ダーブロック錠1mg
ダーブロック錠2mg
ダーブロック錠4mg
ダーブロック錠6mg

製造販売承認申請書添付資料

第２部（モジュール２）CTDの概要（サマリー）

2.6. 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6. 毒性試験の概要文
2.6.7. 毒性試験概要表

グラクソ・スミスクライン株式会社

May 16 2020 11:37:20

非臨床概要 毒性試験の目次

項目 - 頁

2.6.6. 毒性試験の概要文 ..... 2.6.6 - p.1
2.6.6.1. まとめ ..... 2.6.6 - p.1
2.6.6.2. 急性毒性試験 ..... 2.6.6 - p.7
2.6.6.3. 反復投与毒性試験 ..... 2.6.6 - p.12
2.6.6.4. 遺伝毒性試験 ..... 2.6.6 - p.38
2.6.6.5. がん原性試験 ..... 2.6.6 - p.48
2.6.6.6. 生殖発生毒性試験 ..... 2.6.6 - p.53
2.6.6.7. 局所刺激性試験 ..... 2.6.6 - p.65
2.6.6.8. その他の毒性試験 ..... 2.6.6 - p.71
2.6.6.9. 考察及び結論 ..... 2.6.6 - p.76
2.6.6.10. 参考文献 ..... 2.6.6 - p.87
APPENDIX 1 ADDITIONAL INFORMATION ..... 2.6.6 - p.89
APPENDIX 2 CARCINOGENICITY TABLES ..... 2.6.6 - p.92
2.6.7. 毒性試験概要表 ..... 2.6.7 - p.1
1. TOXICOLOGY: OVERVIEW FOR DAPRODUSTAT ..... 2.6.7 - p.1
2. TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES ..... 2.6.7 - p.15
3. TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA ..... 2.6.7 - p.20
4. TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE ..... 2.6.7 - p.22
5. SINGLE-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES ..... 2.6.7 - p.27
6. SINGLE-DOSE TOXICITY: PIVOTAL STUDIES ..... 2.6.7 - p.28
7. REPEAT-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES ..... 2.6.7 - p.34
8. REPEAT-DOSE TOXICITY: PIVOTAL STUDIES ..... 2.6.7 - p.40
9. GENOTOXICITY: IN VITRO ..... 2.6.7 - p.134
10. GENOTOXICITY: IN VIVO ..... 2.6.7 - p.180
11. CARCINOGENICITY ..... 2.6.7 - p.193
12. REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES ..... 2.6.7 - p.237
13. REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION (PIVOTAL) ..... 2.6.7 - p.239
14. REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: EFFECTS ON EMBRYOFETAL DEVELOPMENT (PIVOTAL) ..... 2.6.7 - p.245

15. REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY:
EFFECTS ON PRE- AND POST-NATAL DEVELOPMENT
INCLUDING MATERNAL FUNCTION (PIVOTAL) ..... 2.6.7 - p.252
16. STUDIES IN JUVENILE ANIMALS ..... 2.6.7 - p.259
17. LOCAL TOLERANCE: NONPIVOTAL STUDIES ..... 2.6.7 - p.260
18. LOCAL TOLERANCE: PIVOTAL STUDIES ..... 2.6.7 - p.261
19. OTHER TOXICITY STUDIES ..... 2.6.7 - p.264

2.6.6 及び 2.6.7 の略号等一覧

略語（略称）	内容
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
CKD	慢性腎臓病
Cmax	最高血漿中濃度
COX	シクロオキシゲナーゼ
EMS	Ethyl methanesulphonate
EPO	エリスロポエチン
GLDH	グルタミン酸デヒドロゲナーゼ
GLP	医薬品の安全性試験の実施に関する基準
Hct	ヘマトクリット
Hb	ヘモグロビン
IC50	50%阻害濃度
NZW ウサギ	New Zealand White ウサギ
MCH	平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MCV	平均赤血球容積
OECD	経済協力開発機構
PCE	多染性赤血球
RBC	赤血球数
RDW	赤血球粒度分布幅
rh	遺伝子組換えヒト
S9-mix	代謝活性化系
SD ラット	Sprague Dawley ラット
TK	トキシコキネティクス
TIBC	総鉄結合能
Tmax	最高血漿中濃度到達時間
UIBC	不飽和鉄結合能

2.6.6.　毒性試験の概要文

2.6.6.1.　まとめ

ダプロデュスタット及びその代謝物を用いた毒性試験を実施した。一般毒性については、ダプロデュスタットの経口投与による、マウス、ラット、イヌ及びサルの単回投与試験、マウス、ラット、イヌ及びサルのそれぞれ最長 13、26、13 及び 39 週間反復投与試験により評価した。また、マウスを用いて、ダプロデュスタットのヒト代謝物の最長 7 日間の静脈内及び皮下投与試験、並びに最長 13 週間のダプロデュスタット（経口投与）及び代謝物（皮下投与）併用投与試験を実施した。遺伝毒性については、ダプロデュスタット及びヒト代謝物を用いた in vitro 及び in vivo 試験、がん原性については、マウス（ヒト代謝物の皮下併用投与を含む）及びラットの 2 年間投与試験により評価した。生殖発生毒性については、ラット雄受胎能に関する試験、ラット雌受胎能及び初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギ胚・胎児発生に関する試験、ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（ヒト代謝物を皮下併用投与）により評価した。その他の試験として、溶血性試験、局所刺激性試験、並びにラットの 14 日間静脈内投与試験（胃に対する影響に関する探索試験）及び 14 日間経口投与試験（血漿グルコース濃度に関する探索試験）を実施した。

更に、経皮投与による開発を予定していたため（既に開発中止済み）、ウサギ及びミニブタの単回経皮投与試験、ウサギの 14 日間反復経皮投与試験、ミニブタの最長 13 週間反復経皮投与試験、マウスの皮膚感作性試験（局所リンパ節試験）、眼刺激性試験（牛摘出角膜の混濁及び透過性試験）等を実施した。これらの試験については概要を示したが、考察（2.6.6.9.）には含めなかった。

ダプロデュスタット及び代謝物を用いた主要毒性試験の一覧を表 2.6.6-1 に示す。

表 2.6.6-1　主要毒性試験一覧

Study Type and Duration	Route of Administration	Species	Compound Administered
Single Dose Toxicity			
- Minimum Lethal dose	Oral	Mouse and Rat	A
- Dermal Irritation	Dermal	Rabbit	A
Repeat Dose Toxicity			
- 14 days	Dermal	Rabbit	A
- 4 weeks	Oral	Rat, Dog,	A
- 13 weeks	Oral	Mouse, Rat, Dog, Monkey	A
- 13 weeks	Oral and Subcutaneous	Mouse	A and M2, M3, M13
- 13 weeks	Dermal	Minipig	A
- 26 weeks	Oral	Rat	A
- 39 weeks	Oral	Monkey	A
Genotoxicity			
- Ames Test	In vitro	*S. typhimurium* and *E. coli*	A, M2, M3*, M4, M5, M6, M13
- Mouse Lymphoma	In vitro	L5178Y (TK+/-) cells	A, M2, M3*, M13
- Micronucleus	Oral	Rat	A
- Chromosomal Aberration	Oral	Rat	A
	Intravenous	Mouse	M13
- Comet	Oral	Rat	A
	Intravenous	Mouse	M13
Carcinogenicity			
- up to 105 weeks	Oral and Subcutaneous	Mouse	A and M2, M3, M13
- up to 99 weeks	Oral	Rat	A
Reproductive and Developmental			
Male fertility	Oral	Rat	A
Female fertility/early embryonic development	Oral	Rat	A
Embryofetal development	Oral	Rat, Rabbit	A
Pre- and post-natal development	Oral and Subcutaneous	Rat	A and M2, M3, M13
Toxicokinetics in pregnant animals	Oral	Rabbit	A
Local Tolerance			
Eye irritation	In vitro	Human	A
Ocular irritation	In vitro	Bovine	A
Dermal irritation	In vitro	Human	A
Dermal irritation	In vitro	Human	A
Local lymph node assay	Dermal	Mouse	A
Other			
Hemolysis	In vitro	Human	A

Key:
A = Daprodustat (parent form); M2 = GSK2391220, M3 = GSK2506104, M4 = GSK2487818, M5 = GSK2506102, M6 = GSK2531398 and M13 = GSK2531401; NA = Not applicable; * = Both M3 enantionmers (GSK2506104 and GSK2531403) were tested.

腎性貧血を伴う慢性腎臓病（CKD）患者にダプロデュスタットの 5 mg を反復経口投与したときに、ダプロデュスタットの 3 種類の主な血中ヒト代謝物（M2、M3、M13）の曝露量はいずれも薬物関連物質の総曝露量の 10%超であったが、他の 3 種類の血中ヒト代謝物（M4、M5、M6）は 10%を下回ることが示唆された（2.7.2.3.3.3.、2.6.4.1.）。これらの 6 種類のヒト代謝物（M2、M3、M4、M5、M6、M13）は、他の代謝物と比較して血中で高濃度に検出された。このうち M2 にはキラル中心が存在しないが、他の 5 種類（M3、M4、M5、M6、M13）はキラル中心を有するため立体異性体が存在する。

ヒト尿試料のキラル分析において、6 種類のヒト代謝物のうち M2、M3、M4 及び M13 についてはそれぞれ 1 種類［GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）、GSK2487818（M4）、GSK2531401（M13）］が主に存在し、M5 及び M6 についてはそれぞれ 2 種類の立体異性体［GSK2531399（M5）、GSK2506102（M5）、GSK2531398（M6）、GSK2531407（M6）］が存在することが示唆されている（2.6.4.1.）。

これら 6 種類のヒト代謝物（関連する立体異性体を含む）について、薬理試験が実施されている（2.6.2.）。

ダプロデュスタットを CKD に伴う貧血治療薬として開発するため、毒性試験を実施した。毒性試験に用いる投与経路は臨床投与経路である経口投与を選択した。動物種及び系統は PK 及び代謝のヒトとの類似性に基づいて選択した。

初期の毒性試験では、ダプロデュスタットに対して薬理作用を示すこと、医薬品の非臨床評価に用いられる一般的な動物種であることから、ラット及びイヌを用いた。しかしながら、その後、開発中に特定されたヒト代謝物［M2（GSK2391220）、M3（GSK2506104 及び GSK2531403）、M4（GSK2487818）、M5（GSK2531399 及び GSK2506102）、M6（GSK2531398 及び GSK2531407）並びに M13（GSK2531401）］については、ラット及びイヌではほとんど生成されず、ウサギ及びサルで生成されることが明らかとなった。このため、非げっ歯類の長期反復投与試験では、イヌではなく、ヒトと代謝が類似していたサルを用いた。また、同様の理由で、代謝物の胚・胎児発生に関する影響評価には、主にウサギの試験結果を用いた。これらの毒性試験で用いた動物種・系統については、ヒトへの外挿性の検討に役立つ病理学的背景値及び医薬品への反応性に関するデータが豊富に存在している。

毒性試験には特に指定のない限り、臨床使用予定である親化合物（ダプロデュスタット）を使用し、用量及び濃度は親化合物換算量として示した。

主要な試験はいずれも経済協力開発機構（OECD）加盟国において医薬品の安全性試験の実施に関する基準（GLP）に従い実施した。また、用量設定試験も GLP の一般原則に従って実施した。

本申請には含まれていない試験の一覧を別添 1 として添付した。

初期の毒性試験に用いた原薬は、製法 A により製造され、その不純物含量は市販製剤の製剤化に供する原薬中で規定される量を下回っていた（2.3.S.4.4.）。それ以降の毒性試験には製法 B1 及び B2 により製造された原薬を用いた。初期の原薬（製法 A）は臨床試験の原薬（製法 B1 及び B2）及び市販予定製剤の原薬（製法 B3）とは合成経路が異なる（2.3.S.2.6.3.）。毒性試験に用いた原薬の不純物含量及び合成経路の一覧を 2.6.7.4.1.に示す。市販製剤の製剤化に供する原薬中の特定の不純物（ gsk001* 及び gsk002* 、

≤0.15%）については、ICH Q3A に従って適切にコントロールされている（2.3.S.2.6.及び 2.3.S.4.5.）。

原薬に関する情報は表 2.6.6-3、表 2.6.6-5、表 2.6.6-7、表 2.6.6-9、表 2.6.6-11、表 2.6.6-13 及び表 2.6.6-15 に示した。また、原薬の不純物の遺伝毒性評価は 2.6.6.4.6.に示した。

毒性試験における主要所見の要約を以下に示す。試験デザイン及び所見の詳細を 2.6.6.2.～2.6.6.8.、2.6.7.2.1.～2.6.7.19.1.に、毒性試験成績に基づく考察を 2.6.6.9.にそれぞれ示した。

急性毒性

マウス及びラットの単回経口投与試験における最小致死量は 1000～1500 mg/kg と推定された。

イヌ及びサルの漸増単回経口投与試験において、摂餌量の低値、体重減少、糞便異常（イヌ 20 mg/kg 以上、サル 100 mg/kg 以上）、並びに嘔吐の頻度及び程度の増大（イヌ 120 mg/kg 以上、サル 300 mg/kg 以上）がみられ、それぞれ 180 及び 600 mg/kg の投与では忍容性が認められなかった。

反復投与毒性

ダプロデュスタットの反復経口投与により、マウス、ラット、イヌ及びサルで糞便異常（退色便、軟便、液状便又は粘液便）及び胃のびらんがみられ、更にイヌ及びサルでは嘔吐も認められた。13 週間以上の試験では、ダプロデュスタットの赤血球造血亢進作用による顕著なヘマトクリット（Hct）の高値がみられ、マウス及びラットではそれぞれ 30 及び 4 mg/kg/日以上で全身性うっ血、血栓症及び多臓器病変を伴う一般状態悪化及び死亡が認められた。イヌでは 15 mg/kg/日以上で重度の一般状態悪化（振戦、ふらつき、痙攣、虚脱及び努力性呼吸等）、サルでは 10 mg/kg/日以上で多臓器うっ血及び脳の限局性出血が認められた。

マウスに 30 mg/kg/日以上（3 種のヒト代謝物を皮下併用投与した場合は 3 mg/kg/日以上）のダプロデュスタットを経口投与したときに、坐骨神経の神経線維変性、腰髄の軸索変性及び後肢骨格筋の筋線維萎縮が認められ、これらの変化は Hct の高値による循環障害又は血清グルコース濃度の低値に関連した変化と考えられた。

ダプロデュスタットの赤血球造血亢進作用による多臓器病変は、Hct の顕著な高値がみられたときの末梢臓器病変であり、正常動物において顕著かつ慢性的に赤血球パラメータが増加することによる結果であると考えられた。しかしながら、ラットにおける 0.8 mg/kg/日は、Hct の高値が認められる最低用量であり、循環障害及び血栓に関連する病変を引き起こす最低用量であるが、個体毎に評価した際に Hct と病変との間に厳密な相関は認められなかった。

ダプロデュスタットの 3 種のヒト代謝物［GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）及び GSK2531401（M13）］は、げっ歯類及びイヌの血漿中でほとんど検出されなかったが、サル及びウサギの血漿中ではすべて検出された。これらの動物種間（マウス、ラット、イヌ及びサル）では代謝物プロファイルが異なるにもかかわらず、反復投与試験における毒性プロファイルは類似しており、ダプロデュスタットの薬理作用に基づく変化が一貫してみられた。また、マウスのダプロデュスタット単独投与による 13 週間投与試験とダプロデュスタット

及び 3 種のヒト代謝物の併用投与（M2、M3 及び M13）による 13 週間投与試験において、毒性プロファイルに明確な差は認められなかった。これらのことから、ヒト代謝物（M2、M3 及び M13）がダプロデュスタットと異なる毒性を示す可能性は低いと考えられた。

遺伝毒性

ダプロデュスタットは細菌を用いる復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ TK 試験、in vivo ラット肝臓コメット試験において遺伝毒性を示さなかった。ラット小核試験では 2000 mg/kg/日で弱陽性を示したが、この結果はダプロデュスタットの薬理作用（赤血球造血亢進）によるものであると考えられた[Tweats, 2007]。これらのことを基に包括的に評価した結果、ダプロデュスタットはヒトに対して遺伝毒性を示さないと考えられた。

3 種のヒト代謝物（M2、M3 及び M13）については、得られたデータを包括的に評価した結果、ヒトに対して遺伝毒性を示さないと考えられた。

がん原性試験

ラット 2 年間経口投与試験（ダプロデュスタット単独投与）及びマウス 2 年間経口投与試験（3 種のヒト代謝物を皮下併用投与）の結果から、ダプロデュスタットはヒトに対してがん原性を示さないと考えられた。

生殖発生毒性

ラット及びウサギにおいて、ダプロデュスタットに関連した奇形は認められなかった。雄受胎能について、ラットでダプロデュスタットに関連した影響は認められなかった。雌受胎能についても、ラットで母動物毒性のみられない用量において、ダプロデュスタットに関連した影響は認められなかった。したがって、ダプロデュスタットはヒトの発生、受胎能に対して悪影響を及ぼさず、催奇形性も示さないと考えられた。

ラットの雄受胎能に関する試験では、雄生殖器重量、交尾行動、受胎能及び生殖能にダプロデュスタットに関連した影響は認められず、無毒性量は 20 mg/kg/日（最高用量）と推定された。

ラットの雌受胎能及び初期胚発生に関する試験では、交尾所要日数、受胎能・妊娠率、性周期に対して、ダプロデュスタットによる影響は認められなかった。母動物毒性のみられた 100 mg/kg/日群（最高用量）において、黄体数及び着床数の低値並びに着床後死亡率の高値（生存胎児数の低値に関連）が認められたことから、雌受胎能及び初期胚発生に対する無毒性量は 7 mg/kg/日（中用量）と推定された。

胚・胎児発生に関する試験において、ウサギでは 60 mg/kg/日（最高用量）までのダプロデュスタットの投与において、胚・胎児発生に対する影響は認められなかった。ラットでは、母動物毒性のみられた 60 mg/kg/日以上の群で着床後死亡率の高値、生存胎児数の軽度低値（胎児体重に影響なし）及び肋骨変異がみられたが、7 mg/kg/日までの群で胚・胎児発生に対する影響は認められなかった。

ラットの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では、7 mg/kg/日までのダプロデュスタットとヒト代謝物（M2：2.5 mg/kg/日、M3：3.2 mg/kg/日、M13：1.8 mg/kg/

日）を併用投与した群において、F0 母動物の生殖能及び出生児の出生前・後発生に影響はみられなかったが、40 mg/kg/日（＋代謝物）群で母動物毒性（妊娠後期及び授乳期間における体重増加量及び摂餌量の低値）並びに F1 出生児の生存率低値及び体重低値が認められた。

局所刺激性

In vitro 皮膚刺激性試験において、ダプロデュスタット（原薬）は軽度～中等度の皮膚刺激性物質であると判定された。

In vitro 眼刺激性試験において、ダプロデュスタット（原薬）は強い眼刺激性物質ではないと判定された。

マウス局所リンパ節刺激性試験において、ダプロデュスタットは皮膚感作性物質ではないと判定された。

その他

ダプロデュスタットをラットに 1 日 1 回、14 日間静脈内投与した機序探索試験において、胃のびらん及び潰瘍が経口投与時と同程度の曝露量で認められたことから、ダプロデュスタットの経口投与時に観察される消化管への影響は局所刺激によるものではないことが示唆された。

ラットにダプロデュスタットを 14 日間経口投与し、フッ化ナトリウム（解糖阻止剤）添加試験管に採血してグルコース濃度を測定した結果、血漿中グルコースの低値が認められた。このことから、ダプロデュスタットを経口投与したときにみられる血漿中グルコースの低値は ex vivo（採血後の赤血球によるグルコース消費量の増加）ではなく in vivo で起こった変化であることが示された。

2.6.6.2.　　急性毒性試験

2.6.6.2.1.　　緒言

ICH M3（R2）ガイドラインに従い、最大耐量を求めるための用量漸増試験又は短期用量設定試験の結果を用いて急性毒性を評価した。急性毒性の評価にはマウス及びラットの最小致死量探索試験並びにイヌ及びサルの最大耐量探索試験の結果を用いた。New Zealand White（NZW）ウサギ及び Gottingen ミニブタを用いた試験については、経皮投与による開発（既に開発中止済み）のため実施されたものであるが、透明性確保のため、試験結果の概要を示す。

試験に用いた原薬の情報は表 2.6.6-3 に示した。単回投与毒性試験の一覧を表 2.6.6-2 に示す。概要表は 2.6.7.5.及び 2.6.7.6.に示す。

表 2.6.6-2　ダプロデュスタットを用いた単回投与毒性試験一覧

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Minimal lethal dose	Mouse (CD-1)	6F	Oral (gavage)	A	300, 1000, 1500, 2000	Single	Yes	GSK	CD2009/00778 (G09147)	m4.2.3.1
Minimal lethal dose	Rat (Sprague Dawley)	6F	Oral (gavage)	A	1000, 1500, 2000	Single	Yes	GSK	CD2009/00777 (G09148)	m4.2.3.1
Dermal irritation	Rabbit (New Zealand White)	3M	Dermal	A	0.5%, 1%, 2%	Single	Yes	GSK	2011N123167 (L42844)	m4.2.3.1
Maximum tolerated dose	Dog (beagle)	1M/1F	Oral (gavage)	A	6, 20, 60, 120, 180	Single	No	GSK	CD2006/01837 (D06386)	m4.2.3.1
Dermal Irritation	Minipig (Gottingen)	4M	Dermal	A	5%, 10%, 20%, 35%	Single	No	GSK	2013N180775 (F43142N)	m4.2.3.1
Maximum tolerated dose	Monkey (cynomolgus)	2M/2F	Oral (gavage)	A	10, 30, 100, 300, 600	Single	No	GSK	CD2009/00639 (D09120)	m4.2.3.1

Key:
A = All studies were conducted with daprodustat (GSK1278863), the parent form.

Testing Facility:
GSK = GlaxoSmithKline.

2.6.6.2.2. マウス

2.6.6.2.2.1. 経口投与

各群 6 匹の雌 CD-1 マウスにダプロデュスタットを 300、1000、1500 及び 2000 mg/kg の用量で単回強制経口投与し、その後 14 日間観察した（CD2009/00778、4.2.3.1.）。一般状態観察、体重測定及び剖検を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.6.1.に示す。

2000 mg/kg 群の 4 例及び 1500 mg/kg 群の 3 例については、死亡したか、一般状態悪化のために安楽死させた。300 mg/kg 以上の群で半眼、1000 mg/kg 以上の群で一過性の体重減少及び糞便異常が認められた。300 mg/kg 群では一過性に体重増加量の低値が認められた。このように、1500 mg/kg 以上では忍容性が認められず、単回投与による最小致死量は 1000～1500 mg/kg と推定された。

2.6.6.2.3. ラット

2.6.6.2.3.1. 経口投与

各群 6 匹の雌 Sprague Dawley（SD）ラットにダプロデュスタットを 1000、1500 及び 2000 mg/kg の用量で単回強制経口投与し、その後 14 日間観察した（CD2009/00777、4.2.3.1.）。一般状態観察、体重測定及び剖検を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.6.2.に示す。

1500 mg/kg 群の 3 例及び 2000 mg/kg 群の 3 例については、死亡したか、一般状態悪化のために安楽死させた。1000 mg/kg 以上の群では、糞便異常（硬さ及び色）が認められた。このように、1500 mg/kg 以上では忍容性が認められず、単回投与による最小致死量は 1000～1500 mg/kg と推定された。

2.6.6.2.4. ウサギ

2.6.6.2.4.1. 経皮投与

各群 3 匹の雄 NZW ウサギにワセリンで調製したダプロデュスタットを単回経皮投与し、皮膚刺激性を評価した（2011N123167、4.2.3.1.）。一般状態観察、体重測定及び皮膚刺激性の評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.6.3.に示す。

各ウサギの健常及び損傷皮膚に 0（基剤：ワセリン）、0.5、1 及び 2%（w/w）のダプロデュスタットを 24 時間、単回閉塞経皮投与した結果、ダプロデュスタットに関連する皮膚刺激性は認められなかった。

2.6.6.2.5. イヌ

2.6.6.2.5.1. 経口投与

最大耐量を求めるために、各群雌雄各 1 匹のビーグル犬にダプロデュスタットを 6、20、60、120 及び 180 mg/kg の用量で漸増単回強制経口投与（7 日間間隔）した（CD2006/01837、4.2.3.1.）。一般状態観察、体重測定を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.5.1.に示す。トキシコキネティクス（TK）については 2.6.4.2.1.3.1.で考察する。

120 mg/kg 以上で嘔吐がみられ、雌雄それぞれ 120 及び 20 mg/kg 以上で糞便異常が認められた。嘔吐及び糞便異常の頻度及び程度には用量依存性がみられ、180 mg/kg 群の雄で最も顕著であった。雌では 120 mg/kg 以上で摂餌量の低下及び軽度の体重減少（最大で投与前値の 0.94 倍）が認められた。このように、180 mg/kg では忍容性が認められなかった。

2.6.6.2.6. ミニブタ

2.6.6.2.6.1. 経皮投与

2 匹の雄 Gottingen ミニブタの健常皮膚にダプロデュスタットを 0（基剤：ワセリン）、5、10、20 及び 35%の濃度で単回経皮投与（0.5 g／部位）し、その刺激性を評価した（2013N180775、4.2.3.1.）。また、投与 8 日に 10 又は 35%のダプロデュスタット（1 g/kg）を体表面積の 10%相当の皮膚に投与し、TK を評価した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.5.1.に示す。TK については 2.6.4.2.1.4.1.で考察する。

試験の結果、ダプロデュスタットに関連する皮膚刺激性は認められなかった。

2.6.6.2.7. サル

2.6.6.2.7.1. 経口投与

雌雄各 2 匹のカニクイザルに 10、30、100、300 及び 600 mg/kg のダプロデュスタットをそれぞれ投与 1、8、15、22 及び 29 日に漸増強制経口投与し、一般状態観察及び体重測定を実施した（CD2009/00639、4.2.3.1.）。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.5.1.に示す。TK については 2.6.4.2.1.5.1.で考察する。

300 mg/kg 以上で嘔吐がみられ、600 mg/kg では忍容性が認められなかった。また、全用量で摂餌量の低下がみられ、100 mg/kg 以上では糞便異常（硬さ）が認められた。

表 2.6.6-3　被験物質一覧（単回投与毒性試験）

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (strain) or Test System	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg/mL) or (% w/w)	Formulation
NE-021129-Batch-01-2009	Single dose toxicity	Mouse (CD-1)	A	Single	CD2009/00778 (G09147)	30, 100, 150, 200	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Single dose toxicity	Rat (Sprague Dawley)	A	Single	CD2009/00777 (G09148)	100, 150, 200	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Single dose toxicity	Monkey (cynomolgus)	A	Single	CD2009/00639 (D09120)	2.5, 7.5, 25, 75,150	1% w/v methylcellulose
KD207077-049A1	Single dose toxicity	Dog (beagle)	A	Single	CD2006/01837 (D06386)	1.2, 4, 12, 24, 36	1% w/v methylcellulose
111280742	Single dose irritation	Rabbit (New Zealand White)	A	Single	2011N123167 (L42844)	0.5%, 1%, 2%	Petrolatum
111280742	Single dose irritation	Minipig (Gottingen)	A	Single	2013N180775 (F43142N)	5%, 10%, 20%, 35%	Petrolatum

Note: All studies were conducted with GSK1278863A, the parent form of daprodustat. The nonclinical single dose toxicity study batches were manufactured by a slightly different synthetic route (Route A, see 2.3.S.4.4) than the Phase III clinical batches (Route B1) or the proposed commercial route (B3). Refer to 2.3.S.2.6.3. for further details. Specified impurities in the batches manufactured using the proposed commercial route of synthesis are qualified according to ICH Q3A (see 2.3.S.2.6 and 2.3.S.4.5).

Key:
A = Daprodustat (parent form).

2.6.6.3. 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1. 緒言

CD-1 マウス、SD ラット、ビーグル犬及びカニクイザルを用いて反復投与毒性試験を実施した。これらの本試験に先立ち、適切な用量設定試験を実施した。ダプロデュスタットの長期投与における安全性を担保するため、マウス及びイヌの最長 13 週間、ラットの最長 26 週間、並びにサルの最長 39 週間の経口投与試験を実施した。また、マウスを用いてダプロデュスタット（経口投与）と 3 種の代謝物［GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）及び GSK2531401（M13）：皮下投与］の 13 週間併用投与試験を実施した。各試験には、評価に十分な数の動物を供した。NZW ウサギ及び Gottingen ミニブタを用いた試験については、経皮投与による開発（既に開発中止済み）のため実施されたものであるが、透明性確保のため、試験結果の概要を示す。主要な試験はいずれも GLP に従い実施した。また、用量設定試験も GLP の一般原則に従って実施した。

投与検体の媒体には特記しない限り 1%メチルセルロースを用いた。試験に用いた原薬及び媒体の情報を表 2.6.6-5 に示した。

反復投与毒性試験の一覧を表 2.6.6-4 に示す。概要表は 2.6.7.7.及び 2.6.7.8.に示す。TK については、概要表を 2.6.7.3.、考察を 2.6.4.にそれぞれ示す。

表 2.6.6-4　ダプロデュスタット及び代謝物を用いた反復投与毒性試験一覧

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Studies with Daprodustat										
Repeat dose toxicity	Mouse (CD-1)	6M/6F[a]	Oral (gavage)	A	30, 100, 300	14 days	No	GSK	CD2009/00900 (D09169)	m4.2.3.2
Repeat dose toxicity	Mouse (CD-1)	12M/12F[b]	Oral (gavage)	A	**3**, 30, 60	13 weeks	Yes	[redacted]	2011N112096 (G10121)	m4.2.3.2
Repeat dose toxicity (Daprodustat + M2, M3 & M13)	Mouse (CD-1)	12M/ 12F[l]	Oral (gavage) Subcutaneous (injection)	A D, E, N	6[k], 20[k] (daprodustat) 2.0 (M2), 2.5 (M3), 1.3 (M13)	13 weeks	Yes	[redacted]	2014N199031 (M70456G)	m4.2.3.2
Repeat dose toxicity	Rat (Sprague Dawley)	4M[c]	Oral (gavage)	A	10, 30, 60	14 days	No	GSK	RD2006/01192 (R41921)	m4.2.3.2
Repeat dose toxicity	Rat (Sprague Dawley)	4F[c]	Oral (gavage)	A	100, 250, 500	14 days	No	[redacted]	CD2008/01306 (D08114)	m4.2.3.2
Repeat dose toxicity	Rat (Sprague Dawley)	10M/10F[d]	Oral (gavage)	A	**2**, 7, 20	4 weeks	Yes	GSK	RD2007/01333 (R42197)	m4.2.3.2
Repeat dose toxicity	Rat (Sprague Dawley)	15M/ 15F[d,e]	Oral (gavage)	A	0.8, **4**, 20, 100	13 weeks	Yes	GSK	CD2009/00951 (G09057)	m4.2.3.2

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Repeat dose toxicity	Rat (Sprague Dawley)	12M/12F[f]	Oral (gavage)	A	0.8, **4**, 10	26 weeks	Yes	[redacted]	2011N126130 (G10276)	m4.2.3.2
Repeat dose dermal irritation	Rabbit (New Zealand White)	3M or 6M	Dermal	A	0.5%, 1%, 2%	14 days	Yes	GSK	2011N125481 (L42845)	m4.2.3.2
Repeat dose toxicity	Dog (beagle)	2M/2F	Oral (gavage or capsule)	A	90	3 days	No	GSK	RD2007/01367 (D42209)	m4.2.3.2
Repeat dose toxicity	Dog (beagle)	1M/1F	Oral (gavage)	A	20, 60, 120	7 days	No	GSK	CD2007/00353 (D07078)	m4.2.3.2
Repeat dose toxicity	Dog (beagle)	3M/3F	Oral (capsule)	A	**3**, 30, 90	4 weeks	Yes	GSK	RD2007/01336 (D42196)	m4.2.3.2
Repeat dose toxicity	Dog (beagle)	4M/4F[g]	Oral (capsule)	A	1, **3**, 30/15[h]	13 weeks	Yes	[redacted]	CD2009/00952 (G09058)	m4.2.3.2
Repeat dose dermal irritation	Minipig (Gottingen)	1M/1F	Dermal	A	0.5%, 1.0%, 2.0%	14 days	No	[redacted]	2012N148386 (D12086)	m4.2.3.2
Repeat dose dermal irritation	Minipig (Göttingen)	1M/1F	Dermal	A	10, 20 or 35%	14 Days	No	[redacted]	2013N185591 (F70438N)	m4.2.3.2
Repeat dose dermal irritation	Minipig (Gottingen)	3M	Dermal	A	2, 10, 35%	4 weeks	No	[redacted]	2015N231048 (F70727N)	m4.2.3.2

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Repeat dose dermal irritation	Minipig (Gottingen)	4M/4F	Dermal	A	5, 10, 20%	13 weeks	Yes	[redacted]	2016N273683 (F70916G)	m4.2.3.2
Repeat dose toxicity	Monkey (cynomolgus)	1M/1F	Oral (gavage)	A	10, 30, 100	14 days	No	GSK	CD2009/00780 (D09121)	m4.2.3.2
Repeat dose toxicity	Monkey (cynomolgus)	4M/4F[i]	Oral (gavage)	A	5, **20**, 100	13 weeks	Yes	[redacted]	2010N108482 (G10005)	m4.2.3.2
Repeat dose toxicity	Monkey (cynomolgus)	4M/4F[i]	Oral (gavage)	A	**3**, 10, 50	39 weeks	Yes	[redacted]	2011N126131 (G10277)	m4.2.3.2

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Study with Metabolite										
M13 dose range	Mouse (CD-1)	3M/3F	Intravenous (bolus)	N	40, 80, 120, 200, 350, 400	2 days	No	GSK	2011N123943 (M29825)	m4.2.3.7.5
M2, M3 and M13: Irritation	Mouse (CD-1)	3M	Subcutaneous	D, E, N	2.0, 6.0 (M2), 2.5, 7.5 (M3), 1.3, 3.9 (M13)	7 days	No	GSK	2013N169136 (M43081N)	m4.2.3.7.5

Key:
For pivotal toxicity studies, the no observed adverse effect level (NOAEL) is bolded.
A = Daprodustat (GSK1278863, Parent form). D = M2 metabolite of daprodustat, GSK2391220 (Parent form). E = M3 metabolite of daprodustat, GSK2506104 (Parent form). N = M13 metabolite of daprodustat, GSK2531401 (Parent form).
a = An additional 18M/18F were added at 30 mg/kg/day for toxicokinetic investigations only.
b = An additional 42M/42F were added at 3, 30 and 60 mg/kg/day and 6M/6F were added to the vehicle control for toxicokinetic investigations, and an additional 21M/21F were added at 30 mg/kg/day for metabolite investigations.
c = An additional 3M or 3F group were included for toxicokinetic investigations.
d = An additional 3M/3F group were included for toxicokinetic investigations.
e = An additional 5M/5F were added at the control and 20 and 100 mg/kg/day groups for a 4 week recovery.
f = An additional 9M/9F were added at 10 mg/kg and 3M/3F were added to the vehicle control and 0.8 and 4 mg/kg groups for toxicokinetic evaluation.
g = An additional 2M/2F were included at the control and 30/15 mg/kg/day groups for a 4 week recovery.
h = On Day 17, the dose was reduced from 30 mg/kg/day to 15 mg/kg/day for females only.
i = An additional 2M/2F were added at the control and 20 and 100 mg/kg/day groups for a 4 week recovery.
j = An additional 2M/2F were included at the control and 50 mg/kg/day groups for a 6 week recovery.
k = This daprodustat dose group was also administered a cocktail of metabolites [2.0 (M2), 2.5 (M3) and 1.3 (M13) mg/kg/day] by once daily subcutaneous injection.
l = An additional 48M/48F were added at 6, 20 mg/kg/day and 6M/6F were added to the vehicle control for toxicokinetic investigations.

