目次

2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 6
2.6.6.3 反復投与毒性試験 8
2.6.6.4 遺伝毒性試験 25
2.6.6.5 がん原性試験 28
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 28
2.6.6.7 局所刺激性試験 31
2.6.6.8 その他の毒性試験 33
2.6.6.9 考察及び結論 38
2.6.6.10 図表 43
2.6.6.11 参考文献 44
2.6.7 毒性試験概要表 1

略号一覧表

略号又は略称	名称及び内容
α1-AGP	α1 酸性糖タンパク質（α1-acid glycoprotein）
ALP	アルカリホスファターゼ（alkaline phosphatase）
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ（alanine aminotransferase）
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間（activated partial thromboplastin time）
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（aspartate aminotransferase）
BCOP	ウシ摘出角膜の混濁度及び透過性（bovine corneal opacity-permeability）
BID	1 日 2 回［bis in die（twice a day）］
BSEP	胆汁酸塩排出ポンプ（bile salt export pump）
CTx	I 型コラーゲンの C 末端テロペプチド（C-terminal telopeptide of type I collagen）
CYP	チトクロム P450（cytochrome P450）
DEXA	二重エネルギーX 線吸収測定（dual-energy X-ray absorptiometry）
DMSO	ジメチルスルホキシド（dimethyl sulfoxide）
ECG	心電図（electrocardiogram）
F	雌（female）
FDA	米国食品医薬品局（Food and Drug Administration）
FGF23	線維芽細胞成長因子 23（fibroblast growth factor 23）
FGFR	線維芽細胞成長因子受容体（fibroblast growth factor receptor）
GGT	γ グルタミン酸転移酵素（gamma glutamyl transferase）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice）
HET-CAM	受精鶏卵漿尿膜試験（hen’s egg test – chorioallantoic membrane）
HP-β-CD	ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（hydroxypropyl-β-cyclodextrin）
ICH	医薬品規制調和国際会議（International Conference on Harmonization）
IV	静脈内（intravenous）
M	雄（male）
MDR1	多剤耐性タンパク質 1（multidrug-resistant protein 1）
mRNA	メッセンジャーリボ核酸（messenger ribonucleic acid）
MRP3	多剤耐性関連タンパク質 3（multidrug-resistance associated protein 3）
NADPH	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（リン酸）［nicotinamide adenine dinucleotide (phosphate)］
NMOR	メナジオン酸化還元酵素［NAD(P)H menadione oxidoreductase］
NOAEL	無毒性量（no observed adverse effect level）
NTx	I 型コラーゲンの N 末端テロペプチド（N-terminal telopeptide of type I collagen）
OECD	経済協力開発機構（Organization for Economic Co-operation and Development）
P-gp	P-糖タンパク質（P-glycoprotein）
PT	プロトロンビン時間（prothrombin time）
PIF	光毒性係数（photo irritation factor）
PTH	副甲状腺ホルモン（parathyroid hormone）
QD	1 日 1 回［quaque die（once a day）］
RPD	相対的細胞集団倍加（relative population doubling）

用語の定義

AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC_{inf}	0 時間から無限時間までの終末相外挿による AUC
AUC_{last}	0 時間から定量可能な濃度が得られた最終時点までの AUC
$AUC_{t1\text{-}t2}$	特定の 2 時点間（例えば 0～24 時間）の AUC
C_{max}	最高血漿中濃度
IC_{50}	50%阻害濃度

2.6.6 毒性試験の概要文

JNJ-42756493（以下，エルダフィチニブ）は，線維芽細胞成長因子受容体（FGFR）チロシンキナーゼに作用する阻害剤であり，尿路上皮癌を含む特定の FGFR 遺伝子異常を有する進行がんの治療を目的に開発された薬剤である。

2.6.6.1 まとめ

非臨床開発プログラムは，医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」に従って実施した。エルダフィチニブの毒性試験として，マウスを用いた 2 週間の忍容性試験，ラット及びイヌを用いた最長 3 カ月間の単回及び反復経口投与毒性試験，*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験，ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験，*in vitro* 及び *in vivo* 光毒性試験，並びにラットを用いた軟組織鉱質沈着の発現機序に関する試験を実施した。エルダフィチニブの FGFR 阻害作用により，リン酸塩ホメオスタシス及び骨に影響が及ぶことが予測されたため，一般毒性試験で通常測定する血清中無機リン及びカルシウムに加えて，リン酸塩ホメオスタシス及び骨代謝バイオマーカーである血清中線維芽細胞成長因子 23（FGF23），1,25-ジヒドロキシビタミン D_3，副甲状腺ホルモン（PTH）及び I 型コラーゲンの C 末端テロペプチドと N 末端テロペプチド（CTx 及び NTx），並びに尿中デオキシピリジノリンを測定した。また，エルダフィチニブに関連した毒性の回復性を評価するために，ラット及びイヌを用いた 1 カ月間反復投与毒性試験で 1 カ月間の休薬期間を設けた。さらに間欠投与による毒性への影響を評価するため，連日投与群に加え，イヌを用いた 2 週間反復投与毒性試験では隔日投与群，ラット及びイヌを用いた 1 カ月間反復経口投与毒性試験では週 2 回投与群，並びにラット及びイヌを用いた 3 カ月間反復経口投与毒性試験では 7 日間投与／7 日間休薬群を設定した。作業者の安全性に関する情報を得るため，エルダフィチニブの局所適用時の皮膚感作性についてマウスを用いた局所リンパ節試験で，眼への刺激性を *in vitro* ウシ摘出角膜の混濁度及び透過性（BCOP）アッセイで評価した。^{13}C 標識エルダフィチニブの健康被検者への静脈内（IV）投与の安全性を裏付けるため，*in vitro* 受精鶏卵漿尿膜試験（HET-CAM）で血管刺激性を評価した。製剤に認められた分解生成物の安全性を確認するため，ラットを用いた 1 カ月間反復投与試験を実施した。

エルダフィチニブの非臨床安全性評価はラット及びイヌを用いて実施した。ラット及びイヌは，FGFR 阻害による薬理学的及び毒性学的な影響を評価可能なことが確認されており，エルダフィチニブの代謝プロファイルがヒトと類似していることから，適切な動物種であると考えられた。

重要な毒性試験は，米国食品医薬品局（FDA）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施に関する基準（GLP）（21 CFR Part 58）及び経済協力開発機構（OECD）加盟国における OECD の GLP 原則（指令 2004/10/EC）を遵守して実施された。GLP 適用，原薬ロット番号及び試験施設の場所についての情報を含む非臨床毒性試験の概要を毒性概要表【2.6.7.1】に示す。

In vivo 試験では，20%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（HP-β-CD）を媒体として使用し，エルダフィチニブ溶液として投与した。例外として，ラットを用いた単回投与毒性及び遺伝毒性試験の高用量（≥250 mg/kg）では，0.5%メトセルを媒体として使用し，高濃度

（≥25 mg/mL）のエルダフィチニブ懸濁液として投与した。いずれの試験もエルダフィチニブの遊離塩基（JNJ-42756493-AAA）を用いた。

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

ラット及びイヌを用いた単回経口投与毒性試験における概略の致死量は，ラットで 1000 mg/kg 超，イヌで 45 mg/kg 超であった。

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

反復経口投与毒性試験において，エルダフィチニブをラット及びイヌに最長 3 カ月間反復投与した。また，マウスを用いた 2 週間忍容性試験を実施した。

ラット及びイヌにエルダフィチニブを反復経口投与したときの主な所見は，エルダフィチニブの薬理作用である FGFR 阻害によるリン酸塩ホメオスタシスの異常に関連するものであり，FGFR 阻害薬共通のクラス効果と考えられた。リン酸塩ホメオスタシスの異常による影響として，ラット及びイヌで軟組織鉱質沈着及び骨端軟骨又は軟骨の異形成を伴う成長板の肥厚が認められた。軟組織鉱質沈着及び軟骨異形成はマウスを用いた 2 週間忍容性試験でも認められた。軟組織鉱質沈着は心臓及び大動脈を含む複数の器官で認められ，無機リン，FGF23，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 及びカルシウムの血清中濃度の増加を伴っていた。毒性発現機序に関する試験で，ラットにリン吸着薬であるセベラマーを添加した飼料を与えたところ，軟組織鉱質沈着の発現頻度及び／又は重症度が低下した。軟骨異形成は，胸骨及び大腿骨を含む複数の骨の成長板又は軟骨結合部で認められ，それによりラットでは歩行異常及び胸骨／尾部変形が認められた。ラットでは鼻部上顎縫合部の軟骨化生も認められた。骨の病理組織学的所見と共に，骨代謝バイオマーカーであるデオキシピリジノリン，CTx（ラット）又は NTx（イヌ）などの上昇が認められた。ラット及びイヌでは，歯の象牙質異常も認められた。1 カ月間反復投与毒性試験では雄ラットで乳腺萎縮が認められ，3 カ月間反復投与毒性試験では乳腺に加えて他の腺組織及び上皮の萎縮が認められた。ラットでは舌及び口腔粘膜上皮，眼窩外涙腺，ハーダー腺，唾液腺，並びに乳腺の萎縮が認められ，イヌでは舌及び口腔粘膜上皮，耳下腺及び涙腺の萎縮が認められた。さらに眼でも，角膜上皮の萎縮（ラット）及び涙腺の萎縮（ラット及びイヌ）が認められた。ラット及びイヌを用いた 3 カ月間試験では被毛（立毛，粗毛，菲薄化又は局所脱毛）の変化及び爪の伸長又は損傷が認められた。

非臨床試験では 1 日 1 回（QD）投与と比べて間欠投与で毒性プロファイルの改善は認められなかった。ラット及びイヌを用いた 1 カ月間反復投与毒性試験で認められた軟組織鉱質沈着（イヌの大動脈における鉱質沈着を除く）及び軟骨異形成，並びにラットでの乳腺萎縮は，その後の 1 カ月間回復期間終了時に部分的～完全に回復していた。3 カ月間反復投与毒性試験では回復期間を設けていなかったため，3 カ月間反復投与後のみで認められた所見（眼に関連した変化，舌及び口腔粘膜の萎縮，並びに爪及び被毛の変化など）の回復性は評価できなかった。

ラットを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験では，エルダフィチニブを 4 及び 8 mg/kg/日 QD の連日投与若しくは 16 及び 32 mg/kg/日で 7 日間投与／7 日間休薬を間欠的に投与した。無毒性量（NOAEL）は，雄で 4 mg/kg/日 QD，雌で 4 mg/kg/日 QD 未満であった。ラットを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験終了時の雄及び雌の平均 $AUC_{0\text{-}24h}$ は，4 mg/kg/日でそれぞれ 26.3 及び 45.2 ng·h/mL，8 mg/kg/日でそれぞれ 99.8 及び 231 ng·h/mL であった。被験物質に関連のある死亡

は，32 mg/kg 間欠投与の 5 週目及びラットを用いた短期（2 週間）試験の 100 mg/kg/日 QD 以上で認められた。

イヌを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験では，エルダフィチニブを 0.5 及び 0.75 mg/kg/日 QD の連日投与若しくは 1.5 mg/kg/日で 7 日間投与／7 日間休薬にて間欠的に投与した。NOAEL は 0.5 mg/kg/日 QD 未満であった。イヌを用いた 3 カ月間試験終了時の雄及び雌の平均 AUC 値は，0.5 mg/kg/日でそれぞれ 172 及び 92 ng·h/mL，0.75 mg/kg/日でそれぞれ 394 及び 213 ng·h/mL であった。イヌを用いた短期（5 日間又は 2 週間）試験では，5 mg/kg/日 QD 以上の投与量で一般状態悪化のためイヌを早期に安楽死させた。

動物では血清中無機リンの増加が軟組織鉱質沈着による重度の毒性発現よりも先行し，高リン血症の認められないラット及びイヌでは毒性学的に意義のある軟組織鉱質沈着は認められなかった。ラット及びイヌで認められた毒性所見の大部分は部分的～完全に回復した。ラット及びイヌを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験で，最高投与量での動物のヒトに対する曝露量比は低い（日本人，非日本人とも≤1）が，毒性所見の性質，重要なバイオマーカーがモニタリング可能であること及び回復の可能性を考慮すると，進行がん患者に対しては許容可能と考えられる。

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた *in vitro* 復帰突然変異（Ames）試験，ヒト由来の TK6 細胞を用いた *in vitro* 小核試験及びラットを用いた *in vivo* 小核試験で検討した結果，エルダフィチニブに遺伝毒性は認められなかった。

2.6.6.1.4 生殖発生毒性試験

ラットを用いた胚・胎児発生に関する毒性試験では，エルダフィチニブ 4 mg/kg/日以上の投与量で催奇形性及び胎児毒性があることが示された。催奇形性の特徴として，四肢の欠損及び大動脈を含む主要血管の形態異常が認められた。4 mg/kg/日群の妊娠 17 日目の母動物の平均 C_{max} 及び AUC 値はそれぞれ 10.0 ng/mL 及び 24.1 ng·h/mL であり，臨床用量（4 mg QD～9 mg QD）での曝露量よりも低値であった。

2.6.6.1.5 その他の毒性試験

エルダフィチニブは Balb/c マウス 3T3 線維芽細胞を用いた *in vitro* ニュートラルレッドアッセイにおいて光毒性陽性を示したが，有色ラットを用いた光毒性試験では皮膚光毒性の所見は認められなかった。マウスでの局所リンパ節試験において，エルダフィチニブは皮膚感作性があることが示された。*In vitro* BCOP 眼刺激性試験において，高濃度［20%（w/w）］のエルダフィチニブは極めて強い眼刺激性物質に分類された。標準 *in vitro* HET-CAM 試験において，エルダフィチニブは 0.02～0.5 mg/mL の濃度で血管刺激性を示さなかった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

ラット及びイヌを用いた忍容性試験の単回投与相において，エルダフィチニブの急性毒性を評価した。また，ラットを用いた小核試験のための用量設定試験において，高用量の単回投与後に急性毒性を評価した。検査項目は，死亡，一般状態観察，体重，血液生化学的検査（イヌの

み），血液学的検査及びトキシコキネティクスとした。ラット及びイヌでのエルダフィチニブの最大非致死及び／又は最小致死量を表 2.6.6-1 に示す。

表 2.6.6-1 経口投与によるエルダフィチニブの急性毒性

Species	Gender	Maximum Nonlethal Dose	Minimal Lethal Dose
Rat	M	1000 mg/kg	2000 mg/kg
Dog	M and F	45 mg/kg	>45 mg/kg

F = female; M = male

2.6.6.2.1 ラット単回経口投与毒性試験（TOX9501 及び TOX10881，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.1.1，4.2.3.1.2】

雄ラット（1 群各 6 例）にエルダフィチニブ溶液を 0（溶媒：20% HP-β-CD），50，100 及び 200 mg/kg の用量で単回強制経口投与した。100 mg/kg 投与では，投与後 5 日にエルダフィチニブ懸濁液（溶媒：0.5%メトセル）を 1000 mg/kg の用量で 2 回目の単回強制経口投与を行った【2.6.7.6】。

いずれの投与群でも死亡は認められず，ラットにおける最大非致死量は高用量の 1000 mg/kg であった。200 mg/kg 以上で軽度な体重減少が認められた。1000 mg/kg の 4 例で投与後 1 時間以内に流涎が現れ，1 例で投与 1～6 時間後に可聴レベルの呼吸音が認められた。投与後 2 日に大部分のラットで四肢，耳介及び尿の軽微な黄色化（6 例），並びに眼瞼裂の狭小化（5 例）が認められ，1 例では紅涙を示した。トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-2 に示す。

表 2.6.6-2 雄ラットを用いたエルダフィチニブの単回投与毒性試験における トキシコキネティクスデータ（平均値）

Dose (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{inf} (ng·h/mL)
50	375	3677
100	853	7514
200	1077	12533
1000	5777	95036[a]

[a] $AUC_{0\text{-}24h}$ (AUC_{inf} was not calculated because >25% extrapolation)
n = 1, 3 or 6

雌雄ラット（1 群各 3 例）にエルダフィチニブ懸濁液を 250，500，1000 及び 2000 mg/kg の用量で 2 回強制経口投与した小核試験のための用量設定試験で急性毒性を評価した【2.6.7.9A】。初回投与の 24 時間以内に 2000 mg/kg の雌ラットが死亡し，エルダフィチニブの最小致死量は 2000 mg/kg であった。また，2000 mg/kg で初回投与の 24 時間以内に嗜眠が認められた（2.6.6.4.3.1）。

2.6.6.2.2 イヌ単回経口投与毒性試験（TOX9500，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.1.3】

雌雄各 2 例のイヌにエルダフィチニブを 5，15 及び 45 mg/kg の用量で単回漸増強制経口投与した。試験開始時にいずれのイヌも溶媒（20% HP-β-CD）のみ投与を実施した【2.6.7.6】。

いずれの投与群でも死亡は認められず，イヌにおける最大非致死量は最高用量の 45 mg/kg であった。45 mg/kg まで体重への影響は認められなかった。15 mg/kg 以上で投与後 1 時間以内に嘔吐及び流涎が認められ，45 mg/kg では軟便が認められた。45 mg/kg では投与後 2 時間まで雌 1 例に軽微な振戦が認められた。血液生化学的検査で，5 及び 15 mg/kg/日で無機リンの軽微～軽度の増加及び 15 mg/kg 以上でカルシウムの軽微の減少が認められた。45 mg/kg で白血球（好中球及び単球数）が軽度に減少した。トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-3 に示す。

表 2.6.6-3 雌雄イヌを用いたエルダフィチニブの単回投与毒性試験における トキシコキネティクスデータ（平均値）

Dose (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)		AUC_{inf} (ng·h/mL)	
	M	F	M	F
5	330	229	4170	2932
15	834	632	17735	16516[1]
45	2035	1985	39142	43641[1]

n = 2 unless otherwise stated [n]
F = female; M = male

2.6.6.3 反復投与毒性試験

CD-1 マウスに最長 2 週間，並びに Sprague-Dawley ラット及びビーグル犬に最長 3 カ月間反復経口投与し，毒性を評価した。これらの試験では健康で若い成熟動物を用いた。投与開始時，マウスは約 6 週齢，ラットは約 6～9 週齢，イヌは約 7～8.5 カ月齢であった。エルダフィチニブの FGFR 阻害作用により，リン酸塩ホメオスタシス及び骨に影響を及ぼすことが予測されたため，反復投与毒性試験では通常の検査項目に加えてリン酸塩ホメオスタシス及び骨代謝バイオマーカー［血清中 FGF23，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3，PTH，CTx（ラット）及び NTx（イヌ），並びに尿中無機リン，カルシウム及びデオキシピリジノリン）を測定した。ラット及びイヌを用いた忍容性試験では，X 線，形態計測及び二重エネルギーX 線吸収測定（DEXA）スキャンを含む骨評価を追加した。また，マウス，ラット及びイヌを用いた毒性試験では，トキシコキネティクス評価を行った。

2.6.6.3.1 マウスを用いた反復経口投与毒性試験

2.6.6.3.1.1 マウスを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験及び 2 週間回復試験（TOX9565，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.2.1】

【試験方法】

雄マウス（1 群各 8～11 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：20% HP-β-CD），12.5，25 及び 50 mg/kg を 1 日 2 回（BID）（1 日投与量はそれぞれ 25，50 及び 100 mg/kg）又はエルダフィチニブ 100 mg/kg/日 QD を 2 週間反復強制経口投与した。BID 群では 1 回目の投与から 6 時間の間

隔をあけて 2 回目の投与を実施した。各群 5 例は投与 1 週間後に安楽死させ，残りの 3～6 例／群は投与 2 週間後に安楽死させた。加えて，12.5 mg/kg BID では回復群（1 群 6 例）を設定し，2 週間の投与終了後 2 週間休薬して回復性を評価した。評価項目は，死亡，一般状態観察，摂餌量，体重，血液生化学的検査，器官重量，剖検，病理組織学的検査及びトキシコキネティクスとした。Day 1，Day 7，Day 14 及び／又は回復期間終了時（Day 28）の血清を用いて無機リン，カルシウム，FGF23 及び PTH を測定した【2.6.7.6】。

【結果】

いずれの投与群でもエルダフィチニブに関連した死亡は認められず，一般状態に影響は認められなかった。12.5，25 及び 50 mg/kg BID で，用量に相関して摂餌量及び体重増加量の減少が認められ，2 週間の投与期間終了時には 50 mg/kg BID の体重は溶媒対照群と比較して最大で 12%，試験開始時と比較して約 5%の減少が認められた。100 mg/kg/日 QD では体重増加量に影響は認められなかった。

25 mg/kg BID 以上で無機リンの血清中濃度が増加し，全ての投与群でカルシウム及び FGF23 の増加，並びに PTH の減少が認められた。無機リン及び FGF23 の血清中濃度は Day 1 から増加し，投与期間を通して増加が継続した。

投与 1 及び 2 週間後には全ての投与群で軟組織鉱質沈着及び軟骨異形成が認められた。病理組織学的に，複数の組織（大動脈，心臓，脳，腎臓，胃腸管，肝，気管，肺，皮下組織及び骨格筋）で認められた鉱質沈着の多くは軽微で，50 mg/kg BID の発現頻度が最も高かった。大動脈，心臓及び脳で鉱質沈着が認められたのは，50 mg/kg BID 又は 100 mg/kg/日 QD の少数例（各群 1～2 例）のみであった。剖検で，鉱質沈着と関連した変化として肝及び骨格筋の変色巣，並びに皮下組織の硬化が認められたが，発現頻度は低かった。全ての投与群で後肢骨幹端の過類骨症，（多巣性）限局的骨膜新骨形成，限局的骨吸収（高用量群の一部では限局的骨壊死を伴う）又は限局的軟骨壊死／鉱質沈着を伴う胸骨，大腿骨及び／又は胸椎で軟骨異形成が認められ，重症度にはある程度の用量相関が認められた。50 mg/kg BID 以上では投与 1 週間後に，その他の投与群では投与 2 週間後に，剖検で胸骨変形，胸椎の異形及び／又は白色巣が認められた。軟組織鉱質沈着及び軟骨異形成の所見は，投与 1 週間後と 2 週間後で大きな差は認められなかった。

