目次

2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.1.1 単回投与毒性試験 5
2.6.6.1.1.1 ラット 5
2.6.6.1.1.2 イヌ 5
2.6.6.1.2 反復投与毒性試験 5
2.6.6.1.2.1 ラット 5
2.6.6.1.2.2 イヌ 7
2.6.6.1.3 遺伝毒性試験 8
2.6.6.1.4 生殖発生毒性試験 9
2.6.6.1.5 光毒性試験 9
2.6.6.1.6 不純物の毒性試験 9
2.6.6.2 単回投与毒性試験 9
2.6.6.2.1 ラットを用いた単回経口投与毒性試験 9
2.6.6.2.2 イヌを用いた単回経口投与毒性試験 10
2.6.6.3 反復投与毒性試験 10
2.6.6.3.1 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験 10
2.6.6.3.2 ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 12
2.6.6.3.3 イヌを用いた 1 週間反復経口投与毒性試験 15
2.6.6.3.4 雄性イヌを用いた 1 週間反復経口投与毒性試験（摂餌条件の影響検討） 16
2.6.6.3.5 イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験 17
2.6.6.3.6 イヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 18
2.6.6.3.7 イヌを用いた 13／39 週間反復経口投与毒性試験及び 4／8 週間回復性試験 20
2.6.6.4 遺伝毒性試験 21
2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験 21
2.6.6.4.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験 22
2.6.6.4.3 ラットを用いた骨髄小核試験 22
2.6.6.5 がん原性試験 22
2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 23
2.6.6.6.1 ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 23
2.6.6.6.2 ラットを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する予備試験 24
2.6.6.6.3 ラットを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する試験 25
2.6.6.6.4 ウサギを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する予備試験 26
2.6.6.6.5 ウサギを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する試験 27
2.6.6.6.6 出生前及び出生後発生並びに母動物の機能に関する試験 28
2.6.6.7 局所刺激性試験 28
2.6.6.8 その他の毒性試験 28
2.6.6.8.1 光毒性試験 28
2.6.6.8.1.1 紫外可視吸光度測定試験 28

2.6.6.8.1.2 3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験 29
2.6.6.8.2 不純物の毒性試験 29
2.6.6.9 考察及び結論 30
2.6.6.9.1 重要な毒性試験における無毒性量及び曝露量比 30
2.6.6.9.2 毒性の標的 30
2.6.6.9.3 遺伝毒性 33
2.6.6.9.4 生殖発生毒性 33
2.6.6.9.5 光毒性 33
2.6.6.9.6 結論 33
2.6.6.10 参考文献 34

略号一覧

略号	省略していない用語	備考
AUC	Area Under the Curve	薬物濃度 - 時間曲線下面積
C_{max}	Maximum concentration	最高血漿中濃度
DMSO	Dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
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
IC50	50% inhibition concentrations	50%阻害濃度
GGT	γ-glutamyltranspeptidase	γ-グルタミルトランスペプチダーゼ
HDL	High Density Lipoprotein	高比重リポ蛋白
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
BUN	Blood urea nitrogen	尿素窒素
PCE	Polychromatic erythrocytes	幼若赤血球
MPCE	Micronucleated polychromatic erythrocytes	小核を有する幼若赤血球
cGVHD	chronic Graft versus host disease	慢性移植片対宿主病
AU	Absorbance units	吸光度
UVR	Ultra violet ray	紫外線
MPE	Mean photo effect	平均光作用
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
NMT	Not more than	以下
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト
(Q)SAR	Quantitative Structure-Activity Relationship	定量的構造活性相関
PPK	Population Pharmacokinetics	母集団薬物動態解析
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
MCV	Mean corpuscular volume	平均赤血球容積
MCH	Mean corpuscular hemoglobin	平均赤血球色素
MPV	Mean platelet volume	平均血小板容積

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ベルモスジルの毒性評価として、ラット及びイヌを用いた単回及び反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験を実施した。その他の毒性試験として光毒性試験を実施した。重要な試験は、医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン及び医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に遵守して実施した。非臨床毒性試験一覧を表 2.6.6-1 に示す。

In vivo 毒性試験の投与経路は臨床投与経路に従い経口投与とした。ヒトでみられるベルモスジルの主要代謝物である N 脱アルキル体（M1）及び加水分解体（M2）は、毒性試験で使用したラット、イヌ及びウサギのいずれの動物種でも確認された。

被験物質は、単回毒性試験ではベルモスジル塩酸塩及び／又はベルモスジルトリフルオロ酢酸塩を使用し、それ以外の試験ではベルモスジルメシル酸塩を使用した。なお、2.6.6 項における用量及び濃度はベルモスジル（遊離塩基）換算値として表記した。

表 2.6.6-1 非臨床毒性試験一覧

試験の種類及び期間		動物種	投与経路	用量[a]（mg/kg/日）	GLP	CTD 記載カ所：試験番号
単回投与毒性	単回	ラット	経口	100[b]、200[b, c]、300[b]、400[c]、600[c]	適用	4.2.3.1-01：0500-05015
	単回（漸増）	イヌ	経口	50[c]、200[c]、250[c]、300[c]、400[c]	非適用	4.2.3.1-02：1173-023
反復投与毒性	4 週間 +2 週間回復	ラット	経口	0、50、150、375	適用	4.2.3.2-01：1173-028
	13／26 週間 +4 週間回復	ラット	経口	0、50、125、275	適用	4.2.3.2-02：029502
	1 週間	イヌ	経口	0、25、100、200	非適用	4.2.3.2-03：1173-046
	1 週間	イヌ	経口	70	適用	4.2.3.2-04：8289749
	4 週間 +2 週間回復	イヌ	経口	0、25、75、200/125	適用	4.2.3.2-05：1173-029
	13 週間 +4 週間回復	イヌ	経口	0、35、70、125	適用	4.2.3.2-06：029281
	13／39 週間 +4／8 週間回復	イヌ	経口	0、5、20、40	適用	4.2.3.2-07：8289750
遺伝毒性	遺伝子復帰突然変異	ネズミチフス菌、大腸菌	NA	15 - 5000 µg/plate	適用	4.2.3.3.1-01：AB44FM.503.BTL
	In vitro 染色体異常	HPBL	NA	3.13 - 250 µg/mL	適用	4.2.3.3.1-02：AB44FM.341.BTL
	In vivo 骨髄小核	ラット	経口	0、500、1000、2000	適用	4.2.3.3.2-01：AB44FM.125.BTL
生殖発生毒性	受胎能及び初期胚発生	ラット	経口	0、50、150、275	適用	4.2.3.5.1-01：2420-008
	胚・胎児発生（予備）	ラット	経口	0、25、50、150、300	非適用	4.2.3.5.2-01：2420-004
	胚・胎児発生	ラット	経口	0、15、50、150	適用	4.2.3.5.2-02：2420-006

HPBL= Human peripheral blood lymphocyte, NA= Not applicable.

a. 特記しない限りベルモスジルメシル酸塩を使用し、用量及び濃度は遊離塩基として表記した。
b. ベルモスジルトリフルオロ酢酸塩を使用した。
c. ベルモスジル塩酸塩を使用した。

表 2.6.6-1 非臨床毒性試験一覧（続き）

試験の種類及び期間		動物種	投与経路	用量[a]（mg/kg/日）	GLP	CTD 記載カ所：試験番号
生殖発生毒性	胚・胎児発生（予備）	ウサギ	経口	非妊娠：25 - 400 妊娠：0、25、50、100、250	非適用	4.2.3.5.2-03：2420-005
	胚・胎児発生	ウサギ	経口	0、50、125、225	適用	4.2.3.5.2-04：2420-007
その他の毒性：光毒性	紫外可視吸光	290～700 nm	NA	0.000977 - 1 mmol/L	非適用	4.2.3.7.7-01：20082808
	ニュートラルレッド法	3T3 細胞	NA	0.056 - 3.16 µg/mL	適用	4.2.3.7.7-02：20082809

NA= Not applicable.

a. 特記しない限りベルモスジルメシル酸塩を使用し用量及び濃度は遊離塩基として表記した。

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

2.6.6.1.1.1 ラット

ラットを用いた単回経口投与毒性試験（100、200、300、400 及び 600 mg/kg）では、600 mg/kg 群で 3 例の死亡がみられ、雄 1 例が投与 2 日目、雌各 1 例が投与 1 日目及び 5 日目に死亡した。死亡例では、喘ぎ呼吸、呼吸困難及び／又は脱水がみられ、剖検では胃の膨満（ガス又は被験物質様物質）、腸管の膨満（ガス）及び／又は副腎の肥大がみられた。同群の生存例においても同様の一般状態変化及び剖検所見がみられ、加えて肺の赤色斑がみられた。以上、ラットに単回経口投与したときの最小致死量は 600 mg/kg であった。

2.6.6.1.1.2 イヌ

イヌを用いた単回経口投与毒性試験（50、200、400、300 及び 250 mg/kg の順に 2～6 日間隔で漸増）では、400 mg/kg まで死亡はみられなかった。200 mg/kg 以上の雌、250 mg/kg 以上の雄で嘔吐がみられ、250 mg/kg 以上では水様性便もみられた。以上、イヌに単回経口投与したとき、250 mg/kg 以上で水様性便がみられたことから最大耐量は 200 mg/kg と考えられた。

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

2.6.6.1.2.1 ラット

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（0、50、150 及び 375 mg/kg/日）では、375 mg/kg/日群の雌 1 例が投与 11 日に死亡し、他の雌 1 例が投与 21 日に瀕死となり安楽死させた。これらの動物では、自発運動低下、円背位、体温低下（触診）、皮膚の蒼白及び／又は削痩がみられ、摂餌量及び体重の減少がみられた。病理組織学的検査において、胸腺で中等度のリンパ球枯渇及び／又は骨髄で極軽度の細胞数減少がみられたが、死亡及び瀕死の原因は不明であった。生存例では、375 mg/kg/日群の雌で活動性低下、円背位、皮膚の蒼白及び腹部膨満がみられた。375 mg/kg/日群では投与後 1 週間までに著しい摂餌量減少及び体重減少がみられ、その後も、摂餌量減少と体重増加抑制が雌で継続し、雄では摂餌量減少が投与後 3 週間までみられた。休薬期間中に摂餌量の増加がみられ、雌では体重の回復傾向が認められた。血液学的検査において、150 mg/kg/日群の雌及び 375 mg/kg/日群で、赤血球数の減少、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下、網状赤血球の数及び／又は比率の上昇がみられ、375 mg/kg/日群の雌では血小板数の増加もみられた。150 mg/kg/日群の雌及び 375 mg/kg/日群では、病理組織学的検査にて骨髄に赤芽球性又は混在性の過形成が軽度にみられた。このように赤血球

数の低下等がみられたが、骨髄及び末梢血に造血反応が認められ、休薬後の回復又は回復傾向もみられたことから毒性学的意義は低いと考えられた。血液生化学検査において、150 mg/kg/日群の雌及び375 mg/kg/日群で、GGT、ALP、トリグリセリド、総コレステロール及び／又はHDLコレステロールの増加がみられた。肝臓では、50 mg/kg/日の雌及び150 mg/kg/日以上の群で肝重量（絶対及び相対）の増加がみられ、同群の病理組織学的検査において、びまん性の肝細胞肥大が極軽度から重度に認められた。これらは肝代謝酵素誘導に起因する変化と考えられ、細胞傷害性変化は認められなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。これらの変化は休薬後の回復又は回復傾向が認められた。また、375 mg/kg/日群では、BUN及びクレアチニンの軽度な増加、尿検査では、50 mg/kg/日以上の群で尿量の増加及び比重の低下がみられたが、腎臓に病理組織学的変化は認められなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。病理検査において、375 mg/kg/日群の雌で卵巣、子宮及び下垂体の重量（絶対及び／又は相対）の減少がみられ、同群雄では精巣に軽度から中等度の精細管変性／萎縮及び精巣上体に軽度の精子減少／精子細胞残渣がみられた。さらに、375 mg/kg/日群の雌では胸腺に重量（絶対及び相対）の減少を伴う極軽度から軽度のリンパ球枯渇及び軽度のアポトーシスがみられた。これらの変化は摂餌量の減少、体重減少及び体重増加抑制並びにこれに伴うストレスによる二次的な影響と考えられた。以上、ラットに4週間反復経口投与したとき、375 mg/kg/日群で死亡及び体重減少がみられたことから、無毒性量は150 mg/kg/日と考えられた。

ラットを用いた13／26週間反復投与毒性試験（0、50、125及び275 mg/kg/日）では、275 mg/kg/日群の雌2例が死亡した。1例は投与85日目に死亡し、一般状態に異常はみられず、剖検において肝臓の腫大、胸腺の赤色化、卵巣の赤褐色化がみられた。病理組織学的検査では、肝臓の小葉中心及び中間帯に中等度の肝細胞肥大、胸腺に極軽度のうっ血及び軽度の皮質リンパ球枯渇、副腎皮質に軽度の肥大、腎臓皮質外帯の近位尿細管に極軽度の褐色色素沈着が認められたが死因は不明であった。他の1例は投与159日に死亡し、死亡日に自発運動減少及び皮膚の蒼白がみられ、剖検では胸水がみられた。病理組織学的検査では、肝臓の小葉中心及び中間帯に軽度の肝細胞肥大、腎臓皮質外帯の近位尿細管に中等度の上皮細胞壊死及び極軽度の褐色色素沈着、脾臓に軽度のマントル層リンパ球増加、副腎皮質に軽度の肥大、胸腺皮質に軽度のリンパ球枯渇、甲状腺に中等度のコロイド減少及び軽度の濾胞上皮細胞肥大、子宮の発育不全がみられた。死因は腎臓皮質外帯の近位尿細管にみられた上皮細胞壊死の可能性が考えられた。生存例では、すべての投与群において摂餌量の減少及び体重増加抑制が投与初期からみられたが、投与期間中に体重増加量の回復がみられていることから毒性学的意義は低いと考えられた。血液学的検査では、投与13週及び26週に50 mg/kg/日群の雌及び125 mg/kg/日以上の群において、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値が低下し、125 mg/kg/日群の雌及び275 mg/kg/日群ではMCV及びMCHが上昇した。125 mg/kg/日以上の群では網状赤血球数の増加もみられた。これらの変化はいずれも休薬による回復又は回復傾向が認められ、適応の範囲内の変化であり、毒性学的意義は低いと考えられた。血液生化学検査では、投与13週及び26週にすべての投与群で総タンパク質及び／又はアルブミンが増加し、125 mg/kg/日以上の群の雄及び／又は雌でコレステロールが増加した。さらに、275 mg/kg/日群の雄及び／又は雌ではALP、GGT及び総ビリルビンの上昇がみられ、投与26週の275 mg/kg/日群の雌ではトリグリセリドの上昇もみられた。肝臓では、投与13週及び26週にすべての投与群で重量（絶対及び／又は相対）が増加し、投与13週の50 mg/kg/日群の雌及び125 mg/kg/日以上の群並びに投与26週のすべての投与群で小葉中心及び中間帯にびまん性の肝細胞肥大が極軽度から中等度にみられた。これらの変化は肝薬物代謝酵素誘導に伴う変化と考えられ、肝臓に傷害性の変化はないことから毒性学的意義は低いと考えられた。病理検査では、腎臓に投与13週の125 mg/kg/日以上の群で極軽度から中等度の細胞内タンパク性硝子滴の増加、275 mg/kg/日群の雌で尿細管に極軽度の好塩基性変化及び近位尿細管上皮に極軽度の褐色色素沈着

がみられた。投与 26 週ではすべての投与群の雄で極軽度から中等度の細胞内タンパク性硝子滴の増加、125 mg/kg/日以上の群で尿細管に極軽度から軽度の好塩基性変化及び近位尿細管上皮に極軽度の褐色色素沈着がみられ、275 mg/kg/日群で尿細管に極軽度から軽度の拡張がみられた。また、いずれの投与期間も 125 mg/kg/日群の雄又は雌並びに 275 mg/kg/日群で腎重量（絶対及び／又は相対）の増加がみられた。休薬群では投与 13 週後の休薬時で腎重量の増加がみられたが、その他は回復性が認められた。腎臓の変化は再生性又は適応性の変化と考えられた。生殖器に関して、雌では投与 13 週及び 26 週に 125 mg/kg/日以上の群で子宮重量（絶対及び／又は相対）の減少、275 mg/kg/日群で子宮／子宮頸部の発育不全が軽度から中等度にみられ、同群の投与 13 週では卵巣の卵胞発達低下が軽度から中等度にみられた。投与 26 週後の休薬群で卵巣重量（相対）の増加がみられ、その他は回復又は回復傾向が認められた。雄では投与 13 週に 125 mg/kg/日以上の群、投与 26 週に 50 mg/kg/日以上の群で精巣に極軽度から軽度の精細管精細胞変性がみられ、いずれの投与期間も 275 mg/kg/日群で精巣上体に極軽度の輸出管精子変性がみられた。雄性生殖器の組織学的変化は休薬後もみられ、投与 13 週後の休薬群で精巣上体重量（絶対）の減少、投与 26 週後の休薬群では精巣の小型化が 1 例みられた。これらの生殖器における変化は、体重増加抑制による二次的な影響と考えられた。脾臓では、投与 13 週及び 26 週に 50 mg/kg/日群の雌及び／又は 125 mg/kg/日以上の群で脾臓重量（絶対及び／又は相対）の増加並びに軽度のマントル層リンパ球の増加がみられた。投与 26 週後の休薬群も軽度のマントル層リンパ球増加はみられたが、その他は回復が認められた。傷害性の変化がみられないことから毒性学的意義は低いと考えられた。以上、ラットに 26 週間反復経口投与したとき、275 mg/kg/日群の雌で死亡がみられたことから、無毒性量は雌で 125 mg/kg/日、雄で 275 mg/kg/日であると考えられた。

2.6.6.1.2.2 イヌ

イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験（0、25、75 及び 200/125 mg/kg/日）では、いずれの群においても死亡はみられなかった。200/125 mg/kg/日群では、200 mg/kg/日の投与により摂餌量及び体重の減少がみられ、投与 8 日目以降に補食等の処置を施したが、体重減少が継続したことから投与 15 日から 4 日間休薬し、投与 19 日から 125 mg/kg/日に減量して投与を再開した。減量後も摂餌量及び体重の減少は継続した。これらの変化は休薬により回復又は回復傾向が認められた。また、200/125 mg/kg/日群では、嘔吐、削痩、流涙及び皮膚の蒼白がみられ、雌 1 例では皮膚の弾性消失、自発運動低下及び虚脱もみられた。血液学的検査において、200/125 mg/kg/日群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の軽度な低下、MCV、血小板数及び網状赤血球の数及び比率の軽度な増加がみられた。骨髄塗沫標本観察では、赤芽球の増加がみられた。これらの変化は休薬による回復性が認められ、適応の範囲内の変化であり、毒性学的意義は低いと考えられた。血液生化学検査において、200/125 mg/kg/日群の雌雄各 1 例で ALP、GGT 及び／又は総ビリルビンの増加がみられた。同群では、肝重量（絶対及び／又は相対）の増加がみられ、極軽度から軽度の胆汁うっ滞、肝細胞の空胞化及びクッパー細胞の色素沈着がみられ、雄 1 例で極軽度の胆管過形成もみられた。これらの変化は休薬による回復又は回復傾向が認められた。その他、200/125 mg/kg/日群では剖検で胸腺の小型化がみられ病理組織学的検査において軽度から中等度のリンパ球枯渇がみられた。これらの肉眼及び組織学的変化は休薬による回復が認められた。以上、イヌに 4 週間反復経口投与したとき、200/125 mg/kg/日群で全身状態の悪化を伴う体重減少及び胆汁うっ滞がみられたことから無毒性量は 75 mg/kg/日と考えられた。

イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験（0、35、70 及び 125 mg/kg/日）では、125 mg/kg/日群の雄 2 例が投与 21 日に瀕死となり安楽死させた。瀕死例では、削痩、餌又は被験物質様物質を含む嘔吐

及び糞量の減少がみられ、摂餌量及び体重の減少が継続的にみられた。安楽死時点の体重は投与開始前日の 28.2 又は 35.8%まで低下していた。剖検では、黒色内容物が胃、盲腸又は空腸にみられ、空腸には暗赤色又は褐色斑がみられた。病理組織学的検査において、空腸の粘膜固有層に極軽度のうっ血、骨髄に中等度の細胞数減少、腎臓に極軽度の梗塞、腎髄質及び腎乳頭の尿細管に細胞性円柱及び近位尿細管の上皮細胞壊死、肝臓に小葉中心性の胆汁うっ滞が軽度にみられ、腸間膜リンパ節及び脾臓の動脈周囲リンパ鞘にリンパ球枯渇が軽度から中等度にみられた。なお、胸腺については採材した組織中に胸腺組織が確認されず評価できなかった。同群の生存例でも一般状態、摂餌量及び体重に瀕死例と同様の変化がみられたが、休薬により回復がみられ、病理組織学的検査では、胸腺の皮質及び脾臓の動脈周囲リンパ鞘に軽度から中等度のリンパ球枯渇、肝臓に極軽度から軽度の小葉中心性の胆汁うっ滞がみられた。70 mg/kg/日群において、摂餌量減少が投与 3～4 週間まで、体重減少が投与 2 週間までみられ、その後体重増加抑制がみられた。体重への影響は雄の方が顕著に認められた。休薬期間中、摂餌量の増加がみられ、体重の回復又は回復傾向が認められた。血液学的検査において、35 mg/kg/日群の雌及び 70 mg/kg/日群で、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下及び血小板数の増加がみられた。これらの変化は休薬により回復性が認められ、軽度であることから毒性学的意義は低いと考えられた。病理検査において、70 mg/kg/日群で肝臓に極軽度から軽度の小葉中心性の胆汁うっ滞及び単核細胞浸潤、中等度の小葉中心性の肝細胞萎縮、肝重量（絶対及び相対）の増加がみられた。また、70 mg/kg/日群で腎臓の近位尿細管上皮に極軽度から軽度の褐色色素沈着がみられたが、傷害性の変化がみられないことから毒性学的意義は低いと考えられた。これらの肝臓及び腎臓の変化は休薬による回復又は回復傾向が認められた。その他に、35 mg/kg/日以上の群で、精巣上体に軽度の精子変性、精巣に極軽度から軽度の精細胞変性及び極軽度の多核性精子細胞胸腺皮質及び脾臓動脈周囲リンパ鞘に軽度から重度のリンパ球枯渇がみられ、70 mg/kg/日群では胸腺及び脾臓の重量低下（絶対及び／又は相対）もみられた。これらの変化は休薬による回復性が認められ、摂餌量減少、体重減少及び体重増加抑制並びにそのストレスによる二次的な影響と考えられた。以上、イヌに 13 週間反復経口投与したとき、70 mg/kg/日以上で顕著な体重減少及び肝臓に胆汁うっ滞等がみられたことから、無毒性量は 35 mg/kg/日と考えられた。

イヌを用いた 13／39 週間反復投与毒性試験（0、5、20 及び 40 mg/kg/日）では、いずれの群においても死亡はみられなかった。20 mg/kg/日以上の群で嘔吐、流涎過多及び／又は餌及び黄色物質を含む嘔吐物が散発的にみられ、40 mg/kg/日群では摂餌量の減少傾向及び体重増加抑制がみられた。これらは軽度な影響で全身状態の悪化はみられなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。血液生化学検査において、20 mg/kg/日群の雌及び 40 mg/kg/日群で散発的な ALT の増加が投与 13 週及び 39 週にみられ、同群の投与 13 週時点のみ、肝臓に極軽度から中等度の単核球浸潤及び極軽度から軽度の肝細胞変性／壊死がみられたが、投与 39 週及び両期間の回復群では肝臓に病理組織学的変化はみられなかった。これらの変化は、投与期間中の消失及び休薬後の回復性が認められたことから毒性学的意義は低いと考えられた。以上、イヌに 39 週間反復経口投与したときの無毒性量は 40 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験及びラットを用いた in vivo 骨髄小核試験において、ベルモスジルは遺伝毒性を示さなかった。

2.6.6.1.4 生殖発生毒性試験

ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験（0、50、150 及び 275 mg/kg/日）において、275 mg/kg/日を投与した雄で授胎能の低下、精子異常（運動能低下、精子数／濃度の減少、形態異常精子数の増加）及び雄性生殖器の変化（精巣及び精巣上体の重量低下を伴う小型化、精巣の萎縮、精巣上体内腔の細胞残屑）がみられた。授胎能の低下及び関連する精子並びに生殖器の変化は休薬による回復性が認められた。275 mg/kg/日まで雌の受胎能に影響はみられず、ラット受胎能に対する無毒性量は雄で 150 mg/kg/日、雌で 275 mg/kg/日と考えられた。

ラットを用いた胚･胎児発生に関する試験（0､15､50 及び 150 mg/kg/日）において､50 及び 150 mg/kg/日群において母動物の摂餌量減少及び体重増加抑制がみられ、150 mg/kg/日群では胎児体重の低値がみられた。ラットの母動物に対する無毒性量は 15 mg/kg/日、ラット胚・胎児発生に対する無毒性量は 50 mg/kg/日と考えられた。

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（0、50、125 及び 225 mg/kg/日）では、225 mg/kg/日群の 1 例で死亡、125 及び 225 mg/kg/日群の各 1 例で流産がみられた。母動物では、125 mg/kg/日以上の群で摂餌量減少及び体重減少がみられ、225 mg/kg/日群の 2 例で全胚吸収がみられた。また、125 mg/kg/日以上の群で着床後胚損失率の上昇、生存胎児数の減少、生存同腹仔数の減少、225 mg/kg/日群では平均胎児体重の低値及び催奇形性（尾の欠損、肋骨の分岐、癒合又は形態異常、胸骨分節の癒合並びに神経弓の癒合、配列異常及び形態異常）も認められたことから、ウサギの母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量はいずれも 50 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.1.5 光毒性試験

3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験において陽性の結果が得られたが、臨床試験においてベルモスジルの光毒性を示唆する症候は報告されていない。

2.6.6.1.6 不純物の毒性試験

規格管理される原薬の不純物に関しては ICH Q3A ガイドラインに従い安全性確認の閾値以下で管理し【2.3.S.4.5】、原薬及び製剤中の潜在的な変異原性不純物については ICH M7 ガイドラインに従いハザード評価し、適切な管理措置を講じている（【2.3.S.3.2.2】、【2.3.P.5.5】）。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 ラットを用いた単回経口投与毒性試験

【2.6.7.5】：4.2.3.1-01：0500-05015（評価資料）

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 5 例/群）に、ベルモスジルトリフルオロ酢酸塩を 100、200 及び 300 mg/kg、ベルモスジル塩酸塩を 200、400 及び 600 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与後 5 日間の観察を行い急性毒性を評価した。媒体には 0.5%メチルセルロースを使用した。すべての群で一般状態観察、体重測定、血液学的検査、血液生化学検査、剖検を実施した。加えて、ベルモスジル塩酸塩を投与した群については、肝臓の病理組織学的検査も実施した。また、投与 0、0.5、1、1.5、2、4、6、8、16 及び 24 時間後のうち、各群一部の時点で血漿中薬物濃度測定用の採血（雌雄各 1 例/時点/群）を行い、ベルモスジル、M1 及び M2 の全身曝露を確認した。

その結果、ベルモスジルトリフルオロ酢酸塩投与群で死亡はみられなかった。ベルモスジル塩酸塩の 600 mg/kg 群では 3 例の死亡がみられ、雄 1 例が投与 2 日目、雌各 1 例が投与 1 日目及び 5 日目に

死亡した。死亡例では、喘ぎ呼吸、呼吸困難及び／又は脱水がみられ、剖検では胃の膨満（ガス又は被験物質様物質）、腸管の膨満（ガス）及び／又は副腎の肥大が認められた。同群の生存例においても同様の一般状態変化及び剖検所見がみられ、加えて肺の赤色斑がみられた。血漿中薬物濃度測定の結果、ベルモスジル、M1 及び M2 の全身曝露が確認された。

以上、ラットにベルモスジルトリフルオロ酢酸塩を 300 mg/kg まで投与したとき死亡はみられず、ベルモスジル塩酸塩を単回経口投与したときの最小致死量は 600 mg/kg であった。

2.6.6.2.2 イヌを用いた単回経口投与毒性試験

【2.6.7.5】：4.2.3.1-02：1173-023（参考資料）

ビーグル犬（雌雄各 2 例/群）にベルモスジル塩酸塩を 50、200、400、300 及び 250 mg/kg の用量順で同一個体に単回経口投与し、最大耐量を評価した。各用量の投与は、2、3 又は 6 日間の休薬期間を設定し、媒体にはゼラチンカプセルを使用した。各用量の試験日を表 2.6.6-2 に示す。一般状態観察、体重測定、摂餌量測定を実施した。血液学的検査及び血液生化学検査を、50 及び 200 mg/kg 群は投与 24 時間後、400、300 及び 250 mg/kg 群は投与前及び投与 24 時間後に実施し、血液学的検査の実施時点に加えて、凝固検査を投与 2 時間後も実施した。また、尿検査を 50、200 及び 400 mg/kg 群は投与 24 時間後、300 及び 250 mg/kg 群は投与前及び投与 24 時間後に実施した。

表 2.6.6-2 イヌ単回経口投与毒性試験の各用量の試験日

試験日	(Day)	1	4	8	11	18
用量	(mg/kg)	50	200	400	300	250

その結果、いずれの用量においても死亡はみられなかった。200 mg/kg 以上の雌及び 250 mg/kg 以上の雄で嘔吐がみられ、250 mg/kg 以上では水様性便もみられた。嘔吐物又は糞中に被験物質様物質（オレンジ色の物質）がみられた。

以上、ベルモスジル塩酸塩を 400 mg/kg まで単回経口投与したとき、250 mg/kg 以上で水様性便がみられたことから最大耐量は 200 mg/kg と考えられた。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

【2.6.7.7.A】：4.2.3.2-01：1173-028（評価資料）

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 10 例/群）に、ベルモスジルメシル酸塩を 0（媒体対照：0.4%メチルセルロース）、50、150 及び 375 mg/kg/日の用量で 4 週間反復経口投与し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、凝固検査、血液生化学検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、対照群及び 375 mg/kg/日群に回復群（雌雄各 5 例/群）を設定し、2 週間の休薬による回復性を評価した。さらに、サテライト群（対照群雌雄各 3 例/群、投与群雌雄各 12 例/群）を設け、ベルモスジル、M1 及び M2 のトキシコキネティクス（TK）を評価した。

その結果、375 mg/kg/日群の雌 1 例が投与 11 日に死亡し、他の 1 例が投与 21 日に瀕死となり安楽死させた。これらの動物では、自発運動低下、円背位、体温低下（触診）、皮膚の蒼白及び／又は削

痩がみられ、摂餌量及び体重の減少がみられた。病理組織学的検査において、胸腺で中等度のリンパ球枯渇及び／又は骨髄で極軽度の細胞数減少がみられたが、死亡及び瀕死の原因は不明であった。また、TK サテライトの 375 mg/kg/日群の雌 1 例が投与 20 日に死亡した。その他に、50 mg/kg/日群の雌 1 例が投与 26 日目にリンフォーマにより死亡したが、低用量群 1 例のみであることから偶発的な死亡と考えられた。

生存例では、375 mg/kg/日群の雌で活動性低下、円背位、皮膚の蒼白及び腹部膨満がみられた。375 mg/kg/日群では投与後 1 週間までに著しい摂餌量減少及び体重減少がみられ、その後も、摂餌量減少と体重増加抑制が雌で継続し、雄では摂餌量減少が投与後 3 週間までみられた。休薬期間中に摂餌量の増加がみられ、雌では体重の回復傾向が認められた。50 mg/kg/日群の雌及び 150 mg/kg/日群で投与 1～2 週に摂餌量減少がみられたが、一過性かつ軽度であることから毒性学的意義は低いと考えられた。

血液学的検査において、150 mg/kg/日群の雌及び 375 mg/kg/日群で、赤血球数の減少、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下、網状赤血球の数及び／又は比率の上昇がみられ、375 mg/kg/日群の雌では血小板数の増加もみられた。150 mg/kg/日群の雌及び 375 mg/kg/日群では、病理組織学的検査にて骨髄に赤芽球性又は混在性の過形成が軽度にみられた。このように赤血球数の低下等がみられたが、骨髄及び末梢血に造血反応が認められ、休薬後の回復又は回復傾向もみられたことから毒性学的意義は低いと考えられた。

血液生化学検査において、150 mg/kg/日群の雌及び 375 mg/kg/日群で、GGT、ALP、トリグリセリド、総コレステロール及び／又は HDL コレステロールの増加がみられた。肝臓では、50 mg/kg/日の雌及び 150 mg/kg/日以上の群で肝重量（絶対及び相対）の増加がみられ、同群の病理組織学的検査において、びまん性の肝細胞肥大が極軽度から重度に認められた。これらは肝代謝酵素誘導に起因する変化と考えられ、細胞傷害性変化は認められなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。これらの変化は休薬後の回復又は回復傾向が認められた。その他肝臓と関連すると考えられる変化として、150 mg/kg/日群の雄及び 375 mg/kg/日群でプロトロンビン時間の延長、375 mg/kg/日群で総ビリルビンの増加も軽度にみられたが、回復性がみられることから毒性学的意義は低いと考えられた。また、375 mg/kg/日群では、BUN 及びクレアチニンの軽度な増加、尿検査では、50 mg/kg/日以上の群で尿量の増加及び比重の低下がみられたが回復性がみられ、腎臓に病理組織学的変化は認められなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。

