.3.7.6.3
Phototoxicity					
Phototoxicity	*In vitro*	Balb/c 3T3 mouse fibroblasts	Apalutamide: 10.6 mg/L M3: 10.0 mg/L	-	4.2.3.7.7.1

SD: Single-dose, RD: Repeat-dose
[a] Non-GLP study

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

雄動物に単回経口投与したときのアパルタミドの最大耐量（MTD）及び概略の致死量は，試験した最高用量を超えていた。すなわち，雄ラットで 2000 mg/kg 超，雄イヌで 40 mg/kg 超であった。

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験（雄動物）

雄ラット 26 週間反復経口投与毒性試験では，無毒性量（NOAEL）は 25 mg/kg/日，MTD は最高用量の 150 mg/kg/日と判断された。雄イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験では，2.5 mg/kg/日以上の用量で体重減少が認められたことから，NOAEL は 2.5 mg/kg/日未満，MTD は最高用量の 10 mg/kg/日と判断された。最高血漿中濃度（C_{max}）及び血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）に基づくヒトに対する曝露比は，MTD では 3～5，NOAEL ではラットで約 1，イヌでは 1 未満であった。本薬投与に関連した反復投与後の死亡が，雄ラットでは 250 mg/kg/日，雄イヌでは 25 mg/kg/日以上の用量で認められた。

雄性生殖器の変化が観察され，これはアパルタミドの薬理作用である抗アンドロゲン作用と一致する変化であった。雄ラットでは 25 mg/kg/日以上の用量で，前立腺，精嚢及び精巣上体の萎縮，精細管の変性又は精巣間細胞（ライディッヒ細胞）の過形成が認められた。雄ラット 26 週間反復投与毒性試験では，75 及び 150 mg/kg/日投与群の各 1 例に精巣間細胞の良性腺腫がみられた。雄イヌでは 2.5 mg/kg/日以上の用量で，前立腺及び精巣上体の萎縮，並びに精巣で精子減少を伴う精細管の変性／萎縮及び精巣間細胞の肥大が認められた。

その他の変化として，雄ラットの反復投与毒性試験では，雄乳腺の雌型分化及び胸腺退縮の遅延又は軽減が認められた。これらはアパルタミドの抗アンドロゲン作用と一致する変化であった。ラットでみられた副腎皮質の肥大，並びにラット及びイヌでみられた下垂体前葉細胞の肥大もまた，アパルタミドの抗アンドロゲン作用による変化であった。

ラットでは反復投与後に一貫して網状赤血球数の代償性増加を伴う赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリット）の減少が認められ，これはアパルタミドの抗アンドロゲン作用に関連した変化であった。赤血球パラメータ減少の二次的変化と考えられる骨髄の過形成又は脾臓の造血亢進が認められた。ラットでは白血球数，血小板数及びコレステロールの増加が認められ，これらもまた，アパルタミドの抗アンドロゲン作用に関連する変化であると考えられた。イヌにおけるこれらの変化はラットよりも軽度であった。ラットではフィブリノーゲンの増加も認められた。

さらに，ラットでは肝臓の代謝酵素誘導に関連する肝細胞及び甲状腺の肥大がみられ，雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験では肝臓で胆管／卵円形細胞の過形成がアルカリホスファターゼ（ALP）の増加を伴って認められた。

アパルタミドの反復投与後にみられた所見は，2，4 又は 8 週間の休薬期間終了後，完全又は部分的な回復が認められた（イヌの胆管／卵円形細胞過形成及びラットの精巣間細胞腺腫の回復性は評価されなかった）。

アパルタミドの高用量では，イヌ（25 mg/kg/日）及びマウス（175 mg/kg 以上）で痙攣が認められ，これはアパルタミド及び M3 によるγ-アミノ酪酸（$GABA_A$）受容体に対する阻害によるものと考えられる。

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

アパルタミド及び M3 は復帰突然変異（Ames）試験において突然変異を誘発せず，*in vitro* 染色体異常試験及び *in vivo* ラット小核試験のいずれにおいても遺伝毒性は認められなかった。アパルタミドは，*in vivo* ラットコメットアッセイにおいても遺伝毒性は認められなかった。M4 は Ames 試験では突然変異を誘発しなかったが，*in vitro* 染色体異常試験において細胞増殖抑制率が 50%を超える高用量で弱い陽性反応を示した。しかしながら，陰性結果であったアパルタミドの 2 種の *in vivo* 試験（ラット小核試験及びラットコメットアッセイ）では，血漿及び肝臓において M4 の適切な曝露が得られており，これらの試験結果に基づいて，M4 は *in vivo* においては非遺伝毒性物質であると判断された。

2.6.6.1.4 生殖発生毒性試験

4 週間投与による雄ラット受胎能試験では，雄親動物の一般毒性及び受胎能に対する NOAEL は 25 mg/kg/日と判断された。副生殖器及び精巣上体の重量減少，精巣上体の精子数減少が 25 mg/kg/日以上の用量で認められた。150 mg/kg/日群では精子の運動性低下，並びに無処置雌ラットとの交配における交尾率及び受胎率の低下がみられ，妊娠動物に着床前又は着床後胚損失率の上昇がみられ，生存可能な出生児数の減少が示唆された。8 週間の休薬期間終了後，雄ラットの受胎能に及ぼす影響に回復性が認められた。

2.6.6.1.5 不純物の毒性試験

合成不純物及び分解物の安全性が確認された。

2.6.6.1.6 *In vitro* 光毒性試験

アパルタミド及び M3 は *in vitro* 試験で光毒性を示さなかった。

2.6.6.1.7 その他の毒性試験

マウスを用いた単回投与毒性試験では，500 mg/kg で痙攣，振戦及び死亡が認められており，雌雄マウスの単回投与よる MTD は 100 mg/kg であった。マウスを用いた 14 日間までの反復投与毒性試験では，死亡例及び中枢神経系（CNS）の症状が 150 mg/kg/日以上の反復投与後に認められた。大部分の毒性変化は生殖器系，副腎，胸腺，肝臓及び脾臓，並びに血液学的検査及び血液生化学的検査パラメータに認められた。コレステロールはラット及びイヌでは増加したが，マウスでは減少した。

雌動物への単回経口投与による MTD は，試験した最高用量を超えていた。すなわち，雌ラットで 250 mg/kg 超，雌イヌで 40 mg/kg 超であった。雌ラット 26 週間反復経口投与毒性試験では，NOAEL は 25 mg/kg/日未満，MTD は最高用量の 150 mg/kg/日と判断された。アパルタミドの全投薬群で卵巣の過形成及び腫瘍が認められ，これはアパルタミドの持続的な AR 阻害によるホルモンレベルの異常，調節不全及び不均衡によって生じたものと考えられた。雌ラットでは 150 mg/kg/日投与群の 1 例に死因不明の死亡が認められた。雌イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験における NOAEL 及び MTD は，いずれも最高用量の 10 mg/kg/日と判断された。子宮でみられた変化は，性成熟の遅延を示すものであった。雌イヌ 21 日間反復投与毒性試験において切迫屠殺した 20 mg/kg/日投与群では CNS 症状が認められた。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 単回投与毒性試験

独立した単回投与毒性試験は実施しなかった。

雄ラットを用いた小核試験では，2000 mg/kg の用量を単回経口投与したときの忍容性は良好であった（【4.2.3.3.2.1】及び 2.6.6.4.3.1 参照）。雌ラットを用いた忍容性試験では，250 mg/kg までの用量を単回投与したときの忍容性は良好であった（【4.2.3.2.5】及び 2.6.6.3.2.1 参照）。ラットにアパルタミドを単回経口投与したときの MTD は，雄ラットで 2000 mg/kg 超，雌ラットで 250 mg/kg 超であった。

雌雄のテレメトリー装着イヌを用いた心血管系の安全性薬理試験では，40 mg/kg の用量を単回経口投与したところ忍容性が認められた【4.2.1.3.4 及び 2.6.2.4.2.2 参照】。雄イヌを用いた反復投与毒性試験においても，初回投与における忍容性は 40 mg/kg まで良好であった（【4.2.3.2.7】及び 2.6.6.3.3.1 参照）。雌イヌを用いた忍容性試験では，20 mg/kg までの用量を単回投与したときの忍容性はおおむね良好であった。したがって，アパルタミドをイヌに単回経口投与したときの MTD は，雌雄とも 40 mg/kg 超であった。

雌雄マウスを用いた忍容性試験では，アパルタミドを単回経口投与したときの MTD は，雌雄とも 100 mg/kg であった。

2.6.6.2.2 アパルタミドの遊離塩基及びエタノール付加物を用いたラットにおけるブリッジングトキシコキネティクス試験

【参考資料 4.2.3.1.1】

開発過程において，アパルタミドのエタノール付加物（JNJ-56021927-ZAH）を遊離塩基（JNJ-56021927-AAA）に変更したが，大部分の非臨床試験ではエタノール付加物が用いられた。本ブリッジング試験では，遊離塩基及びエタノール付加物を 5 及び 50 mg/kg の用量でラット（1 群雄 3 例）に単回経口投与し，アパルタミド及び M3 の曝露量を比較した。トキシコキネティクス（TK）評価の他に，死亡の有無，一般状態及び体重について評価した【2.6.7.5 参照】。

死亡例は認められず，一般状態や体重への影響もみられなかった。遊離塩基及びエタノール付加物を単回経口投与したときのアパルタミド及び M3 の曝露量（C_{max} 及び AUC）はほぼ同程度であった（表 2.6.6-2）。

表 2.6.6-2 雄ラットにおけるアパルタミドの遊離塩基又はエタノール付加物の単回投与後の平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Test Article	C_{max} (μg/mL)		AUC (μg·hr/mL)[a]	
		Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
5	Free base	1.21	NC[b]	29.8	NC[b]
	Ethanolate	1.22	NC[b]	22.5	NC[b]
50	Free base	11.6	0.389	239	5.37
	Ethanolate	11.5	0.286	238	5.24

NC = not calculated
[a] $AUC_{0-\infty}$ for apalutamide and AUC_{0-24hr} for metabolite JNJ-56142060 (M3)
[b] Insufficient plasma concentration data were available for adequate TK parameter calculation

2.6.6.3 反復投与毒性試験

ラットを用いた複数の反復投与毒性試験で死亡例が認められた。多くの場合，溶媒として使用した粘性の高い脂質性エマルジョン［Acconon MC8-2 EP/NF，Capmul MCM EP，PEG 400 USP 及び水溶性ビタミン E（D-α-トコフェロール・ポリエチレングリコール・コハク酸エステル：VitE-TPGS NF）（10：45：30：15% w/w/w/w）］の投与の難しさに起因する誤投与によるものであったが，数例では投与過誤の根拠となる明らかな所見は認められなかった。明確な用量反応性及びアパルタミド投与に起因すると考えられる所見が認められなかったことから，これらは，本薬投与との関連性のない偶発的な死亡と考えられた。雄ラット 28 日間反復投与毒性試験では 150 mg/kg/日投与群で死亡例がみられたが，雄ラット 26 週間反復投与毒性試験では同用量群において本薬投与に関連した死亡例は認められなかった。本薬投与に関連した死亡例は 250 mg/kg/日以上の用量を反復投与したときに認められた。

2.6.6.3.1 雄ラットにおける反復経口投与毒性試験

2.6.6.3.1.1 雄ラット 14 日間反復経口投与毒性試験

【参考資料 4.2.3.2.1】

【試験方法】

Sprague-Dawley ラット（1 群雄 5 例）にアパルタミドを 0（溶媒），0（逆浸透脱イオン水），150，300 及び 600 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，14 日間反復強制経口投与した。別途サテライト群（1 群雄 4 例）を設定し，TK を評価した（表 2.6.6-3）。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.6A 参照】。

【結果】

本薬投与に関連した死亡が 300 及び 600 mg/kg/日投与群で投与後 5 日以内に認められた。600 mg/kg/日投与群の 1 例を Day 5 に状態悪化のため安楽死させた。300 mg/kg/日投与群では 1 例

が Day 3 に死亡し，別の 1 例は状態悪化のため Day 4 に安楽死させた。安楽死させた動物では一般状態の変化として，流涎，立毛，削痩，円背位，攻撃性，異常呼吸，糞便／尿による汚れ及び異常発声がみられた。病理組織学的検査では，これらの動物の早期死亡の原因を明らかにすることはできなかった。

150 mg/kg/日以上の投与群では，投与初期（Day 1～4）に本薬投与に関連した体重増加量の減少がみられたが，その後の体重増加量はいずれの投与群も同等であった。摂餌量に本薬投与に関連した影響は認められなかった。血液学的検査では，赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリット）の減少（最大-12%），網状赤血球数及び血小板数の増加，並びに白血球数，リンパ球数，単球数及び好塩基球数の増加がみられた。血液生化学的検査では，コレステロール及びγ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT）の増加がみられた。尿検査では，顕微鏡観察でみられた異常結晶以外には所見は認められなかった。アパルタミドの薬理作用と一致する変化として，前立腺及び精嚢の小型化及び重量減少，並びに精巣上体の重量減少がみられた。本薬投与に関連した副腎及び肝臓の重量増加，並びに肝臓重量増加の二次的変化と考えられる甲状腺の軽微な重量増加がみられた。病理組織学的検査では，本薬投与に関連した前立腺及び精嚢の萎縮，並びに副腎皮質の肥大がみられた。

以上のように，雄ラットにアパルタミドを 14 日間経口投与した結果，300 及び 600 mg/kg/日投与群で投与初期に死亡例が認められた。150 mg/kg/日投与群における忍容性は良好であり，認められた変化のほとんどはアパルタミドの抗アンドロゲン作用に関連するものであったことから，本試験における NOAEL は 150 mg/kg/日と判断された。高用量の曝露量は低用量の曝露量と比較して顕著な差はなく，C_{max} 及び AUC ともに中間用量の曝露量が最も高値であった（表 2.6.6-3）。

表 2.6.6-3 アパルタミドの雄ラット 14 日間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (μg/mL)		AUC (μg·hr/mL)[a]	
		Apalutamide	M3[b]	Apalutamide	M3[b]
150	1	28.9	N/A	977	N/A
	14	31.4	N/A	550	N/A
300	1	55.0	N/A	2420	N/A
	14	39.3	N/A	743	N/A
600	1	26.0	N/A	913	N/A
	14	33.5	N/A	650	N/A

N/A = not available
[a] $AUC_{0-\infty}$ for Day 1 and AUC_{0-24hr} for Day 14
[b] TK parameters of metabolite JNJ-56142060 (M3) were not evaluated in this study

2.6.6.3.1.2 雄ラット 28 日間反復経口投与毒性試験

【評価資料 4.2.3.2.2】

【試験方法】

Sprague-Dawley ラット（1 群雄 10 例）にアパルタミドを 0（溶媒），0（逆浸透脱イオン水），50，150 及び 250 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，28 日間反復強制経口投与した。別途サテライト群［1 群雄 9 例又は 3 例（溶媒対照群）］を設定し，TK を評価した（表 2.6.6-4）。さらに，溶媒対照群，150 及び 250 mg/kg/日投与群では 1 群雄 5 例の回復群を設定し，投与期間終了後 14 日間休薬して回復性を検討した。検査項目は死亡，一般状態観察，機能観察総合評価法（FOB），体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査（血液塗抹標本による赤血球形態評価を含む），血液

凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.7A 参照】。

【結果】

150 mg/kg/日以上の投与群で死亡例がみられた。250 mg/kg/日投与群では毒性評価群の 6 例が Day 3 に死亡し，残りの 9 例も状態悪化のため Day 4 までに安楽死させた。また，250 mg/kg/日投与群では TK 評価群の 9 例全例が Day 3 に死亡するか又は状態悪化のために安楽死させた。150 mg/kg/日投与群では，回復群の 2 例が Day 4 及び Day 9 に死亡し，TK 評価群の 3 例が Day 3～13 に死亡するか又は状態悪化のために安楽死させた。

250 mg/kg/日投与群の安楽死例では，立毛，活動性低下，異常呼吸，体温下降，脱水及び粗毛がみられた。死亡例では死亡前に一般状態の悪化が認められず，毒性評価群の死因を特定することはできなかった。250 mg/kg/日投与群の少数例及び 150 mg/kg/日投与群の 1 例の食道壁に慢性炎症が認められ，強制経口投与による損傷が示唆された。このうち 150 mg/kg/日投与群の動物は計画剖検時まで生存したが，試験の進行に伴ってラッセル音が確認され，これは投与時に被験液を吸引したことによる可能性が考えられた。

体重への影響は，250 mg/kg/日投与群で Day 1～4 に体重減少がみられたのみであった。摂餌量，眼科学的検査及び尿検査に本薬投与に関連した変化は認められなかった。最終週に実施した FOB では，150 mg/kg/日投与群（FOB を実施した最高用量）まで本薬投与に関連した CNS への影響は認められなかった【2.6.2.4.1 参照】。

50 mg/kg/日以上の投与群では，精巣上体，前立腺及び精嚢などの副生殖器官の小型化及び重量減少がみられ，病理組織学的変化として 150 mg/kg/日投与群では精巣上体の精子数減少，前立腺及び精嚢の萎縮が認められた。また，50 mg/kg/日以上の投与群では唾液腺の重量減少がみられたが，病理組織学的変化は認められなかった。50 mg/kg/日以上の投与群では副腎の重量増加もみられ，これに関連した変化として剖検では副腎の腫大，病理組織学的検査では皮質肥大がみられた。

150 mg/kg/日投与群では，本薬投与に関連した血液学的変化として，赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリット）の減少（最大-12%），網状赤血球数及び血小板数の増加，並びに白血球数，リンパ球数，単球数及び好塩基球数の増加がみられた。活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）及びプロトロンビン時間（PT）の延長もみられた。血液塗抹標本観察では，数例の動物に奇形赤血球，多染性赤血球，赤血球大小不同及び標的赤血球がみられた。血液生化学的検査では，コレステロール（最大 3 倍），GGT，総タンパク，アルブミン，グロブリン，尿素窒素，クレアチニン，カルシウム及びリン酸の増加がみられた。下垂体，肝臓及び甲状腺の重量増加がみられ，50 mg/kg/日投与群においても下垂体及び肝臓の軽微な重量増加傾向がみられた。器官重量の増加と関連し，剖検では肝臓の大型化，病理組織学的検査では下垂体前葉の肥大，肝臓の肝細胞肥大及び甲状腺の濾胞上皮細胞肥大がみられた。脾臓で髄外造血の亢進及び大腿骨骨髄で造血細胞の増生がみられた。すべての雄ラットの乳腺に，雌乳腺様の管状胞状腺への形態変化（乳腺の雌型分化）がみられた。精巣上体では精子数の減少の結果，管径の減少がみられた。片側性の精子肉芽腫が 1 例にみられた。精巣では間細胞の過形成がみられたほか，精細管上皮の変性が 1 例にみられた。

試験終了前に死亡した動物では，病理組織学的検査で前立腺，精嚢及び乳腺にアポトーシス，肝臓に有糸分裂像の増加，胃の腺胃粘膜にびらん（250 mg/kg/日投与群のみ），胃の前胃粘膜にびらん／潰瘍（250 mg/kg/日投与群のみ）及び脾臓のリンパ濾胞に萎縮がみられた。

14 日間の休薬期間終了時において，血液生化学的検査では，GGT，アルブミン及び尿素窒素を除き，対照群とほぼ同等であった。器官重量にはほとんど変化は認められなかった。休薬期間終了時にみられた病理組織学的変化は，150 mg/kg/日投与群において 1 例の骨髄（大腿骨），精巣及び精巣上体（おおむね片側性）に認められた。

以上のように，雄ラットにアパルタミドを 28 日間経口投与した結果，150 及び 250 mg/kg/日投与群では投与初期に死亡例がみられた。50 mg/kg/日投与群における忍容性は良好であり，みられた所見のほとんどは，本薬の抗アンドロゲン作用に関連した変化であった。NOAEL は最終報告書では 50 mg/kg/日とされているが，雄ラット 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1.4）の 150 mg/kg/日投与群では本薬投与に関連した死亡例は認められていないことから，本試験の 150 mg/kg/日投与群でみられた死亡例がアパルタミド投与と関連する可能性は低く，本試験における NOAEL は 150 mg/kg/日が適切であると判断した。

表 2.6.6-4 アパルタミドの雄ラット 28 日間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		$AUC_{0\text{-}24hr}$ (µg·hr/mL)	
		Apalutamide	M3[a]	Apalutamide	M3[a]
50	1	8.37	N/A	138	N/A
	28	11.9	N/A	201	N/A
150	1	23.3	N/A	430	N/A
	28	31.5	N/A	572	N/A
250[b]	1	41.7	N/A	688	N/A
	28	N/A	N/A	N/A	N/A

N/A = not available
[a] TK parameters of metabolite JNJ-56142060 (M3) were not evaluated in this study
[b] High-dose animals were euthanized on Day 3 and Day 4

2.6.6.3.1.3　雄ラット 13 週間反復経口投与毒性試験

【評価資料 4.2.3.2.3】

【試験方法】

Sprague-Dawley ラット（1 群雄 15 例）にアパルタミドを 0（溶媒），25，50 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，91 日間反復強制経口投与した。中間用量には，不純物F* 及び 不純物G* を 2%添加した。不純物F* 及び 不純物G* は，薬液を充填したカプセル剤の開発製剤においてのみ認められた分解物である（2.6.6.8.6 参照）。

別途サテライト群［1 群雄 9 例又は 3 例（溶媒対照群）］を設定し，アパルタミド，M3 及びヒト血漿中の微量代謝物である M4 の TK を評価した（表 2.6.6-5）。さらに，溶媒対照群，50 及び 100 mg/kg/日投与群では 1 群雄 5 例の回復群を設定し，投与期間終了後 30 日間休薬して回復性を検討した。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。肝代謝酵素活性を *ex vivo* で評価した【2.6.7.7B 参照】。

*新薬承認情報提供時に置き換え

【結果】

本薬投与に関連した死亡例は認められなかった。5 例の安楽死例又は死亡例（毒性評価群では 50 及び 100 mg/kg/日投与群の各 1 例，TK 評価群では 25，50 及び 100 mg/kg/日投与群の各 1 例）がみられたが，アパルタミド投与に起因すると考えられる明らかな用量反応性及び所見は認められず，誤投与による死亡又は偶発的死亡と考えられた。

試験期間中に本薬投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。100 mg/kg/日投与群では投与期間中に体重増加量の軽度な減少がみられ，投与期間終了時に体重減少（対照群に対して -5.5%）がみられた。摂餌量，眼科学的検査及び尿検査では本薬投与に関連した変化は認められなかった。

25 mg/kg/日以上の投与群では，投与期間終了時の血液学的検査で，網状赤血球数及び赤血球分布幅（RDW）の増加を伴う用量依存的な赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリット）の減少（最大-15%），並びに血小板数，フィブリノーゲン，白血球数及びリンパ球数の増加がみられた。血液生化学的検査ではコレステロール（最大 2.8 倍），高密度リポタンパク質（HDL），低密度リポタンパク質（LDL），総タンパク，アルブミン，グロブリン，クレアチニン及び ALP（最大 2 倍）の用量依存的な増加がみられた。剖検では本薬投与に関連した変化として前立腺及び精嚢の小型化がみられた。前立腺及び精巣上体の重量減少，並びに下垂体，胸腺及び肝臓の重量増加がみられた。病理組織学的検査では，前立腺及び精嚢の萎縮，精巣間細胞の過形成，雄乳腺の雌型分化及び下垂体前葉の細胞肥大がみられた。

50 mg/kg/日以上の投与群では，平均赤血球容積（MCV）の増加がみられた。また，精巣上体の萎縮，副腎皮質の肥大及び赤脾髄における髄外造血亢進がみられ，脾臓及び副腎では重量増加がみられた。

100 mg/kg/日投与群では，精巣の軽度な重量増加，平均赤血球血色素量（MCH）の増加及び骨髄の過形成がみられた。

不純物F* 及び 不純物G* を 2%添加した 50 mg/kg/日投与群の病理組織学的所見は，100 mg/kg/日投与群と比較して明らかな差異は認められなかった。

肝代謝酵素活性の評価では，生物学的意義があると考えられる唯一の変化として，全投薬群で CYP1A 活性の増加（約 2 倍）がみられた。

30 日間の休薬期間終了時において，血液学的及び血液生化学的パラメータは対照群と同等であり，回復性が認められた。50 及び 100 mg/kg/日投与群では精巣上体及び前立腺の重量減少傾向が持続したが，剖検及び病理組織学的所見は対照群と同等であった。両投与群ともに休薬後も下垂体前葉の軽度な細胞肥大がみられたが，その発現率は低下し，下垂体の重量も対照群と同等であった。

以上のように，雄ラットにアパルタミドを 91 日間経口投与した結果，100 mg/kg/日の用量まで忍容性は良好であった。本薬の薬理作用による影響が前立腺，精嚢，精巣，精巣上体，乳腺，下垂体，副腎及び赤血球パラメータにみられた。脾臓及び骨髄の病理組織学的所見は，赤血球パラメータの減少に関連した変化であった。したがって，本試験では有害作用は認められず，NOAEL は 100 mg/kg/日と判断された。

*新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.6-5 アパルタミドの雄ラット 13 週間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (μg/mL)			$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)		
		Apalutamide	M3	M4	Apalutamide	M3	M4
25	1	4.12	0.152	0.315	67.9	2.37	6.37
	28	4.76	0.191	0.460	84.5	3.28	8.75
	91	7.48	0.200	0.482	136	3.86	10.5
50	1	7.49	0.252	0.629	128	4.07	11.7
	28	9.79	0.324	0.901	168	5.76	17.7
	91	11.9	0.413	0.962	240	8.57	21.6
100	1	15.5	0.554	1.79	272	9.68	28.4
	28	20.2	0.740	1.83	341	13.7	34.2
	91	30.1	1.49	2.48	521	28.5	52.4

2.6.6.3.1.4　雄ラット 26 週間反復経口投与毒性試験

【評価資料 4.2.3.2.4】

【試験方法】

Sprague-Dawley ラット（1 群雄 20 例）にアパルタミドを 0（溶媒），25，75 及び 150 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，26 週間反復強制経口投与した。別途サテライト群［1 群雄 8 例又は 4 例（溶媒対照群）］を設定し，アパルタミド及び M3 の TK を評価した（表 2.6.6-6）。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.7C 参照】。

【結果】

本薬投与に関連した死亡例は認められなかった。6 例の安楽死例又は死亡例（毒性評価群では 75 mg/kg/日投与群で 3 例，TK 評価群では 25 mg/kg/日投与群で 1 例，150 mg/kg/日投与群で 2 例）がみられたが，いずれも誤投与によるものと考えられた。

試験期間中に本薬投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。25 mg/kg/日以上の投与群で体重への影響が認められ，75 及び 150 mg/kg/日投与群では有害作用と考えられる体重減少がみられた。試験期間終了時では，75 及び 150 mg/kg/日投与群の体重増加量は対照群と比較してそれぞれ 15.1%及び 15.0%低く，両投与群の平均体重は対照群と比較して 10%低かった。試験期間中の摂餌量に本薬投与に関連した変化は認められなかった。

眼科学的検査及び尿検査では，本薬投与に関連した変化は認められなかった。

25 mg/kg/日以上の投与群では，投与期間終了時の血液学的検査で，網状赤血球数及び RDW の増加を伴う赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリット）の用量依存的な減少（最大-20%），並びに血小板数，フィブリノーゲン，白血球数及びリンパ球数の増加がみられた。血液生化学的検査では，コレステロール（最大 3.3 倍），クレアチニン，尿素窒素及び ALP（2 倍未満）の用量依存的な増加がみられた。剖検では精巣上体，前立腺及び精嚢の小型化及び重量減少が用量依存的にみられた。その他に下垂体及び副腎の重量増加もみられた。病理組織学的検査では，前立腺，精嚢及び精巣上体の萎縮，精巣の変性，精巣間細胞の過形成，雄乳腺の雌型分化，下垂体前葉の細胞肥大，副腎皮質（束状帯）の肥大及び骨髄（大腿骨）の過形成がみられた。

75 mg/kg/日以上の投与群では，血液学的検査で MCH 及び MCV の軽度な増加が，血液生化学的検査で総タンパク，アルブミン及びグロブリンの増加がみられた。75 及び 150 mg/kg/日投与群

では精巣の小型化又は腫大がみられ，間細胞腺腫が各群各 1 例にみられた。75 及び 150 mg/kg/日投与群では肝臓の重量増加がみられ，小葉中心性の肝細胞肥大との関連が認められた。脾臓の重量増加がみられたが，病理組織学的変化は認められなかった。

150 mg/kg/日投与群では，胸腺の重量増加がみられ，胸腺萎縮の発現頻度及びその程度は対照群と比較して軽度ながら低下していた。これは，胸腺の退縮が軽減又は遅延したことを示すものと考えられた。

以上のように，雄ラットにアパルタミドを 26 週間経口投与した結果，150 mg/kg/日の用量まで前立腺，精嚢，精巣，精巣上体，乳腺，下垂体及び副腎に本薬の薬理作用による影響が認められた。精巣の変化は，75 及び 150 mg/kg/日投与群で各 1 例にみられた精巣の間細胞腺腫への進展が示唆された。脾臓（重量増加のみ）及び骨髄の所見は赤血球パラメータの減少と関連する変化であった。肝臓の重量増加及び肝細胞肥大は，肝細胞における代謝活性の亢進を反映したものと考えられた。75 及び 150 mg/kg/日投与群では 10%の体重減少及び最大で 20%の赤血球パラメータの変化，並びに精巣の間細胞腺腫がみられたことから，本試験における NOAEL は 25 mg/kg/日と判断された。

表 2.6.6-6 アパルタミドの雄ラット 26 週間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·hr/mL)	
		Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
25	182	7.20	0.228	135	4.58
75	182	20.4	1.10	389	20.6
150	182	27.7	1.40	508	27.7

2.6.6.3.2 雌ラットにおける反復経口投与毒性試験

雌ラットを用いた反復投与毒性試験を，雄ラットの試験と同様の用量範囲で実施した。

2.6.6.3.2.1 雌ラット単回経口投与及び 28 日間反復経口投与毒性試験

【参考資料 4.2.3.2.5】

【試験方法】

単回経口投与毒性試験では，Sprague-Dawley ラット（1 群雌 3 例）にアパルタミドを 0（溶媒），50，100，150 及び 250 mg/kg の用量で単回強制経口投与した。また，28 日間反復経口投与毒性試験において Sprague-Dawley ラット（1 群雌 10 例）にアパルタミドを 0（溶媒），25，50 及び 100 mg/kg/日の用量で強制経口投与した。アパルタミド及び M3 の TK を評価した（表 2.6.6-7）。検査項目は，単回投与毒性試験では死亡，一般状態観察，体重及び摂餌量とし，反復投与毒性試験では死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.6B 参照】。

【結果】

単回投与毒性試験

3～4 日間の観察期間中において，250 mg/kg の用量まで一般状態及び体重に影響はみられず，良好な忍容性を示し，MTD は得られなかった。250 mg/kg における曝露量は，100 及び 150 mg/kg における曝露量よりも低かったことから（表 2.6.6-7），これ以上の用量の漸増は実施しなかった。雌ラットのアパルタミドの血漿中曝露量は先に実施した雄ラットよりも高く，雄ラットの 250 mg/kg 投与群で本薬投与に関連した死亡例が認められたことに基づき，雌ラットを用いた反復投与では最高用量として 100 mg/kg/日を設定した。

反復投与毒性試験

死亡例は認められなかった。一般状態及び眼科学的検査に本薬投与に関連した影響は認められなかった。

25 mg/kg/日以上の投与群では，摂餌量，体重増加量及び体重の用量依存的な増加がみられた。血液学的検査では，赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリット）の減少，並びに網状赤血球数，血小板数，白血球数，リンパ球数，好中球数及び単球数の増加がみられた。血液生化学的検査では，コレステロールの用量依存的な増加（最大 2.5 倍）がみられた。副腎及び脾臓の重量増加，並びに剖検で副腎の腫大がみられ，これらに関連した変化として病理組織学的検査では，副腎皮質のびまん性肥大及び脾臓に髄外造血の亢進がみられた。

50 mg/kg/日以上の投与群では，血液生化学的検査でトリグリセリド，グルコース及びカルシウムの軽度な増加がみられた。肝臓の重量増加がみられ，これに関連した変化として病理組織学的検査では軽微な肝細胞肥大がみられた。病理組織学的検査では骨髄にびまん性の過形成もみられた。

100 mg/kg/日投与群では，フィブリノーゲンの増加を伴う PT 及び APTT の軽度な短縮がみられた。また，グロブリン及びアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT；1.5 倍）の軽微な増加がみられた。

以上のように，雌ラットにおける単回投与後の MTD は 250 mg/kg 超であった。雌ラットへの 4 週間反復投与では，100 mg/kg/日の用量まで良好な忍容性を示し，NOAEL は 100 mg/kg/日と判断された。

表 2.6.6-7 アパルタミドの雌ラット単回及び 28 日間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (μg/mL)		AUC (μg·hr/mL)[a]	
		Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
Single-Dose Phase					
50	1	15.6	0.158	465	5.69
100	1	30.8	0.487	1030	18.0
150	1	37.5	0.723	1380	24.4
250	1	29.1	0.326	918	10.5
Repeat-Dose Phase					
25	2 weeks	10.4	0.0927	186	1.89
	4 weeks	11.3	0.111	195	2.18
50	2 weeks	24.1	0.328	411	5.67
	4 weeks	23.7	0.349	416	6.25
100	2 weeks	38.5	0.737	710	14.8
	4 weeks	33.9	0.662	659	13.5

[a] $AUC_{0-\infty}$ for single-dose phase and AUC_{0-24hr} for repeat-dose phase

2.6.6.3.2.2 雌ラット 26 週間反復経口投与毒性試験

【評価資料 4.2.3.2.6】

【試験方法】

Sprague-Dawley ラット（1 群雌 20 例）にアパルタミドを 0（溶媒），25，50，100 及び 150 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，26 週間反復強制経口投与した。別途サテライト群［1 群雌 6 例又は 4 例（溶媒対照群）］を設定し，アパルタミド及び M3 の TK を評価した（表 2.6.6-8）。さらに，溶媒対照群，100 及び 150 mg/kg/日投与群では 1 群雌 5 例の回復群を設定し，投与期間終了後 2 カ月間休薬して回復性を検討した。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.7D 参照】。

【結果】

150 mg/kg/日投与群では 1 例が Day 85 に死亡したが，一般状態，剖検及び病理組織学的検査に変化は認められず，死因は不明であった。その他に毒性評価群では 10 例（対照群で 1 例，25 mg/kg/日投与群で 3 例，50 mg/kg/日投与群で 1 例，100 mg/kg/日投与群で 1 例及び 150 mg/kg/日投与群で 4 例），TK 評価群では 3 例（50 mg/kg/日投与群で 1 例及び 150 mg/kg/日投与群で 2 例）が計画剖検時前に死亡するか又は瀕死状態のために安楽死させたが，一般症状，剖検又は病理組織学的検査に基づき，いずれも偶発的又は誤投与による死亡であると考えられた。

試験期間中に本薬投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。投与期間中に 50 mg/kg/日以上の投与群で，休薬期間中に 100 mg/kg/日以上の投与群で，摂餌量及び体重の増加がみられたが，いずれも軽微な変化であることから，有害作用ではないと判断された。眼科学的検査及び尿検査では，本薬投与に関連した変化は認められなかった。

25 mg/kg/日以上の投与群では，血液学的検査で本薬投与に関連した変化として，赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリット）の用量依存的な減少（最大-20%），並びに白血球数及びリンパ球数の増加がみられた。血液生化学的検査でコレステロール（最大 2.85 倍），総タンパク，アルブミン及びグロブリンの用量依存的な増加がみられた。剖検で本薬投与に関連する所見が卵巣（100 mg/kg/日以上の投与群で腫瘤及び淡色病巣），乳腺（肥厚又は結節形成），副腎及び下垂体（腫大）にみられた。子宮（150 mg/kg/日投与群を除く），副腎及び肝臓の重量増加がみられた。病理組織学的検査では，全投薬群で卵巣腫瘍（顆粒膜細胞腫又は莢膜細胞腫）がみられた。すなわち，25 mg/kg/日投与群で悪性顆粒膜細胞腫が 1 例に，50 mg/kg/日投与群で良性莢膜細胞腫が 1 例に，100 mg/kg/日投与群で良性又は悪性の莢膜細胞腫及び良性顆粒膜細胞腫が計 11 例に，並びに 150 mg/kg/日投与群で良性又は悪性の莢膜細胞腫が計 9 例にみられた。これらの卵巣の多くで間質細胞の過形成及び黄体の欠如がみられた。その他の非腫瘍性病変として，全投薬群で子宮壁の肥大，乳腺の拡張，乳腺嚢胞，肥大及び空胞化，副腎皮質の肥大，下垂体の過形成，肝細胞肥大，並びに脾臓の髄外造血亢進がみられた。

50 mg/kg/日以上の投与群では，網状赤血球数の増加，並びに血小板数及び好中球数の増加がみられた。血液凝固検査では PT の軽微な短縮，血液生化学的検査ではグルコース，トリグリセリド及び ALP（2 倍未満）の増加がみられた。剖検では肝臓の腫大がみられた。下垂体，心臓及び腎臓の重量増加がみられた。病理組織学的検査では，下垂体の重量増加と関連して下垂体の過形

成（25 mg/kg/日以上の投与群）がみられたが，心臓及び腎臓の重量増加に関連した所見は認められなかった。また，50 mg/kg/日以上の投与群では甲状腺の濾胞細胞過形成がみられた。

100 mg/kg/日以上の投与群では，血液学的検査で MCV，MCH，RDW 及び単球数の増加がみられ，血液凝固検査でフィブリノーゲンの増加がみられた。血液生化学的検査では尿素窒素及びクレアチニンの増加がみられた。脾臓の重量増加がみられ，これに関連して病理組織学的検査では髄外造血の亢進（25 mg/kg/日以上の投与群）がみられた。

150 mg/kg/日投与群の毒性変化は 100 mg/kg/日投与群と同様であった。

2 カ月間の休薬期間終了時では，好中球数，グロブリン及び総タンパクの増加を除き，血液学的及び血液生化学的変化はほぼ回復した。休薬後も卵巣に良性の莢膜細胞腫又は顆粒膜細胞腫（100 mg/kg/日投与群で 4 例及び 150 mg/kg/日投与群で 3 例）がみられたが，非腫瘍性病変については，その発現頻度及び程度は低下した。また，休薬後も卵巣の間質細胞過形成，子宮の肥大，乳腺の変化，副腎皮質の肥大，下垂体の過形成，並びに甲状腺の過形成など，本薬投与に関連した非腫瘍性病変の多くがみられた。休薬期間終了時に胸腺の濾胞細胞の枯渇がみられたが，投与期間終了時では認められておらず，当該所見の毒性学的意義は明らかではなかった。投与期間終了時にみられた肝臓及び脾臓の病理組織学的所見は，休薬期間終了時には認められなかった。

以上のように，雌ラットにアパルタミドを 26 週間経口投与した結果，卵巣（過形成及び腫瘍），子宮，副腎，乳腺，下垂体，肝臓，甲状腺及び脾臓に病理組織学的変化がみられた。肝臓及び脾臓を除き，病理組織学的所見は休薬期間終了時にもみられたが，概して発現頻度及び程度は低下した。肝臓の変化は代謝活性の亢進を反映したものと考えられた。血液学的検査及び血液生化学的検査でみられた変化は，おおむね軽微であり，大部分に回復性が認められたことから，有害作用ではないと考えられた。全投薬群で過形成及び腫瘍性病変がみられたことから，本試験における NOAEL は 25 mg/kg/日（最低用量）未満と判断された。なお，卵巣の過形成及び腫瘍性病変は，アパルタミドの薬理作用に関連した変化であると考えられた。

表 2.6.6-8 アパルタミドの雌ラット 26 週間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		$AUC_{0\text{-}24hr}$ (µg·hr/mL)	
		Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
25	182	13.4	0.250	282	4.88
50	182	32.3	0.702	566	14.5
100	182	43.3	1.79	834	31.3
150	182	42.3	1.57	785	29.0

2.6.6.3.3 雄イヌにおける反復経口投与毒性試験

2.6.6.3.3.1 雄イヌ 21 日間反復経口投与毒性試験

【参考資料 4.2.3.2.7】

【試験方法】

ビーグル犬（1 群雄 2 例）にアパルタミドを 0（溶媒），10，20 及び 40 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，Day 1 及び Day 3 から Day 21 まで（計 20 日間），カプセルを用いて反復強制経口投与した。Day 2 は投与後 48 時間に TK 試料を採取するために投与しなかった（表 2.6.6-9）。検査項目は死亡，一般状態観察，身体検査（獣医師による検査），体温，体重，摂餌量，血液学的検査，血液

凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.6C 参照】。

【結果】

40 mg/kg/日投与群の 2 例が痙攣を呈したため， Day 13 又は Day 14 に安楽死させた。安楽死当日に振戦，活動性低下，尿による汚れ及び削痩がみられた。これらの動物では体重減少（試験開始後 2 週間で約 750 g）及び脱水がみられた。

身体検査（獣医師による検査）では異常は認められず，体温，血液学的検査，尿検査及び剖検に本薬投与に関連した変化は認められなかった。

10 mg/kg/日以上の投与群では，コレステロールの用量依存的な増加を除き，血液生化学的検査に本薬投与に関連した影響は認められなかった。前立腺，精巣上体及び脾臓の重量減少がみられた。病理組織学的検査では精巣上体の重量減少と関連して萎縮がみられたが，前立腺及び脾臓では病理組織学的変化は認められなかった。

20 mg/kg/日投与群では，1 例で振戦，円背位，歩行異常及び活動性低下が Day 14 から Day 18 の間にみられた。試験最終週では対照群と比較して体重増加量の減少がみられた。

以上のように，雄ビーグル犬にアパルタミドを経口投与した結果，10 mg/kg/日投与群における忍容性は良好であったが，20 及び 40 mg/kg/日投与群では CNS 症状（痙攣，振戦及び歩行異常）がみられたことから，本試験の NOAEL は 10 mg/kg/日と判断された。

表 2.6.6-9 アパルタミドの雄イヌ 21 日間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		AUC (µg·hr/mL)[a]	
		Apalutamide	M3[b]	Apalutamide	M3[b]
10	1	3.19	N/A	326	N/A
	21	17.4	N/A	338	N/A
20	1	7.98	N/A	611	N/A
	21	47.5	N/A	1020	N/A
40	1	16.2	N/A	1510	N/A
	21	ND	N/A	ND	N/A

N/A = not available, ND = not determined
[a] $AUC_{0-\infty}$ for Day 1 and AUC_{0-24hr} for Day 21
[b] TK parameters of metabolite JNJ-56142060 (M3) were not evaluated in this study

2.6.6.3.3.2 雄イヌ 28 日間反復経口投与毒性試験

【評価資料 4.2.3.2.8 及び参考資料 4.2.3.2.9】

【試験方法】

ビーグル犬（1 群雄 5 例）にアパルタミドを 0（溶媒），5，10 及び 25 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，カプセルを用いて 28 日間反復強制経口投与した。Day 28 にアパルタミド及び M3 の TK を評価した（表 2.6.6-10）。さらに，溶媒対照群，10 及び 25 mg/kg/日投与群では 1 群雄 3 例の回復群を設定し，投与期間終了後 28 日間休薬して回復性を検討した。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，眼科学的検査，心電図（ECG），血圧，血液学的検査（血液塗抹標本における赤血球形態評価を含む），血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.7E 参照】。

【結果】

25 mg/kg/日投与群の 3 例に痙攣（Day 7，8 及び 9 に各 1 回）がみられたことから，Day 9 までに安楽死させた。最初に CNS 症状がみられた時点でのアパルタミドの平均血漿中濃度は 30.2 μg/mL であった。これらの動物では，痙攣（3 分間持続）に引き続いて断続的な振戦及び活動性低下がみられた。体重増加量の軽度な減少が Week 1 にみられた。25 mg/kg/日投与群では Day 8 に投与を中止し，生存例については Day 9 から Day 29 又は 57 まで休薬させた。

5 及び 10 mg/kg/日投与群では，28 日間の投与期間中，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，ECG，血圧，血液学的検査，血液凝固検査及び尿検査に本薬投与に関連した明らかな変化はみられず，赤血球形態にも変化は認められなかった。

5 及び 10 mg/kg/日投与群では，投与期間終了時にコレステロールの増加がみられた。剖検では，5 及び 10 mg/kg/日投与群で前立腺の小型化，10 mg/kg/日投与群で精巣上体及び精巣の小型化がみられた。器官重量では，5 及び 10 mg/kg/日投与群で前立腺及び精巣上体の重量減少，10 mg/kg/日投与群で精巣の重量減少がみられた。これらの重量減少に関連して，病理組織学的検査では 5 及び 10 mg/kg/日投与群で前立腺の一部の腺様形成，並びに 10 mg/kg/日投与群で精巣上体の萎縮の発現頻度及び程度の増加がみられ，精巣における精子低形成／精子無形成の程度が増加した。精巣上体においても全投薬群及びほとんどの対照群の動物で精子量減少／無精子（精子数の減少）がみられたが，アパルタミド投与動物では発現頻度及び程度が軽度ながら増加した。