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
[redacted] = [redacted]
GSK = GlaxoSmithKline.
[redacted] = [redacted]

2.6.6.3.2. マウス

2.6.6.3.2.1. 経口投与（ダプロデュスタット）

2.6.6.3.2.1.1. 14 日間投与試験

各群雌雄各 6 匹の CD-1 マウスにダプロデュスタットを 0（媒体）、30、100 及び 300 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回強制経口投与した（CD2009/00900、4.2.3.2.）。30 mg/kg/日群には、TK 評価のために各群雌雄各 18 匹、代謝物の曝露量評価のために各群雌雄各 10 匹をそれぞれ追加した。一般状態観察、体重測定、肝重量測定、剖検、病理組織学的検査及び TK 評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.7.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.1.1.1.で考察する。

途中死亡又は一般状態悪化による安楽死が 9 例で認められた。対照群 2 例を含む 4 例については、剖検又は病理組織学的検査において投与過誤と一致する所見が認められた。TK 群の 2 例については、剖検を行わなかったため、死因を明らかにすることはできなかった。100 mg/kg/日群の雌 1 例及び 300 mg/kg/日群の雌雄各 1 例については、体重減少、皮膚の弾性低下及び立毛がみられたため、試験 6 日に安楽死させた。これら 3 例の一般状態悪化については、原因を特定することができず、ダプロデュスタットとの関連性は否定できないと考えられた。投与期間中、100 mg/kg/日以上で一過性の体重減少、300 mg/kg/日で活動低下、接触時冷感、円背位及び皮膚弾性低下が認められた。病理組織学的検査では、30 mg/kg/日以上で、薬理作用に関連する髄外造血（脾臓）及び赤芽球過形成（骨髄）が認められた。100 mg/kg/日以上では、脾臓又は胸腺のリンパ球溶解／リンパ球減少がみられ、これらの所見は一般状態悪化による影響と考えられた。

2.6.6.3.2.1.2. 13 週間投与試験

各群雌雄各 12 匹の CD-1 マウスにダプロデュスタットを 0（媒体）、3、30 及び 60 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 13 週間強制経口投与した。また、TK 評価のため、対照群に雌雄各 6 匹、投薬群に雌雄各 42 匹をそれぞれ追加した。更に、代謝物の血漿中濃度測定のため、30 mg/kg/日群に雌雄各 21 匹を追加した（2011N112096、4.2.3.2.）。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.8.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.1.1.1.で考察する。

途中死亡又は一般状態悪化による安楽死が 60 mg/kg/日群の 6 例（雄 2 例、雌 4 例）で認められた。そのうちの 5 例（雄 1 例、雌 4 例）については、ダプロデュスタットの薬理作用による造血亢進及び Hct 増加に関連したうっ血、出血又は血栓が複数の臓器に認められたことから、これらの死亡はダプロデュスタットに関連したものと考えられた。一般状態悪化（努力性呼吸）のため安楽死させた同群の雄 1 例については、経口投与チューブ抜去中の逆流（被験物質又は胃内容物）による鼻への影響（変性及び滲出液）が一般状態悪化の原因と考えられたため、本例を安楽死に至らしめた一般状態悪化はダプロデュスタットの直接的な影響ではないと判断した。これら死亡例の所見は、計画剖検例と合わせて以下に示す。

雄の 30 mg/kg/日以上の群及び雌の全投薬群において、ダプロデュスタットの薬理作用に関連する髄外造血（肝臓及び脾臓）及び赤芽球過形成（骨髄）が認められ、30 mg/kg/日以上の群では肝臓及び脾臓重量の高値を伴っていた。30 mg/kg/日以上の群では、赤血球パラメー

タ［赤血球数（RBC）、Hct 及びヘモグロビン（Hb）］（対照群の 1.28～1.97 倍）、網状赤血球数（対照群の 1.64～3.86 倍）及び赤血球指数［平均赤血球ヘモグロビン量（MCH）、平均赤血球容積（MCV）及び赤血球粒度分布幅（RDW）］（対照群の 1.14～1.36 倍）の高値が認められた。3 mg/kg/日群では、網状赤血球数の高値（対照群の 1.91 倍）のみ認められた。

造血亢進に関連した変化として、血清ビリルビンの高値、並びに肝クッパー細胞、脾臓マクロファージ及び尿細管内の色素沈着が認められた。これらの色素沈着は、赤血球崩壊に関連するヘモジデリン又はビリルビンによるものと考えられた。

造血亢進による赤血球及び Hct の増加に関連して、30 mg/kg/日以上の群のほとんどのマウスで顕著な全身性うっ血、並びに二次的な血栓症及び出血が認められた。

30 mg/kg/日以上の群で一般状態観察時に全身性うっ血によると考えられる皮膚の赤色化又は蒼白化がみられ、剖検時には全投薬群で同様の所見が認められた。また、30 mg/kg/日以上の群では、全身性うっ血に関連すると考えられる肝臓、脾臓、心臓及び腎臓重量の増加が認められた。眼科学的検査では、30 mg/kg/日以上の雄及び 3 mg/kg/日以上の雌（3 mg/kg/日の雌は軽度）で脈絡膜充血がみられ、30 mg/kg/日以上の群では網膜うっ血も認められた。これら眼の所見は他臓器にもみられたうっ血と一致する変化であるが、組織学的な異常を伴わなかった。

60 mg/kg/日群の雌 1 例で投与 56 日に振戦、投与 64 日及び 70 日に間代性痙攣（筋収縮・弛緩の急速な反復）が認められた。

30 mg/kg/日以上の群では、心臓において心筋変性・壊死、心筋・血管周囲線維化、血管炎、心弁膜変性・炎症、大動脈弓変性等の血栓症に関連した二次的な組織学的変化が散見された。

60 mg/kg/日群の雄 2 例及び 30 mg/kg/日群の雌 1 例の腎臓において、片側性びまん性壊死（虚血と一致、血栓症による二次的な変化と考えられる）が認められた。30 mg/kg/日以上の群では軽微～重度な増殖性糸球体腎症が認められた。本所見がみられた腎臓全てにおいてフィブリン微小血栓が観察されたわけではなかったが、重度な場合は糸球体微小血栓が顕著に認められた。このことから、糸球体腎症は糸球体における微小血栓の形成による可能性が考えられた。また、60 mg/kg/日群の雄及び 30 mg/kg/日以上の群の雌では、尿細管内硝子円柱及び好塩基性尿細管の頻度及び重度の増加も認められた。60 mg/kg/日群で血清尿素の高値、30 mg/kg/日以上の群の雄及び 30 mg/kg/日群の雌で血清クレアチニンの高値が認められたが、これらは糸球体の組織学的変化に関連した変化と考えられた。60 mg/kg/日群の雌では腎重量の高値もみられたが、本変化には糸球体腎症の発現が一部寄与していると考えられる。

60 mg/kg/日群の雄及び 30 mg/kg/日以上の群の雌で坐骨神経の神経線維変性（軽微～軽度）及び腰髄の軸索変性（軽微～中等度）がみられ、ときに後肢骨格筋の軽微～軽度の筋線維萎縮を伴っていた。また、一般状態観察では、後肢運動制限が一部の動物に観察された。これらの影響は、Hct の高値に関連した循環障害による虚血又は血清グルコースの低値（30 mg/kg/日以上の群の雌、対照の約 0.50 倍）に関連した変化である可能性が考えられた。

30 mg/kg/日以上の群で血小板数低値が認められた。本変化はダプロデュスタットの過剰な薬理作用により発現する Hct 高値及び末梢循環障害に基づく血小板消費の増加に起因すると考えられた。

そのほか、ダプロデュスタットの薬理作用に直接関連しないと考えられる以下の所見が認められた。

60 mg/kg/日群の雄では、試験期間中の体重増加量及び摂餌量の低値がみられたが、試験終了時の体重に統計的有意差は認められなかった。

鼻腔及び副鼻腔の変性及び滲出液が 30 mg/kg/日以上の群及び 3 mg/kg/日群の雄 1 例（軽度）で認められた。これらの動物では、投与時に経口投与チューブの抜去によると考えられる被験物質又は胃内容物の逆流が認められていたことから、本所見は鼻に逆流したダプロデュスタット又は胃内容物の局所刺激によるものと考えられた。

平均血清トリグリセリド濃度の高値が、30 及び 60 mg/kg/日群の雄（それぞれ対照群の 1.47 及び 2.43 倍）並びに 30 mg/kg/日群の雌（対照群の 2.23 倍）で認められた。

60 mg/kg/日群の雌で胸腺リンパ組織壊死・萎縮及び胃のびらんがみられたが、これらは一般状態悪化によるストレス性の変化と考えられた。30 mg/kg/日以上の群では末梢血リンパ球数の高値が認められた。

3 mg/kg/日群で前立腺、肺、腎臓及び胸腺に軽微な出血がみられたが、低頻度かつ軽微であったことから悪影響ではないと判断した。

30 mg/kg/日以上の群で悪影響が認められたことから、無毒性量は 3 mg/kg/日と推定された。試験 4 週における 3 mg/kg/日群の最高血漿中濃度（Cmax）及び血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）(0-t)（雌雄合算平均）はそれぞれ 14.5 μg/mL 及び 181 μg·hr/mL であった。

2.6.6.3.2.1.3. 13 週間投与試験［ダプロデュスタット並びに GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）及び GSK2531401（M13）併用投与］

各群雌雄各 12 匹の CD-1 マウスにダプロデュスタットを 0（媒体：1%メチルセルロース水溶液）、6 及び 20 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回強制経口投与した後、代謝物の混合液［GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）及び GSK2531401（M13）の用量はそれぞれ 2.0、2.5 及び 1.3 mg/kg/日、25 mM リン酸緩衝液、pH7.4］を 1 日 1 回皮下投与し、13 週間投与試験を実施した（2014N199031、4.2.3.2.）。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、眼科学的検査、器官重量測定、剖検並びに病理組織学的検査を実施した。TK 評価のために対照群に雌雄各 6 匹、各投薬群に雌雄各 48 匹を追加した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.8.2.に示す。TK については 2.6.4.2.2.1.1.3.で考察する。

20 mg/kg/日（＋代謝物）群の雌 1 例（主試験群）及び 6 mg/kg/日（＋代謝物）群の雌 1 例（TK 群）がそれぞれ試験 11 週（試験 74 日）及び試験 4 週（試験 23 日）に死亡した。これら 2 例の死亡は投与手技（経口投与）に関連すると考えられた。

全投薬群で骨髄（胸骨）及び脾臓において薬理作用に基づく赤血球造血の亢進がみられ、末梢血においても赤血球パラメータ（RBC、Hb 及び Hct、対照群の 1.29～1.98 倍）、網状赤血球数（対照群の 1.39～2.55 倍）及び赤血球指数（MCV、MCH 又は RDW、対照群の 1.05～1.19 倍）の用量依存的な高値が認められた。脾臓では、造血亢進に関連して剖検時に腫大及び脾臓重量の高値が認められた。

病理組織学的検査において、6 mg/kg/日（＋代謝物）以上の群でクッパー細胞（肝臓）に色素沈着（ヘモジデリン又はビリルビン等、赤血球崩壊に関連）がみられ、20 mg/kg/日（＋代謝物）群の雌では尿細管上皮にも色素沈着が認められた。

全身性うっ血が 6 mg/kg/日（＋代謝物）群の一般状態観察時（皮膚の赤色又は紫色化）及び剖検時（全身の暗色化）に認められた。20 mg/kg/日（＋代謝物）群では、心重量の高値（絶対重量で対照群の 1.25 倍、相対重量で対照群の 1.27 倍）、6 mg/kg/日（＋代謝物）以上の群で用量依存的な眼所見（網膜血管うっ血及び脈絡膜充血）がみられ、これらは全身性うっ血に関連する変化と考えられた。20 mg/kg/日（＋代謝物）群の一部では、浅呼吸を伴う呼吸数の増加が多くみられた。これらの変化に関連する組織学的変化は認められなかった。

20 mg/kg/日（＋代謝物）群の雄及び 6 mg/kg/日（＋代謝物）以上の群の雌で腰部脊髄の神経根部（馬尾）に軸索変性がみられ、20 mg/kg/日（＋代謝物）群の一部（雌雄）では坐骨神経の軸索変性が認められた。これらの変化は、循環障害による虚血（Hct 高値が関与）又は血清グルコース濃度の低値［6 mg/kg/日（＋代謝物）以上の群の雌雄でそれぞれ対照群の 0.67 及び 0.75 倍］に関連するものと考えられた。血清グルコース濃度の低値には赤血球数の増加に伴うグルコース消費量の増加が関連している可能性が考えられた。

20 mg/kg/日（＋代謝物）群の雄及び 6 mg/kg/日（＋代謝物）以上の群の雌で血小板数の低値（雌雄でそれぞれ対照群の 0.31～0.55 及び 0.48 倍）が認められた。

20 mg/kg/日（＋代謝物）群の雄で血清クレアチニン濃度の高値（対照群の 1.65 倍）が認められたが、関連する組織学的変化は認められなかった。

20 mg/kg/日（＋代謝物）群では、対照群よりも胸腺皮質のリンパ組織萎縮（軽微～軽度）のみられた動物がわずかに多く、胸腺重量の低値（絶対重量は対照群の 0.81 倍、相対重量は対照群の 0.82 倍）が認められた。

2.6.6.3.2.2. GSK2531401（M13）の静脈内投与

2.6.6.3.2.2.1. 2 日間投与試験

各群雌雄各 3 匹の CD-1 マウスにヒト代謝物の GSK2531401（M13）を 0（媒体：2M 水酸化ナトリウム含有 0.9%塩化ナトリウム水溶液）、40、80、120、200、350 及び 400 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 2 日間静脈内投与した（2011N123943、4.2.3.7.5.）。一般状態観察、血液学的検査、体重測定及び骨髄多染性赤血球（PCE）の評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.7.1.に示す。

200 mg/kg/日までの用量では、80 mg/kg/日群の雌雄各 1 例のみにおいて、初回投与後に一過性の一般状態の変化（興奮／不穏、軽度の鎮静及び努力性呼吸、後肢のこわばり／開脚及び不安定歩行）がみられ、その他の動物に一般状態の変化は認められなかった。400 mg/kg/日群では、初回投与後、一過性の一般状態変化（喘鳴／頻性／不規則性呼吸、痙攣性運動／歩行、低姿勢、不安定歩行、協調運動障害、虚脱及び筋痙攣）がみられ、雄 1 例及び雌 1 例が投与直後に死亡した。350 mg/kg/日を投与した群でも一過性の一般状態変化（喘鳴／不規則性呼吸、不安定歩行又は低姿勢／虚脱）及び死亡（雌雄）が認められた。これらのことから、最大耐量は 200～350 mg/kg/日と推定された。

200 mg/kg/日までの投与により網状赤血球数（対照群の最大 1.81 倍）及び高蛍光網状赤血球数の高値がみられ、赤血球造血速度の亢進が示唆された。200 mg/kg/日群の骨髄 PCE 比を評価した結果、投薬による影響は認められなかった。

2.6.6.3.2.3. 代謝物 M2、M3 及び M13 の皮下投与

2.6.6.3.2.3.1. 7 日間投与試験

各群 3 匹の雄 CD-1 マウスに、ヒト代謝物の GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）及び GSK2531401（M13）を、それぞれ 2.0、2.5 及び 1.3 mg/kg/日又は 6.0、7.5 及び 3.9 mg/kg/日の用量で、混合液（媒体：0.5%塩化ナトリウム含有 25 mM リン酸緩衝液、pH7.4）として 1 日 1 回 7 日間皮下投与した（2013N169136、4.2.3.7.5.）。また、GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）又は GSK2531401（M13）をそれぞれ 2.0、2.5 又は 1.3 mg/kg/日の用量で単独投与した個別投与群も設けた。一般状態観察、並びに投与部位の肉眼観察及び病理組織学的検査を実施した。また、投与 8 日の血漿中代謝物濃度を測定した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.7.1.に示す。

いずれの群においても投薬に関連した影響はみられず、被験物質混合液に刺激性はないと考えられた。

2.6.6.3.3. ラット

2.6.6.3.3.1. 経口投与

2.6.6.3.3.1.1. 14 日間投与試験（用量設定試験）

各群 4 匹の雄 SD ラットにダプロデュスタットを 0（媒体）、10、30 及び 60 mg/kg/日の用量で強制経口投与した（RD2006/01192、4.2.3.2.）。TK 評価のために各用量に雄 3 匹を追加した。一般状態観察、体重測定、血液学的検査、血液生化学的検査、肝臓及び脾臓重量測定、剖検、病理組織学的検査、肝遺伝子発現解析及び TK 評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.7.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.2.1.1.で考察する。

途中死亡例は認められなかった。30 mg/kg/日以上の群で出血及び浮腫を伴う腺胃のびらん（限局性及び多巣性）がみられ、その二次的な変化として 60 mg/kg/日で血清蛋白の低値（対照群の 0.90 倍まで）、30 mg/kg/日以上の群で好中球及び単球数の高値による総白血球数の軽微な高値（対照群の最大 1.35 倍）が認められた。

10 mg/kg/日以上の群では、肝臓に用量依存的な軽微～軽度の門脈周囲肝細胞空胞化が観察された。10 mg/kg/日以上の群で血清アルカリホスファターゼ活性（ALP）のわずかな高値（対照群の最大 1.76 倍）がみられたが、他の肝障害マーカーに影響は認められなかった。

30 mg/kg/日以上の群では血清トリグリセリドの高値（対照群の最大 7.4 倍）、60 mg/kg/日群で血小板数の軽度低値（対照群の 0.89 倍）が認められた。

10 mg/kg/日以上の群で髄外造血の亢進（脾臓及び肝臓）、赤芽球過形成（骨髄）及び血清鉄パラメータの変化、30 mg/kg/日以上の群で網状赤血球数（対照群の最大 2.9 倍）及び赤血球パラメータ（Hb、Hct 及び RBC、対照群の最大 1.26 倍）の高値がみられ、これらはダプロデュスタットの薬理作用に関連した変化と考えられた。

2.6.6.3.3.1.2. 14 日間投与試験（用量設定試験）

各群 4 匹の雌 SD ラットにダプロデュスタットを 0（媒体）、100、250 及び 500 mg/kg/日の用量で 14 日間強制経口投与した（CD2008/01306、4.2.3.2.）。TK 評価のために各群雌 3 匹を追加した。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、肝臓及び脾臓重量測定、病理組織学的検査及び TK 評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.7.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.2.1.1.で考察する。

試験の結果、250 mg/kg/日以上の群では忍容性が認められず、500 mg/kg/日群の主試験群 2 例及び TK 群 2 例が試験 5 日又は 7 日、250 mg/kg/日群の TK 群 1 例（TK 群のため剖検は実施せず）が試験 12 日にそれぞれ死亡（安楽死例含む）した。これら動物の死因は特定できなかったが、胃又は十二指腸のびらん・潰瘍が関連している可能性が考えられた。
500 mg/kg/日群の残りの動物についても試験 8 日に一般状態の悪化が認められたため、全例安楽死させた。

250 mg/kg/日以上の群では、脱水、糞便異常及び被毛の赤色化が認められた。

100 mg/kg/日以上の群の胃（びらん／潰瘍、胃壁炎症）、250 mg/kg/日以上の群の小腸及び大腸（絨毛／粘膜肥厚）並びに腎臓（皮質尿細管上皮の空胞化）において用量依存的な組織学的変化が認められた。

500 mg/kg/日群で骨髄過形成、250 mg/kg/日以上の群で髄外造血亢進（脾臓）、100 mg/kg/日以上の群で網状赤血球数及び赤血球系パラメータの高値がみられ、これらはいずれもダプロデュスタットの薬理作用に一致する変化と考えられた。

250 mg/kg/日群でアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）の高値がみられたが、関連する組織学的変化は認められなかった。

100 mg/kg/日以上の群でリンパ球数及び血清グルコースの低値、血清トリグリセリドの高値が認められた。

2.6.6.3.3.1.3. 4 週間投与試験

雌雄各群 10 匹の SD ラットにダプロデュスタットを 0（媒体）、2、7 及び 20 mg/kg/日の用量で 4 週間強制経口投与した（RD2007/01333、4.2.3.2.）。TK 評価のために各群雌雄各 3 匹を追加した。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査（精子ステージング検査を含む）を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.8.3.に示す。TK については 2.6.4.2.2.2.1.1.で考察する。

いずれの群においても、ダプロデュスタットは良好な忍容性を示した。剖検では、7 及び 20 mg/kg/日群において胃のびらん及び潰瘍が認められた。これらの所見は多くの場合に出血、化膿性炎症及び粘膜下浮腫を伴っていた。また、関連する変化として 7 mg/kg/日群の雌で血清蛋白の軽微～軽度の低値、20 mg/kg/日群で白血球数の高値が認められた。7 mg/kg/日以上の群の雌で用量依存的なグロブリン（軽微、対照群の 0.85～0.91 倍）及び総蛋白（対照群の 0.91～0.95 倍）の低値がみられ、20 mg/kg/日の雄でもグロブリンの低値（軽微、対照群の 0.93 倍）が認められた。これらの群では軽微な白血球数の高値もみられ、雄では好中球、単

球及び好塩基球数の高値（それぞれ対照群の 1.53、1.38 及び 2.7 倍）、雌では好塩基球数の高値（対照群の 2.7 倍）が認められた。20 mg/kg/日群では血小板数の軽微な低値も認められた（対照群の 0.62～0.75 倍）。

20 mg/kg/日群で軽度の門脈周囲肝細胞空胞化（脂肪変性）がみられたが、関連するその他の組織学的変化及び臨床病理学的変化は認められなかった。また、20 mg/kg/日群の雌で血清コレステロールの軽度低値（対照群の 0.50 倍）、雄で血清トリグリセリドの高値（対照群の 4.2 倍）がそれぞれ認められた。

ダプロデュスタットの薬理作用に基づく赤血球及び血清鉄パラメータの変化が認められた。20 mg/kg/日群で赤血球パラメータ（Hct、Hb 及び RBC、対照群の 1.26～1.44 倍）、赤血球指数（MCV、MCH 及び RDW、対照群の 1.06～1.20 倍）及び網状赤血球数（対照群の 1.65～2.10 倍）の中等度な高値が認められた。7 mg/kg/日群の雌でも、赤血球パラメータの軽微～軽度な高値（Hct、Hb、RBC 及び MCV はそれぞれ対照群の 1.11、1.09、1.08 及び 1.03 倍）が認められた。2 mg/kg/日以上の群の雄及び 7 mg/kg/日以上の群の雌で総鉄結合能（TIBC）の軽度な高値（対照群の最大 1.33 倍）、20 mg/kg/日群では不飽和鉄結合能（UIBC）の軽度な高値（対照群の最大 1.32 倍）が認められた。全投薬群において赤血球造血亢進を示す組織学的変化（骨髄の赤芽球過形成及び脾臓の髄外造血亢進）がみられ、20 mg/kg/日群では脾臓重量の増加も認められた。20 mg/kg/日群の雄では、血清総ビリルビンの軽微な高値（対照群の 1.16 倍）が認められた。

7 又は 20 mg/kg/日群の雄において、血清 ALT、グルタミン酸デヒドロゲナーゼ（GLDH）又は ALP の軽微な高値（それぞれ対照群の最大 1.35、2.11 及び 1.29 倍）が認められた。これらの高値は、各群の一部の動物（10 例中 3～6 例）の高値（対照群の 2 倍程度）によるものであり、その他の動物の値は対照群と同程度であった。これらの変化はダプロデュスタットの投与に関連すると考えられたが、用量依存性がみられなかったこと、雄のみの変化であったこと、軽微かつ生理学的変動の範囲内の変化であったことから悪影響ではないと判断した。

雄生殖器の病理組織学的検査（精巣の精子ステージング検査を含む）において、影響は認められなかった。

7 mg/kg/日以上の群において胃のびらん及び潰瘍が認められたことから、無毒性量は 2 mg/kg/日と推定された。試験 28 日における 2 mg/kg/日群の Cmax 及び AUC(0-t)（雌雄合算平均）はそれぞれ 28.9 µg/mL 及び 449 µg·hr/mL であった。

2.6.6.3.3.1.4. 13 週間投与試験

雌雄各 15 匹の SD ラットにダプロデュスタットを 0（媒体）、0.8、4、20 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、13 週間強制経口投与した（CD2009/00951、4.2.3.2.）。TK 評価のために各群雌雄各 3 匹を追加した。回復性評価のため、0（媒体）、20 及び 100 mg/kg/日群に雌雄各 5 匹を追加し、投与期間終了後、4 週間休薬させた。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、摂水量測定（目視）、血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.8.4.に示す。TK については 2.6.4.2.2.2.1.1.で考察する。

試験期間中に全群で計 20 例が死亡（安楽死例含む）した。100 mg/kg/日では忍容性が認められず、雄の 11/15 例（＋TK 群 1/3 例）及び雌の 5/15 例は試験 17～59 日に死亡したか、一般状態悪化のため安楽死させた。100 mg/kg/日群の雄 9 例及び雌 5 例が心血管病変、20 mg/kg/日群の雄 2 例が腎病変による死亡と考えられた。100 mg/kg/日群の雄 2 例（TK 群 1 例を含む）及び対照群の雄 1 例については、死因は不明であった。100 mg/kg/日の雄 1 例は剖検の結果から、投与手技に関連した死亡であると考えられた。

100 mg/kg/日群の一部の生存例については試験 60 日に剖検し、残りの動物はその時点で投与を中止し休薬群に供した。20 mg/kg/日群では雄 2 例がそれぞれ試験 64 及び 90 日に死亡し（被験物質に関連）、対照群の雄 1 例も試験 83 日に死亡した（死因は不明）。100 mg/kg/日群の一般状態悪化（円背位、削痩、脱力、呼吸異常、立毛、蒼白化、半眼、鼻及び口からの赤色分泌物、虚脱、痙攣、摂餌量低値、体重減少並びに体重増加量低値）、及び 20 mg/kg/日以上の群の死亡はダプロデュスタットの過度の薬理作用に関連した変化と考えられた。

ダプロデュスタットの薬理作用による赤血球及び血清鉄パラメータの高値が認められた。20 mg/kg/日以上の群で Hct、Hb 及び RBC の高値（対照群の 1.21～1.53 倍）、赤血球指数（MCV、MCH び RDW）の高値（対照群の 1.05～1.68 倍）並びに網状赤血球数の高値（対照群の 1.38～2.59 倍）が認められた。20 mg/kg/日以上の群の雄及び 100 mg/kg/日群の雌で血漿鉄の低値（対照群の 0.27 倍まで）、20 mg/kg/日以上の群で UIBC の高値（対照群の最大 2.8 倍）が認められた。20 mg/kg/日以上の群でみられた赤血球及び鉄パラメータの変化は、これらの動物でみられた骨髄（大腿骨及び胸骨）、脾臓又は肝臓における造血亢進に起因すると考えられた。また、これらの動物ではストレス性の変化と考えられる総白血球数及びリンパ球数の低値、副腎皮質肥大並びに胸腺のリンパ球溶解／萎縮が認められた。

赤血球増加症は、後述する 20 mg/kg/日以上の群でみられた血栓症又は多臓器うっ血（肺、肝臓、脾臓、腸間膜及び下顎リンパ節、消化管、副腎並びに胸腺）の原因であると考えられた。20 mg/kg/日以上の群で血小板数の低値が認められ、血栓形成との関連性が疑われた。これらの変化は 20 mg/kg/日以上の群の一般状態観察でみられた四肢の皮膚発赤、肉眼的にみられた血液の濃縮及び暗色化、並びに臓器の暗色化（膵臓、腸間膜リンパ節、空腸、回腸、盲腸、卵巣及び胸腺）に関連すると考えられた。

20 mg/kg/日以上の群で悪影響と考えられる所見が主に心臓（弁膜症、心房血栓、弁膜血栓、心内膜過形成及び心筋症）、肺（慢性受動性うっ血）、腎臓（梗塞、血栓、皮質尿細管色素沈着及び塩基性尿細管）、脳（虚血と一致する神経網の局所変性）及び胃（腺胃のびらん／潰瘍、粘膜下炎症細胞浸潤、出血及び血管内膜の肥厚）に認められた。肺の慢性受動性うっ血は、赤血球増加症並びに血栓症による循環障害及び弁障害による二次的な変化であると考えられた。腎臓及び脳でみられた虚血性変化は、弁血栓による塞栓又は赤血球増加症に伴う原発性血栓によって引き起こされたと考えられる。また、心筋症（ラットにおける自然発生性の変化）は限局性の心筋虚血により発現すると考えられていることから[Ayers, 1978; Greaves, 2000; Serabian, 2003]、20 mg/kg/日群の雄で認められた心筋症の頻度増加には、血栓症及びそれに伴う心筋虚血が関連していると考えられる。

20 mg/kg/日以上の群で肝酵素［アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、ALT、ALP 及び GLDH］の高値がみられたが、概して背景値の範囲内であり、関連する組織学的

変化が認められなかったため、悪影響ではないと判断した。20 mg/kg/日以上の群で血漿トリグリセリドの軽度～中等度の高値が用量依存的にみられ、投薬に関連した変化と考えられたが、関連する組織学的変化は認められなかった。100 mg/kg/日群で血漿コレステロールの高値がみられたが、4 及び 20 mg/kg/日群では軽度な低値が認められた。4 及び 20 mg/kg/日群のコレステロールの変化については、個別値が生理学的変動の範囲内であったこと、用量依存性がなかったこと、関連する組織学的変化が認められなかったことから、悪影響ではないと判断した。

20 mg/kg/日以上の群の雄で血漿尿素の高値がみられたが、血漿クレアチニンに変化が認められなかったため、薬理作用である造血亢進による二次的な変化であると考えられた。

4 mg/kg/日群では薬理作用に関連する赤血球系パラメータ、赤血球指数又は網状赤血球数の軽微な高値、白血球の低値及び鉄パラメータの変化がみられたが、これらに関連する悪影響は認められなかった。

4 週間の休薬後、体重、摂餌量、血液学的検査及び血液生化学的検査に関する変化は概して回復性を示したが、20 mg/kg/日以上の群で心臓、腎臓及び胃に上記の組織学的変化が認められた。また、投薬群で骨髄（大腿骨及び胸骨）の造血亢進、並びに脾臓の色素沈着（頻度及び程度の増大）が認められた。投与終了時にみられた肺及び脳の所見は、休薬後には認められなかった。

20 mg/kg/日以上の群で一般状態の悪化及び死亡がみられたことから、無毒性量は 4 mg/kg/日と推定された。試験 13 週における 4 mg/kg/日群の Cmax 及び AUC（雌雄合算平均）はそれぞれ 52.1 µg/mL 及び 654 µg·hr/mL であった。

2.6.6.3.3.1.5. 26 週間投与試験

各群雌雄各 12 匹の SD ラットにダプロデュスタットを 0（媒体）、0.8、4 及び 10 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、26 週間強制経口投与した（2011N126130、4.2.3.2.）。TK 評価のために各群雌雄各 3 又は 9 匹を追加した。一般状態観察、体重（TK 群含む）及び摂餌量測定、血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、血清心筋トロポニン I 測定、眼科学的検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査（TK 群数例を含む）を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.8.5.に示す。TK については 2.6.4.2.2.2.1.1.で考察する。

10 mg/kg/日群で赤芽球過形成（骨髄）及び髄外造血の亢進（肝臓又は脾臓）がみられ、末梢血においても赤血球パラメータ（RBC、Hb 及び Hct がそれぞれ対照群の 1.41、1.48 及び 1.43 倍）、RDW 及び網状赤血球数の高値が認められた。10 mg/kg/日群では造血亢進及び赤血球パラメータの高値に関連して、多数の臓器に悪影響と考えられる組織学的所見（血管炎、血栓症、出血、浮腫、うっ血及び梗塞）が認められた。試験 42～135 日に雄の 11 例で途中死亡又は一般状態悪化による安楽死がみられ、これらの動物では死亡又は安楽死前に振戦、四肢の運動制限、歩行異常、協調運動障害及びその他一般状態変化（脱水の疑い、被毛光沢の消失又は立毛、鼻口部の赤色分泌液、削痩、衰弱、背骨の突出、不規則性呼吸、浅呼吸、皮膚の蒼白化、活動低下、接触時冷感及び円背位）がみられ、上述の組織学的所見がより顕著に認められた。10 mg/kg/日群の雄で生存率の低下並びに体重増加量及び摂餌量の低値が認

められたため、試験 20 週に投与を中止した。10 mg/kg/日群の雌は試験 26 週の予定剖検時まで全例生存したが、観察された所見は概して雄と同様であった。

10 mg/kg/日群で血栓症又はうっ血に続発する組織学的変化が、心臓、腎臓及び肝臓を含む複数の臓器で認められた。心臓では、心房又は心室の血栓症が時折みられ、一部の動物で弁変性又は心内膜過形成が認められた。これらの変化は、内皮細胞及び炎症細胞を伴う弁又は心内膜の肥厚からなり、血栓による二次的影響と考えられた。雄の複数例の心筋で軽微～中等度の炎症及び軽微～軽度の変性／壊死が観察された。腎臓では、軽微～中等度の硝子円柱、好塩基性尿細管、硝子滴又は色素沈着の頻度及び程度の増大がみられ、これらの変化は血栓症によって起こる腎壊死／梗塞による二次的変化と考えられる。肝臓では軽微な小葉中心性の肝細胞萎縮が雄の複数例で観察され、本所見は重度のうっ血による二次的な変化と考えられた。

10 mg/kg/日群では試験期間を通して血小板数の低値がみられたが、病理組織学的検査において血管病変及び血栓が多臓器でみられていることから、本所見は血小板消費の増加に関連すると考えられた。10 mg/kg/日群の雄で試験 4 及び 13 週に好中球数の高値がみられたが、多発性の炎症性病変との関連が考えられた。

10 mg/kg/日群でみられた全身性うっ血は、試験 25 週の雌の眼科学的検査でみられた網膜血管のうっ血、及び試験期間を通して雌雄で観察された四肢の皮膚発赤と一致していた。

10 mg/kg/日群で軽微～中等度の腺胃のびらんが認められた。

10 mg/kg/日群の雄で胸腺の萎縮／壊死の頻度の増加がみられ、軽微～軽度の副腎皮質肥大が認められた。10 mg/kg/日群の雌雄では末梢血リンパ球数の低値も認められた。雄で一般状態悪化に関連する様々な変化が認められていることから、これらはストレス性の変化であると考えられた。

4 mg/kg/日群においても、RBC、Hb 及び Hct（それぞれ対照群の最大 1.10、1.15 及び 1.14 倍）の高値、並びに血小板数及びリンパ球数の低値が認められたが、10 mg/kg/日群よりも軽度な変化であり、関連する組織学的変化を伴わなかった。血液生化学検査において、4 mg/kg/日以上の群で血清トリグリセリドの高値、コレステロール、グルコース、尿素、総蛋白、アルブミン、カルシウム、カリウムの低値等の変化が認められたが、これらについても変化の程度が小さく、4 mg/kg/日では組織学的変化を伴わなかった。

0.8 mg/kg/日群では、病理組織学的検査及び血液学的検査において造血亢進を示唆する変化はみられず、雄のみで投薬に関連する皮膚の発赤、鉄パラメータの高値（血清鉄濃度、UIBC 又は TIBC）等が認められた。鉄パラメータの高値は 4 mg/kg/日以上の群の雌雄で認められており、ダプロデュスタットの薬理作用に関連した変化と考えられた。

10 mg/kg/日群において悪影響と考えられる血栓症及び胃のびらん等が認められたため、無毒性量は 4 mg/kg/日と推定された。試験 26 週における 4 mg/kg/日群の Cmax 及び AUC(0-t)（雌雄合算平均）はそれぞれ 46.8 µg/mL 及び 785 µg·hr/mL であった。

2.6.6.3.4. ウサギ

2.6.6.3.4.1. 経皮投与

2.6.6.3.4.1.1. 14 日間投与試験

各群 3 又は 6 匹の雄 NZW ウサギに健常及び損傷皮膚を設け、0（基剤：ワセリン）、0.5、1 及び 2%（w/w）のダプロデュスタット（0.5 mL／部位）を 1 日約 23 時間、14 日間経皮投与した（2011N125481、4.2.3.2.）。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、皮膚刺激性の評価、剖検及び病理組織学的検査（皮膚のみ）、並びに TK 評価（対照群及び 2%群）を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.8.6.に示す。TK については 2.6.4.2.2.3.2.で考察する。

ダプロデュスタットに関連する皮膚刺激性及び毒性は認められなかった。基剤（ワセリン）による表皮肥厚、軽微な正常角化性過角化、真皮の混合炎症細胞浸潤及び浮腫が認められた。ダプロデュスタット（基剤：ワセリン）の投与によって、基剤による皮膚の組織学的変化の程度、範囲又は頻度の低下が認められた。

2.6.6.3.5. イヌ

2.6.6.3.5.1. 経口投与

2.6.6.3.5.1.1. 3 及び 7 日間投与試験（用量設定試験）

7 日間投与試験

各群雌雄各 1 匹のビーグル犬にダプロデュスタットを 20、60 及び 120 mg/kg/日の用量で 7 日間反復強制経口投与した（CD2007/00353、4.2.3.2.）。一般状態観察、体重及び摂餌量評価（目視）、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検及び病理組織学的検査、並びに TK 評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.7.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.4.1.で考察する。

一般状態観察では、嘔吐（20 mg/kg/日以上、120 mg/kg/日で頻度及び程度の増大）及び糞便異常（60 mg/kg/日以上）がみられ、120 mg/kg/日群では摂餌量及び体重の減少（試験 0 日の 0.89 倍）が認められた。120 mg/kg/日群の雌で血清 ALP のわずかな増加（投与前値の 2.1 倍）が認められた。60 mg/kg/日以上の群でストレス性の変化と考えられる胸腺リンパ球減少がみられたが、それ以外に主要臓器に投薬に関連した組織学的変化は認められなかった。20 mg/kg/日以上の群で薬理作用に基づく赤血球パラメータ（Hb は投与前値の最大 1.28 倍）及び網状赤血球数の増加がみられ、60 mg/kg/日以上の群ではこれらに対する二次的な変化として血小板数又は白血球系パラメータの増加が認められた。

3 日間投与試験

イヌの 7 日間投与試験（CD2007/00353）で嘔吐がみられたため、3 日間投与試験では、投与後の嘔吐に対する代替投与方法又は給餌レジメンの影響を検討した（RD2007/01367、4.2.3.2.）。一般状態観察及び TK 評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.7.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.4.1.で考察する。

全身曝露量（平均 Cmax 及び AUC(0-t)）について、投与方法の違い（カプセル投与及び強制経口投与）による明らかな差は認められなかった。また、各投与法において全身曝露量に明らかな性差（>2 倍）は認められなかった。食後に強制経口投与したイヌでは、絶食下でカプセル投与したイヌよりも嘔吐が多くみられたため、本試験以降、イヌにはカプセルを用いてダプロデュスタットを投与した。

2.6.6.3.5.1.2. 4 週間投与試験

各群雌雄各 3 匹のビーグル犬にダプロデュスタットを 0（ゼラチンカプセルのみ）、3、30 及び 90 mg/kg/日の用量で 4 週間経口投与した（RD2007/01336、4.2.3.2.）。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、心電図検査、器官重量測定、剖検並びに病理組織学的検査（対照群及び 30 mg/kg/日群の精子ステージング検査を含む）を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.8.7.に示す。TK については 2.6.4.2.2.4.1.で考察する。

90 mg/kg/日群の雄 1 例を一般状態悪化のため試験 12 日に安楽死させた。90 mg/kg/日群の残りの動物についても、体重減少［雌雄でそれぞれ投与前値（試験-1 日）の 0.74～0.98 及び 0.78～0.85 倍］及び一般状態の悪化［活動低下、摂餌量の低値、糞便異常（粘液便、緑色化、赤色化、減少、軟便又は液状便）、削痩、皮膚弾性低下、流涎、歯肉の軽度な赤色化又は嘔吐を含む］が認められたことから、試験 19 日に安楽死させた。組織学的所見として、雄 2 例及び雌 1 例の胃に多発性びらん、潰瘍及び出血がみられた。また、髄外造血（肝臓及び脾臓）、血清アルブミンの減少、うっ血及び赤芽球過形成（胸骨及び大腿骨骨髄）、巨核球増加（肺における循環巨核球）又は胸腺リンパ球減少（胸腺の重量低値と関連）が認められた。胃のびらん／潰瘍及び出血は、摂餌量の低値とともに一般状態悪化に関連した可能性が考えられた。

90 mg/kg/日群では血清グルコースの低値［投与前値（試験-1 週）の最大 0.36 倍］も認められ、摂餌量の低値及び一般状態の悪化がその一因として考えられた。

30 mg/kg/日群の雌 2 例及び雄 1 例で体重減少（試験-1 日の 0.87～0.91 倍）がみられ、同群の別の雌では体重増加量の低値（対照群の 0.05 倍）が認められた。また、これらの動物ではバラツキはあるものの、血清アルブミンの軽微な減少（投与前値の 0.79 倍まで）及び総白血球数の増加（投与前値の最大 2.15 倍）が認められた。これらの変動に関連する一般状態変化として、軟便・液状便及び嘔吐の発現頻度の増加が認められた。試験 8 日より標準ペレットの給餌時間を延長し、試験 9 日より缶詰食を与えたところ、減少がみられた体重がおおよそ安定した。