病理検査において、心重量（絶対及び／又は相対）の増加が 150 mg/kg/日以上の群でみられたが、投与に起因した病理組織学的変化がみられなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。また、375 mg/kg/日群の雌で卵巣、子宮及び下垂体の重量（絶対及び／又は相対）の減少がみられ、同群雄では精巣に軽度から中等度の精細管変性／萎縮及び精巣上体に軽度の精子減少／精子細胞残渣がみられた。これらの生殖器の変化は、摂餌量の減少、体重減少及び体重増加抑制の二次的な影響と考えられた [1)]。さらに、375 mg/kg/日群の雌では胸腺に重量（絶対及び相対）の減少を伴う極軽度から軽度のリンパ球枯渇及び軽度のアポトーシスがみられたが、これらの変化は摂餌量の減少、体重減少及び体重増加抑制並びにこれに伴うストレスによる二次的な影響と考えられた [1)]。

TK 評価結果を表 2.6.6-3 に示す。ベルモスジル、M1 及び M2 のいずれも用量増加に伴い C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ が概ね増加し、375 mg/kg/日群では反復投与による蓄積がみられた。ベルモスジルの $AUC_{0\text{-}24h}$ は、いずれの用量でも雌性ラットの方が高く、雄性ラットの 1.4～3.1 倍であった。一方、M1 及び M2 の雄性ラットの $AUC_{0\text{-}24h}$ は、375 mg/kg/日の投与 28 日を除き、雌性ラットの 1.2～2.6 倍であった。

以上、ベルモスジルメシル酸塩を 50、150 及び 375 mg/kg/日の用量で 4 週間反復経口投与したとき、375 mg/kg/日群で死亡及び体重減少がみられたことから、無毒性量は 150 mg/kg/日と考えられた。

表 2.6.6-3 ラット 4 週間反復経口投与毒性試験におけるベルモスジル、M1 及び M2 の TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	試験日 (Day)	性	C_{max} (ng/mL)			AUC_{0-24h} (ng·hr/mL)		
			ベルモスジル	M1	M2	ベルモスジル	M1	M2
50	1	雄	1590	1070	567	12700	9930	5430
		雌	3900	642	293	39300	6220	3590
	28	雄	1950	975	512	14400	8140	4350
		雌	4010	554	276	40400	6520	3290
150	1	雄	3970	1560	968	38600	20000	11100
		雌	6540	594	260	65700	8890	4320
	28	雄	5750	1970	1140	68500	20800	11500
		雌	9640	1480	758	98000	17500	7950
375	1	雄	3920	1750	908	51200	29100	15800
		雌	7870	1010	465	90600	16700	8920
	28	雄	13900	2850	1350	150000	34200	18000
		雌	23000	2820	1210	369000	46400	24100

2.6.6.3.2 ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

【2.6.7.7.B】：4.2.3.2-02：029502（評価資料）

Sprague-Dawley ラットにベルモスジルメシル酸塩を 0（媒体対照：0.4%メチルセルロース）、50、125 及び 275 mg/kg/日の用量で 13 週間（雌雄各 10 例/群）又は 26 週間（雌雄各 15 例/群）反復経口投与し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、凝固検査、血液生化学検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、対照群及び 275 mg/kg/日群に回復群（雌雄各 5 例/群）を設定し、13 週間又は 26 週間投与後に 4 週間の休薬期間後の回復性を評価した。群構成を表 2.6.6-4 に示す。さらに、サテライト群（対照群雌雄各 3 例/群、投与群雌雄各 18 例/群）を設け、ベルモスジル、M1 及び M2 の TK を評価した。

表 2.6.6-4 ラット 13／26 週間反復経口投与毒性試験の群構成

用量 (mg/kg/day)	総動物数（雄/雌）	剖検動物数（雄/雌）			
		13 週 (Day 92)	13 週+4 週回復 (Day 120)	26 週 (Day 183)	26 週+4 週回復 (Day 211)
0	35/35	10/10	5/5	15/15	5/5
50	25/25	10/10	0/0	15/15	0/0
125	25/25	10/10	0/0	15/15	0/0
275	35/35	10/10	5/5	15/15	5/5

その結果、275 mg/kg/日群の雌 2 例が死亡した。1 例は投与 85 日目に死亡し、一般状態に異常はみられず、剖検において肝臓の腫大、胸腺の赤色化、卵巣の赤褐色化がみられた。病理組織学的検査では、肝臓の小葉中心及び中間帯に中等度の肝細胞肥大、胸腺に極軽度のうっ血及び軽度の皮質リンパ球枯渇、副腎皮質に軽度の肥大、腎臓皮質外帯の近位尿細管に極軽度の褐色色素沈着が認められたが死因は不明であった。他の 1 例は投与 159 日に死亡し、死亡日に自発運動減少及び皮膚の蒼白がみられ、剖検では胸水がみられた。病理組織学的検査では、肝臓の小葉中心及び中間帯に軽度の肝細胞肥大、腎臓皮質外帯の近位尿細管に中等度の上皮細胞壊死及び極軽度の褐色色素沈着、脾臓に軽度のマ

ントル層リンパ球増加、副腎皮質に軽度の肥大、胸腺皮質に軽度のリンパ球枯渇、甲状腺に中等度のコロイド減少及び軽度の濾胞上皮細胞肥大、子宮の発育不全がみられた。死因は腎臓皮質外帯の近位尿細管にみられた上皮細胞壊死の可能性が考えられた。その他に、TK サテライト群を含めたすべての投与群で 10 例の死亡又は瀕死がみられたが、投与又は採血過誤、飼育中の事故又は偶発所見によるものと判断した。

生存例では、すべての投与群において摂餌量の減少及び体重増加抑制が投与初期からみられたが、投与期間中に体重増加量の回復がみられていることから毒性学的意義は低いと考えられた。

血液学的検査では、投与 13 週及び 26 週に 50 mg/kg/日群の雌及び 125 mg/kg/日以上の群において、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値が低下し、125 mg/kg/日群の雌及び 275 mg/kg/日群では MCV 及び MCH が上昇した。125 mg/kg/日以上の群では網状赤血球数の増加もみられた。その他に、投与 13 週に 50 及び 125 mg/kg/日群の雄並びに 275 mg/kg/日群で、投与 26 週に 125 mg/kg/日以上の群の雌で血小板数の増加がみられ、投与 13 週及び 26 週に 275 mg/kg/日群の雌で MPV の上昇がみられた。これらの変化はいずれも休薬による回復又は回復傾向が認められ、適応の範囲内の変化であり、毒性学的意義は低いと考えられた。

血液生化学検査では、投与 13 週及び 26 週に 125 mg/kg/日群の雌及び 275 mg/kg/日群でナトリウムの減少がみられたが、軽度であり回復性が認められたことから毒性学的意義は低いと考えられた。また、投与 13 週及び 26 週にすべての投与群で総タンパク質及び／又はアルブミンが増加し、125 mg/kg/日以上の群の雄及び／又は雌でコレステロールが増加した。さらに、275 mg/kg/日群の雄及び／又は雌では ALP、GGT 及び総ビリルビンの上昇がみられ、投与 26 週の 275 mg/kg/日群の雌ではトリグリセリドの上昇もみられた。肝臓では、投与 13 週及び 26 週にすべての投与群で重量（絶対及び／又は相対）が増加し、投与 13 週の 50 mg/kg/日群の雌及び 125 mg/kg/日以上の群並びに投与 26 週のすべての投与群で小葉中心及び中間帯にびまん性の肝細胞肥大が極軽度から中等度にみられた。これらの変化は肝薬物代謝酵素誘導に伴う変化であり、肝臓に傷害性の変化はないことから毒性学的意義は低いと考えられた。その他、肝薬物代謝酵素誘導による二次的な影響と考えられる変化として、投与 13 週及び 26 週に 50 mg/kg/日群の雄及び／又は雌並びに 125 mg/kg/日以上の群で甲状腺に極軽度から中等度のコロイド減少及び極軽度から軽度の濾胞上皮細胞肥大がみられ、275 mg/kg/日群の雄及び／又は雌で甲状腺重量（絶対及び／又は相対）の増加がみられた。

病理検査では、心重量（絶対及び／又は相対）の増加が投与 13 週ではすべての投与群、投与 26 週では 50 mg/kg/日群の雌及び 125 mg/kg/日以上の群でみられたが、病理組織学的変化を伴わないことから毒性学的意義は低いと考えられた。また、腎臓では投与 13 週の 125 mg/kg/日以上の群で極軽度から中等度の細胞内タンパク性硝子滴の増加、275 mg/kg/日群の雌で尿細管に極軽度の好塩基性変化及び近位尿細管上皮に極軽度の褐色色素沈着がみられた。投与 26 週ではすべての投与群の雄で極軽度から中等度の細胞内タンパク性硝子滴の増加、125 mg/kg/日以上の群で尿細管に極軽度から軽度の好塩基性変化及び近位尿細管上皮に極軽度の褐色色素沈着がみられ、275 mg/kg/日群で尿細管に極軽度から軽度の拡張がみられた。いずれの投与期間も 125 mg/kg/日群の雄又は雌並びに 275 mg/kg/日群で腎重量（絶対及び／又は相対）の増加がみられた。休薬群では投与 13 週後の休薬時で重量増加みられたが、その他は回復性が認められた。腎臓の変化は再生性又は適応性の変化と考えられた。

生殖器に関して、雌では投与 13 週及び 26 週に 125 mg/kg/日以上の群で子宮重量（絶対及び／又は相対）の減少、275 mg/kg/日群で子宮／子宮頸部の発育不全が軽度から中等度にみられ、同群の投与 13 週では卵巣の卵胞発達低下が軽度から中等度にみられた。関連すると考えられる変化として 125 mg/kg/日以上の雌にコリンエステラーゼ活性の低下がみられた。26 週投与の休薬群で卵巣重量（相対）の増加がみられ、その他は回復又は回復傾向が認められた。雄では投与 13 週に 125 mg/kg/

日以上の群、投与 26 週に 50 mg/kg/日以上の群で精巣に極軽度から軽度の精細管精細胞変性がみられ、いずれの投与期間も 275 mg/kg/日群で精巣上体に極軽度の輸出管精子変性がみられた。雄性生殖器の病理組織学的変化は休薬後もみられ、投与 13 週後の休薬群で精巣上体重量（絶対）の減少、投与 26 週の休薬群では精巣の小型化が 1 例みられた。これらの生殖器における変化は、体重増加抑制による二次的な影響と考えられた。

脾臓では、投与 13 週及び 26 週に 50 mg/kg/日群の雌及び／又は 125 mg/kg/日以上の群で脾臓重量（絶対及び／又は相対）の増加並びに軽度のマントル層リンパ球の増加がみられた。投与 26 週の休薬群も軽度のマントル層リンパ球の増加はみられたが、その他は回復が認められた。傷害性の変化がみられないことから毒性学的意義は低いと考えられた。

その他に、投与 13 週及び 26 週の 50 及び／又は 125 mg/kg/日の雌並びに 275 mg/kg/日群で副腎重量の増加を伴う極軽度から軽度の副腎皮質の肥大がみられ、投与 13 週の 275 mg/kg/日群の雌 1 例で副腎皮質に軽度の壊死がみられた。さらに、投与 13 週の 125 mg/kg/日以上の群及び投与 26 週の 50 及び 125 mg/kg/日群の雌並びに 275 mg/kg/日群で胸腺重量（絶対及び／又は相対）の減少を伴う極軽度から重度の皮質リンパ球枯渇がみられた。投与 13 週の休薬群の雄では胸腺重量（絶対及び相対）の減少がみられたが、その他は休薬による回復性が認められた。これらの変化は摂餌量減少及び体重増加抑制並びにこれに伴うストレスによる二次的な影響と考えられた。また、下垂体重量（絶対及び／又は相対）の減少が投与 13 週の 275 mg/kg/日群の雌、投与 26 週の 50 mg/kg/日以上の群の雌でみられたが、病理組織学的変化を伴わないことから毒性学的意義は低いと考えられた。

TK 評価結果を表 2.6.6-5 に示す。ベルモスジル、M1 及び M2 のいずれも用量増加に伴い C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ が概ね増加し、雌では反復投与による蓄積がみられた。ベルモスジルについて、投与 91 日目以降では、雌性ラットの $AUC_{0\text{-}24h}$ が雄性ラットと比較して 2 倍以上となった。

以上、ラットにベルモスジルメシル酸塩を 50、125 及び 275 mg/kg/日の用量で 26 週間反復経口投与したとき、275 mg/kg/日群の雌で死亡がみられたことから、無毒性量は雌で 125 mg/kg/日、雄で 275 mg/kg/日であると考えられた。

表 2.6.6-5 ラット 13／26 週間反復経口投与毒性試験におけるベルモスジル、M1 及び M2 の TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	試験日 (Day)	性	C_{max} (ng/mL)			$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·hr/mL)		
			ベルモスジル	M1	M2	ベルモスジル	M1	M2
50	1	雄	4170	950	506	26700	8130	4600
		雌	3830	329	183	43400	4530	2330
	91	雄	3640	1040	557	24000	8230	5000
		雌	8670	911	440	60400	6940	3430
	179	雄	2980	710	662	25000	8020	5500
		雌	7390	865	412	73500	7920	4390
125	1	雄	5030	1300	977	60900	20200	11600
		雌	6220	670	438	81600	9430	5580
	91	雄	10400	2110	1150	68300	20900	11900
		雌	15800	1610	1090	164000	23100	11400
	179	雄	7100	2100	1430	61500	19700	14400
		雌	14900	2060	1090	167000	23000	11700
275	1	雄	8930	2530	1390	120000	33200	21200
		雌	9180	1410	671	115000	14000	7460
	91	雄	13900	2950	1550	162000	38700	19000
		雌	29600	2930	1250	394000	40300	18400
	179	雄	10600	2180	1650	112000	31900	17300
		雌	29500	3090	1250	474000	52700	24400

2.6.6.3.3 イヌを用いた 1 週間反復経口投与毒性試験

【2.6.7.6】：4.2.3.2-03：1173-046（参考資料）

ビーグル犬（雌雄各 2 例/群）に、ベルモスジルメシル酸塩を 0（媒体対照：ゼラチンカプセル）、25、100 及び 200 mg/kg/日の用量で 1 週間反復経口投与し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、心電図検査、血液学的検査、凝固検査、血液生化学検査及び尿検査を実施した。また、ベルモスジル、M1 及び M2 の TK を評価した。

その結果、いずれの群においても死亡はみられなかった。100 mg/kg/日以上で嘔吐の発現頻度が増加し、被験物質様の黄色物質を含む嘔吐物が散見された。200 mg/kg/日群では粘性又は水様性の便もみられた。また、100 mg/kg/日以上の群で散発的又は一過性の摂餌量減少がみられ、100 mg/kg/日群の雌 1 例及び 200 mg/kg/日群の雌雄各 1 例で軽度な体重減少（投与 1 日目と比較し最大約 7～9%）がみられたが、軽度な変化であることから毒性学的意義は低いと考えられた。

血液学的検査において、100 mg/kg/日以上の各群雄 1 例で、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の軽度な低下がみられ、血液生化学検査では、100 mg/kg/日群の雄 1 例及び 200 mg/kg/日群の雌雄各 1 例で無機リンの軽度な低下がみられた。これらの変化はいずれも軽度であり、毒性学的意義は低いと考えられた。

TK 評価結果を表 2.6.6-6 に示す。ベルモスジル、M1 及び M2 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は 25 から 100 mg/kg/日の用量間で概ね増加したが、100 から 200 mg/kg/日の用量間で増加はみられなかった。また、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ に顕著な性差は認められなかった。

以上、イヌにベルモスジルメシル酸塩を 25、100 及び 200 mg/kg/日の用量で 1 週間反復経口投与したときの無毒性量は 200 mg/kg/日と考えられた。

表 2.6.6-6 イヌを用いた 1 週間反復経口投与毒性試験におけるベルモスジル、M1 及び M2 の TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	試験日 (Day)	性	C_{max} (ng/mL)			AUC_{0-24h} (ng·hr/mL)		
			ベルモスジル	M1	M2	ベルモスジル	M1	M2
25	1	雄	1081	108	155	4732	542	960
		雌	1303	184	203	7356	979	1228
	7	雄	658	82	191	3872	510	1236
		雌	635	98	107	3340	479	694
100	1	雄	807	138	143	5685	117	1012
		雌	1828	380	177	18884	3480	2482
	7	雄	2809	593	313	27733	4751	3027
		雌	4844	788	480	28705	5343	4111
200	1	雄	1633	239	281	17414	2456	4058
		雌	1717	403	145	11474	2979	1341
	7	雄	2338	232	321	30450	2539	4455
		雌	1356	440	316	25371	4287	3922

2.6.6.3.4 雄性イヌを用いた 1 週間反復経口投与毒性試験（摂餌条件の影響検討）

【2.6.7.7.C】：4.2.3.2-04：8289749（評価資料）

毒性発現に対する摂餌条件の影響を検討するため、短時間給餌又は長時間給餌の 2 通りの摂餌条件下において、雄性ビーグル犬（3 例/群）に、ベルモスジルメシル酸塩（媒体：ゼラチンカプセル）を 70 mg/kg/日の用量で 1 週間反復経口投与し、一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を実施した。また、ベルモスジル、M1 及び M2 の TK を評価した。

給餌条件

A) 短時間給餌：投与 1 時間前から 1 日 6 時間給餌。給餌中は個別飼育、それ以外の時間は群飼育。
B) 長時間給餌：投与 1.5 時間前から 1 日 20～22 時間給餌。給餌中は個別飼育、それ以外の 2～4 時間は群飼育。

その結果、どちらの給餌条件においても死亡はみられなかった。一般状態観察において、短時間給餌群では、全例で餌を含む嘔吐、水様性又は粘性便がみられ、長時間給餌群においても餌を含む嘔吐及び軟便が各 2 例みられた。投与期間中の平均 1 日摂餌量は、長時間給餌群と比較し短時間給餌群のほうが低値だった。体重は全例で減少し、投与終了時において短時間給餌群では平均 0.7 kg（投与 1 日と比較して 5.4～9.8%）の減少、長時間給餌群では平均 0.5 kg（投与 1 日と比較して 1.1～7.7%）の減少がみられた。

TK 評価結果を表 2.6.6-7 に示す。ベルモスジル、M1 及び M2 の C_{max} 及び AUC_{0-24h} に両摂餌条件で顕著な差はみられなかった。

以上、短時間給餌及び長時間給餌条件において、雄性イヌにベルモスジルメシル酸塩を 70 mg/kg/日の用量で 1 週間反復経口投与したとき、どちらの条件においても忍容性が認められた。

表 2.6.6-7 イヌ 1 週間反復経口投与毒性試験（摂餌条件の影響検討）におけるベルモスジル、M1 及び M2 の TK パラメータ

用量	摂餌	C_{max} (ng/mL) [b]			AUC_{0-24h} (ng·hr/mL) [b]		
(mg/kg/day)	条件 [a]	ベルモスジル	M1	M2	ベルモスジル	M1	M2
70	A[c]	4340	664	218	44700	7220	2290
	B[c]	4430	387	146	32400	3020	1310

a. 摂餌条件 A の給餌時間は 1 日 6 時間で給餌中は個別飼育、それ以外の時間は群飼育し、摂餌条件 B の給餌時間は 1 日 20～22 時間で給餌中は個別飼育、投与前の 2～4 時間は群飼育した。
b. 投与 7 日の曝露量。
c. 投与 6 日から投与 7 日の摂餌量は、摂餌条件 A で 172 g、摂餌条件 B で 167 g であった。

2.6.6.3.5 イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

【2.6.7.7.D】：4.2.3.2-05：1173-029（評価資料）

ビーグル犬（雌雄各 4 例/群）に、ベルモスジルメシル酸塩を 0（媒体対照：ゼラチンカプセル）、25、75 及び 200/125 mg/kg/日の用量で 4 週間反復経口投与し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、凝固検査、血液生化学検査、尿検査、骨髄塗沫標本観察、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、対照群及び 200/125 mg/kg/日群には回復群（雌雄各 2 例/群）を設定し、2 週間の休薬期間後の回復性を評価した。さらに、ベルモスジル、M1 及び M2 の TK を評価した。

その結果、いずれの群においても死亡はみられなかった。200/125 mg/kg/日群では、200 mg/kg/日の投与により摂餌量及び体重の減少がみられ、投与 8 日目以降に補食、投与 14 日に食欲増進のため metcloprimide 処置を施したが、体重減少が継続したことから投与 15 日から 4 日間休薬し、投与 19 日から 125 mg/kg/日に減量した。減量後も摂餌量及び体重の減少は継続した。これらの変化は休薬により回復又は回復傾向が認められた。また、200/125 mg/kg/日群では、嘔吐、削痩、流涙及び皮膚の蒼白がみられ、雌 1 例では皮膚の弾性消失、自発運動低下及び虚脱もみられた。75 mg/kg/日群の雌では嘔吐及び流涙がみられ、1 例で削痩がみられた。同群雌 2 例で体重減少が投与第 1 週にみられ、うち 1 例は投与 8 日目以降に補食を行い、他 1 例は無処置としたが投与期間中の回復がみられたことから毒性学的意義は低いと考えられた。

血液学的検査において、200/125 mg/kg/日群で赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の軽度な低下、MCV、血小板数及び網状赤血球の数及び比率の軽度な増加がみられた。骨髄塗沫標本観察では、赤芽球の増加がみられた。これらの変化は休薬による回復性が認められ、適応の範囲内の変化であり、毒性学的意義は低いと考えられた。

血液生化学検査において、200/125 mg/kg/日群の雌雄各 1 例で ALP、GGT 及び／又は総ビリルビンの増加がみられた。同群では、肝重量（絶対及び／又は相対）の増加がみられ、極軽度から軽度の胆汁うっ滞、肝細胞の空胞化及びクッパー細胞の色素沈着がみられ、雄 1 例で極軽度の胆管過形成もみられた。これらの変化は休薬による回復又は回復傾向が認められた。

その他、200/125 mg/kg/日群では剖検で胸腺の小型化がみられ病理組織学的検査において軽度から中等度のリンパ球枯渇がみられた。これらの肉眼及び病理組織学的変化は休薬による回復が認められた。胸腺重量（相対及び絶対）の低下はすべての投与群でみられたが、対照群に背景データの上限付近及びそれを超える胸腺重量の個体が雌雄各 2 例含まれており、病理組織学的変化のみられなかった 25 及び 75 mg/kg/日群の胸腺重量に対する影響評価は困難であった。

TK 評価結果を表 2.6.6-8 に示す。1 日目の M2 を除き、ベルモスジル、M1 及び M2 のいずれも用量増加に伴い C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ が増加し、すべての用量で反復投与による蓄積がみられた。また、顕著な性差は認められなかった。

以上、イヌにベルモスジルメシル酸塩を 25、75 及び 200/125 mg/kg/日の用量で 4 週間反復経口投与したとき、200/125 mg/kg/日群で全身状態の悪化を伴う体重減少及び胆汁うっ滞がみられたことから無毒性量は 75 mg/kg/日と考えられた。

表 2.6.6-8 イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験のベルモスジル、M1 及び M2 の TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	試験日 (Day)	性	C_{max} (ng/mL)			$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·hr/mL)		
			ベルモスジル	M1	M2	ベルモスジル	M1	M2
25	1	雌雄	681	90.9	26.8	3500	452	122
	28	雌雄	2690	278	98.2	12800	1350	567
75	1	雌雄	1330	187	63.8	9560	1200	438
	28	雌雄	5790	1000	129	41200	8010	1150
200/125[a]	1	雌雄	1870	305	43.7	19400	2830	418
	28	雌雄	7330	1590	169	60100	14100	1680

a. 200/125 mg/kg/日群の動物には、Day 1 から 14 まで 200 mg/kg/日を投与し、Day 15 から 18 にかけて休薬後、Day 19 から剖検（Day 28 又は 29）まで 125 mg/kg/日を投与した。

2.6.6.3.6 イヌを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

【2.6.7.7.E】：4.2.3.2-06：029281（評価資料）

ビーグル犬に、ベルモスジルメシル酸塩を 0（媒体対照：ゼラチンカプセル）、35、70 及び 125 mg/kg/日の用量で 13 週間反復経口投与（0、35 及び 70 mg/kg/日群：雌雄各 5 例/群、125 mg/kg/日群：雌雄各 2 例/群）し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、凝固検査、血液生化学検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、対照群、35 及び 70 mg/kg/日群では回復群（雌雄各 3 例/群）を設定し、30 日間の休薬後の回復性を評価した。125 mg/kg/日群は、瀕死例がみられたことから投与 20 日（雌）又は投与 21 日（雄）に投与を中止し、30 日間休薬後、雌雄各 2 例のみ剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。群構成を表 2.6.6-9 に示す。さらに、ベルモスジル、M1 及び M2 の TK を評価した。

表 2.6.6-9 イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験の群構成

用量 (mg/kg/day)	総動物数（雄/雌）	剖検動物数（雄/雌）			
		21/20 日間+回復 (Day 51/50)	13 週間 (Day 92)	13 週間+回復 (Day 121)	残余動物[a]
0	12/12	NA	5/5	3/3	4/4[b]
35	8/8	NA	5/5	3/3	NA
70	8/8	NA	5/5	3/3	NA
125	12/12	2/2	NA	NA	8/10[b]

NA= Not applicable.

a. 残余動物は各群の回復期間終了時剖検の同日に、剖検／採材をせず安楽死させた。なお、試験開始時は途中剖検群を含む 39 週間までの反復経口投与毒性試験を実施する計画であったが、投与 21／20 日（雄／雌）に 125 mg/kg/日群で瀕死及び 70 mg/kg/日群で顕著な体重減少がみられたことから、投与期間を 13 週間とし 125 mg/kg/日群の投与を中断したため残余動物が生じた。

b. 0 mg/kg/日群は投与 1 及び 91 日の TK 評価を実施し、125 mg/kg/日群では投与 1 日のみ TK 評価

を実施した。

その結果、125 mg/kg/日群の雄 2 例が投与 21 日に瀕死となり安楽死させた。瀕死例では、削痩、餌又は被験物質様物質を含む嘔吐及び糞量の減少がみられ、摂餌量及び体重の減少が継続的にみられた。安楽死時点の体重は投与開始前日の 28.2 又は 35.8%まで低下していた。剖検では、黒色内容物が胃、盲腸又は空腸にみられ、空腸には暗赤色又は褐色斑がみられた。病理組織学的検査において、空腸の粘膜固有層に極軽度のうっ血、骨髄に中等度の細胞数減少、腎臓に極軽度の梗塞、腎髄質及び腎乳頭の尿細管に細胞性円柱及び近位尿細管上皮細胞の壊死、肝臓に小葉中心性の胆汁うっ滞が軽度にみられ、腸間膜リンパ節及び脾臓の動脈周囲リンパ鞘にリンパ球枯渇が軽度から中等度にみられた。なお、胸腺については採材した組織中に胸腺組織が確認されず評価できなかった。同群の生存例でも一般状態、摂餌量及び体重に瀕死例と同様の変化がみられたが、休薬により回復がみられた。病理組織学的検査では、胸腺の皮質及び脾臓の動脈周囲リンパ鞘に軽度から中等度のリンパ球枯渇、肝臓に極軽度から軽度の小葉中心性の胆汁うっ滞がみられた。

70 mg/kg/日群において、摂餌量減少が投与 3～4 週間まで、体重減少が投与 2 週間までみられ、その後体重増加抑制がみられた。同群では削痩、餌又は被験物質様物質を含む嘔吐及び糞量の減少がみられ、雄 3 例では 20%を超える体重減少がみられたことから投与 78 日に補食を行った。体重への影響は雄の方が顕著に認められた。休薬期間中、摂餌量の増加がみられ、体重の回復又は回復傾向が認められた。35 mg/kg/日群の雄では、投与 1 週間までに一過性の体重減少及びその後の体重増加抑制がみられたが、軽度であり毒性学的意義は低いと考えられた。

血液学的検査において、35 mg/kg/日群の雌及び 70 mg/kg/日群で、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低下及び／又は血小板数の増加がみられた。これらの変化は休薬による回復性が認められ、軽度であることから毒性学的意義は低いと考えられた。

病理検査において、70 mg/kg/日群で肝臓に極軽度から軽度の小葉中心性の胆汁うっ滞及び単核細胞浸潤、中等度の小葉中心性の肝細胞萎縮、肝重量（絶対及び相対）の増加がみられた。35 mg/kg/日群においても肝重量（絶対及び相対）の増加はみられたが、病理組織学的変化がみられなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。また、70 mg/kg/日群で腎臓の近位尿細管上皮に極軽度から軽度の褐色色素沈着がみられたが、傷害性の変化がみられないことから毒性学的意義は低いと考えられた。これらの肝臓及び腎臓の変化は休薬による回復又は回復傾向が認められた。

その他に、35 mg/kg/日以上の群で、精巣上体に軽度の精子変性、精巣に極軽度から軽度の精細胞変性及び極軽度の多核性精子細胞、胸腺皮質及び脾臓動脈周囲リンパ鞘に軽度から重度のリンパ球枯渇がみられ、70 mg/kg/日群では胸腺及び脾臓の重量低下（絶対及び／又は相対）もみられた。これらの変化は休薬による回復性が認められ、摂餌量減少、体重減少及び体重増加抑制並びにそのストレスによる二次的な影響と考えられた。

TK 評価結果を表 2.6.6-10 に示す。投与 91 日における雄の M2 の C_{max} を除き、ベルモスジル、M1 及び M2 のいずれも用量増加に伴い C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ が増加し、すべての用量で反復投与後の値の方が大きかった。また、顕著な性差は認められなかった。

以上、イヌにベルモスジルメシル酸塩を 35、70 及び 125 mg/kg/日の用量で 13 週間反復経口投与したとき、70 mg/kg/日以上で顕著な体重減少及び肝臓に胆汁うっ滞等がみられたことから、無毒性量は 35 mg/kg/日と考えられた。

表 2.6.6-10 イヌ 13 週間反復経口投与毒性試験におけるベルモスジル、M1 及び M2 の TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	試験日 (Day)	性	C_{max} (ng/mL)			AUC_{0-24h} (ng·hr/mL)		
			ベルモスジル	M1	M2	ベルモスジル	M1	M2
35	1	雄	1660	156	88.3	11600	1010	611
		雌	1870	229	75.4	13100	1700	625
	91	雄	4910	445	151	25200	2290	979
		雌	4620	430	150	23300	2360	969
70	1	雄	2650	281	135	25700	2660	1530
		雌	2950	495	132	24200	3840	1260
	91	雄	6170	761	149	44800	6050	1610
		雌	7250	1210	175	50100	8840	1590
125	1	雄	4150	566	171	41600	5470	2120
		雌	5030	971	176	51400	10000	2220
	91[a]	雄	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		雌	NA	NA	NA	NA	NA	NA

NA= Not applicable.

a. 125 mg/kg/日群は Day 21 に雄 2 例で瀕死例がみられたことから Day 21/20（雄/雌）に投与を中止したため反復投与後の TK パラメータは取得していない。

2.6.6.3.7 イヌを用いた 13／39 週間反復経口投与毒性試験及び 4／8 週間回復性試験

【2.6.7.7.F】：4.2.3.2-07：8289750（評価資料）

ビーグル犬（雌雄各 4 例/群）に、ベルモスジルメシル酸塩を 0（媒体対照：ゼラチンカプセル）、5、20 及び 40 mg/kg/日の用量で 13 週間又は 39 週間反復経口投与し、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、凝固検査、血液生化学検査、尿検査、剖検、臓器重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、13 週間の投与期間に対して 4 週間休薬する回復群（雌雄各 2 例/群）を対照群及び 40 mg/kg/日群に、39 週間の投与期間に対して 8 週間休薬する回復群（雌雄各 2 例/群）を対照群、20 及び 40 mg/kg/日群にそれぞれ設定し、回復性を評価した。さらに、ベルモスジル、M1 及び M2 の TK を評価した。

いずれの群においても死亡はみられなかった。20 mg/kg/日以上の群で嘔吐、流涎過多及び／又は餌及び黄色物質を含む嘔吐物が散発的にみられた。40 mg/kg/日群では摂餌量の減少傾向及び体重増加抑制がみられ、雄 2 例は体重減少及び／又は痩身がみられたことから投与 93 から 239 日又は 205 から 229 日にかけて補食を行った。これらは軽度な影響で全身状態の悪化はみられなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。

血液生化学検査において、20 mg/kg/日群の雌及び 40 mg/kg/日群で散発的な ALT の増加が投与 13 週及び 39 週でみられた。関連する変化として、同群の投与 13 週時点のみ、肝臓に極軽度から中等度の単核球浸潤及び極軽度から軽度の肝細胞変性／壊死がみられたが、投与 39 週及び両期間の回復群では肝臓に病理組織学的変化はみられなかった。また、20 mg/kg/日群の雄では投与 13 週に肝重量（絶対及び相対）の増加がみられたが用量相関はなく、投与 39 週ではみられなかった。これらの変化は、投与期間中の消失及び休薬による回復性が認められたことから毒性学的意義は低いと考えられた。