Day 8 まで 25 mg/kg/日を投与した動物においても，Day 29 に前立腺，精巣上体及び精巣に病理組織学的変化がみられた。安楽死例のうち 1 例の精巣上体にアポトーシスがみられ，神経症状（痙攣）を呈した 2 例の心臓に軽微な血管／血管周囲の炎症がみられた。

投与終了時に高値を示したコレステロールの値は，休薬終了時の Day 57 では正常範囲内までに回復した。10 及び 25 mg/kg/日投与群では対照群と比較して，精巣上体及び精巣の軽度な重量減少，並びに前立腺の重量増加がみられ，病理組織学的検査では精巣上体の精子量減少／無精子及び精巣の精子低形成／精子無形成の発現頻度に軽度な増加がみられた。

以上のように，雄ビーグル犬にアパルタミドを 28 日間経口投与した結果，25 mg/kg/日投与群では痙攣がみられた。10 mg/kg/日までの用量では忍容性は良好であり，みられた所見のほとんどは本薬の抗アンドロゲン作用に関連した変化であった。したがって，本試験における NOAEL は 10 mg/kg/日と判断された。

表 2.6.6-10 アパルタミドの雄イヌ 28 日間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (μg/mL) Apalutamide	C_{max} (μg/mL) M3[(a)]	AUC_{0-24hr} (μg·hr/mL) Apalutamide	AUC_{0-24hr} (μg·hr/mL) M3[(a)]
5	1	1.26	N/A	21.0	N/A
	28	5.97	4.35	116	96.5
10	1	2.68	N/A	47.4	N/A
	28	13.2	7.69	290	172
25[(b)]	1	6.77	N/A	127	N/A
	28	N/A	N/A	N/A	N/A

N/A = not available

[a] TK parameters of metabolite JNJ-56142060 (M3) on Day 1 were not evaluated

[b] High-dose animals were placed on a dosing holiday beginning on Day 9. The mean apalutamide concentration at the time of first observation of CNS toxicity was 30.2 μg/mL (n=3)

2.6.6.3.3.3 雄イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験

【評価資料 4.2.3.2.10】

【試験方法】

ビーグル犬（1 群雄 5 例）にアパルタミドを 0（溶媒），2.5，5 及び 10 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，カプセルを用いて 91 日間反復強制経口投与した。アパルタミド及び M3 の TK を評価した（表 2.6.6-11）。また，ヒト血漿中の微量代謝物である M4 についても TK パラメータを評価した。さらに，溶媒対照群，5 及び 10 mg/kg/日投与群に 1 群雄 3 例の回復群を設定し，投与期間終了後 60 日間休薬して回復性を検討した。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，眼科学的検査，ECG，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査（テストステロンを含む），尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。肝代謝酵素活性を *ex vivo* で評価した【2.6.7.7F 参照】。なお，投与期間終了後の剖検時にアパルタミド，M3 及び M4 の濃度分析のために脳脊髄液（CSF）及び脳組織を採取した【2.6.4.4.1 及び 2.6.5.8D 参照】。

【結果】

試験期間中に死亡例はみられず，本薬投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。10 mg/kg/日投与群では，投与期間終了時の体重が対照群と比較して 31%低く，休薬期間中も体重増加量の減少（最大-19%）及び摂餌量の減少がみられた。しかしながら，おおむね全動物の体重は投与期間中及び休薬期間中に増加した。

眼科学的検査，ECG，血液学的検査，血液凝固検査及び尿検査では本薬投与に関連した変化は認められなかった。

2.5 mg/kg/日以上の投与群では，コレステロール（最大 1.4 倍）及び HDL の増加がみられた。テストステロン濃度は試験期間中に変動したが，投与期間終了時の投薬群では，対照群と比較してテストステロン濃度の減少傾向がみられた。2.5 mg/kg/日以上の投与群で前立腺の小型化が，10 mg/kg/日投与群で精巣上体及び精巣の小型化がみられ，2.5 mg/kg/日以上の投与群で前立腺及び精巣上体の重量減少が，10 mg/kg/日投与群で精巣の重量減少がみられた。これらに関連して病理組織学的検査では，2.5 mg/kg/日以上の投与群で前立腺（萎縮），精巣上体（萎縮及び精子減少）及び精巣（精細管変性及び精子減少）に変化がみられた。下垂体においては，前葉の色素嫌性細胞の顕著化の軽度な増加（肥大）が 2.5 及び 10 mg/kg/日投与群の数例の動物にみられた。これは，全投薬群でみられた下垂体重量の軽微な増加傾向に関連していた。

肝代謝酵素活性の評価では，生物学的意義があると考えられる唯一の変化として，CYP2B 活性の増加（約 2.3 倍）がみられた。

60 日間の休薬期間終了時では，コレステロールは正常範囲内にあり，前立腺，精巣上体，精巣及び下垂体の変化は回復性を示した。

以上のように，雄ビーグル犬にアパルタミドを 91 日間経口投与した結果，5 mg/kg/日まで忍容性は良好であった。10 mg/kg/日投与群では体重の低下がみられた。全投薬群では前立腺，精巣上体，精巣及び下垂体に本薬の薬理作用に関連した変化がみられた。10 mg/kg/日投与群で体重減少がみられたことから，本試験における NOAEL は 5 mg/kg/日と判断された。

表 2.6.6-11 アパルタミドの雄イヌ 13 週間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (μg/mL)			$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)		
		Apalutamide	M3	M4	Apalutamide	M3	M4
2.5	1	0.558	0.127	0.0223	10.6	1.51	0.310
	28	2.85	2.63	0.451	64.6	57.3	6.81
	91	3.78	2.55	0.469	84.2	57.4	7.44
5	1	1.56	0.459	0.0818	31.9	5.77	1.18
	28	7.60	4.78	0.873	168	108	15.1
	91	10.3	4.63	1.22	202	100	17.9
10	1	2.85	0.588	0.134	56.2	8.01	2.32
	28	15.2	7.78	2.15	343	175	35.3
	91	19.6	8.93	2.85	419	196	45.6

2.6.6.3.3.4　雄イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験

【評価資料 4.2.3.2.11】

【試験方法】

ビーグル犬（1 群雄 4 例）にアパルタミドを 0（溶媒），2.5，5 及び 10 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，カプセルを用いて 39 週間反復強制経口投与した。アパルタミド及び M3 の TK を評価した（表 2.6.6-12）。検査項目は死亡，一般状態観察，身体検査（獣医師による検査），体重，摂餌量，眼科学的検査，ECG，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.7G 参照】。

【結果】

試験期間中に死亡例はみられず，本薬投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。全投薬群で体重増加量の減少がみられ， 投与終了時における 2.5，5 及び 10 mg/kg/日投与群の体重増加量は，対照群と比較して，それぞれ 0.70 倍，0.56 倍及び 0.59 倍であった。体重減少もみられ，Day 273 における 2.5，5 及び 10 mg/kg/日投与群の体重は，対照群と比較して，それぞれ 0.92 倍，0.88 倍及び 0.88 倍であった。しかしながら，摂餌量は試験期間を通して投与群間に明らかな差は認められなかった。

試験期間中，身体検査（獣医師による検査），眼科学的検査，ECG，血液学的検査，血液凝固検査及び尿検査に影響は認められなかった。

血液生化学的検査では，2.5 mg/kg/日以上の投与群でコレステロールの増加（最大 1.7 倍），5 mg/kg/日以上の投与群で ALP（最大 3.5 倍）の増加が用量依存的にみられた。2.5 mg/kg/日以上の投与群で前立腺，精巣上体及び腎臓の重量減少がみられた。10 mg/kg/日投与群の 1 例で精巣上体の小型化がみられた。病理組織学的検査では，2.5 mg/kg/日以上の投与群で前立腺及び精巣上体の萎縮，精細管の変性／萎縮（精子低形成を含む）及び精巣間細胞の肥大がみられた。肝臓では，軽微から軽度の多巣性の胆管／卵円形細胞の過形成が全投薬群でみられ，発現頻度及び程度が用量依存的に上昇した。腎臓では重量減少に関連した剖検及び病理組織学的所見は認められなかった。

以上のように，雄ビーグル犬にアパルタミドを 39 週間経口投与した結果，2.5 mg/kg/日以上の投与群で体重及び体重増加量の減少がみられた。前立腺，精巣及び精巣上体では本薬の薬理作用に関連した変化がみられた。2.5 mg/kg/日以上の投与群で体重及び体重増加量への影響，胆管／

卵円形細胞の過形成がみられたことから，本試験における NOAEL は 2.5 mg/kg/日（最低用量）未満と判断された。

表 2.6.6-12 アパルタミドの雄イヌ 39 週間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	
		Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
2.5	182	3.10	2.89	69.4	66.4
	273	3.82	2.99	86.6	69.7
5	182	7.43	4.78	167	109
	273	8.60	5.04	197	116
10	182	16.2	7.71	362	177
	273	18.7	8.32	427	189

2.6.6.3.4 雌イヌにおける反復経口投与毒性試験

雌イヌを用いた反復投与毒性試験を，雄イヌの試験と同様の用量範囲で実施した。雌雄のイヌにおける曝露量は同程度であった【2.6.4.3.1.3 参照】。

2.6.6.3.4.1 雌イヌ単回経口投与及び 21 日間反復経口投与毒性試験

【参考資料 4.2.3.2.12】

【試験方法】

単回経口投与毒性試験では，ビーグル犬（1 群雌 3 例）にアパルタミドを 0（溶媒），5，10 及び 20 mg/kg の用量でカプセル又は胃管により単回経口投与し，忍容性及び曝露量を評価した。また，21 日間反復経口投与毒性試験においてビーグル犬（1 群雌 3 例）に，アパルタミドを 0（溶媒），5，10 及び 20 mg/kg/日の用量でカプセルを用いて経口投与した。アパルタミド及び M3 の TK を評価した（表 2.6.6-13）。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検（反復投与）及び病理組織学的検査（反復投与）とした【2.6.7.6D 参照】。なお，投与期間終了後の剖検時にアパルタミド及び M3 の濃度分析のために脳組織を採取した【2.6.4.4.1 及び 2.6.5.8C 参照】。

【結果】

単回投与毒性試験

アパルタミドの 20 mg/kg までの単回投与における忍容性はおおむね良好であった。カプセル投与では，対照群を含むすべての投与群で嘔吐（投与後 1～2 時間以内）及び軽度な体重減少がみられた。胃管投与では，20 mg/kg 投与群の 1 例で投与直後に流涎がみられた。胃管投与では，投与前値と比較して 10 mg/kg 投与群の 1 例（4.6 倍）及び 20 mg/kg 投与群の 1 例（1.5 倍）に ALT の増加がみられた。MTD は得られなかった。胃管及びカプセル投与との間で明らかな曝露量の差は認められなかった。嘔吐は胃管により強制経口投与した動物でより多くみられた。

反復投与毒性試験

全投薬群で嘔吐及び流涎が投与後 1～2 時間以内にみられ，発現頻度に用量依存的な増加が認められた。10 mg/kg/日以上の投与群で摂餌量の減少がみられた。10 mg/kg/日投与群の 1 例では，

投与終了時に体重減少（-500 g）及び ALT の増加（3～4 倍）がみられた。5 及び 10 mg/kg/日投与群では病理組織学的変化は認められなかった。

20 mg/kg/日投与群の 1 例では一般状態の急激な悪化がみられたため，Day 17 に安楽死させた。最後の 2 日間投与で体重が急激に 400 g 減少し，安楽死前に運動失調，振戦，活動性低下（臥位のため），流涎及びケージ噛み行動がみられた。このイヌでは，赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリット）の増加（嘔吐による），白血球数，好中球数及び単球数の増加，並びに好酸球数の減少に加え，ナトリウム，コレステロール，尿素窒素，ALT（5 倍），アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST；3 倍），ALP（6 倍）及び総ビリルビンの増加がみられた。病理組織学的検査では，脾臓リンパ濾胞の軽微な萎縮及び胸腺皮質アポトーシスがみられたが，いずれもストレスによる二次的変化と考えられた。安楽死前の血漿中アパルタミド濃度は 35.3 µg/mL であった。20 mg/kg/日投与群では，別の 1 例で振戦，急激な体重減少，ALT（4 倍）の増加，並びにストレスに関連する同様の血液学的及び病理組織学所見がみられ，また，別の 1 例では体重減少，並びにコレステロール及び ALP の増加がみられた。なお，病理組織学的検査では肝臓に変化は認められなかった。

以上のように，雌イヌにおける MTD は，単回投与では 20 mg/kg 超，反復投与では 10 mg/kg/日であった。20 mg/kg/日の反復投与では 3 例中 2 例に CNS 症状（振戦，運動失調など）がみられた。

表 2.6.6-13 アパルタミドの雌イヌ単回及び 28 日間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)		AUC (µg·hr/mL)[a]	
		Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
Single-Dose Phase[b]					
5	1	1.93	0.631	73.8	30.4
10	1	2.39	0.914	80.6	46.7
20	1	8.02	2.32	325	111
Repeat-Dose Phase					
5	2 weeks	4.87	3.20	102	74.6
	3 weeks	5.16	3.72	111	86.6
10	2 weeks	12.1	7.72	268	176
	3 weeks	14.2	9.44	308	210
20	2 weeks	28.8	13.2	620	294
	3 weeks	37.1	16.5	806	371

[a] $AUC_{0\text{-}72h}$ for single-dose phase and $AUC_{0\text{-}24hr}$ for repeat-dose phase
[b] Since there was no consistent difference in exposure between gavage and capsule, only exposure parameters following capsule administration are shown.

2.6.6.3.4.2 雌イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験

【評価資料 4.2.3.2.13】

【試験方法】

ビーグル犬（6 カ月齢，1 群雌 4 例）にアパルタミドを 0（溶媒），2.5，5 及び 10 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，カプセルを用いて 13 週間反復強制経口投与した。アパルタミド及び M3 の TK を評価した（表 2.6.6-14）。溶媒対照群及び 10 mg/kg/日投与群に 1 群雌 2 例の回復群を設定し，投与終了後 1 カ月間休薬して回復性を検討した。検査項目は死亡，一般状態観察，身体検査（獣

医師による検査），体重，摂餌量，眼科学的検査，ECG，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.7H 参照】。

【結果】

試験期間中に死亡例はみられず，一般状態，身体検査（獣医師による検査），体重，摂餌量，眼科学的検査，ECG，血液学的検査，血液凝固検査及び尿検査では本薬投与に関連した変化は認められなかった。

血液生化学的検査では，2.5 mg/kg/日以上の投与群でコレステロールの用量依存的な増加（最大 1.2 倍），10 mg/kg/日投与群の 2 例で ALP の増加（最大 2.5 倍）がみられた。2.5 mg/kg/日以上の投与群で卵巣の重量減少，5 mg/kg/日以上の投与群で子宮の重量減少がみられ，本薬投与との関連性が示唆されたが，投与終了時における卵巣及び子宮の発達状況から対照群を含むすべてのイヌが性的に未成熟であると判断された。したがって，卵巣及び子宮の重量減少については，動物が成熟前の月齢であったこと，器官重量の群内でのばらつきが大きかったこと，病理組織学的検査で関連する変化が認められなかったことから，本薬投与との関連性については明確な判断はできなかった。

1 カ月間の休薬期間終了時では，コレステロール及び ALP は対照群と同等であった。対照群の動物は，卵巣及び子宮の病理組織学的検査によって性的に成熟であると判断されたが，10 mg/kg/日投与群では卵巣及び子宮の重量減少が持続し，性的未成熟がみられた。アパルタミドの半減期が長いことから【2.6.4.3.1.3】，10 mg/kg/日のイヌでは Day 90 に投与が終了した後も被験物質の曝露が継続し，性成熟に達するためには，1 カ月間を超える休薬期間が必要であった可能性が示唆された。

以上のように，雌ビーグル犬にアパルタミドを 91 日間経口投与した結果，高用量の 10 mg/kg/日まで忍容性は良好であった。生殖器でみられた所見は薬理作用による変化であり，有害作用ではないと考えられた。したがって，本試験における NOAEL は 10 mg/kg/日と判断された。

表 2.6.6-14 アパルタミドの雌イヌ 13 週間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	
		Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
2.5	91	3.49	2.77	79.8	63.2
5	91	8.33	4.80	192	112
10	91	16.7	9.05	385	206

2.6.6.4 遺伝毒性試験

アパルタミド及びその主要代謝物 M3 の遺伝毒性試験として，*in vitro* Ames 試験，ヒト末梢血リンパ球を用いる *in vitro* 染色体異常試験及びラットを用いる *in vivo* 小核試験を実施した。これらの試験結果はいずれも陰性であった。

さらに，ヒト血漿中の微量代謝物である M4 の遺伝毒性試験として，FDA との合意に基づいて，*in vitro* Ames 試験及びヒト末梢血リンパ球を用いる *in vitro* 染色体異常試験を実施した。染色体異常試験で M4 は弱い陽性反応を示したことから，フォローアップ試験として，M4 の曝露が確認

されたラットを用いてコメットアッセイを実施した。その結果，代謝物 M4 は *in vivo* で遺伝毒性を有さないと結論付けられた。

2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

2.6.6.4.1.1 アパルタミド及び代謝物 M3 の細菌を用いる復帰突然変異試験

【評価資料 4.2.3.3.1.1】

【試験方法】

アパルタミド及び代謝物 M3 の復帰突然変異誘発性を，ネズミチフス菌 TA1535，TA1537，TA98 及び TA100 株，並びに大腸菌 WP2 *uvrA* 株を用いて評価した。両被験物質は，それぞれジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解し，代謝活性化系（ラット肝 S9 mix）の存在下又は非存在下でプレート法及びプレインキュベーション法により，5000 μg/plate までの濃度範囲で試験した【2.6.7.8A 参照】。

【結果】

アパルタミドでは試験に用いた濃度範囲において細胞毒性は認められなかった。M3 での処理後に復帰変異コロニー数の著しい減少がみられ，M3 は高濃度で細胞毒性を示した。両被験物質ともに沈殿がプレート法及びプレインキュベーション法のいずれにおいても，S9 mix の非存在下では 1581 μg/plate 以上の濃度で，S9 mix の存在下では 5000 μg/plate でみられた。

プレート法及びプレインキュベーション法ともに，S9 mix の存在下及び非存在下にかかわらず，アパルタミド又は M3 処理による復帰変異コロニー数の増加は，いずれの試験菌株及び濃度においても認められなかった。

以上のように，本 *in vitro* 復帰突然変異試験において，アパルタミド及び M3 に遺伝毒性は認められなかった。

2.6.6.4.1.2 代謝物 M4 の細菌を用いる復帰突然変異試験

【評価資料 4.2.3.3.1.2】

【試験方法】

代謝物 M4 の復帰突然変異誘発性を，ネズミチフス菌 TA1535，TA1537，TA98 及び TA100 株，並びに大腸菌 WP2 *uvrA* 株を用いて評価した。M4 を DMSO に溶解し，代謝活性化系（ラット肝 S9 mix）の存在下又は非存在下でプレート法により，5000 μg/plate までの濃度範囲で試験した【2.6.7.8B 参照】。

【結果】

S9 mix の存在下及び非存在下にかかわらず，いずれの濃度においても試験菌株の正常な背景細菌叢が認められた。

S9 mix の存在下及び非存在下にかかわらず，M4 処理による復帰変異コロニー数の増加は，いずれの試験菌株及び濃度においても認められなかった。

以上のように，本 *in vitro* 復帰突然変異試験において，M4 に遺伝毒性は認められなかった。

2.6.6.4.2 ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

2.6.6.4.2.1 アパルタミド及び代謝物 M3 のヒトリンパ球を用いる染色体異常試験

【評価資料 4.2.3.3.1.3】

【試験方法】

アパルタミド及び代謝物 M3 の染色体異常誘発性を，ヒト末梢血リンパ球を用いて評価した。両被験物質は，それぞれ DMSO に溶解し，500 μg/mL までの濃度範囲で試験した。培養リンパ球を代謝活性化系（ラット肝 S9 mix）の非存在下又は存在下で 4 時間，ラット S9 mix 非存在下で 21 時間処理した【2.6.7.8C 参照】。

【結果】

光学顕微鏡による染色体異常評価のための最高濃度は，アパルタミドについては，いずれの処理においても被験物質処理時に沈殿がみられた 256 μg/mL とした。M3 については，S9 mix の非存在下の 4 時間及び 21 時間処理では，分裂指数が 50%以上低下する 128 μg/mL， S9 mix の存在下の 4 時間処理では，沈殿のみられた 256 μg/mL とした。

アパルタミド及び M3 に異常な分裂中期像を示す細胞の増加は認められなかった。

以上のように，*in vitro* 染色体異常試験において，アパルタミド及び M3 に染色体異常誘発性は認められなかった。

2.6.6.4.2.2 代謝物 M4 のヒトリンパ球を用いる染色体異常試験

【評価資料 4.2.3.3.1.4】

【試験方法】

代謝物 M4 の染色体異常誘発性を，ヒト末梢血リンパ球を用いて評価した。M4 は DMSO に溶解し，500 μg/mL までの濃度範囲で試験した。培養リンパ球は代謝活性化系（ラット肝 S9 mix）の非存在下又は存在下で 3 時間，ラット S9 mix 非存在下で 24 時間処理した【2.6.7.8D 参照】。

【結果】

初回の染色体異常試験

3 時間処理において，500 μg/mL では対照群と比較して，分裂指数が S9 mix の存在下では 41%減少及び非存在下では 14%減少したことから，光学顕微鏡による染色体異常評価のための最高濃度は，いずれの処理についても 500 μg/mL とした。3 時間処理では，S9 mix の存在下及び非存在下にかかわらず，染色体構造異常，倍数性及び核内倍加を有する細胞数に統計学的に有意な増加は認められなかった。

S9 mix の非存在下での 24 時間処理では，120，172 及び 245 μg/mL の濃度について染色体異常を分析した。245 μg/mL では対照群と比較して分裂指数が 58%減少した。24 時間処理では，245 μg/mL において，軽度ではあるが，染色体異常を有する細胞の発現率に統計学的に有意な増加がみられた（対照群で 0%に対し，245 μg/mL で 5%）。172 及び 120 μg/mL における染色体異常を有する細胞の発現率は，それぞれ 1.5 及び 2.5%であり，有意な増加は認められなかった。

確認試験（S9 mix 非存在下での 24 時間処理）

染色体異常を評価する濃度として，105，131 及び 164 μg/mL を選択した。これら濃度における分裂指数は対照群と比較してそれぞれ 4，19 及び 53%減少した。

染色体異常細胞の出現率に濃度依存的な増加傾向がみられ，溶媒対照群と比較し，105，131 及び 164 μg/mL の濃度における染色体異常細胞の出現率は，それぞれ 2.5，3.5 及び 5%であった。染色体異常細胞の出現率が 5%であった 164 μg/mL のみに統計学的有意差が認められた。

以上のように，M4 は，3 時間処理では S9 mix の存在下及び非存在下にかかわらず，染色体異常誘発性は陰性であった。一方，24 時間処理では S9 mix 非存在下で弱い陽性反応がみられたが，統計学的有意差は細胞増殖抑制が 50%を超える濃度でのみに認められたことから，245 μg/mL（初回試験）及び 164 μg/mL（確認試験）でみられた染色体異常細胞の軽度な増加の生物学的意義は疑わしいと考えられた。

2.6.6.4.3 *In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.3.1 アパルタミド及び代謝物 M3 のラット骨髄を用いる小核試験

【評価資料 4.2.3.3.2.1】

【試験方法】

Sprague-Dawley 雄ラットにアパルタミド及び代謝物 M3 を単回経口（強制）投与し，骨髄中の小核を有する幼若赤血球の増加を指標として，アパルタミド及び代謝物 M3 の小核誘発性を評価した【2.6.7.9A 参照】。

【結果】

予備試験を実施し，アパルタミドの MTD を検討した。雄ラット 2 例にアパルタミドを 2000 mg/kg の用量で単回強制経口投与し，死亡及び一般状態の変化を 2 日間観察したところ，良好な忍容性がみられた。したがって，2000 mg/kg を本試験における高用量として設定した。

本試験ではラット（1 群雄 5 例）にアパルタミド及び M3 を，いずれも 0（溶媒），500，1000 及び 2000 mg/kg の用量で単回強制経口投与した。投与後 24 及び 48 時間に骨髄細胞を採取し，顕微鏡観察により小核の有無及び幼若赤血球の割合を評価した。

試験期間中に死亡例及び一般状態の変化は認められなかった。アパルタミド及び M3 を投与した動物では，小核を有する幼若又は成熟赤血球の出現頻度に顕著な増加は認められなかった。また，幼若赤血球の割合に顕著な減少は認められず，アパルタミド及び M3 に骨髄毒性がないことが示された。

以上のように，*in vivo* ラット骨髄小核試験において，アパルタミド及び M3 に染色体異常誘発性は認められなかった。

なお，本試験では TK 評価は行わなかったが，同一条件で実施した単回投与薬物動態試験（【4.2.2.2.6】及び表 2.6.6-15）において，アパルタミド，M3 及び M4 の C_{max} 及び AUC が得られており，アパルタミドの経口投与後に M3 及び M4 への曝露が確認された。500 mg/kg を超える用量では曝露量の減少が認められた。

表 2.6.6-15 アパルタミドの雄ラット小核試験における平均曝露量 [a]

Test Item	Dose	C_{max} (μg/mL)			$AUC_{0-\infty}$ (μg·hr/mL)		
	(mg/kg)	Apalutamide	M3	M4	Apalutamide	M3	M4
Apalutamide	500	18.6	1.41	2.33	516	42.8	73.0
	1000	13.8	0.874	1.49	521	34.3	64.5
	2000	13.4	0.700	1.68	410	23.6	56.8
M3	500	NA	7.49	3.13	NA	122	71.9
	1000	NA	5.34	2.43	NA	102	65.9
	2000	NA	5.03	2.43	NA	146	95.3

NA = not applicable
[a] Excerpt from a single-dose pharmacokinetics study (4.2.2.2.6).

2.6.6.4.3.2 アパルタミドのラット肝臓を用いるコメットアッセイ

In vitro 染色体異常試験（2.6.6.4.2.2）で認められた代謝物 M4 の弱陽性反応に対する追加検討として，アパルタミドのコメットアッセイを実施し，アパルタミド及び代謝物 M4 の雄ラット肝細胞における DNA 損傷誘発性を評価した。併せてアパルタミド及び M4 の曝露量を測定した。

用量設定試験

【参考資料 4.2.3.3.2.2】

【試験方法】

アパルタミドの MTD を決定するために，コメットアッセイと同じ投与レジメンに従って，雌雄ラットを用いた用量設定試験を実施した。Sprague-Dawley ラット（1 群雌雄各 3 例）に，アパルタミドを 0（溶媒），50，100，150，250 及び 500 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，2 日間連日強制経口投与した【2.6.7.9B 参照】。

【結果】

150，250 及び 500 mg/kg/日投与群では雌雄各 1 例が Day 3 に死亡した。体重減少（Day 1 と比較して Day 3 で最大-18%）が雄では 50 mg/kg/日以上の投与群，雌では 150 mg/kg/日以上の投与群でみられた。50 mg/kg/日以上の投与群では立毛，鼻汁及び眼の痂皮形成，100 mg/kg/日以上の投与群では鼻の痂皮形成，150 mg/kg/日以上の投与群では不規則呼吸，円背位，嗜眠及び腹部膨満がみられた。アパルタミド及び M4 の曝露量に顕著な性差は認められなかったが，500 mg/kg/日の曝露量は 250 mg/kg/日よりも低かった（表 2.6.6-16）。

表 2.6.6-16 アパルタミドの雌雄ラットコメットアッセイ用量設定試験における平均曝露量

Dose	Study	C_{max} (μg/mL)				AUC_{0-24hr} (μg·hr/mL)			
(mg/kg/day)	Day	Apalutamide		M4		Apalutamide		M4	
		M	F	M	F	M	F	M	F
50	2	14.9	14.7	1.99	2.17	255	259	31.9	36.1
100	2	22.9	24.6	2.36	3.28	434	495	38.0	54.9
150	2	32.5	33.5	10.4	5.35	567	454	95.1	68.0
250	2	61.9	52.2	7.37	7.50	755	661	70.1	66.9
500	2	32.3	36.0	4.53	4.32	387	429	42.8	55.5

150 mg/kg/日投与群では死亡例が認められた。雄ラット 26 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1.4）では，150 mg/kg/日投与群で本薬投与に関連した死亡例がみられなかったことから，本用量設定試験の 150 mg/kg/日投与群でみられた死亡と本薬投与との関連性は低いと考えられた。用量設定試験では誤投与の証拠は得られていないが，150 mg/kg/日投与群における死亡は，粘性の高い脂質性エマルジョンを溶媒として強制経口投与したことに起因する可能性が考えられた。

以上のことから，150 mg/kg/日をコメットアッセイの高用量として設定した。また，死亡発現，忍容性及び曝露量に性差がみられなかったことから，コメットアッセイは雄ラットのみで行うこととした。

コメットアッセイ

【評価資料 4.2.3.3.2.3】

【試験方法】

Sprague-Dawley ラット（1 群雄 7 例）にアパルタミドを 0（溶媒），50，100 及び 150 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，2 日間連日強制経口投与した。用量設定試験における代謝物 M4 の最高血中濃度到達時間の前後にあたる，Day 2 の投与後 24 時間に肝臓組織を採取した。アパルタミド及び M4 の血漿及び肝臓中の曝露量を測定した【2.6.7.9C 参照】。

【結果】

死亡例はみられず，体重減少は対照群と同程度であった。全投薬群で，鼻の痂疲形成，鼻出血，嗜眠，不規則呼吸，咳又は立毛が認められた。

いずれの用量においても対照群と比較して，%tail DNA［全体の DNA 量に対する移動した尾（テール）部分の DNA 量の割合で，DNA 損傷の指標とされる］の統計学的に有意な増加は認められなかった。血漿及び肝臓組織へのアパルタミド及び M4 の曝露が確認された（表 2.6.6-17）。

以上のように，アパルタミドを 150 mg/kg/日までの用量で投与し，血漿及び肝臓中に代謝物 M4 の曝露が確認されたが，対照群と比較して肝臓に DNA 損傷の有意な増加は認められなかった。したがって，*in vivo* コメットアッセイにおいて，アパルタミド及び代謝物 M4 の DNA 損傷誘発性は陰性と判定された。

表 2.6.6-17 アパルタミドの雄ラットコメットアッセイにおける平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	Plasma Concentration 24-hours post-second dose (µg/mL)		Liver Concentration 24-hours post-second dose (µg/g)	
		Apalutamide	M4	Apalutamide	M4
50	3	5.84	1.55	28.6	19.8
100	3	13.5	4.59	60.5	31.9
150	3	14.4	3.38	61.0	39.4

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 長期がん原性試験

がん原性試験は，ICH S9 ガイドラインに従って実施していない。

2.6.6.5.2 マウス短期がん原性試験

将来的ながん原性試験の実施に備えて，CD-1 及び CByB6F1 ハイブリッド（Tg.rasH2 非トランスジェニック同腹児）マウスを用いて用量設定試験を実施した。最初の試験では，溶媒である粘性の高い脂質性エマルジョンに関連し，強制経口投与の技術的難しさに起因して，高い死亡率が認められた。その後の試験では投与容量を減量し，より安全に投与薬液を投与できるように最適化した方法によって強制経口投与した。

2.6.6.5.2.1 マウス単回投与及び 10 日間反復経口投与試験

【参考資料 4.2.3.4.2.1】

【試験方法】

単回投与試験として，CD-1 マウス（1 群雌雄各 6 例）にアパルタミドを 0（溶媒），20，100 及び 500 mg/kg/日の用量で単回強制経口投与した。反復投与試験として，CD-1 マウス（1 群雌雄各 6 例）にアパルタミドを 0（溶媒），20，50 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，10 日間反復強制経口投与した。単回投与試験及び反復投与試験とも，別途サテライト群（1 群雌雄各 6 例）を設定し，アパルタミド及び M3 の TK を評価した（表 2.6.6-18）。検査項目は，単回投与試験では死亡，一般状態観察及び体重，反復投与試験では死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.10A 参照】。

【結果】

単回投与毒性試験

500 mg/kg 投与群では，毒性評価群及び TK 評価群を合わせて計 9 例（雄 3 例及び雌 6 例）が死亡し，これは MTD を超える用量に起因するものと考えられた。これらの動物では死亡前に，振戦，痙攣及び筋緊張低下がみられた。500 mg/kg 投与群では全例に活動性低下がみられた。溶媒対照群の雄 1 例及び 100 mg/kg 投与群の雌 1 例が死亡したが，一般状態及び剖検所見に基づき，死因は誤投与によるものと考えられた。

反復投与毒性試験

投与期間中に，毒性評価群及び TK 評価群を合わせて計 14 例（20 mg/kg/日投与群で 3 例，50 mg/kg/日投与群で 4 例及び 100 mg/kg/日投与群で 7 例）が死亡した。病理組織学的検査に基づき，死因は本薬投与に関連したものではなく，いずれも誤投与によるものと考えられた。

本薬投与に関連した一般状態の変化，摂餌量及び体重への影響は認められなかった。

血液学的検査では，MCV（雌）減少を伴うヘモグロビン及びヘマトクリットの用量依存的な減少，血小板数の増加がみられた。血液生化学的検査では，ALT，ALP（ALT 及び ALP ともに雄で 2 倍）及びリン酸の増加，並びにコレステロール，ビリルビン，カルシウム（雄），アルブミン及び総タンパクの減少がみられた。100 mg/kg/日投与群の雄では副腎皮質（束状帯）の肥大がみられた。全投薬群の雌雄で肝細胞肥大がみられ，100 mg/kg/日投与群では少数例の雌雄で肝細胞壊死を伴っていた。肝細胞肥大は，用量依存的な肝臓の重量増加及び 100 mg/kg/日投与群で剖検時に低頻度でみられた小葉明瞭化／褪色化と関連した所見であった。

以上のように，単回投与時の MTD は 100 mg/kg であった。500 mg/kg の単回投与後に CNS 症状（振戦及び痙攣）及び本薬投与に関連した死亡例がみられた。10 日間反復投与したときの忍容性は 100 mg/kg/日まで良好であった。副腎及び肝臓に病理組織学的変化が認められた。肝臓の重量増加を伴う肝細胞肥大は，TK データ（特に雄）に示唆されるように肝臓の代謝酵素誘導によるものと考えられた。

表 2.6.6-18 アパルタミドの雌雄マウス単回及び 10 日間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (μg/mL) Apalutamide		M3		AUC (μg·hr/mL)[a] Apalutamide		M3	
Single-Dose Phase									
		M	F	M	F	M	F	M	F
20	1	4.69	6.25	0.896	0.866	191	214	26.8[c]	25.7[c]
100	1	24.1	28.1	6.68	6.66	661	704	180[c]	174[c]
500	1	71.0	84.7	17.8	7.29	1760	2480	188[c]	244[c]
Repeat-Dose Phase									
		M	F	M	F	M	F	M	F
20	Day 0	5.04	5.85	0.674	0.658	102	109	7.97	7.74
	Day 9	6.75	11.1	1.62	1.24	113	170	35.7	28.8
50	Day 0	13.5	11.8	2.09	1.56	256	244	23.6	19.6
	Day 9	11.6	15.1	4.06	3.78	136	228	84.9	71.6
100	Day 0	23.1	27.5	7.39	3.91	491	503	72.6	42.9
	Day 9	13.9	NC[b]	7.58	NC[b]	140	NC[b]	127	NC[b]

NC = not calculated
[a] $AUC_{0-\infty}$ for single-dose phase and AUC_{0-24hr} for repeat-dose phase
[b] not calculated since not enough data points
[c] AUC_{0-48hr}

2.6.6.5.2.2　マウス 10 日間反復経口投与試験

【参考資料 4.2.3.4.2.2】

【試験方法】

最適な強制経口投与手技を確立し，100 mg/kg/日を超える用量を反復投与したときのアパルタミドの忍容性を評価するために実施した。CD-1 マウス（1 群雌雄各 6 例）にアパルタミドを 0（溶媒），100，175 及び 250 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，10 日間反復強制経口投与した。対照群及び 100 mg/kg/日投与群ではポンプを用いて自動的に経口投与したが，175 及び 250 mg/kg/日投与群では強制経口投与手技を最適化するために，柔軟なプラスチック製の胃ゾンデを用いて手動で経口投与した。175 及び 250 mg/kg/日投与群では別途サテライト群（1 群雌雄各 6 例）を設定し，アパルタミド及び M3 の TK を評価した（表 2.6.6-19）。検査項目は全投与群において，死亡，一般状態，体重，剖検及び病理組織学的検査，175 及び 250 mg/kg/日投与群において，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査及び器官重量とした【2.6.7.10B 参照】。

【結果】

175 mg/kg/日投与群の雌雄各 1 例，250 mg/kg/日投与群（TK 評価群）の雄 2 例が Day 0 から Day 3 の間に死亡した。175 mg/kg/日投与群の雌 1 例は，Day 0 の投与 7 時間後に間代性痙攣及び活動性低下がみられ，Day 1 の投与 2 時間後に死亡した。175 mg/kg/日投与群の雄 1 例は，Day 3 の安楽殺前に活動性低下，振戦及び四肢の冷感がみられた。250 mg/kg/日投与群の TK 評価群で

死亡した雄 2 例については一般状態の観察は行っていない。いずれの死亡例においても死因を示唆する病理組織学的所見は認められなかった。このほかに，誤投与による偶発的な死亡が 3 例（対照群の雌雄各 1 例及び 100 mg/kg/日投与群の雌 1 例）に認められた。

175 及び 250 mg/kg/日投与群では，血液学的検査でヘモグロビン及びヘマトクリットの減少（雄），MCV の減少（雌），並びに網状赤血球数，血小板数及び好中球数（雌）の増加，血液生化学的検査で ALT（最大 2.8 倍），AST（雌；1.4 倍），ALP（雄；2 倍）及びグロブリンの増加，並びにコレステロール及びビリルビンの減少がみられた。100 mg/kg/日投与群では前立腺及び精嚢の萎縮（剖検では小型化）がみられたが，175 及び 250 mg/kg/日投与群では認められなかった。全投薬群で副腎［暗色化変色（剖検），重量増加及び副腎皮質肥大］及び肝臓［変色，腫大及び小葉構造明瞭化（剖検），重量増加，並びに空胞化，壊死及び顕著な有糸分裂を伴う肝細胞肥大］に本薬投与に関連した変化がみられた。175 及び 250 mg/kg/日投与群では，脾臓の変化（重量増加及び髄外造血）がみられ，胸腺の重量増加（雄）がみられたが，これに関連した病理組織学的変化は認められなかった。

以上のように，175 及び 250 mg/kg/日投与群では死亡例及び CNS への影響がみられた。100 mg/kg/日の 10 日間反復投与における忍容性は良好であり，この用量が本試験における MTD と判断された。

表 2.6.6-19 アパルタミドの雌雄マウス 10 日間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (μg/mL) Apalutamide		C_{max} (μg/mL) M3		AUC_{0-24hr} (μg·hr/mL) Apalutamide		AUC_{0-24hr} (μg·hr/mL) M3	
		M	F	M	F	M	F	M	F
100	0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	9	17.6	25.9	12.3	12.0	175	262	186	179
175	0	52.5	48.5	18.4	14.1	861	790	207	153
	9	30.0	32.2	17.6	18.3	195	248	244	235
250	0	42.8	42.6	14.0	9.46	727	657	156	130
	9	31.1	35.2	21.4	20.6	210	283	246	255

N/A = not available

2.6.6.5.2.3 マウス 14 日間反復経口投与試験

【参考資料 4.2.3.4.2.3】

【試験方法】

本試験は，Tg.rasH2 トランスジェニックマウスを用いた 4 週間投与による用量設定試験及び 26 週間投与によるがん原性試験に先立って実施した。

CByB6F1（Tg.rasH2 非トランスジェニック同腹児）マウス（1 群雌雄各 6 例）にアパルタミドを 0（溶媒），75 及び 150 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，14 日間反復強制経口投与した。75 及び 150 mg/kg/日投与群では，別途サテライト群（1 群雌雄各 13 例）を設定し，アパルタミド及び M3 の TK を評価した（表 2.6.6-20）。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.10C 参照】。

【結果】

150 mg/kg/日投与群では，TK 評価群の雌 1 例が Day 3 に死亡し，その他の動物に一般状態の悪化（活動性低下，体温下降，円背位，努力／浅呼吸，眼脂及び半眼），摂餌量減少及び顕著な体重減少（Day 1 で最大-11.3%）がみられたことから，Day 3 に安楽死させた。75 mg/kg/日投与群では毒性評価群の雌 1 例が Day 6 に死亡したが，死亡前に一般状態の変化は認められず，剖検及び病理組織学的検査によって死因を特定することはできなかった。対照群の 2 例（雌雄各 1 例）を誤投与のために安楽死させた。

75 mg/kg/日投与群では，一般状態，摂餌量，体重及び剖検に本薬投与に関連した変化は認められなかった。血液学的検査では，雄で白血球数，好中球数及びリンパ球数の増加がみられた。血液生化学的検査では，ALT（最大 2.7 倍）及び ALP（雄；2.3 倍）の増加，コレステロールの減少（雄），並びにトリグリセリドの増加（雌）がみられた。器官重量では，精巣上体の重量減少，並びに胸腺（雄）及び肝臓の重量増加がみられた。病理組織学的検査では，肝臓の重量増加に関連した軽微な小葉中心性の肝細胞肥大がみられたが，胸腺及び精巣上体では重量増加に関連する病理組織学的変化は認められなかった。また，副腎皮質（束状帯）の肥大が雌雄でみられた。

以上のように，150 mg/kg/日の用量では忍容性は認められず，Day 3 で死亡するか又は安楽死させた。75 mg/kg/日の 14 日間投与では，死因不明の死亡が 1 例にみられたが，比較的良好な忍容性が認められた。肝臓を除き，認められた毒性所見はいずれも本薬のアパルタミドの薬理作用に関連するものであった。

表 2.6.6-20 アパルタミドの雌雄マウス 14 日間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (μg/mL) Apalutamide		M3		$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL) Apalutamide		M3	
		M	F	M	F	M	F	M	F
75	1	18.3	23.9	2.78	3.21	342	428	34.5	37.9
	14	16.1	18.6	10.0	6.85	160	213	155	110
150 [(a)]	1	36.2	41.1	7.56	8.05	759	761	86.5	83.6
	14	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

[a] All 150 mg/kg/day animals were sacrificed on Day 3 due to adverse clinical signs
N/A = not available

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1 雄ラット受胎能試験

【評価資料 4.2.3.5.1.1】

【試験方法】

Sprague-Dawley ラット（1 群雄 32 例）に，アパルタミドを 0（溶媒），25 及び 150 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，4 週間反復強制経口投与した。第 I 群（1 群各 12 例）は投与 4 週間後に剖検した。第 II 群（1 群各 20 例）は，投与 4 週間後に無処置の雌ラットと 1 回目の交配を行い，さらに，8 週間の休薬後に 2 回目の交配を行って受胎能に及ぼす影響を評価した。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，精子検査（精子数，運動性及び形態），交尾行動及び交配所要日数，剖検，雄性生殖器の器官重量，受胎率及び無処置の雌ラットの妊娠状態とした【2.6.7.12 参照】。

【結果】

本薬投与に関連した死亡例は認められなかった。誤投与により，雄ラット 3 例（対照群で 1 例，25 mg/kg/日投与群で 1 例及び 150 mg/kg/日投与群で 1 例）が死亡するか又は安楽死させた。25 mg/kg/日投与群の 1 例が休薬期間中に同居動物の攻撃を受けて死亡した。

試験期間中，本薬投与に関連した一般状態の変化，並びに摂餌量及び体重への影響は認められなかった。

4 週間投与後に剖検した第 I 群では，25 mg/kg/日以上の投与群で精巣上体の精子数の用量依存的な減少，150 mg/kg/日投与群で精子の運動性低下が認められた。いずれの投薬群においても精巣の精子数及び精子形態に影響は認められなかった。25 及び 150 mg/kg/日投与群における精子に対する影響は，雄性副生殖器（凝固腺，精嚢及び前立腺）の小型化及び精巣上体の重量減少とともに認められた。

4 週間投与後に無処置の雌ラットと交配した 150 mg/kg/日投与群の第 II 群では，交尾率（80%）及び受胎率（81%）の低下が認められた。妊娠動物では着床前又は着床後胚損失率の上昇がみられ，生存可能な出生児数の減少が示唆された。25 mg/kg/日投与群の妊娠状態は対照群と同様であった。交配所要日数は投与群間で同様であったが，膣栓の平均数は 25 及び 150 mg/kg/日投与群で用量依存的に減少した。

