エナロデュスタット

第 2 部 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

日本たばこ産業株式会社

目次

略号及び用語の定義一覧 4

2.6.6 毒性試験の概要文 7

2.6.6.1 まとめ 7
2.6.6.2 単回投与試験 21
2.6.6.2.1 マウス 21
2.6.6.2.2 ラット 21
2.6.6.2.3 イヌ 23
2.6.6.3 反復投与試験 24
2.6.6.3.1 マウス 25
2.6.6.3.2 ラット 26
2.6.6.3.3 イヌ 34
2.6.6.3.4 サル 39
2.6.6.3.5 反復投与毒性試験における全身曝露 43
2.6.6.4 遺伝毒性試験 45
2.6.6.4.1 *In vitro* 遺伝毒性試験 45
2.6.6.4.2 *In vivo* 遺伝毒性試験 46
2.6.6.5 がん原性試験 48
2.6.6.5.1 がん原性用量設定試験 48
2.6.6.5.2 がん原性本試験 48
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 50
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する影響 50
2.6.6.6.2 胚・胎児発生への影響 52
2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体機能への影響 54
2.6.6.6.4 幼若動物を用いた試験 55
2.6.6.7 局所刺激性試験 55
2.6.6.8 その他の毒性試験 55
2.6.6.8.1 抗原性試験 55
2.6.6.8.2 免疫毒性試験 55
2.6.6.8.3 毒性発現の機序に関する試験 55
2.6.6.8.4 依存性試験 55
2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験 56
2.6.6.8.6 不純物の毒性試験 59
2.6.6.8.7 その他の試験 59
2.6.6.9 考察及び結論 74
2.6.6.9.1 毒性試験で認められた所見に関する考察 74
2.6.6.9.2 総括及び結論 87

2.6.6.10 図表.....91
2.6.6.11 参考文献.....92

表目次

表 1 マウス単回経口投与試験における JTZ-951 全身曝露.....24
表 2 ラット単回経口投与試験における JTZ-951 全身曝露.....24
表 3 イヌ単回経口投与試験における JTZ-951 全身曝露.....24
表 4 マウス，ラット，イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験における JTZ-951 の全身曝露.....44
表 5 *In vivo* 遺伝毒性試験における JTZ-951 の全身曝露.....48
表 6 がん原性試験における JTZ-951 の全身曝露.....50
表 7 生殖毒性試験における JTZ-951 の全身曝露.....55
表 8 JTZ-951 の反復投与毒性試験における主な変化の発現状況.....75
表 9 主な毒性試験の NOAEL と臨床試験における JTZ-951 の曝露量比.....91

略号及び用語の定義一覧

略号及び用語	定義
ALB	Albumin，アルブミン
ALT	Alanine aminotransferase，アラニンアミノトランスフェラーゼ
ANGPTL4	Angiopoietin-like protein 4，アンジオポエチン様タンパク質 4
APTT	Activated partial thromboplastin time，活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	Aspartate aminotransferase，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under the concentration-time curve，濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-t}	Area under the concentration-time curve from the time of dosing until the any time, t，投与開始から投与後 t 時間までの濃度－時間曲線下面積
AUC_{inf}	Area under the concentration-time curve from the time of dosing to infinity，投与開始時から投与後無限大時間までの濃度－時間曲線下面積
Bil	Bilirubin，ビリルビン
BUN	Blood urea nitrogen，尿素窒素
CHL 細胞	Chinese hamster lung 細胞，チャイニーズハムスター肺細胞
CKD	Chronic kidney disease，慢性腎臓病
CM	Chylomicron，カイロミクロン
C_{max}	Maximum concentration，最高濃度
CP	Cyclophosphamide，シクロホスファミド
CPK	Creatine phosphokinase，クレアチンフォスフォキナーゼ
CRP	C-reactive protein，C 反応性タンパク
C_t	Drug concentration at any time t (t = 24, 48, or 72 hr)，投与後 t 時間の濃度
DMSO	Dimethyl sulfoxide，ジメチルスルホキシド
EPO	Erythropoietin，エリスロポエチン
ET-1	Endothelin-1，エンドセリン－1
FDA	Food and Drug Administration，アメリカ食品医薬品局
FIB	Fibrinogen，フィブリノゲン
GD	Gestational day，妊娠日
GLDH	Glutamate dehydrogenase，グルタミン酸脱水素酵素
GLP	Good Laboratory Practice，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GLU	Glucose，グルコース
GLUT-1	Glucose transpoter-1，グルコーストランスポーター1
GU	Guanase，グアナーゼ
Hb	Hemoglobin，ヘモグロビン
HIF	Hypoxia inducible factor，低酸素誘導因子
HIF-PH	Hypoxia inducible factor-prolyl hydroxylase，低酸素誘導因子プロリン水酸化酵素（ドメイン含有タンパク）
HPLC	High performance liquid chromatography，高速液体クロマトグラフィー
Ht	Hematocrit，ヘマトクリット
IC_{50}	Half maximal (50%) inhibitory concentration，50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use，医薬品規制調和国際会議
IP	Inorganic phosphorus，無機リン

略号及び用語	定義
Kim-1	Kidney injury molecule 1
LDH	Lactate dehydrogenase，乳酸脱水素酵素
LPL	Lipoprotein lipase，リポタンパク質リパーゼ
M/E 比	Myelocytic cell count / Erythroblastic cell count 比，顆粒球系細胞/赤芽球系細胞比率
MC	Methylcellulose，メチルセルロース
MCH	Mean corpuscular hemoglobin，平均赤血球色素量
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration，平均赤血球血色素濃度
MCV	Mean corpuscular volume，平均赤血球容積
MIST	Metabolites in safety testing
MPE	Mean photo effect，平均光作用
MPV	Mean platelet volumes，平均血小板容積
mRNA	Messenger ribonucleic acid，伝令リボ核酸
NaOH	Sodium hydroxide，水酸化ナトリウム
NOAEL	No observed adverse effect level，無毒性量
PAI-1	Plasminogen activator inhibitor 1，プラスミノゲンアクチベータインヒビター1
PIC	α2 plasmin inhibitor- plasmin complex，プラスミン α2 プラスミンインヒビター複合体
PIF	Photo irritation factor，光毒性係数
PL	Phospholipids，リン脂質
PLT	Platelet，血小板
PT	Prothrombin time，プロトロンビン時間
RBC	Red blood cell，赤血球
RDW	Red blood cell distribution width，赤血球粒度分布幅
Ret	Reticulocyte，網状赤血球
(R)-M2	(R)-enantiomer of metabolite M2 of JTZ-951，JTZ-951 の代謝物 M2 の鏡像異性体（R 体）
S9 mix	Rat liver homogenate microsome fraction (S9) with co-factors for metabolic activation，ラット肝臓ホモジネート S9 画分及び補酵素
SDH	Sorbitol dehydrogenase，ソルビトール脱水素酵素
SD 系ラット	Sprague-Dawley rats，Sprague-Dawley 系ラット
TAT	Thrombin-antithrombin complex，トロンビンーアンチトロンビン複合体
T-CH	Total cholesterol，総コレステロール
TGL	Triglyceride，トリグリセリド
TgrasH2 マウス	CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (+/- hemizygous c-Ha-ras)マウス
TIBC	Total iron-binding capacity，総鉄結合能
TK	Toxicokinetics，トキシコキネティクス
t_{max}	Time to reach peak or maximum concentration following drug administration，最高濃度到達時間
TSAT	Transferrin saturation，トランスフェリン飽和度
UIBC	Unsaturated iron-binding capacity，不飽和鉄結合能
URO	Urobilinogen，ウロビリノーゲン

略号及び用語	定義
VEGF	Vascular endothelial growth factor，血管内皮細胞増殖因子
VLDL	Very low-density lipoprotein，超低密度リポタンパク質

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

JTZ-951 の毒性評価では，JTZ-951 を用いて評価を実施した。また，特に記載のない限り，*in vitro* 試験では DMSO に溶解した JTZ-951 を用いた。経口投与試験では JTZ-951 を 0.5%MC 水溶液に懸濁し投与した。*In vivo* 試験の対照群には各試験の媒体を同容量投与した。代謝物(R)-M2 を使用した試験について，*in vivo* 試験では，1.5 mol 等量の NaOH を加えた注射用水に溶解して経口投与した。*In vitro* 試験では，DMSO に溶解した(R)-M2 を用いた。

なお，ヒトとの曝露量比の計算には，国内第 II 相及び第 III 相臨床試験における JTZ-951 の最高用量が 8 mg/日であることから，日本人の維持血液透析患者に 8 mg/日を投与した際の推定曝露量を用いた。日本人の維持血液透析患者に JTZ-951 を 15 mg 単回投与した第 I 相臨床試験(MBX1-2)では，JTZ-951 の曝露量は AUC_{inf}：19315.8 ng hr/mL，C_{max}：2165 ng/mL であった（2.7.2.2.4.1.1 参照）。また，健康成人対象の国内第 I 相臨床試験（MBX1-1）では，用量比例的に JTZ-951 の全身曝露が上昇することが確認された（2.7.2.2.2.1.1.2 項参照）ことから，日本人に 8 mg/日を投与した際の曝露量は 15 mg/日を投与した際の曝露量の 8/15 と仮定し，推定曝露量として $AUC_{0\text{-}inf}$：10301.8 ng· hr/mL，C_{max}：1154.7 ng/mL を用いた。

JTZ-951 及び(R)-M2 の毒性試験プログラムとその試験成績の要約を下記に示す。

単回投与毒性試験

試験項目	投与量	GLP	観察された主な変化
TgrasH2 wild type マウス（雄） 経口／単回	TK：3, 6, 20, 60 mg/kg EPO 及び VEGF：3, 10, 30, 60 mg/kg	非適用	死亡：なし 明らかな毒性徴候が発現する用量：＞60 mg/kg （いずれの用量においても明らかな毒性徴候なし） JTZ-951 全身曝露：60 mg/kg まで用量依存的に上昇 血中 EPO 濃度：10 mg/kg 以上で用量依存的に増加 血中 VEGF 濃度：30 mg/kg 以上で用量依存的に増加
ラット（雄） 経口／単回	125, 250, 500,1000, 2000 mg/kg	非適用	概略の致死量：1000 mg/kg ≥1000 mg/kg：糞便量減少，無便，自発運動低下，体温低下，後肢浮腫，血尿等（2000 mg/kg では四肢及び尾の暗赤色化，眼球及び耳介の褪色等もあり）を経て投与後 9 日目までに全例死亡。剖検で皮下赤色巣，精巣赤色化，後肢皮下浮腫／うっ血，尾部皮下うっ血，肺赤色巣，胃赤色巣／線条，小腸暗赤色内容物，腸間膜リンパ節赤色化，胸腺小型化等 500 mg/kg：摂餌量及び体重の減少，体温低下，自発運動低下，糞便量減少，呼吸促迫 250 mg/kg：摂餌量及び体重の軽度減少
ラット（雄） 経口／単回	3, 10, 30, 100, 300 mg/kg	非適用	死亡：なし ≥100 mg/kg：摂餌量，体重増加量及び体重の減少（摂餌量への影響は血中 EPO 濃度が高値の期間中に発現） 血中 EPO 濃度：300 mg/kg まで用量依存的に増加，100 mg/kg 以上では投与後数日間高値を維持 JTZ-951 全身曝露：300 mg/kg まで用量依存的に上昇，投与後速やかに消失
ラット（雄） 経口／単回	3, 10, 30, 100 mg/kg	非適用	死亡：なし ≥3 mg/kg：Ret 数の用量依存的増加，赤血球関連パラメータ（RBC 数，Hb 濃度及び Ht 値）増加

試験項目	投与量	GLP	観察された主な変化
イヌ（雄） 経口／単回	1, 3, 10, 30 mg/kg	非適用	死亡：なし 明らかな毒性徴候が発現する用量：30 mg/kg 30 mg/kg：顕著な摂餌量減少（投与後 1～6 日目），体重減少，無便／糞糞量の減少，全身状態悪化，リンゲル液補液により全身状態は改善し，投与後 7 日目以降に摂餌量減少は消失（摂餌量への影響は血中 EPO 濃度が高値の期間中に発現），RBC 数，Hb 濃度，白血球及び好中球増加 ≥ 1 mg/kg：Ret 数，MCV，Ht 値及び PLT 数の増加 血中 EPO 濃度：30 mg/kg まで用量依存的に増加，30 mg/kg では投与後数日間高値を維持 JTZ-951 全身曝露：30 mg/kg まで用量依存的に上昇，投与後速やかに消失

反復投与毒性試験

試験項目	投与量	GLP	観察された主な変化
TgrasH2 wild type マウス（雌雄） 経口／2 ヵ月間	10, 30, 60 mg/kg	非適用	死亡：30 mg/kg 以上 10 mg/kg：赤血球関連パラメータ（RBC 数，Hb 濃度，Ht 値），Ret 数，MCV，MCH 及び MCHC の増加，脾臓の腫大，脾臓の重量増加，脾臓における赤芽球系髄外造血の増加，皮膚赤色化，肝臓，腎臓，心臓及び肺の重量増加，肺の血栓，全身諸臓器のうっ血，PLT の減少，WBC，好塩基球及びリンパ球の増加 ≥ 30 mg/kg：致死量，10 mg/kg：忍容性あり
TgrasH2 wild type マウス（雌雄） 経口／3 ヵ月間	6, 10, 20 mg/kg	適用	死亡：20 mg/kg ≥ 6 mg/kg：赤血球関連パラメータ，Ret 数，MCV 及び MCH の増加，脾臓重量の増加，脾臓赤芽球系髄外造血の増加，体重の増加，腎臓重量の増加，肝臓及び腎臓のうっ血，PLT の減少 ≥ 10 mg/kg：脾臓の腫大 20 mg/kg：心臓重量の増加，WBC，好中球，リンパ球及び単球の増加 20 mg/kg：致死量，10 mg/kg：忍容性あり
ラット（雌雄） 経口／1 ヵ月間 回復性 1 ヵ月間	3, 10, 30 mg/kg	適用	死亡：なし ≥ 3 mg/kg：赤血球関連パラメータ及び Ret 数の増加，MCV の増加及び MCHC の減少，鉄関連パラメータの変動，前立腺及び精嚢重量の減少，PLT 数減少，小葉辺縁性肝細胞脂肪化の増加 ≥ 10 mg/kg：脾臓の腫大／重量増加及び髄外造血亢進，骨髄の赤芽球系細胞の造血亢進，M/E 比の減少，皮膚及び網脈絡膜の赤色化，AST，LDH 及び CPK 活性の上昇，血中間接 Bil 濃度の増加，心臓及び肺の重量増加，肝臓の小葉中心性類洞拡張に伴う肝細胞の萎縮，腺胃粘膜のびらん，白血球比率の変化，T-CH 及び PL の減少，腎臓の近位尿細管上皮脂肪化の増加，TGL 濃度の増加，血中 Ca 濃度の減少 30 mg/kg：腎臓尿細管のヘモジデリン沈着，尿中 Bil 及び URO 濃度の増加，血中 K 濃度の増加，肺の出血及び血栓形成，血中 GLU 濃度の減少，血中 IP 濃度の減少，大腿骨の骨芽細胞増生及び不整骨梁形成，PT の延長 NOAEL：3 mg/kg 回復性：あり

試験項目	投与量	GLP	観察された主な変化
ラット（雌雄） 経口／3 ヵ月間	3, 10, 30 mg/kg	非適用	死亡：10 mg/kg 以上 3 mg/kg：赤血球関連パラメータ，Ret 数，MCV 及び MCH 増加，骨髄の造血亢進及び脾臓の髄外造血亢進，皮膚及び網脈絡膜の赤色化，AST，LDH 及び CPK 活性の上昇，血中間接 Bil 濃度の増加，腺胃の暗赤色／黒色巣，前立腺及び卵巣のうっ血，心臓及び肺重量の増加，PLT 数の減少，好塩基球比率の増加，血中 T-CH 及び PL の減少，血中 TGL の増加及び Ca 濃度の減少，小葉辺縁性肝細胞脂肪化 ≥ 10 mg/kg：忍容性なし，ラット 3 ヵ月間連日投与毒性試験の用量に適さない
ラット（雌雄） 経口／3 ヵ月間 回復性 1 ヵ月間	1, 3, 6 mg/kg	適用	死亡：6 mg/kg ≥ 1 mg/kg：赤血球関連パラメータ増加，PLT 数減少 ≥ 3 mg/kg：Ret 数の増加，鉄関連パラメータの変動，脾臓の腫大／重量増加，脾臓の髄外造血亢進，骨髄の造血亢進，皮膚の赤色化，AST，LDH，CPK，GU 活性上昇，血中 Bil 濃度の増加，網脈絡膜の赤色化，腎臓の大型／重量増加，心臓及び肺の重量増加，諸臓器のうっ血，腺胃粘膜のびらん，精嚢の重量減少，T-CH 及び PL の減少，白血球比率の変化，血中 Ca 濃度の減少，小葉辺縁性肝細胞脂肪化の増加，大腿骨の骨芽細胞／間葉系細胞の増生，FIB の減少 6 mg/kg：骨髄 M/E 比の減少，尿潜血，尿中 Bil 濃度の増加，血中 K 濃度の増加，大腿骨骨髄の血栓形成，脳の融解壊死，肝臓の小葉中心性の類洞拡張に伴う肝細胞の萎縮，腎臓再生尿細管増加，赤血球円柱，赤色尿，TGL 濃度の増加，大腿骨の不整骨梁形成，PT 及び APTT の延長，血中 D-dimer の増加 NOAEL：1 mg/kg 回復性：あり
ラット（雌雄） 経口／3 ヵ月間 （間歇投与） 回復性 1 ヵ月間	10, 20, 30 mg/kg （週 3 回投与）	適用	死亡：≥ 20 mg/kg ≥ 10 mg/kg：赤血球関連パラメータの増加，骨髄及び脾臓の赤血球造血亢進，脾臓の重量増加，鉄関連パラメータの変動，M/E 比減少，AST，CPK，GU，LDH 活性上昇，血中 Bil 濃度の増加，腎臓のヘモジデリン沈着，心臓，腎臓及び脾臓の血栓形成，心臓及び肺重量の増加，腎臓及び副腎のうっ血を伴う重量増加，肝臓の小葉中心性のうっ血及び肝細胞の萎縮，腺胃のびらん／潰瘍，腎臓再生尿細管の増加及び尿色の異常，PLT 数の減少，白血球比率の変化，T-CH 及び PL 濃度の減少，小葉辺縁性の肝細胞脂肪化，大腿骨骨芽細胞／間葉系細胞の増生，PT 及び APTT の延長，血中 EPO，PAI-1 及び VEGF 濃度増加 ≥ 20 mg/kg：諸臓器のうっ血，脾臓のヘモジデリン沈着（回復期間終了時），尿中 Kim-1 排泄量の増加，血中 FIB 濃度の増加 30 mg/kg：脳の融解壊死，大腿骨骨幹の不整な骨梁形成 NOAEL：10 mg/kg 未満 回復性：あり

試験項目	投与量	GLP	観察された主な変化
ラット（雌雄） 経口／6ヵ月間	0.3, 1, 3 mg/kg	適用	死亡：なし ≥1 mg/kg：鉄関連パラメータの変動，T-CH及びPLの減少，血中EPO及びPAI-1濃度増加，FIB減少 3 mg/kg：赤血球関連パラメータ及びRet数増加，MCV及びMCHの増加，脾臓の重量増加及び髄外造血の亢進，骨髄の赤芽球造血亢進，骨髄M/E比の減少，GU活性の上昇及び血中K濃度の増加，腎臓重量増加，再生尿細管／遠位尿細管拡張／炎症性細胞浸潤／乳頭部線維化，尿中Kim-1排泄量の増加，肺重量増加，肝臓の小葉中心性のうっ血及び肝細胞の萎縮，心臓器質化血栓，後肢腫脹，浮腫及び肉芽組織／炎症性細胞浸潤，PLT数の減少及び好塩基球数の増加，血中GLUの減少，PT及びAPTTの延長 NOAEL：1 mg/kg
イヌ（雌雄） 経口／1ヵ月間	1, 3, 10 mg/kg	適用	死亡：なし 10 mg/kg：全身状態悪化のため投与7～23日目は休薬 ≥1 mg/kg：赤血球関連パラメータ及びRet数の増加，鉄関連パラメータの変動，脾臓重量増加，骨髄の赤芽球系細胞の造血亢進，肝臓の小葉中心性の類洞拡張に伴う肝細胞の萎縮，PLT数増加，胆嚢上皮の脂肪化 ≥3 mg/kg：MCH及びMCHCの減少，脾臓赤芽球系の髄外造血亢進，骨髄の赤色化及び骨髄脂肪細胞の減少，尿中Bil濃度の増加，肝臓の小葉中心性の炎症性細胞浸潤，肺重量増加，肺血栓形成，WBCの増加，白血球比率の変化，TGLの増加及び血中GLUの減少，腎臓近位尿細管上皮の脂肪化増加 10 mg/kg：顕著な摂餌量減少及び体重減少，全身状態の悪化，肝臓の赤芽球系の髄外造血亢進，血中間接Bil濃度の増加，心臓及び肺の赤色巣，心臓及び肺の出血，眼球脈絡膜の血管内皮細胞及び線維芽細胞増生，網膜外顆粒層の萎縮，T-CH及びPLの増加，血中乳酸値の増加 NOAEL：1 mg/kg
イヌ（雌雄） 経口／3ヵ月間 回復性12週間	0.3, 1, 3 mg/kg	適用	死亡：なし ≥1 mg/kg：赤血球関連パラメータ増加，Ret数増加，MCV，MCH及びMCHCの減少，鉄関連パラメータの変動，血中EPO濃度増加 3 mg/kg：脾臓の重量増加及び髄外造血亢進，骨髄の造血亢進，血中Bil濃度の増加，尿中Bil濃度の増加，脾臓のうっ血，肝臓の小葉中心性のうっ血に伴う肝細胞の萎縮，単細胞壊死，炎症性細胞浸潤，軽度の摂餌量減少及び体重減少，PLT数及び好塩基球数の増加，血中GLU濃度の減少，血中VEGF濃度増加 NOAEL：1 mg/kg 回復性：あり
イヌ（雌雄） 経口／3ヵ月間 （間歇投与）	3, 6, 10 mg/kg （週2回）	適用	死亡：なし 以下に示す変化が認められたが，最高用量10 mg/kgまで臓器毒性を示唆する所見は認められなかった。 ≥3 mg/kg：赤血球関連パラメータ及びRet数の増加，鉄関連パラメータの変動，PLT数の増加，血中EPO濃度増加 ≥6 mg/kg：MCV及びMCHの減少，好塩基球数の増加 10 mg/kg：骨髄赤血球系細胞の増加及び骨髄赤芽球系細胞の造血亢進，尿中Bil濃度の増加，血中VEGF濃度増加 NOAEL：＞10 mg/kg

試験項目	投与量	GLP	観察された主な変化
サル（雄） 経口／1ヵ月間	10, 30, 100 mg/kg	非適用	100 mg/kg：切迫殺（2/3 例） ≥10 mg/kg：赤血球関連パラメータ及び Ret 数増加，血中 PAI-1 増加，血中 FIB 減少，血中 D-dimer 増加 ≥30 mg/kg：TGL 増加，血中 PIC 増加，APTT 延長 100 mg/kg：鉄関連パラメータの変動，AST 及び LDH 活性の上昇，T-CH 及び PL の減少，血中 GLU の減少 100 mg/kg：忍容性なし
サル（雌雄） 経口／3ヵ月間 回復性 1ヵ月間	3, 10, 30 mg/kg	適用	死亡：なし ≥3 mg/kg：赤血球関連パラメータ及び鉄関連パラメータ変動，血中 PAI-1 濃度の増加 ≥10 mg/kg：Ret 数増加，MCV 増加，骨髄の赤芽球系細胞の造血亢進，M/E 比の減少，腎臓の尿細管上皮へのヘモジデリン沈着，肝臓の小葉中心性のうっ血及び肝細胞萎縮，諸臓器のうっ血，T-CH，PL 濃度減少，D-dimer 及び PIC 増加，PT 及び APTT 延長，血中 FIB 減少 30 mg/kg：皮膚及び結膜の赤色化，尿潜血，血中 AST，LDH，ALT，GLDH 及び GU 活性の上昇，血中 Bil 濃度の増加，心臓重量増加，諸臓器の出血，心臓器質化血栓，心臓冠動脈脂肪組織の炎症細胞浸潤，胃及び空腸粘膜のびらん，膵臓腺房細胞の萎縮，PLT 数の減少，TGL 増加，血中 GLU 減少 NOAEL：3 mg/kg 回復性：あり
サル（雌雄） 経口／9ヵ月間	1, 3, 30 (→10) mg/kg	適用	死亡：なし 30 mg/kg：顕著な多血，摂餌量の顕著な減少及び体重減少，全身状態悪化のため一時休薬し，投与 17 週目より 10 mg/kg に用量を下げて投与再開 ≥1 mg/kg：鉄関連パラメータの変動，血中 EPO 濃度の増加 ≥3 mg/kg：赤血球関連パラメータの増加，Ret 数の増加，血中総 Bil 濃度の増加，LDH 及び GU 活性の上昇，血中 PAI-1 濃度の増加 30/10 mg/kg：MCV 及び MCH の増加，MCHC の減少，骨髄の赤芽球系細胞の造血亢進及び M/E 比の減少，皮膚，口腔粘膜及び結膜の赤色化，結膜充血，AST 活性の上昇及び血中 K 濃度の増加，小葉辺縁性の肝細胞のヘモジデリン沈着，肝臓の小葉中心性のうっ血を伴う肝細胞の萎縮／リポフスチン沈着，膵臓腺房細胞の萎縮，PLT 数の減少，T-CH 及び PL の減少，肝細胞脂肪化，血中 GLU の減少，PT 及び APTT の延長，血中 FIB の減少，血中 D-dimer 及び PIC の増加 NOAEL：3 mg/kg

遺伝毒性試験

試験項目	投与量／添加濃度	GLP	結果
復帰突然変異試験 (プレインキュベーション法) *S. typhimurium*：4 株 *E. coli*：1 株 *In vitro*	S9 mix (+)：94～5000 μg/plate S9 mix (−)：47～3000 μg/plate	適用	S9 mix の有無に関わらず，いずれの処理用量においても復帰突然変異能を示さなかった
染色体異常試験 CHL 細胞 *In vitro*	S9 mix (+) 6 hr：300～450 μg/mL S9 mix (−) 6 hr：300～450 μg/mL S9 mix (−) 24 hr：50～150 μg/mL	適用	染色体異常（構造異常）の誘発が，S9 mix 非存在下 24 時間処理の 100 及び 150 μg/mL で認められた（各 6.0%及び 18.5%：判定基準［異常細胞出現率 5%未満:陰性, 5%以上 10%未満：疑陽性，10%以上：陽性］）いずれの処理においても数的異常はなし
染色体異常試験 ヒト末梢血リンパ球 *In vitro*	S9 mix (+) 3 hr：160～320 μg/mL S9 mix (−) 3 hr：160～360 μg/mL S9 mix (−) 24 hr：1.25～15 μg/mL	適用	S9 mix の有無に関わらず，いずれの処理時間及び用量においても染色体異常の誘発はなし
染色体異常試験 ラット（雄） 経口／単回 骨髄細胞	投与後 24 及び 48 時間 62.5, 125, 250 mg/kg 【全身曝露（250 mg/kg）】 C_{max}：262.48 μg /mL $AUC_{0\text{-}24}$：1866.79 μg·hr /mL $AUC_{0\text{-}48}$：2131.50 μg·hr /mL	適用	最大耐量である 250 mg/kg まで染色体異常（構造異常及び倍数性）の誘発を示さなかった
単細胞ゲル電気泳動試験 (コメットアッセイ) ラット（雄） 経口／2 日間 肝臓及び末梢血	投与後 3 時間 62.5, 125, 250 mg/kg	適用	最大耐量である 250 mg/kg まで DNA 損傷性を示さなかった

がん原性試験

試験項目	投与量	GLP	観察された主な変化
用量設定試験			
TgrasH2 wild type マウス（雌雄） 経口／単回	0.6, 2 mg/kg	適用	C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量依存的に上昇し，全身曝露は雄に比較して雌で高かった
TgrasH2 wild type マウス（雌雄） 経口／3 ヵ月間	6, 10, 20 mg/kg	適用	死亡：20 mg/kg ≥ 6 mg/kg：赤血球関連パラメータ，Ret 数，MCV 及び MCH の増加，脾臓重量の増加，脾臓赤芽球系髄外造血の増加，腎臓重量の増加，肝臓及び腎臓のうっ血，PLT の減少 ≥ 10 mg/kg：脾臓の腫大 20 mg/kg：心臓重量の増加，WBC，好中球，リンパ球及び単球の増加 20 mg/kg：致死量，10 mg/kg：忍容性あり
がん原性試験			
TgrasH2 マウス（雌雄） 経口／6 ヵ月間	0.6, 2, 6 mg/kg	適用	JTZ-951 投与に起因した腫瘍性変化は認められなかった。以下に示す変化が認められたが，いずれも JTZ-951 の薬理作用に起因した変化と考えられた ≥ 0.6 mg/kg：PLT の減少 ≥ 2 mg/kg：腎臓重量の増加及びうっ血 6 mg/kg：赤血球関連パラメータ，RDW，Ret 数，MCV 及び MCH の増加，脾臓重量の増加，脾臓の腫大，脾臓の髄外造血亢進
ラット（雌雄） 経口／2 年間	0.1, 0.3, 1 mg/kg	適用	JTZ-951 投与に起因した腫瘍性変化は認められなかった。以下に示す変化が認められたが，いずれも JTZ-951 の薬理作用に起因した変化と考えられた 1 mg/kg：赤血球関連パラメータの増加傾向

生殖発生毒性試験

試験項目	投与量	GLP	観察された主な変化
受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験			
ラット（雌） 経口／交配前 14 日から GD7 まで	3, 10, 30 mg/kg	適用	（雌動物） 死亡：30 mg/kg（1 例，体重及び摂餌量の減少，肺の暗赤色調及び大型，肝臓及び副腎の暗赤色調，脾臓大型） ≥ 10 mg/kg：皮膚赤色化，肺黒色巣，脾臓，心臓及び肺重量の増加 30 mg/kg：膣出血，摂餌量減少及び体重増加抑制，脾臓大型，肝臓暗赤色調，腎臓白色巣 （雌動物の生殖能） 30 mg/kg：着床数及び着床率の減少（1 例） （初期胚発生） ≥ 10 mg/kg：胚・胎児死亡数及び死亡率増加，生存胎児数減少 NOAEL： 雌動物（一般毒性），初期胚発生：3 mg/kg 着床：10 mg/kg 性周期，交尾能及び受胎率：＞30 mg/kg

試験項目	投与量	GLP	観察された主な変化
ラット（雄） 経口／交配前 14 日から剖検前日まで（投与期間 21 又は 28 日間）	3, 10, 30 mg/kg	適用	（雄動物） ≥ 10 mg/kg：皮膚赤色化，脾臓，心臓及び肺重量の増加 30 mg/kg：体重増加量及び摂餌量低下，自発運動量の減少，脾臓大型，肺及び盲腸暗赤色巣，肝臓白色巣 NOAEL： 雄動物（一般毒性）：3 mg/kg 雄生殖能及び初期胚発生：＞30 mg/kg
胚・胎児発生に関する試験			
ラット（雌） 経口／GD7～17	3, 10, 30 mg/kg	適用	（母動物） ≥ 10 mg/kg：脾臓重量の増加 30 mg/kg：体重増加量及び摂餌量の減少，皮膚赤色化，脾臓大型，心臓及び肺重量の増加 （胚・胎児発生） 30 mg/kg：胚・胎児死亡率増加（1 例），胎児体重減少，胎盤重量増加，骨化遅延を示唆する変化（胸椎体二分骨化の軽度増加，仙尾椎又は中手骨数の減少傾向） 催奇形性を示唆する変化はなし NOAEL： 母動物（一般毒性），胚・胎児発生：10 mg/kg 催奇形性：＞30 mg/kg
ウサギ（雌） 経口／GD6～18	20, 60, 200 mg/kg	適用	死亡又は切迫殺：200 mg/kg（顕著な体重及び摂餌量の減少，剖検で腎臓の白色化，胃の暗赤色巣及び毛玉の貯留，盲腸内水様内容物の貯留） （母動物） 200 mg/kg：顕著な摂餌量減少，流産，糞便量減少，体重減少 60 mg/kg：摂餌廃絶及び流産（1 例） （胚・胎児） 200 mg/kg：軽度の着床後胚・胎児死亡率の増加及び生存胎児数の減少 催奇形性を示唆する変化はなし NOAEL： 母動物（一般毒性）及び流産：20 mg/kg 胚・胎児発生：60 mg/kg 催奇形性：＞200 mg/kg
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			
ラット（雌） 経口／GD7 から分娩後 20 日目まで	1, 3, 10 mg/kg	適用	（母動物）10 mg/kg：摂餌量の軽度減少（哺育期間中），皮膚赤色化，脾臓大型，脾臓，心臓及び肺重量の増加 （出生児） 10 mg/kg：一過性の体重低値（生後 4 日目から 21 日目），眼瞼の開裂時期の遅延 NOAEL： 母動物（一般毒性）：3 mg/kg 出生児の身体発育：3 mg/kg 出生児の生存性，行動発達及び生殖能：＞10 mg/kg

その他の毒性試験：光毒性に関する検討

試験項目	投与量／添加濃度	GLP	結果
Balb/c 3T3 細胞 *In vitro*	光照射（+/−）： 9.49, 13.3, 18.6, 26.0, 36.4, 51.0, 71.4, 100 μg/mL	適用	JTZ-951 は光毒性を有さなかった

その他の毒性試験：多血に関連した所見に関する検討

試験項目	投与量	GLP	結果
ラット（雌雄） 経口／7 週間 （瀉血実施）	30 mg/kg	非適用	多血状態の持続により発現する所見を明らかにするために，定期的に瀉血した効果を，先に実施したラット 3 ヵ月間反復経口投与予備試験の 30 mg/kg 群（非瀉血条件：投与 4 週目以降死亡あり）と比較検討した 死亡：なし 瀉血により軽減した変化：皮膚の赤色化，RBC 数，Hb 濃度，Ht 値及び Ret 数の増加，血中 Bil 濃度の増加，LDH，CPK 活性の上昇，心臓及び肺重量の増加，諸臓器（骨髄，脳，心臓，腎臓及び肺等）の血栓形成及び出血 瀉血の効果が見られなかった変化：体重増加量及び摂餌量減少，PLT の減少，白血球比率の変化，血中 TGL の増加，血中 GLU，T-CH 及び PL の減少，血中 Ca 及び IP の減少，大腿骨の骨芽細胞の増生及び不整骨梁形成，小葉辺縁性の肝細胞脂肪化，腎臓の近位尿細管上皮の脂肪化

その他の毒性試験：反復投与試験における血中 EPO 濃度測定

試験項目	投与量	GLP	結果
イヌ（雌雄） 経口／1 ヵ月間	1, 3, 10 mg/kg	非適用	・血中 EPO 濃度：雌雄ともに 1 mg/kg より用量依存的に増加 ・10 mg/kg では反復投与により血中 EPO 濃度が増加
サル（雄） 経口／1 ヵ月間	10, 30, 100 mg/kg	非適用	血中 EPO 濃度：10 mg/kg より用量依存的に増加
サル（雌雄） 経口／3 ヵ月間	3, 10, 30 mg/kg	非適用	血中 EPO 濃度：3 mg/kg より用量依存的に増加，雌雄差なし

その他の毒性試験：心臓及び肺への影響に関する検討

試験項目	投与量	GLP	結果
循環血液量と心臓及び肺重量の関係に関する検討			
ラット（雌） 経口／1 ヵ月間 回復性 1 ヵ月間	10, 30 mg/kg	非適用	・赤血球関連パラメータ（RBC 数，Hb 濃度，Ht 値）の増加に伴い循環血液量の顕著な増加，心臓及び肺重量の増加が認められた ・1 ヵ月間の休薬によりいずれの変化も消失又は消失傾向
血圧及び心拍数に関する検討			
ラット（雌） 経口／1 ヵ月間	10, 30 mg/kg	非適用	・一過性の血圧低下及び心拍数増加が認められたが，反復投与による増強はなし ・血圧及び心拍数への影響と赤血球関連パラメータ（RBC 数，Hb 濃度，Ht 値）には関連性なし

その他の毒性試験：肝臓への影響に関する検討

試験項目	投与量	GLP	結果
肝臓病変に対する瀉血の効果			
イヌ（雄） 経口／1 ヵ月中 12 日間 （1～6，24～29 日目） （瀉血実施）	10 mg/kg	非適用	・瀉血群では Ht 値が一定に推移するよう瀉血を実施 ・瀉血及び非瀉血群間で曝露に差なし ・非瀉血群の肝臓の小葉中心性の類洞拡張に伴う肝細胞の萎縮が，瀉血群では軽減
血中肝機能パラメータ測定			
ラット（雌雄） 経口／1 ヵ月間	3, 10, 30 mg/kg	非適用	いずれの投与群も，肝障害時の逸脱酵素である GLDH 及び SDH 活性の上昇なし
イヌ（雌雄） 経口／1 ヵ月間	1, 3, 10 mg/kg	非適用	いずれの投与群も，肝障害時の逸脱酵素である GLDH 及び SDH 活性の上昇なし

その他の毒性試験：腎臓への影響に関する検討

試験項目	投与量	GLP	結果
尿中腎機能バイオマーカー測定			
ラット（雌雄） 経口／1 ヵ月間	3, 10, 30 mg/kg	非適用	いずれの投与群も，腎機能バイオマーカーである尿中 β2 マイクログロブリン，Kim-1，Clusterin 及び Cystatin C 排泄量に明らかな変化なし
イヌ（雌雄） 経口／1 ヵ月間	1, 3, 10 mg/kg	非適用	いずれの投与群も，腎機能バイオマーカーである尿中 Kim-1 排泄量に明らかな変化なし
腎臓電子顕微鏡学的検査			
ラット（雌） 経口／1 ヵ月間	30 mg/kg	非適用	・尿細管上皮の細胞障害を示唆する所見なし ・尿細管上皮細胞内の脂肪滴が増加及び大型化したが，対照群と質的な違いなし ・近位尿細管上皮細胞質内の一部のミトコンドリアでは，膨化及び空胞化が認められたが，これは薬理作用である HIF の安定化に伴う細胞内の擬似低酸素化及び多血状態の持続に起因した循環障害による細胞内の低酸素状態に関連して発現したものと考えられた ・尿細管上皮細胞間の密着結合に異常なし
イヌ（雌） 経口／1 ヵ月間	10 mg/kg	非適用	・尿細管上皮の細胞障害を示唆する所見なし ・尿細管上皮細胞内の脂肪滴及びライソゾームが増加及び大型化したが，対照群と質的な違いなし ・近位尿細管上皮細胞質内の一部のミトコンドリアでは，膨化及び空胞化が認められたが，これは薬理作用である HIF の安定化に伴う細胞内の擬似低酸素化及び多血状態の持続に起因した循環障害による細胞内の低酸素状態に関連して発現したものと考えられた ・尿細管上皮細胞間の密着結合に異常なし

その他の毒性試験：骨への影響に関する検討

試験項目	投与量	GLP	結果
ラット（雌雄） 経口／1 ヵ月間	3, 10, 30 mg/kg	非適用	・雌 30 mg/kg で骨形成マーカーである血中オステオカルシン濃度増加 ・雄の血中オステオカルシン濃度及び雌雄の尿中デオキシピリジノリン／クレアチニン濃度比（骨吸収マーカー）は，最高用量まで影響なし

その他の毒性試験：網脈絡膜への影響に関する検討

試験項目	投与量	GLP	結果
網脈絡膜病変に対する瀉血効果			
イヌ（雄） 経口／1ヵ月間 （瀉血実施）	10 mg/kg	非適用	・瀉血群では試験期間中，投与開始前のHt値を維持した ・瀉血及び非瀉血群で摂餌量及び体重減少が認められ，その程度は両群間で差なし ・瀉血により，網膜動脈内の蛍光色素到達不良及び視神経乳頭部の動脈拡張の発現頻度が明らかに軽減 ・非瀉血群では，網膜所見が認められた一部の個体で血管から網膜組織への漿液漏出を示唆する変化である過蛍光スポットが認められた。網膜血管における循環障害により血管から網膜組織へ漿液が漏出しているものと考えられた ・瀉血群の1例で網膜血管の循環障害による網膜萎縮が認められたが，瀉血操作により全身状態が著しく悪化し，切迫殺した個体であった。網膜血管における循環障害は，多血による循環障害だけではなく，動物の全身状態の極度の悪化によっても惹起されるものと考えられた
血中ET-1測定			
イヌ（雌雄） 経口／1ヵ月間	1, 3, 10 mg/kg	非適用	雄の10 mg/kg及び雌の3 mg/kg以上でET-1濃度増加
イヌ（雄） 経口／1ヵ月間	10 mg/kg	非適用	・イヌ1ヵ月間反復投与（瀉血効果の検討）試験の血中ET-1濃度を測定した ・JTZ-951投与後血中ET-1濃度は増加し，休薬により減少，投与再開後に再び増加 ・瀉血群では非瀉血群と比較し血中ET-1濃度増加の程度は軽度
血中CRP測定			
ラット（雌雄） 経口／1ヵ月間	3, 10, 30 mg/kg	非適用	雌雄いずれの投与群も，血中CRP濃度に変化なし
イヌ（雌雄） 経口／1ヵ月間	1, 3, 10 mg/kg	非適用	・10 mg/kgでJTZ-951投与後血中CRP濃度は増加，休薬により減少，投与再開後に再び増加 ・3 mg/kgで血中CRP濃度が一過性高値を示す動物が散見

その他の毒性試験：副生殖器（前立腺及び精嚢）への影響に関する検討

試験項目	投与量	GLP	結果
ラット（雄） 経口／1ヵ月間	30 mg/kg	非適用	雄30 mg/kg群の血中テストステロン濃度は対照群と同等

その他の毒性試験：血中 TGL 濃度の増加に関する検討

試験項目	投与量	GLP	結果
血中 TGL 濃度測定			
ラット（雄） 経口／単回	3, 10, 30 mg/kg	非適用	・絶食条件下において，10 mg/kg 以上で投与後 2 時間から血中 TGL 濃度は用量依存的に増加 ・投与後 8 時間に最高値を示し，その後次第に減少
ラット（雄） 経口／単回	絶食条件：3, 10, 30 mg/kg 非絶食条件：30 mg/kg	非適用	・血中 TGL 濃度増加に対する食餌の影響を調べ，リポタンパク解析を実施した ・絶食条件下において，10 mg/kg 以上で用量依存的に血中 TGL 濃度増加 ・30 mg/kg で血中 TGL 濃度の増加程度は，絶食及び非絶食条件でほぼ同等（食餌の影響なし） ・絶食及び非絶食条件ともに VLDL-TGL 及び CM-TGL が増加
イヌ（雄） 経口／単回	1, 3, 10, 30 mg/kg	非適用	・絶食条件下において，3 mg/kg 以上で用量依存的に投与後 4 時間に血中 TGL 濃度軽度増加 ・JTZ-951 による血中 TGL 濃度増加の程度は，摂餌による血中 TGL 濃度増加の範囲内の変化
肝 TGL 放出速度に対する作用			
ラット（雄） 経口／単回	30 mg/kg	非適用	肝 TGL 放出速度に変化なし
TGL 消失速度に対する作用			
ラット（雄） 経口／単回	30 mg/kg	非適用	JTZ-951 投与により血中 TGL の消失半減期が延長
血中 LPL 活性に対する作用			
ラット（雄） 経口／単回	30 mg/kg	非適用	JTZ-951 投与により血中 LPL 活性が低下
ANGPTL4 mRNA 発現に対する作用			
ラット（雄） 経口／単回	30 mg/kg	非適用	・ANGPTL4 は HIF の安定化に関連し LPL 活性の抑制因子 ・30 mg/kg で肝臓及び腎臓 ANGPTL4 mRNA 発現が増加，ANGPTL4 mRNA 発現は，投与 2 時間後に増加し，投与 4 時間後に減少

その他の毒性試験：VEGF への影響に関する検討

試験項目	投与量	GLP	結果
血中 VEGF 濃度に対する作用			
ラット（雄） 経口／単回	3, 10, 30 mg/kg	非適用	30 mg/kg で投与後 4 時間まで血中 VEGF 濃度は増加，投与後 24 時間までに対照群と同程度まで減少
網膜 VEGF mRNA 発現に対する作用			
ラット（雄） 経口／単回	30 mg/kg	非適用	投与後 2 及び 4 時間の血中 VEGF 濃度を増加させたが，網膜 VEGF mRNA 発現に変化なし
網膜血管透過性に対する作用			
ラット（雄） 経口／単回	300 mg/kg	非適用	JTZ-951 は網膜血管透過性を亢進させなかった
腫瘍増殖に対する作用			
マウス担癌モデル （雌） 経口／20 日間	30 mg/kg	非適用	Hb 及び VEGF 濃度を増加させたが，腫瘍体積には明らかな影響を及ぼさなかった

その他の毒性試験：血栓形成の作用機序に関する検討

試験項目	投与量	GLP	結果
サル1ヵ月間予備反復投与試験の肺組織についての追加病理学的検査			
サル（雄） 経口／1ヵ月間	10, 30, 100 mg/kg	非適用	肺の追加標本の病理検査において10 mg/kg以上で血栓が認められた（D-dimerの増加用量と血栓形成の発現用量は一致した）
高用量投与時の血栓形成に対する作用			
ラット（雄） 経口／2，4及び7日間	100 mg/kg	非適用	・Ret数及びPAI-1は投与2日目から，MPV及びTATは投与4日目から，Hbは投与7日目に増加したが，PLTは投与7日目まで変化なし ・4日間以上の投与で，肺又は心臓において血栓形成が認められた ・血液凝固関連パラメータは投与2日目から変動した ・血液凝固系の亢進と線溶系の低下が複合的に作用することで，高用量投与時は多血状態になる前に血栓形成が起こることが明らかとなった

その他の毒性試験：染色体異常誘発の基礎メカニズムに関する検討

試験項目	投与量／添加濃度	GLP	結果
CHL細胞 *In vitro*	S9 mix (−) 24 hr KC7F2*: 100-250 μg/mL JTZ-951: 150 μg/mL （KC7F2*：HIF-α阻害剤）	非適用	・CHL細胞：S9 mix非存在下，KC7F2又はDMSOで1時間前処理，その後JTZ-951又はDMSOで24時間処理 ・KC7F2処理によりJTZ-951の染色体異常誘発を抑制

その他の毒性試験：代謝物(R)-M2に関する検討

試験項目	投与量	GLP	結果
TgrasH2 wild typeマウス（雄） 経口／単回	JTZ-951 3, 6, 20, 60 mg/kg	非適用	(R)-M2全身曝露：60 mg/kgまで用量依存的に上昇
TgrasH2 wild typeマウス（雌雄） 経口／3ヵ月間	JTZ-951 6, 10, 20 mg/kg	非適用	(R)-M2全身曝露：20 mg/kgまで用量依存的に上昇し，雄に比較して雌で高かった。反復投与により上昇
ラット（雄） 経口／単回	JTZ-951 250 mg/kg	適用	(R)-M2の全身曝露： C_{max}：867.6 ng/mL，$AUC_{0\text{-}24}$：3273.0 ng·hr/mL
ラット（雌雄） 経口／単回	JTZ-951 3, 6, 30 mg/kg	非適用	(R)-M2全身曝露：用量依存的に上昇し，雄に比較して雌で高かった 30 mg/kg投与時の(R)-M2の$AUC_{0\text{-}24}$： 雄：262.8 ng·hr/mL，雌：715.2 ng·hr/mL
ラット（雌） 経口／GD7～17	JTZ-951 30 mg/kg	適用	(R)-M2全身曝露：GD7（投与1日目）と比較しGD17（投与11日目）で低かった GD17における(R)-M2の全身曝露：C_{max}：62.7 ng/mL，$AUC_{0\text{-}24}$：430.2 ng·hr/mL
復帰突然変異試験 （プレインキュベーション法） *S. typhimurium*：4株 *E. coli*：1株 *In vitro*	(R)-M2添加 S9 mix (+/−): 156-5000 μg/plate	適用	(R)-M2は，S9 mixの有無に関わらず，いずれの処理用量においても復帰突然変異能を示さなかった

試験項目	投与量	GLP	結果
TgrasH2 wild type マウス（雌雄） 経口／単回	(R)-M2 TK 群; 雄: 10, 30, 100 mg/kg 雌: 3, 10, 30, 100 mg/kg 薬理パラメータ群; 雄: 30, 100 mg/kg	非適用	一般状態，体重及び摂餌量に(R)-M2 の投与による影響なし (R)-M2 全身曝露：用量依存的に上昇し，雄に比較して雌で高かった 血中 EPO 及び VEGF 濃度：最高用量 100 mg/kg まで変化なし
TgrasH2 wild type マウス（雌雄） 経口／6 週間	(R)-M2 雄: 10, 30, 100 mg/kg 雌: 3, 10, 30 mg/kg	非適用	雄の 100 mg/kg で赤血球関連パラメータ（RBC 数，Hb 濃度，Ht 値），Ret 数及び MCH の増加 雄 100 mg/kg，雌 30 mg/kg：忍容性あり
TgrasH2 wild type マウス（雌雄） 経口／3 ヵ月間 回復性 1 ヵ月間	(R)-M2 雄:10, 30, 100 mg/kg 雌:3, 10, 30 mg/kg	適用	いずれの用量においても(R)-M2 投与の全身又は臓器毒性を示唆する所見なし (R)-M2 全身曝露：用量依存的に上昇し，雄に比較して雌で高く，反復投与の影響なし 最高用量（雄：100 mg/kg，雌：30 mg/kg）における(R)-M2 の $AUC_{0\text{-}24}$：雄：3307.7 ng·hr/mL，雌：1909.8 ng·hr/mL
QSAR DEREK Nexus *In silico*	(R)-M2	非適用	(R)-M2 は遺伝毒性及び臓器毒性を含む 54 種全ての項目について，アラート構造なし

2.6.6.2 単回投与試験

2.6.6.2.1 マウス

(1) TgrasH2 wild type マウスを用いた単回経口投与試験－血漿中 JTZ-951 濃度, EPO 濃度, VEGF 濃度の測定－ [Report/Study Number: JTZ951-TX-046/[redacted]182]

(参考資料：CTD4.2.3.1-1)

雄性 TgrasH2 wild type マウス（1 群各 9 匹）に JTZ-951（用量：3，6，20 及び 60 mg/kg）を単回経口投与し，一般状態観察及び血漿中 JTZ-951 濃度測定を実施した。また，13 日間の休薬期間の後に，JTZ-951 を 3，10，30 及び 60 mg/kg の用量（1 群各 9 匹，対照群 4 匹）で単回経口投与し，血中 EPO 及び VEGF 濃度を測定した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。

いずれの用量においても一般状態に影響は認められなかった。JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は最高用量まで用量依存的に上昇した。いずれの用量においても JTZ-951 の全身曝露は投与後 0.5 時間に C_{max} に達し，その後速やかに消失した（表 1）。血中 EPO 濃度は 10 mg/kg 以上で用量依存的に増加した。10 mg/kg では血中 EPO 濃度は投与後 8 時間のみで増加したが，30 mg/kg 以上では投与後 24 時間まで EPO 濃度の増加が持続した。血中 VEGF 濃度は 30 mg/kg 以上で用量依存的に増加した。血中 VEGF 濃度の増加は投与後 8 時間で認められたが，投与後 24 時間では認められなかった。以上より，明らかな毒性徴候が発現する用量は 60 mg/kg を上回る用量と考えられた。

2.6.6.2.2 ラット

(1) ラット単回経口投与試験 －一般状態，体重及び摂餌量への影響の検討－ [Report/Study Number: JTZ951-TX-001/[redacted]075]

(参考資料：CTD4.2.3.1-2)

雄性 SD 系ラット（1 群各 4 匹）に，JTZ-951（用量：125，250，500，1000 及び 2000 mg/kg）を絶食下で単回経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。投与後 2 週間の観察期間中，一般状態観察，体重測定及び摂餌量測定を行った。生存例については，観察期間終了後（投与後 15 日目）に剖検を行った。

1000 mg/kg 以上で全例が死亡した。死亡は，投与後 3 から 9 日目に認められた。死亡例の一般状態観察において，1000 mg/kg 以上で投与後 2 日目から糞便量減少及び無便，下腹部汚染，鼻周囲の汚染，自発運動の低下，体温低下，後肢の浮腫及び血尿等が認められ，2000 mg/kg では，四肢及び尾の暗赤色化，眼球及び耳介の褪色，呼吸促迫，赤色涙及び流涙等が認められた。1000 mg/kg 以上で摂餌量は投与日以降，体重は投与後 2 日目から減少した。死亡例の剖検では，胸腺の小型化，胃の赤色巣／線条，小腸の暗赤色内容物，腸間膜リンパ節の赤色化が認められた。さらに，顕著な循環障害を示唆する変化として皮下の赤色巣，精巣の赤色化，後肢皮下の浮腫又はうっ血，尾部皮下のうっ血，肺の赤色巣が認められた。その他，肝臓の褪色が認められた。

500 mg/kg で投与後 2 日目以降に体温低下，自発運動の低下，糞便量減少及び呼吸促迫，投与後 2 から 4 日目にかけて体重及び摂餌量の減少が認められた。250 mg/kg では投与後 8 時間に一過性の軟便が 1 例に認められ，投与後 2 及び 3 日目にかけて体重及び摂餌量の低値が認められた。

125 mg/kg では一般状態，体重及び摂餌量に変化は認められなかった。観察期間終了後の生存例の剖検では，いずれの投与群においても所見は認められなかった。

以上，本試験条件下において，致死量は 1000 mg/kg であり，動物の死亡は多血による重度の循環障害によるものと考えられた。500 mg/kg 以上では，全身状態の悪化を示唆する一般状態の変化，体重及び摂餌量の明らかな減少が認められた。250 mg/kg では，体重及び摂餌量の軽度の減少が認められたが，一般状態の変化は認められなかった。

(2) ラット単回経口投与試験 –血漿中 JTZ-951 濃度，EPO 濃度と摂餌量との関係に関する検討–

[Report/Study Number: JTZ951-TX-002/[redacted]071]

（参考資料：CTD4.2.3.1-3）

雄性 SD 系ラット（1 群各 5 匹）に，JTZ-951（用量：3，10，30，100 及び 300 mg/kg）を非絶食下で単回経口投与し，血漿中 JTZ-951 及び EPO 濃度と摂餌量の関係を調べた。単回投与後 2 週間の観察期間中に，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，血漿中 JTZ-951 及び EPO 濃度測定を実施した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。

100 mg/kg では投与後 2 日目に摂餌量，体重増加量及び体重の減少が認められた。300 mg/kg では投与後 1～3 日目に摂餌量，投与後 2～3 日目に体重増加量の減少が，投与後 2～4 日目まで体重減少が認められた。摂餌量及び体重への影響は投与後 3 又は 4 日目以降消失した。これら 2 用量で認められた体重減少は摂餌量の減少によるものと考えられた。30 mg/kg 以下では，摂餌量及び体重に対する影響は認められなかった。

血中 EPO 濃度は，300 mg/kg まで用量依存的に増加し，全用量で投与後 8 時間に最大に達し，その後経時的に減少したが，300 mg/kg では投与後 24 時間までその濃度が維持された後，経時的に減少した。摂餌量，体重増加量及び体重の減少が認められた 100 及び 300 mg/kg における投与後 8 時間の血中 EPO 濃度はそれぞれ 12,708 及び 12,953 mIU/mL と著しい高値を示した。また，300 mg/kg の投与後 2 及び 3 日目における血中 EPO 濃度はそれぞれ 13,108 及び 4904 mIU/mL，100 mg/kg では投与後 2 日目において 2665 mIU/mL と依然として高い濃度で推移し，300 mg/kg で投与後 4 日目に 168 mIU/mL，100 mg/kg 群で投与後 3 日目に 456 mIU/mL まで減少した（対照群の平均 EPO 濃度は 10.42 mIU/mL［投与後 1 日目の 2 hr 値］）。

JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び AUC）は最高用量まで用量依存的に上昇した。JTZ-951 全身曝露は，いずれの用量においても投与後 0.5 から 0.9 時間に C_{max} に達し，その後，速やかに消失し，投与後 24 時間以降は低値であった（表 2）。

摂餌量の減少と，それに伴う体重増加量及び体重の減少は，血中 EPO 濃度が著しく高い値を維持している期間に発現し，その減少に伴い消失するものと考えられた。

(3) ラット単回経口投与試験 –網状赤血球数及び赤血球関連パラメータに対する影響の検討–

[Report/Study Number: JTZ951-TX-003/[redacted]072]

（参考資料：CTD4.2.3.1-4）

雄性 SD 系ラット（1 群各 5 匹）に，JTZ-951（用量：3，10，30 及び 100 mg/kg）を非絶食下で単回経口投与し，Ret 数及び赤血球関連パラメータ（RBC 数，Hb 濃度，Ht 値）を評価した。単回投与後 4 週間まで経日的に Ret 数及び赤血球関連パラメータを測定した。対照群（4 匹）には媒体

(0.5% MC 水溶液) を投与した。

JTZ-951 の単回投与後 5 日目に 3 mg/kg 以上で Ret 数の用量依存的な増加が認められた。投与後 5 日目から 10 日目にかけて 3 mg/kg 以上で赤血球関連パラメータの増加が認められたが，明らかな用量依存性は認められなかった。

2.6.6.2.3 イヌ

(1) イヌにおける単回経口投与試験 –一般状態，摂餌量，体重及び赤血球関連パラメータに対する影響– [Report/Study Number: JTZ951-TX-004/[redacted]007]

(参考資料：CTD4.2.3.1-5)

雄性ビーグル犬 (1 群各 3 頭) に，JTZ-951 (用量；1，3，10 及び 30 mg/kg) を，一晩絶食下で単回経口投与し，投与後 4 週間観察した。観察期間中に，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，血液学的検査，血漿中 JTZ-951 濃度測定及び血中 EPO 濃度測定を実施した。

30 mg/kg で投与日から投与後 6 日目まで摂餌量の減少が認められ，それに伴い体重減少，無便又は糞便量減少が認められ，全身状態悪化も認められた。これらの所見及び変化は，観察期間中リンゲル液を補液することにより改善し，投与後 7 日目以降に全例で摂餌量，体重への影響も消失した。これら 30 mg/kg で認められた体重減少及び全身状態の悪化は摂餌量の減少によるものと考えられた。なお，10 mg/kg 以下では，観察期間中，摂餌量，体重及び一般状態に明らかな影響は認められなかった。

血中 EPO 濃度は 30 mg/kg まで用量依存的に増加し，いずれの用量においても投与後 8 時間に最大に達し，その後経時的に減少した。1，3，10 及び 30 mg/kg の各用量における血中 EPO 濃度の C_{max} は，それぞれ 136, 744, 3120 及び 7605 mIU/mL, C_{24} 値はそれぞれ，22, 117, 398 及び 3153 mIU/mL, $AUC_{0\text{-}72}$ は，それぞれ 2159，10,503，43,926 及び 198,653 mIU·hr/mL であった。摂餌量の減少が認められた 30 mg/kg では血中 EPO 濃度が投与後 3 及び 4 日目においてもそれぞれ 1796 及び 899 mIU/mL と高い濃度で推移した。

JTZ-951 の全身曝露 (C_{max} 及び AUC) は 30 mg/kg まで用量依存的に上昇した。JTZ-951 全身曝露は，投与後 0.3～1.3 時間までに C_{max} に達し，その後速やかに消失し，投与後 24 時間以降は低値であった (表 3)。

摂餌量の減少とそれに伴う体重減少は，JTZ-951 の全身曝露には依存しなかったが，血中 EPO 濃度が著しく高い値を維持している期間に発現し，血中 EPO 濃度の減少に伴い消失した。

1，3 及び 10 mg/kg で投与後 4～10 日目にかけて，Ret 数，MCV 及び Ht 値の増加，MCHC の減少が認められた。30 mg/kg では投与後 4～14 日目にかけて Ret 数及び MCV が増加し，投与後 4 又は 7 日目をピークに RBC 数, Ht 値及び Hb 濃度が増加した。また, 1 mg/kg から PLT 数, 30 mg/kg で白血球数及び好中球数が増加した。

以上より，30 mg/kg は全身状態の悪化が認められたため，明らかな毒性徴候が発現する用量と判断した。

表 1　マウス単回経口投与試験における JTZ-951 全身曝露

投与量 (mg/kg)	t_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-24} (μg·hr/mL)
3	0.5	1.033	3.339
6	0.5	4.002	8.922
20	0.5	16.120	45.984
60	0.5	102.345	223.460

表 2　ラット単回経口投与試験における JTZ-951 全身曝露

投与量 (mg/kg)	t_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	C_{24} (μg/mL)	C_{48} (μg/mL)	C_{72} (μg/mL)	AUC_{0-24} (μg·hr/mL)	AUC_{0-72} (μg·hr/mL)
3	0.5	2.7	0.003	ND	ND	7.9	8.0
10	0.5	12.3	0.012	ND	ND	38.7	38.9
30	0.7	49.5	0.012	ND	ND	163.5	163.6
100	0.9	164.9	1.733	0.022	ND	668.4	689.8
300	0.6	238.0	24.665	2.156	0.037	1664.9	2013.1

表 3　イヌ単回経口投与試験における JTZ-951 全身曝露

投与量 (mg/kg)	t_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	C_{24} (μg/mL)	C_{48} (μg/mL)	C_{72} (μg/mL)	AUC_{0-24} (μg·hr/mL)	AUC_{0-72} (μg·hr/mL)
1	0.3	1.2	0.007	ND	ND	3.3	3.4
3	0.6	4.4	0.019	ND	ND	11.5	11.7
10	0.7	15.5	0.162	0.055	0.037	33.6	37.4
30	1.3	70.7	0.983	0.634	0.344	287.0	318.0

2.6.6.3 反復投与試験

JTZ-951 の一般毒性プロファイルを調べるため，マウス（2 及び 3 ヵ月間），ラット（1，3 及び 6 ヵ月間），イヌ（1 及び 3 ヵ月間），サル（1，3 及び 9 ヵ月間）の反復経口投与毒性試験により評価した。いずれの動物種を用いた反復経口投与毒性試験においても，JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する種々の変化が認められた。認められた主な所見を(a)EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化，(b)赤血球増多に関連した変化，(c)多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化，(d)EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化，(e)EPO 産生亢進以外の HIF-PH 阻害作用による変化，(f)EPO 産生亢進又は HIF-PH 阻害に起因した血液凝固系及び線溶系への影響に分類した。また，イヌ及びサル毒性試験の高用量で認められた体重減少及び全身状態の悪化は，血中 EPO 濃度が長時間高値を維持することによって誘発された顕著な摂餌量の減少に起因するものと考えられた。

反復投与試験の NOAEL の判断には，ラット及びサルでは多血状態の持続に関連した循環障害

を示唆する変化を，イヌでは摂餌量の減少に関連した変化又は体重への影響及び多血状態の持続に起因した循環障害を示唆する変化を，それぞれ用いた。なお，マウスについては NOAEL を設定可能な用量域で試験を実施していない。

2.6.6.3.1 マウス

(1) TgrasH2 wild type マウスを用いた 2 ヵ月間反復経口投与試験－忍容性の確認－ [Report/Study Number: JTZ951-TX-047/[redacted]204]

（参考資料：CTD4.2.3.2-1）

TgrasH2 wild type マウス（1 群雌雄各 8 匹）に JTZ-951（用量：10，30 及び 60 mg/kg）を 1 日 1 回，2 ヵ月間反復経口投与して忍容性を検討した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。投与期間中に一般状態観察，体重測定及び摂餌量測定を行った。投与期間終了時に剖検，血液学的検査，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

用量設定根拠：JTZ-951 のマウスの 2 週間投与反復毒性試験（CTD4.2.3.2-12，用量：30，100 及び 300 mg/kg）において，100 mg/kg 以上で死亡が認められた。以上より，本試験の最高用量を 60 mg/kg，中間及び低用量をそれぞれ 30 mg/kg 及び 10 mg/kg に設定した。

30 mg/kg 以上において投与 5～9 週で雌雄ともに死亡が認められた。死因は JTZ-951 の薬理作用である赤血球造血／EPO 産生亢進の過剰発現による循環障害と考えられた。また，30 及び 60 mg/kg 群の生存動物についても薬理作用の過剰発現による変化が観察されたため，投与継続不可能と判断し，投与 5～9 週目に途中解剖を実施した。

JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する種々の変化が認められた。

(a) **EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化**：10 mg/kg で赤血球関連パラメータ（RBC 数，Hb 濃度，Ht 値），Ret 数，MCV，MCH 及び MCHC の増加，脾臓腫大，脾臓の重量増加，脾臓における赤芽球系髄外造血の増加

(b) **赤血球増多に関連した変化**：10 mg/kg で皮膚赤色化

(c) **多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化**：10 mg/kg で膵臓，肝臓及び小腸の暗赤色化，肝臓，腎臓，心臓及び肺の重量増加，肺の血栓，全身諸臓器のうっ血

(d) **EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化**：10 mg/kg で PLT の減少，WBC，好塩基球及びリンパ球の増加

以上，本試験条件下では 30 mg/kg 以上は致死量であったが，10 mg/kg は忍容性ありと判断した。

(2) TgrasH2 wild type マウスを用いた 3 ヵ月間反復経口投与試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-053/[redacted]]

（評価資料：CTD4.2.3.2-2）

TgrasH2 wild type マウス（主試験群：1 群雌雄各 10 匹，対照群は 12 匹，TK 群：1 群雌雄各 32 匹，対照群は 8 匹）に JTZ-951（用量：6，10 及び 20 mg/kg）を 1 日 1 回，13 週間反復経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。投与期間中に一般状態観察，体重測定及

び摂餌量測定を行った。投与期間終了時に剖検，血液学的検査，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また，血漿中 JTZ-951 濃度を測定した。

用量設定根拠：JTZ-951 の TgrasH2 wild type マウスを用いたマウス 2 ヵ月間反復経口投与試験(2.6.6.3.1 (1)項）において，30 mg/kg 以上で死亡が認められた。10 mg/kg は忍容であった。以上のことから，本試験の最高用量を 20 mg/kg，中間及び低用量をそれぞれ 10 mg/kg 及び 6 mg/kg に設定した。

20 mg/kg において，雌雄ともに死亡が認められた。死因は JTZ-951 の薬理作用である赤血球造血／EPO 産生亢進の過剰発現による循環障害と考えられた。また，20 mg/kg の生存動物についても薬理作用の過剰発現による変化が観察されたため，投与継続不可能と判断し，投与 50 日目以降に途中解剖を実施した。

JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する種々の変化が認められた。

(a) **EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化**：6 mg/kg 以上で赤血球関連パラメータ，RDW，Ret 数，MCV 及び MCH の増加，脾臓重量の増加，脾臓における赤芽球系髄外造血の増加，10 mg/kg で MPV の増加，10 mg/kg 以上で脾臓の腫大，血球形態の変化

(c) **多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化**：6 mg/kg 以上で体重及び腎臓重量の増加，肝臓及び腎臓のうっ血，10 mg/kg 以上で肝臓重量増加，20 mg/kg で心臓重量の増加

(d) **EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化**:6 mg/kg 以上で PLT の減少，20 mg/kg で WBC，好中球，リンパ球及び単球の増加

JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は 20 mg/kg まで用量依存的に上昇し，全身曝露は雄に比較して雌で高かった。JTZ-951 の全身曝露は投与 1 日目と比し投与 87 日目（雄の 20 mg/kg 群は 50 日目）で高値を示した。

以上，本試験条件下では 20 mg/kg は致死量であったが，10 mg/kg は忍容性ありと判断した。また，6 mg/kg 以上で全身に種々の変化が認められたが，これらはすべて JTZ-951 の薬理作用に起因した変化であると考えられた。

2.6.6.3.2 ラット

(1) ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-005/[redacted]903]

（評価資料：CTD4.2.3.2-3）

SD 系ラット（1 群雌雄各 12 匹）に，JTZ-951（用量：3，10 及び 30 mg/kg）を 1 日 1 回，1 ヵ月間反復経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。対照群及び 30 mg/kg には雌雄各 6 匹を追加し，投与期間終了後に 1 ヵ月間の休薬期間を設けて回復性を調べた。投与及び回復期間中，一般状態観察，体重測定及び摂餌量測定を行った。投与 4 週目及び回復 4 週目に摂水量測定，尿検査及び眼科学的検査を行った。投与及び回復期間終了時に剖検，血液学的検査，血液生化学的検査，臓器重量測定及び病理組織学的検査，骨髄塗抹検査を行った。また，血漿中 JTZ-951 濃度を測定するために，サテライト群（1 群雌雄各 5 匹）を設けた。

用量設定根拠：JTZ-951 の雄性ラット 2 週間反復経口投与予備試験（CTD4.2.3.2-13，用量：10, 30 及び 100 mg/kg）において，100 mg/kg で体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められ，この用量は 1 ヵ月間の反復投与に耐えないと判断した。以上のことから，本試験では 30 mg/kg を最高用量とし，以下公比約 3 として中間用量に 10 mg/kg，低用量に 3 mg/kg を設定した。

いずれの投与群においても死亡は認められず，摂餌や体重に対する影響も認められなかった。

JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する種々の変化が認められた。

(a) **EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化**：3 mg/kg 以上で赤血球関連パラメータ及び Ret 比率／数が用量依存的に増加し，10 mg/kg 以上の用量において過度の多血状態を示した。3 mg/kg 以上で MCV の増加及び MCHC の減少，鉄関連パラメータの変動，10 mg/kg 以上で脾臓の腫大／重量増加及び髄外造血亢進，骨髄の赤芽球系細胞の造血亢進，骨髄赤芽球系細胞の増加に伴う骨髄 M/E 比の減少，30 mg/kg で血球形態の変化が認められた。鉄関連パラメータの変動は過剰な造血に伴う鉄利用の亢進に関連した変化と考えられた。

(b) **赤血球増多に関連した変化**：10 mg/kg 以上で投与 3 週目以降から皮膚の赤色化，投与 4 週目で網脈絡膜の赤色化が認められた。なお，病理組織学的検査においては眼球に病変は認められなかった。10 mg/kg 以上で血中 AST，LDH 及び CPK 活性の上昇，血中間接 Bil 濃度の増加が，30 mg/kg で尿中 Bil 及び URO 濃度の増加，尿潜血（回復期間終了時のみ），血中 K 濃度の増加が認められた。また，30 mg/kg で腎臓尿細管のヘモジデリン沈着が認められ，RBC の分解処理を示唆する所見であると推察された。

(c) **多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化**：3 mg/kg 以上で前立腺及び精嚢重量の減少，10 mg/kg 以上で心臓及び肺の重量増加，肝臓の重量減少，肝臓の小葉中心性類洞拡張に伴う肝細胞の萎縮，腺胃粘膜のびらん，30 mg/kg で肺の出血及び血栓形成が認められた。なお，3 mg/kg 以上で前立腺及び精嚢重量の減少が認められたが，これらの変化は病理組織学的変化を伴わなかったため，毒性学的意義の乏しい変化と判断した。

(d) **EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化**：3 mg/kg 以上で PLT 数減少，10 mg/kg 以上で白血球比率の変化，T-CH 及び PL の減少が認められた。

(e) **EPO 産生亢進以外の HIF-PH 阻害作用による変化**：3 mg/kg 以上で小葉辺縁性肝細胞脂肪化の増加，10 mg/kg 以上で腎臓の近位尿細管上皮脂肪化の増加，血中 TGL 濃度の軽度増加，30 mg/kg で血中 GLU 濃度の軽度減少が認められた。肝臓，腎臓の脂肪染色の結果，これらの臓器における脂肪化は，中性脂肪の蓄積によるものであった。両臓器における脂肪化は軽度であり，その程度に明らかな用量依存性も認められなかった。また，肝臓，腎臓いずれの臓器においても変性・壊死などの臓器障害を示唆する組織学的変化は認められなかった。これらの変化は HIF の安定化を介した糖／脂質代謝への影響に関連した変化と考えられた。10 mg/kg 以上で血中 Ca 濃度の減少，30 mg/kg で血中 IP 濃度の減少，大腿骨の骨芽細胞増生及び不整骨梁形成が認められた。

(f) **EPO 産生亢進又は HIF-PH 阻害に起因した血液凝固系及び線溶系への影響**：30 mg/kg で

PT の延長が認められた。

投与期間中及び投与期間終了時に認められた大部分の変化は回復期間終了後に消失又は消失傾向にあった。1 ヵ月間の回復期間終了時に回復傾向が認められなかった変化又は回復期間終了時のみに認められた変化は，血中間接 Bil 濃度増加，尿中 Bil 及び TP 濃度の増加，尿潜血，心臓・肺・副腎重量の増加，胸腺・顎下腺重量の減少，脾臓及び腎臓のヘモジデリン沈着，脾臓のうっ血であった。

JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$）は，雌雄ともに 30 mg/kg まで用量依存的に上昇し，性差は認められなかった。また，反復投与の影響はなかった。

以上，最低用量の 3 mg/kg から JTZ-951 の薬理作用である EPO 産生亢進に基づく赤血球造血亢進が用量依存的に認められた。また，上述した各種所見が認められたが，いずれも JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する変化であり，大部分は回復性のある変化であった。いずれの用量においても，JTZ-951 の化学構造に由来する全身毒性又は臓器毒性（精巣，精巣上体，精嚢及び前立腺を含む）を示唆する変化は認められなかった。

10 mg/kg 以上で多血状態の持続に関連した循環障害を示唆する変化が認められたことから，本試験における NOAEL は 3 mg/kg と考えられた。

(2) ラット 3 ヵ月間反復経口投与予備試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-029/[redacted]133]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-2）

JTZ-951 の 3 ヵ月間反復投与による予備的な毒性と忍容性を調べるため，SD 系ラット（1 群雌雄各 5 匹）に JTZ-951（用量:3, 10 及び 30 mg/kg）を 1 日 1 回経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。この試験は，ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2 (1)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）の血中薬物濃度測定用サテライト群の動物を用いて実施し，JTZ-951 の 1 ヵ月間反復投与後，2 ヵ月間投与を継続した。投与期間中に一般状態観察，体重及び摂餌量の測定を行った。投与 13 週目に摂水量測定，尿検査及び眼科学的検査を行った。投与期間終了時に剖検，血液学的検査，血液生化学検査，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

用量設定根拠:JTZ-951 の 1 ヵ月間反復経口投与試験（2.6.6.3.2 (1)項，用量:3, 10 及び 30 mg/kg）と同じ用量を設定した。

投与 34～43 日目に 30 mg/kg の雌雄各 2 例，投与 69～72 日目に 10 mg/kg の雄 2 例及び雌 1 例が瀕死又は死亡した。死亡動物では，死亡前 2 又は 3 日より赤色尿が認められ，瀕死動物では，腹臥位，皮膚の暗赤色化，下腹部汚染（赤色），及び冷感が認められた。剖検では，複数の臓器（脳，肝臓及び肺等）の赤色化／暗赤色化，消化管の暗赤色／黒色内容物，赤色尿及び腎臓の白色巣等が認められ，脾臓，心臓及び腎臓の大型が見られた。病理組織学的検査では，肺等のうっ血及び多数の臓器（骨髄，脳，心臓，腎臓，肺及び卵巣）における血栓などが認められた。本試験条件下における致死量は 10 mg/kg であり，死因は JTZ-951 の薬理作用である赤血球造血／EPO 産生亢進の過剰発現による血栓形成及び循環障害と考えられた。その後，10 及び 30 mg/kg の生存動物についてもそれぞれ投与 72 及び 43 日目までに投与を中止し剖検した。

3 mg/kg では，JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する種々の変化が認められた。

(a) **EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化**:赤血球関連パラメータ, Ret 数, MCV 及び MCH 増加，骨髄の造血亢進及び脾臓の髄外造血亢進が認められた。

(b) **赤血球増多に関連する変化**：皮膚及び網脈絡膜の赤色化，血中 AST，LDH 及び CPK 活性の上昇，血中間接 Bil 濃度の増加が認められた

(c) **多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化**：胸腺の重量減少，赤色／暗赤色巣，リンパ球の単細胞壊死，腺胃の暗赤色／黒色巣，前立腺のうっ血，心臓，肺及び脳重量の増加，卵巣の重量増加及びうっ血，肝臓重量の減少が認められた。

(d) **EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化**:PLT 数の減少, 好塩基球比率の増加, 血中 T-CH 及び PL の減少が認められた。

(e) **EPO 産生亢進以外の HIF-PH 阻害作用による変化**:血中 TGL の増加及び Ca 濃度の減少が認められた。また，肝臓の小葉辺縁性肝細胞脂肪化が認められたが，変性・壊死などの臓器障害を示唆する組織学的変化や肝機能パラメータの変化を伴わなかった。これらの変化は JTZ-951 の HIF-PH 抑制に起因した糖／脂質代謝の変化によるものと推察された。

以上より，3 mg/kg から JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連した種々の変化が認められたが，いずれの用量においても JTZ-951 の化学構造に由来する全身毒性又は臓器毒性を示唆する変化は認められなかった。なお，10 mg/kg 以上の用量をラット 3 ヵ月間反復投与毒性試験（連日投与）の用量に設定することは不可能であると考えられた。

(3) ラット 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験（連日投与） [Report/Study Number: JTZ951-TX-030/[redacted]906]

（評価資料：CTD4.2.3.2-4）

SD 系ラット（1 群雌雄各 15 匹）に，JTZ-951（用量：1，3 及び 6 mg/kg）を 1 日 1 回，3 ヵ月間反復経口投与した。対照群には媒体(0.5% MC 水溶液)を投与した。さらに, 対照群, 3 及び 6 mg/kg 群には雌雄各 6 匹を追加し，投与期間終了後に 1 ヵ月間の休薬期間を設けて回復性を調べた。投与及び回復期間中，一般状態観察，体重及び摂餌量測定を行った。投与 13 週目及び回復 4 週目に摂水量測定, 尿検査及び眼科学的検査を行った。投与及び回復期間終了時に剖検，血液学的検査，血液生化学的検査，臓器重量測定，病理組織的検査及び骨髄塗抹検査を行った。また，血漿中 JTZ-951 濃度を測定するために，サテライト群（1 群雌雄各 10 匹）を設けた。

用量設定根拠：JTZ-951 のラット 3 ヵ月間反復経口投与予備試験（2.6.6.3.2 (2)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）において，10 mg/kg 以上で動物が死亡した。3 mg/kg では一般状態，体重等に全身状態の悪化を示唆する所見は認められなかった。以上のことから，本試験では 6 mg/kg を最高用量とし，中間用量に 3 mg/kg，低用量に 1 mg/kg を設定した。

6 mg/kg では，投与期間後半（投与 64～93 日目）に雄 4 例が死亡し，瀕死の雄 1 例を切迫殺した。これらの動物では，種々の臓器のうっ血，心臓，肺及び腎臓等における血栓形成及び限局的な出血が認められた。

生存動物では，JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する種々の変化が認められた。

(a) **EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化**：雄 1 mg/kg 以上，雌 3 mg/kg 以上で赤血球関連パラメータ増加，3 mg/kg 以上で，Ret 数増加，鉄関連パラメータの変動，脾臓の腫大／重量増加，脾臓の髄外造血亢進，骨髄の造血亢進，6 mg/kg で骨髄 M/E 比の減少

(b) **赤血球増多に関連する変化**：3 mg/kg 以上で皮膚及び網脈絡膜の赤色化，血中 AST，LDH，CPK，GU 活性上昇，間接 Bil 濃度の増加を主体とする血中総 Bil 濃度の増加，脾臓のヘモジデリン沈着減少，6 mg/kg で尿潜血，尿中 Bil 濃度の増加，血中 K 濃度の増加

(c) **多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化**：3 mg/kg 以上で血中 TP，ALB 濃度の減少，肝臓の重量減少，腎臓の大型／重量増加，心臓及び肺の重量増加，諸臓器のうっ血，腺胃粘膜のびらん，精嚢の重量減少，6 mg/kg で肝臓の小型化，大腿骨骨髄の血栓形成，脳の融解壊死，肝臓の小葉中心性の類洞拡張に伴う肝細胞の萎縮，尿蛋白の増加，円形上皮増加，血中 BUN の増加，腎臓の再生尿細管増加，赤血球円柱，赤色尿

(d) **EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化**：1 mg/kg 以上で PLT 数減少，3 mg/kg 以上で T-CH 及び PL の減少，白血球比率の変化

(e) **EPO 産生亢進以外の HIF-PH 阻害作用による変化**：3 mg/kg 以上で肝臓の小葉辺縁性肝細胞脂肪化の増加，6 mg/kg で血中 TGL 濃度の軽度増加が認められた。この変化はラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験においても認められたが，投与期間の延長に伴う増強性は見られなかった。また，変性・壊死などの臓器障害を示唆する組織学的変化を伴わなかったことから，毒性学的な意義は低いものと考えられた。3 mg/kg 以上で血中 Ca 濃度の減少，大腿骨の骨芽細胞／間葉系細胞の増生，6 mg/kg で大腿骨の不整骨梁形成が認められた。

(f) **EPO 産生亢進又は HIF-PH 阻害に起因した血液凝固系及び線溶系への影響**：3 mg/kg 以上で血中 FIB の減少，6 mg/kg で PT 及び APTT の延長，血中 D-dimer の増加

回復期間中又は回復期間終了時には，以下の所見が認められた。6 mg/kg で脳に血栓形成による融解壊死が認められた。3 mg/kg 以上では皮膚の赤色化が，回復期間を通じて認められたが，その発現頻度は，回復期間 1 週目以降に減少した。脈絡網膜の赤色化は，回復期間 4 週目でも認められたが，その発現頻度は，投与 13 週目と比べて減少した。Ret 比率／数の減少，骨髄の赤芽球系細胞数の減少と M/E 比の増加，血中 Fe 濃度及び TSAT の増加，UIBC 及び TIBC の減少が認められた。血中総 Bil と BUN 濃度の増加，肺重量の増加が依然として認められた。また，脾臓，大腿骨骨髄，肝 Kupffer 細胞，腎近位尿細管上皮のヘモジデリン沈着の頻度及び程度が増加した。ヘモジデリン沈着は，過剰に増加した RBC の分解処理に関連した変化と考えられた。その他，投与期間中及び投与期間終了時に認められた変化は，いずれも回復期間終了時に消失，又は消失傾向にあった。

本試験で認められた変化はいずれも JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する変化であり，いずれの用量においても，JTZ-951 の化学構造に由来する全身毒性又は臓器毒性（精巣，精巣上体，精嚢及び前立腺を含む）を示唆する変化は認められなかった。

JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$）は，最高用量である 6 mg/kg まで用量依存的に上昇し，性差は認められなかった。JTZ-951 の全身曝露は，雌雄ともにいずれの用量においても投与 55 日

目以降に上昇する傾向にあった。

3 mg/kg 以上で多血状態の持続に関連した変化が認められたことから，本試験における NOAEL は 1 mg/kg と考えられた。

(4) ラット 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験（間歇投与） [Report/Study Number: JTZ951-TX-034/[redacted]-048]

（参考資料：CTD4.2.3.2-5）

SD 系ラット（1 群雌雄各 15 匹）に，JTZ-951（用量：10，20 及び 30 mg/kg）を週 3 回，3 ヵ月間反復経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。対照群，20 及び 30 mg/kg 群には雌雄各 6 匹を追加し，投与期間終了後に 1 ヵ月間の休薬期間を設けて回復性を調べた。投与及び回復期間中，一般状態観察，体重及び摂餌量測定を行った。投与 13 週目及び回復 4 週目に摂水量測定，尿検査及び眼科学的検査を行った。投与及び回復期間終了時に剖検，血液学的検査，血液生化学的検査，臓器重量測定，病理組織的検査及び骨髄塗抹検査を行った。また，血漿中 JTZ-951 濃度を測定するために，サテライト群（1 群雌雄各 10 匹）を設け，血中 EPO 濃度及び血中 VEGF 濃度についても測定した。

用量設定根拠：JTZ-951 の雄性ラット 2 週間反復経口投与予備試験（CTD4.2.3.2-13，用量：10，30 及び 100 mg/kg）において，100 mg/kg で体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められたため，この用量は反復投与に耐えないと判断した。以上のことから，本試験では 30 mg/kg の週 3 回投与を最高用量とし，以下，中間用量に 20 mg/kg，低用量に 10 mg/kg の週 3 回投与を設定した。

投与 51 日目以降，20 mg/kg の雄 10 例，30 mg/kg の雄 8 例，雌 2 例に死亡又は瀕死に伴う切迫殺例が認められた。死亡又は瀕死に伴い切迫殺した動物では，血栓が種々の臓器で認められ，これら動物の死因は，JTZ-951 の薬理作用である赤血球造血／EPO 産生亢進の過剰発現による循環障害と考えられた。

雄の 30 mg/kg では，投与 49 日目以降に体重増加量が，投与 63 日目以降に摂餌量が減少した。雄の全用量と雌の 30 mg/kg の数例で，投与期間後半に体重増加量が顕著に減少した。摂水量は投与 13 週目に雌の 20 mg/kg 以上で増加した。

赤血球増多は，最低用量の 10 mg/kg から認められた。血中 EPO 濃度は投与 1 及び 76 日目において 30 mg/kg まで用量依存的に増加し，投与 4 又は 8 時間後に最高濃度に達した。血中 VEGF 濃度は投与 10 週目において，雌雄すべての用量で軽度な増加が認められた。本変化も HIF の安定化に起因した薬理作用に関連したものと考えられた。

JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する種々の変化が認められた。

(a) **EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化**：全用量で赤血球関連パラメータの増加，骨髄及び脾臓の赤血球造血亢進，脾臓の重量増加，鉄関連パラメータの変動，M/E 比減少，赤血球形態変化が認められた。

(b) **赤血球増多に関連した変化**：全用量で血中 AST，CPK，GU，LDH 活性上昇，Bil 濃度の増加，腎臓のヘモジデリン沈着，肝 Kupffer 細胞の肥大が認められ，20 mg/kg 以上で脾臓のヘモジデリン沈着（回復期間終了時）が認められた。これらは，過剰に増加した赤血球の

分解処理に関連した変化と考えられた。

(c) **多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化**：生存例では 10 mg/kg 以上で心臓，腎臓及び脾臓（投与期間終了時）に，30 mg/kg で心臓（回復期間終了時）に血栓形成が認められた。10 mg/kg 以上で心臓及び肺重量の増加，腎臓及び副腎のうっ血を伴う重量増加，肝臓の小葉中心性のうっ血及び肝細胞の萎縮，心臓の線維化，腺胃のびらん／潰瘍など，20 mg/kg 以上で卵巣重量の増加，脳，胃，下垂体，卵巣，子宮及び膣のうっ血，30 mg/kg で脳の融解壊死が認められた。20 mg/kg 以上で尿蛋白，尿量，尿中 Kim-1 及び clusterin 排泄量の増加，10 mg/kg 以上で尿中 ALB，β2 マイクログロブリン及び cystatin C 排泄量の増加，再生尿細管の増加及び尿色の異常などが認められたが，本変化は腎臓の微小循環の障害に関連した変化と考えられた。

(d) **EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化**：10 mg/kg 以上で PLT 数の減少，白血球百分比の変化，血中 TP，T-CH 及び PL 濃度の減少などが，20 mg/kg 以上で血中 ALB 濃度の減少が認められた。

(e) **EPO 産生亢進以外の HIF-PH 阻害作用による変化**：10 mg/kg 以上で小葉辺縁性の肝細胞脂肪化，大腿骨の骨芽細胞/間葉系細胞の増生，30 mg/kg で大腿骨骨幹の不整な骨梁形成が認められた。

(f) **EPO 産生亢進又は HIF-PH 阻害に起因した血液凝固系及び線溶系への影響**：20 mg/kg 以上で血中 FIB 濃度の増加，10 mg/kg 以上で PT 及び APTT の延長，血中 PAI-1 濃度の増加が認められた。

いずれの所見も回復又は回復傾向を示す変化であった。

JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$）は，最高用量である 30 mg/kg まで用量依存的に上昇し，性差は認められなかった。JTZ-951 の全身曝露は，雌雄ともにいずれの用量においても投与 1 日目以降に上昇する傾向にあり，投与 55 日目までに定常状態に達した。

以上，最低用量の 10 mg/kg から JTZ-951 の薬理作用である EPO 産生亢進に基づく赤血球造血亢進が用量依存的に認められた。また，本試験で認められた変化はいずれも JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する変化であり，いずれの用量においても，JTZ-951 の化学構造に由来する全身毒性又は臓器毒性（精巣，精巣上体，精嚢及び前立腺を含む）を示唆する変化は認められなかった。

多血状態の持続に起因する循環障害を示唆する変化が，最低用量の 10 mg/kg から認められたため，本試験条件下における NOAEL は 10 mg/kg 未満と考えられた。

(5) ラット 6 ヵ月間反復経口投与毒性試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-042/[redacted]-066]

（評価資料：CTD4.2.3.2-6）

SD 系ラット（1 群雌雄各 18 匹）に，JTZ-951（用量：0.3，1 及び 3 mg/kg）を 6 ヵ月間反復経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。投与期間中，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，摂水量測定，尿検査及び眼科学的検査を行った。投与終了時に剖検，血液学的検査，血液生化学的検査，臓器重量測定，病理組織学的検査及び骨髄塗抹検査を行った。また，血漿中 JTZ-951 濃度を測定するために，サテライト群（1 群雌雄各 10 匹）を設け，血中 EPO 濃度

及びPAI-1濃度についても測定した。

用量設定根拠：JTZ-951のラット3ヵ月間反復経口投与試験（2.6.6.3.2 (3)項，用量：1，3及び6 mg/kg）において，6 mg/kgで動物が死亡した。以上のことから，本試験では3 mg/kgを最高用量とし，中間用量に1 mg/kg，低用量に0.3 mg/kgを設定した。

JTZ-951の薬理作用（赤血球造血／EPO産生亢進）又はHIF-PH阻害に関連する種々の変化が認められた。なお，3ヵ月間反復経口投与毒性試験の中間用量である3 mg/kgと比較して本試験の高用量である3 mg/kgでは造血亢進作用は同等であり投与期間延長に伴う増強は認められず，多血状態の持続に起因した変化及び多血状態の持続に起因した循環障害による変化についても投与期間の延長に伴う明らかな増強は認められなかった。

(a) **EPO産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化**：1 mg/kg以上で鉄関連パラメータの変動，3 mg/kgで赤血球関連パラメータ及びRet数増加，MCV及びMCHの増加，脾臓の重量増加及び髄外造血の亢進，骨髄の赤芽球造血亢進，骨髄赤芽球系細胞の増加に伴う骨髄M/E比の減少が認められた。

(b) **赤血球増多に関連した変化**：3 mg/kgで血中GU活性の上昇及び血中K濃度の増加が認められた。これらの変化はJTZ-951の薬理作用によって増加したRBCの分解処理の結果によるものと考えられた。

(c) **多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化**：3 mg/kgで血中TP及びALB減少，腎臓重量増加，再生尿細管／遠位尿細管拡張／炎症性細胞浸潤，乳頭部線維化及び集合管拡張，尿中Kim-1排泄量増加，副腎及び肺重量増加，肝臓重量減少，肝臓の小葉中心性のうっ血及び肝細胞の萎縮，心臓器質化血栓，後肢腫脹，浮腫及び肉芽組織/炎症性細胞浸潤が認められたが，いずれも循環障害に伴う二次的な変化と考えられた。

(d) **EPO産生亢進に関連すると考えられるその他の変化**：1 mg/kg以上で血中T-CH及びPLの減少，3 mg/kgでPLT数の減少及び好塩基球数の増加が認められた。

(e) **EPO産生亢進以外のHIF-PH阻害作用による変化**：3 mg/kg以上で血中GLUの減少が認められた。

(f) **EPO産生亢進又はHIF-PH阻害に起因した血液凝固系及び線溶系への影響**：1 mg/kg以上で血中EPO及びPAI-1濃度増加，FIB減少，3 mg/kgでPT及びAPTTの延長が認められた。PAI-1濃度増加，FIB減少は多血状態又は血液凝固に影響のなかった用量でも認められた。

JTZ-951の全身曝露（C_{max}及びAUC_{0-24}）は，最高用量である3 mg/kgまで用量依存的に上昇し，性差は認められなかった。JTZ-951の全身曝露は，雌雄ともにいずれの用量においても投与1日目以降に上昇する傾向にあり，投与91日目までに定常状態に達した。

本試験で認められた変化はいずれもJTZ-951の薬理作用（赤血球造血／EPO産生亢進）又はHIF-PH阻害に関連する変化であり，いずれの用量においても，JTZ-951の化学構造に由来する全身毒性又は臓器毒性（精巣，精巣上体，精嚢及び前立腺を含む）を示唆する変化は認められなかった。3 mg/kgで多血状態の持続に起因する循環障害を示唆する変化が認められたことから，本試験におけるNOAELは1 mg/kgと考えられた。