TK 評価結果を表 2.6.6-11 に示す。投与 13 週の雌の C_{max} を除き、ベルモスジルの C_{max} 及び AUC_{0-24h} は用量増加に伴い増加した。5 mg/kg/日投与群では M1 及び M2 の濃度の大部分は定量下限未満であったが、20 から 40 mg/kg/日間で M1 及び M2 の C_{max} 及び AUC_{0-24h} は用量増加に伴いが増加した。すべての用量で概ね 1 日目に比べ 13 及び 39 週後の方が大きく、顕著な性差は認められなかった。

以上、イヌにベルモスジルメシル酸塩を 5、20 及び 40 mg/kg/日の用量で 39 週間反復経口投与したときの無毒性量は 40 mg/kg/日と考えられた。

表 2.6.6-11 イヌ 13／39 週間反復経口投与毒性試験におけるベルモスジル、M1 及び M2 の TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	試験日	性	C_{max} (ng/mL)			$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·hr/mL)		
			ベルモスジル	M1	M2	ベルモスジル	M1	M2
5	Day 1	雄	89.2	BLLOQ[b]	BLLOQ[b]	550	NC[b]	NC[b]
		雌	112	BLLOQ[b]	BLLOQ[b]	574	NC[b]	NC[b]
	Week 13	雄	120	BLLOQ[b]	BLLOQ[b]	537	NC[b]	NC[b]
		雌	178	BLLOQ[b]	BLLOQ[b]	566	NC[b]	NC[b]
	Week 39	雄	386[a]	BLLOQ[b]	BLLOQ[b]	1180[a]	NC[b]	NC[b]
		雌	249	BLLOQ[b]	BLLOQ[b]	833	NC[b]	NC[b]
20	Day 1	雄	805	65.5	37.8	4570	411	274
		雌	768	90.5	43.8	5600	505	228
	Week 13	雄	1910	114	88.9	8660	704	607
		雌	2300	210	97.6	11500	1030	576
	Week 39	雄	854	54.7	61.9	4040	304	335
		雌	1480	153	89.8	8400	712	538
40	Day 1	雄	1700	168	74.7	11600	1160	537
		雌	858	121	47.1	8170	1150	515
	Week 13	雄	2120	186	144	14700	1290	1080
		雌	1440	226	82.4	9700	2790	862
	Week 39	雄	2060	239	141	15500	1430	1390
		雌	3220	379	175	22500	2710	1520

BLLOQ= Below the lower limit of quantitation, NC= Not calculated.

a. この値は平均値ではなく動物番号 H02209 の値を参考値として示している。

b. 血漿中濃度が定量限界未満となり、TK パラメータは算出されなかった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

【2.6.7.8.A】：4.2.3.3.1-01：AB44FM.503.BTL（評価資料）

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535、TA1537）及び大腸菌（WP2 *uvrA*）を用いた復帰突然変異試験により、代謝活性化系（S9）存在下及び非存在下におけるベルモスジルの変異原性を評価した。代謝活性化系にはアロクロール誘導ラット肝 S9 を使用した。用量設定試験（各菌株 1.5～5000 µg/plate）の結果から、本試験におけるベルモスジルの濃度は、TA1535 の S9 非存在下では 15、50、150、500、1500 及び 5000 µg/plate を設定し、その他は S9 存在下及び非存在下ともに 50、150、500、1500 及び 5000 µg/plate を設定した。陰性対照（媒体）には Dimethyl sulfoxide（DMSO）を使用した。

その結果、S9 非存在下の TA1537 及び WP2 *uvrA* では 50 µg/plate 以上、S9 非存在下の TA1535 及び S9 存在下の WP2 *uvrA* では 150 µg/plate 以上及びその他の条件では 500 µg/plate 以上で析出がみられた。いずれの菌株においても、S9 の存在下及び非存在下に関わらず生育阻害は認められず、復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上のことから、ベルモスジルの変異原性は陰性と考えられた。

2.6.6.4.2 ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験

【2.6.7.8.B】：4.2.3.3.1-02：AB44FM.341.BTL（評価資料）

ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験により、代謝活性化系（S9）存在下及び非存在下におけるベルモスジルの染色体異常誘発能を評価した。代謝活性化系にはアロクロール誘導ラット肝 S9 を使用した。用量設定試験（各条件 0.25～2500 μg/mL）の結果から、本試験におけるベルモスジルの濃度は、S9 存在下及び非存在下の短時間処理法（4 時間処理＋16 時間培養）で 6.25～250 μg/mL、S9 非存在下の連続処理法（20 時間処理）で 3.13～150 μg/mL を設定した。染色体異常の観察は、陰性対照（媒体）に対して分裂指数に 50%以上の低下がみられた最小濃度を観察する最大濃度に設定し、各処理条件 3 濃度を評価した。媒体には DMSO を使用した。

その結果、いずれの処理条件においても、構造的及び数的染色体異常の増加はみられなかった。

以上のことから、ベルモスジルの染色体異常誘発能は陰性と考えられた。

2.6.6.4.3 ラットを用いた骨髄小核試験

【2.6.7.9.A】：4.2.3.3.2-01：AB44FM.125.BTL（評価資料）

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 5 例/群）にベルモスジルを 0（媒体対照：0.4%メチルセルロース）、500、1000 及び 2000 mg/kg の用量で単回経口投与し、投与 24 時間後又は 48 時間後の動物より採取した大腿骨から作製した骨髄塗沫標本を観察し、ベルモスジルの小核誘発能を評価した。陽性対照として、シクロホスファミド 40 mg/kg を同様に投与した。48 時間処理は、媒体対照群及び 2000 mg/kg 群のみ設定した。各動物あたり少なくとも 2000 個の幼若赤血球（PCE）を観察し、小核を有する幼若赤血球（MPCE）の発現頻度を解析した。また、サテライト群（雌雄各 3 例/群）にてベルモスジル、M1 及び M2 の TK を評価した。

その結果、死亡はみられなかった。2000 mg/kg 群の雄全例で下痢がみられた。いずれの群においても、MPCE の発現頻度の増加はみられなかった。一方、陽性対照群では、MPCE の有意な増加が確認された。また、TK 評価の結果、ベルモスジル、M1 及び M2 の全身曝露が確認された（表 2.6.6-12）。

以上のことから、ベルモスジルは小核誘発能を有さないと考えられた。

表 2.6.6-12 ラット骨髄小核試験におけるベルモスジル、M1 及び M2 の TK パラメータ

用量 (mg/kg)	性	C_{max} (ng/mL)			$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·hr/mL)		
		ベルモスジル	M1	M2	ベルモスジル	M1	M2
500	雄	8537	4240	2220	161977	65652	39574
	雌	9407	2370	1283	204268	36150	19208
1000	雄	12867	3327	1997	141983	57520	34077
	雌	11133	4083	1807	195740	43744	20028
2000	雄	12403	4450	2293	174789	71895	41422
	雌	11120	2943	1487	181366	35583	18420

2.6.6.5 がん原性試験

本剤の対象疾患であるステロイド依存性／抵抗性慢性移植片対宿主病（cGVHD）の重篤性等に基づき、がん原性試験は承認申請前に実施していない。承認申請時点で、rasH2-Tg マウスを用いた 26 週間がん原性試験及び Sprague Dawley ラットを用いた 104 週間がん原性試験が進行中である。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

2.6.6.6.1 ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

【2.6.7.12.A】：4.2.3.5.1-01：2420-008（評価資料）

Sprague-Dawley ラットに、雄は交配開始 70 日前から交配期間及び妊娠 13 日の剖検まで、雌は交配開始 14 日前から妊娠 7 日まで、ベルモスジルメシル酸塩を 0（媒体対照：0.4%メチルセルロース）、50、150 及び 275 mg/kg/日（雌雄各 25 例/群）の用量で反復経口投与し、受胎能及び着床までの初期胚発生におよぼす影響を評価した。親動物の一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、性周期検査、剖検、臓器重量測定、病理組織学的検査（雄のみ）、受胎能／授胎能検査（交尾率、受胎率／授胎率、受精率及び妊娠率）、子宮検査（黄体数、着床数、生存胚数、吸収胚数、着床前胚損失率、生存胎児数、着床後胚損失率、胚吸収率）、精子検査（精子の運動能、数／濃度及び形態異常）を実施した。交配は、ベルモスジルメシル酸塩を投与した雄と非処置の雌、又はベルモスジルメシル酸塩を投与した雌と非処置の雄を交配させた。また、雄の生殖能及び精子検査パラメータへの毒性影響が想定されたため、雄は回復群を設けた（各 10 例/群）。回復群は各用量を 70 日間投与に続く 77 日間休薬後に非処置の雌と交配させ、妊娠 13 日目における子宮検査の終了後に剖検し同様の検査を実施した。さらに、サテライト群（媒体群 3 例/群、投与群各 10 例/群）を設け、ベルモスジル、M1 及び M2 の TK を評価した。

その結果、いずれの群においても投与に起因する死亡はみられなかった。50 mg/kg/日の雄 1 例及び回復群の雄 1 例がそれぞれ試験 12 日及び 169 日目に死亡で発見された。死亡前の一般状態観察及び剖検において異常はなく死因は特定されなかったが、用量相関がないことから投与影響ではないと判断した。また、対照群の雄 1 例が試験 86 日目に死亡し、病理組織検査において泌尿器系の炎症／結石が確認された。

一般状態観察において、275 mg/kg/日群で削痩及び糞の減少、無排泄又は変色がみられた。これに関連して、150 及び 275 mg/kg/日を投与した雌雄で摂餌量の減少を伴う体重増加抑制及び投与期間中の体重低値がみられた。50 mg/kg/日群においても、摂餌量減少及び体重増加抑制がみられたが、軽微かつ投与開始後の一過性の変化であることから毒性学的意義は低いと考えられた。150 mg/kg/日以上の群でみられた体重及び摂餌量の変化は、雄の休薬期間中に回復傾向が認められた。

投与群の雌及び非処置群の雄の交配では、275 mg/kg/日群で性周期の延長がみられたが、交尾率、受胎率及び妊娠率に影響がないことから毒性学的意義は低いと考えられた。同群の子宮検査では、着床後胚損失率及び平均吸収胚数の上昇、並びに平均生存胚数の減少がみられた。その他に、施設背景値範囲を超える平均黄体数の減少もみられたが、着床数及び着床前胚損失率に影響がないため毒性学的意義はないと考えられた。

投与群の雄及び非処置群の雌の交配では、275 mg/kg/日群で授胎率及び妊娠率の低下がみられた。同群は、精子検査において精子の運動能低下、精子数／濃度の減少及び形態異常精子数の増加がみられた。剖検において重量減少を伴う精巣及び精巣上体の小型化が認められ、病理組織学的検査において、精巣の変性／萎縮が軽微から重度に認められた。また、精巣上体において内腔の細胞残屑が極軽度から軽度に認められたほか、精子の減少が軽度から重度に認められた。精巣上体の変化は精巣の変性による二次的変化と考えられた。雄回復群では、授胎能に影響はなく、精子検査及び病理組織学的変化に回復傾向がみられた。275 mg/kg/日群と交配した非処置群の雌では、非妊娠動物の増加（6 例）並びに平均着床数及び平均生存胎児数の減少がみられ、精子の異常と関連する変化と考えられた。雄回復群と交配した非処置雌では子宮検査で特記すべき変化はみられなかった。

TK 評価結果を表 2.6.6-13 に示す。ベルモスジル、M1 及び M2 のいずれも用量増加に伴う C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ の増加がみられ、ベルモスジルについては 275 mg/kg/日で反復投与による蓄積がみられた。M1 及び M2 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は、雌に比較して雄の方が高かった。

以上、ラットにベルモスジルメシル酸塩を 50、150 及び 275 mg/kg/日の用量で反復経口投与したとき、親動物に対する無毒性量は雌雄ともに 50 mg/kg/日、受胎能に対する無毒性量は雌で 275 mg/kg/日、雄で 150 mg/kg/日、初期胚発生に対する無毒性量は 150 mg/kg/日と考えられた。

表 2.6.6-13 ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験におけるベルモスジル、M1 及び M2 の TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	試験日 (Day)	性	C_{max} (ng/mL)			$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·hr/mL)		
			ベルモスジル	M1	M2	ベルモスジル	M1	M2
50	1	雄	2170	934	501	20100	10500	5440
		雌	4540	369	135	49200	5000	2110
	70	雄	2480	770	410	21600	8460	4080
	14	雌	3200	294	125	26200	3690	1390
150	1	雄	5370	1420	686	81600	25600	13600
		雌	5670	1050	398	95700	16100	6860
	70	雄	10100	1800	1070	70100	16200	9520
	14	雌	9860	1260	523	99500	18200	7110
275	1	雄	7200	2820	1680	96400	35600	21500
		雌	7050	2020	925	122000	24900	11500
	70	雄	20400	3350	1900	191000	44200	28900
	14	雌	14900	2290	1480	209000	37000	20700

2.6.6.6.2 ラットを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する予備試験

【2.6.7.11】：4.2.3.5.2-01：2420-004（参考資料）

妊娠 Sprague-Dawley ラットに、ベルモスジルメシル酸塩を 0（媒体対照：0.4%メチルセルロース）、25、50、150 及び 300 mg/kg/日（各 5 例/群）の用量で妊娠 6 日から妊娠 17 日まで反復経口投与し、胚・胎児発生におよぼす影響を評価した。母動物の一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を実施し、妊娠 20 日に帝王切開及び剖検し、子宮検査（黄体数、着床数、吸収胚数、着床前胚損失率、生存胎児数、胎児の性比、着床後胚損失率、生存及び死亡胎児数、同腹仔数、妊娠子宮重量及び胚吸収率）及び胎児検査（体重、性別及び外表検査）を実施した。また、サテライト群（対照群 3 例/群、投与群各 6 例/群）を設け、ベルモスジル、M1 及び M2 の TK を評価した。

その結果、母動物ではいずれの群においても死亡はみられなかった。150 及び 300 mg/kg/日群では、投与期間の初期に摂餌量が著しく減少し体重も減少した。その後、150 mg/kg/日群では摂餌量及び体重増加量ともに投与期間中に回復又は回復傾向がみられた。300 mg/kg/日群では妊娠 20 日まで摂餌量及び体重増加量の減少が継続し、妊娠期間の後半には被毛の汚れ、削痩及び円背位がみられた。25 及び 50 mg/kg/日群においても妊娠 9 日目まで摂餌量及び体重増加量の減少がみられたが、軽度な変化であり毒性学的意義は低いと考えられた。

妊娠子宮重量は 150 mg/kg/日以上の群で相対重量の低下がみられた。子宮検査において、300 mg/kg/日群で早期吸収胚数の増加、着床後胚損失率の増加及び生存胎児数の低下がみらた。同群では、毒性群の 1 例及び TK 群の 2 例で全胚吸収が確認された。そのほか、50 mg/kg/日群においても早期吸収胚

数の増加、着床後胚損失率の増加及び生存胎児数の低下がみられたが、軽度な変化であり明確な胎児毒性と判断されなかった。

胎児検査では、150 mg/kg/日以上の群で平均胎児体重の低下がみられた。外表検査では、50 mg/kg/日以上の群の胎児に奇形がみられ、50 mg/kg/日群の 1 例に全身浮腫、別腹仔の 1 例で肛門及び尾の欠損がみられ、150 mg/kg/日群の 1 例で臍帯ヘルニア、並びに 300 mg/kg/日群の 1 例でドーム状頭部がみられた。催奇形性の発現頻度は 50、150 及び 300 mg/kg/日群でそれぞれ 40%（2/5 腹）、20%（1/5 腹）及び 25%（1/4 腹）となり背景データを上回ったが、用量依存性は認められなかった。

TK 評価結果を表 2.6.6-14 に示す。ベルモスジル、M1 及び M2 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は用量増加に伴い増加した。ベルモスジルについては 50 mg/kg/日以上の群で反復投与による蓄積傾向がみられた。

以上、妊娠ラットに、ベルモスジルメシル酸塩を 25、50、150 及び 300 mg/kg/日の用量で反復経口投与したとき、母動物に対する無毒性量は 50 mg/kg/日であり、胚・胎児発生に対する無毒性量は 25 mg/kg/日であった。

表 2.6.6-14 ラットを用いた胚・胎児発生に関する予備試験におけるベルモスジル、M1 及び M2 の TK パラメータ

用量	試験日	C_{max} (ng/mL)			$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·hr/mL)		
(mg/kg/日)	(GD)	ベルモスジル	M1	M2	ベルモスジル	M1	M2
25	6	2330	226	136	18500	2720	1580
	17	1800	176	127	20400	2230	1480
50	6	3080	468	241	33600	6550	3730
	17	5110	643	423	61800	9680	6200
150	6	3790	907	477	61300	13700	7090
	17	8790	1300	684	120000	19200	9400
300	6	7880	2590	1410	114000	27500	16400
	17	14700	1620	1110	193000	27100	18000

2.6.6.6.3 ラットを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する試験

【2.6.7.13.A】：4.2.3.5.2-02：2420-006（評価資料）

妊娠 Sprague-Dawley ラットに、ベルモスジルメシル酸塩を 0（媒体対照：0.4%メチルセルロース）、15、50 及び 150 mg/kg/日（各 25 例/群）の用量で妊娠 6 日から妊娠 17 日まで反復経口投与し、胚・胎児発生に及ぼす影響を評価した。母動物の一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を実施し、妊娠 20 日に帝王切開及び剖検し、子宮検査（黄体数、着床数、吸収胚数、着床前胚損失率、生存胎児数、胎児の性比、着床後胚損失率、生存及び死亡胎児数、同腹仔数、胚吸収率及び妊娠子宮重量測定）及び胎児検査（体重測定、性別、外表検査、内臓検査及び骨格検査）を実施した。さらに、サテライト群（対照群 3 例/群、投与群各 10 例/群）を設け、ベルモスジル、M1 及び M2 の TK を評価した。

母動物では、150 mg/kg/日群の 1 例を妊娠 15 日に切迫殺とした。剖検にて胸腔内（心臓、心膜、肺、胸腺及び横隔膜）に重度の線維性癒着がみられたことから、投与過誤の損傷に起因する瀕死と考えられた。同例では、活動性の低下、糞の退色、削痩、冷感及び皮膚の蒼白等がみられた。同群の他の 4 例においても、剖検時に投与過誤による損傷と考えられる胸腔内変化が確認されたことから、これら 5 例の検査結果は集計に含めなかった。その他に、すべての群で投与に起因する死亡、一般状態変化及び剖検所見はなかった。

50 及び 150 mg/kg/日群において、摂餌量の減少に伴う体重低値及び体重増加抑制がみられた。妊娠 18 日から妊娠 20 日における非投与期間においては摂餌量及び体重増加量の回復がみられた。

胚及び胎児では、150 mg/kg/日群に胎児体重の低値がみられた。

外表検査、骨格検査及び内臓検査において、投与に起因する変化はみられなかった。

TK 評価結果を表 2.6.6-15 に示す。ベルモスジル、M1 及び M2 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ はいずれも用量増加に伴う増加がみられ、反復投与による蓄積はみられなかった。

以上、妊娠ラットに、ベルモスジルメシル酸塩を 15、50 及び 150 mg/kg/日の用量で反復経口投与したとき、母動物に対する無毒性量は 15 mg/kg/日であり、胚・胎児発生に対する無毒性量は 50 mg/kg/日であった。本試験において、催奇形性は認められなかった。

表 2.6.6-15 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験におけるベルモスジル、M1 及び M2 の TK パラメータ

用量	試験日	C_{max} (ng/mL)			$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·hr/mL)		
(mg/kg/日)	(GD)	ベルモスジル	M1	M2	ベルモスジル	M1	M2
15	6	1530	152	76.2	9750	978	515
	17	1320	93.3	55.6	11900	948	572
50	6	3000	349	191	37700	5040	3050
	17	4360	434	350	33300	4780	3580
150	6	5150	955	519	89400	16400	10500
	17	7800	1310	972	88300	16600	11100

2.6.6.6.4 ウサギを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する予備試験

【2.6.7.11】：4.2.3.5.2-03：2420-005（参考資料）

非妊娠及び妊娠 New Zealand White（NZW）ウサギを用いた用量設定試験を実施した。

・非妊娠ウサギ

非妊娠 NZW ウサギに、ベルモスジルメシル酸塩を 25、50、75 又は 125 mg/kg/日（各 2 例/群）の用量で 5 日間反復経口投与（5 mL/kg）し、各群の動物を 10 日間休薬した後に、それぞれ 100、200、300 及び 400 mg/kg/日（各 2 例/群）の用量で 5 日間反復経口投与（10 mL/kg）した。一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を実施した。

その結果、すべての投与群で死亡はみられなかった。300 mg/kg/日以上では、摂餌量の減少及び体重減少がみられたことから非妊娠ウサギにおける無毒性量は 200 mg/kg/日と考えられた。

・妊娠ウサギ

妊娠 NZW ウサギにベルモスジルメシル酸塩を 0（媒体対照：0.4%メチルセルロース）、25、50、100 及び 250 mg/kg/日（各 6 例/群）の用量で、妊娠 6 日から妊娠 18 日まで反復経口投与し（10 mL/kg）、一般状態、体重及び摂餌量を測定した。妊娠 29 日に帝王切開及び剖検し、子宮検査（黄体数、着床数、吸収胚数、着床前胚損失率、着床後胚損失率、生存及び死亡胎児数、同腹仔数、妊娠子宮重量測定）、及び胎児検査（体重測定、性別及び外表検査）を実施した。また、サテライト群（各 4 例/群）を設け、ベルモスジル、M1 及び M2 の TK を評価した。

母動物では、いずれの群においても死亡はみられなかった。一般状態観察において、100 mg/kg/日以上の群で削痩及び糞の異常（軟便、少量又は無排泄）がみられた。これらの群では、摂餌量の減少、体重増加抑制がみられ、250 mg/kg/日群では体重低値もみられた。体重増加量は投与終了後に回復性が認められた。

胚・胎児では、投与に起因する変化はみられなかった。

TK 評価結果を表 2.6.6-16 に示す。ベルモスジル、M1 及び M2 のいずれも用量増加に伴う C_{max} 及び AUC_{0-24h} の増加がみられた。ベルモスジルは反復投与による C_{max} 及び AUC_{0-24h} の減少がみられた。また、妊娠 18 日において、M2 の C_{max} 及び AUC_{0-24h} はベルモスジルより大きくなった。

以上、妊娠ウサギに、ベルモスジルを 25、50、100 及び 250 mg/kg/日の用量で反復経口投与したときの母動物に対する無毒性量は 50 mg/kg/日、胚・胎児発生に対する無毒性量は 250 mg/kg/日であった。

表 2.6.6-16 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する予備試験におけるベルモスジル、M1 及び M2 の TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	試験日 (GD)	C_{max} (ng/mL)			AUC_{0-24h} (ng·hr/mL)		
		ベルモスジル	M1	M2	ベルモスジル	M1	M2
25	6	277	145	315	1120	524	1110
	18	207	270	606	568	545	1220
50	6	1240	431	948	5020	1380	3370
	18	621	528	1090	2480	1320	2990
100	6	2970	1030	2070	16700	4880	10400
	18	699	984	2120	3610	3010	8280
250	6	4870	1230	1930	62600	14100	24300
	18	2100	1040	3080	15600	4760	19700

2.6.6.6.5 ウサギを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する試験

【2.6.7.13.B】：4.2.3.5.2-04：2420-007（評価資料）

妊娠 NZW ウサギに、ベルモスジルメシル酸塩を 0（媒体対照：0.4%メチルセルロース）、50、125 及び 225 mg/kg/日（各 23 例/群）の用量で妊娠 6 日から妊娠 18 日まで反復経口投与し、母動物の一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を実施した。妊娠 29 日に帝王切開及び剖検し、子宮検査（黄体数、着床数、吸収胚数、着床前胚損失率、着床後胚損失率、生存及び死亡胎児数、同腹仔数及び妊娠子宮重量測定）及び胎児検査（体重測定、性別、外表検査、内臓検査及び骨格検査）を実施した。また、サテライト群（対照群 4 例/群、投与群各 5 例/群）を設け、ベルモスジル、M1 及び M2 の TK を評価した。

母動物では、225 mg/kg/日群の 1 例が妊娠 9 日に死亡した。同例では摂餌量の減少がみられ、剖検において、脂肪組織の黄色化及び胸腺に赤色巣がみられたが、死因は特定されなかった。その他に、125 及び 225 mg/kg/日群の各 1 例で妊娠 19 日に流産がみられた。225 mg/kg/日群の同個体では削痩がみられ、体重増加量及び摂餌量の減少に関連するものと考えられた。

その他の母動物では、125 mg/kg/日以上の群で摂餌量の減少が投与期間を通じてみられ、妊娠 6～10 日で体重減少、その後も体重増加抑制がみられた。225 mg/kg/日群では、投与終了時（妊娠 19 日）の体重が投与開始時（妊娠 6 日）より減少した。これらの群の体重及び摂餌量の変化は、投与終了から剖検までの期間に回復性が認められた。子宮検査の結果では、225 mg/kg/日群の 2 例で全胚吸収がみられた。また、125 mg/kg/日以上の群では着床後胚損失率の上昇、生存胎児数の減少、生存同腹仔数の減少がみられた。胎児においては、225 mg/kg/日群で平均胎児体重の低値がみられた。

外表検査において、225 mg/kg/日群で尾に奇形（欠損）及び変異（湾曲）がみられた。また、骨格検査では、肋骨（分岐、癒合又は形態異常）、胸骨（分節癒合）及び神経弓（癒合、配列異常及び形態異常）に奇形がみられたほか、頸椎（半椎体）及び胸骨（過剰分節）に変異がみられた。内臓検査では、投与による毒性はみられなかった。

TK 評価結果を表 2.6.6-17 に示す。ベルモスジル、M1 及び M2 のいずれも用量増加に伴う C_{max} 及び AUC_{0-24h} の増加がみられた。ベルモスジルは反復投与による C_{max} 及び AUC_{0-24h} の減少がみられた。また、妊娠 18 日において、M2 の C_{max} 及び AUC_{0-24h} はベルモスジルより大きくなった。

以上、妊娠ウサギに、ベルモスジルを 50、125 及び 225 mg/kg/日の用量で反復経口投与したとき、母動物及び胚・胎児発生に対する無毒性量はいずれも 50 mg/kg/日であった。本試験において、225 mg/kg/日で催奇形性が認められた。

表 2.6.6-17 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験におけるベルモスジル、M1 及び M2 の TK パラメータ

用量 (mg/kg/日)	試験日 (GD)	C_{max} (ng/mL)			AUC_{0-24h} (ng·hr/mL)		
		ベルモスジル	M1	M2	ベルモスジル	M1	M2
50	6	919	750	1170	3870	2470	4180
	18	437	569	1120	1590	1220	2470
125	6	3030	1250	2180	21400	7490	13600
	18	1670	1350	3610	9290	5740	16700
225	6	4140	1790	3190	55700	21300	42400
	18	2580	1680	4620	23500	14800	41500

2.6.6.6 出生前及び出生後発生並びに母動物の機能に関する試験

本剤の対象疾患であるステロイド依存性／抵抗性 cGVHD の重篤性等に基づき、出生前及び出生後発生並びに母動物の機能に関する試験は実施していない。

2.6.6.7 局所刺激性試験

ベルモスジルメシル酸塩の臨床適用経路は経口投与であるため局所刺激性試験は実施していない。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 光毒性試験

2.6.6.8.1.1 紫外可視吸光度測定試験

【2.6.7.17.A】：4.2.3.7.7-01：20082808（参考資料）

ベルモスジルの紫外可視吸光プロファイルを明らかにするため、290 から 700 nm におけるベルモスジルの吸光度を測定した。測定はメタノールに溶解した 0.000977 から 1 mmol/L のベルモスジルで実施し、最大吸光度が 0.5 から 1.5 AU（absorbance units）の範囲内となった 0.125 mmol/L を評価濃度に選択した。

その結果、ベルモスジルは 290 から 370 nm の波長を吸収し、モル吸光係数のピークは 334 nm で 10743 L mol^{-1} cm^{-1} となった。ICH S10 ガイドラインで規定される光反応性がないと考えられる閾値 1000 L $mol^{-1}cm^{-1}$ を上回ったことから、in vitro 光毒性試験（2.6.6.8.1.2）を実施した。

2.6.6.8.1.2 3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験

【2.6.7.17.A】：4.2.3.7.7-02：20082809（評価資料）

BALB/c マウス 3T3 線維芽細胞株を用いたニュートラルレッド取り込み法により、ベルモスジルの光毒性を評価した。本試験におけるベルモスジルの濃度は、紫外線非照射下（-UVR）及び紫外線照射下（+UVR）ともに 0.056、0.100、0.178、0.316、0.562、1.00、1.78 及び 3.16 µg/mL を設定した。最高濃度は培地である 1% DMSO ダルベッコリン酸緩衝生理食塩液への溶解限度 3.2 µg/mL に基づいて設定した。陽性対照としてプロメタジンを設定した。

試験結果概要を表 2.6.6-18 に示す。ベルモスジルの平均光作用（MPE）値は 2 回のアッセイでそれぞれ 0.243 及び 0.344 となり、MPE 値が 0.15 を上回ったことからベルモスジルの in vitro 光毒性は陽性と判断した。

表 2.6.6-18 in vitro 光毒性試験結果概要

被験物質	-UVR：細胞毒性 IC_{50} (µg/mL)	+UVR：光毒性 IC_{50} (µg/mL)	Photo irritation factor (PIF)	平均光作用 (MPE)	In vitro 光毒性 [c]	溶媒対照の UV 生存率 [d] (%)	溶媒対照の OD_{540} [d]
プロメタジン（陽性対照）	81.333	1.417	57.582	0.477	陽性	89	0.723
ベルモスジル（アッセイ 1）	-(>3.16)[a]	0.698	> 4.529[b]	0.243	陽性	86	0.732
ベルモスジル（アッセイ 2）	-(>3.16)[a]	0.636	> 4.967[b]	0.344	陽性	88	0.762

"-UVR"= without ultra violet ray, "+UVR"= with ultra violet ray. "-"= no cytotoxicity.
a 細胞毒性はなく IC_{50} 値は算出できなかった。最高濃度 3.16 µg/mL は溶解性に基づき設定した。
b 細胞毒性の IC_{50} 値が得られなかったため、最高濃度 3.16 µg/mL を用いて算出した。
c OECD 432 ガイドラインに従い、PIF > 5 又は MPE > 0.15 で in vitro 光毒性を陽性と判定した。
d OECD 432 ガイドラインに従い、UV 照射した溶媒対照が非照射の溶媒対照と比較して 80%を超える生存率を示し、未処置の溶媒対照の平均 OD_{540} が 0.4 以上で試験成立とした。

2.6.6.8.2 不純物の毒性試験

規格管理される原薬の不純物に関しては ICH Q3A ガイドラインに従い安全性確認の閾値以下で管理し【2.3.S.4.5】、個別の毒性試験は実施していない。ベルモスジルメシル酸塩の製造工程で混入、生成、または理論的に存在する可能性がある有機不純物については、ICH M7 ガイドラインに従い、データベース検索、知識ベース（Derek Nexus version [redacted]、Lhasa 社）及び統計ベース（Sarah Nexus version [redacted]、Lhasa 社）の相補的な(Q)SAR 法によるハザード評価を実施した【3.2.S.3.2-07】。その結果、15 種類の不純物がクラス 1、クラス 2 又はクラス 3 に分類された。これらのいずれの変異原性不純物についても、許容摂取量を下回る適切な管理措置を講じている【2.3.S.3.2.2】。製剤製造中に生成する追加の副生成物、不純物又は分解物は存在しない【2.3.P.5.5】。

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 重要な毒性試験における無毒性量及び曝露量比

ベルモスジルの毒性評価として、ラット及びイヌを用いた単回及び反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験を実施した。その他の毒性試験として光毒性試験を実施した。重要な反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験の無毒性量及び臨床用量における曝露量比を表 2.6.6-19 に示す。曝露量比は、cGVHD 患者にベルモスジル 200 mg を 1 日 1 回投与したときの PPK 解析（NPS3067-PKPD001）【5.3.3.5-01】によりに得られた定常状態の曝露量（C_{max}：2390 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$：22700 ng·hr/mL、以下、臨床曝露量と表記する）に基づき算出した。

表 2.6.6-19 重要な反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験の無毒性量における曝露量及びその臨床曝露量との比