8 週間の休薬後，精子検査，交尾率及び受胎率に影響は認められず，上述のアパルタミドによる影響は完全に回復した。

以上のように，認められた変化はいずれも本薬の抗アンドロゲン作用に起因するものと考えられる。副生殖器に対する同様の影響は，雄ラットの反復投与毒性試験（2.6.6.3.1）で報告されている。25 mg/kg/日投与群では精子検査，並びに雄性副生殖器の剖検及び重量に変化がみられたが，交尾及び受胎への影響はみられず，また，交配した無処置雌ラットの着床前又は着床後胚損失率に影響がみられなかったことから，有害作用ではないと考えられた。したがって，雄親動物の一般毒性及び生殖能に対する NOAEL は 25 mg/kg/日と判断された。

なお，雄ラットの 28 日間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1.2）において， 4 週間投与後の 150 mg/kg/日における曝露量が得られていることから，本試験では TK 評価を行わなかった。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

アパルタミドの適応症が CRPC に罹患した成人男性であることから，胚・胎児発生に関する試験を実施しなかった。

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

アパルタミドの適応症が CRPC に罹患した成人男性であることから，出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施しなかった。

2.6.6.6.4 新生児を用いた試験

アパルタミドの適応症が CRPC に罹患した成人男性であることから，新生児を用いた毒性試験を実施しなかった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

CRPC に罹患した成人男性へのアパルタミドの予定臨床投与経路は経口投与であることから，すべての毒性試験は経口投与（強制又はカプセル）によって実施し，局所刺激性はラット及びイヌを用いた一般毒性試験において評価した。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性試験

ラット及びイヌを用いた一般毒性試験においてアパルタミドの抗原性を示唆する所見がみられなかったことから，抗原性試験を実施しなかった。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

ラット及びイヌを用いた一般毒性試験において，アパルタミドの免疫毒性を示唆する所見がみられなかったことから，ICH S9 ガイドラインに従って免疫毒性試験を実施しなかった。

2.6.6.8.3 毒性発現の機序に関する試験

毒性発現の機序に関する試験を実施しなかった。ラット及びイヌでみられた主な毒性は，アパルタミドの薬理作用である抗アンドロゲン作用に関連した変化であった。痙攣がイヌ及びマウスを用いた一般毒性試験におけるアパルタミドの高用量でみられたが，これは $GABA_A$ 受容体に対する阻害作用を介するものと考えられる。

2.6.6.8.4 依存性試験

依存性試験の必要性を *in vitro* 及び *in vivo* 試験の非臨床試験成績に基づいて評価し，非臨床依存性試験を実施しなかった。非臨床試験全般の成績から，アパルタミドは薬物依存性を有さないことが示唆される。また，ARN-509-003 試験【2.7.4】において投与中止後に，退薬症候又は反跳作用は認められなかった。

2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験

M3 はヒト血漿中の主要活性代謝物である。代謝物 M3 は，薬効薬理試験，副次的薬理試験，*in vitro* 及び *in vivo* 安全性薬理試験【2.6.2】，*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験（2.6.6.4），並びに *in vitro* 光毒性試験（2.6.6.8.7）において評価された。M3 はアパルタミドと同様に，$GABA_A$ 受容体開口性クロライドチャネルに対する阻害を示す。イヌを用いた重要な毒性試験における M3

の全身曝露量は，ヒトにおける M3 の曝露量を超えていた（2.6.6.9.1.3 参照）。以上の非臨床試験成績及び ICH S9 ガイドラインに基づいて，M3 単独の毒性試験は必要ないと考えられた。

代謝物 M1，JNJ-56142047（M2）及び M4 は，薬効薬理試験及び副次的薬理試験【2.6.2.1】において評価され， AR 及び $GABA_A$ 受容体に対して阻害作用はないと考えられた。代謝物 M4 はヒト血漿中の代謝物としては微量であるが，FDA との合意のもとに M4 の遺伝毒性（2.6.6.4）を評価した。また，代謝物 M4 の全身曝露量は，雄のラット及びイヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1.3 及び 2.6.6.3.3.3）において測定された。

2.6.6.8.6　不純物の毒性試験

代表的な原薬バッチにおいて，報告の必要な閾値 0.05%以上の 不純物A* （M2），不純物B* 及び 不純物C* の 3 種類の不純物が認められた【3.2.S.3.2 参照】。原薬中の 不純物A*（M2）及び 不純物B* の 2 種類の不純物については安全性が確認された。すなわち，不純物A* はアパルタミドの M2 代謝物と同一であることから，ICH Q3A ガイドラインに基づき安全性が確認されたものと考えられ， 不純物B* はラットを用いた反復投与毒性試験に基づき，1 日投与量を 240 mg 及び体重を 50 kg とした場合，25% w/w まで安全性が確認された（2.6.6.8.6.1，【2.4.4.4】参照）。代表的な原薬バッチにおいて， 不純物C* の含量は構造決定の必要な閾値（0.10%）を下回り，安全性確認の閾値を超えていなかった。

合成方法の開発においてのみ確認された合成不純物である 不純物D* （2.6.6.8.6.2）及び 不純物E* （2.6.6.8.6.3），並びに薬液を充填したカプセル剤の開発製剤中にのみ認められた分解物である 不純物F* 及び 不純物G* （2.6.6.3.1.3）についても，ラットの反復投与毒性試験の成績に基づいて安全性が確認された。

不純物の安全性を確認する毒性試験の検査項目は，死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした。各試験ともに低用量 2 群及び高用量 2 群を設定し，そのうちの低用量及び高用量の各 1 群にアパルタミド（参照バッチ），もう一方の低用量及び高用量の各 1 群に不純物を添加したアパルタミドを投与した。

2.6.6.8.6.1　不純物B*　のラット 1 カ月間反復経口投与毒性試験

【評価資料 4.2.3.7.6.1】

【試験方法】

不純物 不純物B* の毒性は，ラットに 不純物B* を 1.2% w/w 添加したアパルタミド又は 不純物B* を添加していないアパルタミドを投与し，毒性を比較することによって評価した。

Sprague-Dawley ラット（1 群雄 10 例）にアパルタミド（参照バッチ [redacted] 又は 不純物B* を添加したバッチ [redacted]）を 0（溶媒），25 及び 150 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，1 カ月間反復強制経口投与した。参照バッチとして，エタノール付加物（JNJ-56021927-ZAH）の代わりに遊離塩基（JNJ-56021927-AAA）を用いた。別途サテライト群（1 群雄 6 例）を設定して 150 mg/kg/日の用量を単回投与し，投与開始日（Day 0）にアパルタミド及び M3 の TK

を評価した。また，反復投与期間終了後にアパルタミド単独投与の毒性評価群から採血し，同様に TK を評価した（表 2.6.6-21）。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.17A 参照】。

【結果】

本薬投与に関連した死亡例は認められなかった。150 mg/kg/日投与群（ 不純物B* の添加群及び非添加群）で投与開始後 3 日以内に一般状態の変化（活動性低下，立毛及び軟便），並びに摂餌量及び体重の減少がみられた。150 mg/kg/日の投与を 2 日間中断し，Day 5 に用量を 100 mg/kg/日に減量して再開し，試験終了時まで投与した。体重及び摂餌量は徐々に回復し，投与期間終了時までに対照群と同等になった。Day 5 以降，本薬投与に関連した一般状態，体重及び摂餌量の変化は認められなかった。尿検査では明らかな変化はみられなかった。

アパルタミド単独群及び 不純物B* 添加群ともに，25 mg/kg/日以上の投与群において，血液学的検査で赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリット）の減少，並びに網状赤血球数，血小板数，白血球数，リンパ球数，好塩基球数及び大型非染色細胞数の増加がみられた。血液生化学的検査では，コレステロールの用量依存的な増加がみられた。剖検では前立腺，凝固腺及び精嚢の小型化，並びに副腎及び胸腺の腫大がみられた。副腎，下垂体及び胸腺の用量依存的な重量増加が認められた。

アパルタミド単独群及び 不純物B* 添加群ともに，150/100 mg/kg/日投与群では，総タンパク，アルブミン及びクレアチニンの増加，並びに血液凝固パラメータに対する軽度な影響（PT の軽度な短縮及び APTT の軽度な延長）がみられた。肝臓，脾臓及び甲状腺の重量増加がみられた。病理組織学的検査では副生殖器（前立腺，精嚢及び凝固腺）の萎縮，雄乳腺の雌型分化，副腎肥大，下垂体細胞の空胞化及び胸腺細胞の増加がみられた。肝臓，脾臓及び甲状腺の重量増加に関連した病理組織学的変化は認められなかった。

以上のように，アパルタミド単独投与群及び 不純物B* 添加投与群との間で，血液学的及び血液生化学的変化，並びに病理組織学的所見の発現頻度及び程度に差異はみられず，1.2% w/w の濃度で添加した不純物 不純物B* による新たな毒性は認められなかった。

表 2.6.6-21 アパルタミドの雄ラット 1 カ月間反復投与試験における平均曝露量

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	
		Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
25	0	N/A	N/A	N/A	N/A
	27	6.89	0.218	112	3.97
150/100[(a)]	0	26.1	1.74	502	22
	27	30.3	1.35	510	23.7

N/A = not available
[a] Animals were dosed at 150 mg/kg/day on Days 0-1-2, were not dosed on Days 3-4 and were dosed at 100 mg/kg/day from Day 5 onwards

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.8.6.2　不純物D*　のラット 1 カ月間反復経口投与毒性試験

【評価資料 4.2.3.7.6.2】

【試験方法】

不純物　不純物D*　の毒性は，ラットに　不純物D*　を 0.56% w/w 添加したアパルタミド又は　不純物D*　を添加していないアパルタミドを投与し，毒性を比較することによって評価した。

Sprague-Dawley ラット（1 群雄 10 例）にアパルタミド（参照バッチ[redacted] 又は 不純物D* を添加したバッチ[redacted]）を 0（溶媒），25 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，1 カ月間反復強制経口投与した。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.17B 参照】。

【結果】

本薬投与に関連した死亡例はみられなかった。一般状態，体重及び摂餌量に変化は認められなかった。

25 mg/kg/日以上の　不純物D*　添加群では，白血球数，リンパ球数及び好塩基球数の軽度な増加がみられた。アパルタミド単独群及び　不純物D*　添加群ともにコレステロールの増加がみられた。25 mg/kg/日の　不純物D*　添加群及び 100 mg/kg/日のアパルタミド単独群で APTT の軽度な延長がみられたが，　不純物D*　添加の有無による群間の差異は認められなかった。胸腺及び脾臓の重量増加がみられた。剖検では前立腺，凝固腺及び精嚢の小型化がみられ，病理組織学的検査ではこれら副生殖器の萎縮が認められた。

アパルタミド単独群及び　不純物D*　添加群ともに 100 mg/kg/日投与群では，血液学的検査でヘマトクリット及びヘモグロビンの減少，網状赤血球数及び血小板数の軽度な増加，並びに PT の軽微な短縮がみられた。血液生化学的検査では，総タンパク，アルブミン及びクレアチニンの増加がみられた。副腎の腫大，並びに副腎，下垂体及び肝臓の重量増加がみられた。病理組織学的検査では，副腎，下垂体及び甲状腺の肥大，雄乳腺の雌型分化，精巣間細胞過形成，骨髄過形成，肝細胞肥大及び脾臓の軽微な髄外造血がみられた。

以上のように，アパルタミド単独投与群及び　不純物D*　添加投与群との間で毒性変化に明らかな差異はみられず，0.56% w/w の濃度で添加した　不純物D*　による新たな毒性は認められなかった。

2.6.6.8.6.3　不純物E*　のラット 1 カ月間反復経口投与毒性試験

【評価資料 4.2.3.7.6.3】

【試験方法】

不純物　不純物E*　の毒性は，ラットに　不純物E*　を 0.65% w/w 添加したアパルタミド及び　不純物E*　を添加していないアパルタミドを投与し，これらの毒性を比較することによって評価した。

*新薬承認情報提供時に置き換え

Sprague-Dawley ラット（1 群雄 10 例）にアパルタミド（参照バッチ [redacted] 又は 不純物E* を添加したバッチ [redacted]）を 0（溶媒），25 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，1 カ月間反復強制経口投与した。参照バッチとして，エタノール付加物（JNJ-56021927-ZAH）の代わりに遊離塩基（JNJ-56021927-AAA）を用いた。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.17C 参照】。

【結果】

試験期間中に死亡例はみられず，一般状態の変化も認められなかった。25 mg/kg/日の 不純物E* 添加群では軽度な体重減少がみられた。アパルタミド単独群及び 不純物E* 添加群ともに，100 mg/kg/日投与群で体重及び摂餌量の軽度な減少がみられた。

25 mg/kg/日以上の投与群では，アパルタミド単独群及び 不純物E* 添加群ともに，コレステロールの増加がみられた。前立腺及び精巣上体の重量は用量依存的に減少し，これらの器官に剖検では小型化，病理組織学的検査では萎縮がみられた。精嚢の用量依存的な小型化がみられ，これに関連した変化として病理組織学的検査では萎縮が認められた。

100 mg/kg/日投与群では，アパルタミド単独群及び 不純物E* 添加群ともに，RDW，網状赤血球数及び血小板数の増加を伴う赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリット）の減少，並びにフィブリノーゲンの軽微な増加がみられた。下垂体，副腎及び肝臓の重量増加がみられた。病理組織学的検査では，肝臓の重量増加と関連した変化として肝細胞肥大がみられ，精巣間細胞の過形成，雄乳腺の雌型分化及び骨髄の造血亢進も認められた。

以上のように，アパルタミド単独投与群及び 不純物E* 添加投与群との間で毒性変化に明らかな差異はみられず，0.65% w/w の濃度で添加した 不純物E* による新たな毒性はみられなかった。

2.6.6.8.7 *In vitro* 光毒性試験

【評価資料 4.2.3.7.7.1】

【試験方法】

アパルタミドの紫外可視吸収スペクトルは，[redacted] nm で吸収極大を示し【2.3.S.3.1】，吸収は [redacted]～[redacted] nm で低くなり，[redacted]～[redacted] nm で最小となる。アパルタミドと M3 の構造が類似していることから，M3 についてもアパルタミドと類似したスペクトルが予想される。

アパルタミド及び M3 の *in vitro* 光毒性を，被験物質に曝露した Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞の生存率の相対的な減少（ニュートラルレッド取り込みの減少）を指標として，紫外線（UVR）照射及び非照射の条件下で検討した【2.6.7.17D 参照】。

【結果】

Ca^{2+}及び Mg^{2+}含有ダルベッコ リン酸緩衝生理食塩液（DPBS）で調製した 1%DMSO で溶解可能なアパルタミド及び M3 の最高濃度はそれぞれ 10.6 mg/L 及び 10.0 mg/L であり，いずれにおいても細胞毒性（UVR 非照射）及び光毒性（UVR 照射）は認められなかった。photo-irritation

*新薬承認情報提供時に置き換え

factor（PIF）は算出できなかったが，mean photo effect（MPE）はアパルタミド及び M3 とも 0.1 未満であった。

以上のように，アパルタミド及び M3 は，Balb/c 3T3 細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験において光毒性を示さなかった。

2.6.6.8.8 初期の毒性試験

開発初期では，脂質性エマルジョンとは異なる溶媒を使用し，マウス，ウサギ及びイヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験を実施した。マウス及びウサギを用いた試験では 0.5%ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）に懸濁した水性スラリーのアパルタミドを投与し，イヌを用いた試験ではラブラゾールに懸濁させたアパルタミドを投与した。これら試験の試験計画及び実施においては，動物の健康状態（ウサギ），アパルタミド懸濁液の均質性及び安定性，TK 用血漿サンプル中のアパルタミドの安定性，並びにアパルタミド懸濁液の強制経口投与後にイヌでみられた嘔吐に関連すると考えられる血漿中曝露量の大きなばらつき等，種々の問題が認められた。以下にそれらの要約を示す。

2.6.6.8.8.1 マウス単回及び 28 日間反復投与毒性試験

【参考資料 4.2.3.7.7.2】

【試験方法】

雄 B6D2F1 マウスを用いて以下の 4 試験を実施し，その結果を一つの報告書としてまとめた【2.6.7.17E 参照】。

単回静脈内及び経口投与による TK 試験（20 mg/kg）

単回経口投与による TK 用量設定試験（25，50，75，100 及び 150 mg/kg）

28 日間経口投与による TK 用量設定試験［50，100 及び 150 mg/kg を 1 日 2 回投与（1 群各 5 例/1 時点）］

28 日間経口投与毒性試験［0，25，50，75，100 mg/kg を 1 日 2 回投与（1 群各 5 例）。別途回復群（1 群各 5 例）を設定し，投与終了後 28 日間休薬して回復性を検討］

【結果】

28 日間経口投与毒性試験において，死亡例は認められなかった。28 日間の投与期間及び休薬期間中，一般症状観察，体重，血液学的検査及び血液生化学的検査に変化は認められなかった。剖検及び病理組織学的検査では本薬投与に関連した病変は認められなかった。Day 28 の投与後 90 分におけるアパルタミドの平均血漿中濃度は，50，100 及び 150 mg/kg 投与群において，それぞれ 16.3，20.7 及び 25.5 μg/mL であった。

2.6.6.8.8.2 ウサギ 28 日間反復投与毒性試験

【参考資料 4.2.3.7.7.3】

【試験方法】

New Zealand ウサギ（1 群雄 6 例）にアパルタミドを 8 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，28 日間反復強制経口投与した。Day 1，8，15 及び 28 の投与後 90 分にアパルタミドの血漿中濃度を測定した。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，血液学的検査，血液生化学的検査，剖検及び病理組織学的検査とした【2.6.7.17F 参照】。

【結果】

1 例が Day 13 に死亡し，剖検で死因は誤投与であることが確認された。他の 1 例は，一般状態の悪化（食欲不振，活動性低下及び体温上昇）のため，Day 17 に安楽死させた。この動物は剖検，血液生化学的検査及び肝臓の病理組織学的検査により，細菌感染によると考えられる肝炎に罹患していたことが示唆された。

すべてのウサギで体重減少，白血球数，ALT 及び AST の増加がみられた。病理組織学的検査では肝臓に所見がみられた。ウサギはアパルタミド投与時に肝炎に罹患していたことが後日判明し，試験で認められたすべての変化はこの感染に起因するものであった。ウサギコロニーにおける肝感染の罹患が，結果の解釈に影響を及ぼした。

ウサギにおけるアパルタミドの血漿中濃度は低かった（約 1～2 μg/mL）。

2.6.6.8.8.3 イヌ 28 日間反復投与毒性試験

【参考資料 4.2.3.7.7.4】

【試験方法】

ビーグル犬（1 群雄 5 例）にアパルタミド（10%ラブラゾール，10%乳酸，10%大豆油を含有した 50 mM リン酸緩衝液懸濁液）を 0（溶媒），10，30 及び 60 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，28 日間反復強制経口投与した。溶媒対照群，30 及び 60 mg/kg/日投与群に 1 群雄 3 例の回復群を設定し，投与期間後 14 日間休薬して回復性を検討した。別途単回静脈内投与群を設定し，被験物質のバイオアベイラビリティを評価した。検査項目は死亡，一般状態観察，体重，摂餌量，眼科学的検査，ECG，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量及び病理組織学的検査とした【2.6.7.17G 参照】。

【結果】

本薬投与との関連が示唆される重篤な一般状態の変化のために，60 mg/kg/日投与群の 3 例をそれぞれ Day 11，12 及び 15 に安楽死させた。60 mg/kg/日投与群の生存例の一般状態は安楽死させた 3 例と同様であったが，振戦，散瞳及び運動失調などの一般状態の変化の程度は安楽死例よりも軽度であった。重度の毒性のため，60 mg/kg/日投与群の投与を Day 12 に中止し，Day 29 に生存例を安楽死させた。

振戦及び散瞳は 30 mg/kg/日投与群でも認められた。一般状態の重度の悪化のために，Day 15，16 又は 17 の投与を中止し，Day 18 に用量を 20 mg/kg/日に減量して再開し，試験終了時まで投与した。

断続的な嘔吐及び散発的な糞便異常が，対照群を含むすべての群でみられた。顕著な体重減少及び摂餌量の減少が 30/20 及び 60 mg/kg/日投与群でみられ，体重増加量の減少が 10 mg/kg/日投与群で認められた。眼科学的検査及び ECG では本薬投与に関連した変化は認められなかった。60 mg/kg/日投与群で網状赤血球数及びリンパ球数の減少，赤血球数，ヘモグロビン及びヘマトクリットの増加，グルコース，ALP，尿素窒素，ナトリウム，クロール及びマグネシウムの増加，並びにトリグリセリドの減少が認められた。30/20 mg/kg/日投与群ではグルコース及び ALP の増加，並びにトリグリセリドの減少が認められた。10 mg/kg/日投与群ではトリグリセリドの減少が認められた。尿検査では明らかな変化はみられなかった。精巣上体及び精巣の重量減少が全投薬群でみられ，病理組織学的検査では前立腺，精巣及び精巣上体に性成熟の遅延を示す所見がみられた。30/20 及び 60 mg/kg/日投与群では，骨髄（大腿骨及び胸骨），肝臓，胆嚢，胃，十二指腸，結腸，回腸及び空腸にも病理組織学的変化がみられた。

10 mg/kg/日を経口投与したときのアパルタミドの C_{max} は投与後 4.5 時間にみられ，16.1 μg/mL であった。投与量で標準化した AUC に基づくバイオアベイラビリティは約 55.3%であった。経口投与後の $t_{1/2}$ は 23～37 時間の範囲であった。

10 mg/kg/日投与における 28 日間の忍容性はおおむね良好であった。しかしながら，本試験の結果の解釈は，Week 1，2 及び 4 における調製懸濁液の安定性及び均質性の欠如，並びに血漿中 TK データの大きなばらつきの原因となった可能性のある顕著な嘔吐によって困難であった。

2.6.6.8.9 合成出発物質及び中間体の毒性試験

【評価資料 4.2.3.7.7.5～4.2.3.7.7.10】

すべての出発物質及び中間体の突然変異誘発性を ICH M7 ガイドラインに準拠して評価した。変異原性の評価結果を【3.2.S.3.2】に要約する。*In silico* 又は細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）に基づいて，6 化合物の変異原性は陰性と判断された【2.6.7.17H～2.6.7.17M】。

2.6.6.8.10 その他

【参考資料 4.2.3.7.7.11～4.2.3.7.7.13】

In vivo 試験で使用した非水性調製薬液【4.2.3.7.7.11】，並びに *in vitro* 遺伝毒性及び光毒性試験に使用した DMSO 調製薬液【4.2.3.7.7.12】中のアパルタミド及び M3 の測定方法のバリデーションに関する報告書 2 報，並びに海外臨床試験 ARN-509-001 試験で得られたヒト血漿【4.2.3.7.7.13】中の M3 及び M4 の薬物動態評価に関する報告書 1 報を Module 4 に収載する。

2.6.6.9 考察及び結論

アパルタミドの非臨床毒性試験を，NOAEL 及び MTD の評価，毒性標的器官の特定，毒性変化の回復性の評価，並びにアパルタミド及び関連する合成不純物／分解生成物の遺伝毒性の評価を目的として実施した。

2.6.6.9.1 主要所見の要約

雄動物に単回経口投与したときのアパルタミドの MTD 及び概略の致死量は，最高用量を超える用量，すなわち，雄ラットで 2000 mg/kg 超，雄イヌで 40 mg/kg 超であった。40 mg/kg 投与群でイヌに散発的にみられた流涎，嘔吐及び糞便異常を除き，アパルタミドの単回投与後にラット又はイヌでは本薬投与に関連した毒性は認められなかった。

アパルタミドの反復経口投与による毒性を，最長 26 週間の雄ラット反復投与毒性試験及び最長 39 週間の雄イヌ反復投与毒性試験において検討した。雄ラット及び雄イヌ 13 週間反復投与試験では，それぞれ 30 日間及び 2 カ月間の休薬期間を設けた。ほとんどの毒性は，アパルタミドによるステロイド代謝障害に関連しており，ラットでは 25 mg/kg/日以上，イヌでは 2.5 mg/kg/日以上の用量で雄性生殖器，乳腺，下垂体，副腎及び胸腺への影響が認められた。アパルタミドの毒性プロファイルは，実施した試験においてほぼ同様であり，イヌよりもラットでより多くの標的器官が認められた。

ラット及びイヌにおける雄性生殖器の変化（副生殖器の萎縮；精細管の変性及び精巣間細胞の過形成／肥大），ラットにおける雄乳腺での雌型分化及び胸腺の退縮遅延は，アパルタミドの薬理作用である抗アンドロゲン作用と一致するものであった。さらに，ラットにおける副腎皮質肥大，ラット及びイヌにおける下垂体の肥大／過形成も，本薬の抗アンドロゲン作用によるものであった。これらの薬理作用による変化は，休薬により回復又は回復傾向を示した。雄ラットの受胎能試験では，精巣上体の精子数及び精子運動性が低下し，150 mg/kg/日投与群で受胎能の低下が認められた。雄の受胎能に及ぼす影響は，8 週間の休薬後に回復性が認められた。

雄ラット 26 週間反復投与毒性試験では，精巣の間細胞（ライディッヒ細胞）腺腫が 75 及び 150 mg/kg/日投与群の各 1 例にみられた。この良性腫瘍は，アパルタミドの薬理作用である AR 阻害作用に関連した変化であり，下垂体による黄体形成ホルモン（LH）の過剰産生及び精巣における下流効果によるものと考えられた。ラットのライディッヒ細胞はヒトよりもかなり多くの LH 受容体を有するため，ライディッヒ細胞腫の発生はラット特異的な影響であると考えられる[1),2)]。ヒトの疫学研究では，ラットでライディッヒ細胞腫を誘発する化合物に曝露された男性にライディッヒ細胞腫のリスクがあることは確認されていない[3),4)]。

ラットでは反復投与後に赤血球パラメータの減少がみられたが，これはアンドロゲンによる赤血球産生の刺激作用[5)]と拮抗するアパルタミドの抗アンドロゲン作用に関連したものであった。ラットにおける脾臓（造血亢進）及び骨髄（過形成）の病理組織学的変化は，赤血球パラメータの減少と関連していると考えられている。ラットにおける血小板数の増加は，赤血球の産生亢進に対する二次的な影響であると考えられる[6),7)]。

コレステロールが，ラットでは用量依存的に増加し（最大 3 倍），イヌではラットよりも軽度な増加（最大 1.7 倍）が認められた。げっ歯類では去勢又は他の抗アンドロゲン薬の投与によっ

てコレステロールが増加することが報告されており，これは薬理作用のアンドロゲン低下による影響と考えられる[8),9),10)]。ラットではコレステロール増加と赤血球パラメータ減少との間には関連があり，赤血球膜のコレステロールの増加を介して，赤血球の変形能の低下及び浸透圧脆弱性の増加が生じる[11),12)]。ラット 28 日間反復経口投与毒性試験における血液塗抹検査では，150 mg/kg/日投与群で赤血球形態異常（奇形赤血球，赤血球大小不同及び多染性赤血球）の増加がみられた。ラットの個別データを精査したところ，コレステロール値が高いラットに赤血球形態及び関連する貧血指標に変化がみられる場合が多いことが確認された。

他の抗アンドロゲン薬においてもコレステロール及び ALP の増加が報告されている[9)]。

ラットの反復投与毒性試験を通して，白血球数，特にリンパ球数の増加が認められた。これはアンドロゲン欠乏の結果であり，退縮した胸腺の再生が循環 T 細胞プールの変化を誘導した結果と考えられる[13)]。さらに，ラットではフィブリノーゲン，総タンパク，アルブミン，グロブリン，尿素窒素，クレアチニン，トリグリセリド及びグルコースの増加が認められた。血液学的検査における他の変化（APTT 及び PT の延長又は短縮）及び血液生化学的検査における他の変化（ラットで GGT，カルシウム，リン酸及び ALT の増加，並びにイヌの ALT 増加）は，反復投与試験を通して一貫してみられることはなく，主に短期反復投与毒性試験における高用量で認められた。

イヌ及びマウスでは一般毒性試験の高用量（イヌ：25 mg/kg/日以上，マウス：175 mg/kg 以上）で痙攣がみられ，アパルタミド及び M3 の $GABA_A$ 受容体に対する阻害を介したものと考えられた【2.6.2.3.2 参照】。痙攣は，エンザルタミドを動物モデルに臨床用量を超える用量を投与した際にみられる用量依存性の毒性として知られており，痙攣の発症機序は脳内の GABA 受容体に対する阻害に関連すると考えられている[14)]。

雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験で胆管／卵円形細胞の過形成がみられたように，長期投与後の毒性標的器官は肝臓であり，ALP 増加との関連がみられた。雄イヌでは胆管／卵円形細胞の過形成について回復性の評価は行われていないが，ALP 増加は完全な回復を示した（ラットも同様）。

雄ラット 28 日間反復投与毒性試験（及び雌ラット 26 週間反復投与毒性試験）でみられた甲状腺の所見（重量増加，濾胞肥大及び濾胞過形成）は，肝細胞肥大をもたらす肝代謝酵素誘導に対する適応性の二次的変化であると考えられた【2.6.4.5.4.1 参照】。肝代謝酵素を誘導する薬物は，甲状腺ホルモンの胆汁排泄を亢進させ，フィードバックを介して視床下部及び下垂体を刺激し，結果的に TSH レベルを増加させる。甲状腺ホルモンの血漿半減期及び輸送タンパクとの結合にラット及びヒトとの間で種差があり，ラットの甲状腺はヒトよりも感受性が高い[15)]。下垂体－甲状腺軸の乱れに関連するこれらの変化は，ヒトに対して毒性学的に意義のある変化とは考えられない。

ラット及びイヌの反復投与毒性試験で認められた，その他の所見（雄ラット 28 日間反復投与毒性試験における唾液腺の重量減少；雌ラット 26 週間反復投与毒性試験における心臓及び腎臓の重量増加；雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験における腎臓の重量減少）は，同一用量の長期毒性試験では再現されないか，あるいは病理組織学的変化（例えば，器官重量変化の場合）を伴わなかった。したがって，ラット及びイヌにおけるこれらの所見はアパルタミドの毒性ではないと判断された。

2.6.6.9.1.1 雄ラットの反復投与における NOAEL 及び MTD

雄ラット 26 週間反復投与毒性試験では，75 及び 150 mg/kg/日投与群で体重減少（最大-10%），体重増加量の減少（最大-15%），赤血球パラメータの減少（最大-20%）及びラットに特異的な間細胞（ライディッヒ細胞）腺腫が認められたことから，NOAEL は 25 mg/kg/日と判断された。

雄ラット反復投与毒性試験において 250 mg/kg/日以上の用量で本薬投与に関連した死亡例がみられたが，死因は不明であった。雄ラット 28 日間反復投与毒性試験では 150 mg/kg/日投与群で死亡例がみられたが，雄ラット 26 週間反復投与毒性試験では同じ用量で死亡例は認められなかった。雌ラット 26 週間反復投与毒性試験の Day 85 にみられた 150 mg/kg/日投与群の 1 例の死亡は，本薬投与との関連性も否定はできないが，死因は不明であった。雌ラットの 150 mg/kg/日投与群においても本薬投与に関連した死亡例は認められなかった。26 週間反復投与毒性試験の結果に基づき，慢性投与時の MTD は雌雄とも 150 mg/kg/日と判断された。MTD である 150 mg/kg/日投与群では，雄の体重（増加量）の減少及び雄性生殖器への影響がみられた。これらの所見は，雄の乳腺，下垂体，副腎及び胸腺の変化とともに，アパルタミドの薬理作用に起因するものと考えられた。これらの変化は休薬により，少なくとも部分的な回復性が認められた。ラットでは，いずれの反復投与毒性試験においても網状赤血球数の代償性増加を伴う赤血球パラメータの減少が認められ，これはアパルタミドの抗アンドロゲン作用に関連したものであった。骨髄の過形成，脾臓の造血亢進及び血小板数の増加は，赤血球パラメータ減少に対する二次的変化と考えられた。ラットでは白血球数及びフィブリノーゲンの増加が認められた。可逆的な肝細胞肥大及び甲状腺肥大は，肝臓の代謝酵素誘導及び甲状腺ホルモン代謝に関連したものであったが，ヒトへの外挿性のない毒性学的変化と考えられた。コレステロールは最大で 3 倍に増加した。

2.6.6.9.1.2 雄イヌの反復投与における NOAEL 及び MTD

雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験では，全投薬群で体重減少（最大-12%）及び体重増加量の減少（最大-44%）がみられたことから，NOAEL は最低用量の 2.5 mg/kg/日未満と判断された。

雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験では，体重への影響以外には，10 mg/kg/日投与群まで死亡例及び重度の用量制限毒性は認められなかった。しかしながら，雄イヌ反復投与毒性試験では 25 mg/kg/日以上の用量で重度の CNS 症状がみられ，試験途中で安楽死させた。したがって，長期（慢性）投与における MTD は 10 mg/kg/日と判断された。雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験では，10 mg/kg/日投与群で精巣，精巣上体及び前立腺に変化が認められた。肝臓の変化として，胆管過形成（回復性は検討されていない）がみられ，これに関連した変化として ALP の増加（3.5 倍）が認められた。コレステロールの軽度な増加（最大 1.7 倍）が認められた。CNS への影響及び肝臓の変化を除き，雄イヌでみられたほとんどの所見は，アパルタミドの薬理作用に起因するものと考えられ，少なくとも部分的な回復性が認められた。

雄イヌ 28 日間，13 週間又は 39 週間反復投与毒性試験では，10 mg/kg/日の用量まで ECG にアパルタミドに関連した変化は認められなかった。テレメトリー装着覚醒イヌに 40 mg/kg までの用量を単回経口投与して安全性薬理試験を実施し，24 時間のモニタリングによって血管系への影響を検討したところ，血行動態及び心電図パラメータに影響は認められなかった【2.6.2.4.2.2 参照】。

2.6.6.9.1.3 ラット及びイヌの NOAEL 及び MTD における動物－ヒト曝露量比

雄ラット 26 週間反復投与毒性試験及び雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験の NOAEL 及び MTD における血漿中曝露量（C_{max} 及び AUC）と，CRPC 患者にアパルタミドの臨床推奨用量である 240 mg/日を投与したときの曝露量を比較した（海外臨床試験 56021927PCR1019 試験，国内臨床試験 56021927PCR1008 試験）（表 2.6.6-22）。

表 2.6.6-22 雄動物を用いた毒性試験の NOAEL 及び MTD における曝露量と海外及び国内臨床試験の臨床推奨用量における曝露量との比

Species	Dose (mg/kg)	C_{max} (μg/mL)	AUC (μg·h/mL)	Animal-to-Human Exposure Ratio			
				Non-Japanese[c]		Japanese[d]	
				C_{max}	AUC	C_{max}	AUC
Apalutamide							
Rat NOAEL (26-week)[a]	25	7.20	135	1.2	1.4	1.0	1.1
Rat MTD (26-week)[a]	150	27.7	508	4.7	5.1	3.7	4.2
Dog NOAEL (39-week)[b]	< 2.5	< 3.82	< 86.6	< 0.6	< 0.9	< 0.5	< 0.7
Dog MTD (39-week)[b]	10	18.7	427	3.1	4.3	2.5	3.5
Non-Japanese [c]	240 mg	5.95	100	-	-	-	-
Japanese [d]	240 mg	7.57	122	-	-	-	-
JNJ-56142060 (M3)							
Rat NOAEL (26-week)[a]	25	0.228	4.58	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
Rat MTD (26-week)[a]	150	1.4	27.7	0.2	0.2	0.2	0.2
Dog NOAEL (39-week)[b]	< 2.5	2.99	69.7	0.5	0.6	0.4	0.5
Dog MTD (39-week)[b]	10	8.32	189	1.4	1.5	1.2	1.3
Non-Japanese [c]	240 mg	5.85	124	-	-	-	-
Japanese [d]	240 mg	7.11	150	-	-	-	-

[a] Mod4.2.3.2.4/TOX10838
[b] Mod4.2.3.2.11/TOX10839
[c] 56021927PCR1019. Mean pharmacokinetic parameters for apalutamide and JNJ-56142060 (M3) at steady-state in men with CRPC treated with apalutamide at 240 mg/day (Phase 1b QT/QTc Study, 240 mg/day, Cycle 3, Day 1, N=43)
[d] 56021927PCR1008. Mean pharmacokinetic parameters for apalutamide and JNJ-56142060 (M3) at steady-state in men with CRPC treated with apalutamide at 240 mg/day (open-label, multicenter, Phase 1 study, 240 mg/day, Cycle 1, Day 22, N=6)

アパルタミドについて，海外臨床試験の曝露量との比較では，MTD における C_{max} 及び AUC に対する曝露比は 3～5，NOAEL における C_{max} 及び AUC に対する曝露比は，ラットで約 1 及びイヌで 1 未満であった。国内臨床試験の曝露量との比較では，MTD における C_{max} 及び AUC に対する曝露比は 2～4，NOAEL における C_{max} 及び AUC に対する曝露比は，ラットで約 1 及びイヌで 1 未満であり，海外臨床試験の曝露量との比較と同様であった。

M3 について，雄イヌ 39 週間反復投与毒性試験の MTD における C_{max} 及び AUC はヒトの曝露量を上回り，NOAEL における C_{max} 及び AUC はヒト曝露量の少なくとも 50%を示した。

2.6.6.9.1.4 代謝物，合成不純物及び分解物の安全性

In vitro 及び *in vivo* 試験系においてアパルタミド及び代謝物 M3 に突然変異誘発性は認められなかった。代謝物 M4 は *in vitro* 染色体異常試験で弱い陽性反応がみられた。アパルタミド及び代謝物 M3 を用いた 2 種類の *in vivo* 試験（骨髄を用いる小核試験及び肝臓コメットアッセイ）の結果は陰性であり，この試験における代謝物 M4 の血漿中曝露量はヒトの曝露量（C_{max} 1.33 μg/mL 及び AUC 26.5 μg·h/mL；【4.2.3.7.7.13】）よりも高いことが確認されていることから，予定臨床推奨用量では代謝物 M4 に遺伝毒性はないと判断された。

合成不純物及び分解産物の安全性は，*in silico*，*in vitro*（Ames 試験）及び *in vivo* 試験（ラット 28 日間反復投与毒性試験）に基づいて確認された。

2.6.6.9.2 その他の試験

2.6.6.9.2.1 将来的ながん原性試験の実施をサポートするためのマウスの試験

雌雄マウスの単回投与においては，500 mg/kg で痙攣，振戦及び死亡がみられたことから，MTD は 100 mg/kg であった。最長 14 日間のマウス反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）における毒性プロファイルはラットと同様であり，毒性（標的器官）は主に生殖器，副腎，胸腺，肝臓及び脾臓で認められた。マウスでみられた肝細胞肥大は肝臓の代謝酵素誘導に関連しているものと考えられる。ラットではコレステロールの増加がみられたが，これとは対照的に，マウスではコレステロールの減少がみられた。死亡及び一般状態の変化（CNS 症状）が，150 mg/kg/日以上の反復投与において認められた。

2.6.6.9.2.2 雌動物における試験

雌動物への単回経口投与による MTD は，試験した最高用量を超えていた。すなわち，雌ラットでは 250 mg/kg 超，雌イヌで 40 mg/kg 超であった。

雌動物を用いて，ラットでは最長 26 週間，イヌでは最長 13 週間の反復投与毒性試験を実施し，それぞれ 2 カ月間及び 1 カ月間の休薬期間を設けた。雌動物では生殖器の変化（卵巣間質細胞過形成，子宮肥大，乳腺の変化）及び他の器官毒性がみられ，雄動物でみられたものとほぼ同様であった。

雌ラット 26 週間反復経口投与毒性試験では良性及び悪性卵巣腫瘍（莢膜細胞腫及び顆粒膜細胞腫）がみられたことから，NOAEL は 25 mg/kg/日（最低用量）未満と判断された。卵巣腫瘍は，アパルタミドの持続的な AR 阻害によるホルモンレベルの異常，調節不全及び不均衡によって生じたものと考えられた。なお，本試験における MTD は 150 mg/kg/日と判断された。薬理作用を介した視床下部－下垂体－生殖腺（卵巣）軸の乱れは，げっ歯類に特異的であり，ヒトに対する外挿性は乏しいと考えられている [16)]。赤血球パラメータの減少がすべてのアパルタミド投与群で認められ，150 mg/kg/日投与で最大-23%であった。ラットでは白血球数，血小板球数及びフィブリノーゲンの増加（最大 1.5 倍）が認められた。総タンパク，アルブミン，グロブリン，尿素窒素，クレアチニン，トリグリセリド及びグルコースの増加も認められた。雌ラットでみられた血液学的検査及び血液生化学的検査の大部分の変化は，雄ラットにおいても認められた。

雌イヌ 13 週間反復投与毒性試験における NOAEL 及び MTD は，いずれも 10 mg/kg/日と判断された。13 週間投与後に設定した 1 カ月間の休薬期間終了時に 10 mg/kg/日投与群では性成熟の遅延が認められた。20 mg/kg/日投与群では反復投与後に明らかな CNS 症状が認められたため，雌イヌ 1 例を安楽死させた。安楽死前の血漿中アパルタミド濃度は 35.3 µg/mL であり，CNS 症状との関連性がみられた。

2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.6.11 参考文献

1） Alison RH, Capen CC and Prentice DE. Neoplastic lesions of questionable significance to humans. Toxicol Pathol; 1994; 22(2): 179-186.

2） Clegg ED, Cook JC, Chapin RE, Foster PMD and Daston GP. Leydig cell hyperplasia and adenoma formation: mechanisms and relevance to humans. Reprod Toxicol; 1997; 11(1): 107-121.

3） Cook JC, Klinefelter GR, Hardisty JF, Sharpe RM and Foster PMD. Rodent Leydig cell tumorigenesis: a review of the physiology, pathology, mechanisms, and relevance to humans. Crit Rev Toxicol; 1999; 29(2): 169-261.

4） Steinbach TJ, Maronpot RR and Hardisty JF. Human relevance of rodent Leydig cell tumors. Hamilton & Hardy's Industrial Toxicology; 2015; 6th Ed.: 1191-1198.

5） Shahani S, Braga-Basaria M, Maggio M and Basaria S. Androgens and erythropoiesis: past and present. J Endocrinol Invest; 2009; 32: 704-716.

6） Berridge MV, Fraser JK, Carter JM and Lin F-K. Effects of recombinant human erythropoietin on megakaryocytes and on platelet production in the rat. Blood; 1988; 72(3): 970-977.

7） Everds N. Handbook: In The Laboratory Mouse; chapter Hematology of the mouse, Elsevier Ltd; 2004: 271-286.

8） Cinci G, Pagani R, Pandolfi ML et al. Effects of testosterone on cholesterol levels and fatty acid composition in the rat. Life Sci; 1993; 53: 91-97.

9） Iswaran TJ, Imai M, Betton GR and Siddall RA. An overview of animal toxicology studies with bicalutamide (ICI 176,334). J Toxicol Sci; 1997; 22(2): 75-88.

10） Saylor PJ and Smith MR. Metabolic complications of androgen deprivation therapy for prostate cancer. J Urol; 2009; 181: 1998-2008.

11） Akahane K, Furuhama K and Onodera T. Simultaneous occurrence of hypercholesterolemia and hemolytic anemia in rats fed cholesterol diet. Life Sci; 1986; 39: 499-505.

12） Cooper RA, Leslie MH, Knight D and Detweiler DK. Red cell cholesterol enrichment and spur cell anemia in dogs fed a cholesterol-enriched atherogenic diet. J Lipid Res; 1980; 21: 1082-1089.

13） Arredouani MS. New insights into androgenic immune regulation. Oncoimmunology; 2014; 3: 9: e954968.

14） Antonarakis ES. Enzalutamide: the emperor of all anti-androgens. Transl Androl Urol; 2013; 2(2): 119-120.

15） Wu KM and Farrelly JG. Preclinical development of new drugs that enhance thyroid hormone metabolism and clearance: inadequacy of using rats as an animal model for predicting human risks in an IND and NDA. Am J Ther; 2006; 13(2): 141-144.

16） Long GG, Cohen IR, Gries CL et al. Proliferative lesions of ovarian granulosa cells and reversible hormonal changes induced in rats by a selective estrogen receptor modulator. Toxicol Pathol; 2001; 29(6): 719-726.