2.6.6.3.3 イヌ

(1) イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-006/[redacted]902]

(評価資料：CTD4.2.3.2-7)

ビーグル犬（1 群雌雄各 3 匹）に JTZ-951（用量：1，3 及び 10 mg/kg）を 1 日 1 回，1 ヵ月間反復経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。10 mg/kg の雌雄全例について，投与 6 日目までに摂餌量減少とそれに伴う体重減少が認められ，全身状態の悪化により投与 7～23 日目まで休薬とした（投与期間：投与 1～6 日目及び投与 24～29 日目，計 12 日間）。投与期間中，一般状態観察，体重測定及び摂餌量測定を実施した。投与開始前及び投与期間中に血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，摂水量測定，眼科学的検査及び心電図検査を実施した。投与期間終了時に剖検を行い，臓器重量測定，病理組織学的検査及び骨髄塗抹検査を実施した。また，投与期間中の血漿中 JTZ-951 濃度を測定した。

用量設定根拠：JTZ-951 の雄性イヌ単回経口投与予備試験（2.6.6.2.3 (1)項，用量：1，3，10 及び 30 mg/kg）において，30 mg/kg で顕著な体重及び摂餌量の減少が認められたため，この用量は反復投与に耐えないと判断した。以上のことから，本試験では 10 mg/kg を最高用量とし，以下公比約 3 として中間用量に 3 mg/kg，低用量に 1 mg/kg を設定した。

雌雄いずれの投与群においても死亡は認められなかった。

10 mg/kg では，投与初期から顕著な摂餌量減少が認められ，体重減少及び脱水症状などの全身状態の悪化を示唆する所見が認められた。休薬期間中に，摂餌の回復とともにこれらの全身状態悪化を示唆する所見については回復が認められた。よって，全身状態の悪化は顕著な摂餌量の減少に基づくものと考えられた。摂餌量の減少及び体重増加抑制は中間用量の 3 mg/kg においても認められたが，その発現は雄 1 例，雌 2 例に限られ，その程度は軽度であった。摂餌量の減少は，EPO 製剤の毒性試験の高用量においても報告されている[1-3]。また，本試験の 10 mg/kg における投与 6 日目の血中 EPO 濃度の C_{24} 値は，単回投与試験において摂餌量減少が認められた 30 mg/kg を投与した時の値とほぼ同等の値まで増加した。よって，本試験において認められた摂餌量の減少は，単回投与時と同様に血中 EPO 濃度が長時間高値を維持したことによって発現したものと考えられた。3 mg/kg 以上で血中 ALT 活性の軽度な上昇が認められたが，血中 ALT 活性は摂餌量の減少などによる栄養状態の変化により軽度に上昇することが知られており，本試験で認められた血中 ALT 活性の軽度上昇は動物の栄養状態の変化によるものと考えられた。

上記以外に，JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する種々の変化が認められた。

(a) **EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化**：1 mg/kg 以上で赤血球関連パラメータ及び Ret 数が用量依存的に増加し，鉄関連パラメータの変動，骨髄の赤芽球系細胞の造血亢進，脾臓重量増加などが認められた。3 mg/kg 以上で過度の多血状態が認められ，MCH 及び MCHC の減少，脾臓の赤芽球系の髄外造血亢進，骨髄赤芽球系細胞の増加に伴う骨髄の赤色化及び骨髄脂肪細胞の減少などが認められた。10 mg/kg では投与 7 日目までに RBC 数，Hb 濃度及び Ht 値の急激な増加が認められた。また，投与 4 週目の Ht 値は，10 mg/kg に比較し，投与を継続した 3 mg/kg の方が高値であった。10 mg/kg では肝臓の赤芽球系の

髄外造血亢進が認められた。

(b) **赤血球増多に関連した変化**：3 mg/kg 以上で尿中 Bil 濃度の増加，10 mg/kg で血中間接 Bil 濃度の増加が認められた。間接 Bil は網内系における赤血球の分解によって遊離した Hb の分解により生成することが知られていることから，RBC や Hb の分解処理に関連した変化と考えられた。

(c) **多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化**：1 mg/kg 以上で肝臓の小葉中心性の類洞拡張に伴う肝細胞の萎縮，3 mg/kg 以上で小葉中心性の炎症性細胞浸潤，肺重量増加，肺血栓形成が認められた。1 mg/kg で認められた肝臓小葉中心性の類洞拡張に伴う肝細胞の萎縮は，雌 1 例のみの変化であり，炎症細胞浸潤を伴わないごく軽度の変化であった。なお，すべての用量において肝細胞に変性・壊死などの障害性変化はなく，肝機能パラメータ（AST，LDH，GLDH，SDH）にも明らかな変化は認められなかった（2.6.6.8.7.5 （3）項）。以上より，この変化は多血状態の持続に起因した変化であり，毒性学的意義の低い変化と判断した。10 mg/kg で心臓及び肺の赤色巣，心臓及び肺の出血，眼球脈絡膜の血管内皮細胞及び線維芽細胞増生，網膜外顆粒層の萎縮が認められた。これらの変化は摂餌量減少による全身状態の悪化が最も顕著であった動物で特に強く発現した。また，10 mg/kg では著しい赤血球関連パラメータの増加に加え，血中 ET-1 や CRP も顕著に増加していた（2.6.6.8.7.8 項）。このことから，多血状態の長期間持続により循環障害や炎症性変化が強く発現していたものと考えられる。ヒトでは，種々の要因により生じた網脈絡膜血管における循環障害が，血管の脆弱及び漿液の網膜組織への移行を招き，漏出した漿液により外顆粒層が圧迫される漿液性網脈絡膜疾患が報告されている[4]。本試験で認められた脈絡膜における血管内皮細胞及び線維芽細胞の増生は，循環障害及び炎症に起因した病変と推察された。以上より，網脈絡膜の変化は，JTZ-951 の薬理作用の過剰発現による多血状態が長期間持続することによる循環障害と，摂餌量減少に起因した全身状態の悪化により惹起された変化と考えられた。

(d) **EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化**：1 mg/kg 以上で PLT 数増加，3 mg/kg 以上で白血球数の増加，白血球比率の変化，10 mg/kg で T-CH 及び PL の増加が認められた。これらの変化は EPO 製剤の毒性試験でも報告されていることから[2, 5, 6]，JTZ-951 の薬理作用による血中 EPO 濃度増加に関連する変化と考えられた。

(e) **EPO 産生亢進以外の HIF-PH 阻害作用による変化**：3 mg/kg 以上で血中 TGL 濃度の軽度な増加及び GLU 濃度の軽度な減少，10 mg/kg で血中乳酸値の増加が認められた。3 mg/kg 以上で腎臓近位尿細管上皮の脂肪化増加が認められたが，脂肪染色の結果，脂肪化は中性脂肪の蓄積によるものであった。脂肪化の程度は軽度又は中等度であり，イヌでは尿細管上皮の脂肪化は対照群でもよく観察される所見であるが，投与群では HIF 安定化に起因すると考えられる脂質代謝の抑制により，変化が増強されたものと考えられた。また，尿細管上皮に変性・壊死などの臓器障害を示唆する病理組織学的変化は認められず，腎機能障害パラメータ（Kim-1）にも変化は認められなかった（2.6.6.8.7.6 （2）項 参照）。1 mg/kg 以上で胆嚢上皮の脂肪化が認められたが，脂肪染色の結果，脂肪化は腎臓と同様に中性脂肪の蓄積によるものであった。脂肪化の程度に明らかな用量依存性も認められず，胆嚢上

皮に障害性変化も認められなかった。

その他，10 mg/kg で血液生化学的検査及び尿検査において種々の変化（尿中電解質の減少，血中 ALB 減少等）が認められたが，これらはいずれも摂餌量の減少，全身状態の悪化，ストレス又は顕著な循環障害に関連した変化と考えられた。

いずれの所見も JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連するものであり，いずれの用量においても JTZ-951 の化学構造に由来する全身毒性又は臓器毒性（精巣，精巣上体及び前立腺を含む）を示唆する変化は認められなかった。

投与 1，6 及び 28 日目の JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は，雌雄ともに 10 mg/kg まで用量依存的に上昇し，性差は認められなかった。1 及び 3 mg/kg では雌雄とも投与 1，6 及び 28 日目の C_{max} 及び AUC_{0-24} の平均値はほぼ同等であり，反復投与による明らかな影響は認められなかった。10 mg/kg では雌雄ともに投与 1，6，24 及び 28 日目の C_{max} の平均値はほぼ同等であったが，投与 6 及び 28 日目の C_{24} 及び AUC_{0-24} の平均値は，投与 1 及び 24 日目に比較して高値であった。

3 mg/kg で摂餌量の減少に関連した変化が認められたことから，本試験における NOAEL は 1 mg/kg と考えられた。

(2) イヌ 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験（連日投与） [Report/Study Number: JTZ951-TX-031/[redacted]-041]

（評価資料：CTD4.2.3.2-8）

ビーグル犬（1 群雌雄各 4 匹）に，JTZ-951（用量：0.3，1 及び 3 mg/kg）を 1 日 1 回，3 ヵ月間反復経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。また，対照群，1 及び 3 mg/kg 群には雌雄各 2 匹を追加し，投与期間終了後に 12 週間の休薬期間を設けて回復性を調べた。投与開始前，投与期間及び回復期間中，一般状態観察，体重測定及び摂餌量測定を行った。投与開始前，投与期間中及び回復期間中に眼科学的検査，尿検査，摂水量測定，心電図検査，血液学的検査及び血液生化学的検査を行った。投与 1 及び 91 日目に血中 EPO 及び VEGF 濃度を測定した。投与及び回復期間終了時に剖検，臓器重量測定，病理組織学的検査及び骨髄検査を行った。また，血漿中 JTZ-951 濃度を測定した。

用量設定根拠：JTZ-951 のイヌ 1 ヵ月間反復経口投与試験（2.6.6.3.3 (1)項，用量：1，3 及び 10 mg/kg）において，10 mg/kg で顕著な体重及び摂餌量の減少並びに一般状態悪化が認められたため，この用量は反復投与に耐えないと判断した。以上のことから，本試験では 3 mg/kg を最高用量とし，以下公比約 3 として中間用量に 1 mg/kg，低用量に 0.3 mg/kg を設定した。

血中 EPO 濃度は，投与 1 及び 91 日目において雌雄の 1 mg/kg 以上で用量依存的に増加した。0.3 mg/kg の雄 3 例においても増加傾向が認められた。血中 VEGF 濃度は，投与 13 週目に雌雄の 3 mg/kg において増加した。

いずれの投与群においても死亡は認められなかった。3 mg/kg では，摂餌量及び体重が減少したが，これらの変化は軽度であり，一部の個体に限られていた。血中 EPO 濃度は，3 mg/kg で高値であり，本試験で認められた摂餌量の減少は，1 ヵ月間反復経口投与毒性試験と同様に血中 EPO 濃度の著しい高値に関連しているものと考えられた。

投与期間終了時に認められた体重及び摂餌量減少は回復期間中に消失した。

JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する種々の変化が認められた。

(a) **EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化**：1 mg/kg 以上で赤血球関連パラメータ増加，Ret 数増加，MCV，MCH 及び MCHC の減少が投与期間を通じて用量依存的に認められた。3 mg/kg で脾臓の重量増加及び髄外造血亢進，骨髄の造血亢進，赤血球形態の変化，1 mg/kg 以上で鉄関連パラメータの変動が認められ，これらの変化は，投与期間中の過剰な赤血球産生による鉄欠乏によって惹起された小赤血球の増加及び休薬期間の早期段階における代償的な赤血球産生の減少と考えられた。

(b) **赤血球増多に関連した変化**：3 mg/kg で血中 Bil 濃度の増加，尿中 Bil 濃度の増加が認められた。1 mg/kg 以上で Kupffer 細胞及び肝細胞のヘモジデリン沈着（休薬終了時）が認められた。これら所見はラットと同様に JTZ-951 の薬理作用によって増加した RBC や Hb の分解処理によるものと考えられた。

(c) **多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化**：3 mg/kg で血中 ALT 及び GLDH 活性の軽度上昇，脾臓のうっ血，肝臓の小葉中心性のうっ血に伴う肝細胞の萎縮，小葉中心性の肝細胞の単細胞壊死，Kupffer 細胞のリポフスチン沈着，炎症性細胞浸潤が認められ，休薬終了時に Kupffer 細胞のリポフスチン及び胆汁沈着，肝臓表面の粗造化，炎症性細胞浸潤，胆管の増生，肝線維化が認められた。

(d) **EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化**：3 mg/kg で PLT 数，好塩基球数の増加，大型 PLT の発現が認められた。

(e) **EPO 産生亢進以外の HIF-PH 阻害作用による変化**：3 mg/kg で血中 GLU 濃度の軽度の減少が認められ，この変化は HIF 安定化による糖／脂質代謝の変化に関連する変化と考えられた。

3 mg/kg では，Ret 数が休薬期間の早期段階で減少していたが，休薬 6 週目以降に増加に転じた。その他投与期間終了時に認められた上記変化は回復期間中に消失又は消失傾向を示した。投与及び回復期間中には，いずれの用量においても一般状態，摂水量，眼科学的検査及び心電図検査に投与に関連した変化は認められなかった。

JTZ-951 の全身曝露（C_{max} と $AUC_{0\text{-}24}$）は，最高用量である 3 mg/kg まで用量依存的に上昇した。雄では，いずれの用量においても，投与 1，28 及び 91 日目の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は同等であり，反復投与の影響は認められなかった。雌の 3 mg/kg において，投与 28 日目の全身曝露が投与 1，56 及び 91 日目と比較して明らかに低値であったが，投与 1，56 及び 91 日目の全身曝露は同等であった。また，他の用量では投与 1，28，56 及び 91 日目の全身曝露は同等であった。また，性差は認められなかった。

いずれの所見も JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連するものであり，いずれの用量においても JTZ-951 の化学構造に由来する全身毒性又は臓器毒性（精巣，精巣上体及び前立腺を含む）を示唆する変化は認められなかった。

3 mg/kg では摂餌量減少とそれに引き続く体重への影響及び多血状態の持続に起因した循環障害を示唆する変化が発現したことから，本試験条件下における NOAEL は 1 mg/kg と考えられた。

(3) イヌ 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験（間歇投与） [Report/Study Number: JTZ951-TX-035/[redacted]-049]

（参考資料：CTD4.2.3.2-9）

ビーグル犬（1 群雌雄各 4 匹）に，JTZ-951（用量： 3，6 及び 10 mg/kg）を週 2 回，3 ヵ月間反復経口投与し，その影響を検討した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。投与開始前及び投与期間中，一般状態観察，体重及び摂餌量測定を行った。投与開始前及び投与期間中に眼科学的検査，尿検査，摂水量測定，心電図検査，血液学的検査及び血液生化学的検査を実施した。投与 1 及び 88 日に血中 EPO 及び VEGF 濃度を測定した。投与期間終了時に，剖検，臓器重量測定，病理組織学的検査及び骨髄塗抹検査を行った。また，血漿中 JTZ-951 濃度を測定した。

用量設定根拠：JTZ-951 のイヌ 1 ヵ月間反復経口投与試験（2.6.6.3.3 (1)項，用量：1，3 及び 10 mg/kg）において，10 mg/kg では顕著な体重及び摂餌量の減少並びに一般状態悪化が認められたため，この用量は反復投与に耐えないと判断した。JTZ-951 のイヌ 1 ヵ月間間歇経口投与予備試験（CTD4.2.3.2-15，用量：10 mg/kg，2 回／週）において，10 mg/kg の週 2 回投与では一般状態，体重等への影響は明らかではなかった。以上のことから，本試験では 10 mg/kg の週 2 回投与を最高用量とし，以下，中及び低用量に 6 及び 3 mg/kg の週 2 回投与を設定した。

血中 EPO 濃度は，投与 1 及び 88 日目において全用量で投与前に比較し用量依存的に増加し，投与後 8 時間に最高濃度に達した。雌雄差及び反復投与の影響は認められなかった。血中 VEGF 濃度は，雄の 10 mg/kg において投与 1 日目の投与後 4 時間で，投与前又は対照群と比較して増加した。

いずれの用量においても，死亡はみられず，体重，摂餌量，摂水量，眼科学的検査及び心電図検査に JTZ-951 投与に関連した変化は認められなかった。

JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する種々の変化が認められた。

(a) **EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化**：3 mg/kg 以上で赤血球関連パラメータ及び Ret 数の増加，鉄関連パラメータの変動，低色素性血球などが認められた。6 mg/kg 以上で MCV 及び MCH の減少，10 mg/kg で骨髄赤血球系細胞の増加及び骨髄赤芽球系細胞の造血亢進が認められた。

(b) **赤血球増多に関連した変化**：10 mg/kg で尿中 Bil 濃度の増加が認められた。これは過剰な赤血球が分解処理されたことに起因した変化と考えられた。

(c) **EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化**：3 mg/kg 以上で PLT 数の増加，大型 PLT の軽度増加，6 mg/kg 以上で好塩基球数の増加が認められた。

JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$）は，雌雄とも最高用量である 10 mg/kg まで用量依存的に上昇し，性差は認められなかった。雌雄いずれの用量でも，投与 1，25 及び 88 日目の全身曝露は同等であり，反復投与の影響は認められなかった。

本試験で認められたいずれの所見も JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連するものであり，いずれの用量においても JTZ-951 の化学構造に由来する全身毒性又は臓器毒性（精巣，精巣上体及び前立腺を含む）を示唆する変化は認められなかった。

本試験条件における NOAEL は 10 mg/kg を上回る用量と考えられた。

2.6.6.3.4 サル

(1) サル 1 ヵ月間予備反復経口投与試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-037/[redacted]-047]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-3）

雄性カニクイザル（1 群各 3 例）に，JTZ-951（用量：10，30 及び 100 mg/kg）を 1 日 1 回，反復経口投与した。対照群（2 例）には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。

100 mg/kg では，2 例が瀕死状態に陥ったため，投与 7 又は 9 日目に切迫殺した。100 mg/kg の残りの 1 例は，投与 14 日目に投与を中止し，その後 15 日間の回復期間を設定した。また，血漿中 JTZ-951 濃度を測定した。

用量設定根拠：JTZ-951 の雄性サル単回経口投与予備試験（CTD4.2.3.2-14，用量：10，30，100 及び 300 mg/kg）において，300 mg/kg で摂餌量の減少及び嘔吐が認められたため，この用量は反復投与に耐えないと判断した。以上のことから，本試験では 100 mg/kg を最高用量とし，以下公比約 3 として中間用量に 30 mg/kg，低用量に 10 mg/kg を設定した。

切迫殺した 2 例では，全身状態の悪化に先立ち摂餌量の減少又は減少傾向が認められ，体重が軽度に減少した。このうち 1 例は，投与 7 日目に，側臥位，接触反応の減弱，体温低下及び低血糖が認められたため，切迫殺した。残りの 1 例においても，投与 8 日目に同様の所見を呈していたが，ブドウ糖液の静注によりこれらの症状は消失した。投与 9 日目に再度同様の症状が認められ，ブドウ糖を再度静注したが，十分な回復は見られず，動物福祉の観点から切迫殺した。上記 2 例に認められた全身症状の悪化は，低血糖に起因したものと考えられた。切迫解剖した 2 例の腎臓では褪色が認められ，病理組織学的検査では，結晶沈着，尿細管上皮の壊死／剥離及び再生，硝子円柱，間質の浮腫及び好中球浸潤が認められた。これら腎臓の所見は，腎尿細管に形成された JTZ-951 又はその代謝産物の析出に起因した所見，又は死戦期の所見と考えられた。これらのサルの血液及び血液生化学検査，心電図，剖検，病理組織学的検査における各所見は，JTZ-951 の薬理作用，脱水，ストレス，栄養不良，又は死戦期の状態のいずれかと関連したものと考えられた。切迫殺した個体の臨床検査では，Ret 数，血中 FIB，D-dimer 及び CRP 濃度の増加，APTT の延長も認められた。

100 mg/kg の生存例では，投与及び回復期間を通じて，一般状態，摂餌量及び体重に異常は認められなかった。また，10 及び 30 mg/kg では，投与期間中の一般状態，摂餌量及び体重に異常は認められなかった。

100 mg/kg の 1 例を含む生存例では，JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する種々の変化が認められた。

(a) **EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化**：10 mg/kg 以上で赤血球関連パラメータ及び Ret 数増加，赤血球の形態変化（大赤血球：100 mg/kg，多染性赤血球：30 mg/kg 以上），100 mg/kg で鉄関連パラメータ変動

(b) **赤血球増多に関連した変化**：100 mg/kg で血中 AST 及び LDH 活性の上昇

(d) **EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化**：100 mg/kg で血中 T-CH 及び PL の減少

(e) **EPO 産生亢進以外の HIF-PH 阻害作用による変化**：30 mg/kg 以上で血中 TGL 増加，100 mg/kg で血中 GLU の減少

(f) **EPO 産生亢進又は HIF-PH 阻害に起因した血液凝固系及び線溶系への影響**：10 mg/kg 以上で血中 PAI-1 増加，FIB 減少，血中 D-dimer 増加，30 mg/kg 以上で血中 PIC 増加，APTT 延長

血中 PAI-1 濃度は，全用量で投与 1 日目の投与 4 及び 8 時間後に用量依存的に増加したが，その増加の程度は反復投与に伴い減弱した。いずれの用量においても，心電図検査，眼科学的検査，血圧，尿検査，血中トロポニン I 及びインスリン濃度，血中 VEGF 濃度，剖検，臓器重量及び病理組織学的検査において JTZ-951 投与に関連した変化は認められなかった。

100 mg/kg の生存例では，投与前と比較し，回復期間中及び回復期間終了時で RBC 数，Hb 濃度及び Ht 値がやや高値であり，APTT も延長していた。回復期間終了時では，それ以外に JTZ-951 投与に関連した変化は認められなかった。

t_{max} は，1.0～4.0 時間であり，用量依存的に延長する傾向にあった。JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は，投与 1 日目では 100 mg/kg まで，投与 28 日目では 30 mg/kg まで，それぞれ用量依存的に上昇した。10 及び 30 mg/kg では，JTZ-951 の全身曝露は投与 1 及び 28 日目で同程度であり，反復投与による顕著な影響はないものと考えられた。また 100 mg/kg の生存例では，JTZ-951 の全身曝露は投与 1 及び 13 日目で同程度であった。

以上より，最低用量の 10 mg/kg から JTZ-951 の薬理作用である EPO 産生亢進に基づく赤血球造血亢進が認められた。また，本試験で認められたすべての変化は JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する変化であり，いずれの用量においても，JTZ-951 の化学構造に由来する全身毒性又は臓器毒性（精巣，精巣上体，精嚢及び前立腺を含む）を示唆する変化は認められなかった。サルでは，100 mg/kg の用量は長期の反復投与に耐えない用量であり，30 mg/kg は忍容性ありと判断した。

(2) サル 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-038/[redacted]-050]

（評価資料：CTD4.2.3.2-10）

カニクイザル（1 群雌雄各 4 匹）に，JTZ-951（用量：3，10 及び 30 mg/kg）を 1 日 1 回，3 ヵ月間反復経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。対照群，10 及び 30 mg/kg 群には雌雄各 2 匹を追加し，投与期間終了後に 1 ヵ月間の休薬期間を設けて回復性を調べた。投与開始前，投与期間中及び回復期間中に一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，尿検査及び摂水量測定，血液学的検査，血液生化学的検査を実施した。また，血中 PAI-1 濃度を投与前，投与 1 日目，4 及び 13 週目に測定した。剖検，臓器重量測定，病理組織学的検査，骨髄検査を投与及び回復期間終了時に行った。また，血漿中 JTZ-951 濃度を測定した。

用量設定根拠：JTZ-951 の雄性サル 1 ヵ月間反復経口投与予備試験（2.6.6.3.4 (1)項，用量：10，30 及び 100 mg/kg）において，100 mg/kg で一般状態悪化が認められたため，この用量は反復投与に耐えないと判断した。JTZ-951 の雄性サル単回経口投与予備試験（CTD4.2.3.2-14，用量：10，30，100 及び 300 mg/kg）において，JTZ-951 の全身曝露は 100 mg/kg まで用量依存的に上昇した。以上のことから，本試験では 30 mg/kg を最高用量とし，中間用量に 10 mg/kg，低用量に 3 mg/kg

を設定した。

投与期間及び回復期間を通じて，いずれの投与群でも死亡例はなかった。

摂餌量，体重及び摂水量に投与に関連した変化はみられなかった。

JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する種々の変化が認められた。

(a) **EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化**：3 mg/kg 以上で赤血球関連パラメータ及び鉄関連パラメータ変動，10 mg/kg 以上で Ret 数増加，MCV 増加，骨髄の赤芽球系細胞の造血亢進，M/E 比の減少，赤血球形態の変化が認められた。

(b) **赤血球増多に関連した変化**：10 mg/kg 以上で心拍数の軽度減少及び PR 間隔の軽度延長，腎臓の尿細管上皮へのヘモジデリン沈着，30 mg/kg で皮膚及び結膜の赤色化，結膜充血，尿潜血，血中 AST 及び LDH 活性の上昇，血中クレアチニン及び総 Bil 濃度の増加が認められた。

(c) **多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化**：10 mg/kg 以上で肝臓の小葉中心性のうっ血及び肝細胞萎縮，諸臓器（肺，胃，空腸，腎臓，脳，脊髄，下垂体及び副腎）のうっ血，30 mg/kg で心臓重量増加，心臓器質化血栓，心臓冠動脈脂肪組織における炎症細胞浸潤，諸臓器（心臓［冠動脈脂肪組織］，肺，胃及び空腸）の出血，膵臓の腺房細胞萎縮，胃及び空腸粘膜のびらん／炎症性細胞浸潤，血中 ALT，GLDH 及び GU 活性の軽度な上昇が認められた。

(d) **EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化**：10 mg/kg 以上で血中 T-CH，PL 濃度減少，30 mg/kg で PLT 数の減少

(e) **EPO 産生亢進以外の HIF-PH 阻害作用による変化**：30 mg/kg で TGL 増加，GLU 減少が認められた。

(f) **EPO 産生亢進又は HIF-PH 阻害に起因した血液凝固系及び線溶系への影響**：3 mg/kg 以上で血中 PAI-1 増加，10 mg/kg 以上で D-dimer 及び PIC 増加，PT 及び APTT 延長，血中 FIB 減少

血栓形成は 30 mg/kg 雄 1 匹の心臓大動脈のみで認められ，他の動物の肺を含むいずれの器官でも，血栓に関連した所見は認められなかった。PAI-1 は 3 mg/kg から，投与 1 日目の投与後 4 又は 8 時間に用量依存的に増加した。投与 28 及び 91 日目においても投与後 4 又は 8 時間に増加したが，その増加の程度は投与 1 日目に比較し軽度であり，反復投与に伴って減少した。

眼瞼結膜の充血，心拍数の軽度減少及び PR 間隔の軽度延長，血中 PIC 濃度の軽度増加，血中鉄関連パラメータ及び骨髄検査における一部の変化を除き，大部分の変化は回復期間中に消失又は消失傾向が認められた。

JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$）は，最高用量の 30 mg/kg まで用量依存的に上昇した。いずれの用量においても，投与 1 日目と比較して投与 28 日目には JTZ-951 の全身曝露が減少したが，投与 28 及び 92 日目の全身曝露は同等であり，投与 28 日目までに定常状態に達した。

以上，本試験で認められたすべての変化は JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する変化であり，いずれの用量においても，JTZ-951 の化学構造に由来する全身毒性又は臓器毒性（精巣，精巣上体，精嚢及び前立腺を含む）を示唆する変化は認められ

なかった。

多血状態の持続に起因する循環障害を示唆する変化が 10 mg/kg 以上で認められたことから，本試験条件下における NOAEL は 3 mg/kg と考えられた。

(3) サル 9 ヵ月間反復経口投与毒性試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-041/[redacted]-065]

（評価資料：CTD4.2.3.2-11）

カニクイザル（1 群雌雄各 4 匹）に，JTZ-951（用量：1，3 及び 30 mg/kg）を 1 日 1 回，9 ヵ月間反復経口投与した。30 mg/kg の雄 2 例において，顕著な多血（Ht 値 93%～94%）とそれに引き続く摂餌量の減少ないし廃絶，体重減少，自発運動の減少，糞便色の異常及び全身状態の悪化が認められたことから，投与 56 日目以降雄 2 例を休薬とした。その後，同じ理由により 30 mg/kg は雌雄動物の半数以上が休薬となったため，それ以上の投与の継続は困難と判断し，投与 80 日目から全例について休薬した。その後，一般状態，摂餌量及び血液検査値（Ht 値 70%以下）が回復したことから，投与 113 日目より用量を 30 から 10 mg/kg に変更し投与を再開した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。投与開始前，投与期間中に一般状態観察，体重及び摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，尿検査及び摂水量測定，血液学的検査，血液生化学的検査を実施した。また，血中 PAI-1 及び EPO 濃度を投与前，投与 1，4，13，17（高用量のみ），26 及び 39 週目に測定した。投与終了時に剖検，臓器重量測定，病理組織学的検査，骨髄検査を行った。また，血漿中 JTZ-951 濃度を測定した。

用量設定根拠：JTZ-951 のサル 3 ヵ月間反復経口投与試験（2.6.6.3.4 (2)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）において，30 mg/kg では赤血球系パラメータの顕著な増加は認められたが，一般状態，体重等への明らかな影響及び重篤な臓器障害は認められなかった。また，3 mg/kg 以上で赤血球系パラメータの増加が認められた。以上のことから，本試験では 30 mg/kg を最高用量とし，NOAEL を確認するために中間用量に 3 mg/kg，低用量に 1 mg/kg を設定した。最高用量の 30 mg/kg では投薬期間中に全身状態の悪化（糞便色の異常［黒褐色・潜血陽性］，四肢の麻痺など）が認められたため，休薬を実施した。動物の状態回復後，最高用量 30 mg/kg から 10 mg/kg に変更した。

雌雄いずれの投与群においても死亡は認められなかった。また，1 及び 3 mg/kg 並びに投与再開後の 10 mg/kg において摂餌量及び体重に影響は認められなかった。

血中 EPO 濃度は，投与 1 日目及び 4 週目において雌雄とも 3 mg/kg 以上で増加した。また投与 26 週目以降に雌の 1 mg/kg 以上で増加した。

JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する種々の変化が認められた。

(a) **EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連した変化**：3 mg/kg 以上で赤血球関連パラメータ，Ret 数の増加，30/10 mg/kg で MCV 及び MCH の増加，MCHC の減少，骨髄の赤芽球系細胞の造血亢進及び M/E 比の減少，雄 3 mg/kg 以上，雌 1 mg/kg 以上で鉄関連パラメータの変動が認められた。

(b) **赤血球増多に関連した変化**：3 mg/kg で血中総 Bil 濃度の増加，LDH 及び GU 活性の軽度上昇が，30/10 mg/kg で皮膚，口腔粘膜及び結膜の赤色化，結膜充血，血中 AST 活性の上昇及び K 濃度の増加，小葉辺縁性の肝細胞のヘモジデリン沈着が認められた。

(c) **多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化**：30/10 mg/kg で血中 ALT 及び GLDH 活性の上昇，TP 及び ALB 濃度の減少，肝臓の小葉中心性のうっ血を伴う肝細胞の萎縮及びリポフスチン沈着，膵臓腺房細胞の萎縮が認められた。

(d) **EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化**：30/10 mg/kg で PLT 数の減少，血中 T-CH 及び PL 濃度の減少が認められた。

(e) **EPO 産生亢進以外の HIF-PH 阻害作用による変化**：30/10 mg/kg で小葉中間帯から辺縁性の肝細胞脂肪化，血中 GLU 濃度の減少が認められた。

(f) **EPO 産生亢進又は HIF-PH 阻害に起因した血液凝固系及び線溶系への影響**：3 mg/kg 以上で血中 PAI-1 濃度の一過的な増加が認められた。30/10 mg/kg で，PT 及び APTT の延長，血中 FIB の減少，D-dimer 及び PIC の増加が認められた。

JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は，最高用量の 30/10 mg/kg まで用量依存的に上昇し，性差は認められなかった。また，反復投与の影響は認められなかった。

以上より，本試験で認められたすべての変化は JTZ-951 の薬理作用（赤血球造血／EPO 産生亢進）又は HIF-PH 阻害に関連する変化であり，いずれの用量においても，JTZ-951 の化学構造に由来する全身毒性又は臓器毒性（精巣，精巣上体，精嚢及び前立腺を含む）を示唆する変化は認められなかった。

多血状態の持続に起因する循環障害を示唆する変化が 30/10 mg/kg で認められたことから，本試験条件下における NOAEL は 3 mg/kg と考えられた。

2.6.6.3.5 反復投与毒性試験における全身曝露

マウス，ラット，イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験における JTZ-951 の全身曝露を表 4 に示した。

表 4 マウス，ラット，イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験における JTZ-951 の全身曝露

動物種	投与期間	用量 (mg/kg)	JTZ-951 の全身曝露（平均値）[a]			
			C_{max} (μg/mL)		AUC_{0-24} (μg·hr/mL)	
			雄	雌	雄	雌
マウス	3 ヵ月	6	5.2	7.4	10.7	17.1
		10	11.3	13.4	21.8	31.6
		20	32.8 [b]	39.2	57.4 [b]	90.5
ラット	1 ヵ月	3	3.3	4.1	7.4	10.0
		10	13.5	18.7	36.2	41.3
		30	50.8	62.2	161.1	171.6
	3 ヵ月 (連投)	1	1.4	1.7	3.4	3.4
		3	5.3	7.3	12.1	14.1
		6	18.0	19.2	47.6	38.9
	3 ヵ月 (間歇)	10	21.4	29.8	47.9	52.3
		20	68.8	61.9	202.8	162.8
		30	73.5	111.8	251.1	287.2
	6 ヵ月	0.3	0.4	0.4	1.2	1.0
		1	2.9	1.5	6.2	4.5
		3	7.2	8.1	15.3	19.5
イヌ	1 ヵ月	1	1.1	1.3	3.7	4.0
		3	4.3	4.9	16.7	21.1
		10[c]	16.7	19.4	50.6	54.8
	3 ヵ月 (連投)	0.3	0.3	0.3	0.7	0.6
		1	1.1	1.1	2.0	2.5
		3	4.2	3.2	13.9	10.8
	3 ヵ月 (間歇)	3	4.5	2.8	11.1	7.3
		6	6.1	9.2	15.0	23.4
		10	13.1	15.4	30.3	34.5
サル	3 ヵ月	3	4.9	7.4	13.2	14.1
		10	19.9	19.3	65.4	45.8
		30	40.8	42.0	162.0	152.7
	9 ヵ月	1	1.3	2.2	3.3	5.6
		3	9.4	5.5	24.9	22.7
		30[d]	46.3	70.6	203.2	345.0
		10[d]	15.4	30.6	51.7	83.4

[a]：イヌ 1 ヵ月試験の 10 mg/kg は投与初日の値を示した。他の試験については最終測定日の値を示した。
[b]：マウス 3 ヵ月試験の雄の 20 mg/kg は薬理作用の過剰発現による変化が観察されたため，投与継続不可能と判断した。雄の 20 mg/kg は投与 50 日目を示す。
[c]：イヌ 1 ヵ月試験の 10 mg/kg は摂餌量減少，体重減少及び脱水症状などの全身状態の悪化を示唆する所見が認められたため，投与 7 日目以降投薬を中止し，休薬後の投与 24 日目から投与を再開した。
[d]：サル 9 ヵ月試験の 30 mg/kg は顕著な多血を伴う全身状態の悪化のため投与を中止し，休薬後の投与 17 週目より 10 mg/kg に用量を変更し投与を再開した。30 mg/kg は雄投与 49 日目，雌投与 42 日目を示す。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 *In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1.1 非哺乳動物細胞系での *In vitro* 試験

(1) 細菌を用いる復帰突然変異試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-008/[redacted]906]

(評価資料：CTD4.2.3.3.1-1)

JTZ-951 の復帰突然変異誘発能を *Salmonella typhimurium* (TA98, TA1537, TA100 及び TA1535) 及び *Escherichia coli* (WP2*uvr*A) を用い，プレインキュベーション法により S9 mix 存在下及び S9 mix 非存在下で検討した。

本試験は，用量設定試験を実施した結果に基づき選択された用量にて実施した。

細菌を用いる復帰突然変異試験，本試験の設定用量

菌株名	処理濃度 (μg/plate)	
	S9 mix 存在下	**S9 mix** 非存在下
TA98	0, 188, 375, 750, 1500, 3000	0, 94, 188, 375, 750, 1500
TA1537	0, 94, 188, 375, 750, 1500	0, 47, 94, 188, 375, 750
TA100	0, 94, 188, 375, 750, 1500	0, 47, 94, 188, 375, 750
TA1535	0, 94, 188, 375, 750, 1500	0, 47, 94, 188, 375, 750
WP2*uvrA*	0, 375, 750, 1500, 3000, 5000	0, 188, 375, 750, 1500, 3000

JTZ-951 の抗菌作用によると考えられる生育阻害が，いずれの菌株も処理した最高用量で認められた。

JTZ-951 は，*S. typhimurium* 4 菌株，*E. coli* 1 菌株に対して S9 mix の有無に関わらず，処理用量の範囲で復帰変異原性を示さなかった。

一方，陽性対照物質処理群では，高頻度に復帰変異コロニーの誘発が認められた。

2.6.6.4.1.2 哺乳動物細胞系での *In vitro* 試験

(1) ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-009/[redacted]907]

(評価資料：CTD4.2.3.3.1-2)

JTZ-951 の染色体異常誘発能をチャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (CHL 細胞) を用いて S9 mix 存在下及び S9 mix 非存在下で検討した。

JTZ-951 の予備細胞毒性試験 (CTD4.2.3.3.1-5) の結果を基に用量設定試験の用量を設定した。本試験は，用量設定試験の結果に基づき選択された下記の用量にて実施し，下線の用量について染色体の観察を行った。

S9 mix 存在下 6 時間処理： 0, 100, 200, 300, 350, 450 μg/mL
S9 mix 非存在下 6 時間処理： 0, 100, 200, 300, 350, 450 μg/mL
S9 mix 非存在下 24 時間処理： 0, 25, 50, 75, 100, 150 μg/mL

構造異常の誘発が S9 mix 非存在下 24 時間処理の 100 μg/mL で 6.0%，150 μg/mL で 18.5%の頻

度で認められた（判定基準：異常細胞出現率 5%未満：陰性，5%以上 10%未満：疑陽性，10%以上：陽性）。数的異常（倍数性細胞の誘発）はいずれの処理においても認められなかった。

一方，陽性対照物質処理群では，高頻度に構造異常の誘発が認められた。

以上の結果から，本試験条件下では JTZ-951 は CHL 細胞に対して染色体異常誘発能を有するものと判断した。

(2) ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-025/[redacted]-046]

（評価資料：CTD4.2.3.3.1-3）

JTZ-951 の染色体異常誘発能をヒト末梢血リンパ球（健常成人ボランティア［2 名／処理］）を用いて S9 mix 存在下及び非存在下 3 時間並びに S9 mix 非存在下 24 時間処理で検討した。

ヒト末梢血リンパ球を用いる予備染色体異常試験（CTD4.2.3.3.1-4）の結果に基づき，下記の用量で実施した。標本の観察は，相対分裂指数が 50%以下となる最低用量を最高に，以下，下線の用量を選択した。

S9 mix 存在下 3 時間処理：	0,	160,	200,	240,	280,	320,	360,	400 μg/mL
S9 mix 非存在下 3 時間処理：	0,	160,	200,	240,	280,	320,	360,	400 μg/mL
S9 mix 非存在下 24 時間処理：	0,	1.25,	2.5,	5,	10,	15,	20,	30 μg/mL

染色体異常（構造異常及び数的異常）の誘発は，いずれの処理においても認められなかった。一方，陽性対照物質処理では高頻度に構造異常の誘発が認められた。

以上の結果から，本試験条件下では JTZ-951 はヒト末梢血リンパ球に対して染色体異常誘発能を有さないものと判断した。

2.6.6.4.2 *In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.2.1 哺乳動物細胞系での *In vivo* 試験

(1) ラット骨髄細胞を用いる染色体異常試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-010/[redacted]274]

（評価資料：CTD4.2.3.3.2-1）

SD 系雄性ラット（8 週齢，絶食下）に，JTZ-951（用量：62.5，125 及び 250 mg/kg）を単回経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。投与後 24 及び 48 時間に大腿骨より骨髄細胞を採取して染色体標本を作製した。1 群あたり各 6 例についてギムザ染色した標本を用いて骨髄細胞における染色体異常誘発能を検討した。陽性対照群には CP を 20 mg/kg の用量で単回経口投与し，投与後 24 時間に標本を作製した。また，TK 測定用サテライト群（1 群各 5 匹）を設け，血漿中 JTZ-951 濃度を測定した。

用量設定根拠：本試験に先立って実施した JTZ-951 の雄ラット単回経口投与試験－一般状態，体重及び摂餌量の検討－（2.6.6.2.2 (1)項，用量：125，250，500，1000 及び 2000 mg/kg，絶食下）の結果，500 mg/kg 以上では全身状態の悪化，体重及び摂餌量の明らかな減少が認められ，1000 mg/kg では死亡が認められた。よって 250 mg/kg で認められた軽度な体重及び摂餌量の減少を毒性兆候と判断し，本試験の最高用量を 250 mg/kg とし，以下，公比 2 で中及び低用量に 125

及び 62.5 mg/kg を設定した。なお，ラット予備 TK 試験（2.6.6.2.2 (1)項）の結果，JTZ-951 の全身曝露は，非絶食条件に比して絶食条件の方が高値を示した。また，ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験では，JTZ-951 の全身曝露に雌雄差は認められなかった。よって，本試験では雄性のみを用いた絶食条件下で実施した。

いずれの投与群においても死亡はみられず，一般状態観察でも，JTZ-951 投与の影響と考えられる変化は認められなかった。250 mg/kg では，投与後 24 及び 48 時間に体重の減少が認められた。

いずれの投与群においても骨髄細胞における染色体異常（構造異常及び数的異常）の誘発能は認められなかった。なお，すべての投与群において投与後 48 時間で Mitotic Index（細胞分裂指数）の増加傾向が認められた。一方，陽性対照物質（CP）投与群では，構造異常の誘発が，媒体対照群に比べ有意に増加した。

JTZ-951 の全身曝露（C_{max}，AUC_{0-24} 及び AUC_{0-48}）は，最高用量の 250 mg/kg まで用量依存的に上昇した（表 5）。

以上の結果から，本試験条件下では，JTZ-951 はラット骨髄細胞における染色体異常（構造異常及び倍数性）誘発能を有さないものと判断した。

(2) *In Vivo* ラット単細胞ゲル電気泳動（SCG）試験（コメットアッセイ） [Report/Study Number: JTZ951-TX-026/[redacted] ([redacted])]

（評価資料：CTD4.2.3.3.2-2）

SD 系雄性ラット（1 群各 6 匹，8 週齢，絶食下）に，JTZ-951（用量：62.5，125 及び 250 mg/kg）を 2 日間経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。初回投与後 21 時間に 2 回目投与を実施し，1 群あたり各 6 例について 2 回目投与後 3 時間に肝臓及び末梢血を採取し，各群 5 例について標本を作製した。DNA 損傷の指標である% tail DNA をコメットアッセイ画像解析装置（Comet Assay IV System）を用いて測定した。

用量設定根拠：ラット骨髄細胞を用いる染色体異常試験（2.6.6.4.2.1 (1)項）と同様に最高用量を 250 mg/kg とし，以下，公比 2 で中及び低用量に 125 及び 62.5 mg/kg を設定した。

対照群では，肝臓及び末梢血のいずれも低レベルの% tail DNA 値を示した。JTZ-951 のいずれの投与群においても対照群と比較して，肝臓及び末梢血における% tail DNA 値の増加は認められなかった。陽性対照として用いたエチルメタンスルフォネート投与群では，肝臓及び末梢血のいずれも% tail DNA 値の有意な増加が認められた。

JTZ-951 の全身曝露（C_{max}，AUC_{0-24} 及び AUC_{0-48}）については，同一用量で実施したラット骨髄細胞を用いる染色体異常試験（2.6.6.4.2.1 (1)項）における測定値を引用すると，いずれのパラメータも最高用量の 250 mg/kg まで用量依存的に上昇した（表 5）

以上の結果から，本条件下では JTZ-951 はラット肝臓及び末梢血における DNA 損傷性は有さないと判断した。

表 5 *In vivo* 遺伝毒性試験における JTZ-951 の全身曝露

試験	用量 (mg/kg)	JTZ-951 の全身曝露（平均値）[a]		
		C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-24} (μg·hr/mL)	AUC_{0-48} (μg·hr/mL)
ラット骨髄細胞を用いる染色体異常試験	62.5	170.519	784.472	786.186
	125	184.933	1273.955	1319.063
In Vivo ラット単細胞ゲル電気泳動試験	250	262.483	1866.789	2131.500

[a]：ラット骨髄細胞を用いる染色体異常試験において測定した

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 がん原性用量設定試験

(1) TgrasH2 wild type マウスを用いた単回経口投与トキシコキネティクス試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-056/[redacted]901]

（評価資料：CTD4.2.3.4.2-1）

TgrasH2 マウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験の低及び中間用量における JTZ-951 の全身曝露を確認するため，TgrasH2 wild type マウス（1 群雌雄各 6 匹）に，JTZ-951（用量：0.6 及び 2 mg/kg）を単回経口投与し，血漿中 JTZ-951 濃度を測定した。

JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は 2 mg/kg まで用量依存的に上昇し，全身曝露は雄に比較して雌で高い傾向であった。

(2) TgrasH2 wild type マウスを用いた 3 ヵ月間復経口投与試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-053/[redacted]]

（評価資料：CTD4.2.3.4.2-2）

TgrasH2 マウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験の用量設定のため，JTZ-951（用量： 6，10 及び 20 mg/kg）を雌雄 TgrasH2 wild type マウスに 1 日 1 回，3 ヵ月間反復経口投与した（2.6.6.3.1 (2) 項参照）。

雌雄とも 20 mg/kg で死亡が認められた。6 mg/kg 以上で全身に種々の変化が認められたが，これらはすべて JTZ-951 の薬理作用に起因した変化であると考えられた。以上より，20 mg/kg は致死用量であり，10 mg/kg 群は投与期間終了時まで忍容であったが，著しい脾臓の腫大及び脾臓重量の増加が認められたため，6 ヵ月間の反復投与には耐えないと判断した。

2.6.6.5.2 がん原性本試験

(1) TgrasH2 マウスの 6 ヵ月間がん原性試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-061/[redacted]]

（評価資料：CTD4.2.3.4.2-3）

TgrasH2 マウス（1 群雌雄各 25 匹）に JTZ-951（用量：0.6，2 及び 6 mg/kg）を 1 日 1 回，6 ヵ月間反復経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。投与期間中に一般状態

観察，体重測定及び摂餌量測定を行った。投与期間終了時に剖検，血液学的検査，臓器重量測定，病理組織学的検査を実施した。また，投与初日及び177日目に血漿中JTZ-951濃度を測定した（投与0.5及び2時間後のみ）。陽性対照群（雌雄各10匹）には，ウレタン（1000 mg/kg）を投与1，3及び5日目に腹腔内投与した。

用量設定根拠：TgrasH2 wild typeマウスを用いた3ヵ月間復経口投与試験（2.6.6.3.1 (2)項，用量：6，10及び20 mg/kg）において，最高用量の20 mg/kg群で雌雄ともに死亡が認められた。10 mg/kg群は投与期間終了時まで忍容であったが，著しい脾臓の腫大及び脾臓重量の増加が認められたため，6ヵ月間の反復投与には耐えないと判断し，本試験の最高用量には6 mg/kgを設定し，公比3で中間及び低用量に2及び0.6 mg/kgを設定した。

雌0.6 mg/kg以上でPLTの減少，雄2 mg/kg以上で腎臓の重量増加及びうっ血が認められた。6 mg/kgで，赤血球関連パラメータ（RBC数，Hb濃度，Ht値），RDW，Ret数，MCV及びMCHの増加，脾臓の腫大，脾臓及び腎臓重量の増加（雌），脾臓における赤芽球系髄外造血の亢進が認められた。

JTZ-951の全身曝露は6 mg/kgまで用量依存的に上昇し，3ヵ月間反復経口投与用量設定試験及び予備TKの同用量の血漿中濃度と同等であった。

JTZ-951投与に起因した腫瘍発現頻度の増加は認められなかった。陽性対照群では，全例で肺腫瘍が認められた。6 mg/kgで種々の変化が認められたが，これらはすべてJTZ-951の薬理作用に起因した変化であると考えられた。

(2) ラットの2年間がん原性試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-060/[redacted]-8064]

（評価資料：CTD4.2.3.4.1-1）

SD系ラット（1群雌雄各65匹）にJTZ-951（用量：0.1，0.3及び1 mg/kg）を1日1回，2年間反復経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC水溶液）を投与した。投与期間中に一般状態観察，体重測定及び摂餌量測定を行った。投与期間終了時に剖検，血液学的検査，病理組織学的検査を実施した。また，血漿中JTZ-951濃度を測定するために，サテライト群（1群雌雄各5匹）を設け，投与初日及び26週目に血漿中JTZ-951濃度を測定した。

用量設定根拠：JTZ-951のラット6ヵ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2 (5)項，用量：0.3，1及び3 mg/kg）において，RBC数，Hb濃度及びHt値の明らかな増加と微小循環の障害を示す病理組織学的変化が3 mg/kgで認められたことから，この用量は，がん原性試験における最大耐量を上回ると考えられた。以上より，本試験における最高用量は1 mg/kgとし，中及び低用量にそれぞれ0.3及び0.1 mg/kgを設定した。

JTZ-951の全身曝露は，1 mg/kgまで用量依存的に上昇し，性差は認められなかった。反復投与により全身曝露は上昇する傾向が認められた。

最高用量の1 mg/kgまで生存率，一般状態，体重及び摂餌量にJTZ-951投与の影響は認められず，腫瘍発現頻度の増加も認められなかった。1 mg/kgでは，薬理作用に関連した赤血球関連パラメータ（RBC数，Hb濃度，Ht値）の増加傾向が認められた。

表 6　がん原性試験における JTZ-951 の全身曝露

試験	性	用量 (mg/kg)	C_{max} [a)] (μg/mL)	AUC_{0-24} [a)] (μg·hr/mL)
TgrasH2 マウス 6 ヵ月がん原性	雄	0.6	0.306	0.487
		2	1.203	2.884
		6	5.215	10.732
	雌	0.6	0.503	0.487
		2	1.641	4.331
		6	7.433	17.135
ラット 2 年がん原性	雄	0.1	0.0798	0.191
		0.3	0.278	0.759
		1	2.40	4.90
	雌	0.1	0.0812	0.271
		0.3	0.186	0.443
		1	1.55	3.26

[a)]：各試験の最終測定値（ただし，TgrasH2 マウス 6 ヵ月がん原性試験は用量設定試験又は単回経口投与 TK 試験の測定値を使用）

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する影響

(1) 雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-032/[redacted]901]

（評価資料：CTD4.2.3.5.1-1）

雌性 SD 系ラット（1 群各 20 匹）に JTZ-951（用量：3，10 及び 30 mg/kg）を交配前 14 日間及び交配期間を通して GD7 まで（約 3 週間）1 日 1 回反復経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。無処置雄と交配させて雌ラットの生殖能（交尾率及び受胎能）及び初期胚の発生に及ぼす影響を調べた。GD13 に雌ラットを安楽死させて，剖検，子宮内観察，初期胚発生に対する評価を行うと共に臓器重量測定（脾臓，肺及び心臓）を行った。

用量設定根拠：JTZ-951 のラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2 (1)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）では，最高用量の 30 mg/kg まで体重及び摂餌量に明らかな変化は認められなかった。JTZ-951 のラット 3 ヵ月間反復経口投与予備試験（2.6.6.3.2 (2)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）では，30 mg/kg で投与 5 週目以降に死亡例が認められた。以上のことから，30 mg/kg は 4 週間の反復経口投与が可能な用量と考えられた。本試験ではほとんどの動物が 4 週間で投与を終えることが想定されるので，30 mg/kg を最高用量とし，中間用量に 10 mg/kg，低用量に 3 mg/kg を設定した。

30 mg/kg の 1 例で投与 24 日目の翌日（GD8）に死亡が認められた。死亡例では死亡前日に体重及び摂餌量が減少し，肺の暗赤色調及び大型，脾臓の大型，肝臓及び副腎の暗赤色調が認められた。JTZ-951 の薬理作用の過剰発現による持続的な多血に基づく循環障害が死因と考えられた。

雌動物に対する影響：30 mg/kg では，妊娠期間中を通して摂餌量が低値で推移し，GD13 の体

重増加量が低下した。さらに，1 例において膣出血が認められた。10 mg/kg 以上で皮膚の赤色化が投与 17 日目以降に認められた。生存雌動物では，10 mg/kg 以上で肺の黒色巣が，30 mg/kg で脾臓の大型，肝臓の暗赤色調，腎臓の白色巣，膣出血が認められた。10 mg/kg 以上で脾臓，心臓及び肺重量が増加した。

雌動物の生殖能に対する影響：いずれの用量においても，性周期，交尾所要日数，交尾率及び受胎率に JTZ-951 の影響は認められなかった。30 mg/kg の 1 例で着床数及び着床率の減少が認められた。

初期胚発生に対する影響：10 mg/kg 以上で胚・胎児死亡数及び死亡率が増加し，これに伴い生存胎児数が減少した。

上記の雌動物における各種変化はラット反復投与毒性試験において認められている変化と同様に JTZ-951 の薬理作用である赤血球造血／EPO 産生亢進と関連した変化と考えられた。胚・胎児の変化は雌動物における JTZ-951 の薬理作用の過剰発現による二次的変化と考えられた。

以上の結果から，本試験条件下における NOAEL は，雌動物の一般毒性は 3 mg/kg，雌動物の性周期，交尾能及び受胎率は 30 mg/kg を上回る用量，着床は 10 mg/kg，初期胚発生は 3 mg/kg と考えられた。

(2) 雄ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-059/[redacted]-1186]

（評価資料：CTD4.2.3.5.1-2）

雄性 SD 系ラット（1 群各 20 匹）に JTZ-951（用量：3，10 及び 30 mg/kg）を交配前 14 日間及び交配期間を通して剖検前日（投与期間：21 日又は 28 日間）まで 1 日 1 回反復経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。無処置雌と交配させて雄ラットの生殖能（交尾所要日数，交尾率，受胎率）及び初期胚の発生（着床前死亡率及び着床後死亡率）に及ぼす影響を調べた。雄ラットについては交配前期間中に一般状態観察，体重測定及び摂餌量測定を行い，交尾確認後に剖検及び臓器重量測定（心臓，肺，脾臓，前立腺，精嚢，精巣及び精巣上体）を実施した。交配させた無処置雌ラットについては，GD14 に安楽死させて，剖検及び着床の有無を確認した。着床が確認された動物については，初期胚発生に対する評価を行った。

用量設定根拠：JTZ-951 のラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2 (1)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）では，投与期間を通じて最高用量の 30 mg/kg まで体重及び摂餌量に明らかな変化は認められなかった。JTZ-951 のラット 3 ヵ月間反復経口投与予備試験（2.6.6.3.2 (2)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）では，30 mg/kg で投与 5 週目以降に死亡例が認められた。以上のことから，30 mg/kg は 4 週間の反復経口投与が可能な用量と考えられたため，本試験では最高用量を 30 mg/kg，中間及び低用量にそれぞれ 10 及び 3 mg/kg を設定した。

雄動物に対する影響：いずれの用量においても死亡は認められなかった。30 mg/kg では，交配前期間中を通して体重増加量及び摂餌量が減少し，1 例で投与 22 日目に自発運動量の減少が認められた。30 mg/kg で脾臓の大型，肺及び盲腸の暗赤色巣並びに肝臓の白色巣が認められた。10 mg/kg 以上で，皮膚の赤色化，脾臓，心臓及び肺重量の増加が認められた。これらの変化は JTZ-951 の薬理作用である赤血球造血／EPO 産生亢進と関連した変化と考えられた。30 mg/kg で

精嚢重量の軽度な減少が認められたが，雄ラットの生殖能及び初期胚の発生に影響がなかったことから，毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。

雄動物の生殖能及び初期胚発生に対する影響：いずれの用量においても，生殖能及び初期胚発生に JTZ-951 の影響は認められなかった。

以上の結果から，本試験条件下における NOAEL は，雄動物の一般毒性は 3 mg/kg，雄ラットの生殖能及び初期胚発生は 30 mg/kg を上回る用量と考えられた。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生への影響

(1) ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-033/[redacted]902]

（評価資料：CTD4.2.3.5.2-1）

SD 系の妊娠ラット（1 群 18～20 匹）に JTZ-951（用量：3，10 及び 30 mg/kg）を GD7～17 に反復経口投与した。対照群には，媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。GD20 にすべての動物について帝王切開を行い，胚・胎児発生に及ぼす影響を調べた。また，サテライト群（妊娠ラット 4～5 匹/群）を設け，GD7（投与 1 日目）及び GD17（投与 11 日目）に採血し，血漿中 JTZ-951 濃度を測定した。

用量設定根拠：JTZ-951 のラットにおける胚・胎児発生に関する予備経口投与試験（CTD4.2.3.5.2-3，用量：30 及び 60 mg/kg）において，60 mg/kg は母動物における致死量であった。30 mg/kg では体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められたが，評価に必要な生存胎児数が得られた。以上のことから，本試験では 30 mg/kg を最高用量とし，中間用量に 10 mg/kg，低用量に 3 mg/kg を設定した。

母動物に対する影響：いずれの用量においても死亡は認められなかった。30 mg/kg では，体重増加量が GD19～20 に軽度に低下し，摂餌量が GD17～18 に軽度に減少した。30 mg/kg では，皮膚の赤色化，脾臓の大型，心臓及び肺重量の増加が認められた。10 mg/kg 以上で脾臓重量の増加が認められた。これらの変化は JTZ-951 の薬理作用である赤血球造血／EPO 産生亢進と関連した変化と考えられた。

胚・胎児発生に対する影響：30 mg/kg では，胎児発育遅延を示唆する以下の変化が認められた；1）着床後胚・胎児死亡の増加（1 例），2）生存胎児体重の減少，3）胎盤重量増加，4）胸椎体二分骨化が認められた胎児を有する母動物数の増加，5）胸椎体二分骨化の発現頻度の軽度な増加，6）仙尾椎又は中手骨数の減少傾向。同様の所見はラットを用いた rHuEPO の生殖発生毒性試験でも報告されており，持続的な多血状態に起因する変化とされている[7, 8]。よって，これらの変化は雌動物における JTZ-951 の薬理作用の過剰発現が二次的に影響を及ぼしたものと考えられた。胎児の外表検査及び内臓検査では，いずれの用量においても JTZ-951 の影響は認められず，骨格異常も認められなかった。催奇形性を示唆する変化は認められなかった。

JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$）は，GD7 及び 17（投与 1 及び 11 日目）ともに，最高用量の 30 mg/kg まで用量依存的に上昇した。いずれの用量においても，投与 1 及び 11 日目の C_{max} は同程度であった。10 及び 30 mg/kg では，投与 11 日目の $AUC_{0\text{-}24}$ の平均値は投与 1 日目よりもやや高値であったが，個体間の変動を考慮すると，JTZ-951 の全身曝露に対する反復投与の明らか

な影響は認められなかった。

以上の結果から，本試験条件下における NOAEL は，雌動物の一般毒性及び胚・胎児発生は 10 mg/kg，催奇形性は 30 mg/kg を上回る用量と考えられた。

(2) ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-028/[redacted]-1099]

（評価資料：CTD4.2.3.5.2-2）

ニュージーランドホワイト種（Kbl：NZW）の妊娠ウサギ（1 群 19～21 匹）に JTZ-951（用量：20，60 及び 200 mg/kg）を，GD6～18 に 1 日 1 回 13 日間経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を同様に投与した。妊娠期間中は，一般状態観察，体重測定及び摂餌量測定を実施した。GD28 に帝王切開を行い，胚・胎児に及ぼす影響を検討した。また，GD6 及び 18 に採血し，血漿中 JTZ-951 濃度を測定した。

用量設定根拠：JTZ-951 の非妊娠雌性ウサギ反復経口投与試験（CTD4.2.3.5.2-4，用量：100，200 及び 300 mg/kg）において，300 mg/kg では摂餌廃絶が認められたが，200 mg/kg は 13 日間の反復投与に耐えうる用量であった。JTZ-951 の妊娠ウサギ経口投与予備試験（CTD4.2.3.5.2-5，用量：50，100 及び 200 mg/kg）において，200 mg/kg では摂餌量の軽度な減少が認められた。100 mg/kg 以下の用量でも摂餌量の減少は認められたが，少数例に限られた。また，胚・胎児に対しては 200 mg/kg まで明らかな影響は認められなかった。以上より，本試験では，ウサギにおいて摂餌量に軽度な影響を及ぼすが反復投与に耐えうる用量である 200 mg/kg を高用量とし，中間及び低用量にそれぞれ 60 及び 20 mg/kg を設定した。

母動物に対する影響：200 mg/kg では，摂餌量が顕著に減少し，体重及び糞便量の減少が認められ，その結果 5 例が死亡し，1 例が状態悪化のため切迫殺，6 例で流産が認められた。60 mg/kg では，1 例で摂餌の廃絶による流産が認められた。60 及び 200 mg/kg で流産，死亡又は切迫屠殺した母動物の剖検では，腎臓の白色化，胃の暗赤色巣又は毛玉の貯留/盲腸内の水様内容物の貯留が認められた。いずれの用量においても，生存した母動物には肉眼所見は認められなかった。これらの変化はラットを用いた試験において認められた変化と同様に JTZ-951 の薬理作用である赤血球造血／EPO 産生亢進と関連した変化と考えられた。流産は顕著な摂餌量減少に伴う母動物の全身状態の悪化による二次的影響と考えられ，JTZ-951 の直接的な影響ではないと考えられた。

胚・胎児発生に対する影響：200 mg/kg では，着床後胚・胎児死亡率が軽度に増加し，生存胎児数が軽度に減少した。この胚・胎児死亡の増加は，60 及び 200 mg/kg の流産と同様に，母動物の全身状態の悪化による二次的影響と考えられた。20 及び 60 mg/kg には，胚・胎児死亡率に JTZ-951 の影響は認められなかった。いずれの用量においても，胎児外表，内臓，骨格及び胎盤に JTZ-951 の影響は認められなかった。また，性比，胎児体重，胎盤重量，骨化進行に対しても JTZ-951 の影響は認められなかった。胎児発育遅延及び催奇形性を示唆する変化は認められなかった。

JTZ-951 の全身曝露（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$）は，200 mg/kg まで用量依存的に上昇した。20 及び 60 mg/kg では，GD6 及び 18（投与 1 及び 13 日目）の全身曝露は同程度であったが，200 mg/kg の母動物 2 例では，GD18 の全身曝露は GD6 より高値であった。この 2 例の母動物は最終投与日付近（GD18 を含む）において摂餌量が減少し，GD20 に流産又は瀕死状態に陥った個体であった。また，200 mg/kg の他の母動物では，GD6 及び 18 の JTZ-951 の全身曝露は同程度であった。

本試験条件下における NOAEL は，母動物の一般毒性及び流産は 20 mg/kg，胚・胎児発生は 60 mg/kg，催奇形性は 200 mg/kg を上回る用量と考えられた。

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体機能への影響

(1) ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-062/[redacted]-128]

(評価資料：CTD4.2.3.5.3-1)

SD 系妊娠ラット（1 群各 19 匹）に JTZ-951（用量：1，3 及び 10 mg/kg）を GD7 から分娩後 20 日目まで（約 5 週間）反復経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。母動物は一般状態観察，体重及び摂餌量測定，分娩及び哺育行動観察を行った。自然分娩した母動物は分娩後 21 日に剖検を行い，臓器重量測定（脾臓，肺及び心臓）も行った。出生児については，生存性及び性別の確認，出生時の外表検査，一般状態観察，体重測定，身体発育及び機能発達検査，生殖器の形態分化観察，行動及び学習検査，生殖能検査，GD15 の帝王切開時検査並びに剖検を行った。

用量設定根拠：JTZ-951 の雌ラットにおける生殖能に関する経口投与試験（2.6.6.6.1 (1)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）及びラット 3 ヵ月間反復経口投与予備試験（2.6.6.3.2 (2)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）において，30 mg/kg では投与 25～37 日目の間に死亡例が発現した。以上の死亡状況から，投与期間が 35 日前後となる本試験では 30 mg/kg は致死用量と考えられた。以上より，本試験では 10 mg/kg を最高用量とし，中間及び低用量にそれぞれ 3 及び 1 mg/kg を設定した。

母動物に対する影響：いずれの用量においても死亡は認められなかった。10 mg/kg では皮膚の赤色化が認められ，哺育期間中の摂餌量が軽度に減少した。10 mg/kg の剖検では脾臓の大型，並びに脾臓，心臓及び肺重量の増加が認められた。これらの変化は JTZ-951 の薬理作用である赤血球造血／EPO 産生亢進と関連した変化と考えられた。体重，体重増加量，分娩及び哺育行動についてはいずれの用量においても JTZ-951 の影響は認められなかった。

出生児に対する影響：10 mg/kg で眼瞼の開裂時期の遅延が認められた。10 mg/kg では出生児の体重が生後 4～21 日目に低値を示したが，離乳（生後 21 日）以降は対照群との体重差は縮小した。これらの変化は出生児の発育遅延を示唆する変化であり，母動物における JTZ-951 の薬理作用の過剰発現が二次的に影響を及ぼしたものと考えられた。出生児の外表検査，出生児総数，出生日の生存児数，出生率，性比，生後 4 日目の生存児数，生後生存率，離乳時の生存児数，離乳率，一般状態，機能発達検査，剖検，生殖器の形態分化，行動及び学習検査，交尾行動及び GD15 の帝王切開時検査において，いずれの用量においても JTZ-951 の影響は認められなかった。

本試験条件下における NOAEL は，母動物の一般毒性及び出生児の身体発育は 3 mg/kg，出生児の生存性，行動発達及び生殖能は 10 mg/kg を上回る用量と考えられた。

表 7　生殖毒性試験における JTZ-951 の全身曝露

試験	性	用量 (mg/kg)	C_{max} [a] (μg/mL)	AUC_{0-24} [a] (μg·hr/mL)
ラット雌雄生殖能/初期胚発生，ラット出生前後の発生/母動物の機能，経口	雄	3 [b]	2.3	5.9
		10 [b]	11.0	29.4
		30 [b]	38.7	128.5
	雌	3 [b]	1.8	7.4
		10 [b]	10.6	47.9
		30 [b]	52.2	143.3
ラット胚/胎児発生，経口	雌	3	3.685	11.294
		10	16.517	59.007
		30	57.151	379.017
ウサギ胚/胎児発生，経口	雌	20	3.139	18.295
		60	10.441	39.231
		200 [b]	22.786	119.445

[a]：各試験の最終測定値
[b]：各試験の投与 1 日目測定値（ただし，ラット雌雄生殖能/初期胚発生，ラット出生前後の発生/母動物の機能試験はラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験の測定値を使用）

2.6.6.6.4 幼若動物を用いた試験

実施せず。

2.6.6.7 局所刺激性試験

実施せず。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性試験

実施せず。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

実施せず。

2.6.6.8.3 毒性発現の機序に関する試験

実施せず。

2.6.6.8.4 依存性試験

実施せず。

2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験

2.6.6.8.5.1 代謝物(R)-M2 に関する検討

JTZ-951 の主代謝物(R)-M2 について，(R)-M2 自体を用いた毒性試験の実施により，又は実施済みの JTZ-951 を用いた毒性試験で(R)-M2 が十分に曝露されていることを指標に(R)-M2 の毒性を評価した。ICH M3 ガイドライン及び FDA の MIST ガイダンスに準拠して，一般毒性，遺伝毒性及び生殖毒性を評価した。なお，代謝物のがん原性評価については，FDA とがん原性試験プロトコールの Special Protocol Assessment にて協議を行い，評価は不要との合意に至ったことから実施しなかった。

(1) JTZ-951 の TgrasH2 wild type マウスを用いた単回経口投与試験－代謝物(R)-M2 濃度測定－ [Report/Study Number: JTZ951-TX-046/[redacted]182]

（参考資料：CTD4.2.3.7.5-1）

雄性 TgrasH2 wild type マウス（1 群各 9 匹）に JTZ-951（用量：3，6，20 及び 60 mg/kg）を単回経口投与し，(R)-M2 の全身曝露を調べた。

(R)-M2 の全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は最高用量まで用量依存的に上昇した。

(2) JTZ-951 の TgrasH2 wild type マウスを用いた 3 ヵ月間反復経口投与試験－代謝物(R)-M2 濃度測定－ [Report/Study Number:JTZ951-TX-054/[redacted]021]

（参考資料：CTD4.2.3.7.5-2）

TgrasH2 wild type マウス（1 群雌雄各 32 匹，対照群は 8 匹）に JTZ-951（用量：6, 10 及び 20 mg/kg）を 1 日 1 回 13 週間経口投与し，投与 1 及び 87 日目における(R)-M2 の血漿中濃度を測定した。なお，雄の 20 mg/kg 投与群については，薬理作用の過剰発現により投与継続不可能と判断されたため，投与 50 日目の採取試料を用いて血漿中濃度測定を実施した。

(R)-M2 の全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は 20 mg/kg まで用量依存的に上昇し，全身曝露は雄に比較して雌で高かった。(R)-M2 の全身曝露は投与 1 日目と比較し，投与 87 日目（雄の 20 mg/kg 群は 50 日目）で高値を示した。

(3) JTZ-951 のラット単回経口投与トキシコキネティクス試験－代謝物(R)-M2 濃度測定（高用量）－ [Report/Study Number: JTZ951-TX-052/[redacted]906]

（参考資料：CTD4.2.3.7.5-3）

JTZ-951 を投与した *in vivo* 遺伝毒性試験における(R)-M2 の全身曝露を調べる目的で，雄性 SD 系ラット（5 匹）に JTZ-951（用量：250 mg/kg）を単回経口投与し，代謝物(R)-M2 の全身曝露を調べた。

(R)-M2 の C_{max} は 867.6 ng/mL，AUC_{0-24} は 3273.0 ng·hr/mL であった。

(4) JTZ-951 のラット単回経口投与トキシコキネティクス試験－代謝物(R)-M2 濃度測定－ [Report/Study Number: JTZ951-TX-055/[redacted]022]

（参考資料：CTD4.2.3.7.5-4）

雌雄 SD 系ラット（1 群雌雄各 3 匹）に JTZ-951（用量：3，6 及び 30 mg/kg）を単回経口投与し，(R)-M2 の全身曝露を調べた。

(R)-M2 の全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は用量依存的に上昇し，雄に比較して雌で高かった。最高用量（30 mg/kg）における(R)-M2 の AUC_{0-24} は雄で 262.8 ng·hr/mL，雌で 715.2 ng·hr/mL であった。

(5) JTZ-951 の妊娠ラット 11 日間反復経口投与トキシコキネティクス試験－代謝物(R)-M2 濃度測定－ [Report/Study Number: JTZ951-TX-057/[redacted]902]

（参考資料：CTD4.2.3.7.5-5）

JTZ-951 を投与した胚・胎児発生に関する試験における(R)-M2 の全身曝露を調べる目的で，妊娠 SD 系ラット（6 匹）に，JTZ-951（用量：30 mg/kg）を GD7～17 までの 11 日間反復経口投与し，(R)-M2 の全身曝露を調べた。

(R)-M2 の全身曝露は GD7（投与 1 日目）と比較し GD17（投与 11 日目）で低く，GD17 における C_{max} は 62.7 ng/mL，AUC_{0-24} は 430.2 ng·hr/mL であった。

(6) 代謝物(R)-M2 の細菌を用いる復帰突然変異試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-051/[redacted]905]

（参考資料：CTD4.2.3.7.5-6）

(R)-M2 の復帰突然変異誘発能を *Salmonella typhimurium*（TA98，TA1537，TA100 及び TA1535）及び *Escherichia coli*（WP2*uvr*A）を用い，プレインキュベーション法により S9 mix 存在下及び S9 mix 非存在下で検討した。

本試験は，別途実施した代謝物(R)-M2 の予備復帰突然変異試験（CTD4.2.3.7.5-11）の結果に基づき選択された下記の用量にて実施した。

菌株名	処理濃度（μg/plate）	
	S9 mix 存在下	S9 mix 非存在下
TA98, TA1537, TA100, TA1535 and WP2*uvr*A	0, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000	0, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000

(R)-M2 の抗菌作用によると考えられる生育阻害及び析出は，いずれの菌株も処理した最高用量まで認められなかった。

(R)-M2 は，*S. typhimurium* 4 菌株，*E. coli* 1 菌株に対して S9 mix の有無に関わらず，処理用量の範囲で復帰変異原性を示さなかった。

一方，陽性対照物質処理群では，高頻度に復帰変異コロニーの誘発が認められた。

(7) 代謝物(R)-M2 の TgrasH2 wild type マウスを用いた単回経口投与試験－代謝物(R)-M2 トキシコキネティクス及び薬理作用パラメータ測定－ [Report/Study Number: JTZ951-TX-048/[redacted]064]

（参考資料：CTD4.2.3.7.5-7）

TgrasH2 wild type マウス（TK 群；1 群雄各 12 匹，雌各 9 匹，薬理作用パラメータ測定群；1 群雄各 8 匹）に 1.5 mol 等量の NaOH を加えた注射用水に溶解した(R)-M2（TK 群；雄：10，30 及び 100 mg/kg，雌：3，10，30 及び 100 mg/kg，薬理作用パラメータ測定群；30 及び 100 mg/kg）を単回経口投与し，血漿中(R)-M2 濃度，血中 EPO 及び VEGF 濃度を測定した。

一般状態，体重及び摂餌量に(R)-M2 投与の影響は認められなかった。

雌雄ともに(R)-M2 の全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は 100 mg/kg まで用量依存的に上昇し，各用量で比較すると，全身曝露は雄に比較して雌で高かった。最高用量 100 mg/kg まで，血中 EPO 及び VEGF 濃度に変化は認められなかった。

(8) 代謝物(R)-M2 の TgrasH2 wild type マウスを用いた 6 週間反復経口投与試験－代謝物(R)-M2 忍容性検討－ [Report/Study Number: JTZ951-TX-049/[redacted]072]

（参考資料：CTD4.2.3.7.5-8）

(R)-M2 の 6 週間反復投与による忍容性検討及び毒性評価のため，TgrasH2 wild type マウス（1 群雌雄各 8 匹）に対し，1.5 mol 等量の NaOH を加えた注射用水に溶解した(R)-M2（雄： 10，30 及び 100 mg/kg，雌： 3，10 及び 30 mg/kg）を 1 日 1 回経口投与した。対照群には媒体を投与した。投与期間中に一般状態観察，体重測定及び摂餌量測定を行った。投与 6 週に摂水量測定，尿検査及び眼科学的検査を実施した。投与期間終了時に剖検，血液学的検査，血液生化学的検査，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

雄の 100 mg/kg 群において，赤血球関連パラメータ（RBC 数，Hb 濃度，Ht 値），Ret 数及び MCH の増加がごく軽度に認められた。全身毒性又は臓器毒性を示唆する変化は最高用量まで認められなかった。

以上，本試験条件下において，雄は 100 mg/kg，雌は 30 mg/kg で忍容性があるものと判断した。

(9) 代謝物(R)-M2 の TgrasH2 wild type マウスを用いた 3 ヵ月間反復経口投与試験－代謝物(R)-M2 毒性評価－[Report/Study Number: JTZ951-TX-053/[redacted]]

（評価資料：CTD4.2.3.7.5-9）

(R)-M2 の毒性評価のため，TgrasH2 wild type マウス（主試験群；1 群雌雄各 12 匹，TK 群：1 群雌雄各 26 匹，対照群は 8 匹）に対し，(R)-M2（雄：10，30 及び 100 mg/kg，雌：3，10 及び 30 mg/kg）を 1 日 1 回 3 ヵ月間経口投与した。対照群には媒体を投与した。投与期間中に一般状態観察，体重，摂餌量及び摂水量の測定並びに眼科学的検査を行った。投与期間終了時に剖検，血液学的検査，血液生化学的検査，臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また，(R)-M2 の血漿中濃度を測定した。対照群及び最高用量群（雄：100 mg/kg，雌：30 mg/kg）には雌雄各 6 匹を追加し，投与期間終了後に 4 週間の休薬期間を設けて回復性を調べた。

いずれの用量においても，(R)-M2 の全身毒性又は臓器毒性を示唆する変化は認められなかった。(R)-M2 の全身曝露（C_{max} 及び AUC_{0-24}）は用量依存的に上昇し，各用量で比較すると全身曝露は雄に比較して雌で高かった。また，反復投与の影響は認められなかった。最高用量（雄：100 mg/kg，雌：30 mg/kg）における代謝物(R)-M2 の AUC_{0-24} は雄：3307.7 ng·hr/mL，雌：1909.8 ng·hr/mL であった。

(10) 代謝物(R)-M2 毒性ポテンシャルの *in silico* 解析 [Report/Study Number: JTZ951-TX-050/[redacted]103]

（参考資料：CTD4.2.3.7.5-10）

(R)-M2 の毒性ポテンシャルを評価するために *in silico* 解析として，DEREK Nexus を用いた毒性

予測を実施した。

(R)-M2 は，遺伝毒性及び臓器毒性を含む 54 種すべての評価項目について，アラート構造はなかった。げっ歯類の Carcinogenicity において“PLAUSIBLE” の結果が得られたが，これはげっ歯類でペルオキシゾーム増生により誘発される肝発癌性であり，げっ歯類に特有のものと判断した。なお，マウス及びラットを用いた JTZ-951 の反復投与試験において，ペルオキシゾーム増生を示唆する所見は認められていない。

2.6.6.8.6 不純物の毒性試験

実施せず。

2.6.6.8.7 その他の試験

2.6.6.8.7.1 光毒性試験

(1) Balb/c 3T3 細胞を用いる光毒性試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-058/[redacted]-110]

（評価資料：CTD4.2.3.7.7-1）

ほ乳類培養細胞（Balb/c 3T3 細胞）を用いて，JTZ-951 の光毒性の有無を評価した。

用量設定試験の結果，本試験は 9.49，13.3，18.6，26.0，36.4，51.0，71.4 及び 100 μg/mL の用量にて実施した。

結果は Mean Photo Effect（MPE）又は Photo Irritation Factor（PIF）を算出して判定した。

JTZ-951 の MPE は 0.101 であり，光毒性判定基準（MPE≥0.15 で陽性）を下回り，陰性であった。一方，陽性対照物質（chlorpromazine hydrochloride）処理群の MPE 及び PIF は光毒性判定基準を上回り，陽性であった。

以上の結果から，本試験条件下では JTZ-951 は光毒性を有さないと判断した。

2.6.6.8.7.2 多血に関連した所見に関する検討

(1) ラット瀉血試験 [Report/Study Number: JTZ951-TX-036/[redacted]029]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-4）

一連の毒性試験で認められた所見が多血状態の持続に関連するかを明らかにする目的で，SD ラット（1 群雌雄各 5 匹）に対して JTZ-951 を 30 mg/kg の用量で 7 週間，1 日 1 回反復経口投与し，定期的に瀉血した。JTZ-951 投与群として週 1 回瀉血（1/w-951）群及び週 2 回瀉血（2/w-951）群を設定した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）のみを投与し，非瀉血（N-Cont）群，週 1 回瀉血（1/w-Cont）群及び週 2 回瀉血（2/w-Cont）群を対照群として設けた。投与期間中に，Ht 値の測定，一般状態観察，体重測定及び摂餌量測定を行った。投与期間終了時に，剖検，血液学的検査，血液生化学的検査，臓器重量測定及び病理組織学的検査を行った。結果は先に実施した 3 ヵ月間反復経口投与予備試験（2.6.6.3.2 (2)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）の 30 mg/kg 群（非瀉血条件）と比較した。

用量設定根拠：JTZ-951 のラット 3 ヵ月間反復経口投与予備試験（2.6.6.3.2 (2)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）において，30 mg/kg では血栓形成により投与 4 週目以降で動物が死亡した。本試

験では生存及び持続的な多血に対する瀉血の効果を確認するため，30 mg/kg を投与用量として設定した。

1/w-951 及び 2/w-951 群の Ht 値は，対応する対照群の値よりも高かった。Ht 値の増加は，1/w-951 群より瀉血回数の多い 2/w-951 群で軽度であった。

投与期間中，いずれの群でも雌雄ともに死亡例はなく，JTZ-951 投与瀉血動物では，先に実施したラット 3 ヵ月間反復経口投与予備試験の非瀉血動物と比較して動物が長期間生存した。瀉血により心臓及び肺の血栓形成が軽減され，これらの臓器の微小循環障害が改善された結果，生存期間が延長したと考えられた。

瀉血条件下では以下の所見が軽減又は発生時期が遅延した；皮膚の赤色化，RBC 数，Hb 濃度，Ht 値及び Ret 数の増加，血中 Bil 濃度の増加，LDH，CPK 活性の上昇，心臓及び肺重量の増加，諸臓器（骨髄，脳，心臓，腎臓及び肺）の血栓形成及び出血。これらの所見は多血，多血状態の持続及び微小循環障害に関連する変化と考えられた。

一方で，2/w-951 群の雄では，投与期間中に体重増加量及び摂餌量が減少した。EPO 製剤の毒性試験では血中 EPO 濃度の著しい高値により摂餌量減少が誘発されることが報告されており，これら摂餌の変化も，JTZ-951 の薬理作用（EPO 産生亢進）の過剰発現に関連したものと考えられた。また，EPO 濃度の増加及び HIF の安定化に起因する変化と考えられる PLT 数の減少，白血球比率の変化，血中 TGL の増加，血中 GLU，T-CH 及び PL の減少，血中 Ca 及び IP の減少，大腿骨の骨芽細胞の増生及び不整骨梁形成，小葉辺縁性の肝細胞脂肪化，腎臓の近位尿細管上皮の脂肪化については瀉血の効果は認められなかった。

以上，瀉血により JTZ-951 を投与したラットの生存期間は延長し，多血，多血状態の持続及び微小循環障害に関連する多くの所見は瀉血によって改善又は消失した。一方，EPO 濃度の増加及び HIF の安定化に起因する所見は瀉血による影響は認められなかった。

2.6.6.8.7.3 反復投与試験における血中 EPO 濃度測定

イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験（1 又は 3 ヵ月間）における血液試料を用いて，血中 EPO 濃度の経時的並びに経日的な推移及び用量依存性を検討した。なお，ラット 3 及び 6 ヵ月，イヌ 3 ヵ月及びサル 9 ヵ月間の反復経口投与毒性試験においては，各試験内で血中 EPO 濃度を測定した（2.6.6.3 項参照）。

(1) イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験における血中 EPO 濃度の測定 [Report/Study Number: JTZ951-TX-007/[redacted]130]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-5）

JTZ-951 反復経口投与時のイヌにおける血中 EPO 濃度の経時的並びに経日的な推移及び用量依存性を検討するため，イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.3 (1)項，用量：1，3 及び 10 mg/kg）の血中 EPO 濃度を測定した。

雌雄いずれの用量においても，投与 1，6 及び 28 日目の血中 EPO 濃度は投与後 8 時間で最高濃度に達し，用量依存性に増加した。

雌雄の 1 及び 3 mg/kg における投与 6 及び 28 日目の血中 EPO 濃度は，いずれの測定ポイントに

おいても投与 1 日目とほぼ同等であり，反復投与の影響はなかった。

雌雄の 10 mg/kg における投与 6 日目の血中 EPO 濃度は，いずれの測定ポイントにおいても投与 1 日目に比較して高値であった。JTZ-951 の反復投与により増加した血中 EPO 濃度は，休薬により投与開始前値と同レベルまで減少した。投薬を再開した投与 24 日目の血中 EPO 濃度は投与 1 日目と同等の値を示したが，投与 28 日目には血中 EPO 濃度の C_{max} 及び C_{24} は，再び増加した。

以上，イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験において，血中 EPO 濃度は雌雄ともに 1 mg/kg より用量依存性に増加した。また，10 mg/kg の血中 EPO 濃度は反復投与により増加した。

(2) サル 1 ヵ月間反復経口投与試験における血中 EPO 濃度の測定 [Report/Study Number: JTZ951-TX-043/[redacted]-085]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-6）

JTZ-951 を 1 ヵ月間反復経口投与したサルにおける血中 EPO 濃度の経時的及び経日的な推移を検討するため，雄性サル 1 ヵ月間反復経口投与試験（2.6.6.3.4 (1)項，用量： 10, 30 及び 100 mg/kg）の血中 EPO 濃度を測定した。なお，100 mg/kg 群の 2 例については投与 13 日目以前に全身状態悪化のため切迫殺した。

投与 1 及び 28 日目の血中 EPO 濃度（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}8}$）は，JTZ-951 の 10 及び 30 mg/kg 群の全例で用量依存的に増加した。10 及び 30 mg/kg 群において血中 EPO 濃度は，投与初日と比較し投与 28 日目で低値を示した。100 mg/kg 群では投与初日の全例及び投与 13 日目の 1 例において血中 EPO 濃度の増加が認められた。

以上，サル 1 ヵ月試験において，血中 EPO 濃度は 10 mg/kg 以上の用量において用量依存的に増加した。

(3) サル 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験における血中 EPO 濃度の測定 [Report/Study Number: JTZ951-TX-044/[redacted]-086]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-7）

JTZ-951 を 3 ヵ月間反復経口投与したサルにおける血中 EPO 濃度の経時的及び経日的な推移を検討するため，サル 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.4 (2)項，用量： 3，10 及び 30 mg/kg）の血中 EPO 濃度を測定した。

投与 1 日目より血中 EPO 濃度（C_8，C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}8}$）は，3 mg/kg 以上で用量依存的に増加した。血中 EPO 濃度は投与 42 及び 70 日目においても 3 mg/kg 以上で増加したが，その値は投与 1 日目と比較し低値を示した。しかし，投与 42 日目と 70 日目の血中 EPO 濃度は同等であった。投与 1 日目の投与後 4 時間値では，3 mg/kg の雌 1 例，10 mg/kg 以上で血中 EPO 濃度の増加が認められた。また，雌雄差は認められなかった。

以上，サル 3 ヵ月試験において，血中 EPO 濃度は 3 mg/kg 以上で用量依存的に増加した。また，雌雄差は認められなかった。

2.6.6.8.7.4 心臓及び肺への影響に関する検討

マウス，ラット，イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験において，心臓及び肺重量の増加が認められた。これら所見が多血状態に基づくものであるかを検討する目的で，ラットを用いて，心

臓及び肺重量増加と循環血液量との関係を評価した。さらに，反復投与による血圧及び心拍数に及ぼす影響についても検討した。

(1) 循環血液量と心臓及び肺重量の関係に関する検討 [Report/Study Number: JTZ951-TX-011/[redacted]141]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-8）

雌性 SD 系ラット（1 群各 20 匹）に，JTZ-951 を 10 及び 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回，1 ヵ月間反復経口投与し，循環血液量に対する影響を検討した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。全群について，10 匹／群を 1 ヵ月間反復投与後に 1 ヵ月間休薬し，その回復性の検討を行った。投与及び回復期間終了時にエバンスブルー溶液を単回静脈内投与し，20 分後に腹大動脈より採血し，血漿中エバンスブルー濃度を測定し，循環血漿量及び循環血液量を算出した。また，赤血球関連パラメータ（RBC 数，Hb 濃度及び Ht 値）及び臓器重量（心臓及び肺）を測定した。

用量設定根拠：JTZ-951 の 1 ヵ月間反復経口投与試験（2.6.6.3.2 (1)項，用量：3, 10 及び 30 mg/kg）において，3 mg/kg から用量依存的に赤血球系パラメータ増加が認められ，10 mg/kg 以上で用量依存的な心臓及び肺重量の増加が認められた。以上より，本試験では 10 及び 30 mg/kg を投与用量として設定した。

投与期間終了時に，RBC 数，Hb 濃度及び Ht 値の用量依存的かつ顕著な増加が認められた。また，同時に循環血液量の用量依存的かつ顕著な増加も認められたが，循環血漿量については用量依存的な軽度の減少が認められた。循環血液量の増加は赤血球関連パラメータの増加に伴い認められたものと考えられた。さらに，心臓及び肺重量の用量依存的な増加が認められた。心臓及び肺重量の増加と循環血液量との間には良好な正の相関が認められたことから，これらは循環血液量の顕著な増加に対する適応性の変化と考えられた。投与 2 週目から皮膚の赤色化が認められたが，この変化は RBC 増多を反映したものと考えられた。

1 ヵ月間の休薬により，上述の変化は消失又は消失する傾向が認められた。

以上，本試験条件下において，JTZ-951 投与により RBC 数，Hb 濃度，Ht 値の増加に伴う循環血液量の顕著な増加，心臓及び肺重量の増加が認められた。心臓及び肺重量の増加は，循環血液量の顕著な増加に対する適応性の変化と考えられ，いずれの変化も休薬により消失又は消失傾向を示した。

(2) 血圧及び心拍数に関する検討 [Report/Study Number: JTZ951-SP-007/[redacted]B951SP03]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-9）

雌性 SD 系ラット（1 群 8 匹）を用いて，無麻酔下における JTZ-951 の反復投与による血圧及び心拍数に及ぼす影響を非観血法により評価した。JTZ-951 を 10 及び 30 mg/kg の用量で 1 日 1 回，28 日間反復経口投与した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。投与 1，15 及び 28 日目に収縮期血圧及び心拍数の測定を行った。投与 1 及び 28 日目の測定ポイントは投与前及び投与後 1，2，4，8 及び 24 時間とし，投与 15 日目については，投与前のみとした。また，投与開始前，投与 15 及び 29 日目に血液を採取し，RBC 数，Hb 濃度及び Ht 値を測定した。

用量設定根拠：ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.2 (1)項，用量：3, 10 及び 30 mg/kg）において，明らかな赤血球造血亢進及び心臓重量の用量依存的な増加が認められた 10 及び

30 mg/kg に設定した。

いずれの用量においても投与日数の経過に伴い，赤血球関連パラメータ（RBC 数，Hb 濃度及び Ht 値）の用量依存的かつ顕著な増加が認められた。血圧及び心拍数に対しては，投与 1 及び 28 日目において，投与後 1～4 時間に一過性の血圧低下及び心拍数増加が認められたが，反復投与による明らかな増強は認められなかった。これらの変化は単回投与試験（2.6.2.4.2（3）項）とほぼ同様の変化であった。また，投与 15 及び 29 日目の収縮期血圧及び心拍数のトラフ値に影響は認められず，赤血球造血亢進作用との関連性はなかった。

2.6.6.8.7.5 肝臓への影響に関する検討

ラット，イヌ及びサルの反復投与毒性試験において，肝臓の小葉中心性の類洞拡張又はうっ血に伴う肝細胞の萎縮が認められた。この変化が多血状態の持続によるものかを調べるためにイヌを用いて瀉血試験を実施した。また，HIF 安定化による EPO 産生亢進以外の作用に起因すると考えられる変化として，小葉辺縁性肝細胞脂肪化が認められた（ラット及びサル）。これらの肝臓の変化の毒性学的意義を考察するために肝機能バイオマーカーを評価した。

(1) イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験の肝臓病変に対する瀉血の効果 [Report/Study Number: JTZ951-TX-012/[redacted]158]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-10）

雄性ビーグル犬（非瀉血群：6 頭，瀉血群：3 頭）に，JTZ-951 を 10 mg/kg の用量で反復経口投与した。投与期間は，イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.3 (1)項，用量：1，3 及び 10 mg/kg)の 10 mg/kg 群に合わせて，投与 1～6 日目及び投与 24～29 日目の計 12 日間とした。瀉血群については，赤血球の増加を抑制するため，Ht 値を指標として必要に応じて瀉血処置を行った。投与 30 日目に剖検を行い，肝臓の病理組織学的検査を実施した。投与 1，6，24 及び 28 日目の投与後 1 時間の血漿中 JTZ-951 濃度を測定した。

用量設定根拠：JTZ-951 のイヌ 1 ヵ月間反復経口投与試験(2.6.6.3.3 (1)項，用量：1，3 及び 10 mg/kg)において，多血状態が長期間持続したことに起因する変化が認められた。本試験では上記所見に対する瀉血の効果を確認するため，10 mg/kg を投与用量として設定した。

JTZ-951 の全身曝露は瀉血及び非瀉血群間で差はなく，両群ともイヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験と同等の曝露が得られた。非瀉血群では Ht 値及び Hb 濃度は，イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験の 10 mg/kg 群と同様に増加した。瀉血群の Ht 値及び Hb 濃度は，投与開始から剖検まで投与開始前値とほぼ同等であった。病理組織学的検査において，非瀉血群で肝臓の小葉中心性の類洞拡張に伴う肝細胞の萎縮が認められたが，瀉血群ではその頻度及び程度は軽減した。

