

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	9
2.6.6.3	反復投与毒性試験	12
2.6.6.4	遺伝毒性試験	28
2.6.6.5	がん原性試験	30
2.6.6.6	生殖発生毒性試験	35
2.6.6.7	局所刺激性試験	51
2.6.6.8	その他の毒性試験	51
2.6.6.9	考察及び結論	53
2.6.6.10	図表	62
2.6.6.11	参考文献	63

表

表 2.6.6- 1	ロキサデュスタットの毒性試験一覧	8
表 2.6.6- 2	SD ラット単回投与試験の死亡例, ヘマトクリット値及び曝露	10
表 2.6.6- 3	カニクイザル単回投与試験のトキシコキネティクス (経口及び静脈内投与)	11
表 2.6.6- 4	CD-1 マウスの 13 週間間歇投与試験におけるヘマトクリット値及びトキシコキネティクス	13
表 2.6.6- 5	CD-1 マウスの 13 週間間歇投与試験における, 死亡, ヘマトクリット値, 及びトキシコキネティクス	14
表 2.6.6- 6	SD ラットの 4 週間試験における, 死亡, ヘマトクリット値, 及びトキシコキネティクス	16
表 2.6.6- 7	SD ラットの 26 週間間歇投与試験における, 死亡, ヘマトクリット値, 及びトキシコキネティクス	19
表 2.6.6- 8	F344 ラットの 26 週間間歇投与試験における, 死亡, ヘマトクリット値, 及びトキシコキネティクス	22
表 2.6.6- 9	カニクイザルの 1 週間試験 (用量設定) におけるヘマトクリット値及び曝露	23
表 2.6.6- 10	カニクイザルの 4 週間試験におけるヘマトクリット値, 及びトキシコキネティクス	24
表 2.6.6- 11	カニクイザルの 22 週間間歇投与試験における, 死亡, ヘマトクリット値, 及びトキシコキネティクス	26

表 2.6.6- 12 カニクイザルの 52 週間間歇投与試験における, 死亡, ヘマトクリット値, 及びトキシコキネティクス	28
表 2.6.6- 13 CD-1 マウスのがん原性試験における腫瘍の要約.....	31
表 2.6.6- 14 CD-1 マウスのがん原性試験における, 死亡, ヘマトクリット値, 及びトキ シコキネティクス	32
表 2.6.6- 15 SD ラットのがん原性試験における腫瘍の要約.....	33
表 2.6.6- 16 SD ラットのがん原性試験における乳腺腫瘍所見	33
表 2.6.6- 17 SD ラットのがん原性試験における, 死亡, ヘマトクリット値, 及びトキシ コキネティクス.....	34
表 2.6.6- 18 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験における雄 SD ラットのトキ シコキネティクス	36
表 2.6.6- 19 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験での, 雌 SD ラットにおける 着床までの初期胚への影響及びトキシコキネティクス.....	37
表 2.6.6- 20 SD ラットの胚・胎児発生に関する試験における, ヘマトクリット値及びト キシコキネティクス	39
表 2.6.6- 21 NZW ウサギの胚・胎児発生に関する試験における, 流産, ヘマトクリット 値, 及びトキシコキネティクス	41
表 2.6.6- 22 SD ラットの PPN 試験における, 生存率, ヘマトクリット値, トキシコキネ ティクス, 及びロキサデュスタットの母乳中濃度.....	43
表 2.6.6- 23 SD ラットの乳母哺育試験における妊娠及び授乳期間中の母動物への投与デ ザイン	46
表 2.6.6- 24 SD ラットの乳母哺育試験における, 生存率, ヘマトクリット値, 鉄及び トキシコキネティクス (血漿及び母乳)	48
表 2.6.6- 25 異なる日齢の幼若 SD ラットにおける単回投与後の血漿中濃度.....	49
表 2.6.6- 26 幼若 SD ラットの用量設定試験における, 死亡, ヘマトクリット値, 及びト キシコキネティクス	51
表 2.6.6- 27 毒性試験のヘマトクリット値.....	54
表 2.6.6- 28 反復投与毒性試験の薬理的用量 (LOEL) における曝露量	55

略語及び用語の一覧

略語及び用語	定義
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC ₀₋₂₄	0 時間から 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
AUC ₀₋₄₈	0 時間から 48 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積
BUN	血中尿素窒素
CD-1	CD-1(ICR)
C _{max}	最高血漿中濃度
CMC	カルボキシメチルセルロース
DMSO	ジメチルスルホキシド
DRF	用量設定
EFD	胚・胎児発生
EPO	エリスロポエチン
ESA	赤血球造血刺激因子製剤
F344	Fischer 344
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
Hb	ヘモグロビン量
Hct	ヘマトクリット値
HIF	低酸素誘導因子
ICH	医薬品規制調和国際会議
LOEL	最小影響量
MCH	平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MCV	平均赤血球容積
MTD	最大耐量
NOAEL	無毒性量
NOEL	無影響量
NZW	New Zealand White
PBS	リン酸緩衝生理食塩水
PCE	多染性赤血球
PND	生後 (日数)
PPN	出生前及び出生後の発生
PS-80	ポリソルベート 80 (Tween 80)
PT	プロトロンビン時間
RBC	赤血球数
SD	Sprague Dawley
t _{1/2}	半減期
TIBC	総鉄結合能
TIW	週 3 回
t _{max}	最高血漿中濃度到達時間
UIBC	不飽和鉄結合能
UV	紫外線
VEGF	血管内皮増殖因子
WBC	白血球数

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ロキサデュスタットの臨床試験をサポートするため、開発プログラムの一環としてマウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルを用いた毒性試験を実施した。毒性試験は医薬品規制調和国際会議（ICH）の適切なガイドラインに準拠して実施し、主要な試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って実施した。ロキサデュスタットの毒性試験の一覧を表 2.6.6-1 に示す。

ロキサデュスタットの *in vivo* 安全性評価に用いる動物種としては、薬力学的反応、ヒト代謝物プロファイルとの一致の程度及び医薬品の非臨床安全性評価に適した動物種として規制当局に容認されていることに基づいて、ラット、マウス、ウサギ及びカニクイザルを選択した。

毒性試験として、ラット及びカニクイザルを用いた単回投与試験、マウス（13 週間）、ラット（4 及び 26 週間）及びカニクイザル（4、22 及び 52 週間）を用いた反復投与試験を実施した。ロキサデュスタットの遺伝毒性を、*in vitro* では復帰突然変異試験及び染色体異常試験、*in vivo* ではマウスを用いた小核試験で評価した。がん原性試験は、マウス及びラットを用いた 104 週試験を実施した。生殖発生毒性試験としては、ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生（EFD）に関する試験、並びにラットを用いた出生前及び出生後の発生（PPN）に関する試験及び乳母哺育試験を実施した。その他の毒性試験としては、光毒性試験及び FG-6484（ロキサデュスタットの光分解産物）の復帰突然変異試験に加え、ロキサデュスタットが腫瘍進行に影響を及ぼす可能性及び転移形成傾向を検討するため、腫瘍モデルマウスを用いた試験を実施した。さらに、今後、小児を対象とした開発を進めることを考慮して、幼若ラットを用いた用量設定試験を実施した。

ラット及びカニクイザルを用いた 4 週間反復投与毒性試験では、1 日 1 回経口投与とした。投与期間が 1 カ月を超えるその他の反復投与毒性試験、並びにがん原性試験、雌雄ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験及び幼若ラットを用いた試験では、臨床投与用法に従い投与は週 3 回（TIW）とした。また、EFD、PPN 及び乳母哺育試験では、ラット及びウサギの極めて急速な発生過程の期間にロキサデュスタットが十分に曝露されるように 1 日 1 回投与とした。

本項に述べる毒性試験では、特に指定しない限り、経口投与用のロキサデュスタットは標準的な溶媒である 0.5%カルボキシメチルセルロース（CMC）及び 0.1%ポリソルベート 80（PS-80）を含む脱イオン水を用いて懸濁液として調製し、静脈内投与用のロキサデュスタットは、リン酸緩衝生理食塩水（PBS）を用いて溶液として調製した。

ラットを用いた 300 mg/kg までの単回経口投与毒性試験では、ロキサデュスタットの最大非致死量は雄性ラットで 200 mg/kg、雌性ラットで 100 mg/kg であった。臨床病理所見に基づく無毒用量（NOAEL）は 30 mg/kg であった。カニクイザルでは、ロキサデュスタット単回投与時の忍容性は経口投与で 100 mg/kg、静脈内投与で 3 mg/kg の最高用量まで良好であった（2.6.6.2.1 SD ラット単回投与試験及び 2.6.6.2.2 カニクイザル単回投与試験（経口及び静脈内投与））。

ロキサデュスタットの反復経口投与毒性試験において、毒性は赤血球の産生及びクリアランスに関連する薬理作用の増強（赤血球造血亢進）に関連した変化が認められ、それらの変化が非臨床安全性試験の用量を制限する因子となった。

CD-1(ICR) (CD-1) マウスに 150 mg/kg までの用量を TIW13 週間投与した試験では、赤血球系パラメータの増加、脾臓の腫大、組織学的所見としての髄外造血、種々の器官のうっ血、骨髓過形成及び死亡が認められた(2.6.6.3.1 CD-1 マウスを用いた 13 週間間歇投与試験及び 2.6.6.3.2 CD-1 マウスを用いた 13 週間間歇投与試験、追加試験)。最大耐量 (MTD) は 100 mg/kg, NOAEL は 60 mg/kg であった。

ロキサデュスタットを 1 日 1 回 4 週間あるいは TIW26 週間投与したラットでは、薬理作用である赤血球造血亢進に関連した用量依存的な所見が観察された。ほとんどの所見では可逆性が明らかであったが、赤血球造血亢進に関連する一部の所見は、ラットの TIW26 週間投与試験で 4~6 週間の回復期間後も持続していた(2.6.6.3.4 SD ラットを用いた 26 週間間歇投与試験及び 2.6.6.3.5 F344 ラットを用いた 26 週間間歇投与試験)。Sprague Dawley (SD) ラットを用いた 1 日 1 回投与による 4 週間試験では、20 mg/kg 以上の用量で種々の臓器に病理組織学的所見が認められ、60 mg/kg では死亡例がみられたことから、NOAEL は 2 mg/kg, MTD は 20 mg/kg と判断された

(2.6.6.3.3 SD ラットを用いた 4 週間連日投与試験)。TIW26 週間投与試験の NOAEL は、雄性 SD ラットで 5 mg/kg 未満、雌性 SD ラットで 5 mg/kg (2.6.6.3.4 SD ラットを用いた 26 週間間歇投与試験)、Fischer 344 (F344) ラットで 15 mg/kg (2.6.6.3.5 F344 ラットを用いた 26 週間間歇投与試験) であった。

カニクイザルでは、30 mg/kg の 1 日 1 回 4 週間投与により、ヘマトクリット値 (Hct) は 60% を超える値にまで上昇したが、ロキサデュスタットに関連する組織学的所見は認められなかった

(2.6.6.3.7 カニクイザルを用いた 4 週間連日投与試験)。カニクイザルの TIW22 週間投与試験では、全ての用量群 (1 mg/kg 以上) で骨髓中の赤血球系過形成が認められ、30 mg/kg 以上の群では種々の臓器にうっ血が認められたが、これらの変化は、30 mg/kg までの用量を TIW52 週間投与した試験では認められなかった (2.6.6.3.8 カニクイザルを用いた 22 週間間歇投与試験及び 2.6.6.3.9 カニクイザルを用いた 52 週間間歇投与試験)。カニクイザルの TIW22 週間投与試験の NOAEL は、雄で 30 mg/kg, 雌で 40 mg/kg であった。TIW52 週間投与による NOAEL は 30 mg/kg であった。

過度の薬理作用の二次的な影響として、ラット及びカニクイザルともに、白血球数 (WBC) の減少、並びに鉄パラメータ、ビリルビン及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) の増加、時としてアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の増加が認められた。その他の臨床病理所見への影響は比較的軽微であり、標的臓器毒性は示唆されなかった。ラットの病理組織学的検査で、薬理作用の増強に関連する二次的な影響として、弁膜症 (主に房室弁)、並びに腎臓、肺及び消化管を含む複数の組織における炎症、出血及び壊死を伴う散在性の血栓塞栓性病変などが認められた。血栓塞栓症は、生理的濃度を超える Hct を示した動物でのみ観察された。

ロキサデュスタットの遺伝毒性を評価するために実施した一連の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験で影響が認められなかったことから、ロキサデュスタットは遺伝毒性誘発能を有していないと考えられる (2.6.6.4 遺伝毒性試験)。

CD-1 マウス及び SD ラットを用いたがん原性試験では、マウスにはロキサデュスタットを 0, 15, 30 及び 60 mg/kg の用量で TIW 最長 104 週間強制経口投与し、ラットには 0, 2.5, 5 又は 10 mg/kg の用量で TIW97 週間 (雌) 及び 104 週間 (雄) 投与した。その結果、ロキサデュスタットはがん原性を示さなかった (2.6.6.5 がん原性試験)。

SD ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験 (TIW 投与) では、剖検所見に基づいて、雌雄の一般毒性の NOAEL は 5 mg/kg であった。交尾能及び精子パラメータへの影響は認められず、雄授胎能及び初期胚発生の NOAEL は 30 mg/kg (検討した最高用量) であった。雌の 30 mg/kg 群では、性周期、交尾能及び受胎能への影響は認められなかったが、死亡胚及び着床後死亡の増加が認められたことから、雌受胎能及び初期胚発生の NOAEL は 15 mg/kg であった (2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験)。

SD ラットを用いた EFD に関する試験 (1 日 1 回投与) では、15 mg/kg まで母動物及び EFD に対する影響は認められなかった。30 mg/kg 群では、摂餌量の有意な減少が認められた。また、雌雄の平均胎児体重が減少し、雄胎児の平均胎盤重量が増加した。30 mg/kg 群では、明らかな外表、内臓及び骨格異常は認められなかったが、この動物種及び系統で一般的に認められる骨格変異である頸肋の発現率が増加した。母動物及び EFD の NOAEL はいずれも 15 mg/kg であった (2.6.6.6.2.2 SD ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験)。ロキサデュスタットを 100 mg/kg まで投与したウサギを用いた EFD に関する試験 (1 日 1 回投与) では、EFD への有害な影響は認められなかった。35 mg/kg 以上の群で流産の発現頻度が増加したこと、100 mg/kg 群で母動物の体重の減少及び摂餌量の減少が認められたことに基づいて、母動物及び EFD の NOAEL はそれぞれ 15 及び 100 mg/kg であった (2.6.6.6.2.4 NZW ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験)。

SD ラットを用いた PPN 試験では、10 mg/kg 以上の群の出生児に離乳前の死亡を伴う体重の有意な減少が認められた。また、5 mg/kg 以上の群で、出生児の発育抑制に関連すると考えられる発達遅延が複数の検査項目で認められた。母動物の NOAEL は 10 mg/kg であり、出生児に対する NOAEL は決定できなかった (2.6.6.6.3.1 SD ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験)。SD ラットを用いた 15 mg/kg の単一用量投与での乳母哺育試験では、出生児の生存率への最も顕著な影響が認められたのは出生後のみ乳汁を介してロキサデュスタットに曝露された出生児であったが、出生児体重の最も顕著な減少が認められたのは子宮内及び出生後にロキサデュスタットに曝露された出生児であった。脱水及び／又は哺乳・哺育不良などのロキサデュスタットに関連した一般状態への影響は、出生後のみロキサデュスタットに曝露された出生児に主に認められた (2.6.6.6.3.2 SD ラットを用いた乳母哺育試験)。

幼若ラットを用いた予備的な試験では、生後 15, 22, 29, 36, 43 及び 50 日にロキサデュスタットを単回投与した際の血漿中濃度は成熟ラットと同程度であったが、生後 15 日から TIW6 週間反

復投与した用量設定試験で成熟ラットと忍容性に差が認められ、30 mg/kg 以上の群で死亡及び体重減少が認められた (2.6.6.6.4 幼若動物毒性試験)。

In vitro 光毒性試験の結果が陰性であったことから、ロキサデュスタットは光毒性を示さないと考えられた (2.6.6.8.1.1 3T3 ニュートラルレッド取り込み試験)。ロキサデュスタットの光分解産物である FG-6484 の復帰突然変異試験の結果から、FG-6484 に変異原性は認められなかった (2.6.6.8.2.1 細菌を用いた復帰突然変異試験)。

腫瘍モデルを用いた探索的試験では、ロキサデュスタットの薬理作用を示す用量において、腫瘍進行への影響は認められなかった (2.6.6.8.3 腫瘍モデル試験)。

以上より、マウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルへのロキサデュスタットの投与により、全ての動物種において、赤血球造血亢進という薬理作用に関連した、用量依存的な血液学的影響が認められた。毒性所見としては、骨髄細胞数増加／過形成性変化 (ラット、マウス、サル)、脾臓の髄外造血 (マウス、ラット)、脾臓重量の増加 (ラット、マウス)、全身性のうっ血 (ラット、マウス)、鉄パラメータの変化 (サル)、弁膜症及び血栓塞栓症 (ラット) が認められたが、そのほとんどの所見は、赤血球造血亢進の直接的又は二次的な影響であると考えられる。所見はいずれも回復したか、回復傾向を示した。ロキサデュスタットは遺伝毒性及びがん原性を示さず、雌雄受胎能への影響はなく、母動物の無毒性用量において EFD に影響を及ぼさなかった。PPN 試験において、離乳前の F1 児体重が減少し、生存率が低下したことから、ロキサデュスタットは発生毒性を有することが示された。

表 2.6.6- 1 ロキサデュスタットの毒性試験一覧

Study type	Route of administration	Test System Species/Strain	GLP status	Study number (ISN No.)
Single-Dose Toxicity				
Single dose	Oral gavage	Rat/ SD	Yes	301_05_3510_018
Single dose	Nasogastric gavage; iv	Cynomolgus monkey	No	301_05_3510_020
Repeat-Dose Toxicity				
13W Repeat dose, TIW	Oral gavage	Mouse/ CD-1	Yes	301_06_3510_078
13W Repeat dose, TIW Additional	Oral gavage	Mouse/ CD-1	No	301_06_3510_083
4W Repeat dose, Daily	Oral gavage	Rat/ SD	Yes	301_05_3510_019
26W Repeat dose, TIW	Oral gavage	Rat/ SD	Yes	301_06_3510_088
26W Repeat dose, TIW	Oral gavage	Rat/ F344	Yes	352007004
1W Repeat dose, Daily	Nasogastric gavage	Cynomolgus monkey	No	301_05_3510_020
4W Repeat dose, Daily	Nasogastric gavage	Cynomolgus monkey	Yes	301_05_3510_021
22W Repeat dose, TIW	Oral gavage	Cynomolgus monkey	Yes	301_06_3510_082
52W Repeat dose, TIW	Nasogastric gavage	Cynomolgus monkey	Yes	301_06_3520_092
Genotoxicity				
Reverse mutation	In vitro	<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	Yes	301_05_3510_026
Chromosomal aberrations	In vitro	Cultured human lymphocytes	Yes	301_05_3510_027
In vivo micronucleus	Oral gavage	Mouse/ CD-1	Yes	301_05_3510_028
Carcinogenicity				
Carcinogenicity, TIW	Oral gavage	Mouse/ CD-1	Yes	352010016
Carcinogenicity, TIW	Oral gavage	Rat/ SD	Yes	352010015
Reproductive and Developmental Toxicity				
Fertility and early embryonic development to implantation, TIW	Oral gavage	Rat/ SD	Yes	352012001
Embryo-fetal development, dose range finding, Daily	Oral gavage	Rat/ SD	No‡	352009023
Embryo-fetal development, Daily	Oral gavage	Rat/ SD	Yes	352010001
Embryo-fetal development, dose range finding, Daily	Oral gavage	Rabbit/ NZW	No	352009028
Embryo-fetal development, Daily	Oral gavage	Rabbit/ NZW	Yes	352010002
Pre- and postnatal development, Daily	Oral gavage	Rat/ SD	Yes	352013012
Investigational cross-fostering study, Daily	Oral gavage	Rat/ SD	Yes	4150WR
Juvenile animal studies				
Juvenile study, preliminary, single dose	Oral gavage	Rat/ SD	No	1517-TX-0026
Juvenile study, dose range finding, TIW	Oral gavage	Rat/ SD	No	1517-TX-0027
Others				
Phototoxicity	In vitro	Balb/c 3T3 mouse fibroblasts	Yes	301_07_3520_108

Study type	Route of administration	Test System Species/Strain	GLP status	Study number
Photodegradant (FG-6484) Reverse mutation	In vitro	<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	Yes	352010018
Supplemental tumor studies:				
Effect on A549 Human Lung Tumors Xenograft Model, TIW	Oral gavage	Mouse/ CD-1 nu/nu	No	301_05_3030_040
Effect on Lewis Lung Carcinoma Model, TIW	Oral gavage	Mouse/ C57BL/6	No	301_05_3030_042 301_06_3030_073
Effect on OVCAR-3 Human Ovarian Carcinoma Xenograft Model, TIW	Oral gavage	Mouse/ CB.17 SCID	No	301_06_3030_084 301_07_3030_118
Effect on 786-O Human Renal Tumors Xenograft Model, TIW	Oral gavage	Mouse/ nu/nu	No	301_06_3030_099 301_07_3030_119
Effect on K562 Human Leukemia Tumors Xenograft Model, TIW	Oral gavage	Mouse/ CB.17 SCID	No	301_06_3030_100 301_07_3030_120
Effect on Bx-PC3 Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Tumors Xenograft Model, TIW	Oral gavage	Mouse/ nu/nu	No	301_10_3030_142
Effect on Orthotopic H460-GFP Human Lung Tumors Xenograft Model, TIW	Oral gavage	Mouse/ CD-1 nu/nu	No	301_05_3030_041 301_06_3030_072
Effect on Orthotopic HCT116-GFP Human Colon Tumors Xenograft Model, TIW	Oral gavage	Mouse/ CD-1 nu/nu	No	301_06_3030_074
Effect on Orthotopic MDA-MB-435 Human Breast Tumors Xenograft Model, TIW	Oral gavage	Mouse/ CD-1 nu/nu	No	301_06_3030_075 301_07_3030_117
Effect on B16-F10 Melanoma Metastasis Model, TIW	Oral gavage	Mouse/ B6D2F1	No	301-10-3030-140
Effect on Breast Tumor Incidence and Progression, TIW	Oral gavage	Mouse/ MMTV-Neu-YD	No	ON 2009 21 1

CD-1: Cr1:CD-1(ICR); *E. coli*: *Escherichia coli*; F344: F344/DuCr1; iv: intravenous; nu/nu: nude gene in homozygous; NZW: New Zealand White; SCID: severe combined immunodeficiency; SD: Sprague Dawley; *S. typhimurium*: *Salmonella typhimurium*; TIW: three times weekly.

‡: Chinese State Food and Drug Administration (SFDA) GLP.

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 SD ラット単回投与試験

添付資料 4.2.3.1-1

本 GLP 試験では、ロキサデュスタットを雌雄 SD ラットに単回強制経口投与し、毒性を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.5.1)。本試験は (米国) で実施した。

雌雄各 5 例のラットにロキサデュスタットを 0 (溶媒), 30, 100, 200 又は 300 mg/kg の用量並びに 10 mL/kg の投与容量で投与した。投与後、影響の可逆性、持続性及び遅発性を評価するため、

動物を 14 日間観察し投与後 15 日に安楽死させた。曝露を確認するため、投与後 2 時間に採血を行った。死亡、一般状態、体重、摂餌量、臨床病理及び解剖学的病理所見に基づいて毒性を評価した。

300 mg/kg 群では、投与後 3 日より一般状態の変化が認められ、これには背弯姿勢、削瘦、努力性及び／又は不整呼吸、冷感、被毛粗剛化及び活動低下（雌 1 匹）が含まれた。300 mg/kg 群の全ての動物は、投与後 4 日までに死亡したか、瀕死状態となり安楽死させた。200 mg/kg 群では、投与後 3 及び／又は 4 日に体重減少による削瘦が認められ、雌 1 匹は投与後 4 日に死亡が確認された。200 mg/kg 群の残りの動物は、投与後 15 日の試験終了時まで生存した。

100 mg/kg 以上（雄）及び 200 mg/kg 以上（雌）の群のラットに、著しい体重減少（投与後 1～3 日）が認められた。摂餌量の低下は、100 mg/kg 以上（雌雄）の群で投与後 1 及び 2 日に認められた。ロキサデュスタットを投与した生存ラットの 14 日間の平均総体重増加量は、溶媒対照群と同程度であった。

ロキサデュスタットの薬理作用と一致する所見として、投与後 4 日の血液学的検査により、全ての被験物質投与群で網状赤血球数の高値、並びに全ての被験物質投与群の雄において RBC、ヘモグロビン量（Hb）及び Hct の高値が認められた。また、単球数の増加が 100 mg/kg 以上、リンパ球の増加が 200 mg/kg 以上、WBC の増加が 300 mg/kg で認められた。

投与後 2 日の血液生化学検査では、100 mg/kg 以上の群で血中尿素窒素（BUN）、総蛋白（アルブミン及びグロブリンの高値による）、トリグリセリド及び総ビリルビンの増加並びにカリウム及び総コレステロールの減少が認められた。30 mg/kg 群では、総コレステロールの低値のみ認められた。

被験物質に関連した器官重量や剖検所見への影響は、いずれの用量群においても認められなかった。

血液生化学検査及び血液学的検査の変化はそれぞれ投与後 2 又は 4 日に認められ、投与後 15 日の検査では回復していた。単回投与後 15 日の網状赤血球数は 100 mg/kg 以上の群で減少し、血小板数は 100 mg/kg 群の雌及び 200 mg/kg 群の雌雄で減少した。

経口投与後 2 時間の平均血漿中濃度は 68～334 µg/mL であり、30～300 mg/kg の範囲では用量の増加に伴い増加した。雌雄間に曝露の差は認められなかった（表 2.6.6-2）。

表 2.6.6-2 SD ラット単回投与試験の死亡例、ヘマトクリット値及び曝露

Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		30		100		200		300			
Number of animals	5M	5F	5M	5F	5M	5F	5M	5F	5M	5F		
Mortality†	0	0	0	0	0	0	0	1	5	5		
Hematology (no of animals)	5M	5F	5M	5F	5M	5F	5M	4F	4M	3F		
Hematocrit (%)	Day 4		41.4	41.3	45.0*	43.2	45.8*	42.9	49.8*	45.2*	47.6	45.3*
Exposure (no of animals)	5M	5F	5M	5F	5M	5F	5M	5F	5M	5F		
C _{2h} (µg/mL)	Day 1		<0.01	<0.01	67.7	77.1	198	239	251	272	259	334

F: female; M: male. Day 1 is day of dosing.

†: mortality = died or sacrificed moribund animals.

*: P ≤ 0.05.

Source: [Study report 301_05_3510_018].

以上、ロキサデュスタットの MTD 及び最大非致死量は、雄ラットで 200 mg/kg、雌ラットで 100 mg/kg であった。血液生化学検査結果に基づく NOAEL は 30 mg/kg であった。

2.6.6.2.2 カニクイザル単回投与試験（経口及び静脈内投与）

添付資料 4.2.3.1-2 (参)

本非 GLP 試験では、ロキサデュスタットをカニクイザルに単回経口投与（経鼻胃管投与）又は静脈内投与し、毒性を評価した（2.6.7 毒性試験概要表、表 2.6.7.5.2）。本試験は [REDACTED]（米国 [REDACTED] [REDACTED]）で実施した。同じ試験の一部として実施した、サルを用いた 7 日間の用量設定（DRF）試験については、2.6.6.3.6 カニクイザルを用いた 1 週間連日投与試験、用量設定にて述べる。

雌雄各 1 匹のカニクイザルにロキサデュスタットを 0（溶媒）、3、30、60 又は 100 mg/kg の用量並びに 5 mL/kg の投与容量で単回経口投与するか、3 mg/kg の用量並びに 3 mL/kg の投与容量で単回静脈内投与した。一般状態、体重、摂餌量及び臨床病理所見に基づいて毒性を評価した。また、血漿中ロキサデュスタット濃度及び内因性エリスロポエチン（EPO）濃度も測定した。

投与に関連した死亡、一般症状の変化、体重及び摂餌量への影響は認められなかった。赤血球系パラメータに増加傾向が認められたが、全ての臨床病理パラメータは、総鉄量を除いて正常範囲内であった。ロキサデュスタットの単回経口投与後、検討した全ての用量で血漿中 EPO 濃度が上昇し、ロキサデュスタットの薬理作用を反映していた。単回投与後の血漿中ロキサデュスタット濃度は、雄では 3~100 mg/kg の範囲で用量の増加に伴って上昇した。雌では、3~60 mg/kg の範囲では曝露量が用量の増加に伴って増加したが、60 mg/kg 以上では曝露量が減少した（表 2.6.6-3）。3 mg/kg 静脈内投与群の雌雄各 1 匹からの絶対的バイオアベイラビリティの平均値は約 26% であった。

以上、カニクイザルへのロキサデュスタット単回投与時の忍容性は、経口投与では 100 mg/kg まで、静脈内投与では 3 mg/kg まで良好であった。

表 2.6.6-3 カニクイザル単回投与試験のトキシコキネティクス（経口及び静脈内投与）

Route of administration		Oral									IV		
		0 (Vehicle)		3		30		60		100		3	
Dose (mg/kg), single		1M	1F	1M	1F	1M	1F	1M	1F	1M	1F	1M	1F
Number of animals	Day 1	NC	NC	3.4	0.8	140	79.9	258.9	328.2	415.9	199.1	28.7	26.5
	Day 1	NC	NC	7.7	3.8	625	317	1609	2638	3563	1435	25.0	25.1
C_{max} ($\mu\text{g/mL}$)	Day 1	NC	NC	3.4	0.8	140	79.9	258.9	328.2	415.9	199.1	28.7	26.5
AUC_{0-96} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	Day 1	NC	NC	7.7	3.8	625	317	1609	2638	3563	1435	25.0	25.1

F: female; M: male; NC: not calculated.

Source: [Study report 301_05_3510_020].

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 CD-1 マウスを用いた 13 週間間歇投与試験

添付資料 4.2.3.2-1

この GLP 試験では、雌雄 CD-1 マウスに TIW13 週間強制経口投与したロキサデュスタットの毒性を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.7.1)。この試験は、XXXXXXXXXX (米国 XXXXXXXXXX) で実施した。

ロキサデュスタットを、0 (溶媒)、10、30、60、又は 80 mg/kg の用量並びに 10 mL/kg の投与容量で、対照群では雌雄各 15 匹及びその他の群では雌雄各 10 匹に TIW 投与した。同時に実施していた SD ラットの TIW26 週間投与試験 (2.6.6.3.4 SD ラットにおける 26 週間間歇投与試験) で死亡例が観察されたことから、投与 3 日に本試験の 80 mg/kg の用量を 45 mg/kg に減量した。毒性の評価は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、臨床病理、及び病理学的検査に基づいて行われた。対照群では雌雄各 6 匹及び被験物質投与群では雌雄各 48 匹に対し、同様に投与して投与 1 及び 89 日に血漿中薬物濃度を測定した。

体重増加量及び摂餌量に対して被験物質投与の影響は認められず、被験物質投与に関連した死亡も認められなかった。一般状態にも投与に関連した影響は観察されなかった。臨床病理検査では、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量 (MCH)、及び白血球数 (WBC) の有意な増加が 30 mg/kg 以上の群の雌で認められ、同群では、リンパ球数の増加も見られた。被験物質投与と関連した剖検所見は認められなかった。

脾臓重量の増加が 60 mg/kg 群 (軽微な髄外造血の亢進伴う) 及び 80/45 mg/kg 群の雌雄各 1 匹に認められた。

最高血漿中濃度 (C_{max}) 及び 0 時間から 24 時間までの血漿中濃度 - 時間曲線下面積 (AUC_{0-24}) はおおむね用量に比例して上昇し、試験期間中の C_{max} 及び AUC_{0-24} に明らかな変動は認められなかったことから、ロキサデュスタットは反復間歇投与後に蓄積性を示さないことが示された。 C_{max} 又は AUC_{0-24} に顕著な性差も認められなかった (表 2.6.6-4)。ロキサデュスタットの最高血漿中濃度到達時間 (t_{max}) 値は 0.50~1.00 時間で、平均消失半減期 ($t_{1/2}$) は 2.00~2.83 時間であった。ロキサデュスタットの $t_{1/2}$ は用量や反復投与により変動しなかった。

表 2.6.6-4 CD-1 マウスの 13 週間間歇投与試験におけるヘマトクリット値及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, TIW)		0 (Vehicle)		10		30		60		80/45	
Number of animals		15M	15F	10M	10F	10M	10F	10M	10F	10M	10F
Hematology (No. of animals)		6M	6F	5M	3F	5M	5F	5M	3F	5M	5F
Hematocrit (%)		53.1	56.8	59.5	55.3	57.0	55.6	55.0	58.7	54.2	55.3
Toxicokinetics † (no of animals)		6M	6F	48M	48F	48M	48F	48M	48F	48M	48F
C _{max} (µg/mL)	Day 1	NC	NC	26.8	29.5	83.4	82.7	125	151	144	165
	Day 89	NC	NC	31.9	25.8	64.4	69.1	130	132	96.8	129
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	Day 1	NC	NC	83.5	94.3	258	291	519	561	743	698
	Day 89	NC	NC	74.6	88.3	247	300	552	602	382	416

F: female; M: male; NC: not calculated.

†: Blood samples for toxicokinetic evaluation were collected from 3 animals per sex per time point.

Source: [Study report 301_06_3510_078].

以上、ロキサデュスタットを TIW13 週間経口投与したマウスにおける忍容性は、60 mg/kg まで良好であった。NOAEL は、最高用量である 60 mg/kg であった。

2.6.6.3.2 CD-1 マウスを用いた 13 週間間歇投与試験，追加試験

添付資料 4.2.3.2-2 (参)

この非 GLP 試験は、ロキサデュスタットの用量を増やし、雌雄 CD-1 マウスに TIW13 週間高用量で強制経口投与したロキサデュスタットの毒性を評価するために 13 週間の GLP 試験の追加試験として実施された (2.6.6.3.1 CD-1 マウスにおける 13 週間間歇投与試験) (2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験)。この試験は FibroGen Inc. (米国カリフォルニア州サンフランシスコ) で実施された。

ロキサデュスタットを 0 (溶媒)、60、100、又は 150 mg/kg の用量並びに 10 mL/kg の投与容量で、雌雄各 10 匹に TIW 投与した。毒性評価は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、臨床病理、及び病理学的検査に基づいて実施された。トキシコキネティクスに関する情報は、投与 1 日にサテライト動物 (雌雄各 3 匹 (溶媒投与群) 及び雌雄各 27 匹 (ロキサデュスタット投与群)) から得た。

ロキサデュスタット投与の結果、150 mg/kg 群の雄 2 匹 (動物番号 251M 及び 252M) を投与 88 日及び 91 日に安楽死させた。これらの動物は、削瘦、被毛粗剛、又は軽度の背弯姿勢、並びに腹部皮膚、舌、尾、及び足底部の淡紫～暗紫色変色を示した。これらの動物において認められた骨髄の細胞数増加 (252M) や脾臓での髓外造血亢進は被験物質投与によるものであった。さらに 3 匹 (60 mg/kg 群の雌雄各 1 匹及び 150 mg/kg 群の雄 1 匹) が死亡したが、投与過誤によるものであった。

体重増加量、体重、又は摂餌量に被験物質投与と関連する変化は認められなかった。60 mg/kg 群では被験物質投与に関連する一般状態の変化は観察されなかったが、100 及び 150 mg/kg 群においては、足、尾、腹部皮膚、及び舌における濃い暗赤～紫色の変色が認められた。

ロキサデュスタットを13週間経口投与した後の血液学的パラメータは、薬理作用と一致し、対照群と比較して変化した（表2.6.6-5）。100 mg/kg以上の群では、Hb, Hct, RBC, 及びMCVの有意な上昇が認められ、100 mg/kg以上の群の雄及び150 mg/kg群の雌では、平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）の上昇も観察された。100 mg/kg以上の群で、網状赤血球数率の有意な低下が認められた。60 mg/kg群では、Hb, Hct, MCV, 及びMCHの有意な上昇が雄で、MCV及びMCHの有意な上昇が雌で認められた。

その他の変化として、150 mg/kg群の雄で単球百分率及び絶対数の統計学的に有意な上昇が認められた。総ビリルビンの有意な上昇が、100 mg/kg群の雌及び150 mg/kg群の雌雄において認められた。総ビリルビンの上昇は、150 mg/kg群の雄を除き、この種及び系統での正常範囲内であった。

剖検所見として、100 mg/kg以上の群で脾臓の腫大が、150 mg/kg群で種々の器官のうっ血が認められた。脾臓重量及び脾臓/脳重量比は全ての用量で上昇し、100 mg/kg以上の群では統計学的にも有意に上昇していた。

病理組織学的検査では、60 mg/kg以上の群で、用量相関性の脾臓の髄外造血の亢進が脾臓重量の増加と相関して認められた。さらに、100 mg/kg以上の群では、副腎及び骨髄のうっ血が、150 mg/kg群では、全身臓器のうっ血及び骨髄過形成が認められた。

単回投与後のトキシコキネティクス解析では、明らかな性差はなく、AUC₀₋₄₈及びC_{max}は用量に比例して上昇（表2.6.6-5）し、t_{1/2}は3~4時間の範囲であった。

以上、ロキサデュスタットをTIW13週間経口投与したマウスにおける忍容性は、100 mg/kgまで良好であった。MTDは100 mg/kgであり、NOAELは60 mg/kgであった。

表 2.6.6-5 CD-1 マウスの13週間間歇投与試験における、死亡、ヘマトクリット値、及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, TIW)	0 (Vehicle)		60		100		150		
Number of animals	10M	10F	10M	10F	10M	10F	10M	10F	
Mortality†	0	0	1‡	1‡	0	0	3‡	0	
Hematology (no of animals)	10M	10F	9M	9F	10M	10F	7M	10F	
Hematocrit (%)	49.8	49.5	55.4*	55.9	68.8*	73.2*	79.8*	76.4*	
Toxicokinetics§ (no of animals)	3M	3F	27M	27F	27M	27F	27M	27F	
C _{max} (µg/mL)	Day 1	NC	NC	137	97.1	191	119	238	223
AUC ₀₋₄₈ (µg·h/mL)	Day 1	NC	NC	817	563	1303	1146	1677	1379

F: female; M: male; *: P ≤ 0.05; NC: not calculated.

†: mortality = died or sacrificed moribund animals.

‡: Mortality in one animal of each group was related to gavage error.

§: Blood samples for toxicokinetic evaluation were collected from 3 animals per sex per time point.

Source: [Study report 301_06_3510_083].

2.6.6.3.3 SD ラットを用いた4週間連日投与試験

添付資料 4.2.3.2-3

この GLP 試験では、雌雄 SD ラットにロキサデュスタットを 1 日 1 回 4 週間強制経口投与し、その後 4 週間の回復期間を設け、毒性を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.7.2)。この試験は (米国) で実施した。

ロキサデュスタットを 0 (溶媒), 2, 20, 又は 60 mg/kg の用量並びに 5 mL/kg の投与容量で、雌雄各 15 匹のラットに 1 日 1 回投与した。各投与群で雌雄各 5 匹を 4 週間の回復期間に割り当て、追加で各投与群の雌雄各 9 匹をトキシコキネティクス評価に割り当てた。毒性評価は、死亡、一般状態、眼科学的検査、体重、摂餌量、臨床病理、及び病理学的検査に基づいて実施された。

主試験では、60 mg/kg 群の 8 匹 (雄 3 匹及び雌 5 匹) が投与 17~21 日に死亡し、又は瀕死状態となり安楽死させた。さらに、60 mg/kg 群のトキシコキネティクス評価のサテライト動物 11 匹 (雄 6 匹及び雌 5 匹) が投与 7~22 日に死亡、又は瀕死となり安楽死させた。瀕死動物では活動性低下、消瘦状態、努力呼吸、尾端黒色化、皮膚弾力性低下及び/又は鼻/口の赤色汚染が認められた。60 mg/kg 群では、全ての生存雄及び雌を投与 22 及び 21 日に、それぞれ安楽死させた。これらの動物における一般状態の変化として、尾端紫色化、尾端からの赤色滲出物、床敷きの緑色汚染が見られた。

投与期間中、20 mg/kg 以上の群の雄で体重及び体重増加量の低値が観察された。雌では、60 mg/kg 群で投与 18 日の体重は投与 15 日と比較して低値を示した。2 及び 20 mg/kg 群の動物でのみ実施した眼科学的検査では、被験物質投与に関連した変化は観察されなかった。

血液学的検査では、20 mg/kg 以上の群で、薬理作用に関連した RBC, Hb, Hct, MCV, MCH, 及び網状赤血球数を含む赤血球系パラメータの上昇が認められ、MCHC 及び血小板数は低下した。投与期間終了時に、60 mg/kg 群では多染性赤血球及び赤血球の大小不同が認められた。多染性赤血球は 20 mg/kg 群の雌でも認められた。

血液生化学検査では、20 mg/kg 以上の群で、AST, ALT, 総ビリルビン, トリグリセリド, アルブミン/グロブリン比, 総鉄結合能 (TIBC), 及び不飽和鉄結合能 (UIBC) の有意な上昇が、60 mg/kg 群で、アルカリホスファターゼ (ALP) の上昇が認められた。

剖検では、脾臓の腫大及び腎臓の暗色化が 20 mg/kg 以上の群の雄及び 60 mg/kg 群の雌で認められ、肝臓の暗色化、肺に赤色領域、及び胃に黒色巣が 20 mg/kg 群の雄で認められた。60 mg/kg 群の雄 1 匹では、肝臓の淡色化が認められ、雌では肝臓の腫大が見られた。脾臓の絶対及び相対重量の増加が 20 mg/kg 以上の群で認められた。60 mg/kg 群では肝臓及び腎臓の相対重量が高く、一方で 20 mg/kg 群の雄では肝臓の絶対及び相対重量は低かった。

20 mg/kg 以上の群で認められた胸骨髄における赤血球系細胞の過形成及び脾臓での髄外造血は、薬理作用に起因した変化と判断した。心臓では、20 mg/kg 以上の群で慢性又は慢性活動性の弁の炎症が観察された。左右の房室弁の観察が可能であった個体では、右房室弁と比較して左房室弁が影響を強く受け、病変の特徴として増生、粘液腫様変性、及び線維索性血栓が認められた。20 mg/kg 以上の群では、その他に腺胃粘膜にびらん、潰瘍あるいは炎症が低頻度に認められた。さらに、腎臓の尿細管変性及び慢性進行性腎症、腸間膜リンパ節の出血、並びに肺の慢性又は慢

性活動性炎症の発生頻度が上昇した。2 mg/kg 群では、病理組織学的検査でロキサデュスタットに関連した病変は観察されなかった。

さらに、60 mg/kg 群では、大腿骨の過骨症、骨髓線維症、及び血栓症、肝臓の髓外造血及び肝細胞肥大、腎臓の尿細管のヒアリン沈着及び尿細管色素沈着、胸腺の皮質萎縮、並びに精巣の精上皮の萎縮が観察された。副腎の皮質壊死が 60 mg/kg 群の雌で認められた。

4 週間の回復期間後、大半の所見において回復性が認められたが、全てのパラメータが正常に戻ったわけではなかった。部分的な回復性を示す所見が 20 mg/kg 群で認められ、これには両性で見られた MCV, MCH, 及び MCHC の上昇が相当する。20 mg/kg 群の雄では総ビリルビン及び Hb の増加は持続し、20 mg/kg 群の一部の雌では、心臓の弁に軽微な慢性炎症が残存した。60 mg/kg 群では回復性を評価できる動物はいなかった。

トキシコキネティクス評価では、 C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量に比例して上昇し、ロキサデュスタットの薬物動態が 2~60 mg/kg の用量範囲においてほぼ線形であることが示唆された。投与 1 日及び投与 28 日の曝露は同等であったことから、ロキサデュスタットを 2 及び 20 mg/kg の用量で 1 日 1 回投与した後の蓄積はないことが示され、これはラットにおける短い $t_{1/2}$ と一致していた。トキシコキネティクスのパラメータに性差は認められなかった。

以上、試験報告書では NOAEL は確定されていないが、20 mg/kg 群での病理組織学的変化に基づき、SD ラットに 4 週間連日投与した際の NOAEL は 2 mg/kg と判断された。

表 2.6.6-6 SD ラットの 4 週間試験における、死亡、ヘマトクリット値、及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, daily)	0 (Vehicle)		2		20		60‡			
	15M	15F	15M	15F	15M	15F	15M	15F		
Number of animals	15M	15F	15M	15F	15M	15F	15M	15F		
Mortality†	0	0	0	0	0	0	3	5		
Hematology§ (no of animals)	10M	10F	10M	10F	10M	10F	12M	10F		
Hematocrit (%)	49.4	47.5	50.7	48.2	71.6*	67.3*	71.0	77.1		
Toxicokinetics†† (no of animals)	9M	9F	9M	9F	9M	9F	0M	0F		
C_{max} (µg/mL)	Day 28		NC	NC	5.93	6.18	65.8	76.0	NA	NA
AUC_{0-24} (µg·h/mL)	Day 28		NC	NC	31.9	27.4	444	457	NA	NA

F: female; M: male; NA: not applicable; NC: not calculated; *: $P < 0.05$.

†: mortality = died or sacrificed moribund animals.

‡: All surviving 12 males and 10 females were sacrificed on days 22 (male) and 21 (female), respectively.

§: Data at 60 mg/kg come from analyses after early sacrifice (day 21 or 22).

††: Blood samples for toxicokinetic evaluation were collected from 3 animals per sex per 2 to 3 time points.

Source: [Study report 301_05_3510_019].

2.6.6.3.4 SD ラットを用いた 26 週間間歇投与試験

添付資料 4.2.3.2-4

この GLP 試験では、雌雄 SD ラットにロキサデュスタットを TIW180 日間強制経口投与し、その後 30 日間の回復期間を設け、毒性及びその回復性を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.7.3)。この試験は [REDACTED] (米国 [REDACTED] [REDACTED]) で実施した。

ロキサデュスタットを、0 (溶媒), 5, 15, 30, 又は 40 mg/kg の用量並びに 10 mL/kg の投与容量で、雌雄各 15 匹に TIW 投与した。各投与群の雌雄各 5 匹には 30 日間の回復期間を設けた。また、雌雄各 9 匹をトキシコキネティクス及び Hct の測定に用いた。それらの動物の処置には、同一の投与スケジュールが適用された。毒性評価は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床病理、及び病理学的検査に基づいて実施された。

被験物質に関連した死亡が、30 mg/kg 群の雄 10 匹並びに 40 mg/kg 群 (主群及びトキシコキネティクス群の合計) の雄 5 匹及び雌 9 匹に認められた (表 2.6.6-7)。死亡の増加により、40 mg/kg 群の雄では投与 61 日に、40 mg/kg 群の雌では投与 98 日に、及び 30 mg/kg 群の雄では投与 131 日に投与を終了した。30 及び 40 mg/kg 群の少数の生存動物 (n=2~4) は、約 4 週間の回復期間に割り当てた。被験物質に関連した死亡は赤血球增多やそれに関連する変化を伴い、著しく促進された赤血球造血に起因すると判断された。他の死亡は、被験物質投与と関連しないものと判断された。

5 mg/kg 以上の群の雌及び 15 mg/kg 以上の群の雄における一般状態の変化として観察された四肢の赤色化の頻度及び程度の上昇は赤血球造血亢進に伴う 2 次的影響であると判断した。背弯姿勢が 30 mg/kg 以上の群で認められ、体重及び摂餌量のごく僅かな低下が 40 mg/kg 群の雄で認められた。

15 mg/kg 以上の群の血液学的パラメータは過度の薬理作用 (赤血球造血亢進及び赤血球增多) を反映していた。赤血球系パラメータの変化として、15 mg/kg 以上の群で、対照群と比較した赤血球数及び網状赤血球数の上昇、並びに Hb, Hct, MCV, MCH, 及び赤血球分布幅の上昇が認められた。同じ用量で血小板数が有意に低下した。さらに、30 mg/kg 以上を投与した雌では、好中球及び/又は好塩基球に軽度~中等度の上昇が認められた。

血液生化学検査における変化として、30 mg/kg 以上の群の雌で、AST 及び総ビリルビンの有意な上昇及びカルシウムの低下が認められた。同様な変化が 30 mg/kg 群の雄で投与 90 日に認められた。40 mg/kg 群の雄では有用なデータは得られていない。さらに、30 mg/kg 群の雄では、投与 90 日にカリウムが有意に低下し、BUN が上昇した。15 mg/kg 以上の群の雄及び 30 mg/kg 群の雌では、投与 90 日に認められたグルコースの低下は統計学的に有意であったが、投与終了時には有意差は認められなかった。15 mg/kg 以上の群の雄では投与 90 日及び 181 日、並びに 15 mg/kg 以上の群の雌では投与 181 日に、総コレステロールが統計学的に有意に低下した。30 mg/kg 群の雄では投与 90 日にトリグリセリドの上昇が、雌では投与 90 日及び投与終了時に総蛋白質の低下が認められた。無機リン及び総鉄量がそれぞれ 15 mg/kg 以上の群及び 15 mg/kg 群のみで上昇した。15 mg/kg 群では、総鉄量は上昇し、UIBC は投与 90 日のみで低下した。グルコース、総コレステロール、トリグリセリド、無機リン、及び鉄パラメータの変化は、生物学的及び毒性学的に意義

がある変動とは考えられなかった。血液生化学検査における同様な変化が、死亡動物又は瀕死状態で安楽死させた動物においても観察された。

雄の尿検査では、潜血陽性を示す動物が 30 mg/kg 以上の群で、尿量増加及び白血球陽性を示す動物が 15 mg/kg 以上の群で、それぞれ用量の増加に伴って増えた。雌では 30 mg/kg 以上の群で尿量の増加が認められた。

投与 181 日の最終（投与期間終了時）剖検では、30 mg/kg 群の雌で脾臓の腫大と腎臓の退色化、並びに心臓及び脾臓重量の増加が認められた。

早期剖検時には、脾臓及び腎臓に同様な変化が観察された。さらに、投与 61 日に安楽死させた 40 mg/kg 群の雄では、盲腸の癒着及び赤色化並びに回腸に水様性黄色内容物が観察された。脾臓重量の変化は 40 mg/kg 群の雄でより顕著であった。投与 98 日に剖検された同群の雌では、心臓重量の増加が認められた。30 mg/kg 以上の群の死亡例では、腎臓の赤色化及び退色化、並びに肺、肝臓、腸管、胸腺、卵巣、及び子宮の赤色化が観察された。大動脈における血栓症が 30 mg/kg 群の雄 1 匹に認められた。

ロキサデュスタットに関連した病理組織学的所見は薬理作用である赤血球造血亢進によるものであり、骨髄における細胞数増加及び脾臓での髓外造血として観察された。この所見は、投与量に相関し、15 mg/kg 以上の群で認められた。ロキサデュスタットの薬理作用によると判断された他の所見として、脾臓のヘモジデリンの減少が 30 mg/kg 以上の群の投与終了時剖検例において認められたことから、鉄利用の亢進が示唆された。30 mg/kg 以上の群での腎尿細管上皮、特に梗塞領域におけるヘモジデリン沈着、及び 40 mg/kg 群での投与終了時剖検例における腎尿細管及び尿細管上皮におけるヘモグロビン色素も、ロキサデュスタットの薬理作用に関連しているものと考えられる。

房室弁及び大動脈弁を含む弁膜症が 30 mg/kg 以上の群で発現し、弁膜血栓症と関連していた。弁膜病変と関連した血栓塞栓症が、腎梗塞、梗塞領域における尿細管上皮の好塩性化、並びに消化管における炎症、出血、及び壊死として認められた。これらの所見は死亡原因となり、40 mg/kg 群の雌雄及び 30 mg/kg 群の雄における早期投与中止を導いたものと判断された。30 mg/kg 群の雌 1 匹において、脳の海馬に神経細胞が消失し（壊死によるものと推定される）、軽微な神経膠症が観察される限局性病変が認められた。他の病理組織学的変化は偶発的でありロキサデュスタット投与に関連しないと判断された。

回復期間中、被験物質投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。回復期間後に全ての血液学的パラメータは、15 mg/kg 群の雄における網状赤血球数の減少及び 40 mg/kg 群の雄における網状赤血球数の増加を除き、正常に回復した。回復期間の終了後、血液生化学検査における被験物質に関連した全ての変化は正常に回復した。30 及び 40 mg/kg 群の剖検では、梗塞との関連性が疑われる腎臓の萎縮、癒着化、及び退色が認められた。

26 週間の投与終了後に回復させた動物では、器官重量の増加は正常値への回復傾向が認められたが、15 mg/kg 群の脾臓重量及び 30 mg/kg 群の雌の脾臓及び心臓重量は増加したままであった。40 mg/kg 群の投与を中止した動物においても脾臓重量増加の回復は認められなかった。

30 mg/kg 以上の群では、投与終了時に認められた赤血球造血亢進、弁膜症、及び血栓塞栓症の回復は不完全であった。30 mg/kg 以上の群で回復期間を経て脾臓のヘモジデリン沈着が増加した。この所見はこれらの群における回復期間中の赤血球造血の低下を反映していた。弁膜症及び弁膜血栓は 30 mg/kg 以上の群の雌雄で認められ、これらの所見はこれらの群の回復動物にも認められた。血栓形成を伴わない弁膜症が 30 日間の回復の後（投与 210 日）に剖検された 15 mg/kg 群の雄雌に認められた。5 mg/kg 群の投与 210 日に剖検された雄 1 匹で、ごく僅かな弁膜症が左房室弁に認められた。30 mg/kg 群の雄では、消化管病変の回復は不完全であり、回復期間後、一部に盲腸の出血、壊死、及び炎症が認められた。

トキシコキネティクス評価では、5~40 mg/kg の AUC₀₋₄₈ 及び C_{max} は用量に比例して上昇した（表 2.6.6-7）。血漿中濃度は、t_{1/2} を 4~7 時間として低下した。反復投与のデータから、TIW 投与後にロキサデュスタットの蓄積は認められないことが示唆された。曝露又は他の薬物動態パラメータに明らかな性差は認められなかった。

以上、ロキサデュスタットを TIW26 週間強制経口投与した SD ラットにおける NOAEL は、雌では血液学的所見に基づき 5 mg/kg、雄では 5 mg/kg を投与した回復群 5 匹中 1 匹において回復期間後に軽微な弁膜症が認められたことから 5 mg/kg 未満であった。

表 2.6.6-7 SD ラットの 26 週間間歇投与試験における、死亡、ヘマトクリット値、及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, TIW)		0 (Vehicle)		5		15		30†		40‡	
Number of animals		24M	24F	24M	24F	24M	24F	24M	24F	24M	24F
Mortality§		2 (0)	3 (0)	1 (0)	1 (0)	1 (0)	1 (0)	10 (10)	2 (0)	5 (5)	10 (9)
Hematology (no of animals¶)		15M	13F	14M	15F	15M	15F	11M	14F	0M	10F
Hematocrit (%)	Day 90	48.5	45.7	48.3	45.3	61.8*	54.1*	69.9*	68.8*	NA	75.3*
	Day 181	44.1	41.3	46.7*	42.3	61.3*	51.1*	NA	68.0*	NA	NA
Toxicokinetics†† (no of animals)		9M	9F	9M	9F	9M	9F	9M	9F	9M	9F
C _{max} (µg/mL)	Day 89	NC	NC	27.9	29.4	80.0	106	92.4	151	NA	237
	Day 180	NC	NC	30.2	38.5	76.6	105	140	147	NA	NA
AUC ₀₋₄₈ (µg·h/mL)	Day 89	NC	NC	133	128	526	562	889	1290	NA	1610
	Day 180	NC	NC	155	155	467	601	1300	1240	NA	NA

F: female; M: male; NA: not applicable; NC: not calculated; *: P < 0.05.

†: males were terminated at day 131; toxicokinetic samples scheduled for day 180 were collected on day 132.

‡: males were terminated at day 61 and females at day 98.

§: mortality = died or sacrificed moribund animals. In parentheses, the number of deaths associated with test article administration.

¶: number of animals at day 90; at day 181 the number of animals was reduced [Module 2.6.7 Table 2.6.7.7.3]

††: Blood samples for toxicokinetic evaluation were collected from 1-3 animals per sex per 3 time points.

Source: [study report 301_06_3510_088].

