オニバイド®点滴静注 43mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.6 毒性試験の概要文

日本セルヴィエ株式会社

目次

1 まとめ 7

2 単回投与毒性 10

2.1 マウス単回投与毒性 10

2.1.1 マウスにおける BAX2398 の単回静脈内投与毒性試験 （PEP02-NC-G-Tx-003 試験） 10

2.2 ラット単回投与毒性 11

2.2.1 雄ラットにおける BAX2398 の単回静脈内投与予備試験（PEP02-NC-N-Tx-004 試験） 11

2.2.2 ラットにおける BAX2398 の単回静脈内投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-002 試験） 13

2.3 イヌ単回投与毒性 16

2.3.1 ビーグル犬における CPT-11 の静脈内投与 MTD 試験（PEP02-NC-N-Tx-001 試験） 16

2.3.2 ビーグル犬における BAX2398 の静脈内投与 MTD 試験（PEP02-NC-G-Tx-005 試験） 17

2.3.3 ビーグル犬における BAX2398 の単回静脈内投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-007 試験） 19

3 反復投与毒性 23

3.1 ラット反復投与毒性 23

3.1.1 SD ラットにおける BAX2398 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 2 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-006 試験） 23

3.1.2 SD ラットにおける BAX2398 の 6 サイクル（1 サイクル 3 週間）静脈内投与毒性試験及び 6 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-010 試験） 26

3.2 イヌ反復投与毒性 29

3.2.1 ビーグル犬における BAX2398 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 2 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-009 試験） 29

3.2.2 ビーグル犬における BAX2398 の 6 サイクル（1 サイクル 3 週間）静脈内投与毒性試験及び 6 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-011 試験） 30

4 遺伝毒性 36

5 がん原性 36

6 生殖発生毒性 36
7 局所刺激性 36
8 その他の毒性試験 37
8.1 ヒト全血及び血漿を用いた BAX2398 の溶血及び凝集（PEP02-NC-G-Tx-008 試験） 37
8.2 被験物質及び不純物 37
8.3 光安全性評価 37
8.4 新添加剤の安全性評価 38
8.4.1 BAX2398 又はリポソーム対照の単回及び反復投与毒性試験 40
8.4.2 文献等の安全性関連情報 43
8.4.3 結論 49
9 考察及び結論 50
参考文献 53

表目次

表 2.6.6-1 毒性試験プログラム 9

表 2.6.6-2 PEP02-NC-G-Tx-003 試験計画概要 10

表 2.6.6-3 PEP02-NC-G-Tx-003 試験デザイン 10

表 2.6.6-4 PEP02-NC-N-Tx-004 試験計画概要 12

表 2.6.6-5 PEP02-NC-N-Tx-004 試験デザイン 12

表 2.6.6-6 PEP02-NC-G-Tx-002 試験計画概要 13

表 2.6.6-7 PEP02-NC-G-Tx-002 予備試験デザイン 14

表 2.6.6-8 PEP02-NC-G-Tx-002 主試験デザイン 14

表 2.6.6-9 PEP02-NC-N-Tx-001 試験計画概要 16

表 2.6.6-10 PEP02-NC-N-Tx-001 試験デザイン 16

表 2.6.6-11 PEP02-NC-G-Tx-005 試験計画概要 18

表 2.6.6-12 PEP02-NC-G-Tx-005 試験デザイン 18

表 2.6.6-13 PEP02-NC-G-Tx-007 試験計画概要 20

表 2.6.6-14 PEP02-NC-G-Tx-007 試験デザイン 20

表 2.6.6-15 PEP02-NC-G-Tx-006 試験計画概要 23

表 2.6.6-16 PEP02-NC-G-Tx-006 試験デザイン 24

表 2.6.6-17 PEP02-NC-G-Tx-010 試験計画概要 26

表 2.6.6-18 PEP02-NC-G-Tx-010 試験デザイン 27

表 2.6.6-19 PEP02-NC-G-Tx-009 試験計画概要 29

表 2.6.6-20 PEP02-NC-G-Tx-009 試験デザイン 29

表 2.6.6-21 PEP02-NC-G-Tx-011 試験計画概要 31

表 2.6.6-22 PEP02-NC-G-Tx-011 試験デザイン 31

表 2.6.6-23 新添加剤に関する毒性試験及び安全性関連情報 39

表 2.6.6-24 BAX2398 の単回及び反復投与毒性試験で用いたリポソーム対照中のリン脂質濃度、並びに DSPC、コレステロール及び MPEG-2000-DSPE 投与量 41

表 2.6.6-25 BAX2398 の単回及び反復投与毒性試験で用いたリポソーム対照中の SOS 投与量 42

表 2.6.6-26. BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時と比較した各新添加剤のラット及びイヌにおける体重当たりの安全域.....43

表 2.6.6-27 単回及び反復投与毒性試験で認められた BAX2398 及び CPT-11 の毒性学的プロファイル.....50

略号及び用語の説明

記号	日本語	英語
5-FU	5-フルオロウラシル	5-fluorouracil
ANOVA	分散分析	analysis of variance
API	医薬品有効成分	active pharmaceutical ingredient
AUC	濃度－時間曲線下面積	area under the concentration-time curve
BAX2398	ナノリポソーム型 CPT-11 別称：nLs-CPT-11、nal-IRI、Lipo-CPT-11、HBI-202、PEP02 及び MM-398	nanoliposomal CPT-11, nLs-CPT-11, nal-IRI, Lipo-CPT-11, HBI-202, PEP02 and MM-398
CHL/IU 細胞	チャイニーズハムスター肺由来細胞	chinese hamster lung cell
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣細胞	chinese hamster ovary cell
CPT-11	イリノテカン塩酸塩水和物（JAN）	irinotecan hydrochloride hydrate (Japanese Accepted Name)
DNA	デオキシリボ核酸	deoxyribonucleic acid
DSPC	1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン	1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine
ECG	心電図	electrocardiogram
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	Good Laboratory Practices
HEPES	4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸	2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl] ethanesulfonic acid
HNSTD	重篤な毒性が発現しない最大投与量	highest non-severely toxic dose
HPLC	高速液体クロマトグラフィー	high performance liquid chromatography
ICH	医薬品規制調和国際会議	International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for human use
LD_{50}	50%致死量	lethal dose in 50% of the animals
LV	ロイコボリン	leucovorin
MPEG-2000-DSPE	*N*-(カルボニル-メトキシポリエチレングリコール 2000)-1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン	*N*-(carbonyl-methoxypolyethyleneglycol-2000)-1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine
MTD	最大耐量	maximum tolerated dose
NOAEL	無毒性量	no observed adverse effect level
NOEL	無影響量	no observed effect level
SD ラット	Sprague Dawley ラット	Sprague Dawley rat
SN-38	イリノテカンの活性代謝物	7-ethyl-10-hydroxy-camptothecin, active metabolite of irinotecan
SOS	－	sucrose octasulfate
STDx	x%の動物に重篤な毒性が発現する投与量	severely toxic dose in x% of the animals
TK	トキシコキネティクス	toxicokinetic

1 まとめ

BAX2398 は、リポソーム（平均直径：約 110 nm）に医薬品有効成分（API）であるイリノテカン塩酸塩水和物（CPT-11）を封入した製剤である。非臨床試験用ロットの特性は 2.4.1.4 項に記載されている。本資料中、BAX2398 又は CPT-11 にかかわらず、各投与量は CPT-11 に基づき表示する。CPT-11 50 mg はイリノテカン 43 mg に相当する。

毒性試験プログラムは、がん患者への BAX2398 の使用に対する承認申請を裏付けるために計画された。Sprague Dawley（SD）ラット又はビーグル犬に膵癌患者に対する予定最大臨床用量（80 mg/m^2）の 10 倍以上までの用量を 90 分間点滴静注により 18 週間まで反復投与後、6 週間の回復期間を設けた毒性試験において、BAX2398 の安全性を評価した。

試験は ICH M3（R2、step 4、2009 年）及び ICH S9（step 4、2009 年）ガイダンスに従った。

BAX2398 の毒性試験には ICR マウス、SD ラット及びビーグル犬を使用した。これらの試験には静脈内ボーラス投与による致死性試験、最大耐量（MTD）評価並びに回復性評価を含む 90 分間点滴静注による単回及び反復（週 1 回投与で 4 週間及び 3 週間に 1 回投与で 18 週間）投与試験が含まれる。いくつかの試験においては、BAX2398 と CPT-11 との毒性学的プロファイルを比較するために CPT-11 の投与を含めた。一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び病理検査（適宜、剖検及び病理組織学的検査）を評価した。イヌでは、概して BAX2398 投与により用量依存的な消化管への有害作用が 15 mg/kg（300 mg/m^2、［6］[1]）以上の用量で投与後 15 日以内に認められた。同様の有害作用が、CPT-11 投与では 30 mg/kg（600 mg/m^2）以上の用量で投与開始数日後に認められた。BAX2398 の有害作用は、主に消化管への作用であった。剖検では BAX2398 及び CPT-11 の所見は類似しており、消化管刺激及び種々の器官の重量減少がみられた。

ラット 18 週間投与毒性試験（3 週間に 1 回投与を 1 サイクル）では、一連の組織の病理組織学的検査を実施した（PEP02-NC-G-Tx-010 試験）。BAX2398 を 1 回あたり 0（CPT-11 を含まないリポソーム：リポソーム対照）、30、75 及び 190 mg/kg（0、180、450 及び 1140 mg/m^2）の用量で 90 分にわたり点滴静注した。別群のラットには、CPT-11 を 1 回あたり 75 mg/kg（450 mg/m^2）の用量で投与した。生存期の観察、臨床検査及び病理検査（肉眼観察、器官重量測定及び病理組織学的検査）を 6 サイクルの投与完了時及び 6 週間の回復期間終了時に実施した。BAX2398 の 75 mg/kg 及び 190 mg/kg 群のラットにおいて、体重及び摂餌量の減少が認められた。病理組織学的検査では、大腿骨及び／又は胸骨骨髄の低細胞性、肝臓の変性及び／又は壊死、脾臓の造血亢進並びに種々の組織における泡沫状組織球／マクロファージが観察された。全ての病理組織学的検査所見は、回復期間終了時には完全に消失した。CPT-11 群のラットでは、振戦、失調歩行、流涎及び歯に関連した異常（歯の破損及び摩耗の発現頻度上昇）が観察された。これらの所見に基づく本試験における BAX2398 の無毒性量（NOAEL）は、30 mg/kg（180 mg/m^2）であった。投薬に関連した死亡は観察されなかったことから、重篤な毒性が発現する投与量（STD）は算出できなかった。

[1] FDA ガイダンス（FDA 2005, Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers [6]) ）に基づき、マウス、ラット及びイヌでの体表面積あたりの投与量を変換係数それぞれ 3、6 及び 20 を用いて計算した。

イヌ MTD 用量漸増試験及び単回投与毒性試験では、15～100 mg/kg（300～2000 mg/m^2）の用量を 90 分にわたり点滴静注した（PEP02-NC-N-Tx-001 試験、PEP02-NC-G-Tx-005 試験及び PEP02-NC-G-Tx-007 試験）。一般状態観察、体重、摂餌量、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び病理検査（剖検及び病理組織学的検査、適宜）を実施した。概して、用量依存的な消化管への有害作用が BAX2398 の 15 mg/kg（300 mg/m^2）以上の投与で認められた。同様の有害作用が CPT-11 投与では 30 mg/kg（600 mg/m^2）以上で投与後数日以内に認められた。BAX2398 の有害作用は主に消化管への作用であった。用量依存的な白血球数の低値が BAX2398 及び CPT-11 投与後にみられたが、イヌでは API 等量換算で CPT-11 より BAX2398 の方が重度であった。剖検では、BAX2398 及び CPT-11 の所見は類似しており、消化管刺激及び器官重量減少がみられた。イヌにおける単回投与後に重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は 15 mg/kg（300 mg/m^2）、致死量は 30 mg/kg（600 mg/m^2）であった。

イヌ 4 週間投与毒性試験（週 1 回投与）では、一連の組織での包括的な病理組織学的検査を実施した（PEP02-NC-G-Tx-009 試験）。BAX2398 を 1 回あたり 0（リポソーム対照）、4、8 及び 16 mg/kg（0、80、160 及び 320 mg/m^2）の用量で 90 分にわたり点滴静注した。別群のイヌには、CPT-11 を 1 回あたり 16 mg/kg（320 mg/m^2）の用量で投与した。生存期の観察、臨床検査及び種々の組織の病理検査（剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査）を投与期間終了時及び 14 日間の回復期間終了時に実施した。BAX2398 の 16 mg/kg（320 mg/m^2）投与において、雄 2 匹を一般状態の悪化のため第 4 日及び 14 日（すなわち、初回投与後及び第 2 回投与後）に切迫屠殺した。剖検で消化管出血が観察された。さらに、可逆性所見として、同群に体重減少、摂餌量減少、好中球減少、前立腺、精巣、胸腺、卵巣及び子宮の対体重重量の減少、脾臓及び肝臓の造血亢進並びにパイエル板萎縮（BAX2398 8 mg/kg 投与でも観察）が認められた。CPT-11 の 16 mg/kg（320 mg/m^2）を投与したイヌでも好中球減少及びパイエル板萎縮を除き、類似の変化が観察された。これらの所見に基づく BAX2398 の NOAEL は 8 mg/kg（160 mg/m^2）であった。致死量は 16 mg/kg であったことから、HNSTD は 8～16 mg/kg（160～320 mg/m^2）と推定された。

イヌ 18 週間毒性試験（3 週間に 1 回投与を 1 サイクル）では、一連の組織の包括的な病理組織学的検査を実施した（PEP02-NC-G-Tx-011 試験）。BAX2398 を 1 回あたり 0（リポソーム対照）、9、15、21 及び 36 mg/kg（0、180、300、420 及び 720 mg/m^2）の用量で 90 分にわたり点滴静注した。別群のイヌには、CPT-11 を 1 回あたり 21 及び 36 mg/kg（420 及び 720 mg/m^2）の用量で投与した。生存期の観察、臨床検査及び種々の組織の病理検査（剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査）を 6 サイクル完了時及び 6 週間の回復期間終了時に実施した。BAX2398 の 15 mg/kg 及び 21 mg/kg 初回投与後、それぞれ雄 1 匹及び雌 1 匹で瀕死による切迫屠殺又は死亡が認められた。さらに、CPT-11 の 21 mg/kg 初回投与後に雄 1 匹を切迫屠殺した（本試験では CPT-11 の 15 mg/kg 群は設定されていない）。高用量群の動物（BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 投与）は、死亡又は本試験から除外した。屠殺及び死亡動物において投薬に関連した病理組織学的変化が骨髄（軽度から重度の低細胞性）、消化管（軽微から中等度の変性を伴う又は伴わない陰窩上皮壊死、陰窩拡張、粘膜絨毛萎縮、粘膜うっ血／出血）、脾臓、胸腺、リンパ節及びパイエル板のリンパ組織（軽微から中等度のリンパ球萎縮／壊死）並びに生殖器官（軽微から軽度の精上皮変性／壊死、軽微から軽度の精巣上体単細胞性壊死、軽微から中等度の前立腺腺房萎縮、軽微の卵胞数減少及び軽微の子

宮萎縮）で観察された。これらの動物の病変の程度及び頻度は、BAX2398 と CPT-11 との投与群間で類似していた。BAX2398 の 9 mg/kg（180 mg/m^2）投与では、軽度の摂餌量減少が認められた。15 mg/kg（300 mg/m^2）投与では、摂餌量減少及び小腸、肝臓、脾臓及び子宮の病理組織学的変化が観察された。21 mg/kg（420 mg/m^2）投与では、低頻度の死亡、軽度の臨床症状、摂餌量減少並びに小腸、肝臓、脾臓及び子宮の病理組織学的変化が観察され、これらの所見は 6 週間の回復期間終了後も完全には回復しなかった。BAX2398 の 21 mg/kg 及び CPT-11 の 21 mg/kg 投与で観察されたイヌでの変化は類似傾向を示し、2 剤の差は小さかった。BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 投与では、いずれも高頻度の死亡、有害な臨床症状、体重減少、摂餌量減少及び顕著な病理組織学的変化所見が認められた。イリノテカン及び SN-38（イリノテカンの活性代謝物）の雌雄の TK パラメータに統計学的有意差はみられなかった。BAX2398 及び CPT-11 の 3 週間に 1 回投与を 1 サイクルとして 6 サイクル投与したとき、イリノテカン及び SN-38 の明らかな蓄積は認められなかったことから、BAX2398 の大部分は次回投与前に全身循環血から消失することが示唆された（2.6.4.3.2.4 項）。これらの所見から、本試験（3 週間に 1 回投与で 18 週間）での BAX2398 の NOAEL は 9 mg/kg（180 mg/m^2）であり、15 mg/kg（初回投与後のみ）が致死量とみられたことから、HNSTD は、9～15 mg/kg（180～300 mg/m^2）と推定された。

毒性試験プログラムを表 2.6.6-1 に示す。

表 2.6.6-1 毒性試験プログラム

試験の種類	動物種	投与経路	GLP	試験番号
単回投与毒性試験	マウス	静脈内	不適	PEP02-NC-G-Tx-003
	ラット	静脈内	適	PEP02-NC-G-Tx-002
	ラット	静脈内	不適	PEP02-NC-N-Tx-004
	イヌ	静脈内	適	PEP02-NC-G-Tx-007
MTD 試験	イヌ	静脈内	不適	PEP02-NC-N-Tx-001
	イヌ	静脈内	適	PEP02-NC-G-Tx-005
反復投与毒性試験	ラット（4 週間）	静脈内	適	PEP02-NC-G-Tx-006
	イヌ（4 週間）	静脈内	適	PEP02-NC-G-Tx-009
	ラット（18 週間）	静脈内	適 [a]	PEP02-NC-G-Tx-010
	イヌ（18 週間）	静脈内	適 [a]	PEP02-NC-G-Tx-011
血液適合性試験	ヒト血液	*In vitro*	適	PEP02-NC-G-Tx-008

GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、MTD：最大耐量
a： 一部不適。試験は GLP の原則に従い実施されたが、部分的（製剤分析、生体試料分析及び TK）に台湾の試験施設で実施され、台湾は GLP モニタリングプログラムに関する OECD の相互受け入れ制度が適用されない。

2 単回投与毒性

2.1 マウス単回投与毒性

2.1.1 マウスにおける BAX2398 の単回静脈内投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-003 試験）

本試験の目的は、BAX2398 を 0（リポソーム対照）、200、400 及び 800 mg/kg 並びに CPT-11 を 200 mg/kg の用量で ICR マウスに 90 分にわたり単回点滴静注したときの毒性評価であった。マウスは投与後 14 日間、一般状態、生死及び体重を観察し、剖検した。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.6-2 及び表 2.6.6-3 に示す。

表 2.6.6-2 PEP02-NC-G-Tx-003 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：200、400、800 mg/kg 単回投与 CPT-11：200 mg/kg 単回投与
投与経路	90 分間点滴静注
動物種	マウス／系統 Crl:CD-1(ICR)BRfSPF、投与開始時：約 6～7 週齢、 体重 30.5～34.6 g（雄）及び 22.3～25.7 g（雌）
評価項目	生死及び一般状態観察（投与約 1、2、3 及び 4 時間後） 死亡及び瀕死（1 日 2 回） 体重測定（毎日） 剖検（全例）
統計処理	群及び雌雄別に全体重データを集計し、ANOVA 後、Dunnett's test 実施又は正規性がなかった場合はノンパラメトリックデータとして Kruskal-Wallis test 後、Dunn's test を実施。有意水準を $P < 0.05$ とした。

表 2.6.6-3 PEP02-NC-G-Tx-003 試験デザイン

Groups	Number of Animals/Sex	Dosing Regimens (mg/kg)	Concentration[a] (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)
Liposome control	M/F (5/5)	0	0	43.3
CPT-11	M/F (5/5)	200	4.63	43.3
BAX2398	M/F (5/5)	200	4.63	43.3
BAX2398	M/F (5/5)	400	9.25	43.3
BAX2398	M/F (5/5)	800	18.49	43.3

M: male, F: female
a ：The concentration of CPT-11

死亡及び一般状態：BAX2398 の 200、400 及び 800 mg/kg 群でそれぞれ 5 匹中 1 匹、5 匹中 5 匹及び 5 匹中 5 匹の雄が死亡した。死亡は 800 mg/kg 群では第 6～7 日、200 及び 400 mg/kg 群では

第 7～9 日に認められた。雌では 400 及び 800 mg/kg 群でいずれも 5 匹中 5 匹が死亡した。死亡は 800 mg/kg 群では第 7～8 日、400 mg/kg 投与では第 8～9 日に認められた。

BAX2398 の 200 mg/kg 群で投与 1 週間後（第 8 日）に死亡した雄 1 匹は、死亡当日に便及び尿による被毛汚染、水様便などの消化管毒性や活動性低下が初めて認められた。BAX2398 の 400 及び 800 mg/kg 群でも、投薬に関連した類似の臨床所見が遅発した。BAX2398 の 400 及び 800 mg/kg 群では、活動性低下、衰弱、脱水並びに尿及び／又は便に汚染された被毛、軟便／水様便が第 6 日から死亡までに観察された。本試験でマウスに BAX2398 を 90 分にわたり単回点滴静注したときの致死量は低用量の 200 mg/kg であり、50%致死量（LD_{50} 値）は雄で 237 mg/kg、雌で 336 mg/kg と推定された。なお、STD_{10} は 200 mg/kg（600 mg/m^2）であった（表 2.6.6-27）。

CPT-11 の 200 mg/kg 群では、雌雄各 1 匹が投与直後に死亡した。本群の他のマウスでは、活動性低下を呈し、振戦、流涙及び色素涙が投与後最初の 4 時間以内に観察された。有害な臨床症状は第 2 日に消失した。なお、STD_{20} は 200 mg/kg（600 mg/m^2）であった（表 2.6.6-27）。

第 1～2 日に全群に体重減少（群平均値）が観察された。BAX2398 の 200 mg/kg 群では、体重減少が第 1～7 日まで継続し、その後の観察期間中に徐々に回復した。BAX2398 の 400 及び 800 mg/kg 群では、投与から剖検時（全マウスが第 6～9 日に死亡）まで有意な体重減少が認められた。CPT-11 群でも、第 1～6 日に体重減少が認められたが、統計学的有意差はなかった。

剖検では、投与後の観察期間中に死亡した BAX2398 の 200 mg/kg 群の雄 1 匹並びに BAX2398 の 400 及び 800 mg/kg 群の雌雄マウスの大多数で、生殖器周辺の黒色便汚染、脾臓萎縮、副腎のうっ血及び出血、胸腺萎縮及び肝臓の蒼白化が認められた。さらに、観察期間終了時まで生存した BAX2398 の 200 mg/kg 群の雄 2 匹で脾臓腫大が観察された。肝臓腫大（雄 1 匹）は、CPT-11 投与マウスで観察された唯一の剖検所見であった。

以上のように、マウスへの BAX2398 の 200、400 及び 800 mg/kg の点滴静注により、それぞれ雄で 5 匹中 1 匹、5 匹中 5 匹及び 5 匹中 5 匹、雌で 5 匹中 0 匹、5 匹中 5 匹及び 5 匹中 5 匹のマウスが死亡した。低用量の 200 mg/kg が致死量であった。推定 LD_{50} 値は雄で 237 mg/kg、雌で 336 mg/kg であった。重度の臨床症状及び死亡は、非常に高い用量でも投与 6～8 日後に遅発した。このことは、リポソーム封入により CPT-11 の重度の急性毒性が減弱したことを示唆している。CPT-11 投与では有害な臨床症状及び死亡が投与当日に発現した。投与当日に生存した CPT-11 群のマウスは 14 日間の観察期間後も生存した。

2.2 ラット単回投与毒性

2.2.1 雄ラットにおける BAX2398 の単回静脈内投与予備試験（PEP02-NC-N-Tx-004 試験）

2 ロットの BAX2398 及び CPT-11 を雄 SD ラットに単回静脈内投与したときの毒性を評価した。ラットを 14 日間観察し、一般状態、生死、体重及び肉眼的剖検所見について評価した。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.6-4 及び表 2.6.6-5 に示す。

表 2.6.6-4 PEP02-NC-N-Tx-004 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：200、400 mg/kg 単回投与 CPT-11：200 mg/kg 単回投与
投与経路	静脈内投与
動物種	雄ラット／系統 Crl:CD(SD)fSPF、約 7～8 週齢
評価項目	生死及び一般状態観察（投与約 1 及び 4 時間後並びにその後 1 日 1 回） 体重測定［投与開始前並びに第 2、3、4、5、8 及び 15（試験終了時）日］ 剖検（全例）
統計処理	群別に全体重データを集計し、ANOVA 後、Dunnett's test を実施。有意水準を $P < 0.05$ とした。

表 2.6.6-5 PEP02-NC-N-Tx-004 試験デザイン

Groups	Number of Animals/Sex	Dosing Regimens(mg/kg)	Dose Volume (mL/kg)
Saline control	3 M	0	10.0
Liposome control	2 M	0	22.2
CPT-11	4 M	200	10.0
BAX2398 Lot 1 (LIIA02)	3 M	200	11.1
BAX2398 Lot 1 (LIIA02)	3 M	400	22.2
BAX2398 Lot 2 (LIIA03)	3 M	200	11.1
BAX2398 Lot 2 (LIIA03)	3 M	400	22.2

M: male

BAX2398 の 2 ロットについて、それぞれ 200 及び 400 mg/kg の用量でラットへ静脈内投与し、その急性毒性を評価した。同時対照として生理食塩液及びリポソーム対照を、比較対照として CPT-11（200 mg/kg）を使用した。