以上の結果より，イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験において認められた小葉中心性の肝細胞萎縮は，JTZ-951 の薬理作用による赤血球増多に起因した循環血液量の増加が長時間持続したことで，肝臓の類洞が拡張し，その物理的圧迫により生じたものと考えられた。

(2) ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験における血中グルタミン酸脱水素酵素及びソルビトール脱水素酵素活性測定 [Report/Study Number: JTZ951-TX-013/[redacted]162]

(参考資料：CTD4.2.3.7.7-11)

ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験（2.6.6.3.2 (1)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）の投与終了時（投与後約 24 時間）に採取した血漿試料（いずれも絶食下採血）を用いて，GLDH 及び SDH 活性を測定した。

いずれの測定項目においても，雌雄ともに最高用量まで明らかな上昇は認められなかった。

以上のことから，ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験において 30 mg/kg まで肝臓の機能障害はないものと考えられた。

(3) イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験における血中グルタミン酸脱水素酵素及びソルビトール脱水素酵素活性測定 [Report/Study Number: JTZ951-TX-014/[redacted]186]

(参考資料：CTD4.2.3.7.7-12)

イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.3 (1)項，用量：1，3 及び 10 mg/kg）の投与前，投与 7，14，21 及び 28 日目（投与前）に採取した血漿試料（いずれも絶食下採血）を用いて，GLDH 及び SDH 活性を測定した。

いずれの測定項目においても，雌雄ともに最高用量まで明らかな上昇は認められなかった。

以上のことから，イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験において 10 mg/kg まで肝臓の機能障害はないものと考えられた。

2.6.6.8.7.6 腎臓への影響に関する検討

ラット及びイヌの 1 ヵ月間反復投与毒性試験で，HIF 安定化に起因すると考えられる変化として，腎臓の近位尿細管上皮細胞の脂肪化が認められた。腎機能のバイオマーカーに対する影響を検討するとともに，腎臓の電子顕微鏡学的検査を行った。

(1) ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験における尿中腎障害バイオマーカーの測定 [Report/Study Number: JTZ951-TX-015/[redacted]197]

(参考資料：CTD4.2.3.7.7-13)

ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験（2.6.6.3.2 (1)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）で投与 4 週目に採取した尿試料を用いて尿中腎障害バイオマーカーを測定した。測定項目は，β2 マイクログロブリン（糸球体由来），Kim-1（近位尿細管由来），Clusterin（近位尿細管に局在）及び Cystatin C（近位尿細管の再吸収及び糸球体ろ過に関連）とした。

いずれの測定項目においても雌雄とも対照群及び投与群間で差は認められなかった。

以上のことから，ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験において最高用量まで腎臓の機能障害はないものと考えられた。

(2) イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験における尿中 Kim-1 濃度測定 [Report/Study Number: JTZ951-TX-014/[redacted]186]

(参考資料：CTD4.2.3.7.7-12)

イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.3 (1)項，用量：1，3 及び 10 mg/kg）で投与前，投与 9，23 及び 27 日目に採取した尿試料を用いて尿中 Kim-1 濃度を測定した。

雌雄ともに最高用量まで増加は認められなかった。

以上のことから，イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験において最高用量まで腎臓の機能障害はないものと考えられた。

(3) ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験における腎臓の電子顕微鏡学的検査 [Report/Study Number: JTZ951-TX-016/[redacted]179]

(参考資料：CTD4.2.3.7.7-14)

ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験（2.6.6.3.2 (1)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）の対照群及び 30 mg/kg の雌各 3 例から採取した腎臓について透過型電子顕微鏡による超微形態学的観察を実施した。

近位尿細管上皮において，ミトコンドリアの膨化及び空胞化が 30 mg/kg で軽度に認められた。細胞質内の脂肪滴は，対照群に比較して 30 mg/kg ではその数が増加し，一部は大型化していた。両群間で脂肪滴に質的な違いは認められなかった。尿細管上皮細胞間の密着結合（tight junction）に異常は認められなかった。

ミトコンドリアの膨化及び空胞化は，JTZ-951 の薬理作用に起因した HIF 安定化に伴う細胞内の擬似低酸素化及び多血状態の持続に起因した循環障害による細胞内の低酸素状態に関連して発現したものと考えられた。一方，尿細管上皮細胞間の密着結合の解離は認められず，同一細胞内には多数の正常なミトコンドリアが確認されることから，細胞の機能は保持されているものと考えられた。

(4) イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験における腎臓の電子顕微鏡学的検査 [Report/Study Number: JTZ951-TX-017/[redacted]180]

(参考資料：CTD4.2.3.7.7-15)

イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.3 (1)項，用量：1，3 及び 10 mg/kg）の対照群及び 10 mg/kg の雌各 2 例から採取した腎臓について透過型電子顕微鏡による超微形態学的観察を実施した。

近位尿細管上皮において，ミトコンドリアの膨化及び空胞化が 10 mg/kg で軽度に認められた。細胞質内の脂肪滴及びライソゾームは，対照群に比較し，10 mg/kg でその数が増加し，一部は大型化していた。両群間で脂肪滴に質的な違いは認められなかった。尿細管上皮細胞間の密着結合（tight junction）に異常は認められなかった。

ミトコンドリアの膨化及び空胞化は，JTZ-951 の薬理作用に起因した HIF 安定化に伴う細胞内の擬似低酸素化及び多血状態の持続に起因した循環障害による細胞内の低酸素状態に関連して発現したものと考えられた。一方，尿細管上皮細胞間の密着結合の解離は認められず，同一細胞内

には多数の正常なミトコンドリアが確認されることから，細胞の機能は保持されているものと考えられた。

2.6.6.8.7.7 骨への影響に関する検討

ラット 1 及び 3 ヵ月間反復投与試験において，大腿骨骨幹の骨芽細胞の増生及び不整骨梁形成が認められた。これらの変化について骨代謝マーカーを評価した。

(1) ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験における骨代謝マーカーの測定 [Report/Study Number: JTZ951-TX-018/[redacted]149]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-16）

ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験（2.6.6.3.2 (1)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）で得られた尿試料（投与 4 週目）及び血漿試料（投与期間終了剖検時）を用いて，骨形成マーカーである血中オステオカルシン濃度及び骨吸収マーカーである尿中デオキシピリジノリン／クレアチニン濃度比を測定した。

雌の 30 mg/kg で血中オステオカルシン濃度の増加が認められた。雄の血中オステオカルシン濃度又は雌雄の尿中デオキシピリジノリン／クレアチニン濃度比については，いずれの用量においても JTZ-951 の影響は認められなかった。

2.6.6.8.7.8 網脈絡膜への影響に関する検討

イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験では，最高用量 10 mg/kg で網膜萎縮及び脈絡膜の血管内皮/線維芽細胞の増生が認められた。これらの所見の発現機序が多血の長時間持続による循環障害に基づくものであるかを検討する目的で，イヌを用いて瀉血試験を実施した。また，イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び，イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験の病理変化に対する瀉血効果の検討で得られた血漿を用いて，血中 ET-1 及び CRP 濃度を測定した。また，血中 CRP 濃度についてはラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験で得られた血漿サンプルについても測定した。

(1) イヌ反復経口投与試験時の瀉血効果，眼科学的検査及び眼病理組織学的検査 [Report/Study Number: JTZ951-TX-019/[redacted]199]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-17）

雄性ビーグル犬（7 ヵ月齢，14 匹）に JTZ-951 を 10 mg/kg の用量で反復経口投与し，半数例には多血による循環障害を軽減するために瀉血を実施し，非瀉血群と比較して網脈絡膜病変発現における循環障害の寄与について検討した。群構成は瀉血群（7 匹）及び非瀉血群（7 匹）とし，瀉血群は，JTZ-951 の薬理作用による Ht 値の増加を抑制するため，適宜瀉血を施した。Ht 値は，投与期間中の毎日，全例について測定した。一般状態変化，体重減少率及び摂餌量を基に個体ごとに全身状態を評価した。全身状態の悪化が認められた場合，投与を中止し，補液を適宜，静脈内又は皮下に投与した。全身状態が回復した場合は，投薬を再開した。投与開始前，休薬開始日及び最終投与日に眼科学的検査（眼底観察及びフルオレセイン眼底造影）を行った。最終投与日の翌日に剖検し，眼球について病理組織学的検査を実施した。投与 1 日目，休薬開始前日，投薬再開日及び最終投与日の投与前，投与後 1 及び 24 時間に血漿中 JTZ-951 濃度を測定した。

用量設定根拠:JTZ-951のイヌ1ヵ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.3 (1)項)において,10 mg/kgで網脈絡膜病変が認められた。以上のことから,本試験の用量は10 mg/kgを設定した。

非瀉血群及び瀉血群の平均投与日数は同等であった(非瀉血群:22.3日,瀉血群:21.8日[死亡例を除く])。

各測定日のJTZ-951の全身曝露は,瀉血群と非瀉血群でほぼ同等であり,先に実施したイヌ1ヵ月間反復経口投与毒性試験とも同等であった。

非瀉血群及び瀉血群のいずれの群でも,摂餌量の減少,糞便量の減少,黒色便,無便,体表温の低下,摂餌量減少に伴う体重の減少,削痩,脱水症状及び自発運動の低下といった全身状態の悪化が認められた。これらの所見は,いずれも休薬により消失した。

瀉血群の1例は,最終投与日(投与37日目,投薬再開10日目)の眼科学的検査終了直後に死亡した。また,同群の他の1例は,瀉血部位の重度の化膿によると考えられる高熱に伴い全身状態が著しく悪化したため,投与16日目(休薬6日目)に切迫殺した。

非瀉血群のHt値は,投与開始前(40.9%)に比較して,投与15日目まで急激に増加した(60.1%)。Ht値は休薬期間中もほとんど減少せず,投薬再開後には休薬期間終了時の値よりも再び増加した。投与1日目から剖検までの最高Ht値は平均65.3%であった。一方,瀉血群のHt値は,投与開始から剖検まで投与開始前値(41.4%)とほぼ同等の値で推移した。

蛍光眼底検査では,非瀉血群の全例で網膜動脈内の蛍光色素の到達不良が認められ,視神経乳頭部の動脈拡張及び視神経乳頭近傍の赤色巣が認められた個体もいた。これらの変化は,いずれも網膜血管における循環障害を示唆する変化と考えられた。網膜動脈内の蛍光色素の到達不良は,瀉血群でも散見されたが,その発現例数は,非瀉血群に比較して明らかに減少した(非瀉血群:7例,瀉血群:2例)。また,網膜に上記所見が認められた一部の個体では血管から網膜組織への漿液漏出を示唆する変化である過蛍光スポットも認められた。これらのことから,非瀉血群では,網膜血管における循環障害により血管から網膜組織へ漿液が漏出しているものと考えられた。

病理組織学的検査では,非瀉血群の1例及び瀉血群の1例で中等度の網膜萎縮が認められた。これらの個体では,眼科学的検査において網膜血管の循環障害を示唆する変化が認められていたことから,網膜萎縮は網膜血管の循環障害によって漏出した漿液により網膜が圧迫されたことによる変化と推察された。

なお,瀉血群の1例では,瀉血処置によりHt値の増加が抑制されていたにも関わらず,網膜血管における循環障害を示唆する変化が認められた。この個体は,瀉血操作により全身状態が著しく悪化し,投与16日目(休薬6日目)に切迫殺した個体であったことから,網膜血管における循環障害は,多血による循環障害だけではなく,動物の全身状態の極度の悪化によっても惹起されるものと考えられた。

(2) イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験における血中 ET-1 濃度の測定 [Report/Study Number: JTZ951-TX-020/[redacted]192]

(参考資料:CTD4.2.3.7.7-18)

JTZ-951のイヌ1ヵ月間反復経口投与毒性試験(2.6.6.3.3 (1)項,投与用量:1,3及び10 mg/kg)における投与前及び投与28日目の血中ET-1濃度を測定した。

その結果，投与 28 日目の血中 ET-1 濃度は，雄の 10 mg/kg 及び雌の 3 mg/kg 以上で対照群又は投与前に比較して高値であった。

(3) イヌ反復投与試験 –瀉血効果の検討– における血中 ET-1 濃度測定 [Report/Study Number: JTZ951-TX-012/[redacted]158]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-10）

イヌ反復経口投与瀉血試験（2.6.6.8.7.8 (1)項，用量：10 mg/kg）において，投与開始前，投与 1，3 及び 4 週目の血中 ET-1 濃度を測定した。

非瀉血群における血中 ET-1 濃度は，投与開始前値に比較し，投与 1 週目には明らかに増加し最高濃度に達した。休薬により減少し，投与 3 週目においては投与開始前とほぼ同程度まで減少した。さらに，投与再開後の投与 4 週目において血中 ET-1 濃度は再び増加した。

瀉血群においても非瀉血群と同様の血中 ET-1 濃度の変動が認められたが，その程度は非瀉血群に比較して軽度であった。

(4) ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験における血中 CRP 濃度の測定 [Report/Study Number: JTZ951-TX-013/[redacted]162]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-11）

ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験（2.6.6.3.2 (1)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）において投与終了時（投与後約 24 時間）に採取した血漿試料（いずれも絶食下採血）を用いて，血中 CRP 濃度を測定した。

雌雄ともに最高用量まで CRP 濃度に影響は認められなかった。

(5) イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験における血中 CRP 濃度の測定 [Report/Study Number: JTZ951-TX-014/[redacted]186]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-12）

イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.3 (1)項，用量：1，3 及び 10 mg/kg）において投与前，投与 7，14，21 及び 28 日目（投与前）に採取した血漿試料（いずれも絶食下採血）を用いて，血中 CRP 濃度を測定した。投与 7 及び 28 日目において，10 mg/kg の血中 CRP 濃度は，同日の対照群及び投与開始前に比較して顕著に増加した。投与 21 日目には休薬により対照群とほぼ同程度まで減少したが，投与再開後の 28 日目には再び増加した。また，投与期間を通し，3 mg/kg では血中 CRP 濃度が一過性に高値を示す個体が散見された。

2.6.6.8.7.9 副生殖器（前立腺及び精嚢）への影響に関する検討

ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験では，低用量から前立腺及び精嚢重量の減少が認められた。この変化が血中テストステロン濃度への影響によるものかを検討するために同試験で得られた血漿を用いてテストステロン濃度を測定した。

(1) ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験における血中テストステロン濃度の測定 [Report/Study Number: JTZ951-TX-021/[redacted]148]

(参考資料：CTD4.2.3.7.7-19)

ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験（2.6.6.3.2 (1)項，用量：3，10 及び 30 mg/kg）において投与期間終了時の雄の対照群及び 30 mg/kg の血中テストステロン濃度を測定した。

雄の 30 mg/kg の血中テストステロン濃度は，対照群と同等であった。ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験で認められた前立腺及び精嚢重量の減少については，血中テストステロン濃度の減少によるものではないと考えられた。

2.6.6.8.7.10 血中 TGL 濃度の増加に関する検討

ラット，イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験において血中 TGL 濃度の軽度な増加が認められたため，ラット及びイヌの血中 TGL 濃度推移を確認した。また，血中 TGL 濃度増加の機序について検討するため，ラットを用いた試験を実施した。

(1) 非絶食下でのラット単回経口投与試験 –血中 TGL 濃度の経時的推移の検討– [Report/Study Number: JTZ951-TX-022/[redacted]126]

(参考資料：CTD4.2.3.7.7-20)

雄性 SD 系ラット（1 群各 5 匹）に，JTZ-951（用量：3，10 及び 30 mg/kg）を，非絶食条件下で単回経口投与し，投与後 2，4，8，12，24 及び 48 時間に血中 TGL 濃度を測定し，その経時的推移を検討した。

10 mg/kg 以上で，対照群と比較して投与後 2 時間から用量依存的な血中 TGL 濃度の増加が認められた。これらの投与群において血中 TGL 濃度は，投与後 8 時間に最も高い値を示し，その後次第に減少した。

(2) ラット単回経口投与試験 –血中 TGL 濃度増加に対する食餌の影響の検討– [Report/Study Number: JTZ951-TX-023/[redacted]145]

(参考資料：CTD4.2.3.7.7-21)

雄性 SD 系ラット（1 群各 5 匹）に，JTZ-951（3，10 及び 30 mg/kg）を，絶食下で単回経口投与し，投与後 2，4，8，12，24 及び 48 時間に血中 TGL 濃度を測定した。投与後 8 時間に給餌した。また，非絶食ラットに JTZ-951（30 mg/kg）を単回経口投与し，投与後 2，4，8，12，24 及び 48 時間に血中 TGL 濃度を測定した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。絶食及び非絶食群の投与後 8 及び 12 時間の血漿を用いて，HPLC によるリポタンパク分析を実施した。

絶食条件において，10 mg/kg 以上で，対照群と比較して投与後 2 時間から用量依存的な血中 TGL 濃度の増加が認められた。これらの投与群の血中 TGL 濃度は，投与後 12 時間に最も高い値を示し，その後次第に減少した。非絶食条件において，30 mg/kg で投与後 2 時間から血中 TGL 濃度の増加が認められ，投与後 8 時間に最も高い値を示した。30 mg/kg での血中 TGL 濃度増加の程度は，絶食及び非絶食条件でほぼ同等であった。

HPLC によるリポタンパク分析の結果，絶食及び非絶食条件ともに投与後 8 及び 12 時間に VLDL-TGL 及び CM-TGL の増加が認められた。

以上，ラットでは絶食条件において JTZ-951 の 10 mg/kg 以上で血中 TGL 濃度の増加が認められた。JTZ-951 による血中 TGL 濃度の増加において，摂餌の影響は認められず，絶食条件及び非絶食条件とも血中 TGL 濃度の増加は VLDL-TGL 及び CM-TGL の増加によるものと考えられた。

(3) イヌにおける単回経口投与試験 –血中 TGL 濃度の経時的推移及び用量依存性の検討–
[Report/Study Number: JTZ951-TX-004/[redacted]007]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-22）

イヌに単回経口投与した際の血中 TGL 濃度の用量反応性について検討するため，一晩絶食した雄性ビーグル犬（1 群各 3 匹）に JTZ-951（1，3，10 及び 30 mg/kg）を単回経口投与して経時的に採血を行い，血中 TGL 濃度を測定した。事前に媒体（0.5% MC 水溶液）投与時の血中 TGL 濃度の日内変動を確認するため，全例に媒体を単回投与して経時的に採血を行い，血中 TGL 濃度を測定した。JTZ-951 投与は媒体投与から 7 日間間隔を空けて実施した。また，媒体投与，JTZ-951 投与とも給餌は投与後 4～8 時間に実施した。

3 mg/kg 以上で，投与後 4 時間において血中 TGL 濃度の軽度の増加が用量依存的に認められた。媒体投与後 8 時間（給餌後 4 時間）では，給餌により血中 TGL 濃度が増加した。JTZ-951 投与後 8 時間（給餌後 4 時間）の血中 TGL 濃度は，媒体投与後の血中 TGL 濃度の増加と同程度であった。以上のことから，JTZ-951 投与後の血中 TGL 濃度の増加は摂餌による血中 TGL 濃度の増加の範囲内の変化であった。

(4) 肝 TGL 放出速度に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-018/[redacted]B951TG01]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-23）

雄性 SD 系ラット（1 群各 6 匹）に JTZ-951（30 mg/kg）を単回経口投与し，経口投与後 4 時間に 10% tyloxapol（LPL 阻害剤）を尾静脈内投与した。尾静脈内投与後 0.5，1，2 及び 4 時間の血液を採取し，血中 TGL 濃度を測定した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。

JTZ-951 は，30 mg/kg で肝 TGL 放出速度に対して作用を示さなかった。

(5) TGL 消失速度に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-019/[redacted]B951TG02]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-24）

雄性 SD 系ラット（1 群各 6 匹）に JTZ-951（30 mg/kg）を単回経口投与し，経口投与後 4 時間に TGL イントラリポス®を尾静脈内投与した。尾静脈内投与後 5，10，20，30，60 及び 120 分の血液を採取し，血中 TGL 濃度を測定した。対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）を投与した。

30 mg/kg で血中 TGL 半減期が延長した。したがって，JTZ-951 の血中 TGL 増加作用は，TGL 消失速度の低下作用によるものであると考えられた。

(6) 血中 LPL 活性に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-020/[redacted]B951TG03]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-25）

雄性 SD 系ラット（1 群各 6 匹）に JTZ-951（30 mg/kg）を単回経口投与し，経口投与後 1 時間 50 分，3 時間 50 分及び 7 時間 50 分にヘパリンナトリウム溶液を尾静脈内投与した後，経口投与

後2, 4及び8時間の血液を採取した。ヘパリン投与により血中に遊離してくるtotal lipase活性(LPLの至適条件におけるLPL及びhepatic lipaseの活性）及びhepatic lipase活性（hepatic lipaseの至適条件におけるhepatic lipaseのみの活性）を指標として, JTZ-951のLPL活性低下作用を検討した。対照群には媒体（0.5% MC水溶液）を投与した。

血中TGLの分解にはLPL及びhepatic lipaseが関与しているが, 対照群におけるtotal lipase活性は，hepatic lipase活性と比較して十分に高値であったことから，血中TGL分解に対する寄与は，LPLの方が大きいと考えられた。JTZ-951は，ラットにおいて投与後2時間からhepatic lipase活性を増加させたが, 投与後8時間においてはtotal lipase活性を低下させた。したがって, JTZ-951は，30 mg/kgで，LPL活性を低下させたと考えられた。

以上のことから，JTZ-951によるTGL消失速度低下作用には，LPL活性低下作用が関与していると考えられた。

(7) 肝臓及び腎臓 ANGPTL4 mRNA 発現に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-016/[redacted]B951TG04]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-26）

雄性SD系ラット（1群各6匹）にJTZ-951（30 mg/kg）を単回経口投与し，投与後1，2及び4時間に肝臓及び腎臓を採取し，肝臓及び腎臓におけるANGPTL4（LPL活性抑制因子）のmRNA発現量を測定した。

肝臓及び腎臓におけるANGPTL4 mRNA発現が有意に増加した。その際のANGPTL4 mRNA発現は，投与後2時間に増加した後，投与後4時間に減少した。

2.6.6.8.7.11 VEGFへの影響に関する検討

(1) 血中VEGF濃度に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-015/[redacted]B951NV01]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-27）

雄性SD系ラット（1群各6匹）にJTZ-951（3，10及び30 mg/kg）を単回経口投与し，投与前，投与後1，2，4，8及び24時間の血中VEGF濃度を測定した。

30 mg/kgで血中VEGF濃度は，投与後4時間まで有意に増加した後，投与後24時間までに対照群と同程度まで減少した。

(2) 網膜VEGF mRNA発現に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-025/[redacted]BHIFVM01]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-28）

雄性SD系ラット（1群各6匹）にJTZ-951（30 mg/kg）を単回経口投与し，投与後2及び4時間に血漿及び網膜を採取した。血中VEGF濃度を測定するとともに，網膜のVEGF mRNA量を測定した。

投与後2及び4時間における血中VEGF濃度は有意に増加したが，網膜VEGF mRNA発現にJTZ-951の影響は認められなかった。

(3) 網膜血管透過性に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-026/[redacted]B951VK01]

(参考資料：CTD4.2.3.7.7-29)

雄性 SD 系ラット（1 群各 12 匹）に JTZ-951（300 mg/kg）を単回経口投与した（JTZ-951 群）。VEGF 陽性対照群には媒体（0.5% MC 水溶液）のみを投与した。経口投与の 8 時間後，VEGF 陽性対照群にリコンビナントラット VEGF（200 μg/site）を，JTZ-951 群にリン酸緩衝生理食塩水をそれぞれ両眼に硝子体内投与した。硝子体内投与の 24 時間後に血漿及び硝子体液を採取し，蛋白濃度を測定した。血漿中蛋白濃度に対する硝子体中蛋白濃度の比を網膜血管透過性の指標とした。

VEGF 陽性対照群では，網膜血管透過性が亢進したが，JTZ-951 群では網膜血管透過性の亢進は認められなかった。

(4) 腫瘍増殖に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-032/[redacted]B951XG01]

(参考資料：CTD4.2.3.7.7-30)

ヒト大腸がん細胞株 COLO205（3×10^5 細胞／個体）を移植した雌性 Balb/c-nu/nu マウス（各 10 匹／群）に，JTZ-951（30 mg/kg）を 20 日間反復経口投与し，JTZ-951 が腫瘍増殖に及ぼす影響を評価した。試験期間中，腫瘍径を継時的に測定した。また，解剖時に Hb 濃度及び血中 VEGF 濃度を測定した。

JTZ-951 は，対照群に比較して Hb 濃度及び血中 VEGF 濃度を増加させたが，腫瘍体積には明らかな影響を及ぼさなかった。

以上の結果より，JTZ-951 は 30 mg/kg において血中 VEGF 濃度を増加させるが，腫瘍増殖には影響を及ぼさないと考えられた。

2.6.6.8.7.12 血栓形成機序に関する検討

(1) JTZ-951 のサル 1 ヵ月間予備反復投与試験の肺組織についての病理学的検討 [Report/Study Number: JTZ951-TX-040/[redacted]001]

(参考資料：CTD4.2.3.7.7-31)

JTZ-951 のサル 1 ヵ月間予備反復投与試験（2.6.6.3.4 (1)項，用量：10，30 及び 100 mg/kg）において採取した肺のホルマリン固定残組織を用いて追加標本を作製し，血栓の有無について病理組織学的に精査した。肺固定材料は Computer Tomography（CT）撮影後に追加切り出しを行い，組織標本を作製し，病理組織学的検査を実施した。

CT 画像の観察において明らかな変化は認められなかった。病理組織学的検査において低用量の 10 mg/kg から肺にごく軽度の血栓形成が認められた。なお，同試験では，同じく 10 mg/kg から D-dimer の軽度増加が認められている。

(2) 高用量投与時の血栓形成に対する作用 [Report/Study Number: JTZ951-PH-027/[redacted]B951TH01]

(参考資料：CTD4.2.3.7.7-32)

雄性 SD 系ラット（1 群各 7 匹）に JTZ-951（100 mg/kg）を 1 日 1 回，2，4 又は 7 日間反復経口投与した。最終投与の翌日に血液及び血漿を採取し，Hb 濃度，Ret 数，PLT 数及び Mean PLT

volumes（MPV）を測定した。また，血中 Thrombin-antithrombin complex（TAT）及び PAI-1 濃度を測定した。さらに，肺及び心臓を採取し，病理組織学的に血栓形成を評価した。

JTZ-951 を高用量で 4 日間以上反復投与することで，肺又は心臓に血栓形成が確認された。Ret 数及び PAI-1 濃度は投与 2 日目から，MPV 及び TAT 濃度は投与 4 日目から，Hb 濃度は投与 7 日目で有意な増加が確認された。また，PLT 数は投与 7 日目まで変化が認められなかった。

肺で血栓形成が確認された 4 日間投与群において，Ret 数，MPV，TAT 及び PAI-1 濃度は増加しているのに対して，Hb 濃度及び PLT 数は増加していなかった。以上のことから，血液凝固系の亢進と線溶系の低下が複合的に作用することで，多血状態を伴わなくても血栓形成が起こることが示唆された。

2.6.6.8.7.13 染色体異常誘発の基礎メカニズムに関する検討

(1) CHL 細胞での JTZ-951 による染色体異常誘発における HIF-1α 蛋白合成阻害剤の影響

[Report/Study Number: JTZ951-TX-027/[redacted]009]

（参考資料：CTD4.2.3.7.7-33）

JTZ-951 の CHL 細胞における染色体異常の誘発が，JTZ-951 の薬理作用である HIF-1α 蛋白の安定化に関連するものかどうかを調べるため，HIF-1α 蛋白合成阻害剤又は蛋白質翻訳阻害剤である KC7F2[9, 10]を用いて JTZ-951 による CHL 細胞の染色体異常の誘発に対する影響を評価した。また，培養液中の JTZ-951 及び KC7F2 の相互作用の有無を調べるため，反応終了後の細胞内 JTZ-951 濃度を測定した。

S9 mix 非存在下，KC7F2 又は DMSO で CHL 細胞を 1 時間前処理し，その後 JTZ-951 又は DMSO で 24 時間処理した。本試験での KC7F2 の用量は，用量設定試験の結果を基に，細胞増殖抑制が約 50%となる用量を設定した。

各用量の KC7F2 で処理した後，DMSO で 24 時間処理した群では，いずれの用量においても染色体異常の誘発は認められなかった。

DMSO で 1 時間処理した後，150 μg/mL の JTZ-951 で 24 時間処理した群（JTZ-951 単独処理）では，染色体異常（構造異常）の誘発（発現率 17.5%）が認められ，その程度は，ほ乳類培養細胞（CHL 細胞）を用いる *in vitro* 染色体異常試験（2.6.6.4.1.2 (1)項）の結果と同程度であった。この時の細胞増殖抑制率は 45.8%であった。

KC7F2（用量：100～250 μg/mL）で 1 時間処理した後，150 μg/mL の JTZ-951 で 24 時間処理した群（KC7F2-JTZ-951 併用処理）では，染色体異常の誘発は認められなかった。KC7F2-JTZ-951 併用処理群の細胞増殖抑制率は，47%から 56%であり，いずれも JTZ-951 単独処理群より高かった。細胞内 JTZ-951 濃度は，JTZ-951 単独処理と KC7F2-JTZ-951 併用処理との間で有意な差は認められなかった。

以上のことから，CHL 細胞における JTZ-951 の染色体異常の誘発は，JTZ-951 の薬理作用である HIF-1α 蛋白の安定化に関連しているものと考えられた。

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 毒性試験で認められた所見に関する考察

JTZ-951 の毒性を評価するために，マウス，ラット及びイヌを用いた単回経口投与試験，マウス（3 ヵ月間まで），ラット（6 ヵ月間まで），イヌ（3 ヵ月間まで）及びサル（9 ヵ月間まで）を用いた反復経口投与毒性試験を実施した。一部の反復経口投与毒性試験では，回復性を調べるため休薬期間を設定した。遺伝毒性については，*in vitro*（細菌を用いる復帰突然変異試験，ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験並びにヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験）及び *in vivo*（ラット骨髄細胞を用いる染色体異常試験並びにラット肝臓及び末梢血を用いたコメットアッセイ）の遺伝毒性試験により評価した。がん原性については，TgrasH2 マウスを用いた 6 ヵ月間反復経口投与試験及びラットを用いた 2 年間反復経口投与試験により評価した。生殖発生毒性については，ラットにおける雄性及び雌性生殖能への影響，ラット及びウサギにおける胚・胎児発生への影響並びにラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に及ぼす影響を評価した。光毒性については，3T3 細胞を用いて評価した。また，一般毒性試験及び遺伝毒性試験で認められた所見について種々の補強試験を実施した。加えて，主代謝物(R)-M2 についても，安全性の評価を実施した。

JTZ-951 の薬理作用は，HIF-PH 阻害作用による HIF 安定化に基づく EPO 産生亢進とそれによる造血亢進である。マウス，ラット及びイヌ単回経口投与試験において，それぞれ 10, 3 及び 1 mg/kg の用量から，血中 EPO 濃度の用量依存的な増加が認められた。また，ラット及びイヌでは単回投与後 4～5 日目に Ret 数の増加が，単回投与後 4～10 日目に RBC 数，Hb 濃度及び Ht 値の増加又は増加傾向が認められた。さらに，ラット，イヌともにそれぞれ 100 及び 30 mg/kg 投与時に血中 EPO 濃度の著しい増加に起因した摂餌量の減少が認められた。

ラット高用量単回経口投与試験の結果から，致死量は 1000 mg/kg であり，動物の死亡は多血による高度な循環障害によるものと考えられた。500 mg/kg 以上の投与群では，全身状態の悪化を示唆する一般状態の変化，摂餌量及び体重の明らかな減少が認められた。250 mg/kg 投与群では，摂餌量及び体重の軽度な減少が認められたが，一般状態の変化は認められなかった。

マウス，ラット，イヌ及びサルを用いた反復経口投与毒性試験において，いずれの動物種ともに JTZ-951 の全身曝露は用量依存的に上昇した。これらの反復経口投与毒性試験では JTZ-951 の薬理作用によると考えられる種々の所見が認められた。反復経口投与毒性試験で認められた主な所見を表 8 に記載した。

表 8　JTZ-951 の反復投与毒性試験における主な変化の発現状況

所見の分類
1. HIF-PH 阻害作用による EPO 産生亢進に関連する変化
1.1. 血中 EPO 濃度の高値に関連した変化
摂餌量減少，摂餌量減少に伴う体重減少
1.2. EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連する変化
赤血球関連パラメータ（RBC 数，Hb 濃度，Ht 値），Ret 数の増加
鉄関連パラメータ（血中 Fe 濃度，TSAT，UIBC，TIBC）の変化
MCV, MCH, MCHC の変化
骨髄の造血亢進，M/E 比減少，赤色化，脂肪細胞の減少
脾臓の重量増加，腫大及び赤芽球系の髄外造血亢進
肝臓の髄外造血亢進
1.3. 赤血球増多に関連する変化
皮膚，眼瞼，網脈絡膜の赤色化
腎尿細管，脾臓，肝 Kupffer 細胞，肝細胞におけるヘモジデリン沈着
血中 AST，LDH，CPK，GU 活性上昇，血中 K，間接 Bil 濃度の増加
尿中 Bil，URO 濃度の増加，尿潜血
1.4. 多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化
動物の死亡
心臓の重量増加，限局性出血，血栓形成
肺の重量増加，限局性出血，血栓形成
肝臓の重量減少，小葉中心性のうっ血又は類洞の拡張に伴う肝細胞萎縮，炎症性細胞浸潤，肝細胞単細胞壊死，線維化，血中 TP, ALB 濃度の減少，血中 ALT, GLDH 活性の上昇
腎臓の重量増加，再生尿細管の増加，遠位尿細管の拡張，炎症性変化，尿中 Kim-1 排泄量増加，血色素尿/尿色異常
胃粘膜のびらん
副生殖器の重量減少
諸臓器のうっ血，血栓形成
眼球脈絡膜の細胞増生，網膜の萎縮
後肢の腫脹，浮腫，肉芽組織，炎症性変化
1.5. EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化
PLT 数の変化
白血球数の増加，白血球比率の変化
T-CH 及び PL の変化
2. EPO 産生亢進以外の HIF-PH 阻害作用による変化
血中 TGL 濃度の増加
血中 GLU 濃度の減少
血中乳酸値の増加
肝臓小葉辺縁性肝細胞脂肪化の増加，腎臓近位尿細管上皮細胞の脂肪化，胆嚢上皮細胞の脂肪化
大腿骨骨幹の骨芽細胞／間葉系細胞の増生，不整骨梁形成
血中 Ca 及び IP の減少
血中 VEGF 濃度の増加
3. EPO 産生亢進又は HIF-PH 阻害に起因した血液凝固系及び線溶系への影響
血中 FIB の変化
単球の増加
PT，APTT 延長
血中 D-dimer，PIC の増加
血中 PAI-1 の増加

1. HIF-PH 阻害作用による EPO 濃度増加に関連する変化

1.1. 血中 EPO 濃度の高値に関連した変化

・ 摂餌量減少，摂餌量減少に伴う体重減少

イヌ 1 ヵ月間反復投与毒性試験の最高用量 10 mg/kg において投与初日から摂餌量の減少又は摂餌の廃絶がみられ，摂餌量の顕著な減少に伴って投与 3 日目以降に体重減少及び全身状態の悪化が認められた。また，3 mg/kg でも一部の動物に軽度の摂餌量減少が認められた。イヌ 3 ヵ月間反復投与毒性試験（連日投与）の最高用量 3 mg/kg においても軽度の摂餌量減少とそれに引き続く体重増加抑制が認められたが，それは軽度かつ一部の個体に限られた変化であり，投与期間の延長に伴う増強は認められなかった。摂餌量の減少はラット及びイヌの単回経口投与試験においても認められた。単回経口投与による摂餌量の減少は，ラットでは 100 mg/kg 以上，イヌでは 30 mg/kg で，投与日又は投与翌日から発現し，用量の上昇とともにその発現期間が持続した。ラット，イヌとも摂餌量減少が認められた用量において，JTZ-951 の全身曝露は投与後約 1 時間に最高値に達した後，速やかに消失し，投与後 24 時間以降の全身曝露は低値であった。このことから，摂餌量減少は JTZ-951 の全身曝露に直接依存するものではないと考えられた。

ダルベポエチンやエポエチン α / β 等の ESA においてもラット及びイヌに高用量を単回投与又は反復投与した際に摂餌量減少が認められることが報告されている[1-3]。JTZ-951 の単回経口投与で，ラット，イヌともに血中 EPO 濃度は投与後 8 時間又は 24 時間に最大となった後に減少するものの，用量の上昇に伴い血中 EPO 濃度は長時間にわたり高値を維持した。特に，両動物種とも単回投与時に摂餌量の減少が認められた用量（ラット：100 mg/kg，イヌ：30 mg/kg）において，投与後 24 時間以降における血中 EPO 濃度は著しく高値であり，摂餌量への影響が消失した時点では，血中 EPO 濃度は低値であった。以上のことから血中 EPO 濃度が高く維持された状態において摂餌量の減少が認められるものと考えられた。また，ラット及びイヌにおける JTZ-951 投与後の血中 JTZ-951 及び EPO 濃度を同一用量間で比較すると，血漿中 JTZ-951 濃度は両動物種間で大きな差はなかったが，血中 EPO 濃度はラットに比べてイヌの方が高かった。そのため，血中 EPO 濃度が高値であるイヌでは，ラットに比較してより低用量から摂餌量の減少が発現したと考えられた。

イヌ 1 ヵ月間反復投与毒性試験における体重減少や全身状態の悪化は，摂餌量の減少に続いて認められ，休薬により摂餌量が増加するとともに体重が増加し，全身状態も改善した。同様の変化はサルに高用量を投与した 1 ヵ月間反復投与試験の高用量（100 mg/kg）及び 9 ヵ月間反復経口投与毒性試験の最高用量（30 mg/kg）でも認められた。サルの高用量投与においても血中 EPO 濃度の著しい高値を示唆する顕著な多血状態を伴っていた。以上のことから，JTZ-951 の投与により認められた摂餌量の減少に引き続く体重減少及び全身状態の悪化は，血中 EPO 濃度の著しい高値に起因した摂餌量減少による二次的な変化と考えられた。

1.2. EPO 産生亢進による赤血球造血亢進に関連する変化

・RBC 数，Hb 濃度，Ht 値及び Ret 数の変化

マウス，ラット，イヌ及びサルの反復投与毒性試験において，いずれの動物種も主に最低用量から用量の上昇に応じて赤血球関連パラメータ（RBC 数，Hb 濃度及び Ht 値）及び Ret 数の増加が認められた（マウス：6 mg/kg 以上，ラット及びイヌ：1 mg/kg 以上，サル：3 mg/kg 以上）。これらの変化は，JTZ-951 の HIF-PH 阻害作用による HIF 安定化に基づく EPO 産生亢進による赤血球産生亢進によるものと考えられた。ラット，イヌ及びサルでは本変化は回復性試験において，休薬により消失又は消失傾向を示し，可逆的な変化であった（マウスでは回復性の検討は未実施）。なお，イヌにおける 3 ヵ月間反復投与毒性試験では休薬期間中も RBC 数は高値を示し，回復は緩慢であった。これは JTZ-951 の投与により過剰に増加した赤血球の分解処理に時間を要するためと考えられた。休薬後は Ret 数の減少が認められ，これは投与期間中の過剰な造血に対する代償性変化と考えられた。

・鉄関連パラメータ（血中 Fe 濃度，TSAT，TIBC 及び UIBC），MCV，MCH 及び MCHC の変化

ラット，イヌ及びサルの反復投与毒性試験において，鉄関連パラメータの変動（主に血中 Fe 濃度及び TSAT の減少，TIBC 及び UIBC の増加等）が認められた（ラット，イヌ及びサル：1 mg/kg 以上）。鉄関連パラメータの変化は，いずれも JTZ-951 の薬理作用による赤血球産生に伴う鉄消費及び利用の亢進を示す変化であると考えられた。また，MCV，MCH 及び MCHC の変化（ラット：3 mg/kg 以上，イヌ：1 mg/kg 以上，サル：30/10 mg/kg）も認められたが，これは赤血球産生，Hb 合成，利用可能な鉄量のバランスが変動したことを反映した変化と考えられた。本変化は回復性試験において，いずれの動物種でも消失し，可逆的な変化であった。

・骨髄における造血亢進，M/E 比減少，赤色化，脂肪細胞減少，脾臓の腫大及び髄外造血亢進，及び肝臓の髄外造血亢進

ラット，イヌ及びサルの反復投与毒性試験において，骨髄の赤芽球系細胞の増加に加えて赤血球系細胞の増加を示唆する骨髄中 M/E 比の減少（ラット：3 mg/kg 以上，イヌ：1 mg/kg 以上，サル：10 mg/kg 以上），骨髄の赤色化及び骨髄の脂肪細胞減少（イヌ：3 mg/kg 以上）が認められた。これらの変化はいずれも骨髄における赤血球造血亢進を示唆する変化と考えられた。また，マウス，ラット及びイヌの反復投与毒性試験において，脾臓の腫大，脾臓及び肝臓での赤芽球系細胞の増加も認められた（脾臓；マウス：6 mg/kg 以上，ラット及びイヌ：3 mg/kg 以上，肝臓；イヌ：10 mg/kg）。いずれも髄外造血亢進を示唆する変化と考えられた。また，本変化には投与期間の延長に伴う増強は認められなかった。なお，ラット及びイヌでは回復性試験において，休薬により本変化が消失したことから，いずれも可逆的な変化であった（マウスでは回復性の検討は未実施）。

1.3. 赤血球増多に関連する変化

・皮膚，網脈絡膜の赤色化

マウス 2 ヵ月間反復投与毒性試験の 10 mg/kg 以上で投与 3 週目以降に皮膚の赤色化が認められた。ラット 1 ヵ月間反復投与毒性試験の 10 mg/kg 以上で投与 3 週目以降に皮膚の赤色化が認められ，投与 4 週目の眼科学的検査において，網脈絡膜の赤色化が認められた。同様の変化はラット 3 ヵ月間反復投与毒性試験，サル 3 及び 9 ヵ月間反復投与毒性試験においても認められた（ラット：3 mg/kg 以上，サル：30/10 mg/kg）。いずれの組織においても病理組織学的変化は認められなかった。これらの所見は，赤血球関連パラメータの顕著な増加が認められた後に発現し，赤血球増多に関連した変化と考えられた。なお，ラット及びサルではいずれの変化も休薬により消失傾向を示し，可逆的な変化であった（マウスでは回復性の検討は未実施）。

・ヘモジデリン沈着，血中 AST，LDH，CPK，GU 活性の上昇，血中 K，間接 Bil 濃度，尿中 Bil 及び URO 濃度の増加，尿潜血

ラットの反復投与毒性試験において，腎臓，脾臓及び肝臓にヘモジデリン沈着が認められた（ラット：3 mg/kg 以上）。ラットでは投与期間の延長により赤血球増多がより長期に及んだことに関連し，低用量から本変化が発現した。臓器のヘモジデリン沈着は JTZ-951 の投与により過剰に増加した RBC や Hb の分解に関連する変化と考えられた。ラット 3 ヵ月間連日投与試験の回復期間終了時には，ヘモジデリン沈着の頻度及び程度が脾臓，大腿骨骨髄，肝 Kupffer 細胞及び腎近位尿細管上皮で増加した。これは，投与期間終了後も増加した Hb の分解処理が続いたことを示す変化と考えられた。

ラット，イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験において，血中 AST，LDH，CPK，GU 活性の上昇及び血中 K，間接 Bil の増加（ラット，イヌ及びサル：3 mg/kg 以上），尿中 Bil の増加（ラット及びイヌ：3 mg/kg 以上），URO の増加及び尿潜血（ラット：6 mg/kg 以上，イヌ：10 mg/kg）等が認められた。AST，GU 及び K は赤血球中に多く存在することが知られている。また，間接 Bil は網内系における赤血球の分解により遊離した Hb の代謝により生成することが知られている。血中で間接 Bil 濃度が増加すると尿中へ Bil 又はその代謝物である URO が排泄される。LDH 及び CPK についてアイソザイム分析を行った結果，血中でのこれらの酵素の活性上昇は，赤血球由来のアイソザイムの活性上昇によるものであった。なお，ラットの反復経口投与毒性試験においては肝臓に肝障害を示唆する病理組織学的変化は認められず，GLDH や SDH といった肝機能の障害性バイオマーカーにも影響は認められなかった。したがって，血液生化学的検査，尿検査で認められたこれらの変化は，JTZ-951 の薬理作用の過剰発現により過剰に増加した赤血球や Hb の分解処理に関連した変化と考えられた。

1.4. 多血状態の持続に起因した変化，多血状態の持続に起因した循環障害による変化

・動物の死亡

ラットの単回投与試験（用量：125，250，500，1000 及び 2000 mg/kg，絶食下投与）において 1000 mg/kg 以上で動物の死亡が認められた。死亡前には，摂餌量及び体重の減少に加え，体温低

下，自発運動の低下，四肢及び尾の暗赤色化などの一般状態の変化が認められた。剖検では，後肢及び尾の皮下出血，うっ血又は皮下の浮腫，諸臓器の暗赤色化などの変化が認められた。これらのことから，動物の死亡は JTZ-951 の薬理作用の過剰発現による多血状態に起因した重度の循環障害によるものと考えられた。

マウスの 2 ヵ月間反復経口投与試験では 30 mg/kg 以上で投与 29 日目以降に，3 ヵ月間反復投与毒性試験では 20 mg/kg で投与 36 日目以降に動物の死亡が認められた。動物の剖検では，重度の循環障害を示唆する種々の変化が認められ，動物の死亡は JTZ-951 の薬理作用の過剰発現による多血状態に起因した重度の循環障害によるものと考えられた。

ラットの 3 ヵ月間予備反復経口投与試験では 10 mg/kg 以上で投与 69 日目以降に，3 ヵ月間反復投与毒性試験では 6 mg/kg で投与 64 日目以降に，3 ヵ月間反復経口投与毒性試験（間歇投与）では 20 mg/kg 以上で投与 51 日目以降に動物の死亡が認められた。死亡が発現したのはいずれも投与期間の後半であり，動物は過度の多血が持続した状態にあったものと考えられた。さらに死亡動物の剖検では，複数の臓器における血栓形成，諸臓器の出血及びうっ血が認められ，これらの所見はいずれも重度の循環障害を示唆する変化と考えられた。

ラットに瀉血操作を施した反復経口投与試験（用量：30 mg/kg）において，瀉血によって多血状態を緩和することにより，死亡は認められず，複数の臓器における血栓形成，諸臓器の出血及びうっ血など循環障害を示唆する種々の変化が軽減又は消失することが明らかとなった。

以上より，反復投与による動物の死因も多血状態の持続による重度の循環障害であると考えられた。

・心臓及び肺の変化

マウス，ラット，イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験において，心臓重量増加（マウス：10 mg/kg，ラット：3 mg/kg 以上，サル：30 mg/kg）及び肺重量増加（マウス：10 mg/kg［2 ヵ月のみ］，ラット及びイヌ：3 mg/kg 以上）が認められた。JTZ-951 をラットに 1 ヵ月間反復投与すると，RBC 数，Hb 濃度，Ht 値の増加とともに循環血液量の増加が認められ，循環血液量増加と心臓及び肺の重量増加の間には良好な正の相関があった。なお，心臓及び肺の重量増加は休薬により循環血液量が減少することで消失又は消失傾向を示す可逆性の変化であった。

また，いずれの動物種でも高用量を中心に心臓の出血（イヌ：10 mg/kg）及び血栓形成（ラット：3 mg/kg 以上，サル：30 mg/kg），肺の出血（ラット：6 mg/kg 以上，イヌ：10 mg/kg）及び血栓形成（マウス：10 mg/kg［2 ヵ月試験のみ］，ラット：6 mg/kg 以上，イヌ：3 mg/kg 以上）が認められた。ラットでは投与期間の延長に伴い心臓の血栓形成の発現用量が低下した（ラット：1 ヵ月間発現なし，3 ヵ月間 6 mg/kg，6 ヵ月間 3 mg/kg）。投与期間の延長により多血の程度が増強したこと，又は，重度の多血状態が長期間持続したことにより発現用量が低下したものと考えられた。イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験においては，投与期間の延長に伴う血栓形成の発現用量の低下は認められなかった。なお，心臓の病理組織学的検査において心筋障害を示唆する変化は認められず，心室肥大や心室壁の肥厚も認められなかった。イヌの心電図検査においても異常は認められなかった。心臓及び肺の重量増加／出血／血栓形成，心筋壊死については，ESA のラット，イヌの高用量反復投与毒性試験でも報告されており[2, 5, 6]，その発現機序は多血状態の

持続及びそれに引き続く循環障害によるものと考えられている。

低酸素環境下ではEPO産生が亢進し[11, 12]，赤血球数が増加するとともに，この赤血球数の増加に伴う循環血液量の増加は心肥大や肺循環抵抗の増大に繋がることが報告されている[13, 14]。また，多血により循環障害が起こり，かつ血液粘性の増加や循環血液量の増加が長期間持続することにより血栓形成に繋がることや，循環血液量の増加が長期間持続することにより心臓や肺の毛細血管圧が増加し，毛細血管の破綻による微小出血を起こすことも報告されている[15]。

以上のことから，反復経口投与毒性試験で認められた心臓及び肺の一連の変化は，JTZ-951の薬理作用の過剰発現による多血状態の長期間持続及び循環血液量の顕著な増加が生じた結果，発現するものと考えられた。

・血栓形成

ラット，イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験では，心臓及び肺を含む種々の臓器に血栓形成が認められた。血栓形成は，反復経口投与毒性試験において重度の多血（赤血球関連パラメータ増加）が認められる用量で発現した。

一方，ラットに高用量（100 mg/kg）を投与し，血栓形成について経時的に評価した結果，Hb濃度増加が認められる前に，血液凝固系の亢進と線溶系の抑制を示唆するパラメータの変化及び肺又は心臓における血栓形成が認められた。これらのことから，JTZ-951の高用量投与時には，凝固系の亢進及び線溶系の低下が複合的に作用することで，多血状態を伴わなくても血栓形成が起こることが示唆された。

血栓形成はVirchowの3原則に基づくと，血流の異常，血液性状の変化及び血管の異常が主な要因とされている[16]。よってJTZ-951の高用量投与時には，Virchowの3原則に則ると，重度の赤血球増加，HIF安定化又は血中EPO濃度増加による血液凝固系の亢進と線溶系の低下（血中PAI-1濃度増加等）及び多血の持続による循環障害等を介した血管内皮への影響が複合的に関与し，血栓が形成されたものと考えられた。特にJTZ-951を極めて高い用量（100 mg/kg）で投与した場合には，血液凝固系の亢進と線溶系の低下の寄与が高く，血栓が短期間で形成されたものと考えられた。

一方で，ラット及びサル慢性毒性試験において多血の程度が軽度な用量では，血中PAI-1濃度の増加が投与後の一過性の変化として認められたものの，血栓形成は認められなかった。

以上より，多血の程度が顕著ではない用量域においては，長期間投与においても血栓形成が生じるリスクは低いと考えられた。

・肝臓の小葉中心性の類洞拡張に伴う肝細胞萎縮，炎症性細胞の浸潤

ラット，イヌ及びサルの反復投与毒性試験において，肝臓の小葉中心性の類洞拡張又はうっ血に伴う肝細胞萎縮が認められた（ラット：3 mg/kg以上，イヌ：1 mg/kg以上，サル：10 mg/kg以上）。肝臓の同様の変化は，ESAの反復経口投与毒性試験でも報告されており，小葉中心性の類洞拡張は多血状態が長期間持続したことによる変化であり，肝細胞の萎縮は類洞の拡張により肝細胞が物理的圧迫を受けたことによるものと考えられている[3]。本変化に関連し，イヌ1ヵ月間反復経口投与毒性試験において肝臓の小葉中心性の炎症細胞の浸潤が認められた。イヌ3ヵ月間反復経口投与毒性試験（連日投与）の回復群においては，小葉中心性のうっ血に伴う肝細胞の萎

縮に加えて，剖検では肝臓表面の粗造化，病理組織学的検査では小葉中心性の肝細胞の単細胞壊死，肝臓の線維化，胆管増生及び炎症性細胞浸潤が認められた。回復群の動物の肝臓にも同質の所見が認められたのは，イヌでは回復期間中も多血状態が持続し，肝臓の変化が進行したことによるものと考えられた。

JTZ-951 を反復投与したイヌに瀉血を施すことにより，非瀉血群で認められた肝臓の小葉中心性の類洞拡張に伴う肝細胞の萎縮の発現頻度及び程度が軽減した。これらの結果から，反復投与毒性試験において認められた肝細胞萎縮は，JTZ-951 の薬理作用による赤血球増多に起因した循環血液量の増加が長時間持続したことで肝臓の類洞が拡張し，その物理的圧迫によって発現したものと考えられた。なお，ラット及びサルの反復投与毒性試験の回復性試験において，上記の肝臓の変化は休薬により消失したことから，可逆性の変化であると考えられた。

・腎臓の変化

ラット及びイヌの 1 ヵ月間反復投与試験で，HIF 安定化に関連する変化として腎臓の近位尿細管上皮細胞の脂肪化が認められたため，尿中腎機能パラメータの測定及び電子顕微鏡による検査により腎臓への影響を検討した。ラット 1 ヵ月間反復投与試験における尿中 β2 マイクログロブリン，Kim-1，Clusterin 及び Cystatin C 濃度及びイヌ 1 ヵ月間反復投与試験の尿中 Kim-1 濃度を測定した結果，これらのパラメータに投与の影響は認められなかった。また，腎臓の電子顕微鏡学的検査では両種共に尿細管上皮の細胞障害を示唆する所見は認められなかった。尿細管上皮細胞間の密着結合（tight junction）に異常は認められなかった。近位尿細管上皮における軽度のミトコンドリアの膨化及び空胞化が認められたが，これは JTZ-951 の薬理作用である HIF の安定化に伴う細胞内の擬似低酸素化及び多血状態の持続に起因した循環障害による細胞内の低酸素状態に起因した変化と考えられた。細胞質内の脂肪滴又はライソゾームは，対照群に比較して高用量ではその数が増加し一部は大型化していたが，対照群，投与群間で脂肪滴に質的な違いは認められなかった。以上より，ラット及びイヌの 1 ヵ月間反復投与試験において最高用量まで腎臓の機能障害はないものと考えられた。

また，ラットの 3 又は 6 ヵ月間反復投与試験では，腎重量の増加とともに再生尿細管の増加，遠位尿細管の拡張，炎症性変化，腎乳頭の線維化，尿中 Kim-1 排泄量の増加などが認められた。これらの変化は多血状態の持続に起因した循環障害に伴う 2 次的な変化と考えられた。なお，腎臓における同様の変化として，再生尿細管の増加，尿細管の拡張，線維化及び梗塞が ESA で報告されており，過剰な造血による血流のうっ滞に関連して生じたと考察されている[3]。

・胃粘膜のびらん

ラット及びサルの反復投与毒性試験において，胃（腺胃）粘膜のびらんが軽度に認められた（ラット：3 mg/kg 以上，サル：30 mg/kg 以上）。この変化は，ESA でも報告されており[3]，高度の多血状態により血流が滞留し胃に循環障害が生じ，組織が低酸素状態に陥ることにより胃粘膜が胃酸による障害を受けやすくなるものと推察されている。したがって，JTZ-951 投与により認められた胃（腺胃）粘膜のびらんは，JTZ-951 の薬理作用の過剰発現による多血状態の持続による二次的な変化と考えられた。なお，この変化は休薬により消失する可逆性の変化であった。

・副生殖器の重量減少

ラット 1 ヵ月間反復投与試験において，前立腺及び精嚢重量の減少が認められたが，血中テストステロン濃度に JTZ-951 投与の影響は認められなかった。また，これらの変化は病理組織学的変化を伴わなかった。したがって，これらの変化は血中テストステロン濃度の減少によるものではなく，毒性学的意義の乏しい変化と判断した。

・眼球脈絡膜の細胞増生，網膜の萎縮

イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験の最高用量 10 mg/kg において脈絡膜の血管内皮細胞及び線維芽細胞の増生を伴う網膜の萎縮が認められた。別途 10 mg/kg を投与し眼底検査に加えてフルオレセイン蛍光眼底検査を実施した試験において，JTZ-951 投与群では網膜動脈内の蛍光色素到達不良及び視神経乳頭部の動脈拡張，網膜組織への漿液漏出を示唆する変化等が認められた。循環障害により惹起されるヒトの網脈絡膜疾患として，漿液性網脈絡膜症などが知られている。漿液性網脈絡膜症はストレスや循環障害等の種々の要因による網脈絡膜循環障害により発症し，血管の炎症や透過性亢進とともに血管から網膜組織へ漿液が浸出し，網膜外顆粒層がこの浸出した漿液に圧迫され萎縮像を呈する[4]。イヌ 1 ヵ月間で認められた変化は網膜血管における循環障害を示唆する変化と考えられた。一方，JTZ-951 投与群に瀉血を施し Ht 値を一定に保つことにより，上記の変化は明らかに軽減した。以上のことから病理組織学的検査で認められた網膜所見は，網膜の循環障害により血管から網膜組織への漿液漏出を示唆する所見と考えられた。

上述のとおり，網脈絡膜病変の発現は，イヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験の最高用量（10 mg/kg）に限られた。この用量においては，投与初期における急激な造血亢進とそれに引き続く極度の多血状態の持続や，血中 ET-1 濃度の増加による循環障害を示唆する種々の変化に加え，摂餌量減少に伴う全身状態の悪化や組織の炎症を示唆する血中 CRP の顕著な増加が認められた。また，網脈絡膜の変化は全身状態の悪化が最も顕著であった動物で特に強く発現した。さらに，補強試験における眼底検査においては，網膜に循環障害を示唆する変化及び網膜への漿液漏出を示唆する変化が認められたが，これらの変化は瀉血により極度の多血状態を回避することにより，明らかに軽減した。

ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験の最高用量（30 mg/kg）における全身曝露はイヌ 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験の最高用量のそれに比較して高かったが，ラットでは同様の変化は認められなかった。また，JTZ-951 にはイヌ特有の代謝物が認められないこと（2.6.4.5.2 項），組織分布試験においては両動物種とも眼球への JTZ-951 の組織移行性が低いこと（2.6.4.4.1 項）を考慮すると，網脈絡膜の変化は，JTZ-951 又はその代謝物が網脈絡膜に対し直接作用し毒性を発現したことによるものでないと考えられた。また，ラット，イヌ及びサルの 3 ヵ月間以上の反復投与毒性試験では，いずれの動物種においても脈絡膜及び網膜に同様の変化は認められなかった。

以上のことから網脈絡膜の変化は，JTZ-951 の薬理作用の過剰発現に起因した多血状態の持続による循環障害及び動物の全身状態悪化が相まって発現したものと考えられた。

1.5. EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化

・PLT 数の変化，白血球数の増加，白血球比率の変化，T-CH の変化及び PL の変化

マウス，ラット，イヌ及びサルの反復投与毒性試験において，PLT 数の変化（マウス：6 mg/kg 以上，ラット：3 mg/kg 以上，イヌ：1 mg/kg 以上，サル：30/10 mg/kg），白血球比率の変化（マウス：10 mg/kg 以上，ラット及びイヌ：3 mg/kg 以上），白血球数の増加（マウス：10 mg/kg 以上，イヌ：3 mg/kg 以上）が認められた。

ラット及びサルの反復投与毒性試験では T-CH 及び PL の減少（ラット：1 mg/kg 以上，サル：30 mg/kg）が認められた。上述の変化は，いずれも ESA のラット及びイヌ反復投与毒性試験で報告されている[2, 5, 6]。EPO は赤血球のみならず，PLT や白血球の産生とも密接に関わっていることが知られている[17]。また，T-CH 及び PL は赤血球の産生において細胞膜の構成成分として利用されることから，JTZ-951 の EPO 産生亢進に伴う造血により二次的に変動したものと考えられた。なお，上記の反復投与毒性試験において本変化の投与期間の延長に伴う増強は見られなかった。

イヌ 1 ヵ月間反復投与毒性試験では，摂餌量の減少に伴う体重減少並びに全身状態の悪化が認められた 10 mg/kg において T-CH 及び PL の増加が認められた。しかし，イヌ 3 ヵ月間反復投与毒性試験では T-CH 及び PL に変化は認められなかった。

2. HIF-PH 阻害による EPO 産生亢進以外の変化

・血中 TGL 濃度の増加

ラット，イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験において血中 TGL 濃度の軽度な増加が認められた（ラット：6 mg/kg 以上，イヌ：3 mg/kg 以上，サル：30 mg/kg）。3 ヵ月間以上の反復経口投与毒性試験において，本変化はいずれも最高用量に限られ，投与期間の延長に伴う増強はなかった。JTZ-951 をラット及びイヌに単回経口投与して血中 TGL 濃度の経時変化を調べたところ，ラットでは 10 mg/kg 以上で，イヌでは 3 mg/kg 以上で，血中 TGL 濃度が投与後 2 時間から増加し，投与後 8 時間で最高値に達し，その後経時的に減少した。また，イヌにおいては，単回経口投与時の血中 TGL 濃度の増加は，摂餌による増加の範囲内であった。

JTZ-951 をラットに 30 mg/kg の用量で単回経口投与し，肝臓からの TGL 放出速度又は血中 TGL の消失速度に対する影響を検討したところ，肝臓からの TGL 放出速度に影響はなかったが，血漿からの TGL の消失速度が低下した。さらに，JTZ-951 をラットに 30 mg/kg の用量で単回経口投与し，LPL 活性を測定したところ，LPL 活性は有意に低下した。LPL 活性を抑制する因子として ANGPTL4 の関与が知られており[18]，ANGPTL4 の mRNA の発現は HIF により誘導されることが報告されている[19]。JTZ-951 をラットに 30 mg/kg の用量で単回経口投与し，肝臓及び腎臓における ANGPTL4 の mRNA 発現に対する影響を調べたところ，両臓器における ANGPTL4 の mRNA 発現量は有意に増加した。したがって，JTZ-951 投与による血中 TGL 濃度の増加は，LPL 活性の低下によるものであり，この低下には，HIF-PH 阻害による HIF 安定化に伴い増加する ANGPTL4 の関与が考えられた。

血中 TGL 濃度の増加は 1 又は 3 ヵ月間反復投与後の回復性試験において，休薬後に消失したことから可逆性の変化と考えられた。

・小葉辺縁部肝細胞，近位尿細管上皮細胞及び胆嚢上皮細胞の脂肪化及び血中 GLU 濃度の減少，血中乳酸値の増加

ラット 1 及び 3 ヵ月間反復投与毒性試験において小葉辺縁性の肝細胞の脂肪化及び近位尿細管上皮細胞の脂肪化が認められた。しかし，3 ヵ月間反復経口投与毒性試験における本変化は，1 ヵ月間反復経口投与毒性試験のそれと比較し同程度であり，投与期間の延長に伴う変化の増強は認められなかった。小葉中間帯から辺縁にかけて肝細胞の脂肪化はサル 9 ヵ月間反復投与毒性試験においても最高用量（30/10 mg/kg）で認められたが，ごく軽度であり 1 例のみの変化であった。イヌの 1 ヵ月間反復投与毒性試験においては，近位尿細管上皮細胞の脂肪化（3 mg/kg 以上）及び胆嚢上皮細胞の脂肪化（1 mg/kg 以上）が認められた。これらの変化は，対照動物でも認められる脂肪滴が，軽度に増加しているものであった。また，その程度及び発現頻度に明らかな用量依存性は認められず，投与期間の延長に伴う変化の増強は認められなかった。これらの組織について脂肪染色を行った結果，細胞内に認められた脂肪は中性脂肪であった。

いずれの組織においても細胞の変性・壊死などの臓器障害を示唆する組織学的変化は伴わず，肝機能，腎機能及び胆嚢機能への影響を示唆する所見も認められなかった。

肝細胞，腎臓の近位尿細管上皮細胞及び胆嚢上皮細胞はいずれも ATP を多く産生する細胞であり，これらの細胞にはミトコンドリアが比較的多く存在する。したがって，JTZ-951 のラット，イヌ 1 ヵ月反復経口投与毒性試験で認められた肝臓，腎臓及び胆嚢における脂肪化は，HIF 安定化によりエネルギー産生における糖及び脂質代謝のバランスが変化したことに起因して発現したものと推察された。

これらの所見に加えて，ラット，イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験において血中 GLU 濃度の減少（ラット：3 mg/kg 以上，イヌ：3 mg/kg 以上，サル：30/10 mg/kg 以上）又は血中乳酸値増加（ラット：10 mg/kg 以上（間歇），イヌ：10 mg/kg）が認められた。本変化は，軽度の変化であり，明らかな用量依存性はなく投与期間の延長に伴う増強も認められなかった。低酸素状態では，エネルギー産生の生体反応として，糖代謝が亢進し，脂質代謝が低下することで，少ない酸素量で生体へのエネルギー供給が行われることが知られている[11, 20]。また，糖代謝関連タンパク（GLUT-1，PDH 等）及び脂質代謝関連タンパクの mRNA 発現には HIF が関与することが報告されている[11, 20]。また，HIF-2α を安定化させたマウスでは，肝臓において中性脂肪の蓄積が増加することが報告されている[21]。以上のことから，HIF の安定化により解糖系を介したエネルギー（ATP）産生が亢進されることと同時にミトコンドリアにおける PDH 又は脂肪酸からのアセチル CoA を経由した ATP 産生が低下し，これらの一連の変化は，GLU からの乳酸生成を促すとともに，細胞質においては脂肪酸由来の脂肪が蓄積することにつながることが想定される。以上，血糖値の減少及び乳酸の増加は，HIF の安定化に伴う解糖系の亢進によるものと推察された。

なお，ラット及びサルの反復投与後の回復性試験において，小葉辺縁性肝細胞，近位尿細管上皮細胞，血中 GLU 濃度の減少及び乳酸値の増加等の変化は休薬により消失したことから，いずれも可逆性の変化と考えられた。

・骨の変化

ラット 1 ヵ月及び 3 ヵ月間反復投与毒性試験において骨幹部の骨髄腔に骨芽細胞／間葉系細胞の増生及び不整骨梁の増生が認められた。3 ヵ月間反復経口投与毒性試験における変化は，1 ヵ月間反復経口投与毒性試験のそれと比較し同程度であり，投与期間の延長に伴う増強は認められなかった。また，ラット 6 ヵ月間反復投与毒性試験においてこれらの変化は発現しなかった。これらの変化と類似した骨の変化は，HIF の消去系酵素である Vhl のノックアウトマウスや骨／骨髄の物理的破壊モデル動物においても報告されている[22]。さらに，骨／骨髄の物理的破壊モデル動物における骨変化は骨破壊の修復過程の変化であり，この過程では VEGF 及びそのレセプターが発現するとされている[23]。また，EPO は造血以外のメカニズムで骨形成に促進的に作用することが知られ[24]，骨髄幹細胞活性化による骨芽細胞への分化促進・活性化（直接作用），破骨細胞の ephrinB/EphB4 シグナルの調節を介した骨芽細胞活性化（間接作用）などの関与が報告されている[25]。同様の骨の変化は，ESA の投与時の多血状態の動物においても認められる[3]。これらのことから，ラットで認められた骨の変化は JTZ-951 の薬理作用である HIF 安定化に起因して誘導された EPO 及び VEGF 等に関連するものと推察された。

骨の変化は休薬により消失する傾向にあり，可逆性の変化と考えられた。ラット 1 及び 3 ヵ月間反復経口投与毒性試験において認められた血中 Ca 及び IP 濃度の減少，尿中 IP 排泄の増加，並びに骨形成マーカーの血中オステオカルシンの増加（ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験のみ）は，いずれもこの骨の変化に関連する変化と考えられた。なお，イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験では，骨に同様の変化は認められなかった。ラットは急速に体重が増加する 1～3 ヵ月齢に著しい骨の成長が認められ，6 ヵ月齢にかけて成熟する[26]。また，ラットは他の動物種に比較して，成長因子の骨中濃度が高いことや[27]，成長因子による骨形成促進に対して感受性が高いことが報告されている[28]。したがって，JTZ-951 投与時の骨病変発現における種差には動物種間における骨形成や骨代謝速度の違いが関与するものと推察された。

・VEGF の変化

ラット及びイヌの反復経口投与毒性試験において，血中 VEGF レベルが投与後 4 及び 8 時間において一過的に増加した。JTZ-951 は血中 VEGF 濃度を増加させたものの，ラットで実施した検討試験において，網膜 VEGF mRNA 発現を増加させず，網膜血管透過性の亢進作用を示さないことが明らかとなった[29]。VEGF の代表的な生理作用として網膜局所における血管透過性の亢進が知られるが，以上の結果から，JTZ-951 は網膜において血管透過性を亢進させる可能性は低いと考えられた。また，ヒト大腸がん細胞株を移植したマウス担がんモデルにおいて，JTZ-951 は VEGF 濃度を増加させた一方で腫瘍体積には明らかな影響を及ぼさなかった[29]。

3. EPO 産生亢進又は HIF-PH 阻害に起因した血液凝固系及び線溶系への影響

・血中 FIB の変化，PT，APTT 延長，血中 D-dimer 及び PIC の増加，血中 PAI-1 の増加

ラット及びサル反復経口投与毒性試験において，血中 FIB の変化，PT，APTT 延長，血中 D-dimer 及び PIC の増加が認められた。サルの反復経口投与毒性試験では血栓形成の発現用量に一致して

D-dimer の増加が認められたことから，D-dimer の増加は血栓形成の結果生じたものと考えられた。血中 FIB の変化，PT，APTT 延長，PIC の増加はいずれも D-dimer の増加とほぼ同一用量で認められており，いずれも血栓形成に関連した変化と考えられた。FIB の減少は，血栓形成に伴い動員された可能性や，JTZ-951 の肝臓への影響（多血状態の持続に起因した変化）により合成が抑制された可能性が推察された。PT 及び APTT の延長は，FIB の減少に関連したものと考えられた。

ラット及びサルの反復経口投与毒性試験において，血中 PAI-1 濃度の投与後一過性の増加が認められた。血中 PAI-1 濃度の増加は，血中 EPO 濃度が増加する用量以上で認められた。PAI-1 は線溶系を抑制する分子であり，HIF 安定化又は EPO により誘導されることが報告されている[11, 30, 31]。

サルの 1，3 及び 9 ヵ月間反復経口投与毒性試験において，血中 FIB の減少，PT，APTT 延長，血中 D-dimer 及び PIC の増加は 10 mg/kg 以上で認められ，投与期間の延長に伴う血栓形成発現用量の低下はなかった。また，血中 PAI-1 濃度の増加についても，ラット及びサルの反復経口投与毒性試験において，投与期間の延長に伴う増強は認められず，寧ろ一部の試験においては投与期間の延長に伴い減弱する傾向にあった。以上より，投与期間の延長により血栓形成が低用量に及ぶことはなく，多血の程度が顕著ではない用量域においては，長期間投与しても血栓形成のリスクは低いと考えられた。

4. 遺伝毒性

JTZ-951 は細菌を用いた復帰突然変異試験において，復帰突然変異を示さなかった。

ほ乳類培養細胞（CHL 細胞）を用いる *in vitro* 染色体異常試験において，JTZ-951 の S9 mix 非存在下 24 時間処理の 100 及び 150 μg/mL で染色体異常（構造異常）を誘発した（それぞれ 6.0% 及び 18.5%の頻度）。

一方，ヒト末梢血リンパ球を用いる *in vitro* 染色体異常試験においては，S9 mix 存在下 3 時間処理で 320 μg/mL まで，S9 mix 非存在下 3 時間処理で 360 μg/mL まで及び S9 mix 非存在下 24 時間処理で 15 μg/mL まで染色体異常の誘発はいずれの処理においても認められなかった（染色体異常の観察において最高用量は分裂指数（mitotic index[MI]）の相対値（%）が 50%以下となる濃度に設定した）。また，*in vivo* ラット骨髄細胞を用いた染色体異常試験では染色体異常（構造異常）の誘発は最高用量の 250 mg/kg（C_{max}: 262.48 μg/mL）まで認められなかった。さらに，ラット肝臓及び末梢血を用いた *in vivo* コメットアッセイでも，最高用量の 250 mg/kg まで，DNA 損傷の誘発は認められなかった。これらの *in vivo* 試験における血漿中 JTZ-951 濃度は，CHL 細胞において染色体異常が認められた濃度を上回るものであった。一方，JTZ-951 により CHL 細胞で誘発される染色体異常は HIF-1α 蛋白阻害剤で抑制され，JTZ-951 の薬理作用である HIF-1α 蛋白の安定化に関連しているものと考えられた。これより CHL 細胞で認められた染色体異常の発現には閾値があるものと考えられた。JTZ-951 は，HIF-PH を阻害することにより細胞の擬似低酸素状態を引き起こす。低酸素状態は p53 の活性化を介し遺伝子の不安定性やアポトーシスを誘発することが知られている[32, 33]。CHL 細胞は p53 の機能が欠損しており，JTZ-951 による染色体異常の誘発は CHL 細胞のみに認められた。一方，ほ乳類（及びヒト）組織では p53 の機能が正常であることから，

染色体異常が誘発されなかったものと考える。したがって，CHL 細胞で認められた染色体異常はヒトへの外挿性が乏しいものと考えられた。

以上のことから，JTZ-951 が生体において染色体異常を誘発する可能性は極めて低いと考えられた。

5. がん原性

JTZ-951 は TgrasH2 マウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験及びラットを用いた 2 年間がん原性試験において，JTZ-951 投与に起因する腫瘍発生頻度の増加はなかった。よって，JTZ-951 には発がん作用はないと考えられた。

6. 生殖発生毒性

生殖発生毒性試験において，JTZ-951 の雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する検討では，性周期，交尾率及び受胎率に明らかな変化は認められなかったが，着床数及び着床率の減少（30 mg/kg），胚・胎児の死亡数及び死亡率の増加並びにそれに伴う生存胎児数の減少（10 mg/kg）が認められた。JTZ-951 の雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する検討では，雄生殖能及び初期胚発生に対する変化は認められなかった。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する検討では，胚・胎児死亡率の増加（ラット：30 mg/kg，ウサギ：200 mg/kg）及び流産（ウサギ：60 mg/kg 以上）が認められ，ラットでは胎児体重の減少傾向，骨化遅延を示唆する変化等（30 mg/kg）が認められたものの，催奇形性を示唆する変化は認められなかった。ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する検討では，一過的な出生児の体重低値（生後 4～21 日），眼瞼の開裂時期の遅延（10 mg/kg）が認められた。これらの生殖発生試験で認められた着床，初期胚発生，胚・胎児及び出生児における変化は親動物における JTZ-951 の薬理作用の過剰発現に関連した二次的変化と考えられ，JTZ-951 が催奇形性を誘発する可能性は低いものと考えられた。

2.6.6.9.2 総括及び結論

JTZ-951 の薬理作用は，HIF-PH 阻害作用による EPO 産生亢進とそれによる造血亢進（網状赤血球及び赤血球関連パラメータの増加）である。

マウス，ラット，イヌ及びサルを用いて実施された一般毒性試験において認められた変化は，いずれも JTZ-951 の HIF-PH 阻害作用又は JTZ-951 の薬理作用である造血亢進作用に直接又は二次的に関連すると考えられる変化であり，JTZ-951 の化学構造に起因した臓器毒性は，いずれの動物種においても認められなかった。また，観察された変化のほとんどは休薬により消失又は消失傾向を示し，可逆性のものであった。

ラット及びイヌの単回経口投与毒性試験では，低用量（ラット 3 mg/kg，イヌ 1 mg/kg）から EPO 濃度増加に起因する造血亢進を示唆する Ret 数の用量依存的な増加が認められた。高用量（ラット 100 mg/kg，イヌ 30 mg/kg）では血中 EPO 濃度の著しい増加に起因した変化（摂餌量の減少，全身状態の悪化）が認められた。ラットの 1000 mg/kg では高度な循環障害による動物の死亡が認

められた。

マウス，ラット，イヌ及びサルの反復経口投与毒性試験では，すべての動物種において赤血球関連パラメータ（RBC 数，Hb 濃度及び Ht 値）の用量依存的な増加とともに，造血亢進に関連した変化（脾臓の髄外造血亢進，骨髄の造血亢進及び鉄消費による変化など：マウス 6 mg/kg 以上，ラット 1 mg/kg 以上，イヌ 1 mg/kg 以上，サル 1 mg/kg 以上）及び赤血球増多に関連する変化（血中 AST，間接 Bil 増加など：ラット 3 mg/kg 以上，イヌ 3 mg/kg 以上，サル 3 mg/kg 以上）が認められた。また，赤血球関連パラメータの増加に伴い循環血液量の顕著な増加が認められ，多血状態の持続に起因した変化（心臓及び肺の重量増加：マウス 10 mg/kg 以上，ラット 3 mg/kg 以上，イヌ 3 mg/kg 以上，サル 30 mg/kg，肝臓の小葉中心性のうっ血及び肝細胞の萎縮：マウス 6 mg/kg 以上，ラット 3 mg/kg 以上，イヌ 1 mg/kg 以上，サル 10 mg/kg 以上），多血状態の持続に起因した循環障害による変化（死亡：マウス 20 mg/kg，ラット 6 mg/kg 以上，心臓，肺及び諸臓器の血栓形成：ラット 3 mg/kg 以上，イヌ 3 mg/kg 以上，サル 30 mg/kg）が認められた。EPO 産生亢進に関連すると考えられるその他の変化（T-CH 及び PL の変化など：ラット 1 mg/kg 以上，イヌ 10 mg/kg，サル 10 mg/kg 以上）が認められた。以上の変化は ESA でも報告されており，ESA で惹起される変化と同質であると考えられる。

上述した 4 種の動物を用いた反復経口投与毒性試験において，主に高用量では重度の多血（赤血球関連パラメータ増加）及び多血状態の持続に関連した循環障害を示唆する変化が認められ，投与期間の延長に伴い循環障害が増強する傾向が認められた。循環障害の増強は，投与期間の延長により多血の程度が増強したこと，又は，重度の多血状態が長期間持続したことに起因するものと考えられた。一方，ラット及びサル慢性毒性試験の低又は中間用量では，多血の程度は軽度であり，投与期間の延長による多血の明らかな増強は認められず，かつ循環障害の増強も認められなかった。以上より，多血の程度が顕著ではない用量域においては，循環障害が生じるリスクは低いと考えられた。

また，JTZ-951 投与による HIF 安定化に起因すると考えられる変化として，血液凝固系及び線溶系に関連する変化，血中 VEGF 濃度の増加及び脂質代謝／糖代謝への影響を示唆する変化が認められた。

JTZ-951 を極めて高い用量（100 mg/kg）でラットに投与すると，HIF 安定化又は EPO 濃度増加による血液凝固系の亢進と線溶系の低下が複合的に作用することで，過剰な多血状態を伴わなくとも血栓形成が起こることが示されている。ラット及びサルの反復経口投与毒性試験においては，主に高用量（ラット 3 mg/kg 以上，サル 30 mg/kg）では重度の多血に関連して血液凝固及び線溶系パラメータの変動と血栓形成（心臓，肺及び諸臓器）が認められた。一方，ラット及びサルの慢性毒性試験の低又は中間用量では，線溶系の抑制に関与する血中 PAI-1 濃度の増加（ラット 1 mg/kg 以上，サル 3 mg/kg 以上）が投与後の一過性の変化として認められたものの，血栓形成は認められなかった。以上より，多血の程度が顕著ではない用量域においては，長期間投与しても血栓形成のリスクは低いと考えられた。

血中 VEGF 濃度の増加については，補強試験において JTZ-951 はラット網膜 VEGF mRNA 発現を増加させず，網膜血管透過性の亢進を示唆する所見が認められなかったことから，JTZ-951 が網膜の血管透過性を亢進させる可能性は低いと考えられた。また，ヒト大腸がん細胞株を移植した

マウス担がんモデルにおいて，JTZ-951 は血中 VEGF 濃度を増加させた一方で腫瘍体積には明らかな影響を及ぼさなかった。さらに，TgrasH2 マウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験及びラット 2 年間がん原性試験において，JTZ-951 投与に起因した腫瘍発生頻度の増加は認められなかった。ラットで認められた骨の変化（骨芽細胞／間葉系細胞の増生及び不整骨梁の増生：ラット 6 mg/kg 以上）については，ESA でも報告されており，EPO の骨形成促進作用が関与している可能性に加え，HIF の消去系酵素である Vhl のノックアウトマウス等の文献から VEGF が関与している可能性も考えられた。しかし，骨形成及び骨代謝速度における種差の観点からは，JTZ-951 投与による骨の所見はヒトへの外挿性に乏しい変化であると考えられた。

脂質代謝／糖代謝への影響を示唆する変化として，血中 TGL 濃度の増加及び GLU 濃度の減少（ラット 3 mg/kg 以上，イヌ 3 mg/kg 以上，サル 30/10 mg/kg），乳酸値の増加（ラット 10 mg/kg 以上，イヌ 10 mg/kg），肝臓の小葉辺縁性の肝細胞脂肪化（ラット 3 mg/kg 以上，サル 30/10 mg/kg），腎尿細管上皮の脂肪化（ラット 10 mg/kg 以上，イヌ 3 mg/kg 以上），胆嚢上皮の脂肪化（イヌ 1 mg/kg 以上）などが認められた。血中 TGL 濃度の増加は，LPL 活性の低下によるものであり，この低下には HIF 安定化に伴い増加する ANGPTL4 の関与が考えられた。血中 GLU 濃度の減少及び乳酸の増加は，HIF の安定化に伴う解糖系の亢進によるものと推察された。血中 TGL，GLU 及び乳酸の変化は軽度であり，明らかな用量依存性はなく投与期間の延長に伴う増強も認められなかった。肝臓，腎臓及び胆嚢における脂肪化は，HIF 安定化によりエネルギー産生における糖及び脂質代謝のバランスが変化したことに起因して発現したものと推察された。脂肪化の程度は軽度であり，脂肪化が認められた組織に変性，壊死などの障害性変化は伴わず，各臓器の機能への影響を示唆する所見も認められなかった。また，脂肪化の程度に明らかな用量依存性はなく，投与期間の延長に伴う増強も認められなかった。以上より，臨床で JTZ-951 投与により脂肪化に関連した肝及び腎障害が生じるリスクは低いと考えられた。

JTZ-951 は細菌を用いた復帰突然変異試験において，復帰突然変異を示さなかった。ほ乳類培養細胞（CHL 細胞）を用いた染色体異常試験において，S9 mix 非存在下 24 時間処理の 100 及び 150 μg/mL で染色体異常（構造異常）を誘発した。一方，ヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験においては，染色体異常の誘発は認められなかった。さらに，*in vivo* 試験では，ラット骨髄細胞を用いた染色体異常試験及びラット肝及び末梢血リンパ球を用いたコメットアッセイにおいて，最高用量の 250 mg/kg まで染色体異常又は DNA 損傷の誘発は認められなかった。また，最高用量の 250 mg/kg における最高血漿中濃度は，CHL 細胞において染色体異常が認められた濃度を上回るものであった。加えて，補強試験の結果から，CHL 細胞で認められた染色体異常は JTZ-951 の薬理作用（HIF 安定化）に関連することが示唆された。JTZ-951 による染色体異常の誘発は CHL 細胞のみに認められ，p53 機能が正常であるヒトリンパ球及びほ乳類組織では染色体異常が誘発されなかった。したがって，CHL 細胞で認められた染色体異常は CHL 細胞における p53 機能の欠損が関連しており，ヒトへの外挿性が乏しいものと考えられた。これらのことから，JTZ-951 が生体において染色体異常を誘発する可能性は極めて低いものと考えられた。

JTZ-951 の TgrasH2 マウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験及びラット 2 年間がん原性試験において，JTZ-951 投与に起因した腫瘍発生頻度の増加は認められなかった。よって，JTZ-951 には発がん作用はないものと考えられた。

生殖発生毒性試験において,JTZ-951 の雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する検討では，性周期，交尾率及び受胎率に明らかな変化は認められなかったが，着床数及び着床率の減少（30 mg/kg），胚・胎児の死亡数及び死亡率の増加並びにそれに伴う生存胎児数の減少（10 mg/kg 以上）が認められた。JTZ-951 の雄ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する検討では，雄生殖能及び初期胚発生に対する影響は認められなかった。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する検討では，胚・胎児死亡率の増加（ラット 30 mg/kg，ウサギ 200 mg/kg）が認められ，ラットでは胎児体重の減少傾向，骨化遅延を示唆する変化等（30 mg/kg）が認められたものの，催奇形性を示唆する変化は認められなかった。ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する検討では，一過性の出生児の体重低値（生後 4～21 日）及び眼瞼の開裂時期の遅延（10 mg/kg）が認められた。一連の生殖発生試験における着床，初期胚発生，胚・胎児及び出生児における変化は，親動物における JTZ-951 の薬理作用の過剰発現に関連した二次的変化と考えられた。

3T3 細胞を用いた光毒性試験において，JTZ-951 は光毒性を有さなかった。

JTZ-951 のヒトにおける主代謝物(R)-M2 について，一般毒性，遺伝毒性及び生殖毒性において，(R)-M2 に起因する毒性は認められなかった。

反復投与毒性試験，がん原性試験及び生殖発生毒性試験の NOAEL における曝露量と日本人維持血液透析患者に臨床最高用量の 8 mg/日を単回経口投与した時の推定曝露量（AUC_{inf}：10301.8 ng · hr/mL，C_{max}：1154.7 ng/mL）との比較を下表（表 9）に示す。なお，JTZ-951 の蛋白結合率には種差があり（1～10 μg/mL の濃度範囲における蛋白非結合率は，ヒト：0.5%，ラット：1.6%～1.7%，マウス［TgrasH2 wild type］：7.8%～8.9%，イヌ：3.3%～4.0%，サル：1.0%～2.3%）（CTD2.6.4.4.2 参照），蛋白非結合血漿中薬物濃度で比較すると，ヒトとの曝露量比は下表よりもラットで 3.2～3.4 倍，マウスで 15.6～17.8 倍，サルで 2 倍それぞれ大きくなると考えられた。

表 9　主な毒性試験の NOAEL と臨床試験における JTZ-951 の曝露量比

試験	性	NOAEL (mg/kg)	$AUC_{0\text{-}24}$ [a] (μg·hr/mL)	C_{max} [a] (μg/mL)	曝露量比(倍) [c]	
					AUC_{inf}	C_{max}
ラット 6 ヵ月	雄	1	6.184	2.930	0.6	2.5
	雌	1	4.501	1.544	0.4	1.3
サル 9 ヵ月	雄	3	24.937	9.368	2.4	8.1
	雌	3	22.700	5.493	2.2	4.8
ラット 2 年がん原性	雄	>1	>4.900	>2.400	> 0.5	> 2.1
	雌	>1	>3.260	>1.550	> 0.3	> 1.3
TgrasH2 マウス 6 ヵ月がん原性	雄	>6	>10.732	>5.215	> 1.0	> 4.5
	雌	>6	>17.135	>7.433	> 1.7	> 6.4
ラット雌雄生殖能/初期胚発生	雄	3 [d]	5.91 [b]	2.277 [b]	0.6	2.0
		>30 [e], [f]	>128.457 [b]	>38.661 [b]	> 12.5	> 33.5
	雌	3 [d], [e]	7.435 [b]	1.838 [b]	0.7	1.6
		10 [g]	47.852 [b]	10.606 [b]	4.6	9.2
		>30 [h]	>143.266 [b]	>52.194 [b]	> 13.9	> 45.2
ラット胚/胎児発生	雌	10 [d], [i]	59.007	16.517	5.7	14.3
		>30 [j]	>379.017	>57.151	> 36.8	> 49.5
ウサギ胚/胎児発生	雌	20 [d], [k]	18.295	3.139	1.8	2.7
		60 [i]	39.231	10.441	3.8	9.0
		>200 [j]	119.445 [b]	22.786 [b]	> 11.6	> 19.7
ラット出生前後の発生/母動物の機能	雌	3 [d], [l]	7.435	1.838	0.7	1.6
		>10 [m]	47.852	10.606	> 4.6	> 9.2

[a]：NOAEL における各試験の最終測定値（ただし，TgrasH2 マウス 6 ヵ月がん原性試験は用量設定試験の測定値を，ラット雌雄生殖能/初期胚発生及び出生前後の発生/母動物の機能試験は，ラット 1 ヵ月間反復経口投与毒性試験の測定値を使用）
[b]：NOAEL における各試験の投与 1 日目測定値
[c]：日本人維持血液透析患者に 8 mg/日を投与した時の推定曝露量（AUC_{inf}：10301.8 ng· hr/mL，C_{max}：1154.7 ng/mL）を用いて算出した。なお，AUC_{inf}は定常状態における $AUC_{0\text{-}24}$ に相当する。
[d]：親動物の一般毒性に関する NOAEL
[e]：初期胚発生に関する NOAEL
[f]：生殖能に関する NOAEL
[g]：着床に関する NOAEL
[h]：性周期，交尾能及び受胎率に関する NOAEL
[i]：胚・胎児発生に関する NOAEL
[j]：催奇形性に関する NOAEL
[k]：流産に関する NOAEL
[l]：出生児の身体発育に関する NOAEL
[m]：出生児の生存性，行動，学習及び生殖能に関する NOAEL

2.6.6.10 図表

文章中に記載した。

2.6.6.11 参考文献

1. 野口午郎，高橋健，小松博道，鈴木繁生，宇佐美正義. EPOCH のイヌにおける静脈内単回投与毒性試験. 臨床医薬 1990; 6 Suppl 2: 82-8.（CTD4.3-19）

2. 野口規子，松岡章夫，新倉博文，小松博道，鈴木繁生，他. EPOCH のイヌにおける 4 週間静脈内反復投与毒性試験. 臨床医薬 1990; 6 Suppl 2: 117-42.（CTD4.3-20）

3. 協和キリン株式会社. ネスプ静注用申請資料 2.6 非臨床試験の概要文及び概要表 毒性試験（CTD4.3-8）

4. Wang M, Munch IC, Hasler PW, Prünte C, Larsen M. Central serous chorioretinopathy. Acta Ophthalmol. 2008 Mar; 86(2): 126-45.（CTD4.3-29）

5. 鈴木雅実，野口午郎，杉本哲朗，鈴木繁生，片岡茂幸，大石隆夫. EPOCH のラットにおける 4 週間静脈内反復投与毒性試験. 臨床医薬. 1990; 6 Suppl 2: 97-116.（CTD4.3-21）

6. 菊森幹人，木田覚，西澤嘉人，渡辺和也，北村源田良，麻原義弘，他. KRN5702 のビーグル犬における 4 週間静脈内投与による亜急性毒性試験. 基礎と臨床. 1988 Nov; 22(15): 5291-321.（CTD4.3-22）

7. Hashimoto Y, Kaneko Y, Ishizuka Y, Mizutani M. Reproduction and developmental toxicity study of TYB-5220 (2) -Teratogenicity study of TYB-5220 by intravenous injection in rats-. Japanese Pharmacology and Therapeutics. 1990; 18 (Suppl 5): s1175-91.（CTD4.3-4）

8. Igarashi S, Watanabe K, Sugiyama O, Watanabe S, Ebihara Y, Usami M. Teratological study of EPOCH in rats. J Clin Therap Med. 1990; 6 (Suppl 2): 429-49.（CTD4.3-5）

9. Koh MY, Spivak-Kroizman TR and Powis G. Inhibiting the hypoxia response for cancer therapy – the new kid on the block. Clinical Cancer Res. 2009 October 1; 15(19): 5945–6.（CTD4.3-11）

10. Narita T, Yin S, Gelin CF, et al. Identification of a novel small molecule HIF-1a translation inhibitor. Clinical Cancer Res. 2009 October 1; 15(19): 6128-36.（CTD4.3-12）

11. Ke Q, Costa M. Hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1). Mol Pharmacol. 2006 Nov; 70(5): 1469-80.（CTD5.4-1）

12. Fedele AO, Whitelaw ML, Peet DJ. Regulation of gene expression by the hypoxia-inducible factors. Mol Interv. 2002 Jul; 2(4): 229-43.（CTD4.3-25）

13. 酒井秋男. マウスのヘマトクリット及び右心室重量における高山順応. 信州医学雑誌 1974; 22(1): 5-15.（CTD4.3-26）

14. 酒井秋男. 高地順応と赤血球. 信州医学雑誌 1990; 38(3): 245-55.（CTD4.3-27）

15. Abraham D. Role of endothelin in lung fibrosis. Eur. Respir. Rev. 2008; 17(109): 145-50.（CTD4.3-28）

16. Bovill EG, van der Vliet A. Venous valvular stasis-associated hypoxia and thrombosis: what is the link?. Annu Rev Physiol. 2011; 73: 527-45.（CTD4.3-3）

17. Wolf RF, Peng J, Friese P, Gilmore LS, Burstein SA, Dale GL. Erythropoietin administration increases production and reactivity of platelets in dogs. Thromb Haemost. 1997 Dec; 78(6): 1505-9.（CTD4.3-23）

18. Ge H, Yang G, Yu X, Pourbahrami T, Li C. Oligomerization state-dependent hyperlipidemic effect of angiopoietin-like protein 4. J Lipid Res. 2004 Nov; 45(11): 2071-9.（CTD4.3-9）