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験

一覧表

Test Article: JNJ-56021927

Type of Study	Species and Strain (Gender)	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)[a,b]	Test Article: Batch No.[c]	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Single-Dose Toxicity									
Bridging TK Study	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	SD	5 and 50	JNJ-56021927-AAA: [redacted] JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	N	Janssen R&D, Belgium	TOX11320/ 4.2.3.1.1
Repeat-Dose Toxicity									
14-Day Toxicity	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	14 days	0 (vehicle), 0 (water), 150, 300, and 600	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	N	[redacted], US-[redacted]	VUM00002/ 4.2.3.2.1
28-Day Toxicity + 14-Day Recovery	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	28 days	0 (vehicle), 50, 150[d] and 250	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	Y	[redacted], US-[redacted]	VUM00004/ 4.2.3.2.2
13-Week Toxicity + 30-Day Recovery	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	91 days	0 (vehicle), 25, 50, and 100	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	Y	[redacted], US-[redacted]	TX-509-1001/ 4.2.3.2.3
26-Week Toxicity	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	26 weeks	0 (vehicle), 25, 75, and 150	JNJ-56021927-ZAH: [redacted],	Y	Y	[redacted], US-[redacted]	TOX10838/ 4.2.3.2.4
SD + 28-Day Toxicity	S-D Rat (F)	Orally (gavage)	28 days	SD: 0 (vehicle), 50, 100, 150, and 250 RD: 0 (vehicle), 25, 50, and 100	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	N	Janssen R&D, Belgium	TOX10760/ 4.2.3.2.5
26-Week Toxicity + 2-Month Recovery	S-D Rat (F)	Orally (gavage)	26 weeks	0 (vehicle), 25[e], 50, 100, and 150	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	Y	[redacted], US-[redacted]	TOX10897/ 4.2.3.2.6
21-Day Toxicity	Beagle Dog (M)	Orally (capsule)	21 days	0 (vehicle), 10[f], 20, and 40	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	N	[redacted], US-[redacted]	VUM00003/ 4.2.3.2.7
28-Day Toxicity + 28-Day Recovery	Beagle Dog (M)	Orally (capsule)	28 days	0 (vehicle), 5, 10 and 25	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	Y	[redacted], US-[redacted], US-	VUM00005/ 4.2.3.2.8 DR-[redacted]-008-DSD/ 4.2.3.2.9

(Continued)

2.6.7.1 毒性試験

一覧表（続き）

Test Article: JNJ-56021927

Type of Study	Species and Strain (Gender)	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)[a,b]	Test Article: Batch No.[c]	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity (Cont'd)									
13-Week Toxicity + 60-Day Recovery	Beagle Dog (M)	Orally (capsule)	91 days	0 (vehicle), 2.5, 5, and 10	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	Y	[redacted] US-[redacted]	TX-509-1002/ 4.2.3.2.10
39-Week Toxicity	Beagle Dog (M)	Orally (capsule)	39 weeks	0 (vehicle), 2.5[e], 5, and 10	JNJ-56021927-ZAH: [redacted],	Y	Y	[redacted] US-[redacted]	TOX10839/ 4.2.3.2.11
SDE + 21-Day Toxicity	Beagle Dog (F)	Orally (gavage and capsule)	21 days	SD: 0 (vehicle), 5, 10, and 20 RD: 0 (vehicle), 5, 10, and 20	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	N	Janssen R&D, Belgium	TOX10780/ 4.2.3.2.12
13-Week Toxicity + 1-Month Recovery	Beagle Dog (F)	Orally (capsule)	13 weeks	0 (vehicle), 2.5, 5, and 10	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	Y	[redacted] US-[redacted]	TOX10895/ 4.2.3.2.13
Genotoxicity									
In Vitro									
Bacterial Reverse Mutation Test with apalutamide and JNJ-56142060 (M3)	S. typhimurium (TA1535, TA1537, TA98, TA100) E. coli WP2 *uvrA*	*In vitro* (DMSO)	NA	1.58 – 5000 µg/plate	JNJ-56021927-ZAH: [redacted] JNJ-56142060 (M3): [redacted]	N	Y	[redacted], Canada	963861/ 4.2.3.3.1.1
Bacterial Reverse Mutation Test with JNJ-56142021 (M4)	S. typhimurium (TA1535, TA1537, TA98, TA100) E. coli WP2 *uvrA*	*In vitro* (DMSO)	NA	1.60 – 5000 µg/plate	JNJ-56142021 (M4): [redacted]	N	Y	[redacted], US-[redacted]	TX-509-1003/ 4.2.3.3.1.2
Chromosome Aberration Test with apalutamide and JNJ-56142060 (M3)	Human peripheral blood lymphocytes	*In vitro* (DMSO)	NA	1.00 – 500 µg/mL	JNJ-56021927-ZAH: [redacted] JNJ-56142060 (M3): [redacted]	N	Y	[redacted], Canada	963862/ 4.2.3.3.1.3
Chromosome Aberration Test with JNJ-56142021 (M4)	Human peripheral blood lymphocytes	*In vitro* (DMSO)	NA	3.39 – 500 µg/mL	JNJ-56142021 (M4): [redacted]	N	Y	[redacted], US-[redacted]	TX-509-1004/ 4.2.3.3.1.4

(Continued)

2.6.7.1 毒性試験

一覧表（続き）

Test Article: JNJ-56021927

Type of Study	Species and Strain (Gender)	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)[a,b]	Test Article: Batch No.[c]	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Genotoxicity (Cont'd)									
In Vivo									
Micronucleus Test in Bone Marrow with apalutamide and JNJ-56142060 (M3)	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	SD	0 (vehicle), 500, 1000 and 2000	JNJ-56021927-ZAH: [redacted] JNJ-56142060 (M3): [redacted]	N	Y	[redacted], Canada	963863/ 4.2.3.3.2.1
Dose Range Finder Assay in support of Liver Comet Assay	S-D Rat (M&F)	Orally (gavage)	2 days	0 (vehicle), 50, 100, 150, 250, and 500	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	N	[redacted], US-[redacted]	TOX11537/ 4.2.3.3.2.2
Liver Comet Assay	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	2 days	0 (vehicle), 50, 100, and 150	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	Y	[redacted], US-[redacted]	TOX10942/ 4.2.3.3.2.3
Carcinogenicity									
Preparatory studies									
SD + 10-Day Toxicity	CD-1 Mouse (M&F)	Orally (gavage)	10 days	SD: 0 (vehicle), 20, 100, and 500 RD: 0 (vehicle), 20, 50, and 100	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	N	Janssen R&D, Belgium	TOX10822/ 4.2.3.4.2.1
10-Day Toxicity	CD-1 Mouse (M&F)	Orally (gavage)	10 days	0 (vehicle), 100, 175 and 250	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	N	Janssen R&D, Belgium	TOX10940/ 4.2.3.4.2.2
14-Day Toxicity	CByB6F1 Hybrid (non-transgenic littermates) Mouse (M&F)	Orally (gavage)	14 days	0 (vehicle), 75, and 150	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	Y	N	[redacted] US-[redacted]	TOX11241/ 4.2.3.4.2.3
Reproductive and Developmental Toxicity									
4-Week Fertility Study + 8-Week Recovery	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	4 weeks	0 (vehicle), 25, and 150	JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	N	Y	Janssen R&D, Belgium	TOX10913/ 4.2.3.5.1.1
Local Tolerance									
NA									

(Continued)

2.6.7.1 毒性試験

一覧表（続き）

Test Article: JNJ-56021927

Type of Study	Species and Strain (Gender)	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)[a,b]	Test Article: Batch No.[c]	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Other Toxicity Studies									
Impurity studies									
1-Month Impurity Qualification Study for 不純物B*	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	1 month	0 (vehicle), 25 and 150/100	JNJ-56021927-AAA Reference batch: [redacted] Fortified batch: [redacted]	Y	Y	Janssen R&D, Belgium	TOX11086/ 4.2.3.7.6.1
1-Month Impurity Qualification Study for 不純物D*	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	1 month	0 (vehicle), 25 and 100	JNJ-56021927-ZAH Reference batch: [redacted] Fortified batch: [redacted]	N	Y	Janssen R&D, Belgium	TOX10850/ 4.2.3.7.6.2
28-Day Impurity Qualification Study for 不純物E*	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	28 days	0 (vehicle), 25 and 100	JNJ-56021927-AAA Reference batch: [redacted] Fortified batch: [redacted]	N	Y	[redacted] US-[redacted]	TOX12248/ 4.2.3.7.6.3
Phototoxicity Study									
Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay with apalutamide and JNJ-56142060 (M3)	Balb/c 3T3 mouse fibroblasts	*In vitro* (DMSO)	NA	JNJ-56021927-ZAH：10.6 mg/L JNJ-56142060 (M3)： 10.0 mg/L	JNJ-56021927-ZAH: [redacted] JNJ-56142060 (M3): [redacted]	N	Y	[redacted] US-[redacted]	20020054/ 4.2.3.7.7.1
Early Toxicity Testing by [redacted]									
Acute and 28-Day Toxicity	B6D2F1 Mouse (M)	A: IV A-B-C-D: Orally (gavage)	A: SD B: SD C: 28 days D: 28 days	A: 20 mg/kg B: 25, 50, 75, 100 and 150 mg/kg C: 50, 100 and 150 mg/kg bid D: 0, 25, 50, 75, and 100 mg/kg bid [Oral: 0.5% HPMC, IV: 10% Castor oil-PEG35, 5% Methanol]	A52: [redacted]	Y	N	[redacted] US-[redacted]	A52-mouse/ 4.2.3.7.7.2

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.1 毒性試験

一覧表（続き）

Test Article: JNJ-56021927

Type of Study	Species and Strain (Gender)	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)[a,b]	Test Article: Batch No.[c]	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Other Toxicity Studies (Cont'd)									
28-Day Toxicity	New Zealand Rabbit (M)	Orally (gavage)	A-B: 28 days	A-B: 8 mg/kg/day [0.5% HPMC]	A52: [redacted]	Y	N	[redacted] US-[redacted]	A52-rabbit/ 4.2.3.7.7.3
28-Day Toxicity + 14-Day Recovery	Beagle Dog (M)	IV and orally (gavage)	IV: SD Oral: 28 days	0, 10, 30/20, 60 [10% labrasol, 10% lactic acid, 10% soybean oil, in 50 mM phosphate buffer] 10 (IV) [2.5% lactic acid, 5% ethanol, 8% cremophor EL, in 25 mM phosphate buffer, pH6 ± 0.5]	A52: [redacted]	Y	N	[redacted], US-[redacted]	6925-103/ 4.2.3.7.7.4
Studies on Starting Materials and Intermediates									
Bacterial Reverse Mutation Test with 不純物G*	S. typhimurium (TA1535, TA1537, TA98, TA100, TA102)	*In vitro* (DMSO)	NA	1.7 – 5000 µg/plate	不純物G* [redacted]	N	Y	[redacted], Netherlands	TOX11448/ 4.2.3.7.7.5
Bacterial Reverse Mutation Test with 不純物H*	S. typhimurium (TA1535, TA1537, TA98, TA100, TA102)	*In vitro* (DMSO)	NA	1.6 – 4717 µg/plate	不純物H* [redacted]	N	Y	[redacted], Netherlands	TOX11452/ 4.2.3.7.7.6
Bacterial Reverse Mutation Test with 不純物I*	S. typhimurium (TA1535, TA1537, TA98, TA100, TA102)	*In vitro* (DMSO)	NA	1.7 – 5000 µg/plate	不純物I* [redacted]	N	Y	[redacted], Netherlands	TOX12105/ 4.2.3.7.7.7
Bacterial Reverse Mutation Test with 不純物J*	S. typhimurium (TA1535, TA1537, TA98, TA100, TA102)	*In vitro* (DMSO)	NA	1.7 – 5000 µg/plate	不純物J* [redacted]	N	Y	[redacted], Netherlands	TOX11449/ 4.2.3.7.7.8

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.1 毒性試験

一覧表（続き）

Test Article: JNJ-56021927

Type of Study	Species and Strain (Gender)	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)[a,b]	Test Article: Batch No.[c]	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Other Toxicity Studies (Cont'd)									
Bacterial Reverse Mutation Test with 不純物K*	S. typhimurium (TA1535, TA1537, TA98, TA100, TA102)	*In vitro* (DMSO)	NA	1.7 – 5000 µg/plate	不純物K* [redacted]	N	Y	[redacted], Netherlands	TOX11451/ 4.2.3.7.7.9
Bacterial Reverse Mutation Test with 不純物L*	S. typhimurium (TA1535, TA1537, TA98, TA100, TA102)	*In vitro* (DMSO)	NA	1.7 – 5000 µg/plate	不純物L* [redacted]	N	Y	[redacted], Netherlands	TOX11450/ 4.2.3.7.7.10
Other Studies									
Validation of a HPLC Method for Determination of apalutamide and JNJ-56142060 (M3) in Non-Aqueous Dose Formulations[g]	NA	NA	NA	NA	JNJ-56021927-ZAH: [redacted] JNJ-56142060 (M3): [redacted]	N	Y	[redacted], US-[redacted]	20023509/ 4.2.3.7.7.11
Validation of a HPLC Method for Determination of apalutamide and JNJ-56142060 (M3) in DMSO Dose Formulations[g]	NA	NA	NA	NA	JNJ-56021927-ZAH: [redacted] JNJ-56142060 (M3): [redacted]	N	Y	[redacted], US-[redacted]	20014606/ 4.2.3.7.7.12

[a] Unless otherwise specified, a lipid-based emulsion formulation was used as the vehicle in the *in vivo* studies and consisted of Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w).
[b] For Repeat-Dose Toxicity and Reproductive and Developmental Toxicity, the NOAEL is underlined.
[c] JNJ-56021927-ZAH refers to the ethanolate form of apalutamide; JNJ-56021927-AAA refers to the free base (non-salt) form of apalutamide.
[d] Although the study report established the NOAEL at 50 mg/kg/day, a NOAEL of 150 mg/kg/day is considered more appropriate since mortalities at 150 mg/kg/day are unlikely to be treatment-related.
[e] NOAEL is below the lowest dose tested.
[f] Although the study report established the NOAEL at 20 mg/kg/day, a NOAEL of 10 mg/kg/day is considered more appropriate in view of the CNS signs at 20 mg/kg/day.
[g] No tabulation of data.
[redacted] = [redacted]; DMSO = dimethyl sulfoxide; F = female; GLP = Good Laboratory Practice; HPLC = high-performance liquid chromatography; HPMC = hydroxypropylmethyl cellulose; IV = intravenous; M = male; [redacted] = [redacted]; NA = not applicable; NOAEL = no observed adverse effect level; PEG = polyethylene glycol; RD = repeat-dose; S-D = Sprague-Dawley; SD = single-dose; SDE = single-dose escalation; TK = toxicokinetics; TPGS = D-α-tocopherol polyethylene glycol succinate

*新薬承認情報提供時に置き換え

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: JNJ-56021927

Type of Study	**Test System**	**Route**[a]	**Doses (mg/kg)**[b]	**GLP**	**Study No/ Location in CTD**
Single-Dose Bridging TK Study	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	5 and 50	N	TOX11320/ 4.2.3.1.1
14-Day Toxicity	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	0 (vehicle), 0 (water), 150, 300, and 600	N	VUM00002/ 4.2.3.2.1
28-Day Toxicity + 14-Day Recovery	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	0 (vehicle), 50, 150 and 250	Y	VUM00004/ 4.2.3.2.2
13-Week Toxicity + 30-Day Recovery	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	0 (vehicle), 25, 50, and 100	Y	TX-509-1001/ 4.2.3.2.3
26-Week Toxicity	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	0 (vehicle), 25, 75, and 150	Y	TOX10838/ 4.2.3.2.4
SD + 28-Day Toxicity	S-D Rat (F)	Orally (gavage)	SD: 0 (vehicle), 50, 100, 150, and 250 RD: 0 (vehicle), 25, 50, and 100	N	TOX10760/ 4.2.3.2.5
26-Week Toxicity + 2-Month Recovery	S-D Rat (F)	Orally (gavage)	0 (vehicle), 25, 50, 100, and 150	Y	TOX10897/ 4.2.3.2.6
1-Month Impurity Qualification Study for 不純物B*	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	0 (vehicle), 25 and 150/100	Y	TOX11086/ 4.2.3.7.6.1
21-Day Toxicity	Beagle Dog (M)	Orally (capsule)	0 (vehicle), 10, 20, and 40	N	VUM00003/ 4.2.3.2.7
28-Day Toxicity + 28-Day Recovery	Beagle Dog (M)	Orally (capsule)	0 (vehicle), 5, 10 and 25	Y	VUM00005 and DR-[redacted]-008-DSD[c]/ 4.2.3.2.8 and 4.2.3.2.9
13-Week Toxicity + 60-Day Recovery	Beagle Dog (M)	Orally (capsule)	0 (vehicle), 2.5, 5, and 10	Y	TX-509-1002/ 4.2.3.2.10
39-Week Toxicity	Beagle Dog (M)	Orally (capsule)	0 (vehicle), 2.5, 5, and 10	Y	TOX10839/ 4.2.3.2.11

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

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（続き）

Test Article: JNJ-56021927

Type of Study	**Test System**	**Route** [a]	**Doses (mg/kg)** [b]	**GLP**	**Study No/ Location in CTD**
SDE + 21-Day Toxicity	Beagle Dog (F)	Orally (gavage and capsule)	SD: 0 (vehicle), 5, 10, and 20 RD: 0 (vehicle), 5, 10, and 20	N	TOX10780/ 4.2.3.2.12
13-Week Toxicity + 1-Month Recovery	Beagle Dog (F)	Orally (capsule)	0 (vehicle), 2.5, 5, and 10	Y	TOX10895/ 4.2.3.2.13
Dose Range Finder Assay in support of Liver Comet Assay	S-D Rat (M&F)	Orally (gavage)	0 (vehicle), 50, 100, 150, 250, and 500	N	TOX11537/ 4.2.3.3.2.2
Liver Comet Assay	S-D Rat (M)	Orally (gavage)	0 (vehicle), 25, 50, 100, and 150	Y	TOX10942/ 4.2.3.3.2.3
SD + 10-Day Toxicity	CD-1 Mouse (M&F)	Orally (gavage)	SD: 0 (vehicle), 20, 100, and 500 RD: 0 (vehicle), 20, 50, and 100	N	TOX10822/ 4.2.3.4.2.1
10-Day Toxicity	CD-1 Mouse (M&F)	Orally (gavage)	0 (vehicle), 100, 175 and 250	N	TOX10940/ 4.2.3.4.2.2
14-Day Toxicity	CByB6F1 Hybrid (non-transgenic littermates) Mouse (M&F)	Orally (gavage)	0 (vehicle), 75, and 150	N	TOX11241/ 4.2.3.4.2.3

[a] A lipid-based emulsion formulation was used as the vehicle in the in vivo studies and consisted of Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w).

[b] The ethanolate form of apalutamide was used (JNJ-56021927-ZAH) in all studies except for the Single-Dose Bridging TK Study and 1-Month Impurity Qualification Study for 不純物B* in which the free base (non-salt) form of apalutamide (JNJ-56021927-AAA) was used.

[c] The TK of metabolite JNJ-56142060 (M3) was evaluated separately.

F = female; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; PEG = polyethylene glycol; RD = repeat-dose; S-D = Sprague-Dawley; SD = single-dose; SDE = single-dose escalation; TPGS = D-α-tocopherol polyethylene glycol succinate

*新薬承認情報提供時に置き換え

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

Test Article: JNJ-56021927

Analyte: JNJ-56021927

Daily Dose (mg/kg)	Study Duration (Study Number)	Steady-State JNJ-56021927 C_{max} (µg/mL) Rats M	Rats F	Dogs M	Dogs F	Mice M	Mice F
2.5	13-week toxicity (TX-509-1002)			3.78			
2.5	39-week toxicity (TOX10839)			3.82			
2.5	13-week toxicity (TOX10895)				3.49		
5	28-day toxicity (VUM00005)			5.97			
5	13-week toxicity (TX-509-1002)			10.3			
5	39-week toxicity (TOX10839)			8.60			
5	21-day toxicity (TOX10780)				5.16		
5	13-week toxicity (TOX10895)				8.33		
10	28-day toxicity (VUM00005)			13.2			
10	13-week toxicity (TX-509-1002)			19.6			
10	39-week toxicity (TOX10839)			18.7			
10	21-day toxicity (TOX10780)				14.2		
10	13-week toxicity (TOX10895)				16.7		
10	21-day toxicity (VUM00003)			17.4			
20	21-day toxicity (TOX10780)				37.1		
20	21-day toxicity (VUM00003)			47.5			
20	10-day toxicity (TOX10822)					6.75	11.1
25	13-week toxicity (TX-509-1001)	7.48					
25	26-week toxicity (TOX10838)	7.20					
25	28-day toxicity (TOX10760)		11.3				
25	26-week toxicity (TOX10897)		13.4				
25	1-month impurity evaluation (TOX11086)	6.89					
25	28-day toxicity (VUM00005)			N/A[a]			

(Continued)

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（続き）

Test Article: JNJ-56021927

Analyte: JNJ-56021927

Daily Dose (mg/kg)	Study Duration (Study Number)	Steady-State JNJ-56021927 C_{max} (µg/mL) Rats M	Rats F	Dogs M	Dogs F	Mice M	Mice F
40	21-day toxicity (VUM00003)			N/A[b]			
50	28-day toxicity (VUM00004)	11.9					
50	13-week toxicity (TX-509-1001)	11.9					
50	28-day toxicity (TOX10760)		23.7				
50	26-week toxicity (TOX10897)		32.3				
50	10-day toxicity (TOX10822)					11.6	15.1
75	26-week toxicity (TOX10838)	20.4					
75	14-day toxicity (TOX11241)					16.1	18.6
100	13-week toxicity (TX-509-1001)	30.1					
100	28-day toxicity (TOX10760)		33.9				
100	26-week toxicity (TOX10897)		43.3				
100	10-day toxicity (TOX10822)					13.9	NC[c]
100	10-day toxicity (TOX10940)					17.6	25.9
150	14-day toxicity (VUM00002)	31.4					
150	28-day toxicity (VUM00004)	31.5					
150	26-week toxicity (TOX10838)	27.7					
150	26-week toxicity (TOX10897)		42.3				
150/100[f]	1-month impurity evaluation (TOX11086)	30.3					
150	14-day toxicity (TOX11241)					N/A[d]	N/A[d]
175	10-day toxicity (TOX10940)					30.0	32.2
250	28-day toxicity (VUM00004)	N/A[e]					
250	10-day toxicity (TOX10940)					31.1	35.2
300	14-day toxicity (VUM00002)	39.3					
600	14-day toxicity (VUM00002)	33.5					

(Continued)

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（続き）

Test Article: JNJ-56021927

Analyte: JNJ-56142060 (M3)

Daily Dose (mg/kg)	Study Duration (Study Number)	Steady-State JNJ-56142060 (M3) C_{max} (µg/mL) Rats M	Rats F	Dogs M	Dogs F	Mice M	Mice F
2.5	13-week toxicity (TX-509-1002)			2.55			
2.5	39-week toxicity (TOX10839)			2.99			
2.5	13-week toxicity (TOX10895)				2.77		
5	28-day toxicity (VUM00005/DR-[redacted]-008-DSD)			4.35			
5	13-week toxicity (TX-509-1002)			4.63			
5	39-week toxicity (TOX10839)			5.04			
5	21-day toxicity (TOX10780)				3.72		
5	13-week toxicity (TOX10895)				4.80		
10	28-day toxicity (VUM00005/DR-[redacted]-008-DSD)			7.69			
10	13-week toxicity (TX-509-1002)			8.93			
10	39-week toxicity (TOX10839)			8.32			
10	21-day toxicity (TOX10780)				9.44		
10	13-week toxicity (TOX10895)				9.05		
10	21-day toxicity (VUM00003)			N/A[g]			
20	21-day toxicity (TOX10780)				16.5		
20	21-day toxicity (VUM00003)			N/A[g]			
20	10-day toxicity (TOX10822)					1.62	1.24
25	13-week toxicity (TX-509-1001)	0.200					
25	26-week toxicity (TOX10838)	0.228					
25	28-day toxicity (TOX10760)		0.111				
25	26-week toxicity (TOX10897)		0.250				
25	1-month impurity evaluation (TOX11086)	0.218					
25	28-day toxicity (VUM00005/DR-[redacted]-008-DSD)			N/A[a]			

(Continued)

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（続き）

Test Article: JNJ-56021927

Analyte: JNJ-56142060 (M3)

Daily Dose (mg/kg)	Study Duration (Study Number)	Steady-State JNJ-56142060 (M3) C_{max} (µg/mL) Rats M	Rats F	Dogs M	Dogs F	Mice M	Mice F
40	21-day toxicity (VUM00003)			N/A[g]			
50	28-day toxicity (VUM00004)	N/A[g]					
50	13-week toxicity (TX-509-1001)	0.413					
50	28-day toxicity (TOX10760)		0.349				
50	26-week toxicity (TOX10897)		0.702				
50	10-day toxicity (TOX10822)					4.06	3.78
75	26-week toxicity (TOX10838)	1.10					
75	14-day toxicity (TOX11241)					10.0	6.85
100	13-week toxicity (TX-509-1001)	1.49					
100	28-day toxicity (TOX10760)		0.662				
100	26-week toxicity (TOX10897)		1.79				
100	10-day toxicity (TOX10822)					7.58	NC[c]
100	10-day toxicity (TOX10940)					12.3	12.0
150	14-day toxicity (VUM00002)	N/A[g]					
150	28-day toxicity (VUM00004)	N/A[g]					
150	26-week toxicity (TOX10838)	1.40					
150	26-week toxicity (TOX10897)		1.57				
150/100[f]	1-month impurity evaluation (TOX11086)	1.35					
150	14-day toxicity (TOX11241)					N/A[d]	N/A[d]
175	10-day toxicity (TOX10940)					17.6	18.3
250	28-day toxicity (VUM00004)	N/A[e, g]					
250	10-day toxicity (TOX10940)					21.4	20.6
300	14-day toxicity (VUM00002)	N/A[g]					
600	14-day toxicity (VUM00002)	N/A[g]					

(Continued)

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（続き）

Test Article: JNJ-56021927

Analyte: JNJ-56021927

Daily Dose (mg/kg)	Study Duration (Study Number)	Steady-State JNJ-56021927 AUC (µg·hr/mL) Rats M	Rats F	Dogs M	Dogs F	Mice M	Mice F
2.5	13-week toxicity (TX-509-1002)			84.2			
2.5	39-week toxicity (TOX10839)			86.6			
2.5	13-week toxicity (TOX10895)				79.8		
5	28-day toxicity (VUM00005)			116			
5	13-week toxicity (TX-509-1002)			202			
5	39-week toxicity (TOX10839)			197			
5	21-day toxicity (TOX10780)				111		
5	13-week toxicity (TOX10895)				192		
10	28-day toxicity (VUM00005)			290			
10	13-week toxicity (TX-509-1002)			419			
10	39-week toxicity (TOX10839)			427			
10	21-day toxicity (TOX10780)				308		
10	13-week toxicity (TOX10895)				385		
10	21-day toxicity (VUM00003)			338			
20	21-day toxicity (TOX10780)				806		
20	21-day toxicity (VUM00003)			1020			
20	10-day toxicity (TOX10822)					113	170
25	13-week toxicity (TX-509-1001)	136					
25	26-week toxicity (TOX10838)	135					
25	28-day toxicity (TOX10760)		195				
25	26-week toxicity (TOX10897)		282				
25	1-month impurity evaluation (TOX11086)	112					
25	28-day toxicity (VUM00005)			N/A[a]			

(Continued)

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（続き）

Test Article: JNJ-56021927

Analyte: JNJ-56021927

Daily Dose (mg/kg)	Study Duration (Study Number)	Steady-State JNJ-56021927 AUC (µg·hr/mL) Rats M	Rats F	Dogs M	Dogs F	Mice M	Mice F
40	21-day toxicity (VUM00003)			N/A[b]			
50	28-day toxicity (VUM00004)	201					
50	13-week toxicity (TX-509-1001)	240					
50	28-day toxicity (TOX10760)		416				
50	26-week toxicity (TOX10897)		566				
50	10-day toxicity (TOX10822)					136	228
50	26-week toxicity (TOX10838)	389					
75	14-day toxicity (TOX11241)					160	213
100	13-week toxicity (TX-509-1001)	521					
100	28-day toxicity (TOX10760)		659				
100	26-week toxicity (TOX10897)		834				
100	10-day toxicity (TOX10822)					140	NC[c]
100	10-day toxicity (TOX10940)					175	262
150	14-day toxicity (VUM00002)	550					
150	28-day toxicity (VUM00004)	572					
150	26-week toxicity (TOX10838)	508					
150	26-week toxicity (TOX10897)		785				
150/100[f]	1-month impurity evaluation (TOX11086)	510					
150	14-day toxicity (TOX11241)					N/A[d]	N/A[d]
175	10-day toxicity (TOX10940)					195	248
250	28-day toxicity (VUM00004)	N/A[e]					
250	10-day toxicity (TOX10940)					210	283
300	14-day toxicity (VUM00002)	743					
600	14-day toxicity (VUM00002)	650					

(Continued)

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（続き）

Test Article: JNJ-56021927

Analyte: JNJ-56142060 (M3)

Daily Dose (mg/kg)	Study Duration (Study Number)	Steady-State JNJ-56142060 (M3) AUC (µg·hr/mL) Rats M	Rats F	Dogs M	Dogs F	Mice M	Mice F
2.5	13-week toxicity (TX-509-1002)			57.4			
2.5	39-week toxicity (TOX10839)			69.7			
2.5	13-week toxicity (TOX10895)				63.2		
5	28-day toxicity (VUM00005/DR-[redacted]-008-DSD)			96.5			
5	13-week toxicity (TX-509-1002)			100			
5	39-week toxicity (TOX10839)			116			
5	21-day toxicity (TOX10780)				86.6		
5	13-week toxicity (TOX10895)				112		
10	28-day toxicity (VUM00005/DR-[redacted]-008-DSD)			172			
10	13-week toxicity (TX-509-1002)			196			
10	39-week toxicity (TOX10839)			189			
10	21-day toxicity (TOX10780)				210		
10	13-week toxicity (TOX10895)				206		
10	21-day toxicity (VUM00003)			N/A[g]			
20	21-day toxicity (TOX10780)				371		
20	21-day toxicity (VUM00003)			N/A[g]			
20	10-day toxicity (TOX10822)					35.7	28.8
25	13-week toxicity (TX-509-1001)	3.86					
25	26-week toxicity (TOX10838)	4.58					
25	28-day toxicity (TOX10760)		2.18				
25	26-week toxicity (TOX10897)		4.88				
25	1-month impurity evaluation (TOX11086)	3.97					
25	28-day toxicity (VUM00005/DR-[redacted]-008-DSD)			N/A[a]			

(Continued)

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（続き）

Test Article: JNJ-56021927
Analyte: JNJ-56142060 (M3)

Daily Dose (mg/kg)	Study Duration (Study Number)	Steady-State JNJ-56142060 (M3) AUC (µg·hr/mL) Rats M	Rats F	Dogs M	Dogs F	Mice M	Mice F
40	21-day toxicity (VUM00003)			N/A[g]			
50	28-day toxicity (VUM00004)	N/A[g]					
50	13-week toxicity (TX-509-1001)	8.57					
50	28-day toxicity (TOX10760)		6.25				
50	26-week toxicity (TOX10897)		14.5				
50	10-day toxicity (TOX10822)					84.9	71.6
50	26-week toxicity (TOX10838)	20.6					
75	14-day toxicity (TOX11241)					155	110
100	13-week toxicity (TX-509-1001)	28.5					
100	28-day toxicity (TOX10760)		13.5				
100	26-week toxicity (TOX10897)		31.3				
100	10-day toxicity (TOX10822)					127	NC[c]
100	10-day toxicity (TOX10940)					186	179
150	14-day toxicity (VUM00002)	N/A[g]					
150	28-day toxicity (VUM00004)	N/A[g]					
150	26-week toxicity (TOX10838)	27.7					
150	26-week toxicity (TOX10897)		29.0				
150/100[f]	1-month impurity evaluation (TOX11086)	23.7					
150	14-day toxicity (TOX11241)					N/A[d]	N/A[d]
175	10-day toxicity (TOX10940)					244	235
250	28-day toxicity (VUM00004)	N/A[e, g]					
250	10-day toxicity (TOX10940)					246	255
300	14-day toxicity (VUM00002)	N/A[g]					
600	14-day toxicity (VUM00002)	N/A[g]					

[a] Animals were placed on a dosing holiday beginning on Day 9. The mean apalutamide concentration at the time of first observation of CNS toxicity was 30.2 µg/mL (n=3).
[b] High-dose animals were euthanized on Days 13 and 14.
[c] Not calculated since not enough data points
[d] All 150 mg/kg/day animals were sacrificed on Day 3 due to adverse clinical signs.
[e] High-dose animals were euthanized on Day 3 and Day 4.
[f] Animals of this group were dosed at 150 mg/kg/day on Days 0-1-2, were not dosed on Days 3-4 and were dosed at 100 mg/kg/day from Day 5 onwards.
[g] TK parameters of metabolite JNJ-56142060 (M3) were not evaluated in this study.

AUC = area under the curve; C_{max} = maximum concentration; F = female; M = male; N/A = not available; NC = not calculated

2.6.7.4 毒性試験

被験物質の一覧表

Test Article: JNJ-56021927

Batch No.	**Purity (% w/w)**	**Specified Impurities (%)** [a] 不純物A* [b]	不純物B* [c]	**Type of Study**	**Study No./ Location in CTD**
Proposed Specification:	[redacted]%-[redacted]	[redacted]	[redacted]		
JNJ-56021927-ZAH:					
[redacted]	99.2	0.10	< 0.05	28-Day Toxicity + 14-Day Recovery in Male Rats	VUM00004/4.2.3.2.2
				28-Day Toxicity + 28-Day Recovery in Male Dogs	VUM00005/4.2.3.2.8
[redacted]	99.1	< 0.05	< 0.05	13-Week Toxicity + 30-Day Recovery in Male Rats	TX-509-1001/4.2.3.2.3
				13-Week Toxicity + 60-Day Recovery in Male Dogs	TX-509-1002/4.2.3.2.10
[redacted]	99.8	< 0.05	< 0.05	26-Week Toxicity in Male Rats	TOX10838/4.2.3.2.4
				39-Week Toxicity in Male Dogs	TOX10839/4.2.3.2.11
[redacted]	99.0	0.10	< 0.05	26-Week Toxicity in Male Rats	TOX10838/4.2.3.2.4
				26-Week Toxicity in Female Rats	TOX10897/4.2.3.2.6
				39-Week Toxicity in Male Dogs	TOX10839/4.2.3.2.11
				13-Week Toxicity + 1-Month Recovery in Female Dogs	TOX10895/4.2.3.2.13
				Liver Comet Assay in Male Rats	TOX10942/4.2.3.3.2.3
[redacted]	99.7	< 0.05	< 0.05	hERG Assay	TOX10776/4.2.1.3.2
				Canine Cardiac Purkinje Fiber Assay	110513.BSC/4.2.1.3.3
				Bacterial Reverse Mutation Test	963861/4.2.3.3.1.1
				Chromosome Aberration Test	963862/4.2.3.3.1.3
				Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay	20020054/4.2.3.7.7.1
[redacted]	99.2	< 0.05	< 0.05	Respiratory Safety Study in Male Rats	694182/4.2.1.3.5
				Micronucleus Test in Bone Marrow	963863/4.2.3.3.2.1

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.4 毒性試験

被験物質の一覧表（続き）

Test Article: JNJ-56021927

Batch No.	Purity (% w/w)	Specified Impurities (%)[a] 不純物A*[b]	不純物B*[c]	Type of Study	Study No./ Location in CTD
Proposed Specification:	[redacted]%-[redacted]	[redacted]	[redacted]		
JNJ-56021927-ZAH: [redacted]	99.9	< 0.05	< 0.05	Telemetry Study in Dogs	TOX10811/4.2.1.3.4
				Male Rat Fertility Study	TOX10913/4.2.3.5.1.1
				28-Day Impurity Qualification Study for 不純物D*	TOX10850/4.2.3.7.6.2
[redacted][d]	99.2	0.01	< 0.05	28-Day Impurity Qualification Study for 不純物D*	TOX10850/4.2.3.7.6.2
[redacted]	≥ 99	no results	no results	28-Day Toxicity + 14-Day Recovery	6925-103/4.2.3.7.7.4
JNJ-56021927-AAA: [redacted]	99.8	< 0.05	0.05	28-Day Impurity Qualification Study for 不純物B*	TOX11086/4.2.3.7.6.1
[redacted][e]	94	0.50	1.2	28-Day Impurity Qualification Study for 不純物B*	TOX11086/4.2.3.7.6.1
[redacted]	99.2	0.12	0.06	28-Day Impurity Qualification Study for 不純物E*	TOX12248/4.2.3.7.6.3
[redacted][f]	98.2	0.18	0.05	28-Day Impurity Qualification Study for 不純物E*	TOX12248/4.2.3.7.6.3

[a] Only the impurities that are individually specified in the proposed commercial specification for drug substance produced with the proposed commercial synthesis method are reported

[b] 不純物A* = RRT [redacted]

[c] 不純物B* = RRT [redacted] (不純物B*)

[d] Spiked batch No. [redacted]: reference batch [redacted] spiked with structure 不純物D* at 0.56% w/w

[e] Spiked batch No. [redacted]: reference batch [redacted] spiked with 不純物B* at the nominal level of 1.2% w/w

[f] Spiked batch No. [redacted]: reference batch [redacted] spiked with structure 不純物E* at 0.65% w/w

[redacted] (TTOX11086): purity 99.8% = assay value as given in CMC section Mod 3.2.S.4.4

[redacted] (TOX11086): purity 94% = assay value on the CoA in the study report.

[redacted] (TOX12248): purity 99.2% = assay value as given in CMC section Mod 3.2.S.4.4

[redacted] (TOX12248): purity 98.2% = assay value on the CoA in the study report.

Source: Mod3/DS-TEC-92996 and Certificates of Analysis in module 4 study reports for the spiked batches

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: JNJ-56021927

<table>
<tr><th>Species/Strain
Sex/No. Per Group</th><th>Route[a]</th><th>Doses (mg/kg)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study No./
Location in CTD</th></tr>
<tr><td colspan="5">Single-Dose Toxicity
Separate single-dose studies were not conducted.</td></tr>
<tr><td colspan="5">Bridging TK Study with Free Base and Ethanolate Form of Apalutamide</td></tr>
<tr><td>S-D Rat (3 M/group)</td><td>Orally (gavage)</td><td>JNJ-56021927-ZAH (ethanolate):
5 and 50</td><td>No mortality
No clinical signs
No adverse effects on body weight or weight gain
TK:
<table>
<tr><td rowspan="2">Dose
(mg/kg)</td><td colspan="2">C_{max} (µg/mL)</td><td colspan="2">AUC (µg·hr/mL)[b]</td></tr>
<tr><td>Apalutamide</td><td>M3</td><td>Apalutamide</td><td>M3</td></tr>
<tr><td>5</td><td>1.22</td><td>NC[c]</td><td>22.5</td><td>NC[c]</td></tr>
<tr><td>50</td><td>11.5</td><td>0.286</td><td>238</td><td>5.24</td></tr>
</table></td><td>TOX11320/
4.2.3.1.1</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>JNJ-56021927-AAA (free base):
5 and 50</td><td>No mortality
No clinical signs
No adverse effects on body weight or weight gain
TK:
<table>
<tr><td rowspan="2">Dose
(mg/kg)</td><td colspan="2">C_{max} (µg/mL)</td><td colspan="2">AUC (µg·hr/mL)[b]</td></tr>
<tr><td>Apalutamide</td><td>M3</td><td>Apalutamide</td><td>M3</td></tr>
<tr><td>5</td><td>1.21</td><td>NC[c]</td><td>29.8</td><td>NC[c]</td></tr>
<tr><td>50</td><td>11.6</td><td>0.389</td><td>239</td><td>5.37</td></tr>
</table></td><td></td></tr>
</table>

[a] Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w).
[b] $AUC_{0\text{-}inf}$ for apalutamide and $AUC_{0\text{-}24hr}$ for metabolite JNJ-56142060 (M3).
[c] NC = Not calculated. Insufficient plasma concentration data were available for adequate TK parameter calculation when M3 was dosed at 5 mg/kg.

2.6.7.6 A 反復投与毒性試験

重要な試験以外の試験

Report Title: A 14-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Gavage to Male Rats (non-GLP) **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley Crl: CD(SD) **Duration of Dosing:** 14 days **Study No.:** VUM00002
Initial Age: M: ~7 weeks **Duration of Postdose:** NA **Location in CTD:** 4.2.3.2.1
Date of First Dose: [redacted] **Method of Administration:** Orally (gavage) **GLP Compliance:** No
Special Features: None **Vehicle/Formulation:** Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul
No Observed Adverse Effect Level: 150 mg/kg/day MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)	150		300		600		0 (RODI Water)
Number of Toxicokinetic Animals	M:4	M:4		M:4		M:4		M: 0
Toxicokinetics:		C_{max} (µg/mL)	AUC [a] (µg·hr/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC [a] (µg·hr/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC [a] (µg·hr/mL)	
Day Analyte								
1 JNJ-56021927	-	28.9	977	55.0	2420	26.0	913	
14 JNJ-56021927	-	31.4	550	39.3	743	33.5	650	
Number of Toxicity Animals	M:5	M:5		M:5		M:5		M: 5
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0		2		1		0
Body Weight Change (Day 1 to 4) [c, d]	274 g	-3.7		-6.8		-4.0		-
Food Consumption	-	-		-		-		-
Clinical Observations								
Salivation [b]	-	+		+		+		-
Urine staining [b]	-	+		+		+		-
Piloerection [b]	-	-		+		+		-
Thin appearanc [b]	-	-		+		+		-
Aggressiveness [b]	-	-		+		-		-
Fecal staining [b]	+	-		+		-		-
Vocalization [b]	-	-		+		-		-
Hunched posture [b]	-	-		-		+		-
Rapid/shallow breathing [b]	-	-		-		+		-
Hematology [c]								
Erythrocytes (10*6/cmm) [d]	7.18	-7.4*		-11.1*		-8.4*		-
Hemoglobin (g/dL) [d]	13.7	-6.7*		-12.4*		-8.9*		-
Hematocrit (%) [d]	40.3	-5.5		-12.5*		-6.1		-
Reticulocytes (10*9/L) [e]	196.6	+119.3		+141.3		+173.8*		-
Platelets (10*3/cmm) [d]	1306	+35.8*		+54.2*		+49.5*		-
Leukocytes (10*3/cmm) [d]	7.99	+36.8		+180.6*		+90.3*		-
Lymphocytes (10*3/cmm) [d]	6.38	+45.7		+190.8*		+100.6*		-
Monocytes (10*3/cmm) [d]	0.21	+68.6		+163.5*		+65.5		-
Basophils (10*3/cmm) [e]	0.01	+116.7		+455.6*		+233.3		-

- = No noteworthy findings; + = Present (Continued)

2.6.7.6　A　反復投与毒性試験

重要な試験以外の試験（続き）

Report Title: A 14-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Gavage to Male Rats (non-GLP)　　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**150**	**300**	**600**	**0 (RODI Water)**
Number of Animals	M:5	M:5	M:5	M:5	M: 5
Coagulation	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry [c]					
Gamma-glutamyl transferase (IU/L) [e]	0.04	+1027.8	+1288.9	+2004.2	-
Cholesterol (mg/dL) [e]	41	+156.9	+235.0*	+238.2*	-
Urinalysis [f]	-	-	-	-	-
Gross Pathology					
Number Examined	5	5	3	4	0
Prostate - small	0	5	3	4	
Seminal Vesicles - small	0	5	3	4	
Organ Weights (absolute) [c]					
Prostate (g) [e]	0.75	-64.7	-77.5*	-68.8*	
Seminal vesicles (g) [e]	1.14	-82.2	-91.2*	-88.8*	
Epididymides (g) [d]	0.74	-37.4*	-50.3*	-42.5*	
Liver (g) [d]	9.08	+35.5*	+50.8*	+58.1*	
Thyroid (g) [d]	0.016	+6.2	+11.1	+14.2	
Adrenals (g) [d]	0.054	+54.9*	+56.7*	+53.9*	
Histopathology					
Number Examined	5	5	5	5	0
Adrenals - Hypertrophy, cortical					
Minimal	0	1	2	2	
Prostate - Atrophy					
Minimal	0	3	0	1	
Mild	0	2	3	4	
Seminal Vesicles - Atrophy					
Minimal	0	1	1	1	
Mild	0	2	1	3	
Moderate	0	1	3	1	

- = No noteworthy findings
[a] $AUC_{0\text{-}inf}$ for Day 1 and $AUC_{0\text{-}24hr}$ for Day 14
[b] Clinical observation was mainly noted in the unscheduled euthanasia animals.
[c] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[d] Anova/Dunnett-Test * = P<0.05
[e] Kruskal-Wallis/Dunn's * = P<0.05
[f] Unidentified crystals were observed during the microscopic urinalysis evaluation for levels > 150 mg/kg/day.
RODI water = reverse osmosis deionized water

2.6.7.6 B 反復投与毒性試験

重要な試験以外の試験

Report Title: JNJ-56021927-ZAH: A Single Dose Oral Toxicity Study in the Female Rat Followed by a 28-Day Repeat-Dose Toxicity Study (Tolerability Study) **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route[a]	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	MTD or NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Rat/Sprague Dawley F/3 per group	Orally (gavage)	Single Dose	0 (vehicle) 50 100 150 250	MTD > 250	Well tolerated. No relevant clinical observations or body weight effects up to 250 mg/kg/day	TOX10760/ 4.2.3.2.5
Rat/Sprague Dawley F/10 per group	Orally (gavage)	28 days	0 (vehicle) 25 50 100	NOAEL = 100	No mortalities. Well tolerated. ≥ 25 mg/kg/day: ↑ BW, ↑ BWG, ↑ FC; Hematology: ↓ RBC, ↓ HGB, ↓ HCT; ↑ reticulocytes, ↑ platelets, ↑ WBC, ↑ lymphocytes, ↑ neutrophils, ↑ monocytes; Clin.Chem: ↑ cholesterol; Necropsy/Histology: adrenal glands (swelling, ↑ weight, minimal to slight diffuse adrenocortical hypertrophy), spleen (↑ weight, extramedullary hematopoiesis) ≥ 50 mg/kg/day: Clin.Chem: ↑ glucose, ↑ triglycerides, ↑ calcium; Necropsy/Histology: bone marrow (diffuse hypercellularity); liver (↑ weight; marginal hypertrophy) 100 mg/kg/day: Coagulation: ↓ PT/APTT, ↑ fibrinogen. Clin.Chem: ↑ ALT (1.5x), ↑ globulin	

Dose (mg/kg)	C_{max} (µg/mL)		AUC_{0-inf} (µg·hr/mL)	
	Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
50	15.6	0.158	465	5.69
100	30.8	0.487	1030	18.0
150	37.5	0.723	1380	24.4
250	29.1	0.326	918	10.5

Dose (mg/kg)	C_{max} (µg/mL)		AUC_{0-24h} (µg·hr/mL)	
	Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
25	11.3	0.111	195	2.18
50	23.7	0.349	416	6.25
100	33.9	0.662	659	13.5

[a] Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)
ALT = alanine aminotransferase; APTT = activated partial thromboplastin time; BW = body weight; BWG = body weight gain; FC = food consumption; HCT = hematocrit; HGB = hemoglobin; PT = prothrombin time; RBC = red blood cells

2.6.7.6　C　反復投与毒性試験

重要な試験以外の試験

Report Title: A 21-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Capsule to Male Dogs (non-GLP)　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain: Dog/Beagle
Initial Age: M: ~5 to 6 months
Date of First Dose: [redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: 10 mg/kg/day[a]

Duration of Dosing: 21 days
Duration of Postdose: NA
Method of Administration: Orally (capsule)
Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)

Study No.: VUM00003
Location in CTD: 4.2.3.2.7
GLP Compliance: No

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Vehicle)**	**10**		**20**		**40**	
Number of Animals		M:2	M:2		M:2		M:2	
Toxicokinetics:			C_{max} (µg/mL)	AUC[b] (µg·hr/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC[b] (µg·hr/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC[b] (µg·hr/mL)
Day	**Analyte**							
1	**JNJ-56021927**	-	3.19	326	7.98	611	16.2	1510
21	**JNJ-56021927**	-	17.4	338	47.5	1020	ND	ND
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund		0	0		0		2	
Body Weight[d]								
Day 14[c]		8137 g	-		-2.7		-15.2	
Day 21		8055 g	-		-3.3		ND	
Food Consumption (Week 2)[d]								
Week 2[c]		223 g/day	+20.2		+5.2		-52.0	
Clinical Observations								
Tremors		-	-		+		+	
Seizures		-	-		-		+	
Decreased activity		-	-		+		+	
Wobbly gait		-	-		+		-	
Hunched posture		-	-		+		-	
Urine staining		-	-		+		+	
Thin appearance		-	-		-		+	
Physical Examinations		-	-		-		-	
Body Temperature		-	-		-		-	
Hematology[e]		-	-		-		-	
Coagulation		-	-		-		-	
Clinical Chemistry[e]								
Cholesterol (mg/dL)[d]		162	+21.6		+72.5		ND	
Urinalysis		-	-		-		-	

- = No noteworthy findings; + = Present

(Continued)

2.6.7.6　C　反復投与毒性試験

重要な試験以外の試験（続き）

Report Title: A 21-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Capsule to Male Dogs (non-GLP)　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**10**	**20**	**40**
Number of Animals	M:2	M:2	M:2	M:2
Gross Pathology	-	-	-	-
Organ Weights (absolute) [d]				
Prostate (g)	1.18	-14.0	-40.9	ND
Epididymides (g)	1.13	-18.2	-34.2	ND
Spleen (g)	67.89	-41.6	-45.1	ND
Histopathology				
Number Examined	2	2	2	2
Epididymis - Atrophy, epithelial				
Minimal	0	1	2	2

- = No noteworthy findings
[a] Although the study report established the NOAEL at 20 mg/kg/day, a NOAEL of 10 mg/kg/day is considered more appropriate in view of the CNS signs at 20 mg/kg/day.
[b] $AUC_{0\text{-}inf}$ for Day 1 and $AUC_{0\text{-}24hr}$ for Day 21
[c] During the last interval prior to euthanasia of the 40 mg/kg/day males.
[d] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.
[e] The 40 mg/kg/day animals that were euthanized early had increases in red cell mass, platelets, total protein, albumin, and globulin that were consistent with dehydration, in addition to an increase in serum total cholesterol.
ND = not determined; both high-dose animals were euthanized before Day 15 due to seizure activity.