CPT-11 の 200 mg/kg 群で 4 匹中 2 匹が投与後 4 時間以内に死亡した。生理食塩液群、リポソーム対照群並びに BAX2398（LIIA02 ロット及び LIIA03 ロットのいずれも 200 及び 400 mg/kg 投与）群の動物では 14 日間の観察期間を通じて死亡は観察されなかった。

BAX2398（LIIA02 ロット及び LIIA03 ロット）の 200 及び 400 mg/kg 群の動物で第 3 日までにケージトレイに軟便が観察された。便の着色が少数例で第 4 日にみられた。全ての所見は第 5 日までに消失した。CPT-11 の 200 mg/kg 群では、活動性低下、眼球突出、軟便、水様便、生殖器周辺の黄色尿汚染、振戦及び色素涙が、投与後 5 日以内に観察された。全ての所見は第 7 日までに消失した。生理食塩液群及びリポソーム対照群では臨床症状は認められなかった。

BAX2398 群では、いずれのロットについても投与後一過性の体重減少が認められ、第 8 日以降は体重増加を示した。両ロットの 200 mg/kg 群では、第 2 週の観察期間中に試験開始時の体重を上回り、両ロットの 400 mg/kg 群では第 15 日の剖検前に試験開始時体重を上回った。

以上のように、BAX2398 はいずれのロットでも、類似の臨床症状並びに用量依存的な体重減少及び第 8 日からの穏やかな回復を認めた。投薬に関連した剖検所見はみられなかった。2 ロットの BAX2398（LIIA02 ロット及び LIIA03 ロット）は、200 及び 400 mg/kg の用量群で類似した毒性

所見（軟便及び体重減少）を示した。BAX2398 群では、いずれのロットも所見の発現は第 3 日以降まで遅延し、毒性学的に類似していた。CPT-11 の 200 mg/kg 群では、投与後 4 時間以内に臨床症状及び 4 匹中 2 匹の死亡を認めた。本群の生存例は、BAX2398 のいずれの投与群よりも観察期間第 2 週に体重増加の完全な回復（対照群の値により近似）を示した。剖検所見に投薬の影響はみられなかった。

2.2.2 ラットにおける BAX2398 の単回静脈内投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-002 試験）

本試験では、引き続く 28 日間試験に使用する適切な用量を決定するために BAX2398 の潜在的な毒性を評価した。本試験は、予備試験及びそれに続く主試験で構成された。

予備試験では、BAX2398 を 240、480、600、720 及び 960 mg/kg 並びに比較対照として CPT-11 を 160、240 及び 320 mg/kg の用量で 90 分にわたり単回点滴静注し、評価した（観察期間 7 日間）。特記すべき毒性が認められなかったことから、主試験には 960 mg/kg までの用量を使用した。

主試験では、1 群雌雄各 5 匹の SD ラットに BAX2398 を 0（リポソーム対照）、480、720 及び 960 mg/kg 又は CPT-11（比較対照）を 320 mg/kg の用量でそれぞれ 90 分にわたり単回点滴静注した（観察期間 14 日間）。体重及び摂餌量を記録し、臨床検査のため血液及び尿試料を採取した。

試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.6-6 並びに表 2.6.6-7（予備試験）及び表 2.6.6-8（主試験）に示す。

表 2.6.6-6 PEP02-NC-G-Tx-002 試験計画概要

投与レジメン	予備試験- BAX2398：240、480、600、720、960 g/kg CPT-11：160、240、320 mg/kg 主試験- BAX2398：480、720、960 mg/kg CPT-11：320 mg/kg
投与経路	90 分間点滴静注、10 mL/kg/hr
動物種	SD ラット 予備試験- 投与開始時：約 7～17 週齢、243～472 g 主試験- 投与開始時：約 12～17 週齢、247～497 g
評価項目	生死 （1 日 1 回）、ケージサイドの一般状態観察（1 日 2 回） 体重測定（第 1、8 及び 14 日、主試験のみ） 摂餌量測定（第 1~8 及び 8~14 日、主試験のみ） 臨床検査（血液学的検査、血液生化学的検査、凝固系検査及び尿検査）［第 8（血液学的検査のみ）及び 15 日、主試験のみ］ 剖検（全例、主試験のみ）
統計処理	データ（雌雄別）は等分散性（Levene Median 検定）及び正規性（Kolmogorov-Smirnov 検定）について解析した。等分散データは ANOVA 後、群間差を Dunnett’s test で検定した。不等分散データは Kruskal-Wallis test 後、対照群と BAX2398 又は CPT-11 の各群との群間差を Dunn’s test で検定した。有意水準を $P \leq 0.05$ とした。

表 2.6.6-7 PEP02-NC-G-Tx-002 予備試験デザイン

Groups	Animals/Sex	Dose Regimens[a] (mg/kg)	Sub-doses[b]
BAX2398	M/F 2/2	240	-
BAX2398	M/F 2/2	480	2
BAX2398	M/F 2/2	600	3
BAX2398	M/F 2/2	720	3
BAX2398	M/F 2/2	960	4
CPT-11	M/F 2/2	160	-
CPT-11	M/F 2/2	240	-
CPT-11	M/F 2/2	320	-

M: male, F: female
a： Each dose level is expressed on the basis of the content of CPT-11 – 16.64 mg/mL – in BAX2398
b： Where appropriate, treatment was divided into as many as four sub-doses.

表 2.6.6-8 PEP02-NC-G-Tx-002 主試験デザイン

Groups	Animals/Sex	Dosing Regimens (mg/kg)[b]	Dose Conc. (mg/mL)	Sub-doses[c]	Dose Volume (mL/kg)
Liposome control[a]	M/F 5/5	--	0	4	15
BAX2398	M/F 5/5	480	16	2	15
BAX2398	M/F 5/5	720	16	3	15
BAX2398	M/F 5/5	960	16	4	15
CPT-11	M/F 5/5	320	21.3	-	15

M: male, F: female
a： Liposome control article dosing solution with a phospholipid concentration of 26.30 mmol/L
b： Each dose level is expressed on the basis of the content of CPT-11 – 18.49 mg/mL – in BAX2398
c： Where appropriate, treatment was divided into as many as four sub-doses.

予備試験結果

BAX2398 の 960 mg/kg 群で 1 匹に、第 6 日以降、ケージトレイの軟便、被毛粗剛、身づくろい消失、光沢のない被毛及び半眼が観察された。BAX2398 群の動物にその他の臨床症状は観察されなかった。

CPT-11 群の動物では、投与直後に所見がみられた。240 mg/kg 群では第 1 日に活動性低下、半眼及び／又は労作呼吸及び不規則呼吸が観察された。これらのラットの 1 匹に第 2 日に被毛粗剛、身づくろい消失、光沢のない被毛が観察された。CPT-11 の 320 mg/kg 群で 1 匹が投与中に死亡した。同群の他の 1 匹には、第 1 日に半眼を伴う活動性低下及び労作呼吸／不規則呼吸が観察され、第 2 日に被毛粗剛、身づくろい消失、光沢のない被毛が認められ、第 4 日に振戦及び皮膚ツルゴール低下が観察された。このラットは、第 5 日までに死亡した。CPT-11 群の動物にその他の臨床症状は観察されなかった。

主試験結果

14 日間の観察期間中に 1 匹が死亡し、5 匹を切迫屠殺した。うち 5 匹は BAX2398 の 960 mg/kg 群の動物であり、雌 1 匹は第 8 日に死亡し、第 7 日に雄 1 匹を、第 8 日に雌 1 匹及び雄 2 匹を屠殺した。これらの動物では死亡前に消化管作用（水様便及び／又は粘液便及びケージトレイの黄色粘性物質汚染、被毛粗剛、身づくろい消失、光沢のない被毛並びに腹部／肛門部に液性褐色物質の付着）が観察された。皮膚ツルゴール低下、活動性低下及び衰弱が多数のラットでみられた。残る 1 匹は CPT-11 群であり、雄 1 匹を第 9 日に切迫屠殺した。同動物では、BAX2398 の 960 mg/kg 群で観察された所見と同様の消化管毒性が観察され、屠殺前に衰弱を呈し、低体温、労作呼吸、便中及び尾、陰嚢及び肛門部に粘性褐色物質を認めた。

BAX2398 群では、投薬に関連した数々の臨床症状が、投与後比較的遅発性に発現した。これらの所見には、軟便／水様便、食欲不振、体重減少、眼瞼下垂及び被毛粗剛、身づくろい消失、光沢のない被毛が含まれる。皮膚ツルゴール低下（消化管からの体液の消失による可能性）は BAX2398 の 960 mg/kg 群のみで観察された。CPT-11 群でも消化管への作用が認められた。軟便／水様便、体重減少を伴う食欲不振及び皮膚ツルゴール低下が同群の動物で広く観察された。

投薬に関連した体重減少が、BAX2398 の全用量群及び CPT-11 群で観察された。いずれの群でも、体重の回復は第 8～14 日の間にみられた。統計学的有意な摂餌量減少が、BAX2398 の全用量群で用量依存的に、また CPT-11 群の雌雄で認められた。摂餌量低下は、消化管毒性の臨床症状発現時に生じ、投薬動物の体重減少に寄与する因子と考えられた。第 8～14 日の摂餌量増加により示唆される食欲の回復は、この期間の体重増加量の増加に関連していた。

BAX2398 の全用量群での第 8 日の血液学的検査においては、総白血球数の用量依存的な減少が認められた。この減少は、全用量群の雄で統計学的に有意であった。雌でも全用量群で総白血球数の減少がみられたが、減少は 960 mg/kg 群のみで有意であった。CPT-11 群の第 8 日の検査においては統計学的に有意な総白血球数の低下はみられなかった。第 15 日の検査においては、好中球、リンパ球及び好酸球数に部分的回復がみられた。これら血液学的検査値の変動は、抗がん剤の急速に分裂する細胞集団に対する一時的な抑制作用と一致している。血液生化学的検査では、BAX2398 の全用量群の雄で有意なリン濃度の増加が観察されたが、雌では有意差が認められず、本所見の毒性学的意義は不明である。

BAX2398 群及び CPT-11 群のいずれにも尿検査及び凝固系パラメータに投薬に関連した所見はみられなかった。

試験期間中に死亡又は切迫屠殺した 6 匹（BAX2398 の 960 mg/kg 群 5 匹及び CPT-11 群 1 匹）では、消化管に暗色物質が認められた。第 8 日に死亡した BAX2398 の 960 mg/kg 群の雌 1 匹で胃粘膜の隆起した暗色領域及び空腸、回腸及び結腸の暗色化も観察された。これらの所見は胃の出血を示唆しており、おそらく死因と考えられる。第 15 日の剖検では、BAX2398 群のラットに胸腺の小型化が観察された（480 mg/kg 群の 10 匹中 6 匹、720 mg/kg 群の 10 匹中 9 匹及び 960 mg/kg 群の 5 匹中 5 匹）。BAX2398 の全用量群で、脾臓に隆起又は蒼白化領域が観察され、用量依存的に頻度が上昇した。副腎、腎臓、膵臓及び消化管の変色が BAX2398 の 960 mg/kg 群の切迫屠殺動物で高頻度に認められた。CPT-11 群の剖検においては、多数の動物で消化管の蒼白又は暗色化、消化管のゲル状物質、腎臓の蒼白化及び下顎リンパ節の限局性暗色化領域が観察された。

以上のように、BAX2398 の全用量（480、720 及び 960 mg/kg）群で臨床所見及び剖検所見として消化管への作用、細胞増殖抑制（リンパ球への作用）及び胸腺の病理変化が観察された。消化管への種々の作用は、960 mg/kg 群の動物の死因と考えられた。CPT-11 投与でみられた毒性は、主に消化管で観察された。960 mg/kg 群でみられた総リンパ球数への影響は非回復性であった。BAX2398 群の動物での臨床症状の遅発は、投薬に関連した消化管への作用が被験物質作用の主な兆候として発現していることを示唆している。CPT-11（320 mg/kg）群でも明らかに毒性が認められ、同群の 1 匹が死亡し、主な標的器官は消化管であった。なお、BAX2398 の STD_{50} は 960 mg/kg（5760 mg/m^2）、HNSTD は 720 mg/kg（4320 mg/m^2）、CPT-11 の STD_{10} は 320 mg/kg（1920 mg/m^2）であった（表 2.6.6-27）。

2.3 イヌ単回投与毒性

2.3.1 ビーグル犬における CPT-11 の静脈内投与 MTD 試験（PEP02-NC-N-Tx-001 試験）

CPT-11 を雌雄各 1 匹のビーグル犬に 90 分にわたり点滴静注し、MTD を検討した。CPT-11 は 30、40 及び 60 mg/kg の用量で休薬期間は 4 日間とし、漸増投与した。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.6-9 及び表 2.6.6-10 に示す。

表 2.6.6-9 PEP02-NC-N-Tx-001 試験計画概要

投与レジメン	CPT-11：初回用量 30 mg/kg（第 1 日）、2 回目用量 40 mg/kg（第 5 日）、3 回目用量 60 mg/kg（第 15 日、生存雄のみ）
投与経路	90 分間点滴静注、5 mL/kg（3.33 mL/kg/hr）
動物種	ビーグル犬、投与開始時：約 8～10 ヵ月齢、雄 11.3 kg 及び雌 9.8 kg
評価項目	生死（1 日 2 回） 一般状態観察（1 日 2 回、投与日は投与中各 30 分ごと） 体重測定（各投与前及び投与後） 剖検（雌：第 9 日に死亡、同日剖検。雄：第 19 日）

表 2.6.6-10 PEP02-NC-N-Tx-001 試験デザイン

Group	Number of Animals/Sex	Dose Regimens (mg/kg)	Dose Volume (mL/kg)
CPT-11	1 M	30	5
	1 F		
	1 M	40	5
	1 F		
	1 M	60	5

M: male, F: female

40 mg/kg 投与後、雌が死亡したため、雄への 3 回目（最終）投与前の休薬期間を 10 日に延長した。

雌は 40 mg/kg 投与 4 日後の第 9 日に死亡した。死亡は投薬に関連していた。雄では、60 mg/kg 投与後、ケージトレイに粘性物質を認めた。この雄は摂餌しなくなり、4 日間で体重が 1.5 kg 減少した。雄は第 19 日（60 mg/kg 投与 4 日後）に屠殺した。

いずれのイヌも、30 mg/kg 投与後、一晩中多量の嘔吐が認められた。雌は第 5 日までに食欲不振となり、体重が 9.8 kg から 8.6 kg に減少した。第 5 日の 2 回目（40 mg/kg を 90 分間）投与中に、雌は 3 回嘔吐し、過剰な流涎がみられた。2 回目投与終了後、口に泡を認め、茶及び黄色の粘液並びに白色の泡状の物質を伴う少量の液性便がケージトレイにみられた。雌の活動性は著しく低下し、消化管への直接作用に加えて、被験物質の全身作用が示唆された。雌の状態悪化は継続し、脱水を呈し、血尿を示唆する暗褐色尿がみられた。

雄では、初回（30 mg/kg）投与後、ケージトレイに嘔吐、黄色粘液及び白色泡状物質が認められた。2 回目（40 mg/kg）投与後、少量の液性便がケージトレイに認められたが、投与 2 日後まで活動性及び反応性に影響はみられなかった。第 7 日に、黄色液及び褐色乾燥物がケージトレイに認められ、活動性が低下した。凝血塊が軟便中に観察されたが、食欲が回復したため、雄の状態は改善し、第 8 日から活動性は増加した。第 15 日の 3 回目（60 mg/kg）投与後、黄色、白色、褐色及び赤色粘性物質がケージトレイに認められ、雄は食欲不振となり、4 日間以内に体重が 1.5 kg 減少した。第 19 日に雄を屠殺した。

いずれのイヌも、CPT-11 の静脈内投与の影響により、用量依存的に体重が減少した。死亡前、雌の体重は 2.1 kg 減少した。雄の体重減少はより緩徐であり、30 及び 40 mg/kg の CPT-11 投与後、第 8 日までに 11.3 kg から 10.4 kg に減少した。第 12 日までに、生存したイヌの体重は増加し、食欲不振も目立たなくなった。60 mg/kg 投与後、雄の体重は 4 日間でさらに 1.5 kg 減少した。

40 mg/kg 投与 4 日後に死亡した雌では、幽門から直腸までの消化管の大部分に暗色化又は斑状の粘膜が観察された。さらに、暗色の消化物並びに腸間膜及び下顎リンパ節の暗色化が認められた。60 mg/kg 投与 4 日後に屠殺した雄では、十二指腸及び結腸粘膜の暗色化が認められた。

以上のように、本試験のビーグル犬における CPT-11 の MTD（HNSTD）は、雌で 30 mg/kg、雄で 40 mg/kg であった。

2.3.2 ビーグル犬における BAX2398 の静脈内投与 MTD 試験（PEP02-NC-G-Tx-005 試験）

1 群雌雄各 1 匹から成る 3 群のビーグル犬に、BAX2398 をそれぞれ 100 mg/kg、40 mg/kg 投与後 50 mg/kg、又は 65 mg/kg の用量で 90 分にわたり点滴静注し、MTD を決定した。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.6-11 及び表 2.6.6-12 に示す。

表 2.6.6-11 PEP02-NC-G-Tx-005 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398 第 1 群雌雄 100 mg/kg 第 2 群雌雄 40 mg/kg 投与及び 2 週間回復期間後 50 mg/kg 投与 第 3 群雌雄 65 mg/kg
投与経路	90 分間点滴静注、30 mL/kg（20 mL/kg/hr）
動物種	ビーグル犬、投与開始時：約 8～12 ヵ月齢、体重 6.9～9.9 kg
評価項目	一般状態観察（1 日 2 回） 体重測定（投与前及び剖検前、第 2 群のイヌは投与前、14 日間の回復期間の中間点及び剖検日） 摂餌量（毎日） 血液学的検査及び血液生化学的検査試料は、第 2 群の 2 匹から剖検時（第 30 日）に採取。 剖検（全例）

表 2.6.6-12 PEP02-NC-G-Tx-005 試験デザイン

Groups	Number of Animals/Sex	Dose Regimens (mg/kg)[a]	Concentration (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)
BAX2398	M/F 1/1	100	3.33	30
	M/F 1/1[b]	40 50	1.33 1.67	30 30
	M/F 1/1	65	2.17	30

M: male, F: female

a： Each dose level expressed on the basis of the content of CPT-11 –16.64 mg/mL – in BAX2398

b： A 14 day observation/recovery period was set between the two (40 and 50 mg/kg) treatments

65 mg/kg 群の雄が死亡し、雌を第 5 日に切迫屠殺した。雄で活動性低下が観察され、両動物のケージトレイに未消化の餌、黄色の液状又は泡状物質及び暗色化した軟便が認められた。いずれの動物も、全身毒性を示唆する所見に加え、剖検で消化管の重度の刺激所見がみられた。

100 mg/kg 群の雌雄を第 4 日に切迫屠殺した。両動物において第 2 及び 3 日に未消化の餌及び黄色又は白色の泡、液状の赤色消化物、ベージュ色又は緑色の粘性物質が糞便中及び／又はケージトレイに認められた。両動物は、無反応、拒食及び削痩を呈した。剖検では重度の消化管刺激を示す所見を認めた。

40 mg/kg 投与後 50 mg/kg を投与した 2 用量投与群（40/50 mg/kg 群）の雄では、40 mg/kg 投与後に臨床症状を認めた。本動物は 3 及び 5 時間後の観察時に嗜眠を呈した。50 mg/kg 投与後、本動物は投与直後に足蹠浮腫を呈した。さらに、50 mg/kg 投与後の雌雄で軽度の振戦が認められた。流涎過多及び舌なめずりが雌でみられた。本群の両イヌで、食欲不振、ケージトレイに未消化の餌（嘔吐）及び体重減少がみられ、加えて、孤発性の白色又は黄色の泡状及び液状物質、暗色便及び少量の血液及び／又は赤色粘液状物質がケージトレイに認められた。両イヌはこれらの作用から投与後回復期間中に回復し、いずれも計画屠殺された。剖検日には、雌のケージトレイに緑色の粘性物質が観察された。

投与 5 時間後、65 mg/kg 群の雄でケージトレイに未消化の餌が観察された。同群の雌では投与 3 及び 5 時間後に少量の軟便及び液状便がケージトレイに認められた。

100 mg/kg 群の雄でケージトレイに少量の軟便が観察され、雌では未消化の餌及び白色の泡がケージトレイにみられた。所見はいずれも投与 5 時間後にのみ観察された。

BAX2398 の全用量群で体重減少がみられた。40 mg/kg 投与後のイヌは投薬の影響から回復し、50 mg/kg 投与前には体重増加が始まった。

BAX2398 の全用量群の雌雄で顕著な摂餌量減少がみられた。この作用は体重減少の原因と考えられた。40/50 mg/kg 群では、各投与の 14 日間の回復期間終了前に摂餌量の回復がみられた。

同時対照群のデータは得られなかったが、40/50 mg/kg 群のイヌの血液学的検査値及び血液生化学的検査値に明らかな投薬の影響はみられなかった。

40/50 mg/kg 群の動物を第 30 日（観察期間終了時）に屠殺した。いずれのイヌにも剖検で投薬に関連した所見はみられなかった。

65 mg/kg 群の雄は、第 5 日に死亡した。同群の雌は倫理的理由で同日に切迫屠殺した。剖検では、両動物の消化管粘膜に限局性の暗色化／斑状形成が観察された。両動物で脾臓及び胸腺の小型化が認められ、雄では剖検時に腸間膜リンパ節の退色がみられた。

100 mg/kg 群の 2 匹を第 4 日に切迫屠殺した。粘膜表面領域の暗色化を伴う消化管に暗色液が認められ、重度の消化管反応が示唆された。腸間膜リンパ節の退色及び膵リンパ節の斑状形成が両イヌで観察された。

以上のように、BAX2398 は、65 及び 100 mg/kg の用量で静脈内投与後、重度の非回復性の消化管毒性を引き起こした。40 及び 50 mg/kg の投与では、消化管毒性は一過性（食欲欠如、体重減少、嘔吐及び軟便）であり、14 日間の回復期間中に回復した。ビーグル犬に BAX2398 を 90 分にわたり点滴静注したときの MTD（HNSTD）は 50 mg/kg であった。

2.3.3 ビーグル犬における BAX2398 の単回静脈内投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-007 試験）

ビーグル犬に BAX2398 を 0（リポソーム対照）、15、30 及び 50 mg/kg の用量で 90 分にわたり点滴静注し、急性毒性、トキシコキネティクス（TK）及びその後の反復投与毒性試験で用いる用量を検討した。比較対照には 30 mg/kg の CPT-11 を 90 分にわたり点滴静注した。試験計画概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.6-13 及び表 2.6.6-14 に示す。

表 2.6.6-13 PEP02-NC-G-Tx-007 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：15、30 及び 50 mg/kg 単回投与 CPT-11：30 mg/kg 単回投与
投与経路	90 分間点滴静注、6.67 mL/kg/hr
動物種	ビーグル犬、投与開始時：約 5～6 ヵ月齢、体重 5.3～7.5 kg
評価項目	生死及びケージサイドでの一般状態観察（1 日 2 回） 体重測定［投与前、第 4、8、11 及び 14 日並びに第 15 日（絶食）の剖検前］ 摂餌量（毎日） 血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査（投与前並びに第 7 及び 15 日） 剖検及び器官重量測定（全例）

表 2.6.6-14 PEP02-NC-G-Tx-007 試験デザイン

Groups	No. of Animals/Sex	Dosing Regimens (mg/kg)	Dose Conc. (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)
Liposome control[a]	M/F 3/3	0	0	10
BAX2398[b]	M/F 3/3	15	1.5	10
BAX2398[b]	M/F 3/3	30	3	10
BAX2398[b]	M/F 3/3	50	5	10
CPT-11	M/F 3/3	30	3	10

M: male, F: female

a： Liposome control article dosing solution prepared from bulk liposome control article with a phospholipid concentration of 41.56 mmol/L. Animals received 97.3 µmol/kg or approximately 77 mg/kg phospholipids.

b： Each dose level was expressed on the basis of the content of CPT-11 – 5.0 mg/mL – in BAX2398).