試験種（試験番号）	動物種	用量 (mg/kg/日)	性	無毒性量 (mg/kg/日)	C_{max}[a] (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$[a] (ng·hr/mL)	曝露量比[b] C_{max}	曝露量比[b] $AUC_{0\text{-}24h}$
4 週間経口反復（1173-028）	ラット	0、50、150、375	雄	150	5750	68500	2.4	3.0
			雌	150	9640	98000	4.0	4.3
13／26 週間経口反復（029502）	ラット	0、50、125、275	雄	275	10600	112000	4.4	4.9
			雌	125	14900	167000	6.2	7.4
4 週間経口反復（1173-028）	イヌ	0、25、75、200/125	雌雄	75	5790	41200	2.4	1.8
13 週間経口反復（029281）	イヌ	0、35、70、125	雄	35	4910	25200	2.1	1.1
			雌	35	4620	23300	1.9	1.0
13／39 週間経口反復（8289750）	イヌ	0、5、20、40	雄	40	2060	15500	0.9	0.7
			雌	40	3220	22500	1.3	1.0
受胎能及び初期胚発生（2420-008）	ラット	0、50、150、275	雄	親動物：50	2480	21600	1.0	1.0
				授胎能：150	10100	70100	4.2	3.1
				胚発生：150	10100	70100	4.2	3.1
			雌	親動物：50	3200	26200	1.3	1.2
				受胎能：275	14900	209000	6.2	9.2
				胚発生：150	9860	99500	4.1	4.4
胚・胎児発生（2420-006）	ラット	0、15、50、150	雌	母動物：15	1320	11900	0.6	0.5
				胚胎児：50	4360	33300	1.8	1.5
胚・胎児発生（2420-007）	ウサギ	0、50、125、225	雌	母動物：50	437	1590	0.2	0.07
				胚胎児：50	437	1590	0.2	0.07

a. 最終投与時の曝露量

b. 曝露量比は、cGVHD 患者にベルモスジル 200 mg を 1 日 1 回投与したときの PPK 解析（NPS3067-PKPD001）により得られた定常状態の曝露量（C_{max}：2390 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$：22700 ng·hr/mL）に基づき算出した。

2.6.6.9.2 毒性の標的

ラット及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験の結果、摂餌量及び体重、造血系、肝臓、腎臓、免疫系及び生殖器が標的となる可能性が考えられた。

摂餌量及び体重

ラット及びイヌで、摂餌量減少並びに体重減少及び／又は体重増加抑制が用量依存的にみられた。ラットでは、4 週試験の 375 mg/kg/日群で投与初期に著しい摂餌量減少及び体重減少がみられ、26 週

試験では、すべての投与群で投与初期から摂餌量減少及び体重増加抑制がみられたが、投与期間中に体重増加量の回復又は回復傾向がみられた。イヌでは、4 週及び 13 週試験の 125 mg/kg/日以上の群で投与継続が困難な摂餌量及び体重の減少がみられた。13 週試験の 70 mg/kg/日群では、摂餌量減少が投与 3～4 週間まで、体重減少が投与 2 週間までみられ、その後投与期間を通じて体重増加抑制がみられた。休薬時に摂餌量が増加し、体重の回復又は回復傾向を示した。ラットでの著しい摂餌量減少及び体重減少、イヌでの摂餌量減少並びに体重減少及び／又は体重増加抑制がみられた用量における $AUC_{0\text{-}24h}$ は、臨床曝露量と比較してラットで約 9.6～16 倍、イヌで約 2.0～2.2 倍であった。

造血系

ラット及びイヌで、赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値の低下が用量依存的にみられ、網状赤血球数が増加した。ラット 4 週間試験では骨髄に赤芽球性又は混在性の過形成がみられ、イヌ 4 週間試験では骨髄塗沫標本観察において赤芽球（好塩基性赤芽球、多染性赤芽球、正染性赤芽球）の数及び割合が増加した。このように、赤血球数の低下等がみられたが、骨髄及び末梢血に造血反応が認められ、また、いずれも休薬による回復性が認められた。造血反応を伴う赤血球数等の低下は、ラットでは 125 mg/kg/日以上、イヌでは 200/125 mg/kg/日の群でみられ、これら用量における $AUC_{0\text{-}24h}$ は、臨床曝露量と比較してラットで約 2.7～7.4 倍、イヌで約 2.6 倍であった。

肝臓

ラットでは、4 週間及び 13／26 週間試験において、50 mg/kg/日以上の群で肝重量の増加並びに肝細胞肥大が小葉中心及び／又は中間帯にびまん性にみられ、150 mg/kg/日以上の群では、GGT、ALP、トリグリセリド、総コレステロール及び／又は HDL コレステロールの増加がみられた。これらは肝薬物代謝酵素誘導に起因した変化と考えられ、細胞に傷害性変化は認められなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。また、休薬による回復又は回復傾向が認められた。その他に、150 mg/kg/日群の雄及び／又は 375mg/kg/日群でプロトロンビン時間の延長及び総ビリルビンの増加がみられたが、軽度で回復がみられることから毒性学的意義は低いと考えられた。イヌでは、4 週間試験の 200/125 mg/kg/日群において肝重量の増加、極軽度から軽度の胆汁うっ滞及び肝細胞の空胞化、極軽度の胆管過形成及び／又は極軽度から軽度のクッパー細胞の色素沈着がみられ、ALP、GGT 及び／又は総ビリルビンの増加がみられた。13 週間試験では 35 mg/kg/日以上の群で肝重量の増加がみられ、70 mg/kg/日群では小葉中心性の胆汁うっ滞及び単核球浸潤が極軽度から軽度に、肝細胞萎縮が中等度にみられた。これらの変化は休薬による回復又は回復傾向が認められた。肝臓に病理組織学的変化がみられた最低用量における $AUC_{0\text{-}24h}$ は、臨床曝露量と比較してラットで約 0.6～3.2 倍、イヌで約 2.0～2.2 倍であった。

腎臓

ラットでは、4 週間試験の 375 mg/kg/日群において、BUN 及びクレアチニンの増加が軽度にみられたが腎臓に関連する病理組織学的変化は認められなかった。26 週間試験では、死亡例（275 mg/kg/日群の雌 1 例）で腎臓皮質外帯の近位尿細管に中等度の上皮細胞壊死及び極軽度の褐色色素沈着がみられた。死亡がみられた群の雌の $AUC_{0\text{-}24h}$ は臨床曝露量と比較して約 21 倍であった。生存例では、50 mg/kg/日群の雄及び 125 mg/kg/日以上の群で極軽度から中等度の細胞内タンパク性硝子滴の増加みられ、125 mg/kg/日以上の群では尿細管に極軽度から軽度の好塩基性変化及び近位尿細管上皮に極軽度の褐色色素沈着、275 mg/kg/日群で尿細管に極軽度から軽度の拡張がみられた。また、125 mg/kg/日以上の群で腎重量の増加がみられた。これらは、再生性又は適応性の変化であり毒性学的意義は低

いと考えられた。イヌでは、13 週間試験の瀕死例（125 mg/kg/日群の雄）において、腎臓に極軽度の梗塞、腎髄質及び腎乳頭の尿細管に細胞性円柱及び近位尿細管に上皮細胞の壊死がみられた。同試験の 70 mg/kg/日群では、近位尿細管上皮に極軽度から軽度の褐色色素沈着が認められた。腎臓にこれらの病理組織学的変化がみられた最低用量における $AUC_{0\text{-}24h}$ は、臨床曝露量と比較してラットで約 1.1 倍、イヌで約 2.0～2.2 倍であった。

免疫系

ラットでは、4 週間試験の 375 mg/kg/日群の雌において、胸腺重量の減少を伴う極軽度から中等度のリンパ球枯渇及び軽度のアポトーシスがみられた。26 週間試験では、50 mg/kg/日以上の群で胸腺重量の減少を伴う極軽度から重度の皮質リンパ球枯渇がみられ、同用量では副腎相対重量増加を伴う副腎皮質の肥大が極軽度から軽度にみられた。また、脾臓重量の増加及びマントル層リンパ球の軽度の増加がみられた。イヌでは、13 週間試験の 70 mg/kg/日以上の群で胸腺及び脾臓の重量低下がみられ、35 mg/kg/日以上の群で軽度から重度の胸腺皮質リンパ球枯渇並びに脾臓動脈周囲リンパ鞘の軽度から中等度のリンパ球枯渇がみられ、体重減少及び／又は体重増加抑制が顕著であった雄でより重篤に認められた。一方、13 週間試験における 35 mg/kg/日群と同程度の曝露量でより長期間投与した 39 週間試験の 40 mg/kg/日群（35 mg/kg/日：23300～25200 ng·hr/mL、40 mg/kg/日：15500～22500 ng·hr/mL）では、胸腺及び脾臓に変化は認められなかった。ラットにおける胸腺及び副腎並びにイヌにおける胸腺及び脾臓の変化は、摂餌量減少、体重減少及び／又は体重増加抑制並びにそれに伴うストレスによる二次的な影響と考えられた。なお、ラットでは脾臓リンパ球の軽度の増加がみられたが、傷害性の変化は認められなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。

生殖器

雌性生殖器について、ラットでは、4 週間試験の 375 mg/kg/日群並びに 26 週間試験の 125 mg/kg/日以上の群で子宮及び／又は卵巣の重量減少がみられ、26 週間試験の 275 mg/kg/日群で卵巣に軽度から中等度の卵胞発達低下及び子宮／子宮頸部に軽度から中等度の発育不全が認められた。これらの変化は摂餌量の減少に伴う体重減少及び／又は体重増加抑制による二次的な影響と考えられ、イヌではいずれの試験でも雌性生殖器への影響は認められなかった。また、ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験において、275 mg/kg/日まで投与された雌性ラットで受胎能に影響はなかった。

雄性生殖器について、ラットでは、4 週間試験の 375 mg/kg/日群で精巣に軽度から中等度の精細管変性／萎縮及び精巣上体に軽度の精子減少／精子細胞残渣がみられた。26 週間試験では、13 週及び／又は 26 週で 50 mg/kg/日以上の群で精巣に精細管精細胞変性、275 mg/kg/日群の精巣上体に輸出管精子変性がみられ、これらの変化は 4 週間の休薬後も認められた。また、ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験では、275 mg/kg/日を投与された雄性ラットで同様の雄性生殖器の変化及び授胎能の低下がみられたが、77 日間の休薬により回復性が認められた。イヌでは、13 週間試験の 35 mg/kg/日以上の群で精巣上体に軽度の精子変性、精巣に極軽度から軽度の精細管精細胞変性及び極軽度の多核性精子細胞がみられた。一方で、これらの変化は 35 mg/kg/日と同程度の曝露量でより長期間投与した 39 週間試験の 40 mg/kg/日群（35 mg/kg/日：23300～25200 ng·hr/mL、40 mg/kg/日：15500～22500 ng·hr/mL）では認められなかった。

ラット及びイヌのいずれの試験においても、摂餌量減少、体重減少及び／又は体重増加抑制が認められる用量でみられていることから、生殖器の変化は摂餌量減少、体重減少及び／又は体重増加抑制による二次的な影響と考えられた。

2.6.6.9.3 遺伝毒性

細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験及びラットを用いた in vivo 骨髄小核試験において、ベルモスジルは遺伝毒性を示さなかった。

2.6.6.9.4 生殖発生毒性

ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験では、最高用量の 275 mg/kg/日まで雌性ラットの受胎能に影響はみられなかったが、雄性ラットでは 275 mg/kg/日で授胎能の低下（授胎率及び妊娠率の低下）、精子の異常（運動能低下、精子数／濃度の減少、形態異常精子数の増加）、並びに雄性生殖器の肉眼的及び組織学的変化（精巣及び精巣上体の重量低下を伴う小型化、精巣の萎縮、精巣上体内腔の細胞残屑）がみられた。当該用量における $AUC_{0\text{-}24h}$ は、臨床曝露量の約 8.4 倍であった。また、授胎能の低下及び精子／雄性生殖器の変化は 77 日間の休薬により回復性が認められた。

胚・胎児発生に関する試験において、妊娠ラットの器官形成期に投与した結果、50 及び 150 mg/kg/日の用量で母動物に摂餌量の減少及び体重増加抑制がみられ、150 mg/kg/日群では平均胎児体重の減少がみられた。ラットで胚・胎児毒性が認められた用量における $AUC_{0\text{-}24h}$ は、臨床曝露量の約 3.9 倍であった。妊娠ウサギの器官形成期に投与した試験では、225 mg/kg/日の母動物 1 例が死亡し、125 mg/kg/日以上で摂餌量減少並びに体重減少及び／又は体重増加抑制、これに関連すると考えられる流産が 125 及び 225 mg/kg/日で各 1 例みられた。子宮検査では、225 mg/kg/日群の 2 例で全胚吸収、125 mg/kg/日以上で着床後胚損失率の上昇、生存胎児数の減少、生存同腹仔数の減少がみられ、225 mg/kg/日で平均胎児重量の減少及び催奇形性が認められた。ウサギで胚・胎児毒性及び催奇形性がみられた用量における $AUC_{0\text{-}24h}$ は、臨床曝露量のそれぞれ約 0.41 倍及び約 1.0 倍であった。ROCK2 受容体のノックアウトマウスでは胎盤機能不全、胚発達遅延及び胎児死亡が報告されており [2)、3)]、胚・胎児毒性及び催奇形性は本薬の薬理作用に関連する可能性が考えられた。臨床曝露量付近で胚・胎児毒性及び催奇形性が認められたことから、妊婦又は妊娠している可能性のある女性には「投与しないこと」、妊娠する可能性のある女性には「本剤投与中及び最終投与後 1 週間において避妊する必要性及び適切な避妊法について説明すること」と添付文書に記載する。

2.6.6.9.5 光毒性

3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験において、ベルモスジルの光毒性が示唆された。in vivo 光毒性試験は実施していないが、これまでに実施した健康成人又は患者の臨床試験の中で行った標準的な眼及び皮膚の検査において光毒性は評価されている。いずれの臨床試験においても光防護措置は行っておらず、外来で反復服薬していた試験では日常的に日光に晒される条件であった。また、臨床用量（200 mg/日）を超えて最大 1000 mg/日まで投与されたが、臨床試験においてベルモスジルの光毒性を示唆する症候は報告されていない。また、本剤既承認の諸外国における実臨床において光毒性に関連する重篤な副作用は報告されていない。これらのことから、ベルモスジルが臨床使用において光毒性を示す可能性は低いと考えられた。

2.6.6.9.6 結論

本概要に示した毒性試験成績から、ベルモスジルの臨床使用において重篤な副作用が発現する可能性は低いと考えられ、ステロイド依存性／抵抗性 cGVHD 患者に対して添付文書に規定する用法・用量を使用することを支持するものと考えられた。なお、国内外の臨床試験において、本剤の忍容性は良好と判断されている。

2.6.6.10 参考文献

1) 【4.3-29】Levin S, Semler D, Ruben Z. Effects of two weeks of feed restriction on some common toxicologic parameters in Sprague-Dawley rats. Toxicol Pathol. 1993;21(1):1-14. doi:10.1177/019262339302100101
2) 【4.3-03】Pelosi M, Marampon F, Zani BM, et al. ROCK2 and its alternatively spliced isoform ROCK2m positively control the maturation of the myogenic program. Mol Cell Biol. 2007;27(17):6163-6176. doi:10.1128/MCB.01735-06
3) 【4.3-30】Thumkeo D, Keel J, Ishizaki T, et al. Targeted disruption of the mouse Rho-associated kinase 2 gene results in intrauterine growth retardation and fetal death. Mol Cell Biol. 2003;23(14):5043-5055. doi:10.1128/MCB.23.14.5043-5055.2003

目次

2.6.7 毒性試験概要表 3
2.6.7.1 毒性試験の一覧表 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 4
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧 5
2.6.7.3.A C_{max} 5
2.6.7.3.B AUC_{0-24h} 7
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 9
2.6.7.5 単回投与毒性試験 11
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 12
2.6.7.7 反復投与毒性試験（重要な試験） 13
2.6.7.7.A ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験 13
2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 18
2.6.7.7.C イヌを用いた 1 週間反復投与毒性試験（摂餌条件の影響検討） 31
2.6.7.7.D イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験 32
2.6.7.7.E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 36
2.6.7.7.F イヌを用いた 13／39 週間反復経口投与毒性試験及び 4／8 週間回復性試験 42
2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験 45
2.6.7.8.A 細菌を用いた復帰突然変異試験 45
2.6.7.8.B ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験 47
2.6.7.9 In Vivo 遺伝毒性試験 49
2.6.7.9.A ラットを用いた骨髄小核試験 49
2.6.7.10 がん原性試験 50
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 51
2.6.7.12 生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 53
2.6.7.12.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 53
2.6.7.13 生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験 64
2.6.7.13.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する試験 64
2.6.7.13.B ウサギを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する試験 67
2.6.7.14 生殖発生毒性試験－出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 71
2.6.7.15 新生児を用いた試験 71
2.6.7.16 局所刺激性試験 71
2.6.7.17 その他の毒性試験 72

2.6.7.17.A 光毒性試験 72

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験の一覧表

Test Article: Belumosudil[a]

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [b, c] (mg/kg/day)	GLP	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Single Dose Toxicity	Rat/ SD	Oral	Acute	100[d], 200[d, e], 300[d], 400[e], 600[e]	Yes	[redacted]	0500-05015	4.2.3.1-01
	Dog/ Beagle	Oral	Acute	50[e], 200[e], 250[e], 300[e], 400[e]	No	[redacted]	1173-023	4.2.3.1-02
Repeat-Dose Toxicity	Rat/ SD	Oral	28 days	0, 50, 150, 375	Yes	[redacted]	1173-028	4.2.3.2-01
	Rat/ SD	Oral	6 months	0, 50, 125[1], 275[2]	Yes	[redacted]	029502	4.2.3.2-02
	Dog/ Beagle	Oral	7 days	0, 25, 100, 200	No	[redacted]	1173-046	4.2.3.2-03
	Dog/ Beagle	Oral	7 days	70	Yes	[redacted]	8289749	4.2.3.2-04
	Dog/ Beagle	Oral	28 days	0, 25, 75, 200/125[f]	Yes	[redacted]	1173-029	4.2.3.2-05
	Dog/ Beagle	Oral	3 months	0, 35, 70, 125[g]	Yes	[redacted]	029281	4.2.3.2-06
	Dog/ Beagle	Oral	9 months	0, 5, 20, 40	Yes	[redacted]	8289750	4.2.3.2-07
Genotoxicity	*S. typhimurium, E. coli*	In vitro	NA	1.5 - 5000 µg/plate	Yes	[redacted]	AB44FM.503.BTL	4.2.3.3.1-01
	HPBL	In vitro	NA	3.13 - 250 µg/mL	Yes	[redacted]	AB44FM.341.BTL	4.2.3.3.1-02
	Rat/ SD	Oral	Acute	0, 500, 1000, 2000	Yes	[redacted]	AB44FM.125.BTL	4.2.3.3.2-01
Fertility and early embryonic development	Rat (Male)/ SD	Oral	70 days + Mating Period	0, 50 ,150[2], 275	Yes	[redacted]	2420-008	4.2.3.5.1-01
	Rat (Female)/ SD	Oral	14 days + Mating Period to GD7	0, 50 ,150, 275[1]	Yes	[redacted]	2420-008	4.2.3.5.1-01
Embryo-fetal development	Rat/ SD	Oral	GD6-GD17	0, 25[3], 50[1], 150, 300	No	[redacted]	2420-004	4.2.3.5.2-01
	Rat/ SD	Oral	GD6-GD17	0, 15[1], 50[3], 150	Yes	[redacted]	2420-006	4.2.3.5.2-02
	Rabbit/ NZW	Oral	5 days	25, 50, 75, 100, 125, 200, 300, 400	No	[redacted]	2420-005	4.2.3.5.2-03
	Rabbit/ NZW	Oral	GD6-GD18	0, 25, 50[1], 100, 250[3]	No	[redacted]	2420-005	4.2.3.5.2-03
	Rabbit/ NZW	Oral	GD6-GD18	0, 50[1,3], 125, 225	Yes	[redacted]	2420-007	4.2.3.5.2-04
Other: Phototoxicity	UV and Visible Light	In vitro	NA	0.000977 - 1 mmol/L	No	[redacted]	20082808	4.2.3.7.7-01
	BALB/c 3T3 cells	In vitro	NA	0.056 - 3.16 µg/mL	Yes	[redacted]	20082809	4.2.3.7.7-02

NA= Not applicable, GD= gestation date, SD= Sprague-Dawley, NZW= New Zealand White, HPBL= Human peripheral blood lymphocytes, [redacted]

a. Test article Belumosudil was formerly known as KD025 or SLx-2119
b. Mesilate salt form was used unless otherwise noted
c. MTD for single dose studies or NOAEL for repeat-dose and development and reproductive studies is underlined 1= females/ maternal, 2= males, 3= Embryo-Fetal
d. TFA salt Form
e. HCl salt Form
f. 200 mg/kg/day was dosed for Day 1 to 14, no drug was dosed for Day 15 to 18, and 125 mg/kg/day was dosed for Day 19 to Day 28 or 29.
g. 125 mg/kg/day was dosed for 20 or 21 days.

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: Belumosudil

Safety pharmacology/ Toxicology	Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Safety Pharmacology	Cardiovascular System	Dog/ Beagle	Oral	0, 25, 75, 150	Yes	[redacted]-602029	4.2.1.3-03
	Respiratory System	Rat/ SD	Oral	0, 50, 175, 350	Yes	[redacted]-602030	4.2.1.3-04
	Respiratory System	Rat/ SD	Oral	0, 50, 175, 350	Yes	8289751	4.2.1.3-05
Toxicology	28-Day Toxicity Study	Rat/ SD	Oral	0, 50, 150, 375	Yes	1173-028	4.2.3.2-01
	6-Month Toxicity Study	Rat/ SD	Oral	0, 50, 125, 275	Yes	029502	4.2.3.2-02
	7-Day Toxicity Study	Dog/ Beagle	Oral	0, 25, 100, 200	No	1173-046	4.2.3.2-03
	7-Day Toxicity Study (Feed condition investigation)	Dog/ Beagle	Oral	70	Yes	8289750	4.2.3.2-04
	28-Day Toxicity Study	Dog/ Beagle	Oral	0, 25, 75, 200/125	Yes	1173-029	4.2.3.2-05
	3-Month Toxicity Study	Dog/ Beagle	Oral	0, 35, 70, 125	Yes	029281	4.2.3.2-06
	9-Month Toxicity Study	Dog/ Beagle	Oral	0, 5, 20, 40	Yes	8289750	4.2.3.2-07
	In Vivo Micronucleus Study	Rat/ SD	Oral	0, 500, 1000, 2000	Yes	AB44FM.125.BTL	4.2.3.3.2-01
	Fertility and Early Embryonic Development Study	Rat/ SD	Oral	0, 50 ,150, 275	Yes	2420-008	4.2.3.5.1-01
	Pilot DRF Embryo-Fetal Toxicity Study	Rat/ SD	Oral	0, 25, 50, 150, 300	No	2420-004	4.2.3.5.2-01
	Embryo-Fetal Toxicity Study	Rat/ SD	Oral	0, 15, 50, 150	Yes	2420-006	4.2.3.5.2-02
	Pilot DRF Embryo-Fetal Toxicity Study	Rabbit/ NZW	Oral	0, 25, 50, 100, 250	No	2420-005	4.2.3.5.2-03
	Embryo-Fetal Toxicity Study	Rabbit/ NZW	Oral	0, 50, 125, 225	Yes	2420-007	4.2.3.5.2-04

SD= Sprague-Dawley, NZW= New Zealand White, DRF= Dose range finding.

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧

2.6.7.3.A C_{max}

Test article: Belumosudil

Dose (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL)[a] Rat Belumosudil Male	Rat Belumosudil Female	Rat M1 Male	Rat M1 Female	Rat M2 Male	Rat M2 Female	Rabbit Belumosudil Female	Rabbit M1 Female	Rabbit M2 Female	Dog Belumosudil Male	Dog Belumosudil Female	Dog M1 Male	Dog M1 Female	Dog M2 Male	Dog M2 Female
5[b]										386	249	NC	NC	NC	NC
15[c]		1320		93.3		55.6									
20[b]										854	1480	54.7	153	61.9	89.8
25[d]		1800		176		127									
25[e]										392[t]	914	27.3[t]	91	36.8[t]	67.6
25[f]										658	635	82	98	191	107
25[g]										2690		278		98.2	
25[h]							207	270	606						
35[i]										4910	4620	445	430	151	150
40[b]										2060	3220	239	379	141	175
50[j]	1950	4010	975	554	512	276									
50[k]	2980	7390	710	865	662	412									
50[l]	1283	3810	695	295	375	154									
50[m]	2000	3390	804	287	543	183									
50[n]	2480	3200	770	294	410	125									
50[d]		5110		643		423									
50[c]		4360		434		350									
50[h]							621	528	1090						
50[o]							437	569	1120						
70[p]										4340		664		218	
70[i]										6170	7250	761	1210	149	175
75[e]										1688	2717	269[t]	386[t]	158[t]	161[t]
75[g]										5790		1000		129	
100[f]										2809	4844	593	788	313	480
100[h]							699	984	2120						
125[k]	7100	14900	2100	2060	1430	1090									
125[i]										NT[s]	NT[s]	NT[s]	NT[s]	NT[s]	NT[s]
125[o]							1670	1350	3610						
200/125[g, r]										7330		1590		169	
150[j]	5750	9640	1970	1480	1140	758									
150[n]	10100	9860	1800	1260	1070	523									
150[d]		8790		1300		684									
150[c]		7800		1310		972									
150[e]										2019	4224	417[t]	573	222[t]	281

2.6.7.3.A C_{max}（続き）

Dose (mg/kg/day)	C_{max} (ng/mL) [a] Rat Belumosudil Male	Rat Belumosudil Female	Rat M1 Male	Rat M1 Female	Rat M2 Male	Rat M2 Female	Rabbit Belumosudil Female	Rabbit M1 Female	Rabbit M2 Female	Dog Belumosudil Male	Dog Belumosudil Female	Dog M1 Male	Dog M1 Female	Dog M2 Male	Dog M2 Female
175[l]	3557	6411	905	469	610	298									
175[m]	3060	6450	933	487	746	416									
200[f]										2338	1356	232	440	321	316
225[o]							2580	1680	4620						
250[h]							2100	1040	3080						
275[k]	10600	29500	2180	3090	1650	1250									
275[n]	20400	14900	3350	2290	1900	1480									
300[d]		14700		1620		1110									
350[l]	6354	7492	1536	553	1026	294									
350[m]	3940	6570	1230	1100	839	722									
375[j]	13900	23000	2850	2820	1350	1210									
500[q]	8537	9407	4240	2370	2220	1283									
1000[q]	12867	11133	3327	4083	1997	1807									
2000[q]	12403	11120	4450	2943	2293	1487									

NC= Not calculated, NT= Not tolerated.

Note: C_{max} of belumosudil that was estimated by PPK analysis (M5.3.3.5-01) was 2390 ng /mL in human received belumosudil 200 mg Tablet QD. C_{max} of M1 and M2 was 62 and 913 ng/mL, respectively, those were calculated to be approximately 2.6 and 38.2% of the C_{max} of belumosudil from repeated dose data in the ME3208-1 study (M5.3.3.1-01).

a. Data is presented as mean values at last dose exposures by oral dosing.
b. 39-week repeat-dose oral capsule toxicity study in beagle dogs with an 8-week recovery period (8289750)
c. Embryo-fetal toxicity in rats GD6 and GD17 (2420-006)
d. Pilot embryo-fetal toxicity in rats GD6 and GD17 (2420-004)
e. Safety pharmacology study in beagle dogs for cardiovascular assessment ([redacted]-602029)
f. 1-week repeat-dose oral capsule toxicity study (dose range finding) in beagle dogs (1173-046)
g. Gender combined exposure of 28-day repeat-dose oral capsule toxicity study in beagle dogs with a 2-week recovery period (1173-029)
h. Pilot embryo-fetal toxicity in rabbits GD6 and GD18 (2420-005)
i. 13-week repeat-dose oral capsule toxicity study in beagle dogs with a 4-week recovery period (029281)
j. 4-week repeat-dose oral gavage toxicity study in rats with a 2-week recovery period (1173-028)
k. 26-week repeat-dose oral gavage toxicity study in rats with a 13-week interim termination and a 4-week recovery period (029502)
l. Safety pharmacology study in rat for respiratory assessment ([redacted]-602030)
m. Safety pharmacology study in rat for respiratory assessment (8289751)
n. Rodent fertility in rats day 14 for females and day 70 for males (2420-008)
o. Embryo-fetal toxicity in rabbits GD6 and GD18 (2420-007)
p. 1-week repeat-dose oral capsule toxicity study (feeding regimen investigation) in beagle dogs (8289749).
q. Rat in vivo genotoxicity study (AB44FM.125.BTL)
r. Dose reduction: 200 mg/kg on Days 1 to 14, no dosing for Days 15 through 18, and 125 mg/kg on Days 19 through 28
s. High dose cessation on Day 21; animals euthanized on day 51(Limited histopathology and no TK conducted)
t. Mean includes 1 or more values of 0.00.

2.6.7.3.B $AUC_{0\text{-}24h}$

Test article: Belumosudil

Dose (mg/kg/day)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·hr/mL)[a] Rat						Rabbit			Dog					
	Belumosudil		M1		M2		Belumosudil	M1	M2	Belumosudil		M1		M2	
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Female	Female	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
5[b]										1180	833	NC	NC	NC	NC
15[c]		11900		948		572									
20[b]										4040	8400	304	712	335	538
25[d]		20400		2230		1480									
25[e]										1954[t]	3156	131[t]	296	154[t]	227
25[f]										3872	3340	510	479	1236	694
25[g]										12800		1350		567	
25[h]							568	545	1220						
35[i]										25200	23300	2290	2360	979	969
40[b]										15500	22500	1430	2710	1390	1520
50[j]	14400	40400	8140	6520	4350	3290									
50[k]	25000	73500	8020	7920	5500	4390									
50[l]	11468	19530	6222	1834	3182	1028									
50[m]	20300	60500	8400	5360	5100	3270									
50[n]	21600	26200	8460	3690	4080	1390									
50[d]		61800		9680		6200									
50[c]		33300		4780		3580									
50[h]							2480	1320	2990						
50[o]							1590	1220	2470						
70[p]										44700		7220		2290	
70[i]										44800	50100	6050	8840	1610	1590
75[e]										12417	15870	1821[t]	2389[t]	1228[t]	1109[t]
75[g]										41200		8010		1150	
100[f]										27733	28705	4751	5343	3027	4111
100[h]							3610	3010	8280						
125[k]	61500	167000	19700	23000	14400	11700									
125[i]										NT[s]	NT[s]	NT[s]	NT[s]	NT[s]	NT[s]
125[o]							9290	5740	16700						
200/125[g, r]										60100		14100		1680	
150[j]	68500	98000	20800	17500	11500	7950									
150[n]	70100	99500	16200	18200	9520	7110									
150[d]		120000		19200		9400									
150[c]		88300		16600		11100									
150[e]										20270	40294	3720[t]	5509	2264[t]	3127

2.6.7.3.B $AUC_{0\text{-}24h}$（続き）

Dose (mg/kg/day)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·hr/mL)[a] Rat Belumosudil Male	Rat Belumosudil Female	Rat M1 Male	Rat M1 Female	Rat M2 Male	Rat M2 Female	Rabbit Belumosudil Female	Rabbit M1 Female	Rabbit M2 Female	Dog Belumosudil Male	Dog Belumosudil Female	Dog M1 Male	Dog M1 Female	Dog M2 Male	Dog M2 Female
175[l]	18661	65323	7694	7907	4415	4995									
175[m]	55100	86400	17400	6650	12300	5050									
200[f]										30450	25371	2539	4287	4455	3922
225[o]							23500	14800	41500						
250[h]							15600	4760	19700						
275[k]	112000	474000	31900	52700	17300	24400									
275[n]	191000	209000	44200	37000	28900	20700									
300[d]		193000		27100		18000									
350[l]	29110	79490	11229	9169	6853	5727									
350[m]	75300	115000	22400	10800	14500	8150									
375[j]	150000	369000	34200	46400	18000	24100									
500[q]	161977	204268	65652	36150	39574	19208									
1000[q]	141983	195740	57520	43744	34077	20028									
2000[q]	174789	181366	71895	35583	41422	18420									

NC= Not calculated, NT= Not tolerated.