3 又は 30 mg/kg/日群で骨髄の赤芽球過形成がみられ、30 mg/kg/日群ではうっ血（胸骨及び大腿骨骨髄）、髄外造血亢進（脾臓及び肝臓）及び巨核球増加（肺）が認められた。全投薬群で赤血球系パラメータの用量及び時間依存的な増加（投与前値と比較して、Hct、Hb 及び RBC は最大 1.53 倍、網状赤血球数、MCV 及び RDW はそれぞれ最大 7.3、1.07 及び 1.39 倍）が認められた。これらの変化に関連して平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）の減少（投与前値の最大 0.92 倍）が認められた。30 mg/kg/日以上の群では末梢血中に有核赤血球が観察された。赤血球への影響は、概して用量に依存して発現時期が早まり、雄よりも雌で

発現時期が早く、程度がやや顕著であった。3 mg/kg/日でも Hct、Hb 及び RBC の増加が認められ、試験 4 週までに Hb は雌雄でそれぞれ 1.22 及び 1.08 倍に増加（投与前値からそれぞれ 37.7 及び 14.7 g/L の増加）した。30 mg/kg/日以上の群では、血清鉄の減少（投与前値の最大 0.23 倍）が認められた。血清鉄の変化は雄において用量依存的で進行性であり、試験 7 日から変化が認められた。雌では試験 14 日から血清鉄の変化が認められたが、雄よりもバラツキが大きかった。30 mg/kg/日以上の群の雄で UIBC の増加（投与前値の最大 1.57 倍）、90 mg/kg/日群の雄及び 30 mg/kg/日以上の群の雌で TIBC の減少（投与前値のそれぞれ 0.79 及び 0.66 倍）が認められた。

30 mg/kg/日以上の群では、試験 7 日に総白血球数の一過性かつ軽微な増加（投与前値の最大 2.15 倍、主に好中球、リンパ球、単球及び好塩基球数の軽微な増加による）が認められた。試験 14～28 日の間には、30 mg/kg/日以上の群において総白血球数及び血小板数の軽微な増加（血小板数は投与前値の最大 1.29 倍）が認められた。

30 mg/kg/日以上の群では、ストレス性の変化と考えられる胸腺の重量低値及びリンパ球減少が認められた。

雄生殖器の病理組織学的検査（精巣の精子ステージング検査を含む）において、影響は認められなかった。

90 mg/kg/日で一般状態の悪化及び胃のびらん／潰瘍、30 mg/kg/日で体重への影響が認められたため、無毒性量は 3 mg/kg/日と推定された。試験 28 日における 3 mg/kg/日群の Cmax 及び AUC(0-t)（雌雄合算平均）はそれぞれ 2.23 µg/mL 及び 20.8 µg·hr/mL であった。

2.6.6.3.5.1.3. 13 週間投与試験

各群雌雄各 4 匹のビーグル犬にダプロデュスタットを 0（ゼラチンカプセルのみ）、1、3 及び 30/15 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、13 週間経口投与した（CD2009/00952、4.2.3.2.）。回復性評価のため、対照群及び 30/15 mg/kg/日群に雌雄各 2 匹を追加した。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、心電図検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査、並びに TK 評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.8.8.に示す。TK については 2.6.4.2.2.4.1.で考察する。

30 mg/kg/日群の雌で試験 1 週に摂餌量の低値（対照群の 0.62 倍）及び体重減少（最大 0.91 kg）が認められたため、最長 10 日間休薬し、試験 17 日に用量を 15 mg/kg/日に減量した。体重及び摂餌量への影響が 30 mg/kg/日群の雄及び 30/15 mg/kg/日群の雌でみられ、30/15 mg/kg/日群の雌の 4/6 例では特に顕著であり、一般状態観察で削痩が認められた動物もいた。投与開始後数週にわたり嘔吐及び下痢が時折観察され、これらは体重減少をより顕著にしたと考えられる。

ダプロデュスタットの投与により一般状態の悪化が認められたため、試験期間中に 4 例を安楽死させた。30 mg/kg/日群の雄 2 例を試験 8 又は 9 週に、30/15 mg/kg/日群の雌 2 例を試験 10 又は 11 週に剖検した。高用量群の生存例については、雄を試験 60 日（試験 9 週）、雌を試験 72 日（試験 11 週）に、投与期間終了時剖検群又は休薬群に割り付けた。これらの動物の一般状態悪化（振戦、ふらつき、協調運動障害／旋回運動／歩行異常、痙攣、虚脱、接触及び音への過敏反応、異常呼吸音、努力性呼吸、脱力、鎮静又は流涎）の原因は、後述

するダプロデュスタットの過度の薬理作用に関連する赤血球増加症及び血液粘稠度の亢進による循環障害及び低酸素症と考えられた。

ダプロデュスタットの薬理作用に関連する赤血球及び血清鉄パラメータの増加が認められた。3 mg/kg/日以上の群では RBC、網状赤血球数、Hct 及び Hb の用量依存的な増加（それぞれ投与前値の 1.05～1.64、1.21～1.91、1.08～1.48 及び 1.10～1.42 倍）が認められた。30 又は 30/15 mg/kg/日群では、RDW の増加（投与前値の 1.09～1.19 倍）、血漿鉄の低下（投与前値の 0.54～0.70 倍）、UIBC の増加（投与前値の 1.27～1.76 倍）も認められた。30 及び 30/15 mg/kg/日群では慢性的な Hct 高値（試験 7 週までの平均値は雌雄でそれぞれ 64.9 及び 70.7%）がみられていたため、同群でみられた一般状態変化（特に中枢神経系）は赤血球増加症に起因する過粘稠度症候群と組織低酸素症に関連するものと考えられた。

病理組織学的検査において、対照群及び投薬群の一部の組織でうっ血がみられたが、概して 30 及び 30/15 mg/kg/日群で広範に認められ、肝臓、腎臓及び脳については高用量群のみで認められた。これらの組織学的変化は、剖検時にみられた組織の赤色化又は暗色化、一般状態観察時にみられた腹部、耳、口及び歯肉の発赤と関連すると考えられた。また、骨髄（大腿骨及び胸骨）並びに脾臓（雄 1 例及び雌 2 例のみ）で造血亢進が認められた。

30 又は 30/15 mg/kg/日群の雌雄で血漿グルコース及びコレステロールの軽度な減少（それぞれ投与前値の 0.76 及び 0.75 倍）、並びに尿素、クレアチニン及びトリグリセリドの軽度な増加（それぞれ投与前値の 1.32、1.32 及び 1.54 倍）が認められた。関連する組織学的変化は認められず、これらの変化は摂餌量及び体重増加量の減少による影響と考えられた。

3 mg/kg/日群では、赤血球系パラメータ、赤血球指数、網状赤血球数及び鉄パラメータの軽微な増加がみられたが、これらはダプロデュスタットの薬理作用によるものであり、悪影響と考えられる一般状態変化及び組織学的所見を伴わなかった。

休薬期間において、投与期間中にみられた変化（体重、摂餌量及び臨床病理学的検査）、並びに投与期間終了時にみられた肉眼的及び組織学的変化はほぼ完全に回復した。RBC、Hct、MCHC、網状赤血球数及び組織学的な造血性変化にも回復傾向がみられたが、投薬群では依然として対照群又は投与前値よりもわずかに高かった。

15 mg/kg/日以上の群で一般状態の悪化及び死亡がみられたことから、無毒性量は 3 mg/kg/日と推定された。試験 13 週における 3 mg/kg/日の Cmax 及び AUC(0-t)（雌雄合算平均）はそれぞれ 2.34 µg/mL 及び 19.1 µg·hr/mL であった。

2.6.6.3.6. ミニブタ

2.6.6.3.6.1. 経皮投与

2.6.6.3.6.1.1. 14 日間投与試験（用量設定試験）

各群雌雄各 1 匹の Gottingen ミニブタに総体表面積の 10%に相当する投与部位を設け、0（基剤：ワセリン）、0.5、1 及び 2%（w/w）のダプロデュスタットを 1 日 1 回、14 日間経皮投与した（2012N148386、4.2.3.2.）。製剤分析（濃度及び均一性）、一般状態観察、皮膚観察、体重測定、摂餌量評価（目視）、血液学的検査、剖検、病理組織学的検査（投与部位

及びその近傍の皮膚のみ）並びに TK 評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.7.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.5.1.で考察する。

試験の結果、投薬に関連した皮膚刺激性は認められなかった。

2.6.6.3.6.1.2. 14 日間投与試験（用量設定試験）

各群雌雄各 1 匹の Gottingen ミニブタに総体表面積の約 10%に相当する投与部位を設け、0（基剤：ワセリン）、10、20 及び 35%（w/w）のダプロデュスタットを 1 日 1 回（21±1 時間）、14 日間経皮投与した（2013N185591、4.2.3.2.）。製剤分析（濃度及び均一性）、一般状態観察、皮膚観察、体重測定、摂餌量評価（目視）、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、病理組織学的検査（投与部位及びその近傍の皮膚のみ）並びに TK 評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.7.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.5.1.で考察する。

試験の結果、投与部位に組織学的変化はみられず、投薬に関連した皮膚刺激性は認められなかった。

2.6.6.3.6.1.3. 4 週間投与試験（用量設定試験）

各群雄 3 匹の Gottingen ミニブタ（7～8 ヵ月齢）に総体表面積の 10%に相当する投与部位を設け、0（基剤：ワセリン）、2、10 及び 35%（w/w）のダプロデュスタットを 1 日 1 回、4 週間経皮投与した（2015N231048、4.2.3.2.）。一般状態観察、皮膚観察、体重測定、摂餌量評価（目視）、血液学的検査、血液生化学的検査（投与前及び試験 4 週）、剖検、病理組織学的検査並びに TK 評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.7.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.5.1.で考察する。

死亡はみられず、一般状態観察、体重測定、摂餌量評価及び臨床病理学的検査において全身毒性を示唆する変化は認められなかった。35%（w/w）群の投与部位に紅斑、痂皮形成がみられ、病理組織学的検査においても軽度の表皮滲出液及び浮腫（真皮、表在性）が認められた。

2.6.6.3.6.1.4. 13 週間投与試験

各群雌雄各 4 匹の Gottingen ミニブタに総体表面積の約 10%に相当する投与部位を設け、0（基剤：ワセリン）、5、10 及び 20%（w/w）のダプロデュスタットを 1 日 1 回（21 時間±60 分）、13 週間（試験 91 又は 92 日まで）経皮投与した（2016N273683、4.2.3.2.）。製剤分析、一般状態観察、皮膚観察、体重測定、摂餌量評価（目視）、心電図検査（約 5 分間の波形異常及び不整脈の定性的評価）、眼科学的検査、血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、病理組織学的検査（投与部位、非投与部位及びその他肉眼病変のみられた組織のみ）並びに TK 評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.8.9.に示す。TK については 2.6.4.2.2.5.1.で考察する。

各群の投与量は 5、10 及び 20%製剤でそれぞれ 42、84 及び 168 mg/kg/日と推定された。

偶発的外傷により 168 mg/kg/日群の雌雄各 1 例をそれぞれ試験 43 及び 91 日に安楽死させた。

対照群を含む全群でごく軽度～最大（Grade 1～Maximized Grade 4）の紅斑、ごく軽度～重度（Grade 1～Grade 4）の浮腫、痂皮、痂皮の剥離及び脱色等の皮膚刺激性が認められた。これらの所見は限局性のごく小さな紅斑から始まることが多く、試験 1 週からみられた例もあったが、発現時期にはバラツキがあり、用量依存性もみられなかった。投与によってこれらの頻度又は程度は徐々に増大したが、投与期間前半までにおいて投薬群と対照群の間に差はみられず、ワセリン基剤又は投与手技（除毛及び半閉塞塗布）に関連した影響と一致していた。

投与期間後半において、投薬群の皮膚刺激性所見の頻度及び程度は対照群よりも高くなり、投与部位の所見はびまん性へと進行し、対照群でみられなかった潰瘍も認められるようになった。潰瘍は試験 11 週より観察され、42 mg/kg/日群の雌雄で 1/4 例ずつ、84 mg/kg/日群の雌雄でそれぞれ 1/4 例及び 3/4 例、168 mg/kg/日群の雌雄でそれぞれ 1/4 例及び 4/4 例に認められたが、潰瘍が剖検日まで認められた動物は 168 mg/kg/日群の雄 1 例のみであった。本動物では、病理組織学的検査において他の動物よりも顕著な表皮過形成、及び皮膚観察結果と一致した軽度の潰瘍が認められた。投薬群でみられたその他の組織学的変化については、対照群又は無処置の皮膚と比べて所見の種類及び程度に差はみられなかった。

168 mg/kg/日群の雄において、ダプロデュスタットの薬理作用に関連する赤血球パラメータ（RBC、Hb 及び Hct）の増加（それぞれ投与前値の 1.27、1.38 及び 1.31 倍）が認められた。

全投薬群で投薬に関連する皮膚潰瘍が認められたことから、局所刺激性に関する無毒性量を推定することはできなかった。試験 13 週における 42 mg/kg/日群の Cmax 及び AUC(0-t)は雄で 7.29 ng/mL 及び 107 ng·hr/mL、雌で 27.5 ng/mL 及び 338 ng·hr/mL であった。

2.6.6.3.7. サル

2.6.6.3.7.1. 経口投与

2.6.6.3.7.1.1. 14 日間投与試験（用量設定試験）

各群雌雄各 1 匹のカニクイザルにダプロデュスタットを 0（媒体）、10、30 及び 100 mg/kg/日の用量で 14 日間強制経口投与した（CD2009/00780、4.2.3.2.）。一般状態観察、体重測定、摂餌量評価（目視）、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、病理組織学的検査及び TK 評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.7.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.6.1.で考察する。

100 mg/kg/日群において、摂餌量の低値（試験 7 日まで）がみられ、ときに嘔吐、投与後の中等度の流涎、一過性の糞便異常（軟便又は粘液便）も認められた。また、100 mg/kg/日群において、雄で血清 ALT の高値（投与前値の 2.4 倍）、雌で血清コレステロールの低値（投与前値の 0.43 倍）が認められた。30 mg/kg/日以上の群では、試験 14 日に薬理作用に基づく赤血球パラメータ及び RDW（それぞれ投与前値の最大 1.21 及び 1.70 倍）の高値がみられ、30 mg/kg/日以上の群の雄及び 10 mg/kg/日以上の群の雌では網状赤血球数の高値（それぞれ投与前値の 12～60 及び 3.9～20 倍）が認められた。

2.6.6.3.7.1.2. 13 週間投与試験

各群雌雄各 4 匹のカニクイザルにダプロデュスタットを 0（媒体）、5、20 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、13 週間強制経口投与した（2010N108482、4.2.3.2.）。回復性評価のため、対照群並びに 20 及び 100 mg/kg/日群に雌雄各 2 匹を追加し、投与期間終了後、4 週間休薬させた。一般状態観察、体重測定、摂餌量評価（目視）、血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、心電図検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.8.10.に示す。TK については 2.6.4.2.2.6.1.で考察する。

一般状態観察では 100 mg/kg/日群の雌雄で液状便又は軟便、及び流涎が散発的に観察された。100 mg/kg/日群の雄 1 例（動物番号：404）では投与終了間際の 1 日に衰弱及び活動低下がみられた。本動物には投与最終週に試験に関連した数多くの処置が施されていた。本例では概して試験 9 週から徐々に体重が減少し、投与期間中に血清総蛋白、アルブミン、カルシウム及びリンの低値が認められた。100 mg/kg/日群の雄 2 例（動物番号：403 及び 404）で赤血球パラメータの一過性の低値がみられた。100 mg/kg/日群の雄 1 例（動物番号：403）では試験 8 週に一過性の黒色便（便潜血検査陽性）及び脱水が認められた。

全投薬群でダプロデュスタットの薬理作用に基づく赤血球造血の亢進が認められた。全投薬群において用量依存的な赤血球パラメータ（RBC、Hct 及び Hb）の高値（対照群の最大 1.83 倍）がみられ、20 mg/kg/日以上の群では網状赤血球数及び RDW の高値（それぞれ対照群の 5.77 及び 1.30 倍まで）、100 mg/kg/日群の雄では赤血球指数（MCV、MCH 及び MCHC）の低値が認められた。20 mg/kg/日以上の群では、血液学的変化に伴い骨髄で赤芽球過形成が認められた。20 mg/kg/日以上の群では、慢性的に Hct 高値であったにもかかわらず、血栓、組織うっ血又は低酸素症に関連する一般状態変化は認められなかった。

100 mg/kg/日群では、投与期間終了時剖検例で軽微な肺胞出血が認められた。本所見は超急性期所見であることから、肺内の循環赤血球が高濃度であったことにより増強された死戦期の変化と考えられた。100 mg/kg/日群では、投与期間終了時剖検例で胸腺重量の低値がみられたが、雄 1 例（動物番号：404）でみられた顕著な胸腺萎縮を除き、関連する組織学的変化は認められなかった。

100 mg/kg/日群の雌 2/6 例（動物番号：452 及び 453）で試験 13 週に血小板数の低値（それぞれ対照群の 0.46 及び 0.44 倍）が認められた。

100 mg/kg/日群では試験 4 及び 13 週に血清コレステロールの低値（対照群の 0.60～0.64 倍）がみられ、雄では試験 13 週に血清トリグリセリドの高値（対照群の 2.33 倍）も認められた。

100 mg/kg/日群で試験 13 週に血清 ALT の高値、20 mg/kg/日以上の群で試験 4 又は 13 週に血清 GLDH 値の高値が認められたが、肝臓に組織学的な変化は認められなかった。

4 週間の休薬後、20 mg/kg/日以上の群で血液学的パラメータの回復傾向を示唆する所見として、網状赤血球数の顕著な低値（対照群の 0.24 倍まで）及び赤血球パラメータの高値に対する回復傾向がみられ、骨髄において赤芽球過形成は認められなかった。赤血球指数（MCV、MCH 及び RDW）、血清コレステロール及び血小板数の変化については、休薬中も継続して認められた。投与期間にみられたその他の変化については、いずれも回復性が認

められた。薬理作用に基づく赤血球パラメータ増加の回復性が部分的であった原因として、本試験における休薬期間が赤血球寿命に対して短かったことが考えられる。

100 mg/kg/日群において悪影響がみられたため、無毒性量は 20 mg/kg/日と推定された。試験 13 週における 20 mg/kg/日群の Cmax 及び AUC(0-t)（雌雄合算平均）はそれぞれ 1.40 μg/mL 及び 14.8 μg·hr/mL であった。

2.6.6.3.7.1.3. 39 週間投与試験

各群雌雄各 4 匹のカニクイザルにダプロデュスタットを 0（媒体）、3、10 及び 50 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、39 週間強制経口投与した（2011N126131、4.2.3.2.）。回復性評価のため、対照群及び 50 mg/kg/日群に雌雄各 2 匹を追加し、投与期間終了後、6 週間休薬させた。一般状態観察、体重測定、摂餌量評価（目視）、血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、血清心筋トロポニン I 測定、眼科学的検査、心電図検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.8.11.に示す。TK については 2.6.4.2.2.6.1.で考察する。

一般状態悪化のため、3 mg/kg/日群の雄 1 例を試験 38 週に安楽死させた。一般状態の悪化に関連して、本動物の臨床病理学的検査において蛋白喪失を示唆する変化が認められた。10 mg/kg/日以上の群で同様の所見及び死亡が認められなかったため、本動物の一般状態悪化はダプロデュスタットの投与に関連する変化ではないと考えられた。

10 mg/kg/日以上の群では、ダプロデュスタットの薬理作用に関連する顕著な変化として、10 mg/kg/日以上の群で赤芽球過形成（骨髄）、赤血球パラメータ（RBC、Hb 及び Hct）の高値（対照群の 1.86 倍）、網状赤血球数の高値及び血清鉄パラメータの変化が認められた。また、顕著な赤血球造血亢進による変化として、10 mg/kg/日以上の群で血清 ALP 及び総ビリルビンの高値、並びにグルコースの低値が認められた。

10 mg/kg/日以上の群で血小板数の低値（対照群の 0.57 倍）、50 mg/kg/日群の雌でリンパ球数の低値が認められた。

病理組織学的検査において複数の臓器でうっ血がみられ、10 mg/kg/日以上の群では腎臓、肝臓、脳（脈絡叢）及び眼（脈絡膜）において変化が顕著であった。これらの所見と関連して、一般状態観察では皮膚の発赤、眼科学的検査では網膜血管のうっ血及び視神経乳頭の充血が認められた。50 mg/kg/日群の雌雄及び 10 mg/kg/日群の雌各 1 例の腎臓で軽微～中等度の尿細管色素沈着がみられ、赤血球崩壊による鉄／ヘム沈着に起因すると考えられた。また、50 mg/kg/日群の雄 1 例で軽度の腎細動脈肥大／過形成が認められた。

脳においても、Hct の高値及びうっ血に関連すると考えられる変化が認められた。10 mg/kg/日以上の群では、脳の脈絡叢に単核細胞浸潤（マクロファージを含む）が認められ、所見がみられた部位に限局性出血が起こったことによる変化と考えられた。また、50 mg/kg/日群の雌 1 例で脳幹に炎症が認められ、炎症性細胞だけでなく赤血球及び浮腫を伴っていたことから限局性の出血が示唆された。本動物では一般状態観察時に眼瞼下垂及び散瞳が認められており、本病理所見が関連している可能性が考えられた。

10 mg/kg/日以上の群で胃に粘膜出血、びらん及び潰瘍が認められた。これらはダプロデュスタットに関連した変化と考えられ、体重増加量の低値にも寄与していると考えられる。

50 mg/kg/日群においてダプロデュスタットに関連した骨格筋の筋線維再生がみられ、そのうちの 3 例は活動性の筋線維変性を伴っていた。筋線維変性は対照群の 2 例でも認められた。

3 mg/kg/日群では、ダプロデュスタットの薬理作用に基づく変化のみがみられ、赤芽球過形成（骨髄）、赤血球パラメータ（RBC、Hb 及び Hct）の高値（対照群の最大 1.16 倍）等が認められた。

休薬後、50 mg/kg/日群で赤血球パラメータに回復傾向がみられたが、投与前値及び対照群よりも高値であった。その原因として、本試験における休薬期間が赤血球寿命に対して短かったことが考えられる。50 mg/kg/日群の網状赤血球数は対照群よりも低値であり、このことはダプロデュスタットの薬理作用が消失したこと及び依然として赤血球パラメータが高値であることと一致している。血清総ビリルビン、血清 ALP 及び血小板数も回復傾向を示した。尿細管色素沈着は依然として認められた。雄の 1 例ではクッパー細胞（細胞質）及び脾臓の色素沈着、並びに髄外造血の亢進が認められた。雌雄の各 1 例では多臓器うっ血が認められた。雄の 1 例では、脳の脈絡叢に単核細胞浸潤が認められた。

胃のびらん及び潰瘍は休薬後には観察されなかった。雌の 1 例で胃小窩の過形成がみられたが、本所見は組織修復を示唆する変化と考えられた。

投薬群の雄 2 例及び対照群の雌 1 例の骨格筋において、休薬後に筋線維の再生がみられたが、活動性の壊死及び変性は認められなかった。

3 mg/kg/日群でみられた所見はダプロデュスタットの薬理作用による赤芽球過形成（骨髄）及び赤血球パラメータの高値に限られ、その程度が軽度であり、関連するその他の変化が認められなかったことから、無毒性量は 3 mg/kg/日と推定された。試験 39 週における 3 mg/kg/日群の Cmax 及び AUC(0-t)（雌雄合算平均）はそれぞれ 0.655 µg/mL 及び 3.49 µg·hr/mL であった。

表 2.6.6-5　被験物質一覧（反復投与毒性試験）

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (strain) or Test System	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg/mL) or (% w/w)	Formulation
KD207077-049A1	Repeat dose toxicity	Dog (beagle)	A	7 days	CD2007/00353 (D07078)	4, 12, 24	1% w/v methylcellulose
KD207077-046A2	Repeat dose toxicity	Rat (Sprague Dawley)	A	14 days	RD2006/01192 (R41921)	1, 3, 6	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2007	Repeat dose toxicity	Rat (Sprague Dawley)	A	14 days	CD2008/01306 (D08114)	10, 25, 50	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2007	Repeat dose toxicity	Rat (Sprague Dawley)	A	4 weeks	RD2007/01333 (R42197)	0.2, 0.7, 2	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2007	Repeat dose toxicity	Dog (beagle)	A	3 days	RD2007/01367 (D42209)	NA	Gelatin capsule
						18	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2007	Repeat dose toxicity	Dog (beagle)	A	4 weeks	RD2007/01336 (D42196)	NA	Gelatin capsule
NE-021129-Batch-01-2009	Repeat dose toxicity	Mouse (CD-1)	A	14 days	CD2009/00900 (D09169)	3, 10, 30	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Repeat dose toxicity	Mouse (CD-1)	A	13 weeks	2011N112096 (G10121)	0.3, 3, 6	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Repeat dose toxicity	Rat (Sprague Dawley)	A	13 weeks	CD2009/00951 (G09057)	0.08, 0.40, 2, 10	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Repeat dose toxicity	Rat (Sprague Dawley)	A	26 weeks	2011N126130 (G10276)	0.08, 0.4, 1	1% (w/v) methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Repeat dose toxicity	Dog (beagle)	A	13 weeks	CD2009/00952 (G09058)	NA	Gelatin capsule
NE-021129-Batch-01-2009	Repeat dose toxicity	Monkey (cynomolgus)	A	14 days	CD2009/00780 (D09121)	2.5, 7.5, 25	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Repeat dose toxicity	Monkey (cynomolgus)	A	13 weeks	2010N108482 (G10005)	1.25, 5, 25	1% w/v methylcellulose

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (strain) or Test System	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg/mL) or (% w/w)	Formulation
NE-021129-Batch-01-2009	Repeat dose toxicity	Monkey (cynomolgus)	A	39 weeks	2011N126131 (G10277)	0.75, 2.5, 12.5	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Repeat dose dermal irritation	Minipig (Gottingen)	A	14 days	2013N185591 (F70438N)	10, 20, 35%	Petrolatum
101257943	Repeat dose dermal irritation	Minipig (Gottingen)	A	14 days	2012N148386 (D12086)	0.5%, 1.0%, 2.0%	Petrolatum
111280742	Repeat dose dermal irritation	Minipig (Gottingen)	A	4 weeks	2015N231048 (F70727N)	2, 10, 35%	Petrolatum
111280742	Repeat dose dermal irritation	Rabbit (New Zealand White)	A	14 days	2011N125481 (L42845)	0.5%, 1%, 2%	Petrolatum
132377077[a]	Repeat dose toxicity	Mouse (CD-1)	A	13 weeks	2014N199031 (M70456G)	0.6, 2.0	1% w/v methylcellulose
152389102[b]	Repeat dose dermal toxicity	Minipig (Gottingen)	A	13 weeks	2016N273683 (F70916G)	5%, 10%, 20%	Petrolatum

Key:
a = The batch used for this study was manufactured by Route B1, which was also used for the Phase III clinical batches, and used the same synthetic route as the proposed commercial route (B3).
b = The batch used for this study was manufactured by Route B2, which was also used for the Phase III clinical batches, and used the same synthetic route as the proposed commercial route (B3).
NA = Not applicable.
Note: All studies were conducted with GSK1278863A, the parent form of daprodustat. Except where noted, the nonclinical repeat dose toxicity study batches were manufactured by a slightly different synthetic route (Route A, see 2.3.S.4.4.) than the Phase III clinical batches (Route B1) or the proposed commercial route (B3). Refer to 2.3.S.2.6.3. for further details. Specified impurities in the batches manufactured using the proposed commercial route of synthesis are qualified according to ICH Q3A (see 2.3.S.2.6 and 2.3.S.4.5).

2.6.6.4.　　遺伝毒性試験

2.6.6.4.1.　　緒言

ダプロデュスタットを用いて in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験を実施した。細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ TK 試験については、代謝活性化系（S9-mix）の存在下及び非存在下で適切な陰性対照（媒体）及び陽性対照を用いて実施した。In vivo 試験については、ラットを用いて経口投与による小核試験、染色体異常試験及びコメット試験を実施した。また、ダプロデュスタットの合成経路における遺伝毒性不純物に関する評価を行った。

ダプロデュスタットの代謝物 6 種［M2（GSK2391220）、M3（GSK2506104 及び GSK2531403）、M4（GSK2487818）、M5（GSK2506102）、M6（GSK2531398）並びに M13（GSK2531401）］についても遺伝毒性試験を実施した。

主要な試験はいずれも GLP に従い実施した。また、全ての試験は ICH S2（R1）ガイドラインに従って実施した。

試験に用いた原薬及び媒体の情報を表 2.6.6-7 に示す。

遺伝毒性試験の一覧を表 2.6.6-6 に示す。概要表は 2.6.7.9.及び 2.6.7.10.に示す。

表 2.6.6-6　ダプロデュスタット及び代謝物を用いた遺伝毒性試験一覧

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Studies with Daprodustat										
Ames test	S. typhimurium and E. coli	NA	In vitro	A	5 to 500 μg/plate[a]	NA	Yes	[redacted]	WD2007/01575 (V27887)	m4.2.3.3.1
Mouse lymphoma	L5178Y ($TK^{+/-}$) cells	NA	In vitro	A	5 to 70 μg/mL[b]	NA	Yes	[redacted]	WD2007/01578 (V27888)	m4.2.3.3.1
Micronucleus	Rat (Sprague Dawley)	6M[c]	Oral (gavage)	A	1000, 2000	2 days	Yes	[redacted]	WD2007/01574 (R27886)	m4.2.3.3.2
Chromosome aberration	Rat (Han Wistar)	6M	Oral (gavage)	A	500, 1000, 2000	Single	Yes	[redacted]	2012N133264 (R29957)	m4.2.3.3.2
Comet	Rat (Sprague Dawley)	5M	Oral (gavage)	A	250, 500, 1000	2 days	Yes	GSK	2012N139517 (R30069)	m4.2.3.3.2
Studies with Metabolites										
GSK2391220 (M2) Ames test	S. typhimurium and E. coli	NA	In vitro	D	50 to 5000 μg/plate	NA	Yes	GSK	2011N120130 (V29664)	m4.2.3.7.5
GSK2506104 (M3) Ames test	S. typhimurium and E. coli	NA	In vitro	E	50 to 5000 μg/plate	NA	Yes	GSK	2011N119269 (V29751)	m4.2.3.7.5
GSK2531403 (M3) Ames test	S. typhimurium and E. coli	NA	In vitro	F	50 to 5000 μg/plate	NA	Yes	GSK	2011N119441 (V29666)	m4.2.3.7.5

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
GSK2487818 (M4) Ames test	S. typhimurium and E. coli	NA	In vitro	G	50 to 5000 µg/plate	NA	Yes	GSK	2012N143001 (V30227)	m4.2.3.7.5
GSK2506102 (M5) Ames test	S. typhimurium and E. coli	NA	In vitro	J	50 to 5000 µg/plate	NA	Yes	GSK	2012N150862 (V30314G)	m4.2.3.7.5
GSK2531398 (M6) Ames test	S. typhimurium and E. coli	NA	In vitro	K	50 to 5000 µg/plate	NA	Yes	GSK	2012N150330 (V30313G)	m4.2.3.7.5
GSK2531401 (M13) Ames test	S. typhimurium and E. coli	NA	In vitro	N	50 to 5000 µg/plate	NA	Yes	GSK	2011N120131 (V29665)	m4.2.3.7.5
GSK2391220 (M2) Mouse lymphoma	L5178Y ($TK^{+/-}$) cells	NA	In vitro	D	200 to 1278.4 µg/mL	NA	Yes	GSK	2011N124122 (V29807)	m4.2.3.7.5
GSK2506104 (M3) Mouse lymphoma	L5178Y ($TK^{+/-}$) cells	NA	In vitro	E	500 to 1466 µg/mL	NA	Yes	GSK	2011N118972 (V29760)	m4.2.3.7.5
GSK2531403 (M3) Mouse lymphoma	L5178Y ($TK^{+/-}$) cells	NA	In vitro	F	500 to 1711 µg/mL	NA	Yes	GSK	2011N120944 (V29743)	m4.2.3.7.5

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
GSK2531401 (M13) Mouse lymphoma	L5178Y ($TK^{+/-}$) cells	NA	In vitro	N	40 to 425 µg/mL	NA	Yes	GSK	2011N120224 (V29742)	m4.2.3.7.5
GSK2531401 (M13) Comet assay	Mouse (CD-1)	4 or 5 or 6M[d]	Intravenous (bolus)	N	25, 100, 200[e]	2 days	Yes	GSK	2011N124885 (M29835)	m4.2.3.7.5
GSK2531401 (M13) Chromosome aberration	Mouse (CD-1)	5 or 6M[d]	Intravenous (infusion)	N	25, 100, 200	Single	Yes	[redacted]	2012N132787 (M29910)	m4.2.3.7.5

Key:
A = Daprodustat (Parent form). D = M2 metabolite of daprodustat, GSK2391220 (Parent form). E = M3 metabolite of daprodustat, GSK2506104 (Parent form). F = M3 metabolite of daprodustat, GSK2531403 (Parent form). G = M4 metabolite of daprodustat, GSK2487818 (Parent form). J = M5 metabolite of daprodustat, GSK2506102 (Parent form). K = M6 metabolite of daprodustat, GSK2531398 (Parent form). N = M13 metabolite of daprodustat, GSK2531401 (Parent form). NA = Not applicable.
a = Dose limited by precipitation.
b = Dose limited by cytotoxicity.
c = An additional 3M at 2000 mg/kg were included for toxicokinetic investigations only on Day 1.
d = Plasma samples were taken from satellite groups (3M/group) after the first dose to confirm exposure to GSK2531401.
e = 300 mg/kg/day was included, but due to morbidity, it was considered in excess of the maximum tolerated dose and thus not evaluated for genotoxicity.

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
[redacted] = [redacted]
GSK = GlaxoSmithKline.