試験期間中、死亡は観察されなかった。BAX2398 の 30 mg/kg 群で雄 1 匹を第 4 日に、50 mg/kg 群で雄 2 匹を第 4 及び 5 日に、50 mg/kg 群で雌 1 匹を第 9 日にそれぞれ切迫屠殺した。また、CPT-11 の 30 mg/kg 群で雄 1 匹を第 5 日に切迫屠殺した。切迫屠殺動物には消化管刺激が観察され、軟便及び液状便、嘔吐、摂餌量減少、体重減少並びに皮膚ツルゴール低下が認められた。これらのイヌでは屠殺前、蒼白化及び／又は低体温がみられた。

毒性の発現頻度及び重症度は BAX2398 の 30 及び 50 mg/kg 群で雌雄とも用量依存的であった。多くの場合、嘔吐は投与終了後 1～4 時間までに観察された。さらに、BAX2398 の 15 mg/kg 群の雄 1 匹及び 30 mg/kg 群の雄 1 匹に一過性の皮膚反応（赤色化及び／又は腫脹）が観察された。このほか糞便中の粘液性着色物、軟便、水様便及び暗色便などの遷延性の消化管刺激所見が 30 及び 50 mg/kg 群で第 2～12 日に観察された。全ての所見の重症度は投与後の時間経過とともに低下した。

CPT-11 群では投与に対してより迅速な反応がみられ、嘔吐は 90 分間の投与終了前から発現し、投与後 4 時間まで持続した。活動性低下、流涎、異常呼吸及び咳嗽といった投薬に関連した所見が低頻度であるが一貫して観察された。概して CPT-11 群でみられた投薬に関連した所見は、

BAX2398 の 15、30 及び 50 mg/kg 群での所見と比較して、投与後早期に認められ、顕著であり、頻度、重症度及び多様性が高かった。

BAX2398 群及び CPT-11 群の大多数の動物では、臨床症状が顕著に認められる投与後早期（第 1～4 日）に体重減少が観察された。BAX2398 の 15 及び 30 mg/kg 群では体重減少は用量に関連して認められ、体重は第 8 日までに回復し始めた。BAX2398 の 15 mg/kg 群での作用は軽微であった。BAX2398 の 50 mg/kg 群では第 11 日まで体重が減少し、以降維持された。CPT-11 群では、BAX2398 の 50 mg/kg 群より迅速に、第 11 日以前に回復し始めた。

摂餌量は、体重と密接に関連していた。BAX2398 群及び CPT-11 群の大多数の動物では、用量に関連して第 1 日に摂餌量が低下した。摂餌量増加として認められた食欲回復は、用量に関連して観察され、BAX2398 の 15 mg/kg 群では第 5 又は 6 日に投与前値に回復し、30 mg/kg 群では第 7 又は 8 日までに回復し、50 mg/kg 群では第 14 日においても正常値レベルへの完全な回復はみられなかった。CPT-11 群では、第 5～8 日までに投与前値まで回復した。

BAX2398 投与により、全白血球パラメータが用量依存的に低下した。全般的に血小板数減少が第 7 日に、BAX2398 の全用量群（15、30 及び 50 mg/kg 群）で観察された。第 15 日までに白血球数は投与前値と同程度に回復した。CPT-11 群では、好中球、単球、好酸球及び血小板数の減少が第 7 日に同様に観察された。これらの値は第 15 日までに正常値に回復した。白血球パラメータの変動は、イリノテカンの活性代謝物である SN-38 の抗細胞分裂作用に関連していた。細胞集団の正常値への回復は BAX2398 及び CPT-11 のイヌでのクリアランスが迅速に生じたことを示唆している。

プロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間に BAX2398 及び CPT-11 投与の影響はみられなかった。

総タンパク質及びグロブリンの軽度減少（A/G 比上昇を伴う）が BAX2398 の全用量群及び CPT-11 群で第 7 日の検査において観察された。これらの作用は雄でわずかに顕著であり、雌雄いずれも第 15 日の検査までに回復した。総タンパク質及びグロブリンの一過性の変動は、毒性症状及び摂餌量低下を反映している可能性があり、毒性学的意義は低いと考えられた。

BAX2398 の全用量群及び CPT-11 群で定量的及び半定量的尿検査値に BAX2398 及び CPT-11 投与の影響はみられなかった。

50 mg/kg までの BAX2398 群及び 30 mg/kg の CPT-11 群で絶対及び相対器官重量への影響はみられなかった。

腸間膜リンパ節及び腎臓の暗色化並びに脾臓及び胸腺の小型化が BAX2398 投与での切迫屠殺動物（30 mg/kg 群の雄 1 匹並びに 50 mg/kg 群の雄 2 匹及び雌 1 匹）で観察された。これらの切迫屠殺動物では、時に消化管壁の肥厚を伴う暗色化した限局性の退色／斑状形成及び暗色化した消化管内容物が観察された。同様の有害所見は CPT-11 群の切迫屠殺動物にも認められた。胸腺の小型化のみが、BAX2398 の全用量群（15、30 及び 50 mg/kg）の計画屠殺時まで生存した動物でも認められた。同所見は、CPT-11 群で計画屠殺時まで生存した動物では観察されなかったが、化合物に関連する可能性が示唆された。その他の剖検所見は、偶発所見又は手技に関連するものであった。

BAX2398 の全用量群で、体重（減少）、摂餌量（低下）及び白血球パラメータ（血球数減少）並びに胸腺（小型化）への影響が観察された。これらの所見は、15 mg/kg 群では概して軽度であり、回復性で忍容性が良好であった。30 及び 50 mg/kg 群では、胃の肥厚を含む顕著な有害所見が認められ、BAX2398 投与に対する反応と考えられた。

CPT-11 の 30 mg/kg 投与では、臨床的に意義のある所見により 1 匹のイヌを切迫屠殺し、投薬に関連した急性の臨床症状及び有害な体重、摂餌量及び白血球への影響がみられた。急性の臨床症状を除き、CPT-11 の種々の作用は概して BAX2398 の 30 mg/kg 群以上で認められた変化より軽症であった。

本試験の TK 評価は 2.6.4.3.1.5 項に記載されている。

以上のように、BAX2398 の 15 mg/kg 単回投与後の作用は比較的軽度であったことから、BAX2398 の MTD は 15 mg/kg であることが示唆された。それ故、イヌへの反復投与（週 1 回投与で 4 週間）の高用量は 30 mg/kg/日未満とした。なお、BAX2398 の STD_{17} は 30 mg/kg（600 mg/m^2）、HNSTD は 15 mg/kg（300 mg/m^2）、CPT-11 の STD_{17} は 30 mg/kg（600 mg/m^2）であった（表 2.6.6-27）。

3 反復投与毒性

3.1 ラット反復投与毒性

3.1.1 SD ラットにおける BAX2398 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 2 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-006 試験）

本試験では、SD ラットに BAX2398 を週 1 回、4 週間点滴静注し、2 週間の回復期間を設けた。BAX2398 を 0（リポソーム対照）、65、130 及び 260 mg/kg の用量で 90 分にわたり点滴静注した。比較対照群には 130 mg/kg の CPT-11 を投与した。リポソーム対照群、BAX2398 の 260 mg/kg 群及び CPT-11 の 130 mg/kg 群に回復群を設定し、主試験群と同じ方法で投与し、4 週間の投与期間後、2 週間の回復期間を設けた。本試験の TK 試料に手技的ミスが認められたため、TK プロファイルを得るために本試験と同条件（1 群雌雄各 6 匹）で別試験（PEP02-NC-G-Tx-006TK 試験）を実施した。

試験計画の概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.6-15 及び表 2.6.6-16 に示す。

表 2.6.6-15 PEP02-NC-G-Tx-006 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：65、130、260 mg/kg CPT-11：130 mg/kg
投与経路	90 分間点滴静注、10 mL/kg/hr
動物種	雌雄 SD ラット、投与開始時：約 10～14 週齢、体重 229～382 g
評価項目	生死及び一般状態観察（1 日 2 回） 非絶食時体重（第 1、8、15 及び 22 日の投与前、観察期間の第 4、11、18、25 及び 28 日並びに回復期間の第 32、36、39 及び 42 日） 摂餌量（投与前、投与期間中、回復期間中） 眼底（間接眼科学的）及び生体顕微鏡（スリットランプ）検査（投与前及び剖検前、主試験群及び回復群） 臨床検査（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）（剖検前） 途中死亡並びに主試験群及び回復群の剖検動物（臨床検査のための血液及び尿試料採取後、器官重量を測定した。対のある器官は一緒に重量測定した。絶対及び相対重量を算出） 病理組織学的検査（主試験群及び回復群生存例の全組織、死亡例の全組織及び全肉眼病変部位）
統計処理	数値データは、群平均及び標準偏差を算出し、等分散性（Levene Median 検定）及び正規性（Kolmogorov-Smirnov 検定）について解析した。等分散データは ANOVA 後、群間差を Dunnett’s test で検定した。不等分散データは Kruskal-Wallis test 後、対照群と BAX2398 又は CPT-11 の各群との群間差を Dunn’s test で検定した。有意水準を $P \leq 0.05$ とした。

表 2.6.6-16 PEP02-NC-G-Tx-006 試験デザイン

Groups	Number of Animals/Sex		Dosing Regimens (mg/kg)[b]	Dose Conc. (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)
	Main Study	Recovery Phase			
Liposome control[a]	M/F 10/10	M/F 5/5	0	0	15
BAX2398	M/F 10/10	0	65	4.33	15
BAX2398	M/F 10/10	0	130	8.67	15
BAX2398	M/F 10/10	M/F 5/5	260	17.36	15
CPT-11	M/F 10/10	M/F 5/5	130	8.67	15

M: male, F: female

a : Liposome control article dosing solution prepared from liposome control article with a phospholipid concentration of 47.2 mmol/L or 23.8 mmol/L. Animals received 357 - 447 µmol/kg or approximately 282 - 353 mg/kg phospholipids

b : Each dose level was expressed on the basis of the content of CPT-11 – 17.36 or 16.93 mg/mL – in BAX2398

試験期間中、3 匹が死亡した。BAX2398 の 260 mg/kg 群で雌 1 匹が第 13 日、CPT-11 群で雌 1 匹が第 22 日、同群で雄 1 匹が回復期間の第 7 日にそれぞれ死亡した。いずれの動物でも死亡前に有害な臨床症状は観察されなかった。BAX2398 の 260 mg/kg 群での死亡動物には、剖検及び病理組織学的検査で所見は観察されず、死因は特定できなかった。CPT-11（130 mg/kg）群の死亡動物 2 匹では、剖検及び病理組織学的検査において投与部位からの細菌感染を示唆する所見が認められた。これらの所見は副腎、腎臓及び肝臓の腫大、腹腔及び腎盂の透明な液、投与部位周辺骨格筋の蒼白化物質、リンパ節のリンパ球過形成、脾臓の髄外造血、リンパ球壊死並びに投与部位の重度の炎症であった。

CPT-11 群では、投与日に振戦が観察され、その後の週に軟便が散見された。260 mg/kg までの BAX2398 群では投薬に関連した一貫した所見はなかった。

BAX2398 群では、投与期間中、用量依存的な体重増加抑制が認められた。CPT-11 群で認められた投与後の体重増加抑制は、BAX2398 の同用量群で認められた体重増加抑制と比較して軽度であった。14 日間の回復期間中の体重増加は対照群と比較して大きかったことから、体重への影響は可逆的であることが示唆された。

リポソーム対照群及び CPT-11 群での週当たりの摂餌量に影響は認められなかった。BAX2398 群では統計学的に有意な用量依存的な摂餌量低下が認められた。BAX2398 の 260 mg/kg 群では回復期間中に摂餌量増加を認めたことから、作用は可逆的であることが示唆された。

試験期間を通じて、BAX2398 及び CPT-11 投与は眼への有害作用を引き起こさなかった。

BAX2398 群の雄で統計学的に有意な用量依存的な血小板数の増加が第 29 日に観察された。雌では BAX2398 の 260 mg/kg 群で統計学的に有意な血小板数増加がみられたのみであった。CPT-11 群での血小板数はリポソーム対照群と比較して高値であったが、統計学的有意差は認められなかった。回復期間中、BAX2398 の 260 mg/kg 群及び CPT-11 群の雌雄で血小板数は第 29 日の値から低下したことから、増加は回復性であることが示唆された。BAX2398 群で用量依存的な赤血球数及びヘモグロビン濃度の減少が第 29 日に観察され、260 mg/kg 群の雌雄で統計学的に有意であった。ヘモグロビン濃度は BAX2398 の 130 mg/kg 群の雌でも有意に減少した。同パラメータは、

CPT-11 群でも減少した。BAX2398 の 260 mg/kg 群及び CPT-11 群で赤血球数及びヘモグロビン濃度は回復期間中に増加したことから、作用は回復性であることが示唆された。BAX2398 群で用量依存的な白血球数の減少が第 29 日に観察された。同様の白血球数減少は、CPT-11 群でも認められた。これは主にリンパ球数減少による減少であった。回復期間中に BAX2398 の 260 mg/kg 群及び CPT-11 群の雄でリンパ球数の回復がみられたが、雌ではいずれの群でも引き続き低値であった。BAX2398 の全用量群及び CPT-11 群の雄において活性化部分トロンボプラスチン時間の短縮が観察された。BAX2398 の 260 mg/kg 群では回復期間中にこれらの所見に回復性はみられなかった。

BAX2398 の全用量群及び CPT-11 群の雌雄（BAX2398 65 mg/kg 群の雄を除く）で統計学的に有意な無機リン酸の増加が第 29 日に観察された。BAX2398 の雄では用量依存性がみられたが、雌では用量依存性はみられなかった。回復期間中にこれらの所見は回復性を示した。本所見の毒性学的意義は不明である。その他の投薬に関連した血液生化学的検査値の変動は認められなかった。

投薬に関連した尿検査値への影響はみられなかった。

BAX2398 群で用量依存的な概して統計学的に有意な胸腺、肝臓、脾臓及び前立腺重量の減少が認められた。同様の所見が CPT-11 群でも観察されたが変化の程度は小さかった。これらの器官重量の変動は回復期間中に回復性を示した。

剖検では BAX2398 群で用量依存的な胸腺萎縮がみられた。BAX2398 の 130 及び 260 mg/kg 群では前立腺及び精嚢の小型化も観察された。これらの作用は回復群の動物では減弱した。

病理組織学的検査においては、BAX2398 の 65、130 及び 260 mg/kg 群並びにリポソーム対照群で軽微から中等度の空胞化及び／又は軽微から重度の泡沫状組織球の蓄積（組織球症）が脾臓、肝臓及び腎臓を含む種々の組織で観察された。BAX2398 の 260 mg/kg 群の数匹では、軽微な心臓の組織球症がみられた。これらは、所見の特徴並びにリポソーム構成成分に観察されることが知られていること及び泡沫状マクロファージが観察されていることから、BAX2398 の CPT-11 成分というより、リポソーム構成成分に関連する可能性がある。カテーテル挿入部位に関連した剖検所見として、軽微から重度の炎症、壊死、血栓及び／又は内膜増殖が観察された。これらの変化がリンパ節、脾臓及び骨髄に二次的変化を引き起こしたと考えられた。このような変化はカテーテル挿入動物で広く観察された。

投薬に関連した軽微から軽度の骨髄低細胞性、軽微から中等度の腎髄質尿細管肥大及び軽度から重度の胸腺萎縮が BAX2398 の 260 mg/kg 群で観察された。より軽度であるが胸腺萎縮は BAX2398 の 65 及び 130 mg/kg 群でも認められた。CPT-11（130 mg/kg）群では、軽微から軽度の脾臓の髄外造血亢進が観察された。

2 週間の回復期間終了時、BAX2398 の 260 mg/kg 群のラットで骨髄及び腎臓の所見に回復性がみられ、胸腺萎縮は認められなかった。BAX2398 の 260 mg/kg 群及びリポソーム対照群でいくつかの器官に空胞化及び組織球症が観察されたが、投与終了時と比較して概して軽症化した。投与部位の一次的及び二次的反応は軽症化し、回復性が示唆された。CPT-11（130 mg/kg）群での髄外造血は回復期間終了時には、ほぼ回復した。

TK 評価は 2.6.4.3.2.1 項に記載されている。

以上のように、BAX2398 の 260 mg/kg 及び CPT-11 の 130 mg/kg 投与は致死的であった。BAX2398 及び CPT-11 の静脈内投与は投与部位に局所毒性を引き起こした。主に体重減少及び血液系への作

用を特徴とする全身毒性は致死量である BAX2398 の 260 mg/kg 群で顕著であった。これら全身作用のほとんどは可逆性であった。BAX2398 及び CPT-11 の同用量（130 mg/kg）での作用はいくつかの所見では同程度であった。リポソーム封入により、CPT-11 の毒性は増強されなかったが、リポソームに関連した軽微から軽度の非有害性泡沫状マクロファージの蓄積が種々の組織に認められた。本試験では NOAEL は算出できなかった。なお、BAX2398 の STD_5 は 260 mg/kg（1560 mg/m^2）、HNSTD は 130 mg/kg（780 mg/m^2）、CPT-11 の STD_{10} は 130 mg/kg（780 mg/m^2）であった（表 2.6.6-27）。

3.1.2 SD ラットにおける BAX2398 の 6 サイクル（1 サイクル 3 週間）静脈内投与毒性試験及び 6 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-010 試験）

SD ラットに BAX2398 を 6 サイクル（各サイクルは単回投与と引き続く 3 週間の観察期間から成る）、90 分にわたり点滴静注し、毒性及び TK プロファイルを検討した。さらに、6 週間の回復期間を設け、回復性を検討した。試験計画の概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.6-17 及び表 2.6.6-18 に示す。

表 2.6.6-17 PEP02-NC-G-Tx-010 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：30、75、190 mg/kg CPT-11：75 mg/kg
投与経路	90 分間点滴静注、10 mL/kg/hr
動物種	雌雄 SD ラット、投与開始時：約 8～9 週齢、体重 193～458 g
評価項目	生死及び一般状態観察、摂餌量、体重、眼科学的検査、臨床検査（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）、TK 評価のための採血、剖検、器官重量測定、病理組織学的検査
統計処理	数値データは、群平均及び標準偏差を算出し、データは ANOVA 後、群間差を Dunnett's test で検定又は他の適切な検定法で検定した。有意水準を $P \leq 0.05$ とした。

1 サイクルを 90 分間の点滴静注後、3 週間の観察期間とし、連続 6 サイクル投与した。6 サイクル終了後、主試験群の動物を剖検及び病理組織学的検査に供した。回復群の動物はさらに 6 週間の回復期間後、同様に評価した。TK 群の動物は TK 評価にのみ使用した。

表 2.6.6-18 PEP02-NC-G-Tx-010 試験デザイン

Treatment Group	Dose Level (mg/kg)[b]	Number of Animals					
		Main		Recovery		Toxicokinetic	
		M	F	M	F	M	F
Liposome control[a]	0	20	20	10	10	0	0
BAX2398	30	20	20	0	0	6	6
BAX2398	75	20	20	0	0	6	6
BAX2398	190	20	20	10	10	6	6
CPT-11	75	20	20	10	10	6	6

M: male, F: female

a：Liposome control article dosing solution at 22.7 mmol/L prepared from the liposome with a phospholipid concentration of 43.64 mmol/L, 45.26 mmol/L or 40.22 mmol/L. Animals received 340.5 µmol/kg or approximately 269 mg/kg phospholipids.

b：Each dose level was expressed on the basis of the content of CPT-11 – 5, 18.7 or 24.61 mg/mL – in BAX2398

5 匹を計画屠殺前に屠殺した。このうち BAX2398 の 190 mg/kg 群の 1 匹（回復群、雄）は、感染に関連した病理所見（結膜炎及び上顎骨の炎症）のため、第 117 日に早期屠殺した。当該動物は、被験物質の免疫抑制作用によると考えられる骨髄低細胞性並びに白血球数及び赤血球数の低値が認められ、感染は投薬に関連した所見であると判断した。その他の 4 匹の死亡は、対照群及び投薬群のいずれでも用量に関係なく認められたことから、投薬との関連性はないと考えられた［リポソーム対照群 : 3 匹（第 34、67 及び 113 日）及び BAX2398 の 30 mg/kg 群 : 1 匹（第 57 日）］。

特記すべき臨床症状として、試験期間中、歯に関連した所見（破損、不均衡、切断、欠損及び磨耗）が観察された。これらの所見は、主に CPT-11 の 75 mg/kg 群で認められたが、歯の切断は対照群の数匹にも観察され、BAX2398 の 30 及び 190 mg/kg 群の数匹には摩耗が観察された。歯に関連した所見は、回復期間中も、CPT-11 群の大多数及び BAX2398 の 190 mg/kg 群の数匹で観察された。さらに CPT-11 群でのみ臨床症状として振戦、身づくろい消失、つま先歩行、流涎又はケージかじりが 1 回以上の投与により 1 回以上観察された。

各 90 分間の点滴静注後、CPT-11 群及び BAX2398 群の雌雄で体重減少又は対照群と比較して体重増加の抑制が認められた。BAX2398 の全用量群の雌雄で作用の度合い及び／又は期間は概して用量依存的であった。大多数の個体で体重は各投与後 9 日までに対照群と同程度又はそれを上回るまでに回復した。6 サイクルのいずれの投与後にも体重増加への影響がみられたが、用量関連性は最初の 3 回の投与後により明らかであった。CPT-11 群の雌雄では、BAX2398 の低用量群よりも作用の度合いが小さく、期間が短かった。体重増加抑制の繰り返しの結果、BAX2398 の中及び高用量群の雌雄で群別平均体重は、早ければ第 4 日から対照群と比較して低値となった。対照群との差は 6 サイクルを通して増大し、特に BAX2398 の高用量群でしばしば統計学的に有意であった。BAX2398 の低用量群及び CPT-11 群で体重増加への作用は一過性かつ程度が小さく、絶対体重に特記すべき影響は認められなかった。

対照群と比較して、軽度から中等度の摂餌量減少（最大約 30%）が BAX2398 の全用量群で認められた。摂餌量減少は BAX2398 の中及び高用量群で投与 1 週目から認められ（用量依存性なし）、

6 サイクルを通じて持続し、高頻度に統計学的有意差が認められた。BAX2398 の低用量群では、第 43～50 日以降において対照群との明らかな差が認められ、試験期間を通じて中及び高用量群と比較して低下の度合いは小さかった。全用量群で 90 分間の点滴静注後、最初の週で摂餌量減少の度合いが大きく、続く 2 週間で徐々に回復した。CPT-11 群の動物では、摂餌量低下が散見されたが、BAX2398 群と比較して、その度合いは小さく、まれに統計学的有意差が認められた。摂餌量減少は主に BAX2398 及び CPT-11 を投与した週に認められた。回復期間中、雄では BAX2398 の高用量群及び CPT-11 群の摂餌量は対照群と同程度であった。雌では BAX2398 の高用量群の摂餌量は対照群と比較して低値であったが、期間全体を通じて安定していた。

血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査の各検査値に毒性学的意義のある変動は認められず、眼科学的検査にも有害作用は認められなかった。

投薬に関連した脾臓の絶対及び相対重量増加が BAX2398 の高用量群の雄で認められ、病理組織学的検査において関連する所見が観察された。同群の雌では、おそらく体重の低値がみられたため、作用は明確でなかった。

剖検では、用量依存的な肝臓所見（暗赤色病巣）が BAX2398 の中及び高用量群の雌雄で観察された。その他、BAX2398 投与に関連すると考えられる所見として、脾臓腫大、骨髄（大腿骨）の蒼白化、精巣の片側性（右のみ）軟質性小型化が認められた。その他に観察された種々の所見は自然発生病変又は偶発所見と考えられ、投薬に関連しないと判断した。

軽微から軽度の胸骨骨髄の造血細胞の低細胞性及び軽微から中等度の大腿骨骨髄の造血細胞の低細胞性が BAX2398 の高用量群で観察され、軽微な毒性を示唆する BAX2398 投与に関連した病理組織学的変化と考えられた。所見は低及び中用量群では認められず、回復群でも観察されなかったことから、回復性であることが示唆された。さらに、軽微から軽度の肝臓の実質性（肝細胞性）多発性変性／壊死及び軽微から中等度の脾臓の髄外造血亢進が BAX2398 群において観察された。本所見は BAX2398 投与に関連した変化と考えられた。リポソーム対照群及び 190 mg/kg 群に、肝臓の腫大及び泡沫状の類洞表層細胞が観察された。これらの所見は BAX2398 190 mg/kg 群の回復群動物では観察されないか、頻度及び／又は重症度が低下した。肝臓及び脾臓に観察された病理組織学的変化は剖検所見に関連する可能性がある。

本試験の TK 評価は 2.6.4.3.2.2 項に記載されている。

以上のように、BAX2398 の 30、75 及び 190 mg/kg 投与は用量に関連した体重及び摂餌量減少を引き起こした。大腿骨及び胸骨骨髄の低細胞性及び肝臓の変性及び／又は壊死、脾臓の造血亢進及び種々の器官における泡沫状組織球／マクロファージが対照群及び BAX2398 の 190 mg/kg 群で観察された。大多数の変化は回復期間終了時には回復した。CPT-11 の 75 mg/kg 群では、BAX2398 群では認められないか又は非常に低頻度のいくつかの臨床症状（振戦、身づくろい消失、流涎及び歯の異常）が投与中及び投与後に認められた。CPT-11 群での体重及び摂餌量への影響は BAX2398 群と比較して散発的で低下の度合いが小さく、病理組織学的変化は観察されなかった。

結論として、BAX2398 の NOAEL は 30 mg/kg（180 mg/m^2）と考えられた。投薬に関連した死亡は認められなかったことから、STD は算出できなかった。

3.2 イヌ反復投与毒性

3.2.1 ビーグル犬における BAX2398 の 4 週間反復静脈内投与毒性試験及び 2 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-009 試験）

本試験の目的は、ビーグル犬に BAX2398 を週 1 回、4 週間点滴静注し、毒性及び TK プロファイルを検討すること、及び 14 日間の回復期間での投薬に関連した有害作用の回復性を評価することであった。BAX2398 の投与量は、4、8 及び 16 mg/kg とし、結果をリポソーム対照及び CPT-11（16 mg/kg）と比較した。いずれの投与でもイヌに 90 分にわたり 6.67 mL/kg/hr の速度で点滴静注した。リポソーム対照群並びに BAX2398 及び CPT-11 の 16 mg/kg 群に回復群を設定し、主試験群と同じ方法で投与し、4 週間の投与期間後、14 日間の回復期間を設けた。試験計画の概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.6-19 及び表 2.6.6-20 に示す。

表 2.6.6-19 PEP02-NC-G-Tx-009 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：4、8、16 mg/kg CPT-11：16 mg/kg
投与経路	90 分間点滴静注、6.67 mL/kg/h
動物種	ビーグル犬、投与開始時：約 6～7 ヵ月齢、体重 5.7～8.5 kg
評価項目	生死及び一般状態観察、摂餌量、体重、眼科学的検査、間接的血圧測定、心電図、臨床検査（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）、TK 評価（イリノテカン及び SN-38）のための採血、剖検、器官重量測定、病理組織学的検査（主試験群：第 29 日、回復群：第 43 日）
統計処理	数値データは、群平均及び標準偏差を算出した。心電図所見を除き、データは等分散（Levene Median 検定）及び正規性（Kolmogorov-Smirnov 検定）について解析した。等分散データは ANOVA 後、群間差を Dunnett's test で検定した。不等分散データは Kruskal-Wallis test 後、対照群と BAX2398 又は CPT-11 の各群との群間差を Dunn's test で検定した。有意水準を $P \leq 0.05$ とした。