12.5 mg/kg BID の回復群では，2 週間の休薬後に体重，並びにカルシウム，無機リン，FGF23 及び PTH の血清中濃度が回復した。回復群の一部では，骨吸収又は不整骨梁の限局的遺残及び肺の鉱質沈着の遺残が認められたものの，肉眼的あるいは病理組織学的に骨病変及び鉱質沈着の部分的回復が認められ，軟骨細胞及び成長板は形態学的に正常に戻っていた。剖検で回復群の 1 例に肉眼的に認められた椎骨の白色巣は，病理組織学的検査で限局的軟骨壊死及び鉱質沈着であった。

以上のとおり，雄マウスにエルダフィチニブ 12.5，25 及び 50 mg/kg BID 若しくは 100 mg/kg/日 QD の用量で 1 又は 2 週間にわたって経口投与した結果，いずれの投与群でも死亡は認められなかったが，体重増加量の抑制が認められた。体重への影響は，Day 1 から認められた血清中無機リン及び FGF23 の上昇に伴い，全ての投与群で認められた軟組織鉱質沈着及び軟骨異形成に関連する二次的変化と考えられる。12.5 mg/kg BID では，2 週間の休薬後には体重及び血液生化学的パラメータが完全に回復し，病理組織学的所見の部分的回復が認められた。トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-4 に示す。

表 2.6.6-4 エルダフィチニブの雄マウスを用いた 14 日間経口投与毒性試験における
トキシコキネティクスデータ（平均値）

Dose (mg/kg)	Study Day	C_{max1} (ng/mL)	C_{max2} (ng/mL)	AUC_{0-6h} (ng·h/mL)	AUC_{0-7h} (ng·h/mL)	AUC [a] (ng·h/mL)
12.5 (b.i.d.)	0	83.9	410	154	362	1369
	13	320	518	724	988	2216
25 (b.i.d.)	0	283	1720	650	1520	5015
	13	658	2133	1498	2591	6817
50 (b.i.d.)	0	1947	3787	4111	6036	13849
	13	3907	2403	10688	12110	18196
100 (q.d.)	0	5280	NA	12894	13481	15075
	13	6433	NA	17953	19365	22005

[a] AUC_{inf} for a single dose (Day 0) and AUC_{0-24h} for repeated dose (Day 13). AUC could not be calculated adequately and is most likely somewhat overestimated.
There was a 6-hour interval between doses in the b.i.d. regimens.
NA = not applicable
n = 3 per sampling time

2.6.6.3.2 ラットを用いた反復経口投与毒性試験

2.6.6.3.2.1 ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（TOX9501，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.2.2】

【試験方法】

雄ラット（1 群各 6 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：20% HP-β-CD），50 及び 100 mg/kg/日 QD で 15 日間反復強制経口投与した。100 mg/kg/日では，早期死亡及び明らかな毒性症状が認められたため，投与 1 週間後に安楽死させた。評価項目は，死亡，一般状態観察，摂餌量，体重，血液学的検査，血液生化学的検査，器官重量，剖検及び病理組織学的検査とした。投与終了時に，リン酸塩ホメオスタシス及び骨代謝バイオマーカーとして通常の評価項目に加えて血清中オステオカルシン及び CTx，並びに無機リン，尿中カルシウム及びデオキシピリジノリン，及び X 線検査を実施した。肝臓の遺伝子発現を評価するため，単回投与の 24 時間後にサテライト群（3 例／群），及び投与終了時に主試験群から肝臓を採取した【2.6.7.6】。

【結果】

100 mg/kg/日で，投与後 5 又は 7 日に各 1 例が死亡した。死亡例では，死亡前に立毛，鼻の痂皮，呼吸困難，流涎過多及び／又は眼瞼閉鎖傾向が認められ，特に心臓，血管及び肺の鉱質沈着が主な死因と考えられた。1 例ではうっ血性心筋症及び顕著な肺うっ血／浮腫も認められた。これは血管抵抗性の増加に伴う心臓への負荷増大に関連すると考えられた。100 mg/kg/日の生存例でも類似の一般状態への影響が認められ，瀕死状態に陥ったため，投与後 8 日に安楽死させた。

50 mg/kg/日では死亡は認められなかった。全例で立毛が認められ，2 例で試験終了近くに胸骨及び尾部の変形が認められた。投与期間を通して大部分の動物で摂餌量の減少及び軽度な体重減少が認められた。投与期間終了時，カルシウム，無機リン，アルカリホスファターゼ（ALP）及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）値の軽微～軽度の増加，並びにアルブミン値の軽微な減少が認められた。血清中 CTx 値は増加したが，オステオカルシン，尿中無機リン，カルシウム及びデオキシピリジノリン値は影響を受けなかった。剖検時に，心臓の相対重量（体重及び脳重量との比較）の軽度な増加，胸骨及び尾部の変形，鉱質沈着に関連する変化として大動脈の退色巣／領域，肥厚又は拡張，及び胃壁の硬化又は肥厚が認められた。病理組織学的

検査で，全ての動物の大動脈及び／又は心臓，肺，腎臓，胃及び腸を含む様々な組織の動脈での軽微～高度な鉱質沈着が認められた。鉱質沈着は通常炎症性変化を伴っており，血液学的検査でも軽微～軽度な好中球の増加が認められた。全ての動物の胸骨及び／又は大腿骨に軽度～中等度の軟骨異形成が認められ，多くの動物で骨幹端の骨形成異常を伴っていた。この変化は肉眼的に認められた胸骨／尾部の変形と関連していた。X 線で，骨端軟骨板の肥厚及び他の長管骨と比較して骨端軟骨板の不透過性の亢進が認められた。その他の病理組織学的変化として，軽微な小葉中心性肝細胞肥大及び乳腺の萎縮が認められた。また，発現頻度は低いものの，精巣上体に軽微な細胞残屑が認められた。

100 mg/kg/日の動物は，瀕死状態のため投与後 8 日に安楽死させた。50 mg/kg/日で認められた変化に加え，血液学的検査で投与 1 週間後に総白血球，リンパ球及び網状赤血球が軽度～中等度に減少した。血液生化学的検査及びバイオマーカーの変化は概して類似していたが，50 mg/kg/日と比較してより顕著であった。その他の血液生化学的検査での変化として，ナトリウム及びクロール値の軽微な減少，並びにビリルビン，アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT），尿素窒素及びクレアチニン値の増加が認められたが，これらは動物の瀕死状態による二次的変化と考えられた。心臓，腎臓及び肝臓の相対重量（体重及び／又は脳重量との比較）の軽度な増加，並びに精巣及び胸腺重量の減少が認められた。剖検では鉱質沈着と関連する変化として，大動脈の拡張，心臓の退色巣／領域，腎臓の退色及び腫脹，胃の硬化又は肥厚，及び結腸の白色化又は硬化が認められた。加えて，胸腺の小型化が高頻度で認められ，乳腺の肥大が低頻度で認められた。病理組織学的に，血管及び軟組織で認められた鉱質沈着の発現頻度及び重症度は 50 mg/kg/日よりも 100 mg/kg/日で高かった。また，一部のラットでは腎臓で好塩基性尿細管の増加，硝子円柱，尿細管拡張及び／又は単核細胞浸潤，腎盂上皮の過形成が認められた。時折，副腎，皮膚及び脳の脈絡叢でも鉱質沈着が認められた。投与後 8 日に，全ての動物で胸骨及び／又は大腿骨の軽度な軟骨異形成が認められた。相対肝臓重量（体重との比較）の軽度増加と関連して，軽微な小葉中心性肝細胞肥大及び肝細胞空胞化の軽度増加が認められた。1 例でみられた精巣重量の軽度な減少及び肉眼的にみられた精巣の軟化は，病理組織学的に精上皮の変性（アポトーシス及び／又は萎縮）と関連していた。100 mg/kg/日で認められたその他の病理組織学的変化は，腸（粘膜過形成，剥離，結腸の粘液で充満した腺窩の拡張），リンパ組織（リンパ萎縮），乳腺（管状胞状腺発達，分泌，腺萎縮），副腎（束状帯空胞化）及び骨髄（細胞密度の軽度減少）であった。

肝臓を用いた遺伝子発現解析では，単回投与後に P-糖タンパク質［P-gp，多剤耐性タンパク質 1（MDR1）a］mRNA の発現，並びに単回及び反復投与後にチトクロム P450（CYP）2B1/2 及び 3A1 mRNA の発現が抑制されることが示された。両時点で細胞周期制御に関する遺伝子が発現しており，増殖／再生を示唆していた。傷害／炎症に反応すると考えられている酸化的ストレス／反応性代謝物感受性 mRNA であるニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（リン酸）［NAD(P)H］及びメナジオン酸化還元酵素（NMOR）が軽度に誘導されていた。100 mg/kg/日では，CYP7A1 mRNA の誘導，並びに多剤耐性関連タンパク質 3（MRP3）及び胆汁酸塩排出ポンプ（BSEP）の誘導が認められた。

以上のとおり，雄ラットにエルダフィチニブ 50 及び 100 mg/kg QD で 15 日間反復経口投与した結果，50 mg/kg/日以上で顕著な軟組織鉱質沈着及び軟骨異形成が認められ，体重減少，一般状

態及び血液生化学的変化（主に，無機リン，カルシウム，ALP 及び CTx）を伴っていた。100 mg/kg/日では，瀕死状態や死亡が認められた。トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-5 に示す。

表 2.6.6-5 エルダフィチニブの雄ラットを用いた 15 日間経口投与毒性試験における トキシコキネティクスデータ（平均値）（初回忍容性試験）

Dose (mg/kg)	Study Day	C_{max} (ng/mL)	AUC [a] (ng·h/mL)
50 (q.d.)	0[b]	375	3677
	21 (after 15 days of RD)	1972	15020
100 (q.d.)	0[b]	853	7514
	14 (after 8 days of RD)	19300	199976

[a] AUC_{inf} for Day 0 and $AUC_{0\text{-}24h}$ for Day 21/Day 14
[b] Single-dose phase data
n = 2, 3 or 6

2.6.6.3.2.2 ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（TOX9601，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.2.3】

【試験方法】

2.6.6.3.2.1 に示す結果より，ラットにおいて 50 mg/kg/日はエルダフィチニブの最大耐量を上回ると考えられたため，より低用量を用いて 2 回目の忍容性試験を実施した。雄ラット（1 群各 6 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：20% HP-β-CD），10 及び 30 mg/kg/日 QD で，2 週間反復強制経口投与した。評価項目は，死亡，一般状態観察，摂餌量，体重，血液学的検査，血液生化学的検査，器官重量，剖検及び病理組織学的検査とした。Day 0（初回投与の 6 時間後），Day 1（初回投与の 24 時間後），Day 7 及び 14 に採取した血清を用いてリン酸塩ホメオスタシス及び骨代謝バイオマーカーとして FGF23，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3，25-ヒドロキシビタミン D_3 及び／又は PTH を評価した。Day 1 及び 7，並びに投与終了時に採取した尿を用いて無機リン及びカルシウムを評価した。脛骨近位の骨幹端領域を対象として形態計測を実施した。肝臓及び腎臓の遺伝子発現を評価するため，単回投与の 24 時間後にサテライト群（3 例／群）から，及び投与期間終了時に主試験群から肝臓及び腎臓を採取した【2.6.7.6】。さらにトキシコキネティクス評価のため，雄ラット（3 例／群）を追加して主試験群と同じ用量を投与した。

【結果】

いずれの投与群でもエルダフィチニブに関連した死亡は認められなかった。

10 mg/kg/日では，一般状態，摂餌量，体重及び血液学的検査値にエルダフィチニブの影響は認められなかった。血液生化学的検査で，Day 7 及び 14 に ALP 値の高値が認められた。初回投与の 6 時間後に FGF23 の血清中濃度が減少し，その後 Day 1，7 及び 14 に軽度に増加した。PTH は Day 1 に一時的に減少した。カルシウム及び無機リンの血清中濃度への影響は認められなかった。剖検で 2 例に胸骨変形が認められ，病理組織学的検査で 3 例の膝関節及び胸骨に軽微な軟骨異形成が認められ，うち 1 例では骨幹端の過類骨症が伴っていた。10 mg/kg/日では，いずれの動物でも軟組織鉱質沈着は認められなかった。

30 mg/kg/日では，投与期間を通して溶媒投与群と比較し摂餌量及び体重増加量が低値を示し，投与終了時の体重が低値を示した（溶媒投与群と比較して-4%）。剖検日には大部分のラットで歩行異常及び胸骨下端の陥凹が認められた。血液学的検査で，好中球及び血小板の軽微～中等度

の増加，並びに総白血球及びリンパ球の中等度の減少が認められた。血液生化学検査で，Day 14 に ALP 値の高値傾向が認められ，Day 1，7 及び 14 にカルシウム及び無機リンの軽微～中等度の増加，並びにそれを反映して尿中カルシウム濃度の増加（クレアチニン補正）が認められた。FGF23 に対する影響は 10 mg/kg/日と比較してより顕著に認められ，初回投与の 6 時間後に減少し，その後の時点では軽度～顕著に増加した。PTH は Day 1，7 及び 14 に減少した。1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 は Day 1 に一時的に増加したが，25-ヒドロキシビタミン D_3 に対する影響は認められなかった。全ての動物で顕著な骨への影響が認められ，剖検で胸骨変形又は胸椎での白色隆起巣／領域（1 例），病理組織学検査で膝関節及び胸骨の軟骨異形成，並びに骨幹端の過類骨症が認められた。複数のラットで，軟骨異形成には（多巣）限局的骨壊死，骨端軟骨の限局的軟骨壊死，骨膜での限局的軟骨細胞又は限局的骨膜（下）炎症性単核細胞浸潤が伴っていた。脛骨の形態計測では，骨及び類骨領域の減少，並びに骨吸収の増加を伴う骨芽細胞の減少が認められた。大動脈及び／又は他の主要動脈，胃，腎臓，肺，並びに十二指腸に軽微～中等度の鉱質沈着が認められ，炎症を伴っている例も認められた。

肝臓を用いた遺伝子発現では，主に 30 mg/kg/日の反復投与後に細胞周期に関する遺伝子の変化を伴って P-gp（MDR1a），NMOR 及び CYP2B1/2 mRNA の誘導が認められた。30 mg/kg/日では，胆汁排泄分路を示唆する MRP3 mRNA 及びマクロファージ活性化／軽度の損傷を示唆する急性期タンパク質 α1 酸性糖タンパク質（α1-AGP）mRNA の軽度増加も認められた。腎臓では，10 及び 30 mg/kg/日で単回及び反復投与の 24 時間後に腎臓 CYP27b1（1α-水酸化酵素又はビタミン D 合成酵素）の発現が半分に減少し，ビタミン D 代謝への影響が示された。

以上のとおり，雄ラットにエルダフィチニブを 10 及び 30 mg/kg/日の用量で 14 日間反復経口投与した結果，10 mg/kg/日以上で軟骨異形成が，30 mg/kg/日で軟組織鉱質沈着が認められた。加えて主に 30 mg/kg/日で体重増加抑制，一般状態変化及び血液生化学的パラメータの変化（主に，無機リン，カルシウム，FGF23，PTH，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 及び ALP）が認められた。トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-6 に示す。

表 2.6.6-6 エルダフィチニブの雄ラットを用いた 2 週間経口投与毒性試験における トキシコキネティクスデータ（平均値）（2 回目忍容性試験）

Dose (mg/kg)	Study Day	C_{max} (ng/mL)	AUC [a] (ng·h/mL)
10 (q.d.)	0	15.3	69.5
	13	49.5	215
30 (q.d.)	0	133	558[2]
	13	395	2270

[a] AUC_{inf} for Day 0 and $AUC_{0\text{-}24h}$ for Day 13
n = 3 unless otherwise stated [n]

2.6.6.3.2.3 ラットを用いた 1 カ月間反復経口投与毒性試験及び 1 カ月間回復試験（TOX10080，GLP）

【資料番号 4.2.3.2.4】

【試験方法】

雌雄ラット（1 群各 10 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：20% HP-β-CD），4，8 及び 16 mg/kg/日 QD 若しくはエルダフィチニブ 32 mg/kg/日を週 2 回の用量で 1 カ月間反復強制経口投与した。溶媒投与群，16 mg/kg/日 QD 及び 32 mg/kg/日週 2 回投与群については，回復群（1 群雌雄各 5 例）を設定し，投与期間終了後 1 カ月間休薬して回復性を検討した。評価項目は，死亡，一般状態観察，眼科学的検査，Irwin 法による中枢神経機能評価【2.6.2.4.1】，摂餌量，体重，血液学的検査，血液生化学的検査，凝固検査，尿検査，器官重量，剖検及び病理組織学的検査とした。加えて，リン酸塩ホメオスタシス及び骨代謝に関するバイオマーカーとして，血清中無機リン，カルシウム，FGF23，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3（16 mg/kg/日 QD 及び 32 mg/kg/日週 2 回投与群のみ）及び PTH を，並びに尿中無機リン及びカルシウムを初回投与の 24 時間後（Day 1），投与期間終了時，並びに回復期間の 1 週目及び 1 カ月後に測定した【2.6.7.7A】。別途サテライト群（1 群雌雄各 3 例）を設定し，Day 0 及び 28 のトキシコキネティクスを評価した。

【結果】

いずれの投与群でもエルダフィチニブに関連した死亡は認められず，摂餌量，体重，眼科学的検査，凝固検査及び器官重量に影響は認められなかった。

血清中無機リンは，16 mg/kg/日 QD 及び 32 mg/kg/日週 2 回の投与開始直後（Day 1），並びに 32 mg/kg/日週 2 回の投与期間終了時に増加したが，その程度は軽微であった。血清中カルシウムは，8 mg/kg/日以上で増加したが，投与期間終了時にのみ認められた。FGF23 は，Day 1 及び投与期間終了時に 8 mg/kg/日以上で用量に相関して増加し，PTH の減少を伴っていた。1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 は，16 mg/kg/日及び 32 mg/kg/日週 2 回の Day 1，並びに 32 mg/kg/日週 2 回の投与 4 週後に増加した。尿中無機リン（クレアチニン補正）は，16 mg/kg/日及び 32 mg/kg/日週 2 回の雌で Day 1 から低く，一方で，尿中カルシウム（クレアチニン補正）は 8 mg/kg/日以上で 1 カ月間の反復投与後に増加した。8 mg/kg/日以上で，反復投与後に ALP が増加した（2 倍未満）。

4 mg/kg/日では，検討した評価項目のいずれでも重要な変化は認められなかった。

8 mg/kg/日では，雄 1 例の膝関節に軽微な軟骨異形成，及び雄 2 例に乳腺萎縮が認められた。これらの病理組織学的変化に関連する肉眼所見は認められなかった。

16 mg/kg/日では，投与期間の最終週で複数の雄ラットに筋緊張低下及び麻痺が認められた。うち 1 例では，筋緊張低下が回復期間の最初の 2 日間持続した。血液学的検査では，投与期間終了時に網状赤血球値の軽微な減少（雄）が認められた。尿検査では，雄ラットでタンパク，潜血，精子及び非晶質物質の軽度な増加，並びに雌ラットで白血球及び扁平上皮細胞の軽度な増加が認められた。剖検では，複数例で胸骨変形及び胸椎の限局的な隆起が認められた。病理組織学的検査では，大部分の雌雄で胸骨及び膝関節の軟骨異形成／過骨症，鼻部の軟骨化生，並びに少数の動物で胸椎の軟骨異形成が認められた。また，複数の雄ラットで乳腺萎縮が認められ，雄 2 例の切歯で象牙質異常が認められた。

32 mg/kg/日週 2 回の所見は 16 mg/kg/日 QD と概して類似していたが，一般状態及び血液学的検査で影響はなく，剖検で胸骨変形が雄 1 例でのみ認められた。病理組織学的に胸骨，膝関節及び鼻部の軟骨異形成／過骨症又は軟骨化生，並びに乳腺萎縮が認められたが，16 mg/kg/日と比較して重症度及び発現頻度は低かった。

回復期間では，1 週目にリン酸塩ホメオスタシスパラメータの一部の変化（血清中 FGF23 増加及び PTH 減少，並びに尿中カルシウム増加）が認められたが，1 カ月間の回復期間終了時には変化は見られなかった。回復期間終了時に，16 mg/kg/日と 32 mg/kg/日週 2 回の雄に網状赤血球値減少が認められたものの部分的回復を示していた。16 mg/kg/日 QD の雄 5 例中 3 例の胸骨で軽微な軟骨異形成が認められたが，その重症度と発現頻度は低下し，部分的回復を示していた。鼻部及び雄の乳腺への影響は完全に回復した。

以上のとおり，エルダフィチニブを 4，8 及び 16 mg/kg/日 QD 若しくは 32 mg/kg/日を週 2 回の用量で 1 カ月間反復経口投与した結果，いずれの投与群でも死亡及び軟組織鉱質沈着は認められなかった。8 mg/kg/日以上で FGF23，カルシウム，PTH 及び ALP の血清中濃度の変化が，16 mg/kg/日では無機リンの軽微な増加が認められた。8 mg/kg/日以上で骨及び鼻部の軟骨異形成／過骨症又は軟骨化生が認められた。その他に，8 mg/kg/日以上で，雄ラットの乳腺萎縮が認められた。16 mg/kg/日の数例に象牙質異常が認められた。8 mg/kg/日で認められた軟骨異形成を考慮すると，雌雄ラットを用いた 1 カ月間反復経口投与毒性試験の NOAEL は 4 mg/kg/日 QD と判断された。1 カ月間の投与期間終了時の NOAEL での平均 C_{max} 及び AUC は，それぞれ雄で 3.70 ng/mL 及び 16.9 ng·h/mL，雌で 6.29 ng/mL 及び 18.7 ng·h/mL であった。概して，32 mg/kg/日の週 2 回投与は 16 mg/kg/日 QD よりも曝露量が高いにもかかわらず，わずかに忍容性が良好であった。1 カ月間の回復期間終了時の 16 mg/kg/日及び 32 mg/kg/日の週 2 回では，軟骨異形成は部分的に回復し，乳腺萎縮は完全に回復していた。トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-7 に示す。