2.6.6.4.2. ダプロデュスタットを用いた in vitro 試験

In vitro 試験におけるダプロデュスタットの最高濃度はガイドラインで定める許容限界、細胞毒性又は溶解性に基づき設定した。

2.6.6.4.2.1. 非哺乳類細胞を用いる試験

2.6.6.4.2.1.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験

サルモネラ菌（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌［WP2 uvrA（pKM101）］を用い、プレート法により S9-mix の存在下及び非存在下でダプロデュスタットの復帰突然変異誘発性を検討した（WD2007/01575、4.2.3.3.1.）。沈殿がみられたため、S9-mix の有無にかかわらず、最高濃度を 500 µg/plate とした。陽性対照物質はいずれの菌株においても復帰変異コロニー数の増加を示した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.9.1.に示す。

いずれの菌株においても、S9-mix の有無にかかわらず、復帰変異コロニー数の増加はみられず、ダプロデュスタットに復帰突然変異誘発性は認められなかった。

2.6.6.4.2.2. 哺乳類細胞を用いる試験

2.6.6.4.2.2.1. マウスリンフォーマ TK 試験

培養マウスリンパ腫細胞（L5178Y TK+/-）を用い、S9-mix の存在下及び非存在下でダプロデュスタットの遺伝子突然変異誘発性について検討した（WD2007/01578、4.2.3.3.1.）。陽性対照物質は突然変異頻度又は異常細胞の増加を示した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.9.2.に示す。

細胞毒性がみられたことから、S9-mix 存在下（相対総増殖率 11%）及び非存在下（相対総増殖率 17%）の 3 時間処理時の最高濃度を 70 µg/mL、S9-mix 非存在下の 24 時間処理時（相対総増殖率 17%）の最高濃度を 30 µg/mL に設定した。

いずれの条件下においても、S9-mix の有無にかかわらず、突然変異頻度の増加はみられず、ダプロデュスタットに遺伝子突然変異誘発性は認められなかった。

2.6.6.4.3. ダプロデュスタットの代謝物を用いた in vitro 試験

ダプロデュスタットのヒト代謝物を用いて遺伝毒性試験を実施した。いずれの試験も S9-mix 存在下及び非存在下で実施し、適切な溶媒及び陽性対照を評価に加えた。代謝物 M2（GSK2391220）、M3（GSK2506104 及び GSK2531403）、M4（GSK2487818）、M5（GSK2506102）、M6（GSK2531398）及び M13（GSK2531401）の最高濃度は、ガイドラインで定める許容限界濃度、細胞毒性又は溶解性を基に設定した。

以下の項ではこれらの代謝物を M2、M3、M4、M5、M6 及び M13 と標記した。M3 には上記の 2 つのエナンチオマーが含まれる。M5 及び M6 についてはヒトで多く存在する立体異性体（上記）のみについて評価した。

2.6.6.4.3.1. 非哺乳類細胞を用いる試験

2.6.6.4.3.1.1. 細菌を用いる復帰突然変異試験

サルモネラ菌（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌［WP2 uvrA（pKM101）］を用い、プレート法により S9-mix の存在下及び非存在下で、M2、M3、M4、M5、M6 及び M13 の復帰突然変異誘発性を検討した（2011N120130、2011N119269、2011N119441、2012N143001、2012N150862、2012N150330 及び 2011N120131、4.2.3.7.5.）。陽性対照物質はいずれの菌株においても復帰変異コロニー数の増加を示した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.9.3.～2.6.7.9.9.に示す。

各試験における被験物質の最高濃度は 5000 µg/plate に設定した。

いずれの菌株においても、S9-mix の有無にかかわらず、復帰変異コロニー数の増加はみられず、M2、M3、M4、M5、M6 及び M13 に復帰突然変異誘発性は認められなかった。

2.6.6.4.3.2. 哺乳類細胞を用いる試験

2.6.6.4.3.2.1. マウスリンフォーマ TK 試験

M2 及び M3 を用いた試験：

培養マウスリンパ腫細胞（L5178Y TK+/-）を用い、S9-mix の存在下及び非存在下で M2 及び M3 の遺伝子突然変異誘発性について検討した（2011N124122、2011N118972 及び 2011N120944、4.2.3.7.5.）。陽性対照物質は突然変異頻度又は小コロニーの増加を示した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.9.11.～2.6.7.9.13.に示す。

M2（GSK2391220）、M3（GSK2506104 及び GSK2531403）の最高濃度は、S9-mix 存在下及び非存在下 3 時間処理では、媒体（ジメチルスルホキシド）への溶解性に基づきそれぞれ 1278、1466 及び 1711 µg/mL、S9-mix 非存在下 24 時間処理では細胞毒性に基づきそれぞれ 1150、1280 及び 1300 µg/mL に設定した。

いずれの条件下においても、S9-mix の有無にかかわらず、突然変異頻度の増加はみられず、M2 及び M3 に遺伝子突然変異誘発性は認められなかった。

M13 を用いた試験：

培養マウスリンパ腫細胞（L5178Y TK+/-）を用い、S9-mix の存在下及び非存在下で M13 の遺伝子突然変異誘発性について検討した（2011N120224、4.2.3.7.5.）。陽性対照物質は突然変異頻度及び小コロニーの増加を示した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.9.10.に示す。

細胞毒性がみられたことから、S9-mix 存在下及び非存在下の 3 時間処理時の最高濃度をそれぞれ 160 及び 380 µg/mL、S9-mix 非存在下の 24 時間処理時の最高濃度を 425 µg/mL に設定した。

S9-mix 存在下で 3 時間、又は S9-mix 非存在下で 24 時間処理したときに M13 は弱陽性を示した。弱陽性を示した濃度（S9-mix 存在下 3 時間及び S9-mix 非存在下 24 時間）はいずれも高い細胞毒性を示した濃度であり（相対総増殖率はそれぞれ 11.9 及び 17.4%）、突然変異頻度は媒体対照のそれぞれ 2.4 及び 2.8 倍であった。S9-mix 存在下 3 時間処理では、陽性ウェルの増加が認められ、媒体対照と比較して主に小コロニーの増加が認められた。S9-mix

非存在下 24 時間処理では、媒体対照と比較して小コロニー及び大コロニー両方の増加が認められた。S9-mix 非存在下 3 時間処理では、突然変異頻度の増加はみられず、M13 に遺伝子突然変異誘発性は認められなかった。

2.6.6.4.4.　　ダプロデュスタットを用いた in vivo 試験

2.6.6.4.4.1.　　ラット経口投与小核試験

各群 6 匹の雄 SD ラットにダプロデュスタットを 0（媒体）、1000 及び 2000 mg/kg/日の用量で 2 回強制経口投与（約 24 時間間隔）し、ダプロデュスタットが多染性赤血球に染色体構造異常及び異数性を誘発する可能性を評価した（WD2007/01574、4.2.3.3.2.）。ガイドラインに従い、最高用量を 2000 mg/kg/日に設定した。最終投与の 24 時間後に全動物を安楽死させ、大腿骨骨髄塗抹標本を作製した。陽性対照群として、3 匹の雄にシクロホスファミドを 1 回強制経口投与した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.10.1.に示す。

2000 mg/kg/日群においてわずかではあるが統計学的に有意な小核を有する多染性赤血球の増加（2 倍）がみられたが、1000 mg/kg/日群では認められなかった。骨髄で赤血球造血を亢進させる化合物は、遺伝毒性とは異なる機序により、小核含有赤血球の増加を引き起こすことが知られている[Tweats, 2007; 薬食審査発 0920 第 2 号通知, 2012]。2000 mg/kg/日における小核のわずかな増加は、網状赤血球数の高値（対照群の 1.54 倍）から示されるように、ダプロデュスタットの薬理作用（赤血球造血亢進）に起因すると考えられ、直接的な遺伝毒性による影響ではないと考えられた。サテライト群（雄 3 匹）の試験 1 日における 2000 mg/kg 投与 2 時間後［推定最高血漿中濃度到達時間（Tmax）］の平均血漿中濃度は 116 µg/mL であった。

2.6.6.4.4.2.　　ラット骨髄染色体異常試験

各群 6 匹の雄 Han Wistar ラットにダプロデュスタットを 0（媒体）、500、1000 及び 2000 mg/kg の用量で単回強制経口投与し、骨髄細胞における染色体異常誘発性を評価した（2012N133264、4.2.3.3.2.）。ラット経口投与小核試験（2.6.6.4.4.1.）において忍容性が確認されているため、2000 mg/kg（ガイドラインに記載のある最高用量）を最高用量に設定した。陽性対照群（6 匹）には、シクロホスファミドを 1 回強制経口投与した。投与 16 時間後（全用量群）又は 42 時間後（高用量群及び媒体対照群）に大腿骨骨髄より検体を採取し、標本を作製した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.10.2.に示す。

全投薬群において、投与 16 時間後に骨髄リンパ球の分裂指数の顕著な低値がみられた。また、ダプロデュスタットの投与により染色体観察が困難となるほどの形態変化［染色体凝縮（つぶれた形状）］が認められた。2000 mg/kg 群の投与 42 時間後の標本で同様の影響はみられなかったが、本群では試験 2 日に死亡（2/6 例）がみられ、評価に十分な動物数が得られなかったことから、染色体異常解析は実施しなかった。

2.6.6.4.4.3. コメット試験

各群 5 匹の雄 SD ラットにダプロデュスタットを 0（媒体）、250、500 及び 1000 mg/kg/日の用量で 2 回強制経口投与（約 21～22 時間間隔）し、その肝臓を用いてダプロデュスタットの DNA 損傷性（コメット像で測定）を検討した。陽性対照群（雄 3 匹）には Ethyl methanesulphonate（EMS）を 250 mg/kg/日の用量で試験 2 日に投与した。ガイドラインに従い、最大耐量の 1000 mg/kg/日を最高用量に設定した。コメットの有無を評価するため、最終投与の約 3～4 時間後に全動物を安楽死させ、各動物の肝臓から単細胞懸濁液を調製し、標本を作製した（2012N139517、4.2.3.3.2.）。ダプロデュスタットの曝露を確認するためにサテライト群を設け、各群 3 匹に 250、500 及び 1000 mg/kg/日のダプロデュスタットを単回強制経口投与した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.10.3.に示す。

全投薬群において、%Tail DNA の増加はみられず、ダプロデュスタットの DNA 損傷性は認められなかった。サテライト群の初回投与 2 時間後における平均血漿中ダプロデュスタット濃度は、250、500 及び 1000 mg/kg 群でそれぞれ 112、111 及び 107 µg/mL（範囲はそれぞれ 109～114、107～114 及び 101～114 µg/mL）であった。

2.6.6.4.5. ダプロデュスタットの代謝物を用いた in vivo 試験

2.6.6.4.5.1. マウスコメット試験

各群 5 又は 6 匹の雄 CD-1 マウスに GSK2531401（M13）を 0（媒体）、25、100 及び 200 mg/kg/日の用量で 2 回静脈内投与（約 21 時間間隔）し、その肝臓を用いて、M13 の DNA 損傷性（コメット像で測定）を評価した（2011N124885、4.2.3.7.5.）。GSK2531401（M13）の曝露を確認するためにサテライト群を設け、各群 3 匹に 25、100 及び 200 mg/kg/日の GSK2531401（M13）を単回静脈内投与した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.10.4.に示す。

ガイドラインに従い、最大耐量を最高用量に設定した。試験結果の再現性を確認するために、独立した 3 試験を実施した。陽性対照群（雄 3～6 匹）には EMS を 300 mg/kg/日の用量で試験 2 日に投与した。

25 又は 100 mg/kg/日群では 3 試験ともに陰性の結果が得られ、再現性がみられた。200 mg/kg/日を投与した 1 試験では、対照群及び背景データと比較して% Tail DNA 及び Tail Moment のわずかな高値（個別及び群平均値）が認められたが、その程度は小さく、対照群及び背景データの範囲内又は上限値付近であった。200 mg/kg/日群で観察された弱い反応は独立した 3 試験において一致した結果が得られなかったため、M13 のコメット反応は「不確か（equivocal）」と考えられた。

陽性対照物質の EMS は、3 試験全てにおいて% Tail DNA 及び Tail Moment（コメット像で測定）の明らかな増加を示した。

サテライト群の投与 3～5 分後における平均血漿中 GSK2531401（M13）濃度は 25、100 及び 200 mg/kg 群でそれぞれ 170、604 及び 1260 µg/mL（範囲はそれぞれ 155～198、521～658 及び 985～1450 µg/mL）であった。

2.6.6.4.5.2. マウス骨髄染色体異常試験

各群 5 又は 6 匹の雄 CD-1 マウスに GSK2531401（M13）を 0（媒体）、25、100 及び 200 mg/kg の用量で単回静脈内投与し、染色体異常誘発性を評価した（2012N132787、4.2.3.7.5.）。陽性対照群（雄 5 匹）には、シクロホスファミドを単回静脈内投与した。投与 16 時間後（全群）又は 42 時間後（100 及び 200 mg/kg 群並びに媒体対照群）に大腿骨骨髄より検体を採取し、標本を作製した。GSK2531401（M13）の曝露を確認するためにサテライト群を設け、各群 3 匹に 100 及び 200 mg/kg/日の GSK2531401（M13）を単回静脈内投与した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.10.5.に示す。

ガイドラインに従い最大耐量（200 mg/kg）を最高用量に設定した。200 mg/kg 群では、投与後 16 時間に分裂指数の軽度低値（31%）がみられたが、投与後 42 時間に低値は認められなかった。いずれの投薬群おいても染色体異常細胞数の増加はみられず、GSK2531401（M13）に染色体異常誘発性は認められなかった。

サテライト群の投与 5 分後における平均血漿中 GSK2531401（M13）濃度は 100 及び 200 mg/kg 群でそれぞれ 329 及び 437 µg/mL（範囲はそれぞれ 313～362 及び 369～487 µg/mL）であった。

2.6.6.4.6. 遺伝毒性不純物の経路評価

変異原性不純物が原薬中に存在する可能性を確認するため、ダプロデュスタットの合成ルートを評価した。評価の結果、予定される臨床用量の原薬中において、既知の変異原性不純物又は変異原性が懸念される不純物（復帰突然変異試験、DEREK 及び Leadscope により評価）が毒性学的懸念の閾値（TTC）[薬生薬審発 0627 第 1 号通知, 2018]を超えて存在する可能性はないと考えられた（2.3.S.2.6.8.）。

表 2.6.6-7　被験物質一覧（遺伝毒性試験）

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (strain) or Test System	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg/mL)	Formulation
NE-021129-Batch-01-2007	Ames test	NA	A	NA	WD2007/01575 (V27887)	0.05 to 31.4	Dimethylformamide
NE-021129-Batch-01-2007	Mouse lymphoma	NA	A	NA	WD2007/01578 (V27888)	0.1227 to 31.4	Dimethylformamide
NE-021129-Batch-01-2007	Micronucleus	Rat (Sprague Dawley)	A	2 days	WD2007/01574 (R27886)	100, 200	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Chromosome aberration	Rat (Han Wistar)	A	Single	2012N133264 (R29957)	50, 100, 200	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Comet	Rat (Sprague Dawley)	A	2 days	2012N139517 (R30069)	25, 50, 100	1% w/v methylcellulose

Note: All studies were conducted with GSK1278863A, the parent form of daprodustat. The nonclinical genotoxicity study batches were manufactured by a slightly different synthetic route (Route A, see 2.3.S.4.4) than the Phase III clinical batches (Route B1) or the proposed commercial route (B3). Refer to 2.3.S.2.6.3 for further details. Specified impurities in the batches manufactured using the proposed commercial route of synthesis are qualified according to ICH Q3A (2.3.S.2.6 and 2.3.S.4.5).

Key:
A = Daprodustat (parent form).
NA = Not applicable.

2.6.6.5.　　がん原性試験

2.6.6.5.1.　　緒言

CD-1 マウス及び SD ラットを用いて最長 105 週間の経口投与による長期がん原性試験を実施した。これらの動物種及び系統は、がん原性試験で一般的に用いられており、病理学的背景値及び医薬品への反応性に関するデータが豊富に存在していることから選択した。

げっ歯類ではダプロデュスタットのヒト代謝物が生成されないことから、マウスの試験ではダプロデュスタットの 1 日 1 回経口投与に加え、3 種の代謝物（M2、M3 及び M13）を 1 日 1 回混合液として皮下投与した。代謝物を用いた評価は ICHM3（R2）ガイドライン[薬食審査発 0219 第 4 号通知, 2010]に従い、1 種（マウス）のみで実施した。いずれの試験にも評価に十分な数の動物を供した。

試験に用いた原薬及び媒体の情報を表 2.6.6-9 に示した。試験はいずれも GLP に従い実施した。

がん原性試験の一覧を表 2.6.6-8 に示す。概要表は 2.6.7.11.に示す。評価した組織の一覧、腫瘍発現頻度、腫瘍発現時期の一覧及び生存率を別添 2 に示した。

表 2.6.6-8　　ダプロデュスタット及び代謝物を用いたがん原性試験一覧

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Carcinogenicity	Mouse (CD-1)	60M/60F	Oral (gavage)	A D, E, N	0.2[a], 0.8[b], 0.8[a], 3[a], (daprodustat) 2.0 (M2), 2.5 (M3), 1.3 (M13)	Up to 105 weeks	Yes	[redacted]	2014N221714 (M70585G)	m4.2.3.4.1
Carcinogenicity	Rat (Sprague Dawley)	70M/70F	Oral (gavage)	A	0.02, 0.1, 0.8, or 4 0.02, 0.1, 0.8, or 7	Up to 95 weeks 99 weeks	Yes	[redacted]	2014N196080 (R70375G)	m4.2.3.4.1

Key:
A = Daprodustat (Parent form). D = M2 metabolite of daprodustat, GSK2391220 (Parent form). E = M3 metabolite of daprodustat, GSK2506104 (Parent form). N = M13 metabolite of daprodustat, GSK2531401 (Parent form).
a = 0.2, 0.8 and 3 mg/kg/day daprodustat groups were also administered a cocktail of metabolites [GSK2391220 (M2), GSK2506104 (M3) and GSK2531401 (M13)] by SC injection at 2, 2.5, and 1.3 mg/kg/day, respectively.
b = An additional 0.8 mg/kg/day group was administered daprodustat and once daily subcutaneous injection of the subcutaneous vehicle (no metabolites).

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]

2.6.6.5.2. マウス

2.6.6.5.2.1. 経口投与

2.6.6.5.2.1.1. 2 年間投与がん原性試験

各群雌雄各 60 匹の CD-1 マウスにダプロデュスタットを 0（媒体）、0.2、0.8 及び 3 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、104 週間以上強制経口投与した（2014N221714、4.2.3.4.1.）。また、全投薬群にヒト代謝物の混合液［GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）及び GSK2531401（M13）、それぞれ 2.0、2.5 及び 1.3 mg/kg/日］を 1 日 1 回皮下投与した。更に、これらの群とは別に 0.8 mg/kg/日のダプロデュスタットを 1 日 1 回強制経口投与し、媒体のみを 1 日 1 回皮下投与する群を設けた。TK 評価（試験 26 週まで）のため、各投薬群に雌雄各 51 匹を追加した。一般状態観察（腫瘤の触診を含む）、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査（対照群及び 3 mg/kg/日（＋代謝物）投与群のそれぞれ雌雄各 10 匹、Hct のみ）、剖検及び病理組織学的検査を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.11.1.に示す。TK については、2.6.4.2.2.1.1.3.で考察する。

病理組織学的検査において、ダプロデュスタットに関連した腫瘍性病変は認められなかった。

非腫瘍性病変については、病理組織学的検査において、代謝物の有無にかかわらず、全投薬群でダプロデュスタットの薬理作用に関連する髄外造血（脾臓又は肝臓）の亢進（頻度及び程度）、並びに全身性うっ血が認められた。これらの変化に関連して 3 mg/kg/日（＋代謝物）群では Hct の高値（雌雄それぞれ対照群の最大 1.56 及び 1.25 倍）がみられ、一般状態観察では 0.8 mg/kg/日（＋代謝物）以上の群で試験 10 週以降に四肢の皮膚発赤が用量依存的に認められた。0.8 mg/kg/日（代謝物無し）群では、これらの所見の程度は軽度であり、皮膚発赤の発現時期も遅かった。

その他の非腫瘍性病変として、坐骨神経、骨髄、血管、皮下投与部位、脾臓、肝臓、腎臓及び胸腺に変化が認められた。3 mg/kg/日（＋代謝物）群の雌では坐骨神経変性の頻度がわずかに増加し、骨髄過形成の頻度も増加した。0.8 mg/kg/日（代謝物無し）群の雄を除く全投薬群の様々な組織（特に生殖器及び付属腺、尿路、消化管、心臓、大動脈及び胸腺で顕著）で血管／血管周囲炎の増加が認められた。また、代謝物を皮下投与した全群で投与部位の出血の頻度が増加し、関連する脾臓マクロファージ、肝クッパー細胞又は腎尿細管の色素沈着の頻度が増加した。胸腺では、全投薬群の雌で代謝物投与の有無にかかわらずリンパ濾胞過形成の頻度増加が認められた。

2.6.6.5.3. ラット

2.6.6.5.3.1. 経口投与

2.6.6.5.3.1.1. 2 年間投与がん原性試験

各群 70 匹の雄 SD ラットにダプロデュスタットを 0（媒体）、0.02、0.1、0.8 及び 4 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、90 週間以上強制経口投与した。また、各群 70 匹の雌 SD ラットにダプロデュスタットを 0、0.02、0.1、0.8 及び 7 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、99 週間強制経口投与した（2014N196080、4.2.3.4.1.）。更に、TK 及びトランスクリプトミクス（試験

26 週まで）評価のため、各群雌雄各 3～9 匹を追加した。一般状態観察（腫瘤の触診を含む）、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査（対照群、0.8 及び 4/7 mg/kg/日群の雌雄各 10 匹：試験 26、39 及び 52 週の RBC、Hct、Hb 及び網状赤血球数のみ）、剖検及び病理組織学的検査を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.11.2.に示す。TK については 2.6.4.2.2.2.1.1.で考察する。

雄の 4 mg/kg/日群で生存率の低下がみられたため、試験 91 週（試験 631 日まで投与）から休薬し、試験 94 週（試験 653 日）から剖検を開始した。また、対照群でも生存率の低下がみられたため、雄の残りの全群を試験 96 週（試験 670 日まで投与）から休薬し、試験 97 週（試験 679 日）から剖検を開始した。雌においても同様に、対照群の生存率の低下がみられたため、試験 100 週（試験 698 日）から全群で剖検を開始した。雌においては剖検日の前日まで投与を継続した。

病理組織学的検査において、ダプロデュスタットに関連した腫瘍性病変は認められなかった。

ダプロデュスタットの薬理作用に基づく赤血球パラメータの高値が雄の 4 mg/kg/日群（対照群の最大 1.35 倍）及び雌の 7 mg/kg/日群（対照群の最大 1.26 倍）でみられ、雌の 7 mg/kg/日群では網状赤血球数の高値（対照群の最大 1.52 倍）も認められた。これらの変化は試験 39 週と 52 週で同程度であったが、試験 26 週では試験 39 及び 52 週と比べて軽度であった。また、雄の 4 mg/kg/日群及び雌の 7 mg/kg/日群では、試験 26 週の肝臓における平均エリスロポエチン（EPO）mRNA 発現量が高値（対照群平均値の約 250 倍）であった。これらの所見は高用量群で試験 12 週頃より観察された四肢等の末端（主に後肢、前肢及び耳介）における皮膚発赤の頻度増加に関連すると考えられた。観察された発赤はときに皮膚の乾燥／剥離を伴っていた。

病理組織学的検査では、ダプロデュスタットに関連した非腫瘍性病変として、雌雄の高用量群で腺胃にびらん／潰瘍（胃壁の陥凹、暗色部位、肥厚等の肉眼的所見と一致）の頻度及び程度の増大が認められた。また、0.8 mg/kg/日以上の雌雄で進行性心筋症の頻度又は程度の増大、雄の 4 mg/kg/日群では心房内血栓（腫瘤及び結節等の肉眼的所見と一致）及びその他様々な組織における血栓（ときに梗塞又は分節状壊死を伴う）の頻度及び程度の増大が認められた。進行性心筋症及び心房内血栓は雄の 4 mg/kg/日群の死亡率の高値（統計学的に有意）に関連する可能性が考えられた。これらは 0.8 mg/kg/日群の雄 10 例の死亡にも関連すると考えられたが、同群の生存率に影響は認められなかった。

表 2.6.6-9　被験物質一覧（がん原性試験）

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (strain) or Test System	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg/mL)	Formulation
8863B3B001	Carcinogenicity	Mouse (CD1)	A	Up to 105 weeks	2014N221714 (M70585G)	0.02[b], 0.08, 0.08[b], 0.3[b]	1% w/v methylcellulose, with 0.2% Tween 80 (v/v) with 5 mM NaOH[a]
8863B3B001	Carcinogenicity	Rat (Sprague Dawley)	A	Up to 99 weeks	2014N196080 (R70375G)	0.01, 0.01, 0.08, 0.4, 0.7	1% w/v methylcellulose, with 0.2% Tween 80 (v/v) with 5 mM NaOH

Note: All studies were conducted with GSK1278863A, the parent form of daprodustat. The nonclinical carcinogenicity study batches were manufactured by Route B1, which was also used for the Phase III clinical batches, and used the same synthetic route as the proposed commercial route (B3). Refer to 2.3.S.2.6.3. for further details. Specified impurities in the batches manufactured using the proposed commercial route of synthesis are qualified according to ICH Q3A (see 2.3.S.2.6 and 2.3.S.4.5).

Key:
a = Metabolites were formulated in 25 mM Phosphate Buffer, pH 7.4.
b = Some groups were also administered a cocktail of metabolites (M2, 3 and 13) of daprodustat formulated at 2, 2.5, and 1.3 mg/mL, respectively.
A = Daprodustat (parent form).

2.6.6.6.　　生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1.　　緒言

ダプロデュスタットの生殖発生への影響を評価するため、一連の生殖発生毒性試験を実施した。受胎能、出生前・後発生及び母体機能に関する評価は SD ラットを用いて実施した。胚・胎児発生に関する評価は SD ラット及び Dutch-Belted ウサギを用いて実施した。ウサギの胚・胎児発生に関する試験による代謝物の評価を補完するため、ラットの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では 3 種のヒト代謝物［M2（GSK2391220）、M3（GSK2506104）及び M13（GSK2531401）］をダプロデュスタットと併用投与した。

主要な試験はいずれも GLP に従い実施した。また、用量設定試験も GLP の一般原則に従って実施した。

試験に用いた原薬及び媒体の情報を表 2.6.6-11 に示した。

生殖発生毒性試験の一覧を表 2.6.6-10 に示す。概要表は 2.6.7.12.～2.6.7.15.に示す。

表 2.6.6-10　ダプロデュスタット及び代謝物を用いた生殖発生毒性試験一覧

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Male fertility	Rat (Sprague Dawley)	25M	Oral (gavage)	A	0.8, 4, 20	Up to 59 days	Yes	[redacted]	CD2009/00389 (G09059)	m4.2.3.5.1
Female fertility and early embryonic development	Rat (Sprague Dawley)	25F	Oral (gavage)	A	2, 7, 100	Up to 35 days	Yes	[redacted]	CD2009/00236 (G08250)	m4.2.3.5.1
Embryofetal development	Rat (Sprague Dawley)	17-20F (pregnant)	Oral (gavage)	A	0.5, 7, 60	12 days (Days 6 to 17 pc)	Yes	[redacted]	CD2009/00388 (G09060)	m4.2.3.5.2
PPND dose range	Rat (Sprague Dawley)	5F (pregnant)	Oral[b] (gavage)	A D, E, N	10[c], 40[d], 40[e], 60[f], 60[g] (daprodustat) 2.5, 7.5 (M2), 3.2, 9.6 (M3), 1.8, 5.4 (M13)	25 days (GD 6 to LD 6)	No	[redacted]	2016N305715 (R71028N)	m4.2.3.5.3
PPND[i]	Rat (Sprague Dawley)	22-23F (pregnant/ lactating)	Oral (gavage) SC	A D, E, N	0.8[h,j], 7[h,j], 40[h,j] (daprodustat) 2.5 (M2), 3.2 (M3), 1.8 (M13)	37 days (GD6 to LD21)	Yes	[redacted]	2018N365151 (R71242G)	m4.2.3.5.3
Embryofetal development dose range	Rabbits (Dutch Belted)	3 or 4F (pregnant)	Oral (gavage)	A	4, 30, 60, 125, 250	13 days (Days 7 to 19 pc)	No	GSK	CD2008/01041 (D08169)	m4.2.3.5.2
Embryofetal development	Rabbits (Dutch Belted)	21-22F (pregnant)	Oral (gavage)	A	4, 30, 60	13 days (Days 7 to 19 pc)	Yes	[redacted]	CD2009/00390 (G09061)	m4.2.3.5.2

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Toxicokinetic study[a]	Rabbits (Dutch Belted)	2 or 4F (pregnant)	Oral (gavage)	A	60	5 Days (Days 7 to 11 pc)	Yes	GSK	2012N140611 (G12109)	m4.2.3.5.2

Key:
A = Daprodustat (Parent form). D = M2 metabolite of daprodustat, GSK2391220 (Parent form). E = M3 metabolite of daprodustat, GSK2506104 (Parent form). N = M13 metabolite of daprodustat, GSK2531401 (Parent form).
GD = Gestation day. LD = Lactation day. pc = Post coitum. PPND = Pre- and post-natal development.
a = Study included an evaluation of systemic exposure to daprodustat and metabolites.
b = Daprodustat was administered orally, but some groups were also administered a cocktail of metabolites (M2, 3 and 13) of daprodustat or vehicle subcutaneously.
c = Given daprodustat at 10 mg/kg/day and metabolite cocktail - 2.5, 3.2, and 1.8 mg/kg/day (for M2, 3 or 13, respectively).
d = Given daprodustat at 40 mg/kg/day and vehicle (25 mM Phosphate Buffer, pH 7.4).
e = Given daprodustat at 40 mg/kg/day and metabolite cocktail - 2.5, 3.2, and 1.8 mg/kg/day (for M2, 3 or 13, respectively).
f = Given daprodustat at 60 mg/kg/day and metabolite cocktail - 2.5, 3.2, and 1.8 mg/kg/day (for M2, 3 or 13, respectively).
g = Given daprodustat at 60 mg/kg/day and metabolite cocktail - 7.5, 9.6, and 5.4 mg/kg/day (for M2, 3 or 13, respectively).
h = This daprodustat dose group was also administered a cocktail of metabolites [GSK2391220A (M2), GSK2506104A (M3) and GSK2531401A (M13)] by SC injection at 2.5, 3.2 and 1.8 mg/kg/day, respectively.
i = Study also evaluated F_1 pups on PND10.

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
GSK = GlaxoSmithKline.
[redacted] = [redacted]

2.6.6.6.2. 雄受胎能に関する試験

2.6.6.6.2.1. ラット

2.6.6.6.2.1.1. 経口投与

各群 25 匹の雄 SD ラットに Daprodust を 0（媒体）、0.8、4.0 及び 20 mg/kg/日の用量で、交配開始 28 日前から未処置雌との交配期間（1～14 日間）を通して剖検日まで、1 日 1 回強制経口投与した（計 56～59 回）（CD2009/00389、4.2.3.5.1.）。28 日間の投与後、雄を未処置雌と 1：1 で同居させ、交尾を確認し、雌を雄から離した日を交尾後 0 日とした。交尾後 20 日に F0 雌及び胎児を安楽死させた。F0 雄については、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、交尾行動及び受胎能の評価、剖検、雄生殖器重量測定、並びに精子数（精巣及び精巣上体）、精子の運動性及びステージング検査を実施した。F0 雌については、一般状態観察、体重測定、黄体数及び妊娠子宮重量測定、F1 胎児については着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数の評価、胎児体重測定、性別判定、胎盤の形態観察、並びに胎児の外表観察を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.13.1.に示す。

20 mg/kg/日群の雄において死亡がみられ、また、流涎及び剖検時の肉眼病変（暗赤色巣等の消化管における変化）の頻度増加が認められた。全投薬群の雄において、生殖器重量、交尾行動、受胎能及び生殖能にダプロデュスタットに関連する影響は認められなかった。4 及び 20 mg/kg/日群で精嚢重量（精液含む）の低値（絶対重量はそれぞれ対照群の 0.88 及び 0.79 倍）、20 mg/kg/日群で前立腺重量の低値（それぞれ対照群の 0.86 及び 0.87 倍）がみられたが、いずれも施設背景値の範囲内であり、他の生殖系パラメータに影響が認められなかったため、ダプロデュスタットに関連する影響ではないと考えられた。

以上の結果から、雄受胎能に対する無毒性量は 20 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.6.3. 雌受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.3.1. ラット

2.6.6.6.3.1.1. 経口投与

各群 25 匹の雌 SD ラットにダプロデュスタットを 0（媒体）、2、7 及び 100 mg/kg/日の用量で交配前 15 日間、雄未処置動物との交配期間及び妊娠 0～6 日に 1 日 1 回、強制経口投与し、妊娠 20 日に剖検した（CD2009/00236、4.2.3.5.1.）。F0 雌については、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、発情周期の観察、交尾行動及び受胎能の評価、剖検、黄体数の計数並びに子宮重量測定を実施した。F1 胎児については、着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数の評価、胎児体重測定、性別判定、胎盤の形態観察、並びに胎児の外表形態観察を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.13.2.に示す。

顕著な体重減少がみられたために 100 mg/kg/日群の雌 1 例を妊娠 17 日に安楽死させた。同群の残りの雌でも投与期間を通して体重増加量及び摂餌量の低値が認められた。また、100 mg/kg/日群では黄体数及び着床数の低値並びに着床後胚死亡率の高値がみられ、これらの変化に関連して生存胎児数の低値が認められた。

以上の結果から、ラットの雌受胎能及び初期胚発生に対する無毒性量は 7 mg/kg/日と推定された。また、本試験ではいずれの投薬群においても胎児の外表奇形及び変異は認められなかった。

2.6.6.6.4. 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.4.1. ラット

2.6.6.6.4.1.1. 経口投与

各群 22 匹の妊娠 SD ラットにダプロデュスタットを 0（媒体）、0.5、7 及び 60 mg/kg/日の用量で妊娠 6～17 日に 1 日 1 回強制経口投与し、妊娠 21 日に安楽死させ胎児検査を実施した（CD2009/00388、4.2.3.5.2.）。F0 雌については、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、剖検、妊娠子宮重量測定及び黄体数の評価を実施した。F1 胎児については着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数の評価、胎児重量測定、性別判定、胎盤の形態観察、並びに胎児検査（外表、内臓及び骨格）を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.14.1.に示す。

60 mg/kg/日群で母動物毒性（流涎及び摂餌量の低値を伴う体重増加量の低値）が認められた。母動物毒性のみられた 60 mg/kg/日群では、着床後死亡率の高値、生存胎児数の軽度低値及び胎児の肋骨変異（第 13 肋骨の短小、肋骨対及び胸椎骨化数の軽度減少）が認められた。いずれの投薬群においても明らかな奇形及び前述以外の変異は認められなかった。

以上の結果より、ラット胚・胎児発生に対する無毒性量は 7 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.6.5. 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.6.6.5.1. ラット

2.6.6.6.5.1.1. 経口投与（M2、M3 及び M13 を皮下併用投与）

用量設定試験：

ラットではダプロデュスタットのヒト代謝物が産生されないため、妊娠ラットにダプロデュスタット及び 3 種のヒト代謝物［GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）及び GSK2531401（M13）］を併用投与し、忍容性及び TK 評価を実施した（2016N305715、4.2.3.5.3.）。代謝物は M2、M3 及び M13 の混合液（媒体：25 mM リン酸緩衝液、pH7.4）として、低用量群にはそれぞれ 2.5、3.2 及び 1.8 mg/kg/日、高用量群にはそれぞれ 7.5、9.6 及び 5.4 mg/kg/日の用量で、1 日 2 回皮下投与（約 6 時間間隔）した。試験を第 I 相と第 II 相に分けて実施し、第 I 相では、各群 5 匹の妊娠 SD ラットにダプロデュスタットを 0（媒体）、60（＋代謝物低用量）及び 60（＋代謝物高用量） mg/kg/日の用量で妊娠 6 日～授乳 6 日まで、1 日 1 回強制経口投与した。第 II 相試験では、各群 5 匹の妊娠 SD ラットに、ダプロデュスタットを 0（媒体）、10（＋代謝物低用量）、40（代謝物なし）及び 40（＋代謝物低用量） mg/kg/日の用量で妊娠 6 日～授乳 6 日まで、1 日 1 回強制経口投与した。TK 評価のため、各群 6 匹を追加し、妊娠 6～10 日に被験物質を投与した。両試験において、F0 雌では、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、妊娠、着床数、分娩及び母性行動の評価並びに剖検、F1 出生児では生存率の評価、外表形態観察、性別判定、一般状態観察並びに体重測

定を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.12.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.2.1.2.で考察する。

ダプロデュスタットに関連する変化として、40 及び 60 mg/kg/日群の母動物で妊娠後期に摂餌量及び体重増加量の低値並びに体重減少がみられ、60 mg/kg/日群では授乳期間に摂餌量の低値を伴う重度の体重増加量の低値又は体重減少が認められた。40 mg/kg/日群では、授乳期間中においても体重増加量の高値が認められた。40 mg/kg/日以上の群の出生児では、生後 7 日まで体重の低値がみられ、60 mg/kg/日群では F1 出生児の生存率低下及び生存児数／腹の低値（生後 7 日まで）が認められた。

10 mg/kg/日群においてダプロデュスタットに関連する影響はみられず、40 及び 60 mg/kg/日群において代謝物の有無による明らかな差は認められなかった。

本試験：

各群 24 匹の妊娠 SD ラットに、ダプロデュスタットを 0（媒体）、0.8、7 及び 40 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日～授乳 20 日（主試験群）に 1 日 1 回強制経口投与し、更に、全投薬群に対してヒト代謝物の混合液［GSK2391220（M2）：2.5 mg/kg/日、GSK2506104（M3）：3.2 mg/kg/日、GSK2531401（M13）：1.8 mg/kg/日］を 1 日 2 回皮下投与（6 時間間隔）した。F0 母動物は自然分娩させ、授乳 21 又は 22 日に剖検した。TK 評価のため、各群 6 匹を追加し、妊娠 6～9 日又は妊娠 6 日～授乳 21 日に被験物質を投与した（2018N365151、4.2.3.5.3.）。F0 母動物については、一般状態観察、体重及び摂餌量測定（摂餌量は主試験群のみ）、ダプロデュスタット及び代謝物の血漿中濃度測定（妊娠 9 日及び授乳 21 日）、分娩、授乳及び哺育行動の評価、子宮内検査並びに剖検、F1 出生児については、生存率評価、性別判定、外表形態観察、一般状態観察、体重測定、ダプロデュスタット及び代謝物の血漿中濃度測定（生後 10 日、母乳を介した曝露の評価）、神経行動機能検査（聴覚性驚愕反射、自発運動、Morris 型水迷路を用いた学習機能検査）、性成熟（包皮分離及び膣開口を含む）、発情周期、交尾能、分娩及び哺育行動の評価、子宮内検査、剖検並びに大腿骨長測定、F2 出生児については、生存率評価、性別判定、外表形態観察、一般状態観察並びに及び体重測定（生後 7 日まで）を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.15.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.2.1.1.で考察する。

ダプロデュスタット及び代謝物に関連する F0 母動物の死亡及び一般状態の悪化は認められなかった。40 mg/kg/日（＋代謝物）群の F0 母動物において、妊娠 6～21 日に体重増加量の軽度な低値（対照群の 0.93 倍）がみられたが、妊娠 6～10 日、6～14 日又は 6～18 日の体重増加量に影響がみられなかったことから、本変化は妊娠後期の影響によるものと考えられた。授乳期間中においても、40 mg/kg/日（＋代謝物）群の F0 母動物で授乳 1～4 日に一過性の体重増加量の低値（対照群の 0.62 倍）が認められた。摂餌量についても、40 mg/kg/日（＋代謝物）群の F0 母動物で妊娠 18～21 日に統計学的に有意な低値（対照群の 0.84 倍）がみられ、妊娠後期の体重増加量の低値と関連していると考えられた。その他の投薬群では妊娠期間中の摂餌量に影響は認められなかった。40 mg/kg/日（＋代謝物）群の摂餌量は授乳期間中にも全期間にわたり低値であり、授乳 4～8 日には統計学的に有意であった（対照群の 0.88 倍）。

F1 出生児の生存率（生後 4 日生存児数／生後 1 日生存児数）は 40 mg/kg/日（＋代謝物）群で低値であった（対照群の 98.2%に対して 86.6%）。40 mg/kg/日（＋代謝物）群において、出生児死亡の増加が生後 2～4 日（対照群の 1.5%に対して 12.7%）及び 5～7 日（対照群の 0%に対して 1.3%）にみられ、哺育率（生後 21 日生存児数／生後 4 日生存児数）は低値（対照群の 100%に対して 98.5%）を示した。40 mg/kg/日（＋代謝物）群において、生存出生児数／腹及び同腹児数の低値（生後 4、7、14 及び 21 日において対照群の 0.82～0.84 倍）がみられた。40 mg/kg/日（＋代謝物）群の出生児体重は生後 1、4 及び 7 日に低値（対照群の 0.87～0.90 倍）であったが、生後 14 及び 21 日には対照群と同程度であった。

40 mg/kg/日（＋代謝物）群では F1 動物の 8 例に腹部表面の限局性膨隆が生後 53 日以降にみられ、そのうち 5 例を剖検したが、明らかな異常は認められなかった。これらの動物でその他の特筆すべき所見は認められなかったことから、本所見の意義は不明であり、投薬に関連するが悪影響ではないと考えられた。

40 mg/kg/日（＋代謝物）群で F1 出生児の体重増加量の低値が生後 22～29（対照群の 0.91 倍まで）及び生後 36～43 日（雄のみ、対照群の 0.93 倍）が認められたが、その後の体重増加量は妊娠及び授乳期間中の F1 母動物を除いて対照群と同程度であった。40 mg/kg/日（＋代謝物）群の F1 母動物の体重増加量は妊娠期間中（妊娠 0～21 日）に低値（対照群の 0.90 倍）であったが、妊娠早期（妊娠 0～7 日及び妊娠 0～14 日）に影響がみられなかったことから、本変化は妊娠後期の影響を反映していると考えられた。これらの体重増加量の低値は授乳期間中にもみられ、40 mg/kg/日（＋代謝物）群の F1 母動物の体重増加量は授乳 1～7 日に低値（対照群の 0.25 倍）であった。