表 2.6.6-20 PEP02-NC-G-Tx-009 試験デザイン

Groups	Number of Animals/Sex		Dosing Regimens (mg/kg)[b]	Dose Conc. (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)
	Main Study	Recovery Phase			
Liposome control[a]	M/F 3/3	M/F 2/2	0	0	10
BAX2398	M/F 3/3	0	4	0.4	10
BAX2398	M/F 3/3	0	8	0.8	10
BAX2398	M/F 3/3[c]	M/F 2/2	16	1.6	10
CPT-11	M/F 3/3	M/F 2/2	16	1.6	10

M: male, F: female

a： Liposome control article dosing solution prepared from liposome control article with a phospholipid concentration of 19.33 mmol/L. Animals received 26 µmol/kg or approximately 21 mg/kg phospholipids

b： Each dose level was expressed on the basis of the content of CPT-11 – 5 mg/mL – in BAX2398

c： One male (4001A, euthanized for humane at Day 4) was replaced by a spare animal (4101A)

途中死亡は BAX2398 の高用量群（16 mg/kg）の雄 2 匹（4001A 及び 4003B）でのみ認められた。死亡（切迫屠殺）は、それぞれ BAX2398 の 1 及び 2 回目投与後の第 4 及び 14 日に認められた。これらの動物は、死亡前及び死亡後に投薬に関連した消化管出血が観察された。4001A（第 4 日屠殺動物）では剖検で多発性の消化管出血が認められ、関連所見として病理組織学的検査で粘膜萎縮（うっ血及び／又は出血を伴う場合と伴わない場合あり）、上皮壊死（腸管）及び単細胞壊死（胃）が観察された。重度の骨髄低細胞性も認められた。同様の消化管変化が 4003B（第 14 日屠殺動物）にもみられたが、その他の多くの剖検及び病理組織学的検査所見から、瀕死状態の主な原因は重度の細菌感染及び空腸の腸重積と考えられた。

生存動物は、BAX2398 及び CPT-11 投与による有害作用の臨床所見を示さなかった。

BAX2398 の 16 mg/kg 群及び CPT-11（16 mg/kg）群では、4 週間の投与期間中、軽度の体重減少が観察されたが、14 日間の回復期間中に回復した。この所見はいずれも一過性の摂餌量低下に関連していた。同様の摂餌量低下は、BAX2398 の 4 及び 8 mg/kg 群の各投与後にも観察された。眼科学的検査、血圧、心電図に BAX2398 及び CPT-11 投与による影響はみられなかった。BAX2398 の 16 mg/kg 群の雌で回復性の白血球減少症（好中球減少症）が観察された。この所見は同群の雄及び CPT-11 群の雌雄では認められなかった。その他の臨床検査値（凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）に BAX2398 及び CPT-11 投与に関連した所見は認められなかった。

器官重量測定では、BAX2398 の 16 mg/kg 群及び CPT-11（16 mg/kg）群で前立腺、精巣、胸腺及び子宮重量に回復性の軽度の減少が認められた。病理組織学的検査では、明らかに回復性のパイエル板萎縮が BAX2398 の 8 及び 16 mg/kg 群の動物で観察された。同所見は同用量の CPT-11 群では認められなかった。非回復性の脾臓の髄外造血が BAX2398 の 16 mg/kg 群及び CPT-11（16 mg/kg）群で観察された。BAX2398 の 16 mg/kg 群の回復群では肝臓にも髄外造血が観察された。リポソーム対照群では、全ての動物で脾臓及び肺に非回復性の泡沫状組織球が認められた。

リポソーム対照群で回復性の皮膚の限局的な赤色斑が散見された。リポソーム対照の NOAEL は 26 µmol/kg（約 21 mg/kg）のリン脂質濃度であり、BAX2398 の高用量群のリン脂質濃度と同程度であった。

本試験の TK 評価は 2.6.4.3.2.3 項に記載されている。

以上から、BAX2398 の NOAEL は 8 mg/kg（160 mg/m^2）であった。なお、16 mg/kg は致死量（STD_{18}）と考えられたことから、BAX2398 の HNSTD は 8～16 mg/kg（160～320 mg/m^2）と推定された（表 2.6.6-27）。

3.2.2 ビーグル犬における BAX2398 の 6 サイクル（1 サイクル 3 週間）静脈内投与毒性試験及び 6 週間回復試験（PEP02-NC-G-Tx-011 試験）

ビーグル犬に BAX2398 を 6 サイクル（各サイクルは単回投与と引き続く 3 週間の観察期間から成る、投与期間：18 週間）、90 分にわたり点滴静注し、毒性及び TK プロファイルを検討した。さらに、6 週間の回復期間において投薬に関連した作用の回復性を評価した。52 匹（雌雄各 26 匹）のビーグル犬を 5 群に割り付け、3 群にはそれぞれ 9、15 及び 36 mg/kg の BAX2398 を投与した（第 2～4 群）。他の群には比較対照として CPT-11（36 mg/kg）（第 5 群）及びリポソーム対照［BAX2398 の高用量群と同じリン脂質濃度（12.2 mmol/L）］（第 1 群）を投与した。死亡及び重度の毒性が

BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 群の動物で認められたため、別の 16 匹（雌雄各 8 匹）を 2 群（第 6 及び 7 群）に割り付け、それぞれ 21 mg/kg の BAX2398 及び CPT-11 を投与した。リポソーム対照群のリン脂質濃度は変更しなかった。試験計画の概要及び試験デザインをそれぞれ表 2.6.6-21 及び表 2.6.6-22 に示す。

表 2.6.6-21 PEP02-NC-G-Tx-011 試験計画概要

投与レジメン	BAX2398：9、15、21 及び 36 mg/kg CPT-11：21 及び 36 mg/kg
投与経路	90 分間点滴静注、10 mL/kg/hr
動物種	ビーグル犬、投与開始時：7～8 ヵ月齢、体重 5.6～9.4 kg
評価項目	生死及び一般状態観察、摂餌量、体重、眼科学的検査、臨床検査（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）、TK 評価のための採血、心電図、剖検、器官重量測定、病理組織学的検査
統計処理	データは ANOVA 後、群間差を Dunnett's test で検定した。また、対照群と各投薬群との群間差を Dunn's test で検定した。有意水準を $P \leq 0.05$ とした。

表 2.6.6-22 PEP02-NC-G-Tx-011 試験デザイン

Groups	Number of Animals/Sex		Dose Level (mg/kg)[b]	Dose Conc. (mg/mL)	Dose Volume (mL/kg)
	Main Study	Recovery Phase			
1. Liposome control[a]	M/F 4/4	M/F 2/2	0	0	15
2. BAX2398	M/F 4/4	M/F 2/2	9	0.6	15
3. BAX2398	M/F 4/4	M/F 2/2	15	1.0	15
4. BAX2398	M/F 4/4	0	36	2.4	15
5. CPT-11	M/F 4/4	0	36	2.4	15
6. BAX2398	M/F 4/4	M/F 2/2	21	1.4	15
7. CPT-11	M/F 4/4	M/F 2/2	21	1.4	15

M: male, F: female

a： Liposome control article dosing solution prepared from liposome control article with a phospholipid concentration of 12.2 mmol/L. Animals received 60 µmol/kg or approximately 47 mg/kg phospholipids

b： Each dose level was expressed on the basis of the content of CPT-11 – 5 mg/mL – in BAX2398

合計 13 匹が死亡又は状態悪化のために切迫屠殺され、さらに 6 匹が初回投与後早期に試験から除外された。これらには BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 群の全例並びに BAX2398 の 15 mg/kg 群の雄 1 匹（初回投与後 5 日以内に死亡）、BAX2398 及び CPT-11 の 21 mg/kg 群の回復群動物（それぞれ雌 1 匹及び雄 1 匹：第 5 日に切迫屠殺）が含まれていた。BAX2398 の 15 mg/kg 群の動物は、過失により、カーカスは凍結後に廃棄され、剖検を実施しなかったため、死因を特定できなかった。この動物は予備動物と置き換え、投与を完了した。さらに、2 匹（BAX2398 の 36 mg/kg 群の雌雄各 1 匹）が同様に廃棄されたため、病理評価ができなかった。

BAX2398 の 36 mg/kg 群では、雄 3 匹が第 5 日に死亡、雌 3 匹をそれぞれ第 5、6 及び 7 日に切迫屠殺した。CPT-11 の 36 mg/kg 群では、雄 3 匹を第 4、4 及び 7 日に切迫屠殺し、雌 1 匹を第 4 日に切迫屠殺した。さらに、残る動物（BAX2398 の 36 mg/kg 群の雌雄各 1 匹及び CPT-11 の 36 mg/kg 群の雄 1 匹及び雌 3 匹）を重度の毒性のため第 23 日に試験から除外した。BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 群での高い死亡率は、予定用量（24 mg/kg）の 50%を超える高用量（36 mg/kg）を投与したことが原因であった。BAX2398 の 36 mg/kg 群及び CPT-11 の 36 mg/kg 群では、上述の死亡又は早期屠殺の前に、臨床症状として食欲低下、活動性低下、重度の体重減少、円背位、毛細血管再充満遅延、皮膚ツルゴール低下、労作呼吸、暗色軟便及び横臥位などが観察された。同様の所見は、BAX2398 及び CPT-11 の 21 mg/kg 群の切迫屠殺動物（それぞれ雌 1 匹及び雄 1 匹）でも認められた。死亡及び切迫屠殺例の剖検では、BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 群及び／又は BAX2398 の 21 mg/kg 群の動物で盲腸、結腸及び直腸粘膜に暗色領域／退色が散見された。これらの動物の胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸及び／又は結腸の内腔に暗色物質が低頻度に認められた。胸腺の小型化が BAX2398 の 36 mg/kg 群及び CPT-11 の 21 及び 36 mg/kg 群に散見された。病理組織学的変化が骨髄、消化管及びリンパ組織に観察され、これらが大多数のイヌの死因である可能性が考えられた。

一般症状観察においては、BAX2398 の 21 mg/kg 群及び CPT-11 の 21 mg/kg 群で概して暗色軟便、活動性低下、削痩、皮膚ツルゴール低下及び毛細血管再充満遅延が観察された。削痩及び皮膚ツルゴール低下の発現頻度は低かった。

投与期間及び回復期間中、BAX2398 の 9、15 及び 21 mg/kg 群、並びに CPT-11 の 21 mg/kg 群の雌雄で、体重への有害作用は観察されなかった。リポソーム対照群を含めたこれらの群の第 0～126 日における体重増加量の平均値はそれぞれ雄で 0.8、1.2、0.9、1 及び 0.8 kg、雌で 0.9、1.3、0.7、0.9 及び 1.2 kg であった。BAX2398 の 21 及び 36 mg/kg 群、並びに CPT-11 の 21 及び 36 mg/kg 群の死亡又は切迫屠殺動物では、死亡又は切迫屠殺が最初の体重測定前に起こったため、体重の評価は困難であった。剖検時及び BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 群で体重データが収集できた動物では、一貫した体重減少が認められた。回復期間中、体重に影響はみられなかった。

BAX2398 又は CPT-11 投与後の摂餌量は顕著に減少したが、一過性であった。摂餌量減少は各投与時の全用量群で観察され、ほとんどの場合、投与後 2～4 日以内にリポソーム対照群と比較して統計学的有意差を認めた（$p \leq 0.05$ 又は $p \leq 0.01$）。この反応には用量依存性があり、BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 群で重度であり、9 及び 15 mg/kg 群では軽症化した。さらに、雄では摂餌量の回復は用量に関連して遅延した。9 mg/kg 群では初回投与後 7 日以内にリポソーム対照群と同程度の摂餌量を示し、遅延はなかった。15 mg/kg 群では 4 回目投与後 7 日以内にリポソーム対照群と同程度の摂餌量であった。21 mg/kg 群では 5 回目投与後 7 日以内にリポソーム対照群と同程度の摂餌量であった。雌では、この作用は 21 mg/kg 群のみに第 96 日まで認められた。BAX2398 及び CPT-11 の 21 mg/kg 群での摂餌量は、BAX2398 群の雄 1 匹及び雌 2 匹並びに CPT-11 群の雄 1 匹を除き、類似していた。いずれの動物も次回投与前までに食欲を回復した。回復期間中、摂餌量に影響はみられなかった。

第 7 日の血液学的検査においては、BAX2398 の 15 mg/kg 以上の用量群並びに CPT-11 の 21 及び 36 mg/kg 群の雌雄で、血小板数及び血小板容積比率、総白血球及び大多数の白血球分画が用量

依存的に低下した。網状赤血球率の有意な低下が、BAX2398 の 15 及び 21 mg/kg 群の雌（p ≤0.05）で認められた。CPT-11 の 21 mg/kg 群では差がなかった。BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 群は、いずれも動物数が少なかったため、CPT-11 の 36 mg/kg 群の雌を除き、統計解析が実施できなかった。しかし、より低用量の血液学的検査値と同様の傾向がこれらの 2 群でも観察された。第 21 日の検査では、BAX2398 の 15 mg/kg 群の雄で総白血球数並びに好中球及び単球の絶対数が統計学的に高値であった（p ≤0.05 及び p ≤0.01）。しかし、これらの結果は投与前値と類似していた。軽度の赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値が BAX2398 の 15 mg/kg 以上の群及び CPT-11 の 21 及び 36 mg/kg 群で観察された。統計学的有意差が散見されたが、リポソーム対照群の値からの変化の程度は概して小さかった。第 63 及び 127 日には、いくつかの軽度な差が認められたが、血液学的検査値に毒性学的意義のある BAX2398 又は CPT-11 の作用は認められなかった。回復期間後（第 169 日）の血液学的検査値に、BAX2398 のいずれの用量群又は CPT-11 の 21 mg/kg 群で影響は認められなかった。

BAX2398 のいずれの用量群及び CPT-11 の 21 mg/kg 群でも、投与後並びに回復期間後の凝固系検査値に投薬に関連した有害作用はみられなかった。リポソーム対照群との統計学的有意差が散見されたが、これらは正常なばらつきの範囲内で毒性学的意義はなかった。

第 7 日の血液生化学検査において、BAX2398 の 15 mg/kg 以上の群の雄で軽度の用量依存性のグロブリン及び／又は総タンパク質量の低値が認められた。CPT-11 の 21 mg/kg 群の雄でも、BAX2398 の 21 mg/kg 群と同程度のグロブリン及び総タンパク質量の軽度の低値が観察された。これらの変動は、BAX2398 及び CPT-11 投与との関連を示したが、変化の程度から毒性学的意義はないと考えられた。投与期間及び回復期間を通して、その他の血液生化学検査値に毒性学的意義のある変動は認められなかった。リポソーム対照群との統計学的に有意な差が散見されたが、それらは毒性学的意義のない方向である、用量及び／又は雌雄に一貫性がない、又は孤発性であることから、ばらつきの範囲内と考えられた。

BAX2398 のいずれの用量群及び CPT-11 の 21 mg/kg 群の投与後並びに回復期間後で尿検査値に投薬に関連した有害作用はみられなかった。

本試験期間中、BAX2398 及び CPT-11 投与による眼への有害作用は観察されなかった。

BAX2398 及び CPT-11 の 21mg/kg までの投与は、3 週間に 1 回の 6 サイクル投与後の心電図（ECG）の波形及び間隔並びに心拍数に直接的及び間接的な有害作用を示さなかった。

投薬に関連した器官重量の変化が、BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 群においてのみ脾臓、胸腺、精巣、前立腺、卵巣及び子宮に認められた。脾臓の絶対及び相対（対体重）重量は、リポソーム対照群と比較して BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 群の雌雄で 6～43%低値であり、胸腺は BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 群の雌及び／又は雄で 45～78%低値であった。脾臓及び胸腺の低値は病理組織学的にはリンパ球の萎縮／壊死に関連していた。前立腺及び精巣の絶対及び相対（対体重）重量は CPT-11 の 36 mg/kg 群の雄でリポソーム対照群と比較して 45～73%低値であった。前立腺及び精巣重量の低値は、病理組織学的には腺房萎縮及び精上皮の変性／壊死にそれぞれ関連していた。卵巣及び子宮の絶対及び相対（対体重）重量は BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg の雌でリポソーム対照群と比較して 36～92%低値であった。卵巣及び子宮重量の減少はそれぞれ卵胞減少及び萎縮に関連していた。その他に観察された統計学的有意差は、屠殺時の体重の低値

に関連するか、実験動物の生物学的なばらつきを反映している可能性が考えられた。回復期間後、投薬に関連した器官重量の変化は観察されなかった。

投与終了時生存動物の剖検において、BAX2398 の 9 及び 15 mg/kg 群では、リポソーム対照群と比較して、空腸及び結腸の暗色巣／退色の頻度が軽度高値であったが、背景値の範囲内にあると考えられた。BAX2398 の 15 mg/kg 群の雌 1 匹で胸腺の小型化が認められた。投与部位の変化は手技に関連すると考えられた。その他の剖検所見は偶発的、死戦期所見又は背景値の範囲内にあった。回復期間後、投薬に関連した剖検所見は認められなかった。

病理組織学的検査において、死亡、切迫屠殺又は早期除外動物（BAX2398 の 21 及び 36 mg/kg 並びに CPT-11 の 21 及び 36 mg/kg 群）で、骨髄（軽度から重度の低細胞性）、消化管（軽微から中等度の再性を伴う又は伴わない陰窩上皮壊死、陰窩拡張、粘膜絨毛萎縮、粘膜うっ血／出血）、脾臓、胸腺、リンパ節並びにパイエル板のリンパ組織（軽微から中等度のリンパ球萎縮／壊死）、雌雄生殖器（軽微から軽度の精上皮変性／壊死、軽微から軽度の精巣上体単細胞性壊死、軽微から中等度の前立腺腺房萎縮、軽微の卵胞数減少及び軽微の子宮萎縮）、肝臓及び脾臓（髄外造血）、副腎、膵臓並びに唾液腺に投薬に関連した所見が認められた。概して、BAX2398 の 21 及び 36 mg/kg 並びに CPT-11 の 21 及び 36 mg/kg 群の変化は類似しており、BAX2398 と CPT-11 との差は限られていた。また、用量に関わらず、BAX2398 の 21 及び 36 mg/kg 並びに CPT-11 の 21 及び 36 mg/kg 群で第 4～7 日に死亡した全ての動物で所見の分布、頻度及び重症度は類似していた。これらの動物に観察された所見のいくつかは、BAX2398 の 15 及び 21 mg/kg 群並びに CPT-11 の 21 mg/kg 群での計画屠殺動物の所見とも類似していたが、消化管、リンパ組織及び子宮の変化の頻度及び重症度はより高かった。その他の骨髄、前立腺、精巣、精巣上体、卵巣、副腎、膵臓及び唾液腺の所見は、計画屠殺動物では観察されなかった。第 23 日に試験から除外した動物の変化は軽微であり、概して計画屠殺動物の所見と類似していた。BAX2398 及び CPT-11 の 36 mg/kg 投与後に急性毒性を示した（死亡又は瀕死状態後に切迫屠殺された）動物のうち、それぞれ 4 匹中 4 匹及び 4 匹中 1 匹で脾臓の泡沫状組織球が観察された。第 23 日に試験から除外した 36 mg/kg 群の動物では、BAX2398 群の 2 匹中 1 匹のみで認められ、CPT-11 群では 4 匹中 0 匹であった。投与終了時生存動物の病理組織学的検査においては、小腸、リンパ組織、肝臓、脾臓及び子宮に所見が認められた。概して、BAX2398 及び CPT-11 の 21 mg/kg 群での変化は類似しており、BAX2398 と CPT-11 との差は限られていた。BAX2398 の 15 mg/kg 群の雄 1 匹及び CPT-11 の 21 mg/kg 群の雌 1 匹で、空腸及び／又は回腸の軽微な粘膜絨毛萎縮が観察された。BAX2398 の 15 及び 21 mg/kg、並びに CPT-11 の 21 mg/kg 群での脾臓、リンパ節（下顎及び腸間膜）及びパイエル板（回腸、空腸、盲腸及び結腸）といった種々のリンパ組織に軽微から軽度のリンパ球萎縮／壊死が認められた。頻度及び重症度は用量に関連しなかった。BAX2398 の 15 及び 21 mg/kg、並びに CPT-11 の 21 mg/kg 群での肝臓及び／又は脾臓に軽微から中等度の髄外造血が認められ、頻度及び重症度は概して用量に比例していた。髄外造血は生理的適応反応と考えられ、毒性学的に有害とはみなされない。

リポソーム対照群及び BAX2398 の 9～21 mg/kg 群での脾臓の大多数（32 匹中 31 匹）に軽微な泡沫状組織球が認められたが、CPT-11 の 21 mg/kg 群では観察されなかった（8 匹中 0 匹）。したがって、本試験には生理食塩液群又は低濃度リポソーム対照群が含まれていなかったため確認で

きなかったものの、本所見はAPIに関連するのではなく、リポソーム構成成分に関連すると考えられた。

回復期間後の病理組織学的検査においては、リンパ組織、肝臓及び脾臓に投薬に関連した変化が観察された。概して、BAX2398及びCPT-11の21 mg/kg群の所見は類似しており、BAX2398とCPT-11との差は限られていた。軽微なリンパ球萎縮／壊死がBAX2398の21 mg/kg群の雌雄各1匹の下顎リンパ節に認められた。このことは、6週間の回復期間後、BAX2398の15 mg/kg及びCPT-11の21 mg/kg群でのリンパ組織の変化は完全に回復し、BAX2398の21 mg/kg群の変化もほぼ完全に回復することを示している。BAX2398の15及び21 mg/kg、並びにCPT-11の21 mg/kg群の各2匹で軽微な髄外造血が観察された。これは、これらの群における髄外造血はほぼ完全に回復することを示している。BAX2398の15 mg/kg及びCPT-11の21 mg/kg群で観察された小腸の粘膜絨毛萎縮並びにBAX2398の21 mg/kg群の雌1匹でみられた子宮萎縮は完全に回復した。リポソーム対照群では4匹中2匹のみ脾臓に泡沫状組織球が観察されたが、BAX2398の3用量群では大多数（12匹中11匹）に依然認められたことから、所見は回復過程にあることが示唆された。さらに、脾臓の泡沫状組織球はCPT-11群の4匹中3匹でも観察された。脾臓の泡沫状組織球にはいくつかの原因が関与していると考えられるが、リポソーム対照群の濃度が高いこと及び生理食塩液群を設定していないことから、本試験ではこれ以上の解明はできなかった。

本試験のTK評価は2.6.4.3.2.4項に記載されている。

以上のように、ビーグル犬に9、15、21及び36 mg/kgのBAX2398又は21及び36 mg/kgのCPT-11を6サイクル（各サイクルは90分間の単回点滴静注と引き続く3週間の観察期間から成る）投与することにより、用量に関連して毒性が増加した。9 mg/kg群では軽度の摂餌量減少がみられた。15 mg/kg群では摂餌量減少並びに小腸、肝臓、脾臓及び子宮に病理組織学的変化が観察された。21 mg/kg群では低頻度の死亡、軽度の臨床症状、摂餌量減少並びに小腸、肝臓、脾臓及び子宮に病理組織学的変化が観察され、6週間の回復期間終了時までに不完全な回復性を示した。BAX2398及びCPT-11の21 mg/kg群に観察された変化は類似傾向を示し、これら2薬剤の差は限られていた。36 mg/kg群では、高頻度の死亡、有害な臨床症状、体重減少、摂餌量減少及び顕著な病理組織学的変化がBAX2398及びCPT-11のいずれの投与でも観察された。したがって、本試験のBAX2398のNOAELは9 mg/kg（180 mg/m^2）と判断した。BAX2398の15 mg/kg投与は致死的（初回投与後のみ）であったことから、BAX2398のSTD_8は15 mg/kg（300 mg/m^2）、HNSTDは9～15 mg/kg（180～300 mg/m^2）、CPT-11のSTD_8は21 mg/kg（420 mg/m^2）であった（表 2.6.6-27）。泡沫状組織球／組織マクロファージがリポソーム対照群を含む全群で観察されたが、有害とは考えられなかった。したがって、リポソーム対照に関するリン脂質のNOAELは60 µmol/kg（約47 mg/kg）と判断した。

4 遺伝毒性

BAX2398 の遺伝毒性試験は実施しなかった。イリノテカンはトポイソメラーゼ阻害によりデオキシリボ核酸（DNA）の巻き戻しを阻害することから、遺伝毒性を有する。

イリノテカン及び SN-38 は、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験及び *in vivo* マウス小核試験で変異原性を示すことが報告されている。しかし、いずれの化合物も細菌を用いた復帰突然変異試験で変異原性を示さなかった［2］。

5 がん原性

BAX2398 のがん原性試験は実施しなかった。イリノテカンは潜在的発がん物質と考えられている。ラットに CPT-11 を最高用量 150 mg/m²で週 1 回、13 週間投与したとき、投与終了後 91 週目に投薬に関連した腫瘍は認められなかった［2］。

6 生殖発生毒性

BAX2398 の生殖発生毒性試験は実施しなかった。CPT-11 はヒト臨床用量未満の用量でラット及びウサギにおいて催奇形性を有することが報告されている。投薬したラットから生まれた児動物は外観異常を有し、形態学的に正常な児動物と比較して、受胎能低下を示した。妊娠ラットでは胎盤重量の減少がみられ、次世代ラットでは生存胎児数の減少及び行動異常が観察された［2］。

7 局所刺激性

独立した局所刺激性試験は実施しなかった。投与部位の局所刺激性は上述のラット及びイヌでの毒性試験で評価した。投薬に関連した所見は、反復投与毒性試験の項に記載した（本項 3.1 及び 3.2）。BAX2398 投与後の投与部位に観察された変化は CPT-11 及びリポソーム対照投与後にも観察されたことから、投与手技による所見と考えられた。投与部位反応は臨床ではごく限られている（2.7.4 項）。