2.6.7.6 D 反復投与毒性試験

重要な試験以外の試験

Report Title: JNJ-56021927-ZAH: A Single Dose Escalation Oral Toxicity Study in the Female Dog Followed by a 21-Day Repeat-Dose Toxicity Study **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route[a]	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	MTD (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Dog/Beagle F/3 per group	Orally (gavage and capsule)	Single Dose	Gavage: 0 (vehicle) 5 10 20 Capsule: 0 (vehicle) 5 10 20	MTD > 20	Vomiting (1-2 hrs postdose) and slight BW loss (100-200 g) in all groups including vehicle; salivation (1 F at 20 mg/kg via gavage), ↑ ALT (x4.6 in 1 F at 10 mg/kg via gavage; x1.5 in 1 F at 20 mg/kg via gavage). No consistent difference in exposure between gavage and capsule.	TOX10780/ 4.2.3.2.12
Dog/Beagle F/3 per group	Orally (capsule)	21 days	0 (vehicle) 5 10 20	MTD = 10	≥5 mg/kg/day: Vomiting and salivation (1-2 hrs postdose) ≥10 mg/kg/day: *All dogs*: ↓ FC (-6.25%). *Dog#107*: BW loss (500 g) and ↑ ALT (x3.77) 20 mg/kg/day: *All dogs*: ↓ FC (-9.34%) and BW loss (100-300 g). *Dog#110*: Clin.Obs: ataxia, tremors, decreased general activity (decubitus), salivation and abnormal biting prior to its sacrifice on Day 17; Hematology[c]: ↑ RBC (x1.33), ↑ HGB (x1.38), ↑ HCT (x1.32), ↑ WBC (x2.23), ↑ neutrophils (x3.05), ↑ monocytes (x3.64), ↓ eosinophils (13.33%); Clin.Chem[c]: ↑ sodium, ↑ cholesterol (x1.85), ↑ urea nitrogen (x2.37), ↑ ALT (x4.86), ↑ AST (x2.96), ↑ ALP (x6.04), ↑ bilirubin (x1.77); Histology: minimal splenic lymphoid atrophy and thymic cortical apoptosis (secondary to stress) . *Dog#111*: Clin.Chem[c]: ↑ cholesterol (x1.53), ↑ ALP (x3.17). *Dog#112*: Clin.Obs: tremors; Hematology[c]: ↑ RBC (x1.20), ↑ HGB (x1.21), ↑ HCT (x1.18), ↑ WBC (x1.08), ↑ neutrophils (x1.28); Clin.Chem[c]: ↑ cholesterol (x1.67), ↑ ALP (x3.57), ↑ ALT (x4.34); Histology: minimal splenic lymphoid atrophy and thymic cortical apoptosis (secondary to stress)	

Dose (mg/kg)	C_{max} (µg/mL)[b]		AUC_{0-72h} (µg·hr/mL)[b]	
	Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
5	1.93	0.631	73.8	30.4
10	2.39	0.914	80.6	46.7
20	8.02	2.32	325	111

Dose (mg/kg)	C_{max} (µg/mL)		AUC_{0-24h} (µg·hr/mL)	
	Apalutamide	M3	Apalutamide	M3
5	5.16	3.72	111	86.6
10	14.2	9.44	308	210
20	37.1	16.5	806	371

[a] Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)
[b] Since there was no consistent difference in exposure between gavage and capsule, only exposure parameters following capsule administration are shown.
[c] Changes versus predose
ALP = alkaline phosphatase; ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; BW = body weight; FC = food consumption; HCT = hematocrit; HGB = hemoglobin; RBC = red blood cells; WBC = white blood cells

(Continued)

2.6.7.6　D　反復投与毒性試験

重要な試験以外の試験（続き）

Report Title: JNJ-56021927-ZAH: A Single Dose Escalation Oral Toxicity Study in the Female Dog Followed by a 21-Day Repeat-Dose Toxicity Study **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain Sex/No. Per Group	**Route**[a]	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg/day)**	**MTD (mg/kg/day)**	**Noteworthy Findings**						**Study No./ Location in CTD**
Dog/Beagle	Orally	21 days	0 (vehicle)	MTD = 10	Dose	Brain (µg/mL)		Plasma (µg/mL)		Brain/Plasma ratio	TOX10780/
F/3 per group	(capsule)		5		(mg/kg)	Apalutamide	M3	Apalutamide	M3	Apalutamide	M3	4.2.3.2.12
			10		5	4.49	4.01	4.33	3.63	1.0	1.1	
			20		10	13.1	10.6	12.0	8.67	1.1	1.2	
					20	35.6	24.1	34.5	17.1	1.0	1.4	

[a] Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験

Report Title: A 28-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Gavage to Male Rats with a 14-Day Recovery Period **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain: Rat/Sprague Dawley Crl:CD(SD)
Initial Age: M: 7 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Duration of Dosing: 28 Days
Duration of Postdose: 14 Days
Method of Administration: Orally (gavage)
Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)
Study No. VUM00004
Location in CTD: 4.2.3.2.2
GLP Compliance: Yes

Special Features: The majority of the 250 mg/kg/day animals were found dead on Day 3. The surviving animals in this group were euthanized on Day 4.
No-Observed-Adverse-Effect-Level: 150 mg/kg/day[a]

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)		**0 (vehicle)**	**50**		**150**		**250**	
No. of Toxicokinetic Animals		M:3	M:9		M:9		M:9	
Died or Sacrificed Moribund		0	0		3		9	
Toxicokinetics:			C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·hr/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·hr/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·hr/mL)
Analyte	**Day**							
JNJ-56021927	**1**	-	8.37	138	23.3	430	41.7	688
	28	-	11.9	201	31.5	572	N/A	N/A
No. of Toxicity Animals		M:10(5 [c])	M:10		M:10(5 [c])		M:10(5 [c])	
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund		0	0		2		15	
Body Weight Changes (g) [b]								
Day 1 to 4		13 d	-		-		-19*	
Food Consumption		-	-		-		-	
Clinical Observation								
Piloerection		-	+		+		+	
Shallow Breathing		-	-		-		+	
Rapid Breathing		-	-		-		+	
Labored Breathing		-	-		-		+	
Rales		+	-		+		-	
Hypothermia		-	-		-		+	
Dehydration		-	-		-		+	
Decreased Activity		-	-		-		+	
Unkempt Appearance		+	-		+		+	

- = No noteworthy findings; + = Present
[a] Although the study report established the NOAEL at 50 mg/kg/day, a NOAEL of 150 mg/kg/day is considered more appropriate since mortalities at 150 mg/kg/day are unlikely to be treatment-related.
[b] For controls and treated groups, group means are shown. Statistical significance is based on actual data (d = Anova/Dunnett's Test * = P<0.05)
[c] No. of postdose animals
N/A = not available; high-dose animals were euthanized on Day 3 and Day 4.

(Continued)

Report Title: A 28-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Gavage to Male Rats with a 14-Day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	**0 (vehicle)**	**50**	**150**	**250**
No. of Animals	M:10(5)	M:10	M:10(5)	M:10(5)
Ophthalmoscopy	-	-	-	N/A
Functional Observational Battery	-	-	-	N/A
Hematology [# a]				N/A
Erythrocytes (10*6/cmm)	8.03 d	-	7.14*	
Hemoglobin (g/dL)	14.5 d	-	12.8*	
Hematocrit (%)	43.3 d	-	38.7*	
Reticulocytes (10*9/L)	182.5 k	-	288.4*	
Platelets (10*3/cmm)	1196 d	-	1710*	
Leukocytes (10*3/cmm)	8.58 d	-	13.19*	
Lymphocytes (10*3/cmm)	6.89 d	-	10.95*	
Monocytes (10*3/cmm)	0.28 d	-	0.36	
Basophils (10*3/cmm)	0.01 d	-	0.03*	
Coagulation [a]				N/A
Activated Partial Thromboplastin Time	17.1 d	-	21.3*	
Prothrombin Time (s)	16.7 k	-	20.9	
Clinical Chemistry [a]				N/A
Gamma-glutamyl transferase (IU/L)	0.00 k	-	0.84*	
Cholesterol (mg/dL)	40 d	-	126*	
Total protein (g/dL)	5.45 d	-	6.21*	
Albumin (g/dL)	3.09 d	-	3.42*	
Globulin (g/dL)	2.35 d	-	2.78*	
Urea Nitrogen (mg/dL)	13 k	-	17*	
Creatinine (mg/dL)	0.26 d	-	0.34*	
Calcium (mg/dL)	10.05 d	-	10.76*	
Phosphorus (mg/dL)	8.66 d	-	9.41*	
Urinalysis	-	-	-	N/A

- = No noteworthy findings.　[#] Assessment of blood smears indicated the presence of poikilocytosis, polychromasia, anisocytosis, and target cells at 150 mg/kg/day on Day 29 in a few animals.
[a] At the end of the dosing phase. For controls and treated groups, group means are shown. Statistical significance is based on actual data.
(d = Anova/Dunnett's Test * = P<0.05;　k = Kruskal-Wallis/Dunn's * = P<0.05)
N/A = not available; high-dose animals were euthanized on Day 3 and Day 4.

(Continued)

Report Title: A 28-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Gavage to Male Rats with a 14-Day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	**0 (vehicle)**	**50**	**150**	**250**
No. of Animals	M:10(5)	M:10	M:10(5)	M:10(5)
Gross Pathology Preterminal Animals [a]				
No. examined	N/A	N/A	2	15
Stomach, glandular – Foci dark			1	6
Stomach, nonglandular – Foci dark			-	2
Stomach – Distention			-	1
Histopathology Preterminal Animals (Day 3, 4 and 9) [a]				
No. examined	N/A	N/A	2	15
Stomach, glandular – Erosion			0	5
Minimal			-	1
Mild			-	3
Moderate			-	1
Stomach, nonglandular – Erosion/Ulceration			0	5
Mild			-	2
Moderate			-	3
Stomach, glandular – Hemorrhage			0	1
Mild			-	1
Spleen – Atrophy, lymphoid			1	8
Minimal			1	6
Mild			-	2
Organ Weights Main Phase (absolute) [b]				
No. examined	10	10	10	N/A
Liver (g)	11.35 d	10.2	48.2*	
Pituitary (g)	0.012 d	8.3	17.4	
Adrenals (g)	0.067 d	20.4	63.3*	
Salivary gland (g)	0.73 d	-18.5*	-19.6*	
Epididymides (g)	1.18 d	-34.0*	-51.0*	
Prostate (g)	1.02 k	-66.8*	-78.4*	
Seminal Vesicles (g)	1.37 k	-77.7*	-88.0*	
Thyroid (g) d	0.022 d	-	11.1	

- = No noteworthy findings; N/A = not available

[a] All rats receiving 250 mg/kg/day including those assigned to the recovery group died or were euthanized moribund on Day 3 or 4 and two rats receiving 150 mg/kg/day assigned to the recovery group died on Day 4 or on Day 9. These animals are referred to as preterminal animals. Stomach and spleen findings were restricted to the preterminal rats and other organs will be discussed along with the rest of the main phase animals (Histopathology Main Phase).

[b] At the end of the dosing phase. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent dfferences).

(d = Anova/Dunnett's Test * = P<0.05;　k = Kruskal-Wallis/Dunn's * = P<0.05)

(Continued)

2.6.7.7　A　反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 28-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Gavage to Male Rats with a 14-Day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	**0 (vehicle)**	**50**	**150**	**250**
No. of Animals	M:10(5)	M:10	M:10(5)	M:10(5)
Gross Pathology Main Phase				
No. of examined	10	10	10	N/A
Adrenal Gland – enlargement	0	1	8	
Liver – enlargement	0	0	9	
Epididymides – small	0	0	9	
Prostate – small	0	10	10	
Seminal Vesicle – small	0	10	10	
Testes – small and soft	0	0	1	

N/A = not applicable

(Continued)

2.6.7.7　A　反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 28-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Gavage to Male Rats with a 14-Day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	**0 (vehicle)**	**50**	**150**	**250**
No. of Animals	M:10(5)	M:10	M:10(5)	M:10(5)
Histopathology Main Phase				
No. examined	10	10	12	15
Adrenal Hypertrophy, cortical				
Minimal	0	1	4	4
Mild	0	-	3	1
Epididymides - Oligo/aspermia bilateral		NA		
Minimal	0		5	15
Mild	0		5	-
Moderate	0		1	-
Epididymides - Apoptosis, epithelial		NA		
Minimal	0		-	6
Mild	0		1	5
Epididymides		NA		
Granuloma, spermatic				
Moderate	0		1	-
Prostate - Atrophy				
Minimal	0	10	-	-
Mild	0	-	2	-
Moderate	0	-	8	-
Prostate - Apoptosis, acinar cell				
Minimal	0	-	-	4
Mild	0	-	1	3
Seminal Vesicles - Atrophy				
Minimal	0	3	-	-
Mild	0	7	1	-
Moderate	0	-	9	-
Seminal Vesicles - Apoptosis				
Minimal	0	-	-	1
Mild	0	-	-	4
Testes - Degeneration seminiferous epithelium		NA		
Moderate	0		1	-
Testes - Hyperplasia, interstitial cell		NA		
Minimal	0		6	-
Mild	0		3	-
Mammary Gland		NA		
Tubuloalveolar Morphology	1		10	3
Mammary Gland - Apoptosis		NA		
Minimal	0		-	1
Mild	0		-	3

- = No noteworthy findings　NA = not applicable

(Continued)

Report Title: A 28-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Gavage to Male Rats with a 14-Day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	**0 (vehicle)**	**50**	**150**	**250**
No. of Animals	M:10(5)	M:10	M:10(5)	M:10(5)
Histopathology Main Phase (Cont'd)				
No. examined	10	10	12	15
Pituitary - Hypertrophy		NA		
Minimal	0		2	-
Liver - Hypertrophy, hepatocellular,		NA		
Minimal	0		7	5
Mild	0		-	3
Liver – Mitotic Activity, increased		NA		
Minimal	0		1	7
Mild	0		-	3
Thyroid Gland - Hypertrophy, follicular cell		NA		
Minimal	0		3	-
Mild	0		2	-
Spleen - Hematopoiesis, extramedullary, increased		NA		
Minimal	0		4	5
Bone Marrow - Hypercellularity, hematopoietic		NA		
Minimal	0		4	4

- = No noteworthy findings　NA = not applicable　(Continued)

2.6.7.7　A　反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 28-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Gavage to Male Rats with a 14-Day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

RECOVERY PERIOD

Daily Dose During the Dosing Period (mg/kg)	**0 (vehicle)**	**50**	**150**	**250**
No. of Animals	M:5	M:0	M:3	M:0
Clinical Chemistry [a]				
Gamma-glutamyl transferase (IU/L)	0.00 d		0.26*	
Albumin (g/dL)	2.70 d		3.06*	
Urea Nitrogen (mg/dL)	15 d		19*	
Histopathology				
Testes - Degeneration seminiferous tubules				
Moderate	0		1	
Testes - Hyperplasia, interstitial cell				
Minimal	0		1	
Epididymides - Oligo/Aspermia, bilateral				
Mild	0		1	
Bone Marrow - Hypercellularity, hematopoietic				
Minimal	0		1	

[a] For controls and treated groups, group means are shown. Statistical significance is based on actual data. (d = Anova/Dunnett's Test * = P<0.05)

2.6.7.7 B 反復投与毒性試験

Report Title: A 13-week Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of ARN-509 in Male Rats with a 30-day Recovery Period **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain: Sprague Dawley Crl:CD(SD) rats
Age at First Dose: M: ~ 7 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/day
Duration of Dosing: 91 days
Duration of Postdose Recovery: 30 days
Route: Orally (gavage)
Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)
Study No.: TX-509-1001
Location in CTD: 4.2.3.2.3
GLP Compliance: Yes

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)		25		50		100	
No. of Toxicokinetic Animals		M:3		M:9		M:9		M:9	
Total Mortality		0		1		1		1	
Test Article-Related Mortality		0		0		0		0	
Toxicokinetics:									
				C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)
Analyte	**Day**								
JNJ-56021927	**1**	-	-	4.12	67.9	7.49	128	15.5	272
	28	-	-	4.76	84.5	9.79	168	20.2	341
	91	-	-	7.48	136	11.9	240	30.1	521
JNJ-56142060 (M3)	**1**	-	-	0.152	2.37	0.252	4.07	0.554	9.68
	28	-	-	0.191	3.28	0.324	5.76	0.740	13.7
	91	-	-	0.200	3.86	0.413	8.57	1.49	28.5
JNJ-56142021 (M4)	**1**	-	-	0.315	6.37	0.629	11.7	1.79	28.4
	28	-	-	0.460	8.75	0.901	17.7	1.83	34.2
	91	-	-	0.482	10.5	0.962	21.6	2.48	52.4

No. of Toxicity Animals	M:15(5)	M:15	M:15(5)	M:15(5)
Noteworthy Findings				
Total Mortality	0	0	1	1
Test Article-Related Mortality	0	0	0	0
Body Weight[a] (g)	572	-	-	-5.5
Food Consumption	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-

Note: The mid-dose level of 50 mg/kg/day was spiked with 2% of 不純物F* and 不純物G*. 不純物F* and 不純物G* are degradation products that have only been observed in the liquid filled capsule development formulation.
- = No noteworthy findings; ( ) = No. of animals at recovery period
[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

Report Title: A 13-week Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of ARN-509 in Male Rats with a 30-day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD				
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**50**	**100**
No. of Animals	M:15(5)	M:15	M:15(5)	M:15(5)
Hematology/Coagulation[a]				
Erythrocytes (10*6/cmm)	8.67d	-6.6*	-11.3*	-15.4*
Hemoglobin (g/dL)	14.8d	-5.7*	-9.0*	-11.5*
Hematocrit (%)	44.9d	-5.1*	-7.9*	-11.2*
Reticulocytes (10*9/L)	169.5d	18.6	45.6*	68.0*
Red cell distribution width (%)	13.8k	2.7	10.8*	15.6*
Mean corpuscular volume (fL)	51.7d	-	3.9*	5.1*
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	17.1d	-	-	4.6*
Platelets (10*3/cmm)	1095k	6.7	24.2*	52.3*
Fibrinogen (mg/dL)	270d	14.6*	20.3*	38.5*
Leukocytes (10*3/cmm)	9.04d	9.0	12.7	35.5*
Lymphocytes (10*3/cmm)	7.05d	14.4	21.4	45.4*
Clinical Chemistry[a]				
Alkaline phosphatase (IU/L)	58d	25.9	44.0*	93.7*
Cholesterol (mg/dL)	55d	77.3*	143.6*	182.9*
Total protein (g/dL)	5.53d	2.5	6.8*	12.2*
Albumin (g/dL)	2.90d	2.5	7.2*	10.3*
Globulin (g/dL)	2.63d	2.5	6.3*	14.2*
Creatinine (mg/dL)	0.28d	15.9*	21.7*	34.2*
High-density lipoprotein (mg/dL)	20d	48.2*	65.9*	77.7*
Low-density lipoprotein (mg/dL)	3.3k	87.8*	234.5*	308.9*
Urinalysis	-	-	-	-
***Ex-vivo* Hepatic Enzyme Analysis**[t]				
CYP 1A (pmol/mg/min)	52.29	116.7*	107.4*	111.6*

- = No noteworthy findings

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). (d = Anova/Dunnett's Test * = P<0.05; k = Kruskal-Wallis/Dunn's * = P<0.05, t = Student's t-Test * = P<0.05)

(Continued)

2.6.7.7　B　反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 13-week Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of ARN-509 in Male Rats with a 30-day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD				
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**50**	**100**
No. of Animals	M:15(5)	M:15	M:15(5)	M:15(5)
Organ Weights (g)(absolute)[a]				
Number Examined	15	15	14	14
Prostate	1.13k	-70.4*	-84.0*	-82.6*
Epididymides	1.40d	-31.0*	-41.6*	-47.2*
Testes	3.61k	-	-	12.5
Adrenal gland	0.057d	-	27.7*	43.4*
Pituitary gland	0.013d	23.6*	24.2*	38.5*
Thymus	0.291d	35.4*	23.2	27.6*
Liver	14.72d	6.4	12.1	28.2*
Spleen	0.76d	-	30.7*	45.8*
Gross Pathology				
Number Examined	15	15	14	14
Small Prostate	0	9	14	13
Small Seminal vesicle	0	9	14	14
Histopathology				
Number Examined	15[b]	15	14[c]	14[d]
Prostate – Atrophy				
Minimal	0	6	4	3
Mild	0	5	5	9
Moderate	0	3	5	2
Epididymides – Atrophy				
Minimal	0	-	11	11
Mild	0	-	3	3
Seminal Vesicles – Atrophy				
Minimal	0	4	0	2
Mild	0	7	9	7
Moderate	0	4	4	5
Testes – Hyperplasia, interstitial cell				
Minimal	0	9	6	12
Adrenal gland – Hypertrophy, cortical				
Minimal	4	-	11	12
Mild	1	-	0	0
Pituitary gland – Hypertrophy				
Minimal	0	7	8	6
Mild	0	1	6	8

- = No noteworthy findings

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). (d = Anova/Dunnett's Test * = P<0.05; k = Kruskal-Wallis/Dunn's * = P<0.05)

[b] Number examined for mammary gland is 14.

[c] Number examined for seminal vesicles and mammary gland is 13.

[d] Number examined for mammary gland is 10.

(Continued)

2.6.7.7　B　反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 13-week Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of ARN-509 in Male Rats with a 30-day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD				
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**50**	**100**
No. of Animals	M:15(5)	M:15	M:15(5)	M:15(5)
Histopathology (Continued)				
Number Examined	15[b]	15	14[c]	14[d]
Spleen – Extramedullary Hematopoiesis, incresed				
Minimal	10	-	9	8
Mild	0	-	3	3
Bone marrow – Hypercellularity, Femur	0	-	-	3
Bone marrow – Hypercellularity, Sternum	1	-	-	6
Mammary gland – Tubuloalveolar morphology	0	14	13	10
RECOVERY PERIOD				
No. of Animals in Recovery Period	M:5	M:0	M:5	M:5
Noteworthy Findings During Recovery				
Died or Sacrificed Moribund	0		0	0
Organ Weights (g) (absolute) [a]				
Prostate	1.30 d		-36.3*	-27.3
Epididymides	1.50 d		-16.1*	-13.7*
Gross Pathology	-		-	-
Histopathology				
Number Examined	5		5	5
Pituitary gland – Hypertrophy				
Minimal	0		4	4
Mild	0		1	1

- = No noteworthy findings

[a] At end of recovery period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)（d = Anova/Dunnett-Test * = P<0.05）

[b] Number examined for mammary gland is 14.

[c] Number examined for seminal vesicles and mammary gland is 13.

[d] Number examined for mammary gland is 10.

2.6.7.7 C 反復投与毒性試験

Report Title: A 26-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927-ZAH by Oral Gavage Administration in Male Rats **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain: Sprague Dawley Crl:CD(SD) rats
Age at First Dose: M 8 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: 25 mg/kg/day

Duration of Dosing: 26 weeks
Duration of Postdose Recovery: None
Route: Orally (gavage)
Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)

Study No.: TOX10838
Location in CTD: 4.2.3.2.4
GLP Compliance: Yes

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Vehicle)**		**25**		**75**		**150**	
No. of Toxicokinetic Animals		M: 4		M: 8		M: 8		M: 8	
Total Mortality		0		1		0		2	
Test Article-Related Mortality		0		0		0		0	
Toxicokinetics:									
		$C_{predose}$ (µg/mL)		$C_{predose}$ (µg/mL)		$C_{predose}$ (µg/mL)		$C_{predose}$ (µg/mL)	
Analyte	**Day**								
JNJ-56021927	**28**	-		2.19		6.07		10.3	
	91	-		3.43		7.88		13.2	
JNJ-56142060 (M3)	**28**	-		0.0709		0.300		0.553	
	91	-		0.114		0.443		0.826	
		C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)
Analyte	**Day**								
JNJ-56021927	**182**	-	-	7.20	135	20.4	389	27.7	508
JNJ-56142060 (M3)	**182**	-	-	0.228	4.58	1.10	20.6	1.40	27.7
No. of Toxicity Animals		M: 20		M: 20		M: 20		M: 20	
Noteworthy Findings									
Total Mortality		0		0		3		0	
Test Article-Related Mortality		0		0		0		0	
Body Weight (g)[a]		728.6		0.94x		0.90x*		0.90x**	
Body Weight Gain (g)[a]		482.2		0.92x		0.85x**		0.85x**	
Food Consumption		-		-		-		-	
Clinical Observations		-		-		-		-	

- = No noteworthy findings
[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline).
Dunnett * - p≤0.05, ** - p≤0.01

(Continued)

2.6.7.7　C　反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 26-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927-ZAH by Oral Gavage Administration in Male Rats　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD				
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**75**	**150**
No. of Animals	M: 20	M: 20	M: 20	M: 20
Ophthalmoscopy	-	-	-	-
Hematology/Coagulation[a]				
Erythrocytes (10^6/μL)	8.43	0.91x*	0.80x***	0.79x***
Hemoglobin (g/dL)	14.5	0.92x***	0.83x***	0.83x***
Hematocrit (%)	43.1	0.93x***	0.83x***	0.83x***
Reticulocytes (10^9/L)	129.8	1.30x*	1.79x***	1.94x***
Red cell distribution width (%)	14.3	1.07x	1.18x***	1.18x***
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	17.2	-	1.04x**	1.06x***
Mean corpuscular volume (fL[μm^3])	51.2	-	1.04x*	1.06x***
Platelets (10^3/μL)	1121	1.15x**	1.50x***	1.50x***
Fibrogen (mg/dL)	291	1.12x*	1.31x***	1.38x***
Leukocytes (10^3/μL)	7.50	1.08x	1.26x*	1.29x**
Lymphocytes (10^3/μL)	5.91	1.14x	1.39x**	1.40x***
Clinical Chemistry[a]				
Alkaline Phosphatase (U/L)	50	1.34x**	1.90x***	1.88x***
Cholesterol (mg/dL)	61	1.75x*	2.89x***	3.28x***
Creatinine (mg/dL)	0.3	1.33x***	1.67x***	1.67x***
Total protein (g/dL)	5.6	-	1.07x***	1.14x***
Albumin (g/dL)	2.8	-	1.07x***	1.14x***
Globulin (g/dL)	2.8	-	1.07x**	1.14x***
Blood urea nitrogen (mg/dL)	10	1.30x*	1.40x***	1.60x***
Urinalysis[a]	-	-	-	-
Organ Weights (g)[a,b]				
Epididymides	1.477	0.65x***	0.52x***	0.47x***
Prostate gland	1.230	0.24x**	0.13x***	0.12x***
Adrenal gland	0.0534	1.17x	1.45x***	1.60x***
Pituitary gland	0.0152	1.11x	1.56x***	1.50x***
Spleen	0.904	-	1.39x***	1.44x***
Liver	17.241	-	1.26x***	1.33x***
Thymus	0.144	-	-	1.46x***

- = No noteworthy findings

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline).

[b] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates multiple of control for the absolute organ weights.

Dunn/Dunnett * - p≤0.05, ** - p≤0.01, *** - p≤0.001

(Continued)

Report Title: A 26-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927-ZAH by Oral Gavage Administration in Male Rats　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**75**	**150**
No. of Animals	M: 20	M: 20	M: 20	M: 20
Gross Pathology[a]				
Seminal vesicle gland – small	0	14	18	19
Epididymides – small	0	6	9	11
Prostate gland – small	0	17	19	20
Testes – small	0	0	1	4
Testes – enlargement	0	0	2	1
Testes – discoloration; dark	0	1	2	6
Histopathology[a]				
Prostate – atrophy				
Minimal	0	14	5	1
Mild	0	6	9	10
Moderate	0	0	4	7
Severe	0	0	2	2
Seminal vesicle – atrophy				
Minimal	0	15	7	0
Mild	0	4	7	13
Moderate	0	0	5	5
Severe	0	0	1	2
Epididymis – atrophy				
Minimal	0	1	2	9
Mild	0	1	2	5
Moderate	0	0	1	2
Severe	0	0	0	3
Testes – degeneration, seminiferous tubules				
Minimal	0	16	11	11
Mild	0	0	0	3
Moderate	0	0	4	2
Severe	0	1	1	4
Testes – interstitial cell hyperplasia				
Minimal	0	3	7	11
Mild	0	2	2	2
Moderate	0	0	1	4
Severe	0	0	2	1
Testes – interstitial cell adenoma	0	0	1	1

[a] Including early mortalities

(Continued)

2.6.7.7　C　反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 26-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927-ZAH by Oral Gavage Administration in Male Rats　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**75**	**150**
No. of Animals	M: 20	M: 20	M: 20	M: 20
Histopathology[a] (Continued)				
Mammary glands – tubuloalveolar morphology	0	18	19	17
Pituitary glands – hypertrophy				
Minimal	0	5	0	0
Mild	0	12	4	2
Moderate	0	2	15	17
Severe	0	0	0	1
Bone marrow (femur) – hypercellularity				
Minimal	0	3	19	18
Adrenal glands – cortical hypertrophy				
Minimal	0	2	8	15
Liver – hepatocellular hypertrophy				
Minimal	0	0	1	4
Thymus – atrophy				
Minimal	7	10	6	12
Mild	11	9	11	4
Moderate	2	1	0	0

[a] Including early mortalities

2.6.7.7 D 反復投与毒性試験

Report Title: A 26-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927 by Oral Gavage Administration in Female Rats with a 2-Month Recovery Period

Test Article: JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain: Rats/Sprague Dawley
Age at First Dose: F 8 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: < 25 mg/kg/day

Duration of Dosing: 26 weeks
Duration of Postdose Recovery: 2 months
Route: Orally (gavage)
Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)

Study No.: TOX10897
Location in CTD: 4.2.3.2.6
GLP Compliance: Yes

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)		25		50		100		150	
No. of Toxicokinetic Animals		F: 4		F: 6		F: 6		F: 6		F: 6	
Total Mortality		0		0		1		0		2	
Test Article-Related Mortality		0		0		0		0		0	
Toxicokinetics:											
		C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)
Analyte	Day										
JNJ-56021927	182	-	-	13.4	282	32.3	566	43.3	834	42.3	785
JNJ-56142060 (M3)	182	-	-	0.250	4.88	0.702	14.5	1.79	31.3	1.57	29.0

No. of Toxicity Animals	F: 20(5)	F: 20	F: 20	F: 20(5)	F: 20(5)
Noteworthy Findings					
Total Mortality	1	3	1	1	5
Test Article-Related Mortality	0	0	0	0	1
Body Weight (g)[a]	379.33		1.05x	1.02x	0.99x
Body Weight Gain (g)[b]	194.5		214.3	203.6	192.9
Food Consumption (g/day)	18.35		1.10x*	1.12x**	1.38x***
Clinical Observations	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-

- = No noteworthy findings; ( ) = No. of animals at recovery period
[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control calculated to 2 decimal places are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline).
[b] At the end of dosing period. Actual mean values are shown.
Dunnett: * - p≤0.05, ** - p≤0.01, *** - p≤0.001

(Continued)

Report Title: A 26-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927 by Oral Gavage Administration in Female Rats with a 2-Month Recovery Period

Test Article: JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**50**	**100**	**150**
No. of Animals	F: 20(5)	F: 20	F: 20	F: 20(5)	F: 20(5)
Hematology [a,b]					
Erythrocytes (10^6/μL)	7.60	0.92x	0.86x***	0.78x***	0.77x***
Hemoglobin (g/dL)	14.41	0.93x**	0.88x***	0.82x***	0.80x***
Hematocrit (%)	41.74	0.92x***	0.88x***	0.82x***	0.81x***
Reticulocytes (10^9/L)	130.39	-	1.20x	1.63x***	1.77x***
Red cell distribution width (%)	13.39	-	-	1.10x***	1.11x***
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	18.94	-	-	1.06x**	1.05x*
Mean corpuscular volume (fL[μm^3])	54.95	-	-	1.06x***	1.05x**
Platelets (10^3/μL)	1146.40	-	1.16x**	1.43x***	1.42x***
Leukocytes (10^3/μL)	4.67	1.21x	1.18x	1.29x	1.37x
Lymphocytes (10^3/μL)	3.62	1.18x	1.20x	1.33x	1.39x
Monocytes (10^3/μL)	0.20	-	-	1.32x	1.35x
Large unstained cells (10^3/μL)	0.05	2.00x*	2.21x**	2.34x***	2.49x***
Coagulation [a]					
Fibrogen (mg/dL)	206.71	-	-	1.23x***	1.22x***
Prothrombin Time (sec)	16.40	-	0.93x***	0.93x***	0.91x***
Clinical Chemistry [a, b]					
Alkaline Phosphatase (U/L)	22.32	-	1.35x	1.41x*	1.42x*
Cholesterol (mg/dL)	82.47	1.79x***	2.29x***	2.85x***	2.56x***
Triglycerides (mg/dL)	81.53	-	1.81x**	2.14x**	2.24x***
Total protein (g/dL)	6.15	1.12x***	1.13x***	1.18x***	1.16x***
Albumin (g/dL)	3.55	1.11x***	1.09x***	1.08x**	1.09x**
Globulin (g/dL)	2.59	1.13x***	1.19x***	1.31x***	1.27x***
Blood urea nitrogen (mg/dL)	11.74	-	-	1.29x***	-
Creatinine (mg/dL)	0.39	-	-	1.21x***	-
Urinalysis	-	-	-	-	-

- = No noteworthy findings

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control calculated to 2 decimal places are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline).

[b] At the interim collection (Day 88/89), a test article-related increase in neutrophils and glucose was observed that was not observed on Day 183/184.

Dunn/Dunnett: * - $p \leq 0.05$, ** - $p \leq 0.01$, *** - $p \leq 0.001$

(Continued)

2.6.7.7 D 反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 26-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927 by Oral Gavage Administration in Female Rats with a 2-Month Recovery Period

Test Article: JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD					
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**50**	**100**	**150**
Organ Weights[a,b]					
No. of Animals	19	17	19	19	16
Adrenal gland (g)	0.0654	1.32x**	1.60x***	1.90x***	2.01x***
Pituitary gland (g)	0.0212	-	1.40x**	1.40x**	1.61x***
Heart (g)	1.090	-	1.18x***	1.23x***	1.20x***
Kidney (g)	2.041	-	1.17x***	1.18x***	1.17x**
Liver (g)	9.094	1.19x**	1.47x***	1.81x***	1.75x***
Spleen (g)	0.614	-	-	1.39x***	1.28x**
Uterus (g)	0.790	1.48x***	1.51x***	1.44x***	-
Gross Pathology					
Early Death Animals					
No. of Animals	1	3	1	1	5
Adrenal gland – Enlargement	0	0	0	0	2
Terminal Euthansia					
No. of Animals	19	17	19	19	16
Ovary – Focus pale	0	0	0	4	2
Ovary – Mass	0	1	0	3	4
Mammary gland – Thick	0	1	1	2	2
Mammary gland – Nodule	0	1	1	1	3
Adrenal gland – Enlargement	0	1	0	2	4
Pituitary gland – Enlargement, focus, mass	0	3	2	6	5
Liver – Enlargement	0	0	1	1	1
Histopathology					
Early Death Animals					
No. of Animals	1	3	1	1	5
Adrenal gland – Hypertrophy, cortex					
Minimal	0	0	1	0	0
Mild	0	1	0	1	1
Moderate	0	1	0	0	4

- = No noteworthy findings

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control calculated to 2 decimal places are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline).

[b] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates multiple of control for the absolute organ weights.

Dunn/Dunnett: * - $p \leq 0.05$, ** - $p \leq 0.01$, *** - $p \leq 0.001$

(Continued)

2.6.7.7 D 反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 26-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927 by Oral Gavage Administration in Female Rats with a 2-Month Recovery Period

Test Article: JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**50**	**100**	**150**
Histopathology (Continued)					
Early Death Animals					
No. of Animals	1	3	1	1	5
Mammary Gland – Dilatation, alveolus/duct					
Minimal	0	0	0	0	1
Mammary Gland – Hypertrophy, glandular epithelium					
Minimal	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	1
Thyroid Gland – Hyperplasia, follicular cell					
Minimal	0	0	0	[a]	1
Mild	0	0	0	[a]	1
Liver – Hypertrophy, hepatocellular, centrilobular					
Minimal	0	0	0	0	2
Spleen – Increased hematopoiesis					
Minimal	0	0	0	0	1
Mild	0	1	0	0	2
Ovary – Hyperplasia, interstitial cell					
Minimal	0	0	0	0	2
Mild	0	0	0	1	0
Ovary – Corpora lutea absent	0	0	0	0	1
Terminal Euthansia					
Neoplasms					
No. of Animals	19	17	19	19	16
Ovary – Thecoma, benign	0	0	1	6	7
Ovary – Thecoma, malignant	0	0	0	3	2
Ovary – Granulosa cell tumor, benign	0	0	0	2	0
Ovary – Granulosa cell tumor, malignant	0	1	0	0	0
Total Ovarian Neoplasma	0	1	1	11	9

[a] Not examined

(Continued)

2.6.7.7　D　反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 26-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927 by Oral Gavage Administration in Female Rats with a 2-Month Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**50**	**100**	**150**
Histopathology (Continued)					
Non-Neoplastic					
No. of Animals	19	17	19	19	16
Adrenal Gland – Hypertrophy, cortex					
Minimal	0	4	4	1	4
Mild	0	3	9	9	5
Moderate	0	0	4	8	6
Mammary Gland – Dilatation, alveolus/duct					
Minimal	0	8	7	5	1
Mild	0	4	6	10	6
Moderate	0	1	3	0	3
Marked	0	0	0	1	2
Mammary Gland – Galactocele	0	2	3	5	4
Mammary Gland – Hypertrophy, glandular epithelium					
Minimal	0	1	1	4	2
Mild	0	1	4	8	10
Mammary Gland – Vacuolation, glandular epithelium					
Minimal	0	5	4	2	2
Mild	0	4	7	10	10
Pituitary Gland – Hyperplasia					
Minimal	0	8	11	8	0
Mild	0	0	2	7	5
Moderate	0	0	0	3	0
Marked	0	0	2	0	1
Thyroid Gland – Hyperplasia, follicular cell					
Minimal	0	1[a]	3	8	3
Mild	0	0	2	0	3
Liver – Hypertrophy, hepatocellular, centrilobular					
Minimal	0	3	3	1	3
Mild	0	2	10	10	7
Moderate	0	0	5	8	3
Marked	0	0	0	0	1

[a] This finding was included in the pathology report and tables at 25 mg/kg/day, but was not retained as test article related.

(Continued)

Report Title: A 26-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927 by Oral Gavage Administration in Female Rats with a 2-Month Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**50**	**100**	**150**
Histopathology (Continued)					
Non-Neoplastic					
No. of Animals	19	17	19	19	16
Spleen – Increased hematopoiesis					
Minimal	0	5	10	7	5
Mild	0	0	3	9	5
Ovary – Hyperplasia, interstitial cell					
Minimal	0	2	3	0	2
Mild	0	2	8	14	8
Moderate	0	0	0	2	1
Ovary – Corpora lutea absent	1	9	15	9	14
Uterus – Hypertrophy, wall					
Minimal	1	6	5	6	4
Mild	2	4	5	6	5

(Continued)

2.6.7.7 D 反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 26-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927 by Oral Gavage Administration in Female Rats with a 2-Month Recovery Period

Test Article: JNJ-56021927-ZAH

RECOVERY PERIOD					
Daily Dose During Dosing Period (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**50**	**100**	**150**
No. of Animals	F: 5	F: 0	F: 0	F: 5	F: 4[a]
Noteworthy Findings					
Body Weight (g)[b]	451.00			1.05x	0.94x
Body Weight Gain (g)[c]	49.6			85.6*	55.3
Food Consumption (g/day)[b]	22.91			1.07x	1.13x
Hematology[b]					
Neutrophils (10^3/μL)	0.48			2.47x*	1.66x
Clinical Chemistry[b]					
Total protein (g/dL)	6.32			-	1.09x
Globulin (g/dL)	2.98			-	1.12x
Organ Weights[b,d]					
Adrenal gland (g)	0.0760			-	1.42x
Pituitary gland (g)	0.0251			-	1.22x
Thyroid gland (g)	0.0247			-	1.28x
Heart (g)	1.134			1.25x*	1.23x
Kidney (g)	2.357			-	1.17x
Liver (g)	9.678			1.36x*	1.25x
Spleen (g)	0.605			1.36x*	-
Thymus (g)	0.112			0.86x	0.84x
Uterus (g)	0.707			-	1.53x*
Gross Pathology					
Ovary – Mass	0			4	1
Pituitary gland – Enlargement	0			1	2
Thymus – Small	1			2	1
Histopathology					
Neoplasms					
Ovary – Thecoma, benign	0			1	1
Ovary – Granulosa cell tumor, benign	0			3	2

[a] One animal assigned to the recovery period was euthanized moribund on Day 89.
[b] At end of recovery period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control calculated to 2 decimal places are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control).
[c] At end of recovery period. Actual mean values are shown.
[d] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates multiple of control for the absolute organ weights.
Dunn/Dunnett: * - $p \leq 0.05$, ** - $p \leq 0.01$, *** - $p \leq 0.001$

(Continued)

Report Title: A 26-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927 by Oral Gavage Administration in Female Rats with a 2-Month Recovery Period

Test Article: JNJ-56021927-ZAH

RECOVERY PERIOD

Daily Dose During Dosing Period (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**50**	**100**	**150**
No. of Animals	F: 5	F: 0	F: 0	F: 5	F: 4[a]
Noteworthy Findings					
Histopathology (Continued)					
Non-Neoplastic					
Adrenal gland – Hypertrophy, cortex					
Minimal	0			1	1
Mammary gland – Dilatation, alveolus/duct					
Minimal	1			1	2
Mild	1			1	0
Moderate	0			0	1
Mammary gland – Galactocele	0			0	1
Mammary gland – Hypertrophy, glandular epithelium					
Mild	1			0	2
Mammary gland – Vacuolation, glandular epithelium					
Minimal	0			1	0
Mild	2			1	3
Pituitary gland – Hyperplasia					
Minimal	0			1	2
Thyroid gland – Hyperplasia, follicular cell					
Minimal	0			1	1
Mild	0			1	0
Thymus – Lymphoid, depletion					
Minimal	1			0	0
Moderate	0			2	0
Marked	0			0	1
Uterus – Hypertorphy, wall					
Minimal	1			0	2
Mild	0			1	0
Ovary – Hyperplasia, interstitial cell					
Minimal	0			1	1

[a] One animal assigned to the recovery period was euthanized moribund on Day 89.