2.6.6.3.5 F344 ラットを用いた 26 週間間歇投与試験

添付資料 4.2.3.2-5

この GLP 試験では、雌雄 F344 ラットにロキサデュスタットを TIW26 週間強制経口投与し、その後 6 週間の回復期間を設け、毒性を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.7.4)。この試験は [REDACTED] (米国 [REDACTED] [REDACTED]) で実施した。

ロキサデュスタットを 0 (溶媒), 5, 15, 30, 又は 40 mg/kg の用量並びに 10 mL/kg の投与容量で、雌雄各 15 匹に投与した。各投与群において、雌雄各 5 匹を 6 週間の回復期間を設ける回復群に割り当てた。さらにトキシコキネティクス評価のために雌雄各 3 匹を対照群及び雌雄各 9 匹をロキサデュスタット群に割り当て、同様に投与した。毒性評価は、死亡、一般状態、眼科学的検査、体重、摂餌量、臨床病理、及び病理学的検査に基づいて実施された。

主試験では、投与 33 から 176 日に、30 mg/kg 群の雄 2 匹及び 40 mg/kg 群の 10 匹 (雄 6 匹及び雌 4 匹) が死亡し、又は瀕死状態で安楽死させた。40 mg/kg 群の雄では、投与 119 日の生存率が 60% (雄 15 匹中 9 匹) に低下したため、この群での投与は中止し剖検した。なお、回復性評価のために雄 3 匹についてはその後 47 日間継続飼育した。

瀕死又は死亡動物における一般状態は、活動性低下、背弯姿勢、努力性呼吸、異常呼吸音、削瘦、被毛汚れ、被毛粗剛、後肢の制限的な使用、横臥、及び/又は全身衰弱であった。これらの動物における最も顕著であった臨床病理変化は、赤血球系パラメータの著しい増加であった。40 mg/kg 群の雄 1 匹では重篤な腎機能障害を示唆する変化も認められた (尿素窒素、クレアチニン、及び無機リンの中等度～著しい上昇)。被験物質投与に関連した心臓の弁膜症及び血栓塞栓性病変は、これらの動物における瀕死又は早期死亡の原因と判断された。

一般状態には、5 及び 15 mg/kg 群の雌雄並びに 30 mg/kg 群の雌では、有害な影響は観察されなかった。30 mg/kg 群の雄及び 40 mg/kg 群の雌雄では、瀕死動物における症状と同様の一般状態の変化が観察され、さらに雌 2 匹では間代性痙攣が認められた (投与 33 及び 182 日)。15 mg/kg 以上の群の雌では、投与期間中のいくつかの時点で、対照群と比較して、平均体重、体重増加量、及び摂餌量の増加が認められた。体重及び摂餌量に対する影響は、被験物質投与に関連があると考えられたが、毒性所見とは判断しなかった。

眼科学的検査では、被験物質投与に関連した所見は観察されなかった。

15 mg/kg 以上の群の血液学的パラメータは、過度な薬理作用 (赤血球造血亢進及び赤血球数増加) を反映し (表 2.6.6- 8), RBC, Hb, Hct, 及び網状赤血球数の増加として認められた。WBC が 30 mg/kg 以上の群で増加した。赤血球系パラメータの増加は、30 mg/kg 群の方が 40 mg/kg よりも高値の場合も散見されたが、おおむね用量依存的であった。赤血球系パラメータの増加に関連した所見としては、血小板数の減少及びグルコースの低下、並びに総ビリルビン、AST, 及び BUN の上昇が見られた。他の臨床病理学的影響は比較的軽微であり、毒性標的器官を示唆しなかった。尿検査における潜血並びにビリルビン及びウロビリノーゲンの上昇は、赤血球造血亢進及びダウンストリーム効果に対する 2 次的影響と判断された。

最終剖検時において、15 mg/kg 以上の群では心臓及び脾臓の、30 mg/kg 以上の群では腎臓の重量増加が認められた。30 mg/kg 以上の群での剖検所見として、脾臓のびまん性腫大、回腸及び盲腸での変色、肥厚、及び/又は漿膜癒着領域、両側性精巣の軟化、小型化、又は斑紋が認められ

た。30 mg/kg 群の雄 4 匹並びに 40 mg/kg 群の雄 2 匹及び雌 4 匹において、片側又は両側の腎臓に限局性から多巣性の変色領域が認められた。この所見は、皮質の多巣性から癒合性の尿細管壊死（凝固性）、色素を取り込んだマクロファージ、うっ血、及び／又は血栓症に合致した。30 mg/kg 群の雄では、最終剖検時に、精巣の絶対及び相対（対体重）重量の有意な低下が認められた。これら精巣の絶対及び相対重量の平均値の変動は、主に中等度～高度の精巣の萎縮、変性、又は梗塞を示した 2 匹の動物（動物番号：B57242 及び B57243）によるものと考えられた。

病理組織学的検査では、5 及び 15 mg/kg 群において、毒性所見は観察されなかった。被験物質投与に関連した病理組織学的所見は、赤血球造血亢進と関連するものであり、5 mg/kg 以上の群で大腿骨及び胸骨の骨髄における赤血球系過形成が、30 mg/kg 以上の群で脾臓における髄外造血が認められた。

30 mg/kg 以上の群の雌雄において、心臓の弁膜症が組織学的所見として認められた。本病変は、軽微から高度、多巣性からび漫性の左房室弁及び／又は大動脈弁の肥厚を特徴としていた。肥厚した弁は、円形から紡錘状の線維芽細胞様細胞から構成された。30 mg/kg 以上の群の雄及び 40 mg/kg 群の雌において、血栓は弁に付着していた。

腎臓では、30 mg/kg 以上の群の雄及び 40 mg/kg 群の雌で皮質の尿細管の多巣性から癒合性の壊死領域（凝固性）が観察された。これらの壊死領域では、壊死尿細管にさまざまな程度の石灰沈着が観察され、再生の徴候（塩基性尿細管）も認められた。30 mg/kg 以上の群の雄及び 40 mg/kg 群の雌では、帯緑褐色顆粒状色素が尿細管上皮細胞の細胞質内に認められ、マクロファージの浸潤が観察された。さらに、40 mg/kg 群では慢性進行性腎症の頻度及び程度が上昇した。

腎臓に加え、腺胃、回腸、及び盲腸で血栓症の有無にかかわらず、血栓塞栓症の徴候が、壊死として認められた。30 mg/kg 群の雄 1 匹では両側の精巣に高度の萎縮／変性が認められ、別の 1 匹では精巣に梗塞が認められた。30 mg/kg 群の雄 2 匹（計画屠殺例 1 匹及び死亡例 1 匹）及び 40 mg/kg 群の雌雄各 1 匹では、海馬の錐体細胞の壊死が観察された。

回復期間の終了時点では、全ての群で一般症状の変化は観察されず、臨床病理学的変化のほぼ全てにおいて可逆性の明確なエビデンスが得られた。15 又は 30 mg/kg 群の雄及び 30 mg/kg 以上の群の雌の赤血球系パラメータは対照レベル以下まで低下し、これらの動物における網状赤血球数の代償性増加と一致していた。骨髄の赤血球系過形成は完全には回復せず、全ての投与群で頻度及び程度は低下したものの、依然として認められた。

回復期間終了時点において弁膜症の程度は低下した。30 mg/kg 以上の群の雄 4 匹及び雌 2 匹では病変部の弁は依然として軽微ないし軽度に肥厚しており、少数の色素含有マクロファージが浸潤していた。いずれの動物においても心臓の弁に付着する血栓は認められなかった。回復期終了時点で、30 mg/kg 以上の群の雄及び 40 mg/kg 群の雌における腎尿細管色素沈着は完全には消失しなかった。腎臓の壊死は慢性の梗塞像に置換され、腺胃、回腸及び盲腸において観察された血栓症及び壊死は完全に回復した。さらに、回復期終了時に海馬の壊死は観察されなかった

AUC₀₋₄₈ 及び C_{max} の用量に比例した上昇は明確であったことから、ラットでの 5～40 mg/kg の用量における線形の薬物動態が示唆された。反復投与データからは、TIW 投与後の蓄積は示唆され

なかった。 $t_{1/2}$ は3~6時間で、血漿中濃度は低下した。曝露又は他の薬物動態パラメータに著しい性差はなかった（表 2.6.6-8）。

以上、ロキサデュスタットを TIW26 週間経口投与した F344 ラットにおける NOAEL は、赤血球造血亢進を介した広範囲にわたる病理学的変化に基づき 15 mg/kg であった。

表 2.6.6-8 F344 ラットの 26 週間間歇投与試験における、死亡、ヘマトクリット値、及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, TIW)		0 (Vehicle)		5		15		30		40†	
Number of animals		15M	15F	15M	15F	15M	15F	15M	15F	15M	15F
Mortality‡		0	0	1§	0	0	0	2	0	6	4
Hematology (no of animals)		15M	15F	14M	15F	15M	15F	13M	14F	NA	9F
Hematocrit (%)		49.0	48.0	50.2*	48.6	61.4*	55.5*	72.1*	78.2*	NA	75.6*
Toxicokinetics (no of animals) ¶		3M	3F	9M	9F	9M	9F	9M	9F	9M	9F
C_{max} (µg/mL)	Day 178	NC	NC	19.2	22.3	68.1	78.1	106	152	NA	167
AUC_{0-48} (µg·h/mL)	Day 178	NC	NC	77.8	84.3	307	337	667	862	NA	903

F: female; M: male; NA: not applicable; NC: not calculated; *: $P \leq 0.05$.

†: males were terminated on day 121.

‡: mortality = died or sacrificed moribund animals.

§: Intubation error on Day 9.

¶: Blood samples for toxicokinetic evaluation were collected from 3 animals per sex per 3 time points for the 5 and 15 mg/kg dose groups, and from 2-4 animals per 3-5 time points for the 30 mg/kg and 40 mg/kg dose groups due to early mortality.

Source: [Study report 352007004].

2.6.6.3.6 カニクイザルを用いた 1 週間連日投与試験、用量設定

添付資料 4.2.3.2-6 (参)

この非 GLP 試験では、カニクイザルにロキサデュスタットを単回（2.6.6.2.2 における第 1 相試験で検討）及び 1 日 1 回 7 日間経口（第 2 相）投与（経鼻胃）し、毒性を評価した（2.6.7 毒性試験概要表、表 2.6.7.7.5）。本試験は [REDACTED]（米国 [REDACTED] [REDACTED]）で実施した。

この試験の第 2 相では、第 1 相で用いたカニクイザルを 14 日間の休薬期間後に 4 群（雌雄各 1 匹）に割り当てた。ロキサデュスタットを、0（溶媒）、6, 20, 又は 60 mg/kg の用量並びに 5 mL/kg の投与容量で投与した。毒性評価として、一般状態、摂餌量、体重、臨床病理、及び病理学的検査を行った。さらに、トキシコキネティクス評価及び EPO 濃度の測定のために血液検体を採取した。

60 mg/kg 群では、ごく僅かな摂餌量の減少、背弯姿勢、及び嘔吐が観察されたが、最大 60 mg/kg の用量で 7 日間反復連日経口投与したロキサデュスタットの忍容性は良好であった。他の一般状態の変化又は体重への影響は認められなかった。

血液生化学検査では被験物質に関連した変化は認められなかった。血液学的検査では薬理作用に関連したごく軽度で用量依存的な Hb, Hct, MCV, 及び赤血球分布幅の上昇が観察された。また、総鉄量のごく僅かな上昇が 20 mg/kg 群の雄で認められた。

被験物質に関連した剖検所見あるいは組織学的な変化は、いずれの動物にも認められなかった。20 mg/kg 以上の群では、7 日間の投与期間において血漿中 EPO 濃度が上昇した。

6~60 mg/kg の用量での反復投与後に、用量比を上回る血漿中濃度の上昇が観察された(表 2.6.6-9)。初回投与日と最終投与日の血漿中濃度の比較ではばらつきが大きかった。

以上、カニクイザルに最大 60 mg/kg の用量で 1 日 1 回 7 日間投与したロキサデュスタットの忍容性は良好であり、NOAEL は 60 mg/kg であった。

表 2.6.6-9 カニクイザルの 1 週間試験（用量設定）におけるヘマトクリット値及び曝露

Dose (mg/kg, daily)		0 (Vehicle)		6		20		60	
Number of animals		1M	1F	1M	1F	1M	1F	1M	1F
Hematology									
Hematocrit (%)	Day 8†	38.3	40.2	48.0	38.7	48.2	43.5	50.5	43.5
Toxicokinetics	Day 1	<0.1	<0.1	3.5	0.8	9.6	14.3	279.3	224.9
C _{4h} (µg/mL)	Day 7	<0.1	<0.1	1.7	1.0	27.3	29.7	256.7	301.6

F: female; M: male.

†: prior to necropsy.

Source: [Study report 301_05_3510_020].

2.6.6.3.7 カニクイザルを用いた 4 週間連日投与試験

添付資料 4.2.3.2-7

この GLP 試験では、雌雄カニクイザルに 1 日 1 回 4 週間経鼻カテーテルで胃内投与した際のロキサデュスタットの毒性を評価し、さらに 4 週間の回復期間後に投与に関連した影響の可逆性を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.7.6)。この試験は [REDACTED] (米国 [REDACTED]) で実施した。

ロキサデュスタットを 0 (溶媒) 及び 30 mg/kg の用量で雌雄各 5 匹 (投与開始時年齢 2~5 歳) に、さらに 1 及び 10 mg/kg の用量で雌雄各 3 匹に 1 日 1 回 4 週間投与した。溶媒及び 30 mg/kg 群では、雌雄各 2 匹を 4 週間の回復期間に割り当てた。投与容量は 5 mL/kg とした。毒性評価は、生死、一般状態、理学的検査、体重、眼科学的検査、心電図検査、血圧、臨床病理、及び病理学的検査に基づいて実施された。トキシコキネティクスの評価並びに内因性 EPO 濃度及び VEGF 値の測定のために、投与 1 及び 28 日に血液を採取した。

全ての動物が計画解剖まで生存した。一般状態、体重、理学的検査評価 (呼吸数、体温、及び全身状態)、眼科学的検査、血圧、尿検査、心電図検査、器官重量、並びに剖検及び組織学的検査にロキサデュスタットに関連した影響は認められなかった。薬理作用に関連して RBC, Hb, Hct, 及び網状赤血球数を含む赤血球系パラメータの上昇が 10 mg/kg 以上の群で観察された (表 2.6.6-10)。MCHC, WBC, 及びリンパ球数の低下が 10 mg/kg 以上の群で観察され、骨髄での赤血球系造血の亢進が 30 mg/kg 群で認められた。

30 mg/kg を経口投与後、血漿中 EPO 濃度は 8~12 時間でピークとなり、投与 28 日の雄の投与後 12 時間の平均値は 1940 mIU/mL であった。明らかな性差は認められなかった。1 及び 10 mg/kg

群の血漿中 EPO 濃度（非 GLP データ）は、対照群と同様であった。全ての VEGF 値は測定下限値を下回っていた。

血液生化学検査では、30 mg/kg 群の雄で投与 28 日に対照と比較して血清鉄が低下し、UIBC 及び TIBC が上昇した。これは赤血球造血に必要な鉄利用の上昇と一致していた。30 mg/kg 群の雌では、投与 28 日に UIBC 及び TIBC における軽度の上昇が認められたが、血清鉄値に対する影響は認められなかった。また、投与 28 日にグルコースの低下が 30 mg/kg 群で、及び総コレステロールの低下が 10 mg/kg 以上の群で認められた。

4 週間の回復期間後、30 mg/kg 群の動物では Hct 及び Hb のベースラインへの低下が認められたが、対照群と比べて依然として高値であった。網状赤血球数は、回復期間終了時点で対照動物よりも低い値まで低下した。30 mg/kg 群における WBC の低下、並びにコレステロール及びグルコースの変化は回復期間後に可逆性を示した。

単回及び反復投与後の AUC₀₋₂₄ 及び C_{max} は用量比を上回る上昇が認められ、ロキサデュスタットの 1~30 mg/kg の用量での非線形な薬物動態が示唆された（表 2.6.6-10）。各投与群における投与 28 日の AUC₀₋₂₄ 及び C_{max} 値は投与 1 日と比較して高かった。

以上、最大 30 mg/kg を 1 日 1 回 4 週間経口投与したカニクイザルにおいて、投与に関連した有害な影響は認められず、NOAEL は 30 mg/kg であった。

表 2.6.6-10 カニクイザルの 4 週間試験におけるヘマトクリット値、及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, daily)		0 (Vehicle)		1		10		30	
Number of animals		5M	5F	3M	3F	3M	3F	5M	5F
Hematology (no of animals)		5M	5F	3M	3F	3M	3F	5M	5F
Hematocrit (%)	Day 28	45.3	45.1	47.4	44.3	51.3	49.1	63.5*	63.1*
Toxicokinetics (no of animals)		5M	5F	3M	3F	3M	3F	5M	5F
C _{max} (µg/mL)	Day 1	NC	NC	0.23	0.22	13.7	11.6	66.0	64.2
	Day 28	NC	NC	0.94	0.62	36.9	27.4	123	105
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	Day 1	NC	NC	1.45	0.95	29.3	21.4	258	173
	Day 28	NC	NC	2.58	1.52	86.9	46.7	703	322

F: female; M: male; NC = not calculated.

*: P ≤ 0.05.

Source: [Study report: 301_05_3510_021].

2.6.6.3.8 カニクイザルを用いた 22 週間間歇投与試験

添付資料 4.2.3.2-8

この GLP 試験では、雌雄カニクイザルに TIW22 週間強制経口投与した際のロキサデュスタットの毒性を評価し、さらに 6 週間（42 日）の回復期間後に投与に関連した影響の可逆性を評価した（2.6.7 毒性試験概要表、表 2.6.7.7.7）。この試験は [REDACTED]（ドイツ [REDACTED]）で実施した。

ロキサデュスタットを 0（溶媒）、1、10、30、又は 40 mg/kg の用量並びに 5 mL/kg の投与容量で雌雄各 3 匹（投与開始時年齢 3.5~5 歳）に TIW 投与した。溶媒、30、及び 40 mg/kg 群では、

それぞれ雌雄各2匹を追加して22週間投与し、その後6週間の回復期間を設定した。毒性評価は、生死、一般状態、体重、摂餌量、理学的検査、眼科学的検査、心電図検査、血圧、臨床病理、並びに病理学的検査に基づいて実施された。さらに、投与期間中及び回復期間の初期に採取した血漿を用いてトキシコキネティクス評価を実施した。

40 mg/kg 群の雄を除いて、一般状態は正常範囲内であった。40 mg/kg 群の2匹の雄（動物番号23038M, 22998M）では、一般状態の変化として循環虚脱又は循環障害、痙攣、攣縮、失神、粘膜の赤色化、及び活動性低下が認められた。循環虚脱は血圧又は心電図では確認されなかった。投与71～73日及び75日に休薬したところ、いずれの動物も順当な回復を示したが、1匹の動物（23038M）では投与再開後に状態が悪化し、投与93日に瀕死状態で安楽死させた。この死亡の直前に以下の所見が認められた：循環虚脱（同日に行った心電図検査及び血圧測定は正常範囲内であった）、痙攣（部分的に強直性から間代性）、横臥姿勢、泡沫状唾液、無関心、舌及び歯肉赤色化、体温低下。安楽死直前のHctは74.6%であり、この雄で投与89日に実施したトキシコキネティクスは高曝露を示していた。23038MでのC_{max}及びAUC値は、この群の他の雄の平均値と比較して334%及び481%高かった。過度な薬理作用が試験期間中に認められていることから、高用量を投与されたこの雄の瀕死状態は明らかに投与に関連していると考えられた。しかし、23038Mは、徐脈及びグレード1の房室ブロックを試験開始前に示していたことから、この既往の心臓の不安定性が一般状態の悪化につながった可能性もある。病理組織学的検査では胸骨の骨髄に赤血球系過形成が認められた。

他の動物のいずれにも、摂餌量、体重、眼科学的検査、心電図検査、血圧、尿検査、及び器官重量に投与に関連した影響は認められなかった。

身体検査では、30 mg/kg 群の雄3匹及び雌3匹並びに40 mg/kg 群の全ての雄及び2匹の雌で、口腔粘膜及び歯肉の赤色化が観察された。程度及び頻度は用量依存的であり、雌よりも雄で顕著であった。

RBC, Hb, 及びHctなどの赤血球系パラメータの有意な用量依存的な上昇が30 mg/kg以上の群で観察され、10 mg/kg以上の群では形態的变化（大小不同、大赤血球症、及び多染性）も認められた。PT及びAPTTのごく僅かで、散発的な延長が30 mg/kg以上の群で認められた。総ビリルビンの平均値が30 mg/kg以上の群で上昇した。ASTの限定的かつ可逆性の上昇が40 mg/kg群で観察された。

投与期間中（投与28日）、30 mg/kg以上の群で総鉄量が低下した一方、40 mg/kg群ではトランスフェリン値が上昇した。これらの値は投与期間終了時（投与152日）にはほぼ正常化していた（40 mg/kg群の雌のトランスフェリン値を除く）。散発的に認められた影響として、40 mg/kg群でのグルコースの低下、及び30 mg/kg以上の群の雌でコレステロール値の低下が観察された。

剖検時に、赤色化した脂肪組織、胃、骨髄、胸腺、並びに子宮が30 mg/kg以上の群の1～2匹に観察された。10 mg/kg群の1匹にも胃の赤色化が観察された。脂肪及び胸腺の所見はうっ血によるものであり、胃の変色の多くは軽微ないし軽度な出血によるものであった。

病理組織学的検査では、全てのロキサデュスタット投与群の動物の胸骨骨髄で赤血球系過形成が認められた。肺血栓が 40 mg/kg 群の雄 2 匹でそれぞれ 1 か所ずつ認められ、Hct 高値により血液凝固性が亢進したと考えた。全ての病理組織学検査所見は、ロキサデュスタットの薬理作用と一致すると判断された。

6 週間の回復期間後、臨床病理学的所見は、完全ないしほぼ完全な可逆性が示された。骨髄での赤血球系過形成は完全に回復した。軽微ないし軽度な胃の出血と関連した胃の赤色化病巣が 30 及び 40 mg/kg を投与したそれぞれ雄 1 匹及び雌 1 匹で観察された。

1~40 mg/kg の単回及び反復投与後に、AUC₀₋₄₈ 及び C_{max} において用量比を上回る上昇が観察された (表 2.6.6- 11)。C_{max} 値には速やかに到達した (t_{max}: 1~3 時間)。血漿中濃度は 7~12 時間の平均 t_{1/2} で減少が認められ、いずれの用量並びに反復投与後でも同様であった。カニクイザルに TIW22 週間投与してもロキサデュスタットの蓄積性及び性差は認められなかった。

以上、ロキサデュスタットを TIW22 週間投与した際のカニクイザルにおける忍容性は、40 mg/kg 群の雄 2 匹を除き良好であった。しかし、これらの所見とロキサデュスタット投与との関連は不明であり、この試験のその他のカニクイザルにおいては、いずれの投与量においても毒性所見は観察されなかった。NOAEL は雄で 30 mg/kg、雌で 40 mg/kg であった。

表 2.6.6- 11 カニクイザルの 22 週間間歇投与試験における、死亡、ヘマトクリット値、及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, TIW)		0 (Vehicle)		1		10		30		40	
Number of Animals		5M	5F	3M	3F	3M	3F	5M	5F	5M	5F
Mortality†		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Hematology (no of animals)		3M	3F	3M	3F	3M	3F	3M	3F	2M	3F
Hematocrit (%)		44.1	37.6	42.6	40.2	46.6	43.4	64.3*	61.4*	76.9*	66.0*
Toxicokinetics (no of animals)		5M	5F	3M	3F	3M	3F	3M	3F	5M	5F
C _{max} (µg/mL)	Day 1	NC	NC	0.24	0.38	26.2	30.2	69.9	86.6	73.9	153
	Day 150	NC	NC	0.05	0.21	8.70	9.65	22.5	42.1	64.1 [4]	74.6
AUC ₀₋₄₈ (µg·h/mL)	Day 1	NC	NC	0.92	1.31	40.7	46.2	197	298	283	548
	Day 150	NC	NC	0.45	1.32	23.0	28.4	114	159	377 [4]	319

F: female; M: male; NC = not calculated; []: number of animal.

*: P < 0.05.

†: mortality = sacrificed moribund animal.

Source: [Study report 301_06_3510_082].

2.6.6.3.9 カニクイザルを用いた 52 週間間歇投与試験

添付資料 4.2.3.2-9

この GLP 試験では、雌雄カニクイザルに TIW52 週間経鼻カテーテルで胃内投与した際のロキサデュスタットの毒性を評価し、8 週間の回復期間後にその影響の可逆性、持続性、又は遅発性を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.7.8)。この試験は [] (米国 []) で実施した。

ロキサデュスタットを 0 (溶媒), 3, 10, 20, 又は 30 mg/kg の用量並びに 5 mL/kg の投与容量で雌雄各 5 匹 (投与開始時年齢 1.8~4.1 歳) に TIW 投与した。52 週間の投与後, 各群で雌雄各 2 匹 (Hct が高い動物を優先) を 8 週間の回復期間に割り当てた。毒性評価は, 生死, 一般状態, 体重, 眼科学的検査, 心電図検査, 理学的検査 (血圧, 呼吸数, 及び体温), 臨床病理, 並びに病理学的検査に基づいて実施された。トキシコキネティクス評価のために, 投与 1 日並びに 26, 39, 及び 51 週に各試験動物から血液を採取した。

3 mg/kg 群の雄 1 匹 (動物番号 I60706) が 135 日に死亡し, 10 mg/kg 群の別の雄 1 匹 (I60713) を投与 109 日に瀕死状態で安楽死させた。これらの死亡は低用量での発現であり, 散在性のグラム陽性菌コロニーが多臓器で観察されたことから, いずれもロキサデュスタットの投与が原因ではなく, むしろ菌血症が原因であると考えられた。

投与に関連した一般状態の変化, 眼科学的検査所見, 心電図所見, 体重の変化, 理学的検査 (血圧を含む) 所見は認められず, 最終体重, 器官重量, 並びに剖検及び組織学的検査にも変化は観察されなかった。

3 又は 10 mg/kg 群では臨床病理検査の結果に影響は認められなかった。20 mg/kg 以上の群では RBC, Hb, Hct, 網状赤血球数, MCV, 及び MCH が上昇し, 薬理作用と一致していた。20 mg/kg 以上の全ての動物においてこれらの変化が認められたが, 少数の動物でより顕著な影響が認められた。

さらに, 20 mg/kg 以上の群では, 投与期間を通じて総コレステロール値が投与前と比較して低下したが, 関連する病理組織学的変化は認められなかった。

AUC₀₋₄₈ 及び C_{max} における用量比を上回る上昇が 3~30 mg/kg の単回及び反復投与した後に観察された (表 2.6.6- 12)。血漿中濃度は 8~12 時間の平均 t_{1/2} で減少し, これはいずれの用量でも, 並びに反復投与後でも同様であった。TIW52 週間投与してもロキサデュスタットの蓄積性は認められなかった。曝露又はその他の薬物動態パラメータにおいて, 明らかな性差は認められなかった。

以上, ロキサデュスタットを TIW52 週間経口投与したカニクイザルにおける NOAEL は 30 mg/kg であった。

表 2.6.6- 12 カニクイザルの 52 週間間歇投与試験における、死亡、ヘマトクリット値、及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, TIW)		0 (Vehicle)		3		10		20		30	
Number of animals		5M	5F	5M	5F	5M	5F	5M	5F	5M	5F
Mortality†		0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Hematology (no of animals)		5M	5F	4M	5F	4M	5F	5M	5F	5M	5F
Hematocrit (%)		42.4	38.4	38.9*	38.8	42.2	40.4	47.6*	54.0*	54.2*	52.0*
Toxicokinetics (no of animals)		5M	5F	5M	5F	5M	5F	5M	5F	5M	5F
C _{max} (µg/mL)	Day 1	NC	NC	0.69	0.71	9.68	10.9	50.5	73.7	71.9	96.2
	Week 51	NC	NC	0.65‡	0.46	7.41‡	8.50	10.7	11.4	41.1	35.7
AUC ₀₋₄₈ (µg·h/mL)	Day 1	NC	NC	4.04	3.12	26.2	27.7	120	209	197	260
	Week 51	NC	NC	4.66‡	4.52	27.2‡	29.0	48.8	93.2	144	152

F: female; M: male; NC = not calculated; *: P ≤ 0.05

†: mortality = died or sacrificed moribund animals.

‡: mean of 4 animals.

Source: [Study report 301_06_3520_092].

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 In Vitro 非哺乳類細胞系

2.6.6.4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

添付資料 4.2.3.3.1-1

この in vitro GLP 試験では、哺乳動物ミクロソーム酵素（ラット肝臓 S9 ホモジネート）の存在／非存在下での復帰突然変異の誘発性を、試験菌株 [*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, 及び TA1537) 及び *Escherichia coli* (WP2uvrA)] を用いて、ロキサデュスタット及び／又はその代謝物の変異原性を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.8.1)。この試験は [REDACTED] (米国 [REDACTED] [REDACTED]) で実施した。

主試験の復帰突然変異試験に用いた用量は、*Salmonella typhimurium* TA 100 株及び *Escherichia coli* WP2uvrA における用量設定試験から選択された。ロキサデュスタットは *Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli* において、用量設定試験では 6.67～5000 µg/プレート、及び 1 回目の試験では 10.0～5000 µg/プレートの範囲の 6 又は 7 用量で試験を実施した。

1 回目の復帰突然変異試験の陰性の結果は、代謝活性化の有無にかかわらず、10.0, 33.3, 100, 333, 1000, 及び 5000 µg/プレートの用量を用いた 2 回目の試験の全ての試験菌株においても確認された。

以上、いずれの試験菌株においても、ロキサデュスタット（最大 5000 µg/プレート）によるプレート当たりの復帰突然変異体数の増加は、代謝活性化の有無にかかわらず認められなかった。ロキサデュスタットは細菌における遺伝子突然変異を誘発しないと結論づけられる。

2.6.6.4.2 In Vitro 哺乳動物細胞系

2.6.6.4.2.1 染色体異常試験

添付資料 4.2.3.3.1-2

この in vitro GLP 試験では、ロキサデュスタットによるヒト培養リンパ球染色体の構造異常誘発性を、外因性の代謝活性化系（ラット肝臓 S9 ホモジネート）の存在／非存在下で評価した（2.6.7 毒性試験概要表，表 2.6.7.8.2）。この試験は [REDACTED]（米国 [REDACTED] [REDACTED]）で実施した。

ロキサデュスタットは、ジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解した。1回目の試験では、代謝活性化系の存在下又は非存在下で3時間処理した。濃度は代謝活性化系の存在下又は非存在下で101, 144, 206, 及び294 µg/mLとし、染色体異常を解析した。確認試験では、代謝活性化の非存在下で22時間、及び代謝活性化の存在下で3時間処理した。濃度は、代謝活性化の非存在下では25, 50, 100 及び200 µg/mL、代謝活性化の存在下では100, 200, 250 及び300 µg/mLとし、染色体異常を解析した。

いずれの処理群にも、染色体の構造的又は数値的異常を有する細胞数は、陰性対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。染色体異常解析で用いた濃度では、処理培養液内に被験物質の沈殿は観察されなかった。

以上、ヒト培養末梢血リンパ球において、代謝活性化の存在下又は非存在下のいずれにおいても、ロキサデュスタット（最大300 µg/mL）による染色体異常の誘発は認められなかった。

2.6.6.4.3 In Vivo 哺乳動物系

2.6.6.4.3.1 マウス小核試験

添付資料 4.2.3.3.2-1

この in vivo GLP 試験では、ロキサデュスタットを投与した雄 CD-1 マウスから採取した骨髓における多染性赤血球（PCE）での小核を検出することにより、ロキサデュスタットによる染色体異常誘発性活性及び／又は分裂装置の損傷を評価した（2.6.7 毒性試験概要表，表 2.6.7.9.1）。この試験は [REDACTED]（米国 [REDACTED] [REDACTED]）で実施した。

ロキサデュスタットを0（溶媒）、50, 150, 及び500 mg/kg（推定最大耐量）の用量で、0（溶媒）及び500 mg/kg 群では各群10匹、その他の群では各群5匹に10 mL/kgの投与容量で単回強制経口投与した。陽性対照群では、5匹に80 mg/kgのシクロホスファミドを単回強制経口投与した。この試験ではトキシコキネティクスの評価は実施しなかった。

骨髓を採取するために、各群の5匹を投与24時間後に安楽死させ、500 mg/kg 群及び溶媒群のそれぞれ残りの各5匹を投与48時間後に安楽死させた。小核の発現頻度を測定するために、各動物で2000個以上のPCEを解析した。各動物最初の合計500個以上の赤血球において、PCE及び正染性赤血球を計数することにより細胞毒性を評価した。

最大 500 mg/kg を単回経口投与したいずれの動物にも、ロキサデュスタットによる一般状態の異常は認められなかった。さらに、すべての用量でロキサデュスタットによる骨髄での細胞毒性は認められなかった。シクロホスファミドは、溶媒対照と比較して統計学的に有意な小核を有する PCE の増加を誘発したが、ロキサデュスタットのすべての用量で小核を有する PCE の統計学的に有意な増加は認められなかった。

以上、マウスの骨髄において最大用量 500 mg/kg で投与したロキサデュスタットによる小核の誘発は認められなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 CD-1 マウスを用いたがん原性試験

添付資料 4.2.3.4.1-1

この GLP 試験では、雌雄 CD-1 マウスに最長 TIW104 週間強制経口投与したロキサデュスタットのがん原性を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.10.1)。この試験は [REDACTED] (米国 [REDACTED] [REDACTED]) で実施した。

ロキサデュスタットを 0 (溶媒), 0 (生理食塩液), 15, 30, 及び 60 mg/kg の用量並びに 10 mL/kg の投与容量で雌雄各 60 匹に TIW 投与した。各ロキサデュスタット投与群に雌雄各 72 匹及び両方の対照群に雌雄各 24 匹を、投与 1 日、並びに投与 6, 12, 及び 18 カ月のトキシコキネティクス評価、及び投与 18 カ月時の臨床病理パラメータの評価に割り当てた。毒性評価は、死亡及び腫瘍の発生率、一般状態、体重、摂餌量、並びに臨床病理及び病理学的検査に基づいて実施された。試験計画書に従い、生理食塩液投与群における腫瘍発生率及び病理組織学的検査は評価しなかった。

ロキサデュスタットは死亡率に有意な影響を示さなかった。被験物質投与に関連した一般状態、平均体重、体重増加量、平均摂餌量及び血液生化学検査に対する影響並びに剖検又は病理組織学的検査に異常は認められなかった。さらに、溶媒対照群と生理食塩液対照群の群間で、評価した試験パラメータに顕著な差は認められなかった。

全動物中、最も多く観察された腫瘍は、肺の細気管支肺胞腺腫/がん、全身性の悪性リンパ腫、及び肝臓の肝細胞腺腫である。雄では肺及び肝臓の腫瘍が最も多く発生し、雌ではリンパ腫がより多かった。

肺腫瘍は全ての投与群 (溶媒対照群を含む) における発生率が高いものの、15 mg/kg 群の雄以外は背景データの範囲内であり、用量相関性も認められなかったことから、被験物質投与との関連性はないものと判断された。雄における肝細胞腺腫は、30 mg/kg 群の雄 (21.7%) で、CD-1 マウスでの背景データにおける発生率の範囲 (1.4~20.0%) を超えるものの、その差は僅かであること、用量との関連性が認められないこと、及び発生率に統計学的有意差が見られなかったことから、被験物質投与に起因するとは判断されなかった。60 mg/kg 群の雌における悪性リンパ腫の発生率 (26.7%) は、溶媒対照群の雌 (15.0%) と比較して大きかった。この発生率は、試験実施

施設での CD-1 マウスにおける背景データの範囲 (5.0~25.3%) を僅かに外れていたが、他の CD-1 マウスで報告された発生率の範囲 (3.3~44.0%) 内であり、統計学的にも有意ではなかった。

30 mg/kg 以上の群における乳腺腺癌の発生率は、溶媒対照群と比較して高かった。その発生率は背景データの上限であり、用量相関性及び統計学的有意性が認められなかったことから、乳腺腺癌は被験物質投与に起因するとは判断されなかった。

表 2.6.6- 13 CD-1 マウスのがん原性試験における腫瘍の要約

Dose (mg/kg, TIW)	0 (Vehicle)		15		30		60	
	60M	60F	60M	60F	60M	60F	60M	60F
Number of Animals								
Total Primary Tumors†	42	52	56	62	63	57	45	65
Total Benign Tumors	31	22	33	36	44	26	26	30
Total Malignant Tumors§	11	30	23	26	19	31	19	35
Total Animals with Tumors‡	32	40	39	42	40	38	36	42

F: female; M: male.

†: Includes all occurrences of benign, malignant with metastasis primary, and malignant without metastasis.

‡: Numbers represent the number of animals with the finding.

§: Includes all occurrences of malignant with metastasis primary and malignant without metastasis.

Source: [Study report 352010016].

この試験において、被験物質投与に関連した発がんは認められなかった。悪性腫瘍の総数及び腫瘍を有する動物の総数は群間で同様であった (表 2.6.6- 13)。

被験物質投与と関連性が示された非腫瘍性所見は認められなかった。

30 mg/kg 以上の群では Hct の僅かな上昇が認められたが、この上昇は統計学的に有意ではなかった。その原因として検出力が低いことが可能性として考えられる (表 2.6.6- 14)。

15~60 mg/kg の単回及び反復投与後に、ロキサデュスタットの全身曝露はおおよそ用量に比例して上昇し、性差は認められなかった。15 及び 30 mg/kg の反復投与後の曝露に、投与 1 日から 18 カ月までの間、全般的に変動は認められなかったが、60 mg/kg 群において僅かに低下した (表 2.6.6- 14)。

以上、ロキサデュスタットを最大用量 60 mg/kg で最長 TIW104 週間経口投与した CD-1 マウスにおいて、被験物質投与に関連した発がん又は非腫瘍性病理解剖学的所見は認められず、ロキサデュスタットはがん原性を示さなかった。

表 2.6.6- 14 CD-1 マウスのがん原性試験における、死亡、ヘマトクリット値、及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, TIW)		0 (Vehicle)		15		30		60	
Number of animals		60M	60F	60M	60F	60M	60F	60M	60F
Mortality†		38	33	37	31	29	34	44	39
Hematology (no of animals)		2M	3F	7M	7F	11M	8F	10M	9F
Hematocrit (%)		41.2	40.7	43.2	41.0	44.7	46.9	44.6	46.1
Toxicokinetics‡ (no of animals)		24M	24F	72M	72F	72M	72F	72M	72F
C _{max} (µg/mL)	Day 1	NC	NC	40.9	42.9	70.5	112	158	174
	Month 12	NC	NC	31.2	35.4	50.1	61.4	109	112
	Month 18§	NC	NC	35.1	35.5	40.8	31.0	71.0	95.0
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	Day 1	NC	NC	145	141	274	400	642	882
	Month 12	NC	NC	94.3	157	189	279	443	672
	Month 18§	NC	NC	225	190	233	269	434	633

F: female; M: male; NC: not calculated.

†: mortality = died or sacrificed moribund animals.

‡: Blood samples for toxicokinetic evaluation were collected from 3 animals per sex per time point.

§: Due to mortality over time, only 1 to 3 animals per sex per time point were sampled at month 18.

Source: [Study report 352010016].

2.6.6.5.2 SD ラットを用いたがん原性試験

添付資料 4.2.3.4.1-2

この GLP 試験では、雌雄 SD ラットに最長 TIW104 週間強制経口投与したロキサデュスタットのがん原性を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.10.2)。この試験は (米国) で実施した。

ロキサデュスタットを 0 (溶媒), 0 (生理食塩液), 2.5, 5, 及び 10 mg/kg の用量並びに 10 mL/kg の投与容量で、雌雄各 75 匹に TIW 強制経口投与した。各ロキサデュスタット投与群の雌雄各 24 匹 (対照群雌雄各 6 匹) を、投与 1 日、並びに投与 6, 12, 18, 及び 24/22 カ月のトキシコキネティクス評価、投与 12 及び/又は 24/22 カ月時の臨床病理の評価に割り当てた。毒性評価は、死亡及び腫瘍の発生率、一般状態、体重、摂餌量、臨床病理、並びに病理学的検査に基づいて実施された。試験計画書に従い、生理食塩液を投与した対照群では、腫瘍発生率及び病理組織学的検査は評価しなかった。

生理食塩液の対照群の雌における生存率の低下 (生存数 20 匹) により、全ての群の雌において、投与 98 週の週に投与は中止され、安楽死が開始された。雄への投与は 104 週まで継続し、安楽死を 105 週に開始した。

生死、一般状態、平均体重、体重増加量、血液生化学検査又は剖検に、ロキサデュスタット投与の影響は認められなかった。同様に、溶媒及び生理食塩液対照群の群で、評価したパラメータに顕著な差は認められなかった。

溶媒及び生理食塩液対照群と比較して、ロキサデュスタット投与群の雄では、概して、統計学的には有意ではあるが僅かな摂餌量の増加が投与 64 週まで認められた。しかし、これらの増加は平均体重には影響しなかった。

被験物質投与に関連した腫瘍所見は認められなかった。良性腫瘍又は悪性腫瘍を有する動物数若しくは担腫瘍動物数に、被験物質投与に関連した有意な上昇は認められなかった（表 2.6.6- 15）。

表 2.6.6- 15 SD ラットのがん原性試験における腫瘍の要約

Dose (mg/kg, TIW)	0 (Vehicle)		2.5		5		10	
	75M	75F	75M	75F	75M	75F	75M	75F
Number of Animals	86	105	71	110	67	131	70	103
Total Benign Tumors	24	21	24	20	20	20	17	22
Total Malignant Tumors	110	126	95	130	87	151	87	125
Animals with Benign Tumors†	55	62	50	64	49	68	49	64
Animals with Malignant Tumors†‡	21	19	22	20	19	20	15	21
Total Tumor Bearing Animals†	62	67	57	68	58	72	56	68

F: female; M: male.

†: Numbers represent the number of animals with the finding.

‡: Includes all occurrences of malignant with metastasis, primary, and malignant without metastasis.

Source: [Study report 352010015].

溶媒対照群との比較で、雄の腫瘍発生率に統計学的に有意な上昇は認められなかった。

乳腺腺腫の発生率が、5 mg/kg 群の雌で溶媒対照に対して統計学的に有意に上昇した（表 2.6.6- 16）。10 mg/kg 群の腺腫の発生率に統計学的な上昇は認められなかったことから、この所見は被験物質投与との関連性はないものと判断された。

表 2.6.6- 16 SD ラットのがん原性試験における乳腺腫瘍所見

Dose (mg/kg, TIW)	0 (Vehicle)		2.5		5		10	
	75M	75F	75M	75F	75M	75F	75M	75F
Number of Animals	2	8	0	11	0	23*	0	9
Mammary Gland – Adenoma†	0	9	0	9	0	13	0	13
Mammary Gland – Adenocarcinoma†	0	28	0	39	1	32	0	25
Mammary Gland - Fibroadenoma†	0	0	0	0	0	0	0	1
Total Mammary Gland Tumors, Benign	2	36	0	50	1	55	0	35
Total Mammary Gland Tumors, Malignant	0	9	0	9	0	13	0	13

F: female; M: male; *: P < 0.01.

†: Number includes animals with single and multiple tumors of this type

Source: [Study report 352010015].

10 mg/kg 群の雄 2 匹の脾臓で血管肉腫が観察された。この発生率は、試験実施施設における雄 SD ラットの背景データ及び他の雄 SD ラットの背景データを逸脱するものであった。この発生率は統計学的に有意でなく、他の群のいずれにも同様な腫瘍は認められず、9 週齢の SD ラットにおいてこの腫瘍は自然発生的に発現する可能性があるという報告 [Shiraki K, et al 2012] を考慮し、この所見は被験物質投与との関連性はないものと判断された。

非腫瘍性所見として、全てのロキサデュスタット投与動物において大腿骨髄及び胸骨髄での細胞数増加の頻度が上昇し、10 mg/kg 群の雄 7 匹及び 2.5 mg/kg 群の雌 1 匹に心房／大動脈血栓症が認められ、2.5 mg/kg 群の雌の所見は背景データの範囲内であった。被験物質を投与した全ての群の雌における肝細胞空胞化の頻度上昇は、適応性／非有害性の変化と判断された。

ロキサデュスタットの薬理作用を反映する赤血球系パラメータ（RBC, Hb, 及び Hct）の上昇が 10 mg/kg 群の投与 12 カ月、赤血球分布幅の上昇が 5 及び 10 mg/kg 群の雄の投与 24 カ月、10 mg/kg 群の雌の投与 22 カ月に認められた（利用できる対照動物は溶媒及び生理食塩液投与のそれぞれ雌 1 例のみ）（表 2.6.6- 17）。

表 2.6.6- 17 SD ラットのがん原性試験における、死亡、ヘマトクリット値、及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, TIW)		0 (Vehicle)		2.5		5		10	
Number of animals		75M	75F	75M	75F	75M	75F	75M	75F
Mortality†		45	52	44	48	46	52	52	51
Hematology (month 24 in male /22 in female) (no of animals)		3M	1F	9M	8F	10M	11F	6M	7F
Hematocrit (%)		41.4	41.4‡	42.2	33.6	38.2	36.6	48.2	45.5
Toxicokinetics§ (no of animals)		6M	6F	24M	24F	24M	24F	24M	24F
C _{max} (µg/mL)	Day 1	NC	NC	6.76	7.67	13.0	12.0	30.4	24.8
	Month 12	NC	NC	15.5	15.4	29.6	36.5	66.9	78.7
	Month 24/22††	NC	NC	17.1	11.1	23.4	15.9	67.6	52.6
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	Day 1	NC	NC	41.2	45.6	94.7	89.6	213	184
	Month 12	NC	NC	73.7	83.5	192	182	422	452
	Month 24/22††	NC	NC	83.0	44.7	121	113	372	337

F: female; M: male; NC: not calculated.

†: mortality = died or sacrificed moribund animals.

‡: excluded from statistical analysis (N < 2).

§: Blood samples for toxicokinetic evaluation were collected from 3 animals per sex per time point.

††: Due to mortality over time, only 1 to 2 animals per sex per time point were sampled at month 24 (male) or 22 (female).

Source: [Study report: 352010015].

2.5～10 mg/kg の単回及び反復投与後の全身曝露は、おおむね用量に比例して上昇し、明らかな性差は認められなかった（表 2.6.6- 17）。6～24 カ月間の反復投与後の曝露に概して変化は認められず、投与 1 日の曝露量の約 2 倍であった。

以上、ロキサデュスタットを最大用量 10 mg/kg で TIW97 週間（雌）及び 104 週間（雄）経口投与した SD ラットにおいて、ロキサデュスタットはがん原性を示さなかった。

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 SD ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する間歇投与試験

添付資料 4.2.3.5.1-1

この GLP 試験では、雌雄 SD ラットにロキサデュスタットを交配前及び交配期間中は TIW、妊娠期間中（妊娠 0～7 日）は 1 日 1 回強制経口投与して、交配前並びに交配及び着床までのロキサデュスタットの毒性を評価した（2.6.7 毒性試験概要表、表 2.6.7.12.1）。この試験は ICH ガイドラインにおける生殖過程のステージ A 及び B の評価を含み、雌では性周期、卵管内輸送、着床、及び胚の着床前段階での発達への影響、並びに雄では生殖臓器への機能的影響を評価するためにデザインされた。この試験は [REDACTED]（米国 [REDACTED] [REDACTED]）で実施した。

雄：

ロキサデュスタットを 0（溶媒）、5、15、又は 30 mg/kg の用量並びに 5 mL/kg の投与容量で各群の雄 25 匹（78 日齢）に投与した。各群の雄 12 匹（対照群では雄 6 匹）を投与 1 及び 43 日のトキシコキネティクス用に割り当てた。雄ラットには未投与雌との交配 2 週間前から、交配期間中を通して解剖の前日（投与 44～47 日）まで TIW 投与した。毒性評価は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、交尾能、精子検査（精子の運動性及び濃度）、器官重量、及び剖検所見に基づいて行った。

30 mg/kg 群の 1 匹が 19 回の投与を行った後（投与 44 日）に死亡した。このラットでは、投与 40～43 日に体重減少が認められ、剖検では肺の暗赤色化が観察された。15 mg/kg 群の雄 1 匹を口蓋の骨折のために安楽死させたが、この所見は被験物質投与に関連しないと判断された。

精巣上体及び精嚢重量は、30 mg/kg 群で対照群と比較して有意に低かった。雄ラットの交尾能又は精子パラメータ（運動性、数、又は濃さ）については、ロキサデュスタット投与の影響は認められなかった。投与した雄と無処置の雌との交配では、帝王切開所見に影響は認められなかった。

投与終了時の剖検では、15 mg/kg 以上の群に脾臓腫大が観察され、これは 30 mg/kg 群における有意な脾臓重量の上昇と一致していた。さらに、30 mg/kg 群の別の 1 匹において、肝臓の暗赤色化が認められた。

トキシコキネティクス評価（表 2.6.6-18）では、ロキサデュスタットの C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量の増加に伴い上昇した。雄における投与 1 及び 43 日での全身性曝露は、5mg/kg と 15 mg/kg では用量比以上に上昇し、15mg/kg と 30 mg/kg では用量比に応じて上昇した。

以上、雄における一般毒性の NOAEL は 5 mg/kg、雄の生殖能及び着床までの初期胚発生における NOAEL は 30 mg/kg であった。

表 2.6.6- 18 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験における雄 SD ラットのトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, TIW)		0 (Vehicle)	5	15	30
Toxicokinetics† (no of animals)		6M	12M	12M	12M
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	Day 1	NC	92.6	389.8	879.1
	Day 43	NC	101.5	408.6	779.4

M: Males; NC: not calculated.

†: Blood samples for toxicokinetic evaluation were collected from 3 animals per 1-2 time points.

Source: [Study report 352012001].

雌：

ロキサデュスタットを 0 (溶媒), 5, 15, 又は 30 mg/kg の用量並びに 5 mL/kg の投与容量で各群の雌 25 匹 (87 日齢) に投与した。各群の雌 12 匹 (対照群では雌 6 匹) を投与 1 日及び妊娠 7 日にトキシコキネティクス用に割り当てた。雌の解剖を妊娠 13 日に行った。雌ラットに未投与雄との交配 2 週間前から、交配期間中を通して交配が確認 (妊娠 0 日) されるまで TIW 投与した。交配が確認された雌に対しては、妊娠 0~7 日に連日投与した。毒性評価は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、性周期及び交尾能、帝王切開所見、器官重量、並びに剖検所見に基づいて行った。

15 mg/kg 以上の群において、交配前期間の 2 週間に体重増加量が高値を示した。30 mg/kg 群では、妊娠 7~8 日に摂餌量の低下、及び妊娠 10~13 日に摂餌量の上昇が認められた。

30 mg/kg 群において、胚の生存性が低下 (母体毎の生存胚数及び生存胚率) し、着床後胚死亡率及び胚死亡が認められた母動物数が対照群と比較して高かった。黄体数、着床数、及び平均生存胎児数、並びに着床前死亡率への影響は認められなかった。また、性周期、交尾能、及び受胎能に対するロキサデュスタット投与の影響も認められなかった。

剖検では、30 mg/kg 群の雌 2 匹に肝臓の暗赤色化、及び雌 1 匹に脾臓の白色領域が認められた。15 mg/kg 以上の群では脾臓腫大が観察され、30 mg/kg 群における有意な脾臓重量の増加と一致していた。30 mg/kg 群では、肝臓重量も対照群と比較して増加した。

トキシコキネティクス評価 (表 2.6.6- 19) では、ロキサデュスタットの C_{max} 及び AUC₀₋₂₄ は用量の増加に伴い上昇した。雌では、妊娠 7 日の 5 mg/kg と 15 mg/kg を除き、投与 1 日及び妊娠 7 日で、用量比に応じて上昇した。妊娠 7 日の 5 mg/kg と 15 mg/kg では用量比以上に上昇した。おむね投与後 0.5 又は 2 時間で C_{max} に達した。t_{1/2} は 3.24~5.48 時間であった。投与 1 日の曝露に著しい性差は観察されなかった。ロキサデュスタットの 5, 15, 及び 30 mg/kg の用量での反復投与後に明らかな蓄積 (蓄積比 0.6~1.2) は観察されなかった。

以上、母動物の NOAEL は 5 mg/kg、雌の受胎能及び着床までの初期胚発生における NOAEL は 15 mg/kg であった。

表 2.6.6- 19 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験での、雌 SD ラットにおける着床までの初期胚への影響及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, TIW) Daily on GD 0-7	0 (Vehicle)	5	15	30
Number of animals	25F	25F	25F	25F
Caesarean sectioning and litter observations				
Non-viable embryos (mean ± SD)	1.0 ± 1.0	1.0 ± 1.2	0.9 ± 1.2	2.2 ± 1.6*
Postimplantation loss (%)	7.0 ± 8.1	6.3 ± 8.2	6.5 ± 8.7	15.4 ± 11.6*
Number of dams with non-viable embryos N (%)	15 (60.0)	13 (59.1)	13 (52.0)	22 (88.0)*
Toxicokinetics† (no of animals)	6F	12F	12F	12F
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	Day 1	NC	139.6	395.0
	GD 7	NC	90.3	428.8
			428.8	897.8

GD: gestation day; F: female; *: P ≤ 0.05; NC: not calculated.

% postimplantation loss = [(number of implantations – number of live fetuses)/ number of implantations] x 100.

†: Blood samples for toxicokinetic evaluation were collected from 3 animals per 1-2 time points.

Source: [Study report 352012001].

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 SD ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験，用量設定

添付資料 4.2.3.5.2-1 (参)

この用量設定試験では、妊娠雌 SD ラットにロキサデュスタットを着床から硬口蓋閉鎖まで強制経口投与し、ロキサデュスタットの母体及び EFD に対する毒性を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.11)。この試験は、2.6.6.6.2.2 SD ラットにおける胚・胎児発生に関する試験の用量設定を行うため、XXXXXXXXXX (中国 XXXXXXXXXX) で Chinese SFDA GLP に遵守して実施された。

ロキサデュスタットを、雌 SD ラットの妊娠 6~15 日に、0 (溶媒), 2, 10, 30, 及び 60 mg/kg の用量並びに 5 mL/kg の投与容量で 1 日 1 回投与した。妊娠率が低かったため、妊娠雌ラット数は 13~25 匹/群であった。交尾が確認された日を妊娠 0 日とした。妊娠 20 日に帝王切開を実施した。毒性評価は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、剖検、帝王切開所見、胎盤重量、胎児体重、胎児の性別、及び胎児の外表観察に基づいて行った。その他、母動物に著しい毒性が認められ、胎児に対して十分な評価が行えない 60 mg/kg 群を除いて、骨化の評価を含む骨格観察及び内臓観察を行った。

60 mg/kg 群では、投与 3~8 日後に母動物 9 匹が死亡した。平均体重の減少が妊娠 8 日から、体重増加量の減少が妊娠 6 日から 12 日、摂餌量の低下が妊娠 4~12 日に認められた。生存母動物 4 匹では、帝王切開日に体重、及び摂餌量が低下し、妊娠子宮重量、及び胎盤重量の有意な低下が認められた。吸収胚数が有意に上昇した結果、着床後胚死亡率の上昇及び生存胎児数の低下が認められた。さらに、胎児体重が有意に低下し、尾長が有意に短縮した。

30 mg/kg 群では、1 匹で流産が認められ、妊娠期間中（妊娠 0～20 日）の母動物の体重増加量には影響は認められなかったが、妊娠後期（妊娠 16～20 日）の体重増加量は低下した。帝王切開時に、僅かな胎児体重の低下及び尾長の短縮化が認められ、化骨数の低下と関連していた。

以上、妊娠ラットにおいて、60 mg/kg での忍容性は認められなかったが、30 mg/kg までは良好な忍容性が認められた。

2.6.6.6.2.2 SD ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

添付資料 4.2.3.5.2-2

この GLP 試験では、妊娠雌 SD ラットにロキサデュスタットを着床から硬口蓋閉鎖まで強制経口投与し、曝露された母動物の毒性及び EFD に対する毒性を評価した（2.6.7 毒性試験概要表、表 2.6.7.13.1）。この試験は、ICH ガイドラインにおける生殖過程のステージ C 及び D の評価であり、XXXXXXXXXX（米国、XXXXXXXXXX）で実施された。

ロキサデュスタットを、0（溶媒）、5、15、及び 30 mg/kg の用量並びに 5 mL/kg の投与容量で、妊娠雌 SD ラット（11～12 週間齢）25 匹の妊娠 7～17 日に、1 日 1 回投与した。さらに各群で妊娠雌 SD ラット 6 匹に同用量を投与し、妊娠 7 及び 17 日にトキシコキネティクス用に、妊娠 18 日に血液学的検査用に採血した。主試験では、妊娠 21 日に帝王切開を実施した。毒性評価は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、剖検、帝王切開所見、胎児体重、胎盤重量、胎児の性別、及び胎児の外表観察、骨化の評価を含む骨格観察及び内臓観察に基づいて実施された。

いずれの群においても死亡は認められず、一般状態、又は剖検でも、ロキサデュスタット投与の影響は認められなかった。30 mg/kg 群では、投与期間初期（妊娠 7～12 日）に一過性に体重増加量の低下、及び投与期間中を通じた摂餌量の低下が認められた。

投与期間終了後の期間（妊娠 18～21 日）では、15 mg/kg 以上の群において母動物の体重増加量が溶媒対照群と比較して有意に低下したが、毒性学的意義はないと判断された。

30 mg/kg 群では、雌雄の胎児体重が低下し、雄の胎盤重量が上昇した。外表観察、骨格観察又は内臓観察ではロキサデュスタットによる異常は認められなかったが、この動物種及び系統において一般的な骨格変異である頸肋の頻度が 30 mg/kg 群で上昇した。

投与終了時の母動物の血液学的検査において、ロキサデュスタットの薬理作用である赤血球系パラメータ（RBC, Hb, Hct, 網状赤血球, MCV）の上昇及び MCHC の低下が、15 mg/kg 以上の群で認められた。さらに、5 mg/kg 以上の群において血小板数が低下した。

母動物では、 C_{max} 及び AUC_{0-24} が妊娠 7 日に比べ妊娠 17 日に上昇したが、僅かでありロキサデュスタットの蓄積を示唆するものではなかった。 C_{max} 及び AUC_{0-24} はおおむね用量に比例して上昇（表 2.6.6-20）し、全ての投与群において t_{max} は投与後 2 時間であった。

以上、母動物及び EFD に対する NOAEL はいずれも 15 mg/kg であった。

表 2.6.6- 20 SD ラットの胚・胎児発生に関する試験における、ヘマトクリット値及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, daily)		0 (Vehicle)	5	15	30
Number of Pregnant Dams		24F	25F	20F	25F
Hematology (GD 18) (no of animals)		5F	6F	6F	6F
Hematocrit (%)		32.5	34.0	42.5*	46.7*
Toxicokinetics† (no of animals)		6F	6F	6F	6F
C _{max} (µg/mL)	GD 7	NC	12.9	46.4	95.5
	GD 17	NC	16.4	50.0	98.4
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	GD 7	NC	108.3	391.4	942.4
	GD 17	NC	147.4	418.1	1184.0

GD: gestation day; NC: not calculated

†: Blood samples for toxicokinetic evaluation were collected from 3 animals per 3 time points.

*: P ≤ 0.05.

Source: [Study report 352010001].