8 その他の毒性試験

その他の毒性試験として血液適合性試験を実施した。成績を以下に示す。その他に実施した試験はない。

8.1 ヒト全血及び血漿を用いた BAX2398 の溶血及び凝集（PEP02-NC-G-Tx-008 試験）

In vitro で全血溶血及び血漿凝集能を検討し、BAX2398 のヒト血球への影響を評価した。全血を 6 名の健康被験者から採取した。血液試料に、陰性対照（0.9%塩化ナトリウム）、陽性対照（20%サポニン）、凝集陽性対照（20% Intralipid®）、5%デキストロース（D5W）、BAX2398 のリポソーム対照（保存緩衝液中の溶液）あるいは BAX2398（終濃度 0.5、0.25 又は 0.05 mg/mL）をスパイクし、37°C で 1 時間インキュベートした。インキュベーション後、溶血はヘモグロビン濃度、赤血球数及びヘマトクリット値（全血）により測定した。血漿中カリウム濃度、ヘモグロビン濃度、溶血指数及び視覚的溶血度も評価した。凝集は濁度指数及び視覚的濁度により評価した（血漿）。

評価パラメータ（赤血球からのヘモグロビン及びカリウムの遊離、ヘマトクリット値及び赤血球数）に基づく明らかな溶血作用は、BAX2398 の全濃度で認められなかった（男女の群別平均溶血値は 1.2%以下）。

濁度指数及び視覚的濁度評価に基づく凝集作用は、リポソーム対照及び BAX2398（終濃度 0.25 及び 0.5 mg/mL）をスパイクした試料で軽度に認められた。しかし、BAX2398 の 0.25 及び 0.5 mg/mL の濁度は、リポソーム対照より依然として低かった。

8.2 被験物質及び不純物

毒性試験に使用した BAX2398 のロット（2.6.7.4 項及び 2.4 項の表 2.4-1）は、臨床試験に使用した BAX2398 のロットと類似していた（3.2.P.5.4 項）。これらのロットの分析証明書は毒性試験報告書に含まれており、臨床使用予定の BAX2398 の GMP 製剤と類似すると考えられる。

BAX2398 の脂質膜は、N-(カルボニル-メトキシポリエチレングリコール 2000)-1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン（MPEG-2000-DSPE）、コレステロール及び 1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン（DSPC）で構成されている。リポソーム内部の捕捉剤は sucrose octasulfate（SOS）カリウム塩である。緩衝液として 4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸（HEPES）が用いられている。これらについてはすでに安全性評価が行われている（本項 8.4）。

ガイドラインに基づく不純物評価の結果、BAX2398 に安全性評価の必要な不純物はなかった（3.2.P.5.5 項）。

8.3 光安全性評価

薬剤の光安全性評価について、被験物質の皮膚及び眼のような光曝露組織への意味ある分布は光毒性及び光アレルギーにおいて危惧される（ICH S10 ガイドライン、1.4 一般原則）。ラット分布試験（PEP02-NC-N-PK-007 試験）では、眼（ブドウ膜）及び皮膚にある程度の BAX2398 が検

出された。しかし、ラット及びイヌ反復投与毒性試験（それぞれ PEP02-NC-G-Tx-010 及び PEP02-NC-G-Tx-011 試験）では、眼及び皮膚に光毒性を示唆する有害作用は認められなかった。

ICH S10 ガイドライン「5.1.2 光毒性の実験的評価」の項には、「動物を用いた光毒性試験あるいは臨床光毒性試験がすでに実施されている場合は、その後に化学的光反応性試験あるいは *in vitro* 光毒性試験を実施する必要がない。」と記載されている。したがって、BAX2398 の光安全性は、以下に示す臨床試験及び公表資料の結果並びに既述した非臨床分布試験及び毒性試験の結果により評価され、更なる非臨床光毒性試験は実施していない。

臨床試験において、2 件の光過敏症及び 1 件の羞明が認められた（NAPOLI-1 試験）。1 件目の光過敏症の報告は 5-フルオロウラシル／ロイコボリン（5-FU/LV）群の 71 歳男性被験者であった。2 件目は 63 歳の男性被験者で BAX2398 + 5-FU/LV 群であった。羞明の発現は BAX2398 + 5-FU/LV 群の 47 歳男性被験者でみられた。BAX2398 の単剤群では光毒性の報告はなかった。いずれの事象も程度は軽度であり、治験薬の投与を中止することなく消失した。光過敏症は 5-FU/LV 群の被験者で 16 日間、BAX2398 + 5-FU/LV 群の被験者でそれぞれ 12 日及び 22 日間継続した。

3 件はいずれも光過敏症及び羞明に関連することが知られている 5-FU を含む併用治療を受けていた被験者に認められた。5-FU と併用された LV は、5-FU の毒性を増強することが知られている。NAPOLI-1 試験において BAX2398 単剤群に光毒性の事象は報告されなかった。さらに、既存のイリノテカン製剤の添付文書には、有害事象として光毒性の記載はなく、副作用として光過敏症の記載もない［1］。イリノテカン塩酸塩水和物点滴静注（カンプト®点滴静注）の本邦添付文書にも光過敏症や羞明などの光毒性は記載されてない［27］。

8.4 新添加剤の安全性評価

BAX2398 の新添加剤に関する毒性試験及び安全性関連情報の一覧を表 2.6.6-23 に示す。

表 2.6.6-23 新添加剤に関する毒性試験及び安全性関連情報

<table>
<tr><th rowspan="2">新添加剤</th><th rowspan="2">基本情報</th><th colspan="3">毒性試験及び安全性関連情報</th></tr>
<tr><th>BAX2398 又はリポソーム対照の単回及び反復投与毒性試験</th><th colspan="2">文献等の安全性関連情報</th></tr>
<tr><td>DSPC</td><td>・生体内リン脂質成分
・FDA 既承認の添加剤</td><td rowspan="4">リポソーム対照（DSPC、コレステロール、MPEG-2000-DSPE 及び SOS を含有）
・マウス単回投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-003）
・ラット単回投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-002）
・ラット 4 週間反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-006）
・ラット 18 週間反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-010）
・イヌ単回投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-007）
・イヌ 4 週間反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-009）
・イヌ 18 週間反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-011）</td><td colspan="2">FDA 既承認製剤中の DSPC［19］
・遺伝毒性試験（復帰突然変異試験、染色体異常試験及び小核試験）</td></tr>
<tr><td>コレステロール</td><td>・生体内成分
・本邦既承認製剤に含有</td><td>コレステロール
・ラット薬物動態試験［20］</td><td rowspan="2">本邦既承認製剤のプラセボリポソーム（コレステロール及び MPEG-2000-DSPE 含有）[a]
・遺伝毒性試験（復帰突然変異試験、遺伝子突然変異試験、染色体異常試験及び小核試験）
・ラット胚・胎児発生毒性試験</td></tr>
<tr><td>MPEG-2000-DSPE</td><td>・本邦既承認製剤に含有</td><td>MPEG-2000-DSPE[a]
・マウス単回投与毒性試験
・ラット単回投与毒性試験
・ラット 2 週間反復投与毒性試験
・遺伝毒性試験（復帰突然変異試験及び染色体異常試験）</td></tr>
<tr><td>SOS</td><td>・SOS アルミニウム複合体（スクラルファート）は本邦及び FDA 既承認製剤の有効成分
・SOS の化学構造は SOS アルミニウム複合体及び SOS カリウム塩と類似</td><td colspan="2">SOS カリウム塩又は SOS アルミニウム複合体（スクラルファート）
・ラット、イヌ及びサル薬物動態試験［15］
SOS ナトリウム塩
・ラット薬物動態試験［10］
SOS アルミニウム複合体（スクラルファート）
・非臨床薬物動態試験［9］
・急性毒性試験［13］
・マウス及びラット慢性毒性試験での発がん性評価［16］
・ラット生殖試験［16］
・マウス、ラット及びウサギ催奇形性試験［16］
・臨床試験［8］</td></tr>
</table>

表 2.6.6-23 新添加剤に関する毒性試験及び安全性関連情報（続き）

新添加剤	基本情報	毒性試験及び安全性関連情報	
		BAX2398 又はリポソーム対照の単回及び反復投与毒性試験	文献等の安全性関連情報
HEPES	・FDA 既承認の添加剤	BAX2398 ・ラット 18 週間反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-010） ・イヌ 18 週間反復投与毒性試験（PEP02-NC-G-Tx-011）	HEPES ・ラット薬物動態［14］ ・遺伝毒性試験［5］ ・復帰突然変異試験 ・変異原性試験 ・染色体異常試験 ・光曝露による細胞毒性試験［11, 21］ ・ラット急性毒性試験［14］ ・ラット急性毒性試験［5］ ・ラット 28 日間反復投与毒性試験［5］ ・イヌ 148 日間反復投与毒性試験［17］ ・ラット生殖発生毒性試験［5］ ・臨床試験［18］

a：平成 19 年 1 月 26 日申請ドキシル®注 20mg 申請資料概要 2.6.6
DSPC：1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン
MPEG-2000-DSPE：N-(カルボニル-メトキシポリエチレングリコール 2000)-1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン
SOS：sucrose octasulfate
HEPES：4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸

8.4.1 BAX2398 又はリポソーム対照の単回及び反復投与毒性試験

8.4.1.1 DSPC、コレステロール、MPEG-2000-DSPE 及び SOS に関する試験

BAX2398 の単回及び反復投与毒性試験でのリポソーム対照群において、新添加剤の安全性を評価した。

各ロットのリポソーム対照には DSPC、コレステロール及び MPEG-2000-DSPE が一定の割合で含有されている。リポソーム対照のリン脂質濃度に関しラットで 29.8 mmol/L（PEP02-NC-G-Tx-006 試験）、イヌで 4 mmol/L（PEP02-NC-G-Tx-011 試験）が反復投与時の最大安全量（一般状態観察、臨床検査、体重及び剖検に有害所見なし。諸器官に空胞化及び組織球増多の有害所見なし）であり、このときの DSPC、コレステロール及び MPEG-2000-DSPE の投与量は、それぞれラットで 209.97、68.45 及び 3.70 mg/kg、イヌで 28.18、9.19 及び 0.50 mg/kg であった（表 2.6.6-24）。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の DSPC、コレステロール及び MPEG-2000-DSPE 投与量を FDA 変換係数 37［6］を用いて mg/m^2 から mg/kg に換算すると、それぞれ 2.94［= (80 mg/m^2 / 37) / 50 mg/vial x 68.1 mg/vial］、0.960［= (80 mg/m^2 / 37) / 50 mg/vial x 22.2 mg/vial］及び 0.052［= (80 mg/m^2 / 37) / 50 mg/vial x 1.2 mg/vial］mg/kg となり、体重換算に基づく安全域は、いずれの添加剤もラットで 71 倍、イヌで 9.6 倍と算出された（表 2.6.6-26）。

表 2.6.6-24 BAX2398 の単回及び反復投与毒性試験で用いたリポソーム対照中の
リン脂質濃度、並びに DSPC、コレステロール及び MPEG-2000-DSPE 投与量

試験種類 （試験番号）	リン脂質濃度 [a] (mmol/L)	DSPC (mg/kg)	コレステロール (mg/kg)	MPEG-2000-DSPE (mg/kg)
ラット単回静脈内投与毒性試験 （PEP02-NC-G-Tx-002）	26.3	185.31	60.41	3.27
ラット 4 週間［1 回/週］反復静脈内投与毒性試験 （PEP02-NC-G-Tx-006）	29.8	209.97	68.45	3.70
ラット 18 週間［1 回/3 週間、合計 6 回］反復静脈内投与毒性試験 （PEP02-NC-G-Tx-010）	22.7	159.94	52.14	2.82
イヌ単回静脈内投与毒性試験 （PEP02-NC-G-Tx-007）	9.73	45.70	14.90	0.81
イヌ 4 週間［1 回/週］反復静脈内投与毒性試験 （PEP02-NC-G-Tx-009）	2.6	12.21	3.98	0.22
イヌ 18 週間［1 回/3 週間、合計 6 回］反復静脈内投与毒性試験 （PEP02-NC-G-Tx-011）	4	28.18	9.19	0.50

a： 複数ロットを用いた試験ではリン脂質濃度が高いロットのみ示す。

これらの添加剤に加え、各ロットのリポソーム対照には SOS が異なる濃度で含有されている（表 2.6.6-25）。SOS の最大安全投与量は、ラットで 57.9 mg/kg（PEP02-NC-G-Tx-006 試験）、イヌで 8.6 mg/kg（PEP02-NC-G-Tx-007 試験）であった。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の SOS 投与量を FDA 変換係数 37［6］を用いて mg/m^2 から mg/kg に換算すると 0.389 mg/kg［= (80 mg/m^2 / 37) / 50 mg/vial x 9.0 mg/vial］となり、体重換算に基づく安全域は、ラットで 149 倍、イヌで 22 倍と算出された（表 2.6.6-26）。

表 2.6.6-25 BAX2398 の単回及び反復投与毒性試験で用いたリポソーム対照中の SOS 投与量

試験種類 （試験番号）	SOS 濃度 [a] (mg/mL)	SOS 投与量 (mg/kg)	所見
マウス単回静脈内投与毒性試験 （PEP02-NC-G-Tx-003）	3.77	163.2	臨床観察、臨床検査、体重、肉眼所見：有害作用なし
ラット単回静脈内投与毒性試験 （PEP02-NC-G-Tx-002）	3.77	48.3	臨床観察、臨床検査、体重、肉眼所見：有害作用なし
ラット 4 週間［1 回/週］反復静脈内投与毒性試験 （PEP02-NC-G-Tx-006）	6.10	57.9	臨床観察、臨床検査、体重、肉眼所見：有害作用なし 種々の組織での非有害性空胞形成及び組織球症
イヌ単回静脈内投与毒性試験 （PEP02-NC-G-Tx-007）	3.69	8.6	臨床観察、臨床検査、体重、肉眼所見：有害作用なし
イヌ 4 週間［1 回/週］反復静脈内投与毒性試験 （PEP02-NC-G-Tx-009）	1.19	1.6	臨床観察、臨床検査、体重、肉眼所見：有害作用なし

a: 複数ロットを用いた試験では SOS 濃度が高いロットのみ示す。
Chou, 2006 [4], Table 2 一部改変

8.4.1.2 HEPES に関する試験

HEPES の安全性は、ラット及びイヌでの 18 週間静脈内反復投与毒性試験（それぞれ PEP02-NC-G-Tx-010 試験及び PEP02-NC-G-Tx-011 試験）における NOAEL に基づき評価した。BAX2398 の NOAEL は、ラットで 30 mg/kg、イヌで 9 mg/kg であり、この時の HEPES 投与量は、それぞれ 24.3 及び 7.3 mg/kg であった。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の HEPES 投与量を FDA 変換係数 37［6］を用いて mg/m^2 から mg/kg に換算すると、1.75 mg/kg［= (80 mg/m^2 / 37) / 50 mg/vial x 40.5 mg/vial］となり、体重換算に基づく安全域はラットで 14 倍、イヌで 4.2 倍と算出された（表 2.6.6-26）。

8.4.1.3 安全域のまとめ

新添加剤 DSPC、コレステロール、MPEG-2000-DSPE、SOS 及び HEPES の安全域を表 2.6.6-26 にまとめる。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の各新添加剤投与量はラット及びイヌにおけるそれぞれの最大安全量を下回り、これらの新添加剤のヒトにおける安全性は十分に確保されていると考えられる。

表 2.6.6-26. BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時と比較した
各新添加剤のラット及びイヌにおける体重当たりの安全域

新添加剤	体重当たりの安全域（倍）	
	ラット	イヌ
DSPC	71	9.6
コレステロール	71	9.6
MPEG-2000-DSPE	71	9.6
SOS	149	22
HEPES	14	4.2

8.4.2 文献等の安全性関連情報

新添加剤 DSPC、コレステロール、MPEG-2000-DSPE、SOS 及び HEPES の生殖発生毒性試験及び遺伝毒性試験は次の理由により新たに実施していない。すなわち、イリノテカンには生殖発生毒性及び遺伝毒性が報告されていることから［2］、BAX2398 に限定した承認申請とする前提で、新添加剤の生殖発生毒性試験及び遺伝毒性試験を新たに実施する必要はないと考える。したがって、DSPC、コレステロール、MPEG-2000-DSPE、SOS 及び HEPES の生殖発生毒性及び遺伝毒性については、その他の安全性関連情報と併せて、公開情報を調査した。

新添加剤 DSPC、コレステロール、MPEG-2000-DSPE、SOS 及び HEPES についての安全性関連情報を以下に要約する。

8.4.2.1 DSPC

BAX2398 のリポソーム構成成分である DSPC は主として細胞膜の脂質二重層構造を形成している生体内に広く分布するリン脂質である。DSPC は FDA により添加剤として承認されており、DSPC のリポソーム静注用液での maximum potency は 2.8%とされている［7］。BAX2398 のバイアル当たりの DSPC 含量は 68.1 mg/10 mL、すなわち 0.681%であることから、maximum potency の約 1/4 に相当する。

リン脂質はまた、血液中で脂質の安定化や代謝に関与するリポタンパク質の構成成分であり、その血清中基準値は 150～250 mg/dL とされている［22］。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の DSPC 投与量は体表面積 1.65 m^2 のヒトで 180 mg であり、この量はヒト血液量を 4 L と仮定すると 4.5 mg/dL に相当する。リポソームに含まれる DSPC がそのまま血中に移行すると仮定しても、血清中リン脂質基準値に及ぼす影響は 1.8～3%程度であり、BAX2398 の投与により DSPC は生体に対してほとんど影響を及ぼさないといえる。

安全性関連情報としては、遺伝毒性が検討された。その結果、DSPC は *S. typhimurium*（TA98、TA100、TA1635 及び TA1537）及び *E. coli*（WP2 *uvr*A）を用いた復帰突然変異試験において最高 5000 µg/プレートまで陰性であり、CHO 細胞において最高 1000 µg/mL の濃度まで染色体異常を誘発せず、最高 25 mg/kg まで腹腔内注射したマウス骨髄において小核形成を引き起こさなかった［19］。

8.4.2.2 コレステロール

BAX2398 のリポソーム構成成分であるコレステロールは生体内で細胞膜の形成や様々な生命現象に関与している生体内に広く分布する物質である。

コレステロールは国内では医薬品添加剤としての使用前例がないが、既承認注射剤であるドキシル®注 20mg（ドキシル®注）及びアムビゾーム®点滴静注用 50mg の 1 日最大投与量において、それぞれ 132 及び 374 mg のコレステロールが含有されている［24、28］。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時のコレステロール投与量は体表面積 1.65 m^2 のヒトで 59 mg であり、既承認注射剤中の 132 及び 374 mg と比較すると、それぞれ約 2/5 及び約 1/6 に相当する。

日本人間ドック学会と健康保険組合連合会が 2014 年に公表した血中総コレステロール基準値（mg/dL）は、男性では 151～254、女性では 30～44 歳：145～238、45～64 歳：163～273、65～80 歳：175～280 である［23］。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時のコレステロール投与量は 59 mg であり、この量はヒト血液量を 4 L と仮定すると 1.5 mg/dL に相当する。リポソームに含まれるコレステロールがそのまま血中に移行すると仮定しても、血中総コレステロール基準値に及ぼす影響は 1%程度であり、BAX2398 投与によりコレステロールは生体に対してほとんど影響を及ぼさないといえる。

安全性関連情報としては、ドキシル®注のプラセボリポソーム（コレステロールを含有）は、*S. typhimurium* を用いた復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ L5178Y TK+/-細胞を用いた遺伝子突然変異試験及び CHO 細胞を用いた染色体異常試験において、リン濃度としてそれぞれ 410 μg/プレート、41 μg/mL 及び 41 μg/mL まで、代謝活性化系の有無にかかわらず遺伝毒性を示さず、マウス小核試験において、リン用量として 8.20 mg/kg までの単回静脈内投与により染色体異常誘発能及び骨髄抑制を示さないと判断された。また、ラット胚・胎児発生に関する試験において、既承認注射剤の最高用量である 1.0 mg/kg 群と同量のプラセボリポソームの静脈内投与により、試験期間中死亡例はなく、母動物の一般毒性及び生殖能並びに胎児に対する影響は認められなかった（ドキシル®注の申請資料概要 2.6.6）。本プラセボリポソーム中のコレステロール含量は以下のように推定される。すなわち、マウス小核試験のリン用量 8.20 mg/kg は、ドキシル®注の 40 mg/kg に含まれるプラセボリポソーム量に相当し、ラット胚・胎児発生に関する試験のプラセボリポソーム量は、ドキシル®注の 1.0 mg/kg に含まれるプラセボリポソーム量に相当することから、ドキシル®注の有効成分：コレステロールの含量比 1：1.6 に基づき、それぞれ約 64 及び 1.6 mg/kg と推定される。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時のコレステロール投与量を FDA 変換係数 37［6］を用いて mg/m^2 から mg/kg に換算すると、0.960 mg/kg となり、体重換算に基づく安全域はマウス小核試験で 67 倍、ラット胚・胎児発生に関する試験で 1.7 倍と算出された。

さらに、雄ラットに ^{14}C-コレステロールを静脈内投与し体内動態を検討した結果、72 時間以内に 19～30%が CO_2 として呼気中に排出され、75%が代謝物として回収された。15～20%が肝臓及びカーカスの 3β-OH ステロール以外の水溶相及び脂溶相に分布し、尿中及び糞中排泄量は 6～7%であったと報告されている［20］。

8.4.2.3 MPEG-2000-DSPE

BAX2398 のリポソーム構成成分である MPEG-2000-DSPE は国内では医薬品添加剤としての使用前例がないが、ドキシル®注の 1 日最大投与量において 132 mg 含有されている［28］。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の MPEG-2000-DSPE 投与量は体表面積 1.65 m^2 のヒトで 3 mg であり、ドキシル®注での 132 mg と比較すると 1/44 に相当する。

安全性関連情報としては、MPEG-2000-DSPE をマウスに 284 mg/kg まで単回静脈内投与した結果、死亡例はなく、一般状態及び体重への影響も認められなかった。また、ラットでの単回静脈内投与において概略の致死量は雌雄共に 1000 mg/kg であることが示され、500 mg/kg の投与では死亡例はなかった。さらに、ラットでの 2 週間反復静脈内投与において 300 及び 500 mg/kg/日は毒性発現量であったが死亡例はなく、NOAEL は雌雄共に 100 mg/kg/日であった（ドキシル®注の申請資料概要 2.6.6）。これらの用量を BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の MPEG-2000-DSPE 投与量を FDA 変換係数 37［6］を用いて mg/m^2 から mg/kg に換算した値 0.052 mg/kg と比較すると、マウス及びラットにおける単回静脈内投与での最大安全量はそれぞれ約 5460 倍及び約 9620 倍、ラットにおける 2 週間反復静脈内投与での NOAEL は約 1920 倍に相当する。また、MPEG-2000-DSPE の *S. typhimurium* 及び *E. coli* を用いた復帰突然変異試験並びにチャイニーズハムスター肺由来（CHL/IU）細胞を用いた染色体異常試験を実施した結果、前者では 5000 µg/plate の濃度まで、後者では 5000 µg/mL の濃度まで、代謝活性化系の有無にかかわらず遺伝毒性を示さなかった（ドキシル®注の申請資料概要 2.6.6）。

さらに、ドキシル®注のプラセボリポソーム（MPEG-2000-DSPE を含有）は、8.4.2.2 項に記載したように、マウス小核試験において、染色体異常誘発能及び骨髄抑制を示さないと判断され、ラット胚・胎児発生に関する試験において、試験期間中死亡例はなく、母動物の一般毒性及び生殖能、並びに胎児に対する影響は認められなかった。本プラセボリポソーム中の MPEG-2000-DSPE 含量は以下のように推定される。すなわち、8.4.2.2 項に記載したように、マウス小核試験及びラット胚・胎児発生に関する試験では、ドキシル®注のそれぞれ 40 及び 1.0 mg/kg に含まれるプラセボリポソーム量が動物に投与されたことから、ドキシル®注の有効成分 : MPEG-2000-DSPE の含量比 1 : 1.6 に基づき、それぞれ約 64 及び 1.6 mg/kg と推定される。BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の MPEG-2000-DSPE 投与量を FDA 変換係数 37［6］を用いて mg/m^2 から mg/kg に換算すると、0.052 mg/kg となり、体重換算に基づく安全域はマウス小核試験で 1231 倍、ラット胚・胎児発生に関する試験で 31 倍と算出された。

8.4.2.4 SOS

SOS はイリノテカンのリポソーム内捕捉剤として働く。BAX2398 は、二重の単層脂質から成る直径約 110 nm の小胞であり、イリノテカンを SOS 塩としてゲル又は沈殿状態で含有する水様スペースを封入している。SOS は化学構造が SOS アルミニウム複合体（スクラルファート）及び SOS カリウム塩に極めて類似しており、スクラルファートは既に販売されているアルサルミン®（日本）及び Carafate（米国）の有効成分であり、それぞれ胃潰瘍・十二指腸潰瘍及び活動型十二指腸潰瘍の治療に処方される。