F0 母動物の妊娠期間、分娩及び剖検に投薬による影響はみられず、死産児数、F1 出生児の死亡数（生後 1 日）、性比にも投薬による影響は認められなかった。また、F1 出生児の外表検査（出生時）においても異常は認められなかった。F1 出生児の性成熟、行動、発情周期、生殖能、分娩、剖検及び大腿骨長、並びに F2 出生児の成長及び発達（生後 7 日まで）に投薬による影響は認められなかった。

40 mg/kg/日（＋代謝物）群で F1 出生児の生存率低下がみられたことから、F0 母動物の生殖能及び出生児の出生前・後の発達に対する無毒性量は 7 mg/kg/日（＋代謝物）と推定された。7 mg/kg/日（＋代謝物）の F0 母動物の妊娠 9 日及び授乳 21 日における AUC(0-t)は、ダプロデュスタットで 855 及び 613 μg·hr/mL、代謝物 M2 で 2.50 及び 2.24 μg·hr/mL、M3 で 2.47 及び 2.28 μg·hr/mL、M13 で 1.94 及び 1.64 μg·hr/mL であった。7 mg/kg/日（＋代謝物）の F1 出生児の生後 10 日の血漿中濃度（Cmax）はダプロデュスタットで 18.6～38.5 μg/mL、M2 で 3.51～17.9 ng/mL、M3 で 0.407～3.32 ng/mL であり、M13 では定量下限値～1.21 ng/mL の範囲であった。

上記試験成績を基に胚・胎児発生への影響を評価することが可能と考える根拠

ラットの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では、外表及び主要な骨格異常を生後 1 日の検査、内臓及び骨格異常を出生後の種々の検査（一般状態観察、成長、骨長、自発運動及び水泳運動評価）により評価し、更に生後 91 日に肉眼検査（剖検）を追加し、胚・胎児発生に対する影響を評価した。本アプローチは、「種の生存又は健康に悪影

響を及ぼす可能性がある永久的な形態変化」として特徴づけられる奇形の定義に基づいている[Chahoud, 1999]。奇形は永久的な形態変化であることからいずれの年齢でも肉眼的観察により検出可能であると考えられ、このことは胚・胎児期に誘発された奇形を出生後に評価することの有用性を示唆している。

本試験では、3 種のヒト代謝物（M2、M3 及び M13）を直接投与し、奇形を検出するために、胸部、腹部及び骨盤内臓器の肉眼的評価を含む詳細な剖検を生後 91 日に追加した。また、骨格奇形を含む潜在的な外表奇形を同定するために、詳細な外表検査（生後 1 日）及び骨長測定を含めた。更に、投薬群と対照群の生存出生児の評価を行い、着床後への潜在的影響を同腹児数の差として検出した。ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験、並びに前述の検査を追加した出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験により、胚・胎児発生に対するダプロデュスタット及び代謝物の安全性を評価することが可能と考えられた。ラットの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の投与期間は、妊娠 6 日～授乳 20 日（出生児の離乳まで）であり、その期間は器官形成の主要期間及び胎児の発達期間を含むことから、標準的な胚・胎児発生に関する試験より出生前曝露期間は長期となっている。標準的な胚・胎児発生試験において評価される胚死亡、外表・内臓・骨格異常に対する潜在的影響を、本試験において評価可能と考えた根拠及び理由を以下に詳述する。

外表異常及び胚死亡

生後 1 日の拡大鏡を用いた詳細な外表検査により、外表異常を検出することが可能であると考えられた。試験実施施設では、本検査を実施する職員に対して、胚・胎児発生に関する試験の胎児外表検査に関する教育訓練が同様に実施されていた。外表検査では、頭部の一般的な形態、躯幹の連続性、各足の指の数、四肢の長さと形、尾の長さと直径、肛門の有無、胃内の乳の有無について観察していた。また、性別及び生存率の評価も実施し、死亡した児については出生時の生存／死亡を肺浮遊試験において確認していた。更に、分娩時の同腹児数の評価からは、胚死亡に対する潜在的影響の評価が可能であった。

したがって、上記の情報は通常の胚・胎児発生試験で得られる外表検査及び胚死亡の情報と同等であると考えられた。

内臓異常

奇形は出生児の外観又は機能に影響を及ぼす形態異常であるため、成長及び発達に影響を及ぼす奇形は生後 91 日の詳細な剖検により検出可能であったと考えられた。また、本試験では出生児の発達及び成長を評価しているため、出生児の機能に影響を及ぼす奇形があった場合には発達又は成長への影響として検出されていたと考えられる。生後 91 日の詳細な剖検（大腿骨長測定を含む）は、適切な訓練を受け、病理学的検査の経験を有する有資格者によって実施されていた。本検査には、標準操作手順書に従った外表観察、並びに腹部及び胸部の内臓検査（腎臓及び胃の内部観察を含む）が含まれていた。

骨格異常

骨格奇形とは一般的に骨の形状変化及び喪失のことを指し、骨形状の重大な変化又は特定の骨の喪失は、生後 1 日の外表検査及び試験期間を通じて実施された詳細な一般状態観察において、異常として検出可能であったと考えられた。また、骨格の大奇形と定義される変化は運動能に影響するため、機能的評価（聴覚性驚愕反射、自発運動量又は Morris 型水迷路試験）において検出可能であったと考えられた。更に、骨成長に対する影響は大腿骨長の評価で検出可能である。本試験では、生存、発達及び機能に悪影響を及ぼす恒久的な形態変化は認められなかった。本試験での検出が難しいと考えられる軽度の骨格異常又は変異については、変異の定義に基づき、リスク評価の観点から大きな懸念ではないと考えられた。なお、変異は「生存又は健康に悪影響を及ぼす可能性のない、正常集団内で起こる変化」と定義され、その中には成長又は形態形成の遅延が含まれる[Chahoud, 1999]。

以上のことから、ウサギの胚・胎児発生に関する試験における代謝物の評価に本試験の評価を追加することで、3 種のヒト代謝物（M2、M3 及び M13）の胚・胎児発生に対する影響（胚死亡、外表、内臓及び骨格異常）を適切に評価できると考えた。

2.6.6.6.6. 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.6.1. ウサギ

2.6.6.6.6.1.1. 経口投与

用量設定試験：

妊娠 Dutch-Belted ウサギを用いて用量設定試験を実施した（CD2008/01041、4.2.3.5.2.）。各群 3 又は 4 匹の妊娠 Dutch-Belted ウサギにダプロデュスタットを 0（媒体）、4、30、60、125 及び 250 mg/kg/日の用量で、妊娠 7～19 日に 1 日 1 回強制経口投与し、妊娠 29 日に剖検した。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、子宮重量測定、黄体数、着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数の評価、胎児体重測定、胎児の外表形態観察並びに TK 評価を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.12.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.3.1.で考察する。

250 mg/kg/日群の全例及び 125 mg/kg/日群の 1 例で体重減少（妊娠 7 日において 10%超）及び摂餌量低値が認められたため、それぞれ妊娠 12 及び 20 日に安楽死させた。125 mg/kg/日群の残りの動物においても体重減少又は体重増加量の低値が認められた。4 mg/kg/日以上の群で体重増加量の低値及び用量依存的な摂餌量の低値がみられ、4、30 及び 60 mg/kg/日群における体重増加量の低値はそれぞれ対照群の 0.89、0.98 及び 0.69 倍であった。30 mg/kg/日以上の群でダプロデュスタットの薬理作用による赤血球造血の亢進が赤血球パラメータの高値として認められた。

本試験：

各群 22 匹の妊娠 Dutch-Belted ウサギにダプロデュスタットを 0（媒体）、4、30 及び 60 mg/kg/日の用量で妊娠 7～19 日に 1 日 1 回、強制経口投与し、妊娠 29 日に安楽死させ胎児検査を実施した（CD2009/00390、4.2.3.5.2.）。F0 雌については、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、ダプロデュスタットの血漿中濃度測定（妊娠 11～12 日）、剖検並びに黄体

数の評価、F1 胎児については、着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数の評価、胎児体重測定、性別判定、胎盤の形態観察並びに胎児検査（外表、内臓及び骨格）を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.14.2.に示す。TK については 2.6.4.2.2.3.1.で考察する。

60 mg/kg/日群の 1 例が妊娠 25 日に流産したため、安楽死させた。本動物では体重減少及び摂餌量の低値が認められていたため、流産はダプロデュスタットによる母動物毒性（体重減少及び摂餌量の低値）の二次的な影響であると考えられた。また、60 mg/kg/日群の別の 1 例でダプロデュスタットによる体重及び摂餌量低値、並びに一般状態悪化（糞便異常等）がみられたため、本動物を妊娠 20 日に安楽死させた。また、対照群及び 4 mg/kg/日群の各 1 例で体重減少及び摂餌量の著しい低値がみられたため、これらの動物を安楽死させた。これらの動物では剖検時に毛髪胃石が認められた。

投与期間中（妊娠 7～20 日）、いずれの投薬群においても母動物毒性が観察され、妊娠 7～20 日の体重増加量は 4、30 及び 60 mg/kg/日群でそれぞれ対照群の 0.67、0.75、0.58 倍であった。投与期間終了後（妊娠 20～29 日）、30 及び 60 mg/kg/日群において体重増加量の著しい低値が認められた（両群ともに対照群の 0.67 倍）。投与開始～剖検前（妊娠 7～29 日）における投薬群の体重増加量は対照群よりも低値であった。

4 mg/kg/日以上の群において、同腹児数及び生存胎児数／腹の低値（$p \leq 0.05$）がみられ、投薬群では着床数の低値（4 及び 60 mg/kg/日で $p \leq 0.05$）、30 mg/kg/日群では吸収胚数／腹の高値（$p \leq 0.05$）を伴っていた。着床数の低値及びそれに続く同腹児数及び生存胎児数／腹の低値は投与期間よりも前に起こった影響であると考えられることから、これらはダプロデュスタットの投与に関連する変化ではないと判断した。30 mg/kg/日群における吸収胚数の高値（着床後死亡数・率）は、2 例の母動物（44.4 及び 62.5%）並びに他 4 例の母動物（33.3%）の高値を反映していた。また、他の用量群の着床後死亡率は背景値の範囲内（1.6～11.7%）であり[Spence, 2003]、用量依存性も認められなかった。

黄体数、着床数、生存・死亡胎児数、吸収胚数、性比、胎児体重、妊娠子宮重量及び胎盤形態に投薬による影響はみられず、投薬に関連した奇形及び変異は認められなかった。

以上のことから、ウサギの胚・胎児発生に対する無毒性量は、最高用量の 60 mg/kg/日と推定され、妊娠 11～12 日（投与 5 日目）の Cmax 及び AUC(0-24h)はそれぞれ 11.8 µg/mL 及び 197 µg·hr/mL であった。

なお、本試験ではヒト代謝物の定量を実施しなかったため、妊娠ウサギに無毒性量（60 mg/kg/日）を投与したときの代謝物の曝露量を評価する目的で別の TK 試験を実施した。

TK 試験：

2 及び 4 匹の妊娠 Dutch-Belted ウサギにそれぞれダプロデュスタットを 0（媒体）及び 60 mg/kg/日（胚・胎児発生試験の高用量と同じ）の用量で妊娠 7～11 日に 1 日 1 回、強制経口投与し、妊娠 11～12 日（投与 5 日目）におけるダプロデュスタット及びヒト代謝物の曝露量を評価した（2012N140611、4.2.3.5.2.）。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.14.3.に示す。TK については 2.6.4.2.2.3.1.に考察する。なお、本試験の M3 及び M13 定量時の検量線作成には、ヒト主代謝物［GSK2506104（M3）及び GSK2531401（M13）］のもう一方のエナンチオマーを用いた。

60 mg/kg/日（ウサギ胚・胎児発生試験の無毒性量）における M2（GSK2391220）、M3（GSK2531403）及び M13（GSK2531400）の曝露量は Cmax でそれぞれ 1.02、0.222 及び 0.0158 µg/mL、AUC(0-t)でそれぞれ 11.7、2.69 及び 0.194 µg·hr/mL であった。

表 2.6.6-11　被験物質一覧（生殖発生毒性試験）

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (strain) or Test System	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg/mL)	Formulation
NE-021129-Batch-01-2007	Female fertility and early embryonic development	Rat (Sprague Dawley)	A	Up to 35 days	CD2009/00236 (G08250)	0.2, 0.7, 10	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2007	Embryofetal development (Dose Range)	Rabbit (Dutch belted) (pregnant)	A	13 days (Days 7 to 19 pc)	CD2008/01041 (D08169)	0.8, 6, 12, 25, 50	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Male fertility	Rat (Sprague Dawley)	A	Up to 59 days	CD2009/00389 (G09059)	0.08, 0.4, 2	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Embryofetal development	Rat (Sprague Dawley)	A	12 days (Days 6 to 17 pc)	CD2009/00388 (G09060)	0.05, 0.7, 6	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Embryofetal development	Rabbit (Dutch belted) (pregnant)	A	13 days (Days 7 to 19 pc)	CD2009/00390 (G09061)	0.8, 6, 12	1% w/v methylcellulose
NE-021129-Batch-01-2009	Toxicokinetic study	Rabbit (Dutch belted) (pregnant)	A	5 days (Days 7 to 11 pc)	2012N140611 (G12109)	12	1% w/v methylcellulose
132377076[c] 132377077[c]	Pre- and post-natal development Dose Range	Rat (Sprague Dawley)	A	Up to 25 days	2016N305715 (R71028N)	1, 4, 6[a]	1% w/v methylcellulose
8863B3B007[c]	Pre- and post-natal development	Rat (Sprague Dawley)	A	Up to 37 days	2018N365151 (R71242G)	0.08, 0.7, 4.0[b]	1% w/v methylcellulose

Key:

a = Some groups were also administered a cocktail of metabolites [GSK2391220 (M2), GSK2506104 (M3) and GSK2531401 (M13)] of daprodustat formulated at 2.5, 3.2, and 1.8 mg/mL or 7.5, 9.6, and 5.4 mg/mL, respectively. Metabolites were formulated in 25 mM Phosphate Buffer, pH 7.4.

b = All daprodustat groups were also administered a cocktail of metabolites [GSK2391220 (M2), GSK2506104 (M3) and GSK2531401 (M13)] formulated at 2.5, 3.2, and 1.8 mg/mL, respectively. Metabolites were formulated in 25 mM Phosphate Buffer, pH 7.4.

c = The batch used for this study was manufactured by Route B1, which was also used for the Phase III clinical batches, and used the same synthetic route as the proposed commercial route (B3).

A = Daprodustat (parent form). pc = Post coitum.

Note: All studies were conducted with GSK1278863A, the parent form of daprodustat. Except where noted, the nonclinical reproductive and developmental toxicity study batches were manufactured by a slightly different synthetic route (Route A, see 2.3.S.4.4) than the Phase III clinical batches (Route B1) or the proposed commercial route (B3). Refer to 2.3.S.2.6.3 for further details. Specified impurities in the batches manufactured using the proposed commercial route of synthesis are qualified according to ICH Q3A (see 2.3.S.2.6 and 2.3.S.4.5).

2.6.6.7. 局所刺激性試験

2.6.6.7.1. 緒言

経皮投与による開発を予定していた（既に開発中止済み）ため、マウスを用いてダプロデュスタットの経皮投与による感作性を評価した。また、原薬製造時の労働者の安全確保のため、in vitro 眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験を実施した。いずれの試験も GLP に従い実施した。

投与検体の媒体には特記しない限り 1%メチルセルロースを用いた。試験に用いた原薬及び媒体の情報を表 2.6.6-13 に示した。

局所刺激性試験の一覧を表 2.6.6-12 に示す。概要表は 2.6.7.17.及び 2.6.7.18.に示す。

表 2.6.6-12　ダプロデュスタットを用いた局所刺激性試験一覧

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg) or Concentration (w/w)	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Eye irritation	SkinEthic reconstructed human corneal model	NA	In vitro	A	30 mg	NA	Yes	[redacted]	2012N133177 (41101688)	m4.2.3.6
Ocular irritation	Bovine Corneal Opacity and Permeability Assay	NA	In vitro	A	100% (750 mg)[e]	NA	Yes	[redacted]	2016N293568 (V31530G)	m4.2.3.6
Dermal irritation	SkinEthic reconstructed human epidermal model	NA	In vitro	A	5%, 10%, 20% 25 mg	NA	Yes	[redacted]	2012N133176 (41101687)	m4.2.3.6
Dermal irritation	Human EpiDerm™ skin tissue	NA	In vitro	A	0.2%	NA	Yes	[redacted]	2012N152037 (11AA57-AA60)	m4.2.3.6
Local lymph node	Mouse (CBA/CaCrl)	5F	Topical[a]	A	0.5%, 1%, 2%	3 days	Yes	[redacted]	2012N132983 (G11248)	m4.2.3.6

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg) or Concentration (w/w)	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Local lymph node	Mouse (CBA/CaCrl)	1F[c]	Topical[b]	A	10%, 25%, 50%	3 days	Yes	[redacted]	2013N163877 (41204918)	m4.2.3.6
		5F[d]			10%					

Key:
A = Daprodustat (Parent form). NA = Not applicable.
a = Dosed as a percent formulation in petrolatum.
b = Dosed as an emulsion in acetone/olive oil 4:1 and 50 µl (25 µl/ear).
c = Preliminary screening groups.
d = Test Group.
e = Unformulated parent was administered.

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
[redacted] = [redacted]
[redacted] = [redacted]
[redacted] = [redacted]

2.6.6.7.2. In vitro 試験

眼刺激性（ヒト角膜上皮再構築モデル）：

ヒト角膜上皮再構築モデル（SkinEthic 社）を用いてダプロデュスタットの眼刺激性について評価した（2012N133177、4.2.3.6.）。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.17.1.に示す。

10 又は 60 分間処理した結果、ダプロデュスタット（原薬 30 mg）は陰性を示した。したがって、ダプロデュスタットが強い眼刺激性を示す可能性は低いと考えられた。

眼刺激性（牛角膜混濁及び透過性試験）：

牛角膜混濁及び透過性試験を用いてダプロデュスタットの眼刺激性を評価した（2016N293568、4.2.3.6.）。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.18.2.に示す。

ダプロデュスタット（原薬）の刺激性スコアは 22.81 であり、眼刺激性を評価することはできなかった。

ダプロデュスタット軟膏剤（基剤：ワセリン）の 0、5、10 及び 20%（w/w）における刺激性スコアはそれぞれ 1.31、3.03、1.64 及び 0.80 であり、眼刺激性物質としてのクラス分類は不要であった。

皮膚刺激性（SkinEthic 表皮再構築モデル）：

ヒト表皮再構築モデル（SkinEthic RHE）を用いて約 25 mg のダプロデュスタットを 4 又は 24 時間処理し、角質層を透過した被験物質による刺激性を細胞毒性及び細胞死を指標に皮膚刺激性を評価した（2012N133176、4.2.3.6.）。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.17.1.に示す。

細胞生存率は 4 時間処理後で 96.6%、24 時間処理後で 12.8%であった。このことから、病理組織学的検査及び炎症性メディエーターの評価は必要とされず、ダプロデュスタットは軽度～中等度の刺激性物質であると判定された。

皮膚刺激性（EpiDerm 表皮再構築モデル）：

ヒト表皮再構築モデル（EpiDerm RHE）を用いて、ヒト表皮細胞にダプロデュスタットの 0.2%製剤（ゲル、クリーム及び軟膏製剤）及びそれぞれの基剤を最長 24 時間処理し、細胞生存率に対する影響を評価した（2012N152037、4.2.3.6.）。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.17.1.に示す。

いずれの製剤においてもダプロデュスタットは細胞生存率に影響を与えなかった。

2.6.6.7.3. In vivo 試験

2.6.6.7.3.1. マウス

2.6.6.7.3.1.1. 局所リンパ節試験

各群 5 匹の雌 CBA/Ca マウスの両耳介に 0（基剤：ワセリン）、0.5、1 及び 2%のダプロデュスタットを連続 3 日間（試験 1、2 及び 3 日）塗布し、試験 6 日に 20 μCi の 3H-Methyl thymidine を静脈内投与した。また、陰性対照群及び陽性対照群（各群 5 匹）も設定した。5 時間後に両耳介のリンパ節を採取し、5%（w/v）のトリクロロ酢酸を用いて個体毎にリンパ

節細胞懸濁液を調製し、シンチレーションカウンターで測定した（2012N132983、4.2.3.6.）。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.18.1.に示す。

本試験条件下において、ダプロデュスタット［最高濃度 2%（w/w）］の皮膚感作性は陰性と判定された。

2.6.6.7.3.1.2. 局所リンパ節試験

スクリーニング試験において 10%（w/w）まで毒性がみられなかったため、各群 5 匹の雌 CBA/Ca マウスの両耳介に 0［媒体：アセトン・オリーブ油混液（4：1）］又は 10%（w/w）のダプロデュスタットを 50 µL（各耳介に 25 µL ずつ）塗布し、皮膚感作性を評価した（2013N163877、4.2.3.6.）。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.17.1.に示す。

試験の結果、ダプロデュスタットの皮膚感作性は陰性と判定された。

表 2.6.6-13　被験物質一覧（局所刺激性試験）

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (strain) or Test System	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg or % w/w)	Formulation
091214093	Eye irritation	SkinEthic reconstructed human corneal model	A	NA	2012N133177 (41101688)	30 mg of powder	Unformulated parent
091214093	Dermal irritation	SkinEthic reconstructed human epidermal model	A	NA	2012N133176 (41101687)	25 mg of powder	Unformulated parent
091214093 101257943	Dermal irritation (gel, ointment and cream)	EpiDerm™ skin tissue	A	NA	2012N152037 (11AA57-AA60)	0.2%	Dispersed gel[a] Dispersed cream[b] Ointment[c]
091214093	Local lymph node	Mouse (CBA/Ca)	A	3 days	2012N132983 (G11248)	0.5%, 1%, 2%	Petrolatum
091214093	Local lymph node	Mouse (CBA/Ca)	A	3 days	2013N163877 (41204918)	10%	Acetone/olive oil 4:1 emulsion
152389102[d]	Ocular irritation	Bovine Corneal Opacity and Permeability Assay	A	NA	2016N293568 (V31530G)	100% (750 mg) 5%, 10%, 20%	unformulated parent Petrolatum

Key:

a = 0.2% daprodustat, 0.02% butylated hydroxyl toluene, 1.0% phenoxyethanol, 0.2% carbopol 940, 1.0% propylene glycol, 0.06% trolamine, 1.0% poloxamer 124 and 89.94% water.

b = 0.2% daprodustat, 0.2% butylated hydroxyl toluene, 2.3% polyoxyl 20 cetearyl ether, 5.0% squalane, 1.0% phenoxyethanol, 0.2% carbopol 940, 0.2% carbopol 1342, 1.0% propylene glycol, 0.16% trolamine, and 89.74% water.

c = 0.2% daprodustat, 99.8% white petrolatum.

d = The batch used for this study was manufactured by Route B2, which was also used for the Phase III clinical batches, and used the same synthetic route as the proposed commercial route (B3).

A = Daprodustat (parent form).

NA = Not applicable.

Note: All studies were conducted with GSK1278863A, the parent form of daprodustat. Except where noted, the nonclinical local tolerance study batches were manufactured by a slightly different synthetic route (Route A, see 2.3.S.4.4.) than the Phase III clinical batches (Route B1) or the proposed commercial route (B3). Refer to 2.3.S.2.6.3 for further details. Specified impurities in the batches manufactured using the proposed commercial route of synthesis are qualified according to ICH Q3A (see 2.3.S.2.6 and 2.3.S.4.5).

2.6.6.8.　その他の毒性試験

2.6.6.8.1.　緒言

その他の試験として、ラット及びヒト全血を用いた溶血性試験を実施した。また、ラットを用いて、経口投与時にみられた消化管への影響に関する静脈内投与探索試験、及び血糖値への影響に関する経口投与探索試験を実施した。更に、in vitro で M13 のトポイソメラーゼ II に対する影響を評価した。主要な試験は GLP に従い実施した。

試験に用いた原薬及び媒体の情報を表 2.6.6-15 に示した。

その他の試験の一覧を表 2.6.6-14 に示す。概要表は 2.6.7.19.に示す。

ダプロデュスタットの代謝物の遺伝毒性試験については、試験成績を 2.6.6.4.3.及び 2.6.6.4.5.に記載し、試験の一覧を表 2.6.6-6 に示す。

表 2.6.6-14 ダプロデュスタット及び代謝物を用いたその他の毒性試験一覧

Type of Study	Species (Strain)/ Test System	No./Sex/ Group	Method of Administration	Form	Dose (mg/kg/day) or Concentration	Duration of Dosing	GLP	Testing Facility	Report No. (Study No.)	Location in CTD
Studies with Daprodustat										
Hemolysis study	Rat (Sprague Dawley)	NA	In vitro	A	0.5, 1, 2 mg/mL	NA	No	GSK	CD2008/01038 (I08189)	m4.2.3.7.7
Hemolysis study	Human	NA	In vitro	A	0.0488, 0.0952, 0.1818 mg/mL	NA	Yes	GSK	2012N131637 (G11256)	m4.2.3.7.7
Investigative study (gastric toxicity)	Rat (Sprague Dawley)	6M[a]	IV (infusion)	A	20, 40	14 days	No	[redacted]	CD2008/01740 (I08185)	m4.2.3.7.7
Investigative study (plasma glucose)	Rat (Sprague Dawley)	6M	Oral (gavage)	A	60	14 days	No	GSK	2012N135152 (I12031)	m4.2.3.7.7
Studies with Metabolite										
GSK2531401 (M13) Inhibition of topoisomerase II relaxation	Human	NA	In vitro	N	0.01 to 1000 μM	NA	No	[redacted]	2011N130337	m4.2.3.7.5
GSK2531401 (M13) Topoisomerase II alpha inhibition	Human	NA	In vitro	N	2 to 2000 μM	NA	No	GSK	2012N139337	m4.2.3.7.5

Key:
A = Daprodustat (parent form). IV = Intravenous. N = M13 metabolite (GSK2531401) of daprodustat .
NA = Not applicable.
a = An additional 3M/group were included for toxicokinetic investigations only.

Testing Facility:
[redacted] = [redacted]
GSK = GlaxoSmithKline.
[redacted] = [redacted]

2.6.6.8.2. ダプロデュスタットを用いた試験

2.6.6.8.2.1. In vitro 試験

2.6.6.8.2.1.1. 溶血性試験

ラット：

ラット全血（エチレンジアミン四酢酸添加）に 0.5、1 及び 2 mg/mL のダプロデュスタット（媒体：12% Cavitron 及び 0.5%塩化ナトリウム含有 20 mM リン酸緩衝液、pH7.6）を添加後、37°C で 10 分間インキュベーションし、溶血性を評価した（CD2008/01038、4.2.3.7.7.）。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.19.1.に示す。

1 及び 2 mg/mL でそれぞれ 3 及び 12%の溶血がみられたが、0.5 mg/mL で溶血は認められなかった。

ヒト：

ヒト全血に 48.8（媒体：1.2%エタノール、0.9%塩化ナトリウム、0.004%トロメタミン）、95.2（媒体：2.4%エタノール、0.9%塩化ナトリウム、0.007%トロメタミン）及び 181.8 µg/mL（媒体：4.55%エタノール、0.89%塩化ナトリウム、0.014%トロメタミン）のダプロデュスタットを添加して in vitro 溶血性試験を実施した（2012N131637、4.2.3.7.7.）。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.19.1.に示す。

媒体及び 181.8 µg/mL までのダプロデュスタットの処理により溶血性は認められなかった。

2.6.6.8.2.2. In vivo 試験

2.6.6.8.2.2.1. 探索的毒性試験

消化管（胃）への影響に関する検討：

経口投与時にみられた胃に対する影響（14 日間以上の反復投与毒性試験）が全身曝露による影響かどうかについて検討するために、各群 6 匹の雄 SD ラットにダプロデュスタットを 0［媒体：12%Cavitron 及び 0.5%（w/v）塩化ナトリウム含有 20 mM リン酸緩衝液、pH7.6］、20 及び 40 mg/kg/日の用量で、1 日 1 回 4 時間かけて、14 日間静脈内投与した（CD2008/01740、4.2.3.7.7.）。TK 評価のために 20 及び 40 mg/kg/日群に雄各 3 匹を追加した。一般状態観察、体重及び摂餌量測定、TK 評価、剖検及び病理組織学的検査（胃のみ）を実施した。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.19.1.に示す。TK については 2.6.4.2.2.2.2. で考察する。

20 mg/kg/日以上の群のほとんどの動物で試験 7～9 日の投与直後に活動低下が認められた。40 mg/kg/日群では投与期間を通して体重増加量の低値がみられたが、20 mg/kg/日群では最後の測定間隔（試験 11～14 日のみ体重増加量が低値）を除き、対照群と概ね同程度であった。病理組織学的検査では、投薬群の腺胃にびらん／潰瘍、出血及び混合炎症細胞浸潤（胃壁の陥凹、暗色部位／巣、肥厚等の肉眼的所見と一致）がみられ、20 及び 40 mg/kg/日群の所見の頻度及び程度は同程度であった。このときの全身曝露量は経口投与時に同様の所見が観察されたときと同程度であった。このことから、胃に対する影響はダプロデュスタットの局所刺激作用ではなく、全身曝露による影響と考えられた。

血漿グルコース濃度に関する検討：

ラットの 14 日間経口投与試験でみられた血漿中グルコース濃度の低値が、ダプロデュスタットに関連した in vivo の影響か、ex vivo（採血後の赤血球によるグルコース消費量の増加）の影響か明らかにするため、14 日間経口投与探索試験を実施した（2012N135152、4.2.3.7.7.）。各群 6 匹の雄 SD ラットにダプロデュスタットを 0（媒体）及び 60 mg/kg/日の用量で 14 日間強制経口投与し、一般状態観察、体重測定、血液学的検査及び血漿グルコース濃度測定［ヘパリンリチウム添加試験管及びフッ化ナトリウム（解糖阻止剤）添加試験管に採血］を行った。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.19.1.に示す。

60 mg/kg/日群では、試験 15 日に Hb の高値（対照群の 1.35 倍）がみられた。60 mg/kg/日群の採血直後に処理及び分析した試料において、血漿グルコースの低値（ヘパリンリチウム添加試料及びフッ化ナトリウム添加試料でそれぞれ対照群の 0.83 及び 0.75 倍）がみられた。このことから、血漿中グルコースの低値はダプロデュスタットに関連した in vivo の影響であることが示された。

2.6.6.8.3. ダプロデュスタットの代謝物を用いた試験

M13 のコメット試験において、高用量群で弱い反応が認められたが、独立した 3 試験で再現性が認められなかった（2.6.6.4.5.1.）。トポイソメラーゼ活性に影響する化学物質はコメットアッセイで陽性を示す可能性があることから、M13 がトポイソメラーゼ II の弛緩反応及び活性を阻害するか検討した。

2.6.6.8.3.1. In vitro 試験

2.6.6.8.3.1.1. トポイソメラーゼ II 弛緩試験

M13：

GSK2531401（M13）を用いて、トポイソメラーゼ II の弛緩反応に対する阻害作用を評価した（2011N130337、4.2.3.7.5.）。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.19.1.に示す。

GSK2531401（M13）（0.01～1000 μM）はヒトトポイソメラーゼ II による弛緩反応（スーパーコイル状の DNA を基質として使用）に対して阻害活性を示さなかったが、陽性対照物質のエトポシドは有意な阻害（IC50 = 80.4 μM）を示した。

2.6.6.8.3.1.2. トポイソメラーゼ II 阻害試験

M13：

GSK2531401（M13）を用いて、トポイソメラーゼ IIα 活性に対する阻害作用を評価した（2012N139337、4.2.3.7.5.）。試験デザイン及び結果の要約を 2.6.7.19.1.に示す。

M13（2～2000 μM）はヒトトポイソメラーゼ IIα 活性に対して阻害を示さなかったが、陽性対照物質のスラミンは阻害活性（IC50 = 23.6 μM）を示した。

表 2.6.6-15　被験物質一覧（その他の試験）

Batch or Lot Number(s)	Study Type	Species (strain) or Test System	Form	Duration of Dosing	Report No. (Study No.)	Concentration (mg/mL)	Formulation
NE-021129-Batch-01-2007	Hemolysis study	Rat (Sprague Dawley)	A	NA	CD2008/01038 (I08189)	0.5, 1, 2	12% Cavitron™, 0.5% w/v NaCl in 20 mM phosphate buffer, pH 7.6
NE-021129-Batch-01-2007	Investigative study (gastric toxicity)	Rat (Sprague Dawley)	A	14 days	CD2008/01740 (I08185)	0.5, 1	12% Cavitron™, 0.5% w/v NaCl in 20mM phosphate buffer, pH 7.6
NE-021129-Batch-01-2009	Investigative study (plasma glucose)	Rat (Sprague Dawley)	A	14 days	2012N135152 (I12031)	6	1% w/v methylcellulose
091214093	Hemolysis study	Human	A	NA	2012N131637 (G11256)	0.0488, 0.0952, 0.1818	Assay buffers[a]

Note: All studies were conducted with GSK1278863A, the parent form of daprodustat. The nonclinical other toxicity study batches were manufactured by a slightly different synthetic route (Route A, see 2.3.S.4.4) than the Phase III clinical batches (Route B1) or the proposed commercial route (B3). Refer to 2.3.S.2.6.3 for further details. Specified impurities in the batches manufactured using the proposed commercial route of synthesis are qualified according to ICH Q3A (see 2.3.S.2.6 and 2.3.S.4.5).

Key:

a = Formulation at 0.0488 mg/mL was prepared in 1.22% ethanol, 0.8959% sodium chloride and 0.0037% tromethamine; 0.0952 mg/mL was prepared in 2.380% ethanol, 0.8919% sodium chloride and 0.0070% tromethamine; and 0.1818 mg/mL was prepared in 4.545% ethanol, 0.887% sodium chloride and 0.0136% tromethamine.

A = Daprodustat (parent form). NA = Not applicable. NaCl = Sodium chloride.