2.6.6.6.2.3 NZW ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験，用量設定

添付資料 4.2.3.5.2-3 (参)

この試験では、2.6.6.6.2.4 NZW ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験（2.6.7 毒性試験概要表、表 2.6.7.11）の用量設定を行うため、XXXXXXXXXX（米国 XXXXXXXXXX）で非 GLP で実施した。

ロキサデュスタットを、雌 New Zealand White (NZW) ウサギ 5 匹の妊娠 7～19 日に、0 (溶媒)、15、35、75、及び 150 mg/kg の用量並びに 5 mL/kg の投与容量で、1 日 1 回強制経口投与した。さらにトキシコキネティクス用に各群妊娠雌ウサギ 3 匹に対し同用量を投与し、妊娠 7 及び 19 日に採血した。主試験群では、妊娠 29 日に帝王切開を行った。毒性評価は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、臨床病理検査（妊娠 6、19、及び 29 日における血液学、凝固、血液生化学）、剖検、帝王切開所見、胎児体重、胎児の性別、並びに胎児の外表観察を行った。

いずれの群においても死亡は認められず、一般状態、又は剖検でも、ロキサデュスタット投与の影響は認められなかった。150 mg/kg 群の 1 匹は、後肢の損傷のために妊娠 21 日に人道的に安楽死させた。

75 mg/kg 以上の群では、投与期間（妊娠 7～19 日）中に用量依存的に体重増加量が低下し、150 mg/kg 群では摂餌量が低下した。35 mg/kg までロキサデュスタットの忍容性は良好であり、投与の影響は認められなかった。帝王切開所見は、150 mg/kg までロキサデュスタット投与の影響は認められなかった。

母動物におけるロキサデュスタットの薬理作用である赤血球造血亢進が妊娠 19 日に認められた。15 mg/kg 以上の群において網状赤血球数が増加し、75 mg/kg 以上の群では赤血球系パラメータ（RBC, Hb, Hct）が溶媒群と比較して上昇した。75 mg/kg 以上の群では、投与終了以降（妊娠 29 日）にも赤血球系パラメータの変化が認められた。

母動物において、 C_{\max} は用量の増加に伴い上昇し、 AUC_{0-24} は用量比を僅かに上回って上昇した。13 日間の 1 日 1 回反復投与 (妊娠 19 日) でロキサデュスタットの蓄積性は認められなかった。 t_{\max} は妊娠 7 日は 0.5~4 時間、妊娠 19 日は 0.5 時間であった。

以上、35 mg/kg まで母動物の忍容性は良好であり、EFD に対しては 150 mg/kg まで影響は認められなかった。

2.6.6.6.2.4 NZW ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

添付資料 4.2.3.5.2-4

この GLP 試験では、妊娠雌ウサギにロキサデュスタットを着床から硬口蓋閉鎖まで強制経口投与し、曝露された母動物の毒性及び EFD に対する毒性の評価を行った (2.6.7 毒性試験概要表、表 2.6.7.13.2)。この試験は、ICH ガイドラインにおける生殖過程のステージ C 及び D を非齧歯類において評価するためにデザインされ、(米国、) で実施された。

ロキサデュスタットを、0 (溶媒)、15、35、及び 100 mg/kg の用量並びに 5 mL/kg の投与容量で、各群妊娠雌 New Zealand White ウサギ 18~20 匹 (約 6.5 カ月) の妊娠 7~19 日に、1 日 1 回投与した。さらに各群で妊娠雌 3 匹に同用量を投与し、妊娠 7 及び 19 日にトキシコキネティクス用に、妊娠 20 日に血液学的検査用に採血した。主群では、妊娠 29 日に帝王切開を行った。毒性評価は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、剖検、帝王切開所見、胎児体重、胎児の性別、胎児の外表観察、並びに骨化の評価を含む骨格観察及び内臓観察に基づいて実施された。

いずれの群においても死亡は認められなかった。100 mg/kg 群では、投与期間中に体重及び摂餌量の低下が認められ、便性状の異常 (軟便又は水様便、排便量減少又は無便) と一致していた。35 及び 100 mg/kg 群におけるそれぞれ 1 及び 2 匹が、投与終了後の期間中 (妊娠 27 又は 28 日) に流産し、これらの流産した雌は消瘦も呈していた。

帝王切開所見は、ロキサデュスタットの影響はみられなかった。さらに、ロキサデュスタットに起因する催奇形性作用は、いずれの用量においても認められなかった。

母動物におけるロキサデュスタットの薬理作用として、100 mg/kg 群における赤血球系パラメータへの影響 (RBC, Hb, 及び Hct, 並びに網状赤血球数及び MCV の上昇, MCHC の低下) が投与終了時に認められた (表 2.6.6-21)。

母動物では、 C_{\max} が用量の増加に伴い上昇し、 AUC_{0-24} が用量比を僅かに上回って上昇した。13 日間の反復投与 (妊娠 19 日) にロキサデュスタットの蓄積性は認められなかった (表 2.6.6-21)。 t_{\max} は妊娠 7 及び 19 日の全ての用量で 0.5 時間であった。

以上、母動物での NOAEL は 15 mg/kg であり、EFD に対する NOAEL は 100 mg/kg であった。

表 2.6.6- 21 NZW ウサギの胚・胎児発生に関する試験における、流産、ヘマトクリット値、及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, daily)		0 (Vehicle)	15	35	100
Number of pregnant dams		19F	19F	20F	18F
Aborted		0	0	1	2
Hematology (GD 20) (no of animals)		2F	3F	2F	3F
Hematocrit (%)		37.4	39.2	40.0	53.4*
Toxicokinetics (no of animals)		3F	3F	3F	3F
C _{max} (µg/mL)	GD 7	NC	15.2	68.9	124.7
	GD 19	NC	15.3	36.1	103.1
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	GD 7	NC	61.9	217.8	1195.4
	GD 19	NC	56.4	138.4	604.2

GD: gestation day; NC: not calculated; *: P ≤ 0.05

Source: [Study report 352010002].

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.6.6.3.1 SD ラットを用いた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

添付資料 4.2.3.5.3-1

この GLP 試験では、雌 SD ラットにロキサデュスタットを着床から離乳まで強制経口投与し、母体並びに出生児の発生への影響を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.14.1)。この試験では、ICH ガイドラインにおける生殖過程のステージ C~F を評価したが、帝王切開した胎児の評価 (ステージ C~D) は別試験 (2.6.6.6.2.2 SD ラットにおける胚・胎児発生に関する試験) で実施されたためこの試験には含まなかった。この期間に誘発された影響は遅れて発現する可能性があるため、F1 世代のラットが性成熟するまで観察を継続した。この試験は (米国,) で実施した。

ロキサデュスタットを、妊娠 7 日から授乳 20 日まで、0 (溶媒)、5、10、及び 20 mg/kg の用量並びに 5 mL/kg の投与容量で、各群 25 匹の妊娠 SD ラットに 1 日 1 回投与した。妊娠 20 日に、母動物及び胎児のトキシコキネティクス及び Hct 用検体を採取するために、サテライト群として各用量妊娠雌 4 匹を設定した。F0 世代の母動物並びに F1 世代の胎児及び出生児において Hct を薬力学的マーカーとして測定した。生後 (PND) 4 及び 21 日に Hct 及びトキシコキネティクス用血液を、同腹児の雌雄各 1 匹から採取し、各同腹児でプールした。授乳 10 日に母動物の血液及び母乳をトキシコキネティクス用に主試験の動物 5 匹から採取した。

F0 世代の母動物への影響は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、交尾能 (投与前)、自然分娩パラメータ、母動物の行動、剖検及び脾臓重量に基づいて評価した。

F1 世代への影響は、離乳前の発達観察 (平面立ち直り反射、耳介開展、眼瞼開裂、聴覚性驚愕反応、空中立ち直り反射、瞳孔反射、毛生及び切歯萌出)、生存率、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、性成熟、受動的回避学習及び水迷路学習検査、交尾能、卵巣及び子宮の検査、剖検並びに器官重量に基づいて評価した。さらに、F1 世代のラットを交配させ、F2 世代の胎児において、体重、性別及び外表異常の評価を行った。

F0 世代の母動物：

20 mg/kg 群の雌 1 匹を投与過誤により妊娠 17 日に安楽死させた。

F0 世代の死亡，一般状態，交尾能，母動物の行動又は剖検結果に，ロキサデュスタットに関連した影響は認められなかった。

20 mg/kg 群の母動物では，妊娠 7～18 日に体重増加量の僅かな上昇が認められ，妊娠 12～15 日には対照群と比較して統計学的有意差が認められた。妊娠 18～20 日には摂餌量の低下を伴う体重増加量の有意な減少が認められた。また，授乳期間中の母動物の体重増加量に減少傾向が観察され，授乳 14～17 日のみ対照群と比較し統計学的に有意な減少が認められた。この変化には摂餌量の減少も伴っていた。さらに同群では，授乳 5～21 日に全児死亡の母動物数の有意な増加が認められた（母動物 24 匹中 12 匹，対照群では 0 匹）。

薬理作用として妊娠 20 日には 20 mg/kg 群で，授乳 21 日には 10 mg/kg 以上の群の母動物で Hct の上昇が観察された。20 mg/kg 群において，平均脾臓重量が有意に上昇したが，剖検において肉眼的変化は観察されなかった。

F0 世代の母動物において平均血漿中ロキサデュスタット濃度が用量の増加に伴い上昇し，妊娠 20 日の平均濃度は授乳 10 日の平均濃度と比較して高かった。ロキサデュスタットの母乳中濃度が授乳 10 日に用量の増加に伴い上昇し，同時間の血漿中濃度より高かった（母乳：血漿比=1.4～4.4）（表 2.6.6-22）。

表 2.6.6- 22 SD ラットの PPN 試験における, 生存率, ヘマトクリット値, トキシコキネティクス,
及びロキサデュスタットの母乳中濃度

Dose (mg/kg, daily)		0 (Vehicle)		5	10	20					
F0 Dams											
Hematology											
Number of Dams		4F		4F	4F	4F					
Hematocrit (%)		GD 20	35.8	41.3	37.2	49.3*					
Number of Dams		25F		25F	25F	12F					
Hematocrit (%)		LD 21	52.2	55.1	60.6*	77.4*					
Toxicokinetics											
Number of Dams		4F		3F	4F	4F					
Plasma concentration (µg/mL)		GD 20	< LLOQ	15.8	39.5	82.4					
Number of Dams		5F		5F	5F	5F					
Plasma concentration (µg/mL)		LD 10	< LLOQ	6.9	23.9	50.0					
Number of Dams		3F		5F	5F	5F					
Milk concentration (µg/mL)		LD 10	0.001	30.7	57.1	70.7					
F1 generation (preweaning)											
Number of litters evaluated		25		25	25	24†					
Pups delivered (total)		330		338	335	297					
Pup Viability											
Viability Index (%)		PND 1-4	98.2	99.4	98.8	97.6					
Lactation Index (%)		PND 5-21	100.0	100.0	96.0	25.1*					
Hematology											
Number‡		1		3	1	NA					
Hematocrit (%)		GD 20	32.2	35.5	35.6	NA					
Number§		25		25	21	11					
Hematocrit (%)		PND 21	32.1	37.7	35.2	27.4*					
Toxicokinetics											
Number‡		4		3	4	4					
Plasma concentration (µg/mL)		GD 20	< LLOQ	1.2	3.3	11.9					
Number§		24		25	25	24					
Plasma concentration (µg/mL)		PND 4	< LLOQ	6.0	12.3	16.2					
Number§		25		25	25	9					
Plasma concentration (µg/mL)		PND 21	< LLOQ	3.6	11.5	20.9					
F1 generation (postweaning)											
Number of litters evaluated		25		25	25	0					
Dose (mg/kg, daily)		0 (Vehicle)		5	10	20					
Pups Body weight (g)		PND		M	F	M	F	M	F		
Postweaning (pup weight)		22		53.5	52.8	46.2*	45.2*	43.0*	40.9*	NA	NA
		50		291.6	202.1	265.9*	187.4*	205.9*	162.0*	NA	NA
		92		525.0	297.4	527.1	294.9	436.6*	270.6*	NA	NA

F: female; GD: gestation day; LD: lactation day; LLOQ: lower than the limit of quantification; M: male; NA: not applicable; PND: postnatal day; *: P < 0.05.

†: Due to the intubation error in 1 F0 generation dam at 20 mg/kg, 24 dams in the 20 mg/kg dose groups delivered their litters.

‡: Blood samples were pooled per litter of F1 generation fetuses from F0 females (toxicokinetic study).

§: Blood samples are pooled from 1 male and 1 female pup, per litter.

Source: [Study report 352013012].

F1 世代の出生児

離乳前：生存率は、生後 4 日まで群間で同様であったが、10 mg/kg 以上の群では、平均生存児数(哺育率)が生後 5～21 日に対照群(100%生存)と比較して低下(母動物での用量 10 及び 20 mg/kg においてそれぞれ 96.0%及び 25.1%生存)した(表 2.6.6- 22)。20 mg/kg 群では、生存児の著しい減少が認められ、生後 11～21 日に、出生児 297 匹中 140 匹が死亡又は食殺された。

20 mg/kg 群における出生児の平均体重は、生後 1～21 日の全ての期間において、対照群と比較して有意に低下した(対照群の体重の 61～90%)。10 mg/kg 群の出生後 7～21 日及び 5 mg/kg 群の出生後 21 日における平均体重は、程度は小さいものの有意に低下した。

10 mg/kg 以上の群において軽度～重度の脱水及び運動性の低下が観察され、20 mg/kg 群では対照群と比べて有意な発現率の増加が認められた。20 mg/kg 群ではさらに耳介、四肢あるいは全身の退色、低体温、被毛汚染あるいは削瘦が認められた。途中死亡児の剖検では、20 mg/kg 群で胃に母乳が認められた児の割合(90.4%)は、対照群(33.3%)と比較して有意に高かった。

F1 児動物での Hct の平均値は、出生後 4 日には各群でおおむね同等であったが、出生後 21 日では 20mg/kg 群で統計学的に有意に低下していた(対照群の 85%)(表 2.6.6- 22)。

5 mg/kg 以上の群において、反射及び身体発育分化にロキサデュスタットに関連した影響が観察された。全ての群で、空中立ち直り反射及び聴覚性驚愕反応の基準達成が対照群と比較して遅延した。この遅延は出生児の体重低下と一致しており、発育全般の遅延を反映していると考えられる。対照的に、全ての用量での切歯萌出の基準達成は早く、10 mg/kg 以上の群の眼瞼開裂の基準達成はより早かった。耳介展開、毛生、瞳孔反射及び平面立ち直り反射に変化は観察されなかった。

離乳後：離乳前期間における出生児の死亡率が高かったため、20 mg/kg 群の生存児は離乳時に屠殺した。10 mg/kg 群では、4 児が生後 22～33 日に死亡又は一般状態の悪化のために安楽死させた。瀕死屠殺した 2 児では、運動性の低下、軽度～中等度又は重度の脱水、削瘦、眼瞼下垂、被毛汚染、尿による腹部被毛汚染、立ち直り反射の消失、呼吸緩徐、冷感及び体重低下が認められた。

離乳後においても、出生児の体重への影響が継続して認められた。F1 出生児の平均体重は、5 mg/kg 群では生後 57 日(雄)及び生後 64 日(雌)まで、10 mg/kg 群では試験終了(生後 120 日)まで対照群と比較して低値を示した。5 及び 10 mg/kg 群の出生児の平均摂餌量の低下が 5 mg/kg 群の生後 50 日(雄)及び生後 43 日(雌)まで、並びに 10 mg/kg 群の生後 64 日(雄)及び生後 57 日(雌)まで認められ、体重への影響が認められた期間と一致していた。同様に、体重増加量の低値が 5 mg/kg 群では生後 36 日まで、10 mg/kg 群の雄では生後 57 日まで、雌では生後 36 日まで認められた。

ロキサデュスタットに関連した受動的回避学習能への影響が、5 及び 10 mg/kg 群の雄の出生児及び 10 mg/kg 群の雌の出生児で認められた。より成熟した週齢で行われた水迷路学習検査では、影響は認められなかった。全ての用量の出生児において統計学的に有意な性成熟の遅延が認められ、これは出生児の体重低下とも整合していた。

臓器重量は、平均精巣重量及び精巣上体重量の高値が 5 mg/kg 以上の群の雄出生児で認められた。さらに、雄出生児では平均脾臓重量の低下が、全ての用量において認められた。F1 世代のラットでは、ロキサデュスタットに関連した肉眼的観察所見は認められず、眼科学的検査並びに卵巣及び子宮の検査における変化は認められなかった。

F1 世代の胎児及び児動物におけるロキサデュスタットの血漿中濃度では、妊娠 20 日の胎児及び出生後 4 及び 21 日の児動物において、母動物での用量増加に従い平均濃度が上昇した(表 2.6.6-22)。

F1 世代の母動物 (妊娠期間)

母動物の体重に対する影響は観察されなかった。交尾能に対する影響は認められなかった。10 mg/kg 群では、平均黄体数及び着床数が対照群と比較して有意に低下した。しかし、これらの値は試験施設の背景データの範囲内であり、平均着床前死亡胚率はこの群において最も低かった。したがって、これらの低下は F0 世代の母動物へのロキサデュスタット投与と関連しないと判断された。

F2 世代の胎児

極めて頻度は低いものの、胎児の外表異常がロキサデュスタット投与母動物の F2 胎児で観察された(胎児 608 匹中 5 匹)。しかし、頻度が低いことに加え、F1 世代の動物において同様な異常は明確ではないことから、これらの F2 世代における胎児の外表異常と F0 又は F1 世代の曝露との関係は不明瞭であり、その可能性は低いと考えられる。

以上、ロキサデュスタットを妊娠 7 日から授乳 20 日まで最大 20 mg/kg の用量で 1 日 1 回経口投与した妊娠 SD ラットにおいて、F0 世代の母動物では、平均摂餌量の低下、平均体重増加量の低下及び Hct の過度の上昇が 20 mg/kg 群で認められ、母動物に対する NOAEL は 10 mg/kg であった。

F1 世代では、10 及び 20 mg/kg 群では離乳前に多くの出生児が死亡し、全ての用量において出生児の体重低下に関連した発達遅延が認められたことから発生毒性の NOAEL は決定されなかった。

2.6.6.6.3.2 SD ラットを用いた乳母哺育試験

添付資料 4.2.3.5.3-2

この GLP 試験では、妊娠雌 SD ラットにロキサデュスタットを妊娠 7 日～授乳 20 日まで強制経口投与し、乳母哺育させることにより、妊娠 7～20 日に子宮内曝露した胎児と乳汁を介して曝露した出生児への影響を比較した(2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.14.2)。この試験は [REDACTED] (米国, [REDACTED]) で実施した。

ロキサデュスタットを0（溶媒）又は15 mg/kgの用量並びに5 mL/kgの投与容量で妊娠ラットに1日1回投与した。1及び2群（各群雌25匹）には妊娠7～20日に投与し、ロキサデュスタット濃度、Hct及び鉄を評価したが、乳母哺育には使用しなかった。

溶媒又は15 mg/kgのロキサデュスタットを投与した母動物（3及び4群、各群雌60匹）を自然分娩させ、出生児を生後4時間以内に5～8群（各群雌29～31匹）に再割り当てした。F1世代には直接ロキサデュスタット又は溶媒を投与せず、母動物の妊娠中（子宮内）の曝露及び／又は離乳前の授乳期間中に母乳を介してロキサデュスタットを曝露した。これらの群の説明は表2.6.6-23に示した。

表 2.6.6- 23 SD ラットの乳母哺育試験における妊娠及び授乳期間中の母動物への投与デザイン

Group	Treatment	Dose during pregnancy phase (mg/kg)	Dose during lactation phase (mg/kg)	Group description
5	Crossfostered	15	0	Pups exposed in utero only
6	Crossfostered	0	15	Pups exposed postnatally only
7	Not crossfostered	0	0	Pups not exposed
8	Not crossfostered	15	15	Pups exposed in utero and postnatally

1及び2群の母動物は妊娠21日に、5～8群では授乳21日に安楽死させた。母動物への影響は、死亡、一般状態、体重、摂餌量、出産、授乳及び母動物の哺育行動により評価した。3～4群は自然分娩させ、生存同腹児（F1世代）を5～8群に割り当て、死亡、一般状態及び体重に関し、出生後4、11、又は21日まで評価した。ロキサデュスタット濃度並びにHct及び鉄値は、1及び2群では妊娠21日に、並びに5～8群では授乳4、10又は11、及び21日に、血漿（母動物及び出生児）又は乳汁（母動物、授乳中のみ）を用いて測定した。

溶媒群での母動物1匹が妊娠期間中に死亡し、別の2匹が授乳期間中（6群1匹及び7群1匹）に死亡した。これらの途中死亡のいずれもロキサデュスタットが原因ではなく、投与過誤及び／又は出産後の合併症によるものと考えられた。母動物では、妊娠又は授乳期間中に、一般状態、体重変化又は摂餌量に被験物質関連の影響は認められなかった。

ロキサデュスタットに関連した一般状態の変化が、出生後のみにロキサデュスタットに曝露された6群の出生児で主に認められた。出生児の一般状態の変化として軽度及び／又は中等度の脱水が認められ、巣に運び入れられない及び／又は授乳されないといった一般的に生存率低下に関与するとされる状態も認められた。出生後にロキサデュスタットに曝露された出生児の解剖時の検査では胃内ミルクが認められない児の数が増加した。5群（子宮内のみでロキサデュスタットに曝露された児）及び8群（子宮内及び出生後にロキサデュスタットに曝露された児）の出生児でも中等度の脱水が観察されたが、これらの2群の影響が認められた出生児の発現頻度及び発現数はごく僅かであった。

さらに、ロキサデュスタットに曝露された出生児の生存率及び体重は、児動物への曝露が出生後のみ、子宮内のみ、又は子宮内及び出生後の両方であるかにかかわらず低かった。表2.6.6-24

に示すように、出生児の生存率に対する最も顕著な影響は出生後にのみロキサデュスタットに曝露された出生児で認められ、最も顕著な出生児の体重低下は子宮内及び出生後にロキサデュスタットに曝露された出生児で認められた。生後2～21日における6群（出生後にのみロキサデュスタットに曝露された出生児）及び8群（子宮内及び出生後にロキサデュスタットに曝露された出生児）の平均出生児体重増加量は、7群（対照群）と比較して常に低かった（それぞれ77%及び73%に低下）。5及び7群における生後7～18日の平均出生児体重増加量はおおむね同様であったが、全体的に5群（子宮内でロキサデュスタットに曝露された出生児）における平均出生児体重増加量が7（対照）群と比較して10%低かった。

ロキサデュスタットを投与した母動物では、ロキサデュスタットの薬理作用と一致し、妊娠21日及び授乳期間にわたり平均Hctが高かった。子宮内でロキサデュスタットに曝露された胎児では、Hctの変化は認められなかった。一方、出生後にのみロキサデュスタットに曝露された出生児又は子宮内及び出生後の両方曝露された出生児における生後の平均Hctは、対照群のそれと比較して高かった。出生後の赤血球生成における予測された変化として、出生児における平均Hctの全体的な低下が生後11日に対照群を含む全ての群で認められた。

妊娠及び／又は授乳期間中、母動物の血漿又は母乳中の平均鉄値に、ロキサデュスタットに関連した影響は認められなかった。出生児では、6群（出生後にのみロキサデュスタットに曝露された出生児）、8群（子宮内及び出生後にロキサデュスタットに曝露された出生児）及び程度は低い5群（子宮内でのみロキサデュスタットに曝露された出生児）において、生後11及び21日に平均血漿鉄値が低下した。

ロキサデュスタットの投与を受けた全ての母動物及びそれらから生まれた出生児において、ロキサデュスタットの全身曝露が示された（表2.6.6-24）。妊娠20日又は授乳20日の投与後約24時間に採血されているため、妊娠21日の母動物及び胎児又は授乳21日の母動物及び出生児における平均血漿中濃度は低かった。6群（出生後にのみロキサデュスタットに曝露された出生児）及び8群（子宮内及び出生後にロキサデュスタットに曝露された出生児）における授乳10日のロキサデュスタットの母乳中濃度は、それぞれ授乳4日（1.3～1.8倍高い）及び授乳10日（1.8～2.6倍高い）の母動物での血漿中濃度と比較して著しく高かった。

以上、ロキサデュスタットを妊娠7～20日又は妊娠7日から授乳20日まで15 mg/kgの用量で1日1回経口投与した母動物に毒性は認められなかった。出生後にのみロキサデュスタットに曝露された出生児において、脱水及び巣に運び入れられない及び／又は授乳されない出生児の発現率が増加した。ロキサデュスタットに曝露された出生児では、出生児が乳母哺育されているか否かにかかわらず、死亡が増加し体重が低下した。出生児の生存率に対する最も顕著な影響が、出生後にのみロキサデュスタットに曝露された出生児で認められた。一方、出生児体重における最も顕著な低下は、子宮内及び出生後にロキサデュスタットに曝露された出生児で認められた。全体として、出生児で認められた生存率の低下は、出生後のロキサデュスタットへの曝露と強く相関した。

表 2.6.6- 24 SD ラットの乳母哺育試験における，生存率，ヘマトクリット値，鉄及びトキシコキネティクス（血漿及び母乳）

Group # Dose (mg/kg, daily) Description	5 0	6 15	7 0	8 15
	Pups exposed in utero only	Pups exposed postnatally only	Pups not exposed	Pups exposed in utero and postnatally
Number of Dams	31	30†	29	29
F0 Dams				
Number of Dams††	30	26	28	29
Hematology				
Hematocrit (%) LD 21	49.4	57.4*	48.8	57.4*‡
Number of Dams	26	23	21	17
Plasma iron level (µmol/L) LD 4¶	69.2	89.4‡	59.2	71.1
Number of Dams	31	26††	28††	29
Milk iron level (ppm) LD 10¶	7.17	7.21	6.69	6.94
Toxicokinetics				
Number of Dams	31	25-29	27-28	28-29
Plasma roxadustat concentration (µg/mL) LD 4¶ LD 21 24h	0.0 NC	39.9 0.430	NC NC	36.2 0.513
Milk roxadustat concentration (µg/mL) LD10¶	0.0	53.1	0.0	66.8
F1 generation				
Pup Viability			337/342	324/337§
Viability Index (PNDs 1-4) (%)	329/349* (94.3)	309/363* (85.1)	(98.5)	(96.1)
Lactation Index (PNDs 4-21) (%)	204/205 (99.5)	183/217* (84.3)	213/213 (100.0)	186/208*‡ (89.4)
Number of litters	31	30	29	29
Pup Body weight (g) PND 2 PND 7 PND 14 PND 21	7.0* 13.5* 28.8 43.8*	7.3* 12.7* 25.2*‡ 38.9*‡	7.9 15.2 30.2 48.7	7.3*‡ 13.3* 25.0*‡ 37.1*‡
Hematology				
(No of animals)	25-31	25-28	28-29	29
Hematocrit (%) PND 4	37.9	37.5	36.1	40.6*§
Hematocrit (%) PND 21	31.3	34.3*‡	30.2	31.2
Number of animals	23-31	25-27	26-28	25-28
Plasma iron levels (µmol/L) PND 4¶ PND 11¶ PND 21 24h	39.8 25.3 29.6	39.5 19.4‡ 17.6	31.4 25.9§ 52.9§‡	47.2* 18.4*‡ 18.1*
Number of animals	31	25-29	28-29	29
Plasma roxadustat concentration (µg/mL) PND 4¶ PND 11¶ PND 21 24h	0.285 0.0203 NC	12.1 19.5 13.9	NC NC NC	13.1 24.8 16.3

NC: not calculated

†: Excludes values for litter 934, for which the dam was found dead on PND5.

††: Excludes values for rats that were found dead or euthanized due to no surviving pups.

*: P ≤ 0.05 significantly different from the Group 7 value.

‡: P ≤ 0.05 significantly different from the Group 5 value.

§: P ≤ 0.05 significantly different from the Group 6 value.

¶: 2 hours after dosing.

Source: [Study report 20097164].

2.6.6.6.4 幼若動物毒性試験

2.6.6.6.4.1 異なる日齢の SD ラットを用いた単回投与試験, 予備試験

添付資料 4.2.3.5.4-1 (参)

この非 GLP 試験では, 異なる日齢の幼若 SD ラットに単回強制経口投与し, ロキサデュスタットの曝露を測定した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.15)。この試験は [REDACTED] (米国, [REDACTED]) で実施した。

ロキサデュスタットを 15 mg/kg の用量並びに 5 mL/kg の投与容量で, SD ラットに対し生後 15, 22, 29, 36, 43 又は 50 日 (生後 15 及び 22 日: 雌雄各 9 匹, 生後 29 日以降: 雌雄各 3 匹) に投与した。毒性評価は, 生存率, 一般状態及び体重 (投与前) に基づいて実施した。生後 15, 22, 29, 36, 43 及び 50 日に, 全ての動物をトキシコキネティクスに割り当て, 投与後 0.5, 1, 及び 2 時間に血液を採取した。

全ての雄及び雌は, 血液採取時点の計画屠殺時まで生存した。幼若ラットへのロキサデュスタットの単回投与後に, 明らかな有害な影響は認められなかった。

以上, 生後 15, 22, 29, 36, 43 又は 50 日のロキサデュスタットの平均血漿中濃度に日齢又は性別に関連した差は認められなかった (表 2.6.6-25)。生後 22 日の投与後 0.5 時間でのロキサデュスタットの平均血漿中濃度は, 他の投与日と比較して低かった。

表 2.6.6-25 異なる日齢の幼若 SD ラットにおける単回投与後の血漿中濃度

Dose (mg/kg)		15					
Age of juvenile rats at treatment		PND 15	PND 22	PND 29	PND 36	PND 43	PND 50
Toxicokinetics (no of animals)		6 (M+F)	6 (M+F)	6 (M+F)†	6 (M+F)‡	6 (M+F)	6 (M+F)
C (µg/mL)	0.5 hr postdose	35.1	17.1	30.7	31.0	31.8	43.1
	1 hr postdose	39.3	34.6	41.3	33.1	36.0	40.8
	2 hr postdose	45.6	31.0	40.0	35.4	33.5	43.4

F: female; M: male; C: plasma concentration.

†: 2M+3F for 0.5 hr post dose time point; no sample taken for analysis from another male animal in this dose group;

‡: 3M+2F for 1 hr and 2M+3F for 2 hr post dose time points; no sample taken for analysis from another animal in this dose group.

Source: [Study report 1517-TX-0026].

2.6.6.6.4.2 幼若 SD ラットを用いた間歇投与試験, 用量設定

添付資料 4.2.3.5.4-2 (参)

この非 GLP 用量設定試験では, 幼若 SD ラットに生後 15 日から 56 日までロキサデュスタットを TIW 強制経口投与し, 忍容性を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.15)。この試験は [REDACTED] (米国, [REDACTED]) で実施した。

ロキサデュスタットを 0 (溶媒), 15, 30 又は 60 mg/kg の用量並びに 10 mL/kg の投与容量で雌雄各 5 匹に TIW6 週間投与した。投与は、生後 15, 17, 19, 22, 24, 26, 29, 31, 33, 36, 38, 40, 43, 45, 47, 50, 52, 54 及び 56 日に行った。トキシコキネティクス用の試料採取を、マイクロサンプリングを用いて、生後 15 日の投与後 1 及び 2 時間並びに生後 56 日の投与前、投与後 1, 2, 4, 8 及び 24 時間に実施した。毒性評価は、死亡、一般状態、体重、臨床病理及び病理学的検査に基づいて実施された。

ロキサデュスタット投与に関連した死亡が 30 mg/kg 以上の群で観察された。生後 15 日から開始された投与により、60 mg/kg 群の 4 匹が生後 17 日に死亡し、この群の残る 6 匹のラットは状態悪化 (脱水、活動性低下及び体重低下) のため、生後 17 日に安楽死させた。30 mg/kg 群では、生後 20 日に 6 匹のラットが死亡し、この群の残った 4 匹を状態悪化のため生後 20 日に安楽死させた。ロキサデュスタット投与に関連した一般状態の変化 (脱水、歩行異常及び活動性低下) は、30 mg/kg 以上の群に限って認められ、それらの動物はいずれも計画屠殺時まで生存しなかった。この試験で忍容性が確認されなかった用量レベル (30 mg/kg 以上) では、投与に関連した体重増加抑制及び体重低下が認められた。平均体重及び/又は平均体重増加量へのロキサデュスタット投与に関連した影響が 15 mg/kg 以上の群の雌雄で認められた。15 mg/kg 群でのいくつかの測定日 (対照群の 89%~95%), 30 mg/kg 群での生後 17 及び 19 日 (対照群の 82%~93%), 並びに 60 mg/kg 群での生後 17 日 (対照群の 80%) における雄の平均体重は対照群と比較して低かった。同様に、30 mg/kg 群の生後 17 及び 19 日 (対照群の 82%~94%) 及び 60 mg/kg 群の生後 17 日 (対照群の 78%) の雌の平均体重は対照群と比較して低かった。

60 mg/kg 群では、出生後 15 日から安楽死を行った 17 日目までの間に体重が 18~20%低下した。体重増加における変化は体重の変化と同様であった。

30 mg/kg 群の早期 (生後 20 日) に安楽死させた動物での血液生化学検査では、著しいカリウムの上昇、ナトリウム低下及びクロライド上昇が認められた。

30 mg/kg 以上の群における計画外屠殺を行った動物及び死亡動物では、急性出血 (多組織)、心臓での凝血塊 (心臓)、急性血栓 (多組織)、浮腫 (肺及び/又は胸腺)、及び/又は赤血球貪食 (肺) が観察された。加えて、肝細胞壊死及び空胞化、並びに大腿骨 (骨幹端) 及び副腎 (皮質及び/又は髄質) の壊死が認められた。

15 mg/kg 群の全てのラットは計画屠殺時まで生存し、剖検又は組織学的所見、若しくは器官重量にロキサデュスタット投与に関連した変化は認められなかった。ロキサデュスタットの薬理作用は、Hb 及び Hct の上昇として 15 mg/kg を TIW 投与した生後 57 日のラットで認められ (表 2.6.6-26)、同時に網状赤血球が増加し、関連して MCV, MCH, 及び赤血球分布幅が上昇した。生後 57 日の血液生化学検査では、トリグリセリドの上昇が雄で、総蛋白質及びグロブリンの低下が両性で、アルブミンの低下が雌で、血清鉄の低下が雄で認められた。この用量レベルにおいて、これらの所見とロキサデュスタットに関連した組織学的所見に明確な関連性は認められなかった。トキシコキネティクス解析によって、投与した全ての動物はロキサデュスタットに曝露されたことが示された (表 2.6.6-26)。

以上、生後 15 日以降の幼若 SD ラットに 30 又は 60 mg/kg の用量で TIW 強制経口投与したロキサデュスタットの忍容性は不良であり、投与 2~5 日以内に瀕死／死亡に至り、平均体重は低下した。15 mg/kg 群では、平均体重増加量が低下し血液学的及び血液生化学パラメータの変動が認められた。この試験の結果は、続いて行われる幼若ラットでの試験の投与量設定に用いた。

表 2.6.6- 26 幼若 SD ラットの用量設定試験における、死亡、ヘマトクリット値、及びトキシコキネティクス

Dose (mg/kg, TIW)		0 (Vehicle)		15		30		60	
Number of animals		5M	5F	5M	5F	5M	5F	5M	5F
Mortality†		0	0	0	0	5	5	5	5
Hematology (no of animals)		5M	5F	5M	5F	0M	0F	0M	0F
Hematocrit (%)	PND 57	43.4	42.2	48.5*	47.4*	NA	NA	NA	NA
Toxicokinetics (no of animals)		5M+5F		5M+5F		5M+5F		5M+5F	
C (µg/mL)	PND 15§	< 0.01		64.7		91.0		216	
	PND 56§	< 0.01		55.4		NA		NA	

M: male; F: female; NA: not applicable; C: plasma concentration.

*: $P \leq 0.05$ statistically significantly different from the control group.

†: mortality = died or sacrificed moribund animals.

§: 2 hours after dosing.

Source: [Study report 1517-TX-0027].

2.6.6.7 局所刺激性試験

該当せず。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 光毒性

2.6.6.8.1.1 3T3 ニュートラルレッド取り込み試験

添付資料 4.2.3.7.7-1

この in vitro GLP 試験では、光の存在／非存在下で被験物質に曝露した Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞における生存率の相対的な減少を測定し、ロキサデュスタットの光毒性を評価した (2.6.7 毒性試験概要表, 表 2.6.7.17.1)。この試験は (米国,) で実施した。

マウス線維芽細胞を処理するため、ロキサデュスタットを、1% DMSO を含む Ca^{2+} 及び Mg^{2+} イオン添加 Dulbecco リン酸緩衝液に溶解し、調製した。紫外線 (UV) 照射の線源として、約 290 ~ 700 nm の連続発光が得られる 1 mm の Schott WG320 フィルタを付けた 6500 ワットのキセノンアーク放電管ソーラーシミュレータを使用し、本試験の 2 試験の前に用量設定試験を実施した。各照射の UVA (315~400 nm) の線量は $5 J/cm^2$ であった。

ロキサデュスタットを、UVA 曝露の存在／非存在下、用量設定試験では 0.00015～0.48 mg/L、本試験 1 では 0.0027～0.48 mg/L、及び本試験 2 では 0.0048～0.48 mg/L の範囲の様々な濃度で細胞に添加した。

用量設定試験又は本試験 2 試験のいずれにおいても、光毒性が示されず、ロキサデュスタットは細胞毒性を誘発しなかった。

本被験物質では IC₅₀ 値が求められなかったことから、結果を示すため、光刺激係数は規定値の 1 とした。ロキサデュスタットの平均光作用指数は、本試験 1 では -0.012 及び本試験 2 では -0.003 となった。

これら 3 つの各試験において、0.1～62.0 mg/L の濃度範囲のクロールプロマジン陽性対照物質として同時に試験を行った。これらの IC₅₀ 指数は適切な対照群の範囲内であったことから、試験の妥当性及び光毒性の検出能が示された。

以上、この試験の条件下において、ロキサデュスタットは、UVA 曝露の存在／非存在下で Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞に対し、光毒性を示さなかった。

2.6.6.8.2 不純物に関する試験

2.6.6.8.2.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

添付資料 4.2.3.7.7-2

この in vitro GLP 試験では、細菌 [*Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, 及び TA1537) 及び *Escherichia coli* (WP2uvrA)] の試験菌株を用いて、哺乳動物ミクロソーム酵素（ラット肝臓 S9 ホモジネート）の存在又は非存在下で復帰突然変異誘発能を測定することにより、ロキサデュスタットの光分解物である FG-6484 の変異原性を評価した（2.6.7 毒性試験概要表、表 2.6.7.17.2.1）。この試験は ██████████（米国、██████████）で実施した。

復帰突然変異試験で試験した濃度は、1.5～5000 µg/プレート及び 50～5000 µg/プレートの範囲で、用量設定試験から選択した。沈殿又は毒性のいずれも観察されなかった。

この試験の条件下では、いずれの試験菌株においても、代謝活性化の有無にかかわらず、プレート当たりの復帰突然変異体数において FG-6484 による陽性の増加は認められなかった。FG-6484 は細菌において遺伝子突然変異を誘発しないと判断される。

2.6.6.8.3 腫瘍モデル試験

添付資料 4.2.3.7.7-3 (参), 4 (参), 5 (参), 6 (参), 7 (参), 8 (参), 9 (参), 10 (参), 11 (参), 12 (参), 13 (参), 14 (参), 15 (参), 16 (参), 17 (参), 18 (参), 19 (参)

腫瘍の形成、進行、及び転移に対するロキサデュスタットの影響の可能性を検討するため、異種移植、同種移植、及びトランスジェニックマウスモデルを用いて探索的な非 GLP 腫瘍試験（計 11 試験）を実施した（2.6.7 毒性試験概要表、表 2.6.7.17.3）。

用いた腫瘍細胞は肺，結腸，乳房，卵巣，腎臓，膵管，悪性黒色腫及び白血病由来である。試験により，移植されるマウスの系統，移植する腫瘍細胞，移植方法，投与期間，ロキサデュスタットの用量は様々であった。

薬理作用を示すロキサデュスタットの用量では，いずれの異種移植又は同種移植モデルにおいて，腫瘍の進行に影響しなかった。乳がんを自然発症する VEGF 感受性トランスジェニック MMTV-Neu-YD マウスモデルを用いて [Oshima et al, 2004]，腫瘍発現への影響を評価した。ロキサデュスタット（40 又は 80 mg/kg）による，腫瘍発現又は進行に対する有意な影響は認められなかった。

以上より，これらの探索的試験では，ロキサデュスタットは腫瘍の形成，進行，又は転移に対して影響しなかった。

2.6.6.9 考察及び結論

患者における用法設定の根拠とするため，非臨床安全性試験は TIW を基本として投与した。ただし，ラット及びカニクイザルを用いた 4 週間反復投与試験は 1 日 1 回投与で実施し，また EFD 及び PPN に関する生殖発生毒性試験においても，妊娠中の胚・胎児発生及び出生後の出生児の発育に対してロキサデュスタットの毎日の曝露を確保するために 1 日 1 回投与とした。

ロキサデュスタットの薬理作用により赤血球の造血亢進が起こる。全ての動物種において，赤血球系パラメータが増加が認められた。カニクイザルは，生理学的（正常）範囲を超える赤血球数の増加に対して忍容性を示し，その二次的影響はごく僅かであった。ラットでは，過度の赤血球造血亢進に起因する血栓塞栓症に関連した死亡が認められた。ラットを用いた 26 週間反復投与試験で死亡が認められた用量におけるヘマトクリット値（Hct）は，SD ラットで 68%以上，F344 ラットで 72.1%以上であった。これらの Hct は，血液粘度の上昇及び組織灌流の低下に繋がると考えている。

ロキサデュスタットの臨床使用に際しては，Hb の増加割合をコントロールすること及び目標 Hb レベルの最大値を設定して投薬量を決定することにより，過剰な赤血球生成のリスクは管理できる。

以下の項では，一般毒性所見について標的臓器別に考察する。

2.6.6.9.1 標的臓器

2.6.6.9.1.1 造血系

ラット，マウス及びカニクイザルを用いた *in vivo* 毒性試験では，Hb，Hct 及び RBC などの赤血球系パラメータが増加し，一貫して，赤血球造血亢進が認められた。最も効果が高かった用量では，網状赤血球数，MCH 及び MCV が増加した。MCHC は，ラット及びカニクイザル（1 日 1 回 4 週間投与後）において減少した。

ラットでは、SD ラットを用いた 1 日 1 回 4 週間反復投与試験の 20 mg/kg 以上、SD 及び F344 ラットを用いた TIW26 週間反復投与試験の 15 mg/kg 以上で赤血球造血亢進が確認された。両系統とも、軽微な増加ではあるものの、雄では有意な Hb 及び Hct 増加が 5 mg/kg 群でも見られた。

カニクイザルでは、30 mg/kg の 1 日 1 回 4 週間投与後に、全ての赤血球系パラメータで赤血球造血亢進を示唆する変化が認められた。10 mg/kg 群の変動は統計学的には有意でなかった。TIW 投与では、赤血球系パラメータの増加は 22 週間投与試験では 30 mg/kg から、52 週間試験では 20 mg/kg から認められた。マウスでは、TIW13 週間試験において、60 mg/kg 以上を投与した群で赤血球造血亢進が観察された。これらの動物種の試験での、各用量における Hct の要約を表 2.6.6-27 に、最小影響量 (LOEL) における曝露量を表 2.6.6-28 に示す。

表 2.6.6-27 毒性試験のヘマトクリット値

Species/strain	Type of study Source	Sex	Hct (%)						
			0	10	30	45†	60	100	150
Dose (mg/kg)			0	10	30	45†	60	100	150
Mouse/ CD-1	13W, TIW 301_06_3510_078	M	53.1	59.5	57.0	54.2	55.0		
		F	56.8	55.3§	55.6	55.3	58.7§		
	13W, TIW, add. 301_06_3510_083	M	49.8	-	-	-	55.4*	68.8*	79.8*
		F	49.5	-	-	-	55.9	73.2*	76.4*
Dose (mg/kg)			0	2	-	20	-	-	60
Rat/ SD	4W, daily dose 301_05_3510_019	M	49.4	50.7	-	71.6*	-	-	71.0‡
		F	47.5	48.2	-	67.3*	-	-	77.1‡
Dose (mg/kg)			0	5	15	-	30	40	-
Rat/ SD	26W, TIW 301_06_3510_088	M	44.1	46.7*	61.3*	-	69.9*††	NA	-
		F	41.3	42.3	51.1*	-	68.0*	75.3*††	-
Rat/ F344	26W, TIW 352007004	M	49.0	50.2*	61.4*	-	72.1*	71.7††	-
		F	48.0	48.6	55.5*	-	78.2*	75.6*	-
Dose (mg/kg)			0	1	3	10	20	30	40
Monkey/ cynomolgus	4W, daily dose 301_05_3510_021	M	45.3	47.4	-	51.3	-	63.5*	-
		F	45.1	44.3	-	49.1	-	63.1*	-
	22W, TIW 301_06_3510_082	M	44.1	42.6	-	46.6	-	64.3*	76.9*
		F	37.6	40.2	-	43.4	-	61.4*	66.0*
	52W, TIW 301_06_3520_092	M	42.4	-	38.9*	42.2	47.6*	54.2*	-
		F	38.4	-	38.8	40.4	54.0*	52.0*	-

W: week; *: $P \leq 0.05$ or $P < 0.05$; add.: additional.

†: The dose is 80 mg/kg for the first day, and 45 mg/kg TIW from day 3 to the rest of dosing period.

††: data from day 88 or 90

‡: Values were from week 3 no statistics were performed.

§: group excluded from analysis

表 2.6.6- 28 反復投与毒性試験の薬理的用量 (LOEL) における曝露量

Species/ Strain	Study type	Study Number	Dose (mg/kg)	Sex	Unchanged total drug		Unchanged free drug† (calculated)	
					C _{max} (µg/mL)	AUC (µg.h/mL)	C _{max} (µg/mL)	AUC (µg.h/mL)
Rat/ SD	26W	301_06_3510_088	5	M	30.2	155	0.71	3.66
	TIW		15	F	105	601	2.48	14.18
Rat/ F344	26W	352007004	5	M	19.2	77.8	0.45	1.84
	TIW		15	F	78.1	337	1.84	7.95
Monkey/ cynomolgus	52W	301_06_3520_092	20	M	10.7	48.8	0.16	0.73
	TIW			F	11.4	93.2	0.17	1.40

†: Unbound drug was calculated using mean fp values of 0.0236 for rats, 0.0150 for cynomolgus monkeys [Module 2.4 Table 2.4-1].

鉄や特定のビタミン B などの赤血球の造血に必須の成分が一時的に欠乏したことが、全ての時点で全ての赤血球系パラメータが有意に増加しなかった理由のひとつである可能性がある。

剖検では、全ての動物種において、赤色化及び組織うっ血が広範囲に認められた。病理組織学的検査では、赤血球造血亢進により、骨髄の過形成又は骨髄細胞増加、脾臓及び肝臓における髄外造血の亢進、並びに多くの組織におけるうっ血が観察された。髄外造血亢進及びうっ血の結果として、脾臓及び肝臓重量の増加がしばしば確認された。

カニクイザルでの 2 つの毒性試験では、ロキサデュスタットの薬理作用と関連して、3~100 mg/kg の単回投与後に血漿中 EPO 濃度が上昇した。1 日 1 回投与 4 週間反復投与試験の 30 mg/kg 群では、EPO 濃度は投与初日及び最終日で同程度に上昇した。ラット反復投与試験の鉄パラメータは、1 日 1 回 4 週間投与後、20 mg/kg 以上の群で UIBC 及び TIBC の増加が認められた。ラットの TIW26 週間試験では、15 mg/kg 群で総鉄量及び UIBC の増加傾向が認められたが、30 mg/kg 以上の群ではこの傾向は認められなかった。カニクイザルでは、1 日 1 回 4 週間投与後、30 mg/kg 群で総鉄量は減少し、UIBC 及び TIBC は増加した。総鉄量は、22 週間の TIW 投与後も、30 mg/kg 以上の群で減少した。鉄パラメータの変化は、ロキサデュスタットの薬理作用に起因していると考えられる。MCHC の低下は、鉄の欠乏又は循環中の幼若赤血球（多染性赤血球）の存在に起因している可能性がある。

血小板数の減少や WBC の変化など、その他の血液学的所見は、過剰な赤血球造血亢進に関連した所見であると考えられる。

ラット反復投与試験では、用量に関連した血小板数の減少が認められた。血小板数の減少は、血栓形成による消費又は骨髄中の赤血球前駆細胞の量の増加によって引き起こされたと考えられる。カニクイザルでは、いずれの試験でも明らかな血小板数の減少は認められなかったが、TIW22 週間反復投与試験の 30 mg/kg 以上の群では、PT 及び APTT がいくつかの時点で僅かに延長した。

カニクイザルに比べて、げっ歯類における WBC への影響は明らかではなかった。ラット単回投与試験では、100 mg/kg 以上の群で単球数の増加、200 mg/kg 以上の群でリンパ球数の増加が認められた。300 mg/kg 群で認められた WBC の増加は、致死量における動物の状態悪化によるものであると考えられる。SD 及び F344 ラットを用いた長期反復投与試験では、限定的な一貫性のな

い変化が認められた。30 mg/kg 以上を TIW 投与した群では、WBC が F344 ラットで増加したが、SD ラットでは増加しなかった。両系統とも、好中球数は 30 mg/kg 以上を TIW 投与した群で増加し、全体的に好塩基球数が増加した。マウスでは、いくつかの用量で WBC 及びリンパ球数の増加が認められたが、白血球系パラメータの一貫した変化は認められなかった。カニクイザルでは、WBC に関して認められた唯一の変化は、30 mg/kg を 1 日 1 回 4 週間投与後のリンパ球数の減少であった。

骨髄中の赤血球造血が亢進すると、空間の不足により他の細胞が抑制されるため、血小板数及び WBC の減少は過剰な赤血球造血亢進によるものであると考えられるが、WBC の増加は、炎症及び/又は壊死の帰結としての炎症反応によるものであると考えられる。Hb 増加がコントロールされた臨床用量では、いずれの影響も重篤な変化ではないと考えられる。

造血系は、ロキサデュスタットの主要な標的であるが、ロキサデュスタットの臨床使用に際しては、Hb の増加割合をコントロールすること及び目標 Hb レベルの最大値を設定して投薬量を決定することにより、過剰な赤血球生成のリスクは管理できる。

2.6.6.9.1.2 心臓

ロキサデュスタットはラット及びサルにおいて、心拍数の増加を認めており、これに関しては 2.6.2.6 考察及び結論 (2.6.2 薬理試験の概要文) にて考察を加えた。

ラットの弁膜症が、心臓における最も顕著な所見であった。SD ラットでは、20 mg/kg 以上を 1 日 1 回投与した群及び 30 mg/kg 以上を TIW 投与した群で房室弁及び大動脈弁で弁膜症が発現し、血栓形成を伴っていた。この弁膜症は、細胞間基質の増加及び紡錘形細胞又は線維芽細胞様細胞の増殖による病変部の不規則な肥厚として認められた。F344 ラットでは、同じ用量において、SD ラットと同様の房室弁及び/又は大動脈弁の弁膜症が認められた。おおむね、この所見は血圧がより高い心臓の左側でより重度であった。TIW 投与では、30 mg/kg 以上の群の雄及び 40 mg/kg の群の雌で、病変部に血栓が認められた。また、心内膜の慢性炎症は、うっ血による局所的な血栓形成によって引き起こされた可能性がある。SD ラットと F344 ラットのいずれの 26 週間試験においても、30 mg/kg 以上を TIW 投与した群で、血栓塞栓症に関連した死亡例が認められた。弁膜症が認められた動物では Hct が増加しており、平均 Hct は SD ラットでは 68%以上、F344 ラットでは 72.1%以上で、血液粘度の上昇と組織灌流の低下が誘導されたと考えられる。弁膜症及び弁血栓症の程度は、回復期間終了時までには低下した。

SD ラットを用いた慢性毒性試験では、5 mg/kg の回復群の雄 1 匹では血栓症を伴わない弁膜症が、15 mg/kg 群の雄雌各 1 匹では、有意な Hct 高値は伴わない弁膜症が見られた。正常な若齢及び高齢 SD ラットにおける弁の形態及び機能の発達については、過去に公表されている

[Droogmans et al 2009]。これら正常ラットの心臓弁の病理組織学的検査では、30 週齢までに、著しい肥厚が認められている。慢性毒性試験で弁膜症の観察を行った時点での SD ラットの年齢は約 36~38 週齢であり、低用量 (5 及び 15 mg/kg) のロキサデュスタットを投与した SD ラットで認められたこれらの個別の所見は、加齢による偶発的な発生である可能性がある。

両ラット系統ともに、投与中止後、弁膜症の頻度は低下したことから、本病変が少なくとも部分的には可逆的であることが示された。

カニクイザルを用いたロキサデュスタットの反復投与毒性試験においても、薬理作用として赤血球造血亢進が認められたが、平均 Hct の増加 (63.1%以上) に対する忍容性はラットよりも高く、心臓の弁の病変や死亡例は認められなかった。

ラットの弁膜症は、高用量の赤血球造血刺激因子製剤 (ESA) による過剰な赤血球産生に伴って発現することが報告されている [Andrews et al, 2014a; Andrews et al, 2014b]。これは、Hematide™ (ペギネサチド) [Woodburn, et al, 2008] や Aranesp (ダルベポエチンアルファ) 及び Procrit (エポエチンアルファ) [Luksenburg, et al, 2004] などの ESA 製剤で報告されている、赤血球増多症及びそれに関連した影響を示した安全性データとも一致している。ESA 製剤で報告されている所見には、広範囲の髄外造血、骨髄線維症、赤血球増多症による組織低酸素症、並びに心臓及び腎臓の線維性変化が含まれる。

過剰な赤血球造血に関連したラットに特異的な弁膜症は、細胞数の増加、血液粘度の上昇及び/又は血栓症傾向の増加に起因する、心臓弁へのせん断応力の増加によるものである可能性が最も高い。ロキサデュスタットの臨床使用に際しては、Hb の増加割合をコントロールすること及び目標 Hb レベルの最大値を設定して投薬量を決定することにより、過剰な赤血球生成のリスクは管理できる。

2.6.6.9.1.3 肝臓

ラットの肝臓に髄外造血の亢進が認められる用量で、ビリルビン、AST 及び ALT の増加が認められた。SD ラットにおいて、総ビリルビンの増加は 1 日 1 回投与 4 週間試験の 20 mg/kg 以上の群及び TIW 投与による 26 週間試験の 30 mg/kg 以上の群で認められ、これらの用量は Hct 増加がみられた用量と一致した。F344 ラットを用いた TIW 投与による 26 週間試験では、30 mg/kg 以上の群で総ビリルビンが増加し、10 mg/kg 群で Hct が増加した。血液生化学検査パラメータは、回復期間後に正常範囲に回復した。

ラットへの TIW26 週間投与後の剖検及び病理組織学的検査により、うっ血及び/又は器官重量の増加が認められた。回復期間後、影響は正常に回復した。カニクイザルの試験では、22 週間試験で肝臓の病理組織学的変化を伴わない AST (40 mg/kg, TIW) 及びビリルビン (30 mg/kg 以上, TIW) の限定的かつ可逆的な増加のみ認められた。その他のカニクイザルでの試験 (1 日 1 回 4 週間投与, TIW52 週間投与) では、肝臓への影響は認められなかった。

造血亢進が認められた用量と同じ用量で生じたロキサデュスタットによるビリルビンの増加は、赤血球回転の増加によって引き起こされた可能性が最も高い。ビリルビンはヘモグロビンの分解物であり、病理組織学的検査では、肝障害の徴候は認められなかった。

肝臓は、ロキサデュスタットの主要標的臓器ではないと考えられる。ロキサデュスタットの臨床使用に際しては、Hb の増加割合をコントロールすること及び目標 Hb レベルの最大値を設定して投薬量を決定することにより、過剰な赤血球生成のリスクは管理できる。

2.6.6.9.1.4 腎臓

ラットの反復投与試験では、1日1回4週間（60 mg/kg）及びTIW26週間（30 mg/kg以上）投与後に、赤血球造血亢進による腎臓重量の増加が認められた。

SDラットへの1日1回4週間の投与により、20 mg/kg以上の群で尿細管変性、慢性進行性腎症、皮質尿細管上皮におけるヒアリン蓄積及び皮質尿細管細胞の細胞質中の色素蓄積の発現が増加した。TIW26週間投与後に、30 mg/kg以上の群のSDラットの腎臓で認められた病理組織学的病変は、腎梗塞及び梗塞領域における尿細管上皮の好塩性化であり、ヘモジデリン沈着は梗塞病変で最も顕著であった。F344ラットへのTIW26週間投与後、30 mg/kg以上の群の雄及び40 mg/kg群の雌で、腎臓に多巣性から融合性の皮質尿細管壊死領域が認められた。これらの壊死領域では壊死尿細管の鉍質沈着が認められ、再生の徴候（塩基性尿細管）が確認された。TIW投与では、30 mg/kg以上の群の雄及び40 mg/kg群の雌で、尿細管上皮細胞及び浸潤マクロファージの細胞質中に緑褐色の顆粒状の色素が認められた。両ラット系統とも、腎臓の病理組織学的変化は、赤血球造血亢進が認められた用量に限定されていた。腎所見の多くは、過度な薬理作用に起因した血栓塞栓症による変化と考えられた。

ラットのTIW26週間試験では、30 mg/kg以上の群で赤血球回転の上昇に関連すると考えられるBUNの軽微な増加が認められた。

腎臓で認められた炎症、出血及び壊死を伴う病変は、肺や消化管などの他の複数の器官・組織においても認められ、血栓塞栓症によるものであると考えられた。SDラットを用いた26週間試験の雄1匹で、大動脈に血栓が認められた。血栓塞栓症は、生理学的変動を超えるHctが認められた動物でのみ観察された。ロキサデュスタットを投与する患者では、Hctをモニタリングして生理学的範囲内に維持するため、血栓塞栓症は患者に対するリスクではないと考えられる。

以上より、腎臓はロキサデュスタットの主要標的器官ではないと考えられる。ロキサデュスタットの臨床使用に際しては、Hbの増加割合をコントロールすること及び目標Hbレベルの最大値を設定して投薬量を決定することにより、過剰な赤血球生成のリスクは管理できる。

2.6.6.9.1.5 中枢神経系／脳

SDラットを用いたTIW投与による26週間試験では、30 mg/kg群の雌1匹の脳の海馬で、ごく軽微な神経膠症を伴い、限局性のニューロンが欠落する（おそらく壊死による）領域が認められた。F344ラットを用いたTIW投与による26週間試験では、30及び40 mg/kg群の4匹において、海馬のアンモン角内に軽微～中等度の錐体ニューロンの壊死が認められた。回復期間終了時には、この所見は認められなかった。海馬のニューロン変性が認められた全ての動物では、他の器官（心臓弁、腎臓、盲腸、胸腺）で血栓症及び／又は虚血性壊死の進行がみられ、心弁膜症も多少認められたことから、これらの動物の心機能障害は、全身虚血のリスクを増加させる可能性があることが示された。

いずれの試験においても、脳におけるニューロンへの影響は、血栓塞栓症又は血液の粘度上昇による全身性虚血の一部と考えられる虚血に起因したと推察されることから、過度なロキサデュスタットの薬理作用によるものと考えられる。

以上より、脳はロキサデュスタットの主要標的器官ではないと考えられる。ロキサデュスタットの臨床使用に際しては、Hbの増加割合をコントロールすること及び目標Hbレベルの最大値を設定して投薬量を決定することにより、過剰な赤血球生成のリスクは管理できる。

2.6.6.9.1.6 肺

ラットの試験では、肺において偶発的な色調異常が認められた。1日1回4週間投与後、60 mg/kg 群では、慢性的な活動性炎症及び出血がまれに認められた。SDラットへのTIW26週間投与後には、瀕死状態となり安楽死させた動物又は死亡動物の一部で出血が認められ、30 mg/kg以上の群の生存動物の1匹では、肺胞及び間質に出血、炎症細胞浸潤、並びに器質化血栓が認められた。回復期間終了時に、肺所見の回復性が一部で認められたが、細胞浸潤、鉍質沈着、骨化及びヘモジデリン沈着は個々の動物で残存していた。F344ラットの肺所見は、15 mg/kg以上の群の雄及び30 mg/kg以上の群の雌の重量増加や40 mg/kg群の偶発的な色調異常を呈した例に限定されていた。

カニクイザルの毒性試験で認められた肺所見は、TIW投与による22週間試験の40 mg/kg群の2例で見られた血栓と、52週間試験の3 mg/kg群の雄1匹でのロキサデュスタット投与とは無関係であると考えられる肺の細菌感染のみであった。