このことから、これらの内のいずれかの安全性関連情報を以下に記載する。

吸収、分布及び代謝関連情報については、Steiner ら［15］は SOS（カリウム塩として投与）の経口投与後の消化管からの吸収、並びに静脈内及び腹腔内注射後の排泄を異なる動物種で検討するために、薬物動態試験を実施した。ラットに 3 mg/kg を静脈内投与すると約 1 時間の半減期で速やかに血清から除去された。静脈内注射後 24 時間以内に 83%が尿中に回収され、2%が糞中に排泄され、わずか約 0.1%が $^{14}CO_2$ として呼気中に排出された。ラットに腹腔内投与した SOS（200 mg/kg）は速やかに排泄され、24 時間以内に 75%が尿中に回収された。ラットへの 200 mg/kg の経口投与では、わずか 0.2～1.2%が吸収された。10 日間連日経口投与しても血漿中濃度の変動は観察されず、蓄積性は示されなかった。イヌへの 200 mg/kg の経口投与では、24 時間以内に 81%が糞中に、4.3%が尿中に排泄された。アカゲザルに同用量を経口投与した時、6 時間に血清中最高値が観察され、血清中半減期は 17 時間と算出された。経口投与後 120 時間以内に 95%が消化管を介して、3.7%が腎臓を介して排泄された。

その後、Hiebert ら［10］は ^{14}C-標識された SOS ナトリウム塩をラットに経口投与した時の薬物動態を検討した。尿中から回収された放射能は 24 時間で投与量の 18.3%に相当し、一方、肺、肝臓、腎臓、脾臓及び血漿から回収された放射能は投与量の平均 8.6%であった。放射能は投与後 3 分～24 時間までの全時点で血漿中に検出され、胃からの吸収が示唆された。血漿からの回収量は投与量の 10%を超えなかった。また、一旦吸収された SOS ナトリウム塩は主として内皮と結合し、血漿中循環量は少ないと報告されている。

これらの吸収及び分布に関する結果は類似化合物であるスクラルファートでの試験データと概して符合した。^{14}C-標識されたスクラルファートを用いた初期の動物試験では経口投与量のわずか 3～5%しか吸収されないことが示された。いずれの組織にもスクラルファートの蓄積はなく、95～97%が消化管内に留まり、吸収された少量のスクラルファートは未変化体のまま主として尿中に排泄されると報告されている［9］。

SOS の代謝を検討するために、^{14}C-標識 SOS（カリウム塩又はアルミニウム複合体として）を静脈内及び経口投与した後、ラット及びサル血漿、尿及び糞の放射能を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で分析した。その結果、血漿、尿及び糞サンプル中に存在する 90%以上の放射能が SOS 標準品と同じ溶出容量及び性状で単一ピークとして溶出し、SOS は尿及び糞を介して代謝を受けずに未変化体のまま排泄されることが示された［15］。

非臨床安全性関連情報については、SOS を単独で非経口投与した情報はないが、類似化合物であるスクラルファートの単回経口投与毒性が検討された。すなわち、異なる動物種での最高 12 g/kg までのスクラルファートを用いた経口投与急性毒性試験において、致死量を決定できなかったと報告されている［13］。

また、スクラルファートの米国添付文書［16］によると、マウス及びラットでの最高 1 g/kg（ヒト用量 4 g/日の 12 倍）までの用量を用いた 24 ヵ月間経口投与毒性試験において、薬物に関連した発がん性は認められなかった。ヒト用量の最高 38 倍（約 3 g/kg）までの用量を用いたラットでの生殖試験において、受胎能に対する影響は認められなかった。さらに、ヒト用量の 50 倍（約 4 g/kg）までの用量を用いたマウス、ラット及びウサギでの催奇形性試験において、薬物に起因する胎児に及ぼす影響は観察されなかった。

前述のように、SOS 及びスクラルファートの経口バイオアベイラビリティは 3～10%超と報告されている。吸収量を最も低くみて 3%と仮定すると、上記各試験における吸収量は、急性毒性試験の 12 g/kg の用量では 360 mg/kg、24 ヵ月間経口投与毒性試験の 1 g/kg の用量では 30 mg/kg、生殖試験のヒト用量の 38 倍（約 3 g/kg）の用量では 90 mg/kg 及び催奇形性試験のヒト用量の 50 倍（約 4 g/kg）の用量では 120 mg/kg と計算される。これらの安全域は、BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の SOS 投与量を FDA 変換係数 37［6］を用いて mg/m^2 から mg/kg に換算した値 0.389 mg/kg と比較すると、それぞれ 925、77、231 及び 308 倍に相当する。

本邦で販売されているスクラルファートを有効成分とするアルサルミン®（中外製薬）は、胃潰瘍、十二指腸潰瘍の治療に、通常、成人 1 回 1～1.2 g ずつ（細粒）又は 10 mL（内用液）を、1 日 3 回経口投与される。添付文書［25、26］には副作用について、細粒：「総症例数 2681 例中 90 件に副作用が認められた。主な副作用は便秘 59 件（2.2%）、口渇 19 件（0.7%）であった。（効能追加時）」、内用液：「副作用は、247 例中便秘 3 例（1.2%）、嘔気 1 例（0.4%）の 4 例（1.6%）が認められた。一方本剤によると評価された臨床検査値異常変動は認められなかった。（承認時）」と記載されている。

また、スクラルファートは米国で販売されている Carafate の有効成分であり、活動型十二指腸潰瘍の治療に短期間（8 週間まで）処方される経口剤である。十二指腸潰瘍に対する成人経口推奨用量は 1 g×4 回/日である［3］。スクラルファートについて、健常志願者での単回及び反復投与臨床試験が実施された。単回投与臨床試験における 1 日用量は 4、8 又は 12 g であり、副作用は報告されなかった。反復投与試験の志願者は 2 g×4 回/日を 14 日間及び 3 g×4 回/日を 28 日間投与された。16 名中 3 名の志願者が悪心及び／又は嘔吐を、1 名が腹痛を訴えたが、臨床検査で異常はなかった［8］。

前述のように、SOS 及びスクラルファートの経口バイオアベイラビリティを最も低くみて 3%とすると、ヒト用量 4 g/日では 120 mg が吸収されることになり、この量は BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の SOS 投与量 24 mg の 5 倍に相当する。

8.4.2.5 HEPES

HEPES は、細胞培養環境における炭酸ガス濃度の変動にもかかわらず、培地中 pH を一定に維持する優れた能力により、緩衝剤として多年にわたり広く用いられてきた。HEPES は、既承認薬に関する FDA 添加剤データベースに静注用添加剤として登録されており、maximum potency は 0.41%とされている［7］。BAX2398 のバイアル当たり HEPES 含量は 40.5 mg/10 mL、すなわち 0.405%であることから、maximum potency の約 1 倍に相当する。

HEPES の薬物動態に関するデータは少ない。HEPES はラットに静脈内投与した時、クリアランスが急速であることが示され、約 45 分の半減期を伴う一次キネティクスに従った。非経口投与された HEPES は腎臓に分布し、更に脳、心臓又は脾臓に蓄積することなく、肝臓で代謝された［14］。

非臨床安全性関連情報については、HEPES の遺伝毒性がいくつかの医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠した試験において *in vitro* で評価された。すなわち、HEPES は *S. typhimurium* 及び *E. coli* を用いる復帰突然変異試験において、代謝活性化系の有無にかかわらず全菌株で変異原性が陰性であることが示された。また、HEPES は L5178Y/TK+/-細胞を用いた

変異原性試験において、代謝活性化系の有無にかかわらず陰性であることが示された。さらに、HEPES は、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験において、代謝活性化系の有無にかかわらず染色体異常を誘発しなかった［5］。これらの試験データから、HEPES は遺伝毒性が陰性であることが示唆されている。注目点として、HEPES の *in vitro* 光毒性が 25 mmol/L の濃度で報告されており、2 mW/cm^2 の蛍光に曝露したマウス胸腺細胞培養に対する細胞毒性により明らかにされた。しかしながら、この作用の発現には HEPES が必須ではあるものの、他の培地成分、特にリボフラビンも光毒性の誘発に必要とされる［11、21］。

HEPES の急性毒性はラットで検討され、静脈内投与による LD_{50} 値は 3 g/kg 以上、経口投与による LD_{50} 値は 5 g/kg 以上であり、278～417 mg/kg の用量で腹腔内又は皮下投与しても有害作用は報告されていない［14］。また、最近実施されたラットでの GLP に準拠した試験では、経口投与による LD_{50} 値が 2 g/kg 以上であったと報告されている［5］。

HEPES のラットでの 28 日間反復経口投与毒性試験が GLP に準拠して実施された。投与に関連した作用はいずれの用量（100、300 又は 1000 mg/kg）でも認められなかったため、無影響量（NOEL）は 1000 mg/kg と結論された［5］。HEPES の吸収については、Lipinski ら［12］が提唱した「rule of 5」のすべてのパラメータに HEPES は適合するため、経口投与後の消化管吸収は良好であると考えられる。

さらに、HEPES の連日静脈内投与によるイヌでの 148 日間反復投与毒性試験が最高 400 mg/kg までの用量で実施された。血液生化学的検査及び肝臓の病理組織学的検査においていずれの用量でも異常は認められなかったが、300 mg/kg 以上の用量で投与 14 日以降にストレス徴候及び免疫刺激が明らかになった。この点に関し、過細胞性骨髄、髄外顆粒球形成及び循環大組織球が認められたため、NOAEL は 250 mg/kg とされた［17］。

前記、ラットでの HEPES の静脈内投与による LD_{50} 値（3 g/kg 超）及びイヌでの反復静脈内投与毒性試験における NOAEL（250 mg/kg）を、BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の HEPES 投与量を FDA 変換係数 37［6］を用いて mg/m^2 から mg/kg に換算した値 1.75 mg/kg と比較すると、それぞれ 1714 倍超及び 143 倍に相当する。

GLP 準拠下、妊娠ラットに交尾後 6～19 日に HEPES を 100、300 又は 1000 mg/kg の用量で連日経口投与し、発生毒性を検討した。その結果、同腹児パラメータ、すなわち黄体数、着床数、着床後死亡数、生存胎児数又は胎児体重に投与と関連した有害作用は観察されず、胎児の発生に及ぼす影響もみられなかった。したがって、母動物毒性及び胚・胎児発生に対する NOEL はいずれも 1000 mg/kg であった［5］。

HEPES は固形がん患者を含む臨床試験において、その消炎作用により有効成分としてヒトに投与された。投与スケジュールは異なり 1 名は 1000 mg/日であったが、大部分の患者は 5000 mg/日を 2 週間連日静脈内投与され、引き続き更に週 3 回、2 週間投与された。最高曝露は 5000 mg/日の 10 週間（70 回投与）であったが、忍容性は良好であった。注目すべき点は、数種類の型の白血球の循環血球数及び活性の増加で示される免疫刺激効果がみられ、大部分の患者は腫瘍と関連した疼痛の軽減を経験した。しかし、これらの所見の臨床的意義は明瞭ではなく、その他 HEPES のヒトにおける毒性は示唆されなかった。したがって、HEPES のヒトにおける非経口投与による NOAEL は 5000 mg/日と考えられる［18］。

BAX2398 の予定最大臨床用量 80 mg/m^2 投与時の HEPES 投与量は 107 mg であることから、この投与量はヒトでの NOAEL 5000 mg/日と比較すると約 1/47 に相当する。

8.4.3 結論

以上のとおり、BAX2398 の新添加剤 DSPC、コレステロール、MPEG-2000-DSPE、SOS 及び HEPES に関する安全域は十分に広く、文献、上市製剤情報等、これら新添加剤に関連した種々の安全性情報も存在する。したがって、これらの新添加剤に関する安全性は十分に確保されていると考える。

9 考察及び結論

毒性試験で認められた BAX2398 及び CPT-11 の毒性プロファイルを表 2.6.6-27 に要約する。これらの所見を以下に考察する。

表 2.6.6-27 単回及び反復投与毒性試験で認められた BAX2398 及び CPT-11 の毒性学的プロファイル

Study type (Study No.)	Product	STD (mg/kg) / (mg/m²)[a]	HNSTD (mg/kg) / (mg/m²)[a]	NOAEL (mg/kg) / (mg/m²)[a]
Mouse Acute Toxicity PEP02-NC-G-Tx-003	BAX2398	200 / 600 (STD_{10})	-	-
	CPT-11	200 / 600 (STD_{20})	-	-
Rat Acute Toxicity PEP02-NC-G-Tx-002	BAX2398	960 / 5760 (STD_{50})	720 / 4320	-
	CPT-11	320 / 1920 (STD_{10})	-	-
Dog Acute Toxicity PEP02-NC-G-Tx-005	BAX2398	-	50 / 1000	-
	CPT-11	-	-	-
Dog Acute Toxicity PEP02-NC-G-Tx-007	BAX2398	30 / 600 (STD_{17})	15 / 300	
	CPT-11	30 / 600 (STD_{17})	-	-
Dog Acute Toxicity PEP02-NC-N-Tx-001	BAX2398	-	-	-
	CPT-11	-	40 / 800 (male) 30 / 600 (female)	-
Rat 4-week Toxicity PEP02-NC-G-Tx-006	BAX2398	260 / 1560 (STD_{5})	130 / 780	-
	CPT-11	130 / 780 (STD_{10})	-	-
Rat 18-week PEP02-NC-G-Tx-010	BAX2398	-	-	30 / 180
	CPT-11	-	-	-
Dog 4-week Toxicity PEP02-NC-G-Tx-009	BAX2398	16 / 320 (STD_{18})	8-16 / 160-320	8 / 160
	CPT-11	-	-	-
Dog 18-week Toxicity PEP02-NC-G-Tx-011	BAX2398	15 / 300 (STD_{8})	9-15 / 180-300	9 / 180
	CPT-11	21 / 420 (STD_{8})	-	-

a : To convert animal dose in mg/kg to dose in mg/m², a conversion factor of 20, 6 and 3 (for dogs, rats and mice respectively) were used as indicated in the relevant FDA guidance document (FDA 2005, Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers [6]). STD (Severe Toxic Dose) is used equivalent to Lethal Dose (LD). HNSTD (highest non-severely toxic dose) is used equivalent to MTD (maximum tolerated dose).
-: No data

マウス、ラット及びイヌを用いた毒性評価において、BAX2398 の忍容性は、CPT-11 と比較して改善されていることが示された。いずれの薬剤の急性毒性作用も消化管所見及び白血球減少症であった。マウス単回投与毒性試験では、BAX2398 の STD_{10} 及び CPT-11 の STD_{20} は 200 mg/kg（600 mg/m^2）であった。ラット単回投与毒性試験では、CPT-11 の STD_{10} は 320 mg/kg（1920 mg/m^2）であり、BAX2398 の 720 mg/kg（4320 mg/m^2）の投与でも死亡は認められなかった。イヌ単回投与毒性試験では BAX2398 の急性毒性を 1 用量の CPT-11 と比較した。イヌへの BAX2398 及び CPT-11 の単回投与後の致死量（STD_{17}）は 30 mg/kg であった。CPT-11 群でみられた投薬に関連した所見は、BAX2398 の 15、30 及び 50 mg/kg 群の所見と比較して、投与後早期に認められ、顕著であり、頻度が高かった。本試験の TK データでは、BAX2398 投与後のイリノテカン及び SN-38 の全身曝露量［濃度-時間曲線下面積（AUC）］は、同用量（30 mg/kg）の CPT-11 投与後と比較して、それぞれ最大 61 倍及び最大 4 倍高値であった。

BAX2398 の 65、130 及び 260 mg/kg 並びに CPT-11 の 130 mg/kg を週 1 回投与したラット 4 週間投与毒性試験では、BAX2398 の STD_5 は 260 mg/kg、CPT-11 の STD_{10} は 130 mg/kg であった。投与部位に一次的及び二次的反応が認められたが、回復期間中に軽症化した。本試験の TK 評価では、BAX2398 投与後のイリノテカン及び SN-38 の全身曝露量（AUC）は、同用量（130 mgkg）の CPT-11 投与後と比較して顕著に高く、それぞれイリノテカンは最大 706 倍（初回投与後）及び 683 倍（定常状態）、SN-38 は最大 104 倍（初回投与後）及び 108 倍（定常状態）高値であった。

BAX2398 の 4、8 及び 16 mg/kg（80、160、320 mg/m^2）並びに CPT-11 の 16 mg/kg（320 mg/m^2）を週 1 回投与したイヌ 4 週間投与毒性試験では、リポソーム製剤のバイオアベイラビリティの増加が確認されたが、8 mg/kg（160 mg/m^2）の用量まで明らかな毒性所見は観察されなかった。本試験の TK 評価では、BAX2398 投与後のイリノテカン及び SN-38 の全身曝露量（AUC）は、同用量（16 mg/kg）の CPT-11 投与後と比較して顕著に高く、それぞれイリノテカンは最大 99 倍（初回投与後）及び 148 倍（定常状態）、SN-38 は最大 3.14 倍（初回投与後）及び 4.21 倍（定常状態）高値であった。

ラット及びビーグル犬 18 週間（3 週間に 1 回投与）反復投与毒性試験（6 週間回復性試験を含む）を実施した。ラット試験では、BAX2398 を 0（リポソーム対照）、30、75 及び 190 mg/kg（0、180、450、1140 mg/m^2）並びに CPT-11 の 75 mg/kg（450 mg/m^2）の用量で投与し、イヌ試験では、BAX2398 を 0（リポソーム対照）、9、15、21 及び 36 mg/kg（0、180、300、420 及び 720 mg/m^2）並びに CPT-11 の 21 及び 36 mg/kg（420 及び 720 mg/m^2）の用量で投与した。

ラットでは用量依存的及び可逆的な骨髄の造血細胞低細胞性並びに体重減少及び摂餌量減少が認められた。TK 評価では、BAX2398 投与後のイリノテカンの全身曝露は CPT-11 投与後より長く、明らかな SN-38 の蓄積はみられなかった。BAX2398 の NOAEL は 30 mg/kg（180 mg/m^2）と判断した。本試験では投薬に関連した死亡は 190 mg/kg（1140 mg/m^2）まで認められず、STD は算出できなかった。イヌでは NOAEL は 9 mg/kg（180 mg/m^2）と判断した。15 mg/kg は致死量（初回投与後のみ）であり、BAX2398 の HNSTD は 9～15 mg/kg（180～300 mg/m^2）と推定された。

種々の毒性試験では、BAX2398 投与後のイリノテカンの曝露量は、CPT-11 投与後と比較して増加したが、90～900 mg/m^2 の用量範囲を網羅する 0.05～0.5 mg/mL の濃度範囲でヒト全血に対し凝集及び溶血能を示さなかった。局所刺激性試験は実施しなかったが、投与部位での BAX2398

及びリポソーム対照の忍容性は、マウス、ラット及びイヌを用いた単回及び反復投与毒性試験で評価した。BAX2398 群及びリポソーム対照群で引き起こされた局所反応は、持続的なカテーテル留置に関連していた。ラット及びイヌにおいて、リン脂質濃度 340.5 µmol/kg（ヒト予定用量の 6～14 倍に相当）までのリポソーム対照で観察された所見は、赤色斑の散見に限られた。ラットでのみ、回復性の骨髄の低細胞性、肝臓の変性又は壊死、脾臓の造血亢進及び種々の組織での泡沫状組織マクロファージ／組織球が観察された。リポソーム対照及び BAX2398 を投与したイヌの多くの脾臓及び肺には、一部非回復性で、軽微な泡沫状組織マクロファージ／組織球が認められた。しかし、泡沫状組織球は、CPT-11 反復投与後の回復期間後の脾臓にも認められた。泡沫状組織球の原因に関しては、これらの試験ではこれ以上の解明はできなかった。

マウス試験における STD_{10} は 600 mg/m^2 であった。したがって、ヒトでの用量漸増試験（3 週間に 1 回投与）の開始用量には 60 mg/m^2（STD_{10} の 1/10）を選択した（第 I 相試験、PEP0201）。臨床試験開始後にイヌ単回投与毒性試験における HNSTD は 300 mg/m^2 であったが、これに基づく開始用量 50 mg/m^2（HNSTD の 1/6）も類似していた。PEP0201 試験（3 週間に 1 回投与）の MTD は 120 mg/m^2 であった。続く臨床試験では 80 mg/m^2 の 2 週間に 1 回投与も許容された。

非臨床毒性データ並びに薬理及び薬物動態データにより、BAX2398 は CPT-11 の有害作用を増強することなく、イリノテカン及び SN-38 曝露量を増加させることが示された。イリノテカン及び SN-38 の全身曝露量及び曝露期間は明らかに増大したが、BAX2398 のラット及びイヌ毒性試験では、イリノテカン曝露に特徴的な関連所見が認められた。ラット及びイヌでの単回及び反復投与後の投薬に関連した主な所見は消化管毒性及び白血球減少症であった。ラット及びビーグル犬に 18 週間（3 週間に 1 回 90 分にわたる点滴静注）反復投与したときの NOAEL は、それぞれ 30 mg/kg（180 mg/m^2）及び 9 mg/kg（180 mg/m^2）であった。非臨床毒性試験データは、BAX2398 の臨床での 2 週間に 1 回、80 mg/m^2 点滴静注における適切な安全域及び忍容性を裏付けている（2.6.4 項の表 2.6.4-59）。

参考文献

1. Camptosar® (Irinotecan) Injection, intravenous infusion, Prescribing Information, revised 4/2016, accessed online at www.pfizer.com
http://labeling.pfizer.com/ShowLabeling.aspx?id=533

2. Campto 20mg/ml concentrate for solution for infusion, Summary of Product Characteristics, Last Updated on eMC 09-Feb-2016
https://www.medicines.org.uk/emc/medicine/12508

3. Carafate® (sucralfate), U.S. Package Insert, 2013
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/018333s034,019183s016lbl.pdf

4. Chou, Determination and safety evaluation of residual triethylamine and sucrose octasulfate in PEP02, PharmaEngine Inc. Internal Report, 2006

5. European Chemicals Agency (ECHA)'s public database with information on registered substances: HEPES (4-(2-hydroxyethyl) piperazin-1-ylethanesulfonic acid; CAS RN 7365-45-9) REACH Joint Submission - last modified 26 Apr 2017)
https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/13322
website visited on 26 Jun 2017.

6. FDA Guidance for Industry. Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers, 2005

7. FDA Inactive Ingredient Search for Approved Drug Products
https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.Cfm

8. Fisher RS. Sucralfate: a review of drug tolerance and safety. J Clin Gastroenterol 1981; 3 (Suppl. 2): 181-4.

9. Garnett WR. Sucralfate--alternative therapy for peptic-ulcer disease. Clin Pharm 1982; 1: 307-14.

10. Hiebert LM, Wice SM, Ping T, Hileman RE, Polat T, Linhardt RJ. Tissue distribution of [^{14}C]sucrose octasulfate following oral administration to rats. Pharm Res 2002; 19: 838-44.

11. Lepe-Zuniga JL, Zigler JS Jr, Gery I. Toxicity of light-exposed Hepes media. J Immunol Methods. 1987; 103:145.

12. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. Adv Drug Deliv Rev 1997; 23:3-25.

13. McGraw BF, Caldwell EG. Sucralfate, Investigational Drug Information. Drug Intelligence and Clinical Pharmacy 1981; 15, 578-80.

14. Stapleton PP, Mahon TM, Nowlan P, Bloomfield FJ. Effects of *in-vivo* administration of taurine and HEPES on the inflammatory response in rats. J Pharm Pharmacol 1994; 46:745-50.

15. Steiner K, Bühring KU, Faro HP, Garbe A, Nowak H. Sucralfate: pharmacokinetics, metabolism and selective binding to experimental gastric and duodenal ulcers in animals. Arzneimittelforschung 1982; 32: 512-8.

16. Sucralfate FDA Prescribing Information
https://www.drugs.com/pro/sucralfate.html

17. Theodore TR, Van Zandt RL, Carpenter RH. Pilot ascending dose tolerance study of parenterally administered 4-(2 hydroxyethyl)-1-piperazine ethane sulfonic acid (TVZ-7) in dogs. Cancer Biother Radiopharm 1997a:12:345-9.

18. Theodore TR, Van Zandt RL, Carpenter RH. Preliminary evaluation of a fixed dose of zwitterionic piperazine (TVZ-7) in clinical cancer. Cancer Biother Radiopharm. 1997b; 12:351-3.

19. TOBI® Podhaler™, FDA PHARMACOLOGY REVIEW(S)
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2013/201688Orig1s000PharmR.pdf

20. Wostmann BS, Wiech NL, Kung E. Catabolism and elimination of cholesterol in germfree rats. J Lipid Res1966; 7:77-82.

21. Zigler JS Jr, Lepe-Zuniga JL, Vistica B, Gery I. Analysis of the cytotoxic effects of light-exposed HEPES-containing culture medium. In Vitro Cell Dev Biol. 1985; 21(5):282-7.