2.6.6.9. 考察及び結論

CKD 患者において、ダプロデュスタットの 3 種のヒト代謝物［GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）及び GSK2531401（M13）］が薬物関連物質の総曝露量の 10%を超える主代謝物と考えられたことから、ダプロデュスタット及び 3 種のヒト代謝物を用いて毒性試験を実施した。一般毒性については、ダプロデュスタットの経口投与による単回投与試験、マウス（ヒト代謝物との皮下併用投与を含む）、ラット、イヌ及びサルのそれぞれ最長 13、26、13 及び 39 週間の反復投与試験により評価した。遺伝毒性については、ダプロデュスタット及びヒト代謝物を用いて評価した。がん原性については、マウス（ヒト代謝物との皮下併用投与を含む）及びラットの 2 年間投与試験により評価した。生殖発生毒性については、ラット雄受胎能に関する試験、ラット雌受胎能及び初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギ胚・胎児発生に関する試験、ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（ヒト代謝物との皮下併用投与）により評価した。その他、ラットの 14 日間静脈内投与試験（胃に対する影響に関する探索試験）及び 14 日間経口投与試験（血漿グルコース濃度に関する探索試験）を実施した。代謝物は、動物の曝露量（AUC）がヒト推定最大曝露量（24 mg/日投与時）以上となるように混合液として投与した。

経皮投与による開発（既に開発中止済み）のため実施された毒性試験についても、透明性確保のため、本申請資料に含まれているが、これらの結果については以下の考察には含めない。

反復経口投与試験における主要所見の要約を表 2.6.6-16 に示す。また、それら毒性試験におけるダプロデュスタット及びヒト代謝物の曝露量をそれぞれ表 2.6.6-17 及び表 2.6.6-18 に示す。なお、安全性薬理試験については 2.6.2.4.に記載した。

死亡及び一般状態への影響：

マウス及びラットにダプロデュスタットを単回経口投与した結果、1500 mg/kg 以上で死亡及び一般状態の悪化（活動低下、接触時冷感、皮膚弾性低下、被毛粗剛、糞便異常又は体重減少）が認められた。イヌ及びサルにダプロデュスタットを単回経口投与した結果、摂餌量の低値、体重減少、糞便異常（イヌ 20 mg/kg 以上、サル 100 mg/kg 以上）、並びに嘔吐の頻度及び程度の増大（イヌ 120 mg/kg 以上、サル 300 mg/kg 以上）がみられ、それぞれ 180 及び 600 mg/kg の投与では忍容性が認められなかった。

マウス及びラットにそれぞれ 30 及び 20 mg/kg/日以上を最長 13 週間投与した結果、一般状態の悪化又は死亡がみられ、これらは Hct の著しい高値（対照群の 1.47～1.97 倍）による末梢循環障害又は血栓症に続発する多臓器病変による影響と考えられた。ラットの 26 週間投与試験及び 2 年間がん原性試験においてもそれぞれ 10 及び 4 mg/kg/日（雄のみ）群において同様の多臓器病変及び一般状態の悪化又は死亡が認められた。また、ラット 14 日間投与試験では、250 mg/kg/日以上の群で胃及び十二指腸にびらん及び潰瘍を伴う一般状態の悪化及び死亡が認められた。イヌでは 90 mg/kg/日を最長 4 週間投与した結果、胃のびらん及び潰瘍を伴う一般状態悪化及び死亡がみられ、13 週間投与試験においても、試験 8～11 週に 15 mg/kg/日以上の群で Hct の顕著な高値（投与前値の 1.33 倍以上）による循環障害に関連すると考えられる一般状態の悪化（振戦、ふらつき、痙攣、虚脱、努力性呼吸等）及び死

亡が認められた。サルでは、100 mg/kg/日までを 13 週間投与しても死亡は認められなかったが、100 mg/kg/日群で糞便異常（液状便又は軟便）及び体重減少が認められた。また、サルの 39 週間投与試験では、50 mg/kg/日群で皮膚発赤（うっ血）及び体重増加量の低値が認められた。

消化管への影響：

ダプロデュスタットの経口投与によりマウス、ラット、イヌ及びサルで糞便異常（退色便、軟便、液状便又は粘液便）がみられ、更にイヌ及びサルでは嘔吐も認められた。また、マウス、ラット、イヌ及びサルのすべての動物種において胃のびらん／潰瘍が認められた。本変化はダプロデュスタットの静脈内投与時（1 日 1 回 14 日間、4 時間持続投与）においても、経口投与時と同程度の曝露量で誘発されたことから、局所刺激ではなく全身曝露による影響であることが示唆された。ラット及びイヌにおいて消化管潰瘍はシクロオキシゲナーゼ（COX）阻害薬による影響として広く知られているが、ラット全血を用いた検討の結果、ダプロデュスタットのラット COX-1 及び COX-2 に対する IC50 はそれぞれ 65.9 μM 及び 100 μM 超であり（2.6.2.3.1.3.）、その阻害活性は弱かった。

胃のびらん／潰瘍がみられたほとんどの動物では、赤血球造血亢進を示唆する Hct の顕著な高値が認められている。遺伝子組換えヒト（rh）EPO のラットの反復投与試験においても、同程度の Hct 高値により、胃のびらんが認められている[Serabian, 2003; Woodburn, 2008]。しかしながら、ラットの 4 週間経口投与試験では、顕著な Hct の増加が認められなかった 7 mg/kg/日群においても、限局性の胃のびらん又は出血が低頻度（20%）で認められている。同群では、数例の Hct が対照群の最高値を超えており、更にほとんどの動物で赤血球の造血亢進を示唆する所見［骨髄の赤血球系細胞過形成（100%）、脾臓の髄外造血の亢進（75%）及び末梢血中の有核赤血球出現（100%）］が認められている。このことは、同群においても赤血球造血亢進と胃のびらん／潰瘍が関連していることを示唆している。血行静止、うっ血、動静脈瘻及び虚血性傷害の原因となる血液粘稠性の増加に対して、胃微小循環は特に影響を受けやすいと考えられている[Li, 2015; Spivak, 2002]。

サルでは胃のびらん／潰瘍又は出血は 39 週間投与試験でのみ観察され、これらの所見がみられた 10 mg/kg/日以上の群では Hct の顕著かつ持続的な高値（試験 13～39 週にかけて対照群の 1.44 倍以上）が認められた。6 週間の休薬期間終了後、サルで胃のびらん／潰瘍は認められなかった。

多臓器への影響：

マウス 13 週間投与試験の 30 mg/kg/日以上の群及びラット 26 週間投与試験の 10 mg/kg/日群において、ダプロデュスタットの薬理作用による顕著な骨髄内・外の赤血球造血亢進及び赤血球パラメータの高値（Hct は対照群の 1.4 倍超）等が認められた。これらの用量で観察された一般状態悪化及び死亡に関連する全身性うっ血、血栓症及び多臓器病変（心臓、腎臓、脳、肝臓、肺、血管壁等）は、Hct 高値及び血液粘稠度増加による循環障害に起因するものと考えられる。

ラットに同程度の Hct 増加を誘発する量の rhEPO を反復投与したときに、全身性うっ血及び同様の多臓器病変が認められている[Serabian, 2003; Woodburn, 2008]。ラットのがん原性試験では、ダプロデュスタットの経口投与期間の長期化（最長 2 年間）に伴い、より低い投与量でも類似所見が認められた。すなわち、0.8 mg/kg/日以上の群で進行性心筋症の頻度又は程度の増大、4 mg/kg/日群の雄で心房内血栓並びに梗塞又は分節状の壊死を伴う様々な組織における血栓が認められた。

イヌに 15 mg/kg/日以上のダプロデュスタットを最長 13 週間経口投与した結果、重度の一般状態悪化（振戦、ふらつき、痙攣、虚脱、努力性呼吸等）が認められ、これらの変化は Hct の顕著な高値（投与前値の 1.33 倍以上）に関連するものと考えられた。

サルに 100 mg/kg/日までのダプロデュスタットを 13 週間反復経口投与した結果、Hct の用量依存的な高値（対照群の 1.13～1.76 倍）がみられたが、血栓及びうっ血はみられず、低酸素症を示唆する一般状態変化も認められなかった。サルの 39 週間投与試験では、10 mg/kg/日以上の群で用量依存的な Hct の高値（対照群の 1.58～1.86 倍）、多臓器うっ血及び脳の限局性出血がみられたが、血栓及び低酸素症を示唆する一般状態変化は認められなかった。

以上のように、これらのダプロデュスタットの赤血球造血亢進作用による多臓器病変は、Hct の顕著な高値がみられたときの末梢臓器病変であり、正常動物において顕著かつ慢性的に赤血球パラメータが増加することによる結果であると考えられた。しかしながら、ラットにおける 0.8 mg/kg/日は、Hct の高値が認められる最低用量であり、循環障害及び血栓に関連する病変を引き起こす最低用量であるが、個体毎に評価した際に Hct と病変との間に厳密な相関は認められなかった。

マウス 2 年間がん性試験［ダプロデュスタット（経口）及びヒト代謝物（M2：2.0 mg/kg/日、M3：2.5 mg/kg/日、M13：1.3 mg/kg/日、皮下）を併用投与］では、雄の 0.8 mg/kg/日のダプロデュスタット単独投与群（代謝物の併用無し）を除く全投薬群の多数の組織において、多発性動脈炎と一致する血管／血管周囲炎の増加が認められた。マウスの血管／血管周囲炎は加齢に伴う自然発生性の変化として知られており[Greaves, 2007]、生存率に影響しなかったことから本所見は悪影響ではないと判断した。また、加齢に伴って一般的にみられる本所見のような変化は、炎症を生じている状態においてよく認められることが知られている[Berridge, 2016; Frazier, 2015; Frazier, 2013]。代謝物を皮下投与した全群で、投与部位の出血頻度の増加、並びにマクロファージ（脾臓）、クッパー細胞（肝臓）及び腎尿細管の色素沈着（赤血球崩壊によるヘモジデリン又はビリルビン沈着と考えられる）が認められたことから、血管炎／血管周囲炎は代謝物の連日投与による持続的な皮下局所の刺激及び炎症（慢性炎症）に一部関連した変化と考えられる。胸腺では、雌の全投薬群にリンパ濾胞過形成の頻度増加が認められており、投薬によって免疫系が刺激されていることが示唆された。また、げっ歯類の短期毒性試験において、赤血球パラメータの高値、うっ血及び末梢循環障害による血管炎がみられていることから、ダプロデュスタットの過度の薬理作用も 2 年間投与試験でみられた血管炎の発現に関連していると考えられた。

ラット 2 年間がん原性試験では、ダプロデュスタットの経口投与により、0.8 mg/kg/日以上の群で自然発生性の進行性心筋症の頻度及び程度の増大がみられたが、その頻度及び程度は施設背景値の範囲内であった。4 mg/kg/日群（雄）では心房内血栓並びに梗塞又は分節状

の壊死を伴う様々な臓器における血栓を伴った進行性心筋症によって生存率が低下したため、これらの変化を悪影響と判断した。7 mg/kg/日群（雌）及び 0.8 mg/kg/日群の雌雄では、進行性心筋症による生存率への影響は認められなかった。これらのことから、進行性心筋症に対する無毒性量は雄で 0.8 mg/kg/日、雌で 7 mg/kg/日と推定された。進行性心筋症の増悪はより短期の試験（13～26 週）でみられた赤血球造血の著しい亢進による二次的影響（うっ血、末梢循環障害又は血栓）に関連する変化と考えられた。

神経への影響：

マウスでは、13 週間投与試験の 30 mg/kg/日以上の群において、坐骨神経の神経線維変性、腰髄の軸索変性及び後肢骨格筋の筋線維萎縮が認められた。これらの発現メカニズムは明らかではないが、Hct 高値に伴う循環障害による虚血に関連すると考えられた。また、げっ歯類の後肢の末梢神経は低血糖症によって損傷を受けやすいこと[Potter, 1988; Sidenius, 1983]から、これらの動物でみられた血清グルコース濃度の低値も寄与している可能性が考えられた。3 種のヒト代謝物を併用投与したマウスの 13 週間投与試験及び 2 年間投与によるがん原性試験においても、ダプロデュスタットをそれぞれ 6 mg/kg/日以上及び 3 mg/kg/日投与した群で神経に対する影響が認められた。ラット及びサルにおいて神経変性はみられなかった。イヌでは、13 週間投与試験の 30 mg/kg/日群の 1 例（60 日間投与）で坐骨神経の軸索変性がみられたが、本動物で試験 57 日の投与直前に痙攣が観察されていたことから、本所見は痙攣時の外傷による影響であると考えられた。

ラットにダプロデュスタットを 14 日間経口投与し、フッ化ナトリウム（解糖阻止剤）添加試験管に採取した血液を用いてグルコース濃度を測定した結果、血漿中グルコース濃度の低値が認められた。この結果から、ダプロデュスタットの投与による血漿又は血清グルコース濃度の低値は in vivo における影響であり、ex vivo（赤血球パラメータ増加によるグルコース消費量の増加）における影響ではないことが示された。幼若赤血球は老赤血球の 2.5 倍のグルコースを消費量すること[Magnani, 1983]から、毒性試験でみられた血清グルコース濃度の低値は薬理作用に関連した赤血球のグルコース消費量の増加による影響であると考えられた。

生殖発生毒性：

ラット及びウサギにおいて、ダプロデュスタットに関連した奇形は認められなかった。雄受胎能について、ラットでダプロデュスタットに関連した影響は認められなかった。雌受胎能についても、ラットで母動物毒性のみられない用量において、ダプロデュスタットに関連した影響は認められなかった。

ラットの雄受胎能に関する試験では、雄生殖器重量、交尾行動、受胎能及び生殖能にダプロデュスタットに関連した影響は認められず、無毒性量は 20 mg/kg/日（最高用量）と推定された。

ラットの雌受胎能及び初期胚発生に関する試験では、交尾所要日数、受胎能・妊娠率、性周期に対して、ダプロデュスタットによる影響は認められなかった。母動物毒性のみられた 100 mg/kg/日群（最高用量）において、黄体数及び着床数の低値並びに着床後死亡率の高値

（生存胎児数の低値に関連）が認められたことから、雌受胎能及び初期胚発生に対する無毒性量は 7 mg/kg/日（中用量）と推定された。

胚・胎児発生に関する試験において、ウサギでは 60 mg/kg/日（最高用量）までのダプロデュスタットの投与において、胚・胎児発生に対する影響は認められなかった。ラットでは、母動物毒性のみられた 60 mg/kg/日以上の群で着床後死亡率の高値、生存胎児数の軽度低値（胎児体重に影響なし）及び肋骨変異がみられたが、7 mg/kg/日までの群で胚・胎児発生に対する影響は認められなかった。

ラットの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では、7 mg/kg/日までのダプロデュスタットとヒト代謝物（M2：2.5 mg/kg/日、M3：3.2 mg/kg/日、M13：1.8 mg/kg/日）を併用投与した群において、F0 母動物の生殖能及び出生児の出生前・後発生に影響はみられなかったが、40 mg/kg/日（＋代謝物）群で母動物毒性（妊娠後期及び授乳期間における体重増加量及び摂餌量の低値）並びに F1 出生児の生存率低値及び体重低値が認められた。

これらの生殖発生毒性試験の無毒性量における曝露量（AUC）は、ヒト推定最大曝露量（24 mg/日投与時）に比べて十分高いことから［ラット（7 mg/kg/日）において 722 倍、ウサギ（60 mg/kg/日）において 166 倍］、ダプロデュスタットはヒトの発生、受胎能に対して悪影響を及ぼさず、催奇形性も示さないと考えられた。

代謝物の毒性評価：

CKD 患者において、ダプロデュスタットの 3 種のヒト代謝物（M2、M3 及び M13）が薬物関連物質の総曝露量の 10%を超える主代謝物と考えられた。これらの代謝物はげっ歯類及びイヌの血漿でほとんど検出されなかったが、ウサギ及びサルの血漿中ではすべて検出された。

これらの動物種間（マウス、ラット、イヌ及びサル）では代謝物プロファイルが異なるにもかかわらず、反復投与試験における毒性プロファイルは類似しており、ダプロデュスタットの薬理作用に基づく変化が一貫してみられた。また、マウスのダプロデュスタット単独投与による 13 週間投与試験とダプロデュスタット及びヒト代謝物の併用投与（M2、M3 及び M13）による 13 週間投与試験において、毒性プロファイルに明確な差は認められなかった。これらのことから、ヒト代謝物（M2、M3 及び M13）がダプロデュスタットと異なる毒性を示す可能性は低いと考えられた。

ウサギ（体内で 3 種のヒト代謝物が生成される）の胚・胎児発生に関する試験では、60 mg/kg/日（最高用量）までのダプロデュスタットの投与において、催奇形性は認められなかった。また、ラットの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において、ヒト代謝物（M2：2.5 mg/kg/日、M3：3.2 mg/kg/日、M13：1.8 mg/kg/日）をダプロデュスタットと併用投与した結果、出生児の外表検査及び剖検による内臓の形態観察において、投薬に関連する影響は認められなかった。

マウスの 2 年間がん原性試験では、ヒト代謝物（M2：2.0 mg/kg/日、M3：2.5 mg/kg/日、M13：1.3 mg/kg/日）を 3 mg/kg/日までのダプロデュスタットと併用投与した結果、投薬に関連する腫瘍性病変は認められなかった。

遺伝毒性：

ダプロデュスタットは、細菌を用いる復帰突然変異試験で突然変異誘発性を示さず、マウスリンフォーマ TK 試験で遺伝子突然変異誘発性を示さなかった。ダプロデュスタットの in vivo 骨髄小核試験において、1000 mg/kg/日群では陰性であったが、2000 mg/kg/日群において小核を有する多染性赤血球のわずかな増加（2 倍）が認められた。赤血球造血を亢進させる化合物は遺伝毒性と異なる機序により小核含有赤血球のわずかな増加を引き起こすとされていること[Tweats, 2007]から、本変化はダプロデュスタットの薬理作用に起因すると考えられた。また、ダプロデュスタットの in vivo 肝臓コメットアッセイ（1000 mg/kg/日までを 2 回経口投与）において、DNA 損傷性は認められなかった。以上のことから、ダプロデュスタットはヒトに対して遺伝毒性を示さないと考えられた。

ヒト代謝物の遺伝毒性評価において、M2 及び M3 の両エナンチオマーは、DEREK において遺伝毒性アラートを示さず、細菌を用いる復帰突然変異試験及びマウスリンフォーマ TK 試験で陰性であった。M13 は、マウスリンフォーマ TK 試験において細胞毒性を示す濃度で弱陽性を示し、in vivo 肝臓コメットアッセイでは最大耐量（200 mg/kg、静脈内投与）で「不確か（equivocal）」な結果を示した。しかしながら、M13 は DEREK においてアラートを示さず、細菌を用いる復帰突然変異試験において陰性を示し、マウス肝臓コメットアッセイの 100 mg/kg 静脈内投与（ヒト推定最大曝露量の 100 倍以上に相当）において再現性のある陰性を示し、マウス骨髄染色体異常試験において最大耐量で遺伝毒性を示さなかった。以上の結果に基づき総合的に評価した結果、M2、M3 及び M13 はヒトに対して遺伝毒性を示さないと考えられた。

がん原性：

ラット 2 年間経口投与試験（ダプロデュスタット単独投与）及びマウス 2 年間経口投与試験（3 種のヒト代謝物を皮下併用投与）において、投薬に関連した腫瘍性病変は認められなかった。これらの試験の最高用量におけるダプロデュスタットの曝露量（AUC）は、ヒト推定最大曝露量（24 mg/日投与時）に対して、雌雄ラットでそれぞれ 1208 及び 751 倍、マウス（雌雄合算平均）で 201 倍であった。

結論

ダプロデュスタットの単回経口投与試験において、マウス及びラットでは 1500 mg/kg 以上で死亡が認められた。イヌ及びサルでは摂餌量の低値、体重減少、糞便異常（イヌ 20 mg/kg 以上、サル 100 mg/kg 以上）、並びに嘔吐の頻度及び程度の増大（イヌ 120 mg/kg 以上、サル 300 mg/kg 以上）がみられ、それぞれ 180 及び 600 mg/kg の投与では忍容性が認められなかった。

ダプロデュスタットの反復経口投与試験において、マウス、ラット、イヌ及びサルで糞便異常（退色便、軟便、液状便又は粘液便）がみられ、更にイヌ及びサルでは嘔吐が認められた。また、マウス、ラット、イヌ及びサルのすべての動物種において胃のびらん／潰瘍が認められた。

13 週間以上の試験において、Hct の著しい高値（対照群又は投与前値の 1.33 倍超）がみられ、マウス及びラットではそれぞれ 30 及び 4 mg/kg/日以上の群で一般状態悪化及び死亡（全身性うっ血、血栓症及び多臓器病変を伴う）、イヌでは 15 mg/kg/日以上の群で重度の一般状態悪化（振戦、ふらつき、痙攣、虚弱、努力性呼吸等）、サルでは 10 mg/kg/日以上の群で多臓器うっ血及び限局性の脳出血が認められた。これらのダプロデュスタットの赤血球造血亢進作用による多臓器病変は、Hct の顕著な高値がみられたときの末梢臓器病変であり、正常動物において顕著かつ慢性的に赤血球パラメータが増加することによる結果であると考えられた。しかしながら、ラットにおける 0.8 mg/kg/日は、Hct の高値が認められる最低用量であり、循環障害及び血栓に関連する病変を引き起こす最低用量であるが、個体毎に評価した際に Hct と病変との間に厳密な相関は認められなかった。

マウスでは 30 mg/kg/日以上の群（3 種のヒト代謝物との併用投与時には 3 mg/kg/日以上）において、坐骨神経の神経線維変性、腰髄の軸索変性及び後肢骨格筋の筋線維萎縮が認められた。これらは Hct 高値に伴う循環障害による虚血又は血清グルコース濃度の低値による影響と考えられた。

毒性試験成績から、ダプロデュスタットはヒトに対して遺伝毒性、がん原性、催奇形性を示さず、ヒトの発生及び受胎能に対しても悪影響を及ぼさないと考えられた。

ヒトでみられた主な代謝物のほとんどはげっ歯類及びイヌの血漿で検出されなかったが、ウサギ及びサルの血漿中ではすべて検出された。これらの動物種間（マウス、ラット、イヌ及びサル）では代謝物プロファイルが異なるにもかかわらず、反復投与時の毒性プロファイルは類似していた。また、マウスのダプロデュスタット単独投与による 13 週間試験とダプロデュスタット及びヒト代謝物の併用投与による 13 週間試験において、毒性プロファイルに明確な差は認められなかった（2.6.6.3.2.1.2.及び 2.6.6.3.2.1.3.）。胚・胎児発生毒性については、ウサギの胚・胎児発生に関する試験で奇形は認められなかった。また、ラットの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でヒト代謝物（M2：2.5 mg/kg/日、M3：3.2 mg/kg/日、M13：1.8 mg/kg/日）をダプロデュスタットと併用投与した結果、出生児の外表検査及び剖検による内臓の形態観察において、投薬に関連する影響は認められなかった。これらの毒性試験の結果から、3 種のヒト代謝物（M2、M3 及び M13）による新たな毒性及び催奇形性が発現する可能性は低いと考えられた。

無毒性量はマウスで 0.8 mg/kg/日（2 年間投与試験の試験 26 週の Cmax 及び AUC はそれぞれ 4.93 µg/mL 及び 68 µg·hr/mL）、ラットで 0.8 mg/kg/日（2 年間投与試験の試験 26 週の Cmax 及び AUC はそれぞれ 18.0 µg/mL 及び 274 µg·hr/mL）、イヌで 3 mg/kg/日（試験 13 週の Cmax 及び AUC はそれぞれ 2.34 µg/mL 及び 19.1 µg·hr/mL）及びサルで 3 mg/kg/日（試験 39 週の Cmax 及び AUC はそれぞれ 0.655 µg/mL 及び 3.49 µg·hr/mL）であった。無毒性量投与時と予定最大臨床用量（24 mg/日）投与時のダプロデュスタットの曝露量比は Cmax 及び AUC でそれぞれ 1.35（サル）～37.1（ラット）倍及び 2.95（サル）～231（ラット）倍であった（表 2.6.6-17）。

ヒト代謝物［GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）及び GSK2531401（M13）］をダプロデュスタットと併用投与したマウス 2 年間皮下投与試験では、上述の通り、これらの代謝物によると考えられる新たな毒性はみられず、がん原性も陰性であった。この試験におけ

る GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）及び GSK2531401（M13）の曝露量（AUC）はヒトに予定最大臨床用量（24 mg/日）を投与したときのそれぞれ 1.29、1.04 及び 1.54 倍であった（表 2.6.6-18）。マウス 2 年間がん原性試験の結果から、ヒト代謝物の反復投与毒性及びがん原性は適切な曝露条件下で評価されたと考える。

ヒト代謝物［GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）及び GSK2531401（M13）］の胚・胎児発生毒性については、ウサギの胚・胎児発生に関する試験とラットの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により評価した。ウサギの胚・胎児発生に関する試験の無毒性量（60 mg/kg/日）における GSK2391220（M2）、GSK2506104（M3）及び GSK2531401（M13）の曝露量（AUC）はヒトに予定最大臨床用量（24 mg/日）を投与したときのそれぞれ 9.11、1.53 及び 0.22 倍であった（表 2.6.6-18）。ウサギの胚・胎児発生に関する試験の無毒性量における GSK2531401（M13）曝露量（AUC）がヒト推定最大曝露量の 0.22 倍であったことから、ラットの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では 3 種のヒト代謝物をダプロデュスタットと併用投与し、F1 出生児の形態及び機能への影響を評価した。ラットの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の無毒性量（7 mg/kg/日＋代謝物）における M2、M3 及び M13 の曝露量（AUC）はそれぞれ推定最大臨床曝露量の 1.95、1.40 及び 2.24 倍であった（表 2.6.6-18）。これらの試験から、ヒト代謝物の胚・胎児発生毒性は適切な曝露条件下で評価されたと考える。

表 2.6.6-16　ダプロデュスタットのマウス、ラット、イヌ及びサルにおける経口投与時の主要な毒性所見

所見[a]	マウス		ラット		イヌ		サル	
	影響量 (mg/kg/日)	無影響量 (mg/kg/日)	影響量 (mg/kg/日)	無影響量 (mg/kg/日)	影響量 (mg/kg/日)	無影響量 (mg/kg/日)	影響量 (mg/kg/日)	無影響量 (mg/kg/日)
死亡（安楽死を含む）	60	30	10[b,i]	4[b,i]	30/15	3	NO	100
消化管への影響：								
びらん／潰瘍又は出血	60	30	7[c,i]	4[b,i]	90[c]	30	10[f]	3[f]
糞便異常	1000[d]	300[e]	250[e]	100	15	3	100	20
嘔吐	NO	NO	NO	NO	15	3	100	20
多臓器への影響： 顕著な Hct 高値、全身性うっ血、虚血、血栓症又は二次的な影響（血管壁、心臓、肺、腎臓、脳又は肝臓）	30[i]	3[i]	10[b,i]	4[b,i]	15	3	10[f,g]	3[f]
神経[h]： 坐骨神経の神経線維変性又は腰髄の軸索変性（神経根部）	30[i]	3[i]	NO	100	30[h]	3	NO	100

注：NO＝ 観察されず

a. 特に注記がない限り、13 週間投与試験の所見（マウス：2011N112096、ラット：CD2009/00951、イヌ：CD2009/00952、サル：2010N108482）

b. 26 週間投与試験の所見（ラット：2011N126130）

c. 4 週間投与試験の所見（ラット：RD2007/01333、イヌ：RD2007/01336）

d. 単回投与試験の所見（マウス：CD2009/00778）

e. 14 日間投与試験の所見（マウス：CD2009/00900、ラット：CD2008/01306）

f. 39 週間投与試験の所見（サル：2011N126131）

g. Hct の顕著な高値、多臓器うっ血及び脳における二次的な影響（出血）。虚血及び血栓症はみられず

h. イヌ 13 週間投与試験の 30 mg/kg/日群の 1 例（60 日間投与）で観察された坐骨神経の軸索変性は、試験 57 日の投与直前に観察された痙攣による外傷による影響であると考えられた

i. がん原性試験の所見（マウス：2014N221714、ラット：2014N196080）。ラットの 2 年間経口投与がん原性試験において、自然発生性の進行性心筋症の頻度及び程度の増大が 0.8 mg/kg/日以上の群でみられた（投薬群の頻度及び程度は背景値の範囲内）。4 mg/kg/日群の雄では、心房内血栓、並びに梗塞又は分節状の壊死を伴う様々な臓器における血栓を伴った進行性心筋症のために生存率が低下した。7 mg/kg/日群の雌及び 0.8 mg/kg/日群の雌雄の生存率に進行性心筋症による影響はみられなかった。4 mg/kg/日群の雄及び 7 mg/kg/日群の雌で胃のびらん及び潰瘍の頻度及び程度の増大がみられたことから、すべての非腫瘍性所見に関する無毒性量は雌雄ともに 0.8 mg/kg/日と推定された。マウスでは 3 mg/kg/日で悪影響と考えられる坐骨神経変性の頻度増加がみられたことから、すべての非腫瘍性所見についての無毒性量は 0.8 mg/kg/日と推定された。雄の 0.8 mg/kg/日のダプロデュスタット単独投与群を除く全投薬群で血管及び血管周囲炎の増加が認められたが、これらの所見は加齢に伴って観察される一般的な所見であり、生存率に影響しなかったことから悪影響ではないと判断した

表 2.6.6-17　ダプロデュスタットの経口投与時の動物／ヒト曝露量比

動物種 (投与期間) [報告書番号]	投与量[b] (mg/kg/日)	性	Cmax (μg/mL)	AUC(0-24h) (μg·hr/mL)	動物/ヒト 曝露量比[a]	
			投与期間終了時[c]		Cmax	AUC
マウス (13 週間) [2011N112096]	**3 (無毒性量)**	♂♀	**14.5**	**181**	**29.9**	**153**
	30	♂♀	50.7	669	105	565
	60	♂♀	60.5	833	125	704
マウス (2 年間)[h] M2,M3,M13 併用 [2014N221714]	0.2	♂♀	1.35	20.6	2.78	17.4
	0.8[g] (無毒性量)	♂♀	**4.93**	**68.0**	**10.2**	**57.4**
	3	♂♀	14.9	238	30.7	201
ラット (26 週間)[d] [2011N126130]	0.8	♂♀	14.5	233	29.9	197
	4 (無毒性量)	♂♀	**46.8**	**785**	**96.5**	**663**
	10[d]	♂♀	75.0	1377	155	1163
ラット (2 年間) [2014N196080]	0.02	♂♀	0.484	8.47	0.998	7.15
	0.1	♂♀	2.64	40.9	5.44	34.5
	0.8[g] (無毒性量)	♂♀	**18.0**	**274**	**37.1**	**231**
	4	♂	58.0	889	120	751
	7	♀	83.5	1430	172	1208
ラット (胚・胎児発生) [CD2009/00388]	**7[f] (無毒性量)**	♀	**69.7**	**1086**	**144**	**917**
ラット (出生前後発生)[h] M2,M3,M13 併用 [2018N365151]	0.8	♀	8.51	146	17.5	123
	7 (無毒性量)	♀	**52.0**	**855**	**107**	**722**
	40	♀	128	2240	264	1892
ウサギ (胚・胎児発生)[h] [CD2009/00390]	4	♀	1.49	22.8	3.07	19.3
	30	♀	9.24	133	19.1	112
	60 (無毒性量)	♀	**11.8**	**197**	**24.3**	**166**
イヌ (13 週間) [CD2009/00952]	1	♂♀	1.31	7.73	2.70	6.53
	3 (無毒性量)	♂♀	**2.34**	**19.1**	**4.82**	**16.1**
	30/15[e]	♂♀	NA	NA	NA	NA
サル (13 週間) [2010N108482]	5	♂♀	0.758	4.55	1.56	3.84
	20 (無毒性量)	♂♀	**1.40**	**14.8**	**2.89**	**12.5**
	100	♂♀	3.34	43.3	6.89	36.6
サル (39 週間) [2011N126131]	**3 (無毒性量)**	♂♀	**0.655**	**3.49**	**1.35**	**2.95**
	10	♂♀	1.30	9.46	2.68	7.99
	50	♂♀	2.58	29.8	5.32	25.2
ヒト(推定)[a]	24 mg/日	♂♀	0.485	1.184	NA	NA

注：太字は無毒性量を示す。表中の曝露量は、雌雄それぞれにつきマウス及びウサギ（コンポジットサンプリング）では n=2～3、ラット、イヌ及びサルでは n=3～6 の平均値。NA = 該当せず

a. 動物の曝露量（投与期間終了時又は最終測定日）と、定常状態のヒト推定曝露量（Cmax 及び AUC）を用いて算出した。血液透析患者（日本人、体重 54 kg）に 24 mg 投与したときの定常状態（非透析日）における曝露量を推定した（2019N405983）

b. イヌの 13 週間投与試験（カプセル投与）を除き、強制経口投与によりダプロデュスタットを投与した

c. 試験終了時の TK 測定値を示した。ラットの 2 年間投与試験、マウスの 13 週間投与試験及び 2 年間投与試験、並びにウサギの胚・胎児発生試験については、それぞれ試験 26 週、4 週及び 26 週、並びに妊娠 11 日（投与 5 日目）の測定値を示した

d. 雌のみの値。雄は試験 20 週に生存率低下のため安楽死させた

e. 試験終了前に死亡又は一般状態悪化のために安楽死させた

f. ラットの 4 週間経口投与試験の試験 4 週の曝露量

g. ラット 2 年間投与試験（ダプロデュスタット単独経口投与）及びマウス 2 年間投与試験（ダプロデュスタットを経口投与、更に 3 種のヒト代謝物を皮下投与）における非腫瘍性所見についての無毒性量

h. 3 種のヒト代謝物（M2、M3 及び M13）の曝露量については表 2.6.6-18 参照

表 2.6.6-18　サル及び妊娠ウサギへのダプロデュスタットの経口投与又はマウス及び妊娠ラットへの直接皮下投与によるヒト代謝物の動物／ヒト曝露量比

代謝物	動物種	ダプロデュスタット経口投与量（マウス及びラットは代謝物の皮下投与量）(mg/kg/日)	平均全身曝露量 サル (試験 39 週) ウサギ (妊娠 11 日) ラット (妊娠 9 日) マウス (試験 26 週 [b])		動物/ヒト曝露量比 [a]	
			Cmax (µg/mL)	AUC(0-24h) (µg·hr/mL)	Cmax	AUC
GSK2391220 (M2)	サル	3 (39 週間、無毒性量)	0.0312	0.266	0.32	0.21
		50 (39 週間、最大耐量)	0.0899	1.27	0.91	0.99
	ウサギ	60 (胚・胎児発生、無毒性量)	1.02	11.7	10.4	9.11
	ラット	2.5 M2 (出生前後発生) [c]	1.55	2.50	15.7	1.95
	マウス	2 M2 (2 年間) [b]	3.87	1.66	39.3	1.29
	ヒト [a] (推定)	24 mg/日	0.0985	1.285	NA	
GSK2506104 (M3)	サル	3 (39 週間、無毒性量)	0.0110	0.0789	0.10	0.04
		50 (39 週間、最大耐量)	0.0329	0.468	0.29	0.27
	ウサギ	60 (胚・胎児発生、無毒性量)	0.222	2.69	1.98	1.53
	ラット	3.2 M3 (出生前後発生) [c]	1.72	2.47	15.4	1.40
	マウス	2.5 M3 (2 年間) [b]	4.55	1.84	40.6	1.04
	ヒト [a] (推定)	24 mg/日	0.1120	1.761	NA	
GSK2531401 (M13)	サル	3 (39 週間、無毒性量)	0.00642	0.0362	0.14	0.04
		50 (39 週間、最大耐量)	0.0171	0.247	0.38	0.28
	ウサギ	60 (胚・胎児発生、無毒性量)	0.0158	0.194	0.35	0.22
	ラット	1.8 M13 (出生前後発生) [c]	1.19	1.94	26.4	2.24
	マウス	1.3 M13 (2 年間) [b]	2.70	1.34	59.9	1.54
	ヒト [a] (推定)	24 mg/日	0.0451	0.868	NA	

注： NA = 該当せず

a. 動物の曝露量（投与期間終了時又は最終測定日）と、定常状態のヒト推定曝露量（Cmax 及び AUC）を用いて算出した。血液透析患者（日本人、体重 54 kg）に 24 mg 投与したときの定常状態（非透析日）における曝露量を推定した（2019N405983）

b. マウス 2 年間がん原性試験の試験 26 週における代謝物の平均曝露量。投薬群には 3 種のヒト代謝物（M2: 2.0 mg/kg/日、M3: 2.5 mg/kg/日、M13: 1.3 mg/kg/日）の混合液を 1 日 1 回皮下投与し、更に、0.2、0.8 又は 3 mg/kg/日のダプロデュスタットを経口投与した。表中の値はダプロデュスタットが投与された 3 群の平均値（3 群ともに代謝物の投与量は同じ)

c. ラットの出生前後発生に関する試験の 7 mg/kg/日（＋代謝物）（無毒性量）群の妊娠 9 日における代謝物の平均曝露量

Data source: 2014N221714, 2018N365151, 2012N140611, 2011N126131

2.6.6.10. 参考文献

Ayers KM, Jones SR. The cardiovascular system. In: Benirschke K, Garner FM and Jones TC, editor. Pathology of Laboratory Animals. 1st ed. NewYork:Springer-Verlag New York; 1978:2-69.

Berridge BR, Mowat V, Nagai H, et al. Non-proliferative and proliferative lesions of the cardiovascular system of the rat and mouse. Toxicol Pathol. 2016;29:1S-47S.

Chahoud I, Buschmann J, Clark R. Classification terms in developmental toxicology: need for harmonisation. Reprod Toxicol. 1999;13:77-82.

Frazier KS, Engelhardt JA, Fant P, et al. Scientific and regulatory policy committee points-to-consider paper: Drug-induced vascular injury associated with nonsmall molecule therapeutics in preclinical development: Part I. Biotherapeutics. Toxicol Pathol. 2015;43:915-34.

Frazier KS, Seely JC. Urinary System. In: Sahota PS, Popp JA, Hardisty JF, et al., editor. Toxicologic Pathology: Nonclinical Safety Assessment. Boca Raton, FL:CRC Press; 2013:421-84.

Greaves P. Cardiovascular System. In: Greaves P, editor. Histopathology of Preclinical Toxicity Studies. 3rd ed. New York:Academic Press; 2007:270-333.

Greaves P. Spontaneous myocardial inflammation and necrosis. In: Histopathology of Preclinical Toxicity Studies. 2nd ed. Amsterdam:Elsevier; 2000:260-1.

Li K, Gesang L, Dan Z, et al. Transcriptome reveals 1400-fold upregulation of APOA4-APOC3 and 1100-fold downregulation of GIF in the patients with polycythemia-induced gastric injury. PLOS ONE. 2015;10:e0140534.

Magnani M, Piatti E, Serafini N, et al. The age-dependent metabolic decline of the red blood cell. Mech Ageing Dev. 1983;22:295-308.

Potter CG, Sharma AK, Farber MO, et al. Hypoglycemic neuropathy in experimental diabetes. J Neurol Sci. 1988;88:293-301.

Serabian MA. FDA Toxicologist’s Review of Darbepoetin Alfa. BLA 99–1492. 2003.

Sidenius P, Jakobsen J. Peripheral neuropathy in rats induced by insulin treatment. Diabetes. 1983;32:383-6.

Spence S. The Dutch-Belted Rabbit: An alternative breed for developmental toxicity testing. Birth Defects Research (Part B) . 2003;68:439-48.

Spivak JL. Polycythemia vera: myths, mechanisms, and management. Blood. 2002;100:4272-90.

Tweats DJ, Blakey D, Heflich RH. Report of the IWGT working group on strategies and interpretation of regulatory in vivo tests. I. Increases in micronucleated bone marrow cells in rodents that do not

indicate genotoxic hazards. Mutat Res. 2007;627:78-91.

Woodburn KW, Schatz PJ, Fong KL, et al. Preclinical safety and pharmacology of Hematide, a peptidic erythropoiesis stimulating agent (ESA), in rats and monkeys. Drug Chem Toxicol. 2008;31:229-44.

薬食審査発 0219 第 4 号通知. 「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」について. 平成 22 年 2 月 19 日付. 2010.

薬食審査発 0920 第 2 号通知. 医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンスについて. 平成 24 年 9 月 20 日付. 2012.

薬生薬審発 0627 第 1 号通知. 「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドラインについて」の一部改正について. 平成 30 年 6 月 27 日付. 2018.

APPENDIX 1 ADDITIONAL INFORMATION

The following reports have been reviewed within GlaxoSmithKline (GSK) and the information is considered to have no bearing on safety. These reports are not included in the study listing tables for the following reasons:

Report No. (Study No.)	Title	Reason for Exclusion from Study Listing Tables
FD2007/00411 (Z27930)	Assessment of stability of GSK1278863 in dimethyl sulphoxide	Stability reports for formulations used in nonclinical studies.
FD2007/00417 (Z27944)	Assessment of stability of GSK1278863 in dimethyl formamide	
2011N122988	GSK1278863A: Assessment of Stability and Homogeneity of a Formulation of GSK1278863A in Petrolatum	
2011N124494	Assessment of Stability of GSK2531401 in 0.9% (w/v) Aqueous Sodium Chloride, Final Formulation Adjusted to pH 7 (±0.2)	
2012N131899 (S29987)	GSK2531401A. Further Assessment of Stability of GSK2531401 in 0.9% (w/v) Aqueous Sodium Chloride, Final Formulation Adjusted to pH 7 (±0.2)	
2011N120068 (S29755)	Assessment of Homogeneity and Stability of GSK1278863 in Butylated Hydroxy Toluene (BHT) (0.2% w/w) , Eumulgin B2 (2.5% w/w), Sophiderm (5% w/w), Phenoxyethanol (1% w/w), Carbopol 980NF (0.2% w/w), Pemulen TR-1 (0.2% w/w), Propylene Glycol (1% w/w) in Water, final formulation pH adjusted to pH 5 (+/-0.2), using Trolamine	
2016N270208 (S70894G)	GSK1278863: Analytical Method Validation and Assessment of Homogeneity and Stability of Topical Formulations in Petrolatum	
2012N145434 (S30226)	Assessment of Stability of GSK2487818 in Dimethyl Sulfoxide	
2012N150097 (S30350G)	Assessment of Stability of GSK2506102 in Dimethyl Sulfoxide	
2012N150298 (S30351G)	Assessment of Stability of GSK2531398 in Dimethyl Sulfoxide	
CD2007/01207 (G07246)	GSK1278863A: Formulation Stability Assessment in 1% Methylcellulose	

Report No. (Study No.)	Title	Reason for Exclusion from Study Listing Tables
CD2008/01498 (G08108)	GSK1278863A: Formulation Stability Assessment in 1% Methylcellulose at Concentrations of 0.02, 0.05 & 0.1 mg/mL	Stability reports for formulations used in nonclinical studies.
2014N192456	GSK1278863A: Formulation stability assessment in 1% Methylcellulose, 2% Tween 80, 5mM NaOH in water, pH 6(+/-).2)	
2014N188533 (S70459G)	GSK2391220A (M2), GSK2506104A (M3) and GSK2531401A (M13): Formulation Stability Assessment in Aqueous 25mM Phosphate Buffer, pH 7.4 (± 0.2)	
2011N126848	Vehicle Assessment of Intravenous formulations	
2011N114655 (Ames-1018)	gsk003* : Bacterial Mutation Assay (Ames Test) with Salmonella typhimurium and Escherichia coli (screening study)	Genotoxicity study performed on impurity that is present in the test substance at <1.5 µg (TTC).
2011N121586 (Ames-1105)	gsk004*: Bacterial Mutation Assay (Ames Test) with Salmonella typhimurium	
2011N121580 (Ames-1104)	gsk001*: Bacterial Mutation Assay (Ames Test) with Salmonella typhimurium and Escherichia coli (screening study)	
2014N207698 (Ames-2023)	gsk005*: Bacterial Mutation Assay (Ames Test) with Salmonella typhimurium and Escherichia coli (screening study)	
2014N199787 (Ames-1873)	gsk006*: Bacterial Mutation Assay (Ames Test) with Salmonella typhimurium and Escherichia coli (screening study)	
2014N199787 (Ames-1873)	gsk006*: Bacterial Mutation Assay (Ames Test) with Salmonella typhimurium and Escherichia coli (screening study)	
2014N207698 (Ames-2023)	gsk005*: Bacterial Mutation Assay (Ames Test) with Salmonella typhimurium and Escherichia coli (screening study)	
2016N305749	gsk001*: In Vitro Mutation Assay with L5178Y Mouse Lymphoma Cells at the TK Locus (screening study)	
2016N305751 (MLA-1795)	gsk003*: In vitro mutation assay with L5178Y mouse lymphoma cells at the TK locus (screening study)	
2016N305244 (CRCE-RHE-24-2016)	Assessment of the Radiation Dose to Male Volunteers from the Oral Administration of [^{14}C]GSK1278863	Published animal data was used to assess human data.