19. Le Jan S, Amy C, Cazes A, Monnot C, Lamandé N, Favier J, et al. Angiopoietin-like 4 is a proangiogenic factor produced during ischemia and in conventional renal cell carcinoma. Am J Pathol. 2003 May; 162(5): 1521-8. (CTD4.3-24)

20. Brahimi-Horn MC, Chiche J, Pouysségur J. Hypoxia signalling controls metabolic demand. Curr Opin Cell Biol. 2007 Apr; 19(2): 223-9. (CTD4.3-30)

21. Rankin EB, Rha J, Selak MA, Unger TL, Keith B, Liu Q, et al. Hypoxia-inducible factor 2 regulates hepatic lipid metabolism. Mol Cell Biol. 2009 Aug; 29(16): 4527-38. (CTD4.3-31)

22. Wang Y, Wan C, Deng L, Liu X, Cao X, Gilbert SR, et al. The hypoxia-inducible factor alpha pathway couples angiogenesis to osteogenesis during skeletal development. J Clin Invest. 2007 Jun; 117(6): 1616-26. (CTD4.3-6)

23. Uchida S, Sakai A, Kudo H, Otomo H, Watanuki M, Tanaka M, et al. Vascular endothelial growth factor is expressed along with its receptors during the healing process of bone and bone marrow after drill-hole injury in rats. Bone. 2003 May; 32(5): 491-501. (CTD4.3-16)

24. SJ McGee, AM Havens, Y Shiozawa, Y Jung, RS Taichman. Effects of Erythropoietin on the Bone Microenvironment. Growth Factors. 2012; 30(1): 22–8. (CTD4.3-7)

25. Li C, Shi C, Kim J, Chen Y, Ni S, Jiang L, Zheng C, Li D, Hou J, Taichman RS, Sun H. Erythropoietin promotes bone formation through EphrinB2/EphB4 signaling. J Dent Res. 2015;94(3):455-63. (CTD4.3-32)

26. IIDA H, Fukuda S. Age-related changes in bone weights and their components in rats. Exp. Anim. 1993; 42(3), 349-56. (CTD4.3-33)

27. Aerssens J, Boonen S, Lowet G, Dequeker J. Interspecies Differences in Bone Composition, Density, and Quality: Potential Implications for *in Vivo* Bone Research. Endocrinology. 1998; Feb;139(2):663-70. (CTD4.3-34)

28. Loberg LI, Logan M, Barnhart K, Fossey S, Whitney K. Bone Marrow Findings Secondary to Antineoplastic Compounds: Hematopoietic, Bone, and Cytokine Cross Talk. 2017; Toxicol Pathol. Oct;45(7):879-83. (CTD4.3-35)

29. Fukui K, Shinozaki Y, Kobayashi H, Deai K, Yoshiuchi H, Matsui T, Matsuo A, Matsushita M, Tanaka T, Nangaku M. JTZ-951 (enarodustat), a hypoxia-inducibe factor prolyl hydroxylase inhibitor, stabilizes HIF-α protein and induces erythropoiesis without effects on the function of vascular endothelial growth factor. Eur J Pharmacol. 2019.; Sep. 15;859:172532. (CTD4.3-36)

30. Nagai T, Akizawa T, Kohjiro S, Koiwa F, Nabeshima K, Niikura K, Kino K, Kanamori N, Kinugasa E, Ideura T. rHuEPO enhances the production of plasminogen activator inhibitor-1 in cultured endothelial cells. Kidney Int. 1996; 50(4):102-7. (CTD4.3-37)

31. Stasko J, Drouet L, Soria C, Mazoyer E, Caen J, Kubisz P. Erythropoietin and granulocyte colony-stimulating factor increase plasminogen activator inhibitor-1 release in HUVEC culture. Thromb Res. 2002; 105(2):161-4. (CTD4.3-38)

32. Braithwaite AW Royds JA and Jackson P. Review The p53 story: layers of complexity.Carcinogenesis. 2005; 26(7): 1161-9. (CTD4.3-17)

33. Huang LE, Bindra RS, Glazer PM, Harris AL. Hypoxia-induced genetic instability – a calculated mechanism underlying tumor progression. J.Mol.Med. 2007; 85: 139-148. (CTD4.3-18)

エナロデュスタット

第 2 部 CTD の概要（サマリー）
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.7 毒性試験の概要表

日本たばこ産業株式会社

目次

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary 4
2.6.7.1 Toxicology: Overview 4
2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Studies 13
2.6.7.2.A Toxicokinetic Studies 13
2.6.7.2.B Toxicokinetic Studies 15
2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Data 16
2.6.7.3.A Toxicokinetic Data 16
2.6.7.3.B Toxicokinetic Data 18
2.6.7.3.C Toxicokinetic Data 20
2.6.7.3.D Toxicokinetic Data 21
2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance 22
2.6.7.4.A Drug Substance：JTZ-951 22
2.6.7.4.B Drug Substance：Metabolite of JTZ-951 [(R)-M2 ([redacted])] 26
2.6.7.5 Toxicology: Single-Dose Toxicity 27
2.6.7.6 Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Nonpivotal Studies) 31
2.6.7.7 Toxicology: Repeated-Dose Toxicity 35
2.6.7.7.A One-Month Oral Dose Toxicity Study: Rat 35
2.6.7.7.B Three-Month Oral Dose Toxicity Study: Rat 46
2.6.7.7.C Three-Month Intermittently Oral Dose Toxicity Study: Rat 66
2.6.7.7.D Six-Month Oral Dose Toxicity Study: Rat 85
2.6.7.7.E One-Month Oral Dose Toxicity Study: Dog 91
2.6.7.7.F Three-Month Oral Dose Toxicity Study: Dog 104
2.6.7.7.G Three-Month Intermittently Oral Dose Toxicity Study: Dog 119
2.6.7.7.H Three-Month Oral Dose Toxicity Study: Cynomolgus Monkey 127
2.6.7.7.I Nine-Month Oral Dose Toxicity Study: Cynomolgus Monkey 144
2.6.7.8 Genotoxicity: *In Vitro* 158
2.6.7.8.A Bacterial Reverse Mutation Test 158
2.6.7.8.B Chromosomal Aberration Test 161
2.6.7.8.C Chromosomal Aberration Test 163
2.6.7.9 Genotoxicity: *In Vivo* 165
2.6.7.9.A Chromosomal Aberration Test 165
2.6.7.9.B Single Cell Gel Electrophoresis Assay (Comet Assay) 167
2.6.7.10 Carcinogenicity 169
2.6.7.10.A Preliminary Studies and Toxicokinetic Analyses for Carcinogenicity Study 169
2.6.7.10.B Preliminary Studies and Toxicokinetic Analyses for Carcinogenicity Study 170
2.6.7.10.C Twenty-Six-Week Carcinogenicity Study in TgrasH2 Mice 176

2.6.7.10.D Twenty-Four-Month Carcinogenicity Study of JTZ-951 in Rats 182
2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity (Nonpivotal Studies) 187
2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development(Pivotal) 188
2.6.7.12.A Female Fertility Study: Rats 188
2.6.7.12.B Male Fertility Study: Rats 191
2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity : Embryo-Fetal Development (Pivotal) 193
2.6.7.13.A Effects on Embryo-Fetal Development in Rats 193
2.6.7.13.B Effects on Embryo-Fetal Development in Rabbits 197
2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Pre- and Post-natal Development, Including Maternal Function (Pivotal) 201
2.6.7.15 Studies on Juvenile Animals 205
2.6.7.16 Local Tolerance 205
2.6.7.17 Other Toxicity Studies 206
2.6.7.17.A Antigenicity 206
2.6.7.17.B Phototoxicity 206
2.6.7.17.C Immunotoxicity 206
2.6.7.17.D Mechanistic Studies 207
2.6.7.17.E Investigation of the Findings due to Sustained Polycythemia 207
2.6.7.17.F Measurements of Blood Erythropoietin Concentrations 208
2.6.7.17.G Investigation of Effects on Heart and Lung Weight 209
2.6.7.17.H Investigation of the Hepatic Findings 211
2.6.7.17.I Investigation of the Renal Findings 214
2.6.7.17.J Investigation of the Effect on the Bone 217
2.6.7.17.K Investigation of the Effect on Chorioretinal and Circulatory Disorder 218
2.6.7.17.L Investigation of the Effect on the Accessory Reproductive Organs 226
2.6.7.17.M Mechanistic Studies for Increased TGL level in Plasma 227
2.6.7.17.N Mechanistic Studies for Effects on VEGF 230
2.6.7.17.O Mechanistic Studies for Thrombus Formation 232
2.6.7.17.P Mechanistic Studies for Increased Chromosomal Aberrations in Chinese Hamster Lung Cells 233
2.6.7.18 Studies on Metabolite 234
2.6.7.19 Studies on Impurities 238

2.6.7 Toxicology Tabulated Summary

2.6.7.1 Toxicology: Overview

Test Article: JTZ-951

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose Level [a] (mg/kg)	GLP [b]	Testing Facility	Report/Study Number	Location in CTD
Single-Dose Toxicity							
Toxicokinetic Analyses and Measurement of Pharmacology-Related Parameters							
Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (-/-))	Oral gavage	Single	TK: 3, 6, 20, 60 Pharmacology-Related Parameters: 3, 10, 30, 60	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-046/[redacted]182	4.2.3.1-1
Investigation of the Effects on Animals' Physical Condition, Body Weight and Food Consumption for *In Vivo* Genotoxicity Studies							
Rat: M; Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single	0, 125, 250, 500, 1000, 2000	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-001/[redacted]075	4.2.3.1-2
Investigation of the Dose-dependency in Plasma Concentrations of JTZ-951 and Erythropoietin							
Rat: M; Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single	0, 3, 10, 30, 100, 300	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-002/[redacted]071	4.2.3.1-3
Dog: M; Beagle	Oral gavage	Single	1, 3, 10, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-004/[redacted]007	4.2.3.1-5
Investigation of Dose-Dependency in the Changes in the Reticulocyte Counts and Erythrocyte-Related Parameters							
Rat: M; Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single	0, 3, 10, 30, 100	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-003/[redacted]072	4.2.3.1-4
Dog: M; Beagle	Oral gavage	Single	1, 3, 10, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-004/[redacted]007	4.2.3.1-5
Repeated-Dose Toxicity							
Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (-/-))	Oral gavage	8 weeks	0, 10, 30, 60	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-047/[redacted]204	4.2.3.2-1
Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (-/-))	Oral gavage	13 weeks	0, 6, 10, 20	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-053/[redacted]	4.2.3.2-2
Rat: M & F Crl:CD(SD)	Oral gavage	4 weeks	0, 3, 10. 30	Yes	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-005/[redacted]903	4.2.3.2-3
Rat: M & F Crl:CD(SD)	Oral gavage	13 weeks	0, 3, 10. 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-029/[redacted]133	4.2.3.7.7-2

Test Article: JTZ-951

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose Level [a] (mg/kg)	GLP [b]	Testing Facility	Report/Study Number	Location in CTD
Rat: M & F Crl:CD(SD)	Oral gavage	13 weeks	0, 1, 3. 6	Yes	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-030/[redacted]906	4.2.3.2-4
Rat: M & F Crl:CD(SD)	Oral gavage	13 weeks, Intermittently	0, 10, 20. 30, 3 times/week	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-034/[redacted]-048	4.2.3.2-5
Rat: M & F Crl:CD(SD)	Oral gavage	26 weeks	0, 0.3, 1. 3	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-042/[redacted]-066	4.2.3.2-6
Dog: M & F Beagle	Oral gavage	4 weeks	0, 1, 3, 10	Yes	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-006/[redacted]902	4.2.3.2-7
Dog: M & F Beagle	Oral gavage	13 weeks	0, 0.3, 1. 3	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-031/[redacted]-041	4.2.3.2-8
Dog: M & F Beagle	Oral gavage	13 weeks, Intermittently	0, 3, 6. 10, twice/week	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-035/[redacted]-049	4.2.3.2-9
Monkey: M	Oral gavage	4 weeks	0, 10, 30. 100	No	[redacted]	JTZ951-TX-037/[redacted]-047	4.2.3.7.7-3
Monkey: M & F	Oral gavage	13 weeks	0, 3, 10. 30	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-038/[redacted]-050	4.2.3.2-10
Monkey: M & F	Oral gavage	39 weeks	0, 1, 3. 30/10	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-041/[redacted]-065	4.2.3.2-11
Genotoxicity							
Bacterial Reverse Mutation Test *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	*In vitro*	--	0, 47-5000 µg/plate +/- metabolic activation	Yes	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-008/[redacted]906	4.2.3.3.1-1
Chromosomal Aberration Test: (*In Vitro*) Chinese Hamster Lung Cell	*In vitro*	--	0, 25-450 µg/mL +/- metabolic activation	Yes	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-009/[redacted]907	4.2.3.3.1-2
Chromosomal Aberration Test: (*In Vitro*) Human Peripheral Blood Lymphocytes	*In vitro*	--	S9 mix (+) 3 hr: 160-320 µg/mL S9 mix (–) 3 hr: 160-360 µg/mL S9 mix (–) 24 hr: 1.25-15 µg/mL	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-025/[redacted]-046	4.2.3.3.1-3

Test Article: JTZ-951

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose Level [a] (mg/kg)	GLP [b]	Testing Facility	Report/Study Number	Location in CTD
Chromosomal Aberration Test: (*In Vivo*) Rat: M Crl:CD(SD) Bone Marrow Cell	Oral gavage	Single	0, 62.5, 125, 250	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-010/[redacted]274	4.2.3.3.2-1
Single Cell Gel Electrophoresis Assay (Comet assay): (*In Vivo*) Rat: M Crl:CD(SD) Liver and Peripheral Blood Lymphocytes	Oral gavage	Two doses	0, 62.5, 125, 250	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-026/[redacted]	4.2.3.3.2-2
Carcinogenicity							
Preliminary Studies and Toxicokinetic Analyses for Carcinogenicity Study							
Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (-/-))	Oral gavage	Single	0.6, 2	Yes	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-056/[redacted]901	4.2.3.4.2-1
Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (-/-))	Oral gavage	13 weeks	0, 6, 10, 20	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-053/[redacted]	4.2.3.4.2-2
Carcinogenicity Study							
Mouse: M and F TgrasH2 (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (+/-))	Oral gavage	26 weeks	0, 0.6, 2, 6	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-061/[redacted]	4.2.3.4.2-3
Rat: M & F Crl:CD(SD)	Oral gavage	2 years	0, 0.1, 0.3, 1	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-060/[redacted]8064	4.2.3.4.1-1

Test Article: JTZ-951

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose Level [a] (mg/kg)	GLP [b]	Testing Facility	Report/Study Number	Location in CTD
Reproductive and Developmental Toxicity							
Fertility and Early Embryonic Development							
Rat: M Crl:CD(SD)	Oral gavage	2 weeks before mating, throughout the mating period and up to the day before necropsy	0, 3, 10, 30	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-059/[redacted]-1186	4.2.3.5.1-2
Rat: F Crl:CD(SD)	Oral gavage	14 days prior to mating, through mating to GD 7	0, 3, 10, 30	Yes	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-032/[redacted]901	4.2.3.5.1-1
Embryo-Fetal Development							
Rat: F Crl:CD(SD)	Oral gavage	GDs 7 -- 17	0, 3, 10, 30	Yes	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-033/[redacted]902	4.2.3.5.2-1
Rabbit: F Kbl:NZW	Oral gavage	GDs 6 – 18	0, 20, 60, 200	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-028/[redacted]-1099	4.2.3.5.2-2
Prenatal and Postnatal Development including Maternal Function							
Rat: F Crl:CD(SD)	Oral gavage	GD 7 to Day 20 after delivery	0, 1, 3, 10	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-062/[redacted]-128	4.2.3.5.3-1
Studies on Juvenile Animals	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Local Tolerance	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Other Toxicity Studies							
Antigenicity	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Phototoxicity							
Balb/c 3T3 Cells	*In vitro*	--	9.49, 13.3, 18.6, 26.0, 36.4, 51.0, 71.4, 100 µg/mL +/- irradiation	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-058/[redacted]-110	4.2.3.7.7-1
Immunotoxicity	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Mechanistic Studies	NA	NA	NA	NA	NA	NA	

Test Article: JTZ-951

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose Level [a] (mg/kg)	GLP [b]	Testing Facility	Report/Study Number	Location in CTD
Other Studies							
Investigation of the Findings due to Sustained Polycythemia							
Repeated Oral Dose Study in Phlebotomized Animals							
Rat: M & F; Crl:CD(SD)	Oral gavage	7 weeks	0, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX036/ [redacted]029	4.2.3.7.7-4
Measurements of Blood Erythropoietin Concentrations							
Blood Erythropoietin Concentrations in a One-Month Oral Dose Toxicity Study							
Dog: M; Beagle	Oral gavage	4 weeks	0, 1, 3, 10	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX007/ [redacted]130	4.2.3.7.7-5
Monkey: M	Oral gavage	4 weeks	0, 10, 30, 100	No	[redacted]	JTZ951-TX-043/ [redacted]-085	4.2.3.7.7-6
Monkey: M & F	Oral gavage	13 weeks	0, 3, 10, 30	No	[redacted]	JTZ951-TX-044/ [redacted]-086	4.2.3.7.7-7
Investigation of the Effects on Heart and Lung Weight							
Effects on Circulating Blood Volume and Reversibility							
Rat: F; Crl:CD(SD)	Oral gavage	4 weeks	0, 10, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-011/ [redacted]141	4.2.3.7.7-8
Effects on Blood Pressure and Heart Rate							
Rat: F; Crl:CD(SD)	Oral gavage	4 weeks	0, 10, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-SP-007/ [redacted]B951SP03	4.2.3.7.7-9
Investigation of the Hepatic Findings							
Effects of Phlebotomy on Histopathological Findings in a One-Month Toxicity Study							
Dog: M; Beagle	Oral gavage	4 weeks	0, 10	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-012/ [redacted]158	4.2.3.7.7-10
Plasma Hepatic Function-related Biomarkers in a One-Month Toxicity Study							
Rat: M & F; Crl:CD(SD)	Oral gavage	4 weeks	0, 3, 10. 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-013/ [redacted]162	4.2.3.7.7-11
Dog: M; Beagle			0, 1, 3, 10			JTZ951-TX-014/ [redacted]186	4.2.3.7.7-12

Test Article: JTZ-951

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose Level [a] (mg/kg)	GLP [b]	Testing Facility	Report/Study Number	Location in CTD
Investigation of the Renal Findings							
Urinary Biomarkers of Renal Toxicity in a One-Month Toxicity Study							
Rat: M & F; Crl:CD(SD)	Oral gavage	4 weeks	0, 3, 10. 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-015/ [redacted]197	4.2.3.7.7-13
Dog: M; Beagle			0, 1, 3, 10			JTZ951-TX-014/ [redacted]186	4.2.3.7.7-12
Ultrastructural Examination of Kidneys in a One-Month Toxicity Study							
Rat: M & F; Crl:CD(SD)	Oral gavage	4 weeks	0, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-016/ [redacted]179	4.2.3.7.7-14
Dog: M; Beagle			0, 10			JTZ951-TX-017/ [redacted]180	4.2.3.7.7-15
Investigation of the Effect on the Bone							
Bone Metabolism Biomarkers in a One-Month Toxicity Study							
Rat: M & F; Crl:CD(SD)	Oral gavage	4 weeks	0, 3, 10. 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-018/ [redacted]149	4.2.3.7.7-16
Investigation of the Effects on Chorioretinal and Circulatory Disorder							
Effects of Phlebotomy on Ophthalmoscopy and Histopathology Examinations of the Eye in the Repeated Oral Dose Study							
Dog: M; Beagle	Oral gavage	4 weeks	0, 10	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-019/ [redacted]199	4.2.3.7.7-17
Plasma ET-1 Concentration in Repeated Dose Study							
Dog: M; Beagle	Oral gavage	4 weeks	0, 1, 3, 10	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-020/ [redacted]192	4.2.3.7.7-18
			0, 10			JTZ951-TX-012/ [redacted]158	4.2.3.7.7-10
Plasma CRP Concentration in Repeated Dose Study							
Rat: M & F; Crl:CD(SD)	Oral gavage	4 weeks	0, 3, 10. 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-013/ [redacted]162	4.2.3.7.7-11
Dog: M; Beagle			0, 1, 3, 10			JTZ951-TX-014/ [redacted]186	4.2.3.7.7-12
Investigation of the Effect on the Accessory Reproductive Organs							
Plasma Testosterone Concentrations in a One-Month Toxicity Study							
Rat: M & F; Crl:CD(SD)	Oral gavage	4 weeks	0, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-021/ [redacted]148	4.2.3.7.7-19

Test Article: JTZ-951

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose Level [a] (mg/kg)	GLP [b]	Testing Facility	Report/Study Number	Location in CTD
Mechanistic Studies for Increased TGL level in Plasma							
Changes in TGL Level after a Single Oral Dose							
Rat: M; Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single	0, 3, 10, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-022/ [redacted]126	4.2.3.7.7-20
			0, 3, 10, 30			JTZ951-TX-023/ [redacted]145	4.2.3.7.7-21
Dog: M; Beagle			0, 1, 3, 10, 30			JTZ951-TX-004/ [redacted]007	4.2.3.7.7-22
Effects on the Hepatic TGL Secretion Rate							
Rat: M; Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single	0, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-018/ [redacted]B951TG01	4.2.3.7.7-23
Effects on the TGL Elimination Rate							
Rat: M; Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single	0, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-019/ [redacted]B951TG02	4.2.3.7.7-24
Effects on Blood LPL Activity							
Rat: M; Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single	0, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-020/ [redacted]B951TG03	4.2.3.7.7-25
Effect on ANGPTL4 mRNA Levels in Liver and Kidney							
Rat: M; Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single	0, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-016/ [redacted]B951TG04	4.2.3.7.7-26
Mechanistic Studies for Effects on VEGF							
Effects on VEGF Production							
Rat: M; Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single	0, 3, 10, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-015/ [redacted]B951NV01	4.2.3.7.7-27
Effects on Retinal VEGF mRNA Levels							
Rat: M; Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single	0, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-025/ [redacted]BHIFVM01	4.2.3.7.7-28
Effects on Retinal Vascular Permeability							
Rat: M; Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single	0, 300	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-026/ [redacted]B951VK01	4.2.3.7.7-29
Effects on Tumor Growth							
Mouse: F; CAnN. Cg-Foxn1<nu>/CrlCrlj (BALB/c-nu/nu)	Oral gavage	20 days	0, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-032/ [redacted]B951XG01	4.2.3.7.7-30

Test Article: JTZ-951

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose Level [a] (mg/kg)	GLP [b]	Testing Facility	Report/Study Number	Location in CTD
Mechanistic Studies for Thrombus Formation							
Additional Histopathological Examination in the Lungs in the One-Month Repeated Study in Monkeys							
Monkey: M	Oral gavage	4 weeks	0, 10, 30, 100	No	[redacted]	JTZ951-TX-040/ [redacted]001	4.2.3.7.7-31
Effects on Thrombus Formation and Blood Coagulation in Rats							
Rat: M; Crl:CD(SD)	Oral gavage	2, 4 and 7 days	0, 100	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-PH-027/ [redacted]B951TH01	4.2.3.7.7-32
Mechanistic Studies for Increased Chromosomal Aberrations in Chinese Hamster Lung Cells							
Effects of HIF-1α Protein Inhibitor on the Chromosomal Aberrations Induced in CHL Cells: (*In Vitro*)							
Chinese Hamster Lung Cell	*In vitro*	--	S9 mix (–) 24 hr: HIF-1α protein inhibitor 100-250 μg/mL and/or JTZ-951 150 μg/mL	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-027/ [redacted]009	4.2.3.7.7-33
Studies on Metabolite							
Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (-/-))	Oral gavage	Single	JTZ-951: 3, 6, 20, 60	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX046/ [redacted]182	4.2.3.7.5-1
Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (-/-))	Oral gavage	13 weeks	JTZ-951: 6, 10, 20	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-054/ [redacted]021	4.2.3.7.5-2
Rat: M Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single	JTZ-951: 250	Yes	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-052/ [redacted]906	4.2.3.7.5-3
Rat: M and F Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single	JTZ-951: 3, 6, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-055/ [redacted]022	4.2.3.7.5-4
Rat: F Crl:CD(SD)	Oral gavage	11 Days (GD 7 to GD 17)	JTZ-951: 30	Yes	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-057/ [redacted]902	4.2.3.7.5-5
Bacterial Reverse Mutation Test *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	*In vitro*	--	Metabolite (R)-M2: 0, 156-5000 μg/plate +/- metabolic activation	Yes	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-051/ [redacted]905	4.2.3.7.5-6

Test Article: JTZ-951

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose Level [a] (mg/kg)	GLP [b]	Testing Facility	Report/Study Number	Location in CTD
Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (-/-))	Oral gavage	Single	Metabolite (R)-M2: TK; M: 10, 30, 100 F: 3, 10, 30, 100 Pharmacology-Related Parameters; M: 0, 30, 100	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-048/ [redacted]064	4.2.3.7.5-7
Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (-/-))	Oral gavage	6 weeks	Metabolite (R)-M2: M: 0, 10, 30, 100 F: 0, 3, 10, 30	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-049/ [redacted]072	4.2.3.7.5-8
Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic (-/-))	Oral gavage	13 weeks	Metabolite (R)-M2: M: 0, 10, 30, 100 F: 0, 3, 10, 30 Recovery Groups: M: 0, 100 F: 0, 30	Yes	[redacted]	JTZ951-TX-053/ [redacted]	4.2.3.7.5-9
In silico analyses using DEREK Nexus	*In silico*	--	Metabolite (R)-M2: --	No	Japan Tobacco Inc.	JTZ951-TX-050/ [redacted]103	4.2.3.7.5-10
Studies on Impurities	NA	NA	NA	NA	NA	NA	

[a] 0.5% MC aqueous solution was used as vehicle
[b] Indicates study includes a GLP Compliance statement
M: Male, F: Female, NA: Not applicable

2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Studies

2.6.7.2.A Toxicokinetic Studies

Test Article: JTZ-951

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose Level [a] (mg/kg)	GLP [b]	Report/Study Number	Location in CTD
Single Dose Toxicity	Mouse: M TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg(HRAS)2 Jic (-/-))	Oral gavage	0.6, 2	Yes	JTZ951-TX-056/ [redacted]901	4.2.3.4.2-1
Single Dose Toxicity (Preliminary)	Rat: M Crl:CD(SD)	Oral gavage	3, 10, 30, 100, 300	No	JTZ951-TX-002/ [redacted]071	4.2.3.1-3
Single Dose Toxicity (Preliminary)	Dog: M Beagle	Oral gavage	1, 3, 10, 30	No	JTZ951-TX-0004/ [redacted]007	4.2.3.1-5
Three-Month Toxicity	Mouse: M TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg(HRAS)2 Jic (-/-))	Oral gavage	0, 6, 10, 20	Yes	JTZ951-TX-053/ [redacted]	4.2.3.2-2
One-Month Toxicity	Rat: M & F Crl:CD(SD)	Oral gavage	0, 3, 10, 30	Yes	JTZ951-TX-005/ [redacted]903	4.2.3.2-3
Three-Month Toxicity	Rat: M & F Crl:CD(SD)	Oral gavage	0, 1, 3, 6	Yes	JTZ951-TX-030/ [redacted]906	4.2.3.2-4
Three-Month Toxicity, Intermittent dosing	Rat: M & F Crl:CD(SD)	Oral gavage	0, 10, 20, 30	Yes	JTZ951-TX-034/ [redacted]-48	4.2.3.7.5-7
Six-Month Toxicity	Rat: M & F Crl:CD(SD)	Oral gavage	0, 0.3, 1, 3	Yes	JTZ951-TX-042/ [redacted]-66	4.2.3.2-6
One-Month Toxicity	Dog: M & F Beagle	Oral gavage	0, 1, 3, 10	Yes	JTZ951-TX-006/ [redacted]902	4.2.3.2-7
Three-Month Toxicity	Dog: M & F Beagle	Oral gavage	0, 0.3, 1, 3	Yes	JTZ951-TX-031/ [redacted]-41	4.2.3.2-8
Three-Month Toxicity, Intermittent dosing	Dog: M & F Beagle	Oral gavage	0, 3, 6, 10	Yes	JTZ951-TX-035/ [redacted]-049	4.2.3.2-9
One-Month Preliminary Toxicity	Monkey: M Cynomolgus	Oral gavage	0, 10, 30, 100	No	JTZ951-TX-037/ [redacted]-47	4.2.3.7.7-3
Three-Month Toxicity	Monkey: M & F Cynomolgus	Oral gavage	0, 3, 10, 30	Yes	JTZ951-TX-038/ [redacted]-050	4.2.3.2-10

Test Article: JTZ-951

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose Level [a] (mg/kg)	GLP [b]	Report/Study Number	Location in CTD
Nine-Month Toxicity	Monkey: M & F Cynomolgus	Oral gavage	0, 1, 3, 30/10	Yes	JTZ951-TX-041/ [redacted]-065	4.2.3.2-11
Chromosomal Aberration Test: (*In Vivo*); Single Dose	Rat: M Crl:CD(SD)	Oral gavage	0, 62.5, 125, 250	Yes	JTZ951-TX-010/ [redacted]274	4.2.3.3.2-1
Embryo-Fetal Development	Rat: F Crl:CD(SD)	Oral gavage	0, 3, 10, 30	Yes	JTZ951-TX-033/ [redacted]902	4.2.3.5.2-1
Embryo-Fetal Development	Rabbit: F Kbl:NZW	Oral gavage	0, 20, 60, 200	Yes	JTZ951-TX-028/ [redacted]-1099	4.2.3.5.2-2

[a] 0.5% MC aqueous solution was used as vehicle
[b] Indicates study includes a GLP Compliance statement
M: Male, F: Female, NA: Not applicable

2.6.7.2.B Toxicokinetic Studies

Test Article: Metabolite of JTZ-951 [(R)-M2 ([redacted])]

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose Level (mg/kg)	GLP [c]	Report/Study Number	Location in CTD
Single Dose TK study of JTZ-951 (Measurement of (R)-M2)	Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic [-/-])	Oral gavage	JTZ-951: [a] 3, 6, 20, 60	No	JTZ951-TX-046/ [redacted]182	4.2.3.1-1
Three-Month Toxicity of JTZ-951 (Measurement of (R)-M2)	Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic [-/-])	Oral gavage	JTZ-951: [a] 6, 10, 20	No	JTZ951-TX-054/ [redacted]021	4.2.3.7.5-2
Single Dose TK study of JTZ-951 (Measurement of (R)-M2)	Rat: M Crl:CD(SD)	Oral gavage	JTZ-951: [a] 250	Yes	JTZ951-TX-052/ [redacted]906	4.2.3.7.5-3
Single Dose TK study of JTZ-951 (Measurement of (R)-M2)	Rat: M and F Crl:CD(SD)	Oral gavage	JTZ-951: [a] 3, 6, 30	No	JTZ951-TX-055/ [redacted]022	4.2.3.7.5-4
11-Day TK study of JTZ-951 (Measurement of (R)-M2)	Rat: F Crl:CD(SD)	Oral gavage	JTZ-951: [a] 30	Yes	JTZ951-TX-057/ [redacted]902	4.2.3.7.5-5
Single Dose Toxicity of (R)-M2	Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic [-/-])	Oral gavage	Metabolite (R)-M2: [b] M: 10, 30, 100 F: 3, 10, 30, 100	No	JTZ951-TX-048/ [redacted]064	4.2.3.7.5-7
Three-Month Toxicity of (R)-M2	Mouse: M and F TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic [-/-])	Oral gavage	Metabolite (R)-M2: [b] M: 0, 10, 30, 100 F: 0, 3, 10, 30	Yes	JTZ951-TX-053/ [redacted]	4.2.3.7.5-9

[a] 0.5% MC aqueous solution was used as vehicle
[b] 1.5 molar equivalent of sodium hydroxide solution containing water was used as vehicle
[c] Indicates study includes a GLP Compliance statement
M: Male, F: Female

2.6.7.3 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetic Data

2.6.7.3.A Toxicokinetic Data

Test Article: JTZ-951

	Steady State AUC_{0-24} of JTZ-951 (μg·hr/mL)									
Species	**Rat**		**Dog**		**Monkey**		**Mouse (TgrasH2 wild-type)**		**Rat**	**Rabbit**
Method of Administration	**Oral**		**Oral**		**Oral**		**Oral**		**Oral**	**Oral**
Gender	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Dam**	**Dam**
Dose Level (mg/kg)										
0.3	1.150[a]	1.048[a]	0.841	0.627	NA	NA	NA	NA	NA	NA
0.6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.487	0.979	NA	NA
1	6.184[a]	4.501[a]	3.720[e]	3.971[e]	3.294[h]	5.604[h]	NA	NA	NA	NA
2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.884	4.331	NA	NA
3	7.408[b]	9.970[b]	16.666[e]	21.084[e]	18.246[i] 13.167[j]	17.668[i] 14.079[j]	NA	NA	9.999[l] 11.294[m]	NA
6	21.309[c]	22.118[c]	11.821[c]	17.883[c]	NA	NA	10.732[p]	17.135[p]	NA	NA
10	36.160[b]	41.291[b]	126.699[f]	120.539[f]	96.860[i] 65.400[j]	63.839[i] 45.759[j]	21.759[p]	31.625[p]	38.458[l] 59.007[m]	NA
20	81.958	88.721	NA	NA	NA	NA	57.370[q]	90.474[p]	NA	12.088[n] 18.295[o]
30	161.132[b]	171.603[b]	286.991[g]	NA	249.804[i] 161.974[j]	234.307[i] 152.684[j]	NA	NA	230.374[l] 379.017[m]	NA
60	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	35.309[n] 39.231[o]
100	668.438[d]	NA	NA	NA	1255.309[k]	NA	NA	NA	NA	NA
200	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	119.445[n] 975.778[o]
300	1664.937[d]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

The studies were conducted using JTZ-951 (0.5% MC aqueous solution was used as vehicle).
NA: Not applicable
[a] On Day 182 in the six-month oral dose toxicity study in rats.
[b] On Day 27 in the one-month oral repeated dose toxicity study in rats.
[c] On Day 1 in the three-month oral intermittent dose toxicity study in rats/dogs.
[d] In the single oral dose toxicity study in rats.
[e] On Day 28 in the one-month oral repeated dose toxicity study in dogs.
[f] On Day 6 in the one-month oral repeated dose toxicity study in dogs.
[g] In the single oral dose toxicity study in dogs.
[h] On Day 273 in the nine-month oral repeated dose toxicity study in monkeys.
[i] On Day 1 in the three-month oral repeated dose toxicity study in monkeys.
[j] On Day 91 in the three-month oral repeated dose toxicity study in monkeys.
[k] On Day 1 in the one-month preliminary oral repeated dose toxicity study in monkeys.
[l] On Day 1 (GD 7) in the oral dose study for effects on embryo-fetal development in rats.
[m] On Day 11 (GD 17) in the oral dose study for effects on embryo-fetal development in rats.
[n] On Day 1 (GD 6) in the oral dose study for effects on embryo-fetal development in rabbits.
[o] On Day 13 (GD 18) in the oral dose study for effects on embryo-fetal development in rabbits.
[p] On Day 87 in the three-month oral dose toxicity study in CByB6F1 (TgrasH2 wild-type) mice.
[q] On Day 50 in the three-month oral dose toxicity study in CByB6F1 (TgrasH2 wild-type) mice.
In the one-month repeated oral dose toxicity study in rats or dogs, there were no gender differences in the $AUC_{0\text{-}24}$ values. The AUC values were unaffected by repeated dosing of JTZ-951 in rats. In dogs, the $AUC_{0\text{-}24}$ values at dose levels of 1 or 3 mg/kg were unaffected by repeated dosing of JTZ-951 and on Day 6 at dose levels 10 mg/kg were higher than those on Day 1 in both sexes.
In the oral dose study to investigate effects on embryo-fetal development in rabbits, the systemic exposure to JTZ-951 in two dams on GD 18 was higher than that on GD 6 at 200 mg/kg and poor feeding behavior was noted on GD 18. Abortion or moribund condition was noted in these two dams 2 days later.

2.6.7.3.B Toxicokinetic Data

Test Article: JTZ-951

	Steady State C_{max} of JTZ-951 (μg/mL)									
Species	**Rat**		**Dog**		**Monkey**		**Mouse (TgrasH2 wild-type)**		**Rat**	**Rabbit**
Method of Administration	**Oral**		**Oral**		**Oral**		**Oral**		**Oral**	**Oral**
Gender	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Male**	**Female**	**Dam**	**Dam**
Dose Level (mg/kg)										
0.3	0.432[a]	0.429[a]	0.292	0.254	NA	NA	NA	NA	NA	NA
0.6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.306	0.503	NA	NA
1	2.930[a]	1.544[a]	1.104[e]	1.289[e]	1.331[h]	2.229[h]	NA	NA	NA	NA
2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.203	1.641	NA	NA
3	3.337[b]	4.077[b]	4.279[e]	4.897[e]	7.280[i] 4.865[j]	7.200[i] 7.362[j]	NA	NA	3.685[l]	NA
6	6.444[c]	7.993[c]	4.088[c]	7.353[c]	NA	NA	5.215[o]	7.433[o]	NA	NA
10	13.481[b]	18.659[b]	17.565[f]	20.481[f]	30.306[i] 19.944[j]	29.315[i] 19.299[j]	11.271[o]	13.389[o]	16.517[l]	NA
20	24.975	29.800	NA	NA	NA	NA	32.760[p]	39.179[o]	NA	2.335[m] 3.139[n]
30	50.831[b]	62.189[b]	70.718[g]	NA	69.392[i] 40.806[j]	87.611[i] 42.034[j]	NA	NA	57.151[l]	NA
60	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	8.826[m] 10.441[n]
100	164.923[d]	NA	NA	NA	200.156[k]	NA	NA	NA	NA	NA
200	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	22.786[m] 70.948[n]
300	237.990[d]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA

The studies were conducted using JTZ-951. (0.5% MC aqueous solution was used as vehicle). NA: Not applicable

[a] On Day 182 in the six-month oral dose toxicity study in rats.
[b] On Day 27 in the one-month oral repeated dose toxicity study in rats.
[c] On Day1 in the three-month oral intermittent dose toxicity study in rats/dogs
[d] In the single oral dose toxicity study in rats.
[e] On Day 28 in the one-month oral repeated dose toxicity study in dogs.
[f] On Day 6 in the one-month oral repeated dose toxicity study in dogs.
[g] In the single oral dose toxicity study in dogs.
[h] On Day 273 in the nine-month oral repeated dose toxicity study in monkeys.
[i] On Day 1 in the three-month oral repeated dose toxicity study in monkeys.
[j] On Day 91 in the three-month oral repeated dose toxicity study in monkeys.
[k] On Day 1 in the one-month preliminary oral repeated dose toxicity study in monkeys.
[l] On Day 11 (GD 17) in the oral dose study for effects on embryo-fetal development in rats.
[m] On Day 1 (GD 6) in the oral dose study for effects on embryo-fetal development in rabbits.
[n] On Day 13 (GD 18) in the oral dose study for effects on embryo-fetal development in rabbits.
[o] On Day 87 in the 13-week oral dose toxicity study in CByB6F1 (TgrasH2 wild-type) mice.
[p] On Day 50 in the 13-week oral dose toxicity study in CByB6F1 (TgrasH2 wild-type) mice.

In the one-month repeated oral dose toxicity study in rats or dogs, there were no gender differences in the C_{max} values. No effects of repeated dosing on the C_{max} values were noted in rats or dogs. In the oral dose study for effects on embryo-fetal development in rabbits, the systemic exposure to JTZ-951 in two dams on GD 18 was higher than that on GD 6 at 200 mg/kg and poor feeding behavior was noted on GD 18. Abortion or moribund condition was noted in these two dams 2 days later.

2.6.7.3.C Toxicokinetic Data

Test Article: JTZ-951 or Metabolite of JTZ-951 [(R)-M2 ([redacted])]

	AUC_{0-24} of (R)-M2 (ng·hr/mL)				
Species	**Rat**			**Mouse (TgrasH2 wild-type)**	
Method of Administration	**Oral**	**Oral**	**Oral**	**Oral**	**Oral**
Gender	**Male**	**Female**	**Dam**	**Male**	**Female**
Dose Level of JTZ-951 (mg/kg)					
3	3.29	17.23	NA	4.24	NA
6	30.57	75.09	NA	21.69 [b]	42.14 [b]
10	NA	NA	NA	52.10 [b]	106.30 [b]
20	NA	NA	NA	177.19 [c]	552.91 [b]
30	262.80	715.16	430.2 [a]	NA	NA
60	NA	NA	NA	822.75	NA
250	3273.0	NA	NA	NA	NA
Dose Level of Metabolite (R)-M2 (mg/kg)					
3	NA	NA	NA	NA	154.4 [b]
10	NA	NA	NA	189.6 [b]	566.6 [b]
30	NA	NA	NA	990.3 [b]	1817.6 [b]
100	NA	NA	NA	3329.6 [b]	6997.5

The studies were conducted using JTZ-951 (0.5% MC aqueous solution was used as vehicle) or metabolite (R)-M2 (1.5 molar equivalent of sodium hydroxide solution containing water was used as vehicle).
NA: Not applicable
[a] On Day 11 (GD 17) in the 11-day repeated oral dose toxicity study in rats.
[b] On Day 87 in the three-month oral dose toxicity study in CByB6F1 (TgrasH2 wild-type) mice.
[c] On Day 50 in the three-month oral dose toxicity study in CByB6F1 (TgrasH2 wild-type) mice (Due to excessive mortality, males at 20 mg/kg were sacrificed on Day 50.).
In the single oral dose toxicity study of JTZ-951 in rats, the systemic exposure to (R)-M2 was higher in females than that in males.
In the 11-day repeated oral dose study of JTZ-951 in rats, the systemic exposure to (R)-M2 on Day 11 was lower than that on Day 1.
In the three-month repeated oral dose toxicity study of JTZ-951 in CByB6F1 (TgrasH2 wild-type) mice, the systemic exposure to (R)-M2 was higher in females than that in males. The systemic exposure to (R)-M2 tended to increase on Day 87 or Day 50 (for males at 20 mg/kg) when compared with that on Day 1 in both sexes.
In the three-month repeated oral dose toxicity study of metabolite (R)-M2 in CByB6F1 (TgrasH2 wild-type) mice, the systemic exposure to (R)-M2 was higher in females than that in males at the same dose level. No effect of repeated dosing was noted on the AUC_{0-24} values.

2.6.7.3.D Toxicokinetic Data

Test Article: JTZ-951 or Metabolite of JTZ-951 [(R)-M2 ([redacted])]

	C_{max} of (R)-M2 (ng/mL)				
Species	**Rat**			**Mouse (TgrasH2 wild-type)**	
Method of Administration	**Oral**	**Oral**	**Oral**	**Oral**	**Oral**
Gender	**Male**	**Female**	**Dam**	**Male**	**Female**
Dose Level of JTZ-951 (mg/kg)					
3	2.20	7.42	NA	1.44	NA
6	15.83	32.12	NA	16.56[b]	21.62[b]
10	NA	NA	NA	30.22[b]	54.63[b]
20	NA	NA	NA	130.05[c]	276.78[b]
30	110.87	349.79	62.7[a]	NA	NA
60	NA	NA	NA	662.73	NA
250	867.6	NA	NA	NA	NA
Dose Level of (R)-M2 (mg/kg)					
3	NA	NA	NA	NA	96.7[b]
10	NA	NA	NA	117.4[b]	416.4[b]
30	NA	NA	NA	507.9[b]	1195.6[b]
100	NA	NA	NA	3064.4[b]	4498.7

The studies were conducted using JTZ-951 (0.5% MC aqueous solution was used as vehicle) or metabolite (R)-M2 (1.5 molar equivalent of sodium hydroxide solution containing water was used as vehicle).
NA: Not applicable
[a] On Day 11 (GD 17) in the 11-day repeated oral dose toxicity study in rats.
[b] On Day 87 in the three-month oral dose toxicity study in CByB6F1 (TgrasH2 wild-type) mice.
[c] On Day 50 in the three-month oral dose toxicity study in CByB6F1 (TgrasH2 wild-type) mice (Due to excessive mortality, males at 20 mg/kg were sacrificed on Day 50.).
In the single oral dose toxicity study of JTZ-951 in rats, the systemic exposure to (R)-M2 was higher in females than that in males.
In the 11-day repeated oral dose toxicity study of JTZ-951 in rats, the systemic exposure to (R)-M2 on Day 11 was lower than that on Day 1.
In the three-month repeated oral dose toxicity study of JTZ-951 in CByB6F1 (TgrasH2 wild-type) mice, the systemic exposure to (R)-M2 was higher in females than that in males. The systemic exposure to (R)-M2 tended to increase on Day 87 or Day 50 (for males at 20 mg/kg) when compared with that on Day 1 in both sexes.
In the three-month repeated oral dose toxicity study of metabolite (R)-M2 in CByB6F1 (TgrasH2 wild-type) mice, the systemic exposure to (R)-M2 was higher in females than that in males at the same dose level. No effects of repeated dosing on the C_{max} values were noted.

2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance

2.6.7.4.A Drug Substance : JTZ-951

Test Article: JTZ-951

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities			Report/Study Number	Location in CTD	Type of Study
		<compound>	<compound>	<compound>			
Proposed Specification:	NA	NA	NA	NA			
Lot [redacted]	[redacted]	--	--	--	JTZ951-TX-005/[redacted]903	4.2.3.2-3	One-Month Toxicity in Rats
					JTZ951-TX-006/[redacted]902	4.2.3.2-7	One-Month Toxicity in Dogs
					JTZ951-TX-008/[redacted]906	4.2.3.3.1-1	Bacterial Reverse Mutation Test
					JTZ951-TX-009/[redacted]907	4.2.3.3.1-2	Chromosomal Aberration Test in Cultured Mammalian Cells
					JTZ951-TX-010/[redacted]274	4.2.3.3.2-1	Chromosomal Aberration Test in Rats
					JTZ951-TX-011/[redacted]141	4.2.3.7.7-8	One-Month Study in Rats –Effects on Circulating Blood Volume and Reversibility–
					JTZ951-TX-012/[redacted]158	4.2.3.7.7-10	One-Month Study in Dogs –Effects of Phlebotomy on Histopathological Findings in a One-Month Toxicity Study–
					JTZ951-TX-019/[redacted]199	4.2.3.7.7-17	One-Month Study in Dogs –Investigation of Chorioretinal lesion in Dogs in a One-Month Toxicity Study–
					JTZ951-TX-029/[redacted]133	4.2.3.7.7-2	Three-Month Preliminary Study in Rats
					JTZ951-TX-036/[redacted]029	4.2.3.7.7-4	Seven-Week Study in Phlebotomized Rats
Lot [redacted]	[redacted]	--	--	--	JTZ951-PH-032/[redacted]B951XG01	4.2.3.7.7-30	Twenty-Day Study in Mice –Effect on Tumor Growth–

Test Article: JTZ-951

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities			Report/Study Number	Location in CTD	Type of Study
		<compound>	<compound>	<compound>			
Lot [redacted]	[redacted]	--	--	--	JTZ951-TX-002/ [redacted]071	4.2.3.1-3	Single Oral Dose Study in Rats – Investigation of the Dose-dependency in Plasma Concentration of JTZ-951 and Erythropoietin–
					JTZ951-TX-004/ [redacted]007	4.2.3.1-5	Single Oral Dose Study in Dogs – Investigation of the Dose-dependency in Plasma Concentration of JTZ-951 and Erythropoietin–
					JTZ951-TX-003/ [redacted]072	4.2.3.1-4	Single Oral Dose Study of JTZ-951in Rats –Investigation of the Dose-Dependency in the Changes of Ret Counts and Erythrocyte-Related Parameters–
					JTZ951-TX-001/ [redacted]075	4.2.3.1-2	Single Oral Dose Study of JTZ-951in Rats –Investigations at the High Dose Levels–
					JTZ951-TX-022/ [redacted]126	4.2.3.7.7-20	Changes in TGL level after a single oral dose in non-fasted Rats
					JTZ951-TX-023/ [redacted]145	4.2.3.7.7-21	Changes in TGL level after a single oral dose in fasted Rats
					JTZ951-TX-004/ [redacted]007	4.2.3.7.7-22	Changes in TGL level after a single oral dose in Dogs
					JTZ951-PH-018/ [redacted]B951TG01	4.2.3.7.7-23	Effects on the TGL Release from Liver in Rats
					JTZ951-PH-019/ [redacted]B951TG02	4.2.3.7.7-24	Effects on the Degree of TGL Elimination in Rats
					JTZ951-PH-020/ [redacted]B951TG03	4.2.3.7.7-25	Effects on LPL activity in Plasma in Rats
Lot [redacted]	[redacted]	--	--	--	JTZ951-TX-025/ [redacted]-046	4.2.3.3.1-3	Chromosomal Aberration Test in Human Peripheral Blood Lymphocytes
					JTZ951-TX-026/ [redacted]([redacted]-[redacted])	4.2.3.3.2-2	Single Cell Gel Electrophoresis Assay (Comet assay) in Rats
					JTZ951-TX-027/ [redacted]009	4.2.3.7.7-33	Effects of HIF-1α Protein Inhibitor on the Chromosomal Aberration

エナロデュスタット
2.6.7 毒性試験の概要表

Test Article: JTZ-951

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities			Report/Study Number	Location in CTD	Type of Study
		<compound>	<compound>	<compound>			
Lot [redacted]	[redacted]	--	--	--	JTZ951-TX-030/ [redacted]906	4.2.3.2-4	Three-Month Toxicity in Rats
					JTZ951-TX-034/ [redacted]-048	4.2.3.2-5	Three-Month Intermittent Dosing Toxicity in Rats
					JTZ951-TX-031/ [redacted]-041	4.2.3.2-8	Three-Month Toxicity in Dogs
					JTZ951-TX-035/ [redacted]-049	4.2.3.2-9	Three-Month Intermittent Dosing Toxicity in Dogs
					JTZ951-TX-037/ [redacted]-047	4.2.3.7.7-3	One-Month Preliminary Toxicity in Monkeys
					JTZ951-TX-038/ [redacted]-050	4.2.3.2-10	Three-Month Toxicity in Monkeys
					JTZ951-TX-032/ [redacted]901	4.2.3.5.1-1	Effects on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Female Rats
					JTZ951-TX-033/ [redacted]902	4.2.3.5.2-1	Effects on Embryo-Fetal Development in Rats
					JTZ951-TX-028/ [redacted]-1099	4.2.3.5.2-2	Effects on Embryo-Fetal Development in Rabbits
					JTZ951-TX-042/ [redacted]-066	4.2.3.2-6	Six-Month Toxicity in Rats
					JTZ951-TX-041/ [redacted]-065	4.2.3.2-11	Nine-Month Toxicity in Monkeys
					JTZ951-TX-046/ [redacted]182	4.2.3.1-1	Single Oral Dose Study in TgrasH2 wild-type Mice
					JTZ951-TX-047/ [redacted]204	4.2.3.2-1	Two-Month Preliminary Study in TgrasH2 wild-type Mice
					JTZ951-TX-052/ [redacted]906	4.2.3.7.5-3	Single Oral Dose Study in Rats – Measurement of metabolite (R)-M2–

Test Article: JTZ-951

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities			Report/Study Number	Location in CTD	Type of Study
		<compound>	<compound>	<compound>			
Lot [redacted]	[redacted]	--	--	--	JTZ951-TX-053/ [redacted]	4.2.3.7.5-9	13-Week Preliminary Study in TgrasH2 wild-type Mice
					JTZ951-TX-055/ [redacted]022	4.2.3.7.5-4	Single Oral Dose Study in Rats – Measurement of metabolite (R)-M2 at low dose levels–
					JTZ951-TX-057/ [redacted]902	4.2.3.7.5-5	Measurement of metabolite (R)-M2 in Embryo-Fetal Development Study in Rats
					JTZ951-TX-058/ [redacted]-110	4.2.3.7.7-1	Phototoxicity Study in Balb/c 3T3 Cells
					JTZ951-TX-059/ [redacted]-1186	4.2.3.5.1-2	Effects on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Male Rats
					JTZ951-TX-062/ [redacted]-128	4.2.3.5.3-1	Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats
Lot [redacted]	[redacted]	--	--	--	JTZ951-TX-056/ [redacted]901	4.2.3.4.2-1	Single Oral Dose Toxicokinetic Study in TgrasH2 wild-type Mice
					JTZ951-TX-061/ [redacted]	4.2.3.4.2-2	26-Week Carcinogenicity Study in TgrasH2 Mice
					JTZ951-TX-060/ [redacted]-8064	4.2.3.4.1-1	2-Year Carcinogenicity Study in Rats

NA: Not applicable
--: Ratio of Contents has not been determined.

2.6.7.4.B Drug Substance : Metabolite of JTZ-951 [(R)-M2 ([redacted])]

Test Article: Metabolite of JTZ-951 [(R)-M2 ([redacted])]

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities			Report/Study Number	Location in CTD	Type of Study
		<compound>	<compound>	<compound>			
Proposed Specification:	NA	NA	NA	NA			
Lot [redacted]	[redacted]	--	--	--	JTZ951-TX-048/[redacted]064	4.2.3.7.5-7	Single Oral Dose Study of (R)-M2 in TgrasH2 wild-type Mice
					JTZ951-TX-049/[redacted]072	4.2.3.7.5-8	Six-week Toxicity of (R)-M2 in TgrasH2 wild-type Mice
Lot [redacted]	[redacted]	--	--	--	JTZ951-TX-053/[redacted]	4.2.3.7.5-9	13-week Toxicity of (R)-M2 in TgrasH2 wild-type Mice
					JTZ951-TX-051/[redacted]905	4.2.3.7.5-6	Bacterial Reverse Mutation Test of (R)-M2

NA: Not applicable
--: Ratio of contents has not been determined.

2.6.7.5 Toxicology: Single-Dose Toxicity

Test Article: JTZ-951

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Dose Level (mg/kg)	Gender and n per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Mouse / TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg(HRAS)2 Jic (-/-))	Oral (0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension)	TK: 3, 6, 20, 60 Pharmacology -Related Parameters: 3, 10, 30, 60	M: 9	60	>60	There were no treatment-related changes in clinical signs, body weights or food consumption. [Plasma JTZ-951 concentration]: C_{max} and AUC_{0-24} increased dose dependently up to 60 mg/kg. [Plasma EPO concentration]: Plasma EPO levels increased dose-dependently at 10 mg/kg and above. The increase in plasma EPO level was limited to 8 hours after dosing at 10 mg/kg but continued for up to 24 hours after dosing at 30 mg/kg and above. [Plasma VEGF concentration]: Plasma VEGF levels increased dose-dependently at 30 mg/kg and above. The increases in plasma VEGF levels were limited to 8 hours after dosing.	JTZ951-TX-046/ [redacted]182	4.2.3.1-1
Rat / Crl:CD(SD)	Oral (0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension)	125 250 500 1000 2000	M: 4	500	1000	All animals died at 1000 and 2000 mg/kg. ≥1000 mg: Decrease or less in the amount of feces, hypothermia, decreased locomotor activity, swelling of hindlimb, reddish urine etc. 2000 mg: Discoloration of eyeball and pinna (pale), discoloration of forelimb/hindlimb and tail tip (dark red) etc.	JTZ951-TX-001/ [redacted]075	4.2.3.1-2

Test Article: JTZ-951

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Dose Level (mg/kg)	Gender and n per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
						[Gross findings]: Subcutaneous reddish focus, reddish discoloration in the testis, Edema/congestion in tarsus of hindlimb, reddish focus on the lung, reddish focus/striation on the glandular stomach, dark reddish contents in the small intestine and reddish discoloration of the mesenteric lymph node, reddish discoloration in skin, small thymus etc. ≥500 mg: Decreases in body weights and food consumption, hypothermia, decreased locomotor activity, decrease in the amount of feces, tachypnea ≥250 mg: Slight decreases in the body weight and food consumption		
Rat / Crl:CD(SD)	Oral (0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension)	3 10 30 100 300	M:5	300	>300	No death at any dose level ≥100 mg/kg: Decreases in food consumption, body weight gain and body weight (effect on food consumption was maintained during high values of plasma EPO levels) [Plasma EPO concentration]: ≥3 mg/kg increased dose dependently up to 300 mg/kg, ≥100 mg/kg maintained high EPO levels even several days after dosing [Plasma JTZ-951 concentration]: C_{max} and $AUC_{0\text{-}72}$ values increased dose dependently up to 300 mg/kg, t_{max}: 0.5 to 0.9 hours after dosing, then decreased and lower values were noted after 24 hours after dosing.	JTZ951-TX-002/ [redacted]071	4.2.3.1-3

Test Article: JTZ-951

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Dose Level (mg/kg)	Gender and n per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Rat / Crl:CD(SD)	Oral (0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension)	3 10 30 100	M:5	100	>100	No death at any dose level ≥3 mg/kg: Increased Ret counts dose dependently (5 days after dosing) and RBC-related parameters (RBC count, Hb and Ht values, 5 to 10 days after dosing)	JTZ951-TX-003/ [redacted]072	4.2.3.1-4
Dog / Beagle	Oral[a] (0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension)	1 3 10 30	M: 3	30	>30	No death at any dose level Findings suggestive of apparent toxicity were observed at 30 mg/kg. 30 mg/kg: Marked decrease in food consumption (from Days 1 to 6 after dosing, during high values of plasma EPO levels), body weight loss, less or decreased amount of feces, deterioration of animal's physical condition. After replacement fluid Ringer's solution, deterioration of animal's physical condition was disappeared. After Day 7, the effects on the food consumption also disappeared [Plasma EPO concentrations]: ≥1 mg/kg: increased dose-dependently up to 30 mg/kg. At 30 mg/kg, when food consumption and body weights decreased, plasma EPO concentration were markedly high level (up to Day 7 after dosing) and thereafter, decreased gradually. [Plasma concentrations of JTZ-951]: C_{max} increased dose dependently up to 10 mg/kg, t_{max}: 0.3 to 1.3 hours after dosing and then decreased to lower levels at 24 hours after dosing.	JTZ951-TX-004/ [redacted]007	4.2.3.1-5

Test Article: JTZ-951

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Dose Level (mg/kg)	Gender and n per Group	Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
						[Hematology]: ≥1 mg/kg: Increases in Ret counts, MCV and Ht values, 30 mg/kg: increases in RBC-related parameters (peak values were noted on Day 4 or 7 after dosing), increases in WBC and neutrophil		

[a] The test article was administered to the animals after overnight fasting.
M: Male

2.6.7.6 Toxicology: Repeated-Dose Toxicity (Nonpivotal Studies)

Test Article: JTZ-951

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Duration of Dosing	Dose Level (mg/kg)	Gender and n per Group	No Observed Adverse Effect Level (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Mouse / TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS]2 Jic [-/-])	Oral (0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension)	2 months	0 10 30 60	M and F: 8	Less than 10 mg/kg	Animals were found dead at 30 mg/kg and above. The deaths were considered to be due to circulatory disturbance caused by sustained polycythemia. 10 mg/kg: Reddish-colored skin, increases in RBC, Hb, Ht, Ret, MCV, MCH and MCHC, decreases in PLT, increases in WBC, basophil and lymphocyte counts, large-sized spleen, increases in weights of the spleen, liver, kidneys, heart and lung, thrombus in the lung, increased extramedullary erythroid hematopoiesis in the spleen, congestion in multiple organs	JTZ951-TX-047/ [redacted]204	4.2.3.2-1
Mouse / TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS]2 Jic [-/-])	Oral (0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension)	13 weeks	0 6 10 20	M and F: 10 (12 at 0 mg/kg) TK Study Groups: M and F: 32 (8 at 0 mg/kg)	Less than 6 mg/kg	Animals were found dead at 20 mg/kg. The deaths were considered to be due to circulatory disturbance caused by sustained polycythemia. ≥6 mg/kg: Increases in RBC, Hb, Ht, RDW, Ret, MCV and MCH, decreases in PLT, increases in weights of spleen and kidneys, increased extramedullary erythroid hematopoiesis in the spleen, congestion in liver and kidneys ≥10 mg/kg: Increases in MPV (at 10 mg/kg), increased liver weight, enlargement of spleen 20 mg/kg: Increases in leukocyte, neutrophil, lymphocyte and monocyte counts, increased heart weight	JTZ951-TX-053/ [redacted]	4.2.3.2-2

Test Article: JTZ-951

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Duration of Dosing	Dose Level (mg/kg)	Gender and n per Group	No Observed Adverse Effect Level (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
						[Plasma JTZ-951 concentration]: C_{max} and $AUC_{0\text{-}24}$ increased dose dependently up to 20 mg/kg. At the same dose level, the systemic exposure to JTZ-951 tended to be higher in females than that in males. The systemic exposure to JTZ-951 was higher on Day 87 (on Day 50 for males at 20 mg/kg) when compared with that on Day 1.		
Rat / Crl:CD(SD)	Oral (0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension)	3 months	0, 3, 10, 30	M/F: 5/5 (toxicity)	Less than 3 mg/kg	Animals were found dead at 10 mg/kg and above (from Day 34 at 30 mg/kg and Day 69 at 10 mg/kg) ≥3 mg/kg: Increased RBC-related parameters, Ret count, MCV and MCH, increased hematopoiesis in the bone marrow, extramedullary hematopoiesis in the spleen, Reddish colored skin and chorioretina in the eyes, increases in the activities of AST, LDH and CPK, increase in I-BIl, dark reddish/blackish foci/striation in the glandular stomach, congestion in the prostate and ovary, increases in the heart and lung weights, fatty change in periportal hepatocytes, decrease in PLT, increase in basophil ratio, decreases in blood T-CH and PL, increases in TGL ≥10 mg/kg: reddish/ dark reddish/ dark discoloration in multiple organs, large sized and whitish focus in the kidney, large sized in the heart, reddish/ dark reddish focus in the lung, large sized in the spleen, reddish urine, reddish/ dark reddish focus in the mucosa in	JTZ951-TX-029/ [redacted]133	4.2.3.7.7-2

Test Article: JTZ-951

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Duration of Dosing	Dose Level (mg/kg)	Gender and n per Group	No Observed Adverse Effect Level (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
						the stomach. Congestion, thrombus and inflammatory cell infiltration related to thrombus in many organs, hyperplasia of the osteoblasts/ mesenchymal cells, irregular trabecular bone formation, regeneration in the tubular epithelium, hyaline droplets and fatty change in the tubular epithelium in the kidney, centrilobular sinus dilatation and hepatocellular atrophy, fatty change in periportal hepatocyte, decreased zymogens' granule in the pancreas		
Monkey / Cynomolgus	Oral (0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension)	1 month	0, 10, 30, 100	M: 3 (0 mg/kg: M: 2)	Less than 10 mg/kg	At 100 mg/kg: Two animals were sacrificed due to moribundity, on Day 7 or 9: Decrease in food consumption, deterioration in the physical condition and marked hypoglycemia, increases in Ret counts, fibrinogen and/or D-dimer, CRP and prolongation of APTT. No apparent changes in RBC, Hb or Ht. [Gross findings] Discoloration in kidney [Histopathology] crystal and neutrophil exudation in the renal tubules, necrosis/desquamation and regeneration of the tubular epithelium, edema and neutrophil infiltration in the interstitium, hyaline casts One surviving animal at 100 mg/kg: No abnormalities in the clinical observations, though dosing was stopped on Day 14 and a 15-day recovery period was set: alteration of erythrocytes: macrocytes	JTZ951-TX-037/ [redacted]-047	4.2.3.7.7-3

Test Article: JTZ-951

Species / Strain	Method of Administration (Vehicle / Formulation)	Duration of Dosing	Dose Level (mg/kg)	Gender and n per Group	No Observed Adverse Effect Level (mg/kg)	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
						≥30 mg/kg: Increase in PIC, decrease in Fibrinogen, prolongation of APTT ≥10 mg/kg: increases in Ret counts, RBC-related parameters, increases in D-dimer and PAI-1, decrease in Fibrinogen There were no treatment-related findings in pathological examination.		

M: Male, F: Female, NA: not applicable

2.6.7.7 Toxicology: Repeated-Dose Toxicity

2.6.7.7.A One-Month Oral Dose Toxicity Study: Rat

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.2-3
Report Title: One-Month Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Rats with a One-Month Recovery Period		**Report/Study No. JTZ951-TX-005/[redacted]903**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 4 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 6 Weeks	Duration of Postdose: 4 Weeks	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	
Initial Body Weight: 165 – 197 g (M), 125 – 157 g (F)		
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Satellite groups (5 males and 5 females per group) were provided for measuring plasma concentrations of JTZ-951.		
No Observed Adverse Effect Level: 3 mg/kg/day (M & F)		

M: Male, F: Female

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Gender: Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Toxicokinetics: JTZ-951								
t_{max} (hr)								
Day 1	NA	NA	0.5	0.6 [a]	0.5	0.8	0.5	0.5
Day 27	NA	NA	0.5	0.6	1.0	0.5	1.0	0.8
C_{max} (μg/mL)								
Day 1	NA	NA	2.277	1.838 [a]	11.045	10.606	38.661	52.194
Day 27	NA	NA	3.337	4.077	13.481	18.659	50.831	62.189
$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	5.910	7.435 [a]	29.412	47.852	128.457	143.266
Day 27	NA	NA	7.408	9.970	36.160	41.291	161.132	171.603
C_{24} (μg/mL)								
Day 1	ND	ND	0.002	NC [a]	0.010	0.009	0.021	0.022
Day 27	ND	ND	NC	0.011	0.004	0.027	0.075	0.110

M: Male, F: Female, NA: Not applicable, ND: Not detected, NC: Not calculated

[a] All data obtained on Day 1 from one female animal at 3 mg/kg were excluded from the calculation of the mean values and the SD for dosing error.

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Gender: Number of Animals ( ): No. of animals for the recovery study	**M: 12 (6)**	**F: 12 (6)**	**M: 12**	**F: 12**	**M: 12**	**F: 12**	**M: 12 (6)**	**F: 12 (6)**
Noteworthy Findings								
Death or Moribund Sacrifice	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations [a]								
Dosing Period								
Reddish-Colored Skin								
Week 3	0	0	0	0	12	12	18	18
Week 4	0	0	0	0	12	12	18	18
Recovery Period								
Reddish-Colored Skin								
Week 1	0	0	NA	NA	NA	NA	6	6
Week 2	0	0	NA	NA	NA	NA	6	6
Week 3	0	0	NA	NA	NA	NA	1	6
Week 4	0	0	NA	NA	NA	NA	1	2
Ophthalmoscopy [b]								
Dosing Period								
Fundus								
Reddish Colored Chorioretina, Bilateral								
Pre-treatment	–: 18	–: 18	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 18	–: 18
Week 4	–: 18	–: 18	–: 12	–: 12	–: 8 P: 4	–: 0 P: 12	–: 3 P: 15	–: 0 P: 18
Recovery Period								
Fundus								
Reddish Colored Chorioretina, Bilateral								
Week 4	–: 6	–: 6	NA	NA	NA	NA	–: 4 P: 2	–: 4 P: 2
Hematology								
End of the Dosing Period								
RBC (10^4/mm^3)	813.9	795.1	830.3	833.5	1032.2**	1039.3**	1130.5**	1190.8**
Hb (g/dL)	16.18	15.65	16.98	16.87**	21.08**	22.97**	21.80**	23.70**
Ht (%)	47.39	44.12	49.83	48.24**	64.81**	68.31**	70.77**	75.06**
MCV (fL)	58.28	55.53	60.03*	57.92*	62.95**	65.78**	62.72**	63.14**
MCHC (g/dL)	34.18	35.46	34.07	34.94*	32.56**	33.65**	30.85**	31.60**
PLT (10^4/mm^3)	117.68	120.22	102.70*	116.21	90.73**	82.34**	76.97**	67.58**
Eosinophils (%)	0.88	1.19	0.90	0.88	0.35**	0.46**	0.16**	0.19**

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals ( ): No. of animals for the recovery study	**M: 12 (6)**	**F: 12 (6)**	**M: 12**	**F: 12**	**M: 12**	**F: 12**	**M: 12 (6)**	**F: 12 (6)**
Neutrophils (%)	14.80	15.31	13.72	13.33	10.13	9.02*	10.05*	8.08**
Lymphocytes (%)	81.21	79.89	82.33	82.20	84.58	85.37*	84.13	87.28**
Basophils (%)	0.73	0.72	0.88	1.01*	2.50**	4.63**	3.79**	5.83**
Monocytes (%)	1.36	1.59	1.21	1.42	1.99*	2.11	2.56**	2.30*
Ret (%)	2.67	2.03	2.78	3.16*	5.40**	5.43**	10.33**	7.78**
Ret ($10^4/mm^3$)	21.71	16.08	23.23	25.38**	55.39**	56.38**	114.53**	92.81**
PT (sec)	17.13	12.68	16.15	12.75	16.13	13.28	14.88	14.33**
End of the Recovery Period								
RBC ($10^4/mm^3$)	849.8	811.0	NA	NA	NA	NA	925.8	1014.2**
Hb (g/dL)	16.07	15.33	NA	NA	NA	NA	15.95	19.13**
Ht (%)	45.88	43.13	NA	NA	NA	NA	45.97	53.32**
MCV (fL)	54.03	53.22	NA	NA	NA	NA	50.03	52.65
MCHC(g/dL)	35.02	35.57	NA	NA	NA	NA	34.70	35.85
PLT ($10^4/mm^3$)	120.98	117.85	NA	NA	NA	NA	91.53**	93.27*
Eosinophils (%)	0.93	1.65	NA	NA	NA	NA	1.08	1.47
Neutrophils (%)	14.13	19.30	NA	NA	NA	NA	13.55	9.28**
Lymphocytes (%)	81.48	74.95	NA	NA	NA	NA	81.42	85.83**
Basophils (%)	0.43	0.40	NA	NA	NA	NA	0.48	0.72**
Monocytes (%)	1.82	2.22	NA	NA	NA	NA	2.08	1.40
Ret (%)	2.48	2.32	NA	NA	NA	NA	1.35*	0.20**
Ret ($10^4/mm^3$)	21.20	18.58	NA	NA	NA	NA	12.00**	1.98**
PT (sec)	15.58	12.22	NA	NA	NA	NA	14.03	13.02**
Blood Cell Morphology [c]								
End of the Dosing Period								
Howell-Jolly Body	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 11 P: 1
Erythroblast	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 11 P: 1	–: 11 P: 1
Blood Chemistry								
End of the Dosing Period								
AST (U/L)	63.5	62.6	71.2	62.7	74.3**	64.3	84.5**	67.8
LDH (U/L)	79.0	57.9	75.8	61.2	84.6	93.7**	173.3**	170.8**
LDH Isozyme Analysis (number of animals examined)	(5)	(5)					(5)	(5)
Total LDH	83.4	59.6	NA	NA	NA	NA	258.0	195.6

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals (): No. of animals for the recovery study	M: 12 (6)	F: 12 (6)	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12 (6)	F: 12 (6)
LDH 1	11.0	8.3	NA	NA	NA	NA	8.6	6.2*
LDH 2	3.3	2.2	NA	NA	NA	NA	3.8	2.1
LDH 3	2.6	1.8	NA	NA	NA	NA	3.1	2.7
LDH 4	5.7	4.7	NA	NA	NA	NA	12.7	8.6
LDH 5	60.8	42.6	NA	NA	NA	NA	229.8**	175.9**
CPK (U/L)	142.8	90.6	142.4	100.2	169.3*	112.8*	177.2**	128.8**
CPK Isozyme Analysis (number of animals examined)	(5)	(5)					(5)	(5)
Total CPK	143.6	95.2	NA	NA	NA	NA	194.6	152.4
BB Type	108.8	66.0	NA	NA	NA	NA	159.6**	120.5**
MB Type	16.5	12.1	NA	NA	NA	NA	14.1	11.3
MM Type	18.3	17.1	NA	NA	NA	NA	20.9	20.6
Glucose (mg/dL)	151.0	123.3	148.9	116.9	147.0	121.9	136.1	122.6
T-CH (mg/dL)	51.6	63.3	44.4	53.2*	30.9**	38.6**	29.6**	31.3**
TGL (mg/dL)	49.6	17.6	47.8	14.8	82.7*	24.2	117.0**	48.9**
Phospholipid (mg/dL)	89.0	111.9	84.6	100.3	74.0**	79.4**	73.8**	70.4**
T-Bil (mg/dL)	0.053	0.067	0.058	0.071	0.094**	0.091**	0.151**	0.142**
Ca (mg/dL)	9.74	9.17	9.53	8.98	9.27**	8.78	9.28**	8.96
Na (mmol/L)	142.2	139.6	144.9	139.3	141.3	137.8*	141.0	137.2**
K (mmol/L)	4.193	4.237	4.118	4.159	4.220	4.262	4.269	4.614*
Fe (μg/dL)	85.0	164.9	112.2	158.6	45.3	71.7**	33.0*	19.1**
UIBC (μg/dL)	336.7	253.0	378.3	276.4	549.8**	402.1**	635.0**	547.1**
TIBC (μg/dL)	421.7	417.9	490.5**	435.0	595.2**	473.8**	668.0**	566.2**
TSAT (%)	20.32	39.47	23.17	36.94	7.60**	16.09**	4.94**	3.38**
End of the Recovery Period								
Phospholipid (mg/dL)	96.7	131.5	NA	NA	NA	NA	109.7	111.2*
T-Bil (mg/dL)	0.067	0.085	NA	NA	NA	NA	0.130**	0.160**
Ca (mg/dL)	8.77	8.75	NA	NA	NA	NA	8.85	8.40*
Na (mmol/L)	140.7	140.2	NA	NA	NA	NA	141.7	139.2*
Fe (μg/dL)	123.5	280.2	NA	NA	NA	NA	271.5**	332.2
UIBC (μg/dL)	338.8	183.3	NA	NA	NA	NA	97.7**	9.2**
TIBC (μg/dL)	462.3	463.5	NA	NA	NA	NA	369.2**	341.3**
TSAT (%)	27.02	60.08	NA	NA	NA	NA	74.65**	97.30**

Dose Level: (mg/kg/day)		0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals (): No. of animals for the recovery study		M: 12 (6)	F: 12 (6)	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12 (6)	F: 12 (6)
Urinalysis (Dipstick analysis)									
Dosing Period									
pH	6.0	0	1	0	0	0	0	0	0
	6.5	0	2	0	0	0	0	0	0
	7.0	0	4	0	2	0	1	0	0
	7.5	0	0	0	1	0	1	0	1
	8.0	1	2	0	1	0	1	0	2
	8.5	8	3	1	1	1	3	5	5
	≥9.0	3	0	5	1	5	0	7	4
Bil	–	12	11	6	6	6	6	10	12
	1+	0	1	0	0	0	0	1	0
	2+	0	0	0	0	0	0	1	0
Ketone Body	–	0	10	1	4	1	6	7*	12
	±	6	2	1	2	3	0	5	0
	1+	6	0	4	0	2	0	0	0
Occult Blood	–	8	11	3	6	4	6	12	11
	±	3	1	3	0	2	0	0	1
	1+	1	0	0	0	0	0	0	0
Protein	–	0	8	0	4	1	5	3	10
	±	4	3	3	2	3	1	6	2
	30	8	1	3	0	2	0	2	0
	100	0	0	0	0	0	0	1	0
URO	0.1	12	11	6	6	6	6	10	12
	0.2	0	0	0	0	0	0	0	0
	1.0	0	1	0	0	0	0	2	0
Recovery Period									
pH	6.0	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
	6.5	0	0	NA	NA	NA	NA	0	2
	7.0	0	3	NA	NA	NA	NA	0	0
	7.5	0	1	NA	NA	NA	NA	0	0
	8.0	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
	8.5	6	2	NA	NA	NA	NA	4	4
	≥9.0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0

Dose Level: (mg/kg/day)		0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals (): No. of animals for the recovery study		M: 12 (6)	F: 12 (6)	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12 (6)	F: 12 (6)
Bil	–	6	6	NA	NA	NA	NA	6	5
	1+	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
	2+	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
Ketone Body	–	0	6	NA	NA	NA	NA	0	4
	±	2	0	NA	NA	NA	NA	1	2
	1+	4	0	NA	NA	NA	NA	4	0
	2+	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Occult Blood	–	4	6	NA	NA	NA	NA	4	4
	±	2	0	NA	NA	NA	NA	2	1
	1+	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
	2+	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
	3+	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
Protein	–	0	4	NA	NA	NA	NA	0	2
	±	1	2	NA	NA	NA	NA	1	2
	30	4	0	NA	NA	NA	NA	2	1
	100	1	0	NA	NA	NA	NA	3	0
	≥300	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
URO	0.1	6	6	NA	NA	NA	NA	6	6
	8.0	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
Urinalysis (Urine chemistry)									
Dosing Period									
Urine Volume (mL)		13.75	11.51	14.05	12.22	14.87	10.50	16.58	13.88
IP (mg/dL)		32.64	33.64	18.07	10.62	14.03	32.83	47.12	23.79
IP/Day (mg/day)		4.219	3.554	2.655	1.408	1.910	2.623	7.488	3.129
Recovery Period									
Urine Volume (mL)		17.43	14.70	NA	NA	NA	NA	15.05	13.67
IP (mg/dL)		36.50	31.03	NA	NA	NA	NA	36.98	13.10
IP/Day (mg/day)		6.722	4.460	NA	NA	NA	NA	6.180	1.775
Gross Pathology [d]									
End of the Dosing Period									
Spleen									
Large		–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 10 +: 2	–: 10 +: 2	–: 0 +: 11 2+: 1	–: 0 +: 12

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals (): No. of animals for the recovery study	M: 12 (6)	F: 12 (6)	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12 (6)	F: 12 (6)
Discoloration, Dark	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 11 P: 1	–: 12
Lung								
Focus/Striation, Reddish/Dark Reddish	–: 12	–: 11 +: 1	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 10 +: 2	–: 9 +: 3
Stomach								
Foci/Striation, Dark Reddish/Blackish	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 11	–: 9	–: 6
Glandular Stomach						+: 1	+: 3	+: 6
End of the Recovery Period								
Spleen								
Large	–: 6	–: 6	NA	NA	NA	NA	–: 3 +: 3	–: 3 +: 3
Organ Weights								
End of the Dosing Period								
Final Body Weight (g)	333.55	206.52	346.36	212.93	337.83	219.01	335.25	215.24
Relative to Control [e]	100.0%	100.0%	103.8%	103.1%	101.3%	106.0%	100.5%	104.2%
Spleen (mg)	582.0	414.7	588.4	459.1	859.2**	701.0**	2246.5**	1424.7**
Relative to Control [e]	100.0%	100.0%	101.1%	110.7%	147.6%	169.0%	386.0%	343.5%
Spleen (mg/100 g B.W.)	174.4	200.9	168.8	215.1	254.8**	319.3**	668.6**	663.0**
Relative to Control [e]	100.0%	100.0%	96.8%	107.1%	146.1%	158.9%	383.4%	330.0%
Liver (g)	9.580	5.836	8.985	5.765	8.498**	5.903	8.583**	6.202
Relative to Control [e]	100.0%	100.0%	93.8%	98.8%	88.7%	101.1%	89.6%	106.3%
Liver (g/100 g B.W.)	2.870	2.819	2.593**	2.704	2.515**	2.701	2.558**	2.878
Relative to Control [e]	100.0%	100.0%	90.3%	95.9%	87.6%	95.8%	89.1%	102.1%
Kidney (mg)	2463.1	1548.8	2495.5	1667.4	2469.0	1638.4	2542.0	1702.2*
Relative to Control [e]	100.0%	100.0%	101.3%	107.7%	100.2%	105.8%	103.2%	109.9%
Kidney (mg/100 g B.W.)	739.1	752.8	720.3	784.8	730.5	751.5	758.2	792.9
Relative to Control [e]	100.0%	100.0%	97.5%	104.3%	98.8%	99.8%	102.6%	105.3%
Submandibular Gland (mg)	579.6	397.8	567.1	379.9	547.8	376.4	524.0	361.2
Relative to Control [e]	100.0%	100.0%	97.8%	95.5%	94.5%	94.6%	90.4%	90.8%
Submandibular Gland (mg/100 g B.W.)	174.3	192.6	163.7	179.0	162.3	172.0**	156.8	168.1**
Relative to Control [e]	100.0%	100.0%	93.9%	92.9%	93.1%	89.3%	90.0%	87.3%
Heart (mg)	1109.5	705.3	1132.5	741.6	1109.8	839.2**	1279.0**	905.3**
Relative to Control [e]	100.0%	100.0%	102.1%	105.1%	100.0%	119.0%	115.3%	128.4%

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals ( ): No. of animals for the recovery study	**M: 12 (6)**	**F: 12 (6)**	**M: 12**	**F: 12**	**M: 12**	**F: 12**	**M: 12 (6)**	**F: 12 (6)**
Heart (mg/100 g B.W.)	332.8	341.9	327.1	348.3	329.2	384.4**	382.3**	421.8**
Relative to Control[e]	100.0%	100.0%	98.3%	101.9%	98.9%	112.4%	114.9%	123.4%
Lung (mg)	1335.8	988.5	1281.3	1017.3	1297.6	1117.1**	1493.8**	1199.8**
Relative to Control[e]	100.0%	100.0%	95.9%	102.9%	97.1%	113.0%	111.8%	121.4%
Lung (mg/100 g B.W.)	398.2	479.2	370.4	479.3	384.3	511.2*	446.5*	557.7**
Relative to Control[e]	100.0%	100.0%	93.0%	100.0%	96.5%	106.7%	112.1%	116.4%
Prostate (mg)	459.4	NA	393.8	NA	389.6	NA	328.2**	NA
Relative to Control[e]	100.0%	NA	85.7%	NA	84.8%	NA	71.4%	NA
Prostate (mg/100 g B.W.)	137.5	NA	113.4*	NA	116.0	NA	97.4**	NA
Relative to Control[e]	100.0%	NA	82.5%	NA	84.4%	NA	70.8%	NA
Seminal Vesicle (mg)	1559.7	NA	1481.3	NA	1244.8**	NA	1138.9**	NA
Relative to Control[e]	100.0%	NA	95.0%	NA	79.8%	NA	73.0%	NA
Seminal Vesicle (mg/100 g B.W.)	467.9	NA	425.5	NA	369.4**	NA	339.4**	NA
Relative to Control[e]	100.0%	NA	90.9%	NA	78.9%	NA	72.5%	NA
End of the Recovery Period								
Final Body Weight (g)	464.18	264.03	NA	NA	NA	NA	446.32	251.63
Relative to Control[e]	100.0%	100.0%	NA	NA	NA	NA	96.2%	95.3%
Spleen (mg)	743.7	456.0	NA	NA	NA	NA	1150.2**	700.3**
Relative to Control[e]	100.0%	100.0%	NA	NA	NA	NA	154.7%	153.6%
Spleen (mg/100 g B.W.)	160.8	173.3	NA	NA	NA	NA	259.3**	277.0**
Relative to Control[e]	100.0%	100.0%	NA	NA	NA	NA	161.3%	159.8%
Adrenal (mg)	55.05	58.95	NA	NA	NA	NA	72.08	63.38
Relative to Control[e]	100.0%	100.0%	NA	NA	NA	NA	130.9%	107.5%
Adrenal (mg/100 g B.W.)	11.85	22.32	NA	NA	NA	NA	16.10*	25.22*
Relative to Control[e]	100.0%	100.0%	NA	NA	NA	NA	135.9%	113.0%
Submandibular Gland (mg)	658.5	416.3	NA	NA	NA	NA	620.7	375.2*
Relative to Control[e]	100.0%	100.0%	NA	NA	NA	NA	94.3%	90.1%
Submandibular Gland (mg/100 g B.W.)	141.8	158.0	NA	NA	NA	NA	139.8	150.0
Relative to Control[e]	100.0%	100.0%	NA	NA	NA	NA	98.6%	94.9%
Thymus (mg)	507.0	333.0	NA	NA	NA	NA	389.3	330.8
Relative to Control[e]	100.0%	100.0%	NA	NA	NA	NA	76.8%	99.3%
Thymus (mg/100 g B.W.)	108.8	126.2	NA	NA	NA	NA	86.7*	130.7
Relative to Control[e]	100.0%	100.0%	NA	NA	NA	NA	79.7%	103.6%
Heart (mg)	1319.7	858.2	NA	NA	NA	NA	1520.8	874.7
Relative to Control[e]	100.0%	100.0%	NA	NA	NA	NA	115.2%	101.9%

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals (): No. of animals for the recovery study	M: 12 (6)	F: 12 (6)	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12 (6)	F: 12 (6)
Heart (mg/100 g B.W.)	284.7	325.3	NA	NA	NA	NA	341.0**	348.8
Relative to Control [e]	100.0%	100.0%	NA	NA	NA	NA	119.8%	107.2%
Lung (mg)	1462.0	1023.8	NA	NA	NA	NA	1652.3	1132.7
Relative to Control [e]	100.0%	100.0%	NA	NA	NA	NA	113.0%	110.6%
Lung (mg/100 g B.W.)	316.2	387.5	NA	NA	NA	NA	368.5**	450.8**
Relative to Control [e]	100.0%	100.0%	NA	NA	NA	NA	116.5%	116.3%
Myelogram								
End of the Dosing Period								
M/E Ratio	0.878	1.245	0.945	0.948*	0.595*	0.683**	0.513**	0.565**
End of the Recovery Period								
M/E Ratio	1.188	0.978	NA	NA	NA	NA	1.742	2.302**
Histopathology [f]								
End of the Dosing Period								
Bone (femur)								
Proliferation, Osteoblast	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 7 ±: 3 +: 2	–: 11 ±: 1
Irregular Trabecular Bone, Diaphysis	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 11 +: 1	–: 11 +: 1
Bone Marrow (Femur)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 8 +: 4	–: 7 +: 5	–: 5 +: 7	–: 4 +: 8
Bone Marrow (Sternum)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 8 +: 4	–: 7 +: 5	–: 5 +: 7	–: 4 +: 8
Kidney								
Deposit, Hemosiderin, Epithelium, Proximal Tubule	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 11 2+: 1	–: 12
Fatty Change, Epithelium, Proximal Tubule	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 8 ±: 4	–: 9 ±: 3	–: 4 ±: 8
Liver								
Dilatation, Sinusoid, Centrilobular	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 9 ±: 3	–: 12	–: 8 ±: 4	–: 12

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals (): No. of animals for the recovery study	**M: 12 (6)**	**F: 12 (6)**	**M: 12**	**F: 12**	**M: 12**	**F: 12**	**M: 12 (6)**	**F: 12 (6)**
Atrophy, Hepatocyte, Centrilobular	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 9 ±: 3	–: 12	–: 8 ±: 4	–: 12
Fatty Change, Hepatocyte, Periportal	–: 10 ±: 2	–: 10 ±: 2	–: 10 ±: 2	–: 5 ±: 3 +: 4	–: 7 ±: 5	–: 4 ±: 3 +: 5	–: 7 ±: 5	–: 2 ±: 4 +: 6
Lung								
Thrombus	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 11 +: 1	–: 12
Hemorrhage, Focal	–: 11 ±: 1	–: 11 ±: 1	–: 12	–: 12	–: 10 ±: 2	–: 11 ±: 1	–: 8 ±: 4	–: 8 ±: 4
Spleen								
Increase, Extramedullary Hematopoiesis, Erythroid	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 3 +: 9	–: 1 +: 11	–: 0 2+: 12	–: 0 2+: 12
Stomach								
Erosion, Glandular Stomach, Focal	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 12	–: 11 ±: 1	–: 9 ±: 3	–: 6 ±: 6
End of the Recovery Period								
Bone (Femur)								
Irregular Trabecular Bone, Diaphysis	–: 6	–: 6	NA	NA	NA	NA	–: 5 ±: 1	–: 6
Kidney								
Deposit, Hemosiderin, Epithelium, Proximal Tubule	–: 6	–: 6	NA	NA	NA	NA	–: 5 2+: 1	–: 6
Liver								
Fatty Change, Hepatocyte, Periportal	–: 4 ±: 2	–: 4 ±: 2	NA	NA	NA	NA	–: 4 ±: 2	–: 6
Spleen								
Deposit, Hemosiderin, Red Pulp	–: 0 ±: 6	–: 0 ±: 5 +: 1	NA	NA	NA	NA	–: 0 +: 6	–: 0 +: 6
Congestion	–: 6	–: 6	NA	NA	NA	NA	–: 4 +: 2	–: 6

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals (): No. of animals for the recovery study	M: 12 (6)	F: 12 (6)	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12 (6)	F: 12 (6)

M: Male, F: Female, NA: Not applicable, Statistical significance: ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

[a] Number of animals in which the finding was observed for each week.

[b] Criteria for Grading Ophthalmoscopic Findings: –: No abnormal changes P: Non-graded change

[c] Criteria for Grading Morphological Findings: –: No abnormal changes P: Non-graded change

[d] Criteria for Grading Macroscopic Findings: –: No abnormal changes ±: Very slight +: Slight 2+: Moderate P: Non-graded change

[e] Percentage change relative to the mean value in the control group (100%)

[f] Criteria for Grading Microscopic Findings: –: No abnormal changes ±: Very slight +: Slight 2+: Moderate

2.6.7.7.B Three-Month Oral Dose Toxicity Study: Rat

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.2-4
Report Title: Three-Month Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Rats with a One-Month Recovery Period		**Report/Study No. JTZ951-TX-030/[redacted]906**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 13 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 6 Weeks	Duration of Postdose: 4 Weeks	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	
Initial Body Weight: 197 – 231 g (M), 140 – 172 g (F)		
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Satellite groups (10 males and 10 females per group) were provided for measuring plasma concentrations of JTZ-951.		
No Observed Adverse Effect Level: 1 mg/kg/day (M and F)		

M: Male, F: Female

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**1**		**3**		**6**	
Gender: Number of Animals [a]	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Toxicokinetics: JTZ-951								
t_{max} (hr)								
Day 1	NA	NA	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Day 27	NA	NA	0.5	0.5	1	0.5	0.5	0.5
Day 55	NA	NA	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Day 90	NA	NA	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5 [b]	0.5
C_{max} (μg/mL)								
Day 1	NA	NA	0.783	0.932	3.344	3.889	6.444	7.993
Day 27	NA	NA	0.749	1.621	3.031	6.276	9.157	14.025
Day 55	NA	NA	1.141	1.343	5.177	6.809	11.979	17.858
Day 90	NA	NA	1.393	1.741	5.276	7.273	18.048 [b]	19.235
$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	2.509	2.505	7.453	7.877	21.309	22.118
Day 27	NA	NA	2.255	2.388	7.391	7.891	23.601	22.398
Day 55	NA	NA	2.800	2.591	10.094	9.636	31.030	32.195
Day 90	NA	NA	3.378	3.352	12.111	14.124	47.577 [b]	38.861
C_{24} (μg/mL)								
Day 1	ND	ND	ND	ND	ND	0.003	0.004	0.005
Day 27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.004	0.023
Day 55	ND	ND	ND	ND	0.002	ND	0.006	0.018
Day 90	ND	ND	ND	ND	ND	0.006	ND [b]	0.078

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals [a]	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10

M: Male, F: Female, NA: Not applicable, ND: Not detected

[a] Five animals at each dose level in the satellite groups for TK analyses were divided in numerical order and blood was collected alternately at each blood sampling time point.