Note: $AUC_{0\text{-}24h}$ of belumosudil that was estimated by PPK analysis (M5.3.3.5-01) was 22700 ng·hr/mL in human received belumosudil 200 mg Tablet QD. $AUC_{0\text{-}24h}$ of M1 and M2 was 590 and 6651 ng·hr/mL, respectively, those were calculated to be approximately 2.6 and 29.3% of the $AUC_{0\text{-}24h}$ of belumosudil from repeated dose data in the ME3208-1 study (M5.3.3.1-01).

a. Data is presented as mean values at last dose exposures by oral dosing.
b. 39-week repeat-dose oral capsule toxicity study in beagle dogs with an 8-week recovery period (8289750)
c. Embryo-fetal toxicity in rats GD6 and GD17 (2420-006)
d. Pilot embryo-fetal toxicity in rats GD6 and GD17 (2420-004)
e. Safety pharmacology study in beagle dogs for cardiovascular assessment ([redacted]-602029)
f. 1-week repeat-dose oral capsule toxicity study (dose range finding) in beagle dogs (1173-046)
g. Gender combined exposure of 28-day repeat-dose oral capsule toxicity study in beagle dogs with a 2-week recovery period (1173-029)
h. Pilot embryo-fetal toxicity in rabbits GD6 and GD18 (2420-005)
i. 13-week repeat-dose oral capsule toxicity study in beagle dogs with a 4-week recovery period (029281)
j. 4-week repeat-dose oral gavage toxicity study in rats with a 2-week recovery period (1173-028)
k. 26-week repeat-dose oral gavage toxicity study in rats with a 13-week interim termination and a 4-week recovery period (029502)
l. Safety pharmacology study in rat for respiratory assessment ([redacted]-602030)
m. Safety pharmacology study in rat for respiratory assessment (8289751)
n. Rodent fertility in rats day 14 for females and day 70 for males (2420-008)
o. Embryo-fetal toxicity in rabbits GD6 and GD18 (2420-007)
p. 1-week repeat-dose oral capsule toxicity study (feeding regimen investigation) in beagle dogs (8289749).
q. Rat in vivo genotoxicity study (AB44FM.125.BTL)
r. Dose reduction: 200 mg/kg on Days 1 to 14, no dosing for Days 15 through 18, and 125 mg/kg on Days 19 through 28
s. High dose cessation on Day 21; animals euthanized on day 51(Limited histopathology and no TK conducted)
t. Mean includes 1 or more values of 0.00

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article: Belumosudil

Batch No.	HPLC Purity (%)	Specified Impurities		Other Impurities		Unknown Impurity	Study Number	Type of Study
		SLx-2130	SLx-2131	Impurity-I at (RRT=1.08)	Impurity-II at (RRT=1.16)			
Proposed Specification	NLT 98.0%, NMT 102.0%	NMT 0.15%	NMT 0.15%	NA	NA	NMT 0.1%	NA	NA
SLx-2119-10 (TFA salt)	100%	ND	ND	ND	ND	ND	0500-05015	Single Oral Dose Toxicity Study in Rats
SLx-2119-11 (TFA salt)	100%	ND	ND	ND	ND	ND		
SLx-2119-16 (HCl salt)	97.58%	ND	ND	ND	ND	ND		
SLx-2119-19 (HCl salt)	99%	ND	ND	ND	ND	ND		
SLx-2119-22 (HCl salt)	97.7%	ND	ND	ND	ND	ND	1173-023	Single Oral Dose Toxicity (Dose Escalation) in Dogs
SLA600106 RD (Mesilate salt)	97%	0.35%	0.06%	1.2%	1.3%	ND	1173-028	4-week Oral Toxicity Study in Rats
							1173-046	1-week Oral Dose Toxicity Study in Dogs
SLA600206 (Mesilate salt)	99.1%	0.05%	0.03%	0.34%	0.36%	< 0.05% (RRT=UNK)	AB44FM.125.BTL	In vivo Micronucleus Test in Rats
							AB44FM.503.BTL	Bacterial Reverse Mutation Assay
							AB44FM.341.BTL	In vitro Mammalian Chromosome Aberration Test
SLA600107 (Mesilate salt)	98.9%	0.15%	0.01%	0.17%	0.60%	0.06% (RRT=0.94)	1173-029	4-week Oral Toxicity Study in Dogs
	98.8%	0.19%	<0.05%	0.20%	0.61%	0.05% (RRT=0.94)	[redacted]-602031	CNS Safety Pharmacology Study in Rats
							090109.TVM	hERG
							[redacted]-602029	Cardiovascular Safety Pharmacology Study in Dogs
							[redacted]-602030	Respiratory Safety Pharmacology Study in Rats
AFFH001431 (Mesilate salt)	99%	0.14%	Not Detected	0.12%	0.38%	Not Detected	029502	26-week Oral Toxicity Study in Rats
	101.6%	0.13%	0.02%	0.07%	0.36%	Not Detected		
	99%	0.14%	Not Detected	0.12%	0.38%	Not Detected	029281	13-week Oral Toxicity Study in Dogs
	101.6%	0.13%	0.02%	0.07%	0.36%	Not Detected		
	101.6%	0.13%	0.02%	0.07%	0.36%	Not Detected	8289750	39-week Oral Toxicity Study in Dogs
	99%	0.14%	Not Detected	0.12%	0.38%	Not Detected	8289751	Respiratory Safety Pharmacology Study in Rats

RRT= Relative retention time, UNK= Unknown, NLT= Not less than, NMT= Not more than, NA= Not applicable, ND= No data.

Batch No.	HPLC Purity (%)	Specified Impurities		Other Impurities		Unknown Impurity	Study Number	Type of Study
		SLx-2130	SLx-2131	Impurity-I at (RRT=1.08)	Impurity-II at (RRT=1.16)			
Proposed Specification	NLT 98.0%, NMT 102.0%	NMT 0.15%	NMT 0.15%	NA	NA	NMT 0.1%	NA	NA
AFHH004584 (Mesilate salt)	97.7%	0.14%	Not Detected	0.43%	0.27%	Not Detected	2420-004	Pilot DRF Embryo-Fetal Toxicity Study in Rats
							2420-005	Pilot DRF Embryo-Fetal Toxicity Study in Rabbits
							2420-006	Embryo-Fetal Toxicology Study in Rats
							2420-007	Embryo-Fetal Toxicology Study in Rabbits
							2420-008	Fertility and Early Embryonic Development in Rats
							20082808	UV and Visible Light in vitro absorption
							20082809	In vitro Mouse 3T3 Neutral Red Uptake Assay

RRT= Relative retention time, NLT= Not less than, NMT= Not more than, NA= Not applicable, ND= No data, DRF= Dose range finding.

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: Belumosudil

<table>
<tr><th>Species/
Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle/ Formulation)</th><th>Doses (mg/kg)</th><th>Gender and No. per Group</th><th>Observed Maximum Nonlethal Dose (mg/kg)</th><th>Approximate Lethal Dose (mg/kg)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number (Location in CTD)</th></tr>
<tr><td>Rat/
SD</td><td>Oral
(0.5%MC)</td><td>TFA salt:
100, 200, 300

HCl salt:
200, 400, 600</td><td>M: 5,
F: 5</td><td>TFA salt: 300

HCl salt: 400</td><td>TFA salt: >300

HCl salt: 600</td><td><u>600 mg/kg</u>
Mortalities (Day1 (1F), Day2 (1M), Day5 (1F); Clinical signs: gasping/labored breathing/dyspnea, and apparent dehydration; Gross necropsy findings: distended stomach/GI filled with test article-like contents and/or gas, enlarged adrenals, and mottled red lungs.

Tosicokinetics parameters
<table>
<tr><th></th><th>Dose (mg/kg)</th><th>Sex</th><th>C_{max} (ng/mL) Belumosudil</th><th>M1</th><th>M2</th></tr>
<tr><td>TFA salt</td><td>100</td><td>M</td><td>4660</td><td>1387</td><td>604</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>F</td><td>1606</td><td>615</td><td>267</td></tr>
<tr><td></td><td>200</td><td>M</td><td>4525</td><td>2577</td><td>1394</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>F</td><td>4661</td><td>1141</td><td>596</td></tr>
<tr><td>HCl salt</td><td>200</td><td>M</td><td>4887</td><td>874</td><td>380</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>F</td><td>5203</td><td>738</td><td>235</td></tr>
<tr><td></td><td>400</td><td>M</td><td>3964</td><td>1296</td><td>538</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>F</td><td>5837</td><td>545</td><td>213</td></tr>
<tr><td></td><td>600</td><td>M</td><td>2172</td><td>1149</td><td>538</td></tr>
<tr><td></td><td></td><td>F</td><td>2375</td><td>169</td><td>60</td></tr>
</table></td><td>0500-05015
(4.2.3.1-01)</td></tr>
<tr><td>Dog/
Beagle</td><td>Oral
(encapsulated in gelatin capsules)</td><td>HCl salt:
Day1: 50
Day4: 200
Day8: 400
Day11: 300
Day18: 250
dose escalation</td><td>M:2,
F: 2
(Total 2 males and 2 fmales per study)</td><td>400</td><td>>400</td><td><u>200 mg/kg (F)</u>
Emesis

<u>≥250 mg/kg</u>
Emesis, watery feces</td><td>1173-023
(4.2.3.1-02)</td></tr>
</table>

SD= Sprague-Dawley, MC= methylcellurose, M= Male, F= Female.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Gender and No. per Group	Doses (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number (Location in CTD)
Dog/ Beagle	Oral (encapsulated in gelatin capsules)	1 week	M: 2, F: 2	0, 25, 100, 200	200	**>100 mg/kg/day** Increase in frequency of emesis contained food-like and/or yellow material, sporadic or transient decrease in food consumption, mild decrease in body weight, mild decrease in red cell mass (erythrocytes, hemoglobin, and hematocrit) and phosphorus **200 mg/kg/day** Fecal changes (mucoid or watery) TK parameters (C_{max} and AUC_{0-24h}) of belumosudil, M1 and M2 are shown in 2.6.7.3.A (C_{max}) and 2.6.7.3.B (AUC_{0-24h}), respectively.	1173-046 (4.2.3.2-03)

M= Male, F= Female.

2.6.7.7 反復投与毒性試験（重要な試験）

2.6.7.7.A ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

Report Title: 4-WEEK ORAL TOXICITY STUDY OF SLx-2119 IN RATS WITH A 14-DAY RECOVERY PERIOD		**Test Article:** Belumosudil
Species/Strain: Rat/ Sprague-Dawley	**Duration of Dosing:** 28 days	**Study No.** 1173-028
Initial Age: approximately 6 weeks of age at receipt	**Duration of Recovery:** 14 days	**Location in CTD:** 4.2.3.2-01
Date of First Dose: [redacted] 4, 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** 0.4% (w/w) methylcellulose in distilled water	
No Observed Adverse Effect Level: 150 mg/kg/day		

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		150		375	
Number of Animals for Toxicokinetics	M:3	F:3	M:12	F:12	M:12	F:12	M:12	F:12[a]
Toxicokinetics:								
Analyte: Belumosudil								
C_{max} (ng/mL)								
Day1	BQL	BQL	1590	3900	3970	6540	3920	7870
Day28	BQL	BQL	1950	4010	5750	9640	13900	23000
AUC_{0-t} (ng·hr/mL)								
Day1	NA	NA	12700	39300	38600	65700	51200	90600
Day28	NA	NA	14400	40400	68500	98000	150000	369000
Analyte: M1								
C_{max} (ng/mL)								
Day1	BQL	BQL	1070	642	1560	594	1750	1010
Day28	BQL	BQL	975	554	1970	1480	2850	2820
AUC_{0-t} (ng·hr/mL)								
Day1	NA	NA	9930	6220	20000	8890	29100	16700
Day28	NA	NA	8140	6520	20800	17500	34200	46400
Analyte: M2								
C_{max} (ng/mL)								
Day1	BQL	BQL	567	293	968	260	908	465
Day28	BQL	BQL	512	276	1140	758	1350	1210
AUC_{0-t} (ng·hr/mL)								
Day1	NA	NA	5430	3590	11100	4320	15800	8920
Day28	NA	NA	4350	3290	11500	7950	18000	24100

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, BQL= Below quantitation limit (< 10 ng/mL, 8.8 ng/mL and 8.61 ng/mL for Belumosudil, M1 and M2, respectively).

a. One female in 375 mg/kg/day toxicokinetic group in died on Day 20.

2.6.7.7.A ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験：1173-028（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		150		375	
Number of Animals for Toxicity (Numver of animals for recovery group)	M: 15(5)	F: 15(5)	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 15(5)	F: 15(5)
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1[a]	0	0	0	2
Clinical Observations[b]								
Decreased activity	0	0	0	0	0	0	0	4
Hunched posture	0	0	0	0	0	0	0	3
Pale skin	0	0	0	0	0	0	0	2
Cold skin to touch	0	0	0	0	0	0	0	1
Thin	0	0	0	0	0	0	0	1
Abdominal distension	0	0	0	0	0	0	0	1
Body Weight (%)[c]								
Day 28	406 g	252 g	-	-	-	-	-11**	-18**
Day 42 (recovery phase)	467.4 g	269 g	NA	NA	NA	NA	-10*	-5
Body Weight Gain (g)[d]								
Day -1 to 4	16.5	5.5	16.1	5	11.8	2.1	-4.4	-8.5
Day 4 to 7	12.7	9.3	-	-	12.4	6.2	6.3	-1.1
Day 7 to 14	43.2	18.7	-	-	38.8	20.3	37.4	14.1
Day 14 to 21	33.3	14.1	-	-	-	-	24.8	-3.4
Day 21 to 28	25.8	9.7	-	-	-	-	23.6	10.9
Day 28 to 35 (recovery phase)	34.2	10.8	NA	NA	NA	NA	28	37.3
Food Consumption (%)[c]								
Week 1	24.16 g	17.24 g	-5	-12*	-12**	-25**	-33**	-47**
Week 2	24.49 g	17.38 g	-	-	-5	-9*	-17**	-34**
Week 3	25.47 g	17.82 g	-	-	-	-	-16**	-33**
Week 4	25.76 g	18.14 g	-	-	-	-	-8	-24**
Week 5 (recovery phase)	26.86 g	18.26 g	NA	NA	NA	NA	+9*	+22*
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings, "*"= $p<0.05$; Group Pair-wise comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= $p<0.01$; Group Pair-wise comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's).

a. One female in 50 mg/kg/day group died of lymphoma at Day 26.
b. Number of animals
c. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences.
d. Group means are shown.

2.6.7.7.A ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験：1173-028（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		150		375	
Number of Animals for Toxicity (Numver of animals for recovery group)	M: 15(5)	F: 15(5)	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 15(5)	F: 15(5)
Hematology (%)[a]								
Day 29								
Erythrocytes (10^6/μL)	8.681	8.582	-	-	-6	-16**	-14**	-36**
Hemoglobin (g/dL)	16.53	16.43	-	-	-7*	-15**	-16**	-35**
Hematocrit (%)	52.44	50.5	-	-	-7*	-14**	-16**	-32**
Reticulocytes (10^3/μL)	265.58	185.06	-	-	-5	+90**	+30	+305**
Reticulocytes (%)	3.19	2.16	-	-	-	+125	+48*	+571**
Platelets (10^3/μL)	1093.9	933.4	-	-	-	+13	+21	+74**
Day 43 (recovery phase)								
Erythrocytes (10^3/μL)	8.692	8.29	NA	NA	NA	NA	-2	-16*
Hemoglobin (g/dL)	15.9	15.58	NA	NA	NA	NA	-3	-11*
Reticulocytes (10^3/μL)	168.82	192.8	NA	NA	NA	NA	+51**	-11
Reticulocytes (%)	48.36	2.34	NA	NA	NA	NA	+56*	+6
Serum Chemistry (%)[a]								
Day 29								
GGT (U/L)	1.6	2.2	-	-	-	+77	+56**	+1627**
Alkaline Phosphatase (U/L)	158.1	86.9	-	-	-	+2	-9	+61**
Triglycerides (mg/dL)	54	34.7	-	-	-	+90*	+80**	+130**
Cholesterol (mg/dL)	47.8	78.6	-	-	-	+68**	+138**	+209**
HDL Cholesterol (mg/dL)	30.7	54.8	-	-	-	+76**	+175**	+207**
Total Bilirubin (mg/dL)	0.16	0.2	-	-	-	-10	+100	+280
BUN (mg/dL)	14.7	16	-	-	-	+16	+29**	+50**
Creatinine (mg/dL)	0.4	0.42	-	-	-	+2	+15*	0
Day 43 (recovery phase)								
Cholesterol (mg/dL)	54.2	63.8	NA	NA	NA	NA	+1	+50*
HDL Cholesterol (mg/dL)	36.8	49.6	NA	NA	NA	NA	+15	+56*
Coagulation (%)[a]								
Day 29								
Prothrombin time (sec)	16.34	15.71	-	-	+6*	-	+12**	+12**
Day 43 (recovery phase)	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings, "*"= $p<0.05$; Group Pair-wise comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= $p<0.01$; Group Pair-wise comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's).

a. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences.

2.6.7.7.A ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験：1173-028（続き）

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		50		150		375	
Number of Animals for Toxicity (Numver of animals for recovery group)		M: 15(5)	F: 15(5)	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 15(5)	F: 15(5)
Urinalysis (%) [a]		-	-	-	-	-	-	-	-
Day 29									
Urine volume (mL)		10.65	5.05	+104*	+247**	+102*	+386**	+180**	+275**
Specific gravity		1.0286	1.048	-1*	-3**	-1*	-3**	-2**	-3**
Day 43 (recovery phase)									
Urine volume (mL)		-	9.2	NA	NA	NA	NA	-	-50*
Specific gravity		-	1.025	NA	NA	NA	NA	-	+1*
Organ Weights (%)[a]									
Day 29									
Liver	- Absolute weight (g)	12.426	7.659	-	+29**	+38**	+66**	+80**	+130**
	- Organ to body weight (%)	3.3714	3.3963	-	+27**	+41**	+70**	+103**	+201**
Heart	- Absolute weight (g)	1.430	0.921	-	-	+14	+29**	+10	+31**
	- Organ to body weight (%)	0.3903	0.4103	-	-	+16*	+32**	+24**	+71**
Thymus	- Absolute weight (g)	-	0.398	-	-	-	-	-	-49**
	- Organ to body weight (%)	-	0.1764	-	-	-	-	-	-36**
Pituitary	- Absolute weight (g)	-	0.0186	-	-	-	-	-	-41**
	- Organ to body weight (%)	-	0.0083	-	-	-	-	-	-24**
Ovaries	- Absolute weight (g)	NA	0.115	NA	-	NA	-	NA	-34*
	- Organ to body weight (%)	NA	0.0517	NA	-	NA	-	NA	-16
Uterus with cervix	- Absolute weight (g)	NA	0.501	NA	-	NA	-	NA	-47**
	- Organ to body weight (%)	NA	0.2231	NA	-	NA	-	NA	-32*
Day 43 (recovery phase)									
Liver	- Absolute weight (g)	13.560	8.351	NA	NA	NA	NA	+1	+16*
	- Organ to body weight (%)	3.1894	3.4765	NA	NA	NA	NA	+13	+22**
Heart	- Absolute weight (g)	1.516	0.983	NA	NA	NA	NA	+14	+7
	- Organ to body weight (%)	0.3568	0.409	NA	NA	NA	NA	+27**	+12
Gross Pathology		-	-	-	-	-	-	-	-

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings, "*"= p<0.05; Group Pair-wise comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= p<0.01; Group Pair-wise comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's)

a. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences.

2.6.7.7.A ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験：1173-028（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		150		375	
Number of Animals for Toxicity (Numver of animals for recovery group)	M: 15(5)	F: 15(5)	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 15(5)	F: 15(5)
Histopathology								
Day 29	M: 10	F:10	M: 10	F:10	M: 10	F:10	M: 10	F:9
Bone marrow (femura), hyperplasia, erythrocytic								
- Minimal	0	0	0	0	0	0	0	4
Bone marrow (femur), hyperplasia, mixed								
- Minimal	0	0	0	0	0	4	1	5
Liver, hypertrophy, hepatocyte, panlobular								
- Minimal	0	0	0	4	3	0	0	0
- Mild	0	0	0	0	5	6	3	0
- Moderate	0	0	0	0	1	4	7	4
- Severe	0	0	0	0	0	0	0	5
Thymus, apoptosis								
- Mild	0	0	0	0	0	0	0	2
Thymus, depletion, lymphoid								
- Minimal	0	0	0	1	0	0	0	1
- Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Testes, degeneration/atrophy, seminiferous tubules, bilateral								
- Mild	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
- Moderate	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Epididymides, oligospermia/germ cell debris, bilateral								
- Mild	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Day 43 (recovery phase)	M: 5	F:5	NA	NA	NA	NA	M: 5	F:4
Liver, hypertrophy, hepatocyte, panlobular								
- Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	4	2

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings.

2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

Report Title: KD025: A 26-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study in Rats with a 13-Week Interim Termination and a 4-Week Recovery Period		**Test Article:** Belumosudil
Species/Strain: Rat/ Sprague-Dawley	**Duration of Dosing:** 13 or 26 weeks	**Study No.** 029502
Initial Age: 8.1 weeks of age at initiation of dose	**Duration of Postdose:** 4 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2-02
Date of First Dose: 21 [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** 0.4% (w/w) methylcellulose in distilled water	
No Observed Adverse Effect Level: 275mg/kg/day for male and 125mg/kg/day for female		

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		125		275	
Number of Animals for Toxicokinetics	M:3	F:3	M:18	F:18	M:18	F:18	M:18	F:18
Died or Sacrificed Moribund	0	0	1 [a]	1 [a]	0	2 [a]	0	1 [a]
Toxicokinetics:								
Analyte: Belumosudil								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	4170	3830	5030	6220	8930	9180
Day 91	BQL	BQL	3640	8670	10400	15800	13900	29600
Day 179	BQL	BQL	2980	7390	7100	14900	10600	29500
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	26700	43400	60900	81600	120000	115000
Day 91	NA	NA	24000	60400	68300	164000	162000	394000
Day 179	NA	NA	25000	73500	61500	167000	112000	474000
Analyte: M1								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	950	329	1300	670	2530	1410
Day 91	BQL	BQL	1040	911	2110	1610	2950	2930
Day 179	BQL	BQL	710	865	2100	2060	2180	3090
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	8130	4530	20200	9430	33200	14000
Day 91	NA	NA	8230	6940	20900	23100	38700	40300
Day 179	NA	NA	8020	7920	19700	23000	31900	52700

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, BQL= Below quantitation limit (< 20.0 ng/mL for Belumosudil, M1 and M2).

a. In 50 mg/kg/day group, one male was euthanized moribund on Day 106 with an apparent broken upper mandible and one female was found dead on Day 13 with white inflated lungs. In 125 mg/kg/day group, one female was found dead on Day 71 with a thickened pericardium, enlarged heart, and fluid in the pericardial sac and one female was euthanized moribund on Day 143 with a thymus mass. In 275 mg/kg/day, one female was found dead on Day 14 with dark red inflated lungs. These findings were not suggestive of test article toxicity but rather incidental/accidental occurrences or consequences of the oral dosing procedure.

2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029502（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		125		275	
Number of Animals for Toxicokinetics	M:3	F:3	M:18	F:18	M:18	F:18	M:18	F:18
Analyte: M2								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	506	183	977	438	1390	671
Day 91	BQL	BQL	557	440	1150	1090	1550	1250
Day 179	BQL	BQL	662	412	1430	1090	1650	1250
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	4600	2330	11600	5580	21200	7460
Day 91	NA	NA	5000	3430	11900	11400	19000	18400
Day 179	NA	NA	5500	4390	14400	11700	17300	24400
Total Number of Animals for Toxicity (Number of animals for Interim/ Interim recovery/ Terminal/ Terminal recovery)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	2[a]	0	0	0	5[b]
Body Weight (%)[c]								
Day 91 (Interim)	561.47 g	297.11 g	-7*	-3	-7*	-3	-13**	-11**
Day 119 (Interim recovery)	574.64 g	283.04 g	NA	NA	NA	NA	-16*	-2
Day 182 (Terminal)	645.33 g	360.49 g	-6	-14**	-7	-17**	-12**	-23**
Day 210 (Terminal recovery)	653.2g	358.76 g	NA	NA	NA	NA	-12	-18*
Body Weight Gain (g)[d]								
Day -1 to 7	54.16	17.55	43.17**	13.94[#]	36.33**	11.33[##]	25.62**	6.41[##]
Day 7 to 14	44.29	13.86	37.4**	13.87	36.25**	13.36	31.75**	14.77
Day 14 to 21	37.99	13.74	36.12	11.85	34.32	10.87	34.42	11.05
Day 84 to 91	9.69	3.41	10.27	3.68	7.9	4.68	8.69	3.03
Day 91 to 98 (Interim recovery)	0.04	-1.9	NA	NA	NA	NA	10.9	3.68
Day 175 to 182	7.95	-1.96	13.55	-0.2	8.69	-0.97	9.02	-2.19
Day 182 to 189 (Terminal recovery)	5.76	8.9	NA	NA	NA	NA	1.36	14.62
Day 189 to 196 (Terminal recovery)	-6.96	-2.02	NA	NA	NA	NA	8.04	1.6*

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, BQL= Below quantitation limit (< 20.0 ng/mL for Belumosudil, M1 and M2), "*"= $p < 0.05$; Dunnett 2 Sided, "**"= $p < 0.01$; Dunnett 2 Sided, "#"= $p < 0.05$; Wilcoxon + Bonferroni-Holm 2 Sided, "##"= $p < 0.01$; Wilcoxon + Bonferroni-Holm 2 Sided

a. There was no test article related death. One female was found dead on Day 17 duo to oral dosing procedure and the other was euthanized moribund on Day 134 duo to cage related injury.

b. Death or moribund of three out of five animals were not considered to be test article related. Two females were moribund on Days 92 and 36. The cause of death was considered to be the fracture of the right tibia or the sore on skin related to solid mass. One female died during blood collection for clinical pathology specimens on Day 92.

c. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences

d. Group means are shown.

2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029502（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		125		275	
Total Number of Animals for Toxicity (Number of animals for Interim/ Interim recovery/ Terminal/ Terminal recovery)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)
Food Consumption (%)[a]								
Week 1	25.00g	17.25g	-9**	-7*	-15**	-18**	-27**	-33**
Week 13	-	19.00g	-	-	-	-	-	-13##
Week 14 (Interim recovery)	24.21g	18.08g	NA	NA	NA	NA	+9	+20
Week 26	-	20.95g	-	-12*	-	-8	-	-23**
Week 27 (Terminal recovery)	-	19.95g	NA	NA	NA	NA	-	+3
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology[b]								
Day 92 (Interim)								
Red blood cell count (M/uL)	9.213	8.486	-	7.711##	8.423**	6.928##	7.007**	4.82##
Hemoglobin (g/dL)	15.64	14.99	-	13.83##	14.79**	12.93##	12.73**	9.62##
Hematocrit (%)	52.14	48.93	-	44.72##	49.31**	42.35##	41.6**	32.01##
MCV (fL)	56.62	57.75	-	-	-	61.17##	59.55**	67.27##
MCH (pg)	17.01	17.68	-	-	-	18.66##	18.22**	20.24##
Platelet (K/uL)	686.3	841.5	824.1#	-	883.8#	-	1058.6##	1268.4**
MPV (fL)	-	9.42	-	-	-	-	-	10.76**
Absolute reticulocyte count (10^9/L)	211.14	184.63	-	-	265.33*	286.46**	363.89**	634.62**
Day 120 (Interim recovery)	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Day 183 (Terminal)								
Red blood cell count (M/uL)	8.761	8.011	-	7.383##	7.775**	6.682##	6.963**	3.38##
Hemoglobin (g/dL)	15.49	15.05	-	14.09##	14.19**	13.14##	12.93**	8.19##
Hematocrit (%)	48.21	44.84	-	42.14##	44.11**	39.67##	40.12**	25.88##
MCV (fL)	55.08	56	-	-	-	59.44##	57.71**	79.61##
MCH (pg)	17.69	18.77	-	-	-	19.68##	18.57**	24.92##
Absolute reticulocyte count (10^9/L)	213.65	164.4	-	-	260.77##	316.15##	378.51##	676.4##
Day 211 (Terminal recovery)								
MCH (pg)	-	19.62	NA	NA	NA	NA	-	21.02*

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings, "*"= p < 0.05; Dunnett 2 Sided, "**"= p < 0.01; Dunnett 2 Sided, "##"= p < 0.01; Wilcoxon + Bonferroni-Holm 2 Sided

a. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences

b. Group means are shown

2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029502（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		125		275	
Total Number of Animals for Toxicity (Number of animals for Interim/ Interim recovery/ Terminal/ Terminal recovery)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)
Serum Chemistry[a]								
Day 92 (Interim)								
Cholinesterase (U/L)	-	2926.4	-	-	-	1429.9##	-	937.3##
ALP (U/L)	84.4	56.2	-	-	-	-	110.5**	114.9**
Total bilirubin (mg/dL)	0.03	0.1	-	-	-	-	0.19	0.47#
GGT (U/L)	0	0	-	-	-	-	2.4##	17.7##
Sodium (mmol/L)	150.8	148.9	-	-	-	147.1*	147.9##	143.7**
Albumin (g/dL)	4.28	-	4.6**	-	4.63**	-	4.92**	-
Total Protein (g/dL)	7.06	-	7.57**	-	7.41*	-	7.79**	-
Cholesterol (mg/dL)	-	120.1	-	-	-	152.5*	-	238.2**
Day 120 (Interim recovery)								
Cholinesterase (U/L)	-	3007	NA	NA	NA	NA	-	1727.8*
Day 183 (Terminal)								
Cholinesterase (U/L)	-	3336.8	-	-	-	1828.3##	-	1018.8##
ALP (U/L)	-	43.8	-	-	-	-	-	94.8
Total bilirubin (mg/dL)	0.03	0.11	-	-	-	-	0.17	0.69#
GGT (U/L)	0	0	-	-	-	-	4##	18.1##
Sodium (mmol/L)	154.1	151.7	-	-	-	148.7**	151.3**	144.5**
Albumin (g/dL)	4.51	-	4.85**	-	4.95**	-	5.25**	-
Total Protein (g/dL)	7.33	-	7.65*	-	7.73**	-	8.06**	-
Cholesterol	97.3	149.9	-	-	-	201.8**	133.4##	258.4**
Triglycerides	-	107.4	-	-	-	-	-	378.4##
Day 211 (Terminal recovery)								
Cholinesterase (U/L)	-	3264	NA	NA	NA	NA	-	1793.4**
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings, "*"= $p < 0.05$; Dunnett 2 Sided, "**"= $p < 0.01$; Dunnett 2 Sided, "#"= $p < 0.05$; Wilcoxon + Bonferroni-Holm 2 Sided, "##"= $p < 0.01$; Wilcoxon + Bonferroni-Holm 2 Sided.

a. Group means are shown.