2.6.7.7 E 反復投与毒性試験

Report Title: A 28-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Capsule to Male Dogs with a 28-Day Recovery Period **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain: Dog/Beagle
Initial Age: M: 6 months
Date of First Dose: [redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: 10 mg/kg/day

Duration of Dosing: 28 days
Duration of Postdose: 28 days
Method of Administration: Orally (capsule)
Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)

Study No.: VUM00005 and DR-[redacted]-008-DSD
Location in CTD: 4.2.3.2.8 and 4.2.3.2.9
GLP Compliance: Yes

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Vehicle)**	**5**		**10**		**25**	
Number of Animals		M:5(3)	M:5		M:5(3)		M:5(3)	
Toxicokinetics:			C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·hr/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·hr/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·hr/mL)
Analyte	**Day**							
JNJ-56021927	**1**	-	1.26	21.0	2.68	47.4	6.77	127
	28	-	5.97	116	13.2	290	N/A	N/A
JNJ-56142060 (M3)	**28**	-	4.35	96.5	7.69	172	N/A	N/A
Noteworthy Findings								
Sacrificed Moribund		0	0		0		3 [a]	
Body Weight Change (g) [c]								
Days 6-7		101	-		-		-55*	
Days 8-9		-22	-		-		-188*	
Food Consumption		-	-		-		-	
Clinical Observations								
Convulsions		-	-		-		+	
Decreased activity		-	-		-		+	
Intermittent tremors		-	-		-		+	
Ophthalmology		-	-		-		-	
Electrocardiography and blood pressure		-	-		-		-	
Hematology		-	-		-		-	
Coagulation		-	-		-		-	
Clinical Chemistry [b, c]								
Cholesterol (mg/dL)		150	+44.1*		+50.0*		-	
Urinalysis		-	-		-		-	
Gross Pathology		-	-		-		-	
Number Examined		5	5		5		2	
Prostate - small		0	1		2		2	
Epididymides - small		0	-		1		2	
Testes - small		0	-		1		2	

N/A = not available. High-dose animals were placed on a dosing holiday beginning on Day 9. The mean apalutamide concentration at the time of first observation of CNS toxicity was 30.2 µg/mL (n=3).
( ) = No. of animals at recovery period

(Continued)

Report Title: A 28-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Capsule to Male Dogs with a 28-Day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)	5	10	25
Number of Animals	M:5(3)	M:5	M:5	M:5(3)
Organ Weights (absolute) [b, c]				
Number Examined	5	5	5	2
Prostate (g)	2.05	-56.1*	-57.6*	-67.5*
Epididymides (g)	1.95	-43.1*	-49.8*	-51.4*
Testes (g)	9.51	-	-38.2	-52.1
Histopathology				
Number Examined	5	5	5	5 [d]
Prostate - Partial glandular development				
Minimal	1	-	-	-
Mild	0	-	-	2
Moderate	0	4	5	3
Epididymis - Apoptosis				
Mild	0	-	-	1 [f]
Epididymis - Atrophy				
Minimal	0	-	-	2
Mild	0	-	1	3
Moderate	0	-	4	-
Epididymis - Oligo/Aspermia				
Moderate	3	1	-	-
Severe	1	4	5	5
Testes - Hypo/Aspermatogenesis				
Minimal	3	2	1	-
Mild	2	2	1	1
Moderate	0	-	3	4
Heart - Vascular/perivascular inflammation				
Minimal	0	-	-	2 [e]

(Continued)

2.6.7.7　E　反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 28-Day Toxicity Study of ARN-509 Administered by Oral Capsule to Male Dogs with a 28-Day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

RECOVERY PERIOD

Daily Dose During Dosing Period (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**5**	**10**	**25**
Number of Animals	M:3	M:0	M:3	M:3
Noteworthy Findings				
Gross Pathology				
Number Examined	3		3	3
Prostate - small	0		1	-
Organ Weights (absolute) [b, c]				
Number Examined	3		3	3
Prostate (g)	1.94		+14.4	+56.5
Epididymides (g)	2.26		-25.1	-11.1
Testes (g)	12.97		-23.9	-18.6
Histopathology				
Number Examined	3		3	3
Epididymis - Oligo/Aspermia				
Mild	1		1	1
Severe	0		1	2
Testes - Hypo/Aspermatogenesis				
Minimal	1		1	3
Mild	0		1	-

[a] Early euthanasia of three 25 mg/kg/day animals occurred which resulted in the remaining animals of this group being placed on a dosing holiday beginning on Day 9 and continuing throughout their remaining days on study. The remaining animals continued to receive clinical observations, body weight, and food consumption measurements. Two animals had terminal procedures conducted on Day 29 (toxicity phase) and three animals had terminal procedures conducted on Day 57 (recovery phase).
[b] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[c] Anova/Dunnett's Test * = P<0.05
[d] Includes preterminal animals
[e] These lesions were noted in the dogs that were euthanized moribund due to neurological symptoms (seizures).
[f] Preterminal dog

- = No noteworthy findings; + = Present

2.6.7.7 F 反復投与毒性試験

Report Title: A 13-Week Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of ARN-509 in Male Dogs with a 60-day Recovery Period **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain: Dog/Beagle
Age at First Dose: M ~ 6 months
Date of First Dose: [redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: 5 mg/kg/day
Duration of Dosing: 91 days
Duration of Postdose Recovery: 60 days
Route: Orally (capsule)
Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)
Study No.: TX-509-1002
Location in CTD: 4.2.3.2.10
GLP Compliance: Yes

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Vehicle)**		**2.5**		**5.0**		**10**	
No. of Animals		M:5(3)		M:5		M:5(3)		M:5(3)	
Toxicokinetics:									
				C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)
Analyte	**Day**								
JNJ-56021927	**1**	-	-	0.558	10.6	1.56	31.9	2.85	56.2
	28	-	-	2.85	64.6	7.60	168	15.2	343
	91	-	-	3.78	84.2	10.3	202	19.6	419
JNJ-56142060 (M3)	**1**	-	-	0.127	1.51	0.459	5.77	0.588	8.01
	28	-	-	2.63	57.3	4.78	108	7.78	175
	91	-	-	2.55	57.4	4.63	100	8.93	196
JNJ-56142021 (M4)	**1**	-	-	0.0223	0.310	0.0818	1.18	0.134	2.32
	28	-	-	0.451	6.81	0.873	15.1	2.15	35.3
	91	-	-	0.469	7.44	1.22	17.9	2.85	45.6

Noteworthy Findings				
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Body Weight (g)[a,b]	8902	-	-	-5.9
Body Weight Gain from Day -1 to Day 91 (g)	1401	-	-	-31
Food Consumption	-	-	-	↓
Clinical Observations	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-
Clinical Chemistry [a,b]				
Cholesterol (mg/dL)	173	+8.6	+30.8*	+44.8*
HDL (mg/dL)	132	+10.3	+22.3*	+30.9*

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[b] Anova/Dunnett's Test * = P<0.05
- = No noteworthy findings; ( ) = No. of animals at recovery period

(Continued)

Report Title: A 13-Week Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of ARN-509 in Male Dogs with a 60-day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**2.5**	**5.0**	**10**
No. of Animals	M:5(3)	M:5	M:5(3)	M:5(3)
Urinalysis	-	-	-	-
Additional Examinations				
Testosterone (ng/dL) [a]	250.38	211.00	170.25	88.50
***Ex-vivo* Hepatic Enzyme Analysis** [e]				
CYP 2B (pmol/mg/min)	16.22	22.86*	26.32*	37.30*
Gross Pathology				
Number Examined	5	5	5	5
Prostate – small	0	5	5	4
Epididymides – small	0	0	0	1
Testes - small	0	0	0	1
Organ Weights (absolute) [b]				
Number Examined	5	5	5	5
Prostate (g) [c]	3.84	-79.7*	-80.7*	-77.1
Epididymides (g) [d]	2.53	-43.1*	-52.9*	-60.6*
Testes (g) [d]	12.49	-	-	-30.3
Pituitary (g) [d]	0.061	14.5	8.6	10.9

[a] At end of dosing period. Group means are shown.
[b] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[c] Kurskal-Wallis/Dunn's * = P<0.05
[d] Anova/Dunnett's Test * = P<0.05
[e] Student's t-test * = P≤0.05
- = No noteworthy findings N/A = not available

(Continued)

Report Title: A 13-Week Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of ARN-509 in Male Dogs with a 60-day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**2.5**	**5.0**	**10**
No. of Animals	M:5(3)	M:5	M:5(3)	M:5(3)
Histopathology				
Number Examined	5	5	5	5
Prostate - Atrophy				
Mild	1	0	0	0
Moderate	0	5	5	5
Epididymides - Atrophy				
Mild	0	1	2	0
Moderate	0	4	3	5
Epididymides - Hypospermia				
Mild	0	1	0	0
Moderate	0	4	4	4
Severe	0	0	1	1
Testes - Seminiferous tubulus degeneration [a]				
Minimal	0	0	3	1
Mild	0	2	0	3
Testes - Hypospermia				
Minimal	0	2	5	1
Mild	0	2	0	3
Severe	0	0	0	1
Pituitary - Hypertrophy				
Minimal	0	2	0	3

[a] Minimal unilateral observations were interpreted as background and not included in this table.

(Continued)

2.6.7.7　F　反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 13-Week Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of ARN-509 in Male Dogs with a 60-day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

RECOVERY PERIOD

Daily Dose During Dosing Period (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**2.5**	**5.0**	**10**
No. of Animals	M:3	M:0	M:3	M:3
Noteworthy Findings				
Body Weight (g) [a,b]				
Week 21 (Day 147)	9840		-	-15.8*
Body Weight Gain from Day 98 to Day 147 (g)	1236		-	-19
Food Consumption(g/day) [a,b]				
Week 21	263		-	-9.5
Organ Weights (absolute) [a,b]				
Number Examined	3		3	3
Prostate (g)	4.97		85.2	20.1
Epididymides (g)	2.87		2.3	-25.6*

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
[b] Anova/Dunnett's Test * = P<0.05
- = No noteworthy findings

2.6.7.7 G 反復投与毒性試験

Report Title: A 39-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927-ZAH by Oral Capsule Administration in Male Dogs **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain: Dog/Beagle
Age at First Dose: M 6 months
Date of First Dose: [redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: < 2.5 mg/kg/day

Duration of Dosing: 39 weeks
Duration of Postdose: None
Route: Orally (capsule)
Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)

Study No.: TOX10839
Location in CTD: 4.2.3.2.11
GLP Compliance: Yes

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Vehicle)**		**2.5**		**5**		**10**	
No. of Animals		M: 4		M: 4		M: 4		M: 4	
Toxicokinetics:		C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)
Analyte	**Day**								
JNJ-56021927	**182**	-	-	3.10	69.4	7.43	167	16.2	362
	273	-	-	3.82	86.6	8.60	197	18.7	427
JNJ-56142060 (M3)	**182**	-	-	2.89	66.4	4.78	109	7.71	177
	273	-	-	2.99	69.7	5.04	116	8.32	189

Noteworthy Findings				
Total Mortality	0	0	0	0
Body Weight (kg)[a]	10.7	0.92x	0.88x	0.88x
Body Weight Gain (kg)[a]	2.7	0.70x	0.56x	0.59x
Food Consumption[b]	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-
Veterinary Physical Examinations	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-
Clinical Chemistry[a]				
Cholesterol (mg/dL)	141	1.62x*	1.37x	1.71x*
Alkaline Phosphatase (U/L)	44	-	2.57x*	3.45x
Urinalysis	-	-	-	-

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control calculated to 2 decimal places are shown.
[b] Occasionally lower food consumption values were noted at 5 and 10 mg/kg/day, particularly in the first month. By Week 26, food consumption was comparable among dose groups.

- = No noteworthy findings
Dunnett: * - $p \leq 0.05$

(Continued)

2.6.7.7 G 反復投与毒性試験（続き）

Report Title: A 39-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927-ZAH by Oral Capsule Administration in Male Dogs **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Vehicle)**	**2.5**	**5**	**10**
No. of Animals	M: 4	M: 4	M: 4	M: 4
Organ Weights[a,b]				
Prostate (g)	9.109	0.14x	0.09x*	0.08x*
Epididymides (g)	3.413	0.65x*	0.56x**	0.40x***
Kidney (g)	55.388	0.77x	0.74x*	0.73x*
Gross Pathology				
Epididymis – small	-	-	-	1
Histopathology				
Prostate gland – atrophy				
Mild	0	1	0	0
Moderate	0	3	3	0
Marked	0	0	1	4
Epididymis – atrophy				
Minimal	0	0	1	0
Mild	0	2	0	3
Moderate	0	0	2	1
Epididymis – decreased spermatozoa				
Minimal	0	1	0	0
Moderate	0	0	3	0
Marked	0	0	0	4
Testes – degeneration/atrophy				
Minimal	0	1	1	0
Mild	0	2	2	1
Moderate	0	0	1	3
Testes – hypertrophy, Leydig cell				
Minimal	0	0	1	0
Mild	0	1	2	4
Liver – hyperplasia, bile duct/oval				
Minimal	0	1	3	2
Mild	0	0	0	2

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control calculated to 2 decimal places are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control).
[b] Both absolute and relative weights differed from controls. Number indicates multiple of control for the absolute organ weights.

- = No noteworthy findings
Dunn/Dunnett: * - $p \leq 0.05$, ** - $p \leq 0.01$, *** - $p \leq 0.001$

2.6.7.7 H 反復投与毒性試験

Report Title: A 13-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927-ZAH by Oral Capsule Administration in Female Dogs with a 1-month Recovery Period

Test Article: JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain: Dog/Beagle
Age at First Dose:F 6 months
Date of First Dose: [redacted]
Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level: 10 mg/kg/day

Duration of Dosing: 13 weeks
Duration of Postdose: 1 month
Route: Orally (capsule)
Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)

Study No.: TOX10895
Location in CTD: 4.2.3.2.13
GLP Compliance: Yes

DOSING PERIOD

Daily Dose (mg/kg/day)		**0 (Vehicle)**		**2.5**		**5**		**10**	
No. of Animals		F: 4(2)		F: 4		F: 4		F: 4(2)	
Toxicokinetics:									
		C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{0-24h} (µg·h/mL)
Analyte	**Day**								
JNJ-56021927	**91**	-	-	3.49	79.8	8.33	192	16.7	385
JNJ-56142060 (M3)	**91**	-	-	2.77	63.2	4.80	112	9.05	206

Noteworthy Findings				
Total Mortality	0	0	0	0
Test Article-Related Mortality	0	0	0	0
Body Weight (g)	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-
Veterinary Physical Examinations	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-
Hematology/Coagulation	-	-	-	-
Clinical Chemistry				
Cholesterol (mg/dL)[a]	177	1.05x	1.13x	1.24x
Alkaline Phosphatase (U/L)[b]	-	-	-	1.34x-2.45x
Urinalysis	-	-	-	-
Organ Weights (g)[a,c]				
Ovary	0.881	0.89x	0.70x	0.78x
Uterus	6.353	-	0.46x	0.28x
Gross Pathology	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-

[a] At end of dosing period. For control, group mean is shown. For treated groups, multiples of control calculated to 2 decimal places are shown.
[b] At end of dosing period. Animal Nos. 6672 and 6673 only; fold change compared to pretest values.
[c] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates multiples of control for the absolute organ weights.
- = No noteworthy findings; ( ) = No. of animals at recovery period

(Continued)

Report Title: A 13-week Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927-ZAH by Oral Capsule Administration in Female Dogs with a 1-month Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

RECOVERY PERIOD				
Daily Dose During Dosing Period (mg/kg/day)	**0 (Vehicle)**	**2.5**	**5**	**10**
No. of Animals	F: 2	F: 0	F: 0	F: 2
Noteworthy Findings				
Organ Weights (g)[a,b]				
Ovary	1.800			0.34x
Uterus	14.049			0.25x
Histopathology				
Ovary - Immaturity	0			2
Uterus - Immaturity	0			2

[a] At end of recovery period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control calculated to 2 decimal places are shown. All groups were excluded from statistical analysis (N < 3).
[b] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates multiples of control for the absolute organ weights.

2.6.7.8 A *In Vitro* 遺伝毒性試験

Report Title: ARN-509 and ARN000308 Bacterial Reverse Mutation Test in Salmonella Typhimurium and Escherichia Coli **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Test for Induction of: gene mutations
Strains: S. Typhimurium strains TA98, TA100, TA1535, TA1537 and E. coli strain WP2 *uvrA*
Metabolizing System: Phenobarbital/5,6-benzoflavone-induced rat liver S9 mix
Vehicles:
For Test Article: DMSO
For Positive Controls: DMSO or water
Treatment: *In Vitro*
Genotoxic Effects: No

No. of Independent Assays: 2
No. of Replicates: 3
Approximate No. of Bacteria Assayed/Dose: 10^8
Date of Treatment: [redacted]

Study No: 963861
Location in CTD: 4.2.3.3.1.1
GLP Compliance: Yes

			Assay #1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD)					
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**TA98**	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvrA***
Without Activation	DMSO	0	32 ± 7	126 ± 9	15 ± 3	12 ± 4	33 ± 9
	JNJ-56021927	50	25 ± 4	118 ± 11	16 ± 5	11 ± 2	36 ± 8
		158	27 ± 2	126 ± 6	19 ± 4	13 ± 4	36 ± 6
		500	31 ± 8	124 ± 8	12 ± 6	11 ± 1	34 ± 10
		1581	26 ± 7 ppt	128 ± 6 ppt	17 ± 3 ppt	11 ± 4 ppt	32 ± 6 ppt
		5000	20 ± 3 ppt	114 ± 9 ppt	10 ± 3 ppt	10 ± 2 ppt	27 ± 6 ppt
	NaAz	0.5	-	484 ± 4 *	331 ± 53 *	-	-
	9AC	50	-	-	-	252 ± 65 *	-
	2NF	1	178 ± 20 *	-	-	-	-
	NQO	0.5	-	-	-	-	445 ± 43 *
With Activation	DMSO	0	41 ± 8	134 ± 10	24 ± 5	18 ± 4	40 ± 3
	JNJ-56021927	50	38 ± 9	150 ± 6	16 ± 5	16 ± 4	38 ± 5
		158	46 ± 5	131 ± 11	20 ± 3	20 ± 8	38 ± 8
		500	45 ± 8	154 ± 3	22 ± 3	15 ± 2	44 ± 5
		1581	41 ± 5	125 ± 4	18 ± 4	18 ± 5	38 ± 8
		5000	39 ± 6 ppt	157 ± 15 ppt	21 ± 4 ppt	11 ± 3 ppt	45 ± 8 ppt
	2AA	5	-	-	331 ± 12 *	-	-
		15	-	-	-	-	170 ± 16 *
	BaP	5	310 ± 11 *	852 ± 18 *	-	91 ± 5 *	

2AA = 2-aminoanthracene; 2NF = 2-nitrofluorene; 9AC = 9-aminoacridine; BaP = benzo[a]pyrene; DMSO = dimethyl sulfoxide; NaAz = sodium azide; NQO = 4-nitroquinoline N-oxide
ppt Precipitate
* ≥ 2-fold increase with TA98, TA1535, TA1537 and WP2 *uvrA* compared to the vehicle control, or ≥ 1.5-fold increase with TA100 compared to the vehicle control
- = not applicable

(Continued)

2.6.7.8 A *In Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Report Title: ARN-509 and ARN000308 Bacterial Reverse Mutation Test in Salmonella Typhimurium and Escherichia Coli **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

			Assay #2 (Pre-Incubation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD)					
Metabolic Activation	**Test Article**	Concentration (μg/plate)	**TA98**	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2 *uvrA***
Without Activation	DMSO	0	36 ± 9	126 ± 5	20 ± 5	12 ± 7	41 ± 9
	JNJ-56021927	50	20 ± 5	136 ± 21	12 ± 2	14 ± 4	42 ± 10
		158	25 ± 7	122 ± 8	21 ± 5	17 ± 5	31 ± 11
		500	26 ± 5	119 ± 4	18 ± 5	12 ± 3	63 ± 15
		1581	20 ± 7 ppt	137 ± 17 ppt	12 ± 4 ppt	12 ± 5 ppt	31 ± 3 ppt
		5000	23 ± 2 ppt	110 ± 16 ppt	16 ± 6 ppt	12 ± 5 ppt	25 ± 8 ppt
	NaAz	0.5	-	482 ± 26 *	280 ± 23 *	-	-
	9AC	50	-	-	-	261 ± 92 *	-
	2NF	1	196 ± 9 *	-	-	-	-
	NQO	0.5	-	-	-	-	825 ± 58 *
With Activation	DMSO	0	46 ± 3	151 ± 5	20 ± 5	18 ± 5	46 ± 8
	JNJ-56021927	50	45 ± 4	135 ± 18	18 ± 4	15 ± 3	45 ± 4
		158	50 ± 2	117 ± 16	24 ± 6	21 ± 3	38 ± 14
		500	47 ± 7	150 ± 21	23 ± 4	15 ± 1	52 ± 7
		1581	39 ± 15	163 ± 23	29 ± 7	17 ± 5	51 ± 1
		5000	37 ± 5 ppt	135 ± 9 ppt	19 ± 6 ppt	14 ± 4 ppt	42 ± 4 ppt
	2AA	5	-	-	253 ± 28 *	-	-
		15	-	-	-	-	168 ± 9 *
	BaP	5	234 ± 13 *	704 ± 46 *	-	93 ± 10 *	

2AA = 2-aminoanthracene; 2NF = 2-nitrofluorene; 9AC = 9-aminoacridine; BaP = benzo[a]pyrene; DMSO = dimethyl sulfoxide; NaAz = sodium azide; NQO = 4-nitroquinoline N-oxide
ppt Precipitate
* ≥ 2-fold increase with TA98, TA1535, TA1537 and WP2 *uvrA* compared to the vehicle control, or ≥ 1.5-fold increase with TA100 compared to the vehicle control
- = not applicable

(Continued)

2.6.7.8 A *In Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Report Title: ARN-509 and ARN000308 Bacterial Reverse Mutation Test in Salmonella Typhimurium and Escherichia Coli **Test Article:** JNJ-56142060 (M3)

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (μg/plate)	Assay #1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvrA*
Without Activation	DMSO	0	32 ± 7	126 ± 9	15 ± 3	12 ± 4	33 ± 9
	JNJ-56142060 (M3)	50	33 ± 9	117 ± 14	12 ± 2	11 ± 2	30 ± 4
		158	24 ± 7	117 ± 10	13 ± 2	10 ± 2	32 ± 5
		500	24 ± 3	100 ± 8	16 ± 5	12 ± 2	38 ± 8
		1581	21 ± 1 ppt	118 ± 5 ppt	17 ± 4 ppt	12 ± 4 ppt	41 ± 5 ppt
		5000	19 ± 6 ppt	105 ± 9 ppt	12 ± 3 ppt	11 ± 3 ppt	34 ± 4 ppt
	NaAz	0.5	-	484 ± 4 *	331 ± 53 *	-	-
	9AC	50	-	-	-	252 ± 65 *	-
	2NF	1	178 ± 20 *	-	-	-	-
	NQO	0.5	-	-	-	-	445 ± 43 *
With Activation	DMSO	0	41 ± 8	134 ± 10	24 ± 5	18 ± 4	40 ± 3
	JNJ-56142060 (M3)	15.8	-	-	21 ± 5	-	-
		50	43 ± 7	154 ± 1	19 ± 3	19 ± 2	40 ± 4
		158	36 ± 5	142 ± 16	24 ± 5	12 ± 3	54 ± 9
		500	39 ± 6	140 ± 12	19 ± 10	16 ± 3	46 ± 5
		1581	36 ± 8	129 ± 8	18 ± 2	17 ± 3	47 ± 8
		5000	37 ± 4 ppt	146 ± 10 ppt	13 ± 8 ppt	12 ± 6 ppt	41 ± 10 ppt
	2AA	5	-	-	331 ± 12 *	-	-
		15	-	-	-	-	170 ± 16 *
	BaP	5	310 ± 11 *	852 ± 18 *	-	91 ± 5 *	

2AA = 2-aminoanthracene; 2NF = 2-nitrofluorene; 9AC = 9-aminoacridine; BaP = benzo[a]pyrene; DMSO = dimethyl sulfoxide; NaAz = sodium azide; NQO = 4-nitroquinoline N-oxide
ppt Precipitate
* ≥ 2-fold increase with TA98, TA1535, TA1537 and WP2 *uvrA* compared to the vehicle control, or ≥ 1.5-fold increase with TA100 compared to the vehicle control
- = not applicable

(Continued)

2.6.7.8 A *In Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Report Title: ARN-509 and ARN000308 Bacterial Reverse Mutation Test in Salmonella Typhimurium and Escherichia Coli **Test Article:** JNJ-56142060 (M3)

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (μg/plate)	Assay #2 (Pre-Incubation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD)					
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*	
Without Activation	DMSO	0	36 ± 9	126 ± 5	20 ± 5	12 ± 7	41 ± 9	
	JNJ-56142060 (M3)	15.8	30 ± 5	-	-	-	-	
		50	34 ± 16	134 ± 7	20 ± 4	12 ± 3	36 ± 4	
		158	29 ± 3	121 ± 18	18 ± 7	17 ± 8	43 ± 2	
		500	27 ± 4	111 ± 14	17 ± 1	16 ± 3	37 ± 10	
		1581	23 ± 8 ppt	118 ± 2 ppt	16 ± 6 ppt	11 ± 4 ppt	31 ± 5 ppt	
		5000	17 ± 3 ppt	102 ± 8 ppt	14 ± 3 ppt	7 ± 1 ppt	32 ± 11 ppt	
	NaAz	0.5	-	482 ± 26 *	280 ± 23 *	-	-	
	9AC	50	-	-	-	261 ± 92 *	-	
	2NF	1	196 ± 9 *	-	-	-	-	
	NQO	0.5	-	-	-	-	825 ± 58 *	
With Activation	DMSO	0	46 ± 3	151 ± 5	20 ± 5	18 ± 5	46 ± 8	
	JNJ-56142060 (M3)	15.8	-	-	-	22 ± 6	-	
		50	45 ± 13	154 ± 9	22 ± 6	23 ± 1	50 ± 12	
		158	53 ± 10	131 ± 12	23 ± 6	19 ± 1	43 ± 4	
		500	40 ± 6	138 ± 14	18 ± 5	14 ± 4	45 ± 3	
		1581	40 ± 8	157 ± 10	21 ± 2	22 ± 4	45 ± 4	
		5000	32 ± 7 ppt	126 ± 9 ppt	17 ± 7 ppt	10 ± 2 ppt	42 ± 3 ppt	
	2AA	5	-	-	253 ± 28 *	-	-	
		15	-	-	-	-	168 ± 9 *	
	BaP	5	234 ± 13 *	704 ± 46 *	-	93 ± 10 *		

2AA = 2-aminoanthracene; 2NF = 2-nitrofluorene; 9AC = 9-aminoacridine; BaP = benzo[a]pyrene; DMSO = dimethyl sulfoxide; NaAz = sodium azide; NQO = 4-nitroquinoline N-oxide
ppt Precipitate
* ≥ 2-fold increase with TA98, TA1535, TA1537 and WP2 *uvrA* compared to the vehicle control, or ≥ 1.5-fold increase with TA100 compared to the vehicle control
- = not applicable

2.6.7.8 B *In Vitro* 遺伝毒性試験

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay of ARN000066 **Test Article:** JNJ-56142021 (M4)

Test for Induction of: gene mutations
Strains: S. Typhimurium strains TA98, TA100, TA1535, TA1537 and E. coli strain WP2*uvrA*
No. of Independent Assays: 1
No. of Replicates: 3
Study No: TX-509-1003
Location in CTD: 4.2.3.3.1.2
GLP Compliance: Yes
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9 mix
Approximate No. of Bacteria Assayed/Dose: 10^8
Vehicles:
For Test Article: DMSO
For Positive Controls: DMSO or water
Date of Treatment: [redacted]
Treatment: *In Vitro*
Genotoxic Effects: No

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/plate)	Plate Incorporation Assay Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
Without Activation	DMSO	0	12.7 ± 1.5	67.0 ± 11.0	8.3 ± 1.5	5.3 ± 1.5	9.7 ± 2.9
	JNJ-56142021 (M4)	1.60	11.7 ± 4.7	75.7 ± 6.7	4.0 ± 2.6	4.7 ± 3.1	15.0 ± 3.5
		5.00	13.3 ± 1.2	74.7 ± 9.1	6.3 ± 0.6	5.7 ± 4.0	12.0 ± 2.6
		16.0	10.3 ± 0.6	79.7 ± 2.5	6.0 ± 2.0	5.3 ± 0.6	10.7 ± 6.0
		50.0	11.0 ± 3.0	63.7 ± 3.2	10.3 ± 0.6	6.7 ± 1.2	10.3 ± 2.1
		160	11.0 ± 3.0	73.7 ± 2.9	7.7 ± 3.5	4.3 ± 3.1	11.0 ± 1.0
		500	11.7 ± 1.5	69.7 ± 19.5	6.3 ± 0.6	4.7 ± 3.2	13.0 ± 4.4
		1600	12.0 ± 1.7	76.3 ± 13.3	9.0 ± 3.5	5.0 ± 1.7	15.7 ± 3.8
		5000	12.3 ± 1.5	46.0 ± 3.5 [E]	8.7 ± 2.3	2.7 ± 1.2	11.3 ± 5.0
	2NF	1.0	331.7 ± 2.9 *	-	-	-	-
	SA	2.0	-	1017 ± 16.1 *	752 ± 58.0 *	-	-
	ICR	2.0	-	-	-	553 ± 126.8 *	-
	4NQO	1.0	-	-	-	-	226 ± 40.8 *
With Activation	DMSO	0	19.0 ± 1.7	91.0 ± 10.5	9.0 ± 1.0	8.3 ± 3.5	18.7 ± 4.5
	JNJ-56142021 (M4)	1.60	19.0 ± 5.6	105.0 ± 15.5	10.3 ± 2.1	7.0 ± 1.0	13.3 ± 4.2
		5.00	16.7 ± 4.7	97.3 ± 13.3	6.3 ± 2.1	6.7 ± 1.5	16.0 ± 2.6
		16.0	17.3 ± 5.7	99.7 ± 9.5	10.7 ± 3.2	9.7 ± 3.5	16.3 ± 2.5
		50.0	14.0 ± 2.0	103.7 ± 18.2	8.3 ± 4.2	4.7 ± 1.5	11.0 ± 2.6
		160	14.7 ± 2.9	95.7 ± 18.8	11.0 ± 2.6	6.0 ± 5.0	14.0 ± 4.6
		500	19.7 ± 4.6	110.0 ± 5.3	10.3 ± 0.6	6.7 ± 1.5	17.3 ± 1.2
		1600	15.7 ± 3.2	110.7 ± 7.2	9.0 ± 2.6	7.3 ± 3.1	14.0 ± 4.4
		5000	14.3 ± 6.7	73.0 ± 3.5	6.3 ± 1.5	6.0 ± 2.0	11.7 ± 0.6
	BP	2.5	501.0 ± 30.1 *	-	-	-	-
	2AA	2.5	-	1740.3 ± 134.8 *	178.3 ± 17.9 *	132.3 ± 20.6 *	-
		25.0	-	-	-	-	479.0 ± 60.3 *

2AA = 2-aminoanthracene; 2NF = 2-nitrofluorene; 4NQO = 4-nitroquinoline-N-oxide; BP = benzo[a]pyrene; DMSO = dimethyl sulfoxide; ICR = ICR-191; SA = sodium azide
E Enhanced background bacterial lawn
* ≥ 2-fold increase with TA98, TA100 and WP2 *uvrA* compared to the vehicle control, or ≥ 3-fold increase with TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control
- = not applicable

2.6.7.8 C *In Vitro* 遺伝毒性試験

Report Title: ARN-509 and ARN000308 In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test in Human Peripheral Blood Lymphocytes **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Test for Induction of: chromosome aberrations
Cell lines: Human Peripheral Blood Lymphocytes
Metabolizing System: Phenobarbital/5,6-benzoflavone-induced rat liver S9 mix
Vehicles:
For Test Article: DMSO
For Positive Controls: water
Treatment: *In Vitro*
Genotoxic Effects: No

No. of Independent Assays: 2
No. of Replicates: 2
No. of cell analyzed/cultured: 200
Date of Treatment: [redacted]

Study No: 963862
Location in CTD: 4.2.3.3.1.3
GLP Compliance: Yes

Treatment	Concentration (µg/mL)	MI	RMI	Number of cells examined	% Aberrant	Number of aberrations				
						b	e	B	E	Other
4 hours treatment in the absence of S9										
DMSO	0	6.9	100	200	1.0	2	0	0	0	0
JNJ-56021927	64.0	6.6	96	200	0.0	0	0	0	0	0
	128	7.9	114	200	0.5	1	0	0	0	0
	256 ppt	4.7	68	200	2.5	7	0	0	0	0
MMC	0.10	8.3	121	200	13.0*	24	2	2	0	0
4 hours treatment in the presence of S9										
DMSO	0	4.5	100	200	2.0	4	0	0	0	0
JNJ-56021927	64.0	6.1	133	200	0.5	1	0	0	0	0
	128	4.6	101	200	1.0	2	0	0	0	0
	256 ppt	3.2	70	200	2.5	4	1	0	0	0
CP	4.0	5.2	114	200	13.0*	25	2	2	0	0
21 hours treatment in the absence of S9										
DMSO	0	5.2	100	200	1.5	3	0	0	0	0
JNJ-56021927	64.0	2.8	54	200	1.0	2	0	0	0	0
	128	2.2	42	200	0.5	0	0	1	0	0
	256 ppt	2.7	53	200	0.0	0	0	0	0	0
MMC	0.05	3.1	60	200	11.0*	26	3	1	0	0

CP = cyclophosphamide; DMSO = dimethyl sulfoxide; MI = mitotic index; MMC = mitomycin C; RMI = relative mitotic index (vehicle = 100%)
b, e Chromatid break, exchange
B, E Chromosome break, exchange
Other Includes pulverized chromosomes and cell with >8 aberrations
ppt Precipitate visible in the culture medium at the end of treatment
* Substantial increase compared to concurrent vehicle control.

(Continued)

2.6.7.8 C *In Vitro* 遺伝毒性試験（続き）

Report Title: ARN-509 and ARN000308 In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test in Human Peripheral Blood Lymphocytes **Test Article:** JNJ-56142060 (M3)

Treatment	Concentration (µg/mL)	MI	RMI	Number of cells examined	% Aberrant	Number of aberrations				
						b	e	B	E	Other
4 hours treatment in the absence of S9										
DMSO	0	12.4	100	200	0.5	1	0	0	0	0
JNJ-56142060 (M3)	32.0	7.8	63	200	0.5	1	0	0	0	0
	64.0	8.7	70	200	0.5	1	0	0	0	0
	128	5.2	42	200	0.5	1	0	0	0	0
MMC	0.10	7.6	62	200	11.5*	16	8	2	0	0
4 hours treatment in the presence of S9										
DMSO	0	6.6	100	200	0.5	1	0	0	0	0
JNJ-56142060 (M3)	64.0	6.0	91	200	1.0	2	0	0	0	0
	128	8.8	133	200	0.0	0	0	0	0	0
	256 ppt	4.0	61	200	0.5	1	0	0	0	0
CP	4.0	6.1	93	200	18.5*	47	3	1	0	0
21 hours treatment in the absence of S9										
DMSO	0	5.6	100	200	0.0	0	0	0	0	0
JNJ-56142060 (M3)	32.0	5.4	95	200	1.0	2	0	0	0	0
	64.0	2.9	51	200	0.5	1	0	0	0	0
	128	1.1	20	200	1.5	3	0	0	0	0
MMC	0.05	3.9	69	200	13.0*	30	5	1	0	0

CP = cyclophosphamide; DMSO = dimethyl sulfoxide; MI = mitotic index; MMC = mitomycin C; RMI = relative mitotic index (vehicle = 100%)

b, e Chromatid break, exchange

B, E Chromosome break, exchange

Other Includes pulverized chromosomes and cell with >8 aberrations

ppt Precipitate visible in the culture medium at the end of treatment

* Substantial increase compared to concurrent vehicle control.

2.6.7.8 D *In Vitro* 遺伝毒性試験

Report Title: Chromosomal Aberrations in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes of ARN000066 **Test Article:** JNJ-56142021 (M4)

Test for Induction of: chromosome aberrations
Cell Line: Human Peripheral Blood Lymphocytes
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9 mix
Vehicles:
For Test Article: DMSO
For Positive Controls: water
Treatment: *In Vitro*
Genotoxic Effects: Weakly positive under the 24-hour continuous treatment conditions without metabolic (S9) activation.

No. of Independent Assays: 2
No. of Replicate Cultures: 2
No. of Cells Analyzed/Cultured: 200
Date of Treatment: [redacted]

Study No: TX-509-1004
Location in CTD: 4.2.3.3.1.4
GLP Compliance: Yes

Treatment	Concentration (µg/mL)	% Mitotic Index Reduction[a]	# Cells scored for aberrations	% Aberrant	Numbers of Cells Showing Structural Chromosome Aberrations			
					Simple breaks	chte	chre	mab
With Metabolic Activation - 3-Hour Treatment, ~24-Hour Harvest								
DMSO	0	0	200	0.0				
JNJ-56142021 (M4)	120	0	200	1.0	2			
	245	14	200	0.5	1			
	500	41	200	0.5	1			
CP	25.0	21	100	43.0 *	31	11		3
Without Metabolic Activation - 3-Hour Treatment, ~24-Hour Harvest								
DMSO	0	0	200	0.0				
JNJ-56142021 (M4)	120	12	200	0.5	1			
	245	25	200	1.0	1	1		
	500	14	200	1.5	3			
MMC	1.00	28	100	56.0 *	47	12		1
Without Metabolic Activation - ~24-Hour Treatment, ~24-Hour Harvest								
DMSO	0	0	200	0.0				
JNJ-56142021 (M4)	120	0	200	2.5	5			
	172	21	200	1.5	3			
	245	58	200	5.0*	10			
MMC	0.300	24	100	57.0 *	50	12		
Without Metabolic Activation - ~24-Hour Treatment, ~24-Hour Harvest (confirmatory test)								
DMSO	0	0	200	0.0				
JNJ-56142021 (M4)	105	4	200	2.5	5			
	131	19	200	3.5	5	2		
	164	53	200	5.0*	10			
MMC	0.300	28	100	42.0 *	30	15		3

[a] % Mitotic index reduction as compared to the vehicle control
CP = cyclosphamide; DMSO = dimethyl sufloxide; MMC = mitomycin C
chte chromatid exchange
chre chromosome exchange
mab multiple aberrations, greater than 4 aberration
* significantly greater than the vehicle control, p≤0.01

2.6.7.9 A *In Vivo* 遺伝毒性試験

Report Title: ARN-509 and ARN000308 Mammalian Erythrocytes Micronucleus Test in Rat Bone Marrow **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Test for Induction of: micronuclei in bone marrow
Treatment Schedule: Single Dose
Study No: 963863
Species/Strain: Male Rat/Sprague-Dawley (Hsd:SD, albino outbred)
Method of Administration: Orally (gavage)
Location in CTD: 4.2.3.3.2.1
Age at Initiation: 46 days
Sample Time: 24h and 48h postdose
GLP Compliance: Yes
Body weight at Randomization: 195 – 221 grams
Vehicle formulation: Acconon MC8-2EP/NF:Capmul MCM EP:PEG 400 NF:Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15 % w/w/w/w)
Date of Dosing: [redacted]
Cells Evaluated: Bone marrow erythrocytes
Genotoxic Effects: No

Test Article	Dose (mg/kg)	No. of Animals	% IE/(IE+ME)		Incidence MIE		Incidence MME	
			24 hours	48 hours	24 hours	48 hours	24 hours	48 hours
Vehicle	0	5	54.1	50.9	1.8	3.4	0.0	0.0
JNJ-56021927	500	5	51.5	-	1.6	-	0.0	-
	1,000	5	55.2	-	1.6	-	0.0	-
	2,000	5	50.3	53.0	1.0	1.4	0.0	0.0
JNJ-56142060 (M3)	500	5	51.9	-	1.6	-	0.0	-
	1,000	5	45.3	-	0.6	-	0.0	-
	2,000	5	51.8	50.5	1.0	2.2	0.0	0.0
Cyclophosphamide	20	3	35.9	-	63.0	-	0.0	-

%IE/(IE+ME) Proportion of immature erythrocytes
MIE Number of micronucleated cells observed per 2000 immature erythrocytes examined.
MME Number of micronucleated mature erythrocytes observed (mean value expressed per 2000 mature erythrocytes examined).
- = not applicable

2.6.7.9 B *In Vivo* 遺伝毒性試験

Report Title: A 2-Day Dose Range Finder Assay in Rats Following Oral Administration of JNJ-56021927-ZAH (a non-GLP study) in Support of a Liver Comet Assay in Male and Female Rats

Test Article: JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain Sex/No. Per Group	**Route**[a]	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg/day)**	**Noteworthy Findings**	**Study No./ Location in CTD**
Rat/Sprague Dawley (Hsd:SD) M/3 per group F/3 per group	Orally (gavage)	2 days	0 (vehicle), 50, 100, 150, 250, and 500	Mortality occurred on Day 3 at 150, 250 and 500 mg/kg/day in 1 male and 1 female rat in each group. Reductions in body weights were observed in male rats at ≥ 50 mg/kg/day and in female rats at ≥ 150 mg/kg/day (up to 18% on Day 3 relative to Day 1). Test article-related clinical signs in both males and females included piloerection, nasal charge and crusty eyes at ≥ 50 mg/kg/day crusty nose at ≥ 100 mg/kg/day and additionally, irregular breathing, hunched position, lethargy, and bloating at ≥ 150 mg/kg/day.	TOX11537/ 4.2.3.3.2.2

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL)				$AUC_{0\text{-}24hr}$ (µg·hr/mL)			
		Apalutamide		JNJ-56142021 (M4)		Apalutamide		JNJ-56142021 (M4)	
		M	F	M	F	M	F	M	F
50	2	14.9	14.7	1.99	2.17	255	259	31.9	36.1
100	2	22.9	24.6	2.36	3.28	434	495	38.0	54.9
150	2	32.5	33.5	10.4	5.35	567	454	95.1	68.0
250	2	61.9	52.2	7.37	7.50	755	661	70.1	66.9
500	2	32.3	36.0	4.53	4.32	387	429	42.8	55.5

[a] A lipid-based emulsion formulation was used as the vehicle and consisted of Acconon MC8-2 EP/NF, Capmul MCM EP, PEG-400 USP, Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w).