[b] Four animals at each blood sampling time point due to animal death

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 15 (6)	F: 15 (6)	M: 15	F: 15 [j]	M: 15 S (14) (5)	F: 15 (6)	M: 15 S (10) (5)	F: 15 [k] (6)
Noteworthy Findings								
Death or Moribund Sacrifice [a]	0	0	0	0	1	0	5	0
Clinical Signs [a]								
Dosing Period								
Reddish-Colored Skin								
Week 4	0	0	0	0	0	0	4	2
Week 8	0	0	0	0	9	0	21	19
Week 13	0	0	0	0	18	11	20	20
Reddish Urine								
Week 8	0	0	0	0	0	0	1	0
Week 13	0	0	0	0	0	0	3	0
Death or Moribund Sacrifice								
Weeks 5-8	0	0	0	0	1	0	0	0
Weeks 9-13	0	0	0	0	0	0	5	0
Recovery Period								
Reddish-Colored Skin								
Week 2	0	0	0	0	4	1	5	6
Week 4	0	0	0	0	3	1	5	6
Day 29	0	0	0	0	3	1	4	4
Body Weight (g)								
Day 28	410.94	213.80	407.75	226.16	432.17	215.42	424.47	232.25*
Relative to Control [b]	100%	100%	99.2%	105.8%	105.2%	100.8%	103.3%	108.6%
Day 56	527.19	252.29	517.07	272.17	549.92	260.08	540.01	285.54**
Relative to Control [b]	100%	100%	98.1%	107.9%	104.3%	103.1%	102.4%	113.2%
Day 91	605.02	282.16	592.77	300.54	624.87	290.50	613.94	325.10**
Relative to Control [b]	100%	100%	98.0%	106.5%	103.3%	103.0%	101.5%	115.2%

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**1**		**3**		**6**	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Recovery Day 14	633.82	309.03	NA	NA	649.92	311.58	608.94	331.17
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	102.5%	100.8%	96.1%	107.2%
Recovery Day 28	654.85	314.85	NA	NA	666.24	319.25	624.50	342.12
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	101.7%	101.4%	95.4%	108.7%
Body Weight Gain (g)								
Day 28	21.93	5.46	20.57	3.95	24.34	5.59	24.01	9.98**
Relative to Control [b]	100%	100%	93.8%	72.3%	111.0%	102.4%	109.5%	182.8%
Day 56	22.41	7.28	20.30	6.72	21.25	8.93	22.79	9.19
Relative to Control [b]	100%	100%	90.6%	92.3%	94.8%	122.7%	101.7%	126.2%
Day 91	6.23	1.33	6.03	0.51	7.07	1.11	8.16	2.52
Relative to Control [b]	100%	100%	96.8%	38.3%	113.5%	83.5%	131.0%	189.5%
Recovery Day 14	13.93	13.40	NA	NA	6.18	9.63	14.70	2.02
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	44.4%	71.9%	105.5%	%
Recovery Day 28	8.95	–2.28	NA	NA	3.40	3.98	2.96	5.37
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	38.0%	NC	33.1%	NC
Food Consumption (g/day)								
Day 28	27.88	17.02	27.32	18.18	30.38**	17.00	28.70	18.84
Relative to Control [b]	100%	100%	98.0%	106.8%	109.0%	99.9%	102.9%	110.7%
Day 56	28.41	17.50	27.57	18.84	29.17	17.94	28.13	19.83**
Relative to Control [b]	100%	100%	97.0%	107.7%	102.7%	102.5%	99.0%	113.3%
Day 91	26.68	17.60	25.84	17.84	26.94	17.54	26.64	19.31*
Relative to Control [b]	100%	100%	96.9%	101.4%	101.0%	99.7%	99.9%	109.7%
Recovery Day 14	27.93	19.82	NA	NA	27.18	18.52	26.22	19.62
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	97.3%	93.4%	93.9%	99.0%
Recovery Day 28	25.95	16.27	NA	NA	25.76	16.48	24.76	19.20
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	99.3%	101.3%	95.4%	118.0%
Water Consumption								
Dosing Period [c]	--	--	--	--	--	--	--	--
Recovery Period	--	--	NA	NA	--	--	--	--
Urinalysis								
Dosing Period [c]								
Bilirubin –	12	12	6	4	11	12	11	11
1+	0	0	0	1	0	0	0	0

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
2+	0	0	0	0	1	0	0	0
3+	0	0	0	0	0	0	1	0
Occult Blood –	2	12	6	5	6	12	5	10
±	10	0	0	0	5	0	3	1
1+	0	0	0	0	1	0	2	0
2+	0	0	0	0	0	0	1	0
3+	0	0	0	0	0	0	1	0
Protein (mg/dL) –	0	10	0	3	2	9	2	6
±	10	2	4	1	5	3	5	5
30	2	0	2	1	4	0	0	0
100	0	0	0	0	1	0	4	0
≥300	0	0	0	0	0	0	1	0
Recovery Period								
Bilirubin –	5	6	NA	NA	5	6	5	6
1+	1	0	NA	NA	0	0	0	0
2+	0	0	NA	NA	0	0	0	0
3+	0	0	NA	NA	0	0	0	0
Occult Blood –	1	6	NA	NA	3	6	2	5
±	5	0	NA	NA	1	0	0	1
1+	0	0	NA	NA	1	0	3	0
2+	0	0	NA	NA	0	0	0	0
3+	0	0	NA	NA	0	0	0	0
Protein (mg/dL) –	1	4	NA	NA	0	4	0	2
±	1	2	NA	NA	2	2	1	2
30	3	0	NA	NA	2	0	1	2
100	1	0	NA	NA	1	0	3	0
≥300	0	0	NA	NA	0	0	0	0
Hematology								
End of the Dosing Period [d,e]								
RBC (10^4/mm^3)	899.2	827.5	931.1	831.8	1138.1**	975.5**	1297.5**	1189.0**
Hb (g/dL)	16.91	16.46	17.42	16.62	24.01**	20.86**	28.09**	28.12**
Ht (%)	46.98	44.93	48.72	44.93	66.66**	56.69**	77.71**	77.60**
MCV (fL)	52.28	54.35	52.35	54.05	58.53**	58.05**	60.03**	65.41**
MCH (pg)	18.84	19.93	18.73	19.99	21.10**	21.36**	21.72**	23.71**

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Platelets (10^4/mm^3)	118.07	114.67	113.07	111.06	78.97**	92.61**	51.76**	51.31**
Eosinophils (%)	1.41	1.33	1.57	1.54	1.04	1.19	0.60**	0.54**
Basophils (%)	0.26	0.24	0.28	0.24	0.57**	0.34*	0.91**	1.11**
Monocytes (%)	2.36	1.92	2.41	1.41	2.95	2.11	3.57*	2.91**
Ret Ratio (%)	2.07	2.01	1.93	2.14	3.58**	3.05**	4.16**	4.54**
Ret Count (10^4/mm^3)	18.63	16.49	17.91	17.89	40.82**	29.69**	53.79**	53.78**
End of the Recovery Period								
RBC (10^4/mm^3)	886.0	830.8	NA	NA	928.0	820.7	1032.6**	892.2*
Hb (g/dL)	15.47	15.52	NA	NA	17.10**	16.08	18.94**	19.37**
Ht (%)	45.75	44.47	NA	NA	48.58	45.75	54.62**	53.95**
MCV (fL)	51.63	53.55	NA	NA	52.32	55.75	52.94	60.48**
MCH (pg)	17.45	18.68	NA	NA	18.40**	19.58*	18.36**	21.72**
Platelets (10^4/mm^3)	101.12	98.93	NA	NA	98.44	111.85	84.28*	78.93
Basophils (%)	0.23	0.25	NA	NA	0.30	0.28	0.40*	0.48*
Ret Ratio (%)	2.17	1.98	NA	NA	0.70*	1.52	0.26*	0.23**
Ret Count (10^4/mm^3)	19.23	16.50	NA	NA	6.40**	12.53	2.78**	2.17**
Blood Coagulation Test								
End of the Dosing Period [e]								
PT (sec) [f]	16.28	13.37	15.59	13.11	15.10	13.58	15.94	14.71**
APTT (sec) [f]	18.29	14.44	18.14	14.06	17.75	14.59	18.64	17.04**
FIB (mg/dL) [f]	246.1	197.3	242.7	204.4	205.3**	186.2	200.2**	168.1**
D-dimer (μg/mL)	0 [l]	0 [l]	0 [l]	0 [l]	0 [l]	0 [l]	0 [l]	0.54 [m]
End of the Recovery Period								
D-dimer (μg/mL)	0 [l]	0 [l]	NA	NA	0 [l]	0 [l]	0 [l]	0 [l]
Blood Cell Morphology								
End of the Dosing Period								
RBC								
Erythroblast	–: 15	–: 15	–: 14 P: 1	–: 14	–: 14 P: 1	–: 15	–: 5 P: 5	–: 11 P: 3
End of the Recovery Period	--	--	NA	NA	--	--	--	--
Blood Chemistry								
End of the Dosing Period [e]								
AST (U/L)	61.3	71.9	60.3	64.7	69.4**	68.1	72.5**	64.5
ALP (U/L)	189.1	99.1	179.8	101.2	162.1	109.0	193.7	142.0**

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
LDH (U/L)	74.0	66.5	85.3	58.1	105.5*	70.1	198.6**	191.9**
CPK (U/L)	81.2	62.7	71.7	55.1	95.1	53.0	118.4**	79.7*
T-CH (mg/dL)	60.1	67.9	53.6	65.5	35.6**	52.7**	31.3**	37.5**
Triglycerides (mg/dL)	69.3	12.8	68.2	16.1	81.5	15.5	91.4	31.4**
Phospholipid (mg/dL)	97.7	118.0	90.2	115.3	73.5**	97.4*	68.3**	79.2**
BUN (mg/dL)	12.83	15.41	12.53	14.45	12.65	13.64	14.63*	14.03
T-Bil (mg/dL)	0.063	0.071	0.062	0.069	0.093**	0.091	0.123**	0.175**
Total Protein (g/dL)	6.19	6.40	6.11	6.43	5.89**	6.07*	5.93	5.91**
Albumin (g/dL)	3.70	4.19	3.64	4.24	3.69	3.97	3.58	3.81**
Ca (mg/dL)	9.45	9.26	9.32	9.24	9.22*	9.05	9.10**	9.16
Na (mmol/L)	141.8	140.9	141.5	140.5	141.1	140.0	139.8**	139.2**
Cl (mmol/L)	105.9	108.1	106.7	108.5	106.1	109.7*	105.1	108.3
Fe (μg/dL)	121.9	237.7	131.4	232.8	114.4	192.4	79.9*	126.4**
UIBC (μg/dL)	357.6	208.4	387.6	246.1	416.9*	267.3	476.1**	320.7**
TIBC (μg/dL)	479.5	446.1	519.0	478.9	531.3**	459.7	556.0**	447.1
TSAT (%)	25.50	53.75	25.38	48.07	22.00	42.08	14.47**	29.41**
GLDH (U/L)	45.54	56.26	45.84	39.54	51.23	27.40	28.31	30.33
Guanase (U/L)	13.80	14.18	14.67	15.64	15.99*	14.54	26.20**	22.21**
End of the Recovery Period								
BUN (mg/dL)	11.33	14.60	NA	NA	13.26	14.97	15.42*	15.63
T-Bil (mg/dL)	0.052	0.083	NA	NA	0.100*	0.093	0.140**	0.198**
Fe (μg/dL)	127.5	228.8	NA	NA	298.6**	335.5**	325.0**	374.7**
UIBC (μg/dL)	382.5	211.3	NA	NA	72.4*	72.3*	10.2*	5.8**
TIBC (μg/dL)	510.0	440.2	NA	NA	371.0**	407.8	335.2**	380.5**
Transferrin Saturation (%)	25.13	52.23	NA	NA	80.84*	82.35*	97.14*	98.47**
Ophthalmoscopy [a]								
Dosing Period								
Fundus Reddish Change, Bilateral	0	0	0	0	10	4	19	20
Recovery Period								
Fundus Reddish Change, Unilateral	0	0	NA	NA	0	0	1	0
Fundus Reddish Change, Bilateral	0	0	NA	NA	1	1	3	4

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Gross Pathology [g]								
End of the Dosing Period								
Adrenal								
Discoloration, Dark	–: 15	–: 15	–: 15	–: 14 P: 1	–: 15	–: 14 P: 1	–: 5 P: 6	–: 6 P: 9
Large	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 11	–: 13 +: 2
Kidney								
Large	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 14 +: 1	–: 15	–: 10 +: 1	–: 15
Liver								
Discoloration, Reddish/Dark Reddish	–: 15	–: 15	–: 15	–: 14 P: 1	–: 15	–: 15	–: 11	–: 15
Small	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 10 +: 1	–: 15
Spleen								
Large	–: 15	–: 15	–: 15	–: 14 3+: 1	–: 11 +: 4	–: 15	–: 3 +: 8	–: 4 +: 11
Stomach								
Focus/striation, Recessed Glandular Stomach	–: 15	–: 13 +: 2	–: 15	–: 13 +: 2	–: 7 +: 8	–: 14 +: 1	–: 2 +: 3 2+: 6	–: 4 +: 5 2+: 6
Thymus								
Discoloration, Reddish/Dark Reddish	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 14 P: 1	–: 15	–: 9 P: 2	–: 13 P: 2
Urinary Bladder								
Abnormal urine, reddish	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 10 +: 1	–: 15
Death or Moribund Sacrifice (number of animals examined)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(5)	(0)
Abdominal Cavity								
Discoloration, Reddish, Adipose Tissue	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 P: 1	NA

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Abdominal Fluid, Reddish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Adrenal								
Large	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 +: 2	NA
Discoloration, Dark	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 2 P: 3	NA
Cecum								
Small	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Abnormal Contents, Reddish/Dark Reddish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Heart								
Large	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Ileum								
Abnormal Contents, Dark Reddish/Blackish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 +: 2	NA
Jejunum								
Abnormal Contents, Dark Reddish/Blackish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 +: 2	NA
Kidney								
Discoloration, Reddish/Dark Reddish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 P: 1	NA
Large	NA	NA	NA	NA	–: 0 +: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Focus/Striation, Whitish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 +: 2	NA
Liver								
Discoloration, Dark Reddish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 P: 2	NA
Discoloration, Yellowish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 P: 1	NA

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Large	NA	NA	NA	NA	–: 0 +: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Lung								
Discoloration, Reddish/Dark Reddish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 1 P: 4	NA
Large	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Lymph Node (Submandibular)								
Discoloration, Reddish/Dark Reddish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 P: 1	NA
Spleen								
Discoloration, Reddish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 P: 1	NA
Large	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 1 +: 4	NA
Subcutaneous Tissue								
Discoloration, Reddish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 P: 1	NA
Thoracic Cavity								
Thoracic Fluid, Reddish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Thymus								
Small	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 +: 1 3+: 1	NA
Discoloration, Dark Reddish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 2 P: 3	NA
Urinary Bladder								
Abnormal Urine, Reddish	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 +: 2	NA
End of the Recovery Period	--	--	NA	NA	--	--	--	--

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Organ Weights								
End of the Dosing Period [h]								
Final Body Weight (g)	573.36	269.37	563.55	286.06	594.77	275.51	593.60	313.07**
Relative to Control [b]	100%	100%	98.3%	106.2%	103.7%	102.3%	103.5%	116.2%
Spleen (mg)	771.5	452.8	781.1	468.1	975.5**	536.9**	1319.7**	1060.4**
Relative to Control [b]	100%	100%	101.2%	103.4%	126.4%	118.6%	171.1%	234.2%
Spleen (mg/100 g Body Weight [B.W.])	135.0	168.5	138.5	164.6	164.0**	194.9**	224.9**	335.8**
Relative to Control [b]	100%	100%	102.6%	97.7%	121.5%	115.7%	166.6%	199.3%
Liver (g)	13.578	6.249	13.286	6.446	12.690	6.299	12.925	7.265**
Relative to Control [b]	100%	100%	97.8%	103.2%	93.5%	100.8%	95.2%	116.3%
Liver (g/100 g B.W.)	2.369	2.322	2.355	2.257	2.133**	2.291	2.165**	2.327
Relative to Control [b]	100%	100%	99.4%	97.2%	90.0%	98.7%	91.4%	100.2%
Kidney (mg)	3175.3	1642.1	3189.4	1723.1	3560.3**	1766.8	3895.6**	2127.4**
Relative to Control [b]	100%	100%	100.4%	104.9%	112.1%	107.6%	122.7%	129.6%
Kidney (mg/100 g B.W.)	556.1	611.5	566.4	605.5	599.3*	642.5	657.3**	680.4**
Relative to Control [b]	100%	100%	101.9%	99.0%	107.8%	105.1%	118.2%	111.3%
Adrenal (mg)	57.89	65.64	57.33	61.84	65.49	65.28	74.18**	83.20**
Relative to Control [b]	100%	100%	99.0%	94.2%	113.1%	99.5%	128.1%	126.8%
Adrenal (mg/100 g B.W.)	10.20	24.45	10.25	21.66	10.99	23.92	12.63**	26.68
Relative to Control [b]	100%	100%	100.5%	88.6%	107.7%	97.8%	123.8%	109.1%
Heart (mg)	1518.5	871.0	1569.7	917.4	1642.4**	878.9	1819.6**	1138.6**
Relative to Control [b]	100%	100%	103.4%	105.3%	108.2%	100.9%	119.8%	130.7%
Heart (mg/100 g B.W.)	265.5	323.9	279.3	322.2	276.8	319.5	307.3**	364.1**
Relative to Control [b]	100%	100%	105.2%	99.5%	104.3%	98.6%	115.7%	112.4%
Lung (mg)	1456.9	1068.9	1523.7	1107.9	1666.5**	1130.6	1719.2**	1356.8**
Relative to Control [b]	100%	100%	104.6%	103.6%	114.4%	105.8%	118.0%	126.9%
Lung (mg/100 g B.W.)	255.2	398.3	270.7	390.1	280.7**	412.9	291.8**	436.0*
Relative to Control [b]	100%	100%	106.1%	97.9%	110.0%	103.7%	114.3%	109.5%
Submandibular Gland (mg)	695.2	429.0	674.7	422.9	650.4	408.8	654.0	441.7
Relative to Control [b]	100%	100%	97.1%	98.6%	93.6%	95.3%	94.1%	102.9%
Submandibular Gland (mg/100 g B.W.)	122.3	159.7	119.9	149.1	109.2	148.9	112.0	142.1*
Relative to Control [b]	100%	100%	98.0%	93.4%	89.3%	93.2%	91.6%	89.0%
Seminal Vesicle (mg)	2437.3	NA	2431.8	NA	2263.1	NA	2125.5**	NA
Relative to Control [b]	100%	NA	99.8%	NA	92.9%	NA	87.2%	NA

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Seminal Vesicle (mg/100 g B.W.)	427.5	NA	432.9	NA	381.8	NA	362.9**	NA
Relative to Control [b]	100%	NA	101.3%	NA	89.3%	NA	84.9%	NA
Ovary (mg)	NA	83.6	NA	74.8	NA	84.0	NA	105.5**
Relative to Control [b]	NA	100%	NA	89.5%	NA	100.5%	NA	126.2%
Ovary (mg/100 g B.W.)	NA	31.1	NA	26.4	NA	30.7	NA	33.8
Relative to Control [b]	NA	100%	NA	84.9%	NA	98.7%	NA	108.7%
End of the Recovery Period								
Final Body Weight (g)	624.78	300.13	NA	NA	636.02	302.92	600.38	326.47
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	101.8%	100.9%	96.1%	108.8%
Spleen (mg)	800.7	512.2	NA	NA	895.6	521.7	1090.0*	837.7**
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	111.9%	101.9%	136.1%	163.5%
Spleen (mg/100 g B.W.)	128.8	171.7	NA	NA	141.2	171.8	181.4**	258.7**
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	109.6%	100.1%	140.8%	150.7%
Liver (g)	15.368	7.053	NA	NA	13.912	6.835	14.074	7.780
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	90.5%	96.9%	91.6%	110.3%
Liver (g/100 g B.W.)	2.472	2.347	NA	NA	2.180*	2.270	2.332	2.383
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	88.2%	96.7%	94.3%	101.5%
Kidney (mg)	3461.3	1740.8	NA	NA	3429.0	1810.3	3485.0	2042.7*
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	99.1%	104.0%	100.7%	117.3%
Kidney (mg/100 g B.W.)	556.8	581.7	NA	NA	542.2	604.7	585.2	630.3
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	97.4%	104.0%	105.1%	108.4%
Adrenal (mg)	60.00	66.73	NA	NA	62.26	62.30	62.56	66.80
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	103.8%	93.4%	104.3%	100.1%
Adrenal (mg/100 g B.W.)	9.65	22.25	NA	NA	9.84	20.97	10.36	20.90
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	102.0%	94.2%	107.4%	93.9%
Submandibular Gland (mg)	712.8	459.7	NA	NA	727.0	426.2	705.6	476.2
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	102.0%	92.7%	99.0%	103.6%
Submandibular Gland (mg/100 g B.W.)	114.7	153.7	NA	NA	115.0	141.7	119.0	148.0
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	100.3%	92.2%	103.7%	96.3%
Thymus (mg)	209.0	195.3	NA	NA	238.8	220.2	309.6*	229.2
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	114.3%	112.7%	148.1%	117.4%
Thymus (mg/100 g B.W.)	33.7	64.8	NA	NA	38.6	74.2	51.4*	71.3
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	114.5%	114.5%	152.5%	110.0%

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Heart (mg)	1645.0	907.0	NA	NA	1714.8	932.8	1777.8	1063.3
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	104.2%	102.8%	108.1%	117.2%
Heart (mg/100 g B.W.)	264.5	303.2	NA	NA	271.0	309.5	298.0	329.0
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	102.5%	102.1%	112.7%	108.5%
Lung (mg)	1573.5	1163.5	NA	NA	1657.0	1120.0	1863.0**	1278.7
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	105.3%	96.3%	118.4%	109.9%
Lung (mg/100 g B.W.)	252.3	388.0	NA	NA	262.4	372.2	312.6**	396.8
Relative to Control [b]	100%	100%	NA	NA	104.0%	95.9%	123.9%	102.3%
Prostate (mg)	574.8	NA	NA	NA	685.4	NA	602.2	NA
Relative to Control [b]	100%	NA	NA	NA	119.2%	NA	104.8%	NA
Prostate (mg/100 g B.W.)	92.5	NA	NA	NA	112.0	NA	104.0	NA
Relative to Control [b]	100%	NA	NA	NA	121.1%	NA	112.4%	NA
Seminal Vesicle (mg)	2884.5	NA	NA	NA	2638.0	NA	2482.4	NA
Relative to Control [b]	100%	NA	NA	NA	91.5%	NA	86.1%	NA
Seminal Vesicle (mg/100 g B.W.)	465.7	NA	NA	NA	418.2	NA	419.8	NA
Relative to Control [b]	100%	NA	NA	NA	89.8%	NA	90.1%	NA
Ovary (mg)	NA	81.3	NA	NA	NA	79.7	NA	87.5
Relative to Control [b]	NA	100%	NA	NA	NA	98.0%	NA	107.6%
Ovary (mg/100 g B.W.)	NA	27.0	NA	NA	NA	26.3	NA	27.7
Relative to Control [b]	NA	100%	NA	NA	NA	97.4%	NA	102.6%
Histopathology [i]								
End of the Dosing Period								
Spleen								
Increase, Extramedullary Hematopoiesis, Erythroid	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 4 ±: 4 +: 7	–: 15	–: 0 +: 8 2+: 3	–: 0 ±: 1 +: 6 2+: 8
Deposit, Hemosiderin, Red Pulp	–: 0 ±: 1 +: 14	–: 0 +: 12 2+: 3	–: 0 ±: 2 +: 13	–: 0 ±: 1 +: 7 2+: 7	–: 7 ±: 4 +: 4	–: 0 +: 11 2+: 4	–: 10 ±: 1	–: 4 ±: 10 +: 1
Bone Marrow (Femur)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 8 +: 7	–: 11 ±: 4	–: 0 +: 11	–: 1 +: 14

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**1**		**3**		**6**	
Gender: Number of Animals **S ( ): Number of Surviving Animals** **( ): Number of Animals for the Recovery Study**	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Thrombus	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6 +: 2 2+: 3	–: 15
Bone Marrow (Sternum)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 10 ±: 5	–: 12 ±: 2 3+: 1	–: 0 ±: 11	–: 1 ±: 14
Bone (Femur)								
Hyperplasia, Osteoblast/Mesenchymal Cell	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 14 ±: 1	–: 15	–: 6 +: 4 2+: 1	–: 12 ±: 1 +: 2
Irregular Trabecular Bone, Diaphysis	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6 +: 4 2+: 1	–: 6 ±: 3 +: 6
Liver								
Dilatation, Sinusoid, Centrilobular	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 8 ±: 3	–: 15
Atrophy, Hepatocyte, Centrilobular	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 8 ±: 3	–: 15
Deposit, Hemosiderin, Hepatocyte	–: 15	–: 1 ±: 14	–: 15	–: 1 ±: 14	–: 15	–: 0 ±: 15	–: 11	–: 12 ±: 3
Fatty Change, Hepatocyte, Periportal	–: 0 +: 12 2+: 3	–: 0 ±: 12 +: 3	–: 0 ±: 1 +: 7 2+: 7	–: 1 ±: 10 +: 4	–: 0 +: 13 2+: 2	–: 0 ±: 8 +: 6 2+: 1	–: 0 +: 6 2+: 5	–: 1 +: 8 2+: 6
Kidney								
Congestion	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 14	–: 2 +: 9	–: 1 +: 14
Regeneration, Epithelium, Tubule	–: 13 ±: 1 +: 1	–: 14 ±: 1	–: 8 ±: 6 +: 1	–: 15	–: 11 ±: 1 +: 3	–: 13 ±: 1	–: 0 ±: 6 +: 5	–: 9 ±: 6
Cast, Erythrocyte	–: 13 ±: 2	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 14	–: 6 ±: 1 +: 4	–: 13 ±: 2

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Deposit, Hemosiderin, Epithelium Proximal Tubule	–: 15	–: 0 ±: 15	–: 15	–: 3 ±: 12	–: 15	–: 1 ±: 12 +: 1	–: 9 ±: 2	–: 14 +: 1
Stomach								
Erosion/Ulcer, Glandular Stomach	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 10 +: 5	–: 15	–: 2 +: 4 2+: 4 3+: 1	–: 4 +: 6 2+: 5
Adrenal								
Congestion	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 8 ±: 7	–: 8 ±: 7	–: 0 ±: 2 +: 8 2+: 1	–: 0 ±: 2 +: 7 2+: 6
Extramedullary Hematopoiesis	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 10 ±: 1	–: 15
Lung								
Inflammation, Focal	–: 15	–: 14 ±: 1	–: 14 ±: 1	–: 13 ±: 2	–: 15	–: 15	–: 8 ±: 3	–: 13 +: 2
Pituitary								
Congestion	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 12 ±: 3	–: 9 ±: 6	–: 1 ±: 1 +: 9	–: 0 ±: 2 +: 13
Ovary								
Congestion	NA	–: 15	NA	–: 15	NA	–: 15	NA	–: 11 +: 4
Skin								
Hemorrhage, Focal	–: 15	–: 15	NA	–: 1 [j]	NA	NA	–: 11	–: 14 ±: 1
Death or Moribund Sacrifice								
Spleen								
Increase, Extramedullary Hematopoiesis, Erythroid	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 1 +: 1 2+: 2 3+: 1	NA

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Bone Marrow (Femur) Thrombus	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 +: 1 2+: 1	NA
Necrosis, Hematopoietic Cell, Focal	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	NA	NA	NA	NA	–: 0 +: 1	NA	–: 5	NA
Bone (Femur) Irregular Trabecular Bone, Diaphysis	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 2 2+: 3	NA
Hyperplasia, Osteoblast/Mesenchymal Cell	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Liver Dilatation, Sinusoid, Centrilobular	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 +: 1 2+: 1	NA
Liver Atrophy, Hepatocyte, Centrilobular	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 +: 1 2+: 1	NA
Congestion	NA	NA	NA	NA	–: 0 2+: 1	NA	–: 2 2+: 1 3+: 2	NA
Fatty Change, Hepatocyte, Periportal	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 2+: 2	NA
Extramedullary Hematopoiesis	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Kidney Infarct	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 2+: 2	NA
Thrombus, Glomerulus	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 2+: 1 3+: 1	NA

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Congestion	NA	NA	NA	NA	–: 0 +: 1	NA	–: 3 2+: 2	NA
Kidney								
Deposit, Hemosiderin, Epithelium Proximal Tubule	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 2+: 1 3+: 1	NA
Hyaline Droplet, Epithelium, Tubule, PAS-Positive Stained	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 2 2+: 2 3+: 1	NA
Regeneration, Epithelium, Tubule	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Adrenal								
Thrombus	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 2+: 1	NA
Congestion	NA	NA	NA	NA	–: 0 ±: 1	NA	–: 1 3+: 4	NA
Hypertrophy, Cortical Cell, Zona Fasciculata	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 2 +: 3	NA
Hyaline Droplet, Cortical Cell, Zona Glomerulosa	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 +: 1 2+: 1	NA
Brain								
Congestion	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 +: 2	NA
Heart								
Thrombus	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 2 3+: 3	NA
Fibrosis	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 2+: 1	NA
Lung								
Hemorrhage, Focal	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 3+: 2	NA
Thrombus, Artery	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**1**		**3**		**6**	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Thrombus, Capillary	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 +: 1 2+: 1	NA
Congestion	NA	NA	NA	NA	–: 0 +: 1	NA	–: 1 2+: 1 3+: 3	NA
Thymus Hemorrhage, Focal	NA	NA	NA	NA	–: 0 +: 1	NA	–: 0 +: 1 2+: 2 3+: 2	NA
Decrease, Density, Lymphoid Cell, Cortex	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 ±: 1	NA
Pituitary Congestion	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 1 +: 2 2+: 2	NA
Pancreas Congestion	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Jejunum Hemorrhage, Focal	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 2+: 1	NA
Ileum Thrombus	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA
Hemorrhage, Focal	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 3 +: 1 2+: 1	NA
Fibrosis	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 4 +: 1	NA

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Lymph Node (Mesenteric) Congestion	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 2 +: 2 2+: 1	NA
Lymph Node (Submandibular) Congestion	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 1 +: 2 2+: 2	NA
Skin Congestion	NA	NA	NA	NA	–: 1	NA	–: 2 +: 3	NA
Abdominal Cavity [n] Thrombus, Adipose Tissue	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 1 +: 1	NA
Inflammation, Adipose Tissue	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 2+: 2	NA
End of the Recovery Period								
Spleen Deposit, Hemosiderin, Red Pulp	–: 0 ±: 2 +: 4	–: 0 ±: 1 +: 5	NA	NA	–: 0 +: 2 2+: 3	–: 0 +: 3 2+: 3	–: 0 +: 2 2+: 3	–: 0 +: 1 2+: 5
Bone Marrow (Femur) Deposit, Hemosiderin	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 4 +: 1	–: 5 ±: 1	–: 2 +: 3	–: 2 +: 4
Bone Marrow (Sternum) Deposit, Hemosiderin	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 4 +: 1	–: 6
Liver Deposit, Hemosiderin, Kupffer Cell	–: 6	–: 0 ±: 6	NA	NA	–: 1 ±: 4	–: 1 ±: 4 +: 1	–: 0 ±: 2 +: 3	–: 0 +: 6

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Fatty Change, Hepatocyte, Periportal	–: 0 ±: 1 +: 4 2+: 1	–: 0 ±: 5 +: 1	NA	NA	–: 0 +: 5	–: 1 ±: 5	–: 0 ±: 2 2+: 3	–: 0 ±: 4 +: 2
Kidney								
Deposit, Hemosiderin, Epithelium Proximal Tubule	–: 6	–: 0 ±: 6	NA	NA	–: 1 ±: 2 +: 2	–: 0 ±: 6	–: 0 ±: 2 +: 1 2+: 2	–: 0 ±: 3 +: 2 2+: 1
Regeneration, Epithelium, Tubule	–: 3 ±: 1 +: 2	–: 6	NA	NA	–: 0 ±: 3 +: 2	–: 6	–: 1 +: 2 2+: 2	–: 4 ±: 2
Cast, Erythrocyte	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 4 ±: 1	–: 6
Cast, Hyaline	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 4 ±: 1	–: 6	–: 2 ±: 2 +: 1	–: 6
Adrenal								
Congestion	–: 6 ±: 0	–: 5 ±: 1	NA	NA	–: 5	–: 5 ±: 1	–: 3 ±: 1 +: 1	–: 3 ±: 1 +: 2
Brain								
Necrosis, Colliquative	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 4 +: 1	–: 6
Lung								
Deposit, Hemosiderin	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 4 ±: 1	–: 6
Thymus								
Hemorrhage, Focal	–: 6	–: 5 ±: 1	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 4 ±: 1	–: 4 ±: 2
Pituitary								
Congestion	–: 5 ±: 1	–: 5 ±: 1	NA	NA	–: 4 ±: 1	–: 4 ±: 2	–: 2 ±: 3	–: 0 ±: 5 +: 1

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		6	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15 [j]**	**M: 15 S (14) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (10) (5)**	**F: 15 [k] (6)**
Myelogram [o]								
End of the Dosing Period								
Myelocytic Cell Counts/Erythrocytic Cell Counts	1.083	1.065	1.073	0.992	1.088	0.850	0.674**	0.632**
End of the Recovery Period								
Myelocytic Cell Counts/Erythrocytic Cell Counts	0.960	1.155	NA	NA	1.452	1.043	1.644*	1.482

M: Male, F: Female, --: No noteworthy findings, –: No findings, P: Present, NA: Not applicable, NC: Not calculated,
Statistical significance: ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

[a] Number of animals in which the finding was observed
[b] Percent change relative to the control mean value (100%)
[c] Measurement of water consumption and urinalysis were conducted on 12 animals in groups 0, 2 and 3 and six animals in group 1 of each sex (animals with the last 12 and 6 Animals No., respectively) on days 85 and 86 of the dosing period in males and on days 86 and 87 of the dosing period in females.
[d] One male animal in 0 mg/kg group (Animal No.: 10014): The data obtained from this animal were excluded from the evaluation since the blood sample treated with EDTA·2K was not appropriately obtained due to an error in the blood sampling procedure for this animal.
[e] One male animal in 6 mg/kg group (Animal No.: 10310): The sample from this animal was not obtained due to an error during the anesthetic procedure.
[f] One male animal in 6 mg/kg group (Animal No.: 10314): The data from this animal were not obtained due to an error in the blood sampling procedure.
[g] Criteria for Grading Macroscopic Findings: –: no abnormal finding, +: slight, 2+: moderate, 3+: severe, P: non-graded finding
[h] One male animal in 6 mg/kg group (Animal No.: 10310): The data obtained from this animal, which died during the anesthetic procedure at the scheduled sacrifice at the end of the dosing period were excluded from the evaluation since a possibility that insufficient exsanguination would affect the results of the organ weight measurements could not be ruled out.
[i] Criteria for Grading Microscopic Findings: –: no abnormal finding, ±: very slight, +: slight, 2+: moderate, 3+: severe
[j] For one female animal in 1 mg/kg group (Animal No.: 50114) showed spontaneous malignant lymphoma, all the data obtained from this animal were excluded from the evaluation (a possibility that the tumor would affect the results of the study could not be ruled out, except for the Gross pathology or Histopathology).
[k] For one female animal in 6 mg/kg group (Animal No.: 50311) showed spontaneous leukemia, NOS (not otherwise specified), all the data obtained from this animal were excluded from the evaluation (a possibility that the tumor would affect the results of the study could not be ruled out, except for the Gross pathology or Histopathology).
[l] Below the lower limit of quantification (<0.50 μg/mL)
[m] One female animal in 6 mg/kg group (Animal No.: 50315)
[n] Two males in 6 mg/kg group (Animals No.: 10311 and 10320)
[o] Myelograms were conducted on five or six animals/group of each sex (animals with the number of 01, 02, 06, 07, 11 and 12 as the last two digits of Animals No.) at the end of the dosing period and on all the animals at the end of the recovery period.

2.6.7.7.C Three-Month Intermittently Oral Dose Toxicity Study: Rat

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.2-5
Report Title: Three-Month Intermittent Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Rats with a One-Month Recovery Period		**Report/Study No. JTZ951-TX-034/[redacted]-048**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 13 Weeks, Once Daily, Three Times Weekly	
Initial Age: 6 Weeks	Duration of Postdose: 4 Weeks	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	
Initial Body Weight: 206 – 245 g (M), 138 – 175 g (F)		
Vehicle / Formulation: 0.5 w/v% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Satellite groups (10 males and 10 females per group) were provided for measuring plasma concentrations of JTZ-951, erythropoietin (EPO) and serum vascular endothelial growth factor (VEGF).		
No Observed Adverse Effect Level: Less than 10 mg/kg/day three times weekly		

M: Male, F: Female

Dose Level: (mg/kg/three times/week)	**0 (Control)**		**10**		**20**		**30**	
Gender: Number of Animals [a]	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Toxicokinetics: JTZ-951								
t_{max} (hr)								
Day 1	NA	NA	1	0.5	1	1	1	0.5
Day 27	NA	NA	0.5	0.5	0.5	0.5	1	0.5
Day 55	NA	NA	0.5	0.5	0.5	0.5	1	0.5 [b]
Day 90	NA	NA	1	0.5	0.5	0.5	1	0.5 [b, c]
C_{max} (μg/mL)								
Day 1	NA	NA	9.158	12.561	24.975	29.800	47.623	44.267
Day 27	NA	NA	17.000	23.490	45.773	62.279	63.464	100.033
Day 55	NA	NA	23.535	36.391	54.538	78.055	73.539	110.379 [b]
Day 90	NA	NA	21.393	29.788	68.805	61.944	73.450	111.848 [b,c]
AUC_{0-24} (μg·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	28.452	30.602	81.958	88.721	156.786	184.083
Day 27	NA	NA	44.775	44.048	110.315	120.147	196.031	239.071
Day 55	NA	NA	45.983	74.921	174.750	164.779	246.530	299.449 [b]
Day 90	NA	NA	47.852	52.297	202.808	162.768	251.102	287.199 [b,c]
C_{24} (μg/mL)								
Day 1	ND	ND	0.031	0.028	0.033	0.071	0.063	0.413
Day 27	ND	ND	0.015	0.026	0.093	0.071	0.144	0.069
Day 55	ND	ND	0.002	0.011	0.008	0.038	0.242	0.052 [b]

Dose Level: (mg/kg/three times/week)	0 (Control)		10		20		30	
Gender: Number of Animals [a]	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Day 90	ND	ND	0.014	0.012	0.113	0.033	0.052	0.064 [b]

M: Male, F: Female, NA: Not applicable, ND: Not detected

[a] Five animals at each dose level in the satellite groups for TK analyses were divided in numerical order and blood was collected alternately at each blood sampling time point.

[b] No samples from one female (Animal No. 280) on Days 55 and 90 of the dosing period due to death

[c] No samples from one female (Animal No. 271) on Day 90 of the dosing period due to death

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		30	
Gender: Number of Animals **S ( ): Number of Surviving Animals** **( ): Number of Animals for the Recovery Study**	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Noteworthy Findings								
Death or Moribund Sacrifice (number of animals)	0	0	0	0	10	0	8	2
Clinical Signs [d]								
Dosing Period								
Abnormal Stool Color (Black/Reddish Brown/Dark Red)								
Weeks 5-8	0	0	0	0	0	0	1	0
Weeks 9-13	0	0	0	0	2	0	1	1
Decrease in Stool Volume								
Weeks 5-8	0	0	0	0	0	0	1	0
Weeks 9-13	0	0	0	0	5	0	6	2
Abnormal Urine Color (Red/Brown/Reddish Brown)								
Weeks 5-8	0	0	0	0	0	0	1	0
Weeks 9-13	0	0	1	0	9	0	13	3
Death or Moribund Sacrifice								
Weeks 5-8	0	0	0	0	1	0	0	0
Weeks 9-13	0	0	0	0	8	0	8	2
Recovery Period								
Decrease in Stool Volume								
Weeks 1-2	0	0	NA	NA	1	0	0	0
Abnormal Urine Color (Red)								
Weeks 1-2	0	0	NA	NA	0	0	0	1
Death or Moribund Sacrifice								
Week 1	0	0	NA	NA	1	0	0	0

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**20**		**30**	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Body Weight (g)								
Dosing Period								
Day 28	426.7	238.3	438.3	233.5	434.0	241.0	416.1	235.3
Relative to Control [a]	100%	100%	102.7%	98.0%	101.7%	101.1%	97.5%	98.7%
Day 56	527.4	280.6	543.7	280.8	528.2	289.5	505.4	281.9
Relative to Control [a]	100%	100%	103.1%	100.1%	100.2%	103.2%	95.8%	100.5%
Day 91	606.0	309.5	613.8	313.5	584.5	324.7	534.8**	319.2
Relative to Control [a]	100%	100%	101.3%	101.3%	96.5%	104.9%	88.3%	103.1%
Recovery Period								
Day 28	640.7	349.7	NA	NA	619.0	331.7	585.5	340.5
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	96.6%	94.9%	91.4%	97.4%
Body Weight Gain (g)								
Dosing Period								
Day 28	16.1	4.7	19.8	4.6	18.7	7.3	16.7	7.1
Relative to Control [a]	100%	100%	123.0%	97.9%	116.1%	155.3%	103.7%	151.1%
Day 56	20.2	7.0	22.9	6.9	17.2	7.4	18.4	8.3
Relative to Control [a]	100%	100%	113.4%	98.6%	85.1%	105.7%	91.1%	118.6%
Day 91	12.2	1.8	10.7	6.7	-3.3*	3.9	2.7**	4.2
Relative to Control [a]	100%	100%	87.7%	372.2%	-27.0%	216.7%	22.1%	233.3%
Recovery Period								
Day 14	11.8	12.2	NA	NA	19.8	9.2	15.5	14.2
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	167.8%	75.4%	131.4%	116.4%
Day 28	5.8	1.5	NA	NA	9.6	0.3	6.5	0.5
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	165.5%	20.0%	112.1%	33.3%
Food Consumption (g/day)								
Dosing Period								
Day 28	27.3	19.0	28.1	18.7	27.3	19.8	26.6	19.3
Relative to Control [a]	100%	100%	102.9%	98.4%	100%	104.2%	97.4%	101.6%
Day 56	27.0	18.6	27.6	18.3	26.2	19.3	25.0	19.0
Relative to Control [a]	100%	100%	102.2%	98.4%	97.0%	103.8%	92.6%	102.2%
Day 91	26.3	17.8	26.3	18.3	24.9	18.9	23.2*	18.8
Relative to Control [a]	100%	100%	100%	102.8%	94.7%	106.2%	88.2%	105.6%

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**20**		**30**	
Gender: Number of Animals **S ( ): Number of Surviving Animals** **( ): Number of Animals for the Recovery Study**	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Recovery Period								
Day 28	28.3	18.7	NA	NA	29.6	18.8	26.3	19.7
Relative to Control[a]	100%	100%	NA	NA	104.6%	100.5%	92.9%	105.3%
Water Consumption (g)								
Dosing Period								
Week 13	30.8	25.1	31.5	27.8	31.2	29.9	31.0	32.4*
Ophthalmoscopy								
Dosing Period	--	--	NA	NA	NA	NA	--	--
Recovery Period	--	--	NA	NA	NA	NA	--	--
Urinalysis								
Dosing Period (Week 13)								
pH					*		*	
6	0	1	0	1	0	0	0	0
6.5	0	0	0	1	1	0	0	2
7	0	0	0	0	1	0	1	0
7.5	0	1	0	1	0	1	0	1
8	0	1	2	1	1	4	1	1
8.5	3	8	0	1	6	6	7	8
9	9	1	4	1	3	1	3	0
Protein (mg/dL)						**		*
–	0	2	0	1	0	2	0	1
±	1	1	0	2	0	9	1	8
30	6	5	2	1	4	1	7	3
100	5	4	4	2	5	0	2	0
≥300	0	0	0	0	3	0	2	0
Bilirubin								
–	12	12	5	6	9	12	9	12
1+	0	0	1	0	1	0	1	0
2+	0	0	0	0	2	0	2	0
3+	0	0	0	0	0	0	0	0

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		30	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Occult Blood					**		*	
–	11	12	4	6	2	11	5	9
±	1	0	1	0	6	1	3	1
1+	0	0	0	0	2	0	2	1
2+	0	0	0	0	0	0	0	1
3+	0	0	1	0	2	0	2	0
Urine Volume (mL)	16.79	12.41	17.65	12.88	23.58**	15.68	21.05*	17.89**
Osmotic Pressure (mOsm/kg)	1575.5	1409.7	1397.7	1339.3	1068.7**	1107.0**	1114.3**	1011.3**
Cl (mmol/L)	154.7	129.2	121.8	105.7	89.3	97.7	90.3	83.5
Cl (mmol/day)	2.533	1.605	2.122	1.380	1.948*	1.502	1.816**	1.435
Kim-1 (ng/mL)	0.4105	0.2332	0.5948	0.3552	1.1403	0.2748	1.8418	0.8077
Clusterin (ng/mL)	81.59	57.53	94.95	83.85	118.39	81.08	100.84	66.18
Albumin (μg/mL)	57.61	36.42	163.03	39.70	219.93	33.55	136.74	61.85
β_2-Microglobulin (μg/mL)	18.90	3.35	87.55	2.43	136.11	2.20	110.87	24.58
Cystatin (μg/mL)	0.2456	0.1799	0.2567	0.1465	0.2860	0.1339	0.2557	0.1563
Kim-1 (ng)	6.713	2.764	10.322	4.372	27.658**	4.325	38.825**	16.067**
Clusterin (ng)	1341.9	674.8	1651.3	1059.5	2824.5**	1269.1**	2110.3*	1185.8
Albumin (μg)	871.4	450.5	2843.5*	492.3	5140.8**	529.8	2930.4**	1130.4**
β_2-Microglobulin (μg)	306.8	41.4	1568.5	29.2	3904.3	34.1	2095.7	530.4
Cystatin (μg)	4.048	2.209	4.503	1.792	6.948	2.054	5.133	2.735
Recovery Period (Week 4)	--	--	NA	NA	--	--	--	--
Hematology								
End of the Dosing Period								
RBC (10^6/μL)	9.059	8.357	11.827**	10.889**	11.840**	11.597**	10.923	11.349**
Hb (g/dL)	15.87	15.48	23.33**	23.00*	24.37**	25.93**	22.00**	25.95**
Ht (%)	48.13	45.95	72.01**	68.67*	76.40**	78.01**	70.14**	78.95**
MCV (fL)	53.12	55.05	60.97**	63.05**	64.90**	67.35**	65.67**	69.78**
MCH (pg)	17.49	18.55	19.69**	21.13**	20.70**	22.39**	20.49**	22.92**
MCHC (g/dL)	32.94	33.72	32.34*	33.51	31.90**	33.23*	31.24**	32.86**
Platelets (10^3/μL)	1094.8	1176.9	685.9**	779.5**	490.7**	545.9**	602.3**	529.7**
Ret Ratio (%)	1.97	1.99	3.12**	2.43	3.42**	3.03**	5.51**	3.75**
Ret Count (10^9/L)	177.29	167.05	356.07**	264.56	403.73**	350.57**	528.91**	408.69**
Neutrophils (%)	18.24	16.16	17.09	16.51	20.55	17.00	20.09	17.13

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		30	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Lymphocytes (%)	78.13	79.63	80.15	80.11	76.35	80.46	76.94	79.65
Eosinophils (%)	2.04	1.97	1.01**	1.20*	1.00**	0.67**	0.69**	0.81**
PT (sec)	20.61	10.81	82.70*	15.21*	204.35*	34.14**	116.86	54.45**
APTT (sec)	25.54	13.96	47.47*	18.96*	73.90*	32.79**	52.01	38.72**
Fibrinogen (mg/dL)	205.65	153.69	181.53*	139.23*	233.60	142.51	226.59	162.71
PAI-1 (ng/mL)	0.411	0.317	0.672	0.266	1.922	0.549	1.087*	0.673
Erythrocyte Morphology (Color)								
Hypochromic								
No abnormal changes	15	15	15	15	6	15	5	13
Slight	0	0	0	0	0	0	2	0
Polychromatic								
No abnormal changes	15	15	15	15	6	15	5	12
Slight	0	0	0	0	0	0	2	1
Erythrocyte Morphology (Inclusions)								
Howell-Jolly Body								
None	15	14	13	15	6	12	5	11
Slight	0	1	2	0	0	3	2	2
End of the Recovery Period								
WBC (10^3/μL)	5.852	3.930	NA	NA	5.394	3.520	5.610	4.557
RBC (10^6/μL)	8.960	8.163	NA	NA	9.864	8.720	9.177	8.790
Hb (g/dL)	15.73	15.13	NA	NA	18.92*	18.47*	17.50	18.80*
Ht (%)	47.70	44.63	NA	NA	54.60	52.73	51.57	53.23*
MCV (fL)	53.22	54.70	NA	NA	55.62	60.50**	56.43	60.52**
MCH (pg)	17.57	18.52	NA	NA	19.24*	21.20**	19.15*	21.43**
MCHC (g/dL)	33.03	33.88	NA	NA	34.58**	35.05**	33.92*	35.40**
Platelets (10^3/μL)	1134.3	1076.7	NA	NA	896.0	852.0*	835.0*	817.7**
Ret Ratio (%)	2.40	2.15	NA	NA	0.92	0.27**	1.22	0.43**
Ret Count (10^9/L)	214.87	176.00	NA	NA	79.52*	22.53**	99.83	33.13**
PT (sec)	17.52	10.52	NA	NA	19.86	11.20*	21.23	11.52**
APTT (sec)	20.82	13.50	NA	NA	23.50	14.92	37.57	15.25*
Blood Chemistry								
End of the Dosing Period								
AST (IU/L)	61.8	51.1	81.6*	58.9	103.3**	65.2*	96.7**	70.3**

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		30	
Gender: Number of Animals S.( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
ALP (IU/L)	249.7	125.3	253.7	161.2	224.0	164.7*	283.4	174.8**
LDH (IU/L)	222.9	108.3	337.6	149.9	392.2*	328.7**	468.3*	404.8**
CK (IU/L)	124.5	98.5	175.9*	111.9	206.7**	141.1**	178.4*	155.9**
T-Bil (mg/dL)	0.018	0.025	0.040*	0.057**	0.040	0.049	0.053	0.072**
D-Bil (mg/dL)	0.015	0.022	0.053**	0.056**	0.062**	0.061**	0.066**	0.077**
TP (g/dL)	5.77	5.85	5.51**	5.57*	5.45**	5.48**	5.39**	5.43**
PL (mg/dL)	102.6	115.3	76.5**	97.8*	72.7**	82.1**	64.1**	79.0**
T-CH (mg/dL)	67.7	60.8	39.4**	46.9**	36.3**	38.7**	32.9**	38.3**
Glucose (mg/dL)	149.9	133.8	116.8**	122.6	111.8**	114.6**	108.1**	107.5**
IP (mg/dL)	6.279	5.793	6.719	5.673	6.935	6.180	7.356**	6.312
Ca (mg/dL)	9.49	9.33	9.27*	8.94**	9.27	9.01*	9.14**	9.03*
Cl (mmol/L)	109.0	108.3	107.3	106.1**	108.0	104.6**	108.4	105.2**
Fe (μg/dL)	116.59	227.73	109.59	153.27**	76.15*	118.21**	64.29**	120.74**
UIBC (μg/dL)	328.75	192.11	340.27	241.65*	387.87	263.32**	384.94	287.09**
LA (mg/dL)	13.04	13.11	23.33**	15.55	27.50**	18.93**	23.11*	22.83**
Albumin (%)	46.72	54.42	46.85	53.26	40.75**	49.55**	43.01	47.91**
A/G	0.878	1.204	0.885	1.141	0.695**	0.989**	0.776	0.926**
Albumin (g/dL)	2.71	3.19	2.58	2.98	2.22**	2.72**	2.30**	2.59**
TSAT (%)	26.34	54.15	24.81	38.81**	16.47**	31.06**	14.29**	29.74**
End of the Recovery Period								
T-Bil (mg/dL)	0.020	0.038	NA	NA	0.076*	0.100**	0.065	0.117**
D-Bil (mg/dL)	0.015	0.012	NA	NA	0.046*	0.047**	0.040	0.050**
TP (g/dL)	5.80	6.00	NA	NA	5.74	6.00	5.63	6.07
Fe (μg/dL)	112.72	278.03	NA	NA	333.30**	379.13*	261.13	391.87**
UIBC (μg/dL)	359.15	159.32	NA	NA	58.14**	0.58**	138.45**	7.23**
TIBC (μg/dL)	471.87	437.35	NA	NA	391.44*	379.72	399.58*	399.10
TSAT (%)	24.12	63.28	NA	NA	85.56**	99.83**	67.78*	98.10**
VEGF Measurement (Day 69) (pg/mL) [e]								
Pre-treatment	308.378	437.520	359.080	467.798	320.488	408.592	404.606	408.984
2 hr	326.444	475.178	377.980	700.580	443.804	610.400	392.416	767.058 [f]
4 hr	272.828	409.452	452.658	592.932	508.078	678.188	545.226	656.480
8 hr	330.046	490.914	433.074	511.360	473.456	522.532	612.142	443.050 [f]
24 hr	240.698	422.052	257.222	487.340	241.368	408.414	158.632	455.774

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**20**		**30**	
Gender: Number of Animals **S ( ): Number of Surviving Animals** **( ): Number of Animals for the Recovery Study**	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Myelogram [g]								
End of the Dosing Period								
M/E	1.493	1.742	0.802**	1.208*	0.872*	1.227*	1.132	1.027**
End of the Recovery Period								
M/E	1.532	1.763	NA	NA	3.046	5.262**	3.383	5.845**
Gross Pathology [b]								
End of the Dosing Period (number of animals examined)	(15)	(15)	(15)	(15)	(6)	(15)	(7)	(13)
External Findings								
Black Discoloration, Hindlimb, Right	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 P: 1	–: 13
Swelling, Hindlimb, Right	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 P: 1	–: 13
Heart								
White Focus, Solitary	–: 15	–: 15	–: 14 P: 1	–: 15	–: 6	–: 15	–: 7	–: 13
Spleen								
Enlargement	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 4 P: 2	–: 14 P: 1	–: 4 P: 3	–: 11 P: 2
White focus	–: 15	–: 15	–: 14 P: 1	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 P: 1	–: 13
Stomach								
Black Focus, Glandular Mucosa	–: 15	–: 15	–: 14 P: 1	–: 14 P: 1	–: 5 P: 1	–: 9 P: 6	–: 6 P: 1	–: 11 P: 2
Kidney								
White Focus, Left	–: 15	–: 15	–: 14 P: 1	–: 15	–: 5 P: 1	–: 15	–: 5 P: 2	–: 12 P: 1
Kidney								
White Focus, Right	–: 15	–: 15	–: 14 P: 1	–: 14 P: 1	–: 6	–: 15	–: 5 P: 2	–: 11 P: 2
Cerebrum								
White Focus	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 P: 1	–: 13

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		30	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Skeletal Muscle White Discoloration, Hindlimb, Right	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 P: 1	–: 13
End of the Recovery Period Kidney White Focus, Left	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 4 P: 2	–: 6
White Focus, Right	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 5 P: 1	–: 6
Scar, Right	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 4 P: 2	–: 6
Scar, Left	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 4 P: 2	–: 5 P: 1
Organ Weights End of the Dosing Period Adrenal R&L (mg)	61.27	66.74	73.67*	76.76*	80.05*	86.77**	80.79*	82.96**
Relative to Control [a]	100%	100%	120.2%	115.0%	130.7%	130.0%	131.9%	124.3%
Adrenal R&L (mg/100 g Body Weight [B.W.])	10.53	23.33	12.55	26.03	13.62*	27.85**	16.21**	27.92**
Relative to Control [a]	100%	100%	119.2%	111.6%	129.3%	119.4%	153.9%	119.7%
Ovary R&L (mg)	NA	83.86	NA	89.42	NA	97.85*	NA	99.75*
Relative to Control [a]	NA	100%	NA	106.6%	NA	116.7%	NA	118.9%
Ovary R&L (mg/100 g B.W.)	NA	29.26	NA	30.41	NA	31.59	NA	33.34
Relative to Control [a]	NA	100%	NA	103.9%	NA	108.0%	NA	113.9%
Spleen (mg)	897.7	518.1	1371.1**	738.1	2073.7**	1170.6**	2193.4**	1357.2**
Relative to Control [a]	100%	100%	152.7%	142.5%	231.0%	225.9%	244.3%	262.0%
Spleen (mg/100 g B.W.)	154.3	179.9	233.5**	250.3*	349.3**	375.3**	446.6**	457.4**
Relative to Control [a]	100%	100%	151.3%	139.1%	226.4%	208.6%	289.4%	254.3%
Heart (mg)	1582.3	960.5	1784.9**	1021.5	1966.5**	1234.1**	1866.0**	1261.2**
Relative to Control [a]	100%	100%	112.8%	106.4%	124.3%	128.5%	117.9%	131.3%
Heart (mg/100 g B.W.)	273.8	334.9	304.7**	346.0	335.8**	398.9**	370.3**	422.5**
Relative to Control [a]	100%	100%	111.3%	103.3%	122.6%	119.1%	135.2%	126.2%
Lung (mg)	1526.3	1097.6	1743.1**	1217.3*	1786.7**	1366.5**	1864.0**	1341.7**
Relative to Control [a]	100%	100%	114.2%	110.9%	117.1%	124.5%	122.1%	122.2%

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		30	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Lung (mg/100 g B.W.)	264.0	383.2	298.7*	412.3	306.2	442.4**	372.0**	449.8**
Relative to Control [a]	100%	100%	113.1%	107.6%	116.0%	115.4%	140.9%	117.4%
Liver (g)	14.145	6.865	13.377	6.811	14.067	7.287	11.127**	7.221
Relative to Control [a]	100%	100%	94.6%	99.2%	99.4%	106.1%	78.7%	105.2%
Liver (g/100 g B.W.)	2.436	2.387	2.273*	2.304	2.360	2.347	2.211*	2.413
Relative to Control [a]	100%	100%	93.3%	96.5%	96.9%	98.3%	90.8%	101.1%
Kidney R&L (mg)	3588.5	1811.3	3915.6	2038.5**	4150.3*	2187.2**	3688.6	2205.4**
Relative to Control [a]	100%	100%	109.1%	112.5%	115.7%	120.8%	102.8%	121.8%
Kidney R&L (mg/100 g B.W.)	619.3	631.9	667.3	690.7*	707.3*	709.5**	736.4**	737.9**
Relative to Control [a]	100%	100%	107.8%	109.3%	114.2%	112.3%	118.9%	116.8%
End of the Recovery Period								
Spleen (mg)	967.2	530.0	NA	NA	1409.8**	807.7**	1471.3**	867.7**
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	145.8%	152.4%	152.1%	163.7%
Spleen (mg/100 g B.W.)	158.2	161.8	NA	NA	238.8**	262.5**	263.2**	273.2**
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	150.9%	162.2%	166.4%	168.9%
Heart (mg)	1615.3	1046.8	NA	NA	1689.4	1136.3	1791.3	1187.8
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	104.6%	108.5%	110.9%	113.5%
Heart (mg/100 g B.W.)	264.7	323.7	NA	NA	286.0	368.3	321.7**	374.2*
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	108.0%	113.8%	121.5%	115.6%
Lung (mg)	1461.3	1146.8	NA	NA	1618.4*	1292.0	1596.2*	1288.7
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	110.8%	112.7%	109.2%	112.4%
Lung (mg/100 g B.W.)	240.8	355.8	NA	NA	274.8*	420.7*	287.3**	405.8
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	114.1%	118.2%	119.3%	114.1%
Liver (g)	14.790	8.018	NA	NA	14.410	7.593	13.318	7.840
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	97.4%	94.7%	90.0%	97.8%
Liver (g/100 g B.W.)	2.413	2.457	NA	NA	2.438	2.445	2.395	2.468
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	101.0%	99.5%	99.3%	100.4%
Kidney R&L (mg)	3668.5	1993.8	NA	NA	3875.0	2113.5	3928.0	2150.3
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	105.6%	106.0%	107.1%	107.8%
Kidney R&L (mg/100 g B.W.)	605.0	616.0	NA	NA	656.0	679.7	700.3*	679.8
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	108.4%	110.3%	115.8%	110.4%

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**20**		**30**	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Histopathology [c]								
End of the Dosing Period								
Adrenal								
Congestion	–: 15	–: 15	–: 15	–: 14 ±: 1	–: 5 ±: 1	–: 7 ±: 7 +: 1	–: 6 ±: 1	–: 4 ±: 7 +: 2
Hypertrophy, Zona Fasciculata	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 5 ±: 1	–: 15	–: 6 ±: 1	–: 13
Bone Marrow (Femoral, Left)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 15	–: 15	–: 0 ±: 15	–: 1 ±: 13 +: 1	–: 0 ±: 3 +: 3	–: 0 ±: 9 +: 6	–: 0 ±: 2 +: 4 NA: 1	–: 0 ±: 4 +: 9
Bone Marrow (Femoral, Right)								
Necrosis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 3+: 1 NA: 6	NA
Bone Marrow (Sternal)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 15	–: 15	–: 0 ±: 15	–: 3 ±: 12	–: 0 ±: 4 +: 2	–: 0 ±: 9 +: 6	–: 1 ±: 2 +: 4	–: 0 ±: 4 +: 9
Increase, Hematopoiesis, Granuloid	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 2+: 1	–: 13
Cecum								
Edema, Submucosa	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 7	–: 12 +: 1
Erosion/Ulcer, Mucosa	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 7	–: 12 2+: 1
Fibrosis, Submucosa/Serosa	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 7	–: 12 ±: 1
Hemorrhage, Mucosa/Submucosa	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 7	–: 12 +: 1

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**20**		**30**	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Inflammatory Cell Infiltration, Mucosa/Submucosa	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 7	–: 12 2+: 1
Cerebellum								
Congestion	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 ±: 1	–: 11 ±: 2
Cerebrum								
Colliquation Necrosis, Cortex	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 2+: 1	–: 13
Congestion	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 ±: 1	–: 10 ±: 3
Hemorrhage, Cortex	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 ±: 1	–: 13
Macrophage Infiltration, Cortex	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 +: 1	–: 13
Femur (Left)								
Hyperplasia, Osteoblast/Mesenchymal Cell	–: 15	–: 15	–: 13 ±: 2	–: 14 ±: 1	–: 5 ±: 1	–: 15	–: 6 NA: 1	–: 11 ±: 2
Irregular Trabecular Bone, Diaphysis	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 NA: 1	–: 12 +: 1
Femur (Right)								
Arthritis, Suppurative	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 +: 1 NA: 6	NA
Bacterial Colony, Articular Cavity	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 ±: 1 NA: 6	NA
Irregular Cortical Bone	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 +: 1 NA: 6	NA
Irregular Trabecular Bone, Diaphysis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 2+: 1 NA: 6	NA

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		30	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Necrosis, Bone/Cartilage	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 +: 1 NA: 6	NA
Heart								
Dilatation, Atrium	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 7	–: 12 ±: 1
Dilatation, Ventricle	–: 15	–: 15	–: 14 ±: 1	–: 15	–: 5 ±: 1	–: 15	–: 4 ±: 3	–: 12 ±: 1
Heart								
Thrombosis, Atrium/Valve	–: 15	–: 15	–: 13 +: 2	–: 15	–: 4 +: 2	–: 13 ±: 1 +: 1	–: 2 +: 4 2+: 1	–: 12 ±: 1
Fibrosis, Myocardium	–: 11 ±: 4	–: 15	–: 12 ±: 1 +: 2	–: 15	–: 4 ±: 1 +: 1	–: 12 ±: 2 +: 1	–: 3 ±: 3 +: 1	–: 11 ±: 2
Hindlimb (Gross Lesion) [h]								
Acanthosis/Hyperkeratosis, Epidermis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 1 ±: 1 +: 1	NA
Erosion/Ulcer, Epidermis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 2 ±: 1	NA
Hemorrhage	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 2 +: 1	NA
Inflammatory Cell Infiltration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 2 +: 1	NA
Necrosis, Skeletal Muscle/Bone/Skin	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 2 3+: 1	NA
Kidney								
Brown Pigment Deposition, Proximal Tubule	–: 15	–: 15	–: 12 ±: 1 +: 2	–: 15	–: 4 ±: 2	–: 15	–: 3 ±: 1 +: 3	–: 12 +: 1

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		30	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Cast, Erythrocyte	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 5 ±: 1	–: 15	–: 6 +: 1	–: 13
Kidney								
Cast, Hyaline	–: 14 ±: 1	–: 15	–: 13 ±: 2	–: 15	–: 6	–: 15	–: 7	–: 10 ±: 2 +: 1
Congestion	–: 15	–: 15	–: 2 ±: 13	–: 15	–: 1 ±: 5	–: 9 ±: 6	–: 4 ±: 3	–: 3 ±: 10
Hemorrhage, Interstitium	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 5 ±: 1	–: 15	–: 6 +: 1	–: 12 ±: 1
Infarct	–: 15	–: 15	–: 12 ±: 2 +: 1	–: 15	–: 4 ±: 1 +: 1	–: 15	–: 4 +: 3	–: 12 2+: 1
Inflammatory Cell Infiltration	–: 15	–: 15	–: 14 ±: 1	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 ±: 1	–: 12 ±: 1
Mineralization, Renal Tubule	–: 15	–: 15	–: 14 ±: 1	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 +: 1	–: 12 +: 1
Mononuclear Cell Infiltration	–: 13 ±: 2	–: 15	–: 12 ±: 2 +: 1	–: 15	–: 5 ±: 1	–: 14 ±: 1	–: 3 ±: 1 +: 3	–: 9 ±: 3 +: 1
Regeneration, Renal Tubule	–: 9 ±: 6	–: 15	–: 13 +: 1 3+: 1	–: 14 ±: 1	–: 1 ±: 3 +: 2	–: 14 ±: 1	–: 0 ±: 3 +: 3 2+: 1	–: 2 ±: 9 +: 1 2+: 1
Thrombosis, Renal/Arcuate Artery	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 5 ±: 1	–: 15	–: 7	–: 13
Liver (Left Lateral Lobe, Median Lobe)								
Atrophy, Hepatocyte, Centrilobular	–: 15	–: 15	–: 14 ±: 1	–: 14 ±: 1	–: 2 ±: 4	–: 6 ±: 9	–: 5 ±: 2	–: 4 ±: 9
Congestion, Centrilobular	–: 15	–: 15	–: 14 ±: 1	–: 14 ±: 1	–: 2 ±: 4	–: 6 ±: 9	–: 5 ±: 2	–: 4 ±: 9

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**20**		**30**	
Gender: Number of Animals **S ( ): Number of Surviving Animals** **( ): Number of Animals for the Recovery Study**	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Liver (Left Lateral Lobe, Median Lobe)								
Microgranuloma	–: 11 ±: 4	–: 8 ±: 7	–: 15	–: 12 ±: 3	–: 6	–: 15	–: 5 ±: 2	–: 12 ±: 1
Swelling, Kupffer Cells	–: 15	–: 15	–: 15	–: 14 ±: 1	–: 6	–: 9 ±: 6	–: 1 ±: 6	–: 2 ±: 11
Fatty Change, Hepatocyte, Periportal	–: 15	–: 15	–: 14 ±: 1	–: 11 ±: 4	–: 5 ±: 1	–: 9 ±: 5 +: 1	–: 7	–: 10 ±: 2 +: 1
Lymph Node (Submandibular, Left)								
Atrophy, Follicle	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 5 ±: 1 +: 1	–: 12 ±: 1
Ovary								
Congestion	NA	–: 15	NA	–: 15	NA	–: 11 ±: 4	NA	–: 7 ±: 6
Pancreas								
Congestion	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 7	–: 11 ±: 2
Pituitary								
Congestion	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 11 ±: 4	–: 7	–: 8 ±: 5
Medulla Oblongata								
Congestion	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 ±: 1	–: 13
Pons								
Congestion	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 ±: 1	–: 13
Skeletal Muscle (Gross Lesion) [i]								
Fibrosis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 +: 1	NA
Skeletal Muscle (Gross Lesion) [i]								
Inflammatory Cell Infiltration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 +: 1	NA

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		30	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Necrosis, Skeletal Muscle	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 3+: 1	NA
Spinal Cord (Thoracic)								
Congestion	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 ±: 1	–: 13
Spleen								
Atrophy, Follicle/Marginal Zone	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 2 ±: 4	–: 15	–: 4 ±: 3	–: 13
Increase, Extramedullary Hematopoiesis, Erythroid	–: 15	–: 15	–: 1 ±: 3 +: 11	–: 4 ±: 5 +: 6	–: 0 +: 3 2+: 3	–: 0 ±: 2 +: 11 2+: 2	–: 0 +: 5 2+: 2	–: 0 +: 9 2+: 4
Increase, Extramedullary Hematopoiesis, Granuloid	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 ±: 1	–: 13
Increase, Extramedullary Hematopoiesis, Megakaryocyte	–: 15	–: 15	–: 8 ±: 6 +: 1	–: 7 ±: 8	–: 0 ±: 2 +: 4	–: 1 ±: 10 +: 4	–: 2 ±: 1 +: 4	–: 1 ±: 5 +: 7
Spleen (Gross Lesion)[j]								
Atrophy, Follicle/Marginal Zone	NA	NA	–: 1	NA	NA	NA	–: 0 ±: 1	NA
Increase, Extramedullary Hematopoiesis, Erythroid	NA	NA	–: 1	NA	NA	NA	–: 0 2+: 1	NA
Spleen (Gross Lesion)[j]								
Increase, Extramedullary Hematopoiesis, Megakaryocyte	NA	NA	–: 1	NA	NA	NA	–: 0 +: 1	NA
Necrosis	NA	NA	–: 0 3+: 1	NA	NA	NA	–: 0 2+: 1	NA
Thrombosis, Splenic Artery	NA	NA	–: 0 +: 1	NA	NA	NA	–: 1	NA
Thrombosis, Trabecular Artery	NA	NA	–: 1	NA	NA	NA	–: 0 +: 1	NA

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		10		20		30	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Sternum								
Hyperplasia, Osteoblast/Mesenchymal Cell	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 7	–: 12 ±: 1
Stomach (Glandular stomach)								
Congestion	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 11 ±: 4	–: 5 ±: 2	–: 3 ±: 10
Erosion/Ulcer, Mucosa	–: 15	–: 15	–: 14 ±: 1	–: 15	–: 6	–: 14 ±: 1	–: 6 +: 1	–: 12 +: 1
Hemorrhage, Mucosa/Submucosa	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 6 +: 1	–: 12 +: 1
Stomach (Gross lesion) [k]								
Erosion/Ulcer, Mucosa	NA	NA	–: 0 ±: 1	–: 0 ±: 1	–: 1	–: 1 ±: 3 +: 2	NA	–: 0 +: 1
Stomach (Gross lesion) [k]								
Hemorrhage, Mucosa/Submucosa	NA	NA	–: 0 ±: 1	–: 0 ±: 1	–: 0 ±: 1	–: 0 ±: 5 +: 1	NA	–: 0 +: 1
Inflammatory Cell Infiltration, Mucosa/Submucosa	NA	NA	–: 1	–: 1	–: 1	–: 6	NA	–: 0 ±: 1
Thymus								
Congestion	–: 15	–: 15	–: 15	–: 15	–: 6	–: 15	–: 7	–: 12 ±: 1
Uterus								
Congestion	NA	–: 15	NA	–: 15	NA	–: 13 ±: 2	NA	–: 9 ±: 4
Vagina								
Congestion	NA	–: 15	NA	–: 15	NA	–: 13 ±: 2	NA	–: 10 ±: 3
End of the Recovery Period								
Cecum								
Fibrosis, Submucosa/Serosa	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 4 +: 1	–: 6	–: 6	–: 6

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**20**		**30**	
Gender: Number of Animals S ( ): Number of Surviving Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Granuloma/Mineralization, Serosa	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 4 +: 1	–: 6	–: 6	–: 6
Heart								
Dilatation, Atrium	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 5 ±: 1	–: 6
Thrombosis, Atrium/Valve	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 4 ±: 1 +: 1	–: 5 +: 1
Fibrosis, Myocardium	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 6	–: 5 ±: 1
Hindlimb (Gross lesion)[1]								
Acanthosis/Hyperkeratosis, Epidermis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 +: 1	–: 0 ±: 1
Erosion/Ulcer, Epidermis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 ±: 1	–: 1
Hemorrhage, Dermis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 ±: 1	–: 1
Inflammatory Cell Infiltration	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 0 ±: 1	–: 1
Kidney								
Brown Pigment Deposition, Proximal Tubule	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 4 ±: 1	–: 5 +: 1	–: 2 ±: 3 +: 1	–: 5 +: 1
Cast, Hyaline	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 5 ±: 1	–: 5 ±: 1	–: 6
Fibrosis	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 3 +: 1 2+: 2	–: 6
Infarct	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 4 +: 2	–: 5 2+: 1
Mineralization, Renal Tubule	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 5	–: 6	–: 4 2+: 2	–: 6

Daily Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**10**		**20**		**30**	
Gender: Number of Animals **S ( ): Number of Surviving Animals** **( ): Number of Animals for the Recovery Study**	**M: 15 (6)**	**F: 15 (6)**	**M: 15**	**F: 15**	**M: 15 S (6) (5)**	**F: 15 (6)**	**M: 15 S (7) (6)**	**F: 15 S (13) (6)**
Regeneration, Renal Tubule	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 3 ±: 2	–: 3 ±: 2 +: 1	–: 1 ±: 2 +: 3	–: 3 ±: 2 +: 1
Spleen Increase, Brown Pigment, Red Pulp	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 2 ±: 2 +: 1	–: 0 ±: 5 +: 1	–: 3 ±: 3	–: 0 ±: 1 +: 5
Mineralization, Smooth Muscle, Trabecula/Capsule	–: 6	–: 6	NA	NA	–: 2 ±: 2 +: 1	–: 0 ±: 3 +: 3	–: 3 ±: 1 +: 2	–: 1 ±: 2 +: 1 2+: 2

M: Male, F: Female, --: No noteworthy findings, NA: Not applicable, R&L: Right and left
Statistical significance: ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

[a] Percent change relative to the control mean value (100%)
[b] Criteria for Grading Macroscopic Findings: –: no abnormal finding, +: slight, 2+: moderate, 3+: severe, P: non-graded finding
[c] Criteria for Grading Microscopic Findings: –: no abnormal finding, ±: very slight, +: slight, 2+: moderate, 3+: severe
[d] Number of animals in which the finding was observed
[e] Five animals at each dose level in the satellite groups for TK analyses were divided in numerical order and blood was collected alternately at each blood sampling time point.
[f] No samples from one female (Animal No. 280) at 2 and 8 hours after dosing due to death
[g] Myelograms were conducted on the six lowest-numbered males and females in each group of the main study group.
[h] Histopathological examinations of the hindlimb were conducted on three males at 30 mg/kg (Animals No. 66, 72 and 74).
[i] Histopathological examinations of the skeletal muscle (gross lesion) were conducted on one male at 30 mg/kg (Animal No. 72).
[j] Histopathological examinations of the spleen (gross lesion) were conducted on one male each at 10 and 30 mg/kg (Animals No. 31 and 68).
[k] Histopathological examinations of the stomach (gross lesion) were conducted on one male at 10 mg/kg (Animal No. 25), one female at 10 mg/kg (Animal No. 135), one male at 20 mg/kg (Animal No. 48), six females at 20 mg/kg (Animals No. 143, 144, 150, 151, 153 and 157) and one female at 30 mg/kg (Animal No. 176).
[l] Histopathological examinations of the hindlimb (gross lesion) were conducted on one male and one female at 30 mg/kg (Animals No. 60 and 162).

2.6.7.7.D Six-Month Oral Dose Toxicity Study: Rat

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.2-6
Report Title: Six-Month Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Rats		**Report/Study No. JTZ951-TX-042/[redacted]-066**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 26 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 6 Weeks	Duration of Postdose: Not applicable	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	
Initial Body Weight: 173 –199 g (M), 160 – 186 g (F)		
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Not applicable		
No Observed Adverse Effect Level: 1 mg/kg		

M: Male, F: Female

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.3**		**1**		**3**	
Gender: Number of Animals	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**
Toxicokinetics: JTZ-951								
t_{max} (hr)								
Day 1	NA	NA	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Day 28	NA	NA	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Day 91	NA	NA	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Day 182	NA	NA	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
C_{max} (μg/mL)								
Day 1	NA	NA	0.149	0.146	0.492	0.833	2.005	2.854
Day 28	NA	NA	0.251	0.306	0.937	1.141	3.062	6.517
Day 91	NA	NA	0.431	0.365	1.926	1.653	6.333	7.558
Day 182	NA	NA	0.432	0.429	2.930	1.544	7.236	8.074
$AUC_{0\text{-}24\ hr}$ (μg·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	0.671	0.500	2.029	2.640	6.972	9.838
Day 28	NA	NA	0.479	0.552	1.825	2.738	7.365	11.220
Day 91	NA	NA	0.814	0.751	3.585	4.364	13.572	14.873
Day 182	NA	NA	1.150	1.048	6.184	4.501	15.267	19.519
C_{24} (μg/mL)								
Day 1	ND	ND	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.009
Day 28	ND	ND	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005
Day 91	ND	ND	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000
Day 182	ND	ND	0.000	0.000	0.007	0.012	0.006	0.015

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**
Noteworthy Findings								
Death or Moribund Sacrifice	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Signs								
Dosing Period								
Swelling of the right hindlimb								
Days 99-116 (Week 15-17)	0	0	0	0	0	0	1	0
Days 167-182 (Week 24-26)	0	0	0	0	0	0	1	0
Swelling of the left hindlimb								
Days 125-141 (Week 18-21)	0	0	0	0	0	0	1	0
Body Weight (g)								
Dosing Period								
Day 182	693.4	388.4	695.0	384.6	680.3	380.3	668.2	376.8
Food Consumption (g/day)								
Dosing Period								
Day 175-182 (Week 26)	27.6	19.2	27.4	20.1	27.0	19.5	27.3	19.0
Water Consumption (g/day)								
Dosing Period								
Week 26	25.7	29.7	25.1	29.5	26.5	30.3	25.6	30.2
Urinalysis								
Dosing Period (Week 26)								
Ca (mg/dL)	11.90	27.21	10.85	32.25	10.39	33.31	6.02	25.99
Ca (mg/day)	2.44	6.16	1.95	6.45	2.10	6.50	1.22**	6.39
Kim-1 (ng/mL)	0.788	0.289	0.653	0.321	0.653	0.345	1.007	0.331
Kim-1 (ng/day)	15.454	6.206	11.695	5.001	12.492	6.343	22.339	7.050
Hematology								
Dosing Period (Week 26)								
RBC (10^6/μL)	8.776	7.908	8.888	7.647	8.887	7.636	11.083**	8.640*
Hb (g/dL)	15.42	15.11	15.54	14.62	15.87	14.79	21.34**	17.47**
Ht (%)	46.07	44.33	46.33	42.93	47.02	43.26	63.37**	51.32*
MCV (fL)	52.58	56.08	52.17	56.38	52.99	56.72	57.15**	59.34**
MCH (pg)	17.58	19.11	17.50	19.17	17.89	19.40	19.24**	20.21**
Platelets (10^3/μL)	1092.5	981.1	1059.1	1033.9	1045.7	1007.5	775.8**	913.1
Ret Ratio (%)	2.32	1.94	2.23	2.27	1.96	2.08	2.84**	2.94**
Ret Count (10^9/L)	199.75	153.54	196.68	165.57	174.10	157.86	316.19**	252.98**
Basophils (%)	0.19	0.17	0.18	0.16	0.17	0.17	0.44**	0.19

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**
Basophils ($10^3/\mu L$)	0.013	0.007	0.009	0.005	0.012	0.006	0.029**	0.009
PT (sec)	14.76	10.03	15.31	10.04	15.05	10.19	22.32**	10.61**
APTT (sec)	22.11	15.16	22.06	15.08	21.71	15.16	30.51**	15.82
Fibrinogen (mg/dL)	222.57	159.02	215.83	158.50	206.11*	150.57	187.93**	144.42
PAI-1 (ng/mL)								
Dosing Period (n = 5)								
Day 1								
Pre-treatment	1.376	0.574	0.776	0.414	1.078	0.524	1.216	0.408
4 hr	5.984	2.232	4.208	1.874	4.406	2.016	78.732	58.992
8 hr	3.090	1.822	2.848	1.844	4.900	1.648	13.860	18.496
24 hr	1.132	0.830	1.686	0.678	2.104	1.328	1.996	1.102
Day 91								
Pre-treatment	0.000	0.108	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
4 hr	1.534	1.026	1.280	1.094	14.308	19.726	123.124	114.168
8 hr	1.118	0.818	1.524	1.288	7.746	1.208	6.932	4.344
24 hr	0.280	0.000	1.024	0.344	0.670	0.436	0.358	0.378
Day 182								
Pre-treatment	0.000	0.578	0.000	0.124	0.158	0.136	0.386	0.000
4 hr	1.252	1.592	1.304	1.328	43.458	19.206	170.070	73.268
8 hr	0.782	0.796	1.120	1.112	4.600	2.676	6.264	12.618
24 hr	0.278	0.120	0.374	0.242	0.000	0.424	0.000	0.110
Erythropoietin (mIU/mL)								
Dosing Period (n = 5)								
Day 1								
4 hr	16.07	6.02	21.07	6.67	18.55	8.64	122.57	64.44
8 hr	21.01	6.80	16.48	6.68	24.39	7.89	93.96	70.12
24 hr	54.73	30.89	115.96	30.54	46.31	33.30	42.77	37.76
Day 91								
Pre-treatment	1.93	0.93	0.00	0.67	0.63	0.63	0.00	0.00
4 hr	8.83	8.90	11.48	9.26	22.59	38.16	267.88	214.94
8 hr	3.57	3.06	5.41	6.72	39.14	10.62	157.39	89.14
24 hr	12.49	18.64	14.48	20.03	5.92	26.63	9.12	8.34
Day 182								
Pre-treatment	1.77	0.00	0.00	0.00	26.83	0.00	0.00	0.00
4 hr	8.55	7.56	7.64	5.63	93.53	22.43	216.46	68.36

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**
8 hr	3.83	3.57	7.75	6.44	110.51	12.08	305.24	142.27
24 hr	11.81	13.37	9.54	14.56	29.03	13.29	7.57	9.44
Blood Chemistry								
Dosing Period								
GU (U/L)	13.76	12.93	13.48	12.59	12.29	11.81	16.26**	13.44
ALP (IU/L)	212.5	78.8	186.0	96.1	190.6	82.4	205.7	104.2*
TP (g/dL)	5.91	6.43	5.84	6.27	5.74	6.33	5.49**	6.17
PL (mg/dL)	114.1	166.0	113.8	158.0	99.1*	159.8	84.8**	140.9
T-CH (mg/dL)	77.9	92.9	74.1	87.4	61.0**	86.8	46.2**	70.1**
Glucose (mg/dL)	148.1	127.4	137.4	131.7	139.6	128.4	124.5**	126.6
Ca (mg/dL)	9.36	9.52	9.37	9.55	9.24	9.64	8.91**	9.48
K (mmol/L)	3.62	3.42	3.62	3.45	3.63	3.38	3.86**	3.46
Fe (μg/dL)	113.25	278.16	122.47	289.66	130.05	350.21*	118.62	359.24**
UIBC (μg/dL)	372.81	170.35	384.16	178.77	384.85	130.52	339.78	123.07
Albumin (g/dL)	2.71	3.67	2.73	3.54	2.68	3.59	2.52**	3.57
TSAT (%)	23.43	62.56	24.23	61.74	25.30	73.32	26.11	74.54*
Myelogram (%)								
Dosing Period								
M/E	1.501	1.539	1.574	1.496	1.543	1.574	1.109*	1.173**
Gross Pathology [b]								
End of the Dosing Period								
External Findings								
Swelling, Hindlimb, Right	–: 18	--	–: 18	--	–: 18	--	–: 17 P: 1	--
Organ Weights								
End of the Dosing Period								
Adrenal R&L (mg)	59.81	73.61	58.19	76.54	55.56	75.90	63.10	82.30
Relative to Control [a]	100%	100%	97.3%	104.0%	92.9%	103.1%	105.5%	111.8%
Adrenal R&L (mg/100 g B.W.)	9.09	20.40	8.77	21.46	8.61	21.37	9.92	23.41*
Relative to Control [a]	100%	100%	96.5%	105.2%	94.7%	104.8%	109.1%	114.8%
Spleen (mg)	940.7	607.8	940.2	644.5	941.0	607.4	1083.9	736.6**
Relative to Control [a]	100%	100%	99.9%	106.0%	100.0%	99.9%	115.2%	121.2%
Spleen (mg/100 g B.W.)	141.9	167.1	141.7	180.2	145.4	171.0	170.3**	207.4**
Relative to Control [a]	100%	100%	99.9%	107.8%	102.5%	102.3%	120.0%	124.1%

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**
Lung (mg)	1618.8	1227.5	1591.8	1211.7	1596.6	1222.3	1701.4	1296.2*
Relative to Control [a]	100%	100%	98.3%	98.7%	98.6%	99.6%	105.1%	105.6%
Lung (mg/100 g B.W.)	245.9	339.9	241.2	340.4	247.7	344.8	268.7*	367.9
Relative to Control [a]	100%	100%	98.1%	100.1%	100.7%	101.4%	109.3%	108.2%
Liver (g)	16.955	8.949	16.596	8.771	15.799	8.647	13.969**	8.321
Relative to Control [a]	100%	100%	97.9%	98.0%	93.2%	96.6%	82.4%	93.0%
Liver (g/100 g B.W.)	2.567	2.447	2.499	2.432	2.423	2.430	2.173**	2.347
Relative to Control [a]	100%	100%	97.4%	99.4%	94.4%	99.3%	84.7%	95.9%
Kidney R&L (mg)	3753.6	2215.3	3784.4	2220.1	3746.4	2285.9	4052.4	2378.3
Relative to Control [a]	100%	100%	100.8%	100.2%	99.8%	103.2%	108.0%	107.4%
Kidney R&L (mg/100 g B.W.)	569.7	611.8	575.4	617.9	578.7	643.6	637.7**	673.9*
Relative to Control [a]	100%	100%	101.0%	101.0%	101.6%	105.2%	111.9%	110.2%
Histopathology [c]								
End of the Dosing Period								
Bone Marrow (Femoral)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 18[d]	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 11 ±: 7	–: 14 ±: 4
Bone Marrow (Sternal)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 7 ±: 11	–: 13 ±: 5
Heart								
Organized thrombus, Valve	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 16 ±: 2	–: 18
Hindlimb (transverse, gross lesion)								
Edema, dermis/joint	NA	NA	NA	NA	NA	NA	±: 1	NA
Granulation tissue, dermis/joint	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+: 1	NA
Inflammatory cell infiltration, dermis/joint	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+: 1	NA
Kidney								
Inflammatory cell infiltration	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 17 ±: 1	–: 18
Mononuclear cell infiltration	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 17 ±: 1	–: 18
Regeneration, Renal tubule	–: 7 ±: 11	–: 16 ±: 2	–: 9 ±: 9	–: 17 ±: 1	–: 9 ±: 9	–: 14 ±: 4	–: 9 ±: 8 2+: 1	–: 16 ±: 1 +: 1

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**	**M: 18**	**F: 18**
Dilatation, Distal tubule	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 17 ±: 1	–: 17 ±: 1
Dilatation, Collecting duct	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 17 ±: 1
Fibrosis, Papilla	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 17 ±: 1
Liver (Left Lateral Lobe, Median Lobe)								
Atrophy, Hepatocyte, Centrilobular	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 10 ±: 8	–: 18
Congestion, Centrilobular	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 18	–: 10 ±: 8	–: 18
Spleen								
Increase, Extramedullary Hematopoiesis, Erythroid	–: 17 ±: 1	–: 18	–: 17 ±: 1	–: 17 ±: 1	–: 18	–: 18	–: 11 ±: 5 +: 2	–: 16 +: 2

M: Male, F: Female, –: No noteworthy findings, NA: Not applicable, NC: Not calculated, TP: Total Protein, B.W.: Body Weight, BLQ: Below the lower Limit of Quantification
Statistical significance: ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

[a] Percent change relative to the control mean value (100%).
[b] Criteria for Grading Macroscopic Findings: –: no abnormal finding, +: slight, 2+: moderate, 3+: marked, P: non-graded finding
[c] Criteria for Grading Microscopic Findings: –: no abnormal changes, ±: very slight, +: slight, 2+: moderate, 3+: marked
[d] Number of animals in which the finding was observed

2.6.7.7.E One-Month Oral Dose Toxicity Study: Dog

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.2-7
Report Title: One-Month Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Dogs		**Report/Study No. JTZ951-TX-006/[redacted]902**
Species / Breed: Dog / Beagle	Duration of Dosing: 0 to 3 mg/kg 4 Weeks, 10 mg/kg 12 Days[a], Once Daily	
Initial Age: 7 Months	Duration of Postdose: Not applicable	GLP Compliance: Yes
Initial Body Weight: 8.1 – 9.4 kg (M), 7.7 – 8.9 kg (F)		
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	Method of Administration: Oral (Gelatin Capsule / 1 mL/kg)	
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Not applicable		
No Observed Adverse Effect Level: 1 mg/kg/day (M and F)		

M: Male, F: Female

[a] Animals in the 10 mg/kg group were not administered the test article from Day 7 to Day 23.