以上より、肺はロキサデュスタットの主要標的器官ではないと考えられる。ロキサデュスタットの臨床使用に際しては、Hbの増加割合をコントロールすること及び目標Hbレベルの最大値を設定して投薬量を決定することにより、過剰な赤血球生成のリスクは管理できる。

2.6.6.9.1.7 消化器系

SDラットに1日1回投与した4週間試験における胃の所見は、20 mg/kg以上の群の腺胃のびらん、潰瘍及び炎症であり、回復期間中に消失した。SD及びF344ラットにTIW投与した26週間試験では、30 mg/kg以上の群で消化管に炎症、出血及び壊死が認められ、これらの所見は血栓塞栓症に起因していた。回復は不完全であり、回復期間後も30 mg/kg群の雄の盲腸に出血、壊死及び炎症が少数例で認められた。カニクイザルへのTIW投与による22週間試験では、10 mg/kg以上の群で胃の赤色化が見られたが、それに関連した病理組織学的所見は認められなかった。

血栓塞栓症とは関連しない腺胃のびらんなどのラットの胃の所見は、より長期間のラットの試験やカニクイザルの反復投与毒性試験では認められておらず、動物の状態悪化によるものである可能性が強く疑われる。

以上より、消化管はロキサデュスタットの主要標的器官ではないと考えられる。ロキサデュスタットの臨床使用に際しては、Hbの増加割合をコントロールすること及び目標Hbレベルの最大値を設定して投薬量を決定することにより、過剰な赤血球生成のリスクは管理できる。

2.6.6.9.1.8 観察されたその他の影響

2.6.6.9.1.8.1 血糖値低下作用

ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験で認められた血漿中グルコース濃度の低下に関して、SD ラットを用いた非 GLP 経口耐糖能試験を実施してさらに評価した (2.6.2.3.2 ラットの耐糖能に対する作用)。絶食させた雄性 SD ラットに対し、ロキサデュスタット (最終) 投与 6 時間後にグルコースを経口投与した。ロキサデュスタットを 50 mg/kg までの用量で TIW15 日間投与した結果、グルコース負荷後の血糖値上昇が抑制され、その効果は高用量のほうが低用量より大きかった。また、グルコース負荷後の血漿インスリン濃度は増加した。ロキサデュスタット単回投与後には、血漿中ロキサデュスタット濃度が同程度であったにもかかわらず、こうした影響は認められなかった。以上より、血漿中グルコース濃度の低下はインスリン分泌の増加により生じると考えられる。この機序はヒトにおいても認められる可能性がある。

2.6.6.9.1.8.2 コレステロール及び脂質への影響

単回投与 (ラット) と反復投与 (1 日 1 回及び TIW, ラット及びカニクイザル) の両方において、ロキサデュスタットの投与により、トリグリセリドの増加及び/又はコレステロールの減少が認められた。ロキサデュスタットによる病理組織学的な肝臓の毒性所見は報告されておらず、1 日 1 回投与によるラットの 4 週間試験で、髄外造血及び肝細胞肥大が認められたのみで (2.6.6.3.3 SD ラットにおける 4 週間連日投与試験)、ラットとカニクイザルのいずれにおいても、肝臓重量への影響や肝毒性を示唆する病理組織学的所見は認められなかった。回復期間終了後、被験物質投与に関連する血液生化学検査値の変化は全て正常値に回復した。機序に関する考察は 2.4.5.2.8 その他の影響: コレステロール及びトリグリセリドに示す。

2.6.6.9.2 遺伝毒性

遺伝毒性試験として、マウスを用いた小核試験、代謝活性化系 (S9 分画) の存在下又は非存在下における復帰突然変異試験 (*Escherichia* 又は *Salmonella*, 5 株) 及び染色体異常試験を実施した。

マウスを用いた *in vivo* 小核試験では、血漿中ロキサデュスタット濃度を測定しなかったが、CD-1 マウスを用いた TIW13 週間反復投与試験において、ロキサデュスタット経口投与後の全身曝露が確認されている。

これらの試験において、ロキサデュスタットの遺伝毒性は認められなかった。

2.6.6.9.3 がん原性

CD-1 マウスを用いたがん原性試験では、ロキサデュスタットを 0, 15, 30 及び 60 mg/kg の用量で TIW 最長 104 週間経口投与した結果、発がん作用やそれに関連した原発腫瘍、良性腫瘍、悪性腫瘍又は担腫瘍動物数の増加は認められなかった。悪性腫瘍の総数及び担腫瘍動物の総数は、群間で同程度であった (2.6.6.5.1 CD-1 マウスにおけるがん原性試験)。

SD ラットを用いたがん原性試験では、ロキサデュスタットを 0, 2.5, 5 又は 10 mg/kg の用量で TIW97 週間 (雌) 及び 104 週間 (雄) 経口投与した結果、発がん作用やそれに関連した原発腫瘍、

良性腫瘍、悪性腫瘍又は担腫瘍動物の増加は認められなかった（2.6.6.5.2 SD ラットにおけるがん原性試験）。

ラット及びマウスを用いたがん原性試験における2年間の曝露は、2年間にわたって赤血球造血の薬理作用を誘導するうえで十分であった。

慢性毒性試験、ICHに規定された遺伝毒性試験及びげっ歯類を用いたがん原性試験の結果、ロキサデュスタットのがん原性リスクの増加を示唆する根拠は認められなかった。

また、ロキサデュスタットが腫瘍進行に影響を及ぼす可能性を検討するため、異種移植、同系及びトランスジェニック腫瘍モデルマウスを用いた探索的腫瘍試験を実施した。これらの腫瘍モデル試験の結果、いずれの試験用量、検討したいずれの腫瘍モデル動物においても、ロキサデュスタットは腫瘍の発生、進行又は転移を増加させないことが示された。

非臨床試験で得られた全ての根拠に基づいて、ロキサデュスタットにがん原性や腫瘍進展のリスクはないと考えられる。

2.6.6.9.4 生殖発生毒性

2.6.6.9.4.1 発生毒性

ロキサデュスタットは、ラットの雌雄生殖能や初期胚発生に影響を及ぼさず、ラット及びウサギを用いたEFD試験では、母動物が毒性を示さない用量において、EFDへの影響は認められなかった。ラット雌受胎能試験では、母動物の毒性用量である30 mg/kgの用量で胚生存率が低下し、着床後死亡率及び胚死亡率が対照群よりも高かった。ラットEFD試験では、母動物の毒性用量である30 mg/kgの用量で、帝王切開後の胎児体重の減少が認められた。

ラットPPN試験では、全ての用量において出生児の体重に有意な減少が認められ、10 mg/kg以上の群で離乳前の出生児死亡が観察された。死亡率が高かったため、20 mg/kg群の出生児は離乳時で試験終了とした。5 mg/kg群の出生児では、対照群と比較して体重の有意な低値が生後57日（雄）及び生後64日（雌）まで継続して認められた。10 mg/kg群の出生児では、体重はのちに増加したが、対照群の体重範囲までには回復しなかった（2.6.6.6.3.1 SD ラットにおける出生前及び出生後の発生試験）。5 mg/kg以上の群の離乳前の期間中に、ロキサデュスタットに関連したF1世代の出生児の反射及び身体発育への影響が認められ、これらは発育遅延と一致していた。

15 mg/kgを1日1回投与したラットを用いた乳母哺育試験では、子宮内でのみロキサデュスタットに曝露された出生児と、授乳中のみ曝露された出生児及び両期間を通じて曝露された出生児への影響を比較した。その結果、出生後（出生後のみ又は出生後及び子宮内の両方）にロキサデュスタットに曝露された出生児では、出生後の体重減少及び生存率低下が認められ、出生児の体重減少は、ロキサデュスタットに曝露された全ての出生児で認められた。

さらに、ロキサデュスタットは動物だけでなく、ヒトの血清中コレステロール値も低下させた（2.7.4.3.2 臨床検査値の推移）。ヒトの妊娠中、コレステロール値は妊娠中期に自然に上昇し、妊娠後期に最大値に達した後、通常は、出産約6～12週後に正常値に回復する [Saarelainen, 2006; Chiang 1995]。

また、ヒトのコレステロール低値 [Edison et al, 2007; Oluwole et al, 2014] 又は高値は、早産や低出生体重をもたらす可能性がある [Bartels and O'Donoghue, 2011; Harville et al, 2011 Catov et al, 2007; Khoury et al, 2007]。

生殖発生毒性試験の結果に基づいて、ロキサデュスタットは生殖能や EFD に明らかな影響を及ぼさないと考えられるが、妊娠後期や出産後には、胎児や出生児の体重への影響が認められている。また、離乳前の初期の期間には、出生児の死亡が認められた。これらの影響は、母動物で忍容性を示した用量においても認められた。これらの成長、発生及び初期の出生児の死亡への影響の機序は解明されていない。さらに、成熟動物及びヒトで認められたコレステロール低下作用は、コレステロール値が自然に上昇すべき妊娠後期に発現した場合にリスクをもたらす。以上の結果より、ロキサデュスタットを妊娠及び授乳中に投与することは避けることが推奨される。

2.6.6.9.5 幼若動物を用いた試験

今後、小児を対象とした開発を進めることを考慮して、これまでに SD ラットを用いた非 GLP 予備試験を 2 試験完了した。生後 15, 22, 29, 36, 43 及び 50 日の幼若ラットにロキサデュスタットを単回投与した際の投与後 0.5, 1 及び 2 時間の曝露量は成熟ラットと同程度であったが、生後 15 日からの TIW 反復投与で成熟ラットと忍容性に差が認められた。幼若ラットを用いた重要な試験のデザイン設定するため、さらなる予備試験を予定している。

2.6.6.10 図表

図表は各項の本文中の適切な場所に記載した。

2.6.6.11 参考文献

- Andrews DA, Boren BM, Turk JR, Boyce RW, He YD, Hamadeh HK, et al. Dose-related differences in the pharmacodynamic and toxicologic response to a novel hyperglycosylated analog of recombinant human erythropoietin in Sprague-Dawley rats with similarly high hematocrit. *Toxicol Pathol.* 2014a;42(3):524-539.
- Andrews DA, Pyrah ITG, Boren BM, Tannehill-Gregg SH, Lightfoot-Dunn RM. High Hematocrit Resulting from Administration of Erythropoiesis-stimulating Agents Is Not Fully Predictive of Mortality or Toxicities in Preclinical Species. *Toxicol Pathol.* 2014b;42(3):510-523.
- Bartels Ä, O'Donoghue K. Cholesterol in pregnancy: a review of knowns and unknowns *Obstet Med.* 2011;4(4):147-151.
- Catov JM, Bodnar LM, Kip KE, Hubel C, Ness RB, Hanger G, et al. Early pregnancy lipid concentrations and spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197(6):610.e1-e7.
- Chiang AN, Yang ML, Hung JH, Chou P, Shyn SK, Ng HT. Alterations of serum lipid levels and their biological relevances during and after pregnancy. *Life Sci* 1995;56:2367-2375.
- Droogmans S, Roosens B, Cosyns B, Hernot S, Weytjens C, Degallier C, et al. Echocardiographic and histological assessment of age-related valvular changes in normal rats. *Ultrasound Med Biol.* 2009;35(4):558-565.
- Edison RJ, Berg K, Remaley A, Kelley R, Rotimi C, Stevenson RE, et al. Adverse birth outcome among mothers with low serum cholesterol. *Pediatrics.* 2007;120(4):723-733.
- Harville EW, Viikari JS.A, Raitakari OT. Preconception cardiovascular risk factors and pregnancy outcome. *Epidemiology.* 2011;22(5):724-730.
- Khoury J, Haugen G, Tonstad S, Frosli KF, Henriksen T. Effect of a cholesterol-lowering diet during pregnancy on maternal and fetal Doppler velocimetry: the CARRDIP study. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196(6):549.e1-e7
- Luksenburg H, Weir A, Wager R. FDA Briefing Document Oncologic Drugs Advisory Committee: Safety Concerns Associated with Aranesp (darbepoetin alfa) Amgen, Inc. and Procrit (epoetin alfa) Ortho Biotech, L.P., for the Treatment of Anemia Associated with Cancer Chemotherapy. 4th May 2004.
- Oluwole AA, Adegbesan-Omilabu MA, Okunade KS. Preterm delivery and low maternal serum cholesterol level: any correlation? *Int. J Reprod Contracept Obstet Gynecol.* 2014; 3(2):442-446.
- Oshima RG, Lesperance J, Munoz V, Hebbard L, Ranscht B, Sharan N, et al. Angiogenic Acceleration of Neu Induced Mammary Tumor Progression and Metastasis. *Cancer Res.* 2004;64(1):169-179.
- Saarelainen H, Laitinen T, Raitakari OT, Juonala M, Heiskanen N, Lyyra-Laitinen T, et al. Pregnancy-relates hyperlipidemia and endothelial function in healthy women. *Circ J.* 2006;70(6):768-772.

Shiraki K, Ono M, Kajikawa S, Takeuchi A, Murakami Y, Oishi Y, et al. Splenic Hemangiosarcoma in a Young Sprague-Dawley Rat. *J Toxicol Pathol.* 2012;25 (4):273-276.

Woodburn KW, Schatz PJ, Fong KL, Wilson SD, Ferrell T, Spainhour CB, et al. Preclinical safety and pharmacology of Hematide, a peptidic erythropoiesis stimulating agent (ESA), in rats and monkeys. *Drug Chem Toxicol.* 2008;31(2):229-244.

目次

2.6.7	毒性試験概要表.....	2
2.6.7.1	毒性試験：一覧表.....	2
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.....	6
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.....	7
2.6.7.4	毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧表.....	8
2.6.7.5	単回投与毒性試験.....	10
2.6.7.6	反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験.....	16
2.6.7.7	反復投与毒性試験：重要な試験.....	17
2.6.7.8	in vitro 遺伝毒性試験.....	64
2.6.7.9	in vivo 遺伝毒性試験.....	69
2.6.7.10	がん原性試験.....	70
2.6.7.11	生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験.....	80
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.....	81
2.6.7.13	生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験.....	84
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.....	90
2.6.7.15	新生児を用いた試験：重要な試験以外の試験.....	100
2.6.7.16	局所刺激性試験.....	101
2.6.7.17	その他の毒性試験.....	102

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：ロキサデュスタット

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg†)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No. (ISN No.)	CTD Number
Single-Dose Toxicity								
Single dose	Rat/ SD	Oral gavage	Single dose	0, 30, 100, 200, 300	Yes	████████	301_05_3510_018	4.2.3.1-1
Single dose	Cynomolgus monkey	Nasogastric gavage iv	Single dose	0, 3, 30, 60, 100 3	No	████████	301_05_3510_020	4.2.3.1-2 (参)
Repeat-Dose Toxicity								
13W Repeat dose	Mouse/ CD-1	Oral gavage	13 weeks ^b	0, 10, 30, 60, 80/45	Yes	████████	301_06_3510_078	4.2.3.2-1
13W Repeat dose, Additional	Mouse/ CD-1	Oral gavage	13 weeks ^b	0, 60, 100, 150	No	FibroGen	301_06_3510_083	4.2.3.2-2 (参)
4W Repeat dose	Rat/ SD	Oral gavage	4 weeks ^a	0, 2, 20, 60	Yes	████████	301_05_3510_019	4.2.3.2-3
26W Repeat dose	Rat/ SD	Oral gavage	26 weeks ^b	0, 5, 15, 30, 40	Yes	████████	301_06_3510_088	4.2.3.2-4
26W Repeat dose	Rat/ F344	Oral gavage	26 weeks ^b	0, 5, 15, 30, 40	Yes	████████	352007004	4.2.3.2-5
1W Repeat dose	Cynomolgus monkey	Nasogastric gavage	1 week ^a	0, 6, 20, 60	No	████████	301_05_3510_020	4.2.3.2-6 (参)
4W Repeat dose	Cynomolgus monkey	Nasogastric gavage	4 weeks ^a	0, 1, 10, 30	Yes	████████	301_05_3510_021	4.2.3.2-7
22W Repeat dose	Cynomolgus monkey	Oral gavage	22 weeks ^b	0, 1, 10, 30, 40	Yes	████████	301_06_3510_082	4.2.3.2-8
52W Repeat dose	Cynomolgus monkey	Nasogastric gavage	52 weeks ^b	0, 3, 10, 20, 30	Yes	████████	301_06_3520_092	4.2.3.2-9
Genotoxicity								
Reverse mutation	<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	---	S9-, S9+: 10 to 5000 µg/plate.	Yes	████████	301_05_3510_026	4.2.3.3.1-1
Chromosomal aberrations	Cultured human lymphocytes	In vitro	---	S9-: 25 to 294 µg/mL S9+: 100 to 300 µg/mL	Yes	████████	301_05_3510_027	4.2.3.3.1-2
In vivo micronucleus	Mouse/ CD-1	Oral gavage	Single dose	0, 50, 150, 500	Yes	████████	301_05_3510_028	4.2.3.3.2-1
<i>Table continued on next page</i>								

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg†)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No. (ISN No.)	CTD Number
Carcinogenicity								
Carcinogenicity	Mouse/ CD-1	Oral gavage	2 years ^b	0, 15, 30, 60	Yes	■	352010016	4.2.3.4.1-1
Carcinogenicity	Rat/ SD	Oral gavage	2 years ^b	0, 2.5, 5, 10	Yes	■	352010015	4.2.3.4.1-2
Reproductive and Developmental Toxicity								
Fertility and early embryonic development to implantation	Rat/ SD	Oral gavage	M ^b : 2 weeks prior to mating F ^{a,b} : 2 weeks prior to mating through GD 7	0, 5, 15, 30	Yes	■	352012001	4.2.3.5.1-1
Reproductive and Developmental Toxicity								
Embryo-fetal development, dose range finding	Rat/ SD	Oral gavage	GD 6-15 ^a	0, 2, 10, 30, 60	No‡	■	352009023	4.2.3.5.2-1 (参)
Embryo-fetal development	Rat/ SD	Oral gavage	GD 7-17 ^a	0, 5, 15, 30	Yes	■	352010001	4.2.3.5.2-2
Embryo-fetal development, dose range finding	Rabbit/ NZW	Oral gavage	GD 7-19 ^a	0, 15, 35, 75, 150	No	■	352009028	4.2.3.5.2-3 (参)
Embryo-fetal development	Rabbit/ NZW	Oral gavage	GD 7-19 ^a	0, 15, 35, 100	Yes	■	352010002	4.2.3.5.2-4
Prenatal and postnatal development	Rat/ SD	Oral gavage	GD 7-LD 20 ^a	0, 5, 10, 20	Yes	■	352013012	4.2.3.5.3-1
Investigational Cross-fostering study	Rat/ SD	Oral gavage	GD 7-20 ^a , parturition to LD 20 ^a	0, 15	Yes	■	4150WR	4.2.3.5.3-2
Juvenile animal studies								
Juvenile study, preliminary	Rat/ SD	Oral gavage	Single dose	15	No	■	1517-TX-0026	4.2.3.5.4-1 (参)
Juvenile study, dose range finding	Rat/ SD	Oral gavage	PND 15-56 ^b	15, 30, 60	No	■	1517-TX-0027	4.2.3.5.4-2 (参)
<i>Table continued on next page</i>								

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg†)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No. (ISN No.)	CTD Number
Others								
Phototoxicity	Balb/c 3T3 mouse fibroblasts	In vitro	---	0.00015 to 0.48 mg/L	Yes	■	301_07_3520_108	4.2.3.7.7-1
Impurities (FG-6484) Reverse mutation	<i>S. typhimurium</i> and <i>E. coli</i>	In vitro	---	S9-, S9+: 1.5 to 5000 µg/plate.	Yes	■	352010018	4.2.3.7.7-2
Non-pivotal tumor study								
Effect on A549 Human Lung Tumors Xenograft Model	Mouse/ CD-1 nu/nu	Oral gavage	70 Days ^b	0, 6, 20	No	■ FibroGen	301_05_3030_040	4.2.3.7.7-3 (参)
Effect on Lewis Lung Carcinoma Model	Mouse/ C57BL/6	Oral gavage	12 Days ^b	0, 6, 20	No	■ FibroGen	301_05_3030_042 301_06_3030_073	4.2.3.7.7-4 (参) 4.2.3.7.7-5 (参)
Effect on OVCAR-3 Human Ovarian Carcinoma Xenograft Model	Mouse/ CB.17 SCID	Oral gavage	29 Days ^b	0, 20, 60	No	■ FibroGen	301_06_3030_084 301_07_3030_118	4.2.3.7.7-6 (参) 4.2.3.7.7-7 (参)
Effect on 786-O Human Renal Tumors Xenograft Model	Mouse/ nu/nu	Oral gavage	26 Days ^b	0, 20, 60	No	■ FibroGen	301_06_3030_099 301_07_3030_119	4.2.3.7.7-8 (参) 4.2.3.7.7-9 (参)
Effect on K562 Human Leukemia Tumors Xenograft Model	Mouse/ CB.17 SCID	Oral gavage	15 Days ^b	0, 20, 60	No	■ FibroGen	301_06_3030_100 301_07_3030_120	4.2.3.7.7-10 (参) 4.2.3.7.7-11 (参)
Effect on Bx-PC3 Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Tumors Xenograft Model	Mouse/ nu/nu	Oral gavage	27 Days ^b	0, 80	No	■ FibroGen	301_10_3030_142	4.2.3.7.7-12 (参)
Effect on Orthotopic H460-GFP Human Lung Tumors Xenograft Model	Mouse/ CD-1 nu/nu	Oral gavage	16 Days ^b	0, 20	No	■ FibroGen	301_05_3030_041 301_06_3030_072	4.2.3.7.7-13 (参) 4.2.3.7.7-14 (参)
Effect on Orthotopic HCT116-GFP Human Colon Tumors Xenograft Model	Mouse/ CD-1 nu/nu	Oral gavage	33 Days ^b	0, 6, 20	No	■ FibroGen	301_06_3030_074	4.2.3.7.7-15 (参)
Effect on Orthotopic MDA-MB-435 Human Breast Tumors Xenograft Model	Mouse/ CD-1 nu/nu	Oral gavage	35 Days ^b	0, 20, 60	No	■ FibroGen	301_06_3030_075 301_07_3030_117	4.2.3.7.7-16 (参) 4.2.3.7.7-17 (参)
Effect on B16-F10 Melanoma Metastasis Model	Mouse/ B6D2F1	Oral gavage	16 Days ^b	0, 40, 80	No	■ FibroGen	301-10-3030-140	4.2.3.7.7-18 (参)
Effect on Breast Tumor Incidence and Progression	Mouse/ MMTV-Neu-YD	Oral gavage	59 Days ^b	0, 40, 80	No	■ FibroGen	ON 2009 21 1	4.2.3.7.7-19 (参)

CD-1: Cr1:CD-1(ICR); [REDACTED]; *E. coli*: *Escherichia coli*; F: Female; F344: F344/DuCr1; [REDACTED]; GD: gestation day; GLP: good laboratory practice; iv: intravenous; LD: Lactation day; M: Male; NZW: New Zealand White; PND: Postnatal day; SD: Sprague Dawley; *S. typhimurium*: *Salmonella typhimurium*; [REDACTED]; W: Week.

†: Unless otherwise specified.

‡: Chinese State Food and Drug Administration (SFDA) GLP.

a: Daily.

b: Three times weekly.

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：ロキサデュスタット

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Study No. (ISN No.)	CTD Number
Single dose	Rat/ SD	Oral gavage	0, 30, 100, 200, 300	Yes	301_05_3510_018	4.2.3.1-1
Single dose	Cynomolgus monkey	Nasogastric gavage iv	0, 3, 30, 60, 100 3	No	301_05_3510_020	4.2.3.1-2 (参)
13W Repeat dose	Mouse/ CD-1	Oral gavage	0, 10, 30, 60, 80/45	Yes	301_06_3510_078	4.2.3.2-1
13W Repeat dose	Mouse/ CD-1	Oral gavage	0, 60, 100, 150	No	301_06_3510_083	4.2.3.2-2 (参)
4W Repeat dose	Rat/ SD	Oral gavage	0, 2, 20, 60	Yes	301_05_3510_019	4.2.3.2-3
26W Repeat dose	Rat/ SD	Oral gavage	0, 5, 15, 30, 40	Yes	301_06_3510_088	4.2.3.2-4
26W Repeat dose	Rat/ F344	Oral gavage	0, 5, 15, 30, 40	Yes	352007004	4.2.3.2-5
1W Repeat dose	Cynomolgus monkey	Nasogastric gavage	0, 6, 20, 60	No	301_05_3510_020	4.2.3.2-6 (参)
4W Repeat dose	Cynomolgus monkey	Nasogastric gavage	0, 1, 10, 30	Yes	301_05_3510_021	4.2.3.2-7
22W Repeat dose	Cynomolgus monkey	Oral gavage	0, 1, 10, 30, 40	Yes	301_06_3510_082	4.2.3.2-8
52W Repeat dose	Cynomolgus monkey	Nasogastric gavage	0, 3, 10, 20, 30	Yes	301_06_3520_092	4.2.3.2-9
Carcinogenicity	Mouse/ CD-1	Oral gavage	0, 15, 30, 60	Yes	352010016	4.2.3.4.1-1
Carcinogenicity	Rat/ SD	Oral gavage	0, 2.5, 5, 10	Yes	352010015	4.2.3.4.1-2
Fertility and early embryonic development to implantation	Rat/ SD	Oral gavage	0, 5, 15, 30	Yes	352012001	4.2.3.5.1-1
Embryo-fetal development	Rat/ SD	Oral gavage	0, 5, 15, 30	Yes	352010001	4.2.3.5.2-2
Embryo-fetal development, dose range finding	Rabbit/ NZW	Oral gavage	0, 15, 35, 75, 150	No	352009028	4.2.3.5.2-3 (参)
Embryo-fetal development	Rabbit/ NZW	Oral gavage	0, 15, 35, 100	Yes	352010002	4.2.3.5.2-4
Prenatal and postnatal development	Rat/ SD	Oral gavage	0, 5, 10, 20	Yes	352013012	4.2.3.5.3-1
Cross-fostering	Rat/ SD	Oral gavage	0, 15	Yes	4150WR	4.2.3.5.3-2
Juvenile study, preliminary	Rat/ SD	Oral gavage	15	No	1517-TX-0026	4.2.3.5.4-1 (参)
Juvenile study, dose range finding	Rat/ SD	Oral gavage	15, 30, 60	No	1517-TX-0027	4.2.3.5.4-2 (参)

CD-1: Cr1:CD-1(ICR); F344: F344/DuCr1; GLP: good laboratory practice; iv: intravenous; NZW: New Zealand White; SD: Sprague Dawley; W: week.

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

被験物質：ロキサデュスタット

Dose (mg/kg)	Steady-State AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)							
	Mouse/ CD-1†		Rat/ SD‡		Cynomolgus monkey§		Rabbit/ NZW¶	Human††
	M	F	M	F	M	F	F	M/F
3	---	---	---	---	4.66	4.52	---	120 mg: 135.5
5	---	---	155	155	---	---	---	
10	74.6	88.3	---	---	27.2	29.0	---	300 mg: 338.8
15	---	---	467	601	---	---	56.4	
20	---	---	---	---	48.8	93.2	---	
30	247	300	1300 (Day 132)	1240	144	152	---	
35	---	---	---	---	---	---	138.4	
45	382	416	---	---	---	---	---	
60	552	602	---	---	---	---	---	
100	---	---	---	---	---	---	604.2	

CD-1: Cr1:CD-1(ICR); F: female; M: male; NZW: New Zealand White; SD: Sprague Dawley.

†: source 13-week study (301_06_3510_078); ‡: AUC₀₋₄₈, source 26-week study (301_06_3510_088); §: AUC₀₋₄₈, source 52-week study (301_06_3520_092); ¶: source embryo-fetal development study (352010002); ††: simulated by phase 2/3 pop-PK model for Japanese subjects (CL-0302, CL-0304, CL-0307 and CL-0308) (AUC_{inf}).

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧表

被験物質：ロキサデュスタット

Batch No.	Purity	Specified Impurities								Study No. (ISN No.)	Type of Study
		FG-4515	FG-4597	FG-6347	FG-6488	FG-6628	FG-8706	FG-8708	FG-8993		
03FBR07-01-62	99.1%	LT 0.5%	0.14 %	LT 0.5%	LT 0.5%	LT 0.5%	LT 0.5%	LT 0.5%	LT 0.5%	301_05_3510_018 301_05_3510_019 301_05_3510_021 301_06_3510_083 301_06_3510_078 301_06_3510_082 301_06_3510_088 301_05_3510_026 301_05_3510_027 301_05_3510_028 301_06_3030_074 301_06_3030_084 301_06_3030_099 301_06_3030_100 301_06_3030_075	Single dose, Rat/ SD 4W Repeat dose, Rat/ SD 4W Repeat dose, Monkey/ cynomolgus 13W Repeat dose, additional, Mouse/ CD-1 13W Repeat dose, Mouse/ CD-1 22W Repeat dose, Monkey/ cynomolgus 26W Repeat dose, Rat/ SD Ames Chromosomal aberrations In vivo micronucleus Non-pivotal tumor study Non-pivotal tumor study Non-pivotal tumor study Non-pivotal tumor study Non-pivotal tumor study
04-10639-1	96.6%	NA								301_05_3510_020 301_05_3510_020 301_05_3030_042 301_05_3030_041	Single dose, Monkey/ cynomolgus 1W Repeat dose, Monkey/ cynomolgus Non-pivotal tumor study Non-pivotal tumor study
O524FPRW-07-001	99.7%	LT 0.5%	NMT 1.0%	LT 0.5%	LT 0.5%	LT 0.5%	LT 0.5%	LT 0.5%	LT 0.5%	352012001 352010001 352010002 352009023 352009028 352013012 ON 2009 21 1 301-10-3030-142 301-10-3030-140	Fertility and early embryonic development to implantation, Rat/ SD Embryo-fetal development, Rat/ SD Embryo-fetal development, Rabbit/ NZW Embryo-fetal development, DRF, Rat/ SD Embryo-fetal development, DRF, Rabbit/ NZW Prenatal and postnatal development, Rat/ SD Non-pivotal tumor study Non-pivotal tumor study Non-pivotal tumor study

Table continued on next page

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧表

Batch No.	Purity	Specified Impurities								Study No. (ISN No.)	Type of Study
		FG-4515	FG-4597	FG-6347	FG-6488	FG-6628	FG-8706	FG-8708	FG-8993		
O524FP-06-001	99.7%	0.12 %	ND	ND	0.03 %	LT 0.15 %	LT 0.15 %	LT 0.15 %	LT 0.15 %	301_06_3520_092	52W Repeat dose, Monkey/ cynomolgus (weeks 28-38)
CPo4718-01-06-01-14-02	98.7%	LT 0.05 %	LT 0.05 %	LT 0.05 %	LT 0.05 %	0.05 %	0.09 %	0.06 %	0.05 %	352010016 352010015	Carcinogenicity, Mouse/ CD-1 Carcinogenicity, Rat/ SD
05FBR07A-01-85	99.6%	LT 0.05 %	NMT 1.0%	LT 0.05 %	LT 0.05 %	LT 0.05 %	LT 0.05 %	LT 0.05 %	LT 0.05 %	352007004 301_06_3520_092 301_07_3520_108	26W Repeat dose, Rat/ F344 52W Repeat dose, Monkey/ cynomolgus (weeks 1-27 and 39-54) Phototoxicity
PT-C110209215-D(API)13002P	98.8%	NMT 0.05 %	NMT 0.05 %	NMT 0.05 %	NMT 0.05 %	NMT 0.05 %	NMT 0.05 %	NMT 0.05 %	NMT 0.05 %	4150WR 1517-TX-0026 1517-TX-0027	Cross-fostering Juvenile study, preliminary Juvenile study, dose range finding
1144-31-A	98%	NA								301_05_3030_040	Non-pivotal tumor study

DRF: dose range finding; LT: less than; NA: not applicable; NMT: not more than.

被験物質：FG-6484

Batch No.	Purity	Specified Impurities	Study No. (ISN No.)	Type of Study
1716-20-H	99.7%	NA	352010018	Ames FG-6484

NA: not applicable.

2.6.7.5 単回投与毒性試験

2.6.7.5.1 SD ラットを用いた単回投与毒性試験

2.6.7.5.1 Single-Dose Toxicity

Report Title: FG-4592: A Single-Dose Oral Gavage Toxicity Study in Rats

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain: Crl:CD(SD) rats		Duration of Dosing: Single dose				Study No. 7574-113 (ISN: 301_05_3510_018)						
Initial Age: Approximately 7 to 8 weeks		Duration of Postdose: 14 days				CTD Number: 4.2.3.1-1						
Date of Dose: ██████████		Method of Administration: Gavage				GLP Compliance: Yes						
Vehicle/Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension												
Special Features: None												
Approximate Lethal Dose: 300 mg/kg in male and 200 mg/kg in female, Observed Maximum Non-Lethal Dose: 200 mg/kg in male and 100 mg/kg in female												
Toxicokinetics												
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		30		100		200		300		
Number of Animals		5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	
Concentration at 2 h after dosing (µg/mL)		BQL	BQL	67.7	77.1	198	239	251	272	259	334	
Noteworthy Findings												
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		30		100		200		300		
Number of Animals		5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	1 (Day 4)	5 (Day 4)	5 (Day 3, 4)	
Body Weights (g) [No. of animals]		Day 1	269	183	271	186	267	187	274	186	269	183
		Day 3	265	181	264	180	250	173	224 *	153 *	209 *	143 *[3]
		Day 5	285	191	288	194	276	193	251 *	176 [4]	NA	NA
		Day 7	308	202	305	206	297	204	282	197 [4]	NA	NA
		Day 9	320	206	321	211	308	208	296	201 [4]	NA	NA
		Day 11	332	212	333	217	329	217	320	207 [4]	NA	NA
		Day 13	347	220	346	224	340	222	336	217 [4]	NA	NA
		Day 14	345	219	343	223	336	218	335	213 [4]	NA	NA
Food Consumption [No. of animals] (g/animal/period)		Day 1-2	34	26	32	24	26 [#]	19*	8 [#]	8*	3 [#]	7*[3]
		Day 3-4	64	42	68	46	59	45	41*	33*[4]	NA	NA
		Day 5-6	65 [4]	41	61	46	62	47	65	52*[4]	NA	NA
		Day 7-8	66	46	68	47	64	48	70	53 [4]	NA	NA
		Day 9-10	62	41	64	43	61	43	64	41 [4]	NA	NA
		Day 11-13	100	72	97	72	92	69	97	72 [4]	NA	NA

Table continued on next page

2.6.7.5.1 Single-Dose Toxicity

Single Dose in SD Rats (ISN: 301_05_3510_018) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.1-1

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		30		100		200		300		
Number of Animals	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	
Clinical Observations^a											
Hunched posture	0	0	0	0	0	0	0	0	3	5	
Thinness	0	0	0	0	0	0	4	3	1	4	
Labored respiration	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3	
Irregular respiration	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	
Cold to touch	0	0	0	0	0	0	0	0	3	5	
Rough haircoat	0	0	0	0	0	0	0	0	5	3	
Hypoactive	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
Number of Animals	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	4/F	4/M	3/F	
Hematology											
Red blood cells (10 ⁶ /μL)	Day 4	6.54	6.85	6.95 [#]	7.01	6.71	6.55	7.23 [#]	6.91	6.97	7.18
	Day 15	7.78	8.01	8.06	8.25	8.10	7.93	7.78	7.80	NA	NA
Hemoglobin (g/dL)	Day 4	13.4	13.7	14.3 [#]	13.9	14.4	13.8	15.4 [#]	14.2	14.7	14.5
	Day 15	15.5	15.8	15.9	16.1	16.4	15.9	15.9	15.7	NA	NA
Hematocrit (%)	Day 4	41.4	41.3	45.0 [#]	43.2	45.8 [#]	42.9	49.8 [#]	45.2 [*]	47.6	45.3 [*]
	Day 15	47.2	47.3	48.4	47.9	49.4	47.3	48.2	46.7	NA	NA
Mean corpuscular volume (fL)	Day 4	63.3	60.4	64.8	61.7	68.3 [*]	65.6 [*]	69.0 [*]	65.3 [*]	68.4 [*]	63.1
	Day 15	60.7	59.0	60.0	58.0	61.0	59.7	62.0	59.9	NA	NA
MCHC (g/dL)	Day 4	32.4	33.1	31.8	32.2 [*]	31.5 [*]	32.1 [*]	30.9 [*]	31.5 [*]	30.9 [*]	32.2 [*]
	Day 15	32.9	33.5	32.9	33.6	33.1	33.6	33.1	33.7	NA	NA
Reticulocytes (10 ³ /μL)	Day 4	484.2	350.4	690.7 [*]	647.3 [*]	810.0 [*]	649.5 [*]	800.0 [*]	679.3 [*]	707.4 [*]	656.2 [*]
	Day 15	249.4	212.8	211.2	172.6	193.1 [*]	138.7 [*]	123.5 [*]	120.5 [*]	NA	NA
Platelet counts (10 ³ /μL)	Day 4	1272	1348	1431	1427	1622	1498	1374	1394	1368	1475
	Day 15	1118	1300	1169	1295	973	1041 [*]	772 [*]	922 [*]	NA	NA
White blood cells (10 ³ /μL)	Day 4	11.00	10.19	9.68	8.47	11.64	11.57	15.40	14.38	20.00 [*]	17.15
	Day 15	8.27	6.50	7.76	6.24	7.82	6.46	8.99	6.28	NA	NA
Neutrophils (10 ³ /μL)	Day 4	2.45	1.69	0.97	1.03	1.56	1.68	2.26	2.44	7.05 [#]	7.01 [#]
	Day 15	1.34	0.84	0.80	0.66	1.09	0.76	1.16	1.19	NA	NA

Table continued on next page

2.6.7.5.1 Single-Dose Toxicity

Single Dose in SD Rats (ISN: 301_05_3510_018) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.1-1

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		30		100		200		300	
Number of Animals		5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	4/F	4/M	3/F
Hematology											
Lymphocytes (10 ³ /μL)	Day 4	8.15	8.08	8.35	7.12	9.54	9.44	12.30 *	11.20	12.20 *	9.45
	Day 15	6.65	5.42	6.63	5.35	6.43	5.50	7.47	4.89	NA	NA
Monocytes (10 ³ /μL)	Day 4	0.21	0.20	0.17	0.15	0.33 #	0.21	0.51 #	0.42 #	0.45 #	0.47
	Day 15	0.14	0.12	0.17	0.11	0.16	0.10	0.20	0.12	NA	NA
Basophils (10 ³ /μL)	Day 4	0.04	0.04	0.04	0.03	0.04	0.04	0.09 #	0.06	0.11 #	0.08
	Day 15	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03	0.01	NA	NA
Number of Animals		5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F
Clinical Chemistry [No. of animals]											
Urea nitrogen (mg/dL)	Day 2	14	15	14	15	19 #	20	24 #	21 #	24 #	29 #
	Day 15	15	16	13	14	14	15	14	15 [4]	NA	NA
Creatinine (mg/dL)	Day 2	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6	0.6 #	0.6	0.6 #	0.6
	Day 15	0.6	0.6	0.5	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6 [4]	NA	NA
Total protein (g/dL)	Day 2	6.3	6.7	6.4	6.7	6.7	7.3 *	7.2 *	7.7 *	7.3 *	7.8 *
	Day 15	6.5	7.0	6.4	6.8	6.3	6.8	6.1	6.8 [4]	NA	NA
Albumin (g/dL)	Day 2	4.4	4.9	4.6	4.9	4.5	5.1	4.8 *	5.4 #	5.0 *	5.4 #
	Day 15	4.3	4.9	4.4	4.8	4.3	4.8	4.3	4.8 [4]	NA	NA
Globulin (g/dL)	Day 2	1.9	1.8	1.8	1.8	2.2	2.2 #	2.3 *	2.4 #	2.4 *	2.4 #
	Day 15	2.1	2.0	2.0	2.0	1.9	2.0	1.8	2.0 [4]	NA	NA
Albumin/Globulin ratio	Day 2	2.4	2.8	2.5	2.7	2.1	2.4	2.1	2.3 *	2.1	2.3 *
	Day 15	2.1	2.4	2.2	2.4	2.3	2.4	2.4	2.5 [4]	NA	NA
Total cholesterol (mg/dL)	Day 2	78	68	49 *	44 #	59 *	49 #	61	53	59 *	46
	Day 15	53	58	54	55	57	58	49	56 [4]	NA	NA
Triglyceride (mg/dL)	Day 2	52	40	88	44	265 #	414 #	463 #	508 #	482 #	524 #
	Day 15	32	28	39	23	35	24	48 *	22 [4]	NA	NA
Total bilirubin (mg/dL)	Day 2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2 #	0.2	0.3 #	0.4 *	0.3 #
	Day 15	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2 # [4]	NA	NA

Table continued on next page

2.6.7.5.1 Single-Dose Toxicity

Single Dose in SD Rats (ISN: 301_05_3510_018) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.1-1

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		30		100		200		300		
	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	
Clinical Chemistry	[No. of animals]										
Alkaline phosphatase (U/L)	Day 2	254	178	241	179	297	165	397 [#]	198	352 [#]	229
	Day 15	203	146	197	150	226	141	225	154 [4]	NA	NA
Potassium (mmol/L)	Day 2	5.4	5.5	5.4	5.0	4.8	4.7 [#]	4.9	4.6 [#]	4.6	4.5 [#]
	Day 15	5.5	5.7	6.0	5.2 [*]	5.6	5.6	5.7	5.3 [4]	NA	NA
Aspartate aminotransferase (U/L)	Day 2	132	139	127	143	117	117	142	136	166	152
	Day 15	141	141	140	143	133	117	127	126 [4]	NA	NA
Alanine aminotransferase (U/L)	Day 2	30	26	32	24	30	23	33	25	37	24
	Day 15	28	29	32	25	34	25	31	29 [4]	NA	NA
Gamma glutamyl transferase (U/L)	Day 2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Day 15	0	0	0	0	0	0	0	0 [4]	NA	NA
Inorganic phosphorus (mg/dL)	Day 2	10.6	9.7	11.0	9.7	10.1	9.2	9.9	9.0	9.4	8.5
	Day 15	8.9	8.0	9.4	7.7	9.4	8.1	9.5	8.2 [4]	NA	NA
Gross Pathology		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Organ Weights		---	---	---	---	---	---	---	---	NA	NA

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

F: female; M: male; NA: not applicable; BQL: below the quantitation limit of 0.01 µg/mL; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; ---: no noteworthy findings; h: hour.

a: The number of animals with findings.

*: Significant difference from the control group, $P \leq 0.05$, ANOVA (and Dunnett's, if applicable).

#: Significant difference from the control group, $P \leq 0.05$, rank-transformed data and ANOVA (and Dunnett's Test, if applicable).

2.6.7.5.2 カニクイザルを用いた単回投与毒性試験（経口・静脈内）

2.6.7.5.2 Single-Dose Toxicity

Report Title: FG-4592: A Single Dose/Bioavailability Study and a 7-Day Nasogastric Repeat Dose Range-Finding Study in Cynomolgus Monkeys

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain: Cynomolgus monkeys	Duration of Dosing: Single dose								Study No. SNBL.069.02 (ISN: 301_05_3510_020)				
Initial Age: 3 to 6 years	Duration of Postdose: 14 days								GLP Compliance: No				
Date of Dose: ██████████	Method of Administration: Gavage (nasogastric intubation) or intravenous injection								CTD Number: 4.2.3.1-2 (参)				
Vehicle/Formulation: Oral; 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension, Intravenous; phosphate-buffered saline solution of pH 7.5-8.0/Solution													
Special Features: There were two phases in this study. Phase 1 consisted of a single dose followed by a 14-day washout period.													
Approximate Lethal Dose: Greater than 100 mg/kg at oral dose, and greater than 3 mg/kg at intravenous dose, Observed Maximum Non-Lethal Dose: 100 mg/kg at oral dose, and 3 mg/kg at intravenous dose													
Toxicokinetics													
Dosing route	Oral dose										Intravenous dose		
Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		3		30		60		100		3		
Number of Animals	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	
C_{max} (μg/mL)	NC	NC	3.4	0.8	140	79.9	258.9	328.2	415.9	199.1	28.7	26.5	
AUC ₀₋₉₆ (μg·h/mL)	NC	NC	7.7	3.8	625	317	1609	2638	3563	1435	25.0	25.1	
t_{max} (h)	NC	NC	2.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	8.0	0.25	0.25	
Noteworthy Findings													
Dosing Route	Oral dose										Intravenous dose		
Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		3		30		60		100		3		
Number of Animals	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Body Weights (kg)	Day 1	5.146	2.933	4.908	3.183	5.585	2.695	5.849	2.622	4.397	2.505	4.940	3.094
	Day 3	5.229	2.800	4.915	3.109	5.718	2.667	5.811	2.606	4.344	2.583	4.975	3.132
	Day 7	5.237	2.811	4.876	3.235	5.666	2.700	5.823	2.657	4.413	2.560	4.989	3.168
	Day 10	5.336	2.801	4.899	3.363	5.793	2.770	5.865	2.690	4.455	2.612	5.102	3.201
	Day 15	5.438	3.002	4.985	3.398	5.883	2.697	5.899	2.693	4.475	2.543	5.100	3.199
Food Consumption (number of biscuits/animal/day)	Day 1	20	18	20	20	20	20	20	11	20	16	20	18
	Day 3	20	17	20	19	20	20	20	13	14	20	20	16
	Day 7	20	19	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
	Day 10	20	20	20	20	20	20	20	17	20	13	20	16
	Day 15	15	20	18	20	20	20	20	15	20	12	20	14

Table continued on next page

2.6.7.5.2 Single-Dose Toxicity

Single Dose in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_05_3510_020) (continued)

添付資料番号：4.2.3.1-2 (参)

Dosing route		Oral dose										Intravenous dose	
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		3		30		60		100		3	
Number of Animals		1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F
Clinical Observations		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Clinical Chemistry													
Total iron (µg/dL)	Pre	157	157	159	184	114	162	163	124	166	180	132	129
	Day 2	150	123	217	197	216	163	163	196	327	333	151	176
	Day 7	102	68	125	92	107	77	109	NA	81	74	92	131
Erythropoietin (mIU/mL) ^a	0h after dosing	2.6	3.7	4.6	3.7	<25	41	31	<31.3	<31.3	<31.3	<2.5	3.4
	4h after dosing	ND	ND	8.7	8.7	28	<25	55.7	<31.3	<31.3	<31.3	3.3	7.1
	8h after dosing	7.7	4.8	9.8	16	2404	217	1811	1253	226	1796	3.7	6.7
	12h after dosing	ND	ND	10	14	2337	304	2406	3074	4429	1367	3.6	8.5
	24h after dosing	ND	ND	8.2	7.8	316	50	449	644	1937	234	3.4	9.1

F: female; M: male; NA: not applicable; NC: not calculated; ND: not determined; ---: no noteworthy findings; h: hour.

a: Lower limit of quantitation used in this assay is 2.5 mIU/mL on standard curve and in undiluted samples; 25 mIU/mL in samples diluted 1:10 and 31.3 mIU/mL in samples diluted 1:12.5.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	NOAEL† (mg/kg)	Noteworthy findings	Study No. (ISN No.) CTD No.
Mouse / CrI:CD- 1(ICR)	Gavage, three times/week intermittently 0.5% (w/w) Carboxymethylcellulose, 0.1% (w/w) Polysorbate 80/suspension	13 weeks	0, 60, 100, 150	Toxicity Animals: 10/sex per group (control group), 10/sex per group (roxadustat-treated groups) Toxicokinetic Animals: 3/sex per group (control group), 27/sex per group (roxadustat-treated groups)	60	<p>≥ 60 mg/kg (pharmacological action): increased hemoglobin, hematocrit, MCV, MCH; increased spleen weight and splenic extramedullary hematopoiesis</p> <p>≥ 100 mg/kg: discoloration of feet, tails, ventral skin, and tongues.; increased RBC, MCHC; congestion of adrenal gland and bone marrow; enlarged spleen</p> <p>150 mg/kg: 2 males sacrificed with preceding clinical signs of hunched posture, weight loss, scruffy hair coat.; generalized organ congestion and hyperplastic bone marrow. Increased total bilirubin and monocytes</p> <p>Toxicokinetic analysis on day 1 revealed dose-proportional increases in AUC and C_{max}, and t_{1/2} was 3-4 hours. No marked gender difference.</p>	301_06_3510_083 4.2.3.2-2 (参)

† No Observed Adverse-Effect Level; MCV: mean corpuscular volume; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; RBC: red blood cell

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 CD-1 マウスを用いた間歇投与による 13 週間投与試験

2.6.7.7.1 Repeat-Dose Toxicity

Report Title: FG-4592: A 13-week Oral Toxicity Study in Mice

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain: Crl:CD-1(ICR) mice		Duration of Dosing: 13 weeks				Study No. 7574-115 (ISN: 301_06_3510_078)					
Initial Age: approximately 6.5 weeks		Duration of Postdose: none				CTD Number: 4.2.3.2-1					
Date of First Dose: ██████████		Method of Administration: Gavage, three times/week intermittently				GLP Compliance: Yes					
Vehicle/Formulation: 0.5% (w/w) Carboxymethylcellulose, 0.1% (w/w) Polysorbate 80 suspension											
Special Features: None											
No Observed Adverse-Effect Level: 60 mg/kg for males and females											
Toxicokinetics											
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		10		30		60		80/45^a	
Number of Animals^f		6/M	6/F	48/M	48/F	48/M	48/F	48/M	48/F	48/M	48/F
t _{max} (h)	Day 1	NC	NC	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	Day 89	NC	NC	0.5	0.5	0.5	1.0	0.5	0.5	0.5	0.5
C _{max} (µg/mL)	Day 1	NC	NC	26.8	29.5	83.4	82.7	125	151	144	165
	Day 89	NC	NC	31.9	25.8	64.4	69.1	130	132	96.8	129
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	Day 1	NC	NC	83.5	94.3	258	291	519	561	743	698
	Day 89	NC	NC	74.6	88.3	247	300	552	602	382	416
Noteworthy Findings in Treatment Period											
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		10		30		60		80/45^a	
Number of Animals (Main)		15/M^b	15/F^b	10/M	10/F	10/M	10/F	10/M	10/F	10/M	10/F
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Signs		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Body Weights		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Food Consumption		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Number of Animals		6/M	6/F	5/M	3/F	5/M	5/F	5/M	3/F	5/M	5/F
Hematology [No. of animals]^{c,d}		Day 93/94									
Mean corpuscular volume (fL)		51.7	51.4	52.1	51.9	52.0	53.6*†	55.7*†	54.9	51.3	54.6*†
Mean corpuscular hemoglobin (pg)		15	15.4	16	15.6	16	16.5*†	17*†	17.0	16	16.7*†
White blood cells (10 ³ /uL)		---	3.05	---	4.96	---	6.71*†	---	4.78	---	6.07*†
Lymphocytes (10 ³ /uL)		---	2.47	---	4.00	---	5.58*†	---	4.08	---	4.96*†

Table continued on next page

2.6.7.7.1 Repeat-Dose Toxicity

13W TIW in CD-1 Mice (ISN: 301_06_3510_078) (continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		10		30		60		80/45 ^a	
Clinical chemistry [No. of animals]^{c,d}										
Total cholesterol (mg/dL) Day 93/94	---	138 [5]	---	144 [3]	---	88*†‡ [4]	---	101*†‡ [6]	---	117 [4]
Gross Pathology-Dosing phase	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Number of Animals	15/M^b	15/F^b	10/M	10/F	10/M	10/F	10/M	10/F	10/M	10/F
Organ weights Day 93/94										
Spleen (g)	0.1130	0.1216	0.1184	0.1291	0.1225	0.1371	0.1306	0.1584 *†	0.1089	0.1263
Spleen (% body weights)	0.2933	0.4069	0.3042	0.4133	0.3153	0.4215	0.3296	0.4987 *†	0.2830	0.4047
Histopathology- Dosing phase[§]										
Spleen, Increased Extramedullary hematopoiesis	0	0	NA	NA	NA	NA	6	6	1	1

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

F: female; M: male; ---: no noteworthy findings; NA: not applicable; NC: not calculated.

a: Beginning on dosing Day 3, the dose level of 80 mg/kg was reduced to 45 mg/kg.

b: An additional 5 mice/sex were included in the control group in case the high-dose group needed to be removed early.

c: Approximately half of the surviving mice were used to collect blood samples for hematology whereas blood samples for clinical chemistry were taken from remaining animals.

d: Excluded from analysis if n=3.

e: No gradation of effect in report.

f: Calculation of toxicokinetic parameters was based on 3 animals/sex/group/time point.

*: $P \leq 0.05$ (Statistically significant difference from the control group).

†: ANOVA (and Dunnett's Test, if applicable).

‡: Rank-transformed data.

§: The number of animals with findings.