2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029502（続き）

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		50		125		275	
Total Number of Animals for Toxicity (Number of animals for Interim/ Interim recovery/ Terminal/ Terminal recovery)		M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)
Organ Weights (%)[a]									
Day 92 (Interim)									
Liver	- Absolute weight (g)	14.49898	6.93563	+4	+32**	+17	+75**	+64**	+161**
	- Organ to body weight (g/kg)	25.99	25.71	+17*	+32**	+34**	+73**	+96**	+183**
Thyroid/Para	- Absolute weight (g)	0.02463	0.02271	-	-	-	-	+26	+10
	- Organ to body weight (g/kg)	0.0449	0.0841	-	-	-	-	+49**	+19*
Heart	- Absolute weight (g)	1.61714	1.00541	0	+19**	+8	+28**	+16**	+50**
	- Organ to body weight (g/kg)	2.923	3.726	+13*	+20**	+23**	+27**	+38**	+63**
Kidneys	- Absolute weight (g)	3.03791	1.77533	-	-	0	-	+1	+11
	- Organ to body weight (g/kg)	5.515	6.583	-	-	+14**	-	+20**	+20**
Uterus with cervix	- Absolute weight (g)	NA	0.95233	NA	-	NA	-28*	NA	-40**
	- Organ to body weight (g/kg)	NA	3.5203	NA	-	NA	-28*	NA	-35**
Spleen	- Absolute weight (g)	0.88292	0.51772	-	+12	0	+20[#]	+22*	+69[##]
	- Organ to body weight (g/kg)	1.592	1.904	-	+14	+14*	+21*	+45**	+85**
Thymus	- Absolute weight (g)	0.42864	0.31541	-	-	-30*	-10	-23	-37**
	- Organ to body weight (g/kg)	0.763	1.167	-	-	-19	-11	-7	-32**
Adrenal Glands	- Absolute weight (g)	0.06829	0.06589	-	-	-	+23*	+6	+33**
	- Organ to body weight (g/kg)	0.1244	0.2456	-	-	-	+21*	+26*	+43**
Pituitary	- Absolute weight (g)	-	0.02015	-	-	-	-	-	-27*
	- Organ to body weight (g/kg)	-	0.0748	-	-	-	-	-	-22*
Day 120 (Interim recovery)									
Liver	- Absolute weight (g)	-	7.29848	NA	NA	NA	NA	-	+10
	- Organ to body weight (g/kg)	-	27.16	NA	NA	NA	NA	-	+14**
Thyroid/Para	- Absolute weight (g)	0.02616	0.02096	NA	NA	NA	NA	+9	+18
	- Organ to body weight (g/kg)	0.0476	0.0767	NA	NA	NA	NA	+34	+25*
Kidneys	- Absolute weight (g)	3.11654	1.73832	NA	NA	NA	NA	-5	+18*
	- Organ to body weight (g/kg)	5.659	6.441	NA	NA	NA	NA	+15**	+23**

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings, "*"= $p < 0.05$; Dunnett 2 Sided, "**"= $p < 0.01$; Dunnett 2 Sided, "#"= $p < 0.05$; Wilcoxon + Bonferroni-Holm 2 Sided "##"= $p < 0.01$; Wilcoxon + Bonferroni-Holm 2 Sided

a. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences

2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029502（続き）

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		50		125		275	
Total Number of Animals for Toxicity (Number of animals for Interim/ Interim recovery/ Terminal/ Terminal recovery)		M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)
Organ Weights (%)[a]									
Day 120 (Interim recovery)									
Epididymides	- Absolute weight (g)	1.76302	NA	NA	NA	NA	NA	-20**	NA
	- Organ to body weight (g/kg)	3.195	NA	NA	NA	NA	NA	-1	NA
Spleen	- Absolute weight (g)	-	0.47796	NA	NA	NA	NA	-	+31**
	- Organ to body weight (g/kg)	-	1.771	NA	NA	NA	NA	-	+36##
Adrenal Glands	- Absolute weight (g)	0.0691	-	NA	NA	NA	NA	+3	-
	- Organ to body weight (g/kg)	0.1254	-	NA	NA	NA	NA	+27*	-
Thymus	- Absolute weight (g)	0.36	0.2693	NA	NA	NA	NA	-20*	+23
	- Organ to body weight (g/kg)	0.655	0.991	NA	NA	NA	NA	-2	+28*
Day 183 (Terminal)									
Liver	- Absolute weight (g)	14.63356	8.7704	+9	+8	+36**	+47**	+74**	+106**
	- Organ to body weight (g/kg)	23.71	25.09	+16##	+31**	+48##	+83**	+99##	+182**
Thyroid/Para	- Absolute weight (g)	0.02851	-	-	-	-	-	+16	-
	- Organ to body weight (g/kg)	0.0465	-	-	-	-	-	+30**	-
Heart	- Absolute weight (g)	1.775	1.15268	-	+6	+15**	+18**	+17**	+37**
	- Organ to body weight (g/kg)	2.884	3.32	-	+27##	+26**	+46##	+34**	+89##
Kidneys	- Absolute weight (g)	3.38843	2.04845	-	-	-	+10	+1	+2
	- Organ to body weight (g/kg)	5.526	5.898	-	-	-	+36##	+15**	+39##
Uterus with cervix	- Absolute weight (g)	NA	1.01691	NA	-	NA	-26**	NA	-44**
	- Organ to body weight (g/kg)	NA	2.9734	NA	-	NA	-9	NA	-25*
Spleen	- Absolute weight (g)	0.99688	0.56972	-	-	+4	+20##	+15	+111##
	- Organ to body weight (g/kg)	1.617	1.64	-	-	+13*	+49##	+31**	+186##
Adrenal Glands	- Absolute weight (g)	0.06525	0.06885	-	+20#	-	+24##	+12	+25#
	- Organ to body weight (g/kg)	0.1072	0.1976	-	+44**	-	+54**	+26*	+70**
Thymus	- Absolute weight (g)	0.39915	0.35688	-	-29*	-	-41**	-26	-47**
	- Organ to body weight (g/kg)	0.639	1.015	-	-14	-	-26**	-15	-27*
Pituitary	- Absolute weight (g)	0.01379	0.03173	-	-37##	+10	-39##	-	-59##
	- Organ to body weight (g/kg)	0.02258	0.09052	-	-23	+20*	-23	-	-44##

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings, "*"= $p < 0.05$; Dunnett 2 Sided, "**"= $p < 0.01$; Dunnett 2 Sided, "#"= $p < 0.05$; Wilcoxon + Bonferroni-Holm 2, "##"= $p < 0.01$; Wilcoxon + Bonferroni-Holm 2

a. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences

2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029502（続き）

Dose (mg/kg/day)		0 (Control)		50		125		275	
Total Number of Animals for Toxicity (Number of animals for Interim/ Interim recovery/ Terminal/ Terminal recovery)		M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)
Organ Weights (%)[a]									
Day 211 (Terminal recovery)									
Liver	- Absolute weight (g)	-	9.02522	NA	NA	NA	NA	-	-5
	- Organ to body weight (g/kg)	-	26.38	NA	NA	NA	NA	-	+16**
Heart	- Absolute weight (g)	1.81208	1.20422	NA	NA	NA	NA	+3	+13
	- Organ to body weight (g/kg)	2.901	3.539	NA	NA	NA	NA	+16*	+37**
Uterus with cervix	- Absolute weight (g)	NA	1.3834	NA	NA	NA	NA	NA	-56**
	- Organ to body weight (g/kg)	NA	4.1929	NA	NA	NA	NA	NA	-48*
Ovaries	- Absolute weight (g)	NA	0.08282	NA	NA	NA	NA	NA	+32
	- Organ to body weight (g/kg)	NA	0.2401	NA	NA	NA	NA	NA	+64*
Spleen	- Absolute weight (g)	0.9223	0.61024	NA	NA	NA	NA	+4	+12
	- Organ to body weight (g/kg)	1.463	1.799	NA	NA	NA	NA	+20*	+35*
Adrenal Glands	- Absolute weight (g)	0.06204	0.07102	NA	NA	NA	NA	-2	+8
	- Organ to body weight (g/kg)	0.0996	0.2078	NA	NA	NA	NA	+11	+32*
Pituitary	- Absolute weight (g)	-	0.0328	NA	NA	NA	NA	-	-53*
	- Organ to body weight (g/kg)	-	0.09473	NA	NA	NA	NA	-	-42*
Gross Pathology		-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology									
Day 92 (Interim)		M: 10	F: 10	M: 10	F: 9	M: 10	F: 10	M: 10	F: 9
Liver									
Hypertrophy; hepatocellular; centrilobular; midzonal; diffuse									
- Minimal		0	0	0	8	0	0	0	0
- Mild		0	0	0	0	10	9	0	2
- Moderate		0	0	0	0	0	0	8	7
Thyroid									
Decreased colloid; bilateral; diffuse									
- Minimal		0	0	0	2	0	3	0	0
- Mild		0	0	2	0	8	0	5	2
- Moderate		0	0	0	0	2	0	5	4
Hypertrophy; epithelial; bilateral; diffuse									
- Minimal		0	0	1	0	6	1	3	2
- Mild		0	0	0	0	4	0	7	4

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings, "*"= $p < 0.05$; Dunnett 2 Sided, "**"= $p < 0.01$; Dunnett 2 Sided.

a. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences

2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029502（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		125		275	
Total Number of Animals for Toxicity (Number of animals for Interim/ Interim recovery/ Terminal/ Terminal recovery)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)
Histopathology								
Day 92 (Interim)	M: 10	F: 10	M: 10	F: 9	M: 10	F: 10	M: 10	F: 9
Kidney								
Basophilia; tubular; outer stripe cortex; multifocal								
- Minimal	0	0	0	0	0	0	0	9
Pigmentation; gold, proximal tubule; outer stripe cortex; bilateral								
- Minimal	0	0	0	0	0	0	0	5
Intracellular protein droplets, increased; outer stripe cortex								
- Minimal	0	0	0	0	0	2	0	1
- Mild	0	0	0	0	6	0	6	0
- Moderate	0	0	0	0	4	0	4	0
Spleen								
Increase in mantle lymphocytes; diffuse [a]								
- Mild	0	0	0	0	9	7	9	9
Testes								
Degeneration, spermatogenic; seminiferous tubule; bilateral								
- Minimal	0	NA	0	NA	1	NA	4	NA
Epididymides								
Degeneration; spermatozoal; efferent ducts; bilateral								
- Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
Uterus/ Cervix								
Hypoplasia								
- Mild	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
- Moderate	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2

M= Male, F= Female, NA= Not applicable.

a. The tissue appearance suggested sequestration of lymphocytes in the mantle layer rather than an active proliferation of lymphocytes

2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029502（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		125		275	
Total Number of Animals for Toxicity (Number of animals for Interim/ Interim recovery/ Terminal/ Terminal recovery)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)
Histopathology								
Day 92 (Interim)	M: 10	F: 10	M: 10	F: 9	M: 10	F: 10	M: 10	F: 9
Ovaries								
Decreased follicular development; bilateral								
- Mild	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2
- Moderate	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2
Adrenal Glands								
Hypertrophy; cortical; bilateral; diffuse								
- Minimal	0	0	0	0	0	1	1	0
- Mild	0	0	0	0	0	8	9	9
Necrosis; cortex; bilateral; multifocal								
- Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Thymus								
Depletion; lymphoid; cortex								
- Minimal	0	0	0	0	0	4	2	2
- Mild	0	0	0	0	5	3	8	5
Day 120 (Interim recovery)	M: 5	F: 5	NA	NA	NA	NA	M: 5	F: 5
Kidney								
Intracellular protein droplets, increased; outer stripe cortex								
- Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
- Mild	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Testes								
Degeneration, spermatogenic; seminiferous tubule; bilateral								
- Minimal	0	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
- Mild	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Epididymides								
degeneration; spermatozoal; efferent ducts; bilateral								
- Minimal	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA

M= Male, F= Female, NA= Not applicable.

2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029502（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		125		275	
Total Number of Animals for Toxicity (Number of animals for Interim/ Interim recovery/ Terminal/ Terminal recovery)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)
Histopathology								
Day 183 (Terminal)	M: 15	F: 15	M: 15	F: 14	M: 15	F: 15	M: 15	F: 12
Liver								
Hypertrophy; hepatocellular; centrilobular; midzonal; diffuse								
- Minimal	0	0	14	0	0	0	0	0
- Mild	0	0	0	1	15	0	1	0
- Moderate	0	0	0	13	0	15	14	12
Thyroid								
Decreased colloid; bilateral; diffuse								
- Minimal	0	0	8	6	8	4	0	0
- Mild	0	0	0	1	6	8	8	5
- Moderate	0	0	0	0	0	2	7	6
Hypertrophy; epithelial; bilateral; diffuse								
- Minimal	0	0	0	1	10	7	4	4
- Mild	0	0	0	0	0	0	10	7
Kidney								
Basophilia; tubular; outer stripe cortex; multifocal								
- Minimal	0	0	0	0	14	14	12	3
- Mild	0	0	0	0	0	0	1	9
Intracellular protein droplets, increased; outer stripe cortex								
- Minimal	0	0	0	1	2	0	0	0
- Mild	0	0	1	0	9	0	10	0
- Moderate	0	0	0	0	1	0	5	0
Pigmentation; gold, proximal tubule; outer stripe cortex; bilateral								
- Minimal	0	0	0	0	3	4	2	9
Dilation; tubular; multifocal								
- Minimal	1	3	2	2	3	2	5	3
- Mild	0	0	0	0	0	0	1	2

M= Male, F= Female, NA= Not applicable.

2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029502（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		125		275	
Total Number of Animals for Toxicity (Number of animals for Interim/ Interim recovery/ Terminal/ Terminal recovery)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)
Histopathology								
Day 183 (Terminal)	M: 15	F: 15	M: 15	F: 14	M: 15	F: 15	M: 15	F: 12
Testes								
Degeneration, spermatogenic; seminiferous tubule; bilateral								
- Minimal	0	NA	2	NA	2	NA	4	NA
- Mild	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Epididymides								
Degeneration; spermatozoal; efferent ducts; bilateral								
- Minimal	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
Uterus/ Cervix								
Hypoplasia								
- Moderate	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
Spleen								
Increase in mantle lymphocytes; diffuse [a]								
- Mild	0	0	0	8	13	13	13	12
Adrenal Glands								
Hypertrophy; cortical; bilateral; diffuse								
- Minimal	0	0	0	0	0	0	3	0
- Mild	0	0	0	13	0	14	11	12
Thymus								
Depletion, lymphoid; cortex								
- Minimal	0	0	0	4	0	6	0	0
- Mild	0	0	0	10	0	8	8	2
- Marked	0	0	0	0	0	0	0	1

M= Male, F= Female, NA= Not applicable.

a. The tissue appearance suggested sequestration of lymphocytes in the mantle layer rather than an active proliferation of lymphocytes

2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029502（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		125		275	
Total Number of Animals for Toxicity (Number of animals for Interim/ Interim recovery/ Terminal/ Terminal recovery)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)
Histopathology								
Day 211 (Terminal recovery)	M: 5	F: 5	NA	NA	NA	NA	M: 5	F: 5
Liver								
Hypertrophy; hepatocellular; centrilobular; midzonal; diffuse								
- Moderate	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Thyroid								
Decreased colloid; bilateral; diffuse								
- Mild	0	0	NA	NA	NA	NA	2	2
- Moderate	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Hypertrophy; epithelial; bilateral; diffuse								
- Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	2	3
- Mild	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
Kidney								
Basophilia; tubular; outer stripe cortex; multifocal								
- Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	0	2
Intracellular protein droplets, increased; outer stripe cortex								
- Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	3	0
Dilation; tubular; multifocal								
- Minimal	0	3	NA	NA	NA	NA	1	1
Testes								
Degeneration, spermatogenic; seminiferous tubule; bilateral								
- Minimal	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
- Marked	0	NA	NA	NA	NA	NA	1[a]	NA
Epididymides								
Degeneration; spermatozoal; efferent ducts; bilateral								
- Moderate	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA

M= Male, F= Female, NA= Not applicable.

a. The bilateral small testes was noted in gross pathology for this male.

2.6.7.7.B ラットを用いた 13／26 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029502（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		50		125		275	
Total Number of Animals for Toxicity (Number of animals for Interim/ Interim recovery/ Terminal/ Terminal recovery)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 25 (10/NA/15/NA)	F: 25 (10/NA/15/NA)	M: 35 (10/5/15/5)	F: 35 (10/5/15/5)
Histopathology								
Day 211 (Terminal recovery)	M: 5	F: 5	NA	NA	NA	NA	M: 5	F: 5
Spleen								
Increase in mantle lymphocytes; diffuse [a]								
- Mild	0	0	NA	NA	NA	NA	5	3
Adrenal Glands								
Hypertrophy; cortical; bilateral; diffuse								
- Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1

M= Male, F= Female, NA= Not applicable.

a. The tissue appearance suggested sequestration of lymphocytes in the mantle layer rather than an active proliferation of lymphocytes

2.6.7.7.C イヌを用いた 1 週間反復投与毒性試験（摂餌条件の影響検討）

Report Title: 7-Day Oral Capsule Toxicity and Toxicokinetic Study with KD025 in Dogs		**Test Article:** Belumosudil
Species/Strain: Dog/ Beagle	**Duration of Dosing:** 7 days	**Study No.** 8289749
Initial Age: 7 month old at initiation of dosing	**Duration of Postdose:** Not applicable	**Location in CTD:** 4.2.3.2-04
Date of First Dose: 23 [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral/ gelatin capsules	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Compare two different feeding regimen[a]	**Vehicle/Formulation:** powder in Gelatin capsules, Size 12	
No Observed Adverse Effect Level: Not applicable		

Dose (mg/kg/day)	70	
Feeding Regimen[a]	A	B
Number of Animals	Male: 3	Male: 3
Toxicokinetics:		
Analyte: Belumosudil (Day 7)		
C_{max} (ng/mL)	4340	4430
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	44700	32400
Analyte: M1 (Day 7)		
C_{max} (ng/mL)	664	387
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	7220	3020
Analyte: M2 (Day 7)		
C_{max} (ng/mL)	218	146
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	2290	1310
Noteworthy Findings:		
Died or Sacrificed Moribund	0	0
Clinical Observations		
Vomitus	3	2
Feces, liquid/nonformed/mucoid	3	2
Body Weight (kg)		
Day 8	8.8	9.6
Body Weight Change (kg)		
Day 1 to 8	-0.7	-0.5
Food Consumption (g)		
Pre-dose Day 15 to 16	251	247
Day 6 to 7	172	167
Day 1 to 8 (daily average)	123	188

a. Animals in Feeding Regimen A were individually housed and offered food for approximately 6 hours each day and commingled without access to food the remainder of the time. Animals in Feeding Regimen B were commingled for 2 to 4 hours prior to the start of dosing each day and were individually housed and offered food for 20 to 22 hours each day.

2.6.7.7.D イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

Report Title: SLx-2119: A 4-WEEK ORAL TOXICITY STUDY IN DOGS WITH A 14-DAY RECOVERY PERIOD		**Test Article:** Belumosudil
Species/Strain: Dog/ Beagle	**Duration of Dosing:** 4 weeks	**Study No.** 1173-029
Initial Age: approximately 5 months	**Duration of Postdose:** 14 days	**Location in CTD:** 4.2.3.2-05
Date of First Dose: [redacted] 26, 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral/ gelatin capsules	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** Gelatin capsules, Size 12	
No Observed Adverse Effect Level: 75 mg/kg/day		

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		25		75		200/125[a]	
Number of Animals (Number of Animals for Recovery Group)	M:6 (2)	F:6 (2)	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6 (2)	F:6 (2)
Toxicokinetics[b]:								
Analyte: Belumosudil								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	681		1330		1870	
Day 28	BQL	BQL	2690		5790		7330	
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	3500		9560		19400	
Day 28	NA	NA	12800		41200		60100	
Analyte: M1								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	90.9		187		305	
Day 28	BQL	BQL	278		1000		1590	
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	452		1200		2830	
Day 28	NA	NA	1350		8010		14100	
Analyte: M2								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	26.8		63.8		43.7	
Day 28	BQL	BQL	98.2		129		169	
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	122		438		418	
Day 28	NA	NA	567		1150		1680	

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, BQL= Below quantitation limit (<10.0 ng/mL for Belumosudil, M1 and M2).

a. Animals received 200 mg/kg/day from Day 1 to 15, were given a drug holiday until Day 19 duo to decrease in body weight and continued at 125 mg/kg/day until Day 28 or 29.

b. Gender combined exposure is shown.

2.6.7.7.D イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験：1173-029（続き）

Dose (mg/kg)	0 (Control)		25		75		200/125[a]	
Number of Animals (Number of Animals for Recovery Group)	M: 6 (2)	F: 6 (2)	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 6 (2)	F: 6 (2)
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[b]								
Lacrimation	0	0	0	3	4	1	1	1
Emesis	1	1	1	0	2	3	6	4
Thin	0	0	0	0	0	1	1	2
Skin discolored	0	0	0	0	0	0	1	2
Loss of skin elasticity	0	0	0	0	0	0	0	1
Decreased activity	0	0	0	0	0	0	0	1
Prostration	0	0	0	0	0	0	0	1
Body Weight (%)[c]								
Week 1	10.28 kg	8.113 kg	-	-	-2.0	-6.9	-12.6**	-5.3
Week 2	10.522 kg	8.295 kg	-	-	-5.2	-5.2	-20.9**	-7.8
Week 3	10.59 kg	8.425 kg	-	-	-3.5	-8.0	-14.1**	-9.5
Week 4	10.862 kg	8.615 kg	-	-	-6.1	-8.8	-18.5**	-11.7
Week 6 (Recovery phase)	11.005 kg	8.685 kg	NA	NA	NA	NA	-8.6	-0.5
Food Consumption (%)[c]								
Week 1	332.81 g	265.47 g	-	-	-13.6	-0.1	-56.4**	-35.4
Week 2	362.88 g	286.76 g	-	-	-6.0	+12.3	-69.1**	-31.2
Week 3	318.71 g	288.5 g	-	-	-4.8	-12.8	-21.9	-37.4**
Week 4	350.69 g	245.71 g	-	-	-15.4	+9.7	-44.5**	-21.4
Week 5 (Recovery phase)	299.07 g	286.86 g	NA	NA	NA	NA	+13.7	-8.4

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings, "**"= $p<0.01$; Group Pair-wise comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's).

a. Animals received 200 mg/kg/day from Day 1 to 15, were given a drug holiday until Day 19 due to decrease in body weight and continued at 125 mg/kg/day until Day 28 or 29.

b. Number of animals affected. If an observation was seen multiple times/day for the same animal, this counted as one.

c. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences

2.6.7.7.D イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験：1173-029（続き）

Dose (mg/kg)	0 (Control)		25		75		200/125[a]	
Number of Animals (Number of Animals for Recovery Group)	M: 6 (2)	F:6 (2)	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6 (2)	F:6 (2)
Hematology (%)[b]								
Day 14[c]								
Erythrocytes (10^6/µL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-25	-20
Hemoglobin (g/dL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-24	-18
Hematocrit (%)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-24	-19
MCV (fL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+2	+2
Platelets (10^3/µL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+2	+16
Reticulocytes (10^3/µL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+54	+117
Reticulocytes (%)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	+139	+197
Day 28								
Erythrocytes (10^6/µL)	6.787	6.875	-	-	-	-	-17**	-17
Hemoglobin (g/dL)	14.88	15.12	-	-	-	-	-15**	-15
Hematocrit (%)	42.77	43.3	-	-	-	-	-12**	-14
MCV (fL)	63	63.05	-	-	-	-	+6	+5*
Platelets (10^3/µL)	301	314	-	-	-	-	+53**	+30
Reticulocytes (10^3/µL)	68.32	46.62	-	-	-	-	+28	+56
Reticulocytes (%)	1.02	0.67	-	-	-	-	+57	+91
Serum Chemistry (%)[b]								
Day 28								
ALP (U/dL)	74.3	74.2	-	-	-	+9	+132	+31
GGT (U/dL)	3.3	3.3	-	-	-	+45*	+30	+12
Total Bilirubin (mg/dL)	0.13	0.17	-	-	-	-24	+146	+165
Bone Marrow Cytology[d]								
Rubriblast	3.7	4.9	-	-	-	-	5.7	5.0
Prorubricyte	8.5	10.5	-	-	-	-	9.0	12.3
Basophilic Rubricyte	15.8	17.9	-	-	-	-	17.3	21.3
Myeloid:Erythroid (M:E) Ratio	1.7	1.4	-	-	-	-	1.3	0.8

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings, "*"= p<0.05; Group Pair-wise comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= (p<0.01 ; Group Pair-wise comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's).

a. Animals received 200 mg/kg/day from Day 1 to 15, were given a drug holiday until Day 19 duo to decrease in body weight and continued at 125 mg/kg/day until Day 28 or 29.
b. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences
c. There was no Day 14 control data and percent differences from value of control pretest 2 are shown.
d. Group means are shown.

2.6.7.7.D イヌを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復性試験：1173-029（続き）

Dose (mg/kg)	0 (Control)		25		75		200/125[a]	
Number of Animals (Number of Animals for Recovery Group)	M:6 (2)	F:6 (2)	M:4	F:4	M:4	F:4	M:6 (2)	F:6 (2)
Organ Weights (%)[b]								
Week 4								
Liver - Absolute weight (g)	268.58	216.309	-	-	-	-	+19*	+9
- Organ to body weight (%)	2.5771	2.6181	-	-	-	-	+48**	+26*
Thymus - Absolute weight (g)	14.115	13.985	-26	-31	-41	-51*	-65	-75**
- Organ to body weight (%)	0.1348	0.1669	-27	-27	-39	-46*	-57	-72**
Gross Pathology								
Week 4								
Reduced thymus gland size, mild	0	0	0	0	0	0	1	1
Histopathology								
Week 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Liver, Cholestasis								
- Minimal	0	0	0	0	0	0	2	1
- Mild	0	0	0	0	0	0	1	1
Liver, Hyperplasia, bile duct								
- Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver, Pigment, increased Kupffer cell								
- Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0
- Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver, Vacuolation, hepatocellular								
- Minimal	0	0	0	0	0	0	2	2
- Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Thymus, depletion, lymphoid								
- Minimal	1	0	0	0	1	0	0	0
- Mild	0	0	0	0	0	0	1	2
- Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Week 6 (recovery)	M: 2	F: 2	NA	NA	NA	NA	M: 2	F: 2
Liver, Cholestasis								
- Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	2	1

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings, "*"= $p<0.05$; Group Pair-wise comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= $p<0.01$; Group Pair-wise comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's).

a. Animals received 200 mg/kg/day from Day 1 to 15, were given a drug holiday until Day 19 duo to decrease in body weight and continued at 125 mg/kg/day until Day 28 or 29.

b. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences

2.6.7.7.E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

Report Title: KD025: 3-Month Oral Toxicity and Toxicokinetic Study in Dogs with a 28-Day Recovery Period		**Test Article:** Belumosudil
Species/Strain: Dog/ Beagle	**Duration of Dosing:** 13 weeks	**Study No.** 029281
Initial Age: 7.3 to 7.8 months of age at randomization	**Duration of Postdose:** 30 days	**Location in CTD:** 4.2.3.2-06
Date of First Dose: 29 [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral/ gelatin capsules	**GLP Compliance**: Yes
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** Gelatin capsules, Size 12	
No Observed Adverse Effect Level: 35 mg/kg/day		

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		35		70		125[a]	
Number of Animals	M: 12	F: 12	M: 8	F: 8	M: 8	F: 8	M: 12	F: 12
Toxicokinetics:								
Analyte: Belumosudil								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	1660	1870	2650	2950	4150	5030
Day 91	BQL	BQL	4910	4620	6170	7250	NA	NA
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	11600	13100	25700	24200	41600	51400
Day 91	NA	NA	25200	23300	44800	50100	NA	NA
Analyte: M1								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	156	229	281	495	566	971
Day 91	BQL	BQL	445	430	761	1210	NA	NA
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	1010	1700	2660	3840	5470	10000
Day 91	NA	NA	2290	2360	6050	8840	NA	NA
Analyte: M2								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	88.3	75.4	135	132	171	176
Day 91	BQL	BQL	151	150	149	175	NA	NA
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	611	625	1530	1260	2120	2220
Day 91	NA	NA	979	969	1610	1590	NA	NA

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, BQL= Below quantitation limit (< 20.0 ng/mL for Belumosudil, M1 and M2).

a. Not tolerated; high dose cessation on Day 21/20 (M/F); animals euthanized and/or necropsy on Day 51/50 (M/F) and toxicokinetics after repeated dose was conducted.

2.6.7.7.E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029281（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		35		70		125[a]	
Total Number of Animals for Toxicity (Numver of animals for interim recovery/ terminal/ terminal recovery)	M: 12 [b] (NA/5/3)	F: 12 [b] (NA/5/3)	M: 8 (NA/5/3)	F: 8 (NA/5/3)	M: 8 (NA/5/3)	F: 8 (NA/5/3)	M: 12 [b] (2/NA/NA)	F: 12[b] (2/NA/NA)
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	2	0
Clinical Observations								
Feces, decreased	3	3	2	4	8	6	12	10
Vomit, contains food	0	3	3	5	8	8	12	11
Vomit, contains colored material	0	0	0	0	3	2	11	9
Thin	0	0	1	0	6	5	11	9
Body Weight (%)[c]								
Day 21/20 (M/F)	8.933 kg	6.708 kg	-	-	-21**	-12*	-31**	-26**
Day 49/48 (M/F)	9.042 kg	6.863 kg	-11*	-5	-22**	-19**	-12**	-6
Day 91/90 (M/F)	9.842 kg	7.529 kg	-12*	-8	-28**	-22**	NA	NA
Day 119/118 (M/F) (recovery phase)	10.093 kg	7.007 kg	-16**	+5	-10	-1	NA	NA
Body Weight Gain (g)[d]								
Day -1 to 7/6 (M/F)	-0.2	0.1	-0.6	-0.1	-0.9	-0.4	-1.2	-0.5
Day 7/6 to 14/13 (M/F)	0.5	0.4	0.1	0.2	-0.4	0.1	-0.7	-0.5
Day 14/13 to 21/20 (M/F)	0.5	0.3	0.4	0.3	0.0	0.2	-0.2	-0.2
Day 21/20 to 28/27 (M/F)	0.1	0.0	-	-	-	-	1.2	0.8
Food Consumption (%)[c]								
Day 20	393.98 g	324.42 g	-10	-19	-53**	-23*	-60**	-57**
Day 26	340.98 g	306.96 g	+8	-13	-3	-12	+82**	+77**
Day 48	346.95 g	294.34 g	-3	-10	-3	-6	+9	+29**
Day 90	374.73 g	341.05 g	+1	-25**	-8	-21*	NA	NA
Day 96 (recovery phase)	349.6 g	320.76 g	+24	+8	+45*	+63**	NA	NA
Day 120 (recovery phase)	374.84 g	259.96 g	+3	-13	+9	+34	NA	NA
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	NA	NA

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings, "*"= $p < 0.05$; Dunnett 2 Sided, "**"= $p < 0.01$; Dunnett 2 Sided.

a. Not tolerated; high dose cessation on Day 21/20 (M/F); 2 animals/sex were euthanized and necropsy on day 51/50 (M/F), and organ weight and histopathology were evaluated.

b. The remaining animals were terminated on Day 51/50 (M8/F10) in 125 mg/kg/day group and on Day 121 (M4/F4) in control group without necropsy or tissue collection.

c. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences

d. Group means are shown.

2.6.7.7.E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029281（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		35		70		125[a]	
Total Number of Animals for Toxicity (Numver of animals for interim recovery/ terminal/ terminal recovery)	M: 12 [b] (NA/5/3)	F: 12 [b] (NA/5/3)	M: 8 (NA/5/3)	F: 8 (NA/5/3)	M: 8 (NA/5/3)	F: 8 (NA/5/3)	M: 12 [b] (2/NA/NA)	F: 12[b] (2/NA/NA)
Hematology (%)[c]	-	-	-	-	-	-	-	-
Day 85/89 (M/F)								
Red Blood Cell Count (M/uL)	7.299	7.031	-9*	-9*	-20**	-24**	NA	NA
Hemoglobin (g/dL)	16.40	15.90	-6	-9*	-18**	-22**	NA	NA
Hematocrit (%)	51.27	49.45	-6	-9**	-17**	-21**	NA	NA
Platelet (K/uL)	223.6	266.4	+25*	+11	+69**	+78**	NA	NA
Day 121 (Terminal recovery)	-	-	-	-	-	-	NA	NA
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)[c]								
Day 92								
Liver - Absolute weight (g)	232.1136	194.7568	+37**	+17	+7	+13	NA	NA
- Organ to body weight (g/kg)	27.09	27.66	+38**	+30**	+40**	+47**	NA	NA
Spleen - Absolute weight (g)	68.3808	68.5206	-	-	-22	-31	NA	NA
- Organ to body weight (g/kg)	7.99	9.72	-	-	+2	-11	NA	NA
Thymus - Absolute Organ weight (g)	8.634	8.256	-	-	-50*	-50**	NA	NA
- Organ to body weight (g/kg)	1.002	1.173	-	-	-37	-36*	NA	NA
Day 121 (recovery phase)								
Liver - Absolute weight (g)	-	210.2383	-	-	-	+17	NA	NA
- Organ to body weight (g/kg)	-	29.17	-	-	-	+24*	NA	NA
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Day 21 (Moribund)								
Stomach, abnormal contents, black	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Intestine, cecum or jejunun, abnormal contents, black	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Intestine, jejunun, discoloration, brown or dark red	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	0

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No Noteworthy findings, "*"= $p < 0.05$; Dunnett 2 Sided, "**"= $p < 0.01$; Dunnett 2 Sided.

a. Not tolerated; high dose cessation on Day 21/20 (M/F); 2 animals/sex were euthanized and necropsy on day 51/50 (M/F), and organ weight and histopathology were evaluated.

b. The remaining animals were terminated on Day 51/50 (M8/F10) in 125 mg/kg/day group and on Day 121 (M4/F4) in control group without necropsy or tissue collection.

c. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences.

2.6.7.7.E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029281（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		35		70		125[a]	
Total Number of Animals for Toxicity (Numver of animals for interim recovery/ terminal/ terminal recovery)	M: 12 [b] (NA/5/3)	F: 12 [b] (NA/5/3)	M: 8 (NA/5/3)	F: 8 (NA/5/3)	M: 8 (NA/5/3)	F: 8 (NA/5/3)	M: 12 [b] (2/NA/NA)	F: 12[b] (2/NA/NA)
Histopathology								
Day 21 (Moribund) [c]	NA	NA	NA	NA	NA	NA	M: 2	NA
Bone Marrow, hypocellularity								
- Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Intestine Jejunum, congestion; lamina propria; multifocal								
- Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Liver, stasis; biliary; centrilobular; multifocal								
- Mild	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Lymph node, Mesenteric, depletion; lymphoid; diffuse								
- Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Kidneys, infarction; bilateral; multifocal								
- Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Kidneys, necrosis; proximal tubule; cortex; bilateral; multifocal								
- Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Kidneys, cast; cellular; papilla; medulla; bilateral; multifocal								
- Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Spleen, depletion; lymphoid; white pulp; periarteriolar sheaths; diffuse								
- Mild	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA
Day 50/51 (M/F) (interim recovery)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	M: 2	F: 2
Liver, stasis; biliary; centrilobular; multifocal								
- Minimal	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
- Mild	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	1
Thymus, depletion; lymphoid; cortex; diffuse								
- Mild	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
- Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	0
Spleen, depletion; lymphoid; white pulp; periarteriolar sheaths; diffuse								
- Mild	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	2

M= Male, F= Female, NA= Not applicable.

a. Not tolerated; high dose cessation on Day 21/20 (M/F); 2 animals/sex were euthanized and necropsy on Day 51/50 (M/F), and organ weight and histopathology were evaluated.

b. The remaining animals were terminated on Day 51/50 (M8/F10) in 125 mg/kg/day group and on Day 121 (M4/F4) in control group without necropsy or tissue collection.

c. Thymic tissue was not evaluated histologically although the tissue submitted appeared to be loose connective tissue without thymic elements.