22. 株式会社ビー・エム・エル．生化学的検査．リン脂質
http://uwb01.bml.co.jp/kensa/search/detail/3802160

23. 渡辺 清明. 新たな健診の基本検査の基準範囲　日本人間ドック学会と健保連による 150 万人のメガスタディー．日本人間ドック学会・健康保険組合連合会 検査基準値及び有用性に関する調査研究小委員会．2014
http://www.ningen-dock.jp/wp/wp-content/uploads/2013/09/%E3%83%97%E3%83%AC%E3%82%B

9%E3%83%AA%E3%83%AA%E3%83%BC%E3%82%B9%E7%94%A8PDF%EF%BC%88140409%E5%B7%AE%E3%81%97%E6%9B%BF%E3%81%88%EF%BC%89.pdf

24. アムビゾーム®点滴静注用 50mg 添付文書．大日本住友製薬株式会社．2015 年 1 月改訂（第 9 版）

25. アルサルミン®細粒 90%添付文書．中外製薬株式会社．2015 年 4 月改訂（第 10 版）

26. アルサルミン®内用液 10%添付文書．中外製薬株式会社．2011 年 10 月改訂（第 9 版）

27. カンプト®点滴静注 40mg/100mg 添付文書．株式会社ヤクルト本社．2015 年 3 月改訂（第 18 版）

28. ドキシル®注 20mg 添付文書．ヤンセンファーマ株式会社．2017 年 2 月改訂（第 6 版）

オニバイド®点滴静注 43mg

第 2 部（モジュール 2）：CTD の概要（サマリー）

2.6.7 毒性試験概要表

日本セルヴィエ株式会社

目次

2.6.7.1 毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 5
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 6
2.6.7.4 毒性試験：使用したロット 7
2.6.7.5 単回投与毒性試験 8
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 12
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 13
2.6.7.7.1 ラット 4 週間投与試験 13
2.6.7.7.2 ラット 18 週間投与試験 16
2.6.7.7.3 ビーグル犬 4 週間投与試験 25
2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験 28
2.6.7.8 遺伝毒性試験：*In Vitro* 45
2.6.7.9 遺伝毒性試験：*In Vivo* 45
2.6.7.10 がん原性試験 45
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 45
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び初期胚発生に関する試験 45
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 45
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 45
2.6.7.15 幼若動物を用いた試験 45
2.6.7.16 局所刺激性試験 46
2.6.7.17 その他の毒性試験 46

本資料中、BAX2398 又は CPT-11 にかかわらず、各投与量は CPT-11 に基づき表示する。CPT-11 50 mg はイリノテカン 43 mg に相当する。

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Study Type	Species	Route	Dose (mg/kg) or Concentration	Schedule	Recovery Period	GLP	Testing Facility	Study Number (CRO Number)	Location
Single-dose toxicity	Mouse	IV infusion	BAX2398: 200, 400, 800 CPT-11[a]: 200	Single	14 days	No	[redacted], Taiwan	PEP02-NC-G-Tx-003 ([redacted]00200)	4.2.3.1.1
	Rat	IV infusion	BAX2398: 480, 720, 960 CPT-11[a]: 320	Single	14 days	Yes	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-Tx-002 ([redacted] 7082)	4.2.3.1.3
	Rat	IV infusion	BAX2398 (LIIA02 & LIIA03): 200, 400 CPT-11[a]: 200	Single	14 days	No	[redacted], Taiwan	PEP02-NC-N-Tx-004 ([redacted]00006)	4.2.3.1.2
	Dog	IV infusion	BAX2398: 15, 30, 50 CPT-11[a]: 30	Single	14 days	Yes	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-Tx-007 ([redacted] 6151)	4.2.3.1.6
MTD study	Dog	IV infusion	CPT-11[a]: Sequential doses of 30, 40 or 60	Single	4-10 days	No	[redacted], Canada	PEP02-NC-N-Tx-001 ([redacted] 6171)	4.2.3.1.4
	Dog	IV infusion	BAX2398 100 (Gr1), 40 then 50 (Gr 2), 65 (Gr 3)	Single	14 days	Yes	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-Tx-005 ([redacted] 6160)	4.2.3.1.5
Repeat-dose toxicity	Rat	IV infusion	BAX2398: 65, 130, 260 CPT-11[a]: 130	Weekly for 4 weeks	14 days	Yes	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-Tx-006 ([redacted] 7083)	4.2.3.2.1
	Dog	IV infusion	BAX2398: 4, 8, 16 CPT-11[a]: 16	Weekly for 4 weeks	14 days	Yes	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-Tx-009 ([redacted] 6152)	4.2.3.2.4
	Rat	IV infusion	BAX2398: 30, 75, 190 CPT-11[a]: 75	6-cycle, 3 week per cycle	6 weeks	Yes[b]	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-Tx-010 (1005-3071)	4.2.3.2.3

2.6.7.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Study Type	Species	Route	Dose (mg/kg) or Concentration	Schedule	Recovery Period	GLP	Testing Facility	Study Number (CRO Number)	Location
	Dog	IV infusion	BAX2398: 9, 15, 21, 36 CPT-11[a]: 21, 36	6-cycle, 3 week per cycle	6 weeks	Yes[b]	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-Tx-011 (1006-2162)	4.2.3.2.5
Blood compatibility	Human blood	*In vitro*	BAX2398: 0.05, 0.25, 0.5 mg/mL	NA	NA	Yes	[redacted], Canada	PEP02-NC-G-Tx-008 ([redacted] 600077)	4.2.3.7.7.1

[redacted], GLP: Good Laboratory Practice, IV: intravenous, NA: not applicable

[a] CPT-11=irinotecan hydrochloride hydrate (JAN)

[b] Partially No. Parts of the studies (Dosing formulation analysis, Bioanalysis and 'Toxicokinetics) were performed at subcontractors in Taiwan. Chinese Taipei is neither a provisional nor a full adherent to mutual acceptance of data (MAD), but [redacted] (PEP02-NC-G-Tx-010) and [redacted] (PEP02-NC-G-Tx-011) meet GLP compliance requirements.

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

Type of study	Test system	Method of administration	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Study number (CRO Number)	Location
Single-dose toxicity	Beagle Dogs	IV infusion	BAX2398: 15, 30, 50 CPT-11: 30	Yes	PEP02-NC-G-Tx-007 ([redacted] 6151)	4.2.3.1.6
Repeat-dose toxicity	Sprague Dawley Rats	IV infusion	BAX2398: 65, 130, 260 CPT-11: 130	Yes	PEP02-NC-G-Tx-006TK ([redacted] 7391)	4.2.3.2.2
Repeat-dose toxicity	Sprague Dawley Rats	IV infusion	BAX2398: 30, 75, 190 CPT-11: 75	Yes[a]	PEP02-NC-G-Tx-010 (1005-3071)	4.2.3.2.3
Repeat-dose toxicity	Beagle Dogs	IV infusion	BAX2398: 4, 8, 16 CPT-11: 16	Yes	PEP02-NC-G-Tx-009 ([redacted] 6152)	4.2.3.2.4
Repeat-dose toxicity	Beagle Dogs	IV infusion	BAX2398: 9, 15, 21, 36 CPT-11: 21, 36	Yes[a]	PEP02-NC-G-Tx-011 (1006-2162)	4.2.3.2.5

CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), GLP: Good Laboratory Practice, IV: intravenous

[a] Partially No. Parts of the study (Dosing formulation analysis, Bioanalysis and 'Toxicokinetics) were performed at subcontractors in Taiwan. Chinese Taipei is neither a provisional nor a full adherent to mutual acceptance of data (MAD), but [redacted] (PEP02-NC-G-Tx-010) and [redacted] (PEP02-NC-G-Tx-011) meets GLP compliance requirements.

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

Study number	Data Reference
PEP02-NC-G-Tx-007	Please refer to 2.6.4 Pharmacokinetic Written Summary, section 3.1.5
PEP02-NC-G-Tx-006TK	Please refer to 2.6.5 Pharmacokinetic Tabulated Summary, section 4.1
PEP02-NC-G-Tx-010	Please refer to 2.6.5 Pharmacokinetic Tabulated Summary, section 4.2
PEP02-NC-G-Tx-009	Please refer to 2.6.5 Pharmacokinetic Tabulated Summary, section 4.3
PEP02-NC-G-Tx-011	Please refer to 2.6.5 Pharmacokinetic Tabulated Summary, section 4.4

2.6.7.4 毒性試験：使用したロット

Batch No.	Concentration (mg/mL)	Drug Encapsulation	Specified Impurities	Study Number	Type of Study
LIIA05	[redacted] CPT-11	[redacted]%	None	PEP02-NC-G-Tx-005, PEP02-NC-G-Tx-002	Single Dose Studies in Dogs and Rats
LIIA07	[redacted] CPT-11	[redacted]%	None	PEP02-NC-G-Tx-006	4-Week Toxicity and Toxicokinetics Study in Rats
LIIA08	[redacted] CPT-11	[redacted]%	None	PEP02-NC-G-Tx-006	4-Week Toxicity and Toxicokinetics Study in Rats
LIIA09	[redacted] CPT-11	[redacted]%	None	PEP02-NC-G-Tx-007	Single Dose and Toxicokinetics Study in Dogs
LIIAS3001	[redacted] CPT-11	[redacted]%	None	PEP02-NC-G-Tx-008, PEP02-NC-G-Tx-009 PEP02-NC-G-Tx-010	*In vitro* Hemolysis, 4-Week Toxicity and Toxicokinetics Study in Dogs 18-week Repeat Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats
LIIA06	[redacted] CPT-11	Not Measured/ Recorded	None	PEP02-NC-G-Tx-003 PEP02-NC-G-Tx-002	Single Dose Study in Mice and Rats
LIIA02 & LIIA03	[redacted] CPT-11	Not Measured/ Recorded	None	PEP02-NC-N-Tx-004	Single Dose Study in Rats
LIIA12	[redacted] CPT-11	[redacted]%	None	PEP02-NC-G-Tx-010	18-week Repeat Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats
LIIA14	[redacted] CPT-11	[redacted]%	None		
LIIAS5001	[redacted] CPT-11	[redacted]%	None	PEP02-NC-G-Tx-011	18-week Repeat Dose Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs
LIIAS4002	[redacted] CPT-11	[redacted]%	None		

CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN)

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosage (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dosage (mg/kg)	Approximate Lethal Dosage (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Mice, ICR	IV infusion (Liposome vehicle)	BAX2398: 0 200 400 800 CPT-11: 200	5 M 5 F	BAX2398: <200 (M), 200 (F) CPT-11:<200	BAX2398: 200 (M), 400 (F) CPT-11: 200	BAX2398 (200 mg/kg): 1/5M died BAX2398 (400 and 800 mg/kg): 5/5M, 5/5F died CPT-11 (200 mg/kg): 1/5M, 1/5F died CO: In BAX2398: hypoactivity, soft feces, emaciation, dehydration, urine stain, feces stain, or watery feces. In CPT-11: hypoactivity, tremors, chromodacryrrhea and lacrimation. Decreased BW in BAX2398 group. GN: BAX2398: Black feces stain in genital area of skin, spleen atrophy, adrenal glands congestion and hemorrhage, thymus atrophy and liver pale (dead or moribund animals). Spleen swelling (terminal sacrificed animals). In CPT-11: Liver swelling (dead animal, 1M).	PEP02-NC-G-Tx-003

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosage (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dosage (mg/kg)	Approximate Lethal Dosage (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Rats, Sprague Dawley	IV infusion (Liposome vehicle)	BAX2398: 0 480 720 960 CPT-11: 320	5 M 5 F	BAX2398: 720 CPT-11: <320 (M), 320 (F)	BAX2398: 960 CPT-11: 320 (M), >320 (F)	BAX2398 (960 mg/kg): 3/5M, 2/5F died CPT-11 (320 mg/kg): 1/5M died CO: In BAX2398: partially closed eyes, dull, ungroomed fur, liquid feces, slow skin turgor. In CPT-11 (320 mg/kg): loose/liquid feces, loss of appetite, slow skin turgor Decreased BW in both BAX2398 and CPT-11 group CP: on day 8, dose dependent reduction in WBC count (males more affected) in rats receiving BAX2398. Less effect in rats dosed with CPT-11. Some evidence of recovery by day 15 GN: Mortalities – dark digestive contents, in addition to dark discoloration of the gastro-intestinal tract, BAX2398 treated rats showed thymus atrophy and spleen pallor GN: Terminal – BAX2398 – thymus atrophy, hepatic and spleen pallor common. CPT-11 – discoloured, gelatinous gut contents and renal pallor seen	PEP02-NC-G-Tx-002

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosage (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dosage (mg/kg)	Approximate Lethal Dosage (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Rats, Sprague Dawley	IV infusion (Liposome vehicle)	BAX2398: 0 200 400 CPT-11: 200	2-4 M (21M total)	BAX2398: 400 CPT-11: <200	BAX2398: >400 CPT-11: 200	CPT-11 (200 mg/kg) – two rats died day 1; hypoactivity, exopthalmus, soft feces, watery feces, yellowish urine stain around the genital area, tremors and chromodacryrrhea within 6 days after dosing BAX2398 (200 and 400 mg/kg) – brown soft feces on day 3 (2/3 and 3/3 rats, respectively); no clinical signs were found in the saline control and BAX2398-control groups. Body weight gain by Day 5 and on Day 8 in all treated groups and on Day15 in the 400 mg/kg of BAX2398 (LIIA02) group showed significant lower than the vehicle control group; there were no differences in body weights in all rats during the study period. No test article treatment-related gross lesion was observed.	PEP02-NC-N-Tx-004
Dog, Beagle	IV infusion (Liposome vehicle)	BAX2398: 40 50 65 100	1 M 1 F	BAX2398: 50	BAX2398: 65	One death (65 mg/kg, M) and 3 pre-terminal euthanasia's at 100 (1 M and 1 F) or 65 (1 F) mg/kg occurred during the study Emesis and fecal changes were noted in animals' treated at 40 mg/kg and above Body weight loss and reduced food intake was noted after dosing. MTD was 50 mg/kg.	PEP02-NC-G-Tx-005

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosage (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dosage (mg/kg)	Approximate Lethal Dosage (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Dogs, Beagle	IV infusion (Liposome vehicle)	BAX2398: 0 15 30 50 CPT-11: 30	3M 3F	BAX2398: 15 (M), 30 (F) CPT-11: < 30 (M), 30 (F)	BAX2398: 30 (M), 50 (F) CPT-11: 30 (M), >30 (F)	BAX2398 (30 mg/kg): 1/3M sacrificed BAX2398 (50 mg/kg: 2/3M, 1/3F sacrificed CPT-11 (30 mg/kg): 1/3M sacrificed CO: emesis at 30 and 50 mg/kg BAX2398 and 30 mg/kg CPT-11. Transitory, occasional skin reddening seen at 15 and 30 mg/kg BAX2398 BW & FC: Reversible reductions in bodyweight with both drugs and reversible reduced food consumption in all dogs except those dosed with BAX2398 at 50 mg/kg CP: dose related reductions in WBC and platelets on day 7 reversed by day 14 TK: No gender differences Irinotecan C_{max} & AUC values 10 & 20-fold higher in BAX2398 treated dogs at the same dose. Drug half-life 3 times longer in BAX2398 dosed dogs at the same dose. Metabolite SN-38 AUC values greater and half-life twice as long in BAX2398 treated dogs at the same dose. OW: no adverse changes or differences between BAX2398 & CPT-11 GN: Sacrificed animals-discoloration of gastrointestinal tract with both drugs and lymph node and kidney discoloration and small spleen and small thymus in BAX2398 dosed dogs Terminal kill: thymic atrophy and thickening of stomach wall seen only in BAX2398 treated dogs. MTD for BAX2398 is <30 mg/kg.	PEP02-NC-G-Tx-007

2.6.7.5 単回投与毒性試験（続き）

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosage (mg/kg)	Gender and No. per Group	Observed Maximum Nonlethal Dosage (mg/kg)	Approximate Lethal Dosage (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Dogs, Beagle	IV infusion; CPT-11 only	CPT-11: Sequential doses of 30, 40 or 60	1M 1F	CPT-11: 60 (M), 30 (F)	CPT-11: >60 (M), 40 (F)	CO (BW & FC): loss of appetence, significant decrease in body weights, emesis, diarrhea, yellow and brown mucoid material in feces, MTD of the female: 30 mg/kg following two administrations of CPT-11 at dose levels of 30 and 40 mg/kg (days 1 and 5, respectively). MTD of the male: 40 mg/kg following three administrations of CPT-11 at dose levels of 30, 40 and 60 mg/kg (days 1, 5 and 15, respectively).	PEP02-NC-N-Tx-001

CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), F: female, IV: intravenous, M: male
CO: clinical observations, BW: body weight, FC: food consumption, CP: clinical pharmacology, GN: gross necropsy, TK: toxicokinetics, WBC: white blood cell count, OW: organ weight, GN: gross necropsy, MTD: maximum tolerated dose

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当せず

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラット 4 週間投与試験

A 4-week Toxicity and Toxicokinetics Study (With a 2-week Recovery/Observation Period) of BAX2398 Administered by Intravenous Infusion to Sprague Dawley Rats				
Species/Strain:	Rat/ Sprague Dawley	Duration of Dosing:	Once weekly for 4 weeks	Study No. PEP02-NC-G-Tx-006
Initial Age:	10 to 14 weeks	Duration of Post dose:	2 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2.1
Date of First Dose:	[redacted], 20[redacted]	Method of Administration:	90-minute intravenous infusion	
		Vehicle/Formulation:	Liposomal Phospholipids	GLP Compliance: Yes
Special Features:		One reference group treated with parent drug CPT-11. Toxicokinetic evaluation performed separately in PEP02-NC-G-Tx-006TK		
No Observed Adverse Effect Level:		Not defined		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		65 (Low Dose)		130 (Mid Dose)		260 (High Dose)		130 (Reference)	
Number of Animals	M: 15	F: 15	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund[b]	0/15	0/15	0/10	0/10	0/10	0/10	0/15	1/15	1/15	1/15
Body Weight (%) (Day 29)	389 g	263 g	-7.2	-4.9	-12.3[a]	-8.0[a]	-18.3[a]	-13.7[a]	-4.1	-1.1
Food Consumption (%) (Day 22-28)	180 g	141 g	-13.3[a]	-9.9	-25.0 [a]	-20.6 [a]	-35.0 [a]	-25.5 [a]	-3.9	2.8
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	Tremors Soft/loose feces	Tremors Soft/loose feces
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.1 ラット 4 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		65 (Low Dose)		130 (Mid Dose)		260 (High Dose)		130 (Reference)	
Number of Animals	M: 15	F: 15	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Hematology (Day 29)										
Number examined	10	10	10	9	10	10	10	9	10	9
Platelets ($x10^9$/L)	1059	1197	1375[a]	1354	1579[a]	1550	1850[a]	1910[a]	1274	1398
Red blood cell counts ($x10^{12}$/L)	8.02	7.75	7.58	7.64	7.42	7.20	6.67[a]	6.67[a]	7.40	6.86[a]
Hemoglobin (g/L)	148	145	142	145	140	134[a]	126[a]	125[a]	140	135[a]
White blood cell counts ($x10^9$/L)	15.50	14.11	12.44	11.54	11.83	11.25	11.51	10.53	13.62	11.01
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry (Day 29)										
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	9	10	9
Phosphorus (mmol/L)	2.66	2.25	2.94	2.64[a]	3.06[a]	2.57[a]	3.16[a]	2.51[a]	2.96[a]	2.59[a]
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%) (Day 29)										
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	9	10	9
Thymus	0.303 g	0.223 g	-39	-35[a]	-72[a]	-53[a]	-80[a]	-76[a]	-12	+5
Liver	11.296 g	7.819 g	-21[a]	-16[a]	-24[a]	-15[a]	-23[a]	-12[a]	-17[a]	-5
Spleen	1.183 g	0.812 g	-26[a]	-33[a]	-41[a]	-20	-33[a]	-24[a]	-6	+7
Prostate	1.079 g	NA	-2	NA	-21	NA	-41[a]	NA	-10	NA

2.6.7.7.1 ラット 4 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		65 (Low Dose)		130 (Mid Dose)		260 (High Dose)		130 (Reference)	
Number of Animals	M: 15	F: 15	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Gross Pathology (Day 29)										
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	9	10	9
Thymus: small	0	0	2	3	8	4	9	9	0	0
Prostate: small	0	NA	0	NA	1	NA	3	NA	0	NA
Seminal vesicles: small	0	NA	0	NA	1	NA	3	NA	0	NA
Spleen: pale area	1	0	0	1	1	3	4	3	1	0

-: no noteworthy findings, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), F: female, GLP: Good Laboratory Practice, M: male, NA: not applicable

[a] $p \leq 0.05$ compared with control

[b] Found dead animals did not show any clinical changes prior to death. Histopathological evaluation showed severe inflammation at the infusion site, lymphoid hyperplasia in lymph nodes, increased extramedullary hematopoiesis in the spleen, and lymphoid atrophy in the two 130 mg/kg rats. Bacterial infection was deemed to be the cause of death in those 130 mg/kg rats. The third decedent treated at 260 mg/kg showed neither unique gross findings, nor macroscopic changes.

2.6.7.7.2 ラット 18 週間投与試験

BAX2398: A 6-cycle (3 weeks per cycle) Infusion Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats Followed By a 6-Week Recovery Period				
Species/Strain:	Rat/ Sprague Dawley	Duration of Dosing:	6 cycles (each cycle comprised of a single dose followed by a 3-week observation period) for18 weeks	Study No. PEP02-NC-G-Tx-010
Initial Age:	8 to 9 weeks	Duration of Post dose:	6 weeks	Location in CTD 4.2.3.2.3
Date of First Dose:	[redacted], 20[redacted]	Method of Administration:	90-minute intravenous infusion	
		Vehicle/Formulation:	Liposomal Phospholipids	GLP Compliance: Yes[c]
Special Features:		One reference group treated with parent drug CPT-11.		
No Observed Adverse Effect Level:		30 mg/kg		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		30 (Low Dose)		75 (Mid Dose)		190 (High Dose)		75 (Reference)	
Number of Animals	F: 30	M: 30	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 30	M: 30	F: 30	M: 30
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund[b]	2/30	1/30	0/20	1/20	0/20	0/20	0/30	1/30	0/30	0/30
Body Weight (g) Number examined – Day 127	 18 337	 20 596	 20 309	 19 566	 20 290[a]	 20 505[a]	 20 279[a]	 20 492[a]	 20 337	 20 593
Food Consumption (g) Number examined – Day 120-126	 17 135	 19 181	 20 114[a]	 19 162[a]	 19 113[a]	 20 157[a]	 20 117[a]	 20 159[a]	 20 138	 20 189
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	Broken/ misaligned teeth	Broken/ misaligned teeth
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.2 ラット 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		30 (Low Dose)		75 (Mid Dose)		190 (High Dose)		75 (Reference)	
Number of Animals	F: 30	M: 30	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 30	M: 30	F: 30	M: 30
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (% Body Weight) (Day 127)										
Number examined	18	20	20	19	20	20	20	20	20	20
Spleen	0.1857	0.1680	0.1838	0.1753	0.1948	0.1800	0.1933	0.2196[a]	0.1764	0.1643
Histopathology Findings (Main)										
Number examined	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
Abdominal Cavity										
Nodule: inflammation: interstitial chronic, multifocal, fatty tissue	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Adrenals										
Accumulation: histiocyte/macrophage, foamy, sinusoidal	20	18	2	0	0	0	20	20	0	0
Degeneration/necrosis: cortical	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Degeneration/necrosis: cortical, with RBC	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Degeneration: cortical	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Erythrocytosis/hemorrhage: sinusoidal	8	0	2	1	0	0	9	0	5	0
Vacuolar change: cortical, with RBC	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
Vacuolar change: cortical, with fibrin and RBC	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Total	30	18	6	1	2	0	34	20	5	0
Brain										
Hemorrhage: interstitial, focal, forebrain	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Hemorrhage: interstitial, multifocal, hindbrain	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Total	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0

2.6.7.7.2 ラット 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		30 (Low Dose)		75 (Mid Dose)		190 (High Dose)		75 (Reference)	
Number of Animals	F: 30	M: 30	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 30	M: 30	F: 30	M: 30
Cecum										
Hemorrhage: mucosal	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Total	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Colon										
Dilatation	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Diaphragm										
Cyst, single	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Ears										
Infiltration: interstitial, histocytic	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Epididymides										
Aspermia	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Total	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Femur &Marrow										
Hypocellularity: hematopoietic	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
Fibula										
Fracture/crack: bone	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.7.2 ラット 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		30 (Low Dose)		75 (Mid Dose)		190 (High Dose)		75 (Reference)	
Number of Animals	F: 30	M: 30	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 30	M: 30	F: 30	M: 30
Heart										
Accumulation: histiocyte/macrophage, foamy, myocardial	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0
Degeneration/necrosis: myocardial, multifocal with hemorrhage and histiocytic infiltration	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	1	0	0	0	0	6	0	0	0
Kidneys										
Basophilia: tubular, cortical	0	1	0	1	0	0	0	1	2	2
Cyst, multiple, cortical and medullary	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Deposit: proteinaceous, cortical	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Deposits: proteinaceous cortical and medullary	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Deposit: proteinaceous, medullary	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Dilatation: pelvis	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Dilatation: tubular, cortical	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Infiltration: interstitial, pelvis, neutrophilic	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Inflammation: interstitial	0	0	0	0	1	0	3	0	0	1
Total	0	1	0	1	2	0	4	2	6	5
Liver (2 lobes)										
Adenocarcinoma: parenchymal	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cyst, single, multifocal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Degeneration/necrosis: parenchymal, with hemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Degeneration/necrosis: parenchymal, with RBC	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0
Necrosis: parenchymal, with RBC	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0
Swollen sinusoidal lining cells, foamy	8	8	0	0	0	0	6	5	0	0
Total	9	8	0	1	3	0	11	6	0	0

2.6.7.7.2 ラット 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		30 (Low Dose)		75 (Mid Dose)		190 (High Dose)		75 (Reference)	
Number of Animals	F: 30	M: 30	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 30	M: 30	F: 30	M: 30
Lungs (with Bronchi)										
Inflammation: bronchioloalveolar, chronic, diffuse, histiocytic	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Lymph node, Mediastinal										
Erythrocytosis/hemorrhage: sinusal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Lymph node, Mandibular										
Accumulation: histiocyte/macrophage, sinusal	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Erythrocytosis/hemorrhage: sinusal	2	0	0	0	0	1	1	1	0	0
Erythrocytosis/hemorrhage: sinusal, capsular	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
Hyperplasia: lymphoid	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Total	3	0	0	1	0	1	3	2	1	0
Lymph node, Mesenteric										
Accumulation: histiocyte/macrophage, foamy, sinusal	4	0	0	0	0	0	16	11	0	0
Accumulation: histiocyte/macrophage, sinusal	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Erythrocytosis/hemorrhage: sinusal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Total	4	0	0	0	0	0	17	12	0	0
Lymph node, Renal										
Accumulation: histiocyte/macrophage, foamy, sinusal	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Erythrocytosis/hemorrhage: sinusal	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0
Total	0	0	0	1	0	0	2	1	0	0