2.6.7.7.2 SD ラットを用いた連日投与による4週間投与毒性試験

2.6.7.7.2 Repeat-Dose Toxicity

Report Title: FG-4592: A Four-Week Oral Toxicity Study with Four Week Recovery in Rats

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain: Hsd: SD rats		Duration of Dosing: 4 weeks				Study No. 0436RF14.003 (ISN: 301_05_3510_019)			
Initial Age: 7 to 8 weeks		Duration of Postdose: 4 weeks				CTD Number: 4.2.3.2-3			
Date of First Dose: ██████████		Method of Administration: Gavage, once daily				GLP Compliance: Yes			
Vehicle/Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension									
Special Features: Dosing at 60 mg/kg was terminated on Day 21 to 22									
No Observed Adverse-Effect Level: 2 mg/kg for males and females									
Toxicokinetics									
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		2		20		60	
Number of Animals†		9/M	9/F	9/M	9/F	9/M	9/F	9/M	9/F
C _{max} (µg/mL)	Day 1	NC	NC	4.20	4.96	53.9	69.4	113	138
	Day 28	NC	NC	5.93	6.18	65.8	76.0	NA	NA
t _{max} (h)	Day 1	NC	NC	2.0	0.5	2.0	1.0	6.0	1.0
	Day 28	NC	NC	0.5	1.0	1.0	1.0	NA	NA
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	Day 1	NC	NC	30.0	28.6	477	538	1430	1330
	Day 28	NC	NC	31.9	27.4	444	457	NA	NA
Noteworthy Findings in Treatment Period									
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		2		20		60	
Number of Animals		15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	3 ^a	5 ^b
Clinical Observations‡									
Decreased activity		0	0	0	0	0	0	0	2
Labored breathing		0	0	0	0	0	0	0	1
Red discharge from tail tip		0	0	0	0	0	0	0	1
Red staining on cage paper		0	0	0	0	0	0	6	3
Green staining on cage paper		0	0	0	0	0	0	2	0
Red stained mouth/nose		0	0	0	0	0	0	1	5
Thin body condition		0	0	0	0	0	0	4	7
Black/purple tail tip		0	0	0	0	0	0	1	3
Decreased skin turgor		0	0	0	0	0	0	0	1

Table continued on next page

2.6.7.7.2 Repeat-Dose Toxicity

4W in SD Rats (ISN: 301_05_3510_019) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		2		20		60	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>									
Number of Animals		15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F
Body Weights (g) [No. of animals]									
	Day 1	238	162	236	161	233	161	235	164
	Day 4	253	172	252	172	250	171	240* [14]	171
	Day 8	280	184	276	184	268	187	260*	185
	Day 11	290	191	287 [13]	194	279	198	269*	196
	Day 15	309	200	310	203	298	208	283*	206
	Day 18	315	205	310	210	299	216	272*	203 [14]
	Day 22	324	211	320	214	308*	223	276* [12]	NA
	Day 25	331	213	329	212	311*	220	NA	NA
	Day 28	338	217	334	219	317*	227	NA	NA
Body Weight Gain (g) [No. of animals]									
	Day 4	15	10	16	11	16	11	5* [14]	7
	Day 8	27	12	24	12	19*	16*	19* [14]	14
	Day 11	10	7	12 [13]	9	11	10*	9	11*
	Day 15	20	9	22 [13]	10	19	10	14*	10
	Day 18	5	5	-1	7	1	8	-11*	-3* [14]
	Day 22	9	7	11	3	9	7	-9* [12]	NA
	Day 25	7	1	9	-2	3	-3	NA	NA
	Day 28	7	4	5	7	6	7	NA	NA
Food Consumption (g/animal/period)									
	Day 8	200	152	204	151	184	160	182	141
	Day 15	191	144	197	150	192	150	197	158 [14]
	Day 22	192	144	192	149	179	149	174 [11]	NA
	Day 28	171	137	169	128	162	133	NA	NA
Ophthalmology		---	---	---	---	---	---	NA	NA

Table continued on next page

2.6.7.7.2 Repeat-Dose Toxicity

4W in SD Rats (ISN: 301_05_3510_019) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		2		20		60	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>								
Number of Animals	10/M	10/F	10/M	10/F	10/M	10/F	12/M	10/F
Hematology (Day 29)							(Day 22)	(Day 21)
Red blood cells (10 ⁶ /μL)	8.62	8.14	8.80	8.35	10.51*	9.97*	8.36	9.07
Hemoglobin (g/dL)	17.0	16.0	17.4	16.4	24.1*	22.2*	20.8	23.7
Hematocrit (%)	49.4	47.5	50.7	48.2	71.6*	67.3*	71.0	77.1
Mean corpuscular volume (fL)	57.3	58.3	57.7	57.7	68.2*	67.5*	86.3	85.2
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	19.7	19.6	19.8	19.7	22.9*	22.3*	25.1	26.2
MCHC (g/dL)	34.5	33.7	34.3	34.1	33.6*	33.0	29.2	30.7
Platelet counts (10 ³ /μL)	1026	1095	1052	1116	367*	636*	156	118
% Reticulocytes	2.6	2.2	2.8	2.5	6.7*	5.2*	20.4	16.6
Reticulocytes (10 ⁹ /L)	226.1	182.6	249.7	206.2	705.8*	521.1*	1599.1	1487.0
Monocyte (10 ³ /μL)	0.44	0.29	0.56	0.23	0.46	0.27	0.75	0.43
% Monocyte	4.0	3.7	4.5	3.3	4.6	3.7	6.4	4.8
Neutrophil (10 ³ /μL)	1.66	0.86	1.86	0.78	1.50	0.78	2.52	2.38
% Neutrophil	15.5	11.1	14.5	11.4	15.2	11.1	22.6	24.8
Polychromasia	---	---	---	---	---	1+ [4], 2+ [6]	3+ [12]	3+ [10]
Anisocytosis	---	---	---	---	---	---	3+ [10], 2+ [2]	3+ [9], 2+ [1]
Clinical Chemistry (Day 29)							(Day 22)	(Day 21)
Alkaline phosphatase (IU/L)	125	131	136	115	151 [8]	138	267	213
Alanine aminotransferase (IU/L)	42	42	41	38	50* [7]	35	101	89
Aspartate aminotransferase (IU/L)	73	93	79	89	93* [7]	90	344 [11]	375
Albumin/Globulin ratio	1.2	1.2	1.2	1.2	1.3* [9]	1.3*	1.3 [7]	1.3 [2]
Total bilirubin (mg/dL)	0.11	0.14	0.12	0.15	0.20* [8]	0.21*	0.86	0.76 [7]
Triglyceride (mg/dL)	21	24	24	21	51*	36*	115 [7]	60 [2]
Unsaturated iron binding capacity (μg/dL)	356	279	401	288	438* [5]	469*	627 [4]	657 [1]
Total iron binding capacity (μg/dL)	454	568	502	571	586* [5]	667*	900 [4]	771 [1]

Table continued on next page

2.6.7.7.2 Repeat-Dose Toxicity

4W in SD Rats (ISN: 301_05_3510_019) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		2		20		60	
Noteworthy Findings in Treatment Period								
Number of Animals	10/M	10/F	10/M	10/F	10/M	10/F	12/M	10/F
Organ Weights (Day 29)							(Day 22)	(Day 21)
Body weight (g)	321	211	308	201	301	209	269	211
Liver (g)	9.56	6.54	8.85	5.95	8.48*	6.20	9.02	8.71
Liver (% b.w.)	2.981	3.095	2.866	2.963	2.815*	2.975	3.386	4.110
Spleen (g)	0.76	0.59	0.71	0.58	0.96*	0.72*	2.63	2.45
Spleen (% b.w.)	0.237	0.282	0.230	0.287	0.317*	0.343*	0.987	1.171
Kidney (g)	2.43	1.64	2.37	1.52	2.39	1.63	2.46	1.93
Kidney (% b.w.)	0.757	0.779	0.768	0.758	0.794	0.782	0.922	0.919
Number of Animals	0/M	0/F	0/M	0/F	0/M	0/F	3/M	5/F
Gross Pathology‡ (dead/moribund)								
Kidney: Dark	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Liver: Pale	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Spleen: Enlarged	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	4
Number of Animals	10/M	10/F	10/M	10/F	10/M	10/F	12/M	10/F
Gross Pathology‡ (Day 29)							(Day 22)	(Day 21)
Kidney: Dark/dark discoloration	0	0	0	0	0	0	7	5
Liver: Dark	0	0	0	0	4	0	0	0
Spleen: Enlarged	0	0	0	0	4	0	12	10
Lung: Red discoloration	0	0	0	0	1	0	0	1
Stomach: Black foci	0	0	0	0	3	0	0	0
Histopathology‡ (Day 29)							(Day 22)	(Day 21)
Bone marrow, sternum: Hyperplasia	1	0	0	0	7	2	10	10
Bone, femur: Hyperostosis	0	0	0	0	0	0	10	3
: Myelofibrosis	0	0	0	0	0	0	7	3
: Thrombosis	0	0	0	0	0	0	2	1
Heart: Inflammation, chronic, endocardium, papillary muscle	0	0	0	0	0	1	6	4
: Inflammation, chronic, valve	0	0	0	0	3	3	11	7
: Cardiomyopathy	0	0	0	0	0	0	2	1

Table continued on next page

2.6.7.7.2 Repeat-Dose Toxicity

4W in SD Rats (ISN: 301_05_3510_019) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		2		20		60	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>								
Number of Animals	10/M	10/F	10/M	10/F	10/M	10/F	12/M	10/F
Histopathology‡ (Day 29)							(Day 22)	(Day 21)
Kidney: Chronic progressive nephropathy	2	0	4	0	5	0	8	6
: Accumulation hyaline, tubule	0	0	0	0	0	0	5	3
: Pigmentation, tubular	0	0	0	0	0	0	3	2
Liver: Hematopoiesis	0	0	0	0	0	0	11	9
: Hypertrophy, hepatocyte	0	0	0	0	0	0	3	0
Lung: Inflammation, chronic/chronic active	0	0	0	0	1	0	6	1
Lymph node, mesenteric: Hemorrhage	0	0	NA	NA	NA	NA	2	1
Lymph node, mandibular: Hemorrhage	0	0	NA	NA	NA	NA	4	5
Spleen: Hematopoiesis	0	0	0	0	9	7	12	10
Stomach: Erosion, glandular	0	0	0	0	1	0	2	1
: Ulceration, glandular	0	0	0	0	0	0	1	0
: Inflammation, acute/chronic; active, glandular	0	0	0	0	0	0	3	0
Testes: Atrophy, germinal epithelium	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Thymus: Atrophy, cortex	0	0	0	0	0	0	2	1
Adrenal gland: Necrosis, cortex	0	0	0 [9]	0	0	0	0	2
Number of Animals	0/M	0/F	0/M	0/F	0/M	0/F	3/M	5/F
Histopathology‡ (dead/moribund)								
Bone marrow, sternum: Hyperplasia	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	5
Bone, femur: Myelofibrosis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	3
: Thrombosis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Heart: Inflammation, chronic, valve	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	2
: Inflammation, chronic, active, valve	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
: Cardiomyopathy	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Kidney: Infarction	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
: Degeneration, tubular	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	3
Liver: Hematopoiesis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	2
Lung: Inflammation, chronic	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
: Hemorrhage	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	3
Spleen: Hematopoiesis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3	5
Stomach: Erosion, glandular	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	1
Testis: Atrophy, germinal epithelium	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Thymus: Atrophy, cortex	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	5

Table continued on next page

2.6.7.7.2 Repeat-Dose Toxicity

4W in SD Rats (ISN: 301_05_3510_019) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.2-3

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		2		20		60	
<i>Noteworthy Findings in Recovery Period</i>								
Number of Animals	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	0/M	0/F
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	NA	NA
Clinical Observations	---	---	---	---	---	---	NA	NA
Body Weights (g)								
Day 35	348	225	361	232	331	250*	NA	NA
Day 42	362	230	380	235	344	254*	NA	NA
Day 49	366	231	385	237	347	257*	NA	NA
Day 56	378	241	397	245	353	252	NA	NA
Body Weights Gain (g)								
Day 35	12	9	15	10	14	14	NA	NA
Day 42	14	5	19*	4	13	4	NA	NA
Day 49	5	1	5	1	2	3	NA	NA
Day 56	12	10	11	8	6	-5	NA	NA
Food Consumption (g/animal/period)								
Day 35	186	152	193	174*	182	173	NA	NA
Day 42	193	148	199	153	184	157	NA	NA
Day 49	174	152	188	155	179	165	NA	NA
Day 56	183	149	196	156	184	165*	NA	NA
Hematology								
Red blood cells (10 ⁶ /μL)	8.94	8.59	8.84	8.60	8.73	7.83*	NA	NA
Hemoglobin (g/dL)	16.4	16.1	16.3	16.0	18.0*	15.9	NA	NA
Hematocrit (%)	49.6	48.3	49.6	47.5	51.8	45.6	NA	NA
Mean corpuscular volume (fL)	55.6	56.3	56.0	55.2	59.3*	58.2*	NA	NA
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	18.4	18.8	18.4	18.5	20.7*	20.3*	NA	NA
MCHC (g/dL)	33.1	33.4	32.9	33.6	34.9*	34.8*	NA	NA
% Reticulocytes	3.0	3.1	2.8	2.4	1.4*	2.4	NA	NA
Reticulocytes (10 ⁹ /L)	268.7	266.2	250.8	212.3	118.9*	185.6	NA	NA
Clinical Chemistry								
Total bilirubin (mg/dL)	0.15	0.18	0.13*	0.18	0.19*	0.22	NA	NA
Iron (μg/dL)	133	252	119	235	317*	404*	NA	NA
Unsaturated iron binding capacity (μg/dL)	339	296	349	288	179*	188*	NA	NA

Table continued on next page

2.6.7.7.2 Repeat-Dose Toxicity

4W in SD Rats (ISN: 301_05_3510_019) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.2-3

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		2		20		60	
<i>Noteworthy Findings in Recovery Period</i>								
Number of Animals	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	0/M	0/F
Organ Weights	---	---	---	---	---	---	NA	NA
Gross Pathology	---	---	---	---	---	---	NA	NA
Histopathology‡								
Heart: Inflammation, chronic, valve	0	0	1	0	0	3	NA	NA

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

F: female; M: male; NA: not applicable; NC: not calculated; ---: no noteworthy findings; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; b.w.: body weight.

†: Calculation of toxicokinetic parameters was based on 2 to 3 animals/sex/group/time point.

‡: The number of animals with findings.

Dunnett's Test: *: P<0.05 (Statistically significant difference from the control group).

a: Died or moribund sacrifice on Day 20 or 21.

b: Died or moribund sacrifice on Day 17, 18, 19 or 20.

2.6.7.7.3 SD ラットを用いた間歇投与による 26 週間投与毒性試験

2.6.7.7.3 Repeat-Dose Toxicity

Report Title: FG-4592: A 180-Day Oral Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats with a 30-Day

被験物質：ロキサデュスタット

Recovery

Species/ Strain: Crl:CD(SD)IGSBR rats		Duration of Dosing: 180 days						Study No. SNBL.069.04 (ISN: 301_06_3510_088)			
Initial Age: At least 8 weeks		Duration of Postdose: 30 days						CTD Number: 4.2.3.2-4			
Date of First Dose: [REDACTED]		Method of Administration: Gavage, three times/week intermittently						GLP Compliance: Yes			
Vehicle/ Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension											
Special Features: Early termination; on day 131 in males of 30 mg/kg group, on day 61 in males of 40 mg/kg group and on day 98 in females of 40 mg/kg group											
No Observed Adverse-Effect Level: < 5 mg/kg for males and 5 mg/kg for females											
Toxicokinetics											
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		5		15		30		40	
Number of Animals§		9/M	9/F	9/M	9/F	9/M	9/F	9/M	9/F	9/M	9/F
t _{max} (h)	D 1	NC	NC	0.5	0.5	0.5	1.0	0.5	0.5	1.0	0.5
	W 13	NC	NC	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	NA	0.5
	W 26	NC	NC	1.0	0.5	0.5	0.5	1.0 (D 132)	0.5	NA	NA
C _{max} (µg/mL)	D 1	NC	NC	14.6	19.5	53.9	70.1	149	160	158	223
	W 13	NC	NC	27.9	29.4	80.0	106	92.4	151	NA	237
	W 26	NC	NC	30.2	38.5	76.6	105	140 (D 132)	147	NA	NA
AUC ₀₋₄₈ (µg·h/mL)	D 1	NC	NC	96.5	103	342	419	1100	1230	1250	1750
	W 13	NC	NC	133	128	526	562	889	1290	NA	1610
	W 26	NC	NC	155	155	467	601	1300 (D 132)	1240	NA	NA
Noteworthy Findings in Treatment Period											
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		5		15		30		40	
Number of Animals		24/M	24/F	24/M	24/F	24/M	24/F	24/M	24/F	24/M	24/F
Died or sacrificed moribund		2 ^b	3 ^c	1 ^d	1 ^e	1 ^f	1 ^g	10 ^h	2 ⁱ	5 ^j	10 ^k
Clinical Observations ^a	Abnormal coloration	12	7	24	23	24	23	22	24	10	19
	trace	8	1	3	3	0	0	0	1	1	0
	slight	3	6	19	14	1	13	3	0	3	1
	moderate	1	0	2	6	15	9	8	8	6	13
	marked	0	0	0	0	8	1	11	14	0	5
	severe	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Hunched posture	0	1	2	2	1	1	5	4	3	3
Body Weights (g) [No. of animals]	D 1	264.5	219.2	265.3	221.3	265.8	218.2	263.9	217.6	264.7	217.6
	D 28	414.3	263.5	413.8	265.7	426.0	270.0	403.8	277.8	401.4	276.4
	D 57	495.4	292.9 [23]	495.7	296.0	502.4	294.6	478.0 [23]	305.1	450.5 [20]	305.1 [21]
	D 92	563.3	308.8 [22]	567.3	313.6	583.0	311.0	547.5 [19]	316.4 [23]	NA	318.8 [15]
	D 120	607.8	323.5 [22]	617.4	330.2	634.0	323.2	596.2 [16]	333.9 [23]	NA	NA
	D 134	627.9	333.1 [22]	638.4	337.9	647.6	330.3	584.5 [7]	341.7 [23]	NA	NA
	D 180	659.6 [22]	343.0 [21]	667.4 [23]	346.2 [23]	686.8 [23]	341.9 [23]	NA	351.2 [22]	NA	NA

Table continued on next page

2.6.7.7.3 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in SD Rats (ISN: 301_06_3510_088) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		5		15		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>											
Number of Animals		24/M	24/F	24/M	24/F	24/M	24/F	24/M	24/F	24/M	24/F
Food Consumption (g/animal per period) [No. of animals]	W 1-2	181.96	136.56	178.93	135.19	187.56	141.70	182.23	130.77	177.59	141.82
	W 3-4	183.00	133.75	182.28	130.52	190.05	139.15	175.85	128.52	177.89	132.05
	W 7-8	188.18	127.91	184.09	126.64	188.67	122.28	182.57 [23]	125.91	161.07 [20]	133.50 [23]
	W 12-13	127.99	106.07 [22]	127.36	115.55	136.97	124.31	140.75 [20]	128.70 [23]	86.35 [6]	123.43 [18]
	W 16-17	187.24	133.62 [22]	189.25	136.38	199.24	123.78	192.28 [18]	129.83 [23]	NA	142.26 [5]
	W 18-19	189.45	123.07 [22]	198.04	123.06	198.51	121.48	199.05 [14]	126.68 [23]	NA	129.88 [5]
	W 26-27	159.12 [22]	87.31 [20]	159.07 [23]	81.94 [23]	160.98	93.18	NA	94.44 [22]	NA	NA
Number of Animals		15/M	13/F	15/M	15/F	15/M	15/F	12/M	14/F	0/M	12/F
Ophthalmology		W 13/W26	---/NA	---/---	---/NA	---/--- [14]	---/NA	---/---	---/NA	---/---	NA/NA
Number of Animals		24/M	24/F	24/M	24/F	24/M	24/F	24/M	24/F	22/M	24/F
Urinalysis [No. of animals]											
Blood ^a	D 49/50	2	0	0	4	0	0	13	2	19	7
	W 13	2 [15]	0 [13]	4 [15]	1 [15]	1 [15]	0 [15]	7 [12]	4 [14]	NA	3 [12]
Protein (mg/dL)	W 26	1 [15]	0 [13]	1 [15]	0 [14]	0 [14]	0 [15]	NA	4 [13]	NA	NA
	D 49/50	77	60 [21]	71 [22]	55 [22]	79 [23]	50 [21]	59	55 [20]	67 [17]	34 [16]
	>=300	0	1	1	0	0	0	0	0	5	2
	W 13	80 [14]	44 [10]	81 [15]	65 [10]	85 [14]	62 [11]	71 [12]	42 [12]	NA	46 [9]
Leukocytes ^a	>=300	1	3	0	5	1	3	0	0	NA	1
	W 26 +1	6	5	3	2	2	5	NA	5	NA	NA
	+2	5	4	8	5	9	6	NA	1	NA	NA
	+3	4	3	3	4	2	3	NA	1	NA	NA
Urine volume (mL)	D 49/50	9	1	11	2	20	0	18	2	19	2
	W 13	7 [15]	1 [13]	8 [15]	2 [15]	10 [15]	2 [15]	12 [12]	1 [14]	NA	2 [12]
	W 26	3 [15]	1 [13]	6 [15]	1 [14]	9 [14]	1 [15]	NA	3 [13]	NA	NA
Number of Animals		15/M	13/F	14/M	15/F	15/M	15/F	11/M	14/F	0/M	10/F
Hematology [No. of animals]											
Red blood cells (10 ⁶ /μL)	W 13	9.19	8.38	8.98	8.15	10.51*†	9.03	10.57*†	9.97*†	NA	10.39*†
	W 26	8.34 [9]	7.55 [7]	8.70 [7]	7.54 [7]	10.54*†[6]	8.49 [8]	NA	9.66*†[7]	NA	NA
Hemoglobin (g/dL)	W 13	16.1	15.6	16.4	15.7	20.7*†	18.7*†	21.9*†	23.6*†	NA	26.0*†
	W 26	14.3 [9]	13.9 [7]	15.3*†[7]	14.2 [7]	20.2*†[6]	17.0*†[8]	NA	22.2*†[7]	NA	NA
Hematocrit (%)	W 13	48.5	45.7	48.3	45.3	61.8*†	54.1*†	69.9*†	68.8*†	NA	75.3*†
	W 26	44.1 [9]	41.3 [7]	46.7*†[7]	42.3 [7]	61.3*†[6]	51.1*†[8]	NA	68.0*†[7]	NA	NA
Mean corpuscular volume (fL)	W 13	52.8	54.5	53.8	55.7	58.8*†	59.9*†	66.9*†	69.6*†	NA	72.6*†
	W 26	52.9 [9]	54.7 [7]	53.8 [7]	56.1 [7]	58.2*†[6]	60.2*†[8]	NA	70.6*†[7]	NA	NA

Table continued on next page

2.6.7.7.3 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in SD Rats (ISN: 301_06_3510_088) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.2-4

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		5		15		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>											
Number of Animals		15/M	13/F	14/M	15/F	15/M	15/F	11/M	14/F	0/M	10/F
Hematology [No. of animals]											
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	W 13	17.6	18.6	18.3	19.2*‡	19.7*‡	20.7*‡	20.9*‡	23.7*‡	NA	25.0*‡
	W 26	17.2 [9]	18.4 [7]	17.6 [7]	18.9 [7]	19.2*‡[6]	20.0*‡[8]	NA	22.9*‡[7]	NA	NA
Mean platelet volume (fL)	W 13	6.9	7.7	6.7	7.4	7.2	7.8	9.1*‡	9.4*‡	NA	10.5*‡
	W 26	6.8 [9]	7.2 [7]	6.7 [7]	7.5 [7]	6.9 [6]	7.7 [8]	NA	9.2*‡[7]	NA	NA
RBC distribution width (%)	W 13	12	11	12	12	16*‡	14*‡	21*‡	19*‡	NA	20*‡
	W 26	13 [9]	12 [7]	13 [7]	12 [7]	17*‡[6]	14*‡[8]	NA	20*‡[7]	NA	NA
Reticulocytes (10 ⁶ /μL)	W 13	0.161	0.137	0.158	0.178	0.332*‡	0.270*‡	0.727*‡	0.723*‡	NA	0.670*‡
	W 26	0.138 [9]	0.113 [7]	0.155 [7]	0.139 [7]	0.363*‡[6]	0.213*‡[8]	NA	0.580*‡[7]	NA	NA
Platelet counts (10 ³ /μL)	W 13	946	1017	921	1057	633*‡	965	312*‡	601*‡	NA	371*‡
	W 26	834 [9]	926 [7]	747 [7]	811 [7]	577*‡[6]	720*‡[8]	NA	277*‡[7]	NA	NA
APTT (sec.)	W 26	17.5 [6]	17.9 [8]	18.7 [7]	31.1 [8]	23.9*‡[4]	17.4 [8]	NA	18.1 [8]	NA	NA
White blood cells (10 ³ /μL)	W 13	11.24	7.38	12.28	7.99	11.34	8.12	10.31	9.16	NA	7.47
	W 26	8.60 [9]	5.71 [7]	8.65 [7]	5.35 [7]	9.26 [6]	4.64 [8]	NA	12.41 [7]	NA	NA
Neutrophils (10 ³ /μL)	W 13	1.33	0.71	1.40	0.88	1.45	1.22	2.24	2.16*‡	NA	1.80*‡
	W 26	1.86 [9]	0.63 [7]	1.35 [7]	0.84 [7]	1.85 [6]	0.76 [8]	NA	4.80*‡[7]	NA	NA
Basophils (10 ³ /μL)	W 13	0.04	0.01	0.07	0.02	0.18*‡	0.02	0.00	0.08*‡	NA	0.08*‡
	W 26	0.03 [9]	0.01 [7]	0.04 [7]	0.02 [7]	0.12*‡[6]	0.03 [8]	NA	0.17*‡[7]	NA	NA
Number of Animals		15/M	13/F	15/M	15/F	15/M	15/F	12/M	14/F	0/M	9/F
Clinical Chemistry [No. of animals]											
AST (U/L)	W 13	82	84	85	85	96*‡	92	204*‡	150*‡[13]	NA	183*‡
	W 26	129 [10]	174 [7]	123 [8]	137 [7]	142 [10]	118 [9]	NA	207 [8]	NA	NA
Total bilirubin (mg/dL)	W 13	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.5	0.9*‡	1.5*‡[13]	NA	2.1*‡
	W 26	0.6 [10]	0.4 [7]	0.6 [8]	0.4 [7]	1.0*‡[10]	0.5 [9]	NA	1.9*‡[8]	NA	NA
Urea nitrogen (mg/dL)	W 13	15	15	14	16	14	16	20*‡[7]	15 [11]	NA	19 [2]
	W 26	15 [10]	15 [7]	16 [8]	14 [7]	15 [10]	15 [9]	NA	17 [8]	NA	NA
Glucose (mg/dL)	W 13	112	104	106	115	88*‡	99	79*‡[8]	67*‡[11]	NA	68 [4]
	W 26	176 [10]	146 [7]	167 [8]	168 [7]	153 [10]	136 [9]	NA	118 [8]	NA	NA
Total cholesterol (mg/dL)	W 13	65	84	60	74	42*‡	64	47*‡	72	NA	75
	W 26	59 [10]	90 [7]	48 [8]	75 [7]	33*‡[9]	60*‡[9]	NA	50*‡[8]	NA	NA
Total protein (g/dL)	W 13	6.9	7.8	6.9	7.7	6.8	7.7	6.5 [7]	7.2*‡[11]	NA	7.1*‡[3]
	W 26	5.6 [10]	6.8 [7]	5.6 [8]	6.6 [7]	5.3 [10]	6.2 [9]	NA	5.8*‡[8]	NA	NA

Table continued on next page

2.6.7.7.3 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in SD Rats (ISN: 301_06_3510_088) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.2-4

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		5		15		30		40		
Noteworthy Findings in Treatment Period											
Number of Animals		15/M	13/F	15/M	15/F	15/M	15/F	12/M	14/F	0/M	9/F
Clinical Chemistry [No. of animals]											
Triglyceride (mg/dL)	W 13	64	59	80	47	87	45	98*†	46	NA	32
	W 26	44 [10]	33 [7]	67 [8]	30 [7]	55 [10]	21 [9]	NA	31 [7]	NA	NA
Inorganic phosphorus (mg/dL)	W 13	7.2	5.0	7.8	5.1	7.6	6.3*‡	7.4 [5]	6.6*‡[6]	NA	NA
	W 26	6.0 [9]	5.9 [7]	6.1 [8]	6.2 [7]	6.8 *‡[10]	6.1 [9]	NA	6.5 [8]	NA	NA
Total iron (µg/dL)	W 13	160	365	200	450	195	548*‡	125 [5]	265 [4]	NA	NA
	W 26	109 [10]	303 [7]	147 [8]	352 [7]	171*‡[10]	440 [9]	NA	269 [8]	NA	NA
UIBC (µg/dL)	W 13	633	457	473	334	>413	209 *†	>452 [6]	467 [4]	NA	NA
	W 26	384 [10]	296 [7]	384 [8]	250 [7]	397 [10]	205 [9]	NA	243 [8]	NA	NA
Calcium (mg/dL)	W 13	10.8	11.1	10.7	11.0	10.6	11.0	10.3*‡	10.2*†[13]	NA	9.1*†[8]
	W 26	9.6 [10]	10.3 [7]	9.6 [8]	10.0 [7]	9.3 [10]	9.8 [9]	NA	9.2*‡[8]	NA	NA
Potassium (mEq/L)	W 13	5.6	5.1	5.6	4.8	5.7 [9]	5.1	4.3*‡[5]	4.5 [2]	NA	4.3 [1]
	W 26	5.0 [9]	4.6 [7]	4.7 [8]	4.7 [7]	5.0 [9]	4.5 [9]	NA	5.0 [8]	NA	NA
Number of Animals		10/M	8/F	10/M	9/F	10/M	10/F	4/M	8/F	6/M	4/F
The Day of Termination		D181	D181	D181	D181	D181	D181	D131	D181	D61	D98
Organ Weights											
Spleen (g)		0.9334	0.5640	0.9881	0.5363	1.1068	0.6783	1.2188	1.4361*†	2.0123	1.2808
(% b.w.)		0.1512	0.1775	0.1478	0.1598	0.1673	0.2064	0.2218	0.4344*†	0.4237	0.4454
Liver (g)		15.0773	8.0568	14.7774	8.3819	14.1290	8.0569	15.8529	9.2607*‡	14.7337	7.9442
(% b.w.)		2.4227	2.5191	2.2016*‡	2.5142	2.1332*‡	2.4439	2.8428	2.7803	3.0909	2.7058
Kidney (g)		3.6280	2.1116	3.7848	2.1198	4.0130	2.2234	3.9392	2.4171*‡	3.0433	2.0426
(% b.w.)		0.5866	0.6661	0.5666	0.6382	0.6052	0.6739	0.7093	0.7238	0.6406	0.6947
Heart (g)		1.9141	1.0925	2.0239	1.0936	2.0269	1.1970	1.8856	1.4139*†	1.9890	1.3876
(% b.w.)		0.3101	0.3424	0.3025	0.3291	0.3056	0.3631	0.3395	0.4245*‡	0.4142	0.4684
Gross Pathology^a											
Spleen: Enlarged		0	0	0	0	0	0	0	2	2	1
Kidney: Discolored, pale		0	0	0	0	0	0	0	3	2	0
Cecum: Adhesion		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
: Discolored, red		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Ileum: Watery yellow contents		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Histopathology^a											
Bone marrow, Femur: Hypercellularity		0	0	0	0	10 (+/+++)	10 (+/+/+/+)	3 (+/+/+)	8 (+/+/+/+/+)	6 (+/+/+)	4 (+/+/+)

Table continued on next page

2.6.7.7.3 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in SD Rats (ISN: 301_06_3510_088) (Continued)

添付資料番号 : 4.2.3.2-4

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		5		15		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>										
Number of Animals	10/M	8/F	10/M	9/F	10/M	10/F	4/M	8/F	6/M	4/F
The Day of Termination	D181	D181	D181	D181	D181	D181	D131	D181	D61	D98
Histopathology^a										
Brain: Necrosis and gliosis	0	0	0	0	0	0	0	1 (+)	0	0
Heart: Thrombus	0	0	0	0	0	0	0	1	3	0
: Valvulopathy, aortic valve	0	0	0	0	0	0	1 (+)	5 (+)	3 (++++)	2 (+)
: Valvulopathy, AV valve	0	0	0	0	0	0	2 (++++)	5 (+++)	3 (+/++++)	2 (+)
Kidney: Basophilia, tubular epithelium	4 (+)	1 (+)	4 (+)	2 (+)	7 (+)	0	4 (+++)	2 (+/++++)	4 (+/++++)	3 (+/++++)
: Pigment, hemosiderin	1 (+)	1 (+)	0	0	2 (+)	1 (+)	1 (++)	5 (+/++++)	4 (+/++++)	2 (+/++++)
: Pigment, hemoglobin	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (+/++++)	0
: Infarct	0	0	0	0	0	0	0	2	3	1
: Thrombus	0	0	0	0	0	0	0	2	3	0
Cecum: Inflammation, eosinophilic	2 (+)	0	1 (+)	0	0	0	0	0	0	0
: Inflammation, mixed leukocyte	0	0	0	0	0	0	0	1 (++)	0	0
Colon: Inflammation, mixed leukocyte	0	0	0	0	0	0	0	1 (+)	0	0
Rectum: Inflammation, mixed leukocyte	0	0	0	0	0	0	0	1 (+)	0	0
Liver: Leukocytosis	0	0	0	0	0	0	0	1 (+)	0	0
: Vacuolation, cytoplasm, hepatocytes	4 (+/+++)	3 (+/+++)	3 (+)	4 (+/++++)	7 (+/+++)	6 (+/+++)	0	7 (+/+++)	0	3 (+)
Lung: Hemorrhage	1 (+)	0	1 (+)	0	0	0	0	0	2 (+)	1 (+)
: Thrombus, organized	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Spleen: Extramedullary hematopoiesis	0	0	0	0	0	0	0	1 (++)	5 (+/+++)	1 (+++)
: Pigment, hemosiderin	9 (+/+++)	8 (+/+++)	4 (+)	9 (+/++++)	7 (+)	10 (+/+++)	0	6 (+)	0	1 (+)
Stomach: Hemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	1 (+)	0	0
: Inflammation, mixed leukocyte	2 (+)	1 (+)	0	0	0	0	0	2 (++)	0	0
: Necrosis, mucosa	0	0	0	0	0	0	0	1 (++)	0	0
Small intestine: Inflammation, mixed leukocyte	0	0	0	0	0	0	0	1 (+)	0	0
Uterus: Inflammation, mixed leukocyte	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2 (+/+++)	NA	1 (+)
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>										
Number of Animals (Dead/ Moribund)	0/M	2/F	0/M	1/F	1/M	0/F	8/M	2/F	3/M	6/F
The Date Sacrificed	NA	D52, 80	NA	D154	D176	NA	D63-123	D69, 178	D32-51	D52-92
Gross Pathology^a										
Spleen: Enlarged	NA	0	NA	0	1	NA	0	0	0	1
Kidney: Discolored, pale	NA	0	NA	0	0	NA	2	0	1	1
: Discolored, red	NA	0	NA	0	0	NA	4	0	0	6
Aorta/ Blood vessels: Thrombosis	NA	0	NA	0	0	NA	1 [6]	0	0	0

Table continued on next page

2.6.7.7.3 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in SD Rats (ISN: 301_06_3510_088) (Continued)

添付資料番号: 4.2.3.2-4

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		5		15		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>										
Number of Animals (Dead/ Moribund)	0/M	2/F	0/M	1/F	1/M	0/F	8/M	2/F	3/M	6/F
The Date Sacrificed	NA	D52, 80	NA	D154	D176	NA	D63-123	D69, 178	D32-51	D52-92
Gross Pathology^a										
Urinary bladder: Red contents	NA	0	NA	0	0	NA	4 [6]	0	0	0
Lung: Discolored, red	NA	0	NA	0	0	NA	2 [6]	1	1	2
Liver: Discolored, red	NA	0	NA	0	0	NA	1 [6]	0	0	4
Intestinal tract: Discolored, red	NA	0	NA	0	0	NA	1 [6]	0	1	1
Thymus: Discolored, red	NA	0	NA	0	0	NA	0 [6]	0	1	0
Ovary: Discolored, red	NA	0	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	2
Uterus: Discolored, red	NA	0	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	3
Histopathology^a										
Bone, marrow: Hypercellularity	NA	0	NA	0	0	NA	8 (+)	1 (++)	2 (+/+)	6 (+)
Heart: Valvulopathy, aortic valve	NA	0	NA	0	0	NA	2 (+/+)	1 (+)	1 (+)	0
: Valvulopathy, AV valve	NA	0	NA	0	0	NA	7 (+/+/+)	0	0	1 (+/+)
: Thrombus	NA	0	NA	0	0	NA	5	0	0	2
Kidney: Basophilia, tubular epithelium	NA	0	NA	1 (+)	0	NA	7 (+/+/+)	1 (+)	1 (+/+)	2 (+/+)
: Pigment, hemosiderin	NA	0	NA	0	0	NA	6 (+/+/+/+)	1 (++)	1 (+/+)	5 (+/+)
: Pigment, hemoglobin	NA	0	NA	0	0	NA	2 (+/+)	0	0	1 (+/+)
: Infarct	NA	0	NA	0	0	NA	3	1	1	2
: Thrombus	NA	0	NA	0	0	NA	1	0	1	0
Spleen: Extramedullary hematopoiesis	NA	0	NA	0	0	NA	3 (+/+)	0	1 (+)	4 (+/+)
: Pigment, hemosiderin	NA	2 (+)	NA	0	0	NA	1 (+)	1 (+)	0	0
Liver: Vacuolation, cytoplasm, hepatocytes	NA	0	NA	0	1 (++)	NA	2 (+)	2 (+)	0	1 (+)
Lymph node: Depletion, lymphoid	NA	0	NA	0	1 (++)	NA	3 (+/+)	1 (++)	2 (+/+)	3 (+/+)
: Thrombus, mesenteric artery	NA	0	NA	0	0	NA	0	0	1	0
Salivary gland: Thrombus, central artery	NA	0	NA	0	0	NA	1	0	0	0
Blood vessel: Thrombus, artery	NA	0	NA	0	0	NA	1 (aorta)	0	0	1
Small intestine: Inflammation, mixed leukocyte	NA	0	NA	0	0	NA	1 (+/+)	0	1 (+)	0
: Necrosis, mucosa	NA	0	NA	0	0	NA	1 (+)	0	1 (+)	0
: Hemorrhage	NA	0	NA	0	0	NA	3 (+/+)	0	1 (+)	0
Large intestine: Thrombus, artery	NA	0	NA	0	0	NA	2	0	0	0
: Inflammation, neutrophilic	NA	0	NA	0	0	NA	1 (+)	0	0	0
: Inflammation, mixed leukocyte	NA	0	NA	0	0	NA	0	0	1 (++)	0
: Necrosis, mucosa	NA	0	NA	0	0	NA	2 (++)	0	1 (+/+)	0
: Hemorrhage	NA	0	NA	0	0	NA	2 (++)	0	1 (+/+)	0
Lung: Hemorrhage	NA	0	NA	0	0	NA	4 (+/+)	1 (++)	1 (+)	3 (+/+)
Thymus: Depletion, lymphoid	NA	0	NA	0	1 (++++)	NA	4 (+/+)	0	2 (+/+)	1 (++)

Table continued on next page

2.6.7.7.3 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in SD Rats (ISN: 301_06_3510_088) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.2-4

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		5		15		30		40		
<i>Noteworthy Findings in Recovery Period</i>											
Number of Animals	5/M	5/F	5/M	5/F	4/M	5/F	3/M ¹	5/F	6/M ^m	5/F ⁿ	
Clinical Observations	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Body Weights (g) [No. of animals]											
RD 7	673.8	334.4	687.0	344.8	635.6	336.8	705.0 (RD 8)	353.5	479.5 (RD 8)[5]	335.3 (RD 6)	
RD 28	681.9	362.9	698.9	366.9	642.7	357.3	730.1 (RD 36)	371.8	530.4 (RD 36)	340.0 (RD 41)	
Food Consumption	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Urinalysis	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Number of Animals	4/M	3/F	5/M	4/F	4/M	4/F	3/M ¹	4/F	6/M ^m	4/F ⁿ	
Hematology [No. of animals]											
Reticulocytes (10 ⁶ /μL)	0.174	0.122	0.186 [3]	0.125	0.083*‡[3]	0.095 [1]	0.333	0.049	0.318	0.275	
Number of Animals	5/M	5/F	5/M	5/F	4/M	5/F	3/M ¹	5/F	6/M ^m	5/F ⁿ	
Clinical Chemistry [No. of animals]	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Organ Weights											
Spleen (g)	1.0476	0.6082	1.0595	0.6344	1.0514	0.6156	1.6592	1.0228	1.3074	0.9900	
(% b.w.)	0.1575	0.1803	0.1563	0.1818	0.1671	0.1817	0.2318	0.2869*‡	0.2496	0.3011	
Heart (g)	1.8690	1.1736	1.9259	1.2186	1.8513	1.1845	2.2804	1.4758*‡	1.8252	1.1935	
(% b.w.)	0.2802	0.3496	0.2825	0.3523	0.2955	0.3492	0.3207	0.4220*‡	0.3482	0.3700	
Gross Pathology ^a							(RD43)		(RD43)	(RD43)	
Heart: Enlarged	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	
Kidney: Scarring	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	
: Atrophy	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
: Discolored, pale, pole	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
Uterus: Dilatation	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
Histopathology ^a											
Bone marrow: Hypercellularity	0	0	0	0	0	0	1 (+)	0	0	0	
Heart:											
: Thrombus	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	
: Valvulopathy, aortic valve	0	0	0	0	0	1 (+)	1 (+)	0	0	0	
: Valvulopathy, AV valve	0	0	1 (+)	0	1 (+)	1 (+)	3 (+/++)	0	2 (+/+++)	2 (+/+++)	
Kidney: Basophilia, tubular epithelium	3 (+)	0	1 (+)	1 (+)	2 (+)	0	2 (++)	2 (++)	5 (+/++)	0	

Table continued on next page

2.6.7.7.3 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in SD Rats (ISN: 301_06_3510_088) (Continued)

添付資料番号 : 4.2.3.2-4

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		5		15		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Recovery Period</i>										
Number of Animals	5/M	5/F	5/M	5/F	4/M	5/F	3/M ^l	5/F	6/M ^m	5/F ⁿ
Histopathology^a										
Kidney: Infarct	0	0	0	0	0	0	2	2	1	0
: Pigment, hemosiderin	0	1 (+)	0	1 (+)	2 (+)	0	3 (+/+++)	3 (+/+++)	3 (+/+++)	5 (+/+++)
: Thrombus	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Cecum: Hemorrhage	0	0	0	0	0	0	1 (+++)	0	0	0
: Inflammation, mixed leukocyte	0	0	0	0	0	0	1 (+++)	0	0	0
: Necrosis, mucosa	0	0	0	0	0	0	1 (+++)	0	0	0
Spleen: Pigment, hemosiderin	0	3 (+)	1 (+)	3 (+/+++)	3 (+/+++)	4 (+/+++)	2 (+/+++)	4 (+/+++)	6 (+/+++)	4 (+/+++)
: Extramedullary hematopoiesis	0	0	0	0	0	0	1 (+)	0	0	0

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

TIW: three times weekly; D: day of dosing; W: week of dosing; M: male; F: female; RD: day of recovery; RW: week of recovery; NC: not calculated; NA: not applicable; ---: no noteworthy findings; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; UIBC: unsaturated iron binding capacity; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; AV: atrioventricular; b.w.: body weight; +: minimal, ++: mild, +++: moderate, ++++: marked.

Significant difference from the control group: *: P<0.05, †: Dunn's test, ‡: Dunnett's test.

§: Calculation of toxicokinetic parameters was based on 1 to 3 animals/sex/group/time point.

a: The number of animals with findings.

b: 2 animals died on days 147 and 157, respectively.

c: 3 animals died on days 52, 80 and 165, respectively. Death on day 52 was due to procedures.

d: 1 animal was sacrificed in extremis on day 163.

e: 1 animal was sacrificed in extremis on day 154.

f: 1 animal died on day 176.

g: 1 animal died on day 180.

h: 5 animals died on days 109, 113 and 123. 5 animals were sacrificed in extremis on days 52, 63, 66, 76 and 86.

i: 1 animal died on day 178. 1 animal was sacrificed in extremis on day 69.

j: 1 animal died on day 32. 4 animals were sacrificed in extremis on days 46, 51 and 58.

k: 7 animals died on days 52, 78, 82, 89, 90, 92 and 97. 3 animals were sacrificed in extremis on days 50, 57 and 75. Death on day 52 was due to procedures.

l: After 131 days of treatment followed by 43 days of recovery.

m: After 61 days of treatment followed by 43 days of recovery.

n: After 98 days of treatment followed by 43 days of recovery.

2.6.7.7.4 F344 ラットを用いた間歇投与による 26 週間投与毒性試験

2.6.7.7.4 Repeat-Dose Toxicity

Report Title: FG-4592: 26-Week Three Times Weekly Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study
with FG-4592 in Fischer Rats with a 6-Week Recovery

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain: F344/DuCrI rats		Duration of Dosing: 26 weeks						Study No. 7574-157 (ISN: 352007004)			
Initial Age: 59 to 65 days		Duration of Postdose: 6 weeks						CTD Number: 4.2.3.2-5			
Date of First Dose: ██████████		Method of Administration: Gavage, three times/week intermittently						GLP Compliance: Yes			
Vehicle/Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension											
Special Features: Early termination; on day 121 in males of 40 mg/kg group											
No Observed Adverse-Effect Level: 15 mg/kg for males and females											
Toxicokinetics											
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		5		15		30		40	
Number of Animals¶		3/M	3/F	9/M	9/F	9/M	9/F	9/M	9/F	9/M	9/F
t _{max} (h)	Day 1	NC	NC	1.00	1.00	0.500	0.500	1.00	0.500	1.00	0.500
	Day 89	NC	NC	0.500	0.500	0.500	1.00	1.00	0.500	1.00	1.00
	Day 178	NC	NC	1.00	0.500	1.00	0.500	1.00	0.500	NA	1.00
C _{max} (µg/mL)	Day 1	NC	NC	11.9	12.6	55.8	48.2	110	101	142	129
	Day 89	NC	NC	20.5	15.2	62.1	56.2	113	101	149	87.0
	Day 178	NC	NC	19.2	22.3	68.1	78.1	106	152	NA	167
AUC ₀₋₄₈ (µg·h/mL)	Day 1	NC	NC	53.8	53.2	218	211	506	532	703	752
	Day 89	NC	NC	68.2	62.2	261	253	637	582	922	1040
	Day 178	NC	NC	77.8	84.3	307	337	667	862	NA	903
Noteworthy Findings in Treatment Period											
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		5		15		30		40	
Number of Animals		15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F
Died or Sacrificed Moribund		0	0	1 ^a	0	0	0	2 ^b	0	6 ^c	4 ^d
Clinical Observations§											
Clonic convulsions		0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Head tilt		0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Hunched posture		0	0	1	0	0	0	6	0	4	4
Limited use of limbs		0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
Thin body condition		0	1	0	0	0	0	3	0	6	5
Hypoactivity		0	0	0	0	0	0	1	0	1	3
Recumbency		0	0	0	0	0	0	0	0	1	1

Table continued on next page

2.6.7.7.4 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in F344 Rats (ISN: 352007004) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		5		15		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>										
Number of Animals	15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F
Clinical Observations§										
Genital, red in color	0	0	0	0	0	0	1	0	5	2
Few feces	0	0	0	0	0	0	2	0	1	3
Cold to touch	0	0	1	0	0	0	2	0	0	1
Red haircoat	0	0	1	1	0	1	2	0	1	2
Rough haircoat	0	1	1	0	0	1	2	0	5	3
Irregular or labored respiration	0	0	1	0	1	0	1	0	2	0
Audible respirations	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
General debilitation	0	0	1	0	0	0	2	0	6	3
Discolored feces, red in color	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Yellow haircoat	0	3	0	0	0	1	1	0	0	2
Body Weights (g) [No. of animals]										
Day 1	180	124	180	125	180	124	180	126	179	124
Day 29	232	149	237 [14]	150	238	151	238	157*†	234	151
Day 57	267	162	275 [14]	163	274	165	274	174*†	271	172*†[14]
Day 85	291	172	300 [14]	173	297	175	297	184*†	289 [13]	181*†[14]
Day 113	305	177	314 [14]	177	316	183	312	194*†	296 [12]	188*†[14]
Day 134	312	179	322 [14]	180	323	184	315	197*†	NA	192*†[14]
Day 162	323	183	332 [14]	183	336	190	312 [14]	203*†	NA	196*†[12]
Day 182	337	188	347 [14]	187	350	196*†	330 [13]	209*†	NA	202*†[11]

Table continued on next page

2.6.7.7.4 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in F344 Rats (ISN: 352007004) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		5		15		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>										
Number of Animals	15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F
Food Consumption (g/animal/period)										
[No. of animals]										
Day 1-7	111	89	118	90	118	91	120	89	116	88
Day 22-28	117	85	118 [14]	87	120	87	121	88	113	83
Day 43-49	121	86	129 [14]	87	126	85	123	90	121	89 [14]
Day 64-70	132	99	138 [14]	98	136	100	133	98	130 [13]	96 [14]
Day 85-91	114	77	118 [14]	76	116	77	114	84*†	107 [13]	83*†[14]
Day 106-112	127	90	129 [14]	88	135	96*†	130	99*†	129 [12]	99*†[14]
Day 127-133	131	95	135 [14]	93	133	94	128	94	NA	94 [14]
Day 148-154	125	87	129 [14]	85	128	88	112*†‡[14]	92	NA	92*†[13]
Day 169-175	131	95	137 [14]	92	135	96	131 [13]	99	NA	96 [12]
Day 176-181	118	90	123 [14]	86	126*†	87	120 [13]	92	NA	91 [11]
Ophthalmology										
	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology [No. of animals]										
Red blood cells (10 ⁶ /μL)										
Day 88	9.67	8.95	9.58 [14]	8.92	10.26*†	9.42*†‡	12.29*†	11.89*†‡[14]	11.80 [13]	12.26*†‡[14]
Day 183	9.62	8.89	9.73 [14]	8.92	10.89*†‡	9.61*†‡	11.58*†‡[13]	12.38*†‡[14]	NA	11.39*†‡[9]
Hemoglobin (g/dL)										
Day 88	17.1	16.9	17.2 [14]	16.9	19.6*†	18.7*†‡	25.4*†	25.5*†‡ [14]	25.0 [13]	26.8*†‡[14]
Day 183	16.7	16.7	17.2*†‡[14]	16.8	21.0*†‡	19.2*†‡	24.3*†‡[13]	27.0*†‡[14]	NA	25.7*†‡[9]
Hematocrit (%)										
Day 88	47.6	45.9	47.4[14]	46.1	54.7*†	51.1*†‡	71.4*†	70.2*†‡[14]	71.7 [13]	75.3*†‡[14]
Day 183	49.0	48.0	50.2*†‡[14]	48.6	61.4*†‡	55.5*†‡	72.1*†‡[13]	78.2*†‡[14]	NA	75.6*†‡[9]
Mean corpuscular volume (fL)										
Day 88	49.2	51.3	49.4 [14]	51.7*†‡	53.3*†‡	54.2*†‡	58.2*†‡	59.1*†‡[14]	60.9 [13]	61.4*†‡[14]
Day 183	50.9	54.0	51.6*†‡ [14]	54.5*†‡	56.4*†‡	57.7*†‡	62.4*†‡[13]	63.1*†‡[14]	NA	66.5*†‡[9]
Mean corpuscular hemoglobin (pg)										
Day 88	17.7	18.8	17.9*†[14]	18.9	19.1*†	19.8*†‡	20.7*†	21.5*†‡[14]	21.2 [13]	21.9*†‡[14]
Day 183	17.4	18.7	17.7*†[14]	18.9	19.3*†	19.9*†‡	21.0*†[13]	21.8*†‡[14]	NA	22.5*†‡[9]

Table continued on next page

2.6.7.7.4 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in F344 Rats (ISN: 352007004) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.2-5

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		5		15		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>											
Number of Animals		15/M	15/F	14/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F
Hematology [No. of animals]											
Reticulocytes (10 ³ /μL)	Day 88	213.5	148.7	206.5	145.0	333.4*†‡	222.0*†‡	584.5*†‡	515.7*†‡[14]	760.0 [13]	713.5*†‡[14]
	Day 183	175.4	133.9	178.8	140.6	361.3*†‡	259.9*†‡	837.1*†‡[13]	538.4*†‡[14]	NA	857.2*†‡[9]
Platelet counts (10 ³ /μL)	Day 88	780	832	745	787	714*†	749*†	379*†	419*†[14]	262 [13]	302*†[14]
	Day 183	737	757	694	751	595*†‡	779	257*†‡[13]	244*†[14]	NA	188*†[9]
White blood cells (10 ³ /μL)	Day 88	5.67	4.44	5.51	4.36	5.74	4.36	6.13	5.47*†‡[14]	6.64 [13]	6.50 *†‡[14]
	Day 183	4.66	3.63	4.97	3.49	4.61	3.80	4.70 [13]	3.56 [14]	NA	3.65 [9]
Neutrophils (10 ³ /μL)	Day 88	1.26	0.82	1.37	0.77	1.32	0.93	1.52	1.26 *†‡[14]	2.12 [13]	1.94*†‡[14]
	Day 183	1.36	0.80	1.60	0.82	1.28	0.94	1.57 [13]	0.75 [14]	NA	0.98 [9]
Eosinophils (10 ³ /μL)	Day 88	0.08	0.07	0.07	0.06	0.06*†	0.05*†	0.05*†	0.05*†[14]	0.04 [13]	0.04*†[14]
	Day 183	0.09	0.06	0.09	0.05	0.07	0.05	0.05*†‡[13]	0.03*†‡[14]	NA	0.04*†‡[9]
Basophils (10 ³ /μL)	Day 88	0.02	0.01	0.02	0.01	0.04*†‡	0.02	0.22*†‡	0.17*†‡[14]	0.22 [13]	0.29*†‡[14]
	Day 183	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02 [13]	0.03*†[14]	NA	0.02 [9]
Prothrombin time (sec.)	Day 183	17.6	15.8	18.2 [13]	16.1	21.5*†‡	17.0*†‡	45.0*†‡[12]	52.2*†‡	NA	40.7*†‡[10]
APTT (sec.)	Day 183	21.0	20.2	21.5 [13]	20.3	23.5*†‡	20.6	40.1*†‡[13]	40.7*†‡	NA	35.8*†‡[10]
Clinical Chemistry [No. of animals]											
Glucose (mg/dL)	Day 88	94	88	95	87	83*†‡	84	61*†‡	54*†‡	53 [10]	48*†‡[8]
	Day 183	89	84	83	85	77*†‡	76	58*†‡[10]	45*†‡	NA	46*†‡[10]
Urea nitrogen (mg/dL)	Day 88	17	17	16*†	16	15*†	16	16	16	20 [8]	21e[5]
	Day 183	17	18	16*†‡	17	16*†‡	18	22*†‡[11]	19*†‡[14]	NA	23*†‡[8]
Creatinine (mg/dL)	Day 88	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8*†‡[14]	0.8*†‡[14]	0.8 [5]	0.8e[3]
	Day 183	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6*†‡	0.6	0.8*†‡[10]	0.8*†‡[12]	NA	0.8*†‡[8]

Table continued on next page

2.6.7.7.4 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in F344 Rats (ISN: 352007004) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		5		15		30		40		
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>											
Number of Animals	15/M	15/F	14/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F	
Clinical Chemistry [No. of animals]											
Total protein (g/dL)	Day 88	6.8	6.6	6.7	6.6	6.7	6.6	7.3*†[14]	7.3*†[14]	6.9 [6]	7.4e[5]
	Day 183	6.8	6.9	6.7	6.9	6.8	6.8	7.0 [10]	7.7*†[9]	NA	7.2 [6]
Albumin (g/dL)	Day 88	4.7	4.6	4.6	4.7	4.7	4.7	5.0*†[14]	5.1*†[14]	4.5 [6]	5.0e[5]
	Day 183	4.5	4.6	4.5	4.7	4.6	4.7	4.4 [8]	5.0e[5]	NA	4.6 [6]
Globulin (g/dL)	Day 88	2.1	2.0	2.1	1.9	2.0	1.9	2.2 [14]	2.2*†[14]	2.4 [6]	2.4e [5]
	Day 183	2.3	2.2	2.2	2.2	2.2	2.1	2.4 [8]	2.6e[5]	NA	2.6*†[6]
Total cholesterol (mg/dL)	Day 88	68	86	58*†	83	43*†	77*†‡	41e[5]	63*†‡[8]	42 [3]	53e[1]
	Day 183	67	90	58*†	92	48*†	89	54e[4]	68e[1]	NA	62e[4]
Total bilirubin (mg/dL)	Day 88	0.1e[5]	0.1	0.1e[5]	0.1	0.1 [10]	0.1	0.1 [14]	0.1 [14]	0.2 [6]	0.2e[5]
	Day 183	0.1 [11]	0.1	0.1 [10]	0.1	0.1	0.1	0.2*†‡[9]	0.2e[5]	NA	0.2*†‡[6]
AST (U/L)	Day 88	99	100	99	95	107*†‡	101	122*†‡[11]	131*†‡[13]	242 [5]	220e[3]
	Day 183	96	101	94	91	101	99	256*†‡[8]	166e[4]	NA	255e[5]
ALT (U/L)	Day 88	47	47	46	42	47	40	60*†[14]	48 [14]	62 [5]	58e[3]
	Day 183	53	60	49	52	52	50	67 [8]	55e[5]	NA	70e[5]
Alkaline phosphatase (U/L)	Day 88	91	67	93	68	98	77*†	120e[2]	100e[4]	95 [2]	110e[1]
	Day 183	77	61	77	57	81	63	89e[4]	104e[1]	NA	104e [3]
Inorganic phosphorus (mg/dL)	Day 88	8.5	7.6	8.6	7.1	8.9	7.5	9.0e[4]	7.5 [8]	9.2 [3]	8.1e[1]
	Day 183	7.4	6.2	7.5	6.6	7.5	6.8	8.6e[4]	6.3e[2]	NA	7.9e[3]
Iron (µg/dL)	Day 88	161	340	208*†‡	424*†	249	405	NA	NA	106 [1]	284e[1]
	Day 183	183	397	183	421	187 [12]	373	94e[2]	NA	NA	NA
TIBC (µg/dL)	Day 88	536	515	568*†	542*†	608*†	578*†	NA	NA	816 [1]	660e[1]
	Day 183	620	580	632	606*†	655 [12]	601	517e[2]	NA	NA	NA
UIBC (µg/dL)	Day 88	375	175	360	118	359	172	NA	NA	710 [1]	376e[1]
	Day 183	437	183	449	185	467 [12]	228	423e[2]	NA	NA	NA

Table continued on next page

2.6.7.7.4 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in F344 Rats (ISN: 352007004) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		5		15		30		40		
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>												
Number of Animals		15/M	15/F	14/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F	15/M	15/F	
Urinalysis [No. of animals]												
Occult Blood	Day 88	[14]					[14]			[13]	[14]	
	Negative	11	14	13	12	15	14	15	14	8	11	
	Trace	2	0	0	3	0	0	0	0	0	1	
	1+	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	
	2+	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	
	3+	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	
	Day 183				[14]			[13]		[0]	[11]	
	Negative	13	12	10	9	10	13	5	10	NA	2	
	Trace	2	1	4	1	3	1	0	2	NA	2	
	1+	0	1	0	2	2	0	3	1	NA	0	
	2+	0	1	0	2	0	1	1	2	NA	4	
	3+	0	0	0	0	0	0	4	0	NA	3	
	Urine bilirubin	Day 88	[14]					[14]			[13]	[14]
		Negative	14	15	14	15	15	14	15	15	10	14
1+		0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	
3+		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
Day 183					[14]			[13]		[0]	[11]	
Negative		14	15	14	14	15	14	10	12	NA	4	
1+		1	0	0	0	0	1	3	3	NA	6	
Urobilinogen (Eu/dL)	3+	0	0	0	0	0	0	0	0	NA	1	
	Day 88	[14]					[14]			[13]	[14]	
	0.2	14	15	14	15	15	14	14	14	10	9	
	1.0	0	0	0	0	0	0	1	1	3	5	
	Day 183				[14]			[13]		[0]	[11]	
	0.2	15	15	14	14	15	15	10	12	NA	5	
1.0	0	0	0	0	0	0	3	3	NA	6		
Number of Animals		10/M	10/F	9/M	10/F	10/M	10/F	8/M	10/F	6/M	7/F	
Gross Pathology-Dosing Phase§										(Day 118)		
Spleen	Large	0	0	0	0	0	0	4	1	0	4	

Table continued on next page

2.6.7.7.4 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in F344 Rats (ISN: 352007004) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		5		15		30		40		
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>											
Number of Animals	10/M	10/F	9/M	10/F	10/M	10/F	8/M	10/F	6/M	7/F	
Gross Pathology-Dosing Phase§									(Day 118)		
Kidney	Discolored	0	0	0	0	0	4	0	2	4	
Urinary bladder	Contains fluid	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
Stomach	Discolored	0	0	0	0	0	5	4	2	4	
Cecum	Thickened	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
Testis	Mottled	0	NA	0	NA	0	1	NA	0	NA	
	Small	0	NA	0	NA	0	1	NA	0	NA	
	Soft	0	NA	0	NA	0	2	NA	0	NA	
Number of Animals	0/M	0/F	1/M	0/F	0/M	0/F	2/M	0/F	6/M	4/F	
Gross Pathology-Unscheduled Sacrifices and Deaths§											
Kidney	Discolored	NA	NA	0	NA	NA	0	NA	4	0	
Stomach	Discolored	NA	NA	0	NA	NA	1	NA	2	2	
Urinary bladder	Contains fluid	NA	NA	0	NA	NA	0	NA	1	0	
Ileum	Adhesion	NA	NA	0	NA	NA	1	NA	0	0	
	Discolored	NA	NA	0	NA	NA	1	NA	1	1	
Cecum	Adhesion	NA	NA	0	NA	NA	1	NA	0	0	
	Discolored	NA	NA	0	NA	NA	0	NA	3	1	
	Thickened	NA	NA	0	NA	NA	1	NA	2	0	
Number of Animals	10/M	10/F	9/M	10/F	10/M	10/F	8/M	10/F	0/M	7/F	
Organ Weights											
Heart	(g)	0.9793	0.7089	1.0163	0.6971	1.0902*†	0.6653*†‡	1.1640*†	0.8298*†‡	NA	0.8546*†‡
	(% b.w.)	0.3016	0.4030	0.3171	0.4037	0.3247*†‡	0.3728	0.3717*†‡	0.4337	NA	0.4574*†‡
Kidney	(g)	1.9990	1.2636	2.0243	1.2416	2.0905	1.2393	2.3764*†	1.4247*†	NA	1.5262*†
	(% b.w.)	0.6158	0.7187	0.6309*†‡	0.7186	0.6225	0.6940	0.7607*†‡	0.7447	NA	0.8146*†
Spleen	(g)	0.6673	0.4425	0.6443	0.4357	0.7814*†‡	0.4800	1.4441*†‡	0.8885*†‡	NA	1.2233*†‡
	(% b.w.)	0.2055	0.2517	0.2010	0.2521	0.2326*†‡	0.2688	0.4615*†‡	0.4636*†‡	NA	0.6533*†‡
Epididymis	(g)	1.0836	NA	1.0554	NA	1.0645	NA	0.9223*†‡	NA	NA	NA
	(% b.w.)	0.3349	NA	0.3289	NA	0.3175	NA	0.2943*†	NA	NA	NA
Prostate	(g)	0.6656	NA	0.7997*†	NA	0.8135*†	NA	0.6173	NA	NA	NA
	(% b.w.)	0.2057	NA	0.2495*†	NA	0.2427	NA	0.1972	NA	NA	NA

Table continued on next page

2.6.7.7.4 Repeat-Dose Toxicity 26W TIW in F344 Rats (ISN: 352007004) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		5		15		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>										
Number of Animals	10/M	10/F	9/M	10/F	10/M	10/F	8/M	10/F	0/M	7/F
Organ Weights										
Testis (g)	3.1790	NA	3.1796	NA	3.1709	NA	2.6528*†‡	NA	NA	NA
(% b.w.)	0.9824	NA	0.9925	NA	0.9453	NA	0.8464	NA	NA	NA
Number of Animals	10/M	10/F	10/M	10/F	10/M	10/F	10/M	10/F	12/M	11/F
Histopathology[§]										
Marrow, Femur, Hyperplasia, Erythroid	0	0	8 (+/++)	8 (+)	7 (+)	9 (+/++)	10 (+/+++)	10 (+++)	11 (+/+++)	11 (+++)
Congestion/Hemorrhage	0	0	1 (+)	0	2 (+)	0	10 (+/+++)	10 (+/+++)	12 (+/+++)	11 (+/+++)
Necrosis	0	0	0	0	0	0	1 (++)	0	3 (+/+++)	0
Fibrosis	0	0	0	0	0	0	1 (++)	0	2 (+/+++)	0
Marrow, Sternum, Hyperplasia, Erythroid	0	0	7 (+/++)	7 (+)	3 (+)	8 (+/++)	10 (+/+++)	10 (+/+++)	12 (+/+++)	11 (+/+++)
Congestion/Hemorrhage	0	0	0	0	2 (+)	0	10 (+/+++)	10 (+/+++)	10 (+/+++)	11 (+/+++)
Spleen, Hematopoiesis, Extramedullary, Increased	0	0	0	0	0	0	6 (+/+++)	2 (+)	4 (+/+++)	8 (+/+++)
Heart, Valvulopathy	0	0	0	0	0	0	9 (+/+++)	3 (+/+++)	12 (+/+++)	10 (+/+++)
Thrombus, A-V/Aortic Valves	0	0	0	0	0	0	8 (+/+++)	0	6 (+/+++)	7 (+/+++)
Kidney, Necrosis	0	0	0	0	0	0	3 (+/+++)	0	4 (+/+++)	6 (+/+++)
Nephropathy, Chronic Progressive	0	0	1 (+)	0	1 (+)	0	0	1 (+)	7 (+/+++)	6 (+/+++)
Pigment	0	0	0	0	0	0	5 (+/+++)	0	6 (+/+++)	8 (+/+++)
Congestion	0	0	0	0	1 (+)	0	10 (+/+++)	6 (+/+++)	10 (+/+++)	9 (+/+++)
Thrombus	0	0	0	0	0	0	0	0	2 (+/+++)	1 (++++)
Brain, Necrosis, Neuronal, Ammon's Horn, Hippocampus	0	0	0	0	0	0	2 (+/+++)	0	1 (+++)	1 (+++)
Stomach, Glandular, Necrosis	0	0	0	0	0	0	2 (+/+++)	2 (+)	1 (+)	1 (++)
Glandular, Infiltrate, Neutrophils	0	0	0	0	0	0	2 (+)	0	0	1 (+)
Ileum, Necrosis	0	0	0	0	0	0	1 (+++)	0	1 (+++)	1 (+++)
Cecum, Thrombosis	0	0	0	0	0	0	0	0	4 (+/+++)	1 (++)
Necrosis	0	0	0	0	0	0	1 (++++)	0	4 (+/+++)	2 (+/+++)
Testis, Infarct with mineralization	0	NA	0	NA	0	NA	1 (+++)	NA	0	NA
Atrophy/Degeneration, Bilateral	0	NA	0	NA	0	NA	1 (++++)	NA	0	NA

Table continued on next page

2.6.7.7.4 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in F344 Rats (ISN: 352007004) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.2-5

<i>Noteworthy Findings in Recovery Period</i>											
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		5		15		30		40	
Number of Animals		5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	3/M ^f	4/F
Clinical Observations		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Body Weights (g)											
	R1	308	173	338	176	320	186*†	301	199*†	294	186
	R22	334	188	364	189	344	200	332	212*†	311	199
	R42	346	191	375	192	356	205	344	210*†	NA	199
Food Consumption (g/animal/period)											
	R1-7	129	94	140	93	134	98	153	105	141	106
	R22-28	137	96	141	96	138	101	140	102	137	102
	R36-41	111	78	119	79	114	85	117	84	NA	82
Ophthalmology		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology											
Red blood cells (10 ⁶ /μL)	Day 43	9.87	8.80	9.56	8.85	9.01*†	8.72	8.27*†	7.64*†	NA	7.98*†
	Day 47	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	8.76	NA
Hemoglobin (g/dL)	Day 43	16.0	15.5	15.7	15.6	15.4	15.4	14.8	14.4*†	NA	15.1
	Day 47	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	16.2	NA
Hematocrit (%)	Day 43	49.9	47.0	48.3	47.4	47.7	46.7	44.5*†	43.0*†	NA	44.3*†
	Day 47	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	47.3	NA
Mean corpuscular volume (fL)	Day 43	50.5	53.4	50.5	53.6	52.9*†	53.5	53.8*†	56.3*†‡	NA	55.5*†‡
	Day 47	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	54.0	NA
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	Day 43	16.2	17.6	16.4	17.7	17.1*†	17.7	17.9*†	18.8*†	NA	18.9*†
	Day 47	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	18.5	NA
Reticulocytes (10 ³ /μL)	Day 43	186.8	150.7	170.6	142.5	219.4*†‡	162.7	290.4*†‡	344.0*†‡	NA	299.6*†‡
	Day 47	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	346.5	NA
Clinical Chemistry		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Urinalysis		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Organ Weights											
Kidney	(g)	1.9914	1.1937	2.0914	1.2865	1.9989	1.2827	1.9569	1.3928*†	1.9286	1.3099*†
	(% b.w.)	0.6101	0.6672	0.5900	0.7185*†	0.5984	0.6752	0.6042	0.7172*†	0.6480	0.7088
Spleen	(g)	0.7056	0.3997	0.7491	0.4261	0.8034	0.4919*†	1.2020*†	0.8316*†	1.0807	0.7740*†
	(% b.w.)	0.2158	0.2231	0.2106	0.2380	0.2394	0.2590	0.3701*†	0.4288*†	0.3638	0.4187*†

Table continued on next page

2.6.7.7.4 Repeat-Dose Toxicity

26W TIW in F344 Rats (ISN: 352007004) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		5		15		30		40			
<i>Noteworthy Findings in Recovery Period</i>												
Number of Animals	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	3/M ^f	4/F		
Gross Pathology [§]												
Kidney	Discolored	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	2
Histopathology [§]												
Femur marrow	Hyperplasia	0	0	1 (+)	5 (+)	4 (+/+++)	5 (+/++)	3 (+)	5 (+/++)	1 (+)	4 (+)	
Sternum marrow	Hyperplasia	0	0	1 (+)	5 (+)	4 (+/+++)	5 (+/++)	5 (+/++)	5 (+/++)	1 (+)	4 (+/++)	
Spleen	Hematopoiesis	0	0	0	0	0	0	2 (+)	4 (+/++)	3 (+)	4 (+/++)	
Heart	Valvulopathy	0	0	0	0	0	0	3 (+/++)	1 (+)	1 (+)	1 (+)	
Kidney	Chronic infarct	0	0	0	0	0	0	3 (+/+)	0	2 (+/+)	2 (+/+)	
	Pigment	0	0	0	0	0	0	3 (+/+)	0	3 (+/+)	2 (+/+)	

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

TIW: three times weekly; F: female, M: male, ---: no noteworthy findings; NA: not applicable; NC: not calculated; TIBC: total iron binding capacity; UIBC: unsaturated iron binding capacity; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase. R: recovery day; A-V: left atrioventricular; b.w.: body weight; +: minimal, ++: slight, +++: moderate, ++++: marked, +++++: severe.

a: Intubation error on Day 9.

b: Moribund on Day 146 or 162.

c: Moribund on Day 70, 99, 113 or 119.

d: Died on Day 33, and moribund on Day 142, 156 or 176.

e: Group excluded from analysis.

f: After 17 weeks of treatment followed by approximately 7 weeks (47 days) of recovery.

g: Including unscheduled termination

*: $P \leq 0.05$ (Statistically significant difference from the control group).