2.6.7.9 C *In Vivo* 遺伝毒性試験

Report Title: In vivo Mammalian Alkaline Comet Assay in the Liver Cells of Male rats Following Oral Administration of JNJ-56021927-ZAH **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Test for Induction of: DNA damage in liver cells of rats
Species/Strain: Male Rat/Sprague-Dawley (Hsd:SD)
Age at Initiation: 6 weeks
Body weight at Randomization: 169.3 – 186.1 grams
Cells Evaluated: Liver cells
No. of Cells Analyzed/Animal: 150 liver cells

Treatment Schedule: Two dose administrations (Days 1 and 2)
Second dose ~ 24 hours after first dose
Method of Administration: Orally (gavage)
Vehicle formulation: Acconon MC8-2EP/NF:Capmul MCM EP:PEG 400 NF:Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15 % w/w/w/w)

Study No: TOX10942
Location in CTD: 4.2.3.3.2.3
GLP Compliance: Yes
Date of Dosing: [redacted]

Toxic/Cytotoxic Effects: No mortality. Reductions in body weight were comparable to those observed in the vehicle control group. Clinical signs of crusty nose, bloody discharge from the nose, lethargy, irregular breathing, coughing, and piloerection were observed across dose groups.
Genotoxic Effects: No
Evidence of Exposure: Systemic exposure to both apalutamide and metabolite JNJ-56142021 (M4) was observed in plasma and liver tissue

Test Article	Dose [a] (mg/kg/day)	No. of Males	Group Mean % of Clouds	% Tail DNA in Liver Cells (Mean of 3 or 5 animal medians ± SD)	Mean Plasma Concentration (24-hours post 1st and 2nd dose, n = 5, 7, 8) Day	JNJ-56021927 (ng/mL)	JNJ-56142021 (M4) (ng/mL)	Mean Liver Concentration (24-hours post 2nd dose, n = 5) JNJ-56021927 (ng/g)	JNJ-56142021 (M4) (ng/g)
Vehicle	0	5	0.2	0.014 ± 0.022		BQL < 25.0	BQL < 25.0	Not applicable	
JNJ-56021927	50	5	0.2	0.004 ± 0.003	2	3980	866	-	-
					3	5840	1550	28600	19800
	100	5	0.6	0.033 ± 0.060	2	10500	2240	-	-
					3	13500	4590	60500	31900
	150	5	1.0	0.040 ± 0.057	2	16500	4150	-	-
					3	14400	3380	61000	39400
EMS [b]	200	3	0.7	9.221 ± 1.694*		Not Applicable		Not Applicable	

[a] An additional low dose group of 25 mg/kg/day was included in the study in the event that the high dose group was lost due to mortality or severe clinical signs. There were sufficient animals in the high dose group at the tissue harvest time, hence no tissue harvest was performed on animals in the 25 mg/kg/day group and therefore, no Comet analysis or bioanalysis was done on this dose group.
[b] Positive control orally administered at 10 mL/kg only once at 3 to 4 hours prior to organ collection Day 2
BQL: below quantitation limit; EMS = ethyl methanesulfonate
*p <0.05 (pair t-test): statistically significant increase relative to the vehicle control

2.6.7.10　A　がん原性試験：予備試験

Report Title: A Single Dose Oral Toxicity Study in the Mouse Followed by a 10-Day Repeated Dose Oral Toxicity Study　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route[a]	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	MTD (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Mouse/CD-1 Main phase animals: M/6 per group F/6 per group TK phase animals: M/6 per group F/6 per group	Orally (gavage)	Single Dose	0 (vehicle) 20 100 500	100	0 mg/kg/day: 1 M main phase death was considered related to gavage accident. 50 mg/kg/day: No mortality. 100 mg/kg/day: No test article-related mortality. 1 F main phase death was considered related to gavage accident. 500 mg/kg/day: Test article-related mortality in 1 M/3 F main phase animals and 2 M/3 F TK phase animals. Clin. Obs.: Decreased activity (6 M/6 F), convulsions (2 F), tremors (1 F), hypotonia (1 F). BW: Minimal decrease on Day 1 (M), recovered on Day 3.	TOX10822/ 4.2.3.4.2.1
Mouse/CD-1 Main phase animals: M/6 per group F/6 per group TK phase animals: M/6 per group F/6 per group	Orally (gavage)	10 days	0 (vehicle) 20 50 100		No test article-related mortality. There were 14 deaths considered related to gavage accidents (3 at 20 mg/kg/day, 4 at 50 mg/kg/day, and 7 at 100 mg/kg/day; including male and female animals, and main phase and TK phase mice) ≥ 20 mg/kg/day: Hematology: ↓ HGB (M), ↓ HCT (M&F), ↑ platelets (M&F); Clin.Chemistry: ↑ ALP and ALT (M: 2-fold at 100 mg/kg); ↓ bilirubin (M&F); ↓ total protein (M&F), ↓ albumin (M&F), ↓ A/G ratio (M&F), ↓ calcium (M); Necropsy/Histology: liver (↑ weight, hypertrophy). ≥ 50 mg/kg/day: Hematology: ↓ MCV (F); Clin.Chemistry: ↓ cholesterol (M&F) 100 mg/kg/day: Clin.Chemistry: ↑ phosphate (M); Necropsy/Histology: liver (prominent lobular pattern/pale discoloration, necrosis in few animals); adrenal glands (adrenocortical hypertrophy).	

[a] Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)
A/G = albumin/globulin; ALP = alkaline phosphatase; ALT = alanine aminotransferase; BW = body weight; HCT = hematocrit; HGB = hemoglobin; MCV = mean cell volume

(Continued)

Report Title: A Single Dose Oral Toxicity Study in the Mouse Followed by a 10-Day Repeated Dose Oral Toxicity Study　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL) Apalutamide		M3		AUC (µg·hr/mL)[a] Apalutamide		M3	
Single-Dose Phase									
		M	F	M	F	M	F	M	F
20	1	4.69	6.25	0.896	0.866	191	214	26.8[c]	25.7[c]
100	1	24.1	28.1	6.68	6.66	661	704	180[c]	174[c]
500	1	71.0	84.7	17.8	7.29	1760	2480	188[c]	244[c]
Repeat-Dose Phase									
		M	F	M	F	M	F	M	F
20	0	5.04	5.85	0.674	0.658	102	109	7.97	7.74
	9	6.75	11.1	1.62	1.24	113	170	35.7	28.8
50	0	13.5	11.8	2.09	1.56	256	244	23.6	19.6
	9	11.6	15.1	4.06	3.78	136	228	84.9	71.6
100	0	23.1	27.5	7.39	3.91	491	503	72.6	42.9
	9	13.9	NC[b]	7.58	NC[b]	140	NC[b]	127	NC[b]

[a] $AUC_{0-\infty}$ for single-dose phase and AUC_{0-24hr} for repeat-dose phase
[b] not calculated since not enough data points
[c] AUC_{0-48hr}; $AUC_{0-\infty}$ not calculated since extrapolation exceeded 25%

2.6.7.10 B がん原性試験：予備試験

Report Title: A 10-Day Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Mouse (Tolerability Study) **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route[a]	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	MTD (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Mouse/CD-1				100		TOX10940/ 4.2.3.4.2.2
RD1 phase[b]: M/6 per group F/6 per group	Orally (gavage)	10 days	0 (vehicle) 100		0 mg/kg/day: 1 M/1 F death was considered related to gavage accident. Clin. Obs. (F): salivation, dyspnea. 100 mg/kg/day: No test article-related mortality. 1 F death was considered related to gavage accident. Clin. Obs. (F): audible respiration, dyspnea, salivation. Necropsy/Histology: seminal vesicles and prostate (small, atrophy); adrenal glands (dark discoloration, adrenocortical hypertrophy); liver (pale discoloration, swelling, prominent lobular pattern, hypertrophy with or without cytoplasmic micro-vacuolization, hepatocellular necrosis).	
RD2 phase[c]: F/6 per group	Orally (gavage)	10 days	0 (control[d], 5 mL/kg) 0 (vehicle[a], 1 mL/kg) 0 (vehicle[a], 2 mL/kg) 0 (vehicle[a], 5 mL/kg)		No mortality or observations	
RD3 phase[c]: Main phase animals: M/6 per group F/6 per group TK phase animals: M/6 per group F/6 per group (only in 175 and 250 mg/kg/day groups)	Orally (gavage)	10 days	0 (vehicle) 175 250		Test article-related mortality at 175 mg/kg/day in 1 M (euthanized on Day 3 after showing decreased general activity, tremors and cold extremities) and 1 F (found dead on Day 1 at 2 hours postdose; clonic convulsions and decreased general activity were observed on Day 0 at 7 hours postdose and preceding death on Day 1 at 2 hours postdose) main phase animal; and at 250 mg/kg/day in 2 M (Day 0 and Day 3) TK phase animals. ≥ 175 mg/kg/day: Clin. Obs.: ↓ general activity (M&F), abnormal respiration (M), ptosis (F, 250 mg/kg). Hematology: ↓ HGB (M), ↓ HCT (M), ↓ MCV (F), ↑ reticulocytes (M&F), ↑ platelets (M&F), ↑ neutrophils (F); Clin.Chemistry: ↓ cholesterol (M&F), ↑ globulin (M&F), ↓ A/G ratio (M&F), ↑ ALT (M&F, up to 2.8-fold), ↑ AST (F, 1.4-fold at 250 mg/kg), ↑ ALP (M, 2-fold), ↓ total and direct bilirubin (M&F); Necropsy/Histology: adrenal glands (↑ weight, dark discoloration, hypertrophy of zona fasciculata); liver (↑ weight, pale discoloration, swelling, prominent lobular pattern at necropsy, hepatocellular hypertrophy with hepatocellular vacuolation, necrosis and prominent mitoses), spleen (↑ weight, extramedullary hematopoiesis), thymus (↑ weight)	

(Continued)

2.6.7.10　B　がん原性試験：予備試験（続き）

Report Title: A 10-Day Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Mouse (Tolerability Study)　　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

	Dose (mg/kg/day)	Study Day	C_{max} (µg/mL) Apalutamide		M3		AUC_{0-24hr} (µg·hr/mL) Apalutamide		M3	
			M	F	M	F	M	F	M	F
RD1 phase	100	0	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
		9	17.6	25.9	12.3	12.0	175	262	186	179
RD3 phase	175	0	52.5	48.5	18.4	14.1	861	790	207	153
		9	30.0	32.2	17.6	18.3	195	248	244	235
RD3 phase	250	0	42.8	42.6	14.0	9.46	727	657	156	130
		9	31.1	35.2	21.4	20.6	210	283	246	255

[a] Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)
[b] Automatic dosing with metal gavage needle
[c] Manual dosing with a flexible plastic gavage needle to optimize the gavage procedure
[d] Demineralised water
A/G = albumin/globulin; ALP = alkaline phosphatase; ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; HCT = hematocrit; HGB = hemoglobin; MCV = mean cell volume; N/A = not available
$AUC_{0-24\,h}$ values on Day 0 are presented since only one AUC_{0-inf} value could be calculated with less than 25% extrapolation (*i.e.*817000 ng.h/mL for females at 250 mg/kg).

2.6.7.10　C　がん原性試験：予備試験

Report Title: A 14-day Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927-ZAH by Oral Gavage Administration in CByB6F1 Hybrid Mice　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain: CByB6F1 Hybrid mice　**Duration of Dosing:** 14 days　**Study No.:** TOX11241
Age at First Dose: 12 weeks　**Duration of Postdose:** None　**Location in CTD:** 4.2.3.4.2.3
Date of First Dose: [redacted]　**Route:** Orally (gavage)　**GLP Compliance:** No
Special Features: None　**Vehicle/Formulation:** Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)
No Observed Adverse Effect Level: 75 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Vehicle)**		**75**		**150**	
No. of Toxicokinetic Animals	M: 0	F: 0	M: 13	F: 13	M: 13	F: 13
Total Mortality	-	-	0	0	0[a]	1[a]
Test Article-Related Mortality	-	-	-	-	-	1
Toxicokinetics:						
JNJ-56021927	-	-				
C_{max} (µg/mL), Day 1	-	-	18.3	23.9	36.2	41.1
AUC_{0-24h} (µg·hr/mL), Day 1	-	-	342	428	759	761
C_{max} (µg /mL), Day 14			16.1	18.6	-	-
AUC_{0-24h} (µg·hr/mL), Day 14	-	-	160	213	-	-
JNJ-56142060 (M3)	-	-				
C_{max} (µg /mL), Day 1	-	-	2.78	3.21	7.56	8.05
AUC_{0-24h} (µg·hr/mL), Day 1	-	-	34.5	37.9	86.5	83.6
C_{max} (µg /mL), Day 14			10.0	6.85	-	-
AUC_{0-24h} (µg·hr/mL), Day 14	-	-	155	110	-	-
No. of Toxicity Animals	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Noteworthy Findings						
Total Mortality	1	1	0	1	0[a]	0[a]
Test Article-Related Mortality	0	0	-	0	-	-
Body Weight (g)	-	-	-	-	[b]	[b]
Body Weight Gain (g)	-	-	-	-	[b]	[b]
Food Consumption (g/day)	-	-	-	-	[b]	[b]

- No noteworthy findings
[a] One TK 150 mg/kg/day female was found dead on Day 3 and all remaining 150 mg/kg/day animals were sacrificed on Day 3 due to adverse clinical signs.
[b] The 150 mg/kg/day animals sacrificed on Day 3 had marked body weight loss (up to 11.3%) and poor food consumption.

(Continued)

Report Title: A 14-day Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927-ZAH by Oral Gavage Administration in CByB6F1 Hybrid Mice　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Vehicle)**		**75**		**150**	
No. of Animals	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Clinical Observations						
Decreased activity	1	0	-	-	6	3
Cold to touch	0	0	-	-	1	2
Hunched posture	0	0	-	-	5	3
Labored breathing	1	1	-	-	1	2
Shallow breathing	0	1	-	-	0	1
Ocular discharge	0	0	-	-	1	1
Eyelids partly closed	0	0	-	-	0	1
Hematology/Coagulation[a]						
Lymphocyte (10^3/μL)	3.58	2.98	2.01x	-	0.31x	0.35x
White blood cell count (10^3/μL)	4.45	3.60	1.98x	-	-	0.51x
Eosinophil (10^3/μL)	0.18	0.08	-	-	0.33x	-
Neutrophil (10^3/μL)	0.56	0.45	1.95x	-	3.27x	-
Reticulocyte (10^9/L)	250.0	220.8	-	-	0.82x	0.76x
Red blood cell count (10^6/μL)	10.13	10.10	-	-	1.17x	1.06x
Hemoglobin (g//dL)	15.2	15.6	-	-	1.16x	1.05x
Hematocrit (%)	48.7	49.2	-	-	1.15x	1.05x
Serum Chemistry[a]						
Total Protein (g/dL)	4.3	4.3	-	-	0.88x	0.91x
Albumin (g/dL)	2.6	2.7	-	-	0.85x	0.93x
Glucose (mg/dL)	221	294	-	-	0.69x	-
Triglyceride (mg/dL)	75	78	-	2.19x	0.52x	-
Alanine Aminotransferase (U/L)	23	34	2.57x*	2.71x	-	1.44x
Urea nitrogen (mg/dL)	19	17	-	-	1.37x	-
Creatinine (mg/dL)	0.1	0.1	-	-	3.00x	-
Phosphorus (mg/dL)	6.9	8.5	-	-	1.87x	-
Sodium (mEq/L)	151	151	-	-	1.04x	-
Chloride (mEq/L)	115	117	-	-	1.03x	-
Alkaline phosphatase (U/L)	52	83	2.33x***	-	-	-
Cholesterol (mg/dL)	111	86	0.65x**	-	-	-

[a] At end of dosing period for controls and 75 mg/kg/day group. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control calculated to 2 decimal places are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control). The Day 15 hematology for males and serum chemistry for females were excluded from statistical analysis because the number of animals per group was less than 3. The 150 mg/kg/day animals euthanized early on Day 3 were compared with the control group values on Day 15.

- No noteworthy findings

Dunn/Dunnett: * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$

(Continued)

2.6.7.10　C　がん原性試験：予備試験（続き）

Report Title: A 14-day Repeated Dose Toxicity Study of JNJ-56021927-ZAH by Oral Gavage Administration in CByB6F1 Hybrid Mice　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Daily Dose (mg/kg/day)	**0 (Vehicle)**		**75**		**150**	
No. of Animals	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Organ Weights[a,b,c]						
No. of examined animal	6	6	6	5		
Liver (g)	1.274	1.094	1.894x***	1.788***	[c]	[c]
Thymus (g)	0.029	0.042	1.916x**	1.135x	[c]	[c]
Epididymis (g)	0.088	NA	0.780x***	NA	[c]	[c]
Gross Pathology						
No. of examined animal	5	5	6	5	6	6
Whole body – decreased adipose tissue[d]	0	0	0	1	0	1
Histopathology						
No. of examined animal	6	6	6	6	6	6
Liver – hypertrophy, hepatocellular						
Minimal	0	0	6	4	2	1
No. of examined animal	6	6	6	6	5	6
Adrenal glands - hypertrophy						
Minimal	0	1	2	5	1	1
Mild	0	0	4	1	4	5

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control).
[b] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates multiple of control for the absolute organ weights.
[c] Organ weights were collected from all high-dose animals (early sacrificed on Day 3), however, due to significant difference in body weights as well as age of these animals, a definite comparison of difference in organ weights could not be made.
[d] This finding was observed in dead animal.
NA = not applicable
Dunn/Dunnett: ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$

2.6.7.11　生殖発生毒性試験

重要な試験以外の試験

Test Article: JNJ-56021927

No embryo-fetal development studies were conducted based on the intended clinical use of apalutamide in adult male individuals with CRPC.

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

Report Title: Oral Fertility Study in the Male Rat　　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Design Similar to ICH 4.1.1? Yes	**Duration of Dosing:**	**Study No.:** TOX10913
Species/Strain: Male Rat/SPF Sprague-Dawley (Crl: CD®)	Subset I males: 4 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.5.1.1
Age at First Dose: at least 9 weeks	Subset II males: 4 weeks prior to and throughout the first 10-day pairing period.	**GLP Compliance:** Yes
	Recovery: Subset II males kept untreated for 8 weeks	
Date of First Dose: [redacted]	**Day of Mating:** Day 0 of pregnancy	
Special Features: None	**Day of C-Section:** Day 14 for untreated females	
No Observed Adverse Effect Level:	**Route:** Orally (gavage)	
F_0 Males: 25 mg/kg/day for paternal and reproductive performance	**Vehicle/Formulation:** Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF, Capmul MCM EP, PEG400, VitE TPGS (10:45:30:15 % w/w/w/w)	

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**150**
Subset I males			
No. Evaluated	12	12	12
No. Died or Sacrificed Moribund#[a]	1	0	0
Clinical observations[a]	-	-	-
Body weight gain[b]	-	-	-
Food consumption[b]	-	-	-
Necropsy observations			
Coagulating glands (small)	0/11	2/12	11/12
Seminal vesicles (small)	0/11	2/12	11/12
Prostate (small)	0/11	1/12	5/12
Absolute organ weight (g)[b]			
Testis	-	-	-
Cauda epididymis	0.283	0.188***	0.165***
Total sperm count (million) [b]			
Testis	-	-	-
Cauda epididymis	185.2	125.8**	106.1***
Sperm motility [b]			
Progressive motile sperm (%)	60.3	-	54.8
Velocity Average Path (μm/s)	74.1	-	67.8*
Velocity Straight Line (μm/s)	51.1	-	46.0*
Curvilinear Velocity (μm/s)	145.7	-	129.4**
Sperm morphology[b]	-	-	-

- = no noteworthy finding
[a] Statistical analysis method used: Fisher Exact test.
[b] Statistical analysis method used: Mann-Whitney U test
* - p<0.05, ** - p<0.01, *** - p<0.001
# Incidental deaths/sacrifices (gavage related)

(Continued)

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

Report Title: Oral Fertility Study in the Male Rat　　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25**	**150**
Subset II males			
No. Evaluated	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund#[a]	0	2	1
Clinical observations[a]	-	-	-
Body weight gain[b]	-	-	-
Food consumption[b]	-	-	-
Pairing 1 (after 4 weeks treatment)			
No. of males that mated [a]	20	19	16
Copulation index (%) [a]	100	100	80*
Mean No. days prior to mating [b]	2.60	2.37	2.50
Mean No. of copulation plugs	4	1.16	0.06
No. of fertile males [a]	19	19	13
Fertility index (%) [a]	95	100	81.2
Litter data [b]			
Pre-implantation loss	8.81	-	25.53
Post-implantation loss	6.20	-	14.81
Pairing 2 (after 8 weeks recovery)			
No. of males that mated [a]	20	18	19
Copulation index (%) [a]	100	100	100
Mean No. days prior to mating [b]	2.80	2.78	3.53
No. of fertile males [a]	19	18	19
Fertility index (%) [a]	95	100	100
Necropsy observations	-	-	-
Weight of the testis & epididymis (g)	-	-	-
Sperm concentration (millions/g) [b]			
Testis	-	-	-
Cauda epididymis	-	-	-
Sperm motility [b]	-	-	-
Sperm morphology [b]	-	-	-
Litter data [b]	-	-	-

- = no noteworthy finding

[a] Statistical analysis method used: Fisher Exact test.

[b] Statistical analysis method used: Mann-Whitney U test

* - $p<0.05$

Incidental deaths/sacrifices (gavage related)

2.6.7.13　生殖発生毒性試験 - 胚・胎児発生に関する試験

Test Article: JNJ-56021927

No embryo-fetal development studies were conducted based on the intended clinical use of apalutamide in adult male individuals with CRPC.

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

Test Article: JNJ-56021927

No pre- and postnatal development studies were conducted based on the intended clinical use of apalutamide in adult male individuals with CRPC.

2.6.7.15　生殖発生毒性試験 - 新生児を用いた試験

Test Article: JNJ-56021927

No studies in juvenile animals were conducted based on the intended clinical use of apalutamide in adult male individuals with CRPC.

2.6.7.16　局所刺激性試験

Test Article: JNJ-56021927

The oral route is the intended route of administration for apalutamide in individuals with CRPC. Assessment of local tolerance was part of the general toxicology studies in rats and dogs. All toxicology studies were performed via oral (gavage or capsule) administration.

2.6.7.17　A　その他の毒性試験：不純物

Report Title: JNJ-56021927-AAA: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat (Impurity Evaluation)　**Test Article:** JNJ-56021927-AAA

Species/Strain: Male Rat [Sprague-Dawley (Crl: CD®)]
Age at First Dose: 8-9 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Special Features: Toxicity was observed during the first 3 days at 150 mg/kg/day (both spiked and non-spiked groups). Dosing was stopped for 2 days and resumed at 100 mg/kg/day from Day 5 onwards for the remainder of the study.

Duration of Dosing: 1 month
Duration of Postdose: -
Route: Orally (gavage)
Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)

Study No.: TOX11086
Location in CTD: 4.2.3.7.6.1
GLP Compliance: Yes

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)	25 (Non-Spiked)	25 (Spiked at 1.2%)	150/100 (Non-Spiked)	150/100 (Spiked at 1.2%)
No. of Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	M:10
Toxicokinetics:					
JNJ-56021927					
C_{max} (µg/mL), Day 1	NA	NA	NA	26.1 (SD 150 mg/kg)	NA
AUC $_{0\text{-}24h}$ (µg·h/mL), Day 1	NA	NA	NA	502 (SD 150 mg/kg)	NA
C_{max} (µg/mL), Day 27	-	6.89	NA	30.3 (RD 150/100 mg/kg)	NA
AUC $_{0\text{-}24h}$ (µg·h/mL), Day 27	-	112	NA	510 (RD 150/100 mg/kg)	NA
JNJ-56142060 (M3)					
C_{max} (µg/mL), Day 1	NA	NA	NA	1.74 (SD 150 mg/kg)	NA
AUC $_{0\text{-}24h}$ (µg·h/mL), Day 1	NA	NA	NA	22 (SD 150 mg/kg)	NA
C_{max} (µg/mL), Day 27	-	0.218	NA	1.35 (RD 150/100 mg/kg)	NA
AUC $_{0\text{-}24h}$ (µg·h/mL), Day 27	-	3.97	NA	23.7 (RD 150/100 mg/kg)	NA
Noteworthy Findings					
Mortality	-	-	-	-	-
Clinical observation[#]	-	-	-	-	-
Body weight[#]	-	-	-	-	-
Food consumption[#]	-	-	-	-	-

- No noteworthy findings
[#] Clinical observations, body weight and food consumption effects observed after initial dosing at 150 mg/kg/day for 3 days are not depicted here.
RD = repeat-dose; SD = single dose; NA = not applicable

(Continued)

2.6.7.17　A　その他の毒性試験：不純物（続き）

Report Title: JNJ-56021927-AAA: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat (Impurity Evaluation)　**Test Article:** JNJ-56021927-AAA

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25 (Non-Spiked)**	**25 (Spiked at 1.2%)**	**150/100 (Non-Spiked)**	**150/100 (Spiked at 1.2%)**
No. of Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	M:10
Hematology[a]					
Red Blood cell count (10E6/µl)	8.6	0.949	0.926**	0.867***	0.834***
Haematocrit (%)	47.8	0.956	0.933*	0.906***	0.870***
Reticulocytes (%)	2.6	1.115	1.346	1.923***	2.038***
Reticulocytes (10E9/l)	220	1.055	1.279	1.669***	1.674***
Haemoglobin (g/dl)	15.2	0.961	0.941	0.908***	0.862***
Thrombocytes (10E3/µl)	1107.4	1.133	1.092	1.417***	1.534***
White blood cells (10E3/µl)	11.91	1.080	1.385*	1.367	1.373*
Large unstained cells (10E3/µl)	0.07	1.429	1.857	1.857*	1.857*
Lymphocytes (10E3/µl)	9.73	1.118	1.457**	1.423*	1.402*
Basophils (10E3/µl)	0.14	1.000	1.357	1.286	1.214
Coagulation[a]					
Prothrombin Time (s)	12.2	0.951	0.951*	0.918***	0.934**
Activated Partial Thromboplastin Time (s)	15.3	1.118	1.144**	1.105	1.072
Serum Chemistry[a]					
Total protein (g/dl)	5.98	1.020	1.032	1.077***	1.079***
Albumin (g/dl)	4.00	1.043	1.030	1.090***	1.095***
Cholesterol (mg/dl)	56.7	1.531***	1.617***	2.683***	2.473***
Creatinine (mg/dl)	0.22	1.091	1.182	1.227*	1.318***
Urinalysis[a]	-	-	-	-	-
Organ Weights[a,b]					
Terminal sacrifice group					
MEAN WEIGHT (g)					
ADRENAL GLANDS	0.06687	1.138	1.209	1.479**	1.408**
LIVER	9.65	1.063	1.069	1.382**	1.378**
PITUITARY GLAND	0.01395	1.145	1.123	1.201*	1.216*
SPLEEN	0.66739	0.993	1.109	1.275**	1.178
THYMUS	0.3691	1.263	1.521**	1.645**	1.504**
THYROID GLANDS	0.02258	1.077	1.225	1.301*	1.488**

- No noteworthy findings

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline). Dunnett's test

[b] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates multiple of control for the absolute organ weights.

Dunns's test * p<0.05, ** p<0.01, ***p<0.001

(Continued)

Report Title: JNJ-56021927-AAA: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat (Impurity Evaluation)　**Test Article:** JNJ-56021927-AAA

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25 (Non-Spiked)**	**25 (Spiked at 1.2%)**	**150/100 (Non-Spiked)**	**150/100 (Spiked at 1.2%)**
No. of Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	M:10
Organ Weights[a, b] (Continued)					
MEAN % BODY WEIGHT					
ADRENAL GLANDS (%body)	0.01791	1.137	1.190	1.505**	1.402**
LIVER (%body)	2.57	1.066	1.062	1.420**	1.381**
PITUITARY GLAND (%body)	0.00372	1.148	1.118	1.237**	1.223**
SPLEEN (%body)	0.17782	0.996	1.098	1.307**	1.179*
THYMUS (%body)	0.09871	1.256	1.499**	1.671**	1.505**
THYROID GLANDS (%body)	0.00598	1.094	1.216	1.346**	1.512**
MEAN % BRAIN WEIGHT					
ADRENAL GLANDS (%brain)	3.14	1.086	1.213*	1.449**	1.376**
LIVER (%brain)	454	1.015	1.069	1.355**	1.348**
PITUITARY GLAND (%brain)	0.65588	1.092	1.122	1.179*	1.190*
SPLEEN (%brain)	31.29	0.951	1.113	1.254**	1.155
THYMUS (%brain)	17.35	1.203	1.520**	1.614**	1.470**
THYROID GLANDS (%brain)	1.06	1.028	1.226	1.274*	1.462**
Gross Pathology					
Terminal sacrifice group					
Animals Examined	10	10	10	10	10
ADRENAL GLANDS					
- Swollen	0	1	1	6	5
PROSTATE					
- Small	0	8	8	10	10
COAGULATING GLAND(S)					
- Small	0	7	10	10	10
SEMINAL VESICLES					
- Small	0	8	10	10	10
THYMUS					
- Enlargement	0	1	2	3	4

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline). Dunnett's test

[b] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates multiple of control for the absolute organ weights. Dunns's test * $p<0.05$, ** $p<0.01$

(Continued)

2.6.7.17　A　その他の毒性試験：不純物（続き）

Report Title: JNJ-56021927-AAA: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat (Impurity Evaluation)　**Test Article:** JNJ-56021927-AAA

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25 (Non-Spiked)**	**25 (Spiked at 1.2%)**	**150/100 (Non-Spiked)**	**150/100 (Spiked at 1.2%)**
No. of Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	M:10
Histopathology					
Animals Examined	10	0	0	10	10
PITUITARY GLAND					
- Pituicyte vacuolation, pars distalis					
- Minimal/mild	0	NE	NE	9	10
PROSTATE					
- Atrophy					
- Minimal	0	NE	NE	6	5
- Moderate/marked	0	NE	NE	2	4
COAGULATING GLAND					
- Atrophy					
- Minimal/mild	0	NE	NE	10	8
- Moderate/marked	0	NE	NE	0	2
SEMINAL VESICLES					
- Atrophy					
- Mild	0	NE	NE	3	5
- Moderate/marked	0	NE	NE	7	5
MAMMARY GLAND					
- Tubule-alveolar morphology	0	NE	NE	10	9
ADRENAL GLAND					
- Hypertrophy, cortex (zona fasciculate)					
- Minimal/mild	0	NE	NE	10	10
THYMUS					
- Increased cellularity (cortical, medullary)					
- Minimal	0	NE	NE	1	1

NE = not examined

2.6.7.17　B　その他の毒性試験：不純物

Report Title: JNJ-56021927-ZAH: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat (Impurity evaluation)　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Species/Strain: Rat　**Duration of Dosing:** 4 weeks　**Study No.:** TOX10850
Age at First Dose: M: 7-8 weeks　**Duration of Postdose:** -　**Location in CTD:** 4.2.3.7.6.2
Date of First Dose: [redacted]　**Route:** Orally (gavage)　**GLP Compliance:** Yes
Special Features: None　**Vehicle/Formulation:** Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25 (Non-Spiked)**	**25 (Spiked at 0.56%)**	**100 (Non-Spiked)**	**100 (Spiked at 0.56%)**
No. of Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	M:10
Noteworthy Findings					
Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-	1/10
Not test article related					1/10
Body Weight[a]	-	-	-	-	-
Body Weight Gain[a]	-	-	-	-	-
Food Consumption[a]	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-
Haematology (venous blood)					
Haematocrit (%)	45.5	-	-	0.936*	0.941*
Reticulocytes (%)	2.4	-	-	1.667**	1.625**
Reticulocytes (10E9/L)	191.9	-	-	1.565**	1.588**
Haemoglobin (g/dL)	15.5	-	-	0.929*	0.942*
Thrombocytes (10E3/µL)	1037	-	-	1.370**	1.275*
White blood cells (10E3/µL)	11.56	-	1.183*	1.295*	1.341*
Lymphocytes (10E3/µL)	9.96	-	1.230*	1.342*	1.363*
Basophils (10E3/µL)	0.09	-	1.667*	1.778	1.778*
Large unstained cells (10E3/µL)	0.06	-	1.667**	2.833**	3.000**

(Continued)

2.6.7.17　B　その他の毒性試験：不純物（続き）

Report Title: JNJ-56021927-ZAH: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat (Impurity evaluation)　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25 (Non-Spiked)**	**25 (Spiked at 0.56%)**	**100 (Non-Spiked)**	**100 (Spiked at 0.56%)**
No. of Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	M:10
Coagulation[a]					
Prothrombine Time (s)	12	-	-	0.933*	0.925*
Act. Part. Thromb. Time (s)	16.7	-	1.048*	1.048*	-
Serum Chemistry[a]					
Total protein (g/dL)	5.83	-	-	1.110***	1.108***
Albumin (g/dL)	4.00	-	-	1.118***	1.143***
Cholesterol (mg/dL)	52.5	1.613***	1.550***	2.543***	2.615***
Creatinine (mg/dL)	0.23	-	-	1.304***	1.304***
Urinalysis[a]					
Specific gravity (Ratio)	1.029	1.000	1.000	1.009	1.010
Spermatozoa (Score)					
IS	1 / 10	1 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 9
0	5 / 10	2 / 10	1 / 10	2 / 10	2 / 9
1	4 / 10	4 / 10	3 / 10	2 / 10	0 / 9
2	0 / 10	3 / 10	6 / 10*	4 / 10	5 / 9*
3	0 / 10	0 / 10	0 / 10	2 / 10	2 / 9
Bilirubine crystals (Score)					
IS	1 / 10	1 / 10	0 / 10	0 / 10	0 / 9
0	9 / 10	9 / 10	10 / 10	1 / 10**	1 / 9**
1	0 / 10	0 / 10	0 / 10	1 / 10	1 / 9
2	0 / 10	0 / 10	0 / 10	1 / 10	1 / 9
3	0 / 10	0 / 10	0 / 10	7 / 10**	6 / 9**

(Continued)

Report Title: JNJ-56021927-ZAH: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat (Impurity evaluation)　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25 (Non-Spiked)**	**25 (Spiked at 0.56%)**	**100 (Non-Spiked)**	**100 (Spiked at 0.56%)**
No. of Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	M:10
Organ Weights (g)[a,b]					
Terminal sacrifice group					
MEAN WEIGHT					
FINAL BODY WEIGHT	332.6	1.017	1.004	0.972	0.978
ADRENAL GLANDS	0.0613	-	-	1.432**	1.317**
LIVER	8.88	-	-	1.327**	1.311**
PITUITARY GLAND	0.01396	-	-	1.217**	1.125
SPLEEN	0.74216	1.124	1.070	1.125	1.264
THYMUS	0.46495	1.374**	1.287*	1.275*	1.226
Gross Pathology					
Terminal sacrifice group					
Animals Examined	10	10	10	10	10
ADRENAL GLANDS					
- Swollen	0	1	-	6	4
PROSTATE					
- Small	0	10	10	10	9
COAGULATING GLAND(S)					
- Small	0	10	10	10	10
SEMINAL VESICLES					
- Small	0	10	10	10	10
THYMUS					
- Enlargement	1	5	6	2	2

(Continued)

2.6.7.17　B　その他の毒性試験：不純物（続き）

Report Title: JNJ-56021927-ZAH: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat (Impurity evaluation)　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25 (Non-Spiked)**	**25 (Spiked at 0.56%)**	**100 (Non-Spiked)**	**100 (Spiked at 0.56%)**
No. of Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	M:10
Histopathology					
ADRENAL GLANDS					
- No. Examined	10	1	0	10	10
- Hypertrophy zona fascicularis	0	-	-	6**	7**
Grade 1	0	-	-	6	7
BONE MARROW, STERNUM					
- No. Examined	10	0	0	10	10
- Hypercellularity	0	-	-	7**	9**
Grade 1	0	-	-	7	9
BONE MARROW, FEMUR					
- No. Examined	10	0	0	10	10
- Hypercellularity	0	-	-	7**	10**
Grade 1	0	-	-	7	10
LIVER					
- No. Examined	10	0	0	10	10
- Hypertrophy	0	-	-	3	3
Grade 1	0	-	-	3	3
MAMMARY GLAND(S)					
- No. Examined	10	0	0	9	9
- Feminization	0	-	-	9**	8**
PITUITARY GLAND					
- No. Examined	10	-	-	10	10
- Hypertrophy	0	-	-	10**	9**
Grade 1	0	-	-	3	2
Grade 2	0	-	-	7	7
PROSTATE					
- No. Examined	10	10	10	10	10
- Atrophy	0	10**	10**	10**	9**
Grade 1	0	1	1	-	-
Grade 2	0	6	6	3	8
Grade 3	0	3	3	7	1

(Continued)

2.6.7.17　B　その他の毒性試験：不純物（続き）

Report Title: JNJ-56021927-ZAH: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat (Impurity evaluation)　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25 (Non-Spiked)**	**25 (Spiked at 0.56%)**	**100 (Non-Spiked)**	**100 (Spiked at 0.56%)**
No. of Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	M:10
Histopathology (Continued)					
COAGULATING GLAND(S)					
- No. Examined	10	10	10	10	10
- Atrophy	0	10**	10**	10**	10**
Grade 1	0	1	-	-	1
Grade 2	0	5	8	3	4
Grade 3	0	4	2	7	5
SEMINAL VESICLES					
- No. Examined	10	10	10	10	9
- Atrophy	0	10**	10**	10**	9**
Grade 1	0	-	-	-	1
Grade 2	0	6	7	2	5
Grade 3	0	4	3	8	3
SPLEEN					
- No. Examined	10	2	0	10	10
- Increased extramedullary hemopoiesis	2	-	-	5	7*
Grade 1	2	-	-	5	7
TESTES					
- No. Examined	10	0	0	10	10
- Leydig cell hyperplasia	0	-	-	10**	10**
Grade 1	0	-	-	10	10
THYROID GLANDS					
- No. Examined	10	0	0	10	10
- Hypertrophy	1	-	-	8**	9**
Grade 1	1	-	-	4	6
Grade 2	0	-	-	4	3

- No noteworthy findings　IS: insufficient sample

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline).

[b] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates multiple of control for the absolute organ weights.

Mann-Whitney U test: * - $p<0.05$, ** - $p<0.01$, *** - $p<0.001$

2.6.7.17　C　その他の毒性試験：不純物

Report Title: A 28-Day Study of JNJ-56021927-AAA by Oral Gavage Administration in Male Rats (Impurity Evaluation) **Test Article:** JNJ-56021927-AAA

Species/Strain: Male Rat/Sprague Dawley
Age at First Dose: 8 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Special Features: None

Duration of Dosing: 28 days
Duration of Postdose: -
Route: Orally (gavage)
Vehicle/Formulation: Non-aqueous solution containing Acconon MC8-2 EP/NF: Capmul MCM EP: PEG-400 USP: Vitamin E TPGS NF (10:45:30:15% w/w/w/w)

Study No.: TOX12248
Location in CTD: 4.2.3.7.6.3
GLP Compliance: Yes

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25 (Non-Spiked)**	**25 (Spiked at 0.65%)**	**100 (Non-Spiked)**	**100 (Spiked at 0.65%)**
No. of Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	M:10
Noteworthy Findings					
Total Mortality	0	0	0	0	0
Test Article-Related Mortality	0	0	0	0	0
Body Weight (g)[a]	428.70	-	0.93x	0.87x***	0.93x
Body Weight Gain (g)[b]	173.10	-	144.10*	125.40***	144.80*
Food Consumption (g/day)[a]	29.86	-	-	0.84x***	0.92x[c]
Clinical Observations	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation [a]					
Red blood cell count (10^6/µL)	7.774	-	-	0.86x***	0.85x***
Hemoglobin (g/dL)	14.16	-	-	0.88x***	0.89x***
Hematocrit (%)	44.14	-	-	0.88x***	0.89x***
Red blood cell distribution width (%)	12.14	-	-	1.19x**	1.19x**
Reticulocyte count (10^9/L)	191.32	-	-	1.53x**	1.62x**
Platelet count (10^3/µL)	1042.00	-	-	1.28x***	1.38x***
Fibrinogen (mg/dL)	289.00	-	-	1.17x**	1.22x***
Serum Chemistry[a]					
Cholesterol	57.80	1.51x**	1.48x**	2.25x***	2.27x***

- No noteworthy findings
[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control).
[b] At end of dosing period. Actual mean values are shown.
[c] At Week 1, there was a decrease in food consumption (0.89x** of the control value, 28.16 g/day).
Dunn/Dunnett: * - $p \leq 0.05$, ** - $p \leq 0.01$, *** - $p \leq 0.001$

(Continued)

2.6.7.17　C　その他の毒性試験：不純物（続き）

Report Title: A 28-Day Study of JNJ-56021927-AAA by Oral Gavage Administration in Male Rats (Impurity Evaluation) **Test Article:** JNJ-56021927-AAA

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25 (Non-Spiked)**	**25 (Spiked at 0.65%)**	**100 (Non-Spiked)**	**100 (Spiked at 0.65%)**
No. of Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	M:10
Urinalysis	-	-	-	-	-
Organ Weights (g)[a,b]					
Prostate gland	0.8474	0.46x***	0.44x***	0.25x***	0.33x***
Epididymis	1.0654	0.72x***	0.74x***	0.62x***	0.55x***
Pituitary gland	0.01399	-	-	1.16x**	1.20x***
Adrenal gland	0.05611	-	-	1.44x***	1.53x***
Liver	10.9962	-	-	1.10x	1.22x***
Gross Pathology					
Prostate gland – small	0	8	8	10	9
Seminal vesicle gland – small	0	9	10	10	10
Epididymis – small	0	0	0	2	4
Adrenal gland - enlargement	0	0	0	1	1
Histopathology					
Prostate gland, Atrophy	0	8[c]	8[c]	10	10
Minimal	0	5	4	0	0
Mild	0	3	4	6	6
Moderate	0	0	0	3	3
Marked	0	0	0	1	1
Seminal vesicle gland, Atrophy	0	9[c]	10	10	10
Minimal	0	7	10	0	0
Mild	0	2	0	5	8
Moderate	0	0	0	4	2
Marked	0	0	0	1	0

- No noteworthy findings

[a] At end of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control).

[b] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated, except for the liver for the 100 mg/kg/day JNJ-56021927-AAA group which only differed for the relative to body weight. Number indicates multiple of control for the absolute organ weights.

[c] Only 8 of 10 animals examined for prostate gland and 9 of 10 animals examined for seminal vesicle.

Dunn/Dunnett: * - $p \leq 0.05$, ** - $p \leq 0.01$, *** - $p \leq 0.001$

(Continued)

2.6.7.17　C　その他の毒性試験：不純物（続き）

Report Title: A 28-Day Study of JNJ-56021927-AAA by Oral Gavage Administration in Male Rats (Impurity Evaluation)　**Test Article:** JNJ-56021927-AAA

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**25 (Non-Spiked)**	**25 (Spiked at 0.65%)**	**100 (Non-Spiked)**	**100 (Spiked at 0.65%)**
No. of Animals	M:10	M:10	M:10	M:10	M:10
Histopathology (Continued)					
Epididymis, Atrophy	0	NE	NE	8	8
Minimal	0	NE	NE	6	5
Mild	0	NE	NE	2	2
Moderate	0	NE	NE	0	0
Marked	0	NE	NE	0	0
Severe	0	NE	NE	0	1
Pituitary gland, Hypertrophy	0	NE	NE	10	10
Minimal	0	NE	NE	7	7
Mild	0	NE	NE	3	3
Adrenal gland, Hypertrophy, zona fasciculata	0	NE	NE	8	9
Minimal	0	NE	NE	8	9
Mammary Gland, Tubuloalveolar morphology	0[a]	NE	NE	5[a]	4[a]
Liver, Hypertrophy, hepatocellular	0	NE	NE	2	3
Minimal	0	NE	NE	2	3
Testis, Hyperplasia, interstitial (Leydig cell)	0	NE	NE	10	10
Minimal	0	NE	NE	10	9
Mild	0	NE	NE	0	0
Moderate	0	NE	NE	0	1
Bone Marrow, Increased hematopoiesis	0	NE	NE	10	10
Minimal	0	NE	NE	10	10

NE = not examined

[a] Only 9 of 10 animals examined for the control group and 5 of 10 animals examined for the 100 mg/kg/day groups.