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**1**		**3**		**10**	
Gender: Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Toxicokinetics: JTZ-951								
t_{max} (hr)								
Day 1	NA	NA	0.7	0.7	0.5	0.7	1.2	0.7
Day 6	NA	NA	0.8	0.7	1.5	0.8	1.2	1.0
Day 24	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.0	0.8
Day 28	NA	NA	0.7	0.7	1.0	1.2	1.0	0.8
C_{max} (μg/mL)								
Day 1	NA	NA	1.095	1.219	4.349	4.351	16.741	19.441
Day 6	NA	NA	0.978	1.526	3.831	4.563	17.565	20.481
Day 24	NA	NA	NA	NA	NA	NA	17.048	17.202
Day 28	NA	NA	1.104	1.289	4.279	4.897	17.096	20.650
$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	3.644	3.543	13.543	12.249	50.619	54.848
Day 6	NA	NA	3.859	4.414	14.270	16.949	126.699	120.539
Day 24	NA	NA	NA	NA	NA	NA	42.520	49.597
Day 28	NA	NA	3.720	3.971	16.666	21.084	80.066	89.512
C_{24} (μg/mL)								
Day 1	ND	ND	NA	0.026	0.045	0.029	0.256	0.146
Day 6	ND	ND	0.003	NA	0.075	0.120	2.959	2.274
Day 24	ND	ND	NA	NA	NA	NA	0.089	0.125
Day 28	ND	ND	0.007	0.008	0.105	0.257	1.797	1.868

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		10	
Gender: Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Noteworthy Findings								
Death or Moribund Sacrifice	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations [a]								
No feces or Decrease in the Amount of Feces	0	0	0	0	0	1	3	2
Blackish Stools	0	0	0	0	0	0	2	0
Dehydration Sign	0	0	0	0	0	0	2	0
Decrease in the Locomotor Activities	0	0	0	0	0	0	1	0
Emaciation	0	0	0	0	0	0	3	2
Cheyne-Stokes' Respiration	0	0	0	0	0	0	1	0
Hypothermia of Body Surface (by thermo-palpation)	0	0	0	0	0	0	3	3
Body Weights (kg)								
Day –1	8.53	8.07	8.73	7.93	8.67	8.40	8.90	8.57
Day 7	8.87	8.20	9.03	8.13	8.57	8.30	7.60	7.53
Day 14	9.13	8.43	9.20	8.23	8.73	8.27	7.53	8.07
Day 21	9.37	8.60	9.27	8.53	8.83	8.37	8.20	8.53
Day 24	9.50	8.67	9.37	8.53	8.90	8.33	8.37	8.67
Day 28	9.47	8.80	9.47	8.70	8.93	8.50	8.10	8.47
Body Weight Gain (kg)								
Days –1-28	0.93	0.74	0.72	0.77	0.27	0.10	-0.81	-0.10
Food Consumption (g/day)								
Day –1	231.77	202.50	250.10	217.83	250.03	234.97	235.33	235.20
Day 1	242.37	234.13	250.13	203.07	221.30	233.00	211.17	166.37
Day 7	250.10	213.07	250.17	216.37	215.73	171.77	38.37	72.03
Day 14	250.17	237.47	250.13	213.30	226.57	188.70	155.40	218.07
Day 21	250.07	250.20	250.10	237.90	234.17	215.60	250.13	250.10
Day 24	233.47	250.10	250.27	250.07	219.90	221.10	241.50	250.13
Day 28	230.20	250.10	250.03	202.07	227.67	184.53	59.70	76.27
Water Intake (mL/day)								
Days –7-(–6)	627.17	651.80	767.73	603.00	705.17	594.13	655.17	598.00
Days 9-10	646.27	618.27	688.27	517.27	586.27	563.73	314.93	318.47
Days 23-24	621.37	643.93	725.10	655.63	683.70	485.40	615.27	591.77
Days 27-28	NA	NA	NA	NA	NA	NA	306.17	260.87

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		10	
Gender: Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Urinalysis								
Urine Volume (mL)								
Day –7	228.33	336.67	341.67	315.00	300.00	248.33	260.00	270.00
Day 9	196.67	318.33	298.33	325.00	266.67	265.00	115.00	90.00
Day 23	243.33	332.33	323.33	379.33	336.67	291.67	218.67	229.00
Day 27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	214.33	224.67
Na/day (mmol/day)								
Day –7	23.027	25.563	25.303	22.053	22.337	24.487	24.280	25.693
Day 9	16.740	24.740	27.047	27.263	24.497	19.950	8.217	7.750
Day 23	23.877	26.460	27.353	29.123	22.907	24.170	20.890	22.717
Day 27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	34.623	31.840
K/day (mmol/day)								
Day –7	28.517	32.283	31.890	24.607	30.763	32.447	29.710	34.153
Day 9	29.463	33.683	35.793	27.930	30.083	29.317	16.637	11.793
Day 23	31.607	34.460	31.603	29.483	28.433	27.470	27.563	31.817
Day 27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	24.853	29.147
Cl/day (mmol/day)								
Day –7	25.860	29.207	27.367	23.133	27.083	27.923	26.013	28.863
Day 9	26.323	31.000	29.347	27.800	29.143	24.480	13.343	10.050
Day 23	28.867	29.463	27.940	28.977	24.467	24.793	24.600	27.770
Day 27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	29.943	32.163
Ca/day (mg/day)								
Day –7	5.933	20.763	10.020	11.337	10.387	11.630	12.400	12.800
Day 9	9.117	16.337	17.303	14.697	20.153	19.430	21.057	13.043
Day 23	9.850	16.210	11.263	13.870	13.087	13.157	11.533	4.507
Day 27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	6.547	5.513
IP/day (mg/day)								
Day –7	198.427	261.100	286.750	261.560	254.920	242.617	206.377	234.723
Day 9	238.873	269.450	331.843	302.250	301.070	321.220	297.483	174.053
Day 23	239.970	260.050	278.610	290.317	275.177	287.580	175.567	170.493
Day 27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	254.390	240.337
CRN (mg/day)								
Day –7	205.68	220.16	220.41	203.81	221.42	221.09	218.78	232.23
Day 9	227.37	223.88	239.09	227.81	216.33	232.50	184.99	187.16

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		10	
Gender: Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Day 23	247.50	242.39	226.74	240.23	212.39	222.04	199.10	217.35
Day 27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	235.20	258.20
Bil								
Day –7	–: 2 1+: 1	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 1+: 1	–: 3	–: 3	–: 3
Day 9	–: 1 1+: 2	–: 3	–: 2 1+: 1	–: 2 1+: 1	–: 2 1+: 1	–: 2 1+: 1	–: 0 1+: 2 2+: 1	NA
Day 23	–: 3	–: 3	–: 2 1+: 1	–: 3	–: 2 2+: 1	–: 3	–: 1 1+: 1 2+: 1	–: 3
Day 27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 2 2+: 1	–: 1 1+: 2
Occult Blood								
Day –7	–: 3	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 2 3+: 1
Day 9	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 1 1+: 1 3+: 1	NA
Day 23	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 2+: 1	–: 2 ±: 1
Day 27	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 2 1+: 1	–: 2 2+: 1
Hematology								
WBC (10^2/mm^3)								
Day –2	85.3	125.3	88.3	103.7	95.3	98.7	91.7	108.0
Day 7	83.3	107.7	105.0	103.0	105.3	123.0	107.3	126.3
Day 14	86.7	108.0	97.0	97.3	103.0	103.0	83.3	97.0
Day 21	78.0	101.3	93.7	105.3	132.3	111.7	86.3	99.3
Day 28	98.7	114.0	100.3	101.0	99.3	109.0	256.0	203.0
RBC (10^4/mm^3)								
Day –2	688.0	727.0	659.0	700.3	655.7	698.0	663.0	685.0
Day 7	629.7	667.3	637.7	684.3	712.3	698.0	833.7	765.0
Day 14	652.3	677.7	687.3	736.0	785.3	819.3	864.3	768.0
Day 21	662.5	666.3	723.0	759.7	853.0	872.0	805.7	727.7
Day 28	690.3	705.0	747.7	789.3	946.0	952.7	867.0	786.7

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		10	
Gender: Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Hb (g/dL)								
Day –2	14.30	15.47	13.67	14.73	13.57	15.03	13.80	14.73
Day 7	13.60	14.80	13.77	14.97	15.23	15.53	17.60	16.63
Day 14	14.10	14.97	14.80	15.90	16.07	17.23	17.47	15.90
Day 21	14.85	14.60	15.43	16.20	16.80	17.50	15.97	14.97
Day 28	15.00	15.53	15.90	16.80	17.70	18.30	17.03	16.13
Ht (%)								
Day –2	43.90	46.57	42.27	45.33	42.93	46.37	42.37	44.93
Day 7	43.37	46.07	44.13	47.67	49.60	50.53	57.53	53.40
Day 14	43.00	44.90	45.73	49.83	51.40	55.63	56.13	50.97
Day 21	44.80	44.27	48.03	50.87	54.27	57.60	51.30	47.33
Day 28	45.60	46.27	48.80	52.03	57.80	59.93	53.83	50.33
MCV (fL)								
Day –2	63.93	64.07	64.20	64.73	65.50	66.47	63.93	65.63
Day 7	69.00	69.07	69.20	69.67	69.60	72.50	69.00	69.87
Day 14	66.00	66.27	66.37	67.70	65.47	67.97	64.97	66.47
Day 21	67.60	66.43	66.27	66.93	63.63	66.03	63.73	65.10
Day 28	66.13	65.63	65.17	65.93	61.10	62.97	62.17	64.03
MCH (pg)								
Day –2	20.87	21.27	20.73	21.00	20.77	21.53	20.83	21.50
Day 7	21.67	22.17	21.57	21.90	21.37	22.30	21.10	21.80
Day 14	21.67	22.03	21.53	21.63	20.50	21.07	20.23	20.73
Day 21	22.45	21.93	21.33	21.30	19.70	20.00	19.83	20.57
Day 28	21.73	22.03	21.27	21.33	18.70	19.20	19.70	20.50
MCHC (g/dL)								
Day –2	32.67	33.13	32.33	32.47	31.70	32.40	32.57	32.80
Day 7	31.37	32.10	31.13	31.47	30.70	30.77	30.53	31.17
Day 14	32.83	33.27	32.47	31.97	31.37	31.03	31.17	31.17
Day 21	33.15	32.97	32.13	31.87	30.97	30.33	31.10	31.63
Day 28	32.90	33.57	32.63	32.37	30.60	30.50	31.67	32.03
PLT ($10^4/mm^3$)								
Day –2	34.63	39.20	43.90	29.87	34.73	43.63	45.27	35.80
Day 7	33.47	35.20	44.93	30.97	34.77	45.87	43.43	44.47
Day 14	35.07	37.57	55.30	32.73	47.50	58.27	64.40	85.90
Day 21	35.30	36.63	44.17	34.03	40.30	58.97	51.27	49.87
Day 28	35.73	36.93	48.67	31.40	41.13	62.90	32.40	34.13

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		10	
Gender: Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Neutrophils (10^2/mm^3)								
Day –2	45.23	72.77	52.83	54.43	58.53	52.40	49.83	65.97
Day 7	46.53	59.83	68.73	56.53	70.23	81.33	75.43	91.97
Day 14	46.13	60.27	61.30	49.23	66.33	60.13	42.80	55.93
Day 21	44.50	54.93	57.67	55.90	90.70	68.50	43.77	54.63
Day 28	56.63	62.90	65.43	51.57	59.80	64.83	187.67	148.73
Lymphocytes (10^2/mm^3)								
Day –2	30.73	40.93	26.80	37.67	28.10	35.70	32.77	31.97
Day 7	28.23	39.87	27.90	38.13	27.20	32.47	24.57	25.77
Day 14	30.23	38.97	27.63	39.93	29.53	34.53	32.43	32.00
Day 21	26.35	38.90	26.40	39.50	30.83	33.97	33.20	32.03
Day 28	31.97	42.23	25.60	40.80	30.60	35.70	51.63	42.63
Basophils (10^2/mm^3)								
Day –2	0.60	1.07	0.73	0.90	0.53	0.83	0.63	1.07
Day 7	0.47	0.73	0.77	0.77	0.70	0.97	1.00	1.37
Day 14	0.50	1.00	0.83	0.90	0.93	1.40	1.20	1.20
Day 21	0.50	0.77	1.00	0.93	0.93	1.37	1.00	1.20
Day 28	0.80	0.93	0.97	1.13	1.10	1.67	2.73	1.80
Monocytes (10^2/mm^3)								
Day –2	4.43	6.73	4.73	5.57	4.87	4.97	4.93	4.93
Day 7	4.00	4.63	5.63	4.90	4.60	5.60	4.87	5.47
Day 14	4.40	5.17	4.33	4.27	3.90	5.20	4.97	5.60
Day 21	4.05	4.37	3.80	4.77	6.50	5.50	5.10	4.87
Day 28	4.87	4.83	4.73	4.53	3.90	4.77	9.33	7.20
Ret (10^4/mm^3)								
Day –2	3.157	4.413	3.743	4.033	4.780	2.933	3.503	3.527
Day 7	5.333	4.213	15.053	11.417	24.677	23.397	26.283	19.660
Day 14	4.017	4.567	7.763	10.167	14.033	11.443	17.147	12.063
Day 21	5.745	4.370	5.687	6.840	11.997	13.550	3.993	2.397
Day 28	5.687	4.930	5.680	7.097	12.150	13.293	15.310	11.237
Blood Cell Morphology[a]								
RBC								
Rouleaux Formation								
Day –2	0	0	0	0	0	0	0	0
Day 7	0	0	0	0	0	0	3	3
Day 14	0	0	0	0	0	0	1	0

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		10	
Gender: Number of Animals	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3
Day 21	0	0	0	0	0	0	0	0
Day 28	0	0	0	0	0	0	1	0
Erythroblast								
Day –2	0	0	0	0	0	0	0	0
Day 7	0	0	0	0	0	0	0	0
Day 14	0	0	1	0	1	0	0	0
Day 21	0	0	0	0	0	0	0	0
Day 28	0	0	0	0	0	0	3	3
Blood Chemistry								
ALT (U/L)								
Day –2	27.7	26.0	27.0	23.7	29.3	37.3	27.0	26.3
Day 7	29.3	30.0	26.7	26.7	42.0	33.7	48.7	55.7
Day 14	29.7	27.7	28.3	25.3	42.0	42.0	55.0	64.3
Day 21	33.3	26.3	30.7	24.3	36.7	44.7	44.0	38.0
Day 28	33.0	29.3	28.0	28.0	37.7	41.0	57.7	46.7
Glucose (mg/dL)								
Day –2	107.3	101.7	103.0	102.0	106.3	99.7	108.3	96.3
Day 7	104.0	106.3	104.3	99.3	102.7	96.0	80.3	77.0
Day 14	104.0	107.7	104.3	105.0	101.0	93.7	88.0	91.0
Day 21	100.7	105.0	101.7	99.3	95.0	86.3	97.7	91.3
Day 28	102.7	102.7	100.3	101.0	93.7	92.3	84.7	77.7
T-CH (mg/dL)								
Day –2	175.3	142.7	182.0	149.7	179.3	197.3	160.7	167.3
Day 7	156.3	131.7	167.3	138.7	177.0	199.7	204.7	193.7
Day 14	161.3	133.7	161.0	132.3	162.0	175.7	175.3	162.7
Day 21	157.7	132.0	169.0	132.7	156.7	169.7	151.3	146.0
Day 28	149.7	123.0	163.0	133.7	146.3	158.7	158.0	160.7
TGL (mg/dL)								
Day –2	45.7	36.0	39.0	40.3	28.7	57.3	46.0	46.7
Day 7	37.7	39.7	41.0	34.0	38.3	48.0	51.7	45.7
Day 14	42.3	41.7	46.0	36.7	44.0	54.0	63.0	56.7
Day 21	41.3	44.0	45.0	42.0	45.0	59.0	56.7	55.3
Day 28	35.7	34.7	40.7	46.3	41.3	49.0	52.0	49.0
Phospholipid (mg/dL)								
Day –2	338.7	292.0	346.0	307.0	330.7	369.7	312.3	316.3
Day 7	307.0	278.7	332.7	299.7	339.3	382.7	399.3	379.0

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		10	
Gender: Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Day 14	314.3	277.0	315.3	280.7	319.7	349.3	339.3	317.3
Day 21	303.3	272.3	336.3	280.7	299.3	346.0	303.0	280.7
Day 28	296.3	254.0	328.7	286.3	287.0	335.7	337.7	334.0
BUN (mg/dL)								
Day –2	7.40	8.27	7.57	6.37	8.27	10.73	7.57	10.10
Day 7	8.77	9.87	9.40	7.00	9.47	10.20	14.00	13.20
Day 14	9.27	10.60	9.47	7.40	10.17	10.23	11.70	10.10
Day 21	9.63	11.90	9.40	7.50	9.97	10.27	8.63	10.23
Day 28	10.47	12.63	9.43	8.93	10.67	10.40	8.40	12.57
T-Bil (mg/dL)								
Day –2	0.050	0.050	0.057	0.047	0.043	0.047	0.047	0.060
Day 7	0.053	0.047	0.047	0.057	0.047	0.053	0.070	0.083
Day 14	0.060	0.047	0.053	0.053	0.050	0.053	0.070	0.060
Day 21	0.053	0.043	0.063	0.053	0.053	0.057	0.060	0.067
Day 28	0.050	0.037	0.043	0.037	0.047	0.053	0.050	0.060
TP (g/dL)								
Day –2	5.50	5.57	5.73	5.67	5.47	5.67	5.57	5.90
Day 7	5.33	5.37	5.57	5.57	5.70	5.87	6.97	6.73
Day 14	5.53	5.47	5.53	5.50	5.63	5.80	6.10	5.73
Day 21	5.43	5.30	5.60	5.30	5.43	5.77	5.27	5.37
Day 28	5.17	5.33	5.57	5.27	5.40	5.60	6.07	6.13
ALB (g/dL)								
Day –2	2.93	2.97	2.93	3.10	2.83	3.03	2.90	3.07
Day 7	2.90	2.90	2.80	3.10	2.87	3.03	3.23	3.27
Day 14	2.93	2.90	2.77	2.97	2.83	3.00	2.77	2.90
Day 21	2.93	2.83	2.80	2.93	2.73	2.93	2.60	2.77
Day 28	2.90	2.73	2.77	2.93	2.67	2.87	2.87	2.87
Lactic Acid (mg/dL)								
Day –2	9.7	7.7	9.3	9.0	8.7	13.0	9.0	10.7
Day 7	13.0	12.3	12.0	10.3	13.3	11.7	18.3	16.7
Day 14	13.3	13.3	14.0	12.3	13.3	19.0	19.7	22.7
Day 21	12.7	12.0	13.3	12.0	14.7	17.7	14.3	15.7
Day 28	13.0	11.0	10.7	13.0	12.7	14.7	13.3	16.3
IP (mg/dL)								
Day –2	6.37	5.70	5.90	5.70	6.57	6.03	6.07	6.10
Day 7	6.13	5.47	5.77	5.50	6.57	5.70	5.10	4.90

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		10	
Gender: Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Day 14	5.87	5.27	5.47	5.43	6.10	5.50	5.63	5.97
Day 21	5.60	5.07	5.23	5.40	6.17	5.47	5.83	5.87
Day 28	5.57	5.03	5.27	4.77	6.00	5.23	5.30	5.33
Cl (mmol/L)								
Day –2	109.7	110.3	109.7	109.3	109.3	110.3	110.3	109.3
Day 7	109.3	109.0	110.0	110.7	110.3	110.7	112.7	113.7
Day 14	109.3	109.3	110.0	111.0	111.0	111.3	113.0	111.0
Day 21	108.7	109.0	110.0	109.7	109.3	111.0	111.0	109.3
Day 28	109.0	110.3	110.0	110.3	110.7	111.3	112.3	110.7
A/G								
Day –2	1.13	1.17	1.07	1.23	1.07	1.17	1.07	1.10
Day 7	1.20	1.20	1.00	1.27	1.00	1.07	0.83	0.93
Day 14	1.13	1.17	1.03	1.20	1.00	1.10	0.83	1.00
Day 21	1.20	1.17	0.97	1.27	1.03	1.03	1.00	1.07
Day 28	1.30	1.07	0.97	1.27	0.97	1.10	0.90	0.90
Fe (μg/dL)								
Day –2	107.0	91.0	121.7	93.7	114.0	130.7	98.3	102.0
Day 7	109.7	112.0	107.3	84.0	43.0	34.0	42.7	29.0
Day 14	135.0	128.7	83.3	95.3	37.7	30.0	69.3	66.3
Day 21	103.7	137.3	100.0	209.7	75.3	29.3	182.0	192.7
Day 28	153.7	143.0	107.3	143.0	61.0	31.3	41.0	42.3
TIBC (μg/dL)								
Day –2	432.0	409.7	388.7	433.7	436.7	418.7	420.7	365.0
Day 7	436.3	412.0	388.7	456.0	481.0	445.0	510.0	418.0
Day 14	463.3	437.3	432.0	482.0	522.0	499.7	498.0	418.3
Day 21	437.0	411.0	416.0	457.7	504.0	499.0	432.0	380.0
Day 28	426.0	408.7	411.3	467.0	520.3	510.7	507.7	431.0
UIBC (μg/dL)								
Day –2	325.0	318.7	267.0	340.0	322.7	288.0	322.3	263.0
Day 7	326.7	300.0	281.3	372.0	438.0	411.0	467.3	389.0
Day 14	328.3	308.7	348.7	386.7	484.3	469.7	428.7	352.0
Day 21	333.3	273.7	316.0	248.0	428.7	469.7	250.0	187.3
Day 28	272.3	265.7	304.0	324.0	459.3	479.3	466.7	388.7
TSAT (%)								
Day –2	24.77	22.30	31.50	21.33	25.93	31.43	23.60	28.20
Day 7	25.03	27.17	28.40	18.40	8.63	7.60	8.30	7.07

Dose Level: (mg/kg/day)		0 (Control)		1		3		10	
Gender: Number of Animals		**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Day 14		29.20	29.53	19.53	20.73	7.07	6.07	14.20	16.27
Day 21		23.77	33.43	25.53	45.70	14.43	5.93	42.30	50.87
Day 28		35.80	34.97	27.03	30.90	11.33	6.13	8.07	9.80
Gross Pathology [b]									
Bone Marrow (Femur)									
Increase, Amount Tissue		–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 1 +: 2	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1
Discoloration, Dark Reddish		–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 1 P: 2	–: 3	–: 2 P: 1	–: 1 P: 2
Spleen									
Focus/Striation, Whitish		–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1
Lung									
Focus/Striation, Yellowish		–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1	–: 3
Thrombus		–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1	–: 2 +: 1
Focus/Striation, Reddish/Dark Reddish		–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1	–: 2 +: 1
Heart									
Focus/Striation, Reddish/Dark Reddish, Valve		–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1
Focus/Striation, Reddish/Dark Reddish, Interventricular Septum		–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1
Thymus									
Small		–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 1 +: 2	–: 2 +: 1	–: 3	–: 3
Organ Weight									
Spleen	g	27.757	23.700	20.583	25.150	26.603	27.427	32.273	31.570
	g / kg BW	2.9240	2.6810	2.2100	2.8887	2.9850	3.2883	4.1923	3.9517
	g / g Brain	0.3633	0.3083	0.2520	0.3627	0.3453	0.3707	0.4280	0.4187
Thymus	g	6.763	7.240	5.370	8.247	2.600	3.920	5.313	4.797
	g / kg BW	0.7130	0.8177	0.5637	0.9483	0.2937	0.4630	0.6860	0.5933
	g / g Brain	0.0873	0.0947	0.0667	0.1187	0.0337	0.0527	0.0707	0.0630

Dose Level: (mg/kg/day)		0 (Control)		1		3		10	
Gender: Number of Animals		**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Heart	g	80.67	72.53	75.53	71.57	75.77	67.87	69.00	61.87
	g / kg BW	8.4960	8.2087	8.0140	8.2287	8.4813	8.0653	9.0633	7.7303
	g / g Brain	1.0513	0.9423	0.9353	1.0293	0.9837	0.9223	0.9277	0.8200
Lung	g	76.10	70.67	75.47	70.63	76.70	68.37	81.07	75.63
	g / kg BW	8.0133	7.9873	7.9983	8.1183	8.5907	8.1590	10.6610	9.4470
	g / g Brain	0.9927	0.9187	0.9310	1.0170	0.9957	0.9283	1.0883	0.9967
Bone Marrow Morphology									
M/E Ratio		1.213	0.763	0.730	0.597	0.520	0.297	0.253	0.383
Histopathology [c]									
Eyeball									
Atrophy, Retina		–: 2 ±: 1	–: 1 ±: 2	–: 1 ±: 2	–: 1 ±: 2	–: 2 ±: 1	–: 2 ±: 1	–: 0 ±: 1 2+: 2	–: 1 ±: 2
Proliferation, Endothelial Cell/Fibroblast, Choroid		–: 2 ±: 1	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 1 ±: 1 +: 1	–: 2 ±: 1	–: 2 ±: 1	–: 1 +: 1 2+: 1	–: 2 ±: 1
Liver									
Dilatation, Sinusoid, Centrilobular		–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 0 ±: 3	–: 1 ±: 1 +: 1	–: 0 +: 2 2+: 1	–: 1 +: 2
Atrophy, Hepatocyte, Centrilobular		–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 0 ±: 3	–: 1 ±: 1 +: 1	–: 0 +: 2 2+: 1	–: 1 +: 2
Infiltration, Inflammatory Cell, Centrilobular		–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 0 ±: 2 +: 1	–: 1 ±: 2
Clear Cell Change, Hepatocyte		–: 0 2+: 3	–: 0 2+: 3	–: 0 2+: 3	–: 0 2+: 3	–: 0 2+: 3	–: 0 +: 3	–: 0 ±: 1 +: 2	–: 1 ±: 1 +: 1
Extramedullary Hematopoiesis		–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 3	–: 3	–: 0 ±: 3	–: 3

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		10	
Gender: Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Gallbladder								
Fatty Change, Epithelium	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 0 +: 2 2+: 1	–: 0 ±: 1 +: 1 2+: 1	–: 0 +: 1 2+: 2	–: 0 2+: 3	–: 0 +: 1 2+: 2	–: 0 +: 1 2+: 2
Kidney								
Fatty Change, Epithelium, Proximal Tubule	–: 2 ±: 1	–: 1 ±: 2	–: 2 ±: 1	–: 2 ±: 1	–: 0 ±: 1 +: 2	–: 0 ±: 1 +: 2	–: 1 2+: 2	–: 0 2+: 3
Cytoplasmic Granule, PAS-Positive, Epithelium, Tubule	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 1 ±: 2	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 1 ±: 2	–: 0 2+: 3	–: 0 2+: 3
Spleen								
Extramedullary Hematopoiesis, Erythroid	–: 2 ±: 1	–: 2 ±: 1	–: 1 ±: 2	–: 0 ±: 3	–: 0 ±: 1 +: 2	–: 0 +: 3	–: 0 2+: 2 3+: 1	–: 0 2+: 2 3+: 1
Fibrosis, Capsule	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 1 +: 1 2+: 1
Edema, Capsule	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1
Deposit, Fibrin, Lymphoid Follicle	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 2 +: 1
Hemorrhage, Focal	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1
Bone Marrow (Femur)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1	–: 0 ±: 2 +: 1	–: 0 +: 1 2+: 1 3+: 1	–: 0 2+: 3	–: 0 +: 1 2+: 2	–: 0 +: 1 2+: 2
Decrease, Adipose Tissue	–: 3	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 3	–: 0 +: 1 2+: 2	–: 0 +: 2 2+: 1	–: 0 ±: 1 +: 2	–: 0 ±: 1 +: 2

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		10	
Gender: Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Bone Marrow (Sternum)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 2 ±: 1	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 1 ±: 2	–: 0 +: 2 2+: 1	–: 0 ±: 1 +: 2	–: 1 +: 1 2+: 1	–: 0 ±: 1 +: 2
Lung								
Thrombus, Artery	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1	–: 3	–: 2 2+: 1	–: 2 2+: 1
Hemorrhage	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1	–: 2 +: 1
Heart								
Hemorrhage, Myocardium	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1
Hemorrhage, Valve	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1
Thymus								
Decrease, Number, Lymphoid cell, Cortex	–: 2 ±: 1	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 3	–: 1 +: 1 2+: 1	–: 0 +: 3	–: 1 ±: 1 +: 1	–: 2 +: 1
Hemorrhage, Focal	–: 2 ±: 1	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 +: 1	–: 3
Cecum								
Hemorrhage	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 3	–: 2 ±: 1	–: 3

M: Male, F: Female, NA: Not applicable, ND: Not detected, NC: Not calculated

[a] The total number of animals in which the finding was observed.

[b] Criteria for Grading Macroscopic Findings: –: No abnormal changes, +: Slight, P: Non-graded change

[c] Criteria for Grading Microscopic Findings: –: No abnormal changes, ±: Very slight, +: Slight, 2+: Moderate, 3+: Severe

2.6.7.7.F Three-Month Oral Dose Toxicity Study: Dog

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.2-11
Report Title: Three-Month Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Dogs with a twelve-week recovery period		**Report/Study No. JTZ951-TX-031/[redacted]-041**
Species / Breed: Dog / Beagle	Duration of Dosing: 13 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 6 or 7 Months	Duration of Postdose: 12 Weeks	GLP Compliance: Yes
Initial Body Weight: 7.7 – 10.3 kg (M), 7.0 – 9.1 kg (F)		
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted] (M), [redacted], 20[redacted] (F)	Method of Administration: Oral (Gelatin capsule / 1 mL/kg)	
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Not applicable		
No Observed Adverse Effect Level: 1 mg/kg/day (M and F)		

M: Male, F: Female

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.3**		**1**		**3**	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Toxicokinetics: JTZ-951								
t_{max} (hr)								
Day 1	NA	NA	1.1	0.9	0.8	0.9	0.7	1.0
Day 28	NA	NA	1.1	0.6	0.7	0.7	1.0	0.7
Day 91	NA	NA	0.6	0.5	0.6	0.7	0.8	0.8
C_{max} (μg/mL)								
Day 1	NA	NA	0.292	0.254	0.746	0.988	3.015	2.535
Day 28	NA	NA	0.273	0.268	0.873	0.926	3.795	0.803
Day 91	NA	NA	0.286	0.286	1.069	1.094	4.219	3.238
$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	0.841	0.627	1.881	2.826	8.595	6.897
Day 28	NA	NA	0.717	0.555	2.217	2.269	11.862	3.164
Day 91	NA	NA	0.664	0.574	2.049	2.523	13.890	10.816
C_{24} (μg/mL)								
Day 1	ND	ND	NC	NC	NC	0.002	NC	0.011
Day 28	ND	ND	NC	NC	NC	NC	0.027	0.038
Day 91	ND	ND	NC	NC	NC	NC	0.033	0.070

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.3**		**1**		**3**	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Noteworthy Findings								
Death or Moribund Sacrifice	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	--	--	--	--	--	--	--	--
Body Weight (kg)								
Pre (Day -1)	9.02	7.95	9.53	7.75	9.47	7.88	9.53	7.93
Relative to Control [a]	100%	100%	105.7%	97.5%	105.0%	99.1%	105.7%	99.7%
Week 4	9.50	8.12	9.78	7.98	9.72	7.85	9.28	7.45
Relative to Control [a]	100%	100%	102.9%	98.3%	102.3%	96.7%	97.7%	91.7%
Week 8	9.83	8.45	10.10	8.40	10.02	8.18	9.35	7.77
Relative to Control [a]	100%	100%	102.7%	99.4%	101.9%	96.8%	95.1%	92.0%
Week 13	10.17	8.70	10.28	8.45	10.40	8.13	9.20	7.70
Relative to Control [a]	100%	100%	101.1%	97.1%	102.3%	93.4%	90.5%	88.5%
Recovery Week 4	10.35	8.70	NA	NA	10.35	8.45	9.95	7.70
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	100.0%	97.1%	96.1%	88.5%
Recovery Week 12	10.30	9.30	NA	NA	10.60	8.85	10.50	8.55
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	102.9%	95.2%	101.9%	91.9%
Food Consumption (g/day)								
Pre (-1 Week)	296.90	250.48	288.58	255.70	294.77	250.48	296.90	267.85
Relative to Control [a]	100%	100%	97.2%	102.1%	99.3%	100.0%	100.0%	106.9%
Week 5	298.57	261.42	298.23	285.00	296.67	258.57	277.87	246.18
Relative to Control [a]	100%	100%	99.9%	109.0%	99.4%	98.9%	93.1%	94.2%
Week 8	300.00	281.43	292.85	295.73	295.48	278.10	275.48	250.47
Relative to Control [a]	100%	100%	97.6%	105.1%	98.5%	98.8%	91.8%	89.0%
Week 13	298.82	226.90	291.08	246.78	296.18	221.18	245.00	191.88
Relative to Control [a]	100%	100%	97.4%	108.8%	99.1%	97.5%	82.0%	84.6%
Recovery Week 4	300.00	260.70	NA	NA	300.00	245.75	300.00	271.45
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	100%	94.3%	100%	104.1%
Recovery Week 12	300.00	190.00	NA	NA	300.00	242.50	300.00	252.50
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	100%	127.6%	100%	132.9%
Water Consumption (mL/day)								
Pre (-2 Week)	690.0	501.7	587.5	480.0	745.0	501.7	656.7	516.7
Relative to Control [a]	100%	100%	85.1%	95.7%	108.0%	100.0%	95.2%	103.0%
Week 13	743.3	440.0	757.5	435.0	711.7	418.3	675.0	451.7
Relative to Control [a]	100%	100%	101.9%	98.9%	95.7%	95.1%	90.8%	102.7%

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Recovery Week 4	670.0	635.0	NA	NA	720.0	555.0	790.0	670.0
Relative to Control [a]	100%	100%	NA	NA	107.5%	87.4%	117.9%	105.5%
Ophthalmoscopy	--	--	--	--	--	--	--	--
Optical Coherence Tomography	--	--	--	--	--	--	--	--
Electrocardiography	--	--	--	--	--	--	--	--
Urinalysis								
Bilirubin								
Pre-treatment	–: 4 +: 1 3+: 1	–: 5 +: 1	–: 2 +: 2	–: 3 +: 1	–: 5 +: 1	–: 6	–: 5 +: 1	–: 5 +: 1
Week 13	–: 2 +: 4	–: 6	–: 2 +: 2	–: 4	–: 2 +: 4	–: 4 +: 2	–: 0 +: 4 2+: 2	–: 5 +: 1
Recovery Week 4	–: 1 +: 1	–: 2	NA	NA	–: 0 +: 2	–:2	–: 1 +: 1	–: 2
Occult Blood								
Pre-treatment	–: 2 ±: 2 3+: 2	–: 6	–: 4	–: 4	–: 6	–: 6	–: 6	–: 5 ±: 1
Week 13	–: 6	–: 4 2+: 1 3+: 1	–: 4	–: 3 2+: 1	–: 6	–: 5 2+: 1	–: 5 ±: 1	–: 3 3+: 3
Recovery Week 4	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 1 3+: 1	–: 1 +: 1
Urine Volume (mL)								
Pre-treatment	224.7	173.5	266.5	209.5	353.7	226.2	252.2	292.2
Week 13	196.7	164.3	181.5	196.8	210.2	142.2	193.8	172.5
Recovery Week 4	212.0	216.0	NA	NA	224.5	159.5	170.0	199.0
Na (mmol/day)								
Pre-treatment	17.805	19.830	15.020	22.873	28.653	22.482	20.305	21.670
Week 13	24.008	18.373	20.713	26.595	22.225	20.928	19.748	17.148
Recovery Week 4	29.955	21.460	NA	NA	39.845	20.415	21.405	15.120
K (mmol/day)								
Pre-treatment	63.472	48.987	56.540	58.938	60.382	49.752	57.387	54.423

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Week 13	62.033	54.940	57.193	65.168	64.218	50.865	50.093	45.292
Recovery Week 4	64.690	64.735	NA	NA	81.280	58.455	52.145	61.725
Cl (mmol/day)								
Pre-treatment	33.073	31.708	33.040	35.668	35.200	30.102	31.972	32.752
Week 13	33.875	30.283	28.878	37.328	37.047	28.975	30.078	25.085
Recovery Week 4	35.800	33.820	NA	NA	38.725	27.735	25.000	32.835
Urinary Sediments								
RBC								
Pre-treatment	–: 6	–: 6	–: 4	–: 4	–: 6	–: 6	–: 6	–: 6
Week 13	–: 6	–: 4 +: 1 3+: 1	–: 4	–: 3 +: 1	–: 6	–: 5 3+: 1	–: 6	–: 3 2+: 2 3+: 1
Recovery Week 4	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 2	–: 1 +: 1
Epithelial Cell								
Pre-treatment	–: 5 +: 1	–: 5 +: 1	–: 0 +: 4	–: 3 +: 1	–: 5 +: 1	–: 4 +: 2	–: 4 +: 2	–: 3 +: 3
Week 13	–: 4 +: 2	–: 1 +: 4 2+: 1	–: 2 +: 2	–: 2 +: 2	–: 4 +: 2	–: 2 +: 3 2+: 1	–: 3 +: 2 2+:1	–: 4 +: 2
Recovery Week 4	–: 0 +: 2	–: 0 +: 2	NA	NA	–: 1 +: 1	–: 0 +: 2	–: 0 +: 2	–: 1 +: 1
Hematology								
WBC (10^3/μL)								
Pre-treatment	10.902	11.833	10.320	15.188	11.258	11.827	10.727	10.108
Week 4	10.397	10.973	12.443	15.358	10.865	10.935	10.205	11.830
Week 8	10.345	12.460	11.120	14.415	11.732	12.375	10.738	11.813
Week 13	11.063	12.588	11.813	10.740	11.807	10.332	11.883	14.012
Recovery Week 4	10.540	14.575	NA	NA	9.575	10.205	12.405	14.405
Recovery Week 12	11.405	12.380	NA	NA	10.850	9.105	12.400	10.335
RBC (10^6/μL)								
Pre-treatment	6.133	6.617	6.258	6.380	6.050	6.773	5.958	6.160
Week 4	5.977	6.268	6.125	6.340	6.712	7.447	8.207	8.943
Week 8	5.835	6.357	6.090	6.395	7.420	7.510	9.870	10.372
Week 13	6.302	6.413	6.495	6.615	7.667	8.270	11.743	12.507

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Recovery Week 4	6.215	6.575	NA	NA	6.635	6.970	9.040	9.725
Recovery Week 12	6.480	7.170	NA	NA	6.345	6.205	6.590	6.465
Hb (g/dL)								
Pre-treatment	13.07	14.20	13.48	13.83	12.98	14.27	12.55	13.12
Week 4	13.00	13.77	13.48	13.98	14.70	15.45	16.05	17.73
Week 8	12.65	13.85	13.48	14.00	15.98	15.28	16.17	18.42
Week 13	13.25	13.77	14.15	14.28	16.07	16.25	16.85	19.40
Recovery Week 4	13.45	13.35	NA	NA	13.90	14.60	11.25	15.20
Recovery Week 12	14.00	15.00	NA	NA	13.70	13.80	12.20	11.70
Ht Value (%)								
Pre-treatment	40.77	44.55	41.65	43.15	40.52	44.38	39.17	40.52
Week 4	40.23	42.40	41.58	42.73	45.55	47.97	50.95	56.12
Week 8	38.72	42.53	40.95	42.80	49.83	47.62	54.17	58.78
Week 13	42.77	42.85	44.55	44.78	51.12	51.83	59.12	65.77
Recovery Week 4	41.70	42.45	NA	NA	43.35	45.95	39.00	49.25
Recovery Week 12	43.40	46.10	NA	NA	43.10	41.20	40.40	36.85
MCV (fL)								
Pre-treatment	66.57	67.40	66.63	67.75	67.02	65.52	65.82	65.77
Week 4	67.33	67.68	67.85	67.55	67.92	64.68	62.27	62.77
Week 8	66.38	67.02	67.25	67.00	67.37	63.72	55.17	56.67
Week 13	67.98	66.97	68.63	67.83	66.87	63.22	50.62	52.72
Recovery Week 4	67.30	64.60	NA	NA	65.30	65.90	43.10	50.95
Recovery Week 12	67.00	64.40	NA	NA	68.00	66.35	61.30	57.10
MCH (pg)								
Pre-treatment	21.33	21.47	21.58	21.70	21.45	21.07	21.03	21.27
Week 4	21.73	21.98	22.00	22.10	21.95	20.83	19.62	19.82
Week 8	21.73	21.85	22.13	21.90	21.60	20.48	16.48	17.73
Week 13	21.05	21.52	21.78	21.58	21.03	19.83	14.48	15.58
Recovery Week 4	21.70	20.35	NA	NA	20.95	20.95	12.40	15.80
Recovery Week 12	21.60	21.00	NA	NA	21.65	22.35	18.50	18.20
MCHC (g/dL)								
Pre-treatment	32.05	31.83	32.40	32.03	32.03	32.17	31.98	32.33
Week 4	32.30	32.50	32.45	32.73	32.28	32.22	31.47	31.53
Week 8	32.72	32.55	32.88	32.70	32.08	32.13	29.82	31.23
Week 13	30.93	32.12	31.75	31.83	31.48	31.35	28.50	29.50

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Recovery Week 4	32.30	31.45	NA	NA	32.15	31.80	28.80	30.95
Recovery Week 12	32.25	32.65	NA	NA	31.80	33.65	30.15	31.80
Platelet Count ($10^3/\mu L$)								
Pre-treatment	351.0	313.3	338.3	426.3	377.5	322.3	353.0	341.7
Week 4	350.8	334.7	351.3	457.5	377.5	374.5	414.2	443.3
Week 8	352.3	349.0	349.8	424.8	349.3	346.5	401.8	424.5
Week 13	331.0	311.2	332.3	391.3	327.2	333.8	341.3	412.2
Recovery Week 4	275.0	430.0	NA	NA	278.0	315.5	295.0	253.5
Recovery Week 12	277.5	533.5	NA	NA	358.0	331.0	337.5	409.5
Ret Ratio (%)								
Pre-treatment	0.33	0.45	0.23	0.65	0.33	0.33	0.27	0.42
Week 4	0.62	0.53	0.50	0.73	0.67	0.52	1.27	1.25
Week 8	0.50	0.45	0.60	0.50	0.48	0.43	0.80	0.78
Week 13	0.40	0.28	0.33	0.45	0.33	0.37	0.70	0.80
Recovery Week 4	0.60	0.55	NA	NA	0.35	0.55	0.15	0.00
Recovery Week 12	0.70	0.65	NA	NA	0.55	0.35	0.80	1.75
Ret Count ($10^9/L$)								
Pre-treatment	20.77	31.07	14.85	43.28	19.62	22.63	16.42	25.95
Week 4	36.00	34.15	29.58	48.08	45.30	40.42	102.78	110.67
Week 8	28.08	28.55	36.93	31.88	36.50	34.30	78.78	81.42
Week 13	26.02	20.28	20.13	30.88	25.23	28.67	83.58	96.62
Recovery Week 4	34.95	35.95	NA	NA	23.10	38.10	13.65	3.10
Recovery Week 12	44.80	46.70	NA	NA	33.85	21.05	55.35	110.15
Neutrophil Count ($10^3/\mu L$)								
Pre-treatment	6.443	7.155	6.245	10.023	6.365	7.310	6.183	6.127
Week 4	6.028	6.292	8.360	10.455	6.417	6.702	5.937	7.775
Week 8	6.048	7.393	6.925	9.015	7.677	7.783	5.992	7.527
Week 13	6.692	7.708	7.300	6.713	6.768	6.420	7.202	9.295
Recovery Week 4	6.160	8.935	NA	NA	4.465	6.050	5.925	9.415
Recovery Week 12	7.230	6.875	NA	NA	6.040	5.210	6.260	6.545
Lymphocyte Count ($10^3/\mu L$)								
Pre-treatment	3.057	3.105	2.598	3.140	3.125	3.093	3.070	2.760
Week 4	2.928	3.180	2.388	2.895	2.878	2.863	3.178	2.720
Week 8	2.848	3.152	2.625	3.363	2.535	3.102	3.332	2.803
Week 13	2.863	3.068	2.678	2.620	3.107	2.482	3.265	2.985

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Recovery Week 4	2.985	3.700	NA	NA	3.315	3.140	4.810	3.200
Recovery Week 12	2.795	4.140	NA	NA	2.970	2.880	4.020	2.795
Monocyte Count ($10^3/\mu L$)								
Pre-treatment	0.732	0.578	0.500	1.133	0.615	0.617	0.573	0.403
Week 4	0.607	0.490	0.618	1.033	0.498	0.495	0.457	0.493
Week 8	0.533	0.645	0.540	0.820	0.540	0.558	0.497	0.483
Week 13	0.607	0.622	0.543	0.613	0.588	0.513	0.593	0.650
Recovery Week 4	0.520	0.785	NA	NA	0.665	0.530	0.295	0.725
Recovery Week 12	0.555	0.425	NA	NA	0.590	0.490	0.305	0.365
Eosinophil Count ($10^3/\mu L$)								
Pre-treatment	0.563	0.867	0.875	0.743	1.063	0.673	0.815	0.718
Week 4	0.747	0.918	0.975	0.845	0.977	0.750	0.525	0.665
Week 8	0.797	1.137	0.918	1.083	0.848	0.783	0.755	0.803
Week 13	0.760	1.063	1.143	0.690	1.178	0.765	0.627	0.733
Recovery Week 4	0.805	1.030	NA	NA	1.030	0.365	1.250	0.910
Recovery Week 12	0.695	0.800	NA	NA	1.145	0.420	1.675	0.540
Basophil Count ($10^3/\mu L$)								
Pre-treatment	0.055	0.073	0.068	0.080	0.050	0.083	0.047	0.060
Week 4	0.047	0.050	0.063	0.063	0.050	0.065	0.058	0.107
Week 8	0.047	0.053	0.048	0.063	0.055	0.068	0.068	0.115
Week 13	0.075	0.068	0.085	0.058	0.100	0.097	0.098	0.255
Recovery Week 4	0.045	0.065	NA	NA	0.045	0.065	0.070	0.095
Recovery Week 12	0.075	0.085	NA	NA	0.060	0.060	0.095	0.050
Prothrombin Time (s)								
Pre-treatment	8.62	8.38	8.20	9.63	8.30	8.50	8.35	9.38
Week 4	8.67	8.67	8.20	9.90	8.48	9.10	8.57	10.35
Week 8	9.08	8.55	8.58	9.83	8.72	9.17	9.32	10.67
Week 13	8.73	8.50	8.25	9.73	8.72	8.93	9.57	10.50
Recovery Week 4	8.95	8.50	NA	NA	8.50	9.20	9.20	9.25
Recovery Week 12	8.75	8.35	NA	NA	8.25	8.90	8.70	8.95
APTT (s)								
Pre-treatment	12.22	11.58	11.75	11.95	11.92	11.63	12.45	11.85
Week 4	12.18	11.25	11.65	11.40	11.68	11.40	11.65	11.50
Week 8	11.58	11.47	11.33	11.40	11.72	11.67	11.67	12.18
Week 13	11.23	10.40	10.85	10.83	10.88	11.17	12.78	13.03

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Recovery Week 4	10.00	10.40	NA	NA	10.45	11.10	10.80	10.60
Recovery Week 12	9.65	9.10	NA	NA	9.65	9.30	9.25	10.20
Fibrinogen (mg/dL)								
Pre-treatment	234.35	191.27	199.70	273.23	224.60	194.13	277.43	216.92
Week 4	204.98	164.60	214.95	215.53	200.63	165.97	231.17	225.50
Week 13	192.40	185.72	192.65	166.55	182.73	158.17	164.88	136.55
Recovery Week 4	171.05	216.35	NA	NA	175.85	180.05	148.30	216.90
Recovery Week 12	195.15	175.85	NA	NA	179.35	225.50	167.70	165.25
Erythrocyte Morphology								
Size, Microcyte								
Pre-treatment	–: 6	--	–: 4	--	–: 6	--	–: 6	--
Week 13	–: 6	--	–: 4	--	–: 6	--	–: 6	--
Recovery Week 12	–: 2	--	NA	NA	–: 2	--	–: 0 +: 2	--
Color, Hypochromic								
Pre-treatment	–: 6	–: 6	–: 4	–: 4	–: 6	–: 6	–: 6	–: 6
Week 13	–: 6	–: 6	–: 4	–: 4	–: 6	–: 5 +: 1	–: 0 +: 4 3+: 2	–: 1 +: 2 2+: 2 3+: 1
Recovery Week 12	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 0 +: 2	–: 2
Platelet Morphology								
Large								
Pre-treatment	3.2	3.0	6.3	5.8	3.2	3.7	4.5	3.0
Week 2	3.2	3.3	3.8	6.8	3.2	5.5	11.3	12.0
Week 4	3.3	6.0	4.3	2.0	2.3	8.7	34.7	22.7
Week 8	3.0	3.8	5.8	2.8	1.3	5.5	13.0	8.7
Week 13	7.3	3.0	5.3	1.3	6.0	1.8	38.2	7.8
Recovery Week 4	6.0	2.0	NA	NA	2.0	0.0	7.0	0.0
Recovery Week 12	3.5	0.5	NA	NA	4.5	3.5	5.0	6.5

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Normal								
Pre-treatment	996.8	997.0	993.8	994.3	996.8	996.3	995.5	997.0
Week 2	996.7	996.7	996.3	992.8	996.8	994.3	987.8	987.7
Week 4	996.7	994.0	995.8	998.0	997.7	991.3	965.3	977.3
Week 8	996.8	995.8	994.3	997.3	998.5	994.5	986.3	991.2
Week 13	992.7	997.0	994.5	998.8	993.8	998.2	961.0	992.2
Recovery Week 4	994.0	998.0	NA	NA	998.0	1000.0	993.0	1000.0
Recovery Week 12	996.5	999.0	NA	NA	995.5	996.0	995.0	993.5
Clumping								
Pre-treatment	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Week 2	0.2	0.0	0.0	0.5	0.0	0.2	0.8	0.3
Week 4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Week 8	0.2	0.3	0.0	0.0	0.2	0.0	0.7	0.2
Week 13	0.0	0.0	0.3	0.0	0.2	0.0	0.8	0.0
Recovery Week 12	0.0	0.5	NA	NA	0.0	0.5	0.0	0.0
Blood Chemistry								
AST (IU/L)								
Pre-treatment	27.7	28.5	28.0	27.8	28.8	29.5	29.5	27.0
Week 13	25.0	24.0	26.0	25.3	24.3	25.5	28.0	24.7
Recovery Week 4	24.5	26.0	NA	NA	23.5	29.5	29.0	23.0
ALT (IU/L)								
Pre-treatment	26.5	31.3	34.0	32.3	28.3	31.8	32.7	29.2
Week 13	30.7	29.8	36.5	37.5	32.8	37.5	55.3	63.2
Recovery Week 4	30.0	36.5	NA	NA	30.0	27.0	47.0	29.5
ALP (IU/L)								
Pre-treatment	263.3	310.8	253.3	325.8	225.2	350.5	233.2	222.5
Week 13	228.2	216.2	221.8	258.3	201.2	255.8	270.0	162.0
Recovery Week 4	187.0	254.0	NA	NA	184.5	272.5	268.0	183.0
LDH (IU/L)								
Pre-treatment	205.0	81.0	139.5	101.0	170.0	100.8	154.3	184.0
Week 13	48.2	52.0	43.8	42.3	41.5	51.0	67.2	84.2
Recovery Week 4	31.0	34.5	NA	NA	36.0	34.5	43.5	31.0
T-Bil (mg/dL)								
Pre-treatment	0.008	0.015	0.015	0.030	0.008	0.015	0.012	0.017
Week 13	0.013	0.020	0.018	0.030	0.022	0.025	0.035	0.013

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Recovery Week 4	0.025	0.030	NA	NA	0.025	0.035	0.035	0.015
D-Bil (mg/dL)								
Pre-treatment	0.005	0.012	0.010	0.010	0.005	0.010	0.005	0.007
Week 13	0.007	0.010	0.005	0.013	0.015	0.010	0.025	0.012
Recovery Week 4	0.010	0.010	NA	NA	0.015	0.015	0.020	0.000
I-Bil (mg/dL)								
Pre-treatment	0.005	0.005	0.005	0.020	0.003	0.008	0.007	0.010
Week 13	0.007	0.012	0.013	0.018	0.008	0.015	0.012	0.005
Recovery Week 4	0.015	0.020	NA	NA	0.010	0.020	0.015	0.015
Phospholipid (mg/dL)								
Pre-treatment	308.7	279.0	299.5	294.5	295.0	298.3	294.2	292.3
Week 13	299.0	292.2	303.0	295.3	310.7	317.8	268.3	322.8
Recovery Week 4	262.0	296.5	NA	NA	279.0	297.0	228.0	366.0
Triglyceride (mg/dL)								
Pre-treatment	39.8	33.3	35.3	26.0	31.5	36.0	34.7	38.0
Week 13	35.3	38.0	32.0	35.3	34.3	32.8	35.0	46.8
Recovery Week 4	25.0	38.0	NA	NA	29.5	39.0	22.0	64.5
T-CH (mg/dL)								
Pre-treatment	165.7	132.2	146.8	142.8	149.8	147.5	149.0	145.0
Week 13	149.8	138.5	146.5	139.3	154.3	153.0	124.8	153.0
Recovery Week 4	130.0	147.0	NA	NA	135.0	145.5	107.5	195.5
Glucose (mg/dL)								
Pre-treatment	99.0	99.7	101.0	99.8	98.3	98.7	100.7	96.5
Week 13	95.8	96.5	96.8	95.3	94.0	92.7	84.5	76.2
Recovery Week 4	99.5	99.0	NA	NA	93.5	92.0	92.0	91.5
Fe (μg/dL)								
Pre-treatment	158.1	141.6	145.6	145.8	146.1	170.3	137.4	169.9
Week 13	142.8	160.4	147.7	175.6	165.1	165.9	53.4	52.2
Recovery Week 4	173.8	132.1	NA	NA	196.3	176.6	224.7	182.8
UIBC (μg/dL)								
Pre-treatment	197.1	274.4	217.5	240.5	207.4	241.6	227.1	201.3
Week 13	237.9	263.7	250.2	236.6	245.1	304.8	407.3	418.8
Recovery Week 4	228.4	315.6	NA	NA	163.9	239.6	179.6	181.6
LA (mg/dL)								
Pre-treatment	11.98	11.60	9.78	11.55	10.50	15.67	9.12	11.85

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Week 13	11.85	10.88	8.73	9.33	9.82	10.00	13.22	15.13
Recovery Week 4	9.80	12.45	NA	NA	10.25	9.75	7.75	13.95
TIBC (μg/dL)								
Pre-treatment	355.3	415.9	363.1	386.3	353.5	411.9	364.5	371.2
Week 13	380.6	424.1	397.9	412.2	410.1	470.7	460.7	471.0
Recovery Week 4	402.1	447.7	NA	NA	360.2	416.2	404.3	364.4
TSAT (%)								
Pre-treatment	44.58	34.67	40.85	37.80	41.50	41.35	38.75	46.37
Week 13	37.15	37.58	37.18	42.80	40.37	36.22	12.03	11.18
Recovery Week 4	43.25	29.60	NA	NA	54.65	42.75	56.25	50.05
CRP (μg/mL)								
Pre-treatment	13.248	5.048	6.095	19.855	12.575	5.598	30.068	6.342
Week 13	9.693	6.217	11.775	5.450	4.910	3.688	13.312	5.920
Recovery Week 4	2.885	9.915	NA	NA	0.000	5.060	8.235	23.705
Recovery Week 8	5.065	2.750	NA	NA	0.000	0.000	0.000	27.675
VEGF Concentrations (pg/mL)								
Week 1								
Pre-treatment	38.992	33.060	39.270	49.623	34.763	35.738	32.092	36.420
2h	40.153	35.010	41.120	47.138	34.645	37.440	34.342	40.525
4h	34.608	36.957	28.668	62.500	34.838	45.667	41.068	52.910
8h	51.815	44.887	44.718	64.483	46.215	53.480	45.685	69.352
24h	39.293	31.077	42.105	51.095	31.547	34.227	39.082	49.273
Week 13								
Pre-treatment	36.125	19.780	29.383	24.050	35.682	21.162	59.803	108.190
2h	32.258	34.177	29.490	23.525	42.333	26.410	87.000	105.565
4h	36.998	43.852	28.908	26.383	47.220	28.705	111.693	119.443
8h	46.270	57.140	43.028	42.783	50.480	45.353	104.365	143.198
24h	32.527	44.543	41.240	37.228	43.565	38.108	68.740	144.667
EPO Concentrations (mIU/mL)								
Day 1								
Pre-treatment	3.12	5.86	4.96	6.02	3.78	5.31	3.89	6.79
2h	3.72	6.07	6.21	7.27	4.49	6.22	5.01	8.09
4h	4.02	6.75	8.19	7.50	8.60	15.38	74.60	51.25
8h	5.58	9.69	20.83	11.05	46.81	87.26	515.55	533.31
24h	6.64	9.06	13.13	11.69	14.43	21.17	74.13	77.50

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.3**		**1**		**3**	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Day 91								
Pre-treatment	0.00	1.30	0.93	0.84	0.74	2.53	26.43	15.09
2h	0.65	2.71	1.34	1.90	0.00	1.33	17.82	9.10
4h	2.48	3.42	4.84	3.32	18.14	10.57	253.58	140.82
8h	3.41	5.33	21.17	9.74	113.51	98.42	1404.39	693.47
24h	4.23	8.45	6.89	5.52	5.25	7.04	45.18	19.17
Myelogram								
G/E (%)								
End of the Dosing Period	1.733	1.963	1.965	1.778	1.830	1.860	0.763**	0.708**
End of the Recovery Period	1.720	1.930	NA	NA	1.675	2.145	1.635	0.995
G/E ($10^4/\mu L$)								
End of the Dosing Period	1.733	1.963	1.965	1.775	1.830	1.860	0.763**	0.708**
End of the Recovery Period	1.720	1.930	NA	NA	1.680	2.140	1.635	1.000
Gross Pathology [b]								
End of the Dosing Period	--	--	--	--	--	--	--	--
End of the Recovery Period								
Liver								
Rough Surface	-:2	--	NA	NA	-:2	--	-:1, P:1	--
Organ Weights								
End of the Dosing Period								
Spleen (g)	22.05	25.93	23.30	20.18	26.18	21.95	43.98	26.70
(g/kg B.W.)	2.208	2.975	2.328	2.473	2.520	2.763	4.733	3.350
End of the Recovery Period								
Treatment-related changes	--	--	NA	NA	--	--	--	--
Histopathology [c]								
End of the Dosing Period								
Bone Marrow (Femoral, left)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	-: 4	-: 4	-: 4	-: 4	-: 2 ±: 2	-: 2 ±: 2	-: 0 ±: 2 +: 2	-: 0 +: 4
Bone Marrow (Sternal)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	-: 4	-: 4	-: 4	-: 4	-: 2 ±: 2	-: 2 ±: 2	-: 0 ±: 1 +: 3	-: 0 ±: 1 +: 3

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Liver (Left lateral lobe, median lobe)								
Atrophy, Hepatocyte, Centrilobular	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 ±: 1 +: 2	–: 2 ±: 2
Brown Pigment Deposition, Kupffer Cells, Centrilobular	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 2 ±: 2	–: 2 ±: 2
Congestion, Cetrilobular	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 ±: 1 +: 2	–: 2 ±: 2
Inflammatory, Cell Infiltration, Cetrilobular	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 4
Mononuclear, Cell Infiltration, Cetrilobular	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 4
Single Cell Necrosis, Hepatocyte, Cetrilobular	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 2 ±: 2	–: 4
Liver (Schmorl)								
Positive Reaction, Hepatocyte, Cetrilobular	–: 0 ±: 4	–: 2 ±: 2	–: 0 ±: 3 +: 1	–: 0 ±: 4	–: 0 ±: 4	–: 0 ±: 4	–: 0 ±: 4	–: 1 ±: 3
Positive Reaction, Kupffer Cells, Cetrilobular	–: 1 ±: 3	–: 0 ±: 4	–: 0 ±: 4	–: 0 ±: 4	–: 0 ±: 4	–: 0 ±: 4	–: 0 ±: 2 +: 2	–: 0 ±: 2 +: 2
Spleen								
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 4	–: 2 +: 1 2+: 1	–: 2 ±: 2
End of the Recovery Period								
Bone Marrow (Femoral, left)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 2	–: 0 ±: 2
Bone Marrow (Sternal)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 2	–: 0 ±: 2

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Liver (Left lateral lobe, median lobe)								
Brown Pigment Deposition, Kupffer Cells, Centrilobular	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 2	–: 0 ±: 1 +: 1
Inflammatory cell infiltration, Centrilobular	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 0 ±: 2	–: 1 ±: 1
Mononuclear, Cell Infiltration, Centrilobular	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 0 ±: 1 +: 1	–: 1 ±: 1
Proliferation, Bile Duct	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 1 +: 1	–: 2
Liver (Left lateral lobe, median lobe)								
Brown Pigment Deposition, Kupffer Cells, Centrilobular	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 0 ±: 1 +: 1	–: 2
Fibrosis	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 1 +: 1	–: 2
Inflammatory, Cell Infiltration, Centrilobular	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 0 ±: 2	–: 2
Mononuclear, Cell Infiltration, Centrilobular	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 0 ±: 1 +: 1	–: 2
Proliferation, Bile Duct	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 1 +: 1	–: 2
Liver (Gross lesion) (number of animals examined)							(1)	
Brown Pigment Deposition, Kupffer Cells, Centrilobular	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+: 1	NA
Fibrosis	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+: 1	NA
Inflammatory, Cell Infiltration, Centrilobular	NA	NA	NA	NA	NA	NA	±: 1	NA
Mononuclear, Cell Infiltration, Centrilobular	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+: 1	NA
Proliferation, Bile Duct	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+: 1	NA
Liver (Berlin blue)								
Positive Reaction, Hepatocyte, Cetrilobular	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 2	–: 1 ±: 1

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.3		1		3	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Positive Reaction Kupffer Cells	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 0 ±: 2	–: 2	–: 0 ±: 2	–: 0 ±: 1 +: 1
Liver (Hall)								
Positive Reaction, Kupffer Cells, Cetrilobular	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 2	–: 0 ±: 2
Liver (Schmorl)								
Positive Reaction, Hepatocyte, Cetrilobular	–: 0 ±: 2	–: 0 ±: 2	NA	NA	–: 0 ±: 2	–: 1 ±: 1	–: 0 ±: 0 +: 2	–: 0 ±: 2
Positive Reaction, Kupffer Cells, Cetrilobular	–: 1 ±: 1	–: 0 ±: 2	NA	NA	–: 0 ±: 2	–: 0 ±: 2	–: 0 ±: 1 +: 1	–: 0 ±: 1 +: 1
Spleen								
Extramedullary Hematopoiesis, Erythroid	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 2	–: 0 ±: 2

M: Male, F: Female, --: No noteworthy findings, NA: Not applicable, NC: Not calculated, Statistical significance: ** $p < 0.01$

[a] Percent change relative to the control mean value (100%).

[b] Criteria for Grading Macroscopic Findings: –: no abnormal finding, P: non-graded finding

[c] Criteria for Grading Microscopic Findings: –: no abnormal changes, ±: very slight, +: slight, 2+: moderate, 3+: severe

2.6.7.7.G Three-Month Intermittently Oral Dose Toxicity Study: Dog

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.2-9
Report Title: Three-Month Intermittent Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Dogs		**Report/Study No. JTZ951-TX-035/[redacted]-049**
Species / Breed: Dog / Beagle	Duration of Dosing: 13 Weeks, Twice Weekly	
Initial Age: 7 or 8 Months	Duration of Postdose: Not applicable	GLP Compliance: Yes
Initial Body Weight: 7.3 – 9.8 kg (M), 7.3 – 9.1 kg (F)		
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted] (M), [redacted], 20[redacted] (F)	Method of Administration: Oral (Gelatin capsule / 1 mL/kg)	
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Not applicable		
No Observed Adverse Effect Level: 10 mg/kg/twice/week		

M: Male, F: Female

Dose Level: (mg/kg/twice/week)	**0 (Control)**		**3**		**6**		**10**	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Toxicokinetics: JTZ-951								
t_{max} (hr)								
Day 1	NA	NA	1.6	0.9	1.0	0.9	2.0	1.5
Day 25	NA	NA	0.9	0.6	1.4	1.1	0.9	1.0
Day 88	NA	NA	0.9	1.1	0.9	0.8	1.4	1.0
C_{max} (μg/mL)								
Day 1	NA	NA	3.344	3.276	4.088	7.353	8.629	12.452
Day 25	NA	NA	3.168	3.177	4.220	7.028	9.221	12.981
Day 88	NA	NA	4.525	2.831	6.088	9.219	13.069	15.352
$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	9.459	8.311	11.821	17.883	27.625	34.174
Day 25	NA	NA	8.941	6.361	12.558	17.044	23.788	32.848
Day 88	NA	NA	11.062	7.325	14.986	23.449	30.326	34.538
C_{24} (μg/mL)								
Day 1	ND	ND	0.004	0.004	0.007	0.048	0.056	0.064
Day 25	ND	ND	0.015	0.003	0.006	0.074	0.053	0.067
Day 88	ND	ND	0.017	0.006	0.014	0.068	0.106	0.143

Dose Level: (mg/kg/twice/week)	**0 (Control)**		**3**		**6**		**10**	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Noteworthy Findings								
Death or Moribund Sacrifice	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	--	--	--	--	--	--	--	--
Body Weight	--	--	--	--	--	--	--	--
Food Consumption	--	--	--	--	--	--	--	--
Water Consumption	--	--	--	--	--	--	--	--
Ophthalmoscopy	--	--	--	--	--	--	--	--
Electrocardiography	--	--	--	--	--	--	--	--
Urinalysis								
Bilirubin								
Pre-treatment	-: 2 +: 2	-: 3 +: 1	-: 2 +: 2	-: 3 +: 1	-: 0 +:4	-: 3 +:1	-: 3 +: 1	-: 4
Week 13	-: 2 +: 2	-: 4	-: 0 +: 4	-: 3 +: 1	-: 1 +: 3	-: 4	-: 1 +: 2 2+: 1	-: 1 +: 3
Hematology								
WBC ($10^3/\mu L$)								
Pre-treatment	10.510	11.838	9.950	10.098	10.090	10.685	10.553	9.820
Week 2	11.428	11.485	13.238	11.430	10.640	11.733	12.108	11.480
Week 4	11.580	11.633	10.453	10.965	9.998	11.063	10.660	10.220
Week 13	11.443	11.560	9.845	11.883	10.400	12.518	11.733	11.255
RBC ($10^6/\mu L$)								
Pre-treatment	6.233	6.410	6.195	6.613	6.230	6.363	6.033	6.180
Week 2	6.423	6.853	6.713	6.683	6.325	6.860	6.308	6.680
Week 4	5.650	5.490	6.168	6.308	6.140	6.440	6.278	6.575
Week 13	6.233	6.315	7.513	6.953	7.075	8.423	8.715	8.678
Hb (g/dL)								
Pre-treatment	13.43	13.85	13.70	14.30	13.70	13.85	13.23	13.73
Week 2	13.68	14.83	14.63	14.58	13.78	14.73	13.48	14.40
Week 4	11.95	11.95	13.33	13.63	13.20	13.65	13.13	13.68
Week 13	13.20	13.73	15.60	14.90	14.48	16.78	16.38	16.45
Ht (%)								
Pre-treatment	41.68	43.15	42.18	44.50	42.23	42.93	40.93	41.93
Week 2	43.05	46.80	45.60	45.43	43.38	46.90	42.68	45.63
Week 4	37.25	36.30	41.80	41.88	41.85	42.65	41.85	43.03

Dose Level: (mg/kg/twice/week)	0 (Control)		3		6		10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Week 13	39.90	41.68	47.93	45.25	44.88	52.08	50.88	51.43
MCV (fL)								
Pre-treatment	66.85	67.30	68.13	67.38	67.83	67.48	67.75	67.90
Week 2	67.05	68.38	67.98	68.00	68.60	68.35	67.73	68.43
Week 4	65.83	66.00	67.70	66.33	68.18	66.20	66.65	65.48
Week 13	63.98	65.93	63.60	64.95	63.65	61.93	58.50	59.45
MCH (pg)								
Pre-treatment	21.53	21.60	22.15	21.65	21.98	21.78	21.93	22.28
Week 2	21.30	21.65	21.80	21.83	21.78	21.50	21.40	21.63
Week 4	21.13	21.75	21.55	21.55	21.53	21.23	20.90	20.83
Week 13	21.10	21.68	20.75	21.45	20.58	19.93	18.83	19.00
MCHC (g/dL)								
Pre-treatment	32.18	32.10	32.50	32.10	32.40	32.28	32.38	32.80
Week 2	31.78	31.68	32.03	32.08	31.73	31.43	31.63	31.58
Week 4	32.10	32.93	31.83	32.50	31.53	32.03	31.35	31.83
Week 13	33.03	32.88	32.63	33.05	32.30	32.20	32.18	31.93
Platelets ($10^3/\mu L$)								
Pre-treatment	336.0	322.0	302.8	316.8	331.0	302.3	321.5	293.3
Week 2	368.8	369.3	386.0	391.3	416.3	439.8	436.8	442.0
Week 4	344.3	354.8	358.8	373.3	405.3	371.5	385.0	375.8
Week 13	346.3	363.3	335.8	373.3	360.5	337.5	352.5	357.0
Ret Ratio (%)								
Pre-treatment	0.50	0.58	0.48	0.53	0.53	0.48	0.55	0.50
Week 2	0.70	1.15	1.00	1.13	1.13	1.33	1.10	1.38
Week 4	0.73	0.63	0.90	0.85	0.93	0.90	1.10	1.15
Week 13	0.58	0.75	0.80	0.73	0.75	0.90	0.80	0.98
Ret Count ($10^9/L$)								
Pre-treatment	28.95	36.15	29.50	36.48	33.73	29.43	34.63	31.88
Week 2	45.45	78.03	65.50	74.15	70.50	92.75	69.48	91.00
Week 4	39.23	33.83	56.75	54.78	56.30	60.20	70.30	76.70
Week 13	35.03	48.13	61.80	51.78	51.35	76.90	68.15	85.13
Neutrophil ($10^3/\mu L$)								
Pre-treatment	6.128	7.303	6.420	5.955	6.210	6.225	5.778	6.043
Week 2	6.558	7.015	8.478	6.388	6.073	6.525	6.468	6.955
Week 4	7.138	7.625	6.720	6.293	6.015	6.510	5.848	6.345
Week 13	6.938	7.443	6.055	6.968	6.268	7.483	6.153	6.998

Dose Level: (mg/kg/twice/week)	0 (Control)		3		6		10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Lymphocyte (10^3/μL)								
Pre-treatment	2.763	3.150	2.130	2.550	2.218	3.128	2.818	2.635
Week 2	3.145	3.188	2.835	3.078	2.798	3.565	3.280	3.023
Week 4	2.708	2.728	2.163	2.890	2.345	3.080	2.740	2.635
Week 13	2.700	2.993	2.160	3.078	2.450	3.488	3.225	2.885
Monocyte (10^3/μL)								
Pre-treatment	0.480	0.518	0.498	0.443	0.575	0.420	0.630	0.355
Week 2	0.493	0.448	0.600	0.418	0.543	0.448	0.538	0.380
Week 4	0.568	0.485	0.413	0.398	0.490	0.430	0.503	0.340
Week 13	0.500	0.425	0.438	0.495	0.520	0.518	0.575	0.390
Eosinophil (10^3/μL)								
Pre-treatment	1.013	0.755	0.803	0.998	0.960	0.785	1.195	0.655
Week 2	1.118	0.750	1.200	1.400	1.098	1.058	1.690	0.943
Week 4	1.053	0.708	1.060	1.230	1.030	0.888	1.450	0.763
Week 13	1.148	0.610	1.055	1.185	0.980	0.833	1.485	0.748
Basophil (10^3/μL)								
Pre-treatment	0.063	0.055	0.058	0.085	0.058	0.075	0.075	0.075
Week 2	0.068	0.045	0.073	0.093	0.068	0.080	0.073	0.105
Week 4	0.065	0.053	0.048	0.095	0.055	0.085	0.063	0.085
Week 13	0.100	0.053	0.078	0.085	0.105	0.133	0.185	0.145
Prothrombin Time (s)								
Pre-treatment	8.85	8.63	8.25	8.35	8.60	8.83	8.73	9.00
Week 2	8.73	8.40	8.33	8.35	8.53	8.85	8.68	8.90
Week 4	8.65	8.68	8.40	8.40	8.58	9.00	8.85	9.15
Week 13	8.68	8.33	8.38	8.13	8.50	8.88	9.08	9.00
APTT (s)								
Pre-treatment	11.78	11.80	11.80	11.40	11.53	11.73	11.13	10.83
Week 2	11.38	11.13	11.20	11.25	11.20	12.03	11.60	11.25
Week 4	11.50	10.70	11.30	10.63	11.33	11.98	10.98	11.23
Week 13	9.78	9.93	9.00	9.53	9.40	9.95	9.30	9.65
Fibrinogen (mg/dL)								
Pre-treatment	220.18	249.83	186.40	198.35	200.40	158.90	195.63	158.90
Week 2	223.70	183.40	166.60	154.53	180.35	154.05	186.58	148.23
Week 4	201.50	170.40	145.68	145.30	158.38	142.78	156.63	121.40
Week 13	218.55	187.25	156.98	174.63	146.13	153.25	157.73	152.33

Dose Level: (mg/kg/twice/week)	0 (Control)		3		6		10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Erythrocyte Morphology								
Color, Hypochromic								
Pre-treatment	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4
Week 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4
Week 13	–: 4	–: 4	–: 3 +: 1	–: 4	–: 4	–: 2 +: 2	–: 1 +: 3	–: 0 +: 4
Platelet Morphology								
Large								
Pre-treatment	6.5	5.8	12.8	7.5	13.0	6.3	6.0	5.8
Week 2	5.0	1.8	7.8	3.5	7.8	5.0	16.0	6.3
Week 4	3.0	3.0	4.8	3.8	8.3	3.3	11.5	5.3
Week 13	6.0	3.3	15.5	5.8	12.5	4.8	19.0	11.3
Blood Chemistry								
AST (IU/L)								
Pre-treatment	26.0	27.5	23.3	24.8	27.3	24.5	25.5	26.3
Week 13	28.0	28.3	23.0	22.5	25.5	22.0	24.5	26.3
ALT (IU/L)								
Pre-treatment	37.5	30.3	28.0	36.3	31.8	32.5	30.5	32.5
Week 13	38.8	36.0	35.0	31.8	32.8	32.0	44.5	37.5
ALP (IU/L)								
Pre-treatment	307.8	256.5	257.3	230.0	245.0	226.5	263.0	244.0
Week 13	188.8	220.3	169.3	212.0	189.3	158.8	182.8	202.3
LDH (IU/L)								
Pre-treatment	160.3	119.5	56.5	96.5	141.0	140.8	123.8	88.5
Week 13	50.3	233.3	47.0	96.0	72.8	80.8	49.3	94.5
T-Bil (mg/dL)								
Pre-treatment	0.025	0.023	0.025	0.035	0.025	0.030	0.015	0.025
Week 13	0.013	0.018	0.035	0.018	0.003	0.025	0.015	0.025
D-Bil (mg/dL)								
Pre-treatment	0.003	0.003	0.013	0.008	0.003	0.008	0.005	0.008
Week 13	0.013	0.000	0.023	0.005	0.000	0.010	0.008	0.015
I-Bil (mg/dL)								
Pre-treatment	0.023	0.020	0.013	0.028	0.023	0.023	0.010	0.018
Week 13	0.003	0.018	0.013	0.013	0.003	0.015	0.008	0.010
Triglyceride (mg/dL)								
Pre-treatment	30.3	37.5	25.0	39.0	35.3	31.0	32.8	35.0

Dose Level: (mg/kg/twice/week)	0 (Control)		3		6		10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Week 13	21.8	52.0	23.3	58.0	43.3	50.8	31.5	46.5
T-CH (mg/dL)								
Pre-treatment	148.8	157.5	133.8	143.8	137.0	152.5	144.5	145.0
Week 13	127.8	152.3	140.3	162.8	140.8	171.0	136.0	134.5
Glucose (mg/dL)								
Pre-treatment	100.0	95.5	101.3	99.0	96.0	101.0	97.0	96.8
Week 13	93.5	94.8	96.5	90.0	93.8	95.3	90.0	92.3
Fe (μg/dL)								
Pre-treatment	151.23	201.08	149.35	169.18	141.05	171.88	184.45	142.23
Week 13	112.78	170.03	79.05	137.45	105.15	69.88	65.58	57.23
UIBC (μg/dL)								
Pre-treatment	234.90	177.28	193.10	195.53	225.80	215.88	220.18	243.43
Week 13	273.65	241.45	320.35	279.95	304.10	373.38	392.60	391.55
LA (mg/dL)								
Pre-treatment	9.98	10.78	9.98	11.15	10.83	11.08	10.63	12.13
Week 13	9.53	12.65	12.55	12.10	11.83	14.20	13.63	14.40
TIBC (μg/dL)								
Pre-treatment	386.13	378.35	342.45	364.70	366.85	387.75	404.63	385.65
Week 13	386.43	411.48	399.40	417.40	409.25	443.25	458.18	448.78
TSAT (%)								
Pre-treatment	39.40	53.40	43.80	46.68	39.93	44.40	46.33	36.85
Week 13	29.28	40.70	20.43	32.35	25.85	15.88	14.43	12.80
CRP (μg/mL)								
Pre-treatment	8.828	11.513	5.510	10.495	14.510	1.600	4.298	2.110
Week 13	10.483	13.198	3.745	8.885	6.068	4.865	5.055	8.060
VEGF Concentrations (pg/mL)								
Week 1								
Pre-treatment	29.565	36.495	30.500	31.798	30.400	30.635	37.245	28.433
2hr	29.253	34.285	36.473	44.868	36.643	58.003	43.873	40.498
4hr	32.475	33.883	56.840	42.563	50.083	71.573	86.123	62.445
8hr	39.535	41.835	46.000	54.530	44.575	41.388	39.868	39.023
24hr	32.848	26.983	40.993	39.228	39.543	41.010	42.180	33.018
48hr	28.045	30.535	38.878	40.028	49.860	39.953	49.658	35.448
72hr	31.380	26.893	35.935	44.313	38.020	43.165	49.170	50.800
Week 13								
Pre-treatment	29.890	24.045	43.768	41.078	47.613	42.905	78.790	54.410

Dose Level: (mg/kg/twice/week)	0 (Control)		3		6		10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
2hr	23.963	19.620	42.738	37.935	46.270	48.415	54.918	64.220
4hr	11.793	17.500	42.010	34.420	57.843	59.345	58.968	48.425
8hr	28.528	43.795	35.040	38.148	46.028	33.655	37.388	41.075
24hr	26.350	29.273	43.910	39.368	49.913	46.393	51.578	67.065
48hr	22.330	23.745	45.630	40.640	47.728	36.163	43.900	51.303
72hr	27.658	29.470	33.450	37.213	45.765	29.363	38.775	22.720
EPO Concentrations (mIU/mL)								
Day 1								
Pre-treatment	5.17	5.34	4.24	5.03	5.91	7.03	4.87	5.49
2hr	5.65	4.64	4.51	5.48	5.68	9.88	5.77	7.56
4hr	6.05	5.06	64.93	80.49	108.56	360.08	232.60	433.31
8hr	6.26	5.52	591.94	469.70	688.16	1619.68	1551.82	2089.40
24hr	6.97	7.45	59.47	56.34	74.45	169.62	162.50	209.13
48hr	8.09	9.20	7.99	8.15	9.54	16.75	15.52	18.02
72hr	8.77	9.28	6.19	2.98	6.21	6.71	4.66	5.28
Day 88								
Pre-treatment	3.57	1.58	0.00	0.00	0.81	0.95	3.93	6.23
2hr	3.68	0.88	0.00	0.00	0.00	2.41	4.66	12.00
4hr	5.14	1.30	105.23	36.74	132.75	394.40	377.49	719.22
8hr	5.42	2.09	692.26	378.72	806.43	1858.59	1448.91	2371.19
24hr	6.84	3.68	35.90	33.95	48.87	92.02	105.10	119.60
48hr	6.07	4.79	2.38	1.18	4.07	9.67	8.83	16.59
72hr	6.79	5.65	0.00	0.90	0.00	0.00	2.82	4.84
Bone Marrow Nucleated Cell Count	--	--	--	--	--	--	--	--
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Organ Weight								
Kidney (g)	44.70	41.58	42.48	40.30	42.08	41.43	50.55	42.18
(g/kg B.W.)	4.858	4.823	4.653	4.840	4.795	4.928	5.418	5.160
Histopathology [a]								
Bone Marrow (Femoral, left)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1

Dose Level: (mg/kg/twice/week)	0 (Control)		3		6		10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Bone Marrow (Sternal)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1

M: Male, F: Female, --: No noteworthy findings, NA: Not applicable, NC: Not calculated,
[a] Criteria for Grading Microscopic Findings: –: no abnormal changes, ±: very slight

2.6.7.7.H Three-Month Oral Dose Toxicity Study: Cynomolgus Monkey

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.2-10
Report Title: Three-Month Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Cynomolgus Monkeys with a One-Month Recovery Period		**Report/Study No. JTZ951-TX-038/[redacted]-050**
Species / Cynomolgus Monkey	Duration of Dosing: 13 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 3 - 6 years	Duration of Postdose: 4 Weeks	GLP Compliance: Yes
Initial Body Weight: 3.83 – 5.61 kg (M), 2.88 – 4.36 kg (F)		
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted] (M), [redacted], 20[redacted] (F)	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Not applicable		
No Observed Adverse Effect Level: 3 mg/kg/day		

M: Male, F: Female

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Toxicokinetics: JTZ-951								
t_{max} (hr)								
Day 1	NA	NA	0.8	0.6	1.1	0.6	1.3	1.0
Day 28	NA	NA	1.3	0.6	1.4	1.3	2.2	1.1
Day 91	NA	NA	1.0	0.6	1.5	0.9	2.5	1.8
C_{max} (μg/mL)								
Day 1	NA	NA	7.280	7.200	30.306	29.315	69.392	87.611
Day 28	NA	NA	5.141	10.101	18.636	16.806	49.034	59.363
Day 91	NA	NA	4.865	7.362	19.944	19.299	40.806	42.034
AUC_{0-24} (μg·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	18.246	17.668	96.860	63.839	249.804	234.307
Day 28	NA	NA	16.162	16.965	62.660	51.967	187.525	159.232
Day 91	NA	NA	13.167	14.079	65.400	45.759	161.973	152.684
C_{24} (μg/mL)								
Day 1	ND	ND	0.013	0.016	0.043	0.067	0.079	0.137
Day 28	ND	ND	0.034	0.017	0.024	0.171	0.100	0.064
Day 91	ND	ND	0.022	0.020	0.150	0.046	0.091	0.060

Dose Level: (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study		**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Noteworthy Findings									
Clinical Observations[a]									
Reddening Skin									
Dosing Period									
Weeks 0-4 (Days 1-28)	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
Weeks 5-8 (Days 29-56)	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
Weeks 9-13 (Days 57-91)	Pre	0	0	0	0	0	0	18.8	9.8
	S1	0	0	0	0	0	0	19.5	10.0
Mean Total Number of Observations									
	Pre	0	0	0	0	0	0	18.8	9.8
	S1	0	0	0	0	0	0	19.5	10.0
Recovery Period									
Week 1-2 (Days 1-14)		0	0	NA	NA	0	0	7.0	13.0
Week 3-4 (Days 15-28)		0	0	NA	NA	0	0	0	0
Mean Total Number of Observations		0	0	NA	NA	0	0	7.0	13.0
Reddish Oral Mucosa									
Dosing Period									
Weeks 0-4 (Days 1-28)	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
Weeks 5-8 (Days 29-56)	Pre	0	0	0	0	0	0	3.5	0.67
	S1	0	0	0	0	0	0	3.7	0.83
Weeks 9-13 (Days 57-91)	Pre	0	0	0	0	0	0	23.3	11.7
	S1	0	0	0	0	0	0	23.3	12.0
Mean Total Number of Observations									
	Pre	0	0	0	0	0	0	26.8	12.3
	S1	0	0	0	0	0	0	27.0	12.8
Recovery Period									
Week 1-2 (Days 1-14)		0	0	NA	NA	0	0	7.0	13.0
Week 3-4 (Days 15-28)		0	0	NA	NA	0	0	3.0	0
Mean Total Number of Observations		0	0	NA	NA	0	0	10.0	13.0

Dose Level: (mg/kg/day)		0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study		**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Reddish Conjunctiva									
Dosing Period									
Weeks 0-4 (Days 1-28)	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
Weeks 5-8 (Days 29-56)	Pre	0	0	0	0	0	0	0	1.3
	S1	0	0	0	0	0	0	0.7	1.7
Weeks 9-13 (Days 57-91)	Pre	0	0	0	0	0	0	29.0	16.7
	S1	0	0	0	0	0	0	29.0	16.8
Mean Total Number of Observations									
	Pre	0	0	0	0	0	0	29.0	18.0
	S1	0	0	0	0	0	0	29.7	18.5
Recovery Period									
Week 1-2 (Days 1-14)		0	0	NA	NA	0	0	7.0	13.0
Week 3-4 (Days 15-28)		0	0	NA	NA	0	0	0	0
Mean Total Number of Observations		0	0	NA	NA	0	0	7.0	13.0
Body Weight (kg)									
Dosing Period									
Pre-treatment		4.535	3.387	4.490	3.355	4.533	3.377	4.612	3.530
Week 4		4.688	3.422	4.680	3.348	4.560	3.430	4.700	3.522
Week 13		4.887	3.578	4.938	3.385	4.665	3.503	4.778	3.672
Recovery Period									
Week 2		5.370	3.595	NA	NA	5.210	3.770	4.840	3.665
Week 4		5.440	3.645	NA	NA	5.265	3.715	4.880	3.705
Food Consumption (g/day)									
Dosing Period									
Pre-treatment		106.30	104.55	108.00	96.43	107.15	103.72	108.00	106.87
Week 4		108.00	107.85	108.00	105.65	108.00	103.85	108.00	105.85
Week 13		104.57	94.98	106.28	94.70	102.58	91.00	103.43	99.98
Recovery Period									
Week 2		100.70	90.40	NA	NA	108.00	102.85	108.00	108.00
Week 4		97.30	105.00	NA	NA	95.15	90.45	95.55	105.45
Water Consumption (mL/day)									
Dosing Period									
Pre-treatment		361.7	316.7	372.5	297.5	350.0	275.0	341.7	405.0

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Week 4	345.0	368.3	352.5	272.5	318.3	253.3	383.3	346.7
Week 13	465.0	503.3	542.5	302.5	365.0	300.0	420.0	446.7
Recovery Period								
Week 4	695.0	365.0	NA	NA	415.0	205.0	715.0	580.0
Ophthalmoscopy								
Gross Examination								
Tunica Conjunctiva, Hyperemia of the Palpebral Conjunctiva								
Pre-treatment	N	N	N	N	N	N	N	N
Week 13	N	N	N	N	N	N	P (6)	P (3)
Recovery Week 4	N	N	NA	NA	N	N	P (2)	P (2)
Slit-Lamp Examination								
Tunica Conjunctiva, Hyperemia of the Palpebral Conjunctiva								
Pre-treatment	N	N	N	N	N	N	N	N
Week 13	N	N	N	N	N	N	P (6)	P (3)
Recovery Week 4	N	N	NA	NA	N	N	P (2)	P (2)
Electrocardiography								
Heart Rate (beats/min)								
Pre-treatment	224.7	216.0	245.3	229.8	236.5	221.2	212.3	231.7
Week 4	213.7	225.3	216.3	220.0	194.7	200.8	193.0	220.3
Week 13	203.3	222.5	215.3	221.8	214.2	194.7	163.3	192.8
Recovery Week 4	188.5	212.0	NA	NA	220.5	209.5	149.0	211.5
Interval P-R (ms)								
Pre-treatment	81.7	79.3	74.5	75.3	77.2	80.7	80.5	77.0
Week 4	83.5	77.8	84.3	80.0	85.3	83.7	85.7	77.7
Week 13	89.8	82.3	81.8	82.5	89.3	87.3	96.3	82.3
Recovery Week 4	90.0	82.5	NA	NA	88.5	88.5	101.0	84.5
Interval QT (ms)								
Pre-treatment	172.0	178.0	163.8	177.5	166.0	175.2	179.5	172.5
Week 4	177.7	176.2	174.5	181.3	182.0	188.5	187.7	180.2
Week 13	184.5	178.0	177.3	180.3	176.2	189.0	210.0	194.2
Recovery Week 4	191.0	191.0	NA	NA	178.5	182.0	210.5	182.5

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Interval QTc (Bazett's formula)								
Pre-treatment	332.3	337.3	330.5	346.8	328.5	335.0	337.2	338.5
Week 4	333.8	341.3	329.0	347.0	325.2	342.5	336.3	344.0
Week 13	338.7	342.0	333.8	346.5	330.7	337.5	345.2	346.0
Recovery Week 4	338.0	359.0	NA	NA	340.0	337.0	332.0	341.5
Urinalysis	--	--	--	--	--	--	--	--
Hematology								
WBC ($10^3/\mu L$)								
Pre-treatment	8.832	8.055	9.733	7.605	8.695	9.000	7.565	12.573
Week 4	8.818	16.482	15.113	6.688	10.250	13.223	10.690	7.168
Week 8	8.898	7.313	8.190	12.653	7.290	9.790	6.012	14.737
Week 13	7.797	7.973	9.748	8.215	9.203	9.672	5.382	8.030
Recovery Week 2	10.360	6.505	NA	NA	9.220	9.770	6.415	7.980
Recovery Week 4	10.390	8.670	NA	NA	9.460	12.940	7.310	10.140
RBC ($10^6/\mu L$)								
Pre-treatment	5.212	5.315	5.280	5.395	5.463	5.475	5.318	5.160
Week 4	5.233	5.172	5.510	5.378	6.423	6.227	7.628	7.035
Week 8	5.462	5.400	5.718	5.530	6.992	6.662	8.737	7.893
Week 13	5.678	5.578	6.128	5.698	7.570	7.197	9.323	8.832
Recovery Week 2	5.365	5.570	NA	NA	7.365	6.610	9.140	8.255
Recovery Week 4	5.505	5.530	NA	NA	7.190	6.140	9.050	7.700
Hb (g/dL)								
Pre-treatment	12.90	12.38	13.10	13.03	13.20	12.73	13.27	12.52
Week 4	12.93	12.55	14.00	13.73	16.40	15.63	20.55	18.63
Week 8	13.62	13.02	14.70	13.85	17.72	16.68	22.98	20.85
Week 13	14.08	13.32	15.78	14.45	18.78	17.80	24.10	22.67
Recovery Week 2	13.20	12.70	NA	NA	18.25	16.35	22.70	21.25
Recovery Week 4	13.75	13.15	NA	NA	17.70	15.25	22.05	19.85
Ht (%)								
Pre-treatment	41.52	40.45	41.93	43.50	43.35	42.27	41.95	41.12
Week 4	42.75	40.45	45.48	45.20	53.75	52.27	69.70	62.97
Week 8	44.35	42.03	47.28	45.80	58.00	54.98	77.10	68.82
Week 13	44.63	42.43	49.48	46.43	60.68	57.72	78.18	74.52
Recovery Week 2	43.85	41.80	NA	NA	59.15	52.95	74.60	66.00

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals (): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Recovery Week 4	45.30	41.55	NA	NA	56.50	47.80	71.90	60.95
MCV (fL)								
Pre-treatment	79.70	76.28	79.38	80.75	79.32	77.30	78.97	79.72
Week 4	81.68	78.28	82.68	84.08	83.62	84.05	91.57	89.60
Week 8	81.23	77.88	82.83	82.90	82.90	82.65	88.53	87.27
Week 13	78.70	76.18	80.88	81.53	80.12	80.32	83.98	84.55
Recovery Week 2	81.80	75.10	NA	NA	80.30	79.85	82.10	80.10
Recovery Week 4	82.20	75.10	NA	NA	78.55	77.60	79.90	79.35
MCH (pg)								
Pre-treatment	24.77	23.30	24.78	24.23	24.17	23.28	24.95	24.25
Week 4	24.73	24.32	25.48	25.58	25.50	25.13	27.00	26.52
Week 8	24.97	24.15	25.80	25.13	25.33	25.10	26.37	26.43
Week 13	24.83	23.93	25.80	25.43	24.83	24.73	25.93	25.70
Recovery Week 2	24.65	22.80	NA	NA	24.80	24.65	24.90	25.80
Recovery Week 4	24.95	23.85	NA	NA	24.60	24.80	24.55	25.90
MCHC (g/dL)								
Pre-treatment	31.10	30.58	31.20	30.03	30.47	30.10	31.60	30.45
Week 4	30.28	31.10	30.78	30.43	30.52	29.92	29.50	29.60
Week 8	30.75	31.02	31.15	30.30	30.55	30.35	29.80	30.30
Week 13	31.55	31.43	31.90	31.18	30.97	30.85	30.87	30.42
Recovery Week 2	30.20	30.40	NA	NA	30.90	30.90	30.40	32.20
Recovery Week 4	30.35	31.70	NA	NA	31.30	32.00	30.65	32.60
Platelets ($10^3/\mu L$)								
Pre-treatment	442.2	462.7	417.0	464.3	431.8	427.2	332.7	493.3
Week 4	445.8	462.7	378.3	417.0	414.0	420.0	349.8	423.0
Week 8	428.2	433.7	346.8	424.5	351.3	373.5	222.7	354.8
Week 13	395.2	429.0	327.5	435.5	322.7	359.8	181.0	295.7
Recovery Week 2	342.0	444.5	NA	NA	314.0	417.0	214.5	377.5
Recovery Week 4	358.5	420.5	NA	NA	298.5	408.0	199.0	286.5
Ret Ratio (%)								
Pre-treatment	1.05	1.28	1.08	1.28	1.20	1.30	1.10	1.32
Week 4	1.78	1.92	2.03	1.83	2.50	3.32	4.68	4.37
Week 8	1.18	1.15	1.48	1.28	1.80	1.72	2.05	2.42
Week 13	0.73	0.98	1.08	1.05	1.53	1.67	1.88	1.87

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Recovery Week 2	1.25	1.95	NA	NA	0.15	0.90	0.15	0.20
Recovery Week 4	1.20	1.15	NA	NA	0.10	0.90	0.15	0.10
Ret Count (10^9/L)								
Pre-treatment	54.48	66.60	56.95	67.60	65.95	71.97	57.53	68.27
Week 4	94.28	99.33	112.43	97.98	161.47	209.30	358.72	306.47
Week 8	64.90	62.48	84.80	69.88	124.15	113.30	181.55	193.23
Week 13	42.13	55.13	65.45	59.50	115.92	122.27	179.15	164.62
Recovery Week 2	69.20	108.85	NA	NA	13.25	56.20	11.55	15.10
Recovery Week 4	66.50	62.80	NA	NA	9.50	52.40	12.15	9.25
Monocyte (10^3/μL)								
Pre-treatment	0.267	0.195	0.180	0.198	0.237	0.215	0.217	0.275
Week 4	0.265	0.258	0.235	0.158	0.298	0.363	0.410	0.262
Week 8	0.278	0.200	0.230	0.250	0.345	0.353	0.490	0.458
Week 13	0.233	0.212	0.270	0.233	0.473	0.347	0.538	0.653
Recovery Week 2	0.465	0.160	NA	NA	0.415	0.380	0.390	0.385
Recovery Week 4	0.425	0.255	NA	NA	0.460	0.510	0.405	0.495
PT (s)								
Pre-treatment	10.72	10.83	10.78	10.93	10.73	10.85	10.47	11.05
Week 4	11.08	10.67	11.30	11.08	11.90	11.22	16.13	13.00
Week 8	10.98	10.67	10.88	10.95	12.70	11.23	48.50	16.45
Week 13	11.30	10.98	11.08	11.33	12.67	11.50	87.85	50.13
Recovery Week 2	10.75	11.30	NA	NA	11.95	11.55	14.30	14.60
Recovery Week 4	10.90	11.05	NA	NA	12.20	11.25	14.55	13.30
APTT (s)								
Pre-treatment	17.65	18.85	18.28	19.33	17.18	17.65	18.37	18.47
Week 4	17.67	18.05	18.30	18.90	18.72	18.30	33.52	23.05
Week 8	19.47	19.75	22.00	21.73	22.48	20.63	77.63	31.37
Week 13	19.52	19.67	19.98	20.83	26.33	21.27	212.33	90.45
Recovery Week 2	19.25	19.70	NA	NA	20.65	19.05	31.40	28.45
Recovery Week 4	19.85	19.60	NA	NA	21.45	19.75	36.40	24.05
Fibrinogen (mg/dL)								
Pre-treatment	165.53	160.97	186.03	161.05	181.63	167.48	172.05	159.95
Week 4	149.80	151.77	170.45	136.20	156.08	133.08	117.77	111.40
Week 8	150.92	137.63	176.98	135.35	148.77	121.08	104.42	100.92