2.6.7.7.2 ラット 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		30 (Low Dose)		75 (Mid Dose)		190 (High Dose)		75 (Reference)	
Number of Animals	F: 30	M: 30	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 30	M: 30	F: 30	M: 30
Ovaries										
Accumulation: histiocyte/macrophage, foamy, ovarian	20	NA	0	NA	0	NA	19	NA	0	NA
Total	20	NA	0	NA	0	NA	19	NA	0	NA
Pancreas										
Accumulation: histiocyte/macrophage, foamy, Islet of Langerhans	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Degeneration: acinar	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Hemorrhage, interstitial	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Pigment: intrahistiocytic, cytoplasmic, light brown/pale tan	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	3	0	0	0	0	0	1	0	1
Parathyroid										
Atrophy: parenchymal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Pituitary										
Congestion: sinusoidal	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0
Cyst, multiple	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2
Cyst	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Degeneration: parenchymal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Erythrocytosis/hemorrhage: sinusoidal	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Total	1	2	1	0	1	0	3	0	1	3
Prostate										
Inflammation: interstitial, chronic	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Total	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1

2.6.7.7.2 ラット 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		30 (Low Dose)		75 (Mid Dose)		190 (High Dose)		75 (Reference)	
Number of Animals	F: 30	M: 30	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 30	M: 30	F: 30	M: 30
Small Intestine, Jejunum										
Mineralization: lymph nodule	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Total	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Skin & Subcutis (Inguinal)										
Adenocarcinoma, neck	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Spleen										
Accumulation: histiocyte/macrophage, foamy, red pulp, with light brown/pale tan pigmentation	5	13	0	0	0	0	0	7	0	0
Accumulation: histiocyte/macrophage, foamy, red and white pulps, with light brown/pale tan pigmentation	11	3	0	0	0	0	16	7	0	0
Accumulation: histiocyte/macrophage, foamy, red pulp, with brownish pigmentation	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Hematopoiesis: extramedullary, increased	0	0	1	1	1	3	5	11	1	0
Accumulation: histiocyte/macrophage foamy, sinusoidal, red and white pulps, with light brown/pale tan pigmentation	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	18	17	1	1	1	3	21	25	1	0
Sternum & Marrow										
Hypocellularity: hematopoietic	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Stomach										
Hemorrhage: mucosal	0	2	0	0	0	0	0	1	0	1
Hemorrhage: interstitial	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	3	0	0	0	0	0	1	0	1

2.6.7.7.2 ラット 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		30 (Low Dose)		75 (Mid Dose)		190 (High Dose)		75 (Reference)	
Number of Animals	F: 30	M: 30	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 30	M: 30	F: 30	M: 30
Testes										
Atrophy: seminiferous tubules, germinal epithelium	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Degeneration/necrosis: seminiferous tubules, germinal epithelium	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Mineralization: seminiferous tubules, germinal epithelium	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Total	NA	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA	0
Thymus										
Hemorrhage: interstitial	3	14	0	3	0	1	11	11	8	12
Hypocellularity/atrophy: lymphoid	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Total	3	14	0	3	0	2	12	11	8	12
Thyroids										
Hypocellularity/atrophy: glandular	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Tibia										
Fracture/crack: bone	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Urinary bladder										
Accumulation: histiocytic/macrophage, foamy, mucosal	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Dilatation	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Hemorrhage: interstitial	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0

2.6.7.7.2 ラット 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		30 (Low Dose)		75 (Mid Dose)		190 (High Dose)		75 (Reference)	
Number of Animals	F: 30	M: 30	F: 20	M: 20	F: 20	M: 20	F: 30	M: 30	F: 30	M: 30
Uterus										
Accumulation: histiocyte/macrophage, foamy, endometrial	5	NA	0	NA	0	NA	6	NA	0	NA
Accumulation: histiocyte/macrophage, foamy, endometrial and myometrial	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Cyst, single	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Hemorrhage: interstitial	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
Total	6	NA	0	NA	0	NA	7	NA	1	NA

-: no noteworthy findings, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), F: female, GLP: Good Laboratory Practice, M: male NA: not applicable

[a] $p \leq 0.05$ compared with control

[b] None of these incidences were considered to be related to administration of the test article

[c] Partially No. Parts of the study (Dosing formulation analysis, Bioanalysis and 'Toxicokinetics) were performed at a subcontractor in Taiwan. Chinese Taipei is neither a provisional nor a full adherent to mutual acceptance of data (MAD), but [redacted] meets GLP compliance requirements

2.6.7.7.3 ビーグル犬 4 週間投与試験

BAX2398: A 4-Week Intravenous Infusion Toxicity Study in Beagle Dogs				
Species/Strain:	Dog, Beagle	Duration of Dosing:	Once weekly for 4 weeks	Study No. PEP02-NC-G-Tx-009
Initial Age:	6 to 7 months	Duration of Post dose:	14 days	Location in CTD: 4.2.3.2.4
Date of First Dose:	[redacted], 20[redacted]	Method of Administration:	90 minute intravenous infusion	
		Vehicle/Formulation:	Liposomal Phospholipids	GLP Compliance: Yes
Special Features:		One reference group treated with parent drug CPT-11.		
No Observed Adverse Effect Level:		8 mg/kg		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		4 (Low Dose)		8 (Mid Dose)		16 (High Dose)		16 (Reference)	
Number of Animals	M: 5	F:5	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	0/5	0/5	0/3	0/3	0/3	0/3	2/5[b]	0/5	0/5	0/5
Body Weight[a] (%) (Day 28)	8.2 kg	7.0 kg	-3.7	2.9	-2.4	-4.3	-13.4	-2.9	-7.3	-4.3
Food Consumption[a] (%) (Day 28)	293 g	295 g	-6.1	-13.6	-10.6	0.7	3.8	-4.4	10.9	-9.2
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.3 ビーグル犬 4 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		4 (Low Dose)		8 (Mid Dose)		16 (High Dose)		16 (Reference)	
Number of Animals	M: 5	F:5	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Hematology										
Neutrophils ($x10^9$/L) (Day 15)	-	8.28	-	8.33	-	4.68	-	2.56[c]	-	5.84
(Day 29)	-	5.16	-	5.00	-	5.39	-	2.68	-	5.04
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights[a] (%) (Day 29)										
Number examined	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3
Prostate	1.65 g	NA	-10.3	NA	+37.6	NA	-21.8	NA	-35.8	NA
Testes	8.15 g	NA	+2.2	NA	+44.0	NA	-18.9	NA	-18.0	NA
Thymus	4.53 g	5.01 g	-23.4	+21.2	-38.6	-12.6	-47.2	-42.7	-22.5	-28.3
Ovaries	NA	0.660 g	NA	-20.2	NA	-3.9	NA	-15.3	NA	-8.3
Uterus	NA	1.65 g	NA	+45.5	NA	+18.8	NA	-34.5	NA	-7.9
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology (Day 29)										
Number examined	3	3	3	3	3	3	2	3	3	3
Small intestine, Ilium; Peyers patch atrophy										
minimal	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0
mild	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0
Spleen; extramedullary hematopoesis										
minimal	0	0	0	0	0	0	1	2	0	1
mild	0	0	0	1	0	0	1	1	3	1

2.6.7.7.3 ビーグル犬 4 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		4 (Low Dose)		8 (Mid Dose)		16 (High Dose)		16 (Reference)	
Number of Animals	M: 5	F:5	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Post dose Evaluation: Number Evaluated (Day 43)	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2
Liver; extramedullary hematopoesis										
minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	1	1	0	0
mild	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	0
Spleen; extramedullary hematopoesis										
minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0	0	1
mild	0	0	NA	NA	NA	NA	1	1	0	1
moderate	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	0

- no noteworthy findings, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), F: female, GLP: Good Laboratory Practice, M: male NA: not applicable

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

[b] Two high dose males treated with BAX2398 at 16 mg/kg were pre-terminally euthanized on Day 4 or 14. *Post mortem* findings included gastrointestinal hemorrhage, mucosal atrophy, epithelial necrosis (intestines), single cell necrosis (stomach) and bone marrow hypocellularity. The cause of moribund condition was overwhelming bacterial infection and intussusceptions

[c] $p \leq 0.05$ compared with control

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験

A 6-Cycle (3 Weeks per Cycle) Infusion Toxicity Study in Beagle Dogs Followed by a 6-Week Recovery Period				
Species/Strain:	Dog/ Beagle	Duration of Dosing:	6 cycles (each cycle comprised of a single dose followed by a 3-week observation period) for 18 weeks	Study No. PEP02-NC-G-Tx-011
Initial Age:	7 to 8 months	Duration of Post dose:	6 weeks	Location in CTD 4.2.3.2.5
Date of First Dose:	[redacted], 20[redacted]	Method of Administration:	90-minute intravenous infusion	
		Vehicle/Formulation:	Liposomal Phospholipids	GLP Compliance: Yes[f]
Special Features:		One reference group treated with parent drug CPT-11.		
No Observed Adverse Effect Level:		9 mg/kg		

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Noteworthy Findings														
Died or Sacrificed Moribund	0/6	0/6	0/6	0/6	1/7	0/6	4/4	4/4	4/4	4/4	0/6	1/6	1/6	0/6
Mean body weight gain (kg) day 0-126	0.8	0.9	1.2	1.3	0.9	0.7	NA	NA	NA	NA	1.0	0.9	0.8	1.2

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	decreased appetite and activity, severe weight loss, hunched posture, slow capillary refill time, slow skin turgor, labored respiration, soft dark feces and recum-bency	decreased appetite and activity, severe weight loss, hunched posture, slow capillary refill time, slow skin turgor, labored respiration, soft dark feces and recum-bency	decreased appetite and activity, severe weight loss, hunched posture, slow capillary refill time, slow skin turgor, labored respiration, soft dark feces and recum-bency	decreased appetite and activity, severe weight loss, hunched posture, slow capillary refill time, slow skin turgor, labored respiration, soft dark feces and recum-bency	soft dark feces, thin body condition, slow skin turgor	soft dark feces, decreased activity, thin body condition, slow skin turgor and slow capillary refill time	soft dark feces, decreased activity, thin body condition, slow skin turgor and slow capillary refill time	soft dark feces, decreased activity, thin body condition, slow skin turgor and slow capillary refill time
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiogram	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology – Day 169	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Relative Organ Weights (% BW) (Day 127)														
Number examined	4	4	4	4	4	4	0	0	0	0	4	4	4	4
Thyroid & Parathyroid	0.008	0.008	0.007	0.008	0.008	0.009	NA	NA	NA	NA	0.007	0.007	0.005 [a]	0.007
Heart	0.930	0.805	0.865	0.790	0.915	1.036[b]	NA	NA	NA	NA	0.890	0.901	0.936	0.864
Lungs	0.968	0.853	0.945	0.885	1.022	1.057	NA	NA	NA	NA	1.035	1.112 [a]	1.056	0.986
Histopathology Findings														
Main group [c]														
Adrenals														
Hemorrhage: cortical	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
Infiltrate: neutrophil	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
Vacuolation: cortical	0	0	0	0	0	0	2	0	2	1	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	2	1	3	3	0	0	0	0
Cecum														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	1	2	1	0	0	0	1	0	0	0
Congestion/ hemorrhage: mucosal	0	0	0	0	0	0	2	1	3	1	0	0	0	0
Dilatation: cryptal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Necrosis: epithelial	0	0	0	0	0	0	2	1	2	1	0	0	0	0
Regeneration: epithelial	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	1	2	5	4	5	2	1	0	0	0

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Colon														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	0	0	2	1	2	0	1	0	0	0
Congestion/ hemorrhage: mucosal	0	0	0	0	0	0	2	1	2	1	0	0	0	0
Dilatation: cryptal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Necrosis: epithelial	0	0	0	0	0	0	2	1	2	1	0	0	0	0
Regeneration: epithelial	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	7	5	6	2	1	0	0	0
Epididymides														
Necrosis: single cell	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA	3	NA	0	NA	0	NA
Oligo/aspermia	0	NA	1	NA	0	NA	1	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Oligo/aspermia: cellular debris	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA	3	NA	0	NA	1	NA
Total	0	NA	1	NA	0	NA	5	NA	7	NA	0	NA	1	NA
Eyes														
Infiltrate: mixed cell	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Femur & Marrow														
Hypocellularity: pancellular	0	0	0	0	0	0	2	2	3	1	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	2	2	3	1	0	0	0	0

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Infusion Site														
Hemorrhage: perivascular	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	1	1	0	0
Inflammation: perivascular	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
Total	0	1	0	0	0	0	0	0	3	1	1	3	0	0
Kidneys														
Basophilia: tubular	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Dilatation: tubular	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Liver (2 lobes)														
Extramedullary hematopoiesis	0	0	0	0	2	1	0	1	1	0	4	3	2	2
Lipidosis: capsular	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Total	0	0	0	0	2	1	0	1	1	0	4	4	2	2
Lungs (with Bronchi, 2 lobes)														
Fibrosis: pleural	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Granuloma	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Granuloma: foreign body	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Hemorrhage: alveolar	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Infiltrate: mixed cells	0	0	0	0	2	1	0	0	1	0	0	1	0	0
Inflammation: alveolar	0	0	1	0	3	1	1	0	0	0	3	1	2	0
Total	0	0	2	0	7	3	1	0	1	0	3	3	2	2

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Lymph node, Mediastinal														
Hemorrhage/ erythrocytosis: sinusal	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Total	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Lymph node, Mandibular														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	1	1	2	2	3	1	1	2	1	0
Histiocytosis: sinusal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Infiltrate: eosinophil	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Total	0	0	0	0	1	1	2	2	3	2	1	2	1	1
Lymph node, Mesenteric														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	1	2	2	2	2	1	0	0	0	0
Hemorrhage/ erythrocytosis: sinusal	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Histiocytosis: sinusal	0	0	0	0	0	1	2	1	1	1	0	0	1	0
Hyperplasia: lymphoid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Total	0	0	1	0	1	3	4	3	3	2	0	1	1	0
Mammary Gland (Inguinal)														
Hyperplasia: acinar	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Ovaries														
Reduced follicles	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA	2	NA	0	NA	0
Total	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA	2	NA	0	NA	0
Pancreas														
Atrophy: acinar	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0
Necrosis: single cell	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	2	1	1	2	0	0	0	0
Pituitary														
Cyst	0	0	1	3	0	0	0	0	0	1	0	1	1	2
Total	0	0	1	3	0	0	0	0	0	1	0	1	1	2
Prostate														
Atrophy: acinar	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA	3	NA	0	NA	0	NA
Immature	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
Inflammation	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Total	1	NA	0	NA	0	NA	2	NA	4	NA	0	NA	1	NA
Rectum														
Congestion/ hemorrhage: mucosal	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0
Necrosis: epithelial	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	2	0	4	0	0	0	0	0
Salivary Gland (Mandibular)														
Atrophy: acinar	0	0	0	0	0	0	2	1	2	1	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	2	1	2	1	0	0	0	0

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Skin & Subcutis (Inguinal)														
Hyperplasia: acinar	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Inflammation: perivascular	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Total	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Small Intestine, Duodenum														
Atrophy: mucosal	0	0	0	0	0	0	2	1	1	1	0	0	0	0
Congestion/ hemorrhage: mucosal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Cyst	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Necrosis: epithelial	0	0	0	0	0	0	2	1	3	1	0	0	0	0
Regeneration: epithelial	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	5	4	6	3	0	0	0	0
Small Intestine, Ileum														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	1	2	1	1	3	1	2	3	1	0
Atrophy: mucosal	0	0	0	0	1	0	2	1	3	1	0	0	0	1
Congestion/ hemorrhage: mucosal	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
Necrosis: epithelial	0	0	0	0	0	0	2	1	3	1	0	0	0	0
Regeneration: epithelial	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	2	2	7	5	11	4	2	3	1	1

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Small Intestine, Jejunum														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	1	1	0	1	2	1	1	3	0	1
Atrophy: mucosal	0	0	0	0	0	0	2	1	2	1	0	0	0	1
Congestion/ hemorrhage: mucosal	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0
Necrosis: epithelial	0	0	0	0	0	0	2	1	3	1	0	0	0	0
Regeneration: epithelial	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	1	1	7	5	8	4	1	3	0	2
Spleen														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	0	2	2	2	3	1	1	2	0	1
Extramedullary hematopoiesis	0	0	0	0	1	3	1	1	1	1	4	4	2	3
Fibrosis: capsular	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Histiocytosis: foamy cell	4	4	4	4	4	3	3	2	0	1	4	4	0	0
Pigment: brown/green	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Plaque: siderotic	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	4	5	4	4	5	9	7	6	4	3	9	10	2	5
Sternum & Marrow														
Hypocellularity: pancellular	0	0	0	0	0	0	2	2	3	1	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	2	2	3	1	0	0	0	0

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Stomach														
Atrophy: mucosal, fundus	2	0	0	0	1	0	1	1	2	0	0	1	0	1
Congestion/ hemorrhage: mucosal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Inflammation: mucosal	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	4	0	0	0	1	0	1	1	3	0	0	1	0	1
Testes														
Degeneration/ necrosis: seminiferous epithelium	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA	4	NA	0	NA	1	NA
Degeneration/ necrosis: seminiferous tubules	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
Hypoplasia: tubular	1	NA	1	NA	2	NA	0	NA	1	NA	0	NA	2	NA
Immature	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	3	NA	0	NA	0	NA
Total	1	NA	2	NA	2	NA	3	NA	8	NA	0	NA	3	NA
Thymus														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	0	0	2	2	3	1	0	0	0	0
Congestion /hemorrhage	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
Involution: lymphoid	1	0	3	0	1	1	0	1	0	2	4	0	1	0
Total	1	0	3	1	1	1	3	4	4	3	4	0	1	0
Trachea														
Inflammation	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Urinary bladder														
Inflammation	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Uterus														
Atrophy: transmural	NA	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA	1	NA	1	NA	0
Inflammation: endometrial	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Total	NA	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA	1	NA	2	NA	0
Recovery group [d]														
Adrenals														
Hemorrhage: cortical	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Total	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Brain														
Infiltrate: mononuclear cell	0	0	0	0	1	0	NA	NA	NA	NA	0	0	0	0
Total	0	0	0	0	1	0	NA	NA	NA	NA	0	0	0	0
Cecum														
Congestion/ hemorrhage: mucosal	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Necrosis: epithelial	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Total	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	2	2	0

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Colon														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Congestion/ hemorrhage: mucosal	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Necrosis: epithelial	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Total	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	3	3	0
Epididymides														
Oligo/aspermia	0	NA	1	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA	0	NA	1	NA
Total	0	NA	1	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA	0	NA	1	NA
Femur & Marrow														
Hypocellularity: pancellular	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Total	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Infusion Site														
Inflammation: perivascular	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1	0
Total	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1	0
Liver (2 lobes)														
Extramedullary hematopoiesis	0	0	0	0	1	1	NA	NA	NA	NA	1	0	0	1
Total	0	0	0	0	1	1	NA	NA	NA	NA	1	0	0	1

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Lungs (with Bronchi, 2 lobes) Infiltrate: mixed cells Inflammation: alveolar Total	 0 2 2	 0 1 1	 1 1 2	 0 2 2	 0 0 0	 0 1 1	 NA NA NA	 NA NA NA	 NA NA NA	 NA NA NA	 0 0 0	 0 0 0	 0 0 0	 0 0 0
Lymph node, Mediastinal Hemorrhage/ erythrocytosis: sinusal Total	 0 0	 0 0	 1 1	 0 0	 1 1	 0 0	 NA NA	 NA NA	 NA NA	 NA NA	 0 0	 0 0	 0 0	 0 0
Lymph node, Mandibular Atrophy/necrosis: lymphoid Histiocytosis: sinusal Infiltrate: eosinophil Total	 0 0 0 0	 0 0 0 0	 0 0 0 0	 0 0 0 0	 0 0 0 0	 0 0 0 0	 NA NA NA NA	 NA NA NA NA	 NA NA NA NA	 NA NA NA NA	 1 1 1 3	 1 1 0 2	 1 1 0 2	 0 0 0 0

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Lymph node, Mesenteric														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Hemorrhage/ erythrocytosis: sinusal	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	0	1
Histiocytosis: sinusal	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Hyperplasia: lymphoid	0	0	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA	0	0	0	0
Megakaryocytosis: sinusal	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	0	1
Total	0	0	0	0	0	1	NA	NA	NA	NA	0	2	2	2
Pituitary														
Cyst	0	1	1	1	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	1
Total	0	1	1	1	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	1
Prostate														
Inflammation	0	NA	0	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA	0	NA
Total	0	NA	0	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA	0	NA
Salivary Gland (Mandibular)														
Atrophy: acinar	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	0

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Small Intestine, Duodenum														
Atrophy: mucosal	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	0
Congestion/ hemorrhage: mucosal	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Necrosis: epithelial	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Regeneration: epithelial	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	4	2	0
Small Intestine, Ileum														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Atrophy: mucosal	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Congestion/ hemorrhage: mucosal	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Necrosis: epithelial	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Regeneration: epithelial	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Total	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	5	5	0
Small Intestine, Jejunum														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1	0
Atrophy: mucosal	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Congestion/ hemorrhage: mucosal	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Necrosis: epithelial	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Total	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	3	4	0

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Spleen														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	2	1	0
Extramedullary hematopoiesis	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	1
Histiocytosis: foamy cell	1	1	2	2	2	1	NA	NA	NA	NA	2	2	1	2
Total	1	1	2	2	2	1	NA	NA	NA	NA	2	5	2	3
Sternum & Marrow														
Hypocellularity: pancellular	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Total	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Stomach														
Atrophy: mucosal	0	1	1	1	1	1	NA	NA	NA	NA	0	0	1	1
Congestion/hemorrhage: mucosal	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	0
Total	0	1	1	1	1	1	NA	NA	NA	NA	0	1	1	1
Testes														
Degeneration/ necrosis: seminiferous epithelium	0	NA	1	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA	0	NA	1	NA
Granuloma: sperm	0	NA	0	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	0	NA	0	NA
Hypoplasia: tubular	2	NA	0	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	0	NA	0	NA
Sperm stasis: tubular	0	NA	1	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA	0	NA	0	NA
Total	2	NA	2	NA	2	NA	NA	NA	NA	NA	0	NA	1	NA

2.6.7.7.4 ビーグル犬 18 週間投与試験（続き）

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		9 (Low Dose)		15 (Mid Dose)[g]		36 (High Dose)[e]		36 (Reference)[e]		21 (Mid-High Dose)[e]		21 (Reference)[e]	
Number of Animals [c,d]	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6	F: 6	M: 6	F: 6
Thymus														
Atrophy/necrosis: lymphoid	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	0
Congestion/ hemorrhage	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	0
Involution: lymphoid	2	1	2	1	2	1	NA	NA	NA	NA	1	1	0	0
Total	2	1	2	1	2	1	NA	NA	NA	NA	1	3	1	0
Thyroid														
Infiltrate: mononuclear cell	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	0
Total	0	0	0	0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	0

-: no noteworthy findings, CPT-11: irinotecan hydrochloride hydrate (JAN), F: female, GLP: Good Laboratory Practice, M: male, NA: not applicable

[a] p≤0.05 compared with control

[b] p≤0.01 compared with control

[c] For histopathology, n=4/sex/group were evaluated except for n=3/sex for the high dose in the main groups;

[d] In the recovery group, n=2/sex/group were evaluated except for n=0 in the 36 mg/kg (high dose and reference) groups; n=2 M and n=1 F in the 21 mg/kg BAX2398 dose group; n=1 M and n=2 F in the 21 mg/kg CPT-11 dose group.

[e] Due to an inadvertent but systematic error that occurred throughout the conduct of the study, the dogs received 50% higher doses than the original target doses. Following the deaths and excessive toxicity observed in the mid- and high-dose groups, an additional 2 dose groups were assigned, with a mid-high dose group receiving 21 mg/kg of test article and a 21 mg/kg reference. The remaining animals in the high dose and reference (36 mg/kg) dose groups (a total of 6 dogs) were taken off study at Day 23 due to the excessive toxicity observed.

[f] Partially No. Parts of the study (Dosing formulation analysis, Bioanalysis and 'Toxicokinetics) were performed at a subcontractor in Taiwan. Chinese Taipei is neither a provisional nor a full adherent to mutual acceptance of data (MAD), but [redacted] meets GLP compliance requirements.

[g] One male animal died on Day 5. However, the cause of death could not be determined as, due to an oversight, no necropsy was performed. Therefore, the animal was replaced by a spare animal which received the full course of treatment.

2.6.7.8 遺伝毒性試験：*In Vitro*

該当せず

2.6.7.9 遺伝毒性試験：*In Vivo*

該当せず

2.6.7.10 がん原性試験

該当せず

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当せず

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び初期胚発生に関する試験

該当せず

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当せず

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

該当せず

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験

該当せず

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当せず

2.6.7.17 その他の毒性試験

Study Type	Species	Method of Administration	Concentration	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Blood compatibility	Healthy human blood	*In vitro*	BAX2398: 0.05, 0.25, 0.5 mg/mL Liposome vehicle solution Negative control: 0.9% NaCl Positive control: Hemolysis: 20% saponin Flocculation: 20% Intralipid®	n = 6	Hemolysis: Based on the tested parameters (hemoglobin and potassium red blood cell release, hematocrit and red blood cell count), no significant hemolysis effect (group mean hemolysis ≤1.2% for males and female s) was observed at all BAX2398 concentrations tested. Flocculation: Based on the turbidity index and visual flocculation assessment, there was a slight flocculation effect in sample spiked with the liposome vehicle and at BAX2398 final concentration of 0.25 and 0.5 mg/mL. However, the turbidity observed with BAX2398 at 0.25 and 0.5 mg/mL was still lower than their respective liposome vehicle group.	PEP02-NC-G-Tx-008