2.6.7.17　D　その他の毒性試験：*In vitro* 光毒性試験

Report Title: Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay of ARN-509 and its Primary Metabolite ARN000308 in Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH JNJ-56142060 (M3)

Test System	Route	Concentration	Noteworthy Findings					Study No./ Location in CTD
Balb/c mouse 3T3 fibroblast	*In vitro*	JNJ-56021927: 10.6 mg/L JNJ-56142060 (M3): 10.0 mg/L (in 1% DMSO in DPBS)	Test Article	IC_{50} -UVR (mg/L)	IC_{50} +UVR (mg/L)	PIF	MPE	20020054/ 4.2.3.7.7.1.
			JNJ-56021927 (assay 1)	-	-	*1	0.009	
			JNJ-56021927 (assay 2)	-	-	*1	-0.032	
			JNJ-56142060 (M3) (assay 1)	-	-	*1	0.005	
			JNJ-56142060 (M3) (assay 2)	-	-	*1	-0.003	
			Chlorpromazine	35.85	1.584	22.632	0.403	

DPBS	Dulbecco's phosphate buffered saline supplemented with Ca^{2+} and Mg^{2+} ions
DMSO	dimethyl sulfoxide
IC_{50}	half-maximal inhibitory concentration
-UVR	without ultraviolet radiation exposure
+ UVR	with exposure to 5 J/cm^2 of UVA (315-400 nm) and from 19-22 mJ/cm^2 of UVB
-	IC_{50} was not achieved
*1	Both IC_{50}(-UVR) and IC_{50}(+UVR) could not be calculated (the test article does not show cytotoxicity without or with UVR exposure), this indicates a lack of phototoxic potential. In this case, a formal PIF = *1 is used to characterize the result.
MPE	Mean photo effect
PIF	Photo-irritancy factor

2.6.7.17　E　その他の毒性試験：マウスを用いた単回及び 28 日間投与毒性試験

Report Title: Acute and 28 Days Toxicology and Pharmacokinetic Testing of A52 in Mice　**Test Article:** JNJ-56021927 (A52)

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Mouse/B6D2F1					A52-mouse/ 4.2.3.7.7.2
A: M: 3/timepoint	A: Intravenous and orally (gavage)	A: Single dose	A: 20 mg/kg [oral: 0.5% HPMC; intravenous: 10 % Castor oil-PEG35, 5% Methanol]	A - intravenous and oral pharmacokinetics: T_{max} in mouse blood after oral administration was shown to be in the range of 1 to 4 hours postdose and oral bioavailability to be around 21%.	
B: M: 9/group (3/dose/timepoint)	B: Orally (gavage)	B: Single dose	B: 25, 50, 75, 100 and 150 mg/kg [0.5% HPMC]	B - single dose oral toxicokinetics range finding: The levels of JNJ-56021927 in plasma were measured at either 45, 60 or 90 minutes after drug administration. The concentration of JNJ-56021927 increased in a dose-related manner up to 100-150 mg/kg, at which level plasma concentration reached a plateau of 15-20 µg/mL.	
C: M: 20/group (5/dose/timepoint)	C: Orally (gavage)	C: 28 days	C: 50, 100 and 150 mg/kg bid [0.5% HPMC]	C - 28-day oral toxicokinetics range finding: The levels of JNJ-56021927 in plasma were measured 90 minutes after the first dose on Day of 1, 8, 15 and 28. While the plasma concentration of JNJ-56021927 at each time point increased in a dose–related manner up to 100-150 mg/kg bid, it reached a plateau of 20-30 µg/mL for a dose level of 100 mg/kg bid or above, and there was no accumulation of JNJ-56021927 in plasma after multiple days of dosing.	
D: M: 5/dose Recovery: 5/dose	D: Orally (gavage)	D 28 days + 28 days recovery	D: 0, 25, 50, 75, and 100 mg/kg bid [0.5% HPMC]	D - 28-day oral toxicity study: No mortality or morbidity. No clinical observations. No significant body weight loss. No drug-related changes on hematology or clinical chemistry. No drug-related lesions at histopathology. No adverse events were observed during either the 28-day oral dosing period or the 28-day observation period afterwards.	

bid = twice daily; HPMC = hydroxypropylmethyl cellulose; PEG = polyethylene glycol

2.6.7.17　F　その他の毒性試験：ウサギを用いた 28 日間投与毒性試験

Report Title: 28 Days Toxicology Testing of A52 in Rabbits　　**Test Article:** JNJ-56021927 (A52)

Species/Strain Sex/No. Per Group	**Route**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg/day)**	**Noteworthy Findings**	**Study No./ Location in CTD**
Rabbit/New-Zealand					A52-rabbit/ 4.2.3.7.7.3
A: M: 6/dose group	A: Orally (gavage)	A: 28 days	A: 8 mg/kg/day [0.5% HPMC]	A - 28-day plasma bioavailability study: The levels of JNJ-56021927 in plasma were measured 90 minutes after the first dose on Days 1, 8, 15 and 28. The plasma concentration of JNJ-56021927 for the duration of the whole study remained stably around 1-2 µg/mL, indicating that there was no accumulation of JNJ-56021927 in the blood after multiple doses.	
B: M: 6/dose group	B: Orally (gavage)	B: 28 days	B: 8 mg/kg/day [0.5% HPMC]	B - 28-day oral toxicity study: One rabbit died on day 13 of dosing due to a gavage accident as confirmed at necropsy. One rabbit was sacrificed on Day 17 of dosing after it became critically ill (loss of appetite, low activity and elevated body temperature); necropsy, clinical chemistry and pathology of the liver indicated the rabbit had contracted hepatitis, most likely of bacterial origin. All rabbits experienced some degree of weight loss (between 10-22%). On Day 14, rabbits showed leukocytosis and elevated liver enzyme levels (AST and ALT). At histopathology, liver lesions were visible in several of the rabbits and had characteristics of acute hepatitis of bacterial origin, although a causative agent could not be identified with certainty. No lesions directly attributable to drug treatment were reported. No adverse events were observed that were directly attributable to JNJ-56021927. However, all rabbits showed symptoms of hepatitis, although to varying degrees. The presence of a hepatic infection in the rabbit colony rendered the results of the study uninterpretable.	

ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; HPMC = hydroxypropylmethyl cellulose

2.6.7.17　G　その他の毒性試験：イヌを用いた 28 日間投与毒性試験及び 14 日間回復性試験

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with A52 in Beagle Dogs with a 14-Day Recovery Period　**Test Article:** JNJ-56021927-ZAH (A52)

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Dog/Beagle M: 5/group (+ 3 M for recovery in control, 30/20 and 60 mg/kg/day groups)	Intravenous and orally (gavage)	IV: SD Oral: 28 days	0, 10, 30/20, 60 and 10 (IV) [oral: 10% labrasol, 10% lactic acid, 10% soybean oil, in 50 mM phosphate buffer; IV: 2.5% lactic acid (v/v), 5% ethanol (v/v), 8% cremophor EL (w/v), in 25 mM phosphate buffer, pH 6 ± 0.5]	10 mg/kg/day: Mean body weight gain was decreased 25% relative to control. Serum chemistry changes included slightly increased glucose (Day 8) and slightly decreased triglyceride concentrations (Days 8, 15, and 29). Decreased organ weights in epididymis and testis at the end of the dosing phase. Prostate and epididymis was immature and testes were either peripubertal (few spermatids in testis, no spermatids in epididymis) or immature (no spermatids in testis or epididymis) at ≥ 10 mg/kg/day. Cellular debris in the lumina of seminiferous tubules and vacuolation of Sertoli cells occurred in several dogs. Duodenal glands were dilated. 30/20 mg/kg/day: Dosing was suspended on Days 15, 16 and 17 due to clinical signs of severe toxicity. On Day 18, the dose level was lowered to 20 mg/kg/day and animals were dosed at this level for the remainder of the dosing phase. Clinical signs included dilated pupils and intermittent or continuous tremors involving the hind legs and entire body and intermittent hind leg tremors and entire body tremors. Significant body weight loss occurred with decrease in food consumption. Serum chemistry changes included slightly increased glucose (Days 8 and 15), slightly decreased triglyceride concentrations (Days 8, 15, and 29) and moderately elevated ALP values (Day 29); all serum chemistry changes reversed by recovery Day 15. Decreased organ weights in epididymis and testis at the end of the dosing phase and in epididymis, testis and prostate at the end of the recovery phase. Microscopic findings in prostate, testis and epididymis as observed at 10 mg/kg/day. Slight bone marrow necrosis in femur and sternum was observed in one dog also showing minimal inflammation of the femur marrow. Duodenal glands were dilated. At the end of the recovery phase, prostate, testis and epididymis were immature and minimal dilatation of the glands in the duodenum was observed.	6925-103/ 4.2.3.7.7.4

(Continued)

2.6.7.17 G その他の毒性試験：イヌを用いた 28 日間投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（続き）

Report Title: 28-Day Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with A52 in Beagle Dogs with a 14-Day Recovery Period **Test Article:** JNJ-56021927-ZAH (A52)

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
				60 mg/kg/day: Dosing was suspended on Day 12 and for the remainder of the dosing phase due to clinical signs of severe toxicity. Three males were euthanized on Days 11, 12, and 15, respectively, due to severe test article-related clinical signs. Clinical observations included convulsions, intermittant or continuous tremors involving the hind legs, head and entire body, dialated pupils, and ataxia. Significant body weight loss occurred with decrease in food consumption. Slightly lower absolute reticulocyte and lymphocyte counts and higher RBC, HGB, and HCT in a few animals. Serum chemistry changes included slightly increased glucose (Days 8 and 15), slightly decreased triglyceride concentrations (Days 8, 15, and 29) and moderately elevated ALP values (Day 29). Slightly increased values for urea nitrogen, sodium, chloride, and magnesium were observed in one or few males (Day 12). Decreased organ weights in epididymis and testis at the end of the dosing phase. Microscopic findings in prostate, testis and epididymis as observed at 10 mg/kg/day. The majority of the treatment-related microscopic findings occurred in the unscheduled deaths. In addition, one dog had minimal inflammation of a small artery in the submucosa of the gall bladder, and minimal to slight inflammation of arteries in the submucosa of the colon and jejunum. Other findings were noted in the duodenum, bone marrow, liver, stomach and ileum. Intermittent vomiting and sporadic fecal changes were observed during the dosing phase in all groups, including control; therefore, these clinical signs were formulation vehicle-related. The results of this study were confounded by the lack of stability and homogeneity of the suspension formulations at Weeks 1, 2 and 4 as well as significant emesis, which may have contributed to highly variable plasma TK. C_{max} following oral administration at 10 mg/kg was 16.1 µg/mL and occurred at 4.5 hours post-dose. The dose-normalized bioavailability based on AUC was approximately 55.3%.	

ALP = alkaline phosphatase; HCT = hematocrit; HBG = hemoglobin; IV = intravenous(ly); RBC = red blood cells; SD = single-dose

2.6.7.17　H　その他の毒性試験：中間体

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物G* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物G*

Test for induction of: gene mutations
Strains: S. Typhimurium strains TA98, TA1537, TA100, TA1535 and TA102
Metabolizing System: Rat S9-mix
Vehicles:
For Test Article: DMSO
For Positive Controls: DMSO and saline
Treatment: *In vitro*
Cytotoxic Effects: Yes, all strains

No. of Independent Assays: 2
No. of Replicates: 3
Approximate No. of Bacteria Assayed/Dose: 10^8
Date of Treatment: [redacted] – [redacted]

Study No: TOX11448
Location in CTD: 4.2.3.7.7.5
GLP Compliance: Yes

			Assay 1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD)															
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration Level (µg/plate)**	**TA98**			**TA100**			**TA1535**			**TA1537**			**TA102**		
Without Activation	DMSO	0	11	±	1	93	±	13	10	±	5	9	±	2	258	±	5
	不純物G*	1.7	-			99	±	11	-			-			-		
		5.4	-			86	±	13	-			-			-		
		17	-			88	±	5	-			-			-		
		52	16	±	4	105	±	9	8	±	4	9	±	4	276	±	10
		164	19	±	1	96	±	20	9	±	3	7	±	2	269	±	5
		512	19	±	4	89	±	12	7	±	4	9	±	5	260	±	7
		1600	12	±	5	70	±	11	5	±	5	7	±	3	195	±	16 T
		5000	7	±	4 T	18	±	2 T	2	±	2 T	2	±	2 T	78	±	10 T
	2-Nitrofluorene	10	1200	±	33*	-			-			-			-		
	SodiumAzide	5	-			-			723	±	26*	-			-		
	ICR-191	2.5	-			-			-			828	±	42*	-		
	Methylmethane sulfonate	650	-			987	±	25*	-			-			-		
	Tert-butyl hydroperoxide	250	-			-			-			-			540	±	53*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
T: Toxic; -: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　H　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物G* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物G*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98			TA100			TA1535			TA1537			TA102		
With Activation (5% S9)	DMSO	0	18	±	3	104	±	13	12	±	3	8	±	3	327	±	16
	不純物G*	1.7	-			102	±	12	-			-			-		
		5.4	-			113	±	6	-			-			-		
		17	-			106	±	6	-			-			-		
		52	23	±	4	114	±	7	9	±	3	7	±	4	335	±	8
		164	23	±	4	115	±	5	6	±	1	8	±	5	314	±	17
		512	23	±	1	104	±	11	5	±	5	11	±	3	302	±	15
		1600	18	±	2	84	±	4	10	±	4	9	±	5	222	±	14
		5000	11	±	4 T	33	±	9 T	3	±	2 T	4	±	1 T	112	±	13 T
	2-Amino-anthracene	1	930	±	52*	1732	±	7*	-			-			-		
	2-Amino-anthracene	2.5	-			-			193	±	11*	312	±	26*	-		
	2-Amino-anthracene	10	-			-			-			-			875	±	44*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
T: Toxic; -: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　H　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物G* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物G*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (μg/plate)	Assay 2 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation	DMSO	0	14 ± 5	59 ± 15	7 ± 1	5 ± 2	268 ± 16
	不純物G*	275	10 ± 6	64 ± 9	4 ± 1 T	3 ± 2	251 ± 19
		492	14 ± 2	70 ± 3	3 ± 2 T	3 ± 2	250 ± 5
		878	16 ± 6	60 ± 9	4 ± 1 T	3 ± 2	236 ± 19
		1568	13 ± 2	60 ± 12	2 ± 1 T	5 ± 1	184 ± 7 T
		2800	17 ± 4	42 ± 4 T	3 ± 2 T	2 ± 2 T	124 ± 4 T
		5000	7 ± 7 T	6 ± 2 T	2 ± 2 T	2 ± 2 T	72 ± 14 T
	2-Nitrofluorene	10	1450 ± 119*	-	-	-	-
	SodiumAzide	5	-	-	-	674 ± 71*	-
	ICR-191	2.5	-	-	781 ± 86*	-	-
	Methylmethane sulfonate	650	-	766 ± 103*	-	-	-
	Tert-butyl hydroperoxide	250	-	-	-	-	669 ± 20*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
T: Toxic; -: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　H　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物G* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物G*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 2 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98			TA100			TA1535			TA1537			TA102		
With Activation (10% S9)	DMSO	0	22	±	6	85	±	7	5	±	4	7	±	3	359	±	23
	不純物G*	275	19	±	3	83	±	14	5	±	2	6	±	2	320	±	19
		492	22	±	5	80	±	4	5	±	1	7	±	3	306	±	28
		878	26	±	7	55	±	19 T	6	±	2	5	±	2	301	±	45
		1568	23	±	6	50	±	2 T	3	±	2	2	±	2 T	240	±	4 T
		2800	18	±	2	36	±	9 T	3	±	1	5	±	4	198	±	9 T
		5000	12	±	2 T	3	±	3 T	2	±	1 T	0	±	1 T	114	±	3 T
	2-Amino-anthracene	1	501	±	35*	-			-			-			-		
	2-Amino-anthracene	2	-			1042	±	65*	-			-			-		
	2-Amino-anthracene	2.5	-			-			121	±	14*	-			-		
	2-Amino-anthracene	5	-			-			-			404	±	53*	-		
	2-Amino-anthracene	10	-			-			-			-			918	±	38*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
T: Toxic; -: Not Applicable

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17 I その他の毒性試験：中間体

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物H* in the Bacterial Reverse Mutation Assay **Test Article:** 不純物H*

Test for induction of: gene mutations
Strains: S. Typhimurium strains TA98, TA1537, TA100, TA1535 and TA102
Metabolizing System: Rat S9-mix
Vehicles:
For Test Article: DMSO
For Positive Controls: DMSO and saline
Treatment: *In vitro*
Cytotoxic Effects: Yes, tester strain TA102

No. of Independent Assays: 3
No. of Replicates: 3
Approximate No. of Bacteria Assayed/Dose: 10^8
Date of Treatment: [redacted]
Genotoxic Effects: No

Study No: TOX11452
Location in CTD: 4.2.3.7.7.6
GLP Compliance: Yes

			Assay 1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD)														
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration Level (µg/plate)**	**TA98**			**TA100**			**TA1535**			**TA1537**			**TA102**		
Without Activation	DMSO	0	20	±	4	54	±	10	10	±	4	6	±	1	326	±	17
	不純物H*	1.6	-			57	±	16	-			-			-		
		5.1	-			60	±	13	-			-			-		
		16	-			60	±	5	-			-			-		
		49	26	±	5	62	±	3	12	±	5	7	±	2	330	±	7
		155	23	±	3	74	±	1	11	±	2	8	±	7	321	±	10
		483	20	±	4	53	±	12	10	±	2	4	±	1	322	±	26
		1509	27	±	3	55	±	11	9	±	3	6	±	2	292	±	12
		4717	21	±	2	55	±	2	6	±	3	4	±	1	243	±	15 T
	2-Nitrofluorene	10	1636	±	188*	-			-			-			-		
	SodiumAzide	5	-			-			1212	±	52*	-			-		
	ICR-191	2.5	-			-			-			849	±	47*	-		
	Methylmethane sulfonate	650	-			924	±	34*	-			-			-		
	Tert-butyl hydroperoxide	250	-			-			-			-			1014	±	81*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
T: Toxic; -: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　I　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物H* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物H*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
With Activation (5% S9)	DMSO	0	33 ± 7	65 ± 22	14 ± 9	8 ± 1	356 ± 16
	不純物H*	1.6	-	66 ± 16	-	-	-
		5.1	-	60 ± 3	-	-	-
		16	-	77 ± 21	-	-	-
		49	35 ± 8	67 ± 3	9 ± 1	13 ± 2	389 ± 11
		155	39 ± 5	82 ± 2	7 ± 7	6 ± 3	332 ± 30
		483	26 ± 3	70 ± 15	11 ± 2	10 ± 4	354 ± 32
		1509	40 ± 8	65 ± 10	11 ± 4	8 ± 3	376 ± 15
		4717	29 ± 11	64 ± 7	7 ± 3	5 ± 3	289 ± 30
	2-Amino-anthracene	1	1307 ± 96*	1254 ± 113*	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2.5	-	-	229 ± 8*	464 ± 29*	-
	2-Amino-anthracene	10	-	-	-	-	2013 ± 69*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
-: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　I　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物H* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物H*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (μg/plate)	Assay 2 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation	DMSO	0	16 ± 3	118 ± 5	6 ± 4	11 ± 6	250 ± 14
	不純物H*	492	17 ± 1	100 ± 9	8 ± 3	6 ± 1	265 ± 37
		878	11 ± 4	106 ± 8	6 ± 3	7 ± 4	233 ± 16
		1568	9 ± 5	110 ± 12	7 ± 7	4 ± 1	214 ± 78
		2800	15 ± 6	103 ± 6	9 ± 2	7 ± 4	242 ± 23
		5000	14 ± 3	114 ± 11	7 ± 3	8 ± 7	179 ± 13T
	2-Nitrofluorene	10	1521 ± 16*	-	-	-	-
	SodiumAzide	5	-	-	-	675 ± 45*	-
	ICR-191	2.5	-	-	793 ± 19*	-	-
	Methylmethane sulfonate	650	-	1014 ± 33*	-	-	-
	Tert-butyl hydroperoxide	250	-	-	-	-	533 ± 38*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
T: Toxic; -: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　I　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物H* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物H*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 2 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD)													
			TA98			TA100			TA1535			TA1537			TA102		
With Activation (10% S9)	DMSO	0	24	±	5	114	±	9	11	±	1	10	±	5	332	±	14
	不純物H*	492	26	±	5	94	±	10	10	±	4	13	±	6	352	±	27
		878	27	±	2	107	±	16	8	±	1	10	±	2	334	±	18
		1568	24	±	5	116	±	11	5	±	3	12	±	6	322	±	9
		2800	24	±	6	102	±	4	9	±	1	6	±	2	271	±	27
		5000	19	±	7	104	±	11	10	±	1	9	±	2	313	±	29
	2-Amino-anthracene	1	548	±	11*	-			-			-			-		
	2-Amino-anthracene	2	-			1503	±	164*	-			-			-		
	2-Amino-anthracene	2.5	-			-			153	±	18*	-			-		
	2-Amino-anthracene	5	-			-			-			550	±	111*	-		
	2-Amino-anthracene	10	-			-			-			-			1015	±	1*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
-: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　I　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物H* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物H*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 3 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation	DMSO	0	16 ± 6	98 ± 6	6 ± 4	5 ± 2	259 ± 3
	不純物H*	2500	11 ± 4	79 ± 5	7 ± 2	8 ± 6	198 ± 19 T
		5000	13 ± 5	83 ± 10	4 ± 3 T	4 ± 3	193 ± 27 T
	2-Nitrofluorene	10	1281 ± 47*	-	-	-	-
	SodiumAzide	5	-	-	677 ± 23*	-	-
	ICR-191	2.5	-	-	-	732 ± 92*	-
	Methylmethane sulfonate	650	-	687 ± 7*	-	-	-
	Tert-butyl hydroperoxide	250	-	-	-	-	439 ± 8*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and 1.7-fold increase with TA102 compared to the vehicle control

T: Toxic; -: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　I　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物H* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物H*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 3 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
With Activation (5% S9)	DMSO	0	27 ± 6	83 ± 17	8 ± 2	10 ± 2	286 ± 27
	不純物H*	2500	19 ± 5	91 ± 8	11 ± 2	9 ± 2	233 ± 15 T
		5000	18 ± 5	79 ± 8	7 ± 3	7 ± 3	213 ± 13 T
	2-Amino-anthracene	1	966 ± 92*	1045 ± 100*	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2.5	-	-	181 ± 20*	298 ± 40*	-
	2-Amino-anthracene	5	-	-	-	-	-
	2-Amino-anthracene	10	-	-	-	-	796 ± 52*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
T: Toxic; -: Not Applicable

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　J　その他の毒性試験：中間体

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物I* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物I*

Test for induction of: gene mutations
Strains: S. Typhimurium strains TA98, TA1537, TA100, TA1535 and TA102
Metabolizing System: Rat S9-mix
Vehicles:
For Test Article: DMSO
For Positive Controls: DMSO and saline
Treatment: *In vitro*
Cytotoxic Effects: No

No. of Independent Assays: 2
No. of Replicates: 3
Approximate No. of Bacteria Assayed/Dose: 10^8
Date of Treatment: [redacted]
Genotoxic Effects: No

Study No: TOX12105
Location in CTD: 4.2.3.7.7.7
GLP Compliance: Yes

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation	DMSO	0	18 ± 7	122 ± 8	9 ± 4	4 ± 1	341 ± 5
	不純物I*	1.7	-	110 ± 6	-	-	-
		5.4	-	126 ± 4	-	-	-
		17	14 ± 3	131 ± 12	8 ± 2	4 ± 1	283 ± 1
		52	21 ± 9	122 ± 15	11 ± 4	1 ± 2	293 ± 25
		164	16 ± 3	126 ± 16	9 ± 2	4 ± 3	291 ± 43
		512	16 ± 7	117 ± 13	11 ± 6	4 ± 2 P1	287 ± 10
		1600	11 ± 3 P1	139 ± 2 P1	12 ± 2 P1	5 ± 2 P2	286 ± 9 P1
		5000	P3	P3	P3	P3	P3
	2-Nitrofluorene	10	1369 ± 103*	-	-	-	-
	SodiumAzide	5	-	-	917 ± 44*	-	-
	ICR-191	2.5	-	-	-	869 ± 176*	-
	Methylmethane sulfonate	650	-	858 ± 90*	-	-	-
	Tert-butyl hydroperoxide	250	-	-	-	-	1215 ± 130*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
P1: Slight Precipitate; P2: Moderate Precipitate; P3: Heavy Precipitate (the bacterial background lawn and/or the number of revertants of this dose level could not be determined)
-: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　J　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物I* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物I*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
With Activation (5% S9)	DMSO	0	27 ± 8	122 ± 19	8 ± 3	4 ± 2	264 ± 19
	不純物I*	1.7	-	129 ± 17	-	-	-
		5.4	-	123 ± 9	-	-	-
		17	30 ± 5	123 ± 7	13 ± 3	3 ± 2	376 ± 15
		52	29 ± 2	131 ± 9	10 ± 4	6 ± 4	357 ± 14
		164	25 ± 7	96 ± 27	11 ± 7	3 ± 2	362 ± 9
		512	16 ± 7	126 ± 13	8 ± 2 P1	4 ± 4 P1	372 ± 30
		1600	16 ± 1 P1	140 ± 8 P1	7 ± 1 P1	3 ± 1 P1	370 ± 25 P1
		5000	P2	P2	P2	P2	P2
	2-Amino-anthracene	1	1514 ± 298*	1099 ± 40*	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2.5	-	-	266 ± 95*	453 ± 28*	-
	2-Amino-anthracene	10	-	-	-	-	1154 ± 87*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
P1: Slight Precipitate; P2: Moderate Precipitate
-: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　J　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物I* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物I*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (μg/plate)	Assay 2 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation	DMSO	0	17 ± 6	123 ± 20	10 ± 3	6 ± 4	237 ± 27
	不純物I*	86	17 ± 3	118 ± 16	11 ± 0	5 ± 3	234 ± 14
		154	23 ± 5	132 ± 16	12 ± 5	7 ± 3	232 ± 7
		275	21 ± 2	108 ± 19	11 ± 4	7 ± 4	211 ± 36
		492	16 ± 5	124 ± 11	12 ± 2	6 ± 1	240 ± 34
		878	14 ± 1 P1	127 ± 9 P1	7 ± 3 P1	6 ± 2 P1	257 ± 22 P1
		1568	15 ± 4 P1	144 ± 11 P1	8 ± 2 P1	3 ± 1 P1	228 ± 28 P1
	2-Nitrofluorene	10	1450 ± 148*	-	-	-	-
	SodiumAzide	5	-	-	913 ± 46*	-	-
	ICR-191	2.5	-	-	-	882 ± 120*	-
	Methylmethane sulfonate	650	-	969 ± 19*	-	-	-
	Tert-butyl hydroperoxide	250	-	-	-	-	529 ± 27*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
P1: Slight Precipitate
-: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　J　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物I* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物I*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 2 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
With Activation (10% S9)	DMSO	0	26 ± 5	142 ± 24	8 ± 4	3 ± 1	348 ± 30
	不純物I*	86	26 ± 7	133 ± 28	6 ± 2	9 ± 5	383 ± 27
		154	28 ± 8	114 ± 10	13 ± 2	7 ± 4	357 ± 22
		275	24 ± 3	109 ± 7	9 ± 4	6 ± 1	336 ± 27
		492	31 ± 5	128 ± 14	7 ± 4	9 ± 1	371 ± 45
		878	27 ± 11 P1	114 ± 12 P1	9 ± 2 P1	7 ± 2 P1	384 ± 34 P1
		1568	25 ± 2 P1	138 ± 10 P1	7 ± 3 P1	5 ± 5 P1	340 ± 44 P1
	2-Amino-anthracene	1	777 ± 33*	-	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2	-	1534 ± 138*	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2.5	-	-	272 ± 1*	-	-
	2-Amino-anthracene	5	-	-	-	575 ± 5*	-
	2-Amino-anthracene	10	-	-	-	-	877 ± 62*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
P1: Slight Precipitate
-: Not Applicable

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　K　その他の毒性試験：中間体

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物J* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物J*

Test for induction of: gene mutations
Strains: S. Typhimurium strains TA98, TA1537, TA100, TA1535 and TA102
Metabolizing System: Rat S9-mix
Vehicles:
For Test Article: DMSO
For Positive Controls: DMSO and saline
Treatment: *In vitro*
Cytotoxic Effects: Yes

No. of Independent Assays: 2
No. of Replicates: 3
Approximate No. of Bacteria Assayed/Dose: 10^8
Date of Treatment: [redacted]
Genotoxic Effects: No

Study No: TOX11449
Location in CTD: 4.2.3.7.7.8
GLP Compliance: Yes

			Assay 1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD)													
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration Level (µg/plate)**	**TA98**			**TA100**			**TA1535**			**TA1537**			**TA102**		
Without Activation	DMSO	0	9	±	2	129	±	17	4	±	1	4	±	1	245	±	20
	不純物J*	1.7	-			119	±	5	-			-			-		
		5.4	-			142	±	16	-			-			-		
		17	-			116	±	9	-			-			-		
		52	12	±	4	125	±	7	7	±	4	2	±	2	228	±	2
		164	10	±	5	114	±	5	5	±	3	3	±	1	237	±	15
		512	18	±	3	111	±	16	7	±	2	1	±	1	197	±	22
		1600	11	±	2	134	±	16	7	±	2	2	±	1	163	±	20
		5000	5	±	2	95	±	10	2	±	2	3	±	2	27	±	10
	2-Nitrofluorene	10	1469	±	181*	-			-			-			-		
	SodiumAzide	5	-			-			833	±	64*	-			-		
	ICR-191	2.5	-			-			-			862	±	138*	-		
	Methylmethane sulfonate	650	-			1236	±	68*	-			-			-		
	Tert-butyl hydroperoxide	250	-			-			-			-			952	±	251*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
-: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　K　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物J* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物J*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
With Activation (5% S9)	DMSO	0	15 ± 14	127 ± 17	6 ± 3	3 ± 1	299 ± 86
	不純物J*	1.7	-	123 ± 16	-	-	-
		5.4	-	126 ± 16	-	-	-
		17	-	136 ± 17	-	-	-
		52	12 ± 6	130 ± 7	8 ± 3	3 ± 1	331 ± 32
		164	12 ± 3	136 ± 29	4 ± 1	4 ± 2	328 ± 20
		512	15 ± 0	144 ± 8	6 ± 3	3 ± 2	331 ± 15
		1600	13 ± 2	129 ± 17	7 ± 3	3 ± 2	266 ± 28
		5000	10 ± 3	103 ± 3	5 ± 1	3 ± 1	135 ± 37
	2-Amino-anthracene	1	1013 ± 109*	1405 ± 29*	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2.5	-	-	205 ± 22*	291 ± 7*	-
	2-Amino-anthracene	10	-	-	-	-	1067 ± 92*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
-: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　K　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物J* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物J*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 2 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation	DMSO	0	13 ± 6	113 ± 6	7 ± 2	3 ± 0	229 ± 33
	不純物J*	275	10 ± 2	111 ± 12	7 ± 3	4 ± 1	-
		492	14 ± 10	117 ± 23	9 ± 2	6 ± 3	219 ± 15
		878	17 ± 10	120 ± 13	5 ± 5	4 ± 1	239 ± 14
		1568	16 ± 2	118 ± 4	7 ± 4	2 ± 2	161 ± 8
		2800	11 ± 1	113 ± 17	6 ± 2	1 ± 2	127 ± 8
		5000	6 ± 5	79 ± 8	5 ± 1	3 ± 1	55 ± 12
	2-Nitrofluorene	10	1728 ± 132*	-	-	-	-
	SodiumAzide	5	-	-	865 ± 110*	-	-
	ICR-191	2.5	-	-	-	901 ± 17*	-
	Methylmethane sulfonate	650	-	1273 ± 43*	-	-	-
	Tert-butyl hydroperoxide	250	-	-	-	-	619 ± 87*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
-: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　K　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物J* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物J*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 2 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
With Activation (10% S9)	DMSO	0	25 ± 6	105 ± 7	4 ± 3	7 ± 1	296 ± 42
	不純物J*	275	22 ± 3	99 ± 15	13 ± 2	2 ± 2	-
		492	24 ± 10	108 ± 14	10 ± 4	4 ± 2	312 ± 56
		878	19 ± 8	124 ± 6	8 ± 3	7 ± 4	344 ± 26
		1568	16 ± 2	128 ± 21	8 ± 3	5 ± 2	313 ± 25
		2800	18 ± 4	113 ± 21	8 ± 1	3 ± 2	226 ± 23
		5000	18 ± 3	109 ± 6	3 ± 3	5 ± 1	111 ± 19
	2-Amino-anthracene	1	489 ± 30*	-	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2	-	1346 ± 77*	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2.5	-	-	172 ± 10*	-	-
	2-Amino-anthracene	5	-	-	-	457 ± 43*	-
	2-Amino-anthracene	10	-	-	-	-	643 ± 78*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
-: Not Applicable

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　L　その他の毒性試験：中間体

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物K* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物K*

Test for induction of: gene mutations
Strains: S. Typhimurium strains TA98, TA1537, TA100, TA1535 and TA102
Metabolizing System: Rat S9-mix
Vehicles:
For Test Article: DMSO
For Positive Controls: DMSO and saline
Treatment: *In vitro*
Cytotoxic Effects: Yes, in all strains

No. of Independent Assays: 2
No. of Replicates: 3
Approximate No. of Bacteria Assayed/Dose: 10^8
Date of Treatment: [redacted]-[redacted]
Genotoxic Effects: No

Study No: TOX11451
Location in CTD: 4.2.3.7.7.9
GLP Compliance: Yes

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation	DMSO	0	11 ± 1	66 ± 11	8 ± 3	10 ± 1	246 ± 13
	不純物K*	1.7	-	65 ± 7	-	-	-
		5.4	-	65 ± 1	-	-	-
		17	-	69 ± 11	-	-	-
		52	10 ± 3	65 ± 3	5 ± 2	7 ± 4	253 ± 17
		164	17 ± 5	62 ± 6	6 ± 4	6 ± 1	231 ± 14
		512	13 ± 2	57 ± 4	7 ± 4	7 ± 3	218 ± 23
		1600	17 ± 5	59 ± 6	5 ± 2	8 ± 2	188 ± 26 T
		5000	5 ± 1 T	4 ± 4 T	2 ± 1 T	0 ± 0 T	122 ± 4 T
	2-Nitrofluorene	10	1139 ± 40*	-	-	-	-
	SodiumAzide	5	-	-	721 ± 55*	-	-
	ICR-191	2.5	-	-	-	737 ± 101*	-
	Methylmethane sulfonate	650	-	778 ± 86*	-	-	-
	Tert-butyl hydroperoxide	250	-	-	-	-	411 ± 27*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and 1.7-fold increase with TA102 compared to the vehicle control
T: Toxic; -: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　L　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物K* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物K*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
With Activation (5% S9)	DMSO	0	35 ± 4	71 ± 11	10 ± 4	8 ± 2	289 ± 35
	不純物K*	1.7	-	68 ± 5	-	-	-
		5.4	-	59 ± 15	-	-	-
		17	-	67 ± 10	-	-	-
		52	58 ± 41	69 ± 3	8 ± 3	6 ± 2	304 ± 15
		164	21 ± 8	62 ± 6	9 ± 1	8 ± 1	281 ± 25
		512	22 ± 10	60 ± 3	7 ± 3	6 ± 1	286 ± 14
		1600	29 ± 7	62 ± 10	9 ± 5	10 ± 2	258 ± 24
		5000	19 ± 3 T	20 ± 4 T	5 ± 2 T	1 ± 2 T	200 ± 10 T
	2-Amino-anthracene	1	981 ± 84*	397 ± 44*	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2.5	-	-	179 ± 17*	360 ± 16*	-
	2-Amino-anthracene	10	-	-	-	-	687 ± 30*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
T: Toxic; -: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　L　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物K* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物K*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (μg/plate)	Assay 2 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation	DMSO	0	16 ± 4	84 ± 5	4 ± 1	5 ± 3	245 ± 16
	不純物K*	312.5	14 ± 5	80 ± 3	8 ± 4	6 ± 1	236 ± 8
		625	18 ± 2	88 ± 7	4 ± 0	7 ± 4	237 ± 15
		1250	17 ± 5	96 ± 8	6 ± 1	10 ± 2	209 ± 18
		2500	28 ± 5	87 ± 6	7 ± 2	8 ± 7	207 ± 9
		5000	42 ± 6	10 ± 3 T	2 ± 3 T	1 ± 2 T	140 ± 2 T
	2-Nitrofluorene	10	1347 ± 55*	-	-	-	-
	SodiumAzide	5	-	-	-	757 ± 74*	-
	ICR-191	2.5	-	-	751 ± 66*	-	-
	Methylmethane sulfonate	650	-	857 ± 57*	-	-	-
	Tert-butyl hydroperoxide	250	-	-	-	-	669 ± 20*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
T: Toxic; -: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　L　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物K* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物K*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 2 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
With Activation (10% S9)	DMSO	0	24 ± 6	77 ± 5	9 ± 4	9 ± 5	319 ± 8
	不純物K*	312.5	28 ± 1	83 ± 15	9 ± 6	8 ± 4	284 ± 15
		625	25 ± 5	88 ± 8	6 ± 2	7 ± 4	319 ± 8
		1250	27 ± 3	97 ± 10	10 ± 3	4 ± 2	281 ± 14
		2500	33 ± 7	85 ± 12	10 ± 3	7 ± 4	284 ± 24
		5000	24 ± 4	45 ± 10 T	8 ± 6	4 ± 1 T	250 ± 30 T
	2-Amino-anthracene	1	522 ± 9*	-	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2	-	1343 ± 179*	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2.5	-	-	139 ± 8*	-	-
	2-Amino-anthracene	5	-	-	-	418 ± 62*	-
	2-Amino-anthracene	10	-	-	-	-	646 ± 50*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
T: Toxic; -: Not Applicable

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　M　その他の毒性試験：中間体

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物L* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物L*

Test for induction of: gene mutations
Strains: S. Typhimurium strains TA98, TA1537, TA100, TA1535 and TA102
Metabolizing System: Rat S9-mix
Vehicles:
For Test Article: DMSO
For Positive Controls: DMSO and saline
Treatment: *In vitro*
Cytotoxic Effects: Yes, tester strain TA1535, TA1537 and TA100

No. of Independent Assays: 3
No. of Replicates: 3
Approximate No. of Bacteria Assayed/Dose: 10^8
Date of Treatment: [redacted] – [redacted]
Genotoxic Effects: No

Study No: TOX11450
Location in CTD: 4.2.3.7.7.10
GLP Compliance: Yes

			Dose range finding test (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD)		
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration Level (µg/plate)**	**TA100**		
Without Activation	DMSO	0	75	±	15
	不純物L*	1.7	58	±	14
		5.4	62	±	7
		17	60	±	9
		52	67	±	16 P1
		164	42	±	6 P1
		512	40	±	2 P1
		1600	34	±	5 P1
		5000	42	±	14 P2
	Methylmethane sulfonate	650	761	±	82*

* more than 2-fold increase with TA100 compared to the vehicle control
P1: Slight Precipitation; P2: Moderate Precipitate

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　M　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物L* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物L*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Dose range finding test (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA100
With Activation (5% S9)	DMSO	0	65 ± 4
	不純物L*	1.7	70 ± 11 P1
		5.4	63 ± 5 P1
		17	61 ± 9 P1
		52	77 ± 10 P1
		164	56 ± 16 P1
		512	56 ± 8 P1
		1600	41 ± 6 P1
		5000	32 ± 5 P2
	2-Amino-anthracene	1	444 ± 28*

* more than 2-fold increase with TA100 compared to the vehicle control
P1: Slight Precipitation; P2: Moderate Precipitate

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　M　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物L* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物L*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (μg/plate)	Assay 1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation	DMSO	0	13 ± 2	76 ± 10	7 ± 4	6 ± 1	261 ± 15
	不純物L*	1.7	12 ± 3	66 ± 11	7 ± 4	6 ± 3	249 ± 5
		5.4	15 ± 1	76 ± 16	4 ± 2	11 ± 6	256 ± 6
		17	11 ± 1	61 ± 8	7 ± 2	7 ± 1	268 ± 13
		52	13 ± 1	67 ± 8	9 ± 1	3 ± 2	254 ± 18
		164	11 ± 4	67 ± 5	7 ± 2	7 ± 3	249 ± 9
		512	8 ± 3 T	77 ± 12	6 ± 4	6 ± 1	271 ± 21
	2-Nitrofluorene	10	1211 ± 20*	-	-	-	-
	SodiumAzide	5	-	-	642 ± 49*	-	-
	ICR-191	2.5	-	-	-	767 ± 96*	-
	Methylmethane sulfonate	650	-	834 ± 24*	-	-	-
	Tert-butyl hydroperoxide	250	-	-	-	-	614 ± 69*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
T: Toxic; -: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　M　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物L* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物L*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 1 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
With Activation (5% S9)	DMSO	0	17 ± 3	70 ± 4	18 ± 9	8 ± 4	322 ± 12
	不純物L*	0.18	22 ± 9	68 ± 6	7 ± 2	9 ± 4	312 ± 48
		0.55	19 ± 4	81 ± 11	4 ± 3	6 ± 1	302 ± 32
		1.7	17 ± 2	75 ± 9	9 ± 3	7 ± 3	281 ± 2
		5.4	19 ± 4	78 ± 5	9 ± 2	8 ± 4	315 ± 25
		17	19 ± 1	72 ± 20	8 ± 5	12 ± 4	289 ± 15
		52	13 ± 2	65 ± 16	10 ± 2	12 ± 7	304 ± 12
		164	17 ± 5	68 ± 8	7 ± 2	10 ± 5	312 ± 19
		512	17 ± 1	83 ± 13	11 ± 7	7 ± 3	310 ± 17
	2-Amino-anthracene	1	1319 ± 252*	1197 ± 107*	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2.5	-	-	197 ± 14*	351 ± 31*	-
	2-Amino-anthracene	10	-	-	-	-	767 ± 108*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
-: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　M　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物L* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物L*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 1A (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation	DMSO	0	22 ± 8	66 ± 9	6 ± 2	12 ± 5	322 ± 15
	不純物L*	512	24 ± 7	89 ± 12	8 ± 5	8 ± 0	318 ± 27
		1600	25 ± 7 P	58 ± 6 P	8 ± 5 P	9 ± 3 P	316 ± 39 P
		5000	21 ± 1 P	53 ± 3 P T	15 ± 1 P	10 ± 4 P T	325 ± 22 P
	2-Nitrofluorene	10	986 ± 153*	-	-	-	-
	SodiumAzide	5	-	-	714 ± 37*	-	-
	ICR-191	2.5	-	-	-	549 ± 15*	-
	Methylmethane sulfonate	650	-	586 ± 70*	-	-	-
	Tert-butyl hydroperoxide	250	-	-	-	-	467 ± 38*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and a 1.5-fold increase with TA102 compared to the vehicle control

P: Slight Precipitation; T: Toxic; -: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　M　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物L* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物L*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 1A (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
With Activation (5% S9)	DMSO	0	28 ± 3	86 ± 19	10 ± 2	11 ± 1	351 ± 20
	不純物L*	512	28 ± 5	89 ± 17	11 ± 5	12 ± 1	370 ± 4
		1600	30 ± 11 P	71 ± 14 P	15 ± 3 P	9 ± 2 P	338 ± 7 P
		5000	23 ± 4 P	49 ± 14 P T	10 ± 3 P	9 ± 5 P T	317 ± 65 P
	2-Amino-anthracene	1	1071 ± 170*	1390 ± 82*	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2.5	-	-	189 ± 12*	399 ± 51*	-
	2-Amino-anthracene	10	-	-	-	-	738 ± 148*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and TA102 compared to the vehicle control
P: Slight precipitation; T: Toxic; -: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　M　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物L* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物L*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (μg/plate)	Assay 2 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
Without Activation	DMSO	0	10 ± 4	99 ± 5	11 ± 1	10 ± 2	289 ± 11
	不純物L*	275	13 ± 6	99 ± 16	9 ± 2	7 ± 4	306 ± 14
		492	14 ± 6	121 ± 19	15 ± 1	8 ± 2	282 ± 5
		878	10 ± 3	96 ± 6	11 ± 5	7 ± 1	290 ± 14
		1568	13 ± 3 P	99 ± 10 P	6 ± 5 P T	6 ± 1	276 ± 40 P
		2800	16 ± 2 P	86 ± 11 P T	11 ± 2 P T	6 ± 2 P T	242 ± 5 P
	2-Nitrofluorene	10	1151 ± 120*	-	-	-	-
	SodiumAzide	5	-	-	759 ± 39	-	-
	ICR-191	2.5	-	-	-	617 ± 19*	-
	Methylmethane sulfonate	650	-	1002 ± 60*	-	-	-
	Tert-butyl hydroperoxide	250		-	-	-	530 ± 31*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and 1.8-fold increase with TA102 compared to the vehicle control

P: Slight Precipitation; T: Toxic; -: Not Applicable

(Continued)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17　M　その他の毒性試験：中間体（続き）

Report Title: Evaluation of the Mutagenic Activity of 不純物L* in the Bacterial Reverse Mutation Assay　**Test Article:** 不純物L*

Metabolic Activation	Test Article	Concentration Level (µg/plate)	Assay 2 (Plate Incorporation) Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
With Activation (12.5% S9)	DMSO	0	24 ± 8	113 ± 16	16 ± 7	10 ± 2	401 ± 14
	不純物L*	275	25 ± 5	127 ± 11	16 ± 3	12 ± 1	366 ± 15
		492	27 ± 3	120 ± 7	18 ± 6	9 ± 5	390 ± 28
		878	24 ± 5	114 ± 23	11 ± 6	10 ± 3	382 ± 32
		1568	23 ± 9 P	117 ± 14	9 ± 3	9 ± 2 P	356 ± 55 P
		2800	20 ± 2 P	113 ± 24 P T	9 ± 4 P T	8 ± 4 P	362 ± 21 P
	2-Amino-anthracene	1	400 ± 2*	-	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2	-	909 ± 41*	-	-	-
	2-Amino-anthracene	2.5	-	-	115 ± 3*	-	-
	2-Amino-anthracene	5	-	-	-	597 ± 105*	-
	2-Amino-anthracene	10	-	-	-	-	761 ± 62*

* more than 3-fold increase with TA98, TA1535 and TA1537 compared to the vehicle control, more than 2-fold increase with TA100 and 1.9-fold increase with TA102 compared to the vehicle control

P: Slight precipitation; T: Toxic; -: Not Applicable

*新薬承認情報提供時に置き換え