表 2.6.6-7 エルダフィチニブの雌雄ラットを用いた 1 カ月間経口投与毒性試験におけるトキシコキネティクスデータ（平均値）

Dose (mg/kg)	Study Day	C_{max} (ng/mL)		AUC [a] (ng·h/mL)	
		M	F	M	F
4 (q.d.)	0	2.65	3.11	12.6[2]	13.0
	28	3.70	6.29	16.9	18.7
8 (q.d.)	0	12.1	10.1	51.4	45.3
	28	33.1	46.5	113	128
16 (q.d.)	0	30.3	36.4	182[1]	185[2]
	28	103	201	573[2]	632
32 (twice weekly)	0	257	455	1459[2]	1996
	28	254	608	1639	2489

[a] AUC_{inf} for Day 0 and $AUC_{0\text{-}24h}$ for Day 28
n=3 unless otherwise stated [n]. AUC values from individual animals were excluded when calculated with more than 25% extrapolation
The twice weekly dosed group was dosed every Tuesday and Friday with Day 28 being a dosing day.
F = female; M = male

2.6.6.3.2.4 ラットを用いた 3 カ月間反復経口毒性試験（TOX10846，GLP）

【資料番号 4.2.3.2.5】

【試験方法】

雌雄ラット（1 群各 10 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：20% HP-β-CD），4 及び 8 mg/kg/日 QD 若しくは 16 及び 32 mg/kg/日を 7 日間投与／7 日間休薬の間欠投与で 3 カ月間反復強制経口投与した。評価項目は，死亡，一般状態観察，眼科学的検査，摂餌量，体重，血液学的検査，血液生化学的検査，凝固検査，尿検査，器官重量，剖検及び病理組織学的検査とした。さらに，投与 8 週後（間欠投与群では 7 日間の休薬期間終了時に相当）及び／又は試験終了時（間欠投与群では最後の 7 日間の投与期間終了時に相当）にリン酸塩ホメオスタシス及び骨代謝マーカーを測定した【2.6.7.7B】。別途 1 群雌雄各 3 例のサテライト群を設定し，Day 6 及び 90（間欠投与群ではそれぞれ最初と最後の 7 日間の投与期間の終了時）のトキシコキネティクスを評価した。

【結果】

32 mg/kg/日間欠投与の雄 1 例でエルダフィチニブに関連した死亡が認められた。当該動物では歩行異常及び後肢の麻痺が認められた後，Day 34 に瀕死状態となり安楽死させた。病理組織学的検査で，エルダフィチニブ投与に起因する高度な大動脈の鉱質沈着及び心筋の鉱質沈着を伴う変性／炎症が認められ，一般状態悪化の主要因と考えられた。投与手技に関連する死亡が，32 mg/kg/日間欠投与の雄 1 例（Day 49）及び 4 mg/kg/日 QD の雌 1 例（Day 67）に認められた。トキシコキネティクス評価用のサテライト群の 4 例（8 mg/kg/日 QD 及び 32 mg/kg/日間欠投与の各 2 例）が Day 60～Day 90 に死亡したが，これらの動物に対して病理組織学的検査を実施しなかったことから，死因は明らかに出来なかった。

一般状態への影響は 8 mg/kg/日 QD，並びに 16 及び 32 mg/kg/日間欠投与で認められ，摂餌量及び体重に対する影響は 32 mg/kg/日間欠投与でのみ認められた。いずれの投与群でも凝固検査及び器官重量でエルダフィチニブに関連のある変化は認められなかった。

8 mg/kg/日 QD で 3 カ月間投与しても，血清中無機リンは増加せず，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 の持続的増加も認められなかったが，用量に相関した FGF23 の増加及び PTH の減少が認められた。間欠投与群では，7 日間の休薬期間終了時に FGF23 の増加及び PTH の減少が明白で，同時に 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 の顕著な減少が認められた。後者は代償性に変動した可能性が高いと考えられた。最後の 7 日間の投与期間後のカルシウム，無機リン及び 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 の血清中濃度は 32 mg/kg/日間欠投与でのみ増加していた。尿中カルシウムの増加（クレアチニン補正）は間欠投与群に限られ，尿中無機リンはいずれの投与群でも影響は認められなかった。血清中カルシウムは 8 mg/kg/日及び間欠投与群で軽度に増加した。骨代謝マーカーとして，全ての投与群で尿中デオキシピリジノリンが増加したが，血清中 CTx は間欠投与群でのみ増加した。また，8 mg/kg/日及び間欠投与群で ALP が軽度に増加した（2 倍未満）。加えて，間欠投与群では ALT（最大 2 倍），AST（2 倍未満）及びγグルタミン酸転移酵素（GGT）（最大 3 倍）の増加，並びにグロブリンの軽度な増加及びアルブミン／グロブリン比の減少が認められたが，肝臓で関連する病理組織学的変化は認められなかった。

4 mg/kg/日では，試験終了時の眼科学的検査で所見はなかったが，病理組織学的検査で雌のみに低頻度で眼の限局的～びまん性角膜萎縮及び眼窩外涙腺のびまん性萎縮が認められた。他に肉眼的及び病理組織学的変化は認められなかった。

8 mg/kg/日では，爪の損傷及び切歯の変色が各 1 例で認められた。血液学的検査で，血小板及び網状赤血球の減少，並びにヘモグロビンの増加が認められた。剖検で雌 2 例に胸骨変形が認められ，病理組織学的に軟骨異形成／化生であった。複数例の膝関節で軟骨異形成／化生が認められた。雌雄で角膜萎縮及び眼窩外涙腺の萎縮が認められたが，眼科学的検査では異常は認められなかった。また，雌雄でハーダー腺，耳下腺及び乳腺の萎縮が認められた。その他の変化として，皮膚の毛包の数の増加と小型化が認められた。また，雄で尿中 pH の軽度上昇が認められた。いずれの期間でも鉱質沈着は認められなかった。8 及び 16 mg/kg/日の腎臓で，血清中無機リンの増加を伴わない軽微で主に片側性の鉱質沈着が認められたが，腎臓の鉱質沈着は本試験で用いたラットの週齢でよくみられる自然発生病変（McInnes 2012; National Toxicology Program）で，溶媒群でもまれにではあるが同程度の重症度で認められたため，毒性学的意義に乏しいと考えられた。

16 mg/kg/日間欠投与では，数例で尾部変形，胸骨変形又は歩行異常が認められた。剖検では，骨及び切歯の変形及び変色，並びに爪床の変色及び腫脹が 1 又は 2 例で認められた。病理組織学的検査では，胸骨及び膝関節の軟骨異形成／化生，並びに歯の象牙質の変化（象牙芽細胞の変性及び顕著な成長線を伴う象牙質異常）が認められた。軟骨異形成／化生は気管，喉頭，胸椎及び尾部にも認められ，長管骨では過骨症となっていた。加えて，舌上皮及び口腔粘膜の萎縮が認められた。

32 mg/kg/日間欠投与では，雄で摂餌量の減少及び体重増加量の抑制が認められ，試験終了時の体重は溶媒投与群と比べて約 10%低値であった。体重への影響は，一般状態に影響を及ぼす臨床検査値変動及び病理学的所見に関係している可能性が考えられた。一般状態では，大部分のラットに尾部及び胸骨の変形，歩行異常，並びに円背位が認められ，付随的に爪の損傷又は被毛の菲薄化が認められた。血液学的検査では網状赤血球の軽度な減少が認められた。眼科学的検査では，雄で両側に帯状角膜混濁が認められた。この変化は本試験で用いた系統の高齢ラットでは自然発症病変として発現するが，溶媒投与群と比較して発現頻度及び重症度ともにわずかに高かったことから，エルダフィチニブに関連する変化と考えられた。他の投与群で認められた変化に加え，剖検では複数例に粗毛及び爪床の変形が認められた。雄で認められた胃，大動脈及び心臓の退色又は硬化は病理組織学的に鉱質沈着と関連していたが，鉱質沈着は雄の腎臓，肺及び舌（血管）でも認められた。雄の長管骨（膝関節）では海綿骨及び皮質骨，並びに骨髄細胞充実度の低下が認められた。雄の数例では鼻部の軟骨化生が認められた。雌 2 例の卵巣で黄体壊死が認められた。

以上のとおり，エルダフィチニブを 4 及び 8 mg/kg/日 QD 若しくは 16 及び 32 mg/kg/日を 7 日間投与／7 日間休薬の間欠投与で 3 カ月間反復経口投与した結果，エルダフィチニブの薬理作用である FGFR 阻害に伴う影響が認められた。4 mg/kg/日では，雄では特記すべき所見は認められなかったが，雌の少数例で角膜及び涙腺の萎縮が認められた。8 mg/kg/日以上では雌雄ともに腺組織（涙腺，唾液腺，ハーダー腺及び乳腺）及び上皮構造（舌，口腔粘膜及び角膜）の萎縮が認められた。8 mg/kg/日以上で軟骨異形成が認められた。血清中無機リンの増加を伴うエルダフィ

チニブに関連のある軟組織鉱質沈着は 32 mg/kg 間欠投与群のみで認められ，その結果 1 例は瀕死状態のため 5 週目に安楽死させた。変化がみられた血清中及び尿中パラメータは，FGF23，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3，PTH，カルシウム，ALP，CTx 及び尿中デオキシピリジノリンであった。間欠投与による毒性の軽減を目的として，本試験で 7 日間投与／7 日間休薬での間欠投与群を設定したが，8 mg/kg/日投与と比較して 16 mg/kg/日の間欠投与による毒性変化の軽減は認められなかった。7 日間の休薬期間はエルダフィチニブ起因の影響を回復させるには短く，回復しないままその後の投与による影響が蓄積したと考えられ，32 mg/kg/日間欠投与でその影響が顕著であった。上記のことから，3 カ月間経口投与の NOAEL は雄では 4 mg/kg/日 QD，雌では角膜及び涙腺の萎縮があったため 4 mg/kg/日 QD 未満であった。3 カ月間の投与期間終了時の平均 C_{max} 及び AUC 値は，4 mg/kg/日では雄でそれぞれ 6.98 ng/mL 及び 26.3 ng·h/mL，並びに雌で 13.4 ng/mL 及び 45.2 ng·h/mL であった。トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-8 に示す。

表 2.6.6-8 エルダフィチニブの雌雄ラットを用いた 3 カ月間経口投与毒性試験におけるトキシコキネティクスデータ（平均値）

Dose (mg/kg)	Study Day	C_{max} (ng/mL)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	
		M	F	M	F
4 (q.d.)	6	2.64	6.43	10.1[1]	29.6[2]
	90	6.98	13.4	26.3[2]	45.2
8 (q.d.)	6	6.40	31.9	29.6[1]	94.3[2]
	90	26.2[2]	59.7	99.8[2]	231[2]
16 (7 days on/7 days off)	6	28.0	257	105[1]	936
	90	88.5	462	327[2]	1780
32 (7 days on/7 days off)	6	524	886	5580[1]	4170
	90	360[2]	929	1910[2]	10000[2]

n=3 unless otherwise stated [n]. AUC values from individual animals were excluded when calculated with more than 25% extrapolation.
Day 6 and Day 90 is at the end of the first and last 7-day dosing period for the intermittently dosed groups.
F = female; M = male

2.6.6.3.3 イヌを用いた反復経口投与毒性試験

2.6.6.3.3.1 イヌを用いた 5 日間反復経口投与毒性試験（TOX9500，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.2.6】

【試験方法】

雌雄イヌ（1 群各 2 例）にエルダフィチニブを 5 及び 15 mg/kg/日 QD で 5 日間反復強制経口投与した。当初，14 日間の反復投与を計画していたが，一般状態の悪化のため全群とも 5 回投与した後に投与を中止した。評価項目は，死亡，一般状態観察，摂餌量，体重，血液学的検査，血液生化学的検査，凝固検査，剖検及び病理組織学的検査とした。投与終了時に追加の骨代謝バイオマーカー分析及び右後肢の X 線検査を実施した。血清を用いてオステオカルシン及び NTx を評価し，尿を用いて無機リン，カルシウム及びデオキシピリジノリンを評価した。一般状態の悪化が認められ，複数例を早期に安楽死させたため， 血中曝露は 5 回目の投与 24 時間後のトラフ濃度のみを測定した【2.6.7.6】。

【結果】

一般状態の悪化のため，5 mg/kg/日の雄 2 例及び 15 mg/kg/日の全例を 5 日間の投与後に早期に安楽死させた。一般状態では，起立不能及び舌舐めずり不能，軽度～中等度の振戦，非生理的な

姿勢（カタレプシー又は臥位），並びに鼻刺激に対する無反応が認められた。大部分のイヌで，軽度な体温上昇及び軟便が認められた。また，1～2 例に縮瞳，瞳孔反射消失又は固有位置感覚異常が認められた。5 mg/kg/日の雌 2 例では摂餌量が重度に減少し，全例で体重が減少した。5 mg/kg/日の雌 2 例も 5 日間の投与後に投与を中止したが，一般状態への影響が比較的軽度だったため，9 日間の回復期間を設け，その後に安楽死させた。

早期に安楽死させたイヌ（5 及び 15 mg/kg/日の雄及び 15 mg/kg/日の雌）で，長管骨（大腿骨遠位及び脛骨近位）の骨端軟骨／骨幹端領域及び骨膜で認められた病理組織学的所見（転移性石灰沈着／鉱質沈着）が状態悪化の原因と考えられた。骨病変の特徴として，軟骨細胞の肥大を伴う骨端軟骨板の肥厚及び骨吸収領域の減少を伴う骨幹端の血管減少が認められた。さらに，しばしば出血及び壊死を伴う骨膜の線維化が高い発現頻度で認められた。骨端軟骨／骨幹端の病変がより顕著な例では，骨幹端の骨端軟骨下層の骨髄枯渇及び不活性な骨芽細胞が認められた。右後肢の X 線検査では長管骨の骨端軟骨板の肥厚が認められた。転移性石灰沈着（軟組織鉱質沈着）が用量に相関して複数の部位に認められた。最も顕著な病変は大動脈弁に近い大動脈壁及び左心耳のしばしば急性炎症を伴う心内膜下の鉱質沈着であり，一部のイヌで肉眼的に認められた動脈弁に近い心臓の（白色）凝固物及び左心耳の不整で粗造な白色表面と関連していた。鉱質沈着は胃底部及び呼吸器（喉頭，気管，肺）でも認められた。一般状態の悪化に伴う二次的変化として，リンパ組織の萎縮／枯渇，肝臓の小葉中心性微小空胞化（脂肪），膵臓のチモーゲン含量減少，骨格筋の変性及び大腸の単細胞壊死が認められた。

全ての群において，投与中止時の血液学的検査では上記の変化に関連すると考えられる炎症性変化を示す変動が認められ，フィブリノーゲンの高度増加，並びに好中球及び総白血球数の軽微～軽度増加が認められた。活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）が軽度に延長し，リンパ球及び赤血球パラメータ（網状赤血球を含む）は減少した。血液生化学的検査では，大部分のイヌで電解質（ナトリウム，カリウム，クロール）の変動，アルブミンの減少，並びにコレステロール，トリグリセリド，ALP（2 倍）及び AST（3 倍）の増加が認められた。血清中無機リンは軽微～軽度に増加し，血清中カルシウムは軽度に減少した。尿中カルシウム（クレアチニン補正）は軽度に減少したが，尿中無機リンに明らかな影響は認められなかった。オステオカルシン及び NTx の血清中濃度に特記すべき影響は認められなかったが，尿中デオキシピリジノリンは増加傾向であった。

5 mg/kg/日の雌 2 例では，投与中止後，軽微な振戦，体温上昇及び便の変化（軟便及び血便）が投与中止後から 3～5 日間継続し，後肢での起立不能が 2 日間継続した。投与中止の 9 日後には臨床病理学的パラメータの大部分は正常値に戻った。投与中止の 9 日後に雌 2 例を安楽死させた際の病理組織学的検査では，骨吸収領域における骨幹端の血管の再侵入を伴う骨端軟骨／骨幹端リモデリングが認められ，骨膜での修復性軟骨形成が認められた。早期に安楽死させたイヌに比べて回復期間を設けたイヌでは骨病変の重症度は概して低く，部分的回復を示していたが，呼吸器（咽頭，気管，肺）を含め顕著な鉱質沈着が認められた。

5 日間の反復投与後の平均トラフ濃度は，雄及び雌でそれぞれ，5 mg/kg/日で 784 及び 320 ng/mL，並びに 15 mg/kg/日で 2755 及び 2380 ng/mL であり，5 日間の反復投与後の平均トラフ濃度は単回投与後よりも高値を示した。

以上のとおり，エルダフィチニブを 5 及び 15 mg/kg/日の用量で 5 日間反復経口投与した結果，いずれの投与群でも一般状態の悪化が認められ，6 例を早期に安楽死させた。主な毒性は骨病変，軟組織鉱質沈着及びそれに伴う血清中無機リンの変化であった。エルダフィチニブの投与中止 9 日後に安楽死させた 5 mg/kg/日の雌 2 例では，骨病変の部分的回復が認められた。

2.6.6.3.3.2 イヌを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（TOX9571，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.2.7】

【試験方法】

雌雄イヌ（1 群各 2 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：20% HP-β-CD），1 mg/kg/日 QD 及び 5 mg/kg/日の隔日投与で最長 2 週間反復強制経口投与した。評価項目は，死亡，一般状態観察，摂餌量，体重，眼科学的検査，血液学的検査，血液生化学的検査，凝固検査，剖検及び病理組織学的検査とした。血清及び尿を，Day 0（投与開始前及び初回投与の 4 時間後），Day 1（初回投与の 24 時間後），Day 2，3，7 及び 13 に採取し，血清を用いて FGF23，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3，25-ヒドロキシビタミン D_3 及び PTH を測定し，尿を用いて無機リン及びカルシウムを測定した。溶媒投与及び 5 mg/kg/日の隔日投与では，DEXA スキャンにより骨病変を精査し，脛骨近位の骨幹端を対象に形態計測を実施した【2.6.7.6】。1 mg/kg/日 QD では Day 0，1，2，5，6，7，8，10，12 及び 13 に，5 mg/kg/日隔日投与では Day 0，2，4，6，8，10 及び 12 にトキシコキネティクスを評価した。

【結果】

Day 8 に 5 mg/kg/日隔日投与の雌雄各 1 例を早期に安楽死させた。いずれのイヌも後肢での起立ができず，振戦及び中等度～重度の自発運動低下が認められた。1 例では，頸部／下顎領域への接触に対する過剰反応を示した。摂餌量が重度に減少し，両例ともに体重が減少した。心臓及び骨で認められた病変が一般状態悪化の要因と特定された。

1 mg/kg/日では，特記すべき一般状態への影響は認められず，摂餌量及び体重への影響はなかった。病理組織学的検査では，全例で大腿骨及び胸骨の軽微～軽度な軟骨肥大が認められ，雄 1 例に，下顎骨の骨膜で軽微な増生及び線維化，並びに大動脈での軽微な鉱質沈着が認められた。

5 mg/kg/日隔日投与の残り雌雄各 1 例では，Day 9 又は 13 に四肢硬直及び起立困難が認められた。投与の 2 週目には摂餌量が重度に減少し，投与期間終了時には軽度な体重減少が認められた。5 mg/kg/日隔日投与では早期安楽死例，計画安楽死例のいずれも骨及び血管に病変が認められたが，早期に安楽死させた 2 例では顕著であった。骨病変の特徴は，軟骨の肥大及び変性に加え，骨膜の増性及び炎症性変化（出血及び壊死を伴う），リモデリング変化（骨芽細胞低形成，破骨細胞優勢），並びに骨髄枯渇であった。DEXA スキャンによる評価では，溶媒投与群と比較して骨密度及び形態に特記すべき変化は認められなかった。形態計測では骨及び類骨領域の減少，並びに骨吸収の増加を伴う骨芽細胞量の減少が認められた。血管に関連する変化として，心臓重量増加に加え，剖検で大動脈及び心臓の白色小結節，並びに肺の暗色巣が認められ，病理組織学的検査で主に大動脈，心臓（急性炎症を伴う左心房及び冠動脈），腎臓，肺及び胃に鉱質沈着が認められた。胃腸管の変性及びリンパ系の萎縮は一般状態悪化に伴う二次的変化と考えられた。

5 mg/kg/日隔日投与では，炎症性変化として APTT 及びプロトロンビン時間（PT）の延長を伴うフィブリノーゲンの増加，白血球，好中球及び単球の増加，並びにリンパ球の減少が認められた。また，赤血球パラメータ及び網状赤血球が減少し，血小板が増加した。血液生化学的検査では，大部分の動物で，血液尿素窒素，コレステロール，トリグリセリド，ALP，ALT 及び AST の増加が認められた。

両投与群の大部分の動物で，初回投与 24 時間後以降に血清中無機リンの増加が認められ，カルシウムの一時的な増加を伴う例もあった。尿中無機リンの特記すべき変化は認められなかったが，尿中カルシウムは 5 mg/kg/日隔日投与で一時的に増加した。初回投与の 4 時間後には血清中 FGF23 の減少が認められ，5 mg/kg/日隔日投与では投与 24 時間後まで持続した後，徐々に増加していった。1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 は両投与群で初回投与の 24 時間後以降に増加したが，投与後 7 及び 13 日には変動しなかった。25-ヒドロキシビタミン D_3 に特記すべき変化は認められなかった。PTH は大部分の測定時点で減少していたが，初回投与の 4 時間後だけ上昇していた。眼科学的検査では異常は認められなかった。

以上のとおり，エルダフィチニブを 1 mg/kg/日 QD で 2 週間反復経口投与した結果，概して忍容性は良好であった。一方，5 mg/kg/日隔日投与では，顕著な一般状態悪化及び体重減少が認められ，2 例は早期に安楽死させた。全例でエルダフィチニブに関連のある骨病変及び血管／鉱質沈着が認められ，早期に安楽死させた動物で最も顕著であった。骨病変及び鉱質沈着に関連した変化として，血清中無機リン，FGF23，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 及び PTH の変化が認められた。トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-9 に示す。