†: ANOVA (and Dunnett's Test, if applicable).

‡: Rank-transformed data.

§: The number of animals with findings.

¶: Calculation of toxicokinetic parameters was based on 3 animals/sex/group/time point.

2.6.7.7.5 カニクイザルを用いた連日投与による7日間投与毒性試験

2.6.7.7.5 Repeated-Dose Toxicity

Report Title: FG-4592: A Single Dose/Bioavailability Study and a 7-Day Nasogastric Repeat
Dose Range-Finding Study in Cynomolgus Monkeys

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain: Cynomolgus monkeys		Duration of Dosing: 7 days				Study No. SNBL.069.02 (ISN: 301_05_3510_020)				
Initial Age: 3 to 6 years		Duration of Postdose: none				CTD Number: 4.2.3.2-6 (参)				
Date of First Dose: ██████████		Method of Administration: Gavage (nasogastric intubation), once daily				GLP Compliance: No				
Vehicle/Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension										
Special Features: There were two phases in this study. Phase 2 was designed to orally dose once daily for seven consecutive days.										
No Observed Adverse-Effect Level: 60 mg/kg, daily										
Toxicokinetics										
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		6		20		60		
Number of Animals		1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	
Concentration (µg/mL)	Day 1 pre	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	
	4 h	<0.1	<0.1	3.5	0.8	9.6	14.3	279.3	224.9	
	8 h	<0.1	<0.1	0.7	0.2	4.8	2.2	69.0	94.6	
	Day 3 pre	<0.1	<0.1	0.2	0.1	0.7	0.3	8.7	24.3	
	4 h	<0.1	<0.1	2.6	1.0	42.4	34.2	161.0	204.6	
	8 h	<0.1	<0.1	0.5	0.1	10.4	3.9	62.9	132.0	
	Day 7 pre	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	3.6	3.3	16.5	76.1	
	4 h	<0.1	<0.1	1.7	1.0	27.3	29.7	256.7	301.6	
	8 h	<0.1	<0.1	0.9	0.3	10.5	4.8	138.8	151.7	
	Noteworthy Findings in Treatment Period									
	Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		6		20		60	
	Number of Animals		1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F
	Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0
	Body Weights (kg)	Day 6	5.038	3.183	5.777	2.624	4.979	3.353	5.070	2.844
Day 8 ^P		4.93	3.14	5.69	2.56	4.99	3.24	4.97	2.78	
Food Consumption (number of biscuits/animal per day)	Day 1	20	18	20	20	19	20	19	12	
	Day 2	14	6	20	20	18	20	20	18	
	Day 3	20	17	20	20	19	20	20	20	
	Day 4	20	13	20	18	19	17	13	8	
	Day 5	20	15	20	19	18	18	10	11	
	Day 6	10	2	10	10	0	8	0	0	
	Day 7	20	13	18	20	20	12	0	2	
<i>Table continued on next page</i>										

2.6.7.7.5 Repeated-Dose Toxicity

7D in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_05_3510_020) (Continued)

添付資料番号 : 4.2.3.2-6 (参)

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		6		20		60	
Number of Animals		1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F	1/M	1/F
Clinical Observations									
Emesis		---	---	---	---	---	---	Day 20	---
Hunched posture		---	---	---	---	---	---	---	Days 21 and 22
Hematology									
Hemoglobin (g/dL)	Day 1	12.1	12.0	13.6	12.0	13.9	11.5	13.1	11.8
	Day 8 ^p	12.2	12.3	14.2	12.0	14.9	13.1	15.1	12.5
Hematocrit (%)	Day 1	37.2	37.9	46.2	39.1	43.1	38.1	41.6	40.6
	Day 8 ^p	38.3	40.2	48.0	38.7	48.2	43.5	50.5	43.5
Mean corpuscular volume (fL)	Day 1	73.4	68.4	79.5	78.3	79.8	80.5	77.5	80.6
	Day 8 ^p	75.4	70.6	80.7	78.9	83.5	84.4	83.5	85.6
Red cell distribution width (%)	Day 1	15	14	13	13	13	13	14	13
	Day 8 ^p	15	13	13	13	15	16	20	21
Fibrinogen (mg/dL)	Day 1	178	199	258	159	212	223	286	241
	Day 8 ^p	205	194	268	170	206	244	397	343
Clinical Chemistry									
Total iron (µg/dL)	Day 1	124	75	146	112	206	141	154	205
	Day 8 ^p	135	91	91	141	339	118	96	100
Erythropoietin (mIU/mL) ^a	Day 1 pre	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25	<25
	8 h	<25	<25	38.2	<25	98.2	548	1346	2313
	Day 3 pre	<25	<25	<25	<25	<25	36.2	432	3004
	8 h	<25	<25	50.8	<25	246	647	2284	6629
	Day 7 pre	<25	<25	<25	<25	35.5	55.8	4086	5734
	8	<25	<25	25.5	<25	171	763	3877	6558
Gross Pathology		---	---	---	---	---	---	---	---
Organ Weights		---	---	---	---	---	---	---	---
Histopathology		---	---	---	---	---	---	---	---

F: female; M: male; p: prior to necropsy; ---: no noteworthy findings; h: hour.

a: Lower limit of quantitation used in this assay is 2.5 mIU/mL on standard curve and in undiluted samples; 25 mIU/mL in samples diluted 1:10.

2.6.7.7.6 カニクイザルを用いた連日投与による4週間投与毒性試験

2.6.7.7.6 Repeated-Dose Toxicity

Report Title: FG-4592: A 4-week Oral Gavage Toxicity Study with a 4-week Recovery in
Cynomolgus Monkeys

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain: Cynomolgus monkeys		Duration of Dosing: 4 weeks						Study No. 7574-104 (ISN: 301_05_3510_021)	
Initial Age: 2 to 5 years		Duration of Postdose: 4 weeks						CTD Number: 4.2.3.2-7	
Date of First Dose: ██████████		Method of Administration: Gavage (nasogastric intubation) , once daily						GLP Compliance: Yes	
Vehicle/ Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension									
Special Features: None									
No Observed Adverse-Effect Level: 30 mg/kg per day roxadustat for males and females									
<i>Toxicokinetics</i>									
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		1		10		30	
Number of Animals		5/M	5/F	3/M	3/F	3/M	3/F	5/M	5/F
C_{max} (µg/mL)	Day 1	NC	NC	0.232	0.224	13.7	11.6	66.0	64.2
	Day 28	NC	NC	0.935	0.620	36.9	27.4	123	105
t_{max} (h)	Day 1	NC	NC	1.00	1.00	1.00	1.00	1.40	1.40
	Day 28	NC	NC	1.00	1.00	1.00	1.00	2.00	1.80
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	Day 1	NC	NC	1.45	0.953	29.3	21.4	258	173
	Day 28	NC	NC	2.58	1.52	86.9	46.7	703	322
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>									
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		1		10		30	
Number of Animals		5/M	5/F	3/M	3/F	3/M	3/F	5/M	5/F
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations		---	---	---	---	---	---	---	---
Physical Examination		---	---	---	---	---	---	---	---
Blood pressure		---	---	---	---	---	---	---	---
Body Weights		---	---	---	---	---	---	---	---
Ophthalmology		---	---	---	---	---	---	---	---
Electrocardiograms		---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology									
Red blood cells (10 ⁶ /µL)	predose	5.70	5.63	5.99	5.96	5.56	5.60	5.60	5.53
	Day 15	5.67	5.55	5.71	5.67	5.97	5.86	6.52*†	6.44
	Day 28	5.67	5.73	6.02	5.99	6.43	6.19	7.58*†	7.46*†‡
Reticulocytes (%)	predose	1.3	1.6	0.8	1.6	1.1	1.2	0.9	1.3
	Day 15	1.8	1.5	1.3*†‡	1.4	2.2	2.1	7.0*†‡	5.4*†
	Day 28	1.3	1.0	0.9	0.5*†‡	1.3	1.1	4.0*†	3.3*†‡

Table continued on next page

2.6.7.7.6 Repeat-Dose Toxicity

4W in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_05_3510_021) (Continued)

添付資料番号: 4.2.3.2-7

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		1		10		30	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>									
Number of Animals		5/M	5/F	3/M	3/F	3/M	3/F	5/M	5/F
Hematology									
Reticulocytes (10 ³ /μL)	predose	76.0	88.5	47.8	87.1	60.0	67.8	50.3	72.1
	Day 15	100.6	85.5	75.4	72.5	132.1	127.5	457.5*†‡	349.4*†
	Day 28	71.7	59.3	52.6	30.5	84.0	67.2	305.0*†	244.8*†‡
Hemoglobin (g/dL)	predose	13.4	12.6	13.7	12.0	13.0	12.6	13.1	12.6
	Day 15	14.0	13.3	13.8	12.2*†‡	14.8	14.0	16.1*†	16.0*†‡
	Day 28	14.2	13.7	14.6	12.9*†‡	16.2	14.9	17.9*†	18.4*†‡
Hematocrit (%)	predose	45.5	43.2	46.4	43.0	43.4	42.5	45.0	42.6
	Day 15	44.9	42.2	42.6	40.9	45.9	44.6	54.2*†	51.9*†‡
	Day 28	45.3	45.1	47.4	44.3	51.3	49.1	63.5*†	63.1*†‡
MCHC (g/dL)	predose	29.3	29.1	29.5	27.9	30.1	29.7	29.0	29.7
	Day 15	31.3	31.5	32.5	30.0	32.3	31.4	29.6*†	30.9
	Day 28	31.3	30.4	30.9	29.4	31.5	30.4	28.2*†	29.2
MCV (fL)	predose	79.8	76.8	77.6	73.4	78.0	75.9	80.6	76.8
	Day 15	79.3	76.1	74.4	72.9	76.9	76.1	83.3	80.7
	Day 28	79.9	78.8	78.7	75.0	79.9	79.3	83.8	84.4
White blood cells (10 ³ /μL)	predose	16.13	12.01	15.15	16.86	20.73	14.00	16.88	14.44
	Day 15	13.77	10.39	11.96	10.33	10.01	9.65	8.23	7.66
	Day 28	12.76	8.35	13.71	10.83	11.39	8.86	7.96	6.95
Neutrophils (10 ³ /μL)	predose	6.50	6.28	7.16	7.54	8.59	9.51	8.07	7.48
	Day 15	7.64	5.44	7.00	4.96	3.88	5.74	4.74	4.18
	Day 28	5.35	3.95	6.63	6.26	4.53	6.01	5.20	3.94
Lymphocytes (10 ³ /μL)	predose	8.71	5.32	7.23	8.48	11.02	4.05	7.95	6.44
	Day 15	5.59	4.56	4.38	4.79	5.62	3.43	3.07	3.15
	Day 28	6.71	4.01	6.18	3.66	6.10	2.50	2.26*†	2.61
Myeloid/Erythroid [No. of animals]		0.94 [3]	0.97 [3]	1.20	1.34	1.01	1.11	0.50 [3]	0.66 [3]
Clinical Chemistry									
Glucose (mg/dL)	predose	84	87	82	83	82	82	88	75
	Day 28	74	63	77	65	71	62	40*†	42
Total cholesterol (mg/dL)	predose	142	150	148	192	138	147	119	148
	Day 28	138	138	147	159	117	120	62*†	102
Iron (μg/dL)	predose	107	87	112	98	121	86	127	102
	Day 28	121	111	178	146	173	129	49*†	90
TIBC (μg/dL)	predose	355	398	385	401	396	396	392	375
	Day 28	358	358	399	347	472*†	433	592§	465*†‡

Table continued on next page

2.6.7.7.6 Repeat-Dose Toxicity

4W in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_05_3510_021) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.2-7

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		1		10		30	
Noteworthy Findings in Treatment Period									
Number of Animals		5/M	5/F	3/M	3/F	3/M	3/F	5/M	5/F
Clinical Chemistry									
UIBC (µg/dL)	predose	248	311	272	304	274	310	265	273
	Day 28	238	247	221	201	300	304	537§	360*†‡
Total protein (g/dL)	predose	8.6	8.4	8.1	8.4	8.6	8.4	8.4	8.1
	Day 28	8.4	8.0	8.2	7.7	8.8	8.2	8.7	8.1
Albumin (g/dL)	predose	4.7	4.8	4.7	4.7	4.7	5.1	4.6	4.8
	Day 28	4.5	4.8	4.7	4.2	4.6	4.9	4.4	4.4
Globulin (g/dL)	predose	3.8	3.5	3.4	3.7	3.9	3.3	3.7	3.3
	Day 28	3.9	3.2	3.5	3.4	4.2	3.3	4.3	3.7
Albumin/Globulin ratio	predose	1.2	1.4	1.4	1.3	1.2	1.5	1.3	1.5
	Day 28	1.2	1.5	1.3	1.2*†	1.1	1.5	1.1	1.2*†
Number of Animals		3/M	3/F	0/M	0/F	0/M	0/F	3/M	3/F
VEGF (pg/mL) [No. of animals]	Day 1 12h	BLQ	BLQ	NA	NA	NA	NA	BLQ	BLQ
	Day 28 12h	BLQ	BLQ	NA	NA	NA	NA	NA	BLQ [1]
EPO (mIU/mL) [No. of animals]	Day 1 12h	8.3	11.7 [2]	NA	NA	NA	NA	354.8 [2]	354.3 [2]
	Day 28 12h	6.6 [1]	8.6 [2]	NA	NA	NA	NA	1940.0 [2]	514.3 [2]
Number of Animals		5/M	5/F	3/M	3/F	3/M	3/F	5/M	5/F
Urinalysis									
Number of Animals		3/M	3/F	3/M	3/F	3/M	3/F	3/M	3/F
Organ Weights									
Gross Pathology									
Histopathology									
Noteworthy Findings in Recovery Period									
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		1		10		30	
Number of Animals		2/M	2/F	0/M	0/F	0/M	0/F	2/M	2/F
Clinical Observations									
Body Weights									
Physical Examination									

Table continued on next page

2.6.7.7.6 Repeat-Dose Toxicity

4W in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_05_3510_021) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		1		10		30	
	2/M	2/F	0/M	0/F	0/M	0/F	2/M	2/F
Noteworthy Findings in Recovery Period								
Hematology								
Red blood cells (10 ⁶ /μL)	6.05	5.96	NA	NA	NA	NA	7.42	6.68
Reticulocytes (%)	0.9	0.8	NA	NA	NA	NA	0.3	0.2
Reticulocytes (10 ³ /μL)	53.0	42.8	NA	NA	NA	NA	21.5	12.7
Hemoglobin (g/dL)	14.5	13.8	NA	NA	NA	NA	15.6	16.6
Hematocrit (%)	46.0	45.3	NA	NA	NA	NA	52.7	52.9
Clinical Chemistry								
Glucose (mg/dL)	88	82	NA	NA	NA	NA	71	56
Total cholesterol (mg/dL)	142	147	NA	NA	NA	NA	108	142
Urinalysis								
	---	---	NA	NA	NA	NA	---	---
Organ Weights								
	---	---	NA	NA	NA	NA	---	---
Gross Pathology								
	---	---	NA	NA	NA	NA	---	---
Histopathology								
	---	---	NA	NA	NA	NA	---	---

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

F: female; M: male; NA: not applicable; NC: not calculated; ---: no noteworthy findings; BLQ; below the lower limit of quantification of 109 pg/mL; TIBC: total iron binding capacity; UIBC: unsaturated iron binding capacity; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV: mean corpuscular volume; EPO: erythropoietin; VEGF: vascular endothelial growth factor.

*: P≤0.05 (Statistically significant difference from the control group).

†: ANOVA (and Dunnett's, Test if applicable).

‡: Rank-transformed data.

§: Group was excluded from analysis.

2.6.7.7.7 カニクイザルを用いた間歇投与による 22 週間投与毒性試験

2.6.7.7.7 Repeat-Dose Toxicity

Report Title: FG-4592: A 22-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study followed by a 6-Week

被験物質：ロキサデュスタット

Recovery Phase in Cynomolgus Monkeys

Species/Strain: Cynomolgus monkeys			Duration of Dosing: 22 Weeks				Study No. 1968-012 (ISN: 301_06_3510_082)					
Initial Age: Approximately 3.5 to 5 years			Duration of Postdose: 6 Weeks				CTD Number: 4.2.3.2-8					
Date of First Dose: ██████████			Method of Administration: Gavage, three times/week intermittently				GLP Compliance: Yes					
Vehicle/Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension												
Special Features: None												
No Observed Adverse-Effect Level: Male; 30 mg/kg/three times weekly, Female; 40 mg/kg/three times weekly as roxadustat												
Toxicokinetics												
Dose as roxadustat (mg/kg)			0 (Control)		1		10		30		40	
Number of Animals			5/M	5/F	3/M	3/F	3/M	3/F	5/M	5/F	5/M	5/F
t_{max} (h)	[No. of animals]	Day 1	NC	NC	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.60	1.00	2.00
		Day 89	NC	NC	1.00	1.00	1.00	1.00	1.80	1.00	1.25 [4]§	2.00
		Day 150	NC	NC	1.00	1.00	1.33	1.00	1.00	1.00	3.00 [4]	2.20
C_{max} (µg/mL)	[No. of animals]	Day 1	NC	NC	0.244	0.381	26.2	30.2	69.9	86.6	73.9	153
		Day 89	NC	NC	0.203	0.166	9.32	14.3	36.4	26.2	43.4 [4]§	50.8
		Day 150	NC	NC	0.0516	0.206	8.70	9.65	22.5	42.1	64.1 [4]	74.6
AUC ₀₋₄₈ (µg·h/mL)	[No. of animals]	Day 1	NC	NC	0.920	1.31	40.7	46.2	197	298	283	548
		Day 89	NC	NC	0.728	1.14	26.0	28.0	178	126	349 [4]§	224
		Day 150	NC	NC	0.450	1.32	23.0	28.4	114	159	377 [4]	319
Noteworthy Findings in Treatment Period												
Dose as roxadustat (mg/kg)			0 (Control)		1		10		30		40	
Number of Animals			5/M	5/F	3/M	3/F	3/M	3/F	5/M	5/F	5/M	5/F
Died or Sacrificed Moribund			0	0	0	0	0	0	0	0	1 ^a	0
No. Interruption of Dosing			0	0	0	0	0	0	0	0	2 ^b	0
Body Weights (kg):			[No. of animals]									
Pre			6.1	3.7	6.0	3.8	5.8	3.8	6.2	3.7	5.8	3.7
Day 1			6.1	3.6	6.0	3.8	5.7	3.7	6.0	3.6	5.8	3.7
Day 29			6.2	3.7	5.8	3.9	5.6	3.8	6.1	3.6	5.7	3.7
Day 92			6.4	3.8	6.0	3.9	6.1	3.9	6.2	3.7	5.7	3.5
Day 148			6.6	3.9	6.1	4.1	6.3	4.1	6.4	3.9	5.7 [4]	3.5
Day 151			6.1 [3]	3.6 [3]	6.1	3.9	6.3	4.0	6.1 [3]	3.8 [3]	5.3 [2]	3.4 [3]
Gain (Days 1-151)			0.1 [3]	0.0 [3]	0.2	0.0	0.5	0.2	0.1 [3]	0.1 [3]	-0.1 [2]	0.2 [3]
Food Consumption			---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Table continued on next page

2.6.7.7.7 Repeat-Dose Toxicity 22W TIW in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_06_3510_082) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		1		10		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>										
Number of Animals	5/M	5/F	3/M	3/F	3/M	3/F	5/M	5/F	5/M	5/F
Clinical Observations [No. of animals]										
Reddening; whole head	---	---	---	---	---	---	---	---	P [2] ^{c, d}	---
Hypoactivity/Faintness	---	---	---	---	---	---	---	---	P [2] ^{c, d}	---
Salivation	---	---	---	---	---	---	---	---	P [2] ^{c, d}	---
Low body temperature	---	---	---	---	---	---	---	---	P [2] ^{c, d}	---
Convulsion/ Twitching	---	---	---	---	---	---	---	---	P [2] ^{c, d}	---
Lying position or Prostrate	---	---	---	---	---	---	---	---	P [2] ^{c, d}	---
Circulatory collapse or disturbance	---	---	---	---	---	---	---	---	P [2] ^{c, d}	---
Abdominal respiration	---	---	---	---	---	---	---	---	P [1] ^c	---
Red; tongue, gingiva/ Dark red; mucosa	---	---	---	---	---	---	---	---	P [1] ^c	---
Hunched posture	---	---	---	---	---	---	---	---	P [1] ^c	---
Bloody; nasal/mouth	---	---	---	---	---	---	---	---	P [2] ^{c, d}	---
Rubescence ; whole back	---	---	---	---	---	---	---	---	P [1] ^c	---
Limited use; hindlimbs, Ataxia	---	---	---	---	---	---	---	---	P [1] ^c	---
Apathy	---	---	---	---	---	---	---	---	P [1] ^c	---
Hematoid/Discolored (bloody) eyes	---	---	---	---	---	---	---	---	P [1] ^d	---
Emesis (foamy/bloody)	---	---	---	---	---	---	---	---	P [1] ^d	---
Physical Examination [No. of animals]										
Red discoloration; oral mucosa, gingiva	---	---	---	---	---	---	P [3]	P [3]	P [5]	P [2]
Cardiovascular Examination										
Electrocardiogram	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Blood pressure	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Ophthalmology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Urinalysis	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology [No. of animals]										
Red blood cells (10 ⁶ /μL)										
Pre	6.39	6.29	6.39	6.29	6.67	6.90	6.54	6.68	6.23	6.22
Day 28	6.01	5.93	6.02	5.75	6.41	6.61	7.77*†	6.91*†	7.40*†	7.02*†
Day 91	6.34	5.51	5.96	5.59	6.52	6.61*†	8.61*†	8.02*†	9.34*† [4]	8.38*†
Day 133	6.86	5.93	6.21	6.12	6.96	6.80	9.04*†‡	8.36*†	10.16*†‡ [4]	8.63*†
Day 152	6.51 [3]	5.17 [3]	6.12	5.58	6.85	6.55	8.84*† [3]	8.12*†‡ [3]	10.31*† [2]	8.61*†‡ [3]

Table continued on next page

2.6.7.7.7 Repeat-Dose Toxicity

22W TIW in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_06_3510_082) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		1		10		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>											
Number of Animals		5/M	5/F	3/M	3/F	3/M	3/F	5/M	5/F	5/M	5/F
Hematology [No. of animals]											
Hemoglobin (g/dL)	Pre	13.08	12.96	13.43	13.21	13.16	13.11	13.66	13.95	13.08	13.21
	Day 4	11.44	10.96	11.06	11.33	11.55	11.06	12.76*†‡	12.05	11.80	11.83
	Day 28	12.12	12.21	12.46	12.25	12.94	12.62	17.18*†‡	15.21*†‡	16.53*†‡	15.66*†‡
	Day 91	12.63	11.31	12.30	11.92	13.00	12.51	19.08*†‡	17.82*†‡	20.71*†‡ [4]	18.82*†‡
	Day 133	13.76	12.50	12.73	12.94	13.80	12.73	20.37*†‡	18.66*†‡	22.68*†‡ [4]	19.27*†‡
	Day 152	12.51 [3]	10.58 [3]	12.35	11.60	13.37	12.19	18.95*†‡ [3]	18.26*†‡ [3]	23.12 [2]	19.28*†‡ [3]
Hematocrit (%)	Pre	44.4	43.9	44.7	43.5	44.5	44.7	46.1	46.8	43.4	44.3
	Day 7	40.6	39.3	37.0	37.9	38.8	40.9	44.5	43.5*†‡	41.6	41.6
	Day 28	42.7	42.2	42.5	41.5	44.7	44.4	58.1*†‡	52.3*†‡	56.9*†‡	54.5*†‡
	Day 91	43.4	38.7	41.2	39.9	44.7	43.3	63.4*†‡	59.3*†‡	68.3*†‡ [4]	63.3*†‡
	Day 133	47.3	44.0	42.8	44.7	47.8	46.1	67.0*†‡	63.2*†‡	75.6*†‡ [4]	66.5*†‡
	Day 152	44.1 [3]	37.6 [3]	42.6	40.2	46.6	43.4	64.3*†‡ [3]	61.4*†‡ [3]	76.9*†‡ [2]	66.0*†‡ [3]
Mean corpuscular volume (fL)	Pre	69.4	70.1	70.1	69.2	66.8	65.0	70.5	70.2	69.8	71.3
	Day 28	71.2	71.5	70.8	72.4	69.6	67.5	74.8	75.9	77.1*†	77.7
	Day 91	68.5	70.5	69.2	71.3	68.5	65.8	73.7	74.2	73.3 [4]	75.4
	Day 133	69.0	74.6	69.1	73.1	68.7	68.0	74.3	75.7	74.6 [4]	77.0
	Day 152	68.1 [3]	73.9 [3]	69.7	72.0	68.0	66.6	72.9 [3]	75.5 [3]	74.8 [2]	76.4 [3]
Mean corpuscular hemoglobin (amol)	Pre	1270	1284	1307	1305	1225	1182	1296	1299	1306	1321
	Day 28	1256	1285	1286	1324	1252	1190	1372*†	1370	1393*†	1387
	Day 91	1240	1279	1281	1322	1236	1181	1374	1383	1381 [4]	1393
	Day 133	1247	1318	1274	1314	1231	1166	1401*†	1386	1390 [4]	1386
	Day 152	1202 [3]	1287 [3]	1255	1290	1211	1159	1332 [3]	1393 [3]	1395 [2]	1386 [3]
Mean corpuscular hemoglobin concentration (mmol/L)	Pre	18.3	18.3	18.7	18.9	18.3	18.2	18.4	18.5	18.7	18.5
	Day 28	17.6	18.0	18.2	18.3	18.0	17.6	18.4	18.1	18.0	17.9
	Day 91	18.1	18.1	18.5	18.5	18.1	18.0	18.7	18.6	18.8 [4]	18.5
	Day 133	18.0	17.6	18.4	18.0	17.9	17.1	18.8	18.3	18.7 [4]	18.0
	Day 152	17.6 [3]	17.4 [3]	18.0	17.9	17.8	17.4	18.3 [3]	18.4 [3]	18.7 [2]	18.1 [3]

Table continued on next page

2.6.7.7.7 Repeat-Dose Toxicity

22W TIW in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_06_3510_082) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.2-8

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		1		10		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>											
Number of Animals		5/M	5/F	3/M	3/F	3/M	3/F	5/M	5/F	5/M	5/F
Hematology [No. of animals]											
Reticulocytes (%)	Pre	9.8	5.7	6.6	7.0	7.2	7.1	9.5	4.5	7.6	6.2
	Day 7	27.1	17.2	19.7	23.3	25.2	17.1	43.2	43.0*†	71.0*†	52.4*†
	Day 28	24.3	9.3	9.4	7.7	10.9	10.5	19.3	16.8	32.3	27.9*†
	Day 91	5.7	10.3	4.9	6.9	6.1	9.4	9.7	9.2	12.2*† [4]	9.6
	Day 133	7.7	9.2	5.3	7.6	7.4	8.5	10.0	9.6	12.3 [4]	12.8
	Day 152	5.7 [3]	18.6 [3]	7.1	7.9	5.5	8.0	5.6 [3]	8.8 [3]	8.9 [2]	9.6 [3]
Morphology	anisocytosis ^e	Pre	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0
		Day 7	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	1, 0, 2, 0	2, 1, 2, 0	0, 0, 2, 3	0, 0, 1, 4
		Day 91	5, 0, 0, 0	4, 0, 0, 1	2, 0, 1, 0	3, 0, 0, 0	0, 0, 1, 2	1, 0, 0, 2	0, 0, 0, 5	0, 0, 0, 5	0, 0, 0, 4
		Day 152	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	2, 0, 1, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	0, 0, 2, 0
	macrocytosis ^e	Pre	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0
		Day 7	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	2, 1, 2, 0	0, 0, 5, 0	0, 0, 1, 4
		Day 91	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	2, 0, 1, 0	3, 0, 0, 0	1, 0, 0, 2	3, 0, 0, 0	0, 0, 3, 2	0, 0, 2, 3	0, 0, 0, 4
		Day 152	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	2, 0, 1, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	0, 0, 2, 0
	polychromatophilia ^e	Pre	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0
		Day 7	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	5, 0, 0, 0	2, 0, 0, 3
		Day 91	4, 1, 0, 0	3, 2, 0, 0	3, 0, 0, 0	1, 2, 0, 0	2, 1, 0, 0	2, 0, 1, 0	1, 0, 3, 1	0, 2, 3, 0	0, 0, 3, 1
		Day 152	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	3, 0, 0, 0	0, 0, 2, 0
PT (sec.)	Pre	13.7	13.4	14.6	12.7	13.6	12.8	13.3	13.0	13.8	13.0
	Day 28	14.2	14.2	14.5	13.2	14.0	13.6	14.5	14.3	14.2	15.0
	Day 56	14.2	13.0	13.4	12.9	13.1	12.8	16.2*†‡	14.7*†	15.9*†‡	15.0*†
	Day 91	13.6	13.4	13.9	12.8	13.1	13.1	14.5	13.6	14.9 [4]	14.7
	Day 119	13.7	13.6	13.7	12.7	13.1	12.9	16.9	15.0	29.0*†‡ [4]	15.4
	Day 152	13.9 [3]	15.5 [3]	13.4	14.2	12.7	15.7	14.8 [3]	16.9 [3]	15.7 [2]	18.2 [3]
APTT (sec.)	Pre	23.9	24.8	22.3	22.8	21.6	23.0	23.0	23.1	22.7	22.3
	Day 28	27.5	23.4	22.9	22.2	24.4	23.0	25.6	23.0	22.6	23.2
	Day 56	25.3	22.2	23.3	22.6	23.6	22.6	29.7*†‡	24.4*†	25.6	24.2*†
	Day 91	25.7	22.7	22.8	22.4	23.0*†‡	23.4	28.8	25.5	28.8 [4]	25.5

Table continued on next page

2.6.7.7.7 Repeat-Dose Toxicity 22W TIW in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_06_3510_082) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.2-8

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		1		10		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>											
Number of Animals		5/M	5/F	3/M	3/F	3/M	3/F	5/M	5/F	5/M	5/F
Hematology [No. of animals]											
APTT (sec.)	Day 119	28.8	25.1	24.0	23.5	24.3	24.0	33.0	29.8	36.7*† [4]	28.7
	Day 152	26.9 [3]	21.8 [3]	23.0	21.5	22.5	23.4	27.8 [3]	25.6 [3]	30.9 [2]	23.4 [3]
Clinical Chemistry [No. of animals]											
Aspartate aminotransferase (U/L)	Pre	33.90	35.57	37.43	51.64	35.56	42.48	36.12	35.16	32.47	36.95
	Day 28	30.69	30.36	38.27	42.44	28.02	33.66	32.00	40.87	46.89	31.44
	Day 56	34.56	28.47	51.54	36.04	37.42	34.62	49.41	38.36	74.51*†‡	32.00
	Day 91	34.30	36.25	47.04	48.50	35.01	40.83	44.32	39.23	65.55	49.56
	Day 119	32.09	29.17	38.12	34.24	32.82	35.35	39.73*†‡	35.86	99.28*†‡ [4]	39.52
	Day 152	35.22 [3]	31.12 [3]	78.57*†‡	42.85	35.86	37.41	61.07*†‡ [3]	42.93 [3]	146.28*†‡ [2]	66.73 [3]
Alanine aminotransferase (U/L)	Pre	53.20	44.82	44.00	147.49	59.89	75.68	42.29	92.50	59.29	80.29
	Day 28	41.73	47.49	37.71	119.23	42.96	61.70	39.73	77.85	69.59	47.99
	Day 56	45.68	37.63	48.51	64.79	49.01	56.17	43.77	75.11	87.27	51.04
	Day 91	44.65	38.48	47.63	78.45	40.08	56.97	50.64	67.78	68.93 [4]	55.26
	Day 119	45.52	42.69	40.08	47.27	44.00	51.51	44.20	61.52	76.72 [4]	56.20
	Day 152	49.39 [3]	39.86 [3]	69.24	60.39	47.76	62.71	56.62 [3]	47.09 [3]	131.86 [2]	71.13 [3]
Total bilirubin (μmol/L)	Pre	5.71	8.10	5.52	5.92	5.21	9.19	5.42	6.56	5.82	6.83
	Day 28	4.07	4.25	3.80	3.97	5.66	4.75	5.15	8.09	10.88*†‡	5.04
	Day 56	5.89	6.46	3.52	5.68	5.85	6.39	9.18	7.26	19.29*†‡	8.02
	Day 91	5.37	5.94	4.92	7.35	5.86	6.39	9.91	9.95	24.57*†‡ [4]	14.17*†
	Day 119	5.50	4.38	3.91	4.35	4.39	7.03	9.96	7.03	54.58*†‡ [4]	10.46*†‡
	Day 152	4.50 [3]	4.84 [3]	5.66	4.76	5.05	6.02	13.80 [3]	10.29*†‡ [3]	54.44 [2]	12.86*†‡ [3]
Urea nitrogen (mmol/L)	Pre	6.07	6.63	7.36	6.50	6.40	6.08	6.11	7.16	6.08	6.19
	Day 28	6.18	6.57	8.02	6.67	6.53	5.75	6.95	6.60	7.10	5.96
	Day 56	6.39	6.74	6.74	6.89	5.83	6.38	6.41	7.71	7.14	6.12
	Day 91	6.13	6.30	6.97	5.79	5.56	5.25	6.53	5.72	6.68 [4]	5.58
	Day 119	6.30	6.59	7.17	6.64	5.70	5.87	6.71	6.42	9.29 [4]	5.94
	Day 152	4.90 [3]	5.43 [3]	6.03	5.43	4.77	5.41	5.62 [3]	6.18 [3]	7.58 [2]	5.68 [3]

Table continued on next page

2.6.7.7.7 Repeat-Dose Toxicity

22W TIW in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_06_3510_082) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.2-8

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		1		10		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>											
Number of Animals		5/M	5/F	3/M	3/F	3/M	3/F	5/M	5/F	5/M	5/F
Clinical Chemistry [No. of animals]											
Creatinine (μmol/L)	Pre	83.00	81.54	98.10	93.46	89.45	85.94	88.58	83.42	92.85	85.37
	Day 28	77.70	70.65	88.30	84.15	80.89	73.45	87.88	77.13	87.98	74.90
	Day 56	82.22	68.54	93.58	82.14	75.13	74.23	86.34	78.99	97.48	76.98
	Day 91	79.66	72.79	89.77	89.65	76.30	79.84	90.75	73.64	104.42 [4]	74.89
	Day 119	84.55	69.73	94.41	81.34	78.50	76.36	89.41	75.16	109.27 [4]	79.31
	Day 152	73.00 [3]	78.65 [3]	89.01	91.50	74.67	84.69	83.28 [3]	84.84 [3]	92.15 [2]	90.14 [3]
Glucose (mmol/L)	Pre	3.62	3.18	4.34	4.00	3.34	3.15	3.53	3.68	3.89	3.60
	Day 28	3.47	3.43	3.91	3.40	3.02	3.20	3.48	2.92	2.83	2.69
	Day 56	3.10	3.52	3.53	3.42	2.70	3.33	2.66	3.24	2.17*†	2.81
	Day 91	3.87	3.86	3.74	3.48	3.02	3.71	3.19	3.24	2.74 [4]	2.61
	Day 119	2.99	3.43	3.30	3.37	2.74	3.51	2.46	3.00	2.15 [4]	2.51
	Day 152	3.23 [3]	5.09 [3]	3.85	5.54	3.33	4.48	3.22 [3]	3.78 [3]	1.81 [2]	2.88 [3]
Total cholesterol (mmol/L)	Pre	2.36	2.69	2.39	2.97	1.85	3.11	2.30	2.88	3.15	2.75
	Day 28	2.11	2.57	2.12	2.74	1.52	2.29	1.59	1.66*†‡	1.78	1.74*†‡
	Day 56	2.06	2.74	2.27	2.74	1.52	2.34	1.55	1.77*†‡	1.76	1.79*†‡
	Day 91	1.74	2.36	1.97	2.80	1.43	2.31	1.24*†	1.79*†‡	1.86 [4]	1.50*†‡
	Day 119	2.04	2.57	2.23	2.70	1.56	2.16	1.45*†	1.84*†	2.16 [4]	1.63*†
	Day 152	1.66 [3]	2.10 [3]	2.14	2.93*†	1.53	2.28	1.48 [3]	1.70 [3]	1.82 [2]	1.54*† [3]
Total protein (g/L)	Pre	83.40	86.48	89.49	87.68	85.46	91.45	86.38	85.68	85.61	86.51
	Day 28	80.55	79.14	85.92	80.50	84.39	83.24	89.05	80.06	87.14	80.77
	Day 56	85.71	82.37	87.19	83.53	83.04	84.16	91.69	84.25	94.52	86.99
	Day 91	77.98	74.45	81.09	78.87	79.23	80.12	81.22	73.64	84.01 [4]	80.86
	Day 119	82.11	80.36	82.92	80.09	78.32	82.69	83.98	82.92	96.29 [4]	85.81
	Day 152	79.46 [3]	73.83 [3]	79.67	76.59	79.21	80.18	84.35 [3]	81.44 [3]	90.58*† [2]	83.24 [3]

Table continued on next page

2.6.7.7.7 Repeat-Dose Toxicity

22W TIW in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_06_3510_082) (Continued)

添付資料番号: 4.2.3.2-8

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		1		10		30		40		
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>											
Number of Animals	5/M	5/F	3/M	3/F	3/M	3/F	5/M	5/F	5/M	5/F	
Clinical Chemistry [No. of animals]											
Globulin (g/L)											
Pre	37.82	40.34	38.37	40.23	39.84	41.39	40.97	41.37	38.82	39.21	
Day 28	39.61	39.21	41.05	39.59	40.77	40.99	44.20	40.61	45.21	39.78	
Day 56	42.86	42.13	44.96	41.80	44.06	42.19	51.23	44.14	52.20	43.84	
Day 91	36.79	36.45	38.87	39.39	38.72	40.46	40.31	36.87	44.46 [4]	40.71	
Day 119	38.92	41.40	40.24	40.27	38.36	43.37	43.21	43.96	51.12 [4]	44.55	
Day 152	38.02 [3]	36.39 [3]	37.45	37.03	37.02	39.76	41.64 [3]	41.70 [3]	48.80*† [2]	41.61 [3]	
Iron (µmol/L)											
Pre	27.86	31.09	34.25	28.23	20.37	27.66	27.36	27.82	30.40	29.71	
Day 28	23.91	19.51	24.41	23.60	22.38	20.93	14.32*†	13.34*†	16.57	13.18*†	
Day 56	27.96	24.75	18.01	26.13	15.05*†	29.19	17.11*†	15.97*†	19.34	13.43*†	
Day 91	27.93	17.98	25.52	21.71	20.43*†	27.26	18.59*†	19.77	16.94*† [4]	20.26	
Day 119	24.96	26.41	25.46	27.69	18.35	26.95	23.32	21.70	33.51 [4]	19.35	
Day 152	24.97 [3]	20.37 [3]	26.74	19.10	22.40	23.19	22.83 [3]	31.43 [3]	36.17 [2]	18.19 [3]	
Transferrin (mg/dL)											
Pre	2.99	2.82	2.61	2.70	2.57	2.52	2.66	2.74	2.76	2.79	
Day 28	2.81	3.02	2.61	2.68	3.02	2.69	3.30	3.27	3.78*†	3.44*†	
Day 56	2.97	2.98	2.91	2.56	3.12	2.49	3.65	3.38	4.42*† [4]	3.65*†	
Day 91	2.73	2.78	2.54	2.57	2.76	2.42	3.00	3.03	3.32 ^f [3]	3.33*†	
Day 119	3.00	3.01	2.69	2.55*†	2.79	2.51*†	3.34	3.16	4.14 ^f [2]	3.50*†	
Day 152	2.75 [3]	2.71 [3]	2.58	2.48	2.74	2.47	2.97 [3]	2.90 [3]	2.83 [2]	3.31*† [3]	
Number of Animals	3/M	3/F	3/M	3/F	3/M	3/F	3/M	3/F	2/M	3/F	
Gross Pathology [No. of animals]											
Adipose tissue: Discolored	0	0	0	0	0	0	0	P [1]	P [2]	P [2]	
Sternum bone marrow: Discolored	0	0	0	0	0	0	0	0	P [2]	0	
Thymus: Discolored	0	0	0	0	0	0	0	0	P [2]	0	
Stomach: Discolored, focus	0	0	0	0	0	P [1]	P [1]	0	P [2]	0	
Uterus: Discolored	NA	0	NA	0	NA	0	NA	P [2]	NA	P [3]	
Organ Weights	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Histopathology [No. of animals]											
Adipose tissue: Congestion	0	0	0	0	0	0	0	+ [1]	+ [2]	+ [1], +++ [1]	

Table continued on next page

2.6.7.7.7 Repeat-Dose Toxicity

22W TIW in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_06_3510_082) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		1		10		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>										
Number of Animals	3/M	3/F	3/M	3/F	3/M	3/F	3/M	3/F	2/M	3/F
Histopathology [No. of animals]										
Sternum bone marrow: Erythroid hyperplasia	0	0	+ [1], ++ [1]	+ [1], ++ [1]	+ [2], ++ [1]	+ [1]	+ [1], ++ [2]	+ [3]	++ [1], ++++ [1]	+ [2]
Lung: Thrombus	0	0	0	0	0	0	0	0	+ [2]	0
No. of Animals (Unscheduled-Sacrifice; Day 93)	0/M	0/F	0/M	0/F	0/M	0/F	0/M	0/F	1/M	0/F
Organ Weights	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	---	NA
Gross Pathology [No. of animals]										
Cecum: Discolored	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	P [1]	NA
Colon: Discolored	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	P [1]	NA
Ileum: Discolored	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	P [1]	NA
Jejunum: Discolored	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	P [1]	NA
Spleen: Large	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	P [1]	NA
Histopathology [No. of animals]										
Sternum bone marrow: Erythroid hyperplasia	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+++ [1]	NA
Cecum: Congestion	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	++ [1]	NA
Hemorrhage	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+ [1]	NA
Colon: Congestion	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	++ [1]	NA
Ileum: Congestion	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	++ [1]	NA
Brain: Congestion	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	++ [1]	NA
Jejunum: Congestion	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	++ [1]	NA
<i>Noteworthy Findings in Recovery Period</i>										
Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		1		10		30		40	
No. of Animals	2/M	2/F	0/M	0/F	0/M	0/F	2/M	2/F	2/M	2/F
Clinical Observations	---	---	NA	NA	NA	NA	---	---	---	---
Body Weights (kg)										
R1	7.6	4.0	NA	NA	NA	NA	7.0	3.5	5.9	3.5
R42	7.9	4.0	NA	NA	NA	NA	6.8	3.5	6.1	3.8
Gain (R1-R42)	0.3	-0.1	NA	NA	NA	NA	-0.2	0.0	0.2	0.3

Table continued on next page

2.6.7.7.7 Repeat-Dose Toxicity 22W TIW in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_06_3510_082) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		1		10		30		40	
<i>Noteworthy Findings in Recovery Period</i>										
No. of Animals	2/M	2/F	0/M	0/F	0/M	0/F	2/M	2/F	2/M	2/F
Food Consumption	--	--	NA	NA	NA	NA	--	--	--	--
Physical Examination	---	---	NA	NA	NA	NA	---	---	---	---
Cardiovascular Examination	---	---	NA	NA	NA	NA	---	---	---	---
Ophthalmology	---	---	NA	NA	NA	NA	---	---	---	---
Urinalysis	---	---	NA	NA	NA	NA	---	---	---	---
Hematology	---	---	NA	NA	NA	NA	---	---	---	---
Clinical Chemistry	---	---	NA	NA	NA	NA	---	---	---	---
Organ Weights	---	---	NA	NA	NA	NA	---	---	---	---
Gross Pathology [No. of animals]										
Stomach: Discolored, focus	0	0	NA	NA	NA	NA	P [1]	P [1]	0	P [2]
Histopathology [No. of animals]										
Stomach: Hemorrhage	0	0	NA	NA	NA	NA	+ [1]	0	+ [1]	++ [1]

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

TIW: three times weekly; F: female; M: male; NA: not applicable; NC: not calculated; P: present; PT: prothrombin time; APTT: activated partial thromboplastin time; R: recovery day; ---: no noteworthy findings; +: minimal, ++: slight, +++: moderate, ++++: marked.

*: P<0.05 (Statistically significant difference from the control group).

†: ANOVA and Dunnetts.

‡: Rank-transformed data.

§: Animal No. 23038 was not included in the mean calculation.

a: This animal was sacrificed in extremis on Day 93 (Animal No. 23038).

b: In 2 males (Animal Nos. 23038 & 22998) including the moribund male, the dosing of the test article was interrupted on Days 71 to 73 and 75 for recovery of health.

c: Findings noted in the animal sacrificed in extremis (Animal No. 23038).

d: Findings noted in the dosing-interrupted animal (Animal No. 22998).

e: The numbers of animals of 'normal', 'rare', 'few', 'many' findings are shown in order from the left.

f: group excluded from analysis

2.6.7.7.8 カニクイザルを用いた間歇投与による 52 週間投与毒性試験

2.6.7.7.8 Repeat-Dose Toxicity

Report Title: FG-4592: A 52-Week Nasogastric Intubation Toxicity and Toxicokinetic Study in
Cynomolgus Monkeys with an 8-Week Recovery Period

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain: Cynomolgus monkeys		Duration of Dosing: 52 Weeks				Study No. 7574-134 (ISN: 301 06 3520 092)						
Initial Age: 1.8 to 4.1 years		Duration of Postdose: 8 Weeks				CTD Number: 4.2.3.2-9						
Date of First Dose: ██████████		Method of Administration: Gavage (nasogastric intubation), three times/week intermittently				GLP Compliance: Yes						
Vehicle/Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension												
Special Features: None												
No Observed Adverse-Effect Level: 30 mg/kg, three times weekly												
Toxicokinetics												
Dose as roxadustat (mg/kg)			0 (Control)		3		10		20		30	
Number of Animals			5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F
t_{max} (h) [No. of animals]	Day 1		NC	NC	1.20	1.00	1.00	1.20	1.40	1.00	1.20	1.20
	Week 26		NC	NC	1.00 [4]	1.00	1.00 [4]	1.00	1.00	1.00	1.00	1.80
	Week 39		NC	NC	1.00 [4]	1.00	2.75 [4]	1.20	2.20	1.60	2.20	1.20
	Week 51		NC	NC	1.00 [4]	2.80	1.00 [4]	1.20	1.00	1.40	1.00	1.20
C_{max} (µg/mL) [No. of animals]	Day 1		NC	NC	0.691	0.707	9.68	10.9	50.5	73.7	71.9	96.2
	Week 26		NC	NC	0.720 [4]	0.514	6.63 [4]	6.63	18.0	27.7	43.5	59.9
	Week 39		NC	NC	1.01 [4]	0.488	2.34 [4]	3.30	11.9	22.3	20.4	23.6
	Week 51		NC	NC	0.649 [4]	0.459	7.41 [4]	8.50	10.7	11.4	41.1	35.7
AUC_{0-48} (µg·h/mL) [No. of animals]	Day 1		NC	NC	4.04	3.12	26.2	27.7	120	209	197	260
	Week 26		NC	NC	4.00 [4]	3.52	23.1 [4]	25.4	61.8	100	132	162
	Week 39		NC	NC	4.60 [4]	3.40	19.8 [4]	23.3	65.5	106	108	104
	Week 51		NC	NC	4.66 [4]	4.52	27.2 [4]	29.0	48.8	93.2	144	152
Noteworthy Findings in Treatment Period												
Dose as roxadustat (mg/kg)			0 (Control)		3		10		20		30	
Number of Animals			5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F
Died or Sacrificed Moribund			0	0	1 ^a	0	1 ^b	0	0	0	0	0
Clinical Observations [No. of animals]												
Lateral recumbent position			---	---	P [1] ^c	---	P [1] ^d	---	---	---	---	---
Reddish feces (positive for fecal occult blood)			---	---	---	---	---	---	---	---	P [1] ^e	---
Physical Examination			---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Body Weights (kg) [No. of animals]												
Pre			2.1	2.0	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1	2.1
Week 1			2.1	2.0	2.1	2.1	2.3	2.1	2.2	2.2	2.1	2.1
Week 13			2.3	2.3	2.2	2.3	2.3	2.3	2.2	2.3	2.2	2.3

Table continued on next page

2.6.7.7.8 Repeat-Dose Toxicity

52W TIW in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_06_3520_092) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.2-9

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		3		10		20		30	
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>											
Number of Animals		5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F
Body Weights (kg)	Week 26	2.6	2.4	2.4 [4]	2.5	2.6 [4]	2.5	2.5	2.5	2.4	2.4
	Week 39	2.8	2.6	2.6 [4]	2.7	2.8 [4]	2.7	2.9	2.6	2.6	2.6
	Week 53	3.0	2.7	2.8 [4]	2.9	3.0 [4]	2.9	3.2	2.8	2.8	2.8
	Gain (Weeks 1-53)	0.9	0.7	0.7 [4]	0.8	0.7 [4]	0.8	1.1	0.7	0.8	0.6
Electrocardiogram		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Ophthalmology		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Urinalysis		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Hematology [No. of animals]											
Red blood cells (10 ⁶ /μL)	Pre	5.74	5.54	5.62	5.49	5.51	5.65	5.52	5.45	5.53	5.43
	Day 25	5.84	5.61	5.77	5.75	5.85	5.88	6.20	6.27*†	6.38	6.12
	Day 88	5.70	5.73	5.67	5.64	5.87	6.03	6.60*†‡	7.28*†	7.22*†‡	6.90*†
	Day 172	5.91	5.74	5.93 [4]	5.66	5.82 [4]	5.94	6.09	6.64	6.85*†‡	6.58
	Day 263	5.94	5.74	5.78 [4]	5.65	5.88 [4]	5.99	6.41	6.82*†	6.99*†‡	6.54
	Day 354	5.60	5.16	5.30 [4]	5.22	5.64 [4]	5.37	6.16	6.82*†‡	6.93*†‡	6.61*†‡
	Day 354	5.60	5.16	5.30 [4]	5.22	5.64 [4]	5.37	6.16	6.82*†‡	6.93*†‡	6.61*†‡
Hemoglobin (g/dL)	Pre	13.6	12.9	13.2	12.8	13.0	13.2	13.3	13.0	13.3	13.3
	Day 12	13.1	12.4	12.7	12.7	12.7	13.0	13.5	13.7*†	13.5	13.5*†
	Day 25	13.9	13.1	13.4	13.5	13.6	13.9	15.0	15.5*†	15.6*†	15.4*†
	Day 88	14.0	13.8	13.8	13.8	14.0	14.7	16.5*†‡	18.6*†	18.5*†‡	18.1*†
	Day 172	14.5	13.9	14.4 [4]	13.7	14.1 [4]	14.7	15.3	16.9*†	17.5*†	17.1*†
	Day 263	14.7	14.1	14.4 [4]	14.1	14.5 [4]	15.1	16.4*†‡	17.6*†	18.2*†‡	17.3*†
	Day 354	13.5	12.2	12.7 [4]	12.5	13.1 [4]	13.0	15.1*†‡	17.1*†‡	17.1*†‡	16.8*†‡
Hematocrit (%)	Pre	42.5	40.7	41.4	39.9	40.7	40.3	41.0	40.5	41.3	41.2
	Day 12	41.9	39.7	40.4	40.7	40.5	41.6	43.7	44.3*†	43.3	42.6
	Day 25	42.7	41.2	42.4	43.2	42.9	43.5	47.1*†	49.1*†	49.6*†	48.2*†
	Day 88	42.0	42.6	42.0	42.3	42.9	45.3	50.6*†‡	56.7*†	56.4*†‡	55.0*†
	Day 172	42.3	41.3	42.2 [4]	41.3	42.2 [4]	43.4	46.0*†	50.1*†‡	52.3*†	50.0*†‡
	Day 263	44.9	43.3	43.7 [4]	43.4	44.5 [4]	46.7	50.6*†‡	54.5*†‡	55.8*†‡	53.5*†‡
	Day 354	42.4	38.4	38.9*†‡ [4]	38.8	42.2 [4]	40.4	47.6*†‡	54.0*†‡	54.2*†‡	52.0*†‡
<i>Table continued on next page</i>											

2.6.7.7.8 Repeat-Dose Toxicity 52W TIW in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_06_3520_092) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		3		10		20		30		
<i>Noteworthy Findings in Treatment Period</i>												
Number of Animals		5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	5/M	5/F	
Hematology [No. of animals]												
Mean corpuscular volume (fL)	Pre	74.3	73.5	73.7	72.9	73.7	71.7	74.4	74.3	74.9	76.0	
	Day 25	73.2	73.3	73.4	75.2	73.3	74.2	76.0	78.2*†	78.0	78.9*†	
	Day 88	73.9	74.3	74.1	75.2	73.1	75.2	76.8	77.9	78.4	79.9*†	
	Day 172	71.7	72.0	71.2 [4]	73.1	72.6 [4]	73.4	75.5	75.3	76.6	76.3	
	Day 263	75.7	75.5	75.5 [4]	77.0	75.6 [4]	78.2	79.1	79.7	80.1	82.1*†	
	Day 354	75.8	74.6	73.6 [4]	74.4	75.0 [4]	75.3	77.4	78.9	78.6	79.0	
	Mean corpuscular hemoglobin (pg)	Pre	23.7	23.3	23.5	23.3	23.5	23.5	24.1	23.9	24.0	24.5
		Day 25	23.9	23.2	23.3	23.6	23.3	23.7	24.1	24.7	24.5	25.3*†
		Day 88	24.6	24.0	24.3	24.5	23.9	24.4	25.0	25.6	25.7	26.4*†
		Day 172	24.6	24.2	24.4 [4]	24.3	24.1 [4]	24.8	25.1	25.5	25.6	26.1*†
		Day 263	24.9	24.6	25.0 [4]	25.0	24.7 [4]	25.4	25.6	25.7	26.1	26.6
		Day 354	24.1	23.7	24.0 [4]	23.9	23.3 [4]	24.3	24.5	25.1	24.7	25.5
	Reticulocytes (10 ³ /μL)	Pre	84.9	122.4	86.9	105.5	123.5*†	74.3*†	85.0	96.7	83.2	122.0
		Day 5	164.0	179.9	158.9	183.0	227.4	176.3	233.5	260.2	253.3*†	247.6
Day 12		130.7	131.4	118.6	153.5	173.7	146.8	171.8	191.2	222.0	220.2*†	
Day 25		53.2	68.2	50.8	75.0	64.4	52.8	69.0	81.3	88.8*†‡	108.5*†‡	
Day 88		52.6	54.6	47.6	53.1	42.4	44.4	39.7	58.3	66.8	74.1	
Day 172		55.5	66.1	56.7	55.5	68.1	46.7	60.8	67.2	69.0	85.6	
Day 263		43.5	54.9	45.3	53.7	47.3	50.7	51.1	53.7	66.1	79.7*†	
Day 354		61.6	65.2	53.1	64.7	66.9	63.7	55.5	73.1	65.9	85.7	
Clinical Chemistry [No. of animals]												
Total cholesterol (mg/dL)	Pre	180	167	178	147	172	164	144	170	154	159	
	Day 25	168	148	156	136	126	136	110*†‡	124	115*†‡	116	
	Day 88	177	174	168	159	147	153	130	154	139	135	
	Day 172	158	153	162 [4]	129	120 [4]	126	102*†‡	115*†	105*†‡	102*†	
	Day 263	170	151	170 [4]	141	126 [4]	128	112*†	122	121*†	106*†	
	Day 354	154	131	140 [4]	120	110 [4]	110	96*†	110	101*†	101	

Table continued on next page

2.6.7.7.8 Repeat-Dose Toxicity

52W TIW in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_06_3520_092) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.2-9

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		3		10		20		30	
Noteworthy Findings in Treatment Period										
Number of Animals	3/M	3/F	2/M	2/F	2/M	2/F	3/M	3/F	3/M	3/F
Gross Pathology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Organ Weights	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Histopathology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Number of Animals (Unscheduled-Death or Sacrifice)	0/M	0/F	1 ^a /M	0/F	1 ^b /M	0/F	0/M	0/F	0/M	0/F
Organ Weights	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Gross Pathology [No. of animals]										
Lung: Discolored	NA	NA	---	NA	P [1]	NA	NA	NA	NA	NA
Histopathology [No. of animals]										
Spinal cord: Gram positive bacteria	NA	NA	---	NA	P [1]	NA	NA	NA	NA	NA
Trachea: Inflammation	NA	NA	---	NA	+ [1]	NA	NA	NA	NA	NA
Thyroid: Bacteria, intracytoplasmic	NA	NA	++ [1]	NA	---	NA	NA	NA	NA	NA
Lung: Bacteria, intracytoplasmic	NA	NA	++ [1]	NA	---	NA	NA	NA	NA	NA
Liver: Bacteria, intracytoplasmic	NA	NA	+++ [1]	NA	---	NA	NA	NA	NA	NA
: Gram positive bacteria	NA	NA	P [1]	NA	P [1]	NA	NA	NA	NA	NA
: Inflammation	NA	NA	---	NA	+ [1]	NA	NA	NA	NA	NA
Kidney: Bacteria, intracytoplasmic	NA	NA	+++ [1]	NA	---	NA	NA	NA	NA	NA
: Inflammation	NA	NA	---	NA	++ [1]	NA	NA	NA	NA	NA
Heart: Inflammation	NA	NA	---	NA	++ [1]	NA	NA	NA	NA	NA
Brain: Bacteria, intralosomal	NA	NA	---	NA	++ [1]	NA	NA	NA	NA	NA
: Gram positive bacteria	NA	NA	---	NA	P [1]	NA	NA	NA	NA	NA
: Inflammation	NA	NA	---	NA	+++ [1]	NA	NA	NA	NA	NA
Spleen: Bacteria, intracytoplasmic	NA	NA	+++ [1]	NA	---	NA	NA	NA	NA	NA
Mesenteric lymph nodes: Bacteria, intracytoplasmic	NA	NA	++ [1]	NA	---	NA	NA	NA	NA	NA

Table continued on next page

2.6.7.7.8 Repeat-Dose Toxicity 52W TIW in Cynomolgus Monkeys (ISN: 301_06_3520_092) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		3		10		20		30		
<i>Noteworthy Findings in Recovery Period</i>											
Number of Animals	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	M: 2	F: 2	
Clinical Observations	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Body Weights (kg)											
Recovery Week 1	3.0	2.9	2.9	2.8	3.1	2.8	3.5	2.8	3.0	2.8	
Recovery Week 9	3.2	2.7	2.9	2.8	3.3	2.8	3.6	2.7	3.2	2.8	
Gain (Week 53-Recovery Week 9)	0.2	-0.1	0.0	-0.1	0.3	0.1	0.2	0.0	0.4	-0.1	
Physical Examination	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Electrocardiogram	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Ophthalmology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Urinalysis	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Hematology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Clinical Chemistry	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Gross Pathology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Organ Weights	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Histopathology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

F: female; M: male; TIW: three times weekly; NA: not applicable; P: present; ---: no noteworthy findings; +: minimal, ++: slight, +++: moderate.