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Week 13	158.18	151.98	166.70	137.48	225.85	159.50	102.62	99.50
Recovery Week 2	174.15	134.00	NA	NA	159.35	133.40	148.45	95.60
Recovery Week 4	185.85	165.70	NA	NA	147.20	203.80	152.60	83.25
D-dimer (μg/mL)								
Pre-treatment	0.92	0.90	0.68	0.43	0.87	0.35	0.62	0.37
Week 2	1.28	1.12	1.05	0.58	1.50	0.73	3.17	0.85
Week 4	1.20	0.75	0.70	0.60	0.70	0.72	0.88	0.98
Week 6	0.87	0.38	0.65	0.48	1.13	1.08	0.97	1.88
Week 8	0.97	0.55	0.80	0.63	0.80	0.95	1.73	1.05
Week 10	0.98	0.52	0.55	0.73	1.03	0.82	2.15	1.17
Week 13	0.92	0.55	0.80	0.63	5.90	1.10	1.37	0.90
Recovery Week 2	1.60	0.40	NA	NA	0.45	0.55	0.60	1.05
Recovery Week 4	1.15	0.30	NA	NA	0.20	0.45	0.50	0.90
PIC (μg/mL)								
Pre-treatment	0.197	0.178	0.170	0.558	0.210	0.183	0.362	0.192
Week 2	0.853	0.247	0.243	0.175	0.255	0.130	0.725	0.242
Week 4	0.163	0.167	0.135	0.155	0.167	0.137	0.758	0.182
Week 6	0.158	0.133	0.145	0.155	0.193	0.157	2.692	0.220
Week 8	0.153	0.205	0.455	0.185	0.183	0.237	1.008	0.305
Week 10	0.335	0.155	0.148	0.160	0.478	0.423	3.790	0.355
Week 13	0.120	0.107	0.193	0.113	0.657	0.142	1.283	0.360
Recovery Week 2	0.705	0.075	NA	NA	0.770	0.140	1.480	0.090
Recovery Week 4	0.150	0.160	NA	NA	0.150	0.210	0.325	1.255
Erythrocyte Morphology [b]								
Color Hypochromatic								
Pre-treatment	–: 6	–: 6	–: 4	–: 4	–: 6	–: 6	–: 6	–: 6
Week 2	–: 6	–: 6	–: 4	–: 4	–: 6	–: 6	–: 6	–: 6
Week 6	–: 6	–: 6	–: 4	–: 4	–: 6	–: 5 +: 1	–: 6	–: 5 +: 1
Week 13	–: 6	–: 6	–: 4	–: 4	–: 5 +: 1	–: 6	–: 6	–: 6

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Recovery Week 4	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 2	–: 2
Color Polychromatic								
Pre-treatment	–: 6	–: 6	–: 4	–: 4	–: 6	–: 6	–: 6	–: 6
Week 2	–: 6	–: 6	–: 4	–: 4	–: 6	–: 6	–: 2 +: 4	–: 6
Week 13	–: 6	–: 6	–: 4	–: 4	–: 6	–: 6	–: 6	–: 6
Recovery Week 4	–: 2	–: 2	NA	NA	–: 2	–: 2	–: 2	–: 2
Blood Chemistry								
AST (IU/L)								
Pre-treatment	25.0	30.8	36.8	37.5	31.2	27.3	44.0	27.0
Week 4	23.3	33.5	24.5	25.5	29.5	26.0	47.0	35.5
Week 13	21.2	28.3	23.3	27.3	22.7	26.8	44.8	34.8
Recovery Week 4	24.5	20.5	NA	NA	24.0	28.0	41.5	39.0
ALT (IU/L)								
Pre-treatment	42.0	54.7	64.5	50.5	44.7	38.5	61.0	35.3
Week 4	29.0	53.3	27.3	38.8	34.0	40.2	60.5	44.5
Week 13	30.0	42.5	32.5	45.3	28.8	41.5	58.2	50.7
Recovery Week 4	41.0	51.5	NA	NA	30.5	32.0	37.0	51.0
LDH (IU/L)								
Pre-treatment	296.3	247.5	284.8	329.5	308.7	237.0	307.3	287.7
Week 4	259.0	226.7	245.3	273.0	356.5	274.3	529.2	408.8
Week 13	210.2	212.0	228.3	245.0	295.8	243.5	606.0	451.0
Recovery Week 4	192.5	186.5	NA	NA	223.5	198.5	400.0	393.0
T-Bil (mg/dL)								
Pre-treatment	0.113	0.113	0.138	0.103	0.087	0.095	0.138	0.088
Week 4	0.088	0.068	0.110	0.070	0.085	0.065	0.133	0.078
Week 13	0.105	0.060	0.085	0.073	0.097	0.078	0.230	0.113
Recovery Week 4	0.090	0.075	NA	NA	0.120	0.075	0.255	0.135
Albumin (g/dL)								
Pre-treatment	3.92	3.85	3.98	3.95	3.97	3.77	4.08	3.87

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Week 4	3.85	3.90	3.90	3.88	3.92	3.68	3.93	3.93
Week 13	4.02	3.80	3.90	3.70	3.75	3.55	3.65	3.77
Recovery Week 4	3.90	3.60	NA	NA	3.80	3.50	3.65	3.90
A/G								
Pre-treatment	1.212	1.123	1.138	1.228	1.145	1.102	1.167	1.092
Week 4	1.192	1.160	1.088	1.283	1.063	1.130	1.010	1.122
Week 13	1.188	1.128	1.133	1.178	0.987	1.032	1.007	1.052
Recovery Week 4	1.155	1.080	NA	NA	1.205	1.095	0.975	1.190
PL (mg/dL)								
Pre-treatment	158.2	194.3	169.8	178.0	167.7	193.5	188.7	183.5
Week 4	158.3	186.0	157.8	159.3	144.5	154.5	144.2	126.0
Week 13	169.5	190.2	165.8	155.5	149.0	163.7	125.3	126.7
Recovery Week 4	174.5	191.5	NA	NA	169.5	203.0	162.0	165.0
TGL (mg/dL)								
Pre-treatment	29.2	32.5	30.3	27.8	30.3	26.0	33.0	38.2
Week 4	24.5	33.5	23.3	29.0	26.5	32.7	41.7	44.8
Week 13	36.5	33.5	31.3	30.3	36.5	36.0	53.8	59.0
Recovery Week 4	48.0	31.0	NA	NA	36.0	29.0	46.0	45.0
T-CH (mg/dL)								
Pre-treatment	111.8	123.5	120.5	130.0	109.3	133.7	119.3	119.8
Week 4	108.8	117.7	105.8	106.0	88.2	94.8	75.7	75.2
Week 13	117.2	119.5	108.5	103.8	91.0	97.0	64.3	69.5
Recovery Week 4	116.0	112.0	NA	NA	111.5	126.5	92.0	96.0
Glucose (mg/dL)								
Pre-treatment	89.7	81.8	94.0	96.3	92.7	82.3	88.8	94.3
Week 4	76.2	82.7	82.5	85.0	85.8	79.5	70.7	75.7
Week 13	79.3	80.3	95.5	80.8	87.5	73.5	63.5	74.3
Recovery Week 4	94.0	82.5	NA	NA	76.0	93.0	85.0	109.0
Creatinine (mg/dL)								
Pre-treatment	0.695	0.705	0.730	0.683	0.707	0.613	0.752	0.665
Week 4	0.770	0.683	0.840	0.660	0.762	0.650	0.990	0.735
Week 13	0.828	0.720	0.835	0.685	0.815	0.692	0.983	0.837
Recovery Week 4	0.825	0.665	NA	NA	0.730	0.600	0.800	0.575

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
IP (mg/dL)								
Pre-treatment	3.777	2.500	3.510	3.738	3.803	2.987	3.545	2.903
Week 4	4.108	2.367	3.135	3.228	3.333	3.000	3.158	2.670
Week 13	4.173	2.247	3.213	2.845	3.312	2.625	2.673	1.940
Recovery Week 4	2.890	2.760	NA	NA	3.505	2.030	2.750	2.485
Ca (mg/dL)								
Pre-treatment	9.03	8.93	9.05	9.15	9.10	9.13	9.17	9.18
Week 4	8.80	8.78	9.10	8.73	8.93	8.72	9.25	8.93
Week 13	9.38	8.98	9.23	8.85	9.35	8.90	8.97	8.95
Recovery Week 4	8.90	8.55	NA	NA	8.80	8.75	8.70	8.70
K (mmol/L)								
Pre-treatment	4.37	3.65	4.03	4.00	4.05	3.78	3.97	3.70
Week 4	3.95	3.50	3.90	3.60	3.98	3.67	4.45	3.75
Week 13	3.98	3.65	3.95	3.55	4.28	3.68	4.78	4.05
Recovery Week 4	4.30	3.60	NA	NA	4.70	3.50	4.25	3.85
Fe (μg/dL)								
Pre-treatment	150.47	136.53	164.28	147.85	137.82	151.50	154.50	142.42
Week 4	194.52	153.60	309.50	242.03	344.82	261.67	279.50	372.63
Week 13	179.52	162.70	269.90	260.68	226.43	198.05	256.77	237.87
Recovery Week 4	232.40	175.90	NA	NA	227.25	122.55	267.70	293.30
UIBC (μg/dL)								
Pre-treatment	227.13	184.62	195.20	197.38	224.15	170.10	193.77	245.00
Week 4	192.18	180.67	111.00	124.70	84.47	105.85	143.55	72.13
Week 13	214.20	173.73	137.58	110.33	177.62	177.48	145.12	213.80
Recovery Week 4	137.55	137.75	NA	NA	79.40	167.30	28.40	46.80
LA (mg/dL)								
Pre-treatment	92.88	61.22	78.30	96.33	95.12	56.23	76.05	60.23
Week 4	48.77	38.32	53.63	54.38	67.10	38.13	70.87	48.97
Week 13	51.03	33.52	40.63	63.53	49.17	33.57	41.73	32.65
Recovery Week 4	67.30	23.85	NA	NA	37.75	54.95	37.35	42.80
TIBC (μg/dL)								
Pre-treatment	377.60	321.15	359.48	345.23	361.97	321.60	348.27	387.42
Week 4	386.70	334.27	420.50	366.73	429.28	367.52	423.05	444.77
Week 13	393.72	336.43	407.48	371.00	404.05	375.53	401.88	451.67

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Recovery Week 4	369.95	313.65	NA	NA	306.65	289.85	296.10	340.10
TSAT (%)								
Pre-treatment	40.05	42.93	45.63	42.68	38.02	47.53	44.47	37.72
Week 4	50.52	46.73	73.43	65.35	80.75	71.98	66.08	83.52
Week 13	45.52	48.67	66.63	69.83	55.97	53.77	64.87	52.72
Recovery Week 4	62.50	57.35	NA	NA	75.15	42.50	90.35	86.40
GLDH (U/L)								
Pre-treatment	12.92	22.92	12.05	15.43	14.67	18.90	26.57	15.27
Week 4	12.20	34.75	10.85	18.13	14.37	27.27	43.83	28.63
Week 13	15.02	26.25	16.48	22.98	12.12	33.30	46.07	36.25
Recovery Week 4	17.15	23.50	NA	NA	9.95	14.75	19.00	28.85
Guanase (IU/L)								
Pre-treatment	0.22	0.15	0.15	0.35	0.20	0.22	0.18	0.27
Week 4	0.13	0.48	0.15	0.50	0.32	0.62	0.60	0.97
Week 13	0.13	0.18	0.20	0.28	0.30	0.28	0.55	0.58
Recovery Week 4	0.15	0.20	NA	NA	0.15	0.25	0.30	0.30
PAI-1 (ng/mL)								
Week 1								
Pre-treatment	3.528	3.820	2.998	5.260	2.870	5.615	2.622	9.837
4hr	2.397	4.057	8.530	9.625	17.228	12.312	32.502	16.707
8hr	2.575	3.252	12.078	10.883	32.013	15.770	104.218	50.620
Week 4								
Pre-treatment	2.427	2.442	4.065	3.085	3.077	2.110	6.177	7.970
4hr	2.355	2.448	5.988	6.470	12.560	7.162	21.097	17.263
8hr	3.048	3.035	4.595	4.223	10.870	9.545	28.963	16.000
Week 13								
Pre-treatment	1.972	3.243	6.563	3.055	2.692	2.515	6.440	6.023
4hr	2.323	1.805	3.765	4.098	20.397	4.682	15.425	11.017
8hr	2.618	2.150	4.435	3.355	13.690	4.278	18.062	15.445
Myelogram								
G/E								
End of the Dosing Period	1.525	1.753	1.598	1.493	1.288	1.280*	0.680*	0.753**
End of the Recovery Period	1.530	1.555	NA	NA	3.845	2.295	6.510	8.085

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Gross Pathology [c]								
End of the Dosing Period								
Skin								
Red Discoloration, Around Eye	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 P: 3	–: 4
Lung								
Red Focus	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 P: 1	–: 4
Stomach								
Red Focus, Mucosa, Pylorus	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 P: 1	–: 3 P: 1
Red Focus, Mucosa, Stomach Body	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 P: 1	–: 3 P: 1
Jejunum								
Red Discoloration, Mucosa	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 2 P: 2	–: 4
Pancreas								
Red Discoloration	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 P: 3	–: 3 P: 1
Kidney								
Red Discoloration	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 P: 1
Liver								
Accentuated Lobular Pattern	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 P: 1	–: 4	–: 4	–: 4
Cerebrum								
Red Discoloration	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 P: 3	–: 4
Cerebellum								
Red Discoloration	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 P: 3	–: 4
Skeletal Muscle								
Red Discoloration, Hindlimb, Left	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 P: 1	–: 4

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Submandibular Gland Red Discoloration	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 P: 1	–: 4
End of the Recovery Period	--	--	NA	NA	--	--	--	--
Organ Weight								
End of the Dosing Period								
Heart (g)	14.13	11.65	15.13	12.53	13.15	10.93	15.50	12.00
(g/kg B.W.)	2.980	3.385	3.050	3.723	3.003	3.200	3.223	3.253
End of the Recovery Period								
Heart (g)	16.10	11.60	NA	NA	16.30	12.55	17.25	11.60
(g/kg B.W.)	3.020	3.280	NA	NA	3.145	3.370	3.560	3.225
Histopathology [d]								
End of the Dosing Period								
Adrenal								
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 2 ±: 2	–: 4
Bone Marrow (Femoral, left)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 4	–: 1 +: 2 2+: 1	–: 1 +: 2 2+: 1
Bone Marrow (Sternal)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 3 ±: 1	–: 0 ±: 1 +: 2 2+: 1	–: 0 +: 3 2+: 1
Cerebellum								
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 ±: 3	–: 3 ±: 1
Cerebrum (Diencephalon)								
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 ±: 3	–: 3 ±: 1
Foamy Cell, Vascular Lumen/Wall, Colloid Plexus	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 4

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Cerebrum (Parietal lobe)								
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 ±: 3	–: 3 ±: 1
Cerebrum (Temporal lobe)								
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 ±: 3	–: 3 ±: 1
Heart (Atrium to ventricle, left)								
Hemorrhage, Coronary Adipose Tissue	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1
Inflammatory Cell Infiltration, Coronary Adipose Tissue	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1
Heart (Septum, interventricular)								
Thrombosis, Organized, Aorta	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 +: 1	–: 4
Jejunum								
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 2 ±: 1 +: 1	–: 4
Erosion/Ulcer, Mucosa	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 2 ±: 2	–: 4
Hemorrhage, Mucosa/Submucosa	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 2 ±: 1 +: 1	–: 4
Kidney								
Brown Pigment Deposition, Proximal Tubule	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 4
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 2 ±: 2	–: 3 ±: 1
Liver (Left lobe, right central lobe)								
Atrophy, Hepatocyte, Centrilobular	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 2 ±: 2	–: 4	–: 4	–: 4
Congestion, Centrilobular	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 2 +: 2	–: 4	–: 2 ±: 2	–: 3 ±: 1

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Mononuclear Cell Infiltration, Capsule	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 4	–: 4	–: 4
Medulla Oblongata								
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 ±: 3	–: 4
Pancreas (Head)								
Atrophy, Acinar Cell, Focal	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 ±: 1 +: 2	–: 4
Pancreas (Tail)								
Atrophy, Acinar Cell, Focal	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 2 +: 2	–: 4
Pituitary								
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 3 ±: 1
Pons								
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 ±: 3	–: 4
Skeletal Muscle (Gross lesion) (number of animal examined) Fibrosis Hemorrhage Hemosiderosis	NA: 4	NA: 4	NA: 4	NA: 4	NA: 4	NA: 4	NA: 3 (1) +: 1 2+: 1 ±: 1	NA: 4
Spinal Cord (Thoracic)								
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 ±: 3	–: 3 ±: 1
Stomach (Body)								
Chronic Gastritis	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 +: 1
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 +: 1	–: 3 ±: 1[e]
Erosion/Ulcer, Mucosa	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 4

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Gender: Number of Animals ( ): Number of Animals for the Recovery Study	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**	**M: 6 (2)**	**F: 6 (2)**
Hemorrhage, Mucosa/Submucosa	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 +: 1	–: 3 +: 1[e]
Inflammatory Cell Infiltration, Mucosa/Submucosa	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 4
Stomach (Pylorus)								
Congestion	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 +: 1	–: 3 ±: 1
Erosion/Ulcer, Mucosa	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 +: 1	–: 3 ±: 1
Hemorrhage, Mucosa/Submucosa	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 +: 1	–: 3 ±: 1
End of the Recovery Period Noteworthy Findings	--	--	NA	NA	--	--	--	--

M: Male, F: Female, --: No noteworthy findings, NA: Not applicable, ND: Not detected, NC: Not calculated, Statistical significance: ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$

[a] Footnotes for Clinical signs: Pre: Before dosing, S1: Approximately 1 hour after dosing. Incidence of each finding is represented as the mean number of days in the group that the finding was observed.

[b] Criteria for Grading Erythrocyte Morphology: –: no abnormal changes, +: slight

[c] Criteria for Grading Macroscopic Findings: –: no abnormal findings, P: non-graded finding

[d] Criteria for Grading Microscopic Findings: –: no abnormal changes, ±: very slight, +: slight, 2+: moderate, 3+: severe

[e] The findings were observed in the gross lesion in the Stomach body from one female at 30 mg/kg.

2.6.7.7.I Nine-Month Oral Dose Toxicity Study: Cynomolgus Monkey

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.2-11
Report Title: Nine-Month Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Cynomolgus Monkeys		**Report/Study No. JTZ951-TX-041/[redacted]-065**
Species / Cynomolgus Monkey	Duration of Dosing: 39 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 4 - 7 years	Duration of Postdose: Not applicable	GLP Compliance: Yes
Initial Body Weight: 4.97 – 7.39 kg (M), 3.38 – 4.22 kg (F)		
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted] (M) [redacted], 20[redacted] (F)	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Dosing at the highest dose level (30/10 mg/kg) was as follows: dosing at 30 mg/kg for up to weeks 8 to 12, withdrawal of the compound for up to week 16, dosing at10 mg/kg from week 17 to the end of the dosing period.		
No Observed Adverse Effect Level: 3 mg/kg/day		

M: Male, F: Female

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**1**		**3**		**30/10**	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Toxicokinetics: JTZ-951								
t_{max} (hr)								
Day 1	NA	NA	0.8	0.8	0.9	0.6	1.3	1.5
Day 42 (F)/ 49 (M)	NA	NA	0.6	0.6	0.9	0.5	4.0	2.3
Day 91	NA	NA	0.6	0.6	0.8	0.6	NA	NA
Day 113	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.8	0.8
Day 273	NA	NA	0.6	0.5	0.8	0.6	1.6	0.9
C_{max} (μg/mL)								
Day 1	NA	NA	1.480	2.803	8.320	8.409	53.186	89.070
Day 42 (F)/ 49 (M)	NA	NA	1.223	1.594	5.402	6.579	46.323	70.634
Day 91	NA	NA	0.729	1.293	9.200	5.525	NA	NA
Day 113	NA	NA	NA	NA	NA	NA	13.884	19.295
Day 273	NA	NA	1.331	2.229	9.368	5.493	15.420	30.588
$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	3.731	10.464	22.189	21.972	215.173	300.223
Day 42 (F)/ 49 (M)	NA	NA	2.605	6.022	17.064	10.555	203.235	344.986
Day 91	NA	NA	1.909	2.967	19.614	11.279	NA	NA
Day 113	NA	NA	NA	NA	NA	NA	34.965	37.696
Day 273	NA	NA	3.294	5.604	24.937	22.700	51.716	83.443

Dose Level: (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**1**		**3**		**30/10**	
Gender: Number of Animals		**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
C_{24} (µg/mL)									
Day 1		0.000	0.000	0.000	0.039	0.037	0.020	0.197	0.111
Day 42 (F)/ 49 (M)		NA	NA	0.010	0.035	0.022	0.008	0.218	0.145
Day 91		0.000	0.000	0.006	0.014	0.055	0.005	NA	NA
Day 113		NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.048	0.027
Day 273		0.000	0.000	0.000	0.021	0.059	0.024	0.217	0.059
Noteworthy Findings									
Clinical Observations									
Death or Moribund Sacrifice		0	0	0	0	0	0	0	0
Reddening Skin (total incidence during the dosing period)									
Weeks 0-16	Pre	0	0	0	0	0	0	247	226
	S1	0	0	0	0	0	0	247	228
	S2	0	0	0	0	0	0	6	3
Weeks 17-39	Pre	0	0	0	0	0	0	31	124
	S1	0	0	0	0	0	0	30	122
	S2	0	0	0	0	0	0	0	0
Total Incidence of Reddening Skin		0	0	0	0	0	0	Pre +: 278 S1+: 277 S2+: 6	Pre +: 350 S1+: 350 S2+: 3
Reddish Oral Mucosa (total incidence during the dosing period)									
Weeks 0-16	Pre	0	0	0	0	0	0	271	272
	S1	0	0	0	0	0	0	271	273
	S2	0	0	0	0	0	0	6	3
Weeks 17-39	Pre	0	0	0	0	0	0	36	126
	S1	0	0	0	0	0	0	35	124
	S2	0	0	0	0	0	0	0	0
Total Incidence of Reddish Oral Mucosa		0	0	0	0	0	0	Pre +: 307 S1+: 306 S2+: 6	Pre +: 398 S1+: 397 S2+:3
Reddish Conjunctiva (total incidence during the dosing period)									
Weeks 0-16	Pre	0	0	0	0	0	0	170	183
	S1	0	0	0	0	0	0	170	184

Dose Level: (mg/kg/day)		0 (Control)		1		3		30/10	
Gender: Number of Animals		M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
	S2	0	0	0	0	0	0	6	3
Weeks 17-39	Pre	0	0	0	0	0	0	29	126
	S1	0	0	0	0	0	0	29	124
	S2	0	0	0	0	0	0	0	0
Total Incidence of Reddish Conjunctiva		0	0	0	0	0	0	Pre +: 199 S1+: 199 S2+: 6	Pre +: 309 S1+: 308 S2+: 3
Decrease in Spontaneous Activity (total incidence during the dosing period)									
Weeks 0-16	Pre	0	0	0	0	0	0	52	2
	S1	0	0	0	0	0	0	52	2
	S2	0	0	0	0	0	0	2	0
Weeks 17-39	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
	S2	0	0	0	0	0	0	0	0
Total Incidence of Decrease in Spontaneous Activity		0	0	0	0	0	0	Pre +: 52 S1+: 52 S2+: 2	Pre +: 2 S1+: 2 S2+: 0
Abnormal Stool Color (total incidence during the dosing period)									
Weeks 0-16	Pre	0	0	0	0	0	0	17	1
	S1	0	0	0	0	0	0	9	1
	S2	0	0	0	0	0	0	1	0
Weeks 17-39	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
	S2	0	0	0	0	0	0	0	0
Total Incidence of Abnormal Stool Color		0	0	0	0	0	0	Pre +: 17 S1+: 9 S2+: 1	Pre +: 1 S1+: 1 S2+: 0
No Stool (total incidence during the dosing period)									
Weeks 0-16	Pre	0	0	0	0	0	0	7	1
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
	S2	0	0	0	0	0	0	0	0
Weeks 17-39	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
	S2	0	0	0	0	0	0	0	0

Dose Level: (mg/kg/day)		0 (Control)		1		3		30/10	
Gender: Number of Animals		**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Total Incidence of No Stool		0	0	0	0	0	0	Pre +: 7 S1+: 0 S2+: 0	Pre +: 1 S1+: 0 S2+: 0
Vomiting (total incidence during the dosing period)									
Weeks 0-16	Pre	0	0	0	0	0	0	20	1
	S1	0	0	0	0	0	0	5	1
	S2	0	0	0	0	0	0	6	1
Weeks 17-39	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
	S2	0	0	0	0	0	1	0	0
Total Incidence of Vomiting		0	0	0	0	0	Pre +: 0 S1+: 0 S2+: 1	Pre +: 20 S1+: 5 S2+: 6	Pre +: 1 S1+: 1 S2+: 1
Paralysis of the Fore Leg (total incidence during the dosing period)									
Weeks 0-16	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
	S2	0	0	0	0	0	0	0	2
Weeks 17-39	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
	S2	0	0	0	0	0	0	0	0
Total Incidence of Paralysis of the Fore Leg		0	0	0	0	0	0	0	Pre +: 0 S1+: 0 S2+: 2
Paralysis of the Hind Leg (total incidence during the dosing period)									
Weeks 0-16	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
	S2	0	0	0	0	0	0	0	2
Weeks 17-39	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
	S2	0	0	0	0	0	0	0	0
Total Incidence of Paralysis of the Hind Leg		0	0	0	0	0	0	0	Pre +: 0 S1+: 0 S2+: 2

Dose Level: (mg/kg/day)		0 (Control)		1		3		30/10	
Gender: Number of Animals		**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Abnormal Eye (position of pupils to the left) (total incidence during the dosing period)									
Weeks 0-16	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
	S2	0	0	0	0	0	0	0	1
Weeks 17-39	Pre	0	0	0	0	0	0	0	0
	S1	0	0	0	0	0	0	0	0
	S2	0	0	0	0	0	0	0	0
Total Incidence of Abnormal Eye		0	0	0	0	0	0	0	Pre +: 0 S1+: 0 S2+: 1
Body Weight (kg)									
Pre-treatment		5.840	3.680	6.300	3.698	6.110	3.668	6.055	3.813
Week 6		5.778	3.668	6.363	3.743	6.018	3.638	5.980	3.840
Week 10		5.870	3.788	6.540	3.565	5.978	3.523	5.165	3.690
Week 13		5.978	3.885	6.485	3.573	6.008	3.620	5.533	3.725
Week 16		6.088	4.005	6.650	3.840	6.243	3.713	5.925	4.000
Week 39		6.798	4.400	6.983	4.145	6.860	3.815	6.620	4.375
Food Consumption (g/day)									
Pre-treatment		105.85	72.85	106.08	85.50	103.93	82.70	104.15	94.08
Week 6		108.00	97.08	108.00	97.28	108.00	100.50	106.90	100.30
Week 10		108.00	95.58	108.00	96.43	108.00	100.08	73.70	77.35
Week 13		103.28	93.00	103.50	93.45	94.70	99.65	98.78	94.30
Week 16		108.00	105.43	108.00	106.28	108.00	103.73	108.00	107.78
Week 39		95.78	88.50	102.43	95.80	95.15	97.48	99.88	101.78
Ophthalmoscopy									
Gross Examination									
Tunica Conjunctiva, Hyperemia									
Pre-treatment		N	N	N	N	N	N	N	N
Week 13		N	N	N	N	N	N	N	N
Week 39		N	N	N	N	N	N	N	P (2)
Slit-Lamp Examination									
Tunica Conjunctiva, Hyperemia									
Pre-treatment		N	N	N	N	N	N	N	N
Week 13		N	N	N	N	N	N	N	N

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		30/10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Week 39	N	N	N	N	N	N	N	P (2)
Hematology								
RBC (10^6/μL)								
Pre-treatment	5.455	5.748	5.325	5.613	5.345	5.655	5.470	5.705
Week 4	5.335	5.578	5.388	5.628	5.750	5.645	7.675	7.870
Week 6	5.308	5.348	5.328	5.388	5.638	5.368	8.315	8.150
Week 8	5.125	5.303	5.180	5.465	5.765	5.408	9.630	8.555
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	8.545	9.085
Week 13	5.393	5.765	5.448	5.795	6.188	5.903	8.410	8.640
Week 17 (Day 119)	5.280	5.563	5.305	5.610	5.928	5.678	6.080	6.075
Week 26	5.378	5.833	5.453	5.968	6.133	5.673	6.950	7.500
Week 39	5.335	5.933	5.453	5.848	6.108	5.985	7.755	8.520
Hb (g/dL)								
Pre-treatment	14.13	13.65	13.83	13.53	13.83	13.60	14.25	13.65
Week 4	13.90	13.13	14.05	13.65	15.00	13.58	21.68	20.15
Week 6	13.75	12.73	13.83	13.15	14.78	13.08	23.15	21.00
Week 8	13.43	12.80	13.63	13.60	15.30	13.43	26.65	21.90
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	22.85	22.50
Week 13	14.20	13.93	14.63	14.45	16.45	14.73	22.40	21.50
Week 17 (Day 119)	13.83	13.33	13.93	13.90	15.63	14.00	15.50	14.25
Week 26	14.48	14.08	14.68	15.08	16.53	14.38	19.70	19.15
Week 39	13.73	13.83	14.05	14.03	15.80	14.45	20.45	20.45
Ht (%)								
Pre-treatment	45.55	44.90	44.13	44.05	45.33	45.78	45.30	44.45
Week 4	44.10	44.18	44.40	45.83	50.83	46.00	72.33	69.80
Week 6	44.50	42.10	44.28	43.28	49.05	44.50	78.68	71.48
Week 8	42.43	42.35	42.75	43.75	50.15	44.85	86.25	74.35
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	72.60	74.30
Week 13	43.73	44.55	44.20	45.33	52.55	47.53	70.15	69.85
Week 17 (Day 119)	43.98	43.70	43.93	45.30	50.38	46.73	49.15	47.65
Week 26	44.10	45.20	44.85	46.90	52.15	46.35	61.00	63.15
Week 39	43.68	45.43	44.93	45.58	51.50	48.78	66.90	68.65
MCV (fL)								
Pre-treatment	83.58	78.60	82.88	78.68	84.75	81.08	82.98	78.05
Week 4	82.63	79.70	82.45	81.60	88.45	81.58	95.18	88.83
Week 6	83.80	79.33	83.15	80.50	86.95	82.88	95.63	87.85

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		30/10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Week 8	82.75	80.50	82.53	80.20	86.95	82.95	91.05	87.00
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	86.08	82.00
Week 13	81.10	77.78	81.13	78.28	84.90	80.60	84.30	80.98
Week 17 (Day 119)	83.38	79.00	82.85	80.90	85.03	82.38	81.73	78.65
Week 26	82.05	78.15	82.23	78.80	85.00	81.73	88.18	83.90
Week 39	81.95	77.13	82.50	78.08	84.38	81.60	86.55	80.45
MCH (pg)								
Pre-treatment	25.90	23.83	26.03	24.20	25.85	24.13	26.10	23.93
Week 4	26.05	23.60	26.08	24.25	26.10	24.05	28.50	25.65
Week 6	25.93	23.95	25.98	24.43	26.20	24.38	28.13	25.78
Week 8	26.15	24.30	26.28	24.93	26.53	24.83	27.95	25.63
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	27.15	24.80
Week 13	26.30	24.33	26.90	24.95	26.60	24.93	26.90	24.88
Week 17 (Day 119)	26.20	24.10	26.23	24.80	26.35	24.70	25.80	23.45
Week 26	26.98	24.30	26.98	25.33	27.00	25.40	28.45	25.58
Week 39	25.75	23.45	25.78	24.00	25.93	24.15	26.50	23.95
MCHC (g/dL)								
Pre-treatment	30.98	30.33	31.40	30.78	30.55	29.75	31.40	30.70
Week 4	31.53	29.68	31.63	29.73	29.50	29.53	29.95	28.90
Week 6	30.90	30.18	31.25	30.35	30.13	29.43	29.43	29.38
Week 8	31.63	30.18	31.85	31.13	30.55	29.95	30.78	29.50
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	31.58	30.28
Week 13	32.45	31.28	33.15	31.90	31.33	30.98	31.98	30.80
Week 17 (Day 119)	31.45	30.48	31.70	30.68	31.03	29.98	31.60	29.85
Week 26	32.90	31.15	32.83	32.15	31.78	31.05	32.30	30.53
Week 39	31.43	30.45	31.23	30.73	30.73	29.60	30.60	29.85
Ret Count ($10^3/\mu L$)								
Pre-treatment	71.90	78.08	54.03	58.98	65.53	54.05	48.08	80.53
Week 4	49.75	84.68	55.90	72.05	102.40	79.75	311.25	380.75
Week 6	66.58	107.10	68.55	113.38	93.20	102.68	242.20	346.58
Week 8	78.73	89.45	75.93	50.83	85.25	72.80	311.80	268.60
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	27.25	21.30
Week 13	40.93	50.18	38.73	40.55	76.13	49.65	20.55	10.70
Week 17 (Day 119)	62.80	89.70	51.95	81.05	77.60	76.13	171.40	193.75
Week 26	49.48	65.90	55.30	59.53	73.03	60.45	90.05	150.30
Week 39	46.58	59.78	51.53	57.08	88.95	62.10	123.65	256.40

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		30/10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Platelets (10^3/μL)								
Pre-treatment	412.0	411.5	396.5	429.8	441.3	460.3	431.5	397.0
Week 4	392.3	415.0	395.3	434.3	448.0	469.8	384.0	350.0
Week 6	432.3	471.5	428.0	482.8	471.5	470.3	316.5	340.5
Week 8	415.5	437.8	416.3	452.8	419.5	444.0	340.0	302.0
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	326.5	268.0
Week 13	393.5	428.8	390.5	398.8	397.5	427.8	311.5	242.5
Week 17 (Day 119)	398.3	425.8	399.3	440.5	394.5	446.8	429.5	366.0
Week 26	364.3	391.5	390.3	407.8	368.0	408.0	398.5	332.0
Week 39	362.0	401.0	368.0	400.3	359.3	428.8	344.5	303.5
Neutrophil Count (10^3/μL)								
Pre-treatment	3.420	9.040	5.215	3.768	5.063	5.213	3.848	4.350
Week 4	4.258	5.883	5.065	3.940	6.233	6.140	1.728	3.070
Week 6	4.285	5.148	3.693	5.468	4.635	4.665	1.370	3.125
Week 8	3.628	4.848	3.385	3.620	3.688	4.435	NA	NA
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Week 13	4.245	6.648	4.063	4.243	4.220	4.788	NA	NA
Week 17 (Day 119)	3.600	5.098	4.445	4.195	4.295	5.045	NA	NA
Week 26	4.038	5.340	3.843	3.815	4.825	4.713	NA	NA
Week 39	4.673	6.243	3.965	4.533	8.418	5.475	NA	NA
Monocyte count (10^3/μL)								
Pre-treatment	0.375	0.390	0.400	0.318	0.410	0.368	0.350	0.290
Week 4	0.345	0.388	0.453	0.375	0.453	0.435	0.433	0.543
Week 6	0.433	0.328	0.455	0.323	0.418	0.315	0.558	0.463
Week 8	0.308	0.388	0.410	0.375	0.355	0.310	NA	NA
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Week 13	0.323	0.380	0.455	0.345	0.350	0.350	NA	NA
Week 17 (Day 119)	0.333	0.513	0.473	0.453	0.345	0.368	NA	NA
Week 26	0.315	0.445	0.423	0.418	0.443	0.393	NA	NA
Week 39	0.375	0.463	0.483	0.435	0.423	0.383	NA	NA
Prothrombin Time (s)								
Pre-treatment	10.93	10.88	11.10	10.48	10.38	10.53	10.73	10.50
Week 4	11.08	10.53	11.08	10.28	10.38	10.43	15.25	11.85
Week 6	11.10	10.78	11.03	10.60	10.35	10.50	37.78	13.15
Week 8	10.93	10.60	10.93	10.30	10.25	10.68	70.78	18.50
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	13.98	15.48

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		30/10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Week 13	10.65	10.50	10.88	10.18	10.18	10.55	13.30	13.90
Week 17 (Day 119)	10.88	10.30	10.90	10.28	10.13	10.35	10.45	10.28
Week 26	10.58	10.58	10.90	10.50	10.30	10.38	11.08	11.33
Week 39	10.73	10.20	10.48	9.93	10.23	9.98	12.33	12.20
APTT (s)								
Pre-treatment	21.53	20.68	21.50	21.05	19.38	19.00	22.00	19.88
Week 4	22.48	18.93	21.53	19.53	21.03	17.50	43.63	26.63
Week 6	21.78	20.48	20.23	20.05	18.98	17.58	78.90	28.23
Week 8	20.88	19.05	19.70	19.03	18.68	17.85	167.65	40.35
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	34.10	36.68
Week 13	21.58	18.75	21.00	19.35	19.60	17.78	36.63	31.38
Week 17 (Day 119)	21.65	18.68	20.70	19.80	19.25	17.48	22.23	19.03
Week 26	21.80	20.20	22.20	21.53	19.70	18.60	25.40	23.68
Week 39	21.48	19.25	20.43	19.48	19.78	16.93	30.75	32.88
Fibrinogen (mg/dL)								
Pre-treatment	196.75	149.53	204.13	162.53	196.40	170.15	187.93	175.20
Week 4	190.98	150.03	185.43	155.33	188.78	160.68	133.80	156.63
Week 6	181.68	168.05	182.10	170.10	182.00	163.75	141.13	155.63
Week 8	190.18	151.50	183.18	169.25	187.65	150.28	155.25	150.05
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	154.48	132.63
Week 13	188.75	150.58	174.30	164.50	159.18	145.83	153.93	135.95
Week 17 (Day 119)	184.08	150.25	174.15	149.65	162.55	146.53	179.13	145.25
Week 26	186.40	147.23	172.33	161.25	160.98	152.58	146.83	136.93
Week 39	194.90	160.30	191.00	169.95	176.65	181.60	154.30	189.50
D-dimer (μg/mL)								
Pre-treatment	0.63	0.58	0.63	0.63	0.58	0.78	0.55	0.65
Week 4	0.70	0.75	0.68	0.68	4.30	0.88	1.40	2.15
Week 6	0.50	0.65	0.65	0.75	2.68	0.78	1.45	2.20
Week 8	0.68	0.65	0.65	0.75	1.38	0.85	0.93	1.88
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.73	1.05
Week 13	0.65	0.60	0.40	0.78	1.40	0.78	0.75	1.33
Week 17 (Day 119)	0.55	0.58	0.48	0.53	0.68	0.68	1.28	0.98
Week 26	0.38	0.55	0.35	0.68	0.65	0.73	0.58	0.63
Week 39	0.58	0.55	0.95	0.93	1.15	0.75	1.38	1.53
PIC (μg/mL)								
Pre-treatment	0.108	0.078	0.105	0.105	0.160	0.103	0.145	0.123

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		30/10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Week 4	0.073	0.093	0.135	0.063	0.153	0.080	0.643	0.623
Week 6	0.105	0.098	0.100	0.095	0.120	0.095	0.785	0.120
Week 8	0.100	0.080	0.080	0.075	0.220	0.095	0.655	0.193
Week 12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.470	0.535
Week 13	0.108	0.140	0.098	0.210	1.073	0.150	0.305	2.725
Week 17 (Day 119)	0.110	0.110	0.115	0.198	0.903	0.100	0.255	0.210
Week 26	0.218	0.060	0.105	1.683	0.490	0.100	1.008	0.600
Week 39	0.170	0.150	0.953	0.130	0.195	0.090	2.818	1.165
Erythrocyte Morphology								
Treatment-related changes	--	--	--	--	--	--	--	--
Blood Chemistry								
AST (IU/L)								
Pre-treatment	18.0	25.0	20.8	23.0	21.5	20.3	20.3	20.8
Week 4	19.0	29.5	21.8	25.3	32.3	21.5	28.8	47.0
Week 13	24.5	29.0	22.5	31.5	27.3	24.5	21.5	26.0
Week 39	19.3	29.5	20.5	20.8	24.3	23.8	24.5	24.3
ALT (IU/L)								
Pre-treatment	27.3	28.0	25.3	42.3	24.5	30.3	24.8	34.5
Week 4	32.8	44.8	30.3	50.0	38.3	33.8	43.8	46.3
Week 13	38.3	34.3	31.5	61.0	38.5	41.8	28.0	39.3
Week 39	32.3	47.5	29.5	37.0	33.0	36.8	39.3	30.8
LDH (IU/L)								
Pre-treatment	202.3	190.5	189.3	193.5	200.8	227.8	189.0	214.3
Week 4	217.3	194.5	217.0	195.5	336.0	241.8	416.0	577.3
Week 13	203.0	215.5	182.5	234.8	267.0	278.0	312.0	302.8
Week 39	217.0	217.5	208.3	204.8	270.3	285.5	282.5	327.3
T-Bil (mg/dL)								
Pre-treatment	0.095	0.098	0.098	0.088	0.078	0.098	0.090	0.118
Week 4	0.068	0.075	0.065	0.065	0.063	0.083	0.095	0.118
Week 13	0.073	0.063	0.080	0.078	0.070	0.080	0.128	0.153
Week 39	0.093	0.108	0.080	0.095	0.100	0.115	0.105	0.140
T-CH (mg/dL)								
Pre-treatment	114.8	162.0	115.8	154.5	113.8	125.5	113.3	143.5
Week 4	108.3	157.0	96.3	140.8	89.5	100.5	59.5	92.5
Week 13	104.0	164.8	94.5	140.3	93.3	111.0	92.3	130.0
Week 39	110.5	175.0	99.0	145.0	94.0	119.8	77.8	114.5

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		30/10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
PL (mg/dL)								
Pre-treatment	195.8	240.3	187.5	230.0	182.8	198.8	185.5	228.3
Week 4	189.5	241.8	159.3	221.5	152.5	175.8	111.3	158.3
Week 13	188.0	270.8	158.3	223.0	151.3	195.5	151.5	209.5
Week 39	193.8	286.8	166.0	231.0	154.5	213.0	134.0	193.8
Glucose (mg/dL)								
Pre-treatment	90.8	84.8	86.8	85.0	91.0	83.3	96.8	94.5
Week 4	85.5	78.5	81.3	87.8	87.8	84.5	68.5	79.3
Week 13	82.8	73.3	77.0	94.5	93.8	76.8	79.8	84.0
Week 39	102.0	79.5	80.5	86.3	83.8	80.8	87.5	88.0
Fe (μg/dL)								
Pre-treatment	172.18	131.58	188.43	148.60	180.45	148.10	161.35	145.58
Week 4	154.58	117.10	208.88	178.75	251.73	158.25	119.80	135.80
Week 13	167.03	139.20	194.35	177.90	220.08	190.48	282.73	216.45
Week 39	161.95	143.08	198.35	148.08	262.45	174.65	253.90	159.73
UIBC (μg/dL)								
Pre-treatment	190.05	170.43	188.20	163.23	174.65	187.88	158.40	180.08
Week 4	204.93	198.75	183.45	189.68	152.68	213.28	304.08	284.78
Week 13	199.20	181.00	186.53	176.95	168.03	182.30	19.75	80.03
Week 39	186.15	178.30	187.28	219.43	113.78	226.63	92.53	224.00
TSAT (%)								
Pre-treatment	47.88	44.05	50.40	47.80	51.15	44.25	50.30	45.65
Week 4	43.23	37.15	53.85	48.50	62.93	42.60	28.43	32.80
Week 13	45.93	43.50	51.28	50.18	56.35	51.08	93.13	73.70
Week 39	46.50	44.55	51.28	40.63	69.48	43.60	72.25	40.58
GLDH (U/L)								
Pre-treatment	14.15	9.75	8.95	21.80	7.00	12.73	9.98	15.53
Week 4	19.40	20.60	10.38	34.68	12.85	20.10	27.18	35.45
Week 13	32.48	14.30	12.03	38.53	12.60	24.33	15.10	28.55
Week 39	18.65	21.75	10.33	15.20	11.58	15.33	21.58	13.30
Guanase (U/L)								
Pre-treatment	0.05	0.13	0.03	0.13	0.08	0.18	0.03	0.15
Week 4	0.20	0.30	0.18	0.33	0.35	0.38	0.75	1.20
Week 13	0.08	0.25	0.08	0.20	0.15	0.35	0.33	0.25
Week 39	0.03	0.13	0.08	0.10	0.10	0.20	0.13	0.43

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		30/10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
PAI-1 (ng/mL)								
Week 1								
Pre-treatment	4.845	3.810	2.315	2.578	3.500	4.325	1.865	2.423
4hr	4.078	3.270	1.818	2.495	8.233	4.875	10.003	15.378
8hr	4.630	3.108	2.375	4.583	6.065	5.168	31.698	30.190
Week 4								
Pre-treatment	4.433	4.258	2.913	3.138	2.455	7.228	13.605	7.558
4hr	3.850	3.805	1.703	3.370	5.863	7.785	12.560	16.695
8hr	4.300	2.880	2.125	2.293	5.350	5.900	21.818	5.923
Week 13								
Pre-treatment	4.838	3.153	1.488	5.593	8.390	3.885	2.813	4.915
4hr	3.005	1.560	1.020	2.393	7.728	4.738	NA	NA
8hr	2.120	2.180	1.333	2.810	4.618	3.120	NA	NA
Week 17								
Pre-treatment	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.655	0.805
4hr	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.275	5.548
8hr	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.378	2.948
Week 39								
Pre-treatment	3.778	1.958	2.853	2.238	4.833	4.870	4.080	9.630
4hr	4.293	1.928	2.438	5.133	8.660	6.605	13.593	15.655
8hr	2.908	2.028	2.015	4.285	4.818	8.338	5.710	8.733
EPO (mIU/mL)								
Week 1								
Pre-treatment	1.020	0.803	0.000	1.283	1.150	2.963	1.083	2.258
4hr	1.708	0.853	0.815	3.305	5.125	6.250	20.955	34.305
8hr	9.125	5.885	8.203	7.573	20.563	26.635	928.790	1511.023
Week 4								
Pre-treatment	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.260	22.580	22.223
4hr	0.000	2.353	0.000	2.430	7.790	7.893	15.915	18.735
8hr	3.718	7.068	5.473	6.303	23.355	35.320	591.015	28.663
Week 13								
Pre-treatment	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.535	0.000	0.000
4hr	0.838	2.908	0.000	1.338	8.160	4.818	NA	NA
8hr	2.368	7.993	4.168	11.015	38.165	13.313	NA	NA
Week 17								
Pre-treatment	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.000	0.000

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		30/10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
4hr	NA	NA	NA	NA	NA	NA	6.718	4.100
8hr	NA	NA	NA	NA	NA	NA	135.073	41.233
Week 39								
Pre-treatment	0.000	0.883	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	1.703
4hr	0.000	3.170	0.000	4.043	8.313	5.845	7.840	13.580
8hr	2.945	8.483	7.665	15.490	23.945	27.280	36.815	85.810
Myelogram (%)								
G/E	1.773	1.593	1.698	1.335	1.425	1.583	0.928**	1.220
Gross Pathology								
Treatment-related changes	--	--	--	--	--	--	--	--
Organ Weight								
Treatment-related changes	--	--	--	--	--	--	--	--
Histopathology [a]								
Liver (Left lobe, right central lobe)								
Atrophy Hepatocyte, Cebtrilobular	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 3 ±: 1
Brown Pigment Deposition, Hepatocyte, Periportal	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 1 ±: 3	–: 4
Congestion, Cebtrilobular	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 3 ±: 1
Microgranuloma	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1	–: 4	–: 4	–: 4
Vacuolation, Hepatocyte, Midzonal to Periportal	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1
Liver (Berlin blue)								
Positive Reaction, Hepatocyte, Periportal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+: 3	NA
Liver (Schmorl)								
Positive Reaction, Hepatocyte, Cebtrilobular	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–: 2 ±: 1	NA
Liver (Oil red O)								
Positive Reaction, Hepatocyte, Midzonal to Periportal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+: 1
Pancreas (Head)								
Atrophy, Acinar Cell, Focal	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		1		3		30/10	
Gender: Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
Proliferation, Duct, Focal	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 3 ±: 1
Bone Marrow (Femoral, left)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 2 ±: 2	–: 2 ±: 2
Bone Marrow (Sternal)								
Increase, Hematopoiesis, Erythroid	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 4	–: 0 ±: 3 +: 1	–: 0 ±: 2 +: 2

M: Male, F: Female, --: No noteworthy findings, NA: Not applicable, ND: Not detected, NC: Not calculated,
N: No abnormal changes, P: Non-graded change, In Clinical signs, Pre: Before dosing, S1: Approximately 1 hour after dosing, S2: Approximately 2.5 to 8 hours after dosing.
[a] Criteria for Grading Microscopic Findings: –: no abnormal changes, ±: very slight, +: slight, 2+: moderate, 3+: severe

2.6.7.8 Genotoxicity: *In Vitro*

2.6.7.8.A Bacterial Reverse Mutation Test

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.2-4
Report Title: Bacterial Reverse Mutation Test of JTZ-951		**Report/Study No. JTZ951-TX-008/[redacted]906**
Test for Induction of: Bacterial Reverse Mutation	Numbers of Independent Assays: 2	
Strains: *S. typhimurium, E. coli*	Numbers of Replicate Cultures: 2 or 3	GLP Compliance: Yes
Metabolizing System: S9 mix (S9: Rat liver S9 induced with Phenobarbital and 5,6-benzoflavone)	Numbers of Cells Analyzed/Cultured: The number of revertant colonies was counted.	
Vehicles: DMSO for the Test Article and the Positive Controls (2AA, AF-2 and 9AA), Distilled water for SA		
Treatment: 48 hours or more at 37°C		Date of Treatment: [redacted] and [redacted], 20[redacted]
Cytotoxic Effects: Bacterial growth inhibition was observed at 3000 μg/plate (with S9 mix) and 1500 μg/plate (without S9 mix) for TA98, 1500 μg/plate (with S9 mix) and 750 μg/plate (without S9 mix) for TA1537, TA100 and TA1535 and 5000 μg/plate (with S9 mix) and 3000 μg/plate (without S9 mix) for WP2*uvrA*		
Genotoxic Effects: No effects		

DMSO: Dimethyl sulfoxide, AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 9AA: 9-aminoacridine, SA: Sodium azide, 2AA: 2-aminoanthracene

Dose-Range Finding Test

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (μg/plate)	Numbers of Revertant Colonies/Plate [a]				
			TA98	TA1537	TA100	TA1535	WP2*uvrA*
Without Activation	Solvent control (DMSO)	(0.1 mL)	21	4	94	11	14
	JTZ-951	21	17	4	87	12	14
		62	18	6	84	12	15
		185	22	5	87	11	14
		556	17	6	90	10	15
		1667	7*	0*	61*	3*	12
		5000	0*	0*	0*	0*	10*
	AF-2	0.01	--	--	591	--	220
		0.1	702	--	--	--	--
	9AA	80	--	861	--	--	--
	SA	0.5	--	--	--	454	--
With Activation	Solvent control (DMSO)	(0.1 mL)	19	17	90	14	15
	JTZ-951	21	27	16	99	17	17
		62	24	13	93	17	16
		185	31	10	125	12	14
		556	27	14	100	12	13
		1667	22	9*	88*	5*	16
		5000	1*	0*	1*	1*	13*
	2AA	0.5	275	--	--	--	--
		1	--	--	869	--	--
		2	--	162	--	229	--
		10	--	--	--	--	140

[a] Mean of two plates
DMSO: Dimethyl sulfoxide, *: growth inhibition, --: Not treated
Positive controls: AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 9AA: 9-aminoacridine, SA: Sodium azide, 2AA: 2-aminoanthracene
Judgment criteria: The results were judged as positive if the mean number of revertant colonies increased dose dependently by two-fold over that of the solvent control.

Main Test

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (μg/plate)	Numbers of Revertant Colonies/Plate [a]				
			TA98	TA1537	TA100	TA1535	WP2*uvrA*
Without Activation	Solvent control (DMSO)	(0.1 mL)	21	5	88	10	20
	JTZ-951	47	--	4	91	10	--
		94	21	5	85	8	--
		188	23	6	88	11	20
		375	19	5	89	9	20
		750	24	4*	77*	7*	21
		1500	11*	--	--	--	21
		3000	--	--	--	--	17*
	AF-2	0.01	--	--	543	--	344
		0.1	740	--	--	--	--
	9AA	80	--	883	--	--	--
	SA	0.5	--	--	--	368	--
With Activation	Solvent control (DMSO)	(0.1 mL)	27	11	96	14	20
	JTZ-951	94	--	11	90	13	--
		188	27	12	93	13	--
		375	23	10	104	11	21
		750	25	11	117	10	21
		1500	23	10*	83*	6*	23
		3000	18*	--	--	--	18
		5000	--	--	--	--	17*
	2AA	0.5	284	--	--	--	--
		1	--	--	700	--	--
		2	--	191	--	191	--
		10	--	--	--	--	198

[a] Mean of three plates
DMSO: Dimethyl sulfoxide, *: growth inhibition, --: Not treated
Positive controls: AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 9AA: 9-aminoacridine, SA: Sodium azide, 2AA: 2-aminoanthracene
Judgment criteria: The results were judged as positive if the mean number of revertant colonies increased dose dependently by two-fold over that of the solvent control.

2.6.7.8.B Chromosomal Aberration Test

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.3.1-2
Report Title: Chromosomal Aberration Test of JTZ-951 in Cultured Mammalian Cells		**Report/Study No. JTZ951-TX-009/[redacted]907**
Test for Induction of: Chromosomal Aberration	Numbers of Independent Assays: 1	
Strains: Chinese Hamster Lung Cells	Numbers of Replicate Cultures: 2	GLP Compliance: Yes
Metabolizing System: S9 mix (S9: Rat liver S9 induced with Phenobarbital and 5,6-benzoflavone)	Numbers of Cells Analyzed/Cultured: 100 metaphases per culture (200 metaphases per treatment)	
Vehicles: DMSO for the Test Article, Distilled water for the Positive Controls (MMC and CP)		
Treatment: 6 or 24 hours at 37°C		Date of Treatment: [redacted], 20[redacted]
Cytotoxic Effects: Approximate IC_{50} of cell growth inhibition: 450 μg/mL for the six-hour treatment with or without S9 mix and 150 μg/mL for the 24-hour treatment without S9 mix		
Genotoxic Effects: The frequency of cells with structural chromosomal aberrations was 6.0% at 100 μg/mL and 18.5% at 150 μg/mL for the 24-hour treatment without S9 mix. No polyploidy was observed at any dose level of the test article, regardless of the presence or absence of S9 mix.		

DMSO: Dimethyl sulfoxide, MMC: Mitomycin C, CP: Cyclophosphamide

Metabolic Activation	Treatment Time + Recovery Time (hours)	Test Article	Dose Level (μg/mL)	Cytotoxicity (%)	Frequency of Occurrence of Cells with Chromosomal Aberrations (%)	
					Structural Aberrations	Polyploidy
Without Activation	6 + 18	Solvent control (DMSO)	0	0	0.5	1.0
		JTZ-951	300	30.8	3.0	1.5
			350	41.3	2.5	0
			450	50.7	3.0	1.5
		MMC	0.1	NC	30.0	2.0
With Activation	6 + 18	Solvent control (DMSO)	0	0	1.0	1.0
		JTZ-951	300	27.0	2.0	2.0
			350	36.2	1.5	2.0
			450	45.5	2.5	2.0
		CP	10	NC	20.5	1.0
Without Activation	24 + 0	Solvent control (DMSO)	0	0	1.0	2.0
		JTZ-951	50	22.6	2.0	2.0
			100	44.4	6.0	1.5
			150	49.1	18.5	1.5
		MMC	0.05	NC	20.0	0

DMSO: Dimethyl sulfoxide, NC: Not counted
Positive controls: MMC: Mitomycin C, CP: Cyclophosphamide
Judgement criteria: Lower than 5% as Negative, 5% or more but less than 10% as Equivocal, and 10% or more as Positive

2.6.7.8.C Chromosomal Aberration Test

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.3.1-3
Report Title: A Chromosomal Aberration Test of JTZ-951 in Human Peripheral Blood Lymphocytes		**Report/Study No. JTZ951-TX-025/[redacted]-046**
Test for Induction of: Chromosomal Aberration	Numbers of Independent Assays: 1	
Strains: Human Peripheral Blood Lymphocytes (From two volunteers)	Numbers of Replicate Cultures: 2	GLP Compliance: Yes
Metabolizing System: S9 mix (S9: Rat liver S9 induced with Phenobarbital and 5,6-benzoflavone)	Numbers of Cells Analyzed/Cultured: 100 metaphases per culture (200 metaphases per treatment in each volunteer)	
Vehicles: DMSO for the Test Article, Distilled water and/or physiological saline for the Positive Controls (MMC and CP)		
Treatment: 3 or 24 hours at 37°C		Date of Treatment: [redacted], 20[redacted]
Cytotoxic Effects: Approximate concentration of 50% of relative mitotic index (MI%), 360 μg/mL for the three-hour treatment without S9 mix, 320 μg/mL for the three-hour treatment with S9 mix and 15 μg/mL for the 24-hour treatment without S9 mix		
Genotoxic Effects: Neither structural chromosomal aberrations nor polyploidy was observed at any dose level of the test article regardless of the presence or absence of S9 mix.		

DMSO: Dimethyl sulfoxide, MMC: Mitomycin C, CP: Cyclophosphamide monohydrate

Metabolic Activation	Treatment Time + Recovery Time (hours)	Test Article	Dose Level (μg/mL)	MI* (%)	Frequency of Occurrence of Cells with Chromosomal Aberrations (%)	
					Structural Aberrations*	Polyploidy*
Without Activation	3 + 21	Negative control (DMSO)	0	100 / 100	0.0 / 0.0	0.0 / 0.0
		JTZ-951	160	80.0 / 85.9	0.5 / 0.0	0.5 / 0.0
			240	72.9 / 73.4	0.5 / 0.0	0.5 / 0.0
			280	62.9 / 62.5	0.5 / 0.0	0.5 / 0.0
			360	48.6 / 45.3	1.0 / 0.0	1.0 / 1.5
		MMC	0.4	78.6 / 64.1	19.5 / 16.0	0.0 / 0.0
With Activation	3+ 21	Negative control (DMSO)	0	100 / 100	0.0 / 0.0	0.0 / 0.5
		JTZ-951	160	80.9 / 88.4	0.0 / 0.0	0.0 / 0.5
			200	69.1 / 74.4	0.0 / 0.0	0.0 / 0.0
			240	60.3 / 62.8	0.0 / 0.0	0.0 / 0.5
			320	48.5 / 48.8	0.0 / 0.0	0.0 / 0.0
		CP	15	20.6 / 30.2	17.0 / 15.5	0.0 / 0.0
Without Activation	24 + 0	Negative control (DMSO)	0	100 / 100	0.5 / 0.0	0.0 / 0.5
		JTZ-951	1.25	70.0 / 72.3	1.0 / 0.0	0.0 / 0.0
			5	64.3 / 66.0	0.5 / 0.0	0.0 / 0.5
			10	58.6 / 59.6	0.5 / 0.0	0.0 / 0.0
			15	47.1 / 46.8	0.5 / 0.0	0.0 / 0.5
		MMC	0.15	44.3 / 59.6	23.0 / 16.5	0.0 / 0.0

DMSO: Dimethyl sulfoxide , Positive controls: MMC: Mitomycin C, CP: Cyclophosphamide
MI: Mitotic index, *: Volunteer A / Volunteer B
No significant increase from negative control ($p<0.05$, Fisher's exact test with Bonferroni correction, one-side)

2.6.7.9 Genotoxicity: *In Vivo*

2.6.7.9.A Chromosomal Aberration Test

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.3.2-1
Report Title: *In vivo* Chromosomal Aberration Test of JTZ-951 in Rat Bone Marrow Cells		**Report/Study No. JTZ951-TX-010/[redacted]274**
Test for Induction of: Chromosomal Aberration in the Bone Marrow Cells	Treatment Schedule: Single Dose	
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD), Male	Sampling Time: 24 and 48 hours after dosing	GLP Compliance: Yes
Age: 8 Weeks	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	
Numbers of Cells Evaluated / Animal: 100 metaphases per animal		Date of Dose: [redacted], 20[redacted]
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution for the Test Article, Water for injection for the Positive Controls (CP)		
Special Features: Satellite groups (5 animals per group) were provided for measuring plasma concentrations of JTZ-951.		
Toxic/Cytotoxic Effects: Decrease in MI (%) were not noted at any dose level after dosing of test article. However, a tendency to increase slightly was noted in the MI (%) from the lowest dose level in the 48-hour post treatment group.		
Genotoxic Effects: Neither structural chromosomal aberrations nor polyploidy was observed at any dose level of the test article.		

MI(%): Mitotic index (MI: percentage of number of metaphase cells in 1000 cells)
CP: Cyclophosphamide

Examination of the Specimens

Time of Sampling / Preparation (hours after dosing)	Test Article	Dose Level (mg/kg)	Number of Animals Observed	Mitotic Index (%)[a]	Frequency of Occurrence of Cells with Chromosomal Aberrations (%)	
					Structural Aberrations [a]	Polyploidy [a]
24	Vehicle control (0.5% MC)	0	6	6.5 ± 1.4	0.3 ± 0.5	0.2 ± 0.4
	JTZ-951	62.5	6	6.8± 1.5	0 ± 0	0.2 ± 0.4
		125	6	5.9 ± 1.5	0 ± 0	0.2 ± 0.4
		250	6	5.7 ± 1.4	0.2 ± 0.4	0.3 ± 0.5
	CP [b]	20	6	3.7 ± 0.7	17.0 ± 2.8 **	0 ± 0
48	Vehicle control (0.5% MC)	0	6	5.6 ± 1.1	0 ± 0	0.3 ± 0.5
	JTZ-951	62.5	6	6.4 ± 2.4	0 ± 0	0 ± 0
		125	6	7.4 ± 1.1	0 ± 0	0.2 ± 0.4
		250	6	9.2 ± 2.0	0.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4

[a] Mean ± S.D.
[b] CP: Cyclophosphamide (Positive control)
Significantly different from the vehicle control: ** $p < 0.01$ (Fisher's test)

Pharmacokinetic Parameters for JTZ-951

Test Article	Dose Level (mg/kg)	N	t_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-24} (μg·hr/mL)	AUC_{0-48} (μg·hr/mL)
JTZ-951	62.5	5	0.9	170.519	784.472	786.186
	125	5	1.3	184.933	1273.955	1319.063
	250	5	1.4	262.483	1866.789	2131.500

2.6.7.9.B Single Cell Gel Electrophoresis Assay (Comet Assay)

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.3.2-2
Report Title: Single Cell Gel Electrophoresis (SCG) Assay in Rats receiving JTZ-951 (Comet Assay)		**Report/Study No. JTZ951-TX-026/[redacted] ([redacted])**
Test for Induction of: DNA damage in the Liver or Peripheral Blood Lymphocytes	Treatment Schedule: Two Doses	
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD), Male	Sampling Time: 3 hours after the second dosing	GLP Compliance: Yes
Age: 8 Weeks	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	
Numbers of Cells Evaluated / Group: 100 cells per organ / Total 500 cells per group		Date of Dose: [redacted], 20[redacted]
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution (0.5%MC) for the Test Article, Water for injection (D.W.) for the Positive Controls (EMS)		
Special Features: Not applicable		
Toxic / Cytotoxic Effects: No applicable		
Genotoxic Effects: No potential to induce DNA damage in the liver or peripheral blood lymphocytes of rats		

0.5%MC: Negative control corresponding to the JTZ-951-treated groups
D.W.: Solvent control (Water for injection) corresponding to the EMS-treated group, EMS: Positive control (Ethyl methanesulfonate)

Examination of the Specimens

Organ	Test Article	Dose Level (mg/kg)	Number of Animals Observed [a]	Total Number of Cells Analyzed	% Tail DNA (Mean ± S.D.)
Liver	Vehicle control (0.5% MC)	0	5	500	2.85 ± 0.35
	JTZ-951	62.5	5	500	2.92 ± 0.86
		125	5	500	2.80 ± 0.52
		250	5	500	2.93 ± 0.18
	D.W.	0	5	500	2.59 ± 0.36
	EMS	200	5	500	10.44 ± 2.49 *
Peripheral Blood	Vehicle control (0.5% MC)	0	5	500	1.23 ± 0.28
	JTZ-951	62.5	5	500	1.59 ± 0.41
		125	5	500	1.43 ± 0.28
		250	5	500	1.57 ± 0.52
	D.W.	0	5	500	1.42 ± 0.44
	EMS	200	5	500	9.30 ± 3.48 *

0.5%MC: Negative control corresponding to the JTZ-951-treated groups
D.W.: Solvent control (Water for injection corresponding to the EMS-treated group, EMS: Positive control (Ethyl methanesulfonate)
Significantly different from the solvent control (Aspin-Welch test): * $p < 0.025$
[a] Six animals were treated in each group and the five animals were evaluated in each group.

2.6.7.10 Carcinogenicity

2.6.7.10.A Preliminary Studies and Toxicokinetic Analyses for Carcinogenicity Study

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.4.2-1
Report Title: Single Oral Dose Toxicokinetic Study of JTZ-951 in TgrasH2 wild-type Mice		**Report/Study No. JTZ951-TX-056/[redacted]901**
Species / Strain: Mouse / TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic [-/-])	Duration of Dosing: Single	
Age: 6 Weeks	Duration of Postdose: Not applicable	GLP Compliance: Yes
Date of Dose: [redacted], 20[redacted]	Method of Administration: Oral (Gavage / 10 mL/kg)	
Body Weights: 21 – 24 g (M), 17 – 20 g (F)		
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Not applicable		
No Observed Adverse Effect Level: Not applicable		

Dose Level: (mg/kg/day)	**0.6**		**2**	
Gender: Numbers of Animals	**M: 6[a]**	**F: 6[a]**	**M: 6[a]**	**F: 6[a]**
Toxicokinetics: JTZ-951				
t_{max} (hr)				
Day 1	0.5	0.5	0.5	0.5
C_{max} (μg/mL)				
Day 1	0.306	0.503	1.203	1.641
$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·hr/mL)				
Day 1	0.487	0.979	2.884	4.331

M: Male, F: Female, t_{max}: Time to reach the maximum plasma concentration, C_{max}: Maximum plasma concentration, $AUC_{0\text{-}24}$: Area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours, C_{24}: Plasma concentration at 24 hours after administration, NA: Not applicable, ND: Not detected

[a] Three animals in each group were used for each time point.

2.6.7.10.B Preliminary Studies and Toxicokinetic Analyses for Carcinogenicity Study

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.4.2-2
Report Title: 13-Week Repeated Dose Oral Toxicity and Toxicokinetic Study of JTZ-951 and its Metabolite (R)-M2 ([redacted]) in CByB6F1 (TgrasH2 wild-type) Mice with a 4-Week Recovery Period		**Report/Study No. JTZ951-TX-053/[redacted]**
Species / Strain: Mouse / TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic [-/-])	Duration of Dosing: 13 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 7 to 8 Weeks Old	Duration of Postdose: Not applicable	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted] (M), [redacted] (F), 20[redacted]	Method of Administration: Oral (Gavage / 10 mL/kg)	
Initial Body Weights: Males 21.1 – 26.8 g, Females 16.4 – 20.6 g		
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Satellite groups (32 males and 32 females per JTZ-951-treated-group, 8 males and 8 females in Control group) were provided for measuring plasma concentrations of JTZ-951.		
Results : Maximum Tolerated Dose of JTZ-951 was 10 mg/kg/day. (M and F)		

M: Male, F: Female

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**6**		**10**		**20**	
Gender: Numbers of Animals	**M: 8[b]**	**F: 8[b]**	**M: 32[b]**	**F: 32[b]**	**M: 32[b]**	**F: 32[b]**	**M: 32[b]**	**F: 32[b]**
Toxicokinetics: JTZ-951								
t_{max} (hr)								
Day 1	NA	NA	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Day 50/87 [a]	NA	NA	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
C_{max} (μg/mL)								
Day 1	NA	NA	5.477	7.151	9.610	12.243	23.526	31.583
Day 50/87 [a]	NA	NA	5.215	7.433	11.271	13.389	32.760	39.179
$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	10.860	12.122	16.877	22.062	44.944	49.116
Day 50/87 [a]	NA	NA	10.732	17.135	21.759	31.625	57.370	90.474

M: Male, F: Female, t_{max}: Time to reach the maximum plasma concentration, C_{max}: Maximum plasma concentration, $AUC_{0\text{-}24}$: Area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours, C_{24}: Plasma concentration at 24 hours after administration, NA: Not applicable, ND: Not detected

[a] In males at 20 mg/kg, the plasma samples were collected on Day 50 instead of Day 87 due to high mortality in this group.

[b] Three animals in TK group were used for each time point. In males at 20 mg/kg on Day 50, two males were used for each time point.

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		6		10		20	
Gender: Numbers of Animals	**M:18**	**F:18**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Noteworthy Findings								
Death or Moribund Sacrifice [a]	0	0	0	0	0	0	5 (Day 36~)	2 (Day 57~)
Body Weights (g)								
Day 1	24.04	19.19	24.40	17.89*	24.80	18.70	24.08	18.82
Relative to control [b]	100%	100%	101%	93%	103%	97%	100%	98%
Day 8	23.86	19.22	24.43	18.85	24.51	19.49	24.69	19.23
Relative to control [b]	100%	100%	102%	98%	103%	101%	103%	100%
Day 15	24.37	19.55	24.72	19.51	24.52	20.00	25.10	19.90
Relative to control [b]	100%	100%	101%	100%	101%	102%	103%	102%
Day 22	24.95	20.27	25.27	20.21	25.40	20.80	26.04*	20.77
Relative to control [b]	100%	100%	101%	100%	102%	103%	104%	102%
Day 29	25.85	20.88	25.98	21.14	26.12	21.80	26.69	21.36
Relative to control [b]	100%	100%	101%	101%	101%	104%	103%	102%
Day 36	25.96	21.27	26.05	21.66	27.01	22.21	27.50*	22.76*
Relative to control [b]	100%	100%	100%	102%	104%	104%	106%	107%
Day 43	26.44	21.67	26.34	22.03	27.22	22.83*	27.81	23.39*
Relative to control [b]	100%	100%	100%	102%	103%	105%	105%	108%
Day 50	26.79	21.83	26.76	22.28	27.79	23.37*	28.23	23.96*
Relative to control [b]	100%	100%	100%	102%	104%	107%	105%	110%
Day 57	27.23	22.55	27.18	22.93	28.02	23.60	28.86	24.58*
Relative to control [b]	100%	100%	100%	102%	103%	105%	106%	109%
Day 64	27.90	22.39	27.46	22.95	28.44	23.70*	NA	24.98*
Relative to control [b]	100%	100%	98%	103%	102%	106%	NC	112%
Day 71	28.08	22.96	28.29	23.15	28.94	24.29*	NA	25.55*
Relative to control [b]	100%	100%	101%	101%	103%	106%	NC	111%
Day 78	28.95	22.97	27.99	23.19	29.02	24.38*	NA	26.10*
Relative to control [b]	100%	100%	97%	101%	100%	106%	NC	114%
Day 85	26.44	23.87	28.53*	24.01	29.60*	25.27*	NA	26.59*
Relative to control [b]	100%	100%	108%	101%	112%	106%	NC	111%
Day 92	28.61	23.00	29.13	24.14	30.34*	24.88*	NA	27.30*
Relative to control [b]	100%	100%	102%	105%	106%	108%	NC	119%
Body Weight Gain (g)								
Days 1-8	-0.18	0.03	0.03	0.96*	-0.29	0.79	0.61*	0.41
Days 8-15	0.51	0.33	0.29	0.66	0.01	0.51	0.41	0.67
Days 15-22	0.58	0.72	0.55	0.70	0.88	0.80	0.94	0.87

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		6		10		20	
Gender: Numbers of Animals	**M:18**	**F:18**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Days 22-29	0.90	0.61	0.71	0.93	0.72	1.00	0.65	0.59
Days 29-36	0.11	0.39	0.07	0.52	0.89	0.41	0.81	1.40*
Days 36-43	0.48	0.39	0.29	0.37	0.21	0.62	0.38	0.63
Days 43-50	0.35	0.16	0.42	0.25	0.57	0.54	0.31	0.57
Days 50-57	0.43	0.72	0.42	0.65	0.23	0.23	0.88	0.39
Days 57-64	0.67	-0.16	0.28	0.02	0.42	0.10	NA	0.46
Days 64-71	0.18	0.57	0.83	0.20	0.50	0.59	NA	0.58
Days 71-78	0.87	0.01	-0.30	0.04	0.08	0.09	NA	0.55
Days 78-85	-2.51	0.90	0.54*	0.82	0.58*	0.89	NA	0.49
Days 85-92	2.16	-0.87	0.60*	0.13*	0.74*	-0.39	NA	0.71*
Days 1-57	3.19	3.36	2.78	5.04*	3.22	4.90*	4.78*	5.74*
Relative to control [b]	100%	100%	87%	150%	101%	146%	150%	171%
Days 1-92	4.57	3.81	4.73	6.25*	5.54	6.18*	NA	8.35*
Relative to control b	100%	100%	104%	164%	121%	162%	NC	219%
Food Consumption								
Days 1-92 (Mean) (g/animal/day)	4.112	3.922	3.766	4.530	3.819	4.091	NA	4.280
Relative to control [b]	100%	100%	92%	116%	93%	104%	NC	109%
Days 1-92 (Total) (g/animal)	374.215	356.862	342.686	412.267	347.513	372.250	NA	389.457
Relative to control [b]	100%	100%	92%	116%	93%	104%	NC	109%
Hematology								
(Number of Animals)	(5 or 6)	(6)	(10)	(10)	(9 or 10)	(9 or 10)	(2)	(7)
Red blood cells (10^{12}/L)	13.210	11.925	14.552*	13.721*	14.867*	15.010*	18.560	17.309*
Hemoglobin (g/dL)	19.75	18.58	23.21*	23.15*	25.55*	28.13*	31.40	28.14*
Hematocrit (%)	69.20	64.98	80.24*	80.54*	86.68*	92.68*	100.60	95.19*
MCV (fL)	52.38	54.50	55.13*	58.71*	58.32*	61.76*	54.35	55.24
MCH (pg)	14.95	15.55	15.94*	16.88*	17.18*	18.74*	17.00	16.36
MCHC (g/dL)	28.55	28.55	28.94	28.74	29.47*	30.34*	31.25	29.59*
Reticulocytes (10^9/L)	335.87	304.32	429.33*	455.40*	504.60*	504.64*	660.20	877.17*
Reticulocytes (%)	2.53	2.55	2.97	3.31	3.39	3.33	NA	5.11
RDW(%)	11.95	12.17	12.77*	13.53*	13.80*	14.90*	16.20	22.61*
Platelets (K/μL)	515.2	543.3	317.9*	337.2*	257.9*	149.8*	425.0	NA
MPV(fL)	6.02	6.18	6.58	6.98	7.68*	8.79*	8.50	NA
White blood cells (K/μL)	5.843	4.542	7.136	4.506	4.971	3.937	7.180	6.983*
Neutrophils (%)	13.47	12.88	17.11	15.02	21.10	15.23	20.00	13.71
Neutrophils (K/μL)	0.800	0.577	1.246	0.657	1.014	0.573	1.425	0.960*

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		6		10		20	
Gender: Numbers of Animals	**M:18**	**F:18**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Lymphocytes (%)	78.73	80.78	76.53	79.34	72.17	78.81	76.50	81.14
Lymphocytes (K/µL)	4.578	3.675	5.435	3.600	3.627	3.124	5.500	5.657*
Monocytes (%)	3.72	2.32	2.61	1.67	2.29	1.43	3.00	3.86
Monocytes (K/µL)	0.222	0.105	0.187	0.077	0.106*	0.059	0.215	0.260*
Eosinophils (%)	3.33	2.93	2.69	2.95	3.31	3.08	0.50	1.29
Eosinophils (K/µL)	0.197	0.133	0.192	0.126	0.162	0.121	0.035	0.106
Basophils (%)	0.43	0.75	0.63	0.74	0.82	1.23	0.00	0.00
Basophils (K/µL)	0.027	0.032	0.044	0.032	0.043	0.049	0.000	0.000*
Gross Findings [a]								
Spleen								
Enlarged	0	0	0	0	0	7	1	9
Organ Weights								
(Number of Animals)	(12)	(12)	(10)	(10)	(10)	(10)	(0)	(8)
Final Body Weight (g)	27.93	23.16	29.13	24.14	30.34**	24.88*	NA	27.30**
Relative to control [b]	100%	100%	104%	104%	109%	107%	NC	118%
Adrenal (g)	0.00666	0.01218	0.01156	0.01089	0.00802	0.01266	NA	0.01336
Relative to control [b]	100%	100%	174%	89%	120%	104%	NC	110%
Relative Adrenal [c] (g, adjusted)	0.02393	0.05236	0.04034	0.04532	0.02650	0.05085	NA	0.04889
Relative to control [b]	100%	100%	169%	87%	111%	97%	NC	93%
Brain (g)	0.47028	0.48398	0.46585	0.49283	0.46545	0.48836	NA	0.47894
Relative to control [b]	100%	100%	99%	102%	99%	101%	NC	99%
Relative Brain [c] (g, adjusted)	1.68688	2.09875	1.60275	2.04481	1.53924**	1.97378	NA	1.75568**
Relative to control [b]	100%	100%	95%	97%	91%	94%	NC	84%
Heart (g)	0.16881	0.15518	0.18181	0.14839	0.19200	0.17447	NA	0.22695**
Relative to control [b]	100%	100%	108%	96%	114%	112%	NC	146%
Relative Heart [c] (g, adjusted)	0.60491	0.66765	0.62439	0.61460	0.63232	0.69949	NA	0.83118**
Relative to control [b]	100%	100%	103%	92%	105%	105%	NC	124%
Kidney (g)	0.49545	0.36738	0.53771*	0.35776	0.55743**	0.44022**	NA	0.55075**
Relative to control b	100%	100%	109%	97%	113%	120%	NC	150%
Relative Kidney [c] (g, adjusted)	1.77518	1.58897	1.84691	1.48375	1.84106	1.77484**	NA	2.01443**
Relative to control [b]	100%	100%	104%	93%	104%	112%	NC	127%
Liver (g)	1.46148	1.19108	1.54854	1.31684	1.77721**	1.51243**	NA	1.70923**
Relative to control [b]	100%	100%	106%	111%	122%	127%	NC	144%
Relative Liver [c] (g, adjusted)	5.22501	5.13828	5.31451	5.46351	5.85842**	6.06509**	NA	6.26530**
Relative to control [b]	100%	100%	102%	106%	112%	118%	NC	122%

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		6		10		20	
Gender: Numbers of Animals	**M:18**	**F:18**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Spleen (g)	0.08110	0.09135	0.09615	0.13389*	0.14561**	0.23782**	NA	0.49845**
Relative to control [b]	100%	100%	119%	147%	180%	260%	NC	546%
Relative Spleen [c] (g, adjusted)	0.29001	0.39496	0.33062	0.55450*	0.47833**	0.94968**	NA	1.82751**
Relative to control [b]	100%	100%	114%	140%	165%	240%	NC	463%
Testes (g)	0.25293	NA	0.25754	NA	0.25799	NA	NA	NA
Relative to control [b]	100%		102%	NC	102%	NC	NC	NC
Relative Testes [c] (g, adjusted)	0.90768	NA	0.88392	NA	0.85288	NA	NA	NA
Relative to control [b]	100%		97%	NC	94%	NC	NC	NC
Ovary (g)	NA	0.01744	NA	0.01431	NA	0.01365	NA	0.01338
Relative to control [b]		100%	NC	82%	NC	78%	NC	77%
Relative Ovary [c] (g, adjusted)	NA	0.07451	NA	0.05933	NA	0.05417	NA	0.04875
Relative to control [b]		100%	NC	80%	NC	73%	NC	65%
Lung (g)	0.36944	0.33243	0.35833	0.27998*	0.26735**	0.25346**	NA	0.32309
Relative to control [b]	100%	100%	97%	84%	72%	76%	NC	97%
Relative Lung [c] (g, adjusted)	1.32415	1.43292	1.23008	1.16053**	0.88371**	1.02308**	NA	1.18121*
Relative to control [b]	100%	100%	93%	81%	67%	71%	NC	82%
Histopathology [a]								
(Number of Animals)	(12)	(12)	(10)	(10)	(10)	(10)	(5)	(2)
Adrenal Glands								
Vacuolation; Cortex	–: 12	–: 9 ±: 3	–: 10	–: 10	–: 7 ±: 3	–: 6 ±: 4	–: 5	–: 2
Kidney								
Basophilia, Tubule	–: 11 ±: 1	–: 12	–: 10	–: 10	–: 10	–: 10	–: 5	–: 2
Congestion	–: 12	–: 12	–: 10	–: 10	–: 10	–: 10	–: 0 2+:5	–: 0 2+:2
Congestion; Cortico-medullary Interface	–: 9 ±: 3	–: 11 ±: 1	–: 5 ±: 5	–: 3 ±: 7	–: 0 +:10	±:1 +:9	–: 5	--
Vacuolation; Tubule; Epithelium	–: 10 ±: 2	–: 12	–: 8 +: 2	–: 10	–: 10	–: 10	–: 5	–: 2
Liver								
Congestion	–: 12	–: 12	–: 10	–: 10	–: 10	–: 10	–: 0 3+: 5	–: 0 3+: 2
Infiltration, Mixed Inflammatory Cells	–: 1 ±: 11	–: 1 ±: 11	–: 1 ±: 9	–: 0 ±: 10	–: 1 ±: 9	–: 1 ±: 9	–: 5	–: 2

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		6		10		20	
Gender: Numbers of Animals	**M:18**	**F:18**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**	**M:10**	**F:10**
Congestion and Dilation, Vascular	–: 12	–: 12	–: 10	–: 6 ±: 4	–: 4 +: 6	–: 0 2+: 10	–: 5	–: 2
Spleen								
Congestion	–: 12	–: 12	–: 10	–: 10	–: 10	–: 10	–: 4 2+: 1	–: 2
Pigmentation, Hemosiderin	–: 12	–: 12	–: 10	–: 9 ±: 1	–: 10	–: 10	–: 5	–: 2
Extra-medullary Hematopoiesis	–: 12	–: 11 ±: 1	–: 10	–: 0 ±: 2 +: 5 2+: 3	–: 0 ±: 2 +: 4 2+:4	–: 0 2+: 5 3+: 5	–: 0 ±: 1 2+: 4	–: 0 3+: 2

M: Male, F: Female
NA: Not applicable, NC: Not calculated
Statistical significance: ** p <0.01, * p <0.05
[a] The incidence of the findings.
[b] Percent change relative to the control mean value (100%).
[c] Adjusted for terminal body weight, using the weight recorded on the day of necropsy.
[d] Criteria for Grading Microscopic Findings: –: no abnormal changes, ±: minimal, +:mild, 2+: moderate, 3+: marked

2.6.7.10.C Twenty-Six-Week Carcinogenicity Study in TgrasH2 Mice

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.4.2-3
Report Title: 26-Week Repeated Dose Oral Carcinogenicity Study of JTZ-951 in TgrasH2 Mice		**Report/Study No. JTZ951-TX-061 /** [redacted]
Species: Mouse Strain: Main Cohort; CByB6F1-Tg[HRAS] 2Jic [+/-]) Toxicokinetics (TK) Cohort; TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS] 2Jic [-/-])	Duration of Dosing: JTZ-951 and vehicle control; 26 Weeks, Once Daily Positive control; Three days (Days 1, 3 and 5)	
Initial Age: 8 Weeks Old	Duration of Postdose: Not applicable	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted] (M), [redacted], 20[redacted] (F)	Method of Administration: JTZ-951 and vehicle control; Oral (Gavage / 10 mL/kg), Positive control, Urethane; Intraperitoneal (i.p.) injection (10 mL/kg)	
Initial Body Weights: Main Cohort; 19.6 – 26.3 g (M), 15.5 – 21.0 g (F), TK Cohort; 22.3 – 29.1 g (M), 17.5 – 23.3 g (F)		
Vehicle / Formulation: JTZ-951; 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension, Positive control; 0.9% sodium chloride for injection / Solution		
Special Features: Satellite groups (11 males and 11 females per JTZ-951-treated-group, 8 males and 8 females in Vehicle control group) were provided for measuring plasma concentrations of JTZ-951.		
Results: No treatment-related increases in the incidence of any type of tumor and no treatment-related mortality		

M: Male, F: Female

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.6**		**2**		**6**	
Gender: Numbers of Animals	**M: 8[a]**	**F: 8[a]**	**M: 11[a]**	**F: 11[a]**	**M: 11[a]**	**F: 11[a]**	**M: 11[a]**	**F: 11[a]**
Toxicokinetics: JTZ-951 Concentration (μg/mL)								
0.5 hr								
Day 1	NA	NA	0.225	0.545	0.942	1.836	4.004	7.540
Day 177	NA	NA	0.245	0.335	1.225	1.730	4.351	9.470
2 hr								
Day 1	NA	NA	0.027	0.180	0.238	0.534	1.067	1.723
Day 177	NA	NA	0.033	0.054	0.202	0.371	1.377	1.371

[a] Three animals in TK group were used for each time point.

Daily Dose Level: (mg/kg)	0 (Control)		0.6		2		6		1000 (Positive control)	
Gender: Numbers of Animals	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:10**	**F:10**
Noteworthy Findings										
Death or Moribund Sacrifice [a]	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0
Cage side Observation [a]										
Ataxic	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Decreased Motor Activity	0	1	0	0	0	0	0	0	10	10
Prostrate	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10
Rapid and Shallow Breathing	0	1	0	0	0	0	0	0	10	10
Body Weights (g)										
Day 1	23.74	18.28	23.36	18.25	23.54	18.00	23.34	18.20	23.36	18,27
Relative to control [b]	100%	100%	98%	100%	99%	98%	98%	100%	NC	NC
Day 8	23.71	18.09	23.32	18.15	23.62	18.28	23.43	18.54	21.30	16.91
Relative to control [b]	100%	100%	98%	100%	100%	101%	99%	102%	NC	NC
Day 15	24.42	18.40	23.81	18.70	24.50	18.55	24.38	18.92	20.60	17.86
Relative to control [b]	100%	100%	98%	102%	100%	101%	100%	103%	NC	NC
Day 22	24.58	19.19	24.25	19.31	24.83	19.04	24.39	19.41	23.65	19.20
Relative to control [b]	100%	100%	99%	101%	101%	99%	99%	101%	NC	NC
Day 29	24.77	19.50	24.88	19.87	25.53	19.94	24.92	20.06	25.02	17.88
Relative to control [b]	100%	100%	100%	102%	103%	102%	101%	103%	NC	NC
Day 36	25.50	19.62	25.44	19.90	25.86	19.99	25.55	20.67*	25.93	19.35
Relative to control [b]	100%	100%	100%	101%	101%	102%	100%	105%	NC	NC
Day 43	26.03	20.24	25.99	20.36	26.42	20.37	25.89	21.06*	26.61	20.24
Relative to control [b]	100%	100%	100%	101%	101%	101%	99%	104%	NC	NC
Day 50	26.45	20.39	26.08	20.59	26.58	20.40	26.22	21.11	27.48	21.28
Relative to control [b]	100%	100%	99%	101%	100%	100%	99%	104%	NC	NC
Day 57	26.59	20.80	26.45	20.96	26.88	20.86	26.59	21.79*	28.15	21.15
Relative to control [b]	100%	100%	99%	101%	101%	100%	100%	105%	NC	NC
Day 64	27.18	21.19	26.98	21.48	27.23	21.55	26.93	22.35*	28.98	21.23
Relative to control [b]	100%	100%	99%	101%	100%	102%	99%	105%	NC	NC
Day 71	27.63	21.32	27.49	21.63	27.63	21.38	27.48	22.46*	28.88	21.05
Relative to control [b]	100%	100%	99%	101%	100%	100%	99%	105%	NC	NC
Day 78	27.86	21.45	27.89	21.50	28.25	21.50	27.94	22.38*	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	100%	100%	101%	100%	100%	104%	NC	NC
Day 85	28.09	21.32	28.21	21.61	28.14	21.50	27.92	22.26*	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	100%	101%	100%	101%	99%	104%	NC	NC

Daily Dose Level: (mg/kg)	0 (Control)		0.6		2		6		1000 (Positive control)	
Gender: Numbers of Animals	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:10**	**F:10**
Day 99	27.98	22.22	28.32	21.94	28.75	22.13	28.44	23.04	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	101%	99%	103%	100%	102%	104%	NC	NC
Day 113	29.19	22.15	29.10	22.25	29.11	22.28	28.92	23.02	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	100%	100%	100%	101%	99%	104%	NC	NC
Day 127	29.56	22.18	29.48	22.34	29.60	22.63	29.12	23.30*	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	100%	101%	100%	102%	99%	105%	NC	NC
Day 141	30.31	22.59	30.29	22.79	30.29	22.78	30.06	23.90*	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	100%	101%	100%	101%	99%	106%	NC	NC
Day 155	30.26	22.51	30.54	23.10	30.58	22.97	30.16	24.06*	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	101%	103%	101%	102%	100%	107%	NC	NC
Day 169	30.36	22.60	30.65	23.15	30.53	23.20	30.50	24.43*	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	101%	102%	101%	103%	100%	108%	NC	NC
Day 183	30.73	23.11	31.05	23.20	30.53	23.00	31.00	24.31*	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	101%	100%	99%	100%	101%	105%	NC	NC
Body Weight Gain (g)										
Days 1-8	-0.03	-0.20	-0.04	-0.17	0.08	0.28	0.09	0.34*	-2.06	-1.36
Days 8-15	0.72	0.31	0.49	0.55	0.88	0.27	0.96	0.38	-0.70	0.95
Days 15-22	0.16	0.79	0.44	0.61	0.33	0.48	0.01	0.48	3.05	1.34
Days 22-29	0.18	0.31	0.63	0.56	0.70	0.90*	0.53	0.65	1.37	-1.32
Days 29-36	0.74	0.12	0.56	0.03	0.33	0.05	0.63	0.61	0.91	1.47
Days 36-43	0.53	0.62	0.55	0.46	0.56	0.38	0.34	0.39	0.68	0.89
Days 43-50	0.45	0.15	0.09*	0.23	0.16	0.03	0.34	0.05	0.87	1.04
Days 50-57	0.13	0.41	0.37	0.37	0.31	0.46	0.36	0.68	0.67	-0.13
Days 57-64	0.59	0.39	0.53	0.52	0.35	0.70	0.34	0.56	0.83	0.08
Days 64-71	0.45	0.13	0.51	0.14	0.40	-0.18	0.55	0.12	-0.10	-0.18
Days 71-78	0.23	0.13	0.40	-0.13	0.62*	0.13	0.46	-0.09	NA	NA
Days 78-85	0.23	-0.13	0.32	0.11	-0.11	-0.00	-0.03	-0.11	NA	NA
Days 85-99	-0.11	0.90	0.11	0.33*	0.61*	0.63	0.53	0.77	NA	NA
Days 99-113	1.21	-0.07	0.78	0.32	0.36*	0.15	0.47*	-0.02	NA	NA
Days 113-127	0.36	0.03	0.38	0.06	0.50	0.34	0.20	0.29	NA	NA
Days 127-141	0.75	0.41	0.81	0.45	0.68	0.15	0.94	0.59	NA	NA
Days 141-155	-0.05	-0.15	0.25	0.31	0.29	0.19	0.07	0.17	NA	NA
Days 155-169	0.11	0.10	0.11	0.05	-0.05	0.24	0.34	0.36	NA	NA
Days 169-183	0.37	0.51	0.40	0.05	-0.00	-0.21*	0.50	-0.12	NA	NA

Daily Dose Level: (mg/kg)	0 (Control)		0.6		2		6		1000 (Positive control)	
Gender: Numbers of Animals	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:10**	**F:10**
Days 1-183	7.00	4.91	7.69	4.83	6.99	5.00	7.77	6.11*	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	110%	98%	100%	102%	111%	124%	NC	NC
Food Consumption (g/animal)										
Days 1-183 (Mean)	3.800	3.905	3.791	3.895	3.759	3.483	3.768	3.629	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	100%	100%	99%	89%	99%	93%	NC	NC
Days 1-183 (Total)	691.578	710.800	689.946	708.918	684.130	633.933	685.706	660.417	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	100%	100%	99%	89%	99%	93%	NC	NC
Hematology										
(Number of Animals)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9 or 10)	(10)	(8 or 10)	(10)	NA	NA
Red blood cells (10^{12}/L)	11.619	10.802	11.063*	11.681*	11.192*	11.412	13.029*	13.966*	NA	NA
Hemoglobin (g/dL)	17.57	16.73	16.58*	18.12*	17.10	18.03*	20.98*	24.45*	NA	NA
Hematocrit (%)	57.81	53.36	54.54*	58.03*	55.87	57.16*	69.86*	74.80*	NA	NA
MCV (fL)	49.78	49.41	49.32	49.68	49.93	50.08	53.61*	53.60*	NA	NA
MCH (pg)	15.13	15.48	14.99	15.54	15.28	15.81	16.09*	17.54*	NA	NA
MCHC (g/dL)	30.38	31.34	30.40	31.28	30.62	31.58	30.03	32.72*	NA	NA
RDW(%)	12.45	12.34	12.32	12.41	12.65	12.66	13.39*	14.39*	NA	NA
Reticulocytes (10^9/L)	251.75	285.92	256.83	256.03	267.74	253.58	400.25*	466.87*	NA	NA
Platelets (K/μL)	724.3	700.9	1034.6*	521.5*	856.4	512.0*	726.1	399.8*	NA	NA
MPV(fL)	7.04	6.02	6.66	6.63	6.87	6.66	7.70*	7.83*	NA	NA
Gross Findings [a]										
Lung										
Nodule	0	0	0	1	0	2	1	0	10	10
Organ Weights										
(Number of Animals)	(25)	(24)	(25)	(24)	(25)	(25)	(24)	(25)	NA	NA
Final Body Weight (g)	30.73	23.11	31.17	23.19	30.56	23.09	31.00	24.31*	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	101%	100%	99%	100%	101%	105%	NA	NA
Kidney (g)	0.57906	0.37496	0.55736	0.38343	0.61870*	0.38872	0.62793 **	0.46764 **	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	96%	102%	107%	104%	108%	125%	NA	NA
Relative Kidney [c] (g, adjusted)	1.88963	1.62487	1.80757	1.65481	2.02825 **	1.68453	2.02645 **	1.92374 **	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	96%	102%	107%	104%	107%	118%	NA	NA

Daily Dose Level: (mg/kg)	0 (Control)		0.6		2		6		1000 (Positive control)	
Gender: Numbers of Animals	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:10**	**F:10**
Spleen (g)	0.08078	0.11646	0.08052	0.09901	0.08871	0.09420	0.10328 **	0.20128 **	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	100%	85%	110%	81%	128%	173%	NA	NA
Relative Spleen [c] (g, adjusted)	0.26441	0.49868	0.26156	0.42885	0.29204	0.40819	0.33333 **	0.82236 **	NA	NA
Relative to control [b]	100%	100%	99%	86%	110%	82%	126%	165%	NA	NA
Histopathology – Non Neoplastic Lesions [a, d]										
Kidneys										
Congestion	–: 25	–: 25	–: 25	–: 25	–: 21 ±: 4	–: 25	–: 12 ±: 13	–: 11 ±: 14	NA	NA
Spleen										
Extra-medullary Hematopoiesis	–: 25	–: 14 ±: 6 +: 3 3+: 2	–: 20 ±: 4 +: 1	–: 23 ±: 1 +: 1	–: 21 ±: 3 +: 1	–: 20 ±: 3 +: 2	–: 3 ±: 15 +: 5 2+: 1 3+: 1	–: 0 +: 9 2+: 15 3+: 1	NA	NA
Histopathology – Neoplastic Lesions [a]										
Lung										
Adenoma and/or Carcinoma	4	0	3	1	3	2	4	0	10	10
Spleen										
Hemangiosarcoma	1	1	1	2	1	0	1	1	NA	NA
Jejunum										
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0	NA	NA
Stomach										
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0	NA	NA
Squamous cell carcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Testes										
Hemangiosarcoma	0	NA	1	NA	0	NA	1	NA	NA	NA
Multicentric										
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0	NA	NA

Daily Dose Level: (mg/kg)	0 (Control)		0.6		2		6		1000 (Positive control)	
Gender: Numbers of Animals	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:25**	**F:25**	**M:10**	**F:10**
Kidney										
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1	NA	NA
Mammary gland										
Hemangiosarcoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	NA
Nasal cavity										
Carcinoma	0	0	0	0	0	0	1	0	NA	NA
Ear										
Papilloma	0	0	0	0	1	0	0	0	NA	NA
Harderian glands										
Adenoma	0	1	0	1	0	0	1	1	NA	NA
Carcinoma	0	0	0	0	0	0	0	2	NA	NA
Leukemia (multicentric)	0	1	0	0	0	0	0	0	NA	NA
Lymphoma (multicentric)	0	1	0	1	0	0	0	0	NA	NA
Thymoma (benign and/or malignant)	0	1	0	1	0	0	0	0	NA	NA

M: Male, F: Female
--: No noteworthy findings, NA: Not applicable, NC: Not calculated, ND: Not detected
Statistical significance: ** p <0.01, * p <0.05
[a] The incidence of the findings.
[b] Percent change relative to the control mean value (100%).
[c] Adjusted for terminal body weight, using the weight recorded on the day of necropsy.
[d] Criteria for Grading Microscopic Findings: –: no abnormal changes, ±: minimal, +:mild, 2+: moderate, 3+: marked

2.6.7.10.D Twenty-Four-Month Carcinogenicity Study of JTZ-951 in Rats

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.4.1-1
Report Title: Twenty-Four-Month Oral Gavage Carcinogenicity Study of JTZ-951 in Rats		**Report/Study No. JTZ951-TX-060/[redacted]-8064**
Species / Strain: Rat/Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 104 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 6 Weeks of Age		GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted] (M), [redacted], 20[redacted] (F)	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	
Initial Body Weights: 193 to 254 g (M), 144 to 202 g (F) (Males 207 to 241 g, Females 144 to 189 g for the satellite group)		
Vehicle / Formulation: 0.5 w/v% Methylcellulose aqueous solution / Suspension (0.02, 0.06 and 0.2 mg/kg)		
Basis for High-Dose Selection: MTD		
Special Features: Satellite groups (5 males and 5 females per group) were provided for measuring plasma concentrations of JTZ-951.		
Results: There were no tumors or any non-neoplastic adverse changes.		