表 2.6.6-9 エルダフィチニブの雌雄イヌを用いた 2 週間経口投与毒性試験における トキシコキネティクスデータ（平均値）

Dose (mg/kg)	Study Day	C_{max} (ng/mL)		AUC [a] (ng·h/mL)	
		M	F	M	F
1 (q.d.)	0	23.8	7.87	146	33.2
	10	52.6	17.8	337	83.5
5 (every other day)	0	338	333	3846	4491
	10	469	561	4956	8850

[a] AUC_{inf} for Day 0 and $AUC_{0\text{-}24h}$ for Day 10
n=1 or 2
F = female; M = male

2.6.6.3.3.3 イヌを用いた 1 カ月間反復経口投与毒性試験及び 1 カ月間回復試験（TOX10083，GLP）

【資料番号 4.2.3.2.8】

【試験方法】

雌雄イヌ（1 群各 3 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：20% HP-β-CD），0.25，0.5 及び 1 mg/kg/日 QD 若しくは 2 mg/kg/日の用量で週 2 回 1 カ月間反復強制経口投与した。溶媒投与群，1 mg/kg/日 QD 及び 2 mg/kg/日週 2 回投与群については，1 群雌雄各 2 例の回復群を設定し，投与期間終了後 1 カ月間休薬して回復性を検討した。評価項目は，死亡，一般状態観察，眼科学的検査，心電図（ECG）及び心拍数，摂餌量，体重，血液学的検査，血液生化学的検査，凝固検査，尿検査，器官重量，剖検及び病理組織学的検査とした。加えて，リン酸塩ホメオスタシスマ

ーカーとして，血清中無機リン，カルシウム，FGF23，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 及び PTH を投与開始前，初回投与の 6 時間後（Day 0），初回投与の 24 時間後（Day 1），Day 2，Day 4（週 2 回投与群のみ，2 回目の投与前），Day 7，Day 11，投与期間終了時及び回復期間中に測定した【2.6.7.7C】。Day 0 及び 26 又は 28 にトキシコキネティクスを評価した。

【結果】

いずれの投与群でもエルダフィチニブに関連した死亡は認められず，ECG 及び心拍数，ルーチンの尿検査，器官重量及び剖検に影響は認められなかった。

リン酸塩ホメオスタシスマーカーでは，FGF23 を除き 1 mg/kg/日 QD 又は 2 mg/kg/日週 2 回投与でのみ影響が認められた。1 mg/kg/日では，投与期間を通して血清中無機リンの軽度～中等度の増加が認められたが，カルシウム濃度には特記すべき変化はなかった。2 mg/kg/日週 2 回投与では血清中無機リンの増加は軽微だった。全ての投与群で初回投与後，FGF23 が速やかに減少した。1 mg/kg/日又は 2 mg/kg/日週 2 回投与では，その後軽度～中等度に増加し，2 mg/kg/日週 2 回投与では，FGF23 は次の投与時には変化はみられなかった。初回投与後速やかに FGF23 が減少したと同時に，1 mg/kg/日の雌 1 例及び 2 mg/kg/日週 2 回投与の雌全例で，PTH が一時的に増加した。1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 は，1 mg/kg/日又は 2 mg/kg/日週 2 回投与で投与初日に増加し，1 mg/kg/日のみ 2 日目にも継続して増加していたが，以降は変化はみられなかった。加えて，1 mg/kg/日及び 2 mg/kg/日週 2 回投与ではトリグリセリドが低下した。

0.25 及び 0.50 mg/kg/日の忍容性は良好で，一般状態，体重，臨床病理パラメータ及び病理組織学的検査で特記すべき変化は認められなかった。

1 mg/kg/日では，雌 1 例で自発運動低下，化膿性鼻漏，眼脂及び粘血便が認められ，主に投与 2 週目に摂餌量及び体重減少が認められた。さらにこの雌では，一過性の炎症性変化としてフィブリノーゲン及び白血球（好中球，単球）の増加，並びにヘマトクリット及び網状赤血球の減少が認められた。また，血液生化学的検査では ALP 及びコレステロールの増加が認められた。病理組織学的検査では，左心房の軽度な鉱質沈着に加え，腎臓，胃，肺，舌の動脈及び唾液腺で軟組織鉱質沈着が認められた。雄 2 例では，大動脈に軽度又は中等度の多巣性限局的鉱質沈着が認められ，中等度の鉱質沈着が認められた雄では複数の組織に軟組織鉱質沈着も認められた。血清中無機リンが増加した雌雄で，複数の組織に軟組織鉱質沈着が認められた。全例の胸骨及び大腿骨に軽微～中等度の軟骨異形成／化生が認められ，雌 1 例の小臼歯に顕著な弯入を伴う不規則な象牙質が認められた。

2 mg/kg/日週 2 回投与では，全例で血清中無機リンの一時的増加及び雄のみでトリグリセリドの減少が認められたが，一般状態，体重，血液学的検査，血液生化学的検査，凝固検査，尿検査に影響は認められなかった。雄全例及び雌 3 例中 2 例に胸骨及び／又は大腿骨の軽微～軽度な軟骨異形成／化生が認められたが，大動脈，心臓及び他の軟組織で鉱質沈着は認められなかった。

1 mg/kg/日 QD 及び 2 mg/kg/日週 2 回投与の回復群において，1 カ月間の休薬期間中，FGF23 は投与終了 72 時間後まで増加したが，他のリン酸塩ホメオスタシスパラメータと同様に回復期間終了時には変化はみられなかった。胸骨及び大腿骨の軟骨異形成／化生は回復あるいは明らかな回復傾向が認められた。1 mg/kg/日の回復群雄 2 例で大動脈の軽度な多巣性限局的鉱質沈着が認められたが，他の器官に鉱質沈着は認められなかった。小臼歯の象牙質の変化は認められなかった。

以上のとおり，エルダフィチニブを 0.25，0.5 及び 1 mg/kg/日 QD 若しくは 2 mg/kg/日を週 2 回で 1 カ月間反復経口投与した結果，忍容性は良好で死亡は認められなかった。1 mg/kg/日及び 2 mg/kg/日週 2 回投与では，胸骨及び／又は大腿骨に軟骨異形成／化生が発現した。大動脈，心臓及び軟組織の鉱質沈着は 1 mg/kg/日のみで認められた。また，1 mg/kg/日の 1 例で不規則な象牙質がみられた。これらの変化は，血清中無機リン，FGF23，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 及び PTH の変化を伴っていた。1 mg/kg/日の軟骨異形成及び鉱質沈着を考慮すると，雌雄イヌを用いた 1 カ月間経口投与毒性試験の NOAEL は 0.5 mg/kg/日 QD と判断された。1 カ月間の投与期間終了時の NOAEL での平均 C_{max} 及び AUC 値は，雄で 7.05 ng/mL 及び 49.2 ng·h/mL，雌で 4.68 ng/mL 及び 17.1 ng·h/mL であった。概して，2 mg/kg/日週 2 回投与は 1 mg/kg/日 QD よりも曝露量が高いにもかかわらず，わずかに忍容性が良好であった。1 mg/kg/日及び 2 mg/kg/日週 2 回投与では，1 カ月間の回復期間終了時に軟骨異形成／化生は部分的回復，象牙質変化は回復が認められた。ただし，大動脈の多巣性限局的鉱質沈着は回復していなかった。トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-10 に示す。

表 2.6.6-10 エルダフィチニブの雌雄イヌを用いた 1 カ月間経口投与毒性試験におけるトキシコキネティクスデータ（平均値）

Dose (mg/kg)	Study Day	C_{max} (ng/mL)		AUC [a] (ng·h/mL)	
		M	F	M	F
0.25 (q.d.)	0	2.15	0.444	13.6[2]	NC[b]
	26	1.88	0.788	9.66[2]	NC[b]
0.50 (q.d.)	0	4.63	1.27	35.8[2]	5.32[2]
	26	7.05	4.68	49.2	17.1[2]
1.0 (q.d.)	0	17.3	9.38	102	36.3
	26	39.8	38.5	305	251
2 (twice weekly)	0	53.9	99.2	377	782
	28	60.4	102	429	823

[a] AUC_{inf} for Day 0 and $AUC_{0\text{-}24h}$ for Day 26/28
[b] NC, not calculated, more than 25% extrapolation or insufficient plasma concentration
n=3 unless otherwise stated [n]
The twice weekly dosed group was dosed every Monday and Thursday with Day 28 being a dosing day.
F = female; M = male

2.6.6.3.3.4 イヌを用いた 3 カ月間経口投与毒性試験（TOX10849，GLP）

【資料番号 4.2.3.2.9】

【試験方法】

雌雄イヌ（1 群各 4 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：20% HP-β-CD），0.5 及び 0.75 mg/kg/日 QD 若しくは 1.5 mg/kg/日を 7 日間投与／7 日間休薬の間欠投与で 3 カ月間反復強制経口投与した。評価項目は，死亡，一般状態観察，眼科学的症状［Schirmer テスト（涙の分泌量検査）を含む］，摂餌量，体重，ECG 及び心拍数，血液学的検査，血液生化学的検査，凝固検査，尿検査，器官重量，剖検及び病理組織学的検査とした。さらに，投与開始前，投与 8 週後（間欠投与群では 7 日間の休薬期間の終了時に相当）及び試験終了時（間欠投与群では最後の 7 日間の投与期間の終了時に相当）にリン酸塩ホメオスタシス及び骨代謝マーカーを測定した【2.6.7.7D】。Day 6 及び 90（間欠投与群ではそれぞれ最初と最後の投与期間の終了時に相当）にトキシコキネティクスを測定した。

【結果】

いずれの投与群でもエルダフィチニブに関連した死亡はなく，ECG 及び心拍数に対する影響は認められなかった。

全ての投与群で，投与 3 カ月間後に眼病変，被毛の変化及び腺／上皮組織の萎縮が認められた。投与の 2 及び／又は 3 カ月目に眼脂（片側性又は両側生，水様～膿性）が認められた。0.75 mg/kg/日の雌 1 例で強膜の赤色化が投与期間終了時に認められた。投与期間終了時の眼科学的検査で，0.75 mg/kg/日の一部の動物で両側性の軽度なびまん性角膜混濁と中等度の眼瞼痙攣が同時に認められた。同様の所見は，発現頻度はわずかに低いものの，1.5 mg/kg/日間欠投与にも認められた。投与期間終了時の Schirmer テストで，1.5 mg/kg/日間欠投与の雄 1 例及び全ての投与群の雌の一部に涙液産生量の大幅な減少が認められたが，明確な用量相関はなかった。一部の動物で認められた眼瞼痙攣の原因は，涙液産生減少によると考えられる。病理組織学的検査では，いずれの投与群でも涙液産生減少と関連する涙腺の上皮萎縮が認められ，萎縮の重症度は低用量群と比較して，中及び高用量群で概して高かった。角膜では病理組織学的変化は認められなかった。

全ての投与群の雌雄で，投与期間の最後の 1 カ月間に被毛の変化（粗毛，立毛，変色，菲薄化）及び爪の伸長又は損傷が認められた。0.75 mg/kg/日及び 1.5 mg/kg/日間欠投与で認められた被毛の変化は，複数例で局所的な脱毛を伴っており，1.5 mg/kg/日の雌 1 例では顎周辺の赤色化が認められた。病理組織学的検査では，1.5 mg/kg/日間欠投与の雄で毛包の増加が認められた。また，全ての投与群の雌雄で舌，耳下腺及び涙腺の上皮委縮が認められた。剖検では，全ての投与群の雌で甲状腺重量が低値を示し，関連する変化として 0.75 mg/kg/日及び 1.5 mg/kg/日間欠投与の病理組織学的検査で濾胞の小型化が認められた。

0.75 mg/kg/日では，雌 1 例で投与期間終了時に円背位及び後肢の硬直が認められた。病理組織学的検査で，複数例で胸骨及び大腿骨の軟骨異形成／化生が認められた。剖検で，複数例の心臓及び大動脈で不整表面が認められ，関連する変化として病理組織学的検査で大動脈及び心臓の鉱質沈着／変性が認められた。雄 1 例で上室性期外収縮が認められたが，この動物の心臓に鉱質沈着はなく，エルダフィチニブに関連した変化ではないと考えられた。

1.5 mg/kg/日の間欠投与では，0.75 mg/kg/日と比較して，概して忍容性は良好でなかった。雄 1 例では，血便が 1 回認められた。投与の 1 週目に摂餌量の低下に伴う一時的な体重減少が認められた。投与期間終了時に，雌雄ともにフィブリノーゲンの軽度な増加が認められた。病理組織学的検査では 0.75 mg/kg/日と同様の変化が認められたが，大動脈／心臓の鉱質沈着及び胸骨の軟骨異形成／化生の発現頻度及び重症度は増加していた。歯の象牙質異常，口腔粘膜の軽微な萎縮及び耳の毛包の軽微な増加は間欠投与群のみでみられた。病理組織学的検査で毛包の増加が認められたのは 1.5 mg/kg/日の間欠投与の雄のみであったが，一般状態への影響としての被毛変化は全ての投与群で認められた。

0.75 mg/kg/日及び 1.5 mg/kg/日間欠投与で認められた鉱質沈着及び骨病変は，血清中無機リンの増加と関連していた。1.5 mg/kg/日間欠投与では，試験終了時（最後の 7 日間の投与期間終了時）に血清中無機リンが増加していたが，投与 8 週後（最後の 7 日間の休薬期間終了時）には増加は認められず，血清中無機リンは最終投与から 1 週間以内に正常化することが示された。試験終了時に血清中カルシウムの変化はみられなかったが，尿中カルシウム（クレアチニン補正）は

1.5 mg/kg/日間欠投与の雌で増加していた。尿中無機リンはいずれの投与群も変化は認められなかった。全ての投与群で，投与 8 週後及び投与期間終了時に FGF23 の増加が認められた。1.5 mg/kg/日間欠投与では，7 日間の休薬期間終了時に相当する投与 8 週後に 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 が減少していたが，試験終了時には変化はみられなかった。0.75 mg/kg/日及び 1.5 mg/kg/日間欠投与で，投与 8 週後に PTH の減少が認められ，1.5 mg/kg/日間欠投与では投与期間終了時まで減少が継続していた。骨代謝マーカーに関しては，0.75 mg/kg/日及び 1.5 mg/kg/日間欠投与で，投与 8 週後及び投与期間終了時に用量に相関した尿中デオキシピリジノリンの増加が認められ，1.5 mg/kg/日間欠投与の投与期間終了時に血清中 NTx が増加していた。1.5 mg/kg/日間欠投与では，試験終了時に ALP の軽微な増加（2 倍未満）が認められた。全ての投与群の雌及び 1.5 mg/kg/日間欠投与の雄で，網状赤血球，総白血球，リンパ球，好中球及び単球の減少が認められたが，明確な用量相関はなかった。

以上のとおり，エルダフィチニブを 0.5 及び 0.75 mg/kg/日 QD 若しくは 1.5 mg/kg/日を 7 日間投与／7 日間休薬の間欠投与で 3 カ月間反復経口投与した結果，エルダフィチニブの薬理作用である FGFR 阻害に伴う影響が認められた。全ての投与群で，眼に関連した所見（眼脂，角膜混濁及び涙腺の萎縮），腺組織である唾液腺及び上皮（舌，口腔粘膜，皮膚，被毛及び爪）の萎縮が認められた。0.75 mg/kg/日及び 1.5 mg/kg 日間欠投与では，エルダフィチニブに関連する血清中及び尿中パラメータの変化（主に，血清中無機リン，FGF23，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3，PTH，カルシウム，ALP 及び NTx，並びに尿中デオキシピリジノリン）を伴う軟骨異形成及び軟組織鉱質沈着が認められた。全ての投与群で涙腺の萎縮が認められたことから，NOAEL は雌雄ともに 0.5 mg/kg/日 QD 未満であると考えられた。3 カ月間の投与期間終了時の平均 C_{max} 及び AUC 値は，0.5 mg/kg/日では雄でそれぞれ 21.6 ng/mL 及び 172 ng·h/mL，雌で 15.9 ng/mL 及び 92 ng·h/mL であった。間欠投与による毒性の減弱を目的として本試験で 7 日間投与／7 日間休薬での間欠投与群を設定したが，1 日 1 回投与と比べて間欠投与による毒性プロファイルの改善は認められなかった。トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-11 に示す。

表 2.6.6-11 エルダフィチニブの雌雄イヌを用いた 3 カ月間経口投与毒性試験におけるトキシコキネティクスデータ（平均値）

Dose (mg/kg)	Study Day	C_{max} (ng/mL)		$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	
		M	F	M	F
0.5 (q.d.)	6	18.5	8.45	108	40.2
	90	21.6	15.9	172	92
0.75 (q.d.)	6	27.2	20.7	218	146
	90	38.9	26.1	394	213
1.5 (7 days on/7 days off)	6	117	71.0	1130	682
	90	113	98.1	1300	969

n=4
F = female; M = male

2.6.6.4 遺伝毒性試験

エルダフィチニブの遺伝毒性について，*in vitro* と *in vivo* の標準的組合せにより評価した。各試験結果の概要を下記に示す。

2.6.6.4.1 非哺乳類細胞を用いた *in vitro* 試験

2.6.6.4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異（Ames）試験（TOX10818，GLP）

【資料番号 4.2.3.3.1.1】

【試験方法】

エルダフィチニブの復帰突然変異誘発性について，ヒスチジン要求性のネズミチフス菌株（TA98，TA100，TA1535 及び TA1537）及びトリプトファン要求性の大腸菌株 WP2 *uvrA* を用いて，Aroclor 1254 で処理したラット肝 S9 の存在下及び非存在下で 10～5000 µg/plate の濃度範囲でプレート法により評価した。溶媒としてジメチルスルホキシド（DMSO）を用いた【2.6.7.8A】。

【結果】

エルダフィチニブの 600，1200，2500 及び 5000 µg/plate で，S9 の有無に関わらず細胞毒性（復帰突然変異株数の減少及び／又は軽度～著しいコロニー数の減少）が認められた。いずれの濃度でも沈殿は認められなかった。

エルダフィチニブは，S9 の存在下及び非存在下にかかわらず，いずれの試験菌株及び濃度においても復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上の結果より，エルダフィチニブは細菌を用いた復帰突然変異試験で変異原性を有さないと判断された。

2.6.6.4.2 哺乳類細胞を用いた *in vitro* 試験

2.6.6.4.2.1 TK6 細胞を用いた *in vitro* 小核試験（TOX10819，GLP）

【資料番号 4.2.3.3.1.2】

【試験方法】

エルダフィチニブの数的異常又は染色体異常誘発性について，ヒトリンパ芽球細胞株の TK6 細胞を用いて，Aroclor 1254 で処理したラット肝 S9 の存在下及び非存在下で評価した。予備的な濃度設定試験の結果から，エルダフィチニブの濃度範囲をラット S9 非存在下では 4.93～25.5 µg/mL（3 時間処理）及び 0.83～5.29 µg/mL（27 時間処理），並びにラット S9 存在下では 11.7～51.4 µg/mL（3 時間処理）とした。いずれも処理開始から 27 時間後に細胞を回収した。溶媒として DMSO を用いた【2.6.7.8B】。

【結果】

S9 非存在下では，エルダフィチニブ 3 時間処理群の 13.6 µg/mL 以上及び 27 時間処理群の 5.29 µg/mL，並びに S9 存在下では 3 時間処理群の 27.5 µg/mL 以上で細胞毒性が認められ，各処理濃度の最高濃度では溶媒処理群に対して相対的細胞集団倍加（RPD）が 50%～60%に減少した。

各濃度でそれぞれ 2000 個以上の細胞を評価し，小核を持つ細胞数を算出したところ，S9 の存在下及び非存在下にかかわらず，いずれのエルダフィチニブの濃度及び処理時間でも小核を持つ細胞の増加は認められなかった。

以上の結果より，エルダフィチニブは，ヒト由来 TK6 細胞を用いた *in vitro* 小核試験で，数的異常又は染色体異常誘発性を示さないと判断された。

2.6.6.4.3 哺乳類を用いた *in vivo* 試験

エルダフィチニブの染色体異常誘発性及び／又は染色体分裂装置の損傷誘起性について，ラットの骨髄細胞を用いて評価した。ラットを用いた *in vivo* 小核試験の用量は，用量設定試験の結果を基に設定し，溶媒として 0.5%メトセルを用いた。

2.6.6.4.3.1 ラットを用いた *in vivo* 小核試験の用量設定試験（TOX10881，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.3.2.1】

【試験方法】

雌雄ラット（1 群各 3 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：0.5%メトセル），250，500，1000 及び 2000 mg/kg/日の用量で 2 日間連日経口投与し，小核試験のための最大耐量を求めた【2.6.7.9A】。

【結果】

2000 mg/kg/日では全例が死亡した。全ての投与群の全例で立毛が認められ，1000 及び 2000 mg/kg/日の雌雄で嗜眠，眼の痂皮，耳の蒼白及び／又は下痢が認められた。体重への明らかな影響は認められなかった。

上記に基づき，*in vivo* 小核試験の高用量として 1000 mg/kg/日を選択した。また，毒性に明らかな性差がなかったことから，*in vivo* 小核試験は雄のみを用いて実施した。

2.6.6.4.3.2 ラットの骨髄を用いた *in vivo* 小核試験（TOX10857，GLP）

【資料番号 4.2.3.3.2.2】

【試験方法】

雄ラット（1 群各 5 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：0.5%メトセル），250，500 及び 1000 mg/kg/日の用量で 2 日間連日経口投与した。2 回目の投与 24 時間後に骨髄細胞を採取し，顕微鏡下で小核の有無を評価した。別途サテライト群（1 群各雄 3 例）を設定し，2 回目投与後の 2，7 及び 24 時間に採血し，血漿中のエルダフィチニブ濃度を測定した【4.2.3.3.2/TOX10857 及び 2.6.7.9B】。