*: $P \leq 0.05$ (Statistically significant difference from the control group).

†: ANOVA (and Dunnett's, if applicable).

‡: Rank-transformed data.

a: Animal No. I60706; found dead on Day 135 due to bacteremia.

b: Animal No. I60713; humanely euthanized on Day 109 due to bacteremia.

c: Findings noted in the dead animal (Animal No. I60706).

d: Findings noted in the animal sacrificed in extremis (Animal No. I60713).

e: Findings noted on Days 39 and 201 (Animal No. I60719).

2.6.7.8 in vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 復帰突然変異試験

2.6.7.8.1 Genotoxicity: In Vitro Report Title: *Salmonella typhimurium*-*Escherichia coli*/Mammalian-Microsome Reverse Mutation Assay 被験物質：ロキサデュスタット
with a Confirmatory Assay with FG-4592 (Ames Test)

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	Number of Independent Experiments: 2†	Study No. 7574-107 (ISN: 301_05_3510_026)
Strains: <i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535 and TA1537, and <i>E. coli</i> WP2 uvrA	Number of Replicate Cultures: 3	CTD Number: 4.2.3.3.1-1
Metabolizing System: Aroclor TM 1254-induced rat liver S9		GLP Compliance: Yes
Vehicles: Test Article; DMSO		Date of Treatment: [REDACTED]
Treatment: Plate incorporation method (incubation: 37 °C 52 h)		
Cytotoxic Effects: ≥ 1000 µg/plate both with and without metabolic activation		
Genotoxic Effects: None		

First trial

Metabolic activation	Test article	Dose level (µg/plate)	Mean number of revertant colonies per plate					
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 uvrA	
Without	Vehicle control: DMSO	0	12	89	11	8	17	
	Roxadustat	10.0	12	77	9	4	NT	
		33.3	10	69	10	6	15	
		100	8	74	13	7	13	
		333	9	94	13	5	13	
		1000	9 ^R	53 ^R	5 ^R	4 ^R	15	
		3330	NT	NT	NT	NT	4 ^R	
		5000	2 ^R	0 ^R	0 ^R	0 ^R	1 ^R	
	Positive control	2-nitrofluorene	1.0	324	NT	NT	NT	NT
		Sodium azide	2.0	NT	953	750	NT	NT
		ICR-191	2.0	NT	NT	NT	954	NT
		4-nitroquinoline-N-oxide	1.0	NT	NT	NT	NT	334

Table continued on next page

2.6.7.8.1 Genotoxicity: In Vitro

Reverse mutation (ISN: 301_05_3510_026) (continued)

添付資料番号：4.2.3.3.1-1

First trial

Metabolic activation	Test article	Dose level (µg/plate)	Mean number of revertant colonies per plate					
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 uvrA	
With	Vehicle control: DMSO	0	25	113	14	10	12	
	Roxadustat	10.0	19	117	14	5	NT	
		33.3	23	101	13	6	20	
		100	23	108	11	7	17	
		333	26	122	12	5	13	
		1000	16 ^R	84 ^R	8 ^R	5 ^R	11	
		3330	NT	NT	NT	NT	9 ^R	
		5000	0 ^R	9 ^R	1 ^R	1 ^R	9 ^R	
	Positive control	benzo[a]pyrene	2.5	452	NT	NT	NT	NT
		2-aminoanthracene	2.5	NT	568	134	113	NT
			25.0	NT	NT	NT	NT	401

Second trial

Metabolic activation	Test article	Dose level (µg/plate)	Mean number of revertant colonies per plate					
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 uvrA	
Without	Vehicle control: DMSO	0	12	106	15	7	13	
	Roxadustat	10.0	15	97	16	6	16	
		33.3	13	91	12	5	15	
		100	11	109	15	6	13	
		333	15	98	15	6	16	
		1000	11 ^R	72 ^R	11 ^R	4 ^R	10 ^R	
		5000	1 ^R	2 ^R	0 ^R	0 ^R	10 ^R	
	Positive control	2-nitrofluorene	10.0	2153	NT	NT	NT	NT
		Sodium azide	2.0	NT	1125	599	NT	NT
		ICR-191	2.0	NT	NT	NT	653	NT
		4-nitroquinoline-N-oxide	1.0	NT	NT	NT	NT	181

Table continued on next page

2.6.7.8.1 Genotoxicity: In Vitro

Reverse mutation (ISN: 301_05_3510_026) (continued)

添付資料番号 : 4.2.3.3.1-1

Second trial

Metabolic activation	Test article	Dose level (µg/plate)	Mean number of revertant colonies per plate						
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 uvrA		
With	Vehicle control: DMSO		0	15	117	13	4	8	
	Roxadustat		10.0	17	103	14	11	7	
			33.3	11	111	12	8	12	
			100	16	111	18	7	9	
			333	19	108	8	7	9	
			1000	11 ^R	91 ^R	8 ^R	6 ^R	7	
			5000	1 ^R	22 ^R	2 ^R	0 ^R	10 ^R	
	Positive control	benzo[a]pyrene		2.5	235	NT	NT	NT	NT
		2-aminoanthracene		2.5	NT	525	24	56	NT
				25.0	NT	NT	NT	NT	316

Third trial

Metabolic activation	Test article	Dose level (µg/plate)	Mean number of revertant colonies per plate	
			TA1535	
With	Vehicle control: DMSO		0	10
	Roxadustat		10.0	10
			33.3	11
			100	15
			333	9
			1000	11
			5000	2 ^R
	Positive control	2-aminoanthracene	2.5	119

DMSO: dimethyl sulfoxide; NT: not tested; R: reduced background lawn.

†: Experiments with TA1535 was conducted three times.

2.6.7.8.2 染色体異常試験

2.6.7.8.2 Genotoxicity: In Vitro

Report Title: Chromosomal Aberrations in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes
(FG-4592)

被験物質：ロキサデュスタット

Test for Induction of: Chromosomal aberrations				Number of Independent Assays: 2†			Study No. 7574-108 (ISN: 301_05_3510_027)		
Strains: Human peripheral blood lymphocytes				Number of Replicate Cultures: 2			CTD Number: 4.2.3.3.1-2		
Metabolizing System: Aroclor™ 1254-induced rat liver S9				Number of Cells Analyzed/Culture: 100			GLP Compliance: Yes		
Vehicles: Test Article: DMSO, Positive Controls: Deionized water							Date of Treatment: ██████████		
Treatment: Method without metabolic activation: 3 [#] - and 22-h treatment without metabolic activation									
Method with metabolic activation: 3 [#] -h treatment with metabolic activation									
Cytotoxic Effects: Concentration-dependent inhibition in cell growth									
Genotoxic Effects: None									
Treatment	Test article	Concentration (µg/mL)	Mitotic Index Reduction ^a	Number of cells with structural aberrations			Number of polyploid cells ^b	Number of endoreduplication cells ^b	Judgement (+/-)
				TA [-g] ^b	TA [+g] ^b	Judgement (+/-)			
Without metabolic activation 3 h [#]	RPMI 1640 ^c	0	NA	0 (0.0)	2 (1.0)	NT	0 (0.0)	0 (0.0)	NT
	DMSO ^d	0	0	0 (0.0)	1 (0.5)	NA	0 (0.0)	0 (0.0)	NA
	Roxadustat	101	0	0 (0.0)	1 (0.5)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-
		144	0	1 (0.5)	2 (1.0)	-	1 (0.5)	0 (0.0)	-
		206	27	2 (1.0)	4 (2.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-
	294 ^f	48	0 (0.0)	1 (0.5)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-	
MMC ^e	1.50 ^g	NT	26 (28.0)	28 (30.1)	+	0 (0.0)	0 (0.0)	-	
Without metabolic activation 22 h	RPMI 1640 ^c	0	NA	0 (0.0)	3 (1.5)	NT	0 (0.0)	0 (0.0)	NT
	DMSO ^d	0	0	0 (0.0)	1 (0.5)	NA	0 (0.0)	0 (0.0)	NA
	Roxadustat	25.0	NT	1 (0.5)	3 (1.5)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-
		50.0	NT	0 (0.0)	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-
		100	0	0 (0.0)	2 (1.0)	-	1 (0.5)	0 (0.0)	-
		200 ^f	56	0 (0.0)	1 (0.5)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-
MMC ^e	0.300 ^h	NT	35 (23.3)	35(23.3)	+	0 (0.0)	0 (0.0)	-	

Table continued on next page

2.6.7.8.2 Genotoxicity: In Vitro

CA Assay (ISN: 301_05_3510_027) (Continued)

添付資料番号 : 4.2.3.3.1-2

reatment	Test article	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Mitotic Index Reduction ^a	Number of cells with structural aberrations			Number of polyploid cells ^b	Number of endoreduplication cells ^b	Judgement (+/-)
				TA [-g] ^b	TA [+g] ^b	Judgement (+/-)			
With metabolic activation 3 h [#]	RPMI 1640 ^c	0	NA	0 (0.0)	1 (0.5)	NT	0 (0.0)	0 (0.0)	NT
	DMSO ^d	0	0	3 (1.5)	4 (2.0)	NA	0 (0.0)	0 (0.0)	NA
	Roxadustat	101	10	0 (0.0)	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-
		144	20	1 (0.5)	1 (0.5)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-
		206	36	3 (1.5)	7 (3.5)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-
		294 ^f	61	1 (0.5)	3 (1.5)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-
	CP ^e	25.0 ^h	NT	43 (28.7)	48 (32.0)	+	0 (0.0)	0 (0.0)	-
With metabolic activation 3 h [#]	RPMI 1640 ^c	0	NA	1 (0.5)	2 (1.0)	NT	0 (0.0)	0 (0.0)	NT
	DMSO ^d	0	0	2 (1.0)	6 (3.0)	NA	0 (0.0)	0 (0.0)	NA
	Roxadustat	100	9	2 (1.0)	3 (1.5)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-
		200	29	0 (0.0)	0 (0.0)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-
		250	39	0 (0.0)	1 (0.5)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-
		300 ^f	45	7 (3.5)	9 (4.5)	-	0 (0.0)	0 (0.0)	-
	CP ^e	25.0 ⁱ	NT	34 (34.0)	36 (36.0)	+	0 (0.0)	0 (0.0)	-

DMSO: dimethyl sulfoxide; MMC: mitomycin C; CP: cyclophosphamide; RPMI 1640: culture medium; 3 h[#]: 3-h treatment + 19-h recovery; NT: not tested; NA: not applicable; TA [+g]: total aberration including gap; TA [-g]: total aberration excluding gap.

†: Number of assays of 3h and 22h without metabolic activation assays are one.

a: % Mitotic index reduction as compared to the vehicle control.

b: Parenthetical values are incidence (%).

c: Negative control.

d: Vehicle control.

e: Positive control.

f: Number of Cells Analyzed/Culture; 200 (Number of Replicate Cultures: 1).

g: Number of Cells Analyzed/Culture; 25 or 68.

h: Number of Cells Analyzed/Culture; 75.

i: Number of Cells Analyzed/Culture; 50.

+: Significantly greater in -g than the vehicle control $p \leq 0.01$ (Fisher's Exact Test).

Significantly greater in % polyploidy endoreduplication than the vehicle control $p \leq 0.01$ (Fisher's Exact Test).

-: No significantly different from the vehicle control.

2.6.7.9 in vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1 マウスを用いた小核試験

2.6.7.9.1 Genotoxicity: In Vivo

Report Title: FG-4592: In vivo Mouse Micronucleus Assay

被験物質：ロキサデュスタット

Test for Induction of: Bone marrow micronuclei		Duration of Dosing: 1 day (once)				Study No. 7574-109 (ISN: 301_05_3510_028)	
Species/Strain: Hsd:ICR (CD-1) mice		Sampling Time: 24 h after dosing: Test article groups, positive control and vehicle control 48 h after dosing: Vehicle control and test article group at 500 mg/kg				CTD Number: 4.2.3.3.2-1	
Age: Approximately 8 weeks		Method of Administration: Gavage					
Cells Evaluated: Polychromatic erythrocytes			Vehicle/Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension				
No. of Cells Analyzed/Animal: Micronucleus frequency; the number of micronucleated PCEs from at least 2000 PCEs. PCE:NCE ratio; the number of PCEs and NCEs observed while scoring at least 500 erythrocytes.					Date of Dosing: ██████████	GLP Compliance: Yes	
Special Features: None							
Toxic/Cytotoxic Effects: No effect							
Genotoxic Effects: None							
Evidence of Exposure: None							
Sex	Test article	Dose (mg/kg)	Dosing Volume (mL/kg)	Number of animals	Sampling time (h)	% Micronucleated PCEs Mean of 2000 per Animal ± S.E.	Ratio PCE:NCE Mean ± S.E.
Male	Vehicle (vehicle control)	0	10	5	24	0.08 ± 0.03	0.39 ± 0.04
				5	48	0.14 ± 0.03	0.29 ± 0.07
	CP (positive control)	80	10	5	24	1.92 ± 0.22*	0.40 ± 0.04
	Roxadustat	50	10	5	24	0.10 ± 0.03	0.44 ± 0.03
				5	24	0.12 ± 0.03	0.42 ± 0.05
				5	48	0.15 ± 0.02	0.35 ± 0.06
		500	10	5	48	0.19 ± 0.04	0.31 ± 0.10

*: Significantly greater than the corresponding vehicle control, P≤0.01 (Dunnett's t-test).

Vehicle: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80.

CP: cyclophosphamide.

PCE: polychromatic erythrocyte.

NCE: normochromatic erythrocyte.

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.1 CD-1 マウスを用いた間歇投与によるがん原性試験

2.6.7.10.1 Carcinogenicity Report Title: A 2-Year Carcinogenicity Study of FG-4592 by Oral Gavage Administration in CD-1 Mice 被験物質: ロキサデュスタット

Species/ Strain: CD-1 mice		Duration of Dosing: 2 years						Study No. 20001884 (ISN: 352010016)			
Initial Age: Approximately 6 weeks at Week 1		Method of Administration: Gavage, three times/week intermittently						CTD Number: 4.2.3.4.1-1			
Date of First Dose: [REDACTED]		Treatment of Controls: Vehicle and saline						GLP Compliance: Yes			
Vehicle/ Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension											
Basis for High-Dose Selection: The FDA Carcinogenicity Assessment Committee recommended doses of 0 (vehicle control), 0 (saline control), 15, 30, and 60 mg/kg by oral gavage, 3 times/week, based on the MTD (polycythemia and related events at the dose of 100 mg/kg) and mortalities at 150 mg/kg, in the 13-week studies.											
Special Features: Based on the communications with the FDA Carcinogenicity Assessment Committee, due to reduced survival (≤ 20 animals remaining), dosing was discontinued during Week 104 and scheduled euthanasia for males and females in all groups was conducted during Weeks 104 to 106.											
Conclusion: Oral gavage administration of roxadustat 3 times a week to CD-1 mice for up to 104 weeks at doses of 15, 30, and 60 mg/kg did not result in a carcinogenic effect or test article-related non-neoplastic histopathological findings. A trend towards increased hematocrit occurred in animals treated with 30 and 60 mg/kg of the test article, which was in line with expected test article pharmacology based on results of a repeated dose 3-month mouse study.											
Toxicokinetics											
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Vehicle)		0 (saline)		15		30		60	
Number of Animals $\ddagger\ddagger$		24/M	24/F	24/M	24/F	72/M	72/F	72/M	72/F	72/M	72/F
t _{max} (h)	D 1	NC	NC	NC	NC	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	Mo 6	NC	NC	NC	NC	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	Mo 12	NC	NC	NC	NC	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
	Mo 18	NC	NC	NC	NC	0.5	0.5	1.0	4.0	0.5	1.0
C _{max} (ng/mL)	D 1	NC	NC	NC	NC	40900	42900	70500	112000	158000	174000
	Mo 6	NC	NC	NC	NC	40100	41300	76400	62100	117000	109000
	Mo 12	NC	NC	NC	NC	31200	35400	50100	61400	109000	112000
	Mo 18	NC	NC	NC	NC	35100	35500	40800	31000	71000	95000
AUC ₀₋₂₄ (ng·h/mL)	D 1	NC	NC	NC	NC	145000	141000	274000	400000	642000	882000
	Mo 6	NC	NC	NC	NC	127000	186000	265000	286000	614000	462000
	Mo 12	NC	NC	NC	NC	94300	157000	189000	279000	443000	672000
	Mo 18	NC	NC	NC	NC	225000	190000	233000	269000	434000	633000
Noteworthy Findings in Treatment Period											
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Vehicle)		0 (saline)		15		30		60	
Number of Animals		60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F
Died or Sacrificed Moribund		38	33	40	41	37	31	29	34	44	39
Terminal Sacrifice		22	27	20	19	23	29	31	26	16	21
Survival (%)		38	45	34	32	38	47	52*§	43	27	35
Clinical Observations		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Body Weights (g)	W 1	30.0	22.7	29.9	22.1*†	29.7	22.7 [59]	29.6	23.0	29.8	22.5
	W 13	40.6	30.3	40.0	30.3	40.9	31.7	39.9	32.0*‡ [59]	40.0	32.0*‡
	W 26	43.8 [58]	33.0	43.4	32.9 [59]	43.7	34.1	42.4	34.3 [59]	42.4	35.2*‡ [59]
	W 54	46.0 [51]	36.9 [55]	47.1 [57]	37.7 [57]	46.7 [56]	37.1 [55]	45.1	37.7 [55]	44.7 [52]	39.2 [57]

Table continued on next page

2.6.7.10.1 Carcinogenicity

Carcinogenicity in CD-1 Mice (ISN: 352010016) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.4.1-1

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Vehicle)		0 (saline)		15		30		60		
	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F	
Number of Animals											
Body Weights (g) [No. of animals]	W 78	46.0 [43]	39.6 [48]	46.6 [50]	37.6 [41]	46.5 [51]	39.3 [47]	45.3 [51]	39.1 [46]	45.6 [43]	41.0 [42]
	W104	43.2 [23]	38.6 [28]	43.7 [20]	37.4 [19]	44.2 [24]	37.1 [30]	44.6 [32]	39.6 [27]	44.7 [18]	40.5 [22]
Food Consumption (g/animal/day) [No. of animals]	W 1-2	8.1	6.6 [59]	7.6 [58]	6.4*‡	7.8	6.2 [59]	7.9	6.8	7.2*‡	6.4
	W 12-13	7.8 [59]	7.3	7.1	7.6 [57]	7.3 [59]	7.2	6.8*‡	8.2 [59]	6.7*‡	7.4
	W 25-26	7.3 [58]	7.2	6.8	7.5 [54]	7.4 [58]	6.7 [59]	6.2*‡	7.4 [59]	7.0	7.9 [59]
	W 54-55	7.4 [51]	7.7 [53]	6.8 [56]	8.3 [55]	7.2 [55]	7.5 [55]	6.9	8.4 [54]	6.9 [52]	8.1 [57]
	W 78-79	7.4 [43]	8.6 [47]	8.0 [48]	8.3 [39]	7.3 [50]	7.0*‡ [45]	6.8*‡ [50]	7.0*‡ [43]	7.2 [40]	7.9 [39]
	W 103-104	6.9 [23]	6.9 [25]	6.6 [19]	8.0 [19]	7.2 [24]	7.8 [30]	6.8 [32]	8.7 [27]	7.4 [18]	9.5 [22]
Number of Animals		2/M	3/F	2/M	2/F	7/M	7/F	11/M	8/F	10/M	9/F
Hematology											
Red Blood Cells (10 ⁶ /μL)	Mo 18	8.98	8.47	9.23	8.48	8.71	8.20	9.14	9.14	8.87	8.72
Hemoglobin (g/dL)	Mo 18	13.1	12.2	13.1	12.3	12.9	12.4	13.5	14.1	13.5	13.9
Hematocrit (%)	Mo 18	41.2	40.7	42.7	39.2	43.2	41.0	44.7	46.9	44.6	46.1
Number of Animals		3/M	5/F	3/M	2/F	8/M	11/F	14/M	9/F	13/M	8/F
Clinical Chemistry	Mo 18	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Number of Animals		60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F
Gross Pathology		---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
Total Primary Tumors^a		42	52	NA	NA	56	62	63	57	45	65
Total Benign Tumors		31	22	NA	NA	33	36	44	26	26	30
Total Malignant Tumors^b		11	30	NA	NA	23	26	19	31	19	35
Total Animals with Tumors		32	40	NA	NA	39	42	40	38	36	42
Histopathology Primary Neoplastic Lesion (Test Article-Related Changes)		---	---	NA	NA	---	---	---	---	---	---
Histopathology Primary Neoplastic Lesion (Spontaneous Changes)											
Adrenal Gland, Cortical Adenoma		2	0	NA	NA	2	0	1	0	2	0
Adrenal Gland, Subcapsular Adenoma		0	1	NA	NA	1	1	3	1	0	0
Adrenal Gland, Pheochromocytoma, Malignant		1	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Adrenal Gland, Pheochromocytoma, Benign		0	1	NA	NA	0	1	0	0	0	0
Bone, Osteosarcoma		0	0	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Bone, Sternum, Osteosarcoma		0	0	NA	NA	0	0	0	1	0	0

Table continued on next page

2.6.7.10.1 Carcinogenicity

Carcinogenicity in CD-1 Mice (ISN: 352010016) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.4.1-1

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Vehicle)		0 (saline)		15		30		60	
	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F
Histopathology Primary Neoplastic Lesion (Spontaneous Changes)										
Brain, Meningioma	1	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Diaphragm, Carcinosarcoma	1	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Diaphragm, Fibrosarcoma	0	0	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Gallbladder, Papilloma	0	0	NA	NA	0	1	1	0	1	0
Harderian Gland, Adenoma	6	1	NA	NA	4	1	6	0	4	2
Harderian Gland, Adenocarcinoma	1	0	NA	NA	3	1	2	2	0	0
Hemolymphoreticular, Lymphoma, Malignant	5	9	NA	NA	2	10	3	7	5	16
Hemolymphoreticular, Histiocytic Sarcoma	1	2	NA	NA	0	1	1	1	1	3
Hemolymphoreticular, Leukemia	0	0	NA	NA	1	1	0	0	0	1
Hemolymphoreticular, Mast Cell Tumor	0	0	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Jejunum, Adenocarcinoma	0	0	NA	NA	0	0	2	0	0	0
Liver, Hepatocellular Adenoma	10	1	NA	NA	8	0	13	0	6	0
Liver, Hepatocellular Carcinoma	0	0	NA	NA	3	0	1	0	1	0
Liver, Histiocytic Sarcoma	0	0	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Liver, Hemangiosarcoma	0	1	NA	NA	1	0	0	0	0	0
Liver, Hemangioma	0	0	NA	NA	0	1	0	0	0	0
Lung, Bronchioloalveolar Adenoma	10	5	NA	NA	14	11	17	7	9	6
Lung, Bronchioloalveolar Carcinoma	0	2	NA	NA	11 [¶]	5	4	3	8 [¶]	1
Lung, Hemangiosarcoma	0	1	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Lung, Mesothelioma	0	1	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Mammary Gland, Adenocarcinoma	NA	1	NA	NA	NA	0	NA	5	NA	3
Mammary Gland, Adenosquamous Carcinoma	NA	1	NA	NA	NA	0	NA	0	NA	0
Mesenteric Lymph Node, Histiocytic Sarcoma	0	0	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Ovary, Adenocarcinoma	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	0
Ovary, Cystadenoma	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	0	NA	1
Ovary, Granulosa Cell Tumor	NA	0	NA	NA	NA	1	NA	0	NA	0
Ovary, Adenoma	NA	0	NA	NA	NA	1	NA	1	NA	0
Ovary, Hemangiosarcoma	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	0
Ovary, Hemangioma	NA	0	NA	NA	NA	1	NA	1	NA	2
Ovary, Luteoma	NA	0	NA	NA	NA	1	NA	0	NA	1
Pancreas, Islet Cell Adenoma	0	1	NA	NA	0	1	0	0	1	1
Pancreas, Islet Cell Carcinoma	0	0	NA	NA	0	0	0	0	1	0

Table continued on next page

2.6.7.10.1 Carcinogenicity

Carcinogenicity in CD-1 Mice (ISN: 352010016) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Vehicle)		0 (saline)		15		30		60	
	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F
Histopathology Primary Neoplastic Lesion (Spontaneous Changes)			NA	NA						
Parathyroid Gland, Adenoma	0	1	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Pituitary, Adenoma	0	2	NA	NA	0	1	0	2	1	4
Skeletal Muscle, Fibrosarcoma	0	0	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Skeletal Muscle, Hemangiosarcoma	0	1	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Muscle, Osteosarcoma	0	0	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Skin, Fibrous Histiocytoma	1	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Skin, Carcinoma, Basal Cell	0	0	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Skin, Schwannoma	0	0	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Spleen, Hemangioma	0	0	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Spleen, Hemangiosarcoma	0	1	NA	NA	0	2	2	0	3	1
Spleen, Histiocytic Sarcoma	0	0	NA	NA	1	0	0	0	0	0
Subcutis, Fibrosarcoma	0	0	NA	NA	1	0	0	0	0	4††
Subcutis, Hemangioma	0	0	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Subcutis, Hemangiosarcoma	1	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Subcutis, Osteoma	0	0	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Subcutis, Rhabdomyosarcoma	0	1	NA	NA	0	1	0	0	0	0
Subcutis, Sarcoma	0	0	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Subcutis, Lipoma	0	0	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Subcutis, Squamous Cell Carcinoma	0	0	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Subcutis, Schwannoma	0	1	NA	NA	0	1	0	0	0	0
Subcutis, Osteosarcoma	0	0	NA	NA	0	1	0	0	0	0
Testis, Interstitial (Leydig) Cell Carcinoma	0	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Testis, Interstitial (Leydig) Cell Adenoma	1	NA	NA	NA	4	NA	1	NA	1	NA
Testis, Hemangioma	0	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Testis, Sertoli Cell Tumor	0	NA	NA	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Thymus, Lymphoma, Malignant	0	1	NA	NA	0	1	0	0	0	0
Thymus, Thymoma, Malignant	0	1	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Thymus, Thymoma, Benign	0	0	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Thyroid Gland, Follicular Cell Adenoma	1	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Thyroid Gland, Lymphoma, Malignant	0	1	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Uterus, Endometrial Stromal Polyp	NA	5	NA	NA	NA	11	NA	4	NA	7
Uterus, Endometrial Stromal Sarcoma	NA	1	NA	NA	NA	2	NA	1	NA	1

Table continued on next page

2.6.7.10.1 Carcinogenicity Carcinogenicity in CD-1 Mice (ISN: 352010016) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Vehicle)		0 (saline)		15		30		60	
	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F	60/M	60/F
Histopathology Primary Neoplastic Lesion (Spontaneous Changes)										
Uterus, Leiomyoma	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	2	NA	1
Uterus, Leiomyosarcoma	NA	1	NA	NA	NA	0	NA	0	NA	1
Uterus, Hemangioma	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	4	NA	0
Uterus, Adenocarcinoma	NA	2	NA	NA	NA	0	NA	0	NA	0
Uterus, Sarcoma, Stromal	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	0	NA	1
Cervix, Endometrial Stromal Polyp	NA	3	NA	NA	NA	3	NA	0	NA	1
Cervix, Leiomyosarcoma	NA	1	NA	NA	NA	0	NA	0	NA	0
Cervix, Leiomyoma	NA	1	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	0
Cervix, Endometrial Adenocarcinoma	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	0
Cervix, Sarcoma, Stromal	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	0
Cervix, Schwannoma	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	0	NA	1
Vagina, Papilloma	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	2	NA	1
Zymbal's Gland, Squamous Cell Carcinoma	0	0	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Total Blood Vascular Tumors, Benign	0	0	NA	NA	0	2	1	6	0	3
Total Blood Vascular Tumors, Malignant	1	4	NA	NA	1	2	2	1	3	1
Histopathology Non-Neoplastic Lesions	---	---	NA	NA	---	---	---	---	---	---

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

D: day of dosing; W: week of dosing; Mo: month of dosing; M: male; F: female; NC: not calculated; NA: not applicable; ---: no noteworthy findings.

Significant difference from the control group: *: P<0.05, †: Anova/Dunnett-Test, ‡: Kruskal-Wallis/Dunn's, §: trend test, ¶: Significant difference from the control group, P<0.01 (Pairwise), ††: Significant difference from the control group, P<0.005 (Trend)

‡‡: Calculation of toxicokinetic parameters was based on 3 animals/sex/group/time point. Due to mortality over time, only 1 to 3 animals per sex per time point were sampled at month 18.

a: Includes all occurrences of benign, malignant with metastasis primary, and malignant without metastasis.

b: Includes all occurrences of malignant with metastasis primary and malignant without metastasis.

2.6.7.10.2 SD ラットを用いた間歇投与によるがん原性試験

2.6.7.10.2 Carcinogenicity

Report Title: A 2-Year Carcinogenicity Study of FG-4592 by Oral Gavage Administration in Sprague

被験物質：ロキサデュスタット

Dawley Rats

Species/ Strain: Crl:CD(SD) rats		Duration of Dosing: 2 years						Study No. 20001883 (ISN: 352010015)			
Initial Age: Approximately 7 weeks at Week 1		Method of Administration: Gavage, three times/week intermittently						CTD Number: 4.2.3.4.1-2			
Date of First Dose: ██████████		Treatment of Controls: Vehicle and saline						GLP Compliance: Yes			
Vehicle/ Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension											
Basis for High-Dose Selection: The FDA Carcinogenicity Assessment Committee recommended doses of 0 (vehicle), 0 (saline), 2.5, 5 and 10 mg/kg by oral gavage 3 times/week, based on the MTD (polycythemia and related events at the dose of 15 mg/kg tested in the 6-month study).											
Special Features: Based on the communications with the FDA Carcinogenicity Assessment Committee, dosing for either sex continued until the number of surviving control (vehicle and saline) animals decreased to 20 or the number of surviving animals in any of the drug-treated groups decreased to 15 prior to Week 100. All groups for a given sex were to be terminated when the number of surviving control animals decreased to 20 or the number of surviving animals in any drug-treated group decreased to 15.											
Conclusion: Oral gavage administration of roxadustat 3 times a week to rats for up to 98 weeks (females) and 104 weeks (males) at doses of 0, 2.5, 5, or 10 mg/kg/day did not result in carcinogenic effects. Increases in erythrocytes, hemoglobin, and hematocrit at 12 months and increases in red cell distribution width % at 24 months were considered to be exaggerated pharmacology of roxadustat similar to results observed in repeated dose 6-month rat studies. Test article-related non-neoplastic microscopic findings were limited to atrial/aortic thromboses in 10 mg/kg males and bone marrow hypercellularity in all treated groups, consistent with the pharmacology of roxadustat, and hepatocellular vacuolation (considered an adaptive/non-adverse change) in all treated female groups.											
Toxicokinetics											
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Vehicle)		0 (saline)		2.5		5		10	
Number of Animals††		6/M	6/F	6/M	6/F	24/M	24/F	24/M	24/F	24/M	24/F
t_{max} (h)	D 1	NC	NC	NC	NC	2.0	1.0	1.0	2.0	1.0	0.5
	Mo 6	NC	NC	NC	NC	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0	0.5
	Mo 12	NC	NC	NC	NC	0.5	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5
	Mo 18	NC	NC	NC	NC	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5
	Mo 24/22	NC	NC	NC	NC	0.5	0.5	1.0	1.0	1.0	4.0
C_{max} (ng/mL)	D 1	NC	NC	NC	NC	6760	7670	13000	12000	30400	24800
	Mo 6	NC	NC	NC	NC	13400	15300	28900	29900	57800	71800
	Mo 12	NC	NC	NC	NC	15500	15400	29600	36500	66900	78700
	Mo 18	NC	NC	NC	NC	12900	14600	27600	26500	57500	51000
	Mo 24/22	NC	NC	NC	NC	17100	11100	23400	15900	67600	52600
AUC₀₋₂₄ (ng·h/mL)	D 1	NC	NC	NC	NC	41200	45600	94700	89600	213000	184000
	Mo 6	NC	NC	NC	NC	69600	88600	176000	205000	404000	496000
	Mo 12	NC	NC	NC	NC	73700	83500	192000	182000	422000	452000
	Mo 18	NC	NC	NC	NC	78300	80300	163000	145000	545000	430000
	Mo 24/22	NC	NC	NC	NC	83000	44700	121000	113000	372000	337000
Noteworthy Findings in Treatment Period											
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Vehicle)		0 (saline)		2.5		5		10	
Number of Animals		75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F
Died or sacrificed moribund		45	52	37	55	44	48	46	52	52	51
Terminal Sacrifice		30	23	38	20	31	27	29	23	23	24
Survival (%)		40	31	51	27	45	36	40	31	32*§	32

Table continued on next page

2.6.7.10.2 Carcinogenicity

Carcinogenicity in SD Rats (ISN: 352010015) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Vehicle)		0 (saline)		2.5		5		10		
Number of Animals	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	
Clinical Observations	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Body Weights (g) [No. of animals]	W 1	229	169	227	170	228	168	226	167	226	170
	W 13	557 [74]	316	551	320	570	321	564 [74]	321	570 [74]	324
	W 26	651 [74]	368	647	375	666	371	666 [74]	374	677 [74]	379 [74]
	W 55	776 [71]	462 [70]	769	477 [68]	806 [71]	476 [69]	785 [72]	479 [71]	806 [69]	486 [69]
	W 79	815 [62]	484 [47]	819 [67]	525 [50]	859 [59]	529 [53]	829 [65]	510 [48]	828 [61]	534 [48]
	W104/99	799 [32]	527 [23]	794 [40]	573 [16]	844 [33]	543 [27]	776 [32]	583 [19]	789 [24]	574 [20]
Food Consumption (g/animal/day) [No. of animals]	W 1-2	29	22	29	22	30	22	30	23	29	22
	W 12-13	30 [72]	22 [73]	31	22	33*†	23 [72]	33*† [71]	23 [74]	32*† [74]	22 [73]
	W 25-26	28 [74]	22 [74]	29	22	31*†	24*† [74]	31*† [74]	23*† [74]	31*† [74]	23 [73]
	W 55-56	30 [71]	23 [69]	30 [71]	23 [64]	32*† [69]	25 [67]	31 [72]	24 [70]	32*† [69]	24 [67]
	W 79-80	31 [60]	24 [47]	31 [66]	26 [48]	34*† [59]	27 [50]	32 [65]	26 [47]	33*† [60]	27 [46]
	W 103-104/91-92	34 [32]	27 [31]	33 [38]	28 [33]	35 [33]	26 [38]	35 [31]	29 [34]	33 [24]	26 [30]
Number of Animals	5/M	4/F	6/M	6/F	23/M	24/F	23/M	24/F	24/M	23/F	
Hematology [No. of animals]											
Red blood cells (10 ⁶ /μL)	Mo 12	8.79	7.72	8.66	7.67	9.00	7.84	9.00	8.07	10.14*‡	8.26
	Mo 24/22	7.35 [3]	6.86 [1]	6.70 [2]	5.79 [1]	7.44 [9]	5.49 [8]	6.64 [10]	5.71 [11]	7.91 [6]	7.09 [7]
Hemoglobin (g/dL)	Mo 12	14.9	15.2	14.9	14.2	15.6	15.0	16.1	15.4	19.1*†	16.3
	Mo 24/22	13.2 [3]	12.5 [1]	11.9 [2]	10.9 [1]	13.6 [9]	10.3 [8]	11.9 [10]	11.3 [11]	15.9 [6]	14.2 [7]
Hematocrit (%)	Mo 12	45.4	45.5	45.1	42.3	47.4	44.3	48.5	45.6	58.3*‡	49.2
	Mo 24/22	41.4 [3]	41.4 [1]	37.4 [2]	34.1 [1]	42.2 [9]	33.6 [8]	38.2 [10]	36.6 [11]	48.2 [6]	45.5 [7]
Red Distribution Width (%)	Mo 24/22	14.5 [3]	15.1 [1]	16.8 [2]	15.7 [1]	14.3 [9]	15.2 [8]	16.9*† [10]	14.7 [11]	18.1*† [6]	16.6 [7]
Number of Animals	3/M	1/F	2/M	1/F	9/M	8/F	10/M	11/F	6/M	7/F	
Clinical Chemistry	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Number of Animals	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	
Gross Pathology	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	
Animal with Benign Tumors	55	62	NA	NA	50	64	49	68	49	64	
Animal with Malignant Tumors^a	21	19	NA	NA	22	20	19	20	15	21	
Total Tumors Bearing Animals	62	67	NA	NA	57	68	58	72	56	68	
Total Benign Tumors	86	105	NA	NA	71	110	67	131	70	103	

Table continued on next page

2.6.7.10.2 Carcinogenicity

Carcinogenicity in SD Rats (ISN: 352010015) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Vehicle)		0 (saline)		2.5		5		10	
	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F
Number of Animals	24	21	NA	NA	24	20	20	20	17	22
Total Malignant Tumors	110	126	NA	NA	95	130	87	151	87	125
Total Tumors	---	---	NA	NA	---	---	---	---	---	---
Histopathology Primary Neoplastic Lesion (Test Article-Related Changes)	---	---	NA	NA	---	---	---	---	---	---
Histopathology Primary Neoplastic Lesion (Spontaneous Changes)										
Adipose Tissue - Lipoma	0	0	NA	NA	0	0	1	0	0	2
Adipose Tissue (Brown Fat) - Hibernoma	0	0	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Brain - Astrocytoma, Malignant	1	1	NA	NA	0	0	0	0	3	0
Brain - Choroid Plexus Carcinoma	0	0	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Brain - Ependymoma, Malignant	2	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Brain - Granular Cell Tumor, Benign	1	0	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Brain - Granular Cell Tumor, Malignant	0	0	NA	NA	1	0	0	0	0	0
Brain - Meningioma, Malignant	1	0	NA	NA	0	0	0	0	1	0
Brain - Mixed Glioma, Malignant	3	0	NA	NA	0	0	0	2	1	0
Brain - Oligodendroglioma, Malignant	0	0	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Brain - Reticulosis, Malignant	1	0	NA	NA	1	0	0	0	0	0
Cervix - Endometrial Stromal Polyp	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	0
Cervix - Endometrial Stromal Sarcoma	NA	0	NA	NA	NA	1	NA	0	NA	0
Cervix - Granular Cell Tumor, Benign	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	0	NA	1
Cervix - Schwannoma, Malignant	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	0	NA	1
Epididymis - Adenocarcinoma	0	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Adrenal Cortex - Adenoma	0	0	NA	NA	1	0	1	1	0	1
Adrenal Cortex - Carcinoma	0	0	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Adrenal Medulla - Pheochromocytoma, Benign	8	1	NA	NA	6	2	4	1	8	1
Adrenal Medulla - Pheochromocytoma, Malignant	0	0	NA	NA	2	0	3	0	1	0
Mammary Gland - Adenoma	2	8	NA	NA	0	11	0	23	0	9
Mammary Gland - Adenocarcinoma	0	9	NA	NA	0	9	0	13	0	13
Mammary Gland - Fibroadenoma	0	28	NA	NA	0	39	1	32	0	25
Mammary Gland - Fibroma	0	0	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Gland, Parathyroid - Adenoma	2	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Gland, Pituitary - Adenoma	33	56	NA	NA	34	47	31	53	31	52

Table continued on next page

2.6.7.10.2 Carcinogenicity

Carcinogenicity in SD Rats (ISN: 352010015) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Vehicle)		0 (saline)		2.5		5		10	
	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F
Histopathology Primary Neoplastic Lesion (Spontaneous Changes)										
Gland, Pituitary - Adenocarcinoma	0	3	NA	NA	0	3	1	2	1	3
Salivary Gland - Adenocarcinoma	1	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Gland, Thyroid - C-cell Adenoma	7	2	NA	NA	9	4	7	1	9	5
Gland, Thyroid - C-cell Carcinoma	0	1	NA	NA	2	0	1	0	0	0
Gland, Thyroid - Follicular Cell Adenoma	4	1	NA	NA	3	0	3	2	3	0
Gland, Thyroid - Follicular Cell Carcinoma	1	0	NA	NA	3	0	0	0	0	0
Gland, Zymbals - Adenoma	1	1	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Gland, Zymbals - Carcinoma	1	0	NA	NA	0	2	0	0	1	0
Hemolymphoreticular - Histiocytic Sarcoma	0	1	NA	NA	0	0	0	0	1	0
Hemolymphoreticular - Lymphoma, Malignant	2	0	NA	NA	1	1	1	0	1	1
Kidney - Tubular Cell Adenoma, Amphophylic - Vacuolar, Multiple	0	0	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Kidney - Tubular Cell Carcinoma, Multiple	0	0	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Liver - Hepatocellular Adenoma	5	0	NA	NA	2	0	0	2	1	1
Liver - Hepatocellular Carcinoma	0	0	NA	NA	1	0	2	0	0	0
Liver - Histiocytic Sarcoma	0	0	NA	NA	1	1	0	0	0	0
Lung - Bronchioalveolar Adenoma	0	0	NA	NA	1	0	0	0	1	0
Lymph Node, Mesenteric - Lymphoma, Malignant	1	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Lymph Node, Mesenteric - Hemangiosarcoma	0	0	NA	NA	1	0	0	0	0	0
Muscle, Skeletal - Fibroma	0	0	NA	NA	1	0	0	0	0	0
Muscle, Skeletal - Histiocytic Sarcoma	1	1	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Muscle, Skeletal - Rhabdomyosarcoma	0	0	NA	NA	0	1	0	0	0	0
Ovary - Thecoma, Benign	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	0
Pancreas, Acinar Cell - Adenoma	1	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Pancreas, Islet Cell - Adenoma	14	3	NA	NA	9	2	10	3	11	2
Pancreas, Islet Cell - Carcinoma	0	0	NA	NA	1	0	0	0	0	0
Skin - Basal Cell Tumor, Benign	0	0	NA	NA	0	0	0	0	1	0
Skin, Cutaneous/Subcutaneous - Fibroma	1	0	NA	NA	1	0	3	3	2	0
Skin - Fibrosarcoma	0	0	NA	NA	2	1	1	0	0	0
Skin - Hemangioma	0	0	NA	NA	0	1	0	0	0	0
Skin, Subcutaneous - Histiocytic Sarcoma	4	2	NA	NA	1	0	3	2	1	0
Skin, Cutaneous/Subcutaneous - Leiomyosarcoma	0	0	NA	NA	1	0	0	0	0	1
Skin, Subcutaneous - Lipoma	3	0	NA	NA	0	0	1	1	1	0
Skin, Subcutaneous - Liposarcoma	0	0	NA	NA	0	0	0	1	0	0
Skin - Keratoacanthoma	0	0	NA	NA	0	0	0	0	0	1
Skin - Papilloma, Squamous Cell	2	0	NA	NA	1	0	2	1	1	0
Skin, Subcutaneous - Pleomorphic Sarcoma	1	0	NA	NA	0	0	1	0	2	0

Table continued on next page

2.6.7.10.2 Carcinogenicity

Carcinogenicity in SD Rats (ISN: 352010015) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Vehicle)		0 (saline)		2.5		5		10	
	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F	75/M	75/F
Histopathology Primary Neoplastic Lesion (Spontaneous Changes)										
Skin, Subcutaneous - Schwannoma, Malignant	1	0	NA	NA	1	0	0	0	0	0
Skin - Sarcoma (not otherwise specified)	0	0	NA	NA	3	0	1	0	2	0
Skin - Sebaceous Cell Adenoma	1	0	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Skin - Squamous Cell Carcinoma	0	0	NA	NA	1	0	0	0	0	0
Spinal Cord - Reticulosis, Malignant	1	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Spleen - Hemangiosarcoma	0	0	NA	NA	0	0	0	0	2	0
Spleen - Histiocytic Sarcoma	0	0	NA	NA	0	1	1	0	0	0
Spleen - Malignant Lymphoma	1	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Stomach - Carcinoid, Benign	0	0	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Stomach - Leiomyosarcoma	0	0	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Stomach - Squamous Cell Carcinoma	1	0	NA	NA	0	0	0	0	0	0
Testis - Interstitial Cell Adenoma	1	NA	NA	NA	1	NA	1	NA	1	NA
Thymus - Lymphoma, Malignant	0	1	NA	NA	1	0	0	0	0	0
Thymus - Thymoma, Benign	0	0	NA	NA	1	0	0	0	0	0
Thymus - Thymoma, Malignant	0	0	NA	NA	0	0	1	0	0	0
Urinary Bladder - Transitional Cell Papilloma	0	0	NA	NA	1	0	0	0	0	0
Uterus - Endometrial Stromal Polyp	NA	5	NA	NA	NA	4	NA	4	NA	1
Uterus - Endometrial Stromal Sarcoma	NA	1	NA	NA	NA	0	NA	0	NA	0
Uterus - Squamous Cell Carcinoma	NA	0	NA	NA	NA	0	NA	0	NA	1
Histopathology Non-Neoplastic Lesions										
Aorta - Thrombosis	0	0	NA	NA	0	0	0	0	1	0
Heart - Thrombosis; Atrial	0	0	NA	NA	0	1	0	0	6	0
Bone Marrow, Femur - Hypercellularity	17	26	NA	NA	20	34	20	34	31	39
Bone Marrow, Sternum - Hypercellularity	18	24	NA	NA	22	33	21	31	33	34
Liver - Hepatocellular, Vacuolation	15	17	NA	NA	20	24	16	31	19	34
Spleen - Increased Hematopoiesis	9	15	NA	NA	6	21	5	24	14	22

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

D: day of dosing; W: week of dosing; Mo: month of dosing; M: male; F: female; NC: not calculated; NA: not applicable; ---: no noteworthy findings.

Significant difference from the control group: *: P<0.05, †: Anova/Dunnett-Test, ‡: Kruskal-Wallis/Dunn's, §: Pairwise and trend test (vs saline control group), ¶: Significant difference from the control group, P<0.01 (Pairwise).

††: Calculation of toxicokinetic parameters was based on 3 animals/sex/group/time point. Due to mortality over time, only 1 to 2 animals per sex per time point were sampled at month 24.

a: Includes all occurrences of malignant with metastasis primary, and malignant without metastasis.

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity

Non-Pivotal Studies

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Dose (mg/kg)	No. of Pregnant Females per Group	Noteworthy Findings	Study Number CTD Number
Rat/Sprague Dawley	Gavage, once daily (1.0% Carboxymethylcellulose, 0.2% Polysorbate 80/Suspension)	GD 6-15	0, 2, 10, 30, 60	25- 0 mg/kg 23- 2 mg/kg 21- 10 mg/kg 24- 30 mg/kg 13- 60 mg/kg	Dams: 30 mg/kg: suppressed body weight gains, abortion (one dam). 60 mg/kg: 9 dams died on days 3 to 8 after dosing, decreased body weights, food consumption, total weight of pregnant uterus, placental weight, ovaries weight, and uterus-to-body weight ratio, suppressed body weight gains, increased post-implantation loss. Fetuses: 30 mg/kg: decreased fetal body weights, delayed skeletal ossification, reduced tail length. 60 mg/kg: decreased fetal body weights, reduced tail length. ≤60 mg/kg = no teratogenic effect.	A200921-T032 (ISN: 352009023) 4.2.3.5.2-1 (参)
Rabbit/New Zealand White	Gavage, once daily (0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension)	GD 7-19	0, 15, 35, 75, 150	4-5	Dams: ≥15 mg/kg: increased reticulocyte counts. ≥35 mg/kg: increased MCV. ≥75 mg/kg: suppressed body weight gains, increased red cell count, hemoglobin and hematocrit levels. 150 mg/kg: decreased food consumption and body weight, decreased MCHC. Fetuses: ≤150 mg/kg = no effect on fetal parameters.	GTA00099 (ISN: 352009028) 4.2.3.5.2-3 (参)

GD: gestation day; MCV: mean corpuscular volume; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration

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

2.6.7.12.1 SD ラットを用いた間歇投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する毒性試験

2.6.7.12.1 Reproductive and Developmental Toxicity Report Title: Oral (Gavage) Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation of FG-4592 in Sprague-Dawley Rats

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain: Crl:CD(SD) rats		Duration of Dosing: Males, 2 weeks before mating until the day before necropsy, Females, 2 weeks before mating through GD 7				Study No. 20017277 (ISN: 352012001)			
Initial Age: Males, 78 days; Females, 87 days		Day of Mating: GD 0				CTD Number: 4.2.3.5.1-1			
Date of First Dose: Males, ██████████, Females, ██████████		Day of Cesarean Section: GD 13				GLP Compliance: Yes			
Vehicle/Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/ Suspension		Method of Administration: Gavage, three times/week intermittently (GD 0-GD 7 in females; once daily)							
Special Features: Treated males and females were paired and mated with untreated females and males, respectively.									
No Observed Adverse-Effect Level: F0 parents for general toxicity: males, 5 mg/kg; females, 5 mg/kg. F0 parents for reproductive ability and F1 litters for early embryonic development: males, 30 mg/kg; females, 15 mg/kg									
Toxicokinetics									
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		5		15		30	
Number of Animals†		6/M	6/F	12/M	12/F	12/M	12/F	12/M	12/F
t_{max} (h) Day 1		NC	NC	2	0.5	2	2	2	2
Male: Day 43, Female: GD7		NC	NC	0.5	0.5	0.5	2	2	4
C_{max} (ng/mL) Day 1		NC	NC	14792	19115	49263	53720	116193	114874
Male: Day 43, Female: GD7		NC	NC	16261	12398	57262	52875	73162	89310
AUC_{0-24} (ng·h/mL) Day 1		NC	NC	92588	139644	389817	394988	879052	1090544
Male: Day 43, Female: GD7		NC	NC	101473	90303	408565	428808	779368	897761
Noteworthy Findings for F₀ Animals									
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)		5		15		30	
Number of Animals		25/M	25/F	25/M	25/F	25/M	25/F	25/M	25/F
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	1§	0	1¶	0
Clinical Observations		---	---	---	---	---	---	---	---
Body Weights (g):									
Day 15		417.2	265.3	416.7	264.5	419.6	269.2	414.0	274.0
Day 43		492.2	NA	499.7	NA	501.9	NA	482.4	NA
GD 0		NA	261.4	NA	266.4	NA	268.4	NA	270.9
GD 7		NA	294.7	NA	301.0	NA	303.6	NA	303.6
GD 8		NA	297.5	NA	304.5	NA	307.2	NA	306.9
GD 13		NA	326.8	NA	335.2	NA	333.2	NA	339.7
Gain (Day 1-15)		64.5	13.4	65.3	13.2	68.6	19.8*‡	63.3	26.2*‡
Gain (Day 1-43)		139.5	NA	148.3	NA	150.7	NA	131.7	NA

Table continued on next page

2.6.7.12.1 Reproductive and Developmental Toxicity Fertility and Early Embryonic Development in SD Rats with TIW (ISN: 352012001)

(Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		5		15		30	
	25/M	25/F	25/M	25/F	25/M	25/F	25/M	25/F
Number of Animals								
Body Weights (g):								
Gain (GD 0-7)	NA	33.3	NA	34.6	NA	35.2	NA	32.7
Gain (GD 8-10)	NA	8.1	NA	10.0	NA	7.8	NA	12.4*‡
Gain (GD 0-13)	NA	65.4	NA	68.8	NA	64.8	NA	68.8
Food Consumption (g/animal per period)								
Days 1-15	26.2	17.3	25.5	16.6	26.4	17.1	25.1	17.1
Days 1-43	26.9	NA	26.6	NA	27.4	NA	25.7	NA
GD 0-7	NA	21.0	NA	22.4	NA	21.3	NA	21.1
GD 7-8	NA	22.5	NA	23.5	NA	22.5	NA	20.2*‡
GD 10-13	NA	23.0	NA	24.2	NA	23.4	NA	26.2*‡
GD 0-13	NA	21.6	NA	23.0	NA	21.9	NA	22.5
Gross Pathology								
Lungs, all lobes: Dark red	0	0	0	0	0	0	1¶	0
Liver: Dark red	0	0	0	0	0	0	1	2
Spleen: Large	0	0	0	0	1	1	11*‡	10*‡
Spleen: White area	0	0	0	0	0	0	0	1
Organ Weights								
Epididymis, left (g)	0.7984	NA	0.7220	NA	0.7310	NA	0.6972*‡	NA
(% b.w.)	0.161	NA	0.143	NA	0.144	NA	0.138	NA
Epididymis, right (g)	0.7402	NA	0.7373	NA	0.7331	NA	0.6938*‡	NA
(% b.w.)	0.148	NA	0.144	NA	0.144	NA	0.141	NA
Seminal vesicles with fluid (g)	1.9504	NA	1.8932	NA	1.8266	NA	1.5591*‡	NA
(% b.w.)	0.392	NA	0.376	NA	0.360	NA	0.317*‡	NA
Spleen (g)	0.90	0.81	0.88	0.83	0.99	0.82	1.32*‡	1.12*‡
(% b.w.)	0.179	0.247	0.174	0.246	0.193	0.245	0.268*‡	0.330*‡
Liver (g)	17.15	15.00	16.79	15.51	16.24	15.39	16.31	16.45*‡
(% b.w.)	3.426	4.594	3.311	4.627	3.189*‡	4.617	3.322	4.844
Estrous Cycle								
Estrous stages/14 days	NA	3.3	NA	3.2	NA	3.3	NA	3.1
Sperm Motility, Count, Density	---	NA	---	NA	---	NA	---	NA
Mating and Fertility								
Days until copulation	2.4	1.8	2.4	2.5*‡	1.9	2.0	2.2	2.5
Copulation index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Fertility index (%)	100.0	100.0	96.0	88.0*‡	100.0	100.0	100.0	100.0
Number of Animals	25/M††	25/F‡‡	24/M††	22/F‡‡	25/M††	25/F‡‡	25/M††	25/F‡‡
Number of corpora lutea	15.1	15.0	15.1	15.9	15.0	14.9	15.1	15.4

Table continued on next page

2.6.7.12.1 Reproductive and Developmental Toxicity

Fertility and Early Embryonic Development in SD Rats with TIW (ISN: 352012001)

(Continued)

<i>Noteworthy Findings for F1 Litters</i>								
Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)		5		15		30	
Number of Animals	25/M††	25/F‡‡	24/M††	22/F‡‡	25/M††	25/F‡‡	25/M††	25/F‡‡
Cesarean-Section								
Number of implantations	14.8	14.1	14.7	15.5	14.6	14.5	14.8	14.7
Pre-implantation loss (%)	1.7	6.0	2.9	2.0	2.9	3.0	1.7	4.0
Number of live embryos	14.0	13.1	13.7	14.6*‡	14.1	13.6	13.9	12.5
Number of dead embryos	0.8	1.0	1.0	1.0	0.5	0.9	0.9	2.2*‡
Post-implantation loss (%)	5.9	7.0	6.9	6.3	3.4	6.5	6.2	15.4*‡
Dams with non-viable embryos Number (%)	14(56.0)	15(60.0)	17(70.8)	13(59.1)	9(36.0)	13(52.0)	14(56.0)	22(88.0)* ‡

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

F: female; M: male; NA: not applicable; NC: not calculated; ---: no noteworthy findings; GD: gestation day; b.w.: body weight.