2.6.7.7.E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029281（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		35		70		125[a]	
Total Number of Animals for Toxicity (Numver of animals for interim recovery/ terminal/ terminal recovery)	M: 12 [b] (NA/5/3)	F: 12 [b] (NA/5/3)	M: 8 (NA/5/3)	F: 8 (NA/5/3)	M: 8 (NA/5/3)	F: 8 (NA/5/3)	M: 12 [b] (2/NA/NA)	F: 12[b] (2/NA/NA)
Day 91 (terminal)	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	NA	NA
Liver, atrophy; hepatocellular; centrilobular; diffuse								
- Moderate	0	0	0	0	1	1	NA	NA
Liver, infiltration, mononuclear cells; multifocal								
- Minimal	5	3	4	2	0	1	NA	NA
- Mild	0	0	0	0	1	1	NA	NA
Liver, stasis; biliary; centrilobular; multifocal								
- Minimal	0	0	0	0	2	1	NA	NA
- Mild	0	0	0	0	1	4	NA	NA
Spleen, depletion; lymphoid; white pulp; periarteriolar sheaths; diffuse								
- Mild	0	0	4	4	0	5	NA	NA
- Moderate	0	0	0	0	5	0	NA	NA
Thymus, depletion; lymphoid; cortex; diffuse								
- Mild	0	0	3	4	1	2	NA	NA
- Moderate	0	0	1	0	2	3	NA	NA
- Marked	0	0	0	0	2	0	NA	NA
Kidneys, pigmentation; gold/brown; proximal tubule; cortex; bilateral; multifocal								
- Minimal	0	0	0	0	1	3	NA	NA
- Mild	0	0	0	0	1	0	NA	NA

M= Male, F= Female, NA= Not applicable.

a. Not tolerated; high dose cessation on Day 21/20 (M/F); 2 animals/sex were euthanized and necropsy on day 51/50 (M/F), and organ weight and histopathology were evaluated.

b. The remaining animals were terminated on Day 51/50 (M8/F10) in 125 mg/kg/day group and on Day 121 (M4/F4) in control group without necropsy or tissue collection.

2.6.7.7.E イヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験：029281（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		35		70		125[a]	
Total Number of Animals for Toxicity (Numver of animals for interim recovery/ terminal/ terminal recovery)	M: 12 [b] (NA/5/3)	F: 12 [b] (NA/5/3)	M: 8 (NA/5/3)	F: 8 (NA/5/3)	M: 8 (NA/5/3)	F: 8 (NA/5/3)	M: 12 [b] (2/NA/NA)	F: 12[b] (2/NA/NA)
Day 91 (terminal)	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	NA	NA
Epididymides, degeneration; spermatozoal; bilateral; multifocal								
- Mild	0	NA	1	NA	1	NA	NA	NA
Testes, degeneration; spermatogenic; seminiferous tubule; bilateral; multifocal								
- Minimal	0	NA	1	NA	0	NA	NA	NA
- Mild	0	NA	0	NA	2	NA	NA	NA
Testes, multinucleated spermatids (symplasts); seminiferous tubule; bilateral; multifocal								
- Minimal	0	NA	1	NA	2	NA	NA	NA
Day 121 (terminal recovery)	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	NA	NA
Kidneys, pigmentation; gold/brown; proximal tubule; cortex; bilateral; multifocal								
- Minimal	0	0	0	0	3	3	NA	NA
Liver, stasis; biliary; centrilobular; multifocal								
- Minimal	0	0	0	0	3	2	NA	NA

M= Male, F= Female, NA= Not applicable.

a. Not tolerated; high dose cessation on Day 21/20 (M/F); 2 animals/sex were euthanized and necropsy on Day 51/50 (M/F), and organ weight and histopathology were evaluated.

b. The remaining animals were terminated on Day 51/50 (M8/F10) in 125 mg/kg/day group and on Day 121 (M4/F4) in control group without necropsy or tissue collection.

2.6.7.7.F イヌを用いた 13／39 週間反復経口投与毒性試験及び 4／8 週間回復性試験

Report Title: 39-Week Oral Capsule Chronic Toxicity and Toxicokinetic Study with KD025 in Dogs with an 8-Week Recovery Phase		**Test Article:** Belumosudil
Species/Strain: Dog/ Beagle	**Duration of Dosing**: 13 weeks for interim sacrifice group or 39 weeks for terminal sacrifice group;	**Study No**. 8289750
Initial Age: 6 to 7 months at initiation of dosing	**Duration of Recovery**: 4 weeks after 13 weeks treatment or 8 weeks after 39 weeks treatment	**Location in CTD:** 4.2.3.2-07
Date of First Dose: 10 [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration**: Oral/ gelatin capsules	**GLP Compliance**: Yes
Special Features: None	**Carrier Article**: Gelatin capsules, Size 12	
No Observed Adverse Effect Level: 40 mg/kg/day		

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		5		20		40	
Total Number of Animals at Study Start (Number of animals for interim/ interim recovery/ terminal/ terminal recovery)	M: 12 (4/2/4/2)	F: 12 (4/2/4/2)	M: 8 (4/NA/4/NA)	F: 8 (4/NA/4/NA)	M: 10 (4/NA/4/2)	F: 10 (4/NA/4/2)	M: 12 (4/2/4/2)	F: 12 (4/2/4/2)
Toxicokinetics:								
Analyte: Belumosudil								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BLLOQ	BLLOQ	89.2	112	805	768	1700	858
Week 13	BLLOQ	BLLOQ	120	178	1910	2300	2120	1440
Week 39	BLLOQ	BLLOQ	386[a]	249	854	1480	2060	3220
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	550	574	4570	5600	11600	8170
Week 13	NA	NA	537	566	8660	11500	14700	9700
Week 39	NA	NA	1180[a]	833	4040	8400	15500	22500
Analyte: M1								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BLLOQ	BLLOQ	BLLOQ[b]	BLLOQ[b]	65.5	90.5	168	121
Week 13	BLLOQ	BLLOQ	BLLOQ[b]	BLLOQ[b]	114	210	186	226
Week 39	BLLOQ	BLLOQ	BLLOQ[b]	BLLOQ[b]	54.7	153	239	379
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	NA[b]	NA[b]	411	505	1160	1150
Week 13	NA	NA	NA[b]	NA[b]	704	1030	1290	2790
Week 39	NA	NA	NA[b]	NA[b]	304	712	1430	2710
Analyte: M2								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BLLOQ	BLLOQ	BLLOQ[b]	BLLOQ[b]	37.8	43.8	74.7	47.1
Week 13	BLLOQ	BLLOQ	BLLOQ[b]	BLLOQ[b]	88.9	97.6	144	82.4
Week 39	BLLOQ	BLLOQ	BLLOQ[b]	BLLOQ[b]	61.9	89.8	141	175
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
Day 1	NA	NA	NA[b]	NA[b]	274	228	537	515
Week 13	NA	NA	NA[b]	NA[b]	607	576	1080	862
Week 39	NA	NA	NA[b]	NA[b]	335	538	1390	1520

BLLOQ= Below lower limit of quantitation (< 10 ng/mL for Belumosudil, M1 and M2), BLQ= Below the limit of quantitation.

a Value is not a mean and is presented for information purposes only.

b No toxicokinetic parameters were reported for M1 and M2 at the 5 mg/kg/day dose level, as the majority of the concentrations were BLQ.

2.6.7.7.F イヌを用いた 13／39 週間反復経口投与毒性試験及び 4／8 週間回復性試験：8289750（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		5		20		40	
Total Number of Animals at Study Start (Number of animals for interim/ interim recovery/ terminal/ terminal recovery)	M: 12 (4/2/4/2)	F: 12 (4/2/4/2)	M: 8 (4/NA/4/NA)	F: 8 (4/NA/4/NA)	M: 10 (4/NA/4/2)	F: 10 (4/NA/4/2)	M: 12 (4/2/4/2)	F: 12 (4/2/4/2)
Noteworthy Findings:								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations[a]								
Emesis	0	0	1	0	1	4	4	3
Excessive Salivation	0	0	0	0	0	2	2	2
Vomitus (occasionally containing food or yellow materials)	2	5	1	1	7	6	10	8
Body Weight Change (kg)[b]								
Days 1 to 274	1.8	1.5	0.6	1.0	0.3	1.6	-0.3	0.1
Recovery Days 1 to 57	0.2	-0.2	NA	NA	0.4	0.3	0.6	0.6
Food Consumption (%)[c]								
Days 85 to 92	229 g	209 g	+1	-1	+12	-19	-4	-24
Recovery Days 22 to 29 (Interim recovery)	282 g	211 g	NA	NA	NA	NA	-29	-94
Days 169 to 176	307 g	284 g	-9	+21	-7	-7	-27	-15
Days 267 to 274	257 g	191 g	-24	+40	-5	-17	-33	0
Recovery Days 22 to 29 (Terminal recovery)	324 g	205 g	NA	NA	-20	-30	-21	+37
Ophthalmic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiographic Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Macroscopic Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry[b]								
Alanine Aminotransferase Activity (U/L)								
Day 91	44	38	37	38	40	63	66	69
Recovery Day 28 (Interim Recovery)	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Day 119	61	37	35	37	36	49	60	64
Day 273	41	33	35	37	40	25	44	50
Recovery Day 57 (Terminal Recovery)	-	-	NA	NA	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Cholinesterase Analysis	-	-	-	-	-	-	-	-

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No noteworthy findings; "*"= $p<0.05$; ANOVA and Dunnett's.

a. Number of animals affected. If an observation was seen multiple times/day for the same animal, this counted as one.

b. Group means are shown.

c. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences.

2.6.7.7.F イヌを用いた 13／39 週間反復経口投与毒性試験及び 4／8 週間回復性試験：8289750（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)		5		20		40	
Total Number of Animals at Study Start (Number of animals for interim/ interim recovery/ terminal/ terminal recovery)	M: 12 (4/2/4/2)	F: 12 (4/2/4/2)	M: 8 (4/NA/4/NA)	F: 8 (4/NA/4/NA)	M: 10 (4/NA/4/2)	F: 10 (4/NA/4/2)	M: 12 (4/2/4/2)	F: 12 (4/2/4/2)
Organ Weights (%)[a]								
Day 91 (Interim Sacrifice)								
Liver/Gallbladder								
- Absolute weight (g)	243.97	-	+15.46	-	+31.07*	-	+16.31	-
- Organ to body weight (%)	2.43	-	+3.61	-	+15.72	-	+10.97	-
- Organ to brain weight (%)	320.34	-	+15.53	-	+26.53*	-	+13.28	-
Recovery Day 28 (Interim Recovery)	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Day 273 (Terminal Sacrifice)	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology								
Day 91 (Interim Sacrifice)	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Liver, Infiltrate, Mononuclear Cell								
- Minimal	4	4	4	3	4	2	1	2
- Slight	0	0	0	0	0	0	2	0
- Moderate	0	0	0	0	0	1	1	1
Liver, Degeneration/Necrosis Hepatocytes								
- Minimal	0	0	0	0	0	1	1	0
- Slight	0	0	0	0	0	0	0	1
Recovery Day 28 (Interim Recovery)	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Day 274 (Terminal Sacrifice)	-	-	NA	NA	-	-	-	-

M= Male, F= Female, NA= Not applicable, "-"= No noteworthy findings; "*"= $p<0.05$; ANOVA and Dunnett's.

a. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences.

2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8.A 細菌を用いた復帰突然変異試験

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay		**Test Article:** Belumosudil
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays:** 2	**Study No.** AB44FM.503.BTL
Strains: *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*	**No. of Replicate Cultures:** 2 plates in preliminary assay and 3 plates in definitive assay	**Location in CTD:** 4.2.3.3.1-01
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9	**No. of Cells Analyzed/Culture:** Not applicable	**GLP Compliance**: Yes
Date of Treatment: 22 [redacted] 20[redacted], Preliminary assay 7 [redacted] 20[redacted]. Definitive assay	**Treatment:** Plate incorporation for approximately 48 to 72 hours.	
Vehicles: DMSO for Test article and for Positive Controls		
Cytotoxic Effects: Negative in definitive assay		
Genotoxic Effects: Negative		

Experiment No.	Metabolic Activation	Test Article	Dose (µg/plate)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean of 2 Plates ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvrA*
B1 (Preliminary assay)	Without	Control (DMSO)	50 µL/plate	21 ± 1	98 ± 27	21 ± 1	7 ± 1	11 ± 4
		Belumosdil	1.5	14 ± 2	119 ± 13	17 ± 1	6 ± 0	12 ± 2
			5.0	15 ± 1	128 ± 23	19 ± 4	7 ± 1	15 ± 1
			15	20 ± 6	72 ± --	21 ± 6	5 ± 1	15 ± 4
			50	11 ± 1	101 ± 21	21 ± 5	4 ± 0	12 ± 1
			150	18 ± 5	101 ± 2	20 ± 1	7 ± 1	15 ± 1
			500 [P]	16 ± 1	120 ± 1	4 ± 1	8 ± 1	15 ± 2
			1500 [P]	16 ± 6	122 ± 6	9 ± 1	4 ± 4	17 ± 1
			5000 [P]	12 ± 4	119 ± 11	6 ± 1	5 ± 2	12 ± 3
		2-Nitrofluorene	1.0	170 ± 40	NT	NT	NT	NT
		Sodium azide	1.0	NT	498 ± 19	461 ± 42	NT	NT
		9-Aminoacridine	75	NT	NT	NT	682 ± 178	NT
		Methyl methanesulfonate	1000	NT	NT	NT	NT	201 ± 9
	With	Control (DMSO)	50 µL/plate	19 ± 5	111 ± 20	9 ± 1	10 ± 2	15 ± 1
		Belumosudil	1.5	24 ± 4	120 ± 6	15 ± --	6 ± 3	21 ± 4
			5.0	25 ± 1	115 ± 7	15 ± 1	6 ± --	15 ± 4
			15	25 ± 6	126 ± 7	13 ± 1	13 ± 1	14 ± 3
			50	25 ± 5	110 ± 1	17 ± --	12 ± 1	17 ± 1
			150	24 ± 3	117 ± 7	10 ± 2	10 ± --	19 ± 1
			500 [P]	23 ± 3	117 ± 18	17 ± 1	11 ± 2	17 ± 1
			1500 [P]	24 ± 3	133 ± 5	13 ± 1	10 ± 5	14 ± 2
			5000 [P]	13 ± 6	121 ± 8	11 ± 1	6 ± 4	10 ± 1
		2-Aminoanthracene	1.0	466 ± 51	477 ± --	78 ± 13	58 ± 15	NT
		2-Aminoanthracene	10	NT	NT	NT	NT	143 ± 33

DMSO= Dimethyl sulfoxide, NT= Not tested, "--"= Not calculated standard deviation due to the data of one plate was loss by procedural error or water damage [P]= Precipitate was noted

2.6.7.8.A 細菌を用いた復帰突然変異試験：AB44FM.503.BTL（続き）

Experiment No.	Metabolic Activation	Test Article	Dose (µg/plate)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean of 2 Plates ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 *uvrA*
B2 (Definitive Assay)	Without	Control (DMSO)	50 µL/plate	13 ± 8	156 ± 24	28 ± 11	9 ± 2	32 ± 5
		Belumosudil	15	NT	NT	29 ± 2	NT	NT
			50	17 ± 6	154 ± 9	31 ± 3	9 ± 3 [P]	34 ± 7 [P]
			150	21 ± 4	168 ± 12	29 ± 6 [P]	8 ± 7 [P]	29 ± 9 [P]
			500 [P]	14 ± 2	146 ± 8	23 ± 3	6 ± 3	36 ± 4
			1500 [P]	12 ± 3	138 ± 12	25 ± 7	7 ± 2	30 ± 9
			5000 [P]	16 ± 4	158 ± 8	27 ± 6	6 ± 1	29 ± 1
		2-Nitrofluorene	1.0	148 ± 28	NT	NT	NT	NT
		Sodium azide	1.0	NT	558 ± 61	498 ± 25	NT	NT
		9-Aminoacridine	75	NT	NT	NT	738 ± 105	NT
		Methyl methanesulfonate	1000	NT	NT	NT	NT	286 ± 17
	With	Control (DMSO)	50 µL/plate	29 ± 6	140 ± 25	15 ± 4	7 ± 2	33 ± 11
		Belumosudil	50	28 ± 4	168 ± 8	18 ± 6	10 ± 1	26 ± 8
			150	39 ± 2	164 ± 9	16 ± 2	13 ± 4	37 ± 6 [P]
			500 [P]	20 ± 4	136 ± 10	21 ± 4	11 ± 3	34 ± 9
			1500 [P]	34 ± 11	195 ± 1	21 ± 2	13 ± 3	32 ± 4
			5000 [P]	25 ± 5	167 ± 12	22 ± 1	8 ± 2	26 ± 4
		2-Aminoanthracene	1.0	663 ± 233	1004 ± 91	125 ± 21	62 ± 10	NT
		2-Aminoanthracene	10	NT	NT	NT	NT	290 ± 22

DMSO= Dimethyl sulfoxide, NT= Not tested. "--"= Not calculated standard deviation due to the data of one plate was loss by procedural error or water damage, [P]= Precipitate was noted

2.6.7.8.B ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験

Report Title: In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test		**Test Article:** Belumosudil
Test for Induction of: Clastogenic and aneugenic potential in mammalian cells	**No. of Cells Analyzed/Culture:** 200 metaphase spreads (100 per duplicate treatment condition)	**Study No.** AB44FM.341.BTL
Strains: Human peripheral blood lymphocytes (HPBL)	**Experimental period:** 28 [redacted] 20[redacted] to 06 [redacted] 20[redacted]	**Location in CTD:** 4.2.3.3.1-02
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9	**Vehicles:** DMSO for test article and for positive control	**GLP Compliance:** Yes
Treatment: 4 or 20 hours in the non-activated test system, 4 hours in the S9-activated test system		
Cytotoxic Effects: At least 50% reduction in mitotic index was noted at ≥75 µg/mL for 4 hours treatment with and without S9 and ≥25 µg/mL for 20 hours treatment in definitive assay		
Genotoxic Effects: Negative		

PRELIMINARY TOXICITY TEST

Test Article	Concentrations	4 Hours Treatment				20 Hours Treatment	
		Without Metabolic Activation		With Metabolic Activation		Without Metabolic Activation	
	(µg/mL)	Mitotic Index (%)	Percent Change (%)	Mitotic Index (%)	Percent Change (%)	Mitotic Index (%)	Percent Change (%)
Control (DMSO)	NA	10.0	NA	11.0	NA	10.8	NA
Belumosudil	0.25	10.6	6	10.2	-7	10.0	-7
	0.75	9.4	-6	10.4	-5	9.8	-9
	2.5	8.8	-12	9.0	-18	8.0	-26
	7.5	7.4	-26	10.0	-9	7.0	-35
	25	6.4	-36	8.4	-24	4.8	-56
	75	4.4	-56	5.0	-55	2.8	-74
	250	3.8	-62	3.0	-73	0.8	-93
	750	0.0	-100	0.0	-100	0.0	-100
	2500	0.0	-100	0.0	-100	0.0	-100

DMSO= Dimethyl sulfoxide, NA= Not applicable.
Mitotic Index = (Cells in mitosis/500 cells scored) x 100
Percent Change = (Treatment mitotic index-control mitotic index)/control mitotic index

2.6.7.8.B ヒト末梢血リンパ球を用いた in vitro 染色体異常試験：AB44FM.341.BTL（続き）

DEFINITIVE TEST

Treatment Duration	Metabolic Activation	Test Article	Concentrations[a] (µg/mL)	Mitotic Index Mean	Cells Scored Numerical	Cells Scored Structural	Aberrations Per Cell[b] Mean	Aberrations Per Cell[b] ± SD	Cells with Aberrations Numerical (%)	Cells with Aberrations Structural (%)
4 hours[c]	Without	Control (DMSO)	NA	9.7	200	200	0.00	± 0.000	0.5	0.0
		Belumosudil	12.5	8.4	200	200	0.00	± 0.000	0.5	0.0
			25	7.5	200	200	0.00	± 0.000	0.0	0.0
			50	4.5	200	200	0.00	± 0.000	0.0	0.0
		Mitomycin C	0.6	8.1	200	50	0.240	± 0.476	0.0	22.0**
	With	Control (DMSO)	NA	9.3	200	200	0.00	± 0.000	0.0	0.0
		Belumosudil	12.5	8.1	200	200	0.00	± 0.000	0.0	0.0
			25	7.4	200	200	0.00	± 0.000	0.0	0.0
			50	4.1	200	200	0.00	± 0.000	0.5	0.0
		Cyclophosphamide	20	7.6	200	100	0.200	± 0.471	0.0	17.0**
20 hours	Without	Control (DMSO)	NA	8.3	200	200	0.00	± 0.000	0.5	0.0
		Belumosudil	6.25	7.7	200	200	0.00	± 0.000	0.0	0.0
			12.5	6.6	200	200	0.00	± 0.000	0.0	0.0
			25	3.6	200	200	0.00	± 0.000	0.0	0.0
		Mitomycin C	0.3	7.0	200	50	0.200	± 0.404	0.0	20.0**

DMSO= Dimethyl sulfoxide, NA= Not applicable, **= p≤0.01; using the Fisher's Exact test.

a. Evaluated concentrations was selected from 6.25 to 250 µg/mL for the 4-hour exposure groups and from 3.13 to 150 µg/mL for the 20-hour exposure group.

b. Severely damaged cells were counted as 10 aberrations.

c. Cells were harvested for 16 hours after the end of exposure period in the 4-hour exposure group,

2.6.7.9 In Vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9.A ラットを用いた骨髄小核試験

Report Title: Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test		**Test Article:** Belumosudil
Test for Induction of: Bone marrow polychromatic erythrocytes (PCEs) micronuclei	**Treatment Schedule:** Single dose	**Study No.** AB44FM.125.BTL
Species/Strain: Rats/ Sprague-Dawley	**Sampling Time:** 24 or 48 hours post-dose	**Location in CTD:** 4.2.3.3.2-01
Age at administration: 6 to 8 weeks	**Method of Administration**: Oral gavage	**GLP Compliance:** Yes
Experimental Period: 27 [redacted] 20[redacted] to 20[redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 0.4% methylcellulose in water	
No. of Cells Analyzed/Animal: 2000 PCEs/animal		
Toxic Effects: No mortality was noted and diarrhea was observed in males at 2000 mg/kg in definitive study.		
Genotoxic Effects: Negative		
Evidence of Exposure: 2000 mg/kg: C_{max} was 12403 ng/mL for males and 11120 ng/mL for females. $AUC_{0\text{-}24h}$ was 174789 ng·hr/mL for males and 181366 ng·hr/mL for females.		

Treatment Duration	Test Article	Dose (mg/kg)	Sex	Number of Animals	PCE/Total Erythrocytes (Mean ± SD)	Change from Control (%)	Number of MPCE/1000 PCE (Mean ± SD)	Total number of MPCE / Total PCE Scored
24 hours	Vehicle (0.4% MC)	0	M	5	0.599 ± 0.02	--	0.0 ± 0.00	0 / 10000
			F	5	0.620 ± 0.02	--	0.3 ± 0.27	3 / 10000
	Belumosudil	500	M	5	0.612 ± 0.03	2	0.0 ± 0.00	0 / 10000
			F	5	0.629 ± 0.03	1	0.2 ± 0.27	2 / 10000
		1000	M	5	0.601 ± 0.04	0	0.5 ± 0.50	5 / 10000
			F	5	0.596 ± 0.03	-4	0.6 ± 0.22	6 / 10000
		2000	M	5	0.558 ± 0.09	-7	0.4 ± 0.22	4 / 10000
			F	5	0.573 ± 0.03	-8	0.3 ± 0.27	3 / 10000
	Cyclophosphamide	40	M	5	0.437 ± 0.03	-27	15.2 ± 3.27	*152 / 10000
			F	5	0.418 ± 0.04	-33	10.2 ± 0.91	*102 / 10000
48 hours	Vehicle (0.4% MC)	0	M	5	0.607 ± 0.03	--	0.1 ± 0.22	1 / 10000
			F	5	0.584 ± 0.03	--	0.0 ± 0.00	0 / 10000
	Belumosudil	2000	M	5	0.596 ± 0.05	-2	0.2 ± 0.27	2 / 10000
			F	5	0.521 ± 0.03	-11	0.2 ± 0.27	2 / 10000

MC= methylcellulose, M= Male. F= Female, PCE= Polychromatic erythrocyte, MPCE= micronucleated polychromatic erythrocyte," --"= Not applicable.
"*"= $p \leq 0.05$ (Kastenbaum-Bowman Tables).

2.6.7.10 がん原性試験

該当なし

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: Belumosudil

Study Type	Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing Period	Gender and No. per Group	Doses (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number (Location in CTD)
Embryo-fetal Development	Rat/ SD	Oral (0.4% (w/w) methylcellulose (400 cps) in distilled water)	GD6-17	Main: 5F (pregnant) TK: 3F (pregnant) (0 mg/kg/day), 6F (pregnant) (≥25 mg/kg/day)	0, 25, 50, 150, 300	Maternal: 50 Embryo-fetal: 25	**25 mg/kg/day** Slight reduction in maternal body weight gain and food consumption, slightly decreased fetal weight (female only) **50 mg/kg/day** Slight reduction in maternal body weight gain and food consumption, increased early resorption, increased fetal post-implantation loss/viable litter size, fetal malformations (edematous (whole body), absent of anus and tail). **150 mg/kg/day** Moderate decrease in maternal body weight gain and food consumption, decreased adjusted gravid uterine weight, decreased fetal weight, fetal malformations (omphalocele) **300 mg/kg/day** Hunched posture, unkempt and/or thin appearance. Excessive decrease in maternal body weight gain, body weight loss and food consumption, decreased adjusted gravid uterine weight, total litter loss (1F in main group and 2F in TK group), increased early resorption, increased fetal post-implantation loss/viable litter size, decreased fetal weight, fetal malformations (dome-shaped head). TK parameters (C_{max} and AUC_{0-24h}) of belumosudil, M1 and M2 are shown in 2.6.7.3.A (C_{max}) and 2.6.7.3.B (AUC_{0-24h}), respectively.	2420-004 (4.2.3.5.2-01)

SD= Sprague-Dawley, GD= Gestation day, F= Female, TK= toxicokinetics. No.= Number.

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

Study Type	Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing Period	Gender and No. per Group	Doses (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number (Location in CTD)
Embryo-fetal Development	Rabbit/ NZW	Oral (0.4% (w/w) methylcellulose (400 cps) in distilled water)	5 days	Main: 2F (no pregnant)	25/100, 50/200, 75/300, 125/400 Day 1-6/15-20 (dose escalation between 10 days interval)	Females: 200	**300 and 400 mg/kg/day** Slight body weight losses and decreased food consumption.	2420-005 (Part A) (4.2.3.5.2-03)
	Rabbit/ NZW	Oral (0.4% (w/w) methylcellulose (400 cps) in distilled water)	GD618	Main: 6F [a] (pregnant) TK: 4F [b] (pregnant)	0, 25, 50, 100, 250	Maternal: 50 Embryo-Fetal: 250	**100 and 250 mg/kg/day** Dose dependent decrease in maternal body weight gain, decreased food consumption, clinical signs (inappetence, faecal abnormalities, thin appearance). TK parameters (C_{max} and AUC_{0-24h}) of belumosudil, M1 and M2 are shown in 2.6.7.3.A (C_{max}) and 2.6.7.3.B (AUC_{0-24h}), respectively.	2420-005 (Part B) (4.2.3.5.2-03)

NZW= New Zealand White, GD= gestation day, F= female, TK= toxicokinetics, No.= Number.

a. One female in 100 mg/kg/day group and 2 females in 250 mg/kg/day were not pregnant.

b. One female in control group and 2 females in 250 mg/kg/day were not pregnant.

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

2.6.7.12.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Report Title: A Combination Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Sprague-Dawley Rats		**Test Article:** Belumosudil
Design Similar to ICH 4.1.1: Yes	**Dosing Period:** 70 days prior to pairing to euthanasia for males and 14 days prior to pairing to GD 7 for females.	**Study Number:** 2420-008
Species/Strain: Rat/ Sprague-Dawley	**Day of Mating:** Day 71 for the treated males, Day 15 for the treated females, following acclimation for the untreated animals, and after 70 days of dosing followed by a 77 day recovery period for the recovery males.	**Location in CTD:** 4.2.3.5.1-01
Initial Age: Approximately 7 to 10 weeks at receipt		**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: 15 [redacted] 20[redacted]	**Day of Cesarean Section:** GD 13	
Method of Administration: Oral gavage	**Vehicle/Control:** 0.4% (w/w) methylcellulose (400 cps) in distilled water	
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 50 mg/kg/day for General Toxicity, 150 mg/kg/day for ovarian and uterine parameters in females, 150 and 275 mg/kg/day for males fertility and females fertility.		

Gender	**Males**				**Females**			
Dose (mg/kg/day)	0	50	150	275	0	50	150	275
Toxicokinetics[a]:								
No. of Toxicokinetic Animals	3	10	10	10	3	10	10	10
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Analyte: Belumosudil								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BLLOQ	2170	5370	7200	BLLOQ	4540	5670	7050
Day 70 (Male) or 14 (Female)	BLLOQ	2480	10100	20400	BLLOQ	3200	9860	14900
AUC_{0-24} (hr•ng/mL)								
Day 1	NA	20100	81600	96400	NA	49200	95700	122000
Day 70 (Male) or 14 (Female)	NA	21600	70100	191000	NA	26200	99500	209000
Analyte: M1								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BLLOQ	934	1420	2820	BLLOQ	369	1050	2020
Day 70 (Male) or 14 (Female)	BLLOQ	770	1800	3350	BLLOQ	294	1260	2290
AUC_{0-24} (hr•ng/mL)								
Day 1	NA	10500	25600	35600	NA	5000	16100	24900
Day 70 (Male) or 14 (Female)	NA	8460	16200	44200	NA	3690	18200	37000
Analyte: M2								
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BLLOQ	501	686	1680	BLLOQ	135	398	925
Day 70 (Male) or 14 (Female)	BLLOQ	410	1070	1900	BLLOQ	125	523	1480
AUC_{0-24} (hr•ng/mL)								
Day 1	NA	5440	13600	21500	NA	2110	6860	11500
Day 70 (Male) or 14 (Female)	NA	4080	9520	28900	NA	1390	7110	20700

NA= Not applicable, No.= Number, BLLOQ= Below the lower limit of quantitation (< 10 ng/mL for Belumosudil, M1 and M2).

a. Group means are shown for treated groups; the control group was only analyzed for plasma concentration.

2.6.7.12.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：2420-008（続き）

Treated males mated with untreated females	**Treated group**				**Recovery group**			
Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	150	275	0 (Control)	50	150	275
No. of Evaluated Males	25	25	25	25	10	10	10	10
No. Died or Sacrificed Moribund	1[a]	1[a]	0	0	0	1[a]	0	0
Clinical Observations[b]								
Salivation	0/0	1/1	39/4	17/4	0/0	0/0	0/0	10/1
Feces few/absent	0/0	0/0	0/0	19/3	0/0	0/0	0/0	0/0
Thin	0/0	0/0	0/0	20/5	0/0	0/0	0/0	10/2
Body Weight (g) (%)[c]								
Premating								
Day 1	402.4	-4	-2	-6*	361.8	-2	+1	-2
Day 4	410.5	-5**	-4*	-9**	376.5	-3	-6*	-9**
Day 8	431.2	-6**	-7**	-13**	403.1	-4	-8**	-16**
Day 11	442.7	-6**	-8**	-14**	411.6	-3	-7*	-14**
Day 15	462.6	-6**	-8**	-15**	429.3	0	-6	-16**
Day 18	471.7	-6**	-9**	-16**	437.2	+1	-5	-15**
Day 22	491.1	-6**	-9**	-16**	453.6	+1	-5	-14**
Day 25	499.6	-7**	-10**	-16**	465.8	+2	-7	-15**
Day 29	513.8	-7**	-10**	-17**	488.6	+1	-6	-16**
Day 32	520.5	-6**	-10**	-17**	496.1	+2	-7	-14**
Day 36	530.6	-6**	-9**	-16**	510.7	+3	-8	-14**
Day 39	534.9	-5*	-9**	-17**	522.2	+2	-8	-16**
Day 43	539.6	-4	-8**	-16**	537.3	+1	-9*	-16**
Day 46	543.5	-3	-8**	-16**	545.0	+2	-10*	-16**
Day 50	547.7	-3	-7**	-15**	554.0	+2	-9*	-15**
Day 53	560.5	-5	-9**	-17**	562.3	+3	-9*	-16**
Day 57	568.8	-5*	-9**	-17**	569.8	+2	-9*	-15**
Day 60	573.2	-5*	-9**	-18**	574.7	+3	-9	-15**
Day 64	585.3	-5*	-9**	-18**	582.7	+3	-10*	-16**
Day 67	588.4	-5*	-10**	-18**	588.5	+2	-11*	-16**

No.= Number, "*"= p<0.05; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= p<0.01; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's)

a. One male in control group was found dead on Day 86. The cause of death for this animal was reported as urogenital inflammation/obstruction/calculi. Two males in 50 mg/kg/day were found dead on Day 12 or 169. Clinical findings were normal for both animal and no significant macroscopic findings were noted. No mortality was noted at 150 or 275 mg/kg/day; therefore, this death was considered unrelated to treatment.

b. Presented as total number of times observed/total number of animals affected.

c. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences.