*新薬承認情報提供時に置き換え

Report No. (Study No.)	Title	Reason for Exclusion from Study Listing Tables
2012N145409 (R42958N)	White Petrolatum and Yellow Petrolatum: 14 Day Vehicle Dermal Irritation Study in Rats	Performed to support use of the compound in different formulations.
2011N128850	7 Day Dermal Irritation Screening Study of Potential Vehicles in Rabbits	
2011N119749 (L29679)	GSK1278863A: Single-Dose Topical Irritation Study in New Zealand White Rabbits	

Early screening assays undertaken to identify genotoxic potential have not been included in this listing. However, this information has been reviewed within GSK and is considered to have no bearing on safety and are superseded by pivotal studies.

APPENDIX 2 CARCINOGENICITY TABLES

Table A1 List of Tissues Studied in Carcinogenicity Studies

Tissues Fixed	Mouse (Report No. 2014N221714)	Rat (Report No. 2014N196080)
Adrenals	X[b]	X
Animal identification	-	-
Aorta (thoracic)	X	X
Brain (cerebrum, cerebellum, midbrain and medulla oblongata)	X	X
Cecum	X	X
Colon	X	X
Duodenum	X[l]	X
Epididymis	X[b]	X
Esophagus	X	X
Eyes/Optic nerves	X[b]	X
Femur (including femoro-tibial joint)	X (distal)	X
Gallbladder	X	-
Gross lesions/masses	X	X
Harderian glands	X[b]	X
Heart	X (including section of aorta)	X
Injection site (4 sites)	X	-
Ileum	X	X
Jejunum	X	X
Kidneys	X[b] (included renal papilla)	X
Larynx	X[h]	X
Liver (two lobes)	X[i]	X
Lung	X (two lobes)[a]	X (all lobes)[a]
Lymph node -		
Mandibular	X (only one for examination)	X
mesenteric	X	X
Mammary gland (inguinal)	X[c]	X
Nasal cavities	X[k] (with skull)	X
Nasopharynx (rat; with skull)	-	-
Ovaries	X[b]	X
Pancreas	X	X
Parathyroid	X[d]	X
Pituitary	X	X
Preputial/clitoral gland	X	X
Prostate	X[e]	X
Rectum	X	X
Salivary gland		
mandibular	X[f]	X
sublingual	X[f]	X
parotid	X[f]	X
Sciatic nerve	X (only one for examination)[f]	X
Seminal vesicles	X[b]	X
Skeletal muscle	X[j]	X (hind-limb)
Skin (inguinal, collected with mammary glands)	X	X

TableA1 List of Tissues Studied in Carcinogenicity Studies (Continued)

Tissue Fixed	Mouse (Report No. 2014N221714)	Rat (Report No. 2014N196080)
Spinal cord Cervical		
thoracic		
lumbar	X	X
Spleen	X	X
Sternum with bone marrow	X	X
Stomach (glandular and nonglandular regions)	X	X
Testes	X[b]	X
Thymus/Tymic Area	X	X
Thyroid	X[b,g]	X
Tongue	X	X
Trachea	X	X
Urinary bladder	X	X
Uterus (horns, body and cervix)	X	X
Vagina	X	X

Key:
X = Tissues Examined.
a = 2 lobes examined including both proximal and distal regions.
b = Paired examination
c = Examined for all female animals. Examine in males if present in submitted section (no recut was required).
d = Collect with thyroid; At least one parathyroid was examined.
e = Ventral lobe examined (as minimum).
f = Only one of each required for examination.
g = The portion of larynx cranially to the thyroid lobes was removed. Caudal portion was trimmed. Embedded with caudal side (trachea side) on the same side of the label.
h = Longitudal sections through the larynx and the pharynx section included soft palate and caudal part of the tongue, Section taken with open trachea, epiglottis and arythenoid cartilage. Section embedded left side up.
i = With gall blader. Left lateral lobe and Right Medial lobe.
j = The gastrocnemius was retained as minimum.
k = Examined at least 3 levels.
l = Collected with stomach or transverse section.

Table A2 Carcinogenicity Study in Mice - Tumour Incidence

Number of Tumors in All Animals Which Were Evaluated (Without Consideration to Cause and Relevance)		Frequency according to dose and sex (n)									
		(1) Reference Item		(2) Dapro (0.2 mg/kg /day) + Metabolite cocktail[a]		(3) Dapro (0.8 mg/kg /day) + reference item[a]		(4) Dapro (0.8 mg/kg /day) + Metabolite cocktail[a]		(5) Dapro (3 mg/kg/ day) + Metabolite cocktail[a]	
Biometric Analysis: Yes		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Evaluated		**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**
Organ	**Identification of Tumour[a]**										
Body Cavity, nasal	Adenoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hemangioma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Bone marrow	Hemangiosarcoma	3	2	0	0	0	0	2	0	0	1
Bone, femur	Osteosarcoma	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1
Bone, sternum	Osteosarcoma	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1
epididymis	Fibrosarcoma	0	-	0	-	1	-	0	-	0	-
	Hemangiosarcoma	0	-	1	-	0	-	0	-	0	-
	Interstitial (leydig) cell adenoma	1	-	0	-	1	-	0	-	1	-
Brain	Meningioma, benign	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
cervix	leiomyosarcoma	-	1	-	0	-	1	-	0	-	1
	Squamous cell carcinoma	-	0	-	0	-	0	-	1	-	0
gallbladder	Adenoma	3	1	2	1	6	2	3	2	2	4
Gland, adrenal	Pheochromocytoma, benign	1	0	2	0	2	0	0	0	0	0
	Pheochromocytoma, malignant	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
	Subcapsular adrenal tumor, benign	4	0	2	2	5	0	1	2	4	0
	Subcapsular adrenal tumor, malignant	0	0	0	2	3	1	4	1	1	0
Gland, harderian	Adenocarcinoma	1	0	0	0	0	0	1	1	1	0
	Adenoma	8	4	14	7	9	12	10	7	10	2
Gland, mammary	Adenocarcinoma	0	1	0	3	0	1	0	2	0	2
Gland, pituitary	Adenoma, pars ditalis	1	1	1	2	2	1	1	6	1	2
	Carcinoma, pars distalis	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0
	Craniopharyngioma, malignant	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

Table A2 Carcinogenicity Study in Mice - Tumour Incidence (Continued)

Number of Tumors in All Animals Which Were Evaluated (Without Consideration to Cause and Relevance)		Frequency according to dose and sex (n)									
		(1) Reference Item		(2) Dapro (0.2 mg/kg /day) + Metabolite cocktail[a]		(3) Dapro (0.8 mg/kg /day) + reference item[a]		(4) Dapro (0.8 mg/kg /day) + Metabolite cocktail[a]		(5) Dapro (3 mg/kg/ day) + Metabolite cocktail[a]	
Biometric Analysis: Yes		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Evaluated		**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**
Organ	**Identification of Tumour**										
Gland, seminal vesicle	Adenocarcinoma	0	-	0	-	0	-	0	-	2	-
	Adenoma	0	-	0	-	2	-	0	-	0	-
	Granular cell tumor, malignant	1	-	0	-	0	-	0	-	0	-
	Leiomyosarcoma	1	-	1	-	0	-	1	-	0	-
	Osteosarcoma	0	-	0	-	0	-	0	-	1	-
	Sarcoma	0	-	0	-	0	-	1	-	0	-
Gland, thyroid	Follicular cell adenoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Heart	hemangiosarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Hemolymph oreticular tissue	Histiocytic sarcoma	0	4	1	3	0	2	1	3	0	3
	Lymphoma, malignant	4	21	8	17	10	18	3	15	2	15
kidney	Lipoma	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Tubular cell carcinoma	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0
	Tubular cell adenoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Large intestine, cecum	Leiomyosarcoma	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
larynx	Squamous cell carcinoma	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
liver	Hemangiosarcoma	2	2	3	0	2	0	0	1	3	1
	Hepatocellular adenoma	7	0	3	0	9	0	2	0	4	0
	Hepatocellular carcinoma	4	0	9	1	12	0	6	0	7	1
lung	Adenosquamous carcinoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Bronchioloalveolar adenoma	10	8	13	5	11	8	12	12	9	12
	Bronchioloalveolar carcinoma	19	9	15	12	21	9	19	11	20	7
Lymph node, mesenteric	hemangioma	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
	Hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
Muscle, skeletal	Hemangiosarcoma	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
Ovary	Cystadenoma	-	2	-	1	-	1	-	2	-	2
	Granulosa cell tumor, benign	-	2	-	0	-	0	-	0	-	1
	Granulosa cell tumor, malignan	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1
	hemangiosarcoma	-	0	-	0	-	0	-	2	-	0
	Luteoma	-	0	-	1	-	1	-	1	-	0
	Mixed sex cord stromal tumor	-	0	-	2	-	2	-	2	-	0

Table A2 Carcinogenicity Study in Mice - Tumour Incidence (Continued)

Number of Tumors in All Animals Which Were Evaluated (Without Consideration to Cause and Relevance)		Frequency according to dose and sex (n)									
		(1) Reference Item		(2) Dapro (0.2 mg/kg /day) + Metabolite cocktail[a]		(3) Dapro (0.8 mg/kg /day) + reference item[a]		(4) Dapro (0.8 mg/kg /day) + Metabolite cocktail[a]		(5) Dapro (3 mg/kg/ day) + Metabolite cocktail[a]	
Biometric Analysis: Yes		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Evaluated		**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**
Organ	**Identification of Tumour[a]**										
pancreas	Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Islet cell adenoma	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1
Site, injection	Fibrosarcoma	0	0	0	0	1	1	2	1	0	0
	Mast cell tumor, malignant	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
skin	Basal cell tumor, benign	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Papilloma	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
	Sebaceous cell adenoma	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Small intestine, duodenum	Adenocarcinoma	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0
	Adenoma	1	0	2	0	1	1	0	0	0	0
Small intestine, jejunum	Adenocarcinoma	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1
Spinal cord, lumbar	Astrocytoma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
spleen	Hemangiosarcoma	1	2	1	2	0	0	3	2	1	1
stomach	Adenoma	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0
	Papilloma	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
	Squamous cell carcinoma	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
subcutis	Hemangioma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	hemangiosarcoma	1	0	2	0	1	1	1	0	0	0
	fibrosarcoma	0	0	0	3	0	0	0	2	0	0
	Myxosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Rhabdomyosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Sarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Schwannoma, malignant	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
testis	Interstitial (Leydig) cell adenoma	1	-	5	-	0	-	0	-	1	-
Uterus	Adenocarcinoma	-	1	-	0	-	0	-	0	-	2
	Endometrial stromal sarcoma	-	0	-	1	-	0	-	0	-	1
	Granular cell tumor, benign	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
	Hemangioma	-	0	-	1	-	1	-	1	-	0
	Hemangiosarcoma	-	3	-	3	-	2	-	3	-	3
	Leiomyoma	-	1	-	1	-	2	-	1	-	1
	leiomyosarcoma	-	3	-	1	-	3	-	4	-	1
	Polyp, endometrial stromal	-	1	-	4	-	0	-	2	-	1
	Polyp, glandular	-	6	-	2	-	3	-	5	-	3

Table A2 Carcinogenicity Study in Mice - Tumour Incidence (Continued)

Number of Tumors in All Animals Which Were Evaluated (Without Consideration to Cause and Relevance)		Frequency according to dose and sex (n)									
		(1) Reference Item		(2) Dapro (0.2 mg/kg /day) + Metabolite cocktail[a]		(3) Dapro (0.8 mg/kg /day) + reference item[a]		(4) Dapro (0.8 mg/kg /day) + Metabolite cocktail[a]		(5) Dapro (3 mg/kg/ day) + Metabolite cocktail[a]	
Biometric Analysis: Yes		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Evaluated		**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**	**60**
Organ	**Identification of Tumour**										
vagina	Leimyosarcoma	-	0	-	1	-	0	-	1	-	0
	Squamous cell carcinoma	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
Whole body	hemangiosarcoma	6	7	5	4	3	4	5	7	4	5

	(1) Reference Item		(2) Dapro (0.2 mg/kg /day) + Metabolite cocktail[a]		(3) Dapro (0.8 mg/kg /day) + reference item[a]		(4) Dapro (0.8 mg/kg /day) + Metabolite cocktail[a]		(5) Dapro (3 mg/kg/ day) + Metabolite cocktail[a]	
Sex M/F	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Evaluated	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
Number of Tissues Examined	49	50	49	50	49	50	49	50	49	50
A). Macroscopically Abnormal										
Adipose Tissue	2	10	4	7	3	6	5	6	6	9
Artery, Aorta	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
Body Cavity, Abdominal	1	3	1	2	1	2	2	1	3	1
Body Cavity, Nasal	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Body Cavity, Oral	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Body Cavity, Pelvic	1	0	1	0	1	0	2	0	2	0
Body Cavity, Thoracic	0	3	0	0	0	3	0	3	2	1
Bone	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
Bone, Femur	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0
Bone, Sternum	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Bone Marrow	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Brain	1	3	2	4	3	1	0	6	3	2
Cervix	-	3	-	0	-	2	-	3	-	4
Duct, Bile	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Ear	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Epididymis	3	-	2	-	5	-	3	-	10	-
Esophagus	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Eye	4	7	2	8	3	1	3	3	3	1
Gallbladder	3	6	1	4	6	7	3	3	5	4
Gland, Adrenal	10	7	8	6	11	3	12	5	7	1
Gland, Clitoral	-	1	-	3	-	1	-	4	-	1
Gland, Harderian	4	2	6	7	4	5	7	0	7	1
Gland, Lacrimal	0	0	1	0	0	0	0	3	0	2
Gland, Mammary	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Gland, Parathyroid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table A2 Carcinogenicity Study in Mice - Tumour Incidence (Continued)

	(1) Reference Item		(2) Dapro (0.2 mg/kg/day) + Metabolite cocktail[a]		(3) Dapro (0.8 mg/kg/day) + reference item[a]		(4) Dapro (0.8 mg/kg/day) + Metabolite cocktail[a]		(5) Dapro (3 mg/kg/day) + Metabolite cocktail[a]	
Sex M/F	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
A). Macroscopically Abnormal (Continued)										
Gland, Pituitary	4	3	1	3	3	6	1	6	2	5
Gland, Preputial	24	-	22	-	23	-	24	-	20	-
Gland Prostate	16	-	18	-	23	-	13	-	18	-
Gland, Salivary, Mandibular	0	3	1	2	2	0	0	3	2	3
Gland, Salivary, Parotid	0	1	0	2	0	0	0	0	0	1
Gland, Salivary, Sublingual	0	0	1	0	0	0	0	1	1	2
Gland, Seminal Vesicle	15	-	24	-	14	-	23	-	17	-
Gland, Thyroid	1	2	1	1	3	2	1	0	2	0
Head	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Heart	9	7	7	6	2	4	9	6	13	4
Joint	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Kidney	20	17	22	19	19	22	21	13	20	19
Larynx	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Large Intestine, Cecum	0	0	6	0	3	4	3	0	6	3
Large Intestine, Colon	0	0	1	0	0	1	2	0	1	3
Large Intestine, Rectum	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1
Liver	31	25	28	28	36	22	27	22	26	25
Lung	34	32	32	30	37	31	37	34	37	32
Lymph Node	10	21	9	21	14	15	14	10	15	17
Lymph Node, Mandibular	1	12	5	16	4	17	5	10	5	17
Lymph Node, Mesenteric	21	21	25	22	18	27	23	12	26	18
Muscle, Diaphragm	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Muscle, Skeletal	1	6	1	1	1	4	2	2	0	0
Nasopharynx	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nerve, Optic	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Nerve, Sciatic	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Orbit	0	0	1	0	1	1	1	0	1	0
Ovary	-	52	-	48	-	51	-	53	-	50
Oviduct	-	2	-	2	-	2	-	3	-	2
Pancreas	3	9	5	6	2	2	2	6	2	3
Penis	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pericardim	0	3	1	1	1	1	1	0	0	0
Site, Injection, Dorsal Thoracic, Left	19	21	19	28	12	22	21	24	26	28
Site, Injection, Dorsal Thoracic,Right	17	10	35	32	11	24	32	36	36	33
Site, Injection, Scapular, Right	19	15	36	30	14	26	30	31	31	31
Site, Injection, Scapular, Left	21	14	24	24	10	25	21	24	22	29
Skin	2	1	1	2	3	4	1	1	2	2
Small Intestine, Duodenum	2	0	2	4	1	4	4	2	3	4
Small Intestine, Ileum	0	0	0	0	1	2	3	0	1	0
Small Intestine, Jejunum	2	1	1	0	3	5	3	2	3	1
Spinal Cord, Cervical	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Spinal Cord, Lumbar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Spinal Cord, Thoracic	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Spleen	10	29	23	38	15	30	21	32	18	39

Table A2 Carcinogenicity Study in Mice - Tumour Incidence (Continued)

	(1) Reference Item		(2) Dapro (0.2 mg/kg/day) + Metabolite cocktail[a]		(3) Dapro (0.8 mg/kg/day) + reference item[a]		(4) Dapro (0.8 mg/kg/day) + Metabolite cocktail[a]		(5) Dapro (3 mg/kg/day) + Metabolite cocktail[a]	
Sex M/F	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
A). Macroscopically Abnormal (Continued)										
Stomach	8	8	18	10	10	10	19	11	19	15
Subcutis	5	9	7	9	4	4	4	3	3	11
Tail	1	1	0	0	0	3	0	0	1	1
Testis	13	-	14	-	10	-	11	-	17	-
Thymus	16	26	12	24	9	30	20	24	14	29
Tongue	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Trachea	1	1	0	3	0	0	0	1	1	1
Ureter	1	2	3	2	2	2	2	2	5	2
Urethra	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Urinary Bladder	7	2	14	1	11	5	12	1	14	1
Uterus	-	50	-	48	-	48	-	49	-	50
Vagina	-	0	-	1	-	4	-	1	-	0
Vas Deferens	0	-	0	-	1	-	0	-	0	-
Whole Animal	0	1	1	1	0	1	3	3	6	2
B). Protocol Tissue of Which Some Were Not Available For Histological Examination										
Artery, Aorta (Not present in wet tissues)	0	1	0	2	0	1	0	0	0	0
Bone, Femur (Not present in wet tissues)	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
Cervix (Not present in wet tissues)	-	1	-	1	-	0	-	0	-	0
Cervix (Incorporated into mass)	-	0	-	3	-	0	-	0	-	0
Esophagus (Not present in wet tissues)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Eye (Not present in wet tissues)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Gallbladder (Incorporated into mass)	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Gallbladder (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	1	1	1	1	0	2
Gland, Clitoral (Not present in wet tissues)	-	1	-	0	-	0	-	0	-	0
Gland, Clitoral (Incorporated into mass)	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0
Gland, Mammary (Not present in section)	51	0	45	1	48	0	49	0	43	0
Gland, Parathyroid (Not present in section)	3	3	2	4	5	7	5	6	2	2
Gland, Parathyroid (Not present in wet tissues)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Gland, Pituitary (Not present in wet tissues)	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0
Gland, Pituitary (Tissue lost during processing)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Gland, Salivary, Sulingual (Not present in wet tissues)	0	1	0	0	1	0	2	0	2	2
Gland, Thyroid (Not present in wet tissues)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Large Intestine, Rectum (Not present in wet tissues)	2	1	2	0	1	0	0	0	2	0
Large Intestine, Rectum (Incorporated into mass)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

Table A2 Carcinogenicity Study in Mice - Tumour Incidence (Continued)

	(1) Reference Item		(2) Dapro (0.2 mg/kg/day) + Metabolite cocktail[a]		(3) Dapro (0.8 mg/kg/day) + reference item[a]		(4) Dapro (0.8 mg/kg/day) + Metabolite cocktail[a]		(5) Dapro (3 mg/kg/day) + Metabolite cocktail[a]	
Sex M/F	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
B). Protocol Tissue of Which Some Were Not Available For Histological Examination (Continued)										
Larynx (Not Present in wet tissues)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Lymph Node (Not present in wet tissues)	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymph Node, Mandibular (Not present in wet tissues)	1	3	2	1	1	1	6	3	2	2
Lymph Node, Mesenteric (Not present in wet tissues)	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1
Muscle, Skeletal (Not present in wet tissues)	1	0	0	2	1	0	1	1	1	0
Nerve, Optic (Not present in section)	0	1	2	3	2	2	3	1	0	3
Nerve, Sciatic (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Orbit (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Ovary (Not present in wet tissues)	-	1	-	0	-	0	-	0	-	0
Oviduct (Not present in wet tissues)	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0
Pancreas (Not present in wet tissues)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Skin (Not present in wet tissues)	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
Small Intestine, Duodenum (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Small Intestine, Ileum (Not present in wet tissues)	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
Small Intestine, Jejunum (Not present in wet tissues)	2	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Spinal Cord, Lumbar (Not present in wet tissues)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Thymus (Not present in wet tissues)	2	1	0	0	1	0	0	0	2	1
Tongue (Not present in wet tissues)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Trachea (Not present in wet tissues)	1	1	0	0	2	0	0	0	0	0
Trachea (Tissue lost during processing)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Urinary Bladder (Not present in wet tissues)	0	1	1	1	0	2	0	0	0	1
Uterus (Not present in wet tissues)	-	1	-	0	-	0	-	0	-	0
Vagina (Not present in wet tissues)	-	1	-	1	-	2	-	0	-	0
Vagina (Incorporated into mass)	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0
Vas Deferens (Not present in wet tissues)	0	-	0	-	1	-	0	-	0	-

Key:
a = All tumor types (benign, malignant and neoplastic) are combined.
Dapro = Daprodustat.

Table A3 Carcinogenicity Study in Rats - Tumour Incidence

Number of Tumors in All Animals Which Were Evaluated (Without Consideration to Cause and Relevance)		Frequency according to dose and sex (n)									
		(1) Reference Item		(2) Dapro (0.02 mg/kg /day)		(3) Dapro (0.1 mg/kg /day)		(4) Dapro (0.8 mg/kg /day)		(5) Dapro (4 or 7 mg/kg/ day)	
Biometric Analysis: Yes		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Evaluated		**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**
Organ	**Identification of Tumour**										
Body Cavity, nasal	Adenoma	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
	Squamous cell carcinoma	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1
Bone, femur	hemangiosarcoma	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Brain	Meningioma, malignant	1	0	0	0	1	0	1	0	1	1
	Astrocytoma, malignant	1	1	3	0	2	1	0	1	0	1
	Granular cell tumor, malignant	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Oligodendroglioma, malignant	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
cervix	Endometrial stromal polyp	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1
	sarcoma	-	1	-	0	-	0	-	1	-	0
eye	Melanoma, benign	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Gland, adrenal	Cortical adenoma	1	0	1	2	1	4	1	1	0	2
	Cortical carcinoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	Pheochromocytoma, benign	7	2	7	2	6	2	4	0	1	3
	Pheochromocytoma, complex, benign	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	Pheochromocytoma, malignant	2	0	1	1	1	2	1	0	0	2

Table A3 Carcinogenicity Study in Rats - Tumour Incidence (Continued)

Number of Tumors in All Animals Which Were Evaluated (Without Consideration to Cause and Relevance)		Frequency according to dose and sex (n)									
		(1) Reference Item		(2) Dapro (0.02 mg/kg /day)		(3) Dapro (0.1 mg/kg /day)		(4) Dapro (0.8 mg/kg /day)		(5) Dapro (4 or 7 mg/kg/ day)	
Biometric Analysis: Yes		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Evaluated		**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**
Organ	**Identification of Tumour**										
Gland, clitoral	Adenocarcinoma	-	1	-	0	-	2	-	0	-	1
	Papilloma	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0
	Squamous cell carcinoma	-	0	-	0	-	0	-	1	-	0
Gland, mammary	Adenocarcinoma	2	9	0	4	0	8	0	2	0	10
	Adenoma	1	14	0	13	3	17	1	15	1	16
	Adenosquamous carcinoma	0	0	0	2	0	2	0	1	0	1
	fibroadenoma	1	41	4	48	0	41	3	50	8	54
Gland, parathyroid	adenoma	2	0	1	0	1	0	0	1	1	0
Gland, pituitary	Adenoma	22	51	23	44	27	38	22	39	17	41
	Carcinoma	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0
Gland, preputial	Papilloma	1	-	0	-	0	-	0	-	0	-
Gland, prostate	polyp	0	-	0	-	0	-	0	-	1	-
Gland, thyroid	c-cell adenoma	3	5	6	3	8	4	8	5	5	4
	c-cell carcinoma	6	2	1	1	3	2	1	0	1	2
	Follicular cell adenoma	1	1	2	1	1	0	2	2	0	0
	Follicular cell carcinoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Hemolympho reticular tissue	Histiocytic sarcoma	3	1	2	0	2	1	2	0	0	3
	Leukemia, granulocytic	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Leukemia, large granular lymphocytic	2	0	1	0	3	0	1	1	0	1
	Lymphoma, malignant	2	0	1	1	1	1	0	2	0	0
kidney	Adenoma	1	0	0	1	3	1	1	0	3	0
	liposarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
larynx	fibrosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
liver	cholangioma	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
	hemangioma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Hepatocellular adenoma	3	1	2	0	0	0	0	0	0	0

Table A3 Carcinogenicity Study in Rats - Tumour Incidence (Continued)

Number of Tumors in All Animals Which Were Evaluated (Without Consideration to Cause and Relevance)		Frequency according to dose and sex (n)									
		(1) Reference Item		(2) Dapro (0.02 mg/kg /day)		(3) Dapro (0.1 mg/kg /day)		(4) Dapro (0.8 mg/kg /day)		(5) Dapro (4 or 7 mg/kg/ day)	
Biometric Analysis: Yes		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Evaluated		**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**
Organ	**Identification of Tumour**										
lung	Bronchioloalveolar adenoma	2	0	0	0	0	0	1	0	0	1
	Bronchioloalveolar carcinoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	epithelioma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	hemangiosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lymph node, mesenteric	hemangioma	1	0	1	1	1	0	0	0	1	0
	Hemangiosarcoma	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0
	Neuroendocrine cell tumor, benign	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Muscle, skeletal	fibrosarcoma	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0
	Hemangiosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Schwannoma, malignant	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Ovary	Granulosa cell tumor, benign	-	0	-	1	-	0	-	0	-	1
	mesothelioma, malignant	-	1	-	0	-	0	-	0	-	0
pancreas	Adenoma	1	0	1	1	1	2	1	0	0	0
	adenocarcinoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Ductal cell adenocarcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Islet cell adenoma	6	0	2	3	9	3	4	2	5	1
	Islet cell carcinoma	3	0	3	1	2	0	2	1	0	0
skin	Basal cell tumor, benign	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Basal cell tumor, malignant	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	fibroma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hair follicle tumor, benign	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Keratoacanthoma	9	2	3	1	6	0	1	2	3	2
	Melanoma, benign	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Melanoma, malignant	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	Papilloma	2	0	3	0	3	0	5	0	2	0
	Sebaceous cell adenoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	Squamous cell carcinoma	0	1	0	0	3	0	2	0	0	0

Table A3 Carcinogenicity Study in Rats - Tumour Incidence (Continued)

Number of Tumors in All Animals Which Were Evaluated (Without Consideration to Cause and Relevance)		Frequency according to dose and sex (n)									
		(1) Reference Item		(2) Dapro (0.02 mg/kg /day)		(3) Dapro (0.1 mg/kg /day)		(4) Dapro (0.8 mg/kg /day)		(5) Dapro (4 or 7 mg/kg/ day)	
Biometric Analysis: Yes		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Evaluated		**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**
Organ	**Identification of Tumour**										
Small intestine, duodenum	Adenocarcinoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Small intestine, jejunum	Adenocarcinoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	leiomyoma	0	0	0	0	0	1	0	2	0	1
	leiomyosarcoma	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
Spleen	Fibrosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	Hemangioma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Stomach	Adenoma	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0
	Papilloma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	polyp	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Subcutis	fibroma	9	3	9	4	9	8	9	4	6	5
	fibrosarcoma	0	2	3	1	2	1	3	2	3	3
	hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	Lipoma	3	3	1	4	1	0	3	2	0	2
	liposarcoma	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
	Osteosarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	Sarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Schwannoma, benign	0	0	0	1	3	1	0	0	1	1
	Schwannoma, malignant	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0
Testis	hemangima	0	-	0	-	0	-	0	-	1	-
	Interstitial (Leydig) cell adenoma	1	-	2	-	1	-	1	-	0	-
Thymus	Thymoma, benign	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0
	Thymoma, malignant	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Urinary bladder	Papilloma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Table A3 Carcinogenicity Study in Rats - Tumour Incidence (Continued)

Number of Tumors in All Animals Which Were Evaluated (Without Consideration to Cause and Relevance)		Frequency according to dose and sex (n)									
		(1) Reference Item		(2) Dapro (0.02 mg/kg /day)		(3) Dapro (0.1 mg/kg /day)		(4) Dapro (0.8 mg/kg /day)		(5) Dapro (4 or 7 mg/kg/ day)	
Biometric Analysis: Yes		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Evaluated		**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**	**70**
Organ	**Identification of Tumour**										
Uterus	Adenocarcinoma	-	0	-	0	-	1	-	0	-	0
	Endometrial stromal polyp	-	1	-	2	-	7	-	2	-	6
	Endometrial stromal sarcoma	-	0	-	1	-	0	-	0	-	0
	Granular cell tumor, benign	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1
	leiomyosarcoma	-	0	-	0	-	0	-	0	-	1
	polyp	-	1	-	0	-	1	-	0	-	0
Whole body	hemangiosarcoma	1	1	1	1	0	0	1	0	2	2

	(1) Reference Item		(2) Dapro (0.02 mg/ kg/day)		(3) Dapro (0.1 mg/kg / day)		(4) Dapro (0.8 mg/kg / day)		(5) Dapro (4 or 7 mg/kg/ day)	
Sex M/F	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals Evaluated	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70
Number of Tissues Examined	47	48	47	48	47	48	47	48	47	48
A). Macroscopically Abnormal[a]										
Adipose Tissue	5	3	5	5	8	2	4	4	3	7
Artery, Aorta	2	0	2	1	0	0	1	1	1	0
Body Cavity, Abdominal	2	0	1	0	1	1	0	3	1	3
Body Cavity, Cranial	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Body Cavity, Nasal	0	1	2	0	0	0	1	0	0	0
Body Cavity, Oral	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Body Cavity, Pericardial	-	-	-	-	-	-	1	0	-	-
Body Cavity, Thoracic	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0
Bone	3	0	0	0	1	1	1	2	0	3
Bone, Femur	1	0	2	0	2	0	1	0	0	0
Bone, Sternum	2	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Bone Marrow	1	0	0	0	2	0	1	0	0	1
Brain	17	41	15	44	22	37	15	35	8	39
Cervix	-	4	-	8	-	4	-	8	-	6
Duct, Bile	4	0	0	0	2	0	5	0	1	0

Table A3 Carcinogenicity Study in Rats - Tumour Incidence (Continued)

	(1) Reference Item		(2) Dapro (0.02 mg/kg/day)		(3) Dapro (0.1 mg/kg/day)		(4) Dapro (0.8 mg/kg/day)		(5) Dapro (4 or 7 mg/kg/day)	
Sex M/F	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
A). Macroscopically Abnormal[a] (Continued)										
Ear	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Epididymis	5	-	5	-	3	-	4	-	3	-
Esophagus	1	1	2	2	1	0	0	2	1	1
Eye	5	0	3	0	1	1	2	3	2	0
Gland, Adrenal	36	56	42	63	42	66	37	63	26	64
Gland, Clitoral	-	7	-	5	-	11	-	8	-	11
Gland, Harderian	2	0	0	0	1	0	0	2	1	0
Gland, Lacrimal	12	0	11	0	10	0	14	0	9	0
Gland, Mammary	11	58	8	62	6	54	7	62	12	62
Gland, Parathyroid	5	8	5	3	5	2	4	1	3	2
Gland, Pituitary	26	62	29	62	38	62	26	63	22	55
Gland, Preputial	17	-	9	-	14	-	11	-	13	-
Gland Prostate	34	-	30	-	35	-	33	-	32	-
Gland, Salivary, Mandibular	0	0	1	1	2	1	1	1	0	1
Gland, Salivary, Parotid	0	0	0	1	0	0	0	2	0	1
Gland, Salivary, Sublingual	0	0	0	0	2	1	1	0	0	0
Gland, Seminal Vesicle	2	-	2	-	2	-	3	-	4	-
Gland, Thyroid	16	7	11	8	16	7	13	11	3	13
Head	1	0	0	0	0	3	2	1	1	0
Heart	25	8	15	7	25	8	17	15	23	14
Joint	12	5	11	9	7	8	5	6	5	9
Kidney	26	23	26	29	22	23	17	24	26	25
Larynx	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Large Intestine, Cecum	6	0	4	2	6	3	3	4	2	1
Large Intestine, Colon	1	1	3	1	1	1	1	2	2	4
Large Intestine, Rectum	4	3	4	3	1	2	5	4	5	6
Liver	55	59	47	61	56	58	52	58	55	63
Lung	23	13	23	12	24	21	22	16	13	17
Lymph Node	17	17	14	22	16	17	8	16	8	19
Lymph Node, Mandibular	19	16	18	20	22	18	21	25	19	25
Lymph Node, Mesenteric	11	8	7	6	12	6	8	12	7	11
Meninges	2	0	1	0	2	0	2	1	1	1
Muscle, Skeletal	3	1	1	1	4	2	3	4	1	4

Table A3 Carcinogenicity Study in Rats - Tumour Incidence (Continued)

	(1) Reference Item		(2) Dapro (0.02 mg/kg/day)		(3) Dapro (0.1 mg/kg/day)		(4) Dapro (0.8 mg/kg/day)		(5) Dapro (4 or 7 mg/kg/day)	
Sex M/F	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
A). Macroscopically Abnormal[a] (Continued)										
Nerve, Sciatic	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Orbit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
Ovary	-	18	-	19	-	26	-	21	-	13
Oviduct										
Pancreas	12	3	7	4	8	4	5	3	13	5
Pericardim	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Pharynx										
Skin	29	21	27	23	36	19	28	23	18	21
Small Intestine, Duodenum	7	1	3	3	4	3	3	4	5	5
Small Intestine, Ileum	3	0	1	1	2	2	1	2	1	1
Small Intestine, Jejunum	5	3	4	4	6	5	2	7	1	5
Spleen	14	11	15	14	18	16	7	19	15	21`
Stomach	27	21	19	18	25	15	23	19	34	43
Subcutis	24	58	21	60	24	58	21`	59	22	61
Tail	4	2	2	1	5	1	4	2	1	0
Testis	9	-	8	-	9	-	10	-	9	-
Thymus	30	16	26	8	21	17	32	18	38	17
Tongue	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Trachea	9	2	3	0	1	2	1	0	1	1
Ureter	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Urinary Bladder	10	0	4	3	4	1	2	6	6	2
Uterus	-	16	-	17	-	24	-	16	-	18
Vagina	-	4	-	2	-	0	-	3	-	2
Vas Deferens	1	-	0	-	0	-	0	-	1	-
Vessel, Blood	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
Whole Animal	1	-	-	-	1	0	0	0	1	1

Table A3 Carcinogenicity Study in Rats - Tumour Incidence (Continued)

	(1) Reference Item		(2) Dapro (0.02 mg/kg/day)		(3) Dapro (0.1 mg/kg/day)		(4) Dapro (0.8 mg/kg/day)		(5) Dapro (4 or 7 mg/kg/day)	
Sex M/F	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
B). Protocol Tissue of Which Some Were Not Available For Histological Examination										
Bone, Femur (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Brain (Not present in wet tissues)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Cervix (Tissue lost during processing)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Eye (Cannibalized)	0	0	2	0	0	0	1	1	1	0
Gland, Clitoral (incorporated into mass)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Gland, Harderian (Cannibalized)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Gland, Mammary (Not present in section)	5	0	14	0	7	0	8	0	7	0
Gland, Mammary (Not present in wet tissues)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Gland, Parathyroid (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
Gland, Parathyroid (Not present in section)	1	3	6	3	6	6	3	2	3	5
Gland, Parathyroid (Incorporated into mass)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Gland, Pituitatry (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Gland, Salivary, Mandibular (Cannibalized)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Gland, Salivary, Parotid (Not present in wet tissues)	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Gland, Salivary, Parotid (Cannibalized)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Gland, Salivary, Sublingual (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Gland, Salivary, Sublingual (Cannibalized)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Gland, Thyroid (Not present in section)	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Larynx (Cannibalized)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Large intestine, Cecum (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Large intestine, Colon (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Lymph Node, (Not present in wet tissues)	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0

Table A3 Carcinogenicity Study in Rats - Tumour Incidence (Continued)

	(1) Reference Item		(2) Dapro (0.02 mg/kg/day)		(3) Dapro (0.1 mg/kg/day)		(4) Dapro (0.8 mg/kg/day)		(5) Dapro (4 or 7 mg/kg/day)	
Sex M/F	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
B). Protocol Tissue of Which Some Were Not Available For Histological Examination (Continued)										
Lymph Node, Mandibular (Cannibalized)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
Lymph Node, Mandibular (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Lymph Node, Mesenteric (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Muscle, Skeletal (Not present in wet tissues)	1	0	0	0	2	0	2	0	0	0
Nerve, Optic (Cannibalized)	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0
Nerve, Optic (Not present in section)	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0
Skin (Not present in wet tissues)	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Small intestine, Ileum (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Small intestine, Jejunum (Not present in wet tissues)	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Thymus (Not present in section)	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
Tongue (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Tongue (Cannibalized)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Urinary Bladder (Not present in wet tissues)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

Key:

a = All tumor types (benign, malignant and neoplastic) are combined.