M: Male, F: Female

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.1**		**0.3**		**1**	
Gender: Number of Animals	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**	**M: 5**	**F: 5**
Toxicokinetics: JTZ-951 $AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr·μg /mL)								
Day 1	NA	NA	0.0954	0.122	0.512	0.510	2.39	2.50
Day 176	NA	NA	0.191	0.271	0.759	0.443	4.90	3.26

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**0.1**		**0.3**		**1**	
Gender: Number of Animals	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**
Noteworthy Findings								
Death or Moribund Sacrifice	41	38	28	35	36	40	29	47
Terminal Sacrifice	24	27	37	30	29	25	36	18
Survival (%)	36.9	41.5	56.9	46.2	44.6	38.5	55.4	27.7
Body Weights (g)								
At 6 months	692	347	677	349	688	343	696	357
Relative to Control[a]	100%	100%	98%	101%	99%	99%	101%	103%
At 2 years	869	506	841	517	814	500	852	468
Relative to Control[a]	100%	100%	97%	102%	94%	99%	98%	92%
Food Consumption (g/animal/day)								
At 6 month	28	19	28	19	28	19	29	19
Relative to Control[a]	100%	100%	100%	100%	100%	100%	104%	100%

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.1		0.3		1	
Gender: Number of Animals	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**
Terminal necropsy	27	19	26	19	24	20	25	18
Relative to Control [a]	100%	100%	96%	100%	89%	105%	93%	95%
Clinical Observations	--	--	--	--	--	--	--	--
Palpation	--	--	--	--	--	--	--	--
Hematology (Week 104)								
Hemoglobin (g/dL)	13.7	12.6	13.2	12.0	13.4	11.0*	14.3*	13.4
Relative to Control [a]	100%	100%	96%	95%	98%	87%	104%	106%
Gross Pathology	--	--	--	--	--	--	--	--
Histopathology –Neoplastic Lesions, Treatment-Related	--	--	--	--	--	--	--	--
Histopathology –Neoplastic Lesions, Incidental/Spontaneous [b]								
Abdominal cavity								
Liposarcoma	1	0	0	0	0	0	0	1
Paraganglioma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0
Sarcoma, NOS	0	0	1	0	0	0	0	0
Adrenal								
Adenoma, cortical cell	1	0	0	4	0	0	1	3
Pheochromocytoma, benign	9	1	4	0	9	0	6	0
Pheochromocytoma, malignant	1	0	2	0	2	0	5	1
Bone, rid								
Osteosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Brain, cerebellum								
Granular cell tumor, benign	0	0	0	0	1	1	1	0
Astrocytoma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0
Brain, cerebrum								
Granular cell tumor, benign	2	0	0	0	2	0	1	1
Astrocytoma, malignant	0	1	1	1	2	0	2	1
Meningioma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0
Oligodendroglioma, malignant	0	0	0	0	0	0	1	0
Brain, pons								
Astrocytoma, malignant	0	1	0	0	0	0	0	0
Eye								
Melanoma, amelanotic, uveal, malignant	0	0	0	0	0	0	1	0
Schwannoma, intraocular, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.1		0.3		1	
Gender: Number of Animals	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**
Heart								
Schwannoma, endocardial, malignant	0	0	1	0	0	0	2	0
Hemolymphoreticular (all site)								
Leukemia, large granular lymphocytic	0	0	0	0	2	0	3	0
Leukemia, myeloid	0	0	0	0	1	0	0	0
Lymphoma, malignant	0	1	0	0	3	0	0	0
Sarcoma, histiocytic	5	0	2	0	2	1	2	0
Intestine, duodenum								
Leiomyoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Intestine, jejunum								
Leiomyoma	0	2	0	1	0	0	0	0
Intestine, ileum								
Adenoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Fibroma	0	0	1	0	0	0	0	0
Leiomyoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Intestine, colon								
Leiomyosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Kidney								
Liposarcoma	2	0	0	0	0	0	1	0
Renal mesenchymal tumor, malignant	0	0	0	1	0	0	0	0
Liver								
Adenoma, hepatocellular	1	0	4	0	1	0	1	0
Lung (bronchus)								
Adenoma, bronchiolo-alveolar	0	0	1	0	0	0	0	0
Lymph node, mesenteric								
Hemangioma	0	0	1	0	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	1	0	1	0	1	0	1	0
Mammary gland								
Adenoma	1	0	1	0	0	2	0	2
Fibroadenoma	1	29	1	28	1	29	0	34
Fibroma	0	2	0	0	0	0	0	1
Adenocarcinoma	1	26	0	31	0	18	0	19
Carcinoma, adenosquamous	0	0	0	1	0	0	0	0
Adenocarcinoma arising in Fibroadenoma	0	3	0	4	0	7	0	3
Fibrosarcoma	0	1	0	0	0	1	0	0

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.1		0.3		1	
Gender: Number of Animals	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**
Carcinosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Sarcoma arising in Fibroadenoma	0	1	0	0	0	1	0	0
Mesothelium								
Mesothelioma, malignant	4	0	0	1	0	0	0	0
Muscle, bulbospongiosus								
Fibrosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Oral cavity								
Ameloblastic odontoma, malignant	0	0	0	0	0	0	1	0
Carcinoma, squamous cell	0	2	0	0	0	0	0	1
Sarcoma, NOS	0	0	0	0	1	0	0	0
Ovary								
Granulosa-theca cell tumor, benign	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
Pancreas								
Adenoma, acinar cell	0	1	2	0	0	0	2	0
Adenoma, islet cell	13	3	25	3	14	3	17	1
Carcinoma, islet cell	2	0	1	0	3	0	1	0
Parathyroid								
Adenoma	2	0	0	0	0	0	2	0
Pituitary								
Adenoma, pars distalis	38	49	35	47	38	45	28	49
Adenoma, pars intermedia	1	0	0	0	0	0	1	0
Carcinoma, pars distalis	0	1	0	1	0	1	2	2
Skin/subcutis								
Fibroma	3	0	5	0	5	0	4	0
Keratoacanthoma	3	0	0	0	2	0	1	0
Lipoma	0	1	3	0	1	0	0	0
Tumor, hair follicle, benign	2	0	2	0	0	0	0	0
Carcinoma, basal cell	0	0	0	0	0	0	1	0
Carcinoma, squamous cell	0	0	0	0	0	0	1	0
Fibrosarcoma	2	0	3	0	1	0	0	0
Liposarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Schwannoma, malignant	0	0	0	0	1	1	1	1
Spinal cord, cervical								
Astrocytoma, malignant	0	0	0	0	1	0	0	0

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.1		0.3		1	
Gender: Number of Animals	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**
Spinal cord, thoracic								
Oligodendroglioma, malignant	0	0	0	1	0	0	0	0
Spleen								
Lipoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Hemangiosarcoma	0	0	1	0	1	0	1	0
Stomach								
Papilloma, squamous cell	1	0	0	0	0	0	0	0
Carcinoma, squamous cell	1	0	0	1	0	0	1	0
Leiomyosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1
Testis								
Leydig cell tumor, benign	2	NA	3	NA	0	NA	1	NA
Thymus								
Thymoma, benign	0	1	0	1	0	1	0	1
Thymoma, malignant	0	0	0	0	1	1	0	0
Thyroid								
Adenoma, C cell	7	5	5	7	2	9	6	3
Adenoma, follicular cell	3	0	1	0	2	2	1	0
Carcinoma, C cell	4	2	2	1	1	1	1	1
Carcinoma, follicular cell	0	0	1	0	0	0	0	2
Tongue								
Granular cell tumor, benign	0	0	0	0	0	0	0	1
Papilloma, squamous cell	0	0	0	0	0	0	0	1
Uterus								
Granular cell tumor, benign	NA	1	NA	5	NA	2	NA	0
Hemangioma	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Polyp, glandular	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Polyp, endometrial stromal	NA	2	NA	4	NA	3	NA	2
Adenocarcinoma	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1
Hemangiosarcoma	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
Leiomyosarcoma	NA	0	NA	1	NA	1	NA	0
Sarcoma, endometrial stromal	NA	1	NA	2	NA	0	NA	0
Schwannoma, malignant	NA	1	NA	0	NA	1	NA	1
Vagina								
Granular cell tumor, benign	NA	2	NA	8	NA	5	NA	5
Polyp, vaginal stromal	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		0.1		0.3		1	
Gender: Number of Animals	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**	**M: 65**	**F: 65**
Granular cell tumor, malignant	NA	2	NA	0	NA	1	NA	0
Zymbal gland								
Carcinoma	1	0	0	0	1	0	0	0
Histopathology –Non-Neoplastic Lesions, Treatment-Related	--	--	--	--	--	--	--	--

M: Male, F: Female
Steel or Dunnett test *: $p \leq 0.05$
--: no noteworthy findings.
[a] Percentage change relative to the control mean value (control values were set as 100%)
[b] Number of animals with the lesion
NA: Not applicable

2.6.7.11 Reproductive and Developmental Toxicity (Nonpivotal Studies)

Not applicable.

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity: Fertility and Early Embryonic Development(Pivotal)

2.6.7.12.A Female Fertility Study: Rats

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.5.1-1
Report Title: Oral Dose Study for the Effects of JTZ-951 on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Female Rats		**Report/Study No. JTZ951-TX-032/[redacted]901**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 14 days prior to mating, through mating to GD 7, Once Daily	
Initial Age: 10 Weeks	Day of Copulation: GD 0	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	Day of Caesarean Section: GD 13	Design Similar to ICH 4.1.1: Yes
Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)		
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Not applicable		
No Observed Adverse Effect Level: 3 mg/kg/day (Female Toxicity), 10 mg/kg/day (Implantation), >30 mg/kg/day (Estrous Cycle, Mating Ability and Fertility Index), 3 mg/kg/day (Early Embryonic Development)		

GD: Gestation day

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Gender: Number of Animals	**F: 20**	**F: 20**	**F: 20**	**F: 20**
Death or Moribund Sacrifice [a]	0	0	0	1 [b]
Clinical Observations [a]				
Before Mating	--	--	--	--
Mating Period				
Reddish-colored skin	0	0	0	1
Gestation Period				
Reddish-colored skin	0	0	16	20
Vaginal bleeding	0	0	0	1
Body Weights (g)				
Before Mating	--	--	--	--
Gestation Period				
GD 13	337.83	336.84	347.12	334.96
Body Weight Gain (g)				
Before Mating	--	--	--	--
Gestation Period				
GD 13	17.63	14.59*	16.26	13.12**

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Gender: Number of Animals	**F: 20**	**F: 20**	**F: 20**	**F: 20**
Food Consumption (g/day)				
Before Mating	--	--	--	--
GDs 0-1	18.47	19.86	18.97	17.36
GDs 1-2	22.18	22.62	21.78	20.11*
GDs 6-7	23.55	23.44	23.37	20.48**
GDs 10-13	24.97	24.43	25.12	24.22
Estrous Cycle				
Mean Duration of Estrus Cycle	4.1	4.1	4.1	4.3
Mean Number of Estrus	3.2	3.6	3.4	3.4
Reproductive Performance				
Number of Females Paired for Mating	20	20	20	20
Mean Number of Days until Copulation	2.5	2.7	2.9	2.6
Number of Copulated Females	19	20	19	20
Copulation index [c] (%)	95.0	100.0	95.0	100.0
Number of Pregnant Females	19	19	17	20
Fertility index [d] (%)	100.0	95.0	89.5	100.0
Gross Pathology at Caesarean Section [a]				
Spleen				
Large	0	0	0	1
Lung				
Focus, blackish	0	0	1	3
Liver				
Discoloration dark reddish	0	0	0	1
Kidney				
Focus, whitish	0	0	0	1
Vagina				
Bleeding	0	0	0	1
Organ Weights				
Spleen (Absolute) (mg)	772.1	693.6*	962.5**	1186.5**
Spleen (Relative) (mg/100g BW)	228.7	206.1*	277.3**	353.0**
Heart (Absolute) (mg)	1022.3	1022.1	1105.9*	1143.5**
Heart (Relative) (mg/100g BW)	302.6	304.0	318.1	342.2**
Lung (Absolute) (mg)	1277.2	1315.1	1416.9**	1482.6**
Lung (Relative) (mg/100g BW)	378.2	390.8	409.6**	443.5**

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Gender: Number of Animals	**F: 20**	**F: 20**	**F: 20**	**F: 20**
Mean Number of Corpora Lutea	15.0	15.5	15.1	14.4
Mean Number of Implantations	14.3	14.9	14.4	13.0 [i]
Mean Implantation Index [e] (%)	93.26	96.28	95.05	89.98 [i]
Post Implantation Loss				
Mean Early Resorptions [f] (%)	3.16	3.96	10.01	34.02**
Mean Late Resorptions [g] (%)	0.00	0.31	7.44**	14.87**
Mean Total Post Implantation Loss [h] (%)	3.16	4.27	17.46**	48.91**
Mean Number of Live Fetuses	13.8	14.3	11.9*	6.9**

F: Female, GD: Gestation day, --: No noteworthy findings, Statistical significance: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, BW: Body weight

[a] Number of animals with the finding.

[b] One female was found dead at 30 mg/kg on GD 8. The following gross findings were observed in this animal: enlargement and dark-reddish discoloration in the lung, enlargement in the spleen, dark-reddish/blackish discoloration in the liver and dark discoloration in the adrenal. These were considered to be related to erythrocytosis and sustained polycythemia induced by pharmacology of JTZ-951.

[c] (Number of copulated animals / number of mated animals) × 100

[d] (Number of pregnant animals / number of copulated animals) × 100

[e] (Number of implantations / number of corpora lutea) × 100

[f] (Number of dead embryos / number of implantations) × 100

[g] (Number of dead fetuses / number of implantations) × 100

[h] (Number of dead embryos and fetuses / number of implantations) × 100

[i] Number of implantations and implantation index were decreased in one female at 30 mg/kg.

2.6.7.12.B Male Fertility Study: Rats

	Test Article: JTZ-951	Location in CTD: 4.2.3.5.1-2
Report Title: Oral Dose Study for the Effects of JTZ-951 on Male Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Rats		**Report/Study No. JTZ951-TX-059/[redacted]-1186**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 2 weeks before mating, throughout the mating period and up to the day before necropsy, Once Daily	
Initial Age: 9 Weeks	Day of Copulation: GD 0	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	Day of Caesarean Section: GD 14	Design Similar to ICH 4.1.1: Yes
Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)		
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Not applicable		
No Observed Adverse Effect Level: 3 mg/kg/day (General toxicity in males), >30 mg/kg/day (Male fertility and early embryonic development)		

GD: Gestation day

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Gender: Number of Animals	**M: 20**	**M: 20**	**M: 20**	**M: 20**
Death or Moribund Sacrifice [a]	0	0	0	0
Clinical Observations [a]				
Reddish-colored skin	0	0	9	17
Decrease in locomotor activity	0	0	0	1
Body Weights (g)				
Before Mating Period				
Day 15	398	403	397	385
Body Weight Gain (g)				
Before Mating Period				
Days 1-15	69	74	70	57*
Food Consumption (g)				
Before Mating Period				
Days 1-15	335	339	336	311**
Reproductive Performance				
Number of males Paired for Mating	20	20	20	20
Mean Number of Days until Copulation	3.1	2.6	2.1	2.2
Number of Copulated Females	20	20	19	20
Copulation index [b] (%)	100.0	100.0	95.0	100.0

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Gender: Number of Animals	**M: 20**	**M: 20**	**M: 20**	**M: 20**
Number of Pregnant Females	18	19	19	20
Fertility index [c] (%)	90.0	95.0	100.0	100.0
Gross Pathology [a]				
Spleen				
Enlargement	0	0	0	18
Lung				
Focus, dark red	0	0	0	1
Liver				
Focus, white	0	0	0	1
Cecum				
Focus, dark red	0	0	0	1
Organ Weights				
Spleen (Absolute) (g)	0.72	0.73	1.04**	2.16**
Spleen (Relative) (g/100g BW)	0.17	0.17	0.25**	0.54**
Heart (Absolute) (g)	1.32	1.34	1.43**	1.43
Heart (Relative) (g/100g BW)	0.31	0.32	0.34**	0.36**
Lung (Absolute) (g)	1.40	1.43	1.55**	1.65**
Lung (Relative) (g/100g BW)	0.33	0.34	0.37**	0.41**
Seminal vesicle (Absolute) (g)	1.18	1.14	1.08	0.90**
Seminal vesicle (Relative) (g/100g BW)	0.28	0.27	0.26	0.23**
Mean Number of Corpora Lutea	15.6	15.9	15.7	14.4
Mean Number of Implantations	15.3	15.8	15.3	13.8
Mean Pre Implantation Loss [d] (%)	1.7	0.6	3.0	5.9
Mean Implantation Index [e] (%)	98.3	99.4	97.0	94.1
Mean Number of dead embryos	0.5	0.8	0.7	0.6
Mean Post Implantation Loss [f] (%)	3.0	5.0	4.8	3.9
Mean Number of Live Embryos	14.8	15.1	14.5	13.3

M: Male, Statistical significance: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, BW: Body weight

[a] The number of animals with the finding.
[b] (Number of copulated animals / number of mated animals) × 100
[c] (Number of pregnant animals / number of copulated animals) × 100
[d] [(Number of corpora lutea - number of implantations) / Number of corpora lutea]×100
[e] (Number of implantations / number of corpora lutea) × 100
[f] (Number of dead embryos / number of implantations) × 100

2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity : Embryo-Fetal Development (Pivotal)

2.6.7.13.A Effects on Embryo-Fetal Development in Rats

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2-1
Report Title: Oral Dose Study for the Effects of JTZ-951 on Embryo-Fetal Development in Rats		**Report/Study No. JTZ951-TX-033/[redacted]902**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: GD 7 to GD 17, Once Daily	
Initial Age: 14 Weeks	Day of Copulation: GD 0	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	Day of Caesarean Section: GD 20	Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)		
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Satellite groups (5 pregnant animals per group) were provided for measuring plasma concentrations of JTZ-951.		
No Observed Adverse Effect Level: 10 mg/kg/day for Dams and Embryo-Fetal Development, 30 mg/kg/day and above for Teratogenicity		

GD: Gestation day

Dose Level: (mg/kg)		**3**	**10**	**30**
Number of Pregnant Animals for Toxicokinetic Analyses		**4[a]**	**5**	**5**
Toxicokinetics: JTZ-951				
t_{max} (hr)	Day 1 (GD 7)	0.5	0.5	0.6
	Day 11 (GD 17)	0.5	0.6	1.3
C_{max} (μg/mL)	Day 1 (GD 7)	4.403	18.172	67.533
	Day 11 (GD 17)	3.685	16.517	57.151
AUC_{0-24} (μg·hr/mL)	Day 1 (GD 7)	9.999	38.458	230.374
	Day 11 (GD 17)	11.294	59.007	379.017

[a] One animal was non-pregnant.
GD: Gestation day

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Number of Pregnant Animals	**18**	**19**	**20**	**20**
Dams				
Death or Moribund Sacrifice [a]	0	0	0	0
Aborted or with Total Implantation Loss [a]	0	0	0	0
Clinical Observations [a] Reddish-Colored Skin	0	0	0	12

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Number of Pregnant Animals	**18**	**19**	**20**	**20**
Body Weights (g)				
GD 18	391.35	392.99	396.47	402.64
GD 20	425.03	424.55	426.74	431.21
Body Weight Gain (g)				
GD 19-20	17.62	15.98	15.82	13.17**
Food Consumption (g/day)				
GD 17-18	28.62	28.00	27.57	26.20
Gross Pathology [a]				
Spleen				
Large	0	0	0	3
Organ Weights				
Spleen (Absolute) (mg)	735.4	663.8	837.9*	1253.1**
Spleen (Relative) (mg/100g BW)	214.3	191.1*	239.7	357.1**
Heart (Absolute) (mg)	1060.1	1040.5	1028.8	1113.0
Heart (Relative) (mg/100g BW)	309.4	299.3	294.8	318.0
Lung (Absolute) (mg)	1256.8	1258.7	1291.9	1438.1**
Lung (Relative) (mg/100g BW)	366.7	361.9	370.5	411.7**
Mean Number of Corpora Lutea	16.3	15.2*	15.4	16.7
Mean Number of Implantations	15.2	14.3	14.6	15.7
Mean Implantation Index [b] (%)	92.81	93.84	94.79	94.39
Post Implantation Loss				
Mean Early Resorptions [c] (%)	5.93	8.13	4.56	9.47
Mean Late Resorptions [d] (%)	0.00	0.35	0.00	0.58
Litters				
Mean Total Post Implantation Loss [e] (%)	5.93	8.47	4.56	10.04
Mean Number of Live Fetuses	14.3	13.3	14.0	14.1
Sex Ratio of Live Fetuses [f] (% male)	54.3	51.0	49.8	48.2
Mean Body Weights of Live Fetuses (g)				
Male	4.0609	4.1295	3.9644	3.8654
Female	3.7538	3.8823	3.7171	3.6236
Mean Placental Weights of Live Fetuses (g)				
Male	0.4505	0.4393	0.4584	0.5529
Female	0.4342	0.4177	0.4524	0.5179

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)	3	10	30
Number of Pregnant Animals	**18**	**19**	**20**	**20**
Placental Observations				
Fused Placenta				
Number of Dams [g] (%)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (5.00)
Number of Placentae [h] (%)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	2 (0.63)
External Anomalies of Fetuses				
Dwarf				
Number of Dams [g] (%)	1 (5.60)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (5.00)
Number of Fetuses [i] (%)	1 (0.43)	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (0.32)
Skeletal Anomalies of Fetuses				
Number of Dams [g] (%)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
Number of Fetuses [i] (%)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)	0 (0.00)
Skeletal Variations of Fetuses				
Number of Dams [g] (%)	15 (83.33)	12 (63.16)	14 (70.00)	13 (65.00)
Number of Fetuses [i] (%)	35 (29.11)	25 (19.11)	33 (24.98)	28 (20.91)
Bipartite Ossification of Thoracic Centrum				
Number of Dams [g] (%)	0 (0.00)	1 (5.30)	2 (10.00)	5 (25.00) *
Number of Fetuses [i] (%)	0 (0.00)	1 (0.75)	2 (1.34)	5 (3.52)
Skeletal Ossification of Fetuses [j]				
Sacral and Coccygeal Vertebra	8.27	8.54	8.13	7.83
Metacarpus	7.63	7.70	7.56	7.40
Visceral Anomalies of Fetuses				
Number of Dams [g] (%)	2 (11.11)	NE	NE	5 (25.00)
Number of Fetuses [i] (%)	2 (1.31)	NE	NE	5 (4.47)
Microphthalmia, Unilateral				
Number of Dams [g] (%)	0 (0.00)	NE	NE	1 (5.00)
Number of Fetuses [i] (%)	0 (0.00)	NE	NE	1 (0.63)
Membranous Ventricular Septum Defect				
Number of Dams [g] (%)	2 (11.10)	NE	NE	3 (15.00)
Number of Fetuses [i] (%)	2 (1.31)	NE	NE	3 (3.22)
Right-Sided Aortic Arch				
Number of Dams [g] (%)	0 (0.00)	NE	NE	1 (5.00)
Number of Fetuses [i] (%)	0 (0.00)	NE	NE	1 (0.63)
Visceral Variation of Fetuses				
Number of Dams [g] (%)	14 (77.78)	NE	NE	14 (70.00)
Number of Fetuses [i] (%)	30 (25.11)	NE	NE	29 (20.56)

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)	3	10	30
Number of Pregnant Animals	18	19	20	20

--: No noteworthy findings, GD: Gestation day, NE: Not examined, Statistical significance: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, BW: Body weight

[a] The number of animals with the finding
[b] (Number of implantations / number of corpora lutea) × 100
[c] (Number of dead embryos / number of implantations) × 100
[d] (Number of dead fetuses / number of implantations) × 100
[e] (Number of dead embryos and fetuses / number of implantations) × 100
[f] (Number of male live fetuses / number of total live fetuses) × 100
[g] Number of dams (percentage of dams affected)
[h] Number of placentae (mean percentage of placentae with anomaly)
[i] Number of fetuses with that finding (percentage of fetuses with that finding)
[j] Mean number of ossification centers

2.6.7.13.B Effects on Embryo-Fetal Development in Rabbits

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2-2
Report Title: Oral Dose Study for the Effects of JTZ-951 on Embryo-Fetal Development in Rabbits		**Report/Study No. JTZ951-TX-028/[redacted]-1099**
Species / Strain: Rabbit / Kbl:NZW	Duration of Dosing: GD 6 to GD 18, Once Daily	
Initial Age: 17 to 19 Weeks	Day of Copulation: GD 0	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	Day of Caesarean Section: GD 28	Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)		
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Not applicable		
No Observed Adverse Effect Level: 20 mg/kg/day for General Toxicity in the Dams, 60 mg/kg/day for Embryo-Fetal Development		

GD: Gestation day

Dose Level: (mg/kg/day)		**20**	**60**	**200**
Number of Pregnant Animals for Toxicokinetic Analyses		**3** [a]	**4** [b]	**5** [c]
Toxicokinetics: JTZ-951				
t_{max} (hr)	Day 1 (GD 6)	0.5	0.6	1.4
	Day 13 (GD 18)	0.5	0.5	1.4
C_{max} (μg/mL)	Day 1 (GD 6)	2.335	8.826	22.786
	Day 13 (GD 18)	3.139	10.441	70.948
AUC_{0-24} (μg·hr/mL)	Day 1 (GD 6)	12.088	35.309	119.445
	Day 13 (GD 18)	18.295	39.231	975.778

[a] Other two animals were not pregnant
[b] Another animal was not pregnant
[c] At 200 mg/kg, the systemic exposure to JTZ-951 in two dams on GD 18 was higher than that on GD 6. In these two dams, poor feeding behavior was noted on GD 18 and resulted in abortion or moribund condition 2 days later.

GD: Gestation day

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**60**	**200**
Number of Pregnant Animals	**21**	**19**	**20**	**20**
Dams				
Death or Moribund Sacrifice	0	0	0	6 [b]
Abortion	0	1	1	6
Clinical Observations [a]				
Decrease in the Amount of Feces	2	2	6	14
Lack of Defection	0	0	0	5
Prone Position	0	0	0	1
Decrease in Spontaneous Movement	0	0	0	1
Hypothermia	0	0	0	1
Body Weights (kg)				
GD 7	3.39	3.32	3.34	3.30
GD 9	3.42	3.36	3.35	3.30*
GD 14	3.47	3.44	3.43	3.29**
GD 18	3.53	3.49	3.44	3.18**
Body Weight Gain (kg)				
GD 6-7	-0.01	-0.01	-0.01	-0.06**
GD 8-9	0.01	0.02	0.01	-0.01*
GD 13-14	0.01	0.02	0.02	-0.02*
GD 17-18	0.02	0.00	-0.01*	-0.07**
Food Consumption (g)				
GD 7	142	137	133	112**
GD 9	144	144	126**	105**
GD 14	110	108	80*	52**
GD 18	138	127	112**	45**
Gross Pathology [a]				
Stomach				
Focus, Dark Red	0	0	1	3
Retention, Fur Ball	0	0	1	8
Cecum				
Retention, Watery Content	0	0	0	4
Kidney				
Discoloration, Pale (Bilateral)	0	0	1	12
Mean Number of Corpora Lutea	10.0	9.3	9.6	8.9
Mean Number of Implantations	8.9	8.9	9.0	7.9
Implantation Index [c] (%)	89.5	95.9	93.9	90.4

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**20**	**60**	**200**
Number of Pregnant Animals	**21**	**19**	**20**	**20**
Litters				
Post-Implantation Loss [d] (%)	2.8	7.5	9.5	14.0*
Mean Number of Live Fetuses	8.6	8.3	8.2	6.8
Mean Placental Weights of Live Fetuses (g)				
Male	3.10	3.12	2.98	3.04
Female	2.99	2.82	2.87	2.90
Number of Placentae with Gross Abnormalities [e] (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Sex Ratio [f]	0.45	0.43	0.37	0.51
Mean Body Weights of Live Fetuses (g)				
Male	33.55	34.46	33.58	33.93
Female	33.74	32.33	32.67	32.45
External Anomalies of Fetuses [g] (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)
Umbilical Hernia (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)
Number of Fetuses Examined	180	149	156	54
Visceral Anomalies of Fetuses [g] (%)	1 (0.5)	1 (0.7)	1 (0.6)	0 (0.0)
Dilated Cerebral Ventricle	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)	0 (0.0)
Large Heart	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)
Fistula of Coronary Artery	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	0 (0.0)
Visceral Variations of Fetuses [g] (%)	3 (1.5)	13 (9.0)*	8 (5.0)	3 (6.7)
Number of Fetuses Examined	180	NE	156	54
Skeletal Anomalies of Fetuses [g] (%)	8 (4.0)	NE	2 (1.2)	2 (3.1)
Fused Sternebrae	8 (4.0)	NE	0 (0.0)	2 (3.1)
Skeletal Variations of Fetuses [g] (%)	59 (32.8)	NE	53 (35.8)	17 (35.1)
Number of Fetuses Examined	180	NE	156	54
Skeletal Ossification of Fetuses [h]				
Sternebrae	5.61	NE	5.58	5.46
Phalanges of Fore-and Hind-Limbs	--	NE	--	--
Sacral and Caudal Vertebrae	19.46	NE	19.24	19.38

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)	20	60	200
Number of Pregnant Animals	21	19	20	20

--: No noteworthy findings; GD: Gestation day ; NE: Not examined
Statistical significance: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

[a] Number of animals with the finding
[b] Five dams at 200 mg/kg were found dead from GDs 17 to 23 and one dam was sacrificed in moribund condition on GD 20.
[c] (Number of implantations / Number of corpora lutea) × 100
[d] (Number of dead embryos and fetuses / number of implantations) × 100
[e] Number of placentae (mean percentage of placentae with anomaly)
[f] Number of live male fetuses / number of live fetuses
[g] Number of fetuses with that finding (percentage of fetuses with that finding)
[h] Mean number of progress of ossification

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity: Pre- and Post-natal Development, Including Maternal Function (Pivotal)

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2-2
Report Title: Oral Dose Study for the Effects of JTZ-951 on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats		**Report/Study No. JTZ951-TX-028/[redacted]-1099**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: GD 7 to LD 20, Once Daily	
Initial Age: 12 to 13 weeks of age	Day of Copulation: GD 0	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	Day of Parturition: LD 0	Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)		Adjustment of Litter Size: LD 4 (4/sex/litter)
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Not applicable		
No Observed Adverse Effect Level: 3 mg/kg/day for dams and physical development of the liveborn pups, >10 mg/kg/day for reproductive function of the dams, or viability, behavior, learning or reproductive performance of the liveborn pups		

GD: Gestation day, LD: Lactation day

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Gender: Number of Pregnant Animals	**F: 19**	**F: 19**	**F: 19**	**F: 19**
F0 Females:				
Death or Moribund Sacrifice [a]	0	0	0	0
Aborted or with Total Resorption of Litter [a]	0	0	0	0
Clinical Observations [a]				
Reddening of the skin [b]	0	0	0	11
Body Weights (g) : Gestation Period				
GD 8	305	303	305	302
GD 14	336	339	339	337
GD 20	412	420	422	413
Body Weights (g) : Lactation Period				
LD 4	338	342	346	341
LD 14	363	366	366	365
LD 21	337	342	340	352
Body Weight Gain (g) : Gestation Period				
GD 7-8	5	2	4	3
GD 13-14	6	6	6	6

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Gender: Number of Pregnant Animals	**F: 19**	**F: 19**	**F: 19**	**F: 19**
GD 19-20	16	18	17	16
GD 7-20	112	120	121	114
Body Weight Gain (g) : Lactation Period				
LD 0-4	17	21	25	16
LD 11-14	6	5	5	10
LD 17-21 [c]	-21	-22	-19	-11*
LD 0-21 [c]	16	20	18	27*
Food Consumption (g) : Gestation Period				
GD 7-8	23	23	24	23
GD 14-15	23	24	24	24
GD 18-19	27	27	28	26
Food Consumption (g) : Lactation Period				
LD 4-5	44	48	45	41
LD 11-12	60	63	61	56*
LD 19-20	74	78	78	72
Necropsy Observations				
Spleen				
Enlargement	0	0	0	7
Organ Weights				
Heart (mg/100g BW)	345	350	348	379**
Lung (mg/100g BW)	379	370	378	421**
Spleen (mg/100g BW)	200	187	192	339**
Mean Gestation Period (days) [d]	22.0	21.8	21.6**	21.8
Delivery Index (%) [e]	100.0	100.0	100.0	100.0
Abnormal Parturition	0	0	0	0
Mean Number of Implantations	14.0	14.4	14.2	14.2
F1 Litters (Preweaning):				
Number of Litters	19	19	19	19
Mean Live Birth Index (%) [f]	92.84	94.41	94.02	88.53
Mean Number of Offsprings	13.2	13.7	13.4	12.5
Mean Number of Live Newborns	13.1	13.6	13.3	12.4
Number of Total Litter Losses	0	0	0	0

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Gender: Number of Pregnant Animals	**F: 19**	**F: 19**	**F: 19**	**F: 19**
Sex Ratio (Male/Total)	0.46	0.51	0.52	0.44
Number of Pups with External Abnormalities (%)[g]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Number of Litters after Adjustment of Litter Size[h]	19	19	19	19
Number of Live Newborns after Adjustment of Litter Size[g]	147	152	152	148
Viability Index on PND 4 (%)[i]	99.63	98.35	98.34	99.27
Weaning Index on PND 21 (%)[j]	100.00	100.00	99.34	98.03
Mean Body Weights of Live Newborns (g; M/F)				
PND 0[k]	7.2/6.7	6.9/6.5	7.0/6.6	6.8/6.3*
PND 4 before the Adjustment of Litter Size	11.3/10.9	11.2/10.6	11.5/10.9	10.1**/9.5**
PND 14	36.7/35.9	38.0/36.3	38.3/36.8	31.0**/29.6**
PND 21	62.2/59.9	63.9/60.8	65.4/62.1	52.8**/51.0**
Physical Development				
Pinna Detachment	-	-	-	-
Incisor Eruption	-	-	-	-
Eyelids Opening (%; M/F)				
PND 14	53.9/49.4	57.9/53.1	48.9/52.2	27.6/39.9
PND 16	100.0/100.0	100.0/100.0	100.0/100.0	94.7/94.7
PND 17	100.0/100.0	100.0/100.0	100.0/100.0	100.0/100.0
Sensory Function/Reflex Responses				
Pupillary Reflex	-	-	-	-
Preyer's Reflex	-	-	-	-
Pain Response	-	-	-	-
Air Righting Reflex	-	-	-	-
Necropsy Observations at Weaning	-	-	-	-
F1 Offspring (Postweaning):				
Number of Offsprings Evaluated (M/F)				
Total	37/37	38/38	38/38	37/38
Used for behavioral test	18/18	19/19	19/19	18/19
Used for reproductive performance test	19/19	19/19	19/19	19/19

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Gender: Number of Pregnant Animals	**F: 19**	**F: 19**	**F: 19**	**F: 19**
Mean Body Weights of Offsprings (g; M/F)				
Used for Reproductive Performance Test				
PND 28	109/100	109/101	112/101	95**/88**
PND 42	245/185	246/185	249/188	230*/175
PND 70	474/283	487/286	478/295	458/288
Used for Behavioral Test				
PND 28	107/99	108/100	111/99	97**/88**
PND 42	247/183	249/185	251/186	237/177
PND 70	476/283	479/286	482/290	475/284
Morphological Development				
Cleavage of the Balano-preputial Gland	--	--	--	--
Vaginal Opening	--	--	--	--
Behavioral and Learning Test				
Open Field Test	--	--	--	--
Multiple Water Maze Test	--	--	--	--
Necropsy Observations after Behavioral Test	--	--	--	--
Reproductive Function of F1 Animals:				
Mean Elapsed Day of Conceiving (M/F) [l]	3.8/3.8	3.3/3.3	3.9/3.9	4.8/4.8
Copulation Index (%, M/F) [m]	100.0/100.0	100.0/100.0	89.5/89.5	94.7/94.7
Fertility Index (%, M/F) [n]	89.5/89.5	84.2/84.2	94.1/94.1	94.4/94.4
Number of F1 Dams [o]	17	16	16	17
Mean Body Weights of F1 Dams (g)				
GD 0	319	320	326	335
GD 7	355	355	359	369
GD 15	398	394	401	406
Mean Body Weight Gain of F1 Dams (g)				
GD 0-7	36	35	33	34
GD 7-15	43	39	42	37
Mean Number of Corpora Lutea	15.4	14.4	15.4	14.9
Mean Number of Implantations	13.5	14.1	14.6	14.1
Mean Pre Implantation Loss (%) [p, q]	12.4	1.7**	4.8	5.7
Mean Post Implantation Loss (%) [r]	5.0	6.1	6.6	4.6

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**1**	**3**	**10**
Gender: Number of Pregnant Animals	**F: 19**	**F: 19**	**F: 19**	**F: 19**
Mean Number of Live Embryos	12.8	13.2	13.7	13.4
Necropsy Observations	--	--	--	--

GD: gestation day; LD: lactation day; PND: postnatal day; M: Male; F: Female; --: No noteworthy findings; Statistical significance: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$
BW: Body weight
[a] The number of animals with the finding.
[b] Reddening of the skin was observed during the lactation period.
[c] Statistically significant value noted at 10 mg/kg in the body weight gain was considered not to be treatment-related because it was transient, the value was within the range of the control background data in the test facility and there were no clear differences in the body weights on LD 21 between the control and 10 mg/kg groups.
[d] Statistically significant values noted in gestation period at 3 mg/kg were considered not to be treatment-related because there was no dose dependency.
[e] (Number of females delivered live newborns / number of pregnant females) ×100
[f] (Number of live newborns / number of implantations) × 100
[g] Number of pups having findings (mean percentage per unit of litter)
[h] Litter size was reduced to 8 pups (4 males and 4 females as far as possible) by random selection on PND 4.
[i] (Number of pups alive on PND 4 / number of live born pups) × 100
[j] (Number of pups alive on PND 21 / Number of pups after culling on PND 4) × 100
[k] Statistically significant value noted at 10 mg/kg in the body weights was considered not to be treatment related because it was slight and the value was within the range of the control background data in the test facility.
[l] Mean elapsed day of conceiving at 10 mg/kg was calculated from 17 dams because copulation was overlooked in one dam at this dose level.
[m] (Number of animals that copulated / number of paired animals) × 100
[n] (Number of pregnant females (or number of males that impregnated) / number of females copulated (or Number of males copulated)) × 100
[o] Including the dam at 10 mg/kg for which copulation was overlooked
[p] ((Number of corpora lutea – number of implantations) / number of corpora lutea) × 100
[q] Statistically significant value noted at 1 mg/kg in the pre implantation loss rate was considered not to be treatment-related because there was no dose dependency.
[r] (Number of postimplantation losses / number of implantations) × 100

2.6.7.15 Studies on Juvenile Animals

Not applicable.

2.6.7.16 Local Tolerance

Not applicable.

2.6.7.17 Other Toxicity Studies

2.6.7.17.A Antigenicity

Not applicable.

2.6.7.17.B Phototoxicity

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.7.7-1
Report Title: Phototoxicity Study of JTZ-951 in Balb/c 3T3 Cells		**Report/Study No. JTZ951-TX-058/[redacted]-110**
Strains: Balb/c 3T3 Cells		GLP Compliance: Yes
Solar simulator: Light Irradiation Apparatus SOL500 (Dr. Höenle AG)	UV Filter: H1 filter	Range of Transmitted Wave Lengths: 280 nm and greater (mainly UV-A)
Pre-incubation time: 60 minutes	Irradiation time: 50 minutes	Irradiation dose: 5 J/cm^2
Dose: 9.49, 13.3, 18.6, 26.0, 36.4, 51.0, 71.4 and 100 μg/mL	Positive control: Chlorpromazine hydrochloride (CPZ) Dose: 0.391, 0.781, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25 and 50 μg/mL	Vehicle: DMSO
Initiation of Experiment: [redacted], 20[redacted]		
Phototoxicity: No potential		

DMSO: Dimethyl sulfoxide

Test Article	IC_{50}		PIF	MPE	Judgment[a, b]
	+UV	-UV			
JTZ-951	ND	ND	ND	0.101	No Phototoxicity

ND: Not determined, PIF: Photo Irritation Factor, MPE: Mean Photo Effect

[a] The phototoxic potential of JTZ-951 was judged using the MPE because the IC_{50} could not be determined for either the irradiated or non-irradiated plates.

[b] Judgment Criteria: No phototoxicity: PIF<5 or MPE<0.15, Phototoxicity: PIF ≥5 or MPE ≥0.15

The PIF and MPE of CPZ were 18.218 and 0.557, respectively.

2.6.7.17.C Immunotoxicity

Not applicable.

2.6.7.17.D Mechanistic Studies

Not applicable.

2.6.7.17.E Investigation of the Findings due to Sustained Polycythemia

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Seven-Week Oral Dose Study of JTZ-951 in Phlebotomized Rats	Rat Crl:CD (SD)	Oral, Seven-Week Repeated	30 mg/kg	M and F: 5	In order to investigate the findings attributed to the sustained polycythemia noted in the preliminary repeated dose study (Section 2.6.7.6), JTZ951 was administered to phlebotomized rats for 7 weeks. No deaths occurred during the dosing period. Phlebotomized animals survived longer than the non-phlebotomized animals. The findings ameliorated or disappeared by phlebotomy: Reddish-colored skin, increases in RBC-related parameters, Ret, plasma BIL, LDH, CPK, heart and lung weights and thrombi. The findings not ameliorated by phlebotomy: Decreases in PLT, plasma GLU, T-CH, PL, Ca, IP, increases in plasma TGL, WBC differential, periportal fatty change in the hepatocytes and in the proximal tubular epithelium in the kidney and the proliferation of the osteoblasts and formation of irregular trabecular bone.	JTZ951-TX-036/[redacted]029	4.2.3.7.7-4

2.6.7.17.F Measurements of Blood Erythropoietin Concentrations

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Measurements of Plasma EPO concentration in the One-Month Oral Dose Toxicity Study in Dogs	Dog / Beagle	Oral, One-Month Repeated (10 mg/kg: 12 Days)	1, 3, 10 mg/kg	M and F: 3	The plasma samples were obtained from the animals in the one-month oral dose toxicity study in dogs (Section 2.6.7.7.E) On Days 1, 6 and 28, the plasma EPO concentrations reached C_{max} at 8 hours after dosing and increased dose-dependently from 1 mg/kg in both sexes. Plasma EPO concentration at 8 hours on Day 1 (M/F): 0 mg/kg: 8.97/3.90, 1 mg/kg: 99.53/94.83 3 mg/kg: 886.2/542.30 10 mg/kg: 2886.63/3175.70 At 1 and 3 mg/kg, the plasma EPO concentrations on Days 6 and 28 were comparable to those on Day 1 at each measurement point. At 10 mg/kg, the plasma EPO concentrations were higher on Day 6 than on Day 1.	JTZ951-TX-007/ [redacted]130	4.2.3.7.7-5
Measurements of Serum EPO concentration in the One-Month Oral Dose Toxicity Study in Monkeys	Monkeys / Cynomolgus	Oral, One-Month Repeated (100 mg/kg, Two animals: sacrificed on day 7 or 9. One animal: 13 Days)	10, 30, 100 mg/kg	M: 3	The serum samples were obtained from the animals in the one-month oral dose toxicity study in monkeys (Section 2.6.7.6). Serum EPO concentrations increased dose-dependently from 10 mg/kg on Days 1 and 28. The serum EPO concentrations on Day 28 were lower than those of on Day 1 at 10 and 30 mg/kg. At 100 mg/kg, the serum EPO concentrations also increased in all the animals on Day 1 and 1 animal on Day 13.	JTZ951-TX-043/ [redacted]-085	4.2.3.7.7-6

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Measurements of Serum EPO concentration in the Three-Month Oral Dose Toxicity Study in Monkeys	Monkeys / Cynomolgus	Oral, Three-Months Repeated	3, 10, 30 mg/kg	M and F: 6 (10 and 30 mg/kg), 4 (3 mg/kg)	The serum samples were obtained from the animals in the three-month oral dose toxicity study in monkeys (Section 2.6.7.7.H).The serum EPO concentrations increased dose-dependently from 3 mg/kg in both sexes. The serum EPO concentrations on Days 42 and 70 were lower than those of on Day 1.	JTZ951-TX-044/ [redacted]-086	4.2.3.7.7-7

M: Male, F: Female

2.6.7.17.G Investigation of Effects on Heart and Lung Weight

2.6.7.17.G.1 Effects on Circulating Blood Volume and Reversibility

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
One-month Oral Dose in Rats with One-Month Recovery Period -Effects on Circulating Blood Volume and Organ Weights (Heart, Lung) -	Rat Crl:CD (SD)	Oral, One-Month Repeated	10, 30 mg/kg	F: 10	During or at the end of the dosing period: Marked and dose-dependent increases in the RBC-related parameters and circulating blood volume, increases in the heart and lung weights from 10 mg/kg. After the withdrawal of dosing: All changes disappeared or tended to disappear. In conclusion, increases in the heart and lung weights were considered to be adaptive changes to the blood volume expansion.	JTZ951-TX-011/ [redacted]141	4.2.3.7.7-8

F: Female

2.6.7.17.G.2 Effects on Blood Pressure and Heart Rate

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Effects on Blood Pressure and Heart Rate	Rat Crl:CD (SD)	Oral, One-Month Repeated	10, 30 mg/kg	F: 8	Transient decrease in systolic blood pressure and transient increase in heart rate on Days 1 and 28. Blood pressure and heart rate on Day 28 were comparable to those on Day 1.	JTZ951-SP-007/ [redacted]B951SP03	4.2.3.7.7-9

F: Female

2.6.7.17.H Investigation of the Hepatic Findings

2.6.7.17.H.1 Effects of Phlebotomy on Histopathological Findings in a One-Month Toxicity Study

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.7.7-10
Report Title: Repeated Oral Dose Study of JTZ-951 in Dogs -Investigation of the effect of phlebotomy on JTZ-951-induced histopathological findings-		**Report/Study No. JTZ951-TX-012/[redacted]158**
Species / Breed: Dog / Beagle	Duration of Dosing: 12 days [a], Once Daily	
Initial Age: 9 Months	Duration of Postdose: Not applicable	GLP Compliance: No
Initial Body Weight: Males 8.5 – 11.5 kg		
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	Method of Administration: Oral (Gelatin Capsule / 1 mL/kg)	
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: The animals were phlebotomized based on the Ht values on each day in the phlebotomy group so that the increases in Ht values for pharmacological action of JTZ-951 were inhibited.		

[a] The animals were not administered JTZ-951 from Day 7 to Day 23 (Dosing period: Day 1 to Day 6 and Day 24 to Day 29)

Dose Level: (mg/kg/day)	**10**						**10**		
	Non-Phlebotomy Group						**Phlebotomy Group**		
Gender: Number of Animals	**M: 6**						**M: 3**		
Animal Number	**10101**	**10102**	**10103**	**10201**	**10202**	**10203**	**10301**	**10302**	**10303**
Toxicokinetics: JTZ-951									
C_{1hr} (μg/mL)									
Day 1	12.099	13.321	16.934	11.571	14.453	16.009	21.364	13.148	13.930
Day 6	12.940	25.823	15.059	16.563	4.537	20.645	19.276	19.713	7.552
Day 24	9.563	11.132	10.565	4.207	9.967	4.332	16.830	11.876	6.640
Day 28	19.426	19.229	18.882	13.670	13.454	17.784	18.837	12.556	13.002
Noteworthy Findings									
Death or Moribund Sacrifice	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hematology									
Ht (%)									
Day –1	39.5	45.9	47.9	41.1	44.0	51.0	43.0	44.3	46.3
Day 7	55.0	49.1	56.1	52.9	50.4	58.1	42.2	46.1	45.8
Day 21	49.5	48.9	55.9	46.1	48.5	51.0	38.3	36.5	38.9
Day 28	57.1	53.3	58.5	50.4	52.1	56.1	40.6	39.0	41.5

Dose Level: (mg/kg/day)	10						10		
	Non-Phlebotomy Group						Phlebotomy Group		
Gender: Number of Animals	M: 6						M: 3		
Animal Number	10101	10102	10103	10201	10202	10203	10301	10302	10303
Histopathology [a]									
Liver									
Dilatation, Sinusoid, Centrilobular	+	+	±	2+	2+	+	±	–	±
Atrophy Hepatocyte, Centrilobular	+	+	±	2+	2+	+	±	–	±

M: Male, ND: Not detected
[a] Criteria for Grading Microscopic Findings: –: No abnormal changes ±: Very slight +: Slight 2+: Moderate 3+: Severe

2.6.7.17.H.2 Plasma Hepatic Function-related Biomarkers in a One-Month Toxicity Study: Rat

	Test Article: JTZ-951	Location in CTD: 4.2.3.7.7-11
Report Title: Measurements of Plasma C-Reactive Protein Concentrations and Plasma Glutamate Dehydrogenase and Sorbitol Dehydrogenase Activities in a One-Month Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Rats with a One-Month Recovery Period		**Report/Study No. JTZ951-TX-013/[redacted]162**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 4 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 6 Weeks	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	GLP Compliance: No
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: The plasma samples were obtained from the animals in the one-month oral dose toxicity study of JTZ-951 in rats with a one-month recovery period (Section 2.6.7.7.A).		

Dose Level: (mg/kg/day)	0 (Control)		3		10		30	
Gender: Number of Animals [a]	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
GLDH (IU/L)								
End of the Dosing Period	17.5	24.7	16.1	17.2	20.6	18.2	20.5	14.8
SDH (IU/L)								
End of the Dosing Period	3.4	4.2	4.4	2.7	3.3	1.7**	3.5	0.7**

M: Male, F: Female
Statistical significance: ** $p < 0.01$
[a] Ten out of twelve animals in each group were used for analyses.

2.6.7.17.H.3 Plasma Hepatic Function-related Biomarkers in a One-Month Toxicity Study: Dog

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Measurements of Plasma GLDH and SDH Activities in the One-Month Oral Dose Toxicity Study in Dogs	Dog / Beagle	Oral, One-Month Repeated (10 mg/kg: 12 Days)	1, 3, 10 mg/kg	M and F: 3	The plasma samples were obtained from the animals in the one-month oral dose toxicity study in dogs (Section 2.6.7.7.E). No treatment-related changes were noted in the plasma GLDH or SDH activities at any dose level.	JTZ951-TX-014/ [redacted]186	4.2.3.7.7-12

F: Female

2.6.7.17.I Investigation of the Renal Findings

2.6.7.17.I.1 Urinary Biomarkers of Renal Toxicity in a One-Month Toxicity Study: Rat

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.7.7-13
Report Title: Measurements of Urinary Biomarkers of Renal Toxicity in a One-Month Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Rats with a One-Month Recovery Period		**Report/Study No. JTZ951-TX-015/[redacted]197**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 4 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 6 Weeks	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	GLP Compliance: No
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: The urine samples were obtained from the animals in the one-month oral dose toxicity study of JTZ-951 in rats with a one-month recovery period (Section 2.6.7.7.A). The values were calculated as a percentage of CRN. The CRN concentrations which were measured in the one-month oral dose toxicity study of JTZ-951in Rats.		

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Gender: Number of Animals	**M: 12**	**F: 12**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 12**	**F: 12**
β2m /CRN Concentration Ratio (μg/mg)	364	44.3	372	61.3	422	61.0	262	57.3
Kim-1 /CRN Concentration Ratio (ng/mg)	1.56	2.17	1.51	2.12	1.41	1.79	1.44	2.02
Clusterin /CRN Concentration Ratio (ng/mg)	716	483	873	466	724	445	583	432
Cystatin C /CRN Concentration Ratio (ng/mg)	463	335	454	302	476	284	374	309

M: Male, F: Female

2.6.7.17.I.2 Urinary Biomarkers of Renal Toxicity in a One-Month Toxicity Study: Dog

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	**Species / Strain**	**Method of Administration**	**Dose (mg/kg) or Concentrations**	**Gender and n per Group**	**Noteworthy Findings**	**Report/Study Number**	**Location in CTD**
Measurements of Urinary Kim-1 Concentrations in the One-Month Oral Dose Toxicity Study in Dogs	Dog / Beagle	Oral, One-Month, Repeated (10 mg/kg: 12 Days)	1, 3, 10 mg/kg	M and F: 3	The urine samples were obtained from the animals in the one-month oral dose toxicity study in dogs (Section 2.6.7.7.E). No treatment-related changes were noted in the urinary Kim-1 concentrations at any dose level.	JTZ951-TX-014/[redacted]186	4.2.3.7.7-12

M: Male, F: Female

2.6.7.17.I.3 Ultrastructural Examination of Kidneys in a One-Month Toxicity Study: Rat

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.7.7-14
Report Title: Ultrastructural Examination of the Kidneys Collected from Rats Treated with JTZ-951 for One Month		**Report/Study No. JTZ951-TX-016/[redacted]179**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 4 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 6 Weeks	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	GLP Compliance: No
Initial Body Weight: Females 125 – 156 g		
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: The kidney tissues were obtained from the animals in the one-month oral dose toxicity study of JTZ-951 in rats with a one-month recovery period (Section 2.6.7.7.A).		

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**30**
Gender: Number of Animals	**F: 3**	**F: 3**
Ultrastructural Finding [a]		
Kidney, Proximal Tubular Epithelium		
Swelling, Mitochondria	–: 3	–: 0 +: 3
Vacuolation, Mitochondria	–: 3	–: 1 ±: 1 +: 1
Increase, Number/Size, Lipid Droplet, Cytoplasm	–: 3	–: 0 ±: 3

F: Female
[a] Criteria for Grading Ultrastructural Findings: –: No abnormal changes ±: Very slight +: Slight 2+: Moderate 3+: Marked

2.6.7.17.I.4 Ultrastructural Examination of Kidneys in a One-Month Toxicity Study: Dog

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.7.7-15
Report Title: Ultrastructural Examination of the Kidneys Collected from Dogs Treated with JTZ-951 for One Month		**Report/Study No. JTZ951-TX-017/[redacted]180**
Species / Breed: Dog / Beagle	Duration of Dosing: 0 mg/kg 4 Weeks, 10 mg/kg 12 Days [a], Once Daily	
Initial Age: 7 Months	Method of Administration: Oral (Gelatin Capsule / 1 mL/kg)	GLP Compliance: No
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: The kidney tissues were obtained from the animals in the one-month oral dose toxicity study in dogs (Section 2.6.7.7.E).		

[a] Animals in the 10 mg/kg group were not administered the test article from Day 7 to Day 23.

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**10**
Gender: Number of Animals	**F: 2**	**F: 2**
Ultrastructural Finding [a]		
Kidney, Proximal Tubular Epithelium		
Swelling, Mitochondria	–: 2	–: 0 ±: 1 +: 1
Vacuolation, Mitochondria	–: 2	–: +: 2
Increase, Number/Size, Lipid Droplet, Cytoplasm	–: 2	–: 0 +: 2
Increase, Number/Size, Lysosome, Cytoplasm	–: 2	–: 0 +: 2

F: Female

[a] Criteria for Grading Ultrastructural Findings: –: No abnormal changes ±: Very slight +: Slight 2+: Moderate 3+: Marked

2.6.7.17.J Investigation of the Effect on the Bone

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.7.7-16
Report Title: Analyses of the Bone Metabolism Biomarkers in a One-Month Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Rats with a One-Month Recovery Period		**Report/Study No. JTZ951-TX-018/[redacted]149**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 4 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 6 Weeks	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	GLP Compliance: No
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: The urine and plasma samples were obtained from the animals in the one-month oral dose toxicity study of JTZ-951 in rats with a one-month recovery period (Section 2.6.7.7.A).		

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Gender: Number of Animals	**M: 12**	**F: 12**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 6**	**F: 6**	**M: 12**	**F: 12**
Urinary Deoxypyridinoline/Creatinine Ratio (nmol/mmol creatinine)								
Week 4	275.8	239.3	252.2	211.7	258.5	229.2	243.2	212.3
Plasma Osteocalcin Level (ng/mL)								
End of the Dosing Period	58.58	42.65	56.69	46.23	56.73	42.83	53.54	51.23**

M: Male, F:Female
Statistical significance: ** $p < 0.01$

2.6.7.17.K Investigation of the Effect on Chorioretinal and Circulatory Disorder

2.6.7.17.K.1 Effects of Phlebotomy on Ophthalmoscopy and Histopathology Examinations of the Eye in the Repeated Oral Dose Study

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.7.7-17
Report Title: Repeated Oral Dose Study of JTZ-951 in Dogs -Effect of phlebotomy on the JTZ-951-induced ocular lesion-		**Report/Study No. JTZ951-TX-019/[redacted]199**
Species / Breed: Dog / Beagle	Duration of Dosing: 10-29 days [a], Once Daily	
Initial Age: 7 Months	Duration of Postdose: Not applicable	GLP Compliance: No
Initial Body Weight: Males 8.4 – 9.9 kg		
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	Method of Administration: Oral (Gelatin Capsule / 1 mL/kg)	
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: The animals were phlebotomized based on the Ht values on each day in the phlebotomy group so that inhibited the increases in Ht values for pharmacological action of JTZ-951.		

[a] The withdrawal and re-dosing of JTZ-951 were judged individually based on the body weight and the clinical signs in each animal. The numbers of the day of dosing were up to 29 days.

Dose Level: (mg/kg/day)	**10**													
	Non-Phlebotomy Group							**Phlebotomy Group**						
Gender: Number of Animals	**M:7**							**M:7**						
Animal Number	**10101**	**10102**	**10103**	**10104**	**10105**	**10106**	**10107**	**10201**	**10202**	**10203**	**10204**	**10205**	**10206**	**10207**
The Starting Day of the Withdrawal (Day)	**9**	**11**	**11**	**11**	**NA**	**15**	**11**	**11**	**11**	**9**	**9**	**15**	**13**	**11**
The Day of Dosing Resumption (Day)	**20**	**20**	**28**	**28**	**NA**	**25**	**29**	**28**	**25**	**25**	**25**	**22**	**24**	**NA**
The Day of Necropsy (Day) [a]	**33**	**30**	**36**	**38**	**30**	**40**	**38**	**37 [b]**	**37**	**32**	**32**	**37**	**40**	**16 [c]**
Toxicokinetics: JTZ-951														
C_{1hr} (μg/mL)														
Day 1	14.407	15.621	8.991	24.279	19.316	24.863	5.465	6.932	17.839	19.303	21.345	14.204	22.559	16.509
The Day before Withdrawal	18.241	19.322	20.790	30.516	NA	22.171	19.641	12.851	22.270	18.539	23.525	12.173	16.038	16.562
The Day of Resume of Dosing	17.537	18.012	16.195	16.227	NA	16.113	15.215	3.671	12.066	15.370	23.049	15.701	24.918	NA
The Last Day of Dosing	21.484	14.404	19.135	22.733	19.370	26.596	24.926	11.161	23.215	17.226	21.721	20.690	8.286	NA
C_{24} (μg/mL)														
Day 1	0.133	0.083	0.067	0.223	0.053	0.127	0.187	0.029	0.139	0.384	0.278	0.339	0.463	0.035
The Day before Withdrawal	2.430	3.615	6.205	8.454	NA	2.879	8.117	4.661	3.085	2.614	3.483	2.096	2.535	8.543
The Day of Resume of Dosing	0.467	0.344	0.119	0.173	NA	0.078	0.152	0.245	0.298	0.357	0.670	0.280	0.309	NA
The Last Day of Dosing	4.153	3.006	4.557	4.542	0.213	1.787	5.524	NA	5.189	2.839	2.919	4.548	3.064	NA

Dose Level: (mg/kg/day)	10													
	Non-Phlebotomy Group							Phlebotomy Group						
Gender: Number of Animals	M:7							M:7						
Animal Number	10101	10102	10103	10104	10105	10106	10107	10201	10202	10203	10204	10205	10206	10207
The Starting Day of the Withdrawal (Day)	9	11	11	11	NA	15	11	11	11	9	9	15	13	11
The Day of Dosing Resumption (Day)	20	20	28	28	NA	25	29	28	25	25	25	22	24	NA
The Day of Necropsy (Day) [a]	33	30	36	38	30	40	38	37 [b]	37	32	32	37	40	16 [c]
Noteworthy Findings														
Death or Moribund Sacrifice	0	0	0	0	0	0	0	1[b]	0	0	0	0	0	1[c]
Clinical Observations [d]														
No feces or Decrease in the Amount of Feces	16/33	10/30	18/36	19/38	5/30	13/40	25/38	12/37	22/37	15/32	18/32	17/37	20/40	13/16
Blackish Stools	3/33	0/30	4/36	1/38	0/30	0/40	3/38	1/37	0/37	2/32	2/32	0/37	0/40	0/16
Decrease in Body Surface Temperature (Diagnosed by thermo-palpation)	10/33	6/30	15/36	15/38	0/30	13/40	21/38	12/37	16/37	17/32	18/32	19/37	17/40	8/16
Emaciation	5/33	1/30	2/36	7/38	0/30	11/40	3/38	10/37	1/37	13/32	15/32	4/37	2/40	2/16
Dehydration Signs	1/33	0/30	4/36	4/38	0/30	3/40	3/38	6/37	8/37	14/32	10/32	3/37	7/40	9/16
Decrease in the Locomotor Activities	0/33	0/30	4/36	2/38	0/30	0/40	0/38	2/37	0/37	0/32	2/32	1/37	0/40	5/16
Cheyne-Stokes' Respiration	0/33	0/30	1/36	0/38	0/30	0/40	0/38	1/37	0/37	0/32	0/32	0/37	0/40	0/16
Deep Respiration	0/33	0/30	0/36	0/38	0/30	0/40	2/38	0/37	0/37	0/32	0/32	0/37	0/40	1/16
Hyperthermia	0/33	0/30	0/36	0/38	0/30	0/40	0/38	0/37	0/37	0/32	0/32	0/37	0/40	1/16
Food Consumption (g/day)														
Day –1	250	250	250	250	250	250	183	250	198	250	250	250	250	250
The Day before Withdrawal	4	53	0	0	NA	60	0	36	66	42	0	68	58	0
The Day before Dosing Resumption	250	239	250	250	NA	250	250	250	210	250	250	250	250	NA
The Last Day of Dosing	36	78	4	41	199	32	11	34	46	82	90	0	68	0
Ht (%)														
Day 1 (Pre-treatment)	44.0	40.0	41.5	43.5	39.5	40.0	37.5	35.5	41.0	44.5	40.0	45.5	43.0	40.5
The Day of Initiation of Withdrawal	60.0	60.0	58.5	61.5	NA	56.0	55.0	33.5	39.5	44.0	41.0	46.0	44.0	47.0
The Day of Dosing Resumption	56.0	53.0	58.0	57.0	NA	50.5	53.5	33.5	39.0	38.0	37.5	45.0	41.5	NA
The Last Day of Dosing	67.0	62.0	65.5	65.0	58.0	65.0	61.5	37.0	40.0	43.5	40.0	43.5	44.0	33.0 [h]

Dose Level: (mg/kg/day)	10													
	Non-Phlebotomy Group							Phlebotomy Group						
Gender: Number of Animals	M:7							M:7						
Animal Number	10101	10102	10103	10104	10105	10106	10107	10201	10202	10203	10204	10205	10206	10207
The Starting Day of the Withdrawal (Day)	9	11	11	11	NA	15	11	11	11	9	9	15	13	11
The Day of Dosing Resumption (Day)	20	20	28	28	NA	25	29	28	25	25	25	22	24	NA
The Day of Necropsy (Day) [a]	33	30	36	38	30	40	38	37 [b]	37	32	32	37	40	16 [c]
Funduscopic Examination [i]														
Arterial Dilatation in the Optic Disc [e]														
Day –2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
The Day of Initiation of Withdrawal	–	–	P	P	NA	–	P	–	–	–	–	–	–	P
The Last Day of Dosing	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	– [f]
Reddish Focus around the Optic Disc														
Day –2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
The Day of Initiation of Withdrawal	–	–	P	P	NA	–	–	–	–	–	–	–	–	P
The Last Day of Dosing	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	– [f]
Fluorescein Fundus Angiography [i]														
Decreases in Fluorescence Level in the Retinal Vessels [g]														
Day –2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
The Day of Initiation of Withdrawal	P	P	P	P	NA	P	P	–	–	–	–	–	–	P
The Last Day of Dosing	P	P	P	P	P	P	P	–	P	–	–	–	–	NA [f]
Excess Fluorescence Spot														
Day –2	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
The Day of Initiation of Withdrawal	–	–	–	+	NA	–	–	–	–	–	–	–	–	2+
The Last Day of Dosing	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	±	NA [f]
Histopathology [j]														
Eyeball														
Atrophy, Retina	–	–	–	–	2+	–	–	–	±	±	–	–	–	2+

Dose Level: (mg/kg/day)	10													
	Non-Phlebotomy Group							Phlebotomy Group						
Gender: Number of Animals	M:7							M:7						
Animal Number	10101	10102	10103	10104	10105	10106	10107	10201	10202	10203	10204	10205	10206	10207
The Starting Day of the Withdrawal (Day)	9	11	11	11	NA	15	11	11	11	9	9	15	13	11
The Day of Dosing Resumption (Day)	20	20	28	28	NA	25	29	28	25	25	25	22	24	NA
The Day of Necropsy (Day) [a]	33	30	36	38	30	40	38	37 [b]	37	32	32	37	40	16 [c]

M: Male, NA: Not Applicable

[a] Necropsy was conducted on the day after the last day of dosing.
[b] The animal (Animal No.: 10201) died after dosing and ophthalmoscopy on Day 37.
[c] The animal (Animal No.: 10207) was sacrificed on Day 16, because the animal showed severe toxic symptoms.
[d] The number of days when the findings were observed / the number of days for the observation.
[e] There were the findings mainly in the artery upward from the optic disc.
[f] The examinations for eyes were conducted on the necropsy day (Day 16).
[g] Shortening of duration for fluorescein angiography in the blood vessel upward from the optic disc.
[h] The values on the necropsy day (Day 16).
[i] Criteria for Grading Ocular Findings: –: No abnormal changes ±: Very slight +: Slight 2+: Moderate P: Non-graded change
[j] Criteria for Grading Microscopic Findings: –: No abnormal changes ±: Very slight +: Slight 2+: Moderate 3+: Marked

2.6.7.17.K.2 Plasma ET-1 Concentration in Repeated Dose Study

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.7.7-18
Report Title: Measurements of the Plasma Endothelin-1 Concentrations in a One-Month Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Dogs		**Report/Study No. JTZ951-TX-020/[redacted]192**
Species / Breed: Dog / Beagle	Duration of Dosing: 0 to 3 mg/kg 4 Weeks, 10 mg/kg 12 Days [a], Once Daily	
Initial Age: 7 Months	Method of Administration: Oral (Gelatin Capsule / 1 mL/kg)	GLP Compliance: No
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: Plasma samples were obtained from the animals in the one-month oral dose toxicity study in dogs (Section 2.6.7.7.E). The plasma samples were pooled in each sex and group. The pooled plasma samples were used for measurements of the plasma Endothelin-1 concentrations.		

[a] Animals in the 10 mg/kg group were not administered the test article from Day 7 to Day 23.

Dose Level: (mg/kg/day)		**0 (Control)**		**1**		**3**		**10**	
Gender: No. of Animals		**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
ET-1 (pg/mL)									
	Pre	0.95	0.95	1.00	0.98	1.05	1.18	0.94	1.12
	Day 28	0.63	0.71	0.73	0.62	0.66	0.97	0.94	1.40

M: Male, F: Female

2.6.7.17.K.3 Plasma ET-1 Concentration in Repeated Dose Study

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.7.7-10
Report Title: Repeated Oral Dose Study of JTZ-951 in Dogs -Investigation of the effect of phlebotomy on JTZ-951-induced histopathological findings-		**Report/Study No. JTZ951-TX-012/[redacted]158**
Species / Breed: Dog / Beagle	Duration of Dosing: 12 days [a], Once Daily	
Initial Age: 9 Months	Method of Administration: Oral (Gelatin Capsule / 1 mL/kg)	GLP Compliance: No
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: The animals were phlebotomized based on the Ht values on each day in the phlebotomy group so that the increases in Ht values for pharmacological action of JTZ-951 were inhibited.		

[a] The animals were not administered JTZ-951 from Day 7 to Day 23 (Dosing period: Day 1 to Day 6 and Day 24 to Day 29)

Dose Level: (mg/kg/day)	**10**						**10**		
	Non-Phlebotomy Group						**Phlebotomy Group**		
Gender: Number of Animals	**M: 6**						**M: 3**		
Animal Number	**10101**	**10102**	**10103**	**10201**	**10202**	**10203**	**10301**	**10302**	**10303**
ET-1 (pg/mL)									
Pre-treatment [a]		0.59			0.88			0.71	
Week 1 [b]	2.00	1.78	1.37	2.08	1.58	1.12	1.30	0.95	1.50
Week 3 [b]	0.58	0.98	0.55	1.07	0.59	0.69	0.66	ND	0.98
Week 4 [b]	1.61	1.28	1.45	1.44	0.49	1.31	0.98	0.81	1.58

M: Male, ND: Not detected

[a] Equal volumes of the plasma samples from each animal were pooled in each group.

[b] Equal volumes of the plasma samples obtained for three days at each sampling point (from Days 6 to 8 for week 1, on Days 21, 23 and 24 for week 3 and from Days 28 to 30 for week 4) were pooled in each animal.

2.6.7.17.K.4 Plasma CRP Concentration in Repeated Dose Study

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.7.7-11
Report Title: Measurements of Plasma C-Reactive Protein Concentrations and Plasma Glutamate Dehydrogenase and Sorbitol Dehydrogenase Activities in a One-Month Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Rats with a One-Month Recovery Period		**Report/Study No. JTZ951-TX-013/[redacted]162**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 4 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 6 Weeks	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	GLP Compliance: No
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: The plasma samples were obtained from the animals in the one-month oral dose toxicity study of JTZ-951 in rats with a one-month recovery period (Section 2.6.7.7.A).		

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Gender: Number of Animals [a]	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
CRP (μg/mL)								
End of the Dosing Period	371.2	444.2	328.5	438.7	270.3**	312.2**	244.1**	217.4**

M: Male, F: Female
Statistical significance: ** $p < 0.01$
[a] Ten out of twelve animals in each group were used for analyses.

2.6.7.17.K.5 Plasma CRP Concentration in Repeated Dose Study

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Measurements of Plasma CRP Concentrations in the One-Month Oral Dose Toxicity Study in Dogs	Dog / Beagle	Oral, One-Month, Repeated (10 mg/kg: 12 Days)	1, 3, 10 mg/kg	M and F: 3	The plasma samples were obtained from the animals in the one-month oral dose toxicity study in dogs (Section 2.6.7.7.E). The plasma CRP concentrations were markedly increased at 10 mg/kg in both sexes on Day 7 and 28. At 10 mg/kg on Day 21 (Day 15 of the withdrawal period) the plasma CRP concentrations decreased to the normal range of the control group. However, the plasma CRP concentrations increased again on Day 28 (Day 5 of the dosing period) after resuming dosing. At 3 mg/kg the plasma CRP concentrations were transiently increased in some animals during the dosing period.	JTZ951-TX-014/ [redacted]186	4.2.3.7.7-12

F: Female

2.6.7.17.L Investigation of the Effect on the Accessory Reproductive Organs

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.7.7-19
Report Title: Measurements of Plasma Testosterone Concentrations in a One-Month Oral Dose Toxicity Study of JTZ-951 in Rats with a One-Month Recovery Period		**Report/Study No. JTZ951-TX-021/[redacted]148**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: 4 Weeks, Once Daily	
Initial Age: 6 Weeks	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	GLP Compliance: No
Vehicle / Formulation: 0.5% Methylcellulose Aqueous Solution / Suspension		
Special Features: The plasma samples were obtained from the animals in the one-month oral dose toxicity study of JTZ-951 in rats with a one-month recovery period (Section 2.6.7.7.A).		

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (Control)**	**30**
Gender: Number of Animals	**M:12**	**M:12**
Testosterone (ng/mL)	1.08	0.45

M: Male

2.6.7.17.M Mechanistic Studies for Increased TGL level in Plasma

2.6.7.17.M.1 Changes in TGL Level after a Single Oral Dose

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.7.7-20
Report Title: Single Oral Dose Study of JTZ-951 in Male Rats –Time course analysis of the changes in plasma triglyceride levels after a single dose under non-fasted condition–		**Report/Study No. JTZ951-TX-022/[redacted]126**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: Single	
Initial Age: 6 Weeks	Duration of Postdose: Not applicable	GLP Compliance: No
Date of Dose: [redacted], 20[redacted]	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	
Initial Body Weight: 203 – 240 g		
Vehicle / Formulation: 0.5% methylcellulose aqueous solution / Suspension		

Dose Level: (mg/kg/day)	**0 (control)**	**3**	**10**	**30**
Gender: Number of Animals	**M: 5**	**M: 5**	**M: 5**	**M: 5**
Noteworthy Findings				
Death or Moribund Sacrifice	0	0	0	0
Body Weight	--	--	--	--
Food Consumption	--	--	--	--
Plasma TGL Levels (mg/dL)				
2 hours post-dose	65.6	76.8	122.6*	142.4**
4 hours post-dose	73.6	103.8	161.6**	195.8**
8 hours post-dose	87.4	111.0	181.2**	368.0**
12 hours post-dose	66.0	69.4	147.8**	363.4**
24 hours post-dose	130.6	132.4	170.4	291.2
48 hours post-dose	146.4	141.4	136.6	150.4

M: Male
Statistical significance: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$
--: No noteworthy findings

2.6.7.17.M.2 Changes in TGL Level after a Single Oral Dose

	Test Article: JTZ-951	**Location in CTD:** 4.2.3.7.7-21
Report Title: Single Oral Dose Study of JTZ-951 in Male Rats–Time course analysis of the changes in plasma triglyceride levels following a single dose after overnight fasting–		**Report/Study No. JTZ951-TX-023/[redacted]145**
Species / Strain: Rat / Crl:CD(SD)	Duration of Dosing: Single	
Initial Age: 6 Weeks	Duration of Postdose: Not applicable	GLP Compliance: No
Date of Dose: [redacted], 20[redacted]	Method of Administration: Oral (Gavage / 5 mL/kg)	
Initial Body Weight: 146 – 202 g		
Vehicle / Formulation: 0.5% methylcellulose aqueous solution / Suspension		
Special Features: Animals were fasted overnight and were fed approximately 8 hours after dosing.		

Feeding Condition	**Fast**				**Non-Fast**	
Dose Level: (mg/kg)	**0 (control)**	**3**	**10**	**30**	**0 (control)**	**30**
Gender: Number of Animals	**M: 5**	**M: 5**	**M: 5**	**M: 5**	**M: 5**	**M: 5**
Noteworthy Findings						
Death or Moribund Sacrifice	0	0	0	0	0	0
Body Weight	--	--	--	--	--	--
Food Consumption	--	--	--	--	--	--
Plasma TGL Concentrations (mg/dL)						
2 hours after dosing	27.0	54.0*	53.2*	77.2**	53.6	80.6
4 hours after dosing	26.4	66.6**	130.4**	132.6**	51.0	143.8**
8 hours after dosing	15.0	39.8**	110.8**	223.6**	49.6	237.6**
12 hours after dosing	30.6	76.8**	178.6**	312.4**	65.2	202.2*
24 hours after dosing	75.2	129.6	146.2	235.6**	83.4	119.6
48 hours after dosing	90.4	128.6	91.8	119.0	98.8	82.2
Lipoprotein Analysis by HPLC						
Increased VLDL and CM Fraction [a]						
8 hour after dosing	–	NA	NA	P	–	P
12 hour after dosing	–	NA	NA	P	–	P

M: Male, NA: Not applicable
Statistical significance: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$
--: No noteworthy findings
[a] Criteria for lipoprotein analysis by HPLC: –: No abnormal changes P: Non-graded change

2.6.7.17.M.3 Changes in TGL Level after a Single Oral Dose

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Investigation of the Dose-dependency in Plasma TGL Concentrations	Dog / Beagle	Oral, Single	1, 3, 10, 30 mg/kg	M: 3	30 mg/kg: Decreased food consumption and loss of body weight. From 3 mg/kg: Plasma TGL concentrations increased dose-dependently, but the change was slight.	JTZ951-TX-004/ [redacted]007	4.2.3.7.7-22

M: Male

2.6.7.17.M.4 Effects on Hepatic TGL Secretion Rate

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Effects on Hepatic TGL Secretion Rate	Rat / Crl:CD(SD)	Oral, Single	30 mg/kg	M: 6	No effects on hepatic TGL secretion rate at 30 mg/kg.	JTZ951-PH-018/ [redacted]B951TG01	4.2.3.7.7-23

M: Male

2.6.7.17.M.5 Effects on TGL Elimination Rate

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Effects on TGL Elimination Rate	Rat / Crl:CD(SD)	Oral, Single	30 mg/kg	M: 6	Significant prolongation of TGL elimination rate at 30 mg/kg.	JTZ951-PH-019/ [redacted]B951TG02	4.2.3.7.7-24

M: Male

2.6.7.17.M.6 Effects on Blood LPL Activity

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Effects on Blood LPL Activity	Rat / Crl:CD(SD)	Oral, Single	30 mg/kg	M: 6	Significant decrease in blood LPL activity at 30 mg/kg.	JTZ951-PH-020/ [redacted]B951TG03	4.2.3.7.7-25

M: Male

2.6.7.17.M.7 Effects on ANGPTL4 mRNA Levels in Liver and Kidney

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Effects on ANGPTL4 mRNA Levels in Liver and Kidney	Rat / Crl:CD(SD)	Oral, Single	30 mg/kg	M: 6	Significant increases in ANGPTL4 mRNA levels in liver and kidney at 30 mg/kg	JTZ951-PH-016/ [redacted]B951TG04	4.2.3.7.7-26

M: Male

2.6.7.17.N Mechanistic Studies for Effects on VEGF

2.6.7.17.N.1 Effects on Plasma VEGF Concentration

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Effects on Plasma VEGF Concentration	Rat / Crl:CD(SD)	Oral, Single	3, 10, 30 mg/kg	M: 6	Significant increase in plasma VEGF concentration at 30 mg/kg	JTZ951-PH-015/ [redacted]B951NV01	4.2.3.7.7-27

M: Male

2.6.7.17.N.2 Effects on Retinal VEGF mRNA Levels

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Effects on Retinal VEGF mRNA Levels	Rat / Crl:CD(SD)	Oral, Single	30 mg/kg	M: 6	No effect on retinal VEGF mRNA level at 30 mg/kg.	JTZ951-PH-025/ [redacted]BHIFVM01	4.2.3.7.7-28

M: Male

2.6.7.17.N.3 Effects on Retinal Vascular Permeability

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Effects on Retinal Vascular Permeability	Rat / Crl:CD(SD)	Oral, Single	300 mg/kg	M: 6	No effect on retinal vascular permeability at 300 mg/kg.	JTZ951-PH-026/ [redacted]B951VK01	4.2.3.7.7-29

M: Male

2.6.7.17.N.4 Effects on Tumor Growth

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Effects on Tumor Growth	Mice / CAnN. Cg-Foxn1<nu>/ CrlCrlj (BALB/c-nu/nu)	Oral, 20-Day Repeated	30 mg/kg	F: 10	Plasma VEGF concentration increased at 30 mg/kg. No effect on tumor growth.	JTZ951-PH-032/ [redacted]B951XG01	4.2.3.7.7-30

F: Female

2.6.7.17.O Mechanistic Studies for Thrombus Formation

2.6.7.17.O.1 Additional Histopathological Examination in the Lung in the One-Month Repeated Study in Monkeys

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Additional Histopathological Examination in the Lung in the One-Month Repeated Study in Monkeys	Monkeys/ Cynomolgus	Oral, One-Month Repeated (100 mg/kg, Two animals: sacrificed on day 7 or 9. One animal: 13 Days)	10, 30, 100 mg/kg	M: 3	In the postmortem CT analysis, there were no marked differences in the CT images of the lungs. On the histopathological examination, thrombi were observed in two animals at 10 mg/kg, one animal at 30 mg/kg and all three animals at 100 mg/kg.	JTZ951-TX-040/ [redacted]001	4.2.3.7.7-31

M: Male

2.6.7.17.O.2 Effects on Thrombus Formation and Blood Coagulation at a High Dose Level

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Effects on Thrombus Formation and Blood Coagulation at a High Dose Level	Rat / Crl:CD(SD)	Oral, 2, 4, 7 Day Repeated	100 mg/kg	M:7	From Day 2: Increased Ret counts and plasma PAI-I concentration From Day 4: Increased MPV and plasma TAT concentration, thrombus formation in lung and heart Day 7: Increased Hb concentration	JTZ951-PH-027/ [redacted]B951TH01	4.2.3.7.7-32

M: Male

2.6.7.17.P Mechanistic Studies for Increased Chromosomal Aberrations in Chinese Hamster Lung Cells

Test Article: JTZ-951

Species / Strain	Method of Treatment (Vehicle / Formulation)	Dose (μg/mL)	Duration of Exposure (hours)	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Chinese Hamster Lung Cell	Incubation for 24 hours without S9 mix (DMSO / Solution)	KC7F2*: 100-250 μg/mL JTZ-951: 150 μg/mL	Pre-treatment with KC7F2 for 1 hour and Treatment with JTZ-951 for 24 hours without S9 mix	KC7F2 inhibited the induction of Chromosomal Aberrations by JTZ-951	JTZ951-TX-027/ [redacted]009	4.2.3.7.7-33

*: KC7F2 (HIF-1α protein inhibitor), A 1-hour pre-treatment with the concentrations of KC7F2 at 100 to 250 μg/mL

2.6.7.18 Studies on Metabolite

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Single Oral Dose Study of JTZ-951 -Toxicokinetic Analyses of (R)-M2-	Mouse / TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic [-/-])	Oral, Single	3, 6, 20, 60 mg/kg	M: 9	The systemic exposure to (R)-M2 increased dose-dependently at up to 60 mg/kg.	JTZ951-TX-046/ [redacted]182	4.2.3.7.5-1
13-Week Repeated Oral Dose Study of JTZ-951 -Toxicokinetic Analyses of (R)-M2-	Mouse / TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic [-/-])	Oral, 13-Week Repeated Male at 20 mg/kg: 50-Day	6, 10, 20 mg/kg	M and F: 32 (8 at 0 mg/kg)	The systemic exposure to (R)-M2 increased dose-dependently at up to 20 mg/kg in both sexes. At the same dose level, the systemic exposure to (R)-M2 was higher in females than that in males. The systemic exposure to (R)-M2 tended to increase on Day 87 or Day 50 (for males at 20 mg/kg) when compared with that on Day 1 in both sexes.	JTZ951-TX-054/ [redacted]021	4.2.3.7.5-2
Single Oral Dose Study of JTZ-951 -Toxicokinetic Analyses of (R)-M2-	Rat / Crl:CD(SD)	Oral, Single	250 mg/kg	M: 5	The systemic exposure to (R)-M2 at 30 mg/kg; C_{max}: 867.6 ng/mL AUC_{0-24}: 3273.0 ng·hr/mL	JTZ951-TX-052/ [redacted]906	4.2.3.7.5-3
Single Oral Dose Study of JTZ-951 -Toxicokinetic Analyses of (R)-M2-	Rat / Crl:CD(SD)	Oral, Single	3, 6, 30 mg/kg	M and F: 3	The systemic exposure to (R)-M2 increased dose-dependently at up to 30 mg/kg in both sexes. The systemic exposure to (R)-M2 was higher in females than that in males. Males at 30 mg/kg C_{max}: 110.87 ng/mL, AUC_{0-24}: 262.80 ng·hr/mL Females at 30 mg/kg C_{max}: 349.79 ng/mL, AUC_{0-24}: 715.16 ng·hr/mL	JTZ951-TX-055/ [redacted]022	4.2.3.7.5-4

Test Article: JTZ-951

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
	Rat / Crl:CD(SD), pregnant animals	Oral, 11-Day Repeated (GD 7 to GD 17)	30 mg/kg	F: 6	The systemic exposure to (R)-M2 on Day 11 was lower than that on Day 1. Day 11(GD 17) C_{max}: 62.7 ng/mL, AUC_{0-24}: 430.2 ng·hr/mL	JTZ951-TX-057/ [redacted]902	4.2.3.7.5-5

M: Male, F: Female

Test Article: Metabolite of JTZ-951 [(R)-M2 ([redacted])]

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
Bacterial Reverse Mutation Test using (R)-M2 *In vitro*	*Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	--	156-5000 µg/plate +/- metabolic activation	--	(R)-M2 did not increase the number of revertant colonies in any strain when compared with that of the negative control with or without S9 mix. (R)-M2 was judged to be negative for any potential to induce reverse mutations in bacterial tester strains.	JTZ951-TX-051/[redacted]905	4.2.3.7.5-6
Single Oral Dose Study of (R)-M2 in Mice	Mouse / TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic [-/-])	Oral, Single	TK; M: 10, 30, 100 mg/kg, F: 3, 10, 30, 100 mg/kg Pharmacology-Related Parameters; M: 30, 100 mg/kg	TK; M: 12 F: 9 Measurement of Pharmacology-Related Parameters; M: 8	There were no treatment-related findings or changes in the clinical observations, body weights or food consumption in either sex at any dose level. [(R)-M2 concentration]: The systemic exposure to (R)-M2 increased dose-dependently at up to highest dose level in both sexes. At the same dose level, the systemic exposure to (R)-M2 was higher in females than that in males. [Plasma EPO and VEGF levels]: No fffect on plasma levels of EPO or VEGF.	JTZ951-TX-048/[redacted]064	4.2.3.7.5-7
6-Week Repeated Oral Dose Study of (R)-M2	Mouse / TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic [-/-])	Oral, 6-Week Repeated	M: 10, 30, 100 mg/kg, F: 3, 10, 30 mg/kg	M and F: 8	No deaths occurred in either sex at any dose level throughout the dosing period. In males, RBC, Hb, Ht, Ret and MCH were slightly increased at 100 mg/kg. In females, there were no treatment-related findings in any parameter.	JTZ951-TX-049/[redacted]072	4.2.3.7.5-8

Test Article: Metabolite of JTZ-951 [(R)-M2 ([redacted])]

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
					There were no treatment-related findings or changes in the clinical observations, body weights, food consumption, water intake, urinalysis, ophthalmoscopy, necropsy, clinical chemistry, organ weights or histopathological examination in either sex at any dose level.		
13-Week Repeated Oral Dose Study of (R)-M2 with 4-Week Recovery Period	Mouse / TgrasH2 wild-type (CByB6F1-Tg[HRAS]2Jic [-/-])	Oral, 13-Week Repeated	M: 10, 30, 100 mg/kg F: 0, 3, 10, 30 mg/kg	Main Study Groups: M and F: 12 Recovery Groups: M and F: 6 TK Study Groups: M and F: 26 (8 at 0 mg/kg)	There was no effect on survival, clinical signs, ophthalmology examinations, body weight or body weight changes, food consumption, water intake, clinical pathology, organ weights, gross observations at necropsy or histopathology. [(R)-M2 concentration]: The systemic exposure to (R)-M2 increased dose-dependently at up to highest dose level in both sexes. At the same dose level, the systemic exposure to (R)-M2 was higher in females than that in males. There were no marked effects with repeated dosing on the systemic exposure to (R)-M2. (R)-M2 AUC_{0-24} at highest dose (males: 100 mg/kg, females: 30 mg/kg); Males: 3307.7 ng·hr/mL, Females: 1909.8 ng·hr/mL	JTZ951-TX-053/ [redacted] JTZ951-TX-054/ [redacted]021	4.2.3.7.5-9 4.2.3.7.5-2

Test Article: Metabolite of JTZ-951 [(R)-M2 ([redacted])]

Type of Study / Species / Strain	Species / Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg) or Concentrations	Gender and n per Group	Noteworthy Findings	Report/Study Number	Location in CTD
In silico analyses of (R)-M2 using DEREK Nexus Derek Nexus Ver. 4.1.0	*In silico*	--	--	--	(R)-M2 had no structural alerts for the 54 toxicity endpoints including genotoxicity, mutagenicity and organ toxicity at the selected reasoning level. Results of DEREK showed "PLAUSIBLE" for carcinogenicity of (R)-M2 in rats and mice due to peroxisome proliferation. Peroxisome proliferators-induced hepatocarcinogenicity in rodents is considered to be species specific.	JTZ951-TX-050/[redacted]103	4.2.3.7.5-10

M: Male, F: Female

2.6.7.19 Studies on Impurities

Not applicable.