*: $P \leq 0.05$ (Statistically significant difference from the control group).

†: Calculation of toxicokinetic parameters was based on 3 animals/group per time point.

‡: Dunnett's Test, Dunn's Method of Multiple Comparisons, ANOVA, Kruskal-Wallis Test, Bartlett's Test or Fisher's Exact Test.

§: Euthanized on Day 29 due to a broken palate. This mortality was not related to administration of the test article.

¶: Died on Day 44.

††: Number of pregnant untreated female rat mated with treated male rat. The following shows female data.

‡‡: Number of pregnant treated female rat mated with untreated male rat.

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1 SD ラットを用いた連日投与による胚・胎児発生に関する毒性試験

2.6.7.13.1 Reproductive and Developmental Toxicity Report Title: Oral (Gavage) Developmental Toxicity Study of FG-4592 in Rats, Including a Satellite Toxicokinetic Evaluation

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain: Crl:CD(SD) rats		Duration of Dosing: GD 7-17		Study No. GTA00098 (ISN: 352010001)	
Initial Age: Approximately 80 days		Day of Mating: GD 0		CTD Number: 4.2.3.5.2-2	
Date of First Dose: ██████████		Day of Cesarean Section: GD 21		GLP Compliance: Yes	
Vehicle/Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/ Suspension		Method of Administration: Gavage, once daily		Design similar to ICH 4.1.3 Yes	
Special Features: None					
No Observed Adverse-Effect Level: F0 Females: 15 mg/kg/ day, F1 Litters: 15 mg/kg/day					
<i>Toxicokinetics</i>					
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)	5	15	30
Number of Dams†		6	6	6	6
t _{max} (h)	GD 7	NC	2	2	2
	GD 17	NC	2	2	2
C _{max} (ng/mL)	GD 7	NC	12863	46364	95461
	GD 17	NC	16416	49950	98428
AUC ₀₋₂₄ (ng·h/mL)	GD 7	NC	108255	391369	942404
	GD 17	NC	147392	418092	1184027
<i>Noteworthy Findings for F₀ Females</i>					
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)	5	15	30
Number of Dams		24	25	20	25
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0
No. of Dams with Total Resorption of Litter		0	0	0	0
Clinical Observations		---	---	---	---
Body Weights (g):					
	GD 7	265.5	267.0	264.2	266.9
	GD 10	282.6	283.9	282.1	282.1
	GD 12	295.3	299.1	296.8	293.2
	GD 18	354.2	362.8	362.0	355.2
	GD 21	414.7	421.6	415.0	403.5
	Gain (GD 7-10)	17.1	17.0	18.0	15.2
	Gain (GD 10-12)	12.7	15.2	14.8	11.1
	Gain (GD 7-18)	88.7	95.9	97.8*‡	88.2
	Gain (GD 7-21)	149.2	154.7	150.8	136.6*‡
	Gain (GD 18-21)	60.5	58.8	53.0*‡	48.4*‡

Table continued on next page

2.6.7.13.1 Reproductive and Developmental Toxicity

Embryo-Fetal Development in SD Rats (ISN: 352010001) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)	5	15	30
Number of Dams		24	25	20	25
Food Consumption (g/animal/period):	GD 7-10	22.3	21.8	22.4	19.6*‡
	GD 10-12	23.0	23.4	23.2	20.5*‡
	GD 15-18	25.7	25.2	25.3	22.4*‡
	GD 7-18	23.5	23.6	23.6	21.0*‡
	GD 7-21	24.0	24.2	24.2	21.9*‡
Number of Dams		5	6	6	6
Hematology (GD 18)					
Red blood cells (10 ⁶ /cmm)		5.31	5.46	6.37*§	6.58*§
Hemoglobin (g/dL)		11.2	11.5	14.3*§	14.9*§
Hematocrit (%)		32.5	34.0	42.5*§	46.7*§
Mean corpuscular hemoglobin (pg)		21.1	21.2	22.4*§	22.7*§
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dL)		34.4	34.0	33.6*§	32.0*§
Mean corpuscular volume (fL)		61.2	62.3	66.7*§	71.0*§
Reticulocytes (10 ⁹ /L)		360.9	388.3	643.3*§	896.9*§
Platelet counts (10 ³ /cmm)		1378	1126*§	1011*§	860*§
Number of Dams		24	25	20	25
Gross Pathology		---	---	---	---
Mean No. of Corpora Lutea		15.7	15.1	14.8	15.6
Mean No. of Implantations		15.0	14.6	14.4	14.6
<i>Noteworthy Findings for F₁ Litters</i>					
Number of Litter Examined		24	25	20	25
Mean No. of Live Fetuses		14.1	13.4	13.4	13.4
Mean Post-implantation Loss (%)		5.8	8.0	7.2	8.4
Mean Fetal Body Weight (g)	Male	5.44	5.65*‡	5.52	5.12*‡
	Female	5.21	5.25	5.23	4.81*‡
Mean Placental Weight (g)	Male	0.62	0.61	0.66	0.72*‡
	Female	0.62	0.58	0.62	0.67
Placentae Appeared Normal Number (%)		24 (100)	25 (100)	20 (100)	25 (100)
Sex Ratio (%) [Male/(Male + Female)]		53.1	44.4	43.0	51.1

Table continued on next page

2.6.7.13.1 Reproductive and Developmental Toxicity

Embryo-Fetal Development in SD Rats (ISN: 352010001) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)	5	15	30
Number of Litter Examined	24	25	20	25
External, Visceral and skeletal Examination:				
No. of Fetuses Examined	338	335	267	335
No. of Litters with Alteration (%)	6 (25.0)	10 (40.0)	6 (30.0)	15 (60.0)
No. of Fetuses with any Alteration (%)	7 (2.1)	11 (3.3)	8 (3.0)	21 (6.3)*‡
Skeletal Examination:				
No. of Fetuses Examined	174	175	140	174
No. of Litters with Cervical rib (%)	1 (4.2)	1 (4.0)	3 (15.0)	10 (40.0)*‡
No. of Fetuses with Cervical rib (%)	1 (0.6)	1 (0.6)	4 (2.8)	14 (8.0)*‡
Progress of Ossification	---	---	---	---

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

GD: gestation day; NC: not calculated; ---: no noteworthy findings.

*: $P \leq 0.05$ (Statistically significant difference from the control group).

†: Calculation of toxicokinetic parameters was based on 3 animals/group/time point.

‡: Dunnett's Test, Dunn's Method of Multiple Comparisons, ANOVA, Kruskal-Wallis Test, Bartlett's Test or Fisher's Exact Test.

§: ANOVA, Dunnett's Test.

2.6.7.13.2 NZW ウサギを用いた連日投与による胚・胎児発生に関する毒性試験

2.6.7.13.2 Reproductive and Developmental Toxicity Report Title: Oral (Stomach Tube) Developmental Toxicity Study of FG-4592 in Rabbits, Including a Satellite Toxicokinetic Evaluation

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain: New Zealand White rabbits		Duration of Dosing: GD 7-19		Study No. GTA00100 (ISN: 352010002)	
Initial Age: Approximately 6.5 months		Day of Mating: GD 0		CTD Number: 4.2.3.5.2-4	
Date of First Dose: ██████████		Day of Cesarean Section: GD 29		GLP Compliance: Yes	
Vehicle/Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension		Method of Administration: Gavage, once daily		Design similar to ICH 4.1.3 Yes	
Special Features: None					
No Observed Adverse-Effect Level: F0 Females: 15 mg/kg/day, F1 Litters: 100 mg/kg/day					
Toxicokinetics					
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)	15	35	100
Number of Dams†		3	3	3	3
t_{max} (h)	GD 7	NC	0.5	0.5	0.5
	GD 19	NC	0.5	0.5	0.5
C_{max} (ng/mL)	GD 7	NC	15211	68915	124679
	GD 19	NC	15307	36055	103140
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	GD 7	NC	61907	217819	1195350
	GD 19	NC	56364	138355	604218
Noteworthy Findings in Treatment Period					
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)	15	35	100
Number of Dams		19	19	20	18
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0
Aborted		0	0	1††	2‡‡
No. of Dams with Total Resorption of Litter		0	0	0	0
Clinical Observations					
Maximum possible incidence [No. of animals]		20	20	20	20
Scant feces		P [13]	P [9]	P [11]	P [18]* ‡
Soft or liquid feces		P [4]	P [7]	P [9]	P [10]
Body condition thin		---	---	P [1]	P [1]
No feces		---	P [1]	---	P [2]
Red substance on fur		---	---	---	P [2]
Tissues in cage		---	---	---	P [2]
<i>Table continued on next page</i>					

2.6.7.13.2 Reproductive and Developmental Toxicity

Embryo-Fetal Development in NZW Rabbits (ISN: 352010002) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)	15	35	100
Number of Dams	19	19	20	18
Body Weights (kg):				
GD 7	3.65	3.69	3.67	3.68
GD 13	3.74	3.80	3.73	3.66
GD 20	3.76	3.90	3.77	3.56
GD 29	3.87	4.00	3.92	3.76
Gain (GD 7-20)	0.11	0.23	0.10	-0.12*§
Gain (GD 7-29)	0.21	0.32	0.24	0.11
Food Consumption (g/animal/period):				
GD 7-10	160.8	163.5	146.2	128.5*§
GD 16-20	103.0	144.0*§	110.4	54.6*§
GD 7-20	121.0	150.7*§	120.3	77.8*§
GD 7-29	108.0	130.7	117.5	90.1
Number of Dams	2	3	2	3
Hematology (GD 20)				
Red blood cells (10 ⁶ /cmm)	5.47	5.87	5.76	7.02
Hemoglobin (g/dL)	12.5	12.9	13.0	16.8*¶
Hematocrit (%)	37.4	39.2	40.0	53.4*¶
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	23.0	22.0	22.6	24.0
Mean corpuscular volume (fL)	68.4	66.7	69.6	76.1*¶
Mean corpuscular hemoglobin concentration (g/dL)	33.5	33.0	32.5	31.5*¶
Reticulocytes (10 ⁹ /L)	414.2	312.5	381.9	478.2
Number of Dams	19	19	19	16
Gross Pathology	---	---	---	---
Mean No. of Corpora Lutea	10.4	10.2	9.9	9.8
Mean No. of Implantations	10.0	9.5	9.3	8.9
<i>Noteworthy Findings for F₁ Litters</i>				
Number of Litter Examined	19	19	19	16
Mean No. of Live Fetuses	9.6	9.3	8.8	8.3
Mean Post-implantation Loss (%)	4.0	2.7	4.2	9.0
Mean Fetal Body Weight (g)				
Male	39.63	42.47	41.38	38.57
Female	38.25	40.39	40.87	38.94
Mean Placental Weight (g)				
Male	4.68	4.97	4.67	4.34
Female	4.41	4.62	4.58	4.19

Table continued on next page

2.6.7.13.2 Reproductive and Developmental Toxicity

Embryo-Fetal Development in NZW Rabbits (ISN: 352010002) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)	15	35	100
Litters:				
Number of Litter Examined	19	19	19	16
Sex Ratio (%) [Male/(Male + Female)]	46.8	48.4	42.0	50.2
External, Visceral and skeletal Examination:				
No. of Fetuses Examined	182	176	168	133
No. of Dams with Alteration (%)	10 (52.6)	6 (31.6)	9 (47.4)	7 (43.8)
% Fetuses with any Alteration/Litter	7.4	5.2	11.1	6.1
Progress of Ossification	---	---	---	---

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

GD: gestation day; NC: not calculated; ---: no noteworthy findings; P: present.

*: $P \leq 0.05$ (Statistically significant difference from the control group).

†: Calculation of toxicokinetic parameters was based on 3 animals/group/time point.

‡: Variance Test for Homogeneity of the Binomial Distribution.

§: Dunnett's Test, Dunn's Method of Multiple Comparisons, ANOVA, Kruskal-Wallis Test, Bartlett's Test or Fisher's Exact Test.

¶: ANOVA, Dunnett's Test.

††: Aborted on Day 27 of gestation.

‡‡: Aborted on Day 28 of gestation.

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

2.6.7.14.1 SD ラットを用いた連日投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する毒性試験

2.6.7.14.1 Reproductive and Developmental Toxicity

Report Title: Oral (Gavage) Developmental and Prenatal/Postnatal Reproduction Toxicity Study of FG-4592 in Sprague-Dawley Rats, Including a Postnatal Behavioral/Functional Evaluation

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain: CrI:CD(SD) rats		Duration of Dosing: GD 7 to LD 20			Study No. 20042040 (ISN: 352013012)
Initial Age: Approximately 11 week		Day of Mating: GD 0	Adjustment of Litter Size: No		CTD Number: 4.2.3.5.3-1
Date of First Dose: ██████████		Method of Administration: Gavage, once daily			GLP Compliance: Yes
Vehicle/ Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension					Design similar to ICH 4.1.2 Yes
Special Features: Postweaning evaluations in the F1 generation rats from the 20 mg/kg maternal dose group were terminated because of high mortality during the preweaning period.					
Conclusion: In F0 dams, decreased mean maternal body weight gains and food consumption values, as well as excessively increased hematocrit values, were observed at 20 mg/kg. The maternal no-observed-adverse-effect level (NOAEL) was 10 mg/kg. In F1 pups, there was significant preweaning pup mortality in the 10 and 20 mg/kg dose groups plus decrements in pup growth and developmental delays at all doses. The NOAEL for developmental toxicity of the next generation (F1) was not determined.					
NOAEL: F0; 10 mg/kg/day, F1; < 5 mg/kg/day					
Toxicokinetics					
Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)	5	10	20
Plasma roxadustat Concentrations at 2 h after dosing (µg/mL) in F0 dams	GD 20	<LLOQ [4]	15.8 [3]	39.5 [4]	82.4 [4]
Plasma roxadustat Concentrations at 2 h after dosing (µg/mL) in F0 dams	LD 10	<LLOQ [5]	6.9 [5]	23.9 [5]	50.0 [5]
Milk roxadustat Concentrations at 2 h after dosing (µg/mL) in F0 dams	LD 10	0.001 [3]	30.7 [5]	57.1 [5]	70.7 [5]
Plasma roxadustat Concentrations (µg/mL) in F1 fetuses	GD 20	<LLOQ [4]	1.2 [3]	3.3 [4]	11.9 [4]
	LD 4	<LLOQ [24]	6.0 [25]	12.3 [25]	16.2 [24]
	LD 21	<LLOQ [25]	3.6 [25]	11.5 [25]	20.9 [9]
Noteworthy Findings in F0 dams					
Number of Dams		25	25	25	25
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	1 ^a
Clinical Observations		---	---	---	--- ^b
Body Weights gain (g)	GD 7-10	13.8	14.2	14.8	17.8
	GD 10-12	11.2	11.7	11.4	12.1
	GD 12-15	19.2	21.2	23.5*†	23.6*†
	GD 15-18	37.7	41.5	40.9	39.3 [24]
	GD 18-20	30.4	31.3	32.7	26.7*† [24]
	GD 7-20	112.3	119.9*†	123.2*†	119.5*† [24]

Table continued on next page

2.6.7.14.1 Reproductive and Developmental Toxicity Pre and Postnatal Development in SD Rats (ISN: 352013012) (Continued)

添付資料番号 : 4.2.3.5.3-1

Dose as roxadustat (mg/kg)		0 (Control)	5	10	20
<i>Noteworthy Findings in F0 dams</i>					
Number of Dams		25	25	25	24
Body Weights gain (g)	LD 1-4	8.0	9.7	9.0	5.8
	LD 4-7	8.6	8.9	11.2	11.6
	LD 7-10	12.8	13.3	13.3	9.4 [23]
	LD 10-14	6.0	5.0	7.9	7.6 [21]
	LD 14-17	6.3	-0.2*†	-0.7*†	-3.7*† [16]
	LD 17-21	-6.8	1.2*†	6.3*†	-4.5 [13]
	LD 1-21	34.8	37.8	47.0*†	31.0 [13]
Number of Dams		25	25	25	25
Food Consumption (g/kg/day)	GD 7-10	79.7	78.2	78.5	75.6
	GD 10-12	78.8	79.9	80.3	76.7
	GD 12-15	73.3	75.6	74.7	74.0
	GD 15-18	77.7	78.4	79.7	73.0*† [24]
	GD 18-20	69.3	68.2	67.0	63.0*† [24]
	GD 7-20	75.5	75.9	75.9	72.2*† [24]
Number of Dams		25	25	25	24
Food Consumption (g/kg/day)	LD 1-4	105.8	114.3	109.2	98.0
	LD 4-7	148.8	150.9	139.6	126.0*†
	LD 7-10	170.1	181.5	165.1	139.3*† [23]
	LD 10-14	186.5	196.6	183.7	139.3*† [21]
	LD 1-14	156.5	164.8	153.2	129.0*† [21]
Hematocrit Levels (%)	GD 20	35.8 [4]	41.3 [4]	37.2 [4]	49.3*† [4]
	LD 21	52.2	55.1	60.6*†	77.4*† [12]
Gestation Index (%) ^m		100	100	100	100
Duration of Gestation (day)		22.7	22.6	22.5	22.4
Dams with Stillborn Pups		5 (20.0)	1 (4.0)	2 (8.0)	0 (0.0)
Implantation Sites, N		14.5	14.3	13.9	13.6 [23]
Dams with All Pups Dying, N (%)	LD 1-4	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	LD 5-12	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	12 (50.0)*†¶
Gross Pathology		---	---	---	--- ^b
Organ weight	Spleen (g)	0.66	0.68	0.66	0.87*†
	Spleen (%)	0.209	0.210	0.198	0.280*†
<i>Noteworthy Findings in F1 (preweaning)</i>					
Number of Animals (Litters)		25	25	25	24
Pups Delivered (Mean ± S.D.)		13.2 ± 2.6	13.5 ± 2.0	13.4 ± 1.9	12.4 ± 2.0
Liveborn (Mean ± S.D.)		13.0 ± 2.5	13.5 ± 2.0	13.2 ± 1.8	12.4 ± 2.0

Table continued on next page

2.6.7.14.1 Reproductive and Developmental Toxicity Pre and Postnatal Development in SD Rats (ISN: 352013012) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.5.3-1

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)	5	10	20
<i>Noteworthy Findings in F1 (preweaning)</i>				
Number of Animals (Litters)	25	25	25	24
Stillborn (Mean ± S.D.)	0.2 ± 0.4	0.0 ± 0.2	0.2 ± 0.8	0.0 ± 0.0
Viability Index, N/N (%) ⁿ	319/325 (98.2)	335/337 (99.4)	326/330 (98.8)	290/297 (97.6)
Lactation Index, N/N (%) ^p	230/230 (100.0)	239/239 (100.0)	219/228 (96.0)	50/199**¶ (25.1)
Clinical Observations				
Dehydration	0/0 ^c	0/0	69/2	189/12**¶
Decreased Motor Activity	0/0	0/0	1/1	21/6**¶
Pale Ears or Whole Body Pale	1/1	0/0	0/0	13/6**¶
Cold to Touch	14/1	0/0	1/1	16/4
Ungroomed Coat	11/1	60/1	0/0	27/3
Thin Body Condition	0/0	0/0	0/0	5/1
Pale Extremities	0/0	0/0	0/0	1/1
Lost/Impaired Righting Reflex	0/0	0/0	0/0	1/1
Body Weights (g)				
PND 1	6.8	6.9	6.7	6.1*†
PND 4	9.7	9.8	9.4	8.5*†
PND 7	15.6	15.9	14.3**†	12.0**†
PND 14	30.8	31.5	28.2**†	20.8**† [21]
PND 21	48.1	45.0**†	41.9**†	29.2**† [12]
Hematocrit Levels (%)				
GD 20	32.2 [1]	35.5 [3]	35.6 [1]	NA
PND 4	36.1 [16]	36.9 [17]	38.1 [23]	37.5 [16]
Reflex and Physical Development^d				
Eye Opening (day postpartum)	14.4	14.8	14.0	13.6**† [20]
Hair Growth (day postpartum)	7.0	7.0	7.0	7.0
Incisor Eruption (day postpartum)	11.2	10.6	10.2**†	9.5**† [23]
Pinna Unfolding (day postpartum)	3.2	3.0	3.2	3.2
Air Righting (day postpartum)	14.9	16.2**†	15.9**†	15.8 [14]
Acoustic (Auditory) Startle (day postpartum)	13.0	14.9**†	15.6**†	15.5**† [17]
Pupil Constriction (day postpartum)	21.0	21.0	21.0	21.0 [12]
Surface Righting (day postpartum)	3.1	3.4	3.3	3.2
Pup Gross Pathology				
Unscheduled Necropsy				
No milk in the stomach (%)	2 (66.7)	0 (0.0)**¶	5 (71.4)	5 (9.6)**¶
Scheduled Necropsy	---	---	---	---

Table continued on next page

2.6.7.14.1 Reproductive and Developmental Toxicity Pre and Postnatal Development in SD Rats (ISN: 352013012) (Continued)

添付資料番号：4.2.3.5.3-1

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)	5	10	20
<i>Noteworthy Findings in F1(postweaning)</i>				
Number of Animals	25/25 ¹	25/25 ¹	25/25 ¹	0/0 ¹
Died or Sacrificed Moribund	2 ^{e, f} /0	0/0	2 ^{g, h} /2 ^{i, j}	NA/NA
Clinical Observations	---	---	---	NA/NA
Number of Animals	25/25 ¹	25/25 ¹	24/23 ¹	0/0 ¹
Body Weights gain (g)	PND 22-29 42.7/37.9 PND 29-36 60.7/45.6 PND 36-43 67.4/39.0 PND 57-64 44.6/22.0 PND 85-92 20.8 [23]/5.8 PND 22-92 470.7 [23]/244.6	33.9**†/31.5**† 53.0**†/41.0**† 65.9/40.7 52.6**†/21.7 24.7/8.3 480.8/249.7	22.1**†/21.8**† 35.6**† [23]/30.9**† 53.2**† [23]/39.3 46.1 [23]/23.2 21.7 [23]/6.8 393.0**† [23]/229.0**†	NA/NA NA/NA NA/NA NA/NA NA/NA NA/NA
Number of Animals	24	24	21	0
Body Weights gain (g)	GD 0-7 32.8 GD 12-15 13.8 GD 18-21 62.4 GD 0-21 174.0	38.9 16.6 62.0 183.2	34.6 13.2 57.1 169.3	NA NA NA NA
Number of Animals	12/12 ¹	12/12 ¹	10/10 ¹	0/0 ¹
Food Consumption (g/day)	PND 22-29 25.5/24.9 PND 29-36 36.8/32.3 [11] PND 36-43 48.4 [9]/37.7 PND 43-50 53.1/37.4 PND 57-64 56.8 [11]/38.2 PND 85-92 49.1 [11]/38.2 PND 22-92 46.6 [11]/36.1	20.2**†/20.4**† 31.3**†/31.0 41.3**†/33.3 [11] 48.7/35.7 56.2/37.5 54.0 [11]/37.6 45.8 [11]/34.5	15.2**†/15.9**† [8] 26.1**†/ 26.9**† 35.9**†/30.6**† [9] 42.0**†/35.5 [9] 51.2/36.7 49.2 [7]/37.0 39.8**† [7]/33.6	NA/NA NA/NA NA/NA NA/NA NA/NA NA/NA NA/NA
Hematocrit Levels (%)	PND 21 32.1 [25]	37.7 [25]	35.2 [21]	27.4**† [11]
Number of Animals	25/25 ¹	25/25 ¹	23/23 ¹	0/0 ¹
Sexual Maturation	Preputial Separation (average day postpartum) 43.9/NA Vaginal Patency (average day postpartum) NA/33.0	46.2**†/NA NA/34.5**†	49.3**†/NA NA/34.8**†	NA/NA NA/NA
Ophthalmologic Examinations	---	---	---	NA/NA

Table continued on next page

2.6.7.14.1 Reproductive and Developmental Toxicity Pre and Postnatal Development in SD Rats (ISN: 352013012) (Continued)

添付資料番号 : 4.2.3.5.3-1

Dose as roxadustat (mg/kg)	0 (Control)	5	10	20
Noteworthy Findings in F1 (postweaning)				
Number of Animals	25/25 ¹	25/25 ¹	25/24 ¹	0/0 ¹
Passive Avoidance				
Session 1 (Learning Phase) Trials to criterion	5.4/6.2	7.6*§/5.8	7.0/6.4	NA/NA
Latency trial 1, seconds	7.2/5.8	8.6/6.8	13.8*§/10.8*§	NA/NA
Failed to learn, N (%)	2 (8.0)/2 (8.0)	4 (16.0)/0 (0.0)	5 (20.0)/2 (8.3)	NA/NA
Number of Animals	23 or 24/25 ¹	24 or 25/23 or 25 ¹	23/21 or 23 ¹	0/0 ¹
Watermaze Performance	---	---	---	NA
Number of Animals	23/25 ¹	25/25 ¹	23/23 ¹	0/0 ¹
Mating and Fertility				
Days in Cohabitation	3.7/3.8	2.3/2.3	2.8/2.9	NA/NA
Rats that Mated	21 (91.3)/25 (100)	25 (100.0)/25 (100.0)	22 (95.6)/23 (100.0)	NA/NA
Fertility Index ^p	20/21 (95.2)/24/25 (96.0)	24/25 (96.0)/24/25 (96.0)	21/22 (95.4)/21/23 (91.3)	NA/NA
Rats Pregnant/Rats in Cohabitation	20/23 (87.0)/24/25 (96.0)	24/25 (96.0)/24/25 (96.0)	21/23 (91.3)/21/23 (91.3)	NA/NA
Number of Animals	24	24	21	0
Cesarean Section				
(Including F2 fetus)				
Corpora Lutea, N	16.2	15.4	14.8*§	NA
Implantations, N	15.1	14.3	14.0*§	NA
Preimplantations Loss, %	7.4	9.6	5.3	NA
Litter Sizes, Mean	14.3	13.6	13.4	NA
Live Fetuses, Mean	14.3	13.6	13.4	NA
Dead Fetuses, N	0	0	0	NA
Resorptions, Mean	0.8	0.7	0.6	NA
Post-implantations Loss, %	8.2	5.3	5.8	NA
Dams with All Conceptuses Resorbed, N (%)	1 (4.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	NA
Placentae Appeared Normal, N (%)	23 (100.0)	24 (100.0)	21 (100.0)	NA
Live Male Fetuses/Litter, %	50.0	47.7	48.3	NA
Live Fetal Body Weights, g	5.77/5.42 ¹	5.86/5.52 ¹ [23]	5.65/5.31 ¹	NA
Fetal External Abnormality/Live Fetuses	0/344	1/327 ^q	4/281 ^r	NA
Number of Animals	25/25 ¹	25/25 ¹	25/25 ¹	0/0 ¹
Gross Pathology	---	---	---	NA/NA
Number of Animals	23/24 ¹	25/24 ¹	23/21 ¹	0/0 ¹
Organ Weights				
Spleen (g)	0.94/0.78	0.88/0.77	0.78*†/0.73	NA/NA
Spleen (%)	0.150/0.160	0.138/0.157	0.145/0.162	NA/NA
Epididymis (g)	1.66/NA	1.88*†/NA	1.65/NA	NA/NA
Epididymis (%)	0.267/NA	0.294*†/NA	0.319*†/NA	NA/NA
Testis (g)	4.02/NA	5.24*†/NA	4.47*†/NA	NA/NA
Testis (%)	0.648/NA	0.826*†/NA	0.861*†/NA	NA/NA

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

NA: not applicable; LLOQ: lower limit of quantitation (theoretical concentration 10.0 ng/mL); ---: no noteworthy findings; GD: gestation day, LD: lactation day, PND: postnatal day. []: number of animals; N: number; S.D.: standard deviation.

a: Euthanized on GD 17 due to an intubation error.

b: In the euthanized dam, adverse clinical signs prior to euthanasia included chromodacryorrhea, chromorhinorrhea, dehydration, swelling in the left side of the chest/axillary region, red perioral substance, rales, and ungroomed coat were observed. At the necropsy, 1 perforation was found in the esophagus, and a white foamy substance was present subcutaneously in the left axillary region.

c: Total frequency (days x pups)/litter with observations.

d: The average day postpartum that at least 50% of the pups had the developmental measure present.

e: Dead on Day 76 postpartum.

f: Dead on Day 70 postpartum.

g: Dead on Day 25 postpartum.

h: Euthanized on Day 33 postpartum due to adverse clinical observations.

i: Dead on Day 22 postpartum.

j: Euthanized on Day 26 postpartum due to adverse clinical observations.

k: In the euthanized pups, dehydration, decreased motor activity, thin body condition, ataxia, ptosis, cold to touch, ungroomed coat, urine-stained abdominal fur, impaired righting reflex, and bradypnea were observed.

l: Male/Female.

m: (No. of rats with live offspring/No. of pregnant rats) ×100.

n: (No. of live pups on PD 4/No. of liveborns pups on PD 1) ×100.

o: (No. of live pups on PD 21/No. of live pups on PD 4) ×100.

p: (Number of pregnancies/number of females that mated) ×100.

q: Neck edema.

r: 1st fetus; a protruded tongue and a short tail; 2nd fetus; Neck edema, 3rd fetus; absence of tongue, with an agnathia of the jaw and depressed eye bulge; 4th fetus; depressed eye bulged together with a purple head, a short trunk, short, flexed and rotated fore and/or hindlimbs, a kinked tail and an umbilical hernia.

*: $P \leq 0.05$ (Statistically significant difference from the control group).

†: Dunnett's test, Kruskal-Wallis test, Dunn's method of multiple comparisons or Fisher's Exact Test.

‡: Dunnett's test, Kruskal-Wallis nonparametric ANOVA or Dunn's test.

§: Kruskal-Wallis test.

¶: Variance test for homogeneity of the binomial distribution.

2.6.7.14.2 SD ラットを用いた連日投与による乳母哺育毒性試験

2.6.7.14.2 Reproductive and Developmental Toxicity

Report Title: FG-4592: An Investigational Cross Fostering Study in Rats

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain: Crl:CD(SD) rats	Duration of Dosing: Groups 1 and 2; GD 7 to GD 20, Groups 3 to 4; GD 7 to parturition, Groups 5 to 8; parturition to LD 20					Study No. 20097164 (ISN: 4150WR)
Initial Age: Approximately 10 weeks	Day of Mating: GD 0					CTD Number: 4.2.3.5.3-2
Date of First Dose: [REDACTED]	Method of Administration: Gavage, once daily					GLP Compliance: Yes
Vehicle/ Formulation: 0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension						
Special Features: The F0 dams of Groups 1 and 2 were euthanized on GD21 and examined fetuses. On the day of parturition, the F0 dams from Groups 3 (control dams) and 4 (roxadustat dosed dams) were reassigned to one of four groups (Groups 5, 6, 7, or 8). Groups 5 and 6 were involved in cross-fostering pups and Groups 7 and 8 were not. Group 5 pups from control dams were cross-fostered to roxadustat dosed mothers (Group 6) just after birth so pups in Group 6 were exposed to roxadustat postnatally only. Group 6 pups from dosed dams were cross-fostered to control dams (Group 5) so pups in Group 5 were exposed to roxadustat in utero only. Group 7 pups were not exposed to roxadustat in utero or postnatally. Group 8 pups were exposed to roxadustat in utero and postnatally.						
Conclusion: Mortality was higher and body weights were lower in F1 generation pups that were exposed to roxadustat whether the pups were cross-fostered or not. Overall, the most pronounced effects on pup viability following birth were noted in the pups that were exposed to roxadustat postnatally only, while the most pronounced effects on pup weights were noted in the pups that were exposed to roxadustat in utero and postnatally.						
Toxicokinetics/laboratory evaluations						
Dose as roxadustat (mg/kg)	Group 1: 0	Group 2: 15	Group 5: 0	Group 6: 15	Group 7: 0	Group 8: 15
Number of Dams	25/24 ^a	25/25	31/31	25 to 29/25 to 29	27 to 28/28 to 29	28 to 29/29
Plasma roxadustat Concentration at 2 h after dosing (µg/mL)						
GD21 ^b	BLQ/BLQ	2.41/0.361	NA/NA	NA/NA	NA/NA	NA/NA
LD/PND 4	NA/NA	NA/NA	0.0135/0.285	39.9/12.1	NC/NC	36.2/13.1
LD 10	NA/NA	NA/NA	NC/NA	29.6/NA	NC/NA	25.8/NA
PND 11	NA/NA	NA/NA	NA/0.0203	NA/19.5	NA/NC	NA/24.8
LD/PND 21 ^c	NA/NA	NA/NA	NC/NC	0.430/13.9	NC/NC	0.513/16.3
Number of Dams	0	0	31	26	28	29
Milk roxadustat Concentrations at 2 h after dosing (µg/mL)						
LD 10	NA	NA	0.00183	53.1	0.00152	66.8
Number of Dams	23/19 ^a	19/25	26 to 27/23 to 31	21 to 25/25 to 27	21 to 27/26 to 28	17 to 23/25 to 28
Dose as roxadustat (mg/kg)	Group 1: 0	Group 2: 15	Group 5: 0 Pups exposed to roxadustat <i>in utero</i> only	Group 6: 15 Pups exposed to roxadustat postnatally only	Group 7: 0 Pups not exposed to roxadustat	Group 8: 15 Pups exposed to roxadustat <i>in utero</i> and postnatally
Noteworthy Findings for F0 female						
Number of Dams	25	25	31	31	29	29
Died or Sacrificed Moribund ^h	0	0	0	1 ^f	1 ^g	0
Clinical Observations	---	---	---	---	---	---
Body Weights	---	---	---	---	---	---
Food Consumption	---	---	---	---	---	---

Table continued on next page

2.6.7.14.2 Reproductive and Developmental Toxicity An Investigational Cross Fostering Study in SD Rats (ISN: 4150WR) (Continued)

Dose as roxadustat (mg/kg)	Group 1: 0	Group 2: 15	Group 5: 0 Pups exposed to roxadustat <i>in utero</i> only	Group 6: 15 Pups exposed to roxadustat postnatally only	Group 7: 0 Pups not exposed to roxadustat	Group 8: 15 Pups exposed to roxadustat <i>in utero</i> and postnatally
Noteworthy Findings for F0 female						
Number of Dams	24	25	30 to 31	26 to 29	28	28 to 29
Hematology Hematocrit Levels (%)	GD21	36.2	43.1* [¶]	NA	NA	NA
	LD/PND 4	NA	NA	41.9	49.3* ^{d, ¶}	41.3
	LD 10/PND 11	NA	NA	44.1	55.2* ^{d, ¶}	42.7
	LD/PND 21	NA	NA	49.4	57.4* ^{d, ¶}	48.8
Number of Dams	23/19 ^a	19/25	26 to 27/23 to 31	21 to 25/25 to 27	21 to 27/26 to 28	17 to 23/25 to 28
Plasma Iron Concentration at 2 h after dosing (µmol/L)	GD21 ^b	13.5/51.3	17.9/48.1	NA/NA	NA/NA	NA/NA
	LD/PND 4	NA/NA	NA/NA	69.2/39.8	89.4* ^{a, †} /39.5	59.2* ^{b, †} /31.4
	LD/PND 11	NA/NA	NA/NA	68.4/25.3	72.5/19.4* ^{a, †}	61.2/25.9* ^{b, †}
	LD/PND 21 ^c	NA/NA	NA/NA	78.4/29.6	88.8/17.6	80.4/52.9* ^{a, b, †}
Number of Dams	0	0	31	26	28	29
Milk Iron Concentrations at 2 h after dosing (ppm)	LD 10	NA	NA	7.17	7.21	6.69
Number of Dams	25	25	31	31	29	29
Pregnant N (%)	NA	NA	31 (100)	31 (100)	29 (100)	29 (100)
Delivered Litters N (%)	NA	NA	31 (100)	31 (100)	29 (100)	29 (100)
Duration of Gestation (days)	NA	NA	22.4	22.2* [†]	22.5	22.3
Dams with Stillborn Pups N (%)	NA	NA	2 (6.4)	4 (12.9)	3 (10.3)	6 (20.7)
Dams with No Liveborn Pups N (%)	NA	NA	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Gestation Index (%)	NA	NA	100	100	100	100
Dams with All Pups Dying Postnatal Days 1-4 N (%)	NA	NA	0 (0.0)	2 (6.4)	0 (0.0)	0 (0.0)
Dams with All Pups Dying Postnatal Days 1-21 N (%)	NA	NA	1 (3.2)	4 (12.9)	0 (0.0)	0 (0.0)
Gross Pathology	NA	NA	NA	---	1 ^g	---
Neck and thoracic region: red gelatinous materials: N					1 ^g	
Esophagus: perforation: N						
Noteworthy Findings for F1 pups						
Number of Litters	0	0	31	31	29	29
Pups Delivered, Mean (N)	NA	NA	11.3 (351)	12.1 (374)	11.9 (345)	11.9 (345)
Liveborn, Mean (N)	NA	NA	11.2 (349)	11.9 (370)	11.8 (342)	11.6 (337)
Stillborn, Mean (N)	NA	NA	0.1 (2)	0.1 (4)	0.1 (3)	0.3 (8)
Number of Litters	0	0	31	30	28 to 29	29
Viability Index N/N (%)	NA	NA	329/349* ^{f, §} (94.3)	309/363* ^{d, i, §} (85.1)	337/342 (98.5)	324/337* ^{g, §} (96.1)
Lactation Index N/N (%)	NA	NA	204/205 (99.5)	183/217* ^{d, i, §} (84.3)	213/213 (100)	186/208* ^{e, h, §} (89.4)

Table continued on next page

2.6.7.14.2 Reproductive and Developmental Toxicity

An Investigational Cross Fostering Study in SD Rats (ISN: 4150WR)
(Continued)

添付資料番号：4.2.3.5.3-2

Dose as roxadustat (mg/kg)	Group 1: 0	Group 2: 15	Group 5: 0 Pups exposed to roxadustat <i>in utero</i> only	Group 6: 15 Pups exposed to roxadustat postnatally only	Group 7: 0 Pups not exposed to roxadustat	Group 8: 15 Pups exposed to roxadustat <i>in utero</i> and postnatally
Number of Litters	0	0	31	30	29	29
Clinical Observations (PND 2 to 21)						
Dehydration	NA	NA	4/1 ^e	33/4	0/0	3/3
Cold to Touch	NA	NA	1/1	29/2	0/0	3/2
Decreased Motor Activity	NA	NA	1/1	16/2	0/0	2/2
Not Nursing	NA	NA	0/0	28/1	0/0	0/0
Not Nesting	NA	NA	0/0	28/1	0/0	0/0
Number of Litters	0	0	31	25 to 29	28 to 29	29
Body Weights (g)						
PND 2	NA	NA	7.0 ± 0.6 ^{a, i, j}	7.3 ± 1.0 ^{a, i, j}	7.9 ± 0.6	7.3 ± 0.6 ^{a, e, h, j}
PND 7	NA	NA	13.5 ± 1.7 ^{a, i, j}	12.7 ± 2.0 ^{a, i, j}	15.2 ± 1.4	13.3 ± 1.6 ^{a, e, j}
PND 14	NA	NA	28.8 ± 2.8	25.2 ± 3.9 ^{a, d, i, j}	30.2 ± 3.2	25.0 ± 3.7 ^{a, e, h, j}
PND 21	NA	NA	43.8 ± 6.7 ^{a, f, j}	38.9 ± 6.7 ^{a, d, i, j}	48.7 ± 5.8	37.1 ± 7.1 ^{a, e, h, j}
Body weight gains (g) PND 2 to 21	NA	NA	36.8 ± 6.7 ^{a, f, j}	31.6 ± 6.4 ^{a, d, i, j}	40.8 ± 5.5	29.8 ± 6.9 ^{a, e, h, j}
Number of Litters	24	25	25 to 31	25 to 28	28 to 29	29
Hematology						
Hematocrit Levels (%) GD 21	45.6	43.1	NA	NA	NA	NA
LD/PND 4	NA	NA	37.9	37.5	36.1	40.6 ^{a, e, g, j}
LD 10/PND 11	NA	NA	37.7	40.8 ^{a, d, i, j}	36.9	41.0 ^{a, e, h, j}
LD/PND 21	NA	NA	31.3	34.3 ^{a, d, i, j}	30.2	31.2
Number of Litters	0	0	31	25 to 29	28 to 29	29
Sex Ratio^d						
Day 2	NA	NA	52.3	50.1	46.8	49.5
Day 21	NA	NA	51.0	46.8	42.8	52.3
Number of Litters	25	25	31	31	29	29
Gross Pathology						
Scheduled Death	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Unscheduled Death	NA	NA	---	no milk in the stomach (35)	---	no milk in the stomach (3)

Numerical data are expressed as mean values unless otherwise specified.

NA: not applicable; NC: not calculated (Over 50% of results BLQ.); BLQ; below lower limit of quantification at 0.0100 µg/mL; ---: no noteworthy findings; GD: gestation day, LD: lactation day, PND: postnatal day; Viability Index = No. Live PND 4 / No. Live PND 1; Lactation Index = No. Live PND 21 / No. Live PND 4.

a: Dam/Litter (Fetal or Pup).

b: Maternal and fetal samples were collected approximately 24 hours following dose administration on GD 20.

c: Maternal and pup samples were collected approximately 24 hours following dose administration on LD 20.

d: Percent male pups per number of pups sexed

e: Total frequency (days x pups)/litter with observations.

f: Died on LD 5. The cause of death is unknown, but based on the clinical signs, maternal observations and body weight loss it is plausible that this animal died from postpartum complications.

g: Died on LD 6. The cause of death was attributed to a gavage error.

h: In addition to the description here, one dam in Group 3 (control) died on GD 21. The cause of death is unknown (No clinical signs, and no effects on body weight or food consumption. All tissues appeared normal at necropsy examination).

*a: Significantly different from the Group 5 value ($p \leq 0.05$).

*b: Significantly different from the Group 6 value ($p \leq 0.05$).

*c: Significantly different from the Group 7 value ($p \leq 0.05$).

*d: Significantly different from the Group 5 value ($p \leq 0.05$); analyses restricted to Groups 5 and 6.

*e: Significantly different from the Group 7 value ($p \leq 0.05$); analyses restricted to Groups 7 and 8.

*f: Significantly different from the Group 7 value ($p \leq 0.05$); analyses restricted to Groups 5 and 7.

*g: Significantly different from the Group 6 value ($p \leq 0.05$); analyses restricted to Groups 6 and 8.

*h: Significantly different from the Group 5 value ($p \leq 0.05$); analyses restricted to Groups 5 and 8.

*i: Significantly different from the Group 7 value ($p \leq 0.05$); analyses restricted to Groups 6 and 7.

*j: Significantly different from the Group 1 value ($p \leq 0.05$); analyses restricted to Groups 1 and 2.

†: One-way ANOVA F-test or Kruskal-Wallis test (or two-sided Bonferroni t-test or Wilcoxon Rank-Sum test).

‡: Kruskal-Wallis test or Dunn's test.

§: Two-sided Fisher's exact test.

¶: Dunnett's test, the Kruskal-Wallis test or Dunn's method of multiple comparisons.

2.6.7.15 新生児を用いた試験：重要な試験以外の試験

2.6.7.15 Juvenile animal studies

Non-Pivotal Studies

被験物質：ロキサデュスタット

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Dose (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (ISN No.) CTD Number
Rat/Sprague Dawley	Gavage, single dose (0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension)	PND 15, 22, 29, 36, 43, or 50	15	Number of juvenile animals at each age: PND 15, 22: 9 males and 9 females PND 29, 36, 43, 50: 3 males and 3 females	The objective of this study was to determine the systemic exposure to roxadustat to juvenile SD rats on PND 15, 22, 29, 36, 43, or 50. A single dose of roxadustat was well tolerated for up to 2 hours post dose. There were no apparent gender- or age related differences in plasma concentrations. On PND 22, the mean plasma concentration in male and female rats at 0.5 hours postdose was lower when compared to all other dosing days.	1517-TX-0026 4.2.3.5.4-1 (参)
Rat/Sprague Dawley	Gavage, three times weekly (0.5% Carboxymethylcellulose, 0.1% Polysorbate 80/Suspension)	PND 15-56	15, 30, 60	Number of juvenile animals per group: 5 males and 5 females	The objective of this study was to determine the tolerability to juvenile SD rats from PND 15 through 56 TIW. The systemic exposure to roxadustat was also evaluated. 15 mg/kg: lower body weight gain; increased hemoglobin, hematocrit and reticulocytes, decreased serum iron and platelets. ≥ 30 mg/kg: not well tolerated resulting in moribundity/mortality with associated pathology primarily in the heart and liver.	1517-TX-0027 4.2.3.5.4-2 (参)

PND: postnatal day; SD: Sprague Dawley; TIW: Three times weekly.

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当試験なし

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17.1 光毒性試験

2.6.7.17.1 Phototoxicity

Report Title: FG-4592: Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay in Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts

被験物質：ロキサデュスタット

Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/L)	Irradiation Condition' and 'Measured	Noteworthy Findings	Study No. (ISN No.) CTD Number
Balb/c 3T3 mouse fibroblast	In vitro	NA	Range-finding study:0.00015, 0.00048, 0.0015, 0.0048, 0.015, 0.048, 0.15, 0.48 mg/L; Definitive assay 1:0.0027, 0.0048, 0.015, 0.027, 0.085, 0.15, 0.27, 0.48 mg/L; Definitive assay 2: 0.0048, 0.0085, 0.015, 0.048, 0.085, 0.15, 0.27, 0.48 mg/L	Irradiation Condition: UVA (315 through 400 nm) 5 J/cm ² Measured: Optical Density (540 nm) of Neutral Red	The results of the range-finding and two definitive assays evaluating relative reduction in viability of Balb/c 3T3 mouse fibroblasts administered roxadustat with and without UVA exposure demonstrate that roxadustat has no phototoxic potential at concentrations ranging from 0.00015 to 0.48 mg/L. IC ₅₀ values were not determined for the test article. MPE: -0.012 in the Definitive Assay 1 and -0.003 in the Definitive Assay 2 for the test article.	301_07_3520_108 4.2.3.7.7-1

2.6.7.17.2 不純物

2.6.7.17.2.1 FG-6484: 復帰突然変異試験

2.6.7.17.2.1 Genotoxicity: In Vitro

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay

被験物質 : FG-6484

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	Number of Independent Experiments: 2	Study No. AD22KT.503.BTL (ISN: 352010018)
Strains: <i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535 and TA1537, and <i>E. coli</i> WP2 uvrA	Number of Replicate Cultures: Trial 1; 2, Trial 2; 3	CTD Number: 4.2.3.7.7-2
Metabolizing System: Aroclor™ 1254-induced rat liver S9		GLP Compliance: Yes
Vehicles: Test Article; DMSO, Positive Controls: DMSO (except for sodium azide, which was diluted in water)		Date of Treatment: [REDACTED]
Treatment: Plate incorporation method (incubation: 37°C 48 to 72 h)		
Cytotoxic Effects: More than 5000 µg/plate both with and without metabolic activation		
Genotoxic Effects: None		

First trial

Metabolic activation	Test article	Dose level (µg/plate)	Mean number of revertant colonies per plate					
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 uvrA	
Without	Vehicle control: DMSO	0	33	92	9	20	32	
	FG-6484	1.5	21	105	10	11	36	
		5.0	17	88	8	6	34	
		15	22	95	11	7	24	
		50	24	83	10	11	25	
		150	29	107	8	8	32	
		500	26	105	11	17	23	
		1500	19	93	11	15	24	
		5000	19	95	13	9	27	
	Positive control	2-nitrofluorene	1.0	186	NT	NT	NT	NT
		Sodium azide	1.0	NT	594	383	NT	NT
		9-aminoacridine	75	NT	NT	NT	229	NT
		Methyl methanesulfonate	1000	NT	NT	NT	NT	231

Table continued on next page

2.6.7.17.2.1 Genotoxicity: In Vitro

Impurities FG-6484, Reverse mutation (ISN: 352010018) (continued)

First trial

Metabolic activation	Test article	Dose level (µg/plate)	Mean number of revertant colonies per plate				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 uvrA
With	Vehicle control: DMSO	0	20	147	13	13	25
	FG-6484	1.5	23	181	13	13	29
		5.0	25	181	9	18	35
		15	25	183	9	16	28
		50	25	190	10	15	37
		150	27	199	12	12	20
		500	25	178	13	15	36
		1500	21	164	11	14	28
		5000	23	176	12	16	29
	Positive control: 2-aminoanthracene	1.0	325	NT	57	66	NT
		2.0	NT	743	NT	NT	NT
		15	NT	NT	NT	NT	157

Second trial

Metabolic activation	Test article	Dose level (µg/plate)	Mean number of revertant colonies per plate					
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 uvrA	
Without	Vehicle control: DMSO	0	22	108	10	6	30	
	FG-6484	50	19	116	15	5	35	
		150	20	120	12	6	32	
		500	18	104	17	6	23	
		1500	14	108	14	4	28	
		5000	17	122	12	5	29	
	Positive control	2-nitrofluorene	1.0	145	NT	NT	NT	NT
		Sodium azide	1.0	NT	673	696	NT	NT
		9-aminoacridine	75	NT	NT	NT	333	NT
		Methyl methanesulfonate	1000	NT	NT	NT	NT	384

Table continued on next page

2.6.7.17.2.1 Genotoxicity: In Vitro

Impurities FG-6484, Reverse mutation (ISN: 352010018) (continued)

Second trial

Metabolic activation	Test article	Dose level (µg/plate)	Mean number of revertant colonies per plate				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 uvrA
With	Vehicle control: DMSO	0	23	126	11	6	31
	FG-6484	50	26	120	11	4	28
		150	28	141	10	4	39
		500	19	134	9	5	39
		1500	25	127	13	8	31
		5000	20	127	16	5	40
	Positive control: 2-aminoanthracene	1.0	418	NT	106	40	NT
		2.0	NT	789	NT	NT	NT
		15	NT	NT	NT	NT	277

DMSO: dimethyl sulfoxide; NT: not tested.

2.6.7.17.3 腫瘍試験：：重要な試験以外の試験

2.6.7.17.3 Tumor studies

Non-Pivotal Studies

被験物質：ロキサデュスタット

Type of Study	Species/Strain	Method of Admin.	Doses (mg/kg)	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number CTD Number
Effect on A549 Human Lung Tumors Xenograft Model	Mouse / CD-1 nu/nu	po, TIW	0, 6, 20	M/10	No significant effect of roxadustat on A549 xenograft tumor progression or tumor VEGF mRNA, and significant decrease in circulating VEGF protein concentrations by roxadustat treatment compared to vehicle control. Elevated plasma EPO levels non-significantly compared to vehicle control.	301_05_3030_040 4.2.3.7.7-3 (参)
Effect on Lewis Lung Carcinoma Model	Mouse / C57BL/6	po, TIW	0, 6, 20	F/10	No significant effect of roxadustat on Lewis lung carcinoma tumor development, tumor vascularization, circulating VEGF protein concentrations or tumor VEGF mRNA, compared to vehicle controls. Elevated Hb, Hct and RBC non-significantly.	301_05_3030_042 4.2.3.7.7-4 (参) 301_06_3030_073 4.2.3.7.7-5 (参)
Effect on OVCAR-3 Human Ovarian Carcinoma Xenograft Model	Mouse / CB.17 SCID	po, TIW	0, 20, 60	F/10	No significant differences in median OVCAR-3 tumor burden, circulating VEGF protein levels, tumor VEGF mRNA or tumor vascular density in roxadustat groups compared to controls. Statistically higher Hb, Hct, RBC and plasma EPO levels in the 60 mg/kg roxadustat group than in vehicle controls.	301_06_3030_084 4.2.3.7.7-6 (参) 301_07_3030_118 4.2.3.7.7-7 (参)
Effect on 786-O Human Renal Tumors Xenograft Model	Mouse / nu/nu	po, TIW	0, 20, 60	F/10 or 15	No significant effect of roxadustat on tumor progression, vascularization, or tumor mouse VEGF mRNA levels, and significant decrease in circulating mouse VEGF protein and significant increase in human VEGF mRNA levels in the 60 mg/kg roxadustat group compared to controls. Statistically higher Hb, Hct, RBC and plasma EPO in the 60 mg/kg roxadustat group than in vehicle controls.	301_06_3030_099 4.2.3.7.7-8 (参) 301_07_3030_119 4.2.3.7.7-9 (参)
Effect on K562 Human Leukemia Tumors Xenograft Model	Mouse / CB.17 SCID	po, TIW	0, 20, 60	F/10	No significant effects of roxadustat on K562 tumor growth or vascularization, circulating VEGF levels, tumor VEGF mRNA. Statistically higher Hct and plasma EPO level in 60 mg/kg group than in vehicle controls.	301_06_3030_100 4.2.3.7.7-10 (参) 301_07_3030_120 4.2.3.7.7-11 (参)
Effect on Bx-PC3 Human Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Tumors Xenograft Model	Mouse / nu/nu	po, TIW	0, 80	F/10 (Cetuximab sub-study) F/15 (Bevacizumab sub-study)	No effect of roxadustat administered alone or in combination with cetuximab or bevacizumab on Bx-PC3 xenograft tumor progression. Roxadustat did not interfere with the anti-tumor efficacy of cetuximab or bevacizumab. Roxadustat groups (mono and concomitant dosing) had higher erythropoietic parameters, circulating EPO and VEGF protein levels compared to vehicle control.	301_10_3030_142 4.2.3.7.7-12 (参)

Table continued on next page

2.6.7.17.3 Tumor studies

Non-Pivotal Studies

被験物質：ロキサデュスタット

Type of Study	Species/Strain	Method of Admin.	Doses (mg/kg)	Gender/ No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number CTD Number
Effect on Orthotopic H460-GFP Human Lung Tumors Xenograft Model	Mouse / CD-1 nu/nu	po, TIW	0, 20	M/10	No significant effect of roxadustat on H460-GFP xenograft tumor size or metastasis, tumor vascular density, mouse VEGF protein level or tumor VEGF mRNA compared to vehicle control. Elevated plasma EPO non-significantly.	301_05_3030_041 4.2.3.7.7-13 (参) 301_06_3030_072 4.2.3.7.7-14 (参)
Effect on Orthotopic HCT116-GFP Human Colon Tumors Xenograft Model	Mouse / CD-1 nu/nu	po, TIW	0, 6, 20	M/10	No significant effect on tumor progression, metastasis, tumor vascularization, circulating VEGF protein and tumor VEGF level in roxadustat dose groups compared to controls. Statistically higher plasma EPO levels in the 20 mg/kg roxadustat group than in vehicle control.	301_06_3030_074 4.2.3.7.7-15 (参)
Effect on Orthotopic MDA-MB-435 Human Breast Tumors Xenograft Model	Mouse / CD-1 nu/nu	po, TIW	0, 20, 60	F/15	No significant difference in tumor growth, or tumor VEGF mRNA in roxadustat dose groups compared to controls. 60 mg/kg roxadustat group had statistically higher plasma EPO, VEGF, Hb, Hct and RBC levels than vehicle controls.	301_06_3030_075 4.2.3.7.7-16 (参) 301_07_3030_117 4.2.3.7.7-17 (参)
Effect on B16-F10 Melanoma Metastasis Model	Mouse/ B6D2F1	po, TIW	0, 40, 80	F/15	No effect of roxadustat treatment on the occurrence of B16-F10 lung metastases compared to the control group. Administration of 80 mg/kg roxadustat resulted in statistically higher Hct, Hb, and circulating EPO and VEGF levels compared to control.	301-10-3030-140 4.2.3.7.7-18 (参)
Effect on Breast Tumor Incidence and Progression	Mouse / MMTV-Neu-YD	po, TIW	0, 40, 80	F/20	No difference in tumor onset, tumor growth rates, or circulating VEGF levels between control and roxadustat dosed groups. Circulating EPO protein levels were statistically higher in the roxadustat dosed groups compared to vehicle control.	ON 2009 21 1 4.2.3.7.7-19 (参)

EPO: Erythropoietin; F: Female; Hct: Hematocrit; Hb: Hemoglobin; M: Male; po: Oral administration; RBC: Red blood cell; TIW: Three times weekly; VEGF: Vascular endothelial growth factor.