Dapro = Daprodustat.

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence

Chronological Listing Explanation Page

Abbreviation	Description
T	Terminal kill
U	Unscheduled death

Dosing Information

Dosing information is abbreviated on various data outputs; the following represents the dosing information for this study.

Group No.	Dose Level (mg/kg/day)	
	Oral	SC
1/ Reference Item (oral + SC)	0	0
2/ GSK1278863(oral) + metabolite cocktail (SC)	0.2	2.0, 2.5 and 1.3
3/ GSK1278863(oral) + Reference Item (SC)	0.8	0
4/ GSK1278863(oral) + metabolite cocktail (SC)	0.8	2.0, 2.5 and 1.3
5/GSK1278863(oral) + metabolite cocktail (SC)	3	2.0, 2.5 and 1.3

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Males

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
1M	301	301	1008	U	gland, seminal vesicle	granular cell tumor, malignant	Yes
	316	316	1035	U	gland, harderian	adenoma	No
	316	316	1035	U	kidney	lipoma	No
	361	361	1059	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	389	389	1032	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	433	433	1018	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	479	479	1014	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	523	523	1056	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	539	539	1055	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	540	540	1031	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	547	547	1044	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	566	566	1047	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	597	597	1010	U	spinal cord, lumbar	astrocytoma, malignant	Yes
	603	603	1021	U	gland, harderian	adenoma	No
	603	603	1054	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	612	633	1009	U	subcutis	myxosarcoma	Yes
	613	613	1005	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	642	642	1002	U	bone marrow	hemangiosarcoma	Yes
	642	642	1002	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	642	642	1039	U	bone marrow	hemangiosarcoma	Yes
	642	642	1039	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	687	687	1020	U	liver	hepatocellular adenoma	No
	687	687	1020	U	small intestine, duodenum	adenoma	No
	687	687	1020	U	subcutis	hemangiosarcoma	Yes
	695	695	1057	U	gland, harderian	adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
1M	695	695	1057	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	695	695	1057	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	709	709	1045	U	gallbladder	adenoma	No
	709	709	1045	U	gland, seminal vesicle	leiomyosarcoma	Yes
	729	729	1051	T	gland, adrenal	pheochromocytoma, benign	No
	729	729	1051	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	729	729	1052	T	gland, harderian	adenoma	No
	729	729	1052	T	liver	hemangiosarcoma	Yes
	730	730	1001	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	730	730	1003	T	gallbladder	adenoma	No
	730	730	1007	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	730	730	1007	T	small intestine, duodenum	adenocarcinoma	Yes
	731	731	1012	T	body cavity, nasal	adenoma	No
	731	731	1012	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	732	732	1015	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	732	732	1015	T	small intestine, jejunum	adenocarcinoma	Yes
	732	732	1016	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	732	732	1016	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	735	735	1017	T	gland, harderian	adenoma	No
	735	735	1017	T	skin	basal cell tumor, benign	No
	735	735	1023	T	gland, harderian	adenoma	No
	735	735	1023	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	735	735	1023	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	1024	T	bone marrow	hemangiosarcoma	Yes
	735	735	1024	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
1M	735	735	1024	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	1024	T	spleen	hemangiosarcoma	Yes
	735	735	1025	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	735	735	1025	T	liver	hemangiosarcoma	Yes
	735	735	1028	T	gland, harderian	adenoma	No
	735	735	1028	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	735	735	1028	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	736	736	1029	T	kidney	tubular cell carcinoma	Yes
	736	736	1029	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	736	736	1030	T	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	736	736	1030	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	736	736	1030	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	736	736	1033	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	736	736	1034	T	gland, harderian	adenoma	No
	736	736	1036	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	736	736	1037	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	736	736	1037	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	737	737	1038	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	737	737	1040	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	737	737	1041	T	gallbladder	adenoma	No
	737	737	1041	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	737	737	1042	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	737	737	1042	T	skin	sebaceous cell adenoma	No
	737	737	1043	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	737	737	1043	T	subcutis	hemangioma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
1M	737	737	1046	T	bone, sternum	osteosarcoma	Yes
	737	737	1046	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	737	737	1046	T	testis	interstitial (leydig) cell adenoma	No
	737	737	1048	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	737	737	1049	T	gland, harderian	adenocarcinoma	Yes
	737	737	1049	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	737	737	1049	T	stomach	squamous cell carcinoma	Yes
	739	739	1050	T	epididymis	interstitial (leydig) cell adenoma	No
	739	739	1058	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	739	739	1058	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	739	739	1060	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
2M	134	134	2041	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	278	278	2016	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	324	324	2047	U	epididymis	hemangiosarcoma	Yes
	493	493	2037	U	gland, harderian	adenoma	No
	494	494	2025	U	kidney	lipoma	No
	543	543	2030	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	550	550	2009	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	550	550	2009	U	stomach	adenoma	No
	557	557	2207	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	568	568	2052	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	570	589	2050	U	subcutis	hemangiosarcoma	Yes
	576	576	2043	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	584	584	2011	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	589	589	2050	U	gland, harderian	adenoma	No
	589	589	2050	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	589	589	2050	U	liver	hemangiosarcoma	Yes
	596	596	2042	U	gland, seminal vesicle	leiomyosarcoma	Yes
	607	607	2039	U	gland, harderian	adenoma	No
	607	607	2039	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	616	616	2060	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	621	621	2034	U	liver	hepatocellular adenoma	No
	621	621	2034	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	627	627	2033	U	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	667	667	2056	U	larynx	squamous cell carcinoma	Yes
	669	669	2046	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
2M	669	669	2046	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	697	697	2027	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	697	697	2027	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	704	704	2010	U	liver	hemangiosarcoma	Yes
	704	704	2010	U	lymph node, mesenteric	hemangiosarcoma	Yes
	704	704	2010	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	704	704	2010	U	spleen	hemangiosarcoma	Yes
	716	716	2003	U	larynx	squamous cell carcinoma	Yes
	716	716	2003	U	muscle, skeletal	hemangiosarcoma	Yes
	716	716	2003	U	subcutis	hemangiosarcoma	Yes
	729	729	2002	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	729	729	2002	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	729	729	2004	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	729	729	2004	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	729	729	2004	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	729	729	2015	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	729	729	2054	T	testis	interstitial (leydig) cell adenoma	No
	730	730	2005	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	730	730	2005	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	730	730	2006	T	adipose tissue	hemangioma	No
	730	730	2006	T	gland, harderian	adenoma	No
	730	730	2012	T	testis	interstitial (leydig) cell adenoma	No
	731	731	2013	T	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	731	731	2013	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	731	731	2013	T	testis	interstitial (leydig) cell adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
2M	731	731	2014	T	gland, adrenal	pheochromocytoma, benign	No
	731	731	2014	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	731	731	2040	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	732	732	2017	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	732	732	2018	T	gland, harderian	adenoma	No
	732	732	2018	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	732	732	2018	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	732	732	2018	T	testis	interstitial (leydig) cell adenoma	No
	735	735	2019	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	735	735	2019	T	gland, harderian	adenoma	No
	735	735	2019	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	2020	T	gallbladder	adenoma	No
	735	735	2021	T	gland, harderian	adenoma	No
	735	735	2021	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	735	735	2021	T	small intestine, duodenum	adenoma	No
	735	735	2022	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	2023	T	gland, adrenal	pheochromocytoma, benign	No
	735	735	2023	T	gland, harderian	adenoma	No
	735	735	2023	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	735	735	2023	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	735	735	2023	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	2026	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	735	735	2026	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	736	736	2028	T	gland, harderian	adenoma	No
	736	736	2028	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
2M	736	736	2028	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	736	736	2028	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	736	736	2032	T	adipose tissue	hemangioma	No
	736	736	2032	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	736	736	2035	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	736	736	2036	T	gland, harderian	adenoma	No
	736	736	2036	T	skin	papilloma	No
	736	736	2038	T	gallbladder	adenoma	No
	736	736	2038	T	gland, harderian	adenoma	No
	736	736	2038	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	736	736	2038	T	small intestine, duodenum	adenoma	No
	737	737	2044	T	gland, harderian	adenoma	No
	737	737	2044	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	737	737	2045	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	737	737	2048	T	gland, harderian	adenoma	No
	737	737	2049	T	gland, harderian	adenoma	No
	737	737	2049	T	liver	hemangiosarcoma	Yes
	737	737	2049	T	testis	interstitial (leydig) cell adenoma	No
	737	737	2053	T	body cavity, nasal	hemangioma	No
	737	737	2055	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
3M	352	352	3056	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	425	425	3054	U	liver	hemangiosarcoma	Yes
	425	425	3054	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	610	610	3011	U	gland, harderian	adenoma	No
	610	610	3011	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	610	610	3011	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	617	617	3050	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	626	654	3058	U	subcutis	hemangiosarcoma	Yes
	634	634	3044	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	634	634	3044	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	639	639	3038	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	641	641	3060	U	kidney	tubular cell carcinoma	Yes
	641	641	3060	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	641	641	3060	U	stomach	squamous cell carcinoma	Yes
	643	643	3012	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	654	654	3058	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	676	676	3046	U	gland, adrenal	pheochromocytoma, benign	No
	678	678	3032	U	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	698	698	3005	U	liver	hepatocellular adenoma	No
	698	698	3045	U	gland, harderian	adenoma	No
	698	698	3045	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	698	698	3045	U	liver	hepatocellular adenoma	No
	698	698	3045	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	710	710	3028	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, malignant	Yes
	710	710	3028	U	gland, harderian	adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
3M	710	710	3028	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	710	710	3028	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	713	713	3055	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	713	713	3055	U	liver	hepatocellular adenoma	No
	713	713	3055	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	718	718	3042	U	body cavity, oral	squamous cell carcinoma	Yes
	718	718	3042	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, malignant	Yes
	718	718	3042	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	718	718	3042	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	718	718	3042	U	skin	sebaceous cell adenoma	No
	722	722	3039	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	722	722	3039	U	liver	hepatocellular adenoma	No
	722	722	3039	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	727	727	3057	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	727	727	3057	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	728	728	3041	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	728	728	3041	U	stomach	papilloma	No
	729	729	3001	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	729	729	3001	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	729	729	3003	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	729	729	3007	T	gallbladder	adenoma	No
	729	729	3007	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	729	729	3007	T	gland, seminal vesicle	adenoma	No
	729	729	3007	T	small intestine, duodenum	adenoma	No
	729	729	3049	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
3M	729	729	3049	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	729	729	3059	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	729	729	3059	T	site, injection	fibrosarcoma	Yes
	730	730	3008	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	730	730	3008	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	730	730	3008	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	730	730	3009	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	730	730	3010	T	gland, harderian	adenoma	No
	730	730	3010	T	kidney	tubular cell carcinoma	Yes
	730	730	3010	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	730	730	3014	T	gland, harderian	adenoma	No
	730	730	3014	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	731	731	3015	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	731	731	3016	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	731	731	3016	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	732	732	3018	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, malignant	Yes
	732	732	3018	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	732	732	3020	T	epididymis	fibrosarcoma	Yes
	732	732	3020	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	735	735	3021	T	gland, harderian	adenoma	No
	735	735	3022	T	gallbladder	adenoma	No
	735	735	3022	T	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	735	735	3022	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	3023	T	gallbladder	adenoma	No
	735	735	3023	T	liver	hepatocellular adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
3M	735	735	3023	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	735	735	3024	T	gland, adrenal	pheochromocytoma, benign	No
	735	735	3024	T	gland, harderian	adenoma	No
	735	735	3024	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	735	735	3024	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	735	735	3025	T	gallbladder	adenoma	No
	735	735	3025	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	735	735	3025	T	skin	basal cell tumor, benign	No
	735	735	3026	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	735	735	3026	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	736	736	3027	T	liver	hemangiosarcoma	Yes
	736	736	3027	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	736	736	3029	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	736	736	3029	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	736	736	3029	T	site, uncertain primary	adenocarcinoma	Yes
	736	736	3030	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	736	736	3031	T	epididymis	interstitial (leydig) cell adenoma	No
	736	736	3034	T	gland, seminal vesicle	adenoma	No
	736	736	3034	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	3036	T	gland, harderian	adenoma	No
	736	736	3036	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	737	737	3037	T	large intestine, cecum	leiomyosarcoma	Yes
	737	737	3040	T	gallbladder	adenoma	No
	737	737	3040	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	737	737	3043	T	gland, harderian	adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
3M	737	737	3043	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	737	737	3047	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	737	737	3048	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	739	739	3051	T	gallbladder	adenoma	No
	739	739	3051	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	739	739	3051	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	739	739	3051	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	739	739	3053	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
4M	66	66	4002	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	269	269	4004	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	513	513	4005	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	535	535	4056	U	gland, harderian	adenoma	No
	535	535	4056	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	570	570	4008	U	gland, harderian	adenoma	No
	571	571	4026	U	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	571	571	4026	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	584	584	4050	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	599	599	4040	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	600	600	4032	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	606	606	4038	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	617	617	4001	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	620	620	4019	U	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	620	620	4019	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	627	627	4031	U	liver	hepatocellular adenoma	No
	627	627	4031	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	638	638	4047	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	644	644	4057	U	gallbladder	adenoma	No
	644	644	4057	U	gland, harderian	adenoma	No
	647	647	4053	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, malignant	Yes
	654	668	4007	U	site, injection	fibrosarcoma	Yes
	666	666	4021	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	668	668	4007	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	673	673	4046	U	gland, harderian	adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
4M	673	673	4046	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	673	673	4046	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	675	675	4058	U	gland, harderian	adenoma	No
	675	675	4058	U	gland, seminal vesicle	leiomyosarcoma	Yes
	675	675	4058	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	676	676	4020	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, malignant	Yes
	676	676	4020	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	689	703	4027	U	site, injection	fibrosarcoma	Yes
	703	703	4027	U	gland, harderian	adenoma	No
	703	703	4027	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	703	703	4045	U	gland, harderian	adenoma	No
	703	703	4045	U	gland, seminal vesicle	sarcoma	Yes
	703	703	4045	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	704	704	4051	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, malignant	Yes
	704	704	4051	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	715	715	4006	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	715	715	4006	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	723	723	4048	U	gland, adrenal	pheochromocytoma, malignant	Yes
	723	723	4048	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	727	727	4034	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	727	727	4034	U	spleen	hemangiosarcoma	Yes
	729	729	4009	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	729	729	4009	T	stomach	adenoma	No
	729	729	4052	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	729	729	4052	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
4M	729	729	4059	T	gland, harderian	adenoma	No
	730	730	4003	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	730	730	4010	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	730	730	4011	T	stomach	papilloma	No
	730	730	4012	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	731	731	4015	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, malignant	Yes
	732	732	4016	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	735	735	4018	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	735	735	4022	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	735	735	4023	T	gland, harderian	adenocarcinoma	Yes
	735	735	4023	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	4024	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	735	735	4025	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	4028	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	4028	T	small intestine, duodenum	adenocarcinoma	Yes
	736	736	4013	T	spleen	hemangiosarcoma	Yes
	736	736	4030	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	736	736	4033	T	gallbladder	adenoma	No
	736	736	4035	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	4037	T	bone marrow	hemangiosarcoma	Yes
	736	736	4037	T	gallbladder	adenoma	No
	736	736	4037	T	gland, harderian	adenoma	No
	736	736	4037	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	736	736	4037	T	spleen	hemangiosarcoma	Yes
	736	736	4037	T	stomach	squamous cell carcinoma	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
4M	737	737	4041	T	bone marrow	hemangiosarcoma	Yes
	737	737	4041	T	gland, harderian	adenoma	No
	737	737	4055	T	subcutis	hemangiosarcoma	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
5M	482	482	5017	U	liver	hemangiosarcoma	Yes
	482	482	5017	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	482	482	5017	U	pancreas	hemangiosarcoma	Yes
	505	505	5019	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	505	505	5019	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	550	550	5007	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	551	551	5048	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	551	551	5048	U	lung	adenosquamous carcinoma	Yes
	562	562	5026	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	563	563	5055	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	583	583	5051	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	603	603	5050	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	603	603	5050	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	605	605	5057	U	gland, harderian	adenoma	No
	605	605	5057	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	613	613	5046	U	bone, femur	osteosarcoma	Yes
	613	613	5046	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	613	613	5046	U	spleen	hemangiosarcoma	Yes
	615	615	5043	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	629	629	5001	U	gland, harderian	adenoma	No
	629	629	5001	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	629	629	5031	U	epididymis	interstitial (leydig) cell adenoma	No
	629	629	5031	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	631	631	5033	U	gland, harderian	adenoma	No
	631	631	5033	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
5M	632	632	5005	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	637	637	5035	U	gland, harderian	adenoma	No
	649	649	5002	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	650	650	5052	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	650	650	5052	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	661	729	5024	T	ear	papilloma	No
	667	667	5006	U	liver	hepatocellular adenoma	No
	667	667	5006	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	673	673	5013	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	696	696	5014	U	gland, harderian	adenoma	No
	696	696	5014	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	697	697	5012	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	700	700	5018	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	700	700	5018	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	729	729	5024	T	gland, adrenal	pheochromocytoma, malignant	Yes
	729	729	5024	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	729	729	5030	T	gland, harderian	adenocarcinoma	Yes
	729	729	5030	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	729	729	5030	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	729	729	5054	T	gland, pituitary	carcinoma, pars distalis	Yes
	729	729	5054	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	729	729	5054	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	730	730	5008	T	gland, seminal vesicle	adenocarcinoma	Yes
	730	730	5009	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	730	730	5011	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, malignant	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
5M	730	730	5011	T	gland, harderian	adenoma	No
	732	732	5020	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	732	732	5020	T	small intestine, jejunum	adenocarcinoma	Yes
	732	732	5021	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	732	732	5021	T	testis	interstitial (leydig) cell adenoma	No
	735	735	5022	T	gallbladder	adenoma	No
	735	735	5022	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	735	735	5023	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	735	735	5029	T	gland, harderian	adenoma	No
	735	735	5029	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	5034	T	gland, harderian	adenoma	No
	735	735	5034	T	gland, seminal vesicle	adenocarcinoma	Yes
	735	735	5034	T	liver	hepatocellular adenoma	No
	736	736	5028	T	gland, harderian	adenoma	No
	736	736	5037	T	gallbladder	adenoma	No
	736	736	5037	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	5042	T	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	736	736	5042	T	gland, thyroid	follicular cell adenoma	No
	736	736	5042	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	737	737	5044	T	liver	hemangiosarcoma	Yes
	737	737	5045	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	737	737	5045	T	liver	hemangiosarcoma	Yes
	737	737	5045	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	737	737	5047	T	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	737	737	5049	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
5M	737	737	5056	T	gland, seminal vesicle	osteosarcoma	Yes
	737	737	5058	T	gland, harderian	adenoma	No
	737	737	5058	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Females

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
1F	275	275	1553	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	360	360	1536	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	407	407	1557	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	444	444	1518	U	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	509	509	1548	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	511	511	1534	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	518	518	1501	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	527	527	1530	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	581	581	1522	U	gland, pituitary	carcinoma, pars distalis	Yes
	581	581	1522	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	581	581	1522	U	uterus	polyp, glandular	No
	596	596	1510	U	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	610	610	1507	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	610	610	1507	U	subcutis	sarcoma	Yes
	611	611	1514	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	611	611	1514	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	620	620	1503	U	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	620	620	1503	U	spleen	hemangiosarcoma	Yes
	620	620	1543	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	631	631	1515	U	bone marrow	hemangiosarcoma	Yes
	631	631	1515	U	liver	hemangiosarcoma	Yes
	643	643	1526	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	662	682	1528	U	gland, mammary	adenocarcinoma	Yes
	678	678	1540	U	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	681	681	1550	U	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
1F	682	682	1528	U	uterus	polyp, glandular	No
	696	696	1542	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	696	696	1542	U	small intestine, jejunum	adenocarcinoma	Yes
	704	704	1552	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	711	711	1519	U	gland, harderian	adenoma	No
	711	711	1519	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	711	711	1519	U	uterus	polyp, glandular	No
	712	712	1532	U	bone, sternum	osteosarcoma	Yes
	712	712	1532	U	uterus	adenocarcinoma	Yes
	724	724	1521	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	724	724	1521	U	uterus	hemangiosarcoma	Yes
	724	724	1521	U	uterus	leiomyoma	No
	725	725	1545	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	729	729	1513	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	729	729	1513	T	liver	hemangiosarcoma	Yes
	729	729	1513	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	729	729	1520	T	gland, harderian	adenoma	No
	729	729	1520	T	spleen	hemangiosarcoma	Yes
	729	729	1520	T	uterus	hemangiosarcoma	Yes
	729	729	1546	T	bone marrow	hemangiosarcoma	Yes
	729	729	1546	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	730	730	1506	T	bone, femur	osteosarcoma	Yes
	730	730	1506	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	730	730	1508	T	gland, harderian	adenoma	No
	730	730	1509	T	ovary	granulosa cell tumor, benign	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
1F	731	731	1512	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	731	731	1516	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	1523	T	uterus	leiomyosarcoma	Yes
	735	735	1524	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	735	735	1524	T	ovary	cystadenoma	No
	735	735	1524	T	uterus	polyp, glandular	No
	735	735	1525	T	ovary	granulosa cell tumor, benign	No
	735	735	1525	T	uterus	polyp, endometrial stromal	No
	735	735	1527	T	gallbladder	adenoma	No
	735	735	1529	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	735	735	1531	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	735	735	1531	T	uterus	polyp, glandular	No
	735	735	1531	T	uterus	hemangiosarcoma	Yes
	736	736	1533	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	1533	T	uterus	polyp, glandular	No
	736	736	1537	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	1537	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	736	736	1539	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	1541	T	uterus	leiomyosarcoma	Yes
	736	736	1547	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	737	737	1555	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	737	737	1556	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	737	737	1558	T	uterus	leiomyosarcoma	Yes
	737	737	1559	T	gland, harderian	adenoma	No
	737	737	1559	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
1F	737	737	1560	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	739	739	1554	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	739	739	1554	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	739	739	1554	T	ovary	cystadenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
2F	64	64	2549	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	403	483	2511	U	gland, mammary	adenocarcinoma	Yes
	403	403	2526	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	477	477	2542	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	483	483	2503	U	uterus	endometrial stromal sarcoma	Yes
	494	494	2519	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	555	555	2559	U	gland, harderian	adenoma	No
	555	555	2559	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	557	589	2536	U	subcutis	fibrosarcoma	Yes
	562	562	2524	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	562	562	2524	U	spleen	hemangiosarcoma	Yes
	562	562	2524	U	uterus	hemangiosarcoma	Yes
	583	583	2554	U	liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	589	589	2536	U	uterus	polyp, endometrial stromal	No
	603	603	2505	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	603	603	2505	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	620	620	2550	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	620	620	2550	U	spleen	hemangiosarcoma	Yes
	620	620	2550	U	uterus	hemangiosarcoma	Yes
	630	630	2522	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	634	634	2535	U	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	655	697	2506	U	subcutis	fibrosarcoma	Yes
	655	655	2529	U	uterus	hemangioma	No
	660	660	2509	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	660	660	2509	U	gland, harderian	adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
2F	671	671	2553	U	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	671	671	2553	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	675	675	2531	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, malignant	Yes
	675	675	2531	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	675	675	2531	U	uterus	polyp, endometrial stromal	No
	682	682	2520	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	682	682	2540	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	682	682	2540	U	ovary	mixed sex cord stromal tumor, benign	No
	693	693	2517	U	uterus	leiomyoma	No
	695	695	2552	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	695	695	2552	U	subcutis	fibrosarcoma	Yes
	697	697	2506	U	heart	hemangiosarcoma	Yes
	697	697	2506	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	697	697	2556	U	gland, harderian	adenoma	No
	697	697	2556	U	gland, mammary	adenocarcinoma	Yes
	700	700	2547	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	700	700	2547	U	uterus	polyp, endometrial stromal	No
	700	700	2560	U	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	725	725	2557	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	725	725	2557	U	ureter	transitional cell carcinoma	Yes
	729	729	2501	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	729	729	2501	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	729	729	2502	T	gland, harderian	adenoma	No
	729	729	2502	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	729	729	2508	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, malignant	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
2F	729	729	2508	T	gland, mammary	adenocarcinoma	Yes
	729	729	2508	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	730	730	2510	T	gland, harderian	adenoma	No
	730	730	2510	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	730	730	2510	T	uterus	polyp, glandular	No
	730	730	2512	T	gallbladder	adenoma	No
	730	730	2512	T	ovary	mixed sex cord stromal tumor, benign	No
	730	730	2513	T	uterus	hemangiosarcoma	Yes
	730	730	2558	T	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	732	732	2514	T	gland, harderian	adenoma	No
	735	735	2521	T	lymph node, mesenteric	hemangioma	No
	735	735	2521	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	2525	T	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	735	735	2525	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	735	735	2525	T	uterus	polyp, endometrial stromal	No
	735	735	2527	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	2527	T	ovary	luteoma	No
	735	735	2528	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	2533	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	2533	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	736	736	2534	T	gland, harderian	adenoma	No
	736	736	2534	T	ovary	cystadenoma	No
	736	736	2538	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	2538	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	736	736	2538	T	uterus	leiomyosarcoma	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
2F	736	736	2543	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	2544	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	737	737	2545	T	uterus	polyp, glandular	No
	737	737	2545	T	vagina	leiomyosarcoma	Yes
	737	737	2548	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	737	737	2548	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
3F	172	172	3538	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	417	417	3507	U	muscle, skeletal	hemangiosarcoma	Yes
	426	426	3555	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	457	457	3501	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	466	560	3535	U	subcutis	schwannoma, malignant	Yes
	476	476	3543	U	gland, harderian	adenoma	No
	476	476	3543	U	gland, pituitary	carcinoma, pars distalis	Yes
	549	549	3521	U	uterus	leiomyosarcoma	Yes
	555	555	3531	U	pancreas	islet cell adenoma	No
	559	559	3508	U	body cavity, oral	squamous cell carcinoma	Yes
	559	559	3508	U	uterus	granular cell tumor, benign	No
	592	592	3513	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	602	602	3525	U	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	622	622	3522	U	gland, harderian	adenoma	No
	622	622	3522	U	subcutis	rhabdomyosarcoma	Yes
	625	625	3554	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	625	625	3554	U	skin	papilloma	No
	631	631	3532	U	bone, femur	osteosarcoma	Yes
	631	631	3532	U	gland, harderian	adenoma	No
	631	631	3532	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	645	645	3518	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	648	648	3559	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	648	648	3559	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	655	655	3512	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	662	662	3503	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
3F	662	662	3503	U	uterus	hemangioma	No
	667	667	3510	U	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	667	667	3510	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	676	721	3537	U	site, injection	fibrosarcoma	Yes
	689	689	3539	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	696	696	3509	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	716	716	3549	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	716	716	3549	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	716	716	3549	U	pancreas	islet cell adenoma	No
	723	723	3536	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	723	723	3536	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	723	723	3536	U	tail	osteosarcoma	Yes
	723	723	3536	U	uterus	hemangiosarcoma	Yes
	729	729	3502	T	gland, harderian	adenoma	No
	729	729	3502	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	729	729	3502	T	site, uncertain primary	osteosarcoma	Yes
	730	730	3506	T	gland, harderian	adenoma	No
	730	730	3511	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	730	730	3511	T	uterus	polyp, glandular	No
	730	730	3516	T	uterus	polyp, glandular	No
	731	731	3517	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	731	731	3517	T	small intestine, jejunum	adenocarcinoma	Yes
	731	731	3619	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	731	731	3619	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	732	732	3541	T	gland, harderian	adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
3F	732	732	3541	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	732	737	3545	T	gland, mammary	adenocarcinoma	Yes
	735	735	3524	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	735	735	3526	T	gallbladder	adenoma	No
	735	735	3526	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	735	735	3526	T	vagina	squamous cell carcinoma	Yes
	735	735	3527	T	uterus	leiomyoma	No
	735	735	3528	T	gallbladder	adenoma	No
	735	735	3528	T	gland, harderian	adenoma	No
	735	735	3528	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	735	735	3530	T	subcutis	hemangiosarcoma	Yes
	735	735	3530	T	uterus	leiomyoma	No
	735	735	3629	T	gland, harderian	adenoma	No
	735	735	3629	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	735	735	3629	T	uterus	leiomyosarcoma	Yes
	736	736	3534	T	gland, harderian	adenoma	No
	736	736	3540	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, malignant	Yes
	736	736	3540	T	ovary	cystadenoma	No
	736	736	3540	T	uterus	polyp, glandular	No
	736	736	3542	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	3544	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	3544	T	ovary	mixed sex cord stromal tumor, benign	No
	736	736	3544	T	small intestine, duodenum	adenoma	No
	737	737	3545	T	gland, harderian	adenoma	No
	737	737	3545	T	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
3F	737	737	3545	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	737	737	3545	T	ovary	luteoma	No
	737	737	3546	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	737	737	3547	T	gland, harderian	adenoma	No
	737	737	3550	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	737	737	3551	T	uterus	hemangiosarcoma	Yes
	737	737	3552	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	739	739	3553	T	gland, harderian	adenoma	No
	739	739	3556	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	739	739	3556	T	uterus	leiomyosarcoma	Yes
	739	739	3557	T	ovary	mixed sex cord stromal tumor, benign	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
4F	494	494	4521	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	499	499	4530	U	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	522	522	4546	U	ovary	hemangiosarcoma	Yes
	522	522	4546	U	uterus	hemangiosarcoma	Yes
	536	536	4547	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	561	561	4501	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	561	561	4501	U	uterus	hemangiosarcoma	Yes
	562	562	4538	U	gland, harderian	adenoma	No
	562	562	4538	U	uterus	hemangiosarcoma	Yes
	562	562	4538	U	uterus	leiomyosarcoma	Yes
	565	565	4512	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	565	565	4512	U	uterus	polyp, glandular	No
	574	574	4533	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	585	639	4515	U	gland, mammary	adenocarcinoma	Yes
	599	599	4540	U	adipose tissue	hemangioma	No
	599	599	4540	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	599	599	4540	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	600	600	4513	U	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	626	626	4556	U	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	626	626	4556	U	small intestine, duodenum	adenocarcinoma	Yes
	626	626	4556	U	uterus	leiomyosarcoma	Yes
	639	639	4515	U	gland, harderian	adenoma	No
	639	639	4515	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	639	639	4515	U	ovary	cystadenoma	No
	639	639	4544	U	gland, harderian	adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
4F	639	639	4544	U	site, injection	fibrosarcoma	Yes
	639	639	4544	U	subcutis	fibrosarcoma	Yes
	668	668	4535	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	668	668	4553	U	gland, harderian	adenoma	No
	668	668	4553	U	gland, pituitary	craniopharyngioma, malignant	Yes
	675	675	4526	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	676	676	4539	U	gland, harderian	adenoma	No
	676	676	4539	U	vagina	leiomyosarcoma	Yes
	696	696	4507	U	gallbladder	adenoma	No
	718	718	4511	U	gland, harderian	adenocarcinoma	Yes
	718	718	4511	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	718	718	4511	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	718	718	4525	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	718	718	4525	U	spleen	hemangiosarcoma	Yes
	724	724	4554	U	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	724	724	4554	U	liver	hemangiosarcoma	Yes
	724	724	4554	U	spleen	hemangiosarcoma	Yes
	729	729	4502	T	ovary	mixed sex cord stromal tumor, benign	No
	729	729	4502	T	uterus	polyp, endometrial stromal	No
	729	729	4503	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	729	729	4503	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	729	729	4523	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	729	729	4523	T	lymph node	hemangiosarcoma	Yes
	729	729	4523	T	ovary	hemangiosarcoma	Yes
	729	729	4548	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
4F	730	730	4504	T	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	730	730	4504	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	730	730	4504	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	730	730	4505	T	gland, harderian	adenoma	No
	730	730	4505	T	uterus	polyp, glandular	No
	730	730	4505	T	uterus	leiomyosarcoma	Yes
	730	730	4506	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	730	730	4508	T	ovary	cystadenoma	No
	731	731	4509	T	cervix	squamous cell carcinoma	Yes
	731	731	4509	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	731	731	4510	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	731	731	4510	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	732	732	4514	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	732	732	4516	T	gallbladder	adenoma	No
	732	732	4516	T	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	732	732	4516	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	732	732	4516	T	uterus	polyp, endometrial stromal	No
	735	735	4517	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	735	735	4518	T	uterus	polyp, glandular	No
	735	735	4518	T	uterus	leiomyosarcoma	Yes
	735	735	4520	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	735	735	4522	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, benign	No
	735	735	4522	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	735	735	4522	T	kidney	tubular cell adenoma	No
	735	735	4524	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
4F	736	736	4527	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	736	736	4529	T	uterus	polyp, glandular	No
	736	736	4532	T	uterus	hemangioma	No
	736	736	4534	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	4534	T	stomach	adenoma	No
	737	737	4536	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	737	737	4536	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	737	737	4542	T	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	737	737	4543	T	gland, adrenal	subcapsular adrenal tumor, malignant	Yes
	737	737	4543	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	737	737	4543	T	ovary	mixed sex cord stromal tumor, benign	No
	737	737	4543	T	subcutis	fibrosarcoma	Yes
	737	737	4543	T	uterus	leiomyoma	No
	737	737	4549	T	gland, harderian	adenoma	No
	737	737	4549	T	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	737	737	4550	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	737	737	4550	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	739	739	4551	T	ovary	luteoma	No
	739	739	4552	T	gland, mammary	adenocarcinoma	Yes
	739	739	4552	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	739	739	4552	T	uterus	polyp, glandular	No
	739	739	4555	T	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	739	739	4555	T	lymph node, mesenteric	hemangioma	No
	739	739	4557	T	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	739	739	4560	T	lymph node, mesenteric	hemangiosarcoma	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
4F	739	739	4560	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
5F	256	256	5508	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	451	451	5537	U	gallbladder	adenoma	No
	451	451	5537	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	490	490	5544	U	brain	meningioma, benign	No
	490	490	5544	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	496	496	5522	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	496	496	5522	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	499	499	5559	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	550	550	5532	U	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	563	563	5560	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	563	563	5560	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	580	580	5524	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	585	736	5535	T	gland, mammary	adenocarcinoma	Yes
	585	585	5553	U	uterus	hemangiosarcoma	Yes
	595	595	5546	U	gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	595	595	5546	U	uterus	hemangiosarcoma	Yes
	609	609	5545	U	bone marrow	hemangiosarcoma	Yes
	609	609	5545	U	site, injection	mast cell tumor, malignant	Yes
	609	609	5545	U	spleen	hemangiosarcoma	Yes
	613	637	5543	U	gland, mammary	adenocarcinoma	Yes
	613	613	5550	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	613	613	5550	U	uterus	polyp, endometrial stromal	No
	614	614	5542	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	630	630	5538	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	638	638	5512	U	liver	hemangiosarcoma	Yes

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
5F	638	638	5530	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	665	665	5541	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	665	665	5541	U	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	665	665	5541	U	uterus	polyp, glandular	No
	686	686	5539	U	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	687	687	5549	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	687	687	5549	U	uterus	polyp, glandular	No
	694	694	5517	U	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	706	706	5557	U	gallbladder	adenoma	No
	706	706	5557	U	gland, harderian	adenoma	No
	710	710	5548	U	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	710	710	5548	U	ovary	granulosa cell tumor, malignant	Yes
	729	729	5501	T	gallbladder	adenoma	No
	729	729	5501	T	gland, harderian	adenoma	No
	729	729	5501	T	hemolymphoreticular tissue	histiocytic sarcoma	Yes
	729	729	5501	T	uterus	leiomyosarcoma	Yes
	729	729	5502	T	hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	730	730	5503	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	730	730	5503	T	uterus	endometrial stromal sarcoma	Yes
	730	730	5504	T	cervix	leiomyosarcoma	Yes
	730	730	5505	T	lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	731	731	5509	T	uterus	leiomyoma	No
	732	732	5520	T	lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	732	732	5520	T	ovary	cystadenoma	No
	735	735	5521	T	ovary	cystadenoma	No

Table A4 Carcinogenicity Study in Mice - Chronological Listing of Tumour Occurrence (Continued)

Chronological Listing

Group/ Sex	Day first seen	Day of necropsy	Animal No.	Death code	Tissue	Tumor	Malignant
5F	735	735	5523 T		hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	735	735	5523 T		lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	735	735	5526 T		hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	735	735	5531 T		pancreas	islet cell adenoma	No
	735	735	5533 T		bone, femur	osteosarcoma	Yes
	735	735	5534 T		lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	736	736	5535 T		hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	5536 T		hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	5536 T		small intestine, jejunum	adenocarcinoma	Yes
	736	736	5536 T		uterus	adenocarcinoma	Yes
	736	736	5536 T		uterus	hemangiosarcoma	Yes
	736	736	5540 T		gallbladder	adenoma	No
	736	736	5540 T		hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	736	736	5540 T		lung	bronchioloalveolar carcinoma	Yes
	736	736	5540 T		uterus	adenocarcinoma	Yes
	736	736	5547 T		lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	736	736	5547 T		ovary	granulosa cell tumor, benign	No
	736	736	5552 T		gland, pituitary	adenoma, pars distalis	No
	736	736	5552 T		uterus	polyp, glandular	No
	736	736	5554 T		liver	hepatocellular carcinoma	Yes
	737	737	5555 T		lung	bronchioloalveolar adenoma	No
	737	737	5556 T		hemolymphoreticular tissue	lymphoma, malignant	Yes
	737	737	5558 T		lung	bronchioloalveolar adenoma	No