2.6.7.12.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：2420-008（続き）

Treated males mated with untreated females	**Treated group**				**Recovery group**			
Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	150	275	0 (Control)	50	150	275
No. of Evaluated Males	25	25	25	25	10	10	10	10
Body Weight (g) (%)[a]								
Pairing for treated group								
Day 71	594.8	-5*	-10**	-18**	NA	NA	NA	NA
Day 74	587.9	-5	-10**	-17**	NA	NA	NA	NA
Day 78	599.8	-5*	-11**	-18**	NA	NA	NA	NA
Day 81	598.8	-5	-10**	-17**	NA	NA	NA	NA
Day 85	609.4	-6**	-11**	-19**	NA	NA	NA	NA
Day 88	614.8	-6**	-11**	-20**	NA	NA	NA	NA
Day 92	623.5	-6**	-12**	-20**	NA	NA	NA	NA
Postmating for treated group								
Day 95	631.2	-7**	-13**	-21**	NA	NA	NA	NA
Day 99	632.5	-7**	-13**	-22**	NA	NA	NA	NA
Day 102	638.1	-7**	-13**	-22**	NA	NA	NA	NA
Day 106	624.0	-4	-9**	-21**	NA	NA	NA	NA
Recovery Phase (Premating)								
Day 71	NA	NA	NA	NA	596.6	+2	-11*	-16**
Day 78	NA	NA	NA	NA	613.3	+1	-9	-14*
Day 85	NA	NA	NA	NA	625.8	+1	-8	-12*
Day 92	NA	NA	NA	NA	640.5	+2	-8	-11*
Day 99	NA	NA	NA	NA	645.8	+2	-8	-12*
Day 106	NA	NA	NA	NA	658.0	+2	-8	-11*
Day 113	NA	NA	NA	NA	663.4	+2	-8	-9
Recovery Phase (Paring)								
Day 162	NA	NA	NA	NA	701.3	+3	-6	-5
Recovery Phase (Postmating)								
Day 183	NA	NA	NA	NA	733.4	+3	-6	-4
Body Weight Change (g) (%)[a]								
Premating								
Day 1-4	8.2	-66	-83	-156**	14.7	-19	-155**	-178**
Day 4-8	20.7	-17	-65**	-93**	26.6	-18	-50*	-115**
Day 8-11	11.4	-14	-47*	-61**	8.5	+65	+66	+66
Day 11-15	19.9	-3	-11	-43	17.7	+61	+11	-57

NA= Not applicable, No.= Number, "*"= p<0.05; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= p<0.01; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's)

a. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.12.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：2420-008（続き）

Treated males mated with untreated females	**Treated group**				**Recovery group**			
Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	150	275	0 (Control)	50	150	275
No. of Evaluated Males	25	25	25	25	10	10	10	10
Body Weight Change (g) (%)[a]								
Premating								
Day 15-18	9.1	-25	-47	-44	7.9	+32	+78	+1
Day 18-22	19.4	-10	-20	-21	16.4	+2	-19	+27
Day 22-25	8.5	-40	-32	-29	12.2	+52	-57	-60
Day 25-29	14.2	-1	-25	-41*	22.8	-12	-4	-34
Day 29-32	6.8	+56	+29	-12	7.5	+16	-68	+115
Day 32-36	10.1	+2	+8	+9	14.6	+60	-19	-22
Day 36-39	4.3	+42	-19	-44	11.5	-58	-27	-74
Day 39-43	4.8	+123	+160*	+96	15.1	-17	-58*	-21
Day 43-46	3.9	+118	-21	-21	7.7	+12	-27	-57
Day 46-50	4.2	+21	+86	+74	9.0	+48	+32	+38
Day 50-53	12.8	-75	-91*	-103**	8.3	+23	-12	-49
Day 53-57	8.3	-41	-2	-18	7.5	-36	-15	+37
Day 57-60	4.4	-14	-43	-105*	4.9	+165*	-2	0
Day 60-64	12.1	-15	-17	-15	8.0	-46	-39	-59
Day 64-67	3.1	-16	-97	-19	5.8	-67	-148	-55
Day 1-67	186.0	-9	-26**	-43**	NA	NA	NA	NA
Day 67-71	6.4	+11	-55	-28	8.1	-21	-51	+6
Pairing								
Day 71-74	-6.8	-44	-56	-59	NA	NA	NA	NA
Day 74-78	11.8	-36	-47*	-46*	NA	NA	NA	NA
Day 78-81	-1.0	-510	-390	-320	NA	NA	NA	NA
Day 85-88	0.6	+600	+700	+317	NA	NA	NA	NA
Day 88-92	8.7	-18	-49	-47	NA	NA	NA	NA
Day 92-95	7.7	-49	-56	-83*	NA	NA	NA	NA

No.= Number, TK= Toxicokinetic, “*”= p<0.05; Pair-wise Comparisons (Levene’s/ANOVA-Dunnett’s/Welch’s), “**”= p<0.01; Pair-wise Comparisons (Levene’s/ANOVA-Dunnett’s/Welch’s)

a. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.12.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：2420-008（続き）

Treated males mated with untreated females	**Treated group**				**Recovery group**			
Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	150	275	0 (Control)	50	150	275
No. Evaluated Males	25	25	25	25	10	10	10	10
Body Weight Change (g) (%)[a]								
Postmating								
Day 95-99	1.3	-8	-346	-546**	NA	NA	NA	NA
Day 99-102	5.7	+35	+49	-51	NA	NA	NA	NA
Day 102-106	1.6	+300	+200	+381	NA	NA	NA	NA
Recovery Phase (Premating)								
Day 71-78	NA	NA	NA	NA	16.7	-45	+68	+59
Day 78-85	NA	NA	NA	NA	12.5	+38	+42	+56
Day 85-92	NA	NA	NA	NA	14.7	+16	+7	+38
Day 92-99	NA	NA	NA	NA	5.3	+9	-9	-130
Day 99-106	NA	NA	NA	NA	12.2	+9	+7	+74
Food Consumption (g/animal/day) (%)[a]								
Premating								
Week 1	27.11	-13**	-22**	-37**	27.84	-15**	-33**	-50**
Week 2	29.73	-10**	-18**	-32**	27.03	-5	-13	-47**
Week 3	29.24	-5	-14**	-31**	26.34	+1	-2	-42*
Week 4	31.71	-8	-13**	-28**	29.17	0	-12	-39**
Week 5	28.35	0	-6	-18**	29.24	-2	-7	-31**
Week 6	26.79	+4	+1	-10*	31.66	-7	-10	-29**
Week 7	26.10	+9	+5	-5	29.34	+2	-9	-21*
Week 8	27.65	+4	+2	-11*	29.70	+3	-7	-16*
Week 9	28.91	-4	-3	-15**	29.84	+4	-3	-14
Week 10	29.98	-2	-4	-14**	30.07	+2	-9	-11
Postmating								
Week 13	28.02	+1	+1	-7	NA	NA	NA	NA
Week 14	30.33	-5	-6	-15**	NA	NA	NA	NA
Week 15	28.75	0	-2	-10**	NA	NA	NA	NA
Recovery Phase	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-

NA= Not applicable, No.= Number, "-"= No Noteworthy findings, "*"= p<0.05; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= p<0.01; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's)

a. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.12.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：2420-008（続き）

Treated males mated with untreated females	**Treated group**				**Recovery group**			
Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	150	275	0 (Control)	50	150	275
No. of Evaluated Males	25	25	25	25	10	10	10	10
No. of Males Paired	25	24	25	25	10	10	10	10
No. of Males Mated	24	23	25	24	8	10	9	10
No. of Males Impregnating a Female	24	23	23	18	6	8	8	9
Male Mating Index (%)	96.0	95.8	100.0	96.0	80.0	100.0	90.0	100.0
Male Fertility Index (%)	96.0	95.8	92.0	72.0*	60.0	80.0	80.0	90.0
Male Fecundity Index (%)	100.0	100.0	92.0	75.0*	75.0	80.0	88.9	90.0
Females with Confirmed Mating Day	24	24	24	25	10	10	10	10
Mean Copulatory Interval (Days)	3.7	4.1	3.5	2.8	4.2	4.3	2.6	2.7
Necropsy Observations[a]								
Epididymis, left, Small								
- Mild	0	0	0	6	0	0	0	1
- Moderate	0	0	0	2	0	0	0	0
Epididymis, right, Small								
- Mild	0	0	0	2	0	0	0	1
- Moderate	0	0	0	3	0	0	0	0
Testes, left, Small								
- Mild	0	0	0	1	0	0	0	1
- Moderate	0	0	0	3	0	0	0	0
Testes, right, Small								
- Mild	0	0	0	1	0	0	0	1
- Moderate	0	0	0	3	0	0	0	0

No.= Number, "*"= $p<0.05$; Fisher's Exact Test.

a. Reported as number observed.

2.6.7.12.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：2420-008（続き）

Treated males mated with untreated females	**Treated group**				**Recovery group**			
Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	150	275	0 (Control)	50	150	275
No. of Evaluated Males	25	25	25	25	10	10	10	10
Organ Weights (%)[a]								
Number Examined	24	24	25	25	10	9	10	10
Epididymides - Absolute Weight (g)	1.503	-1	-6*	-27**	1.515	+3	+5	-8
-Organ weight to body weight	0.2364	+6	+8	-7	0.2083	0	+11	-4
Testes - Absolute Weight (g)	3.861	-2	-5	-18**	3.842	-1	0	-14*
-Organ weight to body weight	0.6067	+5	+9	+6	0.5283	-4	+6	-11
Microscopic Observations[b]								
Epididymis, left, Luminal cellular debris								
- Minimal	0	0	0	8	0	0	0	2
- Mild	0	0	0	9	0	0	0	1
Epididymis, left, reduced sperm								
- Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
- Mild	0	0	0	1	0	0	0	0
- Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
- Severe	0	0	0	4	0	0	0	1
Testes, left, Degeneration/atrophy, seminiferous tubules								
- Minimal	1	0	0	8	0	0	0	2
- Mild	0	0	0	3	0	0	0	1
- Moderate	0	0	0	1	0	0	0	0
- Severe	0	0	0	4	0	0	0	1
Sperm Evaluation[c]								
Sperm % motility	91.8	95.0	87.7	59.3##	94.1	97.8	96.3	92.6
Total Sperm Count per Cauda Epididymis x 10^8	3.352	3.235	3.250	1.696**	3.077	3.178	3.335	2.618
Sperm Concentration per gram Cauda Epididymis x 10^8	10.006	9.893	10.554	7.262**	9.254	9.051	9.266	8.483
% Abnormal	3.67	2.54	3.72	41.48##	1.60	2.39	1.25	4.11

No.= Number, "*"= p<0.05; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= p<0.01; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "##"= p<0.01; Arcsin-Square-Root Transformation

a. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.
b. Reported as number observed.
c. Group means are shown.

2.6.7.12.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：2420-008（続き）

Treated males mated with untreated females	**Treated group**				**Recovery group**			
Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	150	275	0 (Control)	50	150	275
Untreated females								
No. of Evaluated Females	25	25	25	25	10	10	10	10
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-				
Body Weight (g) (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight Change (g) (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (g/animal/day) (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Cesarean Section Observations								
No. Evaluated	25	25	25	25	10	10	10	10
No. Pregnant	25	24	23	19	8	8	9	9
No. Not Pregnant	0	1	2	6	2	2	1	1
No. Females with Viable Embryos on GD 13	24	24	22	19	8	8	9	9
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0	0	0	0	0
No. Pregnant with No Confirmed Mating Date	1	0	1	0	0	0	0	0
Mean No. Corpora Lutea	15.6	15.7	14.3	14.9	16.0	15.6	15.2	14.3
Mean No. Implantation Sites	13.9	13.3	12.9	11.6**	14.3	13.3	14.1	12.7
Mean % Preimplantation Loss	10.04	14.20	8.87	20.96	10.72	15.07	7.27	11.81
Mean No. Viable Embryos	13.3	12.6	12.3	11.1**	13.9	12.5	13.7	12.2
Mean % Postimplantation Loss	4.65	5.94	4.12	3.80	2.50	5.36	3.07	3.97
Mean No. Resorptions	0.7	0.8	0.5	0.5	0.4	0.8	0.4	0.4

GD= Gestation Day, No.= Number, "-"= No Noteworthy findings, "**"= $p<0.01$; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's)

2.6.7.12.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：2420-008（続き）

Treated Females Mated with Untreated Males				
Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	150	275
Untreated Males				
No. On Study	25	25	25	25
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Treated Females				
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Premating/Mating Clinical Observations[a]				
Feces discolored, tan	0/0	0/0	0/0	21/3
Feces few/absent	0/0	0/0	0/0	16/4
Thin	0/0	0/0	0/0	49/8
Gestation Clinical Observations[a]				
Thin	0/0	0/0	0/0	6/2
Premating Body Weight (g) (%)[b]				
Day 4	238.0	-2	-3*	-6**
Day 8	249.4	-3	-5**	-9**
Day 11	254.0	-2	-5**	-11**
Day 15	261.1	-2	-4*	-10**
Gestation Body Weight (g) (%)[b]				
GD 0	268.3	-2	-3	-9**
GD 4	291.4	-2	-5*	-12**
GD 7	301.0	-2	-5*	-13**
GD 10	315.0	-1	-3	-9**
GD 13	327.0	0	-1	-6**
Premating Body Weight Change (g) (%)[b]				
Day 1-4	5.0	-90	-168**	-296**
Day 4-8	11.3	-17	-44**	-70*
Day 8-11	4.6	+24	-9	-124
Day 11-15	7.2	-8	+35	+42
Day 1-15	28.1	-21	-40**	-90**

GD= Gestation Day, No.= Number, "*"= $p<0.05$; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= $p<0.01$; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's),

a. Presented as total number of times observed/total number of animals affected.

b. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.12.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：2420-008（続き）

Treated Females Mated with Untreated Males				
Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	150	275
No. Evaluated	25	25	25	25
Gestation Body Weight Change (g) (%)[a]				
GD 0-4	23.0	-4	-37**	-42**
GD 4-7	9.7	+11	-12	-61*
GD 7-10	13.9	+12	+42*	+72**
GD 10-13	12.1	+21	+54*	+93**
GD 0-7	32.7	0	-30**	-48**
GD 0-13	58.7	+7	+5	+10
Premating Food Consumption (g/animal/day) (%)[a]				
Week 1	19.51	-12**	-29**	-53**
Week 2	19.17	-4	-11	-34**
Gestation Food Consumption (g/animal/day) (%)[a]				
GD 0-4	22.63	-7	-15**	-32**
GD 4-7	23.70	0	-11*	-31**
GD 10-13	25.60	+7	+18**	+29**
GD 0-7	23.09	-4	-13*	-32**
GD 0-13	24.30	0	-3	-12**
Necropsy Observations	-	-	-	-
Organ Weights (%)	-	-	-	-
Mean Cycle Length (Days)	4.3	4.7	4.7	5.4**
No. of Cycles (Count)	2.4	2.3	2.3	2.1
No. Females Paired	25	25	25	25
No. Females Mated	25	25	25	25
No. Pregnant	25	25	25	24
Female Mating Index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
Female Fertility Index (%)	100.0	100.0	100.0	96.0
Female Fecundity Index (%)	100.0	100.0	100.0	96.0
No. of Females with Confirmed Mating Day	21	21	22	25
Mean Copulatory Interval (Days)	2.3	2.8	3.1	2.9

GD= Gestation Day, No.= Number, "-"= No Noteworthy findings, "*"= $p<0.05$; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= $p<0.01$; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's),

a. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.12.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：2420-008（続き）

Treated Females Mated with Untreated Males				
Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	150	275
No. Evaluated	25	25	25	25
Cesarean Section Observations				
No. Evaluated	25	25	25	25
No. Not Pregnant	0	0	0	1
No. Pregnant	25	25	25	24
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	2
No. Females with Viable Embryos on GD 13	21	21	22	22
No. Pregnant with No Confirmed Mating Date	4	4	3	0
Mean No. Corpora Lutea	17.7	17.2	16.0	15.0**
Mean No. Implantation Sites	13.6	15.6	14.6	13.1
Mean % Preimplantation Loss	22.18	8.75	8.30	14.12
Mean No. Viable Embryos	13.1	14.9	13.5	10.3
Mean % Postimplantation Loss	3.55	4.20	8.44	19.42##
Mean No. Resorptions	0.5	0.7	1.1	2.8*

GD= Gestation Day, No.= Number, "*"= p<0.05; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= p<0.01; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "##"= p<0.01; Arcsin-Square-Root Transformation

2.6.7.13 生殖発生毒性試験ー胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する試験

Report Title: KD025: An Embryo-Fetal Developmental Toxicity Study in Sprague-Dawley Rats with a Toxicokinetic Evaluation		**Test Article:** Belumosudil
Design Similar to ICH 4.1.3: Yes	**Dosing Period:** GD 6 to 17	**Study Number:** 2420-006
Species/Strain: Rat/ Sprague-Dawley	**Day of Mating:** GD 0	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2-02
Initial Age: Approximately 8 to 10 weeks at receipt (mated female)	**Day of Cesarean Section:** GD 20	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: 22 [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	
Vehicle/Control: 0.4% (w/w) methylcellulose (400 cps) in distilled water		
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: 15 mg/kg/day for Maternal toxicity and 50 mg/kg/day for Developmental toxicity.		

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	15	50	150
Toxicokinetics[a]:				
Maternal Females				
No. of Toxicokinetic Animals	3	10	10	10
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Analyte: Belumosudil				
C_{max} (ng/mL)				
GD 6	BLLOQ	1530	3000	5150
GD 17	BLLOQ	1320	4360	7800
AUC_{0-24} (hr•ng/mL)				
GD 6	NA	9750	37700	89400
GD 17	NA	11900	33300	88300
Analyte: M1				
C_{max} (ng/mL)				
GD 6	BLLOQ	152	349	955
GD 17	BLLOQ	93.3	434	1310
AUC_{0-24} (hr•ng/mL)				
GD 6	NA	978	5040	16400
GD 17	NA	948	4780	16600
Analyte: M2				
C_{max} (ng/mL)				
GD 6	BLLOQ	76.2	191	519
GD 17	BLLOQ	55.6	350	972
AUC_{0-24} (hr•ng/mL)				
GD 6	NA	515	3050	10500
GD 17	NA	572	3580	11100

GD= Gestation Day, NA= Not applicable, No.= Number. BLLOQ= Below the lower limit of quantitation (< 10 ng/mL for Belumosudil, M1 and M2).

a. Group means are shown for treated groups; the control group was only analyzed for plasma concentration.

2.6.7.13.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する試験：2420-006（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	15	50	150
Main Study:				
Maternal Females				
No. of Main Study Animals	25	25	25	25[a]
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1[a]
No. of evaluated Main Study Animals	25	25	25	20
Clinical Observations	-	-	-	-
Gestation Body Weight[c] (g) (%)				
GD 9	236.4	-2	-5*	-9**
GD 12	262.3	-2	-6**	-12**
GD 15	279.3	-2	-6**	-13**
GD 18	320.7	-2	-7**	-14**
GD 20	355.8	-2	-6**	-11**
Gestation Body Weight Change[c] (g) (%)				
GD 6-9	13.3	-25	-53**	-132**
GD 9-12	25.9	-2	-20*	-37**
GD 12-15	17.0	-7	-5	-30*
GD 15-18	41.4	+3	-14**	-24**
GD 18-20	35.1	-3	+6	+19**
GD 6-18	97.6	-4	-19**	-43**
GD 6-20	132.7	-4	-13**	-27**
Gestation Food Consumption[c] (g/animal/GD) (%)				
GD 6-9	20.3	-6	-24**	-51**
GD 9-12	23.0	-2	-13**	-32**
GD 12-15	24.7	-6	-15**	-34**
GD 15-18	26.6	-3	-11**	-27**
GD 18-20	27.9	-2	+4	+5
GD 6-18	23.7	-5	-16**	-35**
GD 6-20	24.3	-5	-12**	-28**
Gravid Uterine - Absolute Weight[d] (g)	69.3	71.0	68.8	64.3
- Adjusted Final Body Weight[d] (g)	286.5	278.5	266.4**	252.7**
- Adjusted Body Weight Change[d] (g)	63.4	56.8	47.1**	32.8**
Necropsy Observations	-	-	-	-

GD= Gestation Day, No.= Number, "-"= No Noteworthy findings, "*"= p<0.05; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= p<0.01; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's)

a. Five animals, including one euthanized female *in extremis,* in 150 mg/kg/day group were excluded from the group mean data due to suspected gavage injuries.
b. One female was euthanized moribund on GD15 duo to suspected gavage injuries. Discolored feces, cold skin to touch, pale skin and thin were observed before the euthanization.
c. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.
d. Group means are shown.

2.6.7.13.A ラットを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する試験：2420-006（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	15	50	150
Maternal Females				
No. of Main Study Animals	25	25	25	25[a]
Cesarean Section Observations[b]				
No. Evaluated	25	25	25	20
No. Pregnant	25	25	25	20
Pregnancy Index (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
No. Females with Viable Fetuses on GD 20	25	25	25	20
Mean No. Corpora Lutea	13.2	13.3	13.4	12.7
Mean No. Implantation Sites	12.0	12.1	12.2	11.9
Mean % Preimplantation Loss	7.89	8.54	8.21	6.87
Mean No. Viable Fetuses	11.2	11.6	11.5	11.3
Mean Fetal Sex Ratio (% Males)	45.5	50.6	48.7	50.9
Mean % Postimplantation Loss	6.97	3.91	5.96	4.88
Mean No. Nonviable Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Litter Size (Mean No. per Animal)	11.2	11.6	11.5	11.3
Mean No. Early + Late Resorptions	0.8	0.5	0.7	0.6
Mean No. Early Resorptions	0.8	0.4	0.7	0.6
Mean No. Late Resorptions	0.0	0.0	0.0	0.0
Fetuses				
No. Litters/Fetuses Evaluated	25/279	25/290	25/287	20/225
Mean Fetal Body Weight (Least Square Mean)[b] (g)				
Males	4.25	4.19	4.19	3.91**
Females	4.03	4.00	3.94	3.72**
Males + Females	4.12	4.10	4.06	3.82**
Fetal Observations				
External Malformations and Variations	-	-	-	-
Visceral Malformations and Variations	-	-	-	-
Skeletal Malformations and Variations	-	-	-	-

GD= Gestation Day, No.= Number, "-"= No Noteworthy findings, "**"= p<0.01; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's)

a. Five animals, including one euthanized female *in extremis,* in 150 mg/kg/day group were excluded from the group mean data due to suspected gavage injuries.

b. Group means are shown.

2.6.7.13.B ウサギを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する試験

Report Title: KD025: An Embryo-Fetal Developmental Toxicity Study in New Zealand White Rabbits with a Toxicokinetic Evaluation		**Test Article:** Belumosudil
Design Similar to ICH 4.1.3: Yes	**Dosing Period:** GD 6 to 18	**Study Number:** 2420-007
Species/Strain: Rabbit/ New Zealand White Hra	**Day of Mating:** GD 0	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2-04
Initial Age: Approximately 5.5 months at receipt (mated female)	**Day of Cesarean Section:** GD 29	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: 19 [redacted] 20 [redacted]	**Method of Administration:** Oral gavage	
Vehicle/Control: 0.4% (w/w) methylcellulose (400 cps) in distilled water		
Special Features: None		
No Observed Adverse Effect Level: Maternal and developmental toxicity: 50 mg/kg/day		

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	125	225
Toxicokinetics[a]:				
Maternal Females				
No. of Toxicokinetic Animals	4	5	5	5
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Analyte: Belumosudil				
C_{max} (ng/mL)				
GD 6	BLLOQ	919	3030	4140
GD 18	BLLOQ	437	1670	2580
AUC_{0-24} (hr•ng/mL)				
GD 6	NA	3870	21400	55700
GD 18	NA	1590	9290	23500
Analyte: M1				
C_{max} (ng/mL)				
GD 6	BLLOQ	750	1250	1790
GD 18	BLLOQ	569	1350	1680
AUC_{0-24} (hr•ng/mL)				
GD 6	NA	2470	7490	21300
GD 18	NA	1220	5740	14800
Analyte: M2				
C_{max} (ng/mL)				
GD 6	BLLOQ	1170	2180	3190
GD 18	BLLOQ	1120	3610	4620
AUC_{0-24} (hr•ng/mL)				
GD 6	NA	4180	13600	42400
GD 18	NA	2470	16700	41500

GD= Gestation Day, NA= Not applicable, No.= Number, BLLOQ= Below the lower limit of quantitation (< 10 ng/mL for Belumosudil, M1 and M2).

a. Group means are shown for treated groups; the control group was only analyzed for plasma concentration.

2.6.7.13.B ウサギを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する試験：2420-007（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	125	225
Main Study:				
Maternal Females				
No. of Main Study Animals	23	23	23	23
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1
No. Aborted	0	0	1	1
Clinical Observations[a]				
Material in pan/bedding, Red	0/0	0/0	2/1	2/2
Thin	0/0	0/0	0/0	38/5
Gestation Body Weight[b] **(kg) (%)**				
GD 10	3.320	0	-3	-6**
GD 13	3.383	0	-4	-8**
GD 16	3.463	0	-5	-9**
GD 19	3.524	-1	-5	-8**
GD 21	3.575	-1	-4	-7*
Gestation Body Weight Change[b] **(kg) (%)**				
GD 6-10	0.043	-30	-184**	-472**
GD 10-13	0.063	-14	-52	-98**
GD 13-16	0.079	+15	-75*	-58*
GD 19-21	0.050	-24	+28	+116*
GD 21-25	0.063	+41	+48	+100**
GD 25-29	0.025	+96	+236**	+140
GD 6-19	0.247	-16	-68**	-117**
GD 19-29	0.138	+27	+75**	+113**
GD 0-29	0.607	-2	-9	-24**
Gestation Food Consumption[b] **(g/animal/day) (%)**				
GD 6-10	159.5	-6	-26**	-62**
GD 10-13	153.4	-9	-35**	-53**
GD 13-16	148.2	-13	-50**	-47**
GD 16-19	163.3	-8	-29**	-34**
GD 21-25	138.9	+1	+13*	+16**
GD 25-29	108.8	+14	+26**	+37**
GD 6-19	156.4	-9	-34**	-50**
GD 19-29	131.8	+3	+14*	+18**
GD 0-29	145.7	-3	-12*	-18**

GD= Gestation Day, NA= Not applicable, No.= Number. "-"= No Noteworthy findings, "*"= $p<0.05$; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= $p<0.01$; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's)

a. Presented as total number of times observed/total number of animals affected.

b. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data not on the percent differences. All percent difference values are rounded to the nearest whole number.

2.6.7.13.B ウサギを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する試験：2420-007（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	125	225
Maternal Females				
No. of Main Study Animals	23	23	23	23
Gravid Uterine - Absolute Weight[a] (kg)	0.475	0.471	0.465	0.449
- Adjusted Final Body Weight[a] (kg)	3.188	3.197	3.132	3.096
- Adjusted Body Weight Change[a] (kg)	0.132	0.121	0.090	0.034
Necropsy Observations	-	-	-	-
Cesarean Section Observations[a]				
No. Evaluated	23	23	23	23
No. Not Pregnant	0	1	3	0
No. Pregnant	23	22	20	23
Pregnancy Index (%)	100.0	95.7	87.0	100.0
No. Died Pregnant	0	0	0	1
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	1	3
No. Females with Viable Fetuses on GD 29	23	22	19	19
Mean No. Corpora Lutea	9.3	9.2	9.9	9.8
Mean No. Implantation Sites	8.7	8.7	8.7	8.9
Mean % Preimplantation Loss	6.04	5.64	11.97	8.71
Mean No. Viable Fetuses	8.4	8.5	8.0	7.4
Mean Fetal Sex Ratio (% Males)	55.4	52.2	50.7	54.4
Mean % Postimplantation Loss	4.07	2.42	7.42	17.72
Mean No. Nonviable Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Litter Size (Mean No. per Animal)	8.4	8.5	8.0	7.4
Mean No. Early + Late Resorptions	0.3	0.2	0.7	1.5*
Mean No. Early Resorptions	0.3	0.2	0.5	1.4*
Mean No. Late Resorptions	0.1	0.0	0.2	0.0
Fetuses				
No. Litters/Fetuses Evaluated	23/193	22/186	19/152	19/156
Mean Fetal Body Weight (Least Square Mean)[a] (g)				
Males	42.05	41.64	41.61	38.92*
Females	39.24	40.25	41.14	38.94
Males + Females	40.96	40.97	41.09	38.60

GD= Gestation Day, NA= Not applicable, No.= Number. "-"= No Noteworthy findings, "*"= $p<0.05$; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's), "**"= $p<0.01$; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's)

a. Group means are shown.

2.6.7.13.B ウサギを用いたベルモスジルの経口投与による胚・胎児発生に関する試験：2420-007（続き）

Dose (mg/kg/day)	0 (Control)	50	125	225
Fetal Observations				
No. Litters/Fetuses Evaluated	23/193	22/186	19/152	19/156
External Malformation				
Tail, Entire, Short				
No. Litters (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (10.5)
No. Fetuses (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (3.2)
External Variations				
Tail, tail bent				
No. Litters (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.3)
No. Fetuses (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.3)
Visceral Malformations or Variations	-	-	-	-
Skeletal Malformations				
Rib(s), Branched				
No. Litters (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.3)	4 (21.1)*
No. Fetuses (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	4 (2.6)
Rib(s), Fused				
No. Litters (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (15.8)
No. Fetuses (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (2.6)
Rib(s), Misshapen				
No. Litters (%)	1 (4.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (15.8)
No. Fetuses (%)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.9)
Sternum, Sternebra(e), Fused				
No. Litters (%)	1 (4.3)	4 (18.2)	2 (10.5)	6 (31.6)
No. Fetuses (%)	1 (0.5)	6 (3.2)	6 (3.9)	7 (4.5)
Thoracic Vertebra(e), Neural arch(es), Fused				
No. Litters (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (10.5)
No. Fetuses (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.9)
Thoracic Vertebra(e), Neural arch(es), Misaligned				
No. Litters (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.3)	2 (10.5)
No. Fetuses (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.7)	2 (1.3)
Thoracic Vertebra(e), Neural arch(es), Misshapen				
No. Litters (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (21.1)*
No. Fetuses (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (2.6)
Skeletal Variations				
Cervical Vertebra(e), Centra, Hemicentric				
No. Litters (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (21.1)*
No. Fetuses (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (2.6)
Sternum, Sternebra(e), Extra				
No. Litters (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (21.1)*
No. Fetuses (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (4.5)

No.= Number, "-"= No Noteworthy findings, "*"= $p<0.05$; Pair-wise Comparisons (Levene's/ANOVA-Dunnett's/Welch's)

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

該当なし

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当なし

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当なし

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17.A 光毒性試験

Test Article: Belumosudil

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle)	Duration of Dosing	Concentrations	GLP compliance	Noteworthy Findings	Study Number (Location in CTD)
UV and Visible Light Absorption (290 to 700 nm)	In vitro	NA	NA	Prepared concentrations to measure absorption spectra: 0.000977, 0.00195, 0.00391, 0.00781, 0.0156, 0.031253, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5 and 1 mmol/L The evaluated concentration: 0.125 mml/L	No	Belumosudil was concluded to have absorption between 290 and 370 nm with a peak molar extinction coefficient of 10743 L mol^{-1} cm^{-1}	20082808 (4.2.3.7.7-01)
Neutral Red Uptake In Vitro Phototoxicity	BALB/c Mouse 3T3 Cells	NA	NA	Range-finding assay: 0.03, 0.1, 0.3, 1.0, 3.2, 10.0, 31.7 and 100 µg/mL Definitive assays: 0.056, 0.100, 0.178, 0.316, 0.562, 1.00, 1.78 and 3.16 µg/mL	Yes	No cytotoxicity (IC_{50} without UVR) was noted up to 3.16 µg/mL. Photoxicity (IC_{50} with UVR) was 0.698 and 0.636 µg/mL and PIF was 4.529 and 4.967 in definitive assay 1 and 2, respectively. MPE of Belumosudil was 0.243 and 0.344 in definitive assays 1 and 2, respectively, and belumosudil was concluded to have in vitro phototoxic potential. All OECD 432-recommended cell survival (89, 86 and 88) and OD_{540} (0.723, 0.732 and 0.762) criteria were met for Promethazine, Definitive assay 1 and 2. In addition, promethazine cytotoxicity (81.333 µg/mL), phototoxicity (1.417 µg/mL), PIF (57.582) and MPE (0.477) criteria were met, indicating that the assays were valid.	20082809 (4.2.3.7.7-02)

UVR= ultra violet ray, NA= Not applicable. MPE= Mean Photo Effect, PIF= Photoirritancy Factor.
The criterion for phototoxicity is PIF > 5 or MPE > 0.15.
UVR Percent Survival: OECD criterion is > 80%.
OD_{540}: OECD criterion is ≥ 0.400