【結果】

試験期間を通じて，いずれの投与群でも死亡及び一般状態への影響は認められなかった。

エルダフィチニブによる小核を有する幼若赤血球の発現頻度に顕著な増加は認められず，幼若赤血球の比率の顕著な減少も認められなかった。また，全ての投与群でエルダフィチニブの全身曝露が確認された（表 2.6.6-12）。

表 2.6.6-12 雄ラットを用いた骨髄小核試験でのエルダフィチニブの平均血漿中濃度

Dose (mg/kg)	Mean Plasma Concentration (ng/mL)		
	2 hours	7 hours	24 hours
250	2760	2260	397
500	3210	3680	2730
1000	6800	6880	11700

n = 3

以上の結果より，1000 mg/kg までの用量で検討した *in vivo* ラット骨髄小核試験で，エルダフィチニブは染色体異常誘発性を示さないと判断された。

2.6.6.5 がん原性試験

ICH S9 に従い，エルダフィチニブのがん原性試験は実施していない。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

ICH S9 に従い，エルダフィチニブの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施せずに，反復投与毒性試験の病理組織学的検査で雌雄生殖器への影響を評価した。その結果，ラットを用いた 3 カ月間一般毒性試験において，32 mg/kg/日間欠投与（7 日間投与／7 日間休薬）の雌 2 例で生殖器への影響として黄体壊死が認められた【2.6.6.3.2.4】。黄体壊死が認められた 32 mg/kg/日間欠投与における曝露量は，最大臨床推奨用量の 9 mg を 1 日 1 回で投与を受けた患者の AUC と同程度であった。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

妊娠 Sprague-Dawley ラットの器官形成期にエルダフィチニブを強制経口投与し，エルダフィチニブの胚・胎児発生に対する影響を評価した。ラットを用いた用量設定試験及び胚・胎児発生に関する毒性試験の結果の概要を下記に示す。エルダフィチニブはラットで催奇形性及び胎児毒性が認められたため，ICH S9 に従い第二の動物種を用いた試験は実施していない。

2.6.6.6.2.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する毒性試験の用量設定試験（TOX12063，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.5.2.1】

【試験方法】

妊娠ラット（1 群各 6 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：20% HP-β-CD），0.4，4 及び 16 mg/kg/日 QD で器官形成期間（妊娠 6～17 日）に反復強制経口投与した。In life の評価項目は，死亡，一般状態観察，摂餌量及び体重とした。また，投与期間終了時に血清中カルシウム，無機リン及び FGF23 を測定した。妊娠 21 日に母動物を安楽死させ，剖検，妊娠状態，黄体数，着床数，早期・後期吸収胚数，生存胎児数及び死亡胎児数を評価した。胎児では，体重測定，性別判定，外表検査，内臓及び骨格検査を実施した【2.6.7.11】。

【結果】

いずれの投与群でもエルダフィチニブに関連した母動物の死亡はなかった。16 mg/kg/日の母動物 1 例で，投与期間中及び投与期間終了後（妊娠 14～15，17，19～21 日）に赤色の腟分泌物が認められた以外は，いずれの投与群でも特記すべき一般状態への影響は認められなかった。溶媒及びエルダフィチニブ投与群の全例で妊娠 21 日まで妊娠が継続しており，いずれの投与群でも母動物の剖検で特記すべき変化は認められなかった。

投与期間終了時の血清中無機リン濃度は溶媒投与群とエルダフィチニブ間で概ね同様であった。4 及び 16 mg/kg/日の母動物で，血清中 FGF23 は用量に相関して増加し，血清中カルシウムは 16 mg/kg/日で増加していた。

0.4 及び 4 mg/kg/日では，摂餌量，体重（増加量）及び妊娠パラメータに影響は認められなかった。生存胎児の平均体重は，溶媒投与群と 0.4 mg/kg/日間で差はなかったが，4 mg/kg/日では軽

度に減少した。胎児の骨格検査では，4 mg/kg/日で一部の骨（頸椎，胸骨及び後肢の中足骨）で骨化遅延の発現頻度が増加し，胎児の体重減少と関係があると考えられた。胎児の外表及び内臓検査では，0.4 及び 4 mg/kg/日で特記すべき変化は認められなかった。

16 mg/kg/日では，母動物で高度の体重減少及び／又は体重増加量の減少，並びに摂餌量の減少が認められた。投与期間終了後でも体重増加は認められず，溶媒投与群と比較して，16 mg/kg/日の補正した母動物の平均体重増加量は顕著に減少していた。母動物の体重に対する有害な影響により，早期吸収胚数が重度に増加し着床後胚損失率が 100%となったため，その後の検査の対象となる胎児は得られなかった。

以上のとおり，エルダフィチニブの 16 mg/kg/日では極めて強い母体毒性が認められたため，胚・胎児発生に関する毒性試験の本試験における高用量として適切でないと考えられた。

2.6.6.6.2.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する毒性試験（TOX12329，GLP）

【資料番号 4.2.3.5.2.2】

【試験方法】

妊娠ラット（1 群各 22 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：20% HP-β-CD），1，4 及び 8 mg/kg/日 QD で器官形成期間（妊娠 6～17 日）に反復強制経口投与した。In life の評価項目は，死亡，一般状態観察，摂餌量及び体重とした。妊娠 20 日に母動物を安楽死させ，剖検，妊娠状態，黄体数，着床数，早期・後期吸収胚数，生存胎児数及び死亡胎児数を評価した。胎児では，体重測定，性別判定，外表検査，内臓及び骨格検査を実施した【2.6.7.13】。主試験群の動物について，妊娠 6 及び 17 日にエルダフィチニブのトキシコキネティクスを評価した。また，別途サテライト群［1 群各 5 例（溶媒投与群は 3 例）］を設定し，妊娠 17 日の胎児の血漿中濃度を測定した。

【結果】

いずれの投与群でもエルダフィチニブに関連した母動物の死亡は認められず，特記すべき一般状態への影響は認められなかった。8 mg/kg/日の母動物では，妊娠後期に体重増加量の減少が認められ，剖検で認められた妊娠子宮重量の減少と関連していた。妊娠子宮重量で補正した剖検時の母動物の平均体重は，溶媒投与群と差はなかった。投与期間終了後（妊娠 18～20 日）に摂餌量の軽微な減少が認められたが，それ以外ではいずれの投与群でも影響は認められなかった。溶媒及びエルダフィチニブ投与群の全例で安楽死（帝王切開）時まで妊娠が継続しており，いずれの投与群でも母動物の剖検で特記すべき変化は認められなかった。

1 mg/kg/日では，胚・胎児の生存数及び体重に影響はなく，胎児の外表，内臓及び骨格検査で特記すべき変化は認められなかった。

4 mg/kg/日では，外表検査で異常は認められなかった。内臓検査で，胎児 1 例に食道後方右鎖骨下動脈の形態異常が認められた。また第 13 肋骨の短縮が認められる胎児の発現頻度が軽度に増加した。

8 mg/kg/日では，同腹胎児数の減少（溶媒投与群の 14.5 児に対して 6 児）及び胎児体重の減少（溶媒投与群と比較して-28%）が認められ，妊娠子宮重量の減少及び母動物の体重増加量の抑制と関連していた。着床後胚損失率は，溶媒投与群の 5%に対して 58%と高く，これは帝王切開時

に生存胎児が認められなかった雌 6 例の所見に起因していた。胎児の外表検査では，欠指（1 本以上の欠指）が認められた。骨格検査では，指の骨格変化（外表検査における欠指症を伴う），長管骨の欠損又は変形を伴う四肢欠損，及び胸椎の形態異常が認められた。胎児の低体重に関連して，複数の骨に骨化遅延（主に四肢，胸骨及び椎骨）が認められ，加えて第 13 肋骨が短く胸骨分節が非対称の胎児の発現頻度が高かった。大部分の胎児で，主に食道後方大動脈弓，食道後方右鎖骨下動脈などの大血管形態異常又は大動脈弓離断が認められた。

以上のとおり，妊娠ラットにエルダフィチニブを 1，4 及び 8 mg/kg/日の用量で器官形成期に反復経口投与した結果，8 mg/kg/日の妊娠後期に，胚・胎児の死亡及び平均胎児体重の減少による母動物の体重増加量の減少が認められた。8 mg/kg/日では，胎児に形態異常（主に四肢及び大血管の異常）がみられ，催奇形性が認められた。4 mg/kg/日では，明らかな胚・胎児発生に関する毒性はなかったが，胎児 1 例で 8 mg/kg/日と同様の大血管の形態異常が認められたことから，当該用量でもラットには催奇形性があることが示唆された。したがって，胚・胎児発生に対する NOAEL は，低用量の 1 mg/kg/日と考えられた。1 mg/kg/日の妊娠 6 及び 17 日の平均 C_{max} 値はそれぞれ 0.68 及び 0.73 ng/mL であった。AUC は得られた血漿中濃度が限られていたため算出できなかった。母動物における体重増加量への影響は，胚・胎児発生毒性の二次的変化として生じたことから，母動物に対する NOAEL は 8 mg/kg/日と考えられた。母動物におけるエルダフィチニブの曝露量は非妊娠ラットと同様であった【2.6.7.3】。全ての投与群で母動物に比べ胎児の曝露量は低かった。トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-13 に示す。

表 2.6.6-13 エルダフィチニブの妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する毒性試験におけるトキシコキネティクスデータ（平均値）

Dose (mg/kg)	Gestation Day	C_{max} (ng/mL)	AUC_{last} (ng·h/mL)
1 (q.d.)	6	0.68	n/a
	17	0.73	n/a
4 (q.d.)	6	4.93	14.4
	17	10.0	24.1
8 (q.d.)	6	12.7	47.1
	17	38.8	105

n/a = not available (due to the limited plasma concentrations available, no AUC calculation was possible.)
n = 3

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

ICH S9 に従い，エルダフィチニブの出生前及び出生後の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。エルダフィチニブはラットで FGFR 阻害剤のクラス効果と考えられる催奇形性及び胎児毒性が示されたため，エルダフィチニブの出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験を実施したとしても新たに価値のある情報は得られないと考えられる。

2.6.6.6.4 幼若動物を用いた毒性試験

エルダフィチニブは成人の進行がん患者の治療を目的としているため，幼若動物を用いた毒性試験は実施していない。

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 光毒性試験

エルダフィチニブは 290～700 nm の波長の光を吸収し，モル吸光係数が 1000 L mol^{-1} cm^{-1} を上回ると算出されたこと【3.2.S.3.1，DS-TEC-106793】から，*in vitro* 光毒性試験を実施した。*In vitro* 光毒性試験の結果が陽性を示したことから，有色ラットを用いて *in vivo* 光毒性試験を実施し，皮膚に対する光毒性を評価した。各試験結果の概要を下記に示す。

2.6.6.7.1.1 ほ乳類培養細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験（TOX10235，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.6.1】

【試験方法】

マウス線維芽細胞株である Balb/c 3T3 細胞に，0.039～1000 µg/mL のエルダフィチニブを 1 時間曝露した後，5 J/cm^2 の紫外線 A（UV-A）の照射下（50 分）又は非照射下で処理し，ニュートラルレッドの取込みを測定して細胞生存率の相対的な減少を評価した【2.6.7.16】。本試験は同じ条件で 2 回実施した。

【結果】

ニュートラルレッド取り込みに対する平均 50%阻害濃度（IC_{50} 値）は，光照射下及び非照射下において，1 回目の実験でそれぞれ 0.80 µg/mL 及び 122.19 µg/mL，2 回目の実験で 0.52 及び 152.34 µg/mL であった。エルダフィチニブの光毒性係数（PIF）は 1 回目及び 2 回目の実験でそれぞれ 152.5 及び 292.1 と算出された。PIF が 5 を上回ったことから，エルダフィチニブは *in vitro* で光毒性があると判断された。

2.6.6.7.1.2 有色ラットを用いた *in vivo* 光毒性試験（TOX10684，GLP）

【資料番号 4.2.3.6.2】

【試験方法】

雌の有色 Long Evans ラット（1 群各 5 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：20% HP-β-CD），4，8 及び 16 mg/kg/日 QD，3 日間反復強制経口投与し，血中濃度が最高濃度付近である投与期間終了の約 2 時間後に紫外線（10 J/cm^2 UV-A）を 1 回（42 分間）照射した。紫外線照射の 1 及び 4 時間後，並びに 1，2 及び 3 日後に皮膚における光毒性の徴候（紅斑，浮腫又は剥離）を評価した。別途サテライト群（1 群各雌 3 例）を設定し，エルダフィチニブのトキシコキネティクスを評価した。本試験では眼の光毒性は評価しなかった【2.6.7.16】。

【結果】

いずれの投与群でも皮膚反応は認められなかった。いずれのラットも計画安楽死の時点まで生存し，試験期間中は一般状態への影響は認められなかった。トキシコキネティクスでは，エルダフィチニブの曝露量が用量に伴い増加することが確認された（表 2.6.6-14）。

表 2.6.6-14 エルダフィチニブの雌ラットを用いた 3 日間反復経口投与光毒性試験における トキシコキネティクスデータ（平均値）

Dose (mg/kg)	Study Day	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)
4 (q.d.)	3	2.71	10.1
8 (q.d.)	3	21.2	79.9
16 (q.d.)	3	116	544

n = 3

以上のとおり，エルダフィチニブを 4，8 及び 16 mg/kg/日の用量で QD，3 日間反復経口投与し，投与終了の約 2 時間後に紫外線を 1 回照射した結果，皮膚で光毒性は確認されなかった。上記の所見に基づき，ラットの光毒性に対する NOAEL は検討した最高用量である 16 mg/kg/日であった。光毒性に対する NOAEL での試験終了時の平均 C_{max} 及び AUC 値はそれぞれ 116 ng/mL 及び 544 ng·h/mL であった。

2.6.6.7.2 皮膚感作性試験

2.6.6.7.2.1 マウスを用いた局所リンパ節試験（TOX10363，GLP）

【資料番号 4.2.3.6.3】

【試験方法】

マウスを用いて局所リンパ節試験を実施し，エルダフィチニブの局所接触時の皮膚感作性を評価した。雌 CBA/Ca マウス（1 群各 4 例）に 0%（溶媒：ジメチルホルムアミド），2.5%，5%及び 10%のエルダフィチニブ溶液（25 µL）を QD，3 日間連日で両耳の背側表面に塗布した。初回の塗布から 5 日後に，耳介の流入領域リンパ節細胞の ^{3}H-メチルチミジンの取り込みを測定し，リンパ球の増殖反応を評価した【2.6.7.16】。

【結果】

溶媒投与群と比較し，2.5%，5%及び 10%溶液の刺激指数はそれぞれ 2.7，4.1 及び 7.7 であった。検討した濃度のうち 5%及び 10%で刺激指数が 3 以上だったため，エルダフィチニブは皮膚感作性物質の可能性ありと判断された。溶媒対照群と比較し，刺激指数が 3 となるエルダフィチニブの濃度は 3.5%であった。

2.6.6.7.3 眼及び血管刺激性試験

2.6.6.7.3.1 *In vitro* ウシ摘出角膜を用いた混濁及び透過性試験（TOX10427，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.6.4】

【試験方法】

in vitro BCOP 試験を実施し，エルダフィチニブの眼への刺激性を評価した。高濃度［20%（w/w）］のエルダフィチニブを新鮮なウシ摘出角膜に 4 時間曝露し，角膜の混濁度及び透過性を評価した【2.6.7.16】。本試験は同じ条件で 2 回実施した。

【結果】

エルダフィチニブの曝露により，角膜は極めて重度に混濁したが，透過性の上昇は認められなかった。2 回の実験で算出された *in vitro* での眼刺激性スコアは 109.5 及び 120.0 であり，エルダフィチニブの 20%溶液は極めて強い眼刺激性物質に分類された。

2回目の実験の角膜について病理組織学的検査を行い，局所的な刺激性を評価した。角膜変化は主に上皮で認められ，程度は軽いものの角膜実質でも認められた。角膜上皮では，上部の軽微～軽度の剥離及び白色化／腫脹（主に扁平細胞，翼細胞でも散見），下部の中等度～高度の好酸球増多（基底細胞及び翼細胞）及び軽度の血液凝固が認められた。上皮細胞の核はびまん性に凝集しており，基底細胞の核濃縮及び細胞死が認められ，その結果，上皮と基底細胞の結合性が失われ，角膜実質の接合部に細胞残屑が認められた。上皮と角膜実質の接合部で，軽微～中等度で限局的な結合性の喪失及び収縮／好塩基性角膜実質細胞をしばしば伴う軽微～軽度な角膜実質の膨化が認められた。血管内皮への影響は認められなかった。

2.6.6.7.3.2 *In vitro* 受精鶏卵漿尿膜試験（TOX10916，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.6.5】

【試験方法】

経口投与した際の絶対的バイオアベイラビリティを評価する試験（42756493EDI1002）で，^{13}C 標識エルダフィチニブを健康被験者にマイクロドーズ（100 μg）で IV 投与するため，被検者の安全性を確保することを目的として HET-CAM 試験を実施し，エルダフィチニブの血管刺激性を評価した。受精鶏卵の漿尿膜に 0.02，0.1 及び 0.5 mg/mL のエルダフィチニブ溶液，並びに 0.1 mg/mL の ^{13}C 標識エルダフィチニブ溶液を最大 60 分間曝露し，血管刺激性の評価項目である出血，溶解又は血液凝固を評価した【2.6.7.16】。

【結果】

エルダフィチニブ及び ^{13}C 標識エルダフィチニブは，いずれの濃度でも 60 分まで漿尿膜で血管刺激作用（出血，溶解又は血液凝固）は認められなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性試験

抗原性試験は実施していない。局所リンパ節試験の結果は 2.6.6.7.2 項に示す。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

エルダフィチニブの免疫毒性のみを評価する単独の毒性試験は実施していない。エルダフィチニブは既知の免疫毒性物質に類似する構造を有さず，薬理，毒性及び薬物分布データから免疫毒性試験が必要となるような情報は得られていない。また，エルダフィチニブの対象患者集団の臨床試験成績からも免疫毒性試験の必要性は示唆されなかった。

2.6.6.8.3 毒性発現機序に関する試験

ラットを用いた毒性発現機序に関する試験は，1）軟組織鉱質沈着に対するバイオマーカーの経時的変化を把握し，2）低リン食及びビタミン D_3 欠乏食又はリン吸着薬の添加が軟組織鉱質沈着へ及ぼす影響を評価することを目的として実施した。毒性発現機序に関する試験の用量は，先に実施したラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験に基づいて設定した【2.6.6.3.2.1 及び 2.6.6.3.2.2】。この試験では，100 mg/kg/日 1 日 1 回の投与 1 週間後又は 30 及び 50 mg/kg/日 1 日 1 回の投与 2 週間後に軟組織鉱質沈着が認められた。血清中パラメータとして，無機リン，カルシウム，FGF23，オステオポンチン，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3，25-ヒドロキシビタミン D_3 及

び PTH を測定した。また，剖検時に腎臓検体を採取して，CYP27b1（1α-水酸化酵素又はビタミン D 合成酵素）及び CYP24a1（1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 24-水酸化酵素）の遺伝子発現解析を実施した。本項には軟組織鉱質沈着に関連する所見のみを示し，それ以外の所見を含む全ての試験結果は概要表に示す【2.6.7.17】。

2.6.6.8.3.1 ラットにおけるリン酸塩ホメオスタシスバイオマーカーの経時変化（TOX9636，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.7.3.1】

【試験方法】

雄ラット（1 群各時点 3 又は 6 例）にエルダフィチニブを 0（溶媒：20% HP-β-CD）及び 50 mg/kg の用量で単回，又は 100 mg/kg/日を 1，2，3 及び 4 日間投与し，バイオマーカー変化の開始時期と軟組織鉱質沈着発症の時期の関連性を検討した。初回投与から 4 時間後（Day 0），初回（Day 1），2 回目（Day 2），及び 3 回目（Day 3）の投与後 24 時間に動物を安楽死させた。100 mg/kg/日の 4 日間投与群については，回復群（1 群各 3 例）を設定し，6 日間，2 週間及び 3 週間の回復期間終了後に安楽死させ，鉱質沈着の回復性を評価した。ルーチンの病理組織学的検査に加え，胃及び大動脈では Von Kossa 染色を施し鉱質沈着を確認した【2.6.7.17】。

【結果】

いずれの投与群でも死亡は認められなかった。100 mg/kg では，Day 1 以降に摂餌量が減少し，投与終了日から Day 9（Day 3 の投与終了から 6 日後）まで体重減少が認められた。投与期間終了後の最初の 1 週間（Day 5～9）に 8 例が死亡又は安楽死され，死因は鉱質沈着に関連すると考えられた。

エルダフィチニブ 50 mg/kg の単回投与又は 100 mg/kg での 1 回目の投与後 4 時間では，血清中 FGF23 及びオステオポンチンは減少した。同時に，腎臓の遺伝子発現解析では，CYP27b1 の発現が 4 倍超誘導され，CYP24a1 の発現が 30 分の 1 に抑制された。この時点では一般状態への影響及び剖検所見は認められなかった。

100 mg/kg の 1 回目の投与後 24 時間では，CYP27b1 の誘導及び CYP24a1 の抑制が継続して認められ，血清中 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 及び無機リンの増加が認められた。この時点では血清中 FGF23 の減少は認められなかった。病理組織学的検査では，いずれの組織でも鉱質沈着は認められなかったが，数例の膝関節で軽微な軟骨異形成が認められた。

上記に加え，100 mg/kg を 2 回，3 回及び 4 回投与した動物の投与後 24 時間以降に認められたバイオマーカー変化は，血清中カルシウム及び ALP の増加，並びに PTH の減少であった。大部分の動物で軽微～中等度の鉱質沈着が認められ，発現部位は主に胃，心筋及び心臓の動脈であった。胃で認められた鉱質沈着は Von Kossa 染色で陽性を示した。Day 2 以降では，全例の胸骨及び膝関節で軽度～中等度の軟骨異形成が認められた。

100 mg/kg の 3 回目の投与後 24 時間には鉱質沈着がさらに重症化し，他の組織（大動脈，腎臓，腸，脾臓）でも認められるようになり，また全例で確認された。100 mg/kg/日を 3 回及び 4 回投与した動物における鉱質沈着に関連した肉眼所見として，大動脈，心臓，腎臓及び胃腸管の拡張，退色又は肥厚がみられた。大動脈及び胃の両方で Von Kossa 染色が陽性を示した。

回復期間では，血清中無機リン，カルシウム及び ALP の増加は休薬後 1 週間以内に正常化し，投与終了から 1 週間後までに FGF23 及びオステオポンチン濃度は増加し，同時に 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 が減少した。3 週間の回復期間終了時には全てのパラメータで変化はみられなかった。生存例では，2 又は 3 週間の回復期間後に心臓及び胃の鉱質沈着に部分的回復が認められたが，3 週間の回復期間後もまだ大動脈では著しい鉱質沈着が認められた。1 週間の回復期間後には軟骨異形成はまだ認められたが（わずかな過骨症を伴う例もあり），その後，大部分は回復した（胸骨は部分的回復）。

投与後 4 時間に FGF23 の減少が認められ，骨の FGF23 発現に対する FGFR 阻害の直接的影響によると考えられた（Wöhrle 2011）。より低用量を投与して実施されたエルダフィチニブの反復投与毒性試験では，エルダフィチニブの薬理作用である FGFR 阻害作用の減弱が推測される投与 24 時間後でも無機リン及び 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 の高値が認められ，血清中 FGF23 も増加していた【2.6.6.3.2.2 及び 2.6.6.3.2.3】。しかし，本試験で用いた 100 mg/kg は高用量のため，4 日間の投与期間を通して血清中 FGF23 が持続的に低下し，投与終了後にのみ FGF23 が増加した。

以上のとおり，ラットでは軟組織鉱質沈着による重度の毒性発現の前に血清中無機リンが増加することが確認された。そのため，無機リンは臨床でのモニタリングに適したトランスレーショナルバイオマーカーであると考えられる。心臓及び胃の鉱質沈着は，投与終了後 2 又は 3 週間以内に部分的回復が認められた。トキシコキネティクスデータを表 2.6.6-15 に示す。

表 2.6.6-15 エルダフィチニブの雄ラットを用いた 4 日間経口投与毒性発現機序に関する試験におけるトキシコキネティクスデータ（平均値）

Dose (mg/kg)	Study Day	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}4h}$ (ng·h/mL)
50 (once)	0	484	1351
Dose (mg/kg)	Study Day	C_{max} (ng/mL)	AUC_{inf} or $AUC_{0\text{-}24h}$ [a] (ng·h/mL)
100 (q.d.)	0	837	7495[5]
	1	1184	8161
	2	3683	54961
	3	14385	229999

[a] AUC_{inf} for Day 0 and $AUC_{0\text{-}24h}$ for repeated dosing
n = 3 or 6

2.6.6.8.3.2 ラットを用いた低リン，ビタミン D 欠乏又はリン吸着薬添加食の軟組織鉱質沈着に対する影響（TOX10177，TOX10178，非 GLP）

【資料番号 4.2.3.7.3.2，4.2.3.7.3.3】

エルダフィチニブの反復投与毒性試験において，軟組織鉱質沈着の発症は血清中無機リン及び 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 の増加に直接関連すると考えられたため，エルダフィチニブの投与に加えリン及びビタミン D 含量を減らした特別食を与え，軟組織鉱質沈着に対する影響を検討した。特別食に順化させるため，エルダフィチニブ投与開始 2 日前から特別食を与え，投与期間終了時まで継続した。表 2.6.6-16 に特別食に関する試験におけるエルダフィチニブのトキシコキネティクスを示す。

(1) ラットを用いた低リン食及びビタミンＤ欠乏食の軟組織鉱質沈着に対する影響（TOX10177，非 GLP）

【試験方法】

雄ラット（1 群各 6 例）にエルダフィチニブを 50 mg/kg/日の用量で QD，2 週間反復強制経口投与し，同時に標準食（リン含量が 0.55%～1.00%），低リン食（リン含量が 0.22%）及びビタミン D_3 欠乏食を与えた。溶媒群（20% HP-β-CD）には標準食を与えた。また，別途サテライト群（1 群各雄 3 例）を設定し，エルダフィチニブのトキシコキネティクスを評価した【2.6.7.17】。

【結果】

全ての投与群で心臓又は胃の鉱質沈着による死亡が認められた。各群 2～3 例が死亡し，群間で差は認められなかったが，試験初期から認められた体重への影響及び 2 週目に認められた一般状態への影響（立毛，削痩，流涎過多，軟便，血便及び暗色便の所見）は，標準食と比較して低リン食又はビタミン D_3 欠乏食でより重度であった。ただし，低リン食及びビタミン D_3 欠乏食の摂餌量は試験期間を通して極めて低く，結果の解釈をより困難にさせていると考えられる。血清中無機リン，FGF23 及び 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 の変化は，飼料に関わらず，全ての投与群で同様であり，先に実施したエルダフィチニブのラットを用いた試験で認められた変化と類似していた【2.6.6.3.2】。心臓，胃腸管及び腎臓の鉱質沈着は，標準食群と比較して低リン食又はビタミン D_3 欠乏食群で重症度及び頻度ともにより高かった。軟骨異形成は，胸骨，膝関節及び胸椎で認められ，投与群間で差はなかった。

(2) ラットを用いたリン吸着薬添加食の軟組織鉱質沈着に対する影響（TOX10178，非 GLP）

【試験方法】

雄ラット（1 群各 6 例）に低用量のエルダフィチニブを 30 mg/kg/日の用量で QD，2 週間反復強制経口投与し，同時に低リン食（リン含量 0.22%）を与えた。加えて，他の 2 群には，エルダフィチニブを 30 及び 50 mg/kg/日の用量で QD，2 週間強制反復投与し，同時に消化管内でリンと結合するリン吸着薬であるセベラマーを 3%添加した特別食を与えた。溶媒投与群（20% HP-β-CD）には標準食を与えた。また，別途サテライト群（1 群各雄 3 例）を設定し，エルダフィチニブのトキシコキネティクスを評価した【2.6.7.17】。

【結果】

投与 2 週目に低リン食群＋30 mg/kg/日の 2 例及びリン吸着薬食＋50 mg/kg/日の 1 例で，心臓血管の鉱質沈着又は複数の組織での鉱質沈着／壊死による死亡が認められた。Day 14 にリン吸着薬食＋30 mg/kg/日の 1 例を一般状態の悪化により安楽死させたが，死因は不明であった。リン吸着薬食＋30 mg/kg/日は，低リン食群＋30 mg/kg/日と比較して投与期間終了時の一般状態への影響が少なく，摂餌量及び体重増加量の減少の程度もわずかに軽かった。血清中カルシウム，無機リン，FGF23 及び 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 は，試験期間中の複数の時点で増加していた。投与期間終了時に PTH は減少していたが，飼料の種類又は群間で明確な差はなかった。低リン食群＋30 mg/kg/日では，心臓，大動脈，胃腸管及び腎臓の鉱質沈着の重症度及び発現頻度ともにより明確に高かった。また，リン吸着薬食＋30 mg/kg/日での変化は，リン吸着薬食＋50 mg/kg/日と

比較して，重症度及び／又は発現頻度が低かった。胸骨，膝関節及び胸椎（脊髄）での軟骨異形成は，3 群間で重症度及び発現頻度に差はなかった。

表 2.6.6-16 エルダフィチニブの雄ラットに特別食を与えた 14 日間経口投与毒性試験におけるトキシコキネティクスデータ（平均値）

Group	Dose (mg/kg)	Study Day	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)
1st Study - Standard Diet	50 (q.d.)	13	2787	18119
1st Study - Low Phosphate Diet	50 (q.d.)	13	2320	16878
1st Study - Vitamin D_3 deficient Diet	50 (q.d.)	13	4310[1]	40329[1]
2nd Study - Low Phosphate Diet	30 (q.d.)	13	382	2190[2]
2nd Study - Phosphate Scavenger Diet	30 (q.d.)	13	1019	8451[2]
2nd Study - Phosphate Scavenger Diet	50 (q.d.)	13	1341	8787

n = 3 unless otherwise stated [n]

表 2.6.6-17 に，ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験と毒性発現機序に関する試験で標準食又はリン吸着薬（3%セベラマー）食を与えたときの大動脈及び心臓の鉱質沈着を比較した結果を示す。リン吸着薬（3%セベラマー）を与えられた動物では標準食を与えられた動物に比べて軟組織鉱質沈着の発現頻度及び重症度が低く，特にエルダフィチニブ 50 mg/kg/日で顕著に軽減した。

表 2.6.6-17 エルダフィチニブの雄ラットに標準食又はリン吸着薬を与えた 14 日間経口投与毒性試験における心臓及び大動脈における鉱質沈着の飼料間比較

Diet	Standard	Phosphate Scavenger	Standard	Standard	Phosphate Scavenger
Dose (mg/kg)	30 (q.d.)	30 (q.d.)	50 (q.d.)	50 (q.d.)	50 (q.d.)
Study No.	Mod4.2.3.2.3/ TOX9601	Mod4.2.3.7.3.3/ TOX10178	Mod4.2.3.2.2/ TOX9501	Mod4.2.3.7.3.2/ TOX10177	Mod4.2.3.7.3.3/ TOX10178
No. Examined	6	6	6	5	6
Aorta					
- Mineralization					
Grade 1	-	1	3	-	-
Grade 2	-	-	-	2	-
Grade 3	1	-	1	2	-
Grade 4	-	-	2	1	1
Heart					
- Mineralization, vascular					
Grade 1	-	-	-	-	-
Grade 2	-	-	2	1	-
Grade 3	-	-	1	-	1
Grade 4	-	-	-	1	-

以上のとおり，ラットにリン吸着薬であるセベラマーを添加した飼料を与えたところ，エルダフィチニブによる軟組織鉱質沈着が軽減した。一方で，低リン食又はビタミン D_3 欠乏食はエルダフィチニブ投与後の軟組織鉱質沈着の発症に対する改善は認められなかった。しかし，低リン食及びビタミン D_3 欠乏食では試験期間を通して摂取量は減少し，結果の解釈が困難であった。

2.6.6.8.4 依存性試験

エルダフィチニブの乱用及び依存性の可能性を評価するための試験は実施していない。

2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験

エルダフィチニブの代謝物に対する試験は実施していない。ヒト血漿中で評価が必要なエルダフィチニブの主要代謝物は報告されていない。

2.6.6.8.6 不純物の毒性試験

エルダフィチニブの原薬及び製剤において，ICH Q3A (R2)ガイドライン及び Q3B (R2)ガイドラインに規定された安全性確認の必要な閾値を超える不純物は認められなかったが，規格値の妥当性を評価するために原薬及び製剤中の不純物の安全性を評価した【2.3.S.3.2】【2.3.P.5.5】。また，ICH M7 (R1)に従い実施された不純物の遺伝毒性評価結果は【3.2.S.3.2.1.5】に記載されている。

2.6.6.9 考察及び結論

尿路上皮癌を含む特定の FGFR 遺伝子異常を有する進行がんの治療を目的とした経口抗腫瘍剤の開発を裏付けるため，エルダフィチニブの非臨床安全性を評価した。非臨床安全性評価として，ラット及びイヌを用いた最長 3 カ月までの反復経口投与毒性試験，遺伝毒性試験，ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験，光毒性試験，皮膚感作性試験，並びに眼及び血管刺激性試験を実施した。また，反復投与毒性試験で認められた軟組織鉱質沈着の発症及び病態を精査するため，ラットを用いた軟組織鉱質沈着機序に関する試験を実施した。マウスを用いた忍容性試験では，エルダフィチニブを 2 週間反復経口投与した際の毒性を評価した。

2.6.6.9.1 反復投与毒性試験

ラット及びイヌを用いて実施した最長 3 カ月までの反復経口投与毒性試験で認められた主な所見は，エルダフィチニブの薬理作用である FGFR 阻害に関連していた。エルダフィチニブは正常細胞の FGFR も選択的に阻害するため，腎臓，骨，皮膚，粘膜などの正常な組織で様々なオンターゲット作用を示す。エルダフィチニブ投与による一次的な影響としてリン酸塩ホメオスタシスの異常があり，その結果，軟組織鉱質沈着及び軟骨異形成が認められた。上皮及び腺組織の萎縮，並びに爪及び被毛の変化の多くは，ラット及びイヌの 3 カ月間試験のみで認められた。1 カ月間試験では，1 カ月間の休薬により乳腺（ラット）の萎縮は完全に回復し，軟骨異形成及び軟組織鉱質沈着の回復は緩徐又は部分的であることが示された。イヌの大動脈の鉱質沈着は 1 カ月間の回復期間後にも認められた。3 カ月間試験には回復期間を設けていなかったため，3 カ月間の反復投与後のみに認められた所見（眼に関連した変化，舌及び口腔粘膜の萎縮，並びに爪及び被毛の変化など）の回復性は評価できなかった。

エルダフィチニブの毒性プロファイルはマウスを含め全ての動物種で一貫していた。エルダフィチニブの高用量で間欠投与を行ったが，低用量の QD 投与と比較して毒性変化の軽減は認められず，間欠投与による明確なベネフィットはなかった。

高リン血症及び軟組織鉱質沈着

FGFR 阻害により腎臓での FGF23 シグナル伝達が妨害され，CYP27b1 及び CYP24a1 の制御異常がもたらされた結果，ビタミン D 過剰症及び高リン血症が誘発される（Brown 2005;

Wöhrle 2011）。エルダフィチニブの毒性試験では，投与後 1 日に血清中無機リンが明確に増加し，その後投与期間中増加が持続した結果，Von Kossa 染色で陽性を示す軟組織鉱質沈着が発症した。ラットでは，30 mg/kg/日以上の用量で高リン血症が認められ，主に大動脈，心臓及び胃で毒性学的に意義のある軟組織鉱質沈着が確認された（1 カ月間試験の 32 mg/kg/日週 2 回投与を除く）。イヌでは，0.75 mg/kg/日以上の用量で高リン血症が認められ，主に大動脈及び心臓で軟組織鉱質沈着が確認された。高リン血症を発症していないラット及びイヌでは，いずれも毒性学的に意義のある軟組織鉱質沈着は認められなかった。血清中無機リン及び 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 の増加と同時に，血清中 FGF23 の増加と PTH 濃度の減少が認められた。FGF23 は PTH の分泌及び遺伝子発現の両方を抑制する（Ben-Dov 2007; Yu 2005）。エルダフィチニブの単回投与後又は短期間投与試験では，1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 の増加が認められたが，3 カ月間試験終了時の長期投与後には認められなかった。血清中総カルシウムに対するエルダフィチニブの影響は小さかった。エルダフィチニブ投与により尿中無機リンは変化しなかったが，尿中カルシウムは一部の試験で増加した。ラット及びイヌを用いた 1 カ月間試験の 1 カ月間の回復期間終了時にはリン酸塩ホメオスタシスに関するバイオマーカーは正常化していた。ただし，イヌの大動脈の鉱質沈着は完全には回復しなかった。ラットを用いた 1 カ月間試験では，投与期間終了時／回復期間終了時の動物で軟組織鉱質沈着は認められなかったが，ラットにエルダフィチニブを高用量で 4 日間連日投与した毒性発現機序に関する試験では，心臓及び胃で認められた鉱質沈着は 2 又は 3 週間後に部分的回復を示した。毒性発現の機序に関する試験では，ラットにリン吸着薬であるセベラマーを添加した飼料を与えたところ，軟組織鉱質沈着が軽減した。一方で，低リン食又はビタミン D_3 欠乏食は，エルダフィチニブ投与後の軟組織鉱質沈着の軽減は認められず，明確なベネフィットはなかった。

軟骨異形成，骨及び歯の変化

エルダフィチニブによる軟骨異形成（骨端軟骨の肥厚）は，FGFR 阻害剤のクラス効果と考えられ（Ballock 2003; Du 2012; Hall 2006），全ての動物種及び試験で投与後数日以内に認められた。ラットでは，骨病変は病理組織学的に過骨症を伴う軟骨異形成又は軟骨化生とされ，8 mg/kg/日以上の胸骨，膝関節，胸椎，気管，喉頭，鼻部（上顎縫合部）及び尾部で認められた。骨端軟骨異形成の特徴として，成長板（骨端軟骨）の肥厚及び構造の乱れが認められ，肥大軟骨細胞層及び（程度は低いが）増殖軟骨細胞層の肥厚を伴っており，多くの場合ラットでは骨端軟骨下の骨梁の増加／肥厚（過骨症）が認められた。高用量での当該異形成は，X 線検査で成長板肥厚として認められ，一般状態観察で歩行異常及び胸骨／尾部の変形として認められた。イヌでは，0.75 mg/kg/日以上で胸骨及び大腿骨遠位の軟骨異形成／化生が認められた。DEXA スキャンでは，骨密度への影響は認められなかった。形態計測では，骨及び類骨領域の減少，並びに骨吸収の増加を伴う骨芽細胞の減少が認められた。これは，骨形成／骨吸収のバランスが，骨量減少をもたらす骨吸収方向へシフトしている可能性を示している。骨病変には，骨由来の可能性の高い総 ALP の増加（Burdan 2009; Sarathchandra 2005），並びに骨形成［CTx（ラット）又は NTx（イヌ）］及び骨吸収（尿中デオキシピリジノリン）マーカーの増加を伴っていた。高用量で認められた骨に関する他の変化として，海綿骨及び皮質骨の減少（ラット），骨リモデリング，並びに骨髄細胞密度の低下（ラット及びイヌ）が認められた。1 カ月間試験の 1 カ月間の回

復期間終了時には，軽微な軟骨異形成が遺残していたが，骨病変は緩徐ではあるが回復傾向を示していた。ヒトと異なりラット（及びマウス）では，生涯を通じて骨の縦方向の成長が活性化されたままである。6 カ月齢までに縦方向の成長は低減するが，大腿骨遠位及び脛骨近位での骨端軟骨は生涯を通して閉鎖しないと考えられている（Fossey 2016）。全ての毒性試験は健康で若い成熟動物（投与開始時にラットは約 6〜9 週齢，イヌは約 6〜8 カ月齢）を用いて実施した。そのため，成長が著しい動物で認められた骨の生理機能に対する影響は，成長が止まっている成人患者では重要でないと考えられる。

切歯の変色，並びに象牙芽細胞の変性（ラット）及び顕著な成長線を伴う象牙質異常といった歯の変化は，頻度は低いが，1 及び 3 カ月間試験においてラットでは 16 mg/kg/日以上で，イヌでは 1 mg/kg/日（不規則な象牙質のみ）以上で認められた。1 カ月間試験の 1 カ月間の回復期間終了時には象牙質異常は認められなかった。歯の変化は FGFR シグナル伝達に対する阻害作用に関連していると考えられる（Du 2018）。げっ歯類の切歯は成長し続けることから，当該所見は成人患者にとって重要性はほとんどないと考えられる。

角膜萎縮及び腺萎縮などの上皮組織変化

主にエルダフィチニブのラット及びイヌへの 3 カ月間投与により，腺，角膜，舌，口腔粘膜などの複数の組織の上皮で影響が認められた。これらの影響は，上皮組織に発現している FGFR による作用（Partridge 1996; Sohn 2011; Zhang 2006, 2014），並びに涙腺及び唾液腺の異常は FGFR シグナル伝達異常に基づいている可能性が高い（Milunsky 2006; Rohmann 2006）。

乳腺萎縮はラットで認められ，14 日間試験の 50 mg/kg/日以上で，並びに 1 カ月間及び 3 カ月間試験の 8 mg/kg/日以上で認められた。唾液腺（耳下腺）の萎縮は，3 カ月間試験にのみ認められ，ラットでは 8 mg/kg/日以上で，及びイヌでは 0.5 mg/kg/日以上で認められた。イヌを用いた 3 カ月間試験では，0.75 mg/kg/日以上の雌で甲状腺濾胞の小型化及び甲状腺重量の減少が認められた。

3 カ月間試験でのみ，角膜上皮の萎縮（ラット）及び涙腺の萎縮（ラット及びイヌ）が認められ，1 カ月間試験では眼科学的検査又は病理組織学的検査において眼に関連した所見は認められなかった。ラットを用いた 3 カ月間試験の病理組織学的検査で，雌では 4 mg/kg/日，雄では 8 mg/kg/日以上で角膜上皮及び眼窩外涙腺の萎縮が認められ，16 mg/kg 及び 32 mg/kg 投与では用量に相関して発現頻度及び重症度が高かった。加えて，8 mg/kg/日以上でハーダー腺の腺房拡張が認められた。ラットでの眼科学的検査で認められた変化は角膜混濁のみであり，同じく角膜混濁が認められた対照群と比較して 32 mg/kg/日でより顕著だった。イヌを用いた 3 カ月間試験の病理組織学的検査で，0.5 mg/kg/日の雌雄で涙腺の萎縮が認められたが，角膜上皮の萎縮は認められなかった。眼科学的検査では，0.75 mg/kg/日で両側性の水様又は膿性の眼脂を伴う角膜混濁が認められ，一部のイヌでは Schirmer テスト（涙の分泌量検査）で涙液産生量の減少が認められた。角膜の変化は，涙腺の萎縮，並びに眼表面の衛生及び機能に必須である涙膜の水様成分の分泌低下による二次的変化の可能性がある（Liu 1999; Zarfoss 2007）。ただし，角膜上皮細胞に対するエルダフィチニブの一次的で直接的な影響は，他の上皮への影響を考慮すると否定できない。

3 カ月間試験では，ラットでは 16 mg/kg/日以上で（32 mg/kg/日では粘膜下及び血管の鉱質沈着を伴う），並びにイヌではそれぞれ 0.5 mg/kg/日以上及び 1.5 mg/kg/日で舌上皮及び口腔粘膜の萎縮が認められた。

ラットを用いた 1 カ月間試験の 1 カ月間の回復期間終了時には，乳腺の病変は完全に回復していた。角膜変化，並びに舌及び口腔粘膜の萎縮は回復期間を設けなかった 3 カ月間試験でのみ認められたことから，これらの回復性は評価できなかった。

被毛及び爪の変化

ラットを用いた 3 カ月間試験では，発現頻度は低かったが爪（損傷）及び爪床（腫脹，変形及び退色）の変化，並びに被毛の菲薄化又は粗毛が主に高用量群で認められた。イヌを用いた 3 カ月間試験でも発生頻度は低かったものの，爪の伸長又は損傷及び被毛の変化（粗毛，立毛，退色及び菲薄化）が投与期間の最後の 1 カ月間に認められた。数例のイヌに眼の周り又は背部に脱毛が認められた。病理組織学的検査では，ラット及びイヌで毛包の増加が認められた。ラットの爪では，病理組織学的検査で特記すべき変化は認められなかった。1 カ月間試験では爪及び被毛の変化はみられなかった。爪及び被毛の変化は FGFR 阻害剤のクラス効果と考えられ（Kawano 2005），他の FGFR 阻害剤の投与を受けた患者でも発現している（Dienstmann 2014; Touat 2015）。

2.6.6.9.2 遺伝毒性試験

細菌を用いた *in vitro* 復帰突然変異（Ames）試験，ヒト由来の TK6 細胞を用いた *in vitro* 小核試験及びラットを用いた *in vivo* 小核試験で検討した結果，エルダフィチニブに遺伝毒性は認められなかった。

2.6.6.9.3 生殖発生毒性試験

エルダフィチニブでは受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施していない。しかし，エルダフィチニブのラットを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験の 32 mg/kg/日間欠投与（7 日間投与／7 日間休薬）で生殖器への影響として黄体壊死が認められた。この用量における曝露量（AUC）は最大臨床推奨用量の 9 mg QD を投与された患者と同程度であった。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する毒性試験では，4 mg/kg/日以上で催奇形性及び胎児毒性が認められた。催奇形性の特徴として，ラット胎児で四肢の欠損及び大動脈を含む主要血管の形態異常が認められた。4 mg/kg/日でのラットの曝露量はいずれの臨床用量（4 mg QD～9 mg QD）でのヒトの曝露量よりも低い。胚及び骨格発生における FGF/FGFR シグナル伝達の役割を考慮すると（Su 2014; Teven 2014），エルダフィチニブで認められた胚・胎児致死及び催奇形性は FGFR 阻害剤のクラス効果と考えられる。

2.6.6.9.4 その他の毒性

エルダフィチニブは *in vitro* 3T3 ニュートラルレッド取り込み光毒性試験で陽性反応を示したが，有色ラットを用いた光毒性試験では皮膚光毒性の所見は認められなかった。マウスでの局所適用によりエルダフィチニブは皮膚感作性があることが示された。*In vitro* BCOP 試験で，高濃度

［20%（w/w）］のエルダフィチニブは極めて強い眼刺激性物質に分類された。*In vitro* HET-CAM 試験で，エルダフィチニブは 0.02～0.5 mg/mL の濃度で血管刺激性を示さなかった。

2.6.6.9.5 曝露量比及び結論

ラット及びイヌを用いた 3 カ月間試験，並びにラットを用いた胚・胎児発生に関する試験と第 I 相試験 EDI1001 での患者における臨床最小用量（4 mg QD）及び臨床最大用量（9 mg QD）に対する曝露量比を表 2.6.6-18 に示す。エルダフィチニブは α1-AGP に選択的に強く結合し，非結合型分率の種差が大きいため，各動物種の未結合型分率を用いて曝露量比を算出した【2.6.4.4.2】。ラット及びイヌを用いた 3 カ月間試験では，1 日最高投与量におけるヒトに対する曝露量比は低い（日本人，非日本人とも≤1）。しかし，毒性試験で主に認められた変化は FGFR 阻害によるクラス効果と考えられるリン酸塩ホメオスタシスの異常に伴う骨病変及び軟組織鉱質沈着であること，これらの変化に対するモニタリング可能なバイオマーカーがあること，及び回復の可能性を考慮すると，毒性試験で認められた変化及び低い曝露量比は進行がん患者に対して許容可能と考えられた。血清中無機リンの増加が軟組織鉱質沈着による重度の毒性発現よりも先行し，高リン血症のないラット及びイヌでは毒性学的に意義のある軟組織鉱質沈着は認められなかった。エルダフィチニブをラット及びイヌに 1 カ月間投与したところ，軟組織鉱質沈着（イヌでの大動脈鉱質沈着を除く）及び軟骨異形成，並びにラットでの乳腺萎縮がみられたが，その後の 1 カ月間の休薬による回復期間終了時には部分的又は完全に回復した。ラットにセベラマーを添加した飼料を与えたところ，エルダフィチニブに関連する軟組織鉱質沈着が軽減した。このことから，高リン血症に対してエルダフィチニブを用量調整した上でリン吸着薬により臨床管理することが可能と考えられた。ラットで催奇形性及び胚毒性が認められた曝露量は，いずれの臨床用量（4 mg QD～9 mg QD）の曝露量よりも低かった。

表 2.6.6-18 ラット及びイヌを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験及びラット胚・胎児発生に関する試験における曝露量比

Steady-state Exposure in Human Subjects and at Relevant Doses in Toxicology Studies	AUC (ng·h/mL)		Unbound (Free) Exposure Multiples at Relevant Clinical Doses (non-Japanese)		Unbound (Free) Exposure Multiples at Relevant Clinical Doses (Japanese)	
	Total	Unbound [e]	4 mg q.d.	9 mg q.d.	4 mg q.d.	9 mg q.d.
4 mg q.d. human exposure - minimum clinical dose (Day 21, non-Japanese)	13516 [a]	37.8 [a]	-	-	-	-
9 mg q.d. human exposure - maximum clinical dose (Day 21, non-Japanese)	39587 [b]	98.7 [b]	-	-	-	-
4 mg q.d. human exposure - minimum clinical dose (Day 21, Japanese)	11552 [c]	53.5 [c]	-	-	-	-
9 mg q.d. human exposure - maximum clinical dose (Day 21, Japanese)	37341 [d]	93.4 [d]	-	-	-	-
Rat 3-Month Repeat-Dose Toxicity Study						
8 mg/kg q.d. (highest daily dose) - males (Day 90)	99.8	7.19	0.2x	0.1x	0.1x	0.1x
8 mg/kg q.d. (highest daily dose) - females (Day 90)	231	16.6	0.4x	0.2x	0.3x	0.2x
Dog 3-Month Repeat-Dose Toxicity Study						
0.75 mg/kg q.d. (highest daily dose) - males (Day 90)	394	54.0	1.4x	0.5x	1.0x	0.6x
0.75 mg/kg q.d. (highest daily dose) - females (Day 90)	213	29.2	0.8x	0.3x	0.5x	0.3x
Rat Embryo-fetal Development Study						
4 mg/kg q.d. (teratogenicity level) (Gestation Day 17)	24.1	1.74	<0.1x	<0.1x	<0.1x	<0.1x

[a] Mean steady-state plasma AUC after 21 days of daily erdafitinib administration at the minimum clinical dose of 4 mg q.d. in Part 1 of Study EDI1001 in Patients (Mod5.3.3.2/EDI1001/Tab16; 5 subjects)
[b] Mean steady-state plasma AUC after 21 days of daily erdafitinib administration at the maximum recommended clinical dose of 9 mg q.d. in Part 2 of Study EDI1001 in Patients (Mod5.3.3.2/EDI1001/Tab16; 6 subjects)
[c] Mean plasma AUC on Day 1 of cycle 2 of daily erdafitinib administration at the minimum clinical dose of 4 mg q.d. in Part 1 of Study GAC1001 in Patients (Mod5.3.3.2/GAC1001/TPKCONC02_P1; 3 subjects)
[d] Since plasma concentration of erdafitinib shows linearity at 0.5~12 mg in Japanese patients, AUC of 9 mg were calculated by converting the mean AUC normalized to 8 mg for all doses in GAC1001 study to 9 mg.
[e] Mean unbound fraction of erdafitinib is 7.2% and 13.7% in rat and dog plasma, respectively.
- = not applicable

以上のとおり，エルダフィチニブの非臨床プログラムは，進行がんの成人患者に対して経口抗腫瘍薬として使用することを支持している。

2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.6.11 参考文献

Ballock RT, et al. The biology of the growth plate. J Bone Joint Surg Am. 2003;85-A(4):715-26.

Ben-Dov IZ, et al. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. J Clin Invest. 2007;117(12):4003-8.

Brown AP, et al. Cartilage dysplasia and tissue mineralization in the rat following administration of a FGF receptor tyrosine kinase inhibitor. Toxicol Pathol. 2005;33(4):449-55.

Burdan F, et al. Morphology and physiology of the epiphyseal growth plate. Folia Histochem Cytobiol. 2009;47(1):5-16.

Dienstmann R, et al. Genomic aberrations in the FGFR pathway: opportunities for targeted therapies in solid tumors. Annals of Oncology. 2014;25:552-63.

Du X, et al. Role of FGFs/FGFRs in skeletal development and bone regeneration. J. Cell. Physiol. 2012;227:3731-43.

Du W, et al. The Role of Fibroblast Growth Factors in Tooth Development and Incisor Renewal. Stem Cells Int. 2018;2018:1-14.

Fossey S, et al. Nonproliferative and Proliferative Lesions of the Rat and Mouse Skeletal Tissues (Bones, Joints, and Teeth). J Toxicol Pathol. 2016;29(3 Suppl):49S-103S.

Hall AP, et al. Review of the Effects of Anti-Angiogenic Compounds on the Epiphyseal Growth Plate. Toxicol Pathol. 2006;34:131-47.

Kawano M, et al. Comprehensive analysis of FGF and FGFR expression in Skin: FGF18 is highly expressed in hair follicles and capable of inducing anagen from telogen stage hair follicles. J. Invest Dermatol. 2005;124:877-85.

Liu Z, et al. Corneal thickness is reduced in dry eye. Cornea. 1999;18(4):403-7.

McInnes EF, Background Lesions in Laboratory Animals. A Color Atlas. Chapter 2 Wistar and Sprague-Dawley rats. Saunders Elsevier. 2012:28.

Milunsky JM, et al. LADD syndrome is caused by FGF10 mutations. Clin Genet. 2006;69:349-54.

National Toxicology Program, U.S. Department of Health and Human Services. Nonneoplastic Lesion Atlas. A Guide for standardizing terminology in toxicologic pathology in rodents. Urinary System. Kidney – Mineralization. https://ntp.niehs.nih.gov/nnl/urinary/kidney/mineral/index.htm. Last accessed on 31 July 2018.

Partridge M, et al. Expression of bFGF, KGF and FGF receptors on normal oral mucosa and SCC. Eur J Cancer B Oral Oncol. 1996;32B(2) 76-82.

Rohmann E, et al. Mutations in different components of FGF signaling in LADD syndrome. Nat Genet. 2006;38:414-7.

Sarathchandra P, et al. Enzyme histochemical localisation of alkaline phosphatase activity in osteogenesis imperfecta bone and growth plate: a preliminary study. Micron. 2005;36(7-8):715-20.

Sohn WJ, et al. Recirpocal interactions of Fgf10/Fgfr2b modulate the mouse tongue epithelial differentiation. Cell Tissue Res 2011;345(2):265-73.

Su N, et al. Role of FGF/FGFR signaling in skeletal development and homeostasis: learning from mouse models. Bone Research. 2014;2:1-24.

Teven CM, et al. Fibroblast growth factor (FGF) signaling in development and skeletal diseases. Genes Dis. 2014;1(2):199-213.

Touat M, et al. Targeting FGFR signaling in cancer. Clin Cancer Res. 2015;21(12):2684-94.

Wöhrle S, et al. FGF receptors control vitamin D and phosphate homeostasis by mediating renal FGF-23 signaling and regulating FGF-23 expression in bone. J Bone Miner Res. 2011;26(10):2486-97.

Yu X, et al. FGF23 and disorders of phosphate homeostasis. Cytokine Growth Factor Rev. 2005;16(2):221-32.

Zarfoss M, et al. Histopathologic evidence of capecitabine corneal toxicity in dogs. Vet Pathol. 2007;44:700-2.

Zhang X, et al. Receptor specificity of the fibroblast growth factor family: The complete mammalian FGF family. J. Biol. Chem. 2006;281:15694-700.

Zhang X, et al. FGF ligands of the postnatal mammary stroma regulate distinct aspects of epithelial morphogenesis. Development. 2014;141(17):3352-62.

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験（一覧表）

一覧表

Test Article: JNJ-42756493

Type of Study	Species and Strain	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Batch No.	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Single-Dose Toxicity[a]									N/A
Repeat-Dose Toxicity									
2-Week Study with 2-Week Recovery	Mouse, albino Swiss	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	2 weeks (1 week interim sacrifice + 2 weeks recovery	0, 12.5, 25, 50 (b.i.d.) 100 (q.d.)	[redacted]	Y	N	JRD, Belgium	TOX9565/ 4.2.3.2.1
SD + 2-Week Study	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD; 0.5% methocel suspension for 1000 mg/kg dose)	SD + 2 weeks	SD: 0, 50, 100, 200, 1000 2 weeks: 0, 50, 100 (q.d.)	[redacted]	Y	N	JRD, Belgium	TOX9501/ 4.2.3.2.2
2-Week Study	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	2 weeks	0, 10, 30 (q.d.)	[redacted]	Y	N	JRD, Belgium	TOX9601/ 4.2.3.2.3
1-Month Study with 1-Month Recovery	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	1 month + 1 month recovery	0, 4, 8, 16 (q.d.) 32 (twice weekly)	[redacted]	Y	Y	JRD, Belgium	TOX10080/ 4.2.3.2.4
3-Month Study	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	3 months	0, 4, 8 (q.d.) 16, 32 (7 days on/off)	[redacted]	Y	Y	JRD, Belgium	TOX10846/ 4.2.3.2.5
SDE + 5-Day Study	Dog, Beagle	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	SDE + 5 days	SDE: 0, 5, 15, 45 5 days: 5, 15 (q.d.)	[redacted]	Y	N	JRD, Belgium	TOX9500/ 4.2.3.2.6
2-Week Study	Dog, Beagle	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	2 weeks	0, 1 (q.d.) 5 (every 2 days)	[redacted]	Y	N	JRD, Belgium	TOX9571/ 4.2.3.2.7

[a] Single-dose toxicity and acute toxicity were examined during the single-dose phase of the non-GLP tolerability studies in rats and dogs, and in the micronucleus dose range finder assay in rats.

(Continued)

2.6.7.1 毒性試験（一覧表）（続き）

一覧表（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Type of Study	Species and Strain	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Batch No.	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity (Cont'd)									
1-Month Study with 1-Month Recovery	Dog, Beagle	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	1 month + 1 month recovery	0, 0.25, 0.5, 1 (q.d.) 2 (twice weekly)	[redacted]	Y	Y	JRD, Belgium	TOX10083/ 4.2.3.2.8
3-Month Study	Dog, Beagle	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	3 months	0, 0.5, 0.75 (q.d.) 1.5 (7 days on/off)	[redacted]	Y	Y	JRD, Belgium	TOX10849/ 4.2.3.2.9
Genotoxicity									
Reverse Mutation Assay	*S. typh.* (4 strains) and *E. coli* WP2 *uvr*A	In Vitro (DMSO)	N/A	10 - 5000 µg/plate (±S9)	[redacted]	N	Y	[redacted], US	TOX10818/ 4.2.3.3.1.1
Micronucleus Test	TK6 cells	In Vitro (DMSO)	27 hours 3 hours with 24 hour recovery	1.66 - 5.29 µg/mL (-S9) 4.93 - 13.6 µg/mL (-S9) 11.7 - 27.5 µg/mL(+S9)	[redacted]	N	Y	[redacted], US	TOX10819/ 4.2.3.3.1.2
Dose Range Finder Micronucleus Test	Rat, Sprague-Dawley	In Vivo (0.5% methocel)	2 days	250, 500, 1000, 2000 (q.d.)	[redacted]	N	N	[redacted], US	TOX10881/ 4.2.3.3.2.1
Micronucleus Test	Rat, Sprague-Dawley	In Vivo (0.5% methocel)	2 days	0, 250, 500, 1000 (q.d.)	[redacted]	Y[a]	Y	[redacted], US	TOX10857/ 4.2.3.3.2.2
Carcinogenicity									N/A

[a] Plasma concentrations of erdafitinib were measured at 2 hours, 7 hours and 24 hours post second dose for confirmation of systemic exposure (C_{max} and AUC were not calculated).

(Continued)

2.6.7.1 毒性試験（一覧表）（続き）

一覧表（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Type of Study	Species and Strain	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Batch No.	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Reproductive and Developmental Toxicity									
Fertility									N/A
Pilot Embryo-Fetal Development	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	Day 6 to 17 of pregnancy	0, 0.4, 4, 16 (q.d.)	[redacted]	N	N	JRD, Belgium	TOX12063/ 4.2.3.5.2.1
Pivotal Embryo-Fetal Development	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD).	Day 6 to 17 of pregnancy	0, 1, 4, 8 (q.d.)	[redacted]	Y	Y	[redacted] France	TOX12329/ 4.2.3.5.2.2
Pre- and Postnatal Development									N/A
Studies on Juvenile Animals									N/A
Local Tolerance									
Phototoxicity	Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts	In Vitro (DMSO)	N/A	0 - 1000 µg/mL (-UV/+UV)	[redacted]	N	N	JRD, Belgium	TOX10235/ 4.2.3.6.1
Phototoxicity	Rat, Long-Evans	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	3 days	0, 4, 8, 16	[redacted]	Y	Y	[redacted], US	TOX10684/ 4.2.3.6.2
LLNA	Mouse, CBA/Ca	Topical (dimethylformamide)	3 days	0, 2.5, 5, 10% w/v	[redacted]	N	Y	[redacted] UK	TOX10363/ 4.2.3.6.3
BCOP	Isolated Bovine Corneas	In Vitro (0.9% NaCl)	N/A	0, 20% w/w	[redacted]	N	N	JRD, Belgium	TOX10427/ 4.2.3.6.4
HET-CAM	chorioallantoic membrane of fertilized chicken eggs	In Vitro (0.9% NaCl)	N/A	0.02, 0.1, 0.1, 0.5 mg/mL	[redacted]	N	N	JRD, Belgium	TOX10916/ 4.2.3.6.5

(Continued)

2.6.7.1 毒性試験（一覧表）（続き）

一覧表（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Type of Study	Species and Strain	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Batch No.	TK	GLP	Test Facility	Study No./ Location in CTD
Other Toxicity Studies									
Antigenicity									N/A
Immunotoxicity									N/A
Mechanistic Studies	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	SD + 4 days + 6 days, 2 weeks, 3 weeks recovery	SD: 0, 50 RD: 0, 100 (q.d.)	[redacted]	Y	N	JRD, Belgium	TOX9636/ 4.2.3.7.3.1
	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	2 weeks	0, 50 (q.d.) (specific diets)	[redacted]	Y	N	JRD, Belgium	TOX10177/ 4.2.3.7.3.2
	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	2 weeks	0, 30, 50 (q.d.) (specific diets)	[redacted]	Y	N	JRD, Belgium	TOX10178/ 4.2.3.7.3.3
Dependence									N/A
Studies on Metabolites									N/A
Impurities	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	1 month	0, 4 (q.d.)	[redacted]	N	Y	JRD, Belgium	TOX10565/ 4.2.3.7.6.1

BCOP = bovine corneal opacity-permeability; b.i.d. = bis in die (twice a day); [redacted]; DMSO = dimethyl sulfoxide; [redacted]; HET-CAM = hen's egg chorioallantoic membrane; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; JRD = Janssen Research & Development; LLNA = local lymph node assay; N/A = not applicable; q.d. = quaque die (once a day); RD = repeated dose; SD = single dose; SDE = single dose escalation; TK = toxicokinetics

2.6.7.2 トキシコキネティクス（試験の一覧表）

トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: JNJ-42756493

Type of Study	Test System	Route	Doses (mg/kg)	GLP	Study No/Location in CTD
Repeat-Dose Toxicity					
2-Week Study with 2-Week Recovery	Mouse, albino Swiss	Oral gavage	0, 12.5, 25, 50 (b.i.d.) 100 (q.d.)	N	TOX9565/4.2.3.2.1
SD + 2-Week Study	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	SD: 0, 50, 100, 200, 1000 2 weeks: 0, 50, 100 (q.d.)	N	TOX9501/4.2.3.2.2
2-Week Study	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 10, 30 (q.d.)	N	TOX9601/4.2.3.2.3
1-Month Study with 1-Month Recovery	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 4, 8, 16 (q.d.) 32 (twice weekly)	Y	TOX10080/4.2.3.2.4
3-Month Study	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 4, 8 (q.d.) 16, 32 (7 days on/off)	Y	TOX10846/4.2.3.2.5
SDE + 5-Day Study	Dog, Beagle	Oral gavage	SDE: 0, 5, 15, 45 5 days: 5, 15 (q.d.)	N	TOX9500/4.2.3.2.6
2-Week Study	Dog, Beagle	Oral gavage	0, 1 (q.d.) 5 (every 2 days)	N	TOX9571/4.2.3.2.7
1-Month Study with 1-Month Recovery	Dog, Beagle	Oral gavage	0, 0.25, 0.5, 1 (q.d.) 2 (twice weekly)	Y	TOX10083/4.2.3.2.8
3-Month Study	Dog, Beagle	Oral gavage	0, 0.5, 0.75 (q.d.) 1.5 (7 days on/off)	Y	TOX10849/4.2.3.2.9
Reproductive and Developmental Toxicity					
Pivotal Embryo-Fetal Development Study	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 1, 4, 8 (q.d.)	Y	TOX12329/4.2.3.5.2.2
Local Tolerance					
Phototoxicity	Rat, Long-Evans	Oral gavage	0, 4, 8 or 16 (q.d.)	Y	TOX10684/4.2.3.6.2
Mechanistic Studies					
4-Day Study	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 50, 100 (q.d.)	N	TOX9636/4.2.3.7.3.1
2-Week Study	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 50 (q.d.)	N	TOX10177/4.2.3.7.3.2
2-Week Study	Rat, Sprague-Dawley	Oral gavage	0, 30, 50 (q.d.)	N	TOX10178/4.2.3.7.3.3

In all toxicokinetic studies, erdafitinib was formulated as an aqueous solution containing 20% w/v hydroxypropyl-β-cyclodextrin
b.i.d. = bis in die (twice a day); q.d. = quaque die (once a day); SD = single dose; SDE = single dose escalation

2.6.7.3 トキシコキネティクス（試験成績の一覧表）

トキシコキネティクス試験成績の一覧表

Test Article: JNJ-42756493

Dose (mg/kg)	Study Duration (Study No.)	Steady-State AUC_{0-24h} (ng·h/mL) Rats M	Rats F	Dogs M	Dogs F	Mice M
0.25 (q.d.)	1 month (TOX10083)			9.66	NC	
0.5 (q.d.)	1 month (TOX10083)			49.2	17.1	
0.5 (q.d.)	3 months (TOX10849)			172	92	
0.75 (q.d.)	3 months (TOX10849)			394	213	
1 (q.d.)	2 weeks (TOX9571)			337	83.5	
1 (q.d.)	1 month (TOX10083)			305	251	
1 (q.d.)	12 days (TOX12329, pregnant rats)	-	NC			
1.5 (7 days on/off)	3 months (TOX10849)			1300	969	
2 (twice weekly)	1 month (TOX10083)			429	823	
4 (q.d.)	3 days (TOX10684)	-	10.1			
4 (q.d.)	1 month (TOX10080)	16.9	18.7			
4 (q.d.)	3 months (TOX10846)	26.3	45.2			
4 (q.d.)	12 days (TOX12329 pregnant rats)	-	24.1[a]			
5 (every other day)	2 weeks (TOX9571)			4956	8850	
8 (q.d.)	3 days (TOX10684)	-	79.9			
8 (q.d.)	1 month (TOX10080)	113	128			
8 (q.d.)	3 months (TOX10846)	99.8	231			
8 (q.d.)	12 days (TOX12329 pregnant rats)	-	105[a]			
10 (q.d.)	2 weeks (TOX9601)	215	-			
12.5 (b.i.d.)	2 weeks (TOX9565)					988[b]
16 (q.d.)	3 days (TOX10684)	-	544			
16 (q.d.)	1 month (TOX10080)	573	632			
16 (7 days on/off)	3 months (TOX10846)	327	1780			
25 (b.i.d.)	2 weeks (TOX9565)					2591[b]
30 (q.d.)	2 weeks (TOX9601)	2270	-			
30 (q.d.)	2 weeks (TOX10178, low phosphate diet)	2190	-			
30 (q.d.)	2 weeks (TOX10178, phosphate scavenger diet)	8451	-			
32 (twice weekly)	1 month (TOX10080)	1639	2489			
32 (7 days on/off)	3 months (TOX10846)	1910	10000			
50 (b.i.d.)	2 weeks (TOX9565)					12110[b]
50 (q.d.)	2 weeks (TOX9501)	15020	-			
50 (q.d.)	2 weeks (TOX10177)	18119	-			
50 (q.d.)	2 weeks (TOX10177, low phosphate diet)	16878	-			
50 (q.d.)	2 weeks (TOX10177, vitamin D_3 deficient diet)	40329	-			
50 (q.d.)	2 weeks (TOX10178, phosphate scavenger diet)	8787	-			
100 (q.d.)	2 weeks (TOX9565)					19365[b]
100 (q.d.)	4 days (TOX9636)	229999	-			
100 (q.d.)	2 weeks (TOX9501)	199976	-			

NC = not calculated, more than 25% extrapolation or insufficient plasma concentration data. [a] AUC_{last}, [b] AUC_{0-7h}

(Continued)

2.6.7.3 トキシコキネティクス（試験成績の一覧表）（続き）

トキシコキネティクス試験成績の一覧表（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Dose (mg/kg)	Study Duration (Study No.)	Steady-State C_{max} (ng/mL) Rats M	Rats F	Dogs M	Dogs F	Mice M
0.25 (q.d.)	1 month (TOX10083)			1.88	0.788	
0.5 (q.d.)	1 month (TOX10083)			7.05	4.68	
0.5 (q.d.)	3 months (TOX10849)			21.6	15.9	
0.75 (q.d.)	3 months (TOX10849)			38.9	26.1	
1 (q.d.)	2 weeks (TOX9571)			52.6	17.8	
1 (q.d.)	1 month (TOX10083)			39.8	38.5	
1 (q.d.)	12 days (TOX12329, pregnant rats)	-	0.73			
1.5 (7 days on/off)	3 months (TOX10849)			113	98.1	
2 (twice weekly)	1 month (TOX10083)			60.4	102	
4 (q.d.)	3 days (TOX10684)	-	2.71			
4 (q.d.)	1 month (TOX10080)	3.70	6.29			
4 (q.d.)	3 months (TOX10846)	6.98	13.4			
4 (q.d.)	12 days (TOX12329, pregnant rats)	-	10.0			
5 (every other day)	2 weeks (TOX9571)			469	561	
8 (q.d.)	3 days (TOX10684)	-	21.2			
8 (q.d.)	1 month (TOX10080)	33.1	46.5			
8 (q.d.)	3 months (TOX10846)	26.2	59.7			
8 (q.d.)	12 days (TOX12329, pregnant rats)	-	38.8			
10 (q.d.)	2 weeks (TOX9601)	49.5	-			
12.5 (b.i.d.)	2 weeks (TOX9565)					320[a]/518[b]
16 (q.d.)	3 days (TOX10684)	-	116			
16 (q.d.)	1 month (TOX10080)	103	201			
16 (7 days on/off)	3 months (TOX10846)	88.5	462			
25 (b.i.d.)	2 weeks (TOX9565)					658[a]/2133[b]
30 (q.d.)	2 weeks (TOX9601)	395	-			
30 (q.d.)	2 weeks (TOX10178, low phosphate diet)	382	-			
30 (q.d.)	2 weeks (TOX10178, phosphate scavenger diet)	1019	-			
32 (twice weekly)	1 month (TOX10080)	254	608			
32 (7 days on/off)	3 months (TOX10846)	360	929			
50 (b.i.d.)	2 weeks (TOX9565)					3907[a]/2403[b]
50 (q.d.)	2 weeks (TOX9501)	1972	-			
50 (q.d.)	2 weeks (TOX10177)	2787	-			
50 (q.d.)	2 weeks (TOX10177, low phosphate diet)	2320	-			
50 (q.d.)	2 weeks (TOX10177, vitamin D_3 deficient diet)	4310	-			
50 (q.d.)	2 weeks (TOX10178, phosphate scavenger diet)	1341	-			
100 (q.d.)	2 weeks (TOX9565)					6433[a]/NA[b]
100 (q.d.)	4 days (TOX9636)	14385	-			
100 (q.d.)	2 weeks (TOX9501)	19300	-			

NA = not applicable. [a] C_{max1}, [b] C_{max2} (the second dose was given with a 6-hour interval in between)

2.6.7.4 毒性試験（被験物質の一覧表）

被験物質の一覧表

Test Article: JNJ-42756493

GLP Batch No.	Assay (%, w/w)	Any Unspecified Impurities (%, w/w)							Type of Study (Study No./Location in CTD)
	JNJ-42756493	不純物 E *[b]	不純物 F *[c]	不純物 G *[d]	不純物 H *[e]	不純物 I *[f]	中間体 C *[g]	不純物 J *[h]	
Proposed Specification[a]:	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Cardiovascular/Respiratory Safety in Dog (TOX10104/4.2.1.3.9) 1-Month Toxicity Study in Rat (TOX10080/4.2.3.2.4) 1-Month Toxicity Study in Dog (TOX10083/4.2.3.2.8) Skin Sensitization in the Mouse (TOX10363/4.2.3.6.3) In Vivo Phototoxicity in Pigmented Rat (TOX10684/4.2.3.6.2) 1-Month Impurity Toxicity Study in Rat[i] (TOX10565/4.2.3.7.6.1)
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	3-Month Toxicity Study in Rat (TOX10846/4.2.3.2.5) 3-Month Toxicity Study in Dog (TOX10849/4.2.3.2.9) Bacterial Reverse Mutation Assay (TOX10818/4.2.3.3.1.1) In Vitro Micronucleus Assay (TOX10819/4.2.3.3.1.2) In Vivo Micronucleus Assay in Rat (TOX10857/4.2.3.3.2.2) Embryo-Fetal Toxicity Study in Rat (TOX12329/4.2.3.5.2.2)

[redacted].

[a] Current at the time of release

[b] 不純物=E*

[c] 不=純物F*

[d] 不純物=G*

[e] 不純物=H*

[f] 不純物=I*

[g] 中間体=C*

[h] 不純物=J*

[i] Batch [redacted] was spiked with [redacted]% of degradation product 不純物 A *

Source: Mod3.2.S.4.4/TV-TEC-47693

＊新薬承認情報提供時に置換

2.6.7.5　単回投与毒性試験

Single-dose toxicity was examined during the single-dose phase of the non-GLP tolerability studies in rats and dogs (see Table 2.6.7.6), and in the micronucleus dose range finder assay in rats (see Table 2.6.7.9 A).

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）

重要な試験以外の試験 **Test Article:** JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Mouse/ albino Swiss 1 Week of Dosing: 5 M/group 2 Weeks of Dosing: 3 M (vehicle), 6 M main study mice + 6-12 M TK mice (other groups)	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	2 weeks (1 week interim sacrifice) + 2 weeks recovery (12.5 b.i.d.)	12.5 b.i.d. (6-hour dose interval)	No mortality or clinical observations. ↓ BW (0.94x, Day 14), ↓ BWG (0.19x, Day 14), ↓ FC (0.75x, Day 14). Clinical Chemistry and Biomarkers: ↑ Ca (1.07x, Day 7), ↑ FGF23 (up to 9.3x, Day 1-14), ↓ PTH (up to 0.40x, Day 7-14). Necropsy Findings: White foci in liver, sternum deformation, firm consistency of subcutis. Histopathology: Cartilage dysplasia in sternum and femur; Mineralization (GI-tract, liver, lung, subcutis, skeletal muscle); Largely comparable findings after 1 and 2 weeks of dosing. 2-Week Recovery (Day 28): full recovery of in-life parameters; partial recovery of bone changes and mineralization. Full recovery of chondrocyte and growth plate morphology. *Day 0: C_{max1} 83.9 ng/mL; C_{max2} 410 ng/mL; AUC_{0-6h} 154 ng·h/mL; AUC_{0-7h} 362 ng·h/mL* *Day 13: C_{max1} 320 ng/mL; C_{max2} 518 ng/mL; AUC_{0-6h} 724 ng·h/mL; AUC_{0-7h} 988 ng·h/mL*	TOX9565/ 4.2.3.2.1
2-Week Recovery: 6 M (12.5 b.i.d.)			25 b.i.d. (6-hour dose interval)	No mortality or clinical observations. ↓ BW (up to 0.91x, Day 7-14), ↓ BWG (up to 0.04x, Day 7-14), ↓ FC (up to 0.65x, Day 7-14). Clinical Chemistry and Biomarkers: ↑ Ca (up to 1.12x, Day 7-14), ↑ P (up to 1.34x, Day 1-7), ↑ FGF23 (up to 17.7x, Day 1-14), ↓ PTH (up to 0.43x, Day 7-14). Necropsy Findings: White foci in liver and skeletal muscle, sternum deformation and irregular shape of thoracic vertebrae. Histopathology: Cartilage dysplasia in sternum, femur and thoracic vertebrae; Mineralization (GI-tract, liver, lung, skeletal muscle); Largely comparable findings after 1 and 2 weeks of dosing. *Day 0: C_{max1} 283 ng/mL; C_{max2} 1720 ng/mL; AUC_{0-6h} 650 ng·h/mL; AUC_{0-7h} 1520 ng·h/mL* *Day 13: C_{max1} 658 ng/mL; C_{max2} 2133 ng/mL; AUC_{0-6h} 1498 ng·h/mL; AUC_{0-7h} 2591 ng·h/mL*	

(Continued)

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）（続き）

重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Mouse/ albino Swiss (Cont'd)			50 b.i.d. (6-hour dose interval)	No mortality or clinical observations; ↓ BW (up to 0.88x, Day 7-14), BW loss (~5%, Day 14), ↓ FC (up to 0.55x, Day 7-14). Clinical Chemistry and Biomarkers: ↑ Ca (up to 1.13x, Day 7-14), ↑ P (up to 1.40x, Day 1-14), ↑ total protein (1.08x, Day 7), ↑ potassium (1.05x, Day 14), ↑ FGF23 (up to 25.6x, Day 1-14), ↓ PTH (<0.60x, Day 7-14). Necropsy Findings: White foci in liver; sternum deformation and irregular shape of thoracic vertebrae. Histopathology: Cartilage dysplasia in sternum, femur and thoracic vertebrae; Mineralization (aorta, brain, heart, kidneys, GI-tract, liver, lung, trachea, skeletal muscle); Largely comparable findings after 1 and 2 weeks of dosing. *Day 0: C_{max1} 1947 ng/mL; C_{max2} 3787 ng/mL; AUC_{0-6h} 4111 ng·h/mL; AUC_{0-7h} 6036 ng·h/mL* *Day 13: C_{max1} 3907 ng/mL; C_{max2} 2403 ng/mL; AUC_{0-6h} 10688 ng·h/mL; AUC_{0-7h} 12110 ng·h/mL*	TOX9565/ 4.2.3.2.1 (Cont'd)
			100 q.d.	No mortality or clinical observations; ↓ FC (up to 0.68x, Day 7-14). Clinical Chemistry and Biomarkers: ↑ Ca (up to 1.11x, Day 7-14), ↑ P (up to 1.42x, Day 1-14), ↑ FGF23 (up to 20.7x, Day 1-14), ↓ PTH (<0.60x, Day 7-14). Necropsy Findings: White foci in liver and skeletal muscle, sternum deformation and irregular shape of thoracic vertebrae. Histopathology: Cartilage dysplasia in sternum, femur and thoracic vertebrae; Mineralization (heart, kidneys, GI-tract, liver, lung, skeletal muscle); Largely comparable findings after 1 and 2 weeks of dosing. *Day 0: C_{max1} 5280 ng/mL; AUC_{0-6h} 12894 ng·h/mL; AUC_{0-7h} 13481 ng·h/mL* *Day 13: C_{max1} 6433 ng/mL; AUC_{0-6h} 17953 ng·h/mL; AUC_{0-7h} 19365 ng·h/mL*	

(Continued)

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）（続き）

重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Rat/ Sprague-Dawley 6 M (SD) 6 M (RD) 3 M (gene expression: *see report for results*)	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD, 0.5% methocel suspension for the 1000 mg/kg dose)	SD	50	No mortality or clinical observations. *C_{max} 375 ng/mL; $AUC_{0\text{-}inf}$ 3677 ng·h/mL*	TOX9501/ 4.2.3.2.2
			100	No mortality or clinical observations. *C_{max} 853 ng/mL; $AUC_{0\text{-}inf}$ 7514 ng·h/mL*	
			200	No mortality or clinical observations. BW loss (half of the dose group). *C_{max} 1077 ng/mL; $AUC_{0\text{-}inf}$ 12533 ng·h/mL*	
			1000	No mortality; Excessive salivation (1 h after dosing), audible respiration (1 rat, 1-6 hours after dosing), chromodacryorrhea (1 rat, 2 days after dosing), yellow discoloration of paws, ears and urine, narrowing of palpebral fissure; BW loss (most rats, 2 days after dosing). *C_{max} 5777 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 95036 ng·h/mL*	
		2 weeks	50 q.d.	No mortality; Piloerection, dimple at rear end of the sternum and deformation of the tail (2 rats); ↓ BW (0.89x), BW loss (slight), ↓ FC (0.73x). Hematology: ↑ neutrophils (2.0x). Clinical Chemistry and Biomarkers: ↑ Ca (1.06x), ↑ P (1.44x), ↑ ALP (1.51x), ↑ AST (1.47x), ↓ albumin (0.90x), ↑ CTx (1.3x). No change in serum osteocalcin. No relevant changes in urine Ca/creatinine, P/creatinine, or deoxypyridinoline/creatinine concentrations. Necropsy Findings: ↑ relative heart weight; macroscopic bone deformation (sternum/tail); mineralization-related changes in aorta (focus/area discoloured, thickening or dilatation) and stomach (firm consistency or thickening). Histopathology: Cartilage dysplasia in sternum and femur and osteodystrophy at the metaphyses (mainly in femur); Mineralization in several tissues (mainly heart, kidney, lung, GI-tract and occasionally in skin) with a high incidence in the aorta/arteries of a wide range of tissues; Mammary gland atrophy; Centrilobular hepatocellular hypertrophy in liver; Cellular debris in epididymides. *Day 21 (after 15 days of RD): C_{max} 1972 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 15020 ng·h/mL*	
			100 q.d.	2 rats died preterminally (Day 5 and 7) after showing piloerection, crusty nose, dyspnea, excessive salivation and narrowing of palpebral fissure; The remainder of the rats were sacrificed 1 week after presenting similar signs of a moribund condition, ↓ BW (0.79x), BW loss (slight) and ↓ FC (0.09x).	

(Continued)

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）（続き）

重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Rat/ Sprague-Dawley (Cont'd)		2 weeks	100 q.d. (Cont'd)	Hematology: ↑ neutrophils (2.6x), ↓ WBC (0.66x), ↓ lymphocytes (0.25x), ↓ eosinophils (0.29x), ↓ basophils (0.17x), ↓ reticulocytes (0.17x). Clinical Chemistry and Biomarkers: ↓ SOD (0.97x), ↓ CHL (0.93x), ↑ P (1.83x), ↑ ALP (1.64x), ↑ ALT (3.23x), ↑ AST (3.47x), ↑ bilirubin (1.45x), ↑ BUN (5.16x), ↑ creatinine (2.52x), ↓ albumin (0.78x), ↑ CTx (2.4x). No change in serum osteocalcin. No relevant changes in urine Ca/creatinine, P/creatinine, or deoxypyridinoline/creatinine concentrations. Necropsy Findings: ↑ relative heart and kidney weight, ↓ absolute and relative thymus weight; thymus (small), mammary glands (enlargement), mineralization-related findings in aorta (dilatation), heart (discoloured foci/areas), kidneys (pale discoloration and swelling), stomach (firm consistency or thickening) and colon (white discoloration or firm consistency). Histopathology: Cartilage dysplasia in sternum and femur and osteodystrophy at the metaphyses (mainly in femur), not associated with macroscopic bone deformations; Mineralization in several tissues (mainly heart, kidney, lung GI-tract and occasionally in skin, adrenal glands and choroid plexus) with a high incidence in the aorta/arteries of a wide range of tissues; degeneration of testicular germinal epithelium associated with ↓ testes weight and soft testes at gross (1 rat); Changes in the liver (↑ relative liver weight, minimal centrilobular hepatocellular hypertrophy, vacuolization), the intestines (mucosal hyperplasia, exfoliation, dilated mucus-filled crypts in the colon), lymphoid tissues (lymphoid atrophy), mammary glands (tubuloalveolar development, secretion, atrophy), adrenal glands (zona fasciculata vacuolization), bone marrow (decreased cellularity and congestion) and epididymides (cellular debris). *Day 14 (after 8 days of RD): C_{max} 19300 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 199976 ng·h/mL*	TOX9501/ 4.2.3.2.2 (Cont'd)
Rat/ Sprague-Dawley 6 M (RD) 3 M (TK) 3 M (gene expression: see report for results)	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	2 weeks	10 q.d.	No mortality or clinical observations. Hematology: No relevant changes Clinical Chemistry and Biomarkers: ↑ Ca (1.04x, Day 1), ↑ ALP (up to 1.50x, Day 7-14), ↓ FGF23 (6 hours postdose) followed by ↑ FGF23 (up to 1.59x, Day 1-14), ↓ PTH (up to 0.71x, Day 1). No relevant change in 25(OH)D_3 or 1,25(OH)2D_3. No relevant changes in urine Ca/creatinine and P/creatinine concentrations. Necropsy Findings: Sternum deformation (2/6). Histopathology: Cartilage dysplasia (3/6) associated with hyperosteoidosis at the metaphyses (1/6), focal (sub)periosteal mononuclear inflammatory infiltrate (1/6). *Day 0: C_{max} 15.3 ng/mL; $AUC_{0\text{-}inf}$ 69.5 ng·h/mL* *Day 13: C_{max} 49.5 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 215 ng·h/mL*	TOX9601/ 4.2.3.2.3

(Continued)

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）（続き）

重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Rat/ Sprague-Dawley (Cont'd)		2 weeks	30 q.d.	No mortality; ↓ BW (0.96x, from Day 5), ↓ BWG (~0.77x, from Day 7), ↓ FC (~0.80x, from Day 4). Clinical Observations: limping (4/6); dimple at rear end of sternum (6/6). Hematology: ↑ neutrophils (1.64x), ↓ WBC (0.78x), ↓ lymphocytes (0.67x), ↑ thrombocytes (1.28x). Clinical Chemistry and Biomarkers: ↑ Ca (up to 1.06x, Day 1-14), ↑ P (up to 1.23x, Day 1-14), ↑ ALP (up to 1.72x, Day 1-14), ↓ FGF23 (6 hours postdose) followed by ↑ FGF23 (up to 4.79x, Day 1-14), ↓ PTH (up to 0.24x, Day 1-14), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (up to 3.01x, Day 1-14). No relevant change in $25(OH)D_3$. ↑ urine Ca/creatinine (up to 6.98x, Day 7-14) but no relevant changes in urine P/creatinine concentrations. Necropsy Findings: Sternum deformation (6/6), White, raised foci/areas at the thoracic vertebrae (1/6). Histopathology: Cartilage dysplasia (6/6), hyperosteoidosis at the metaphyses (6/6), (multi)focal bone necrosis (3/6), focal cartilage necrosis at the physis (4/6), presence of chondrocytes in the periost (1/6), or focal (sub)periosteal mononuclear inflammatory infiltrate (3/6); Mineralization in several organs (aorta, large arteries, stomach, kidneys, lungs, duodenum). Histomorphometry: Reduced amount of osteoid (area and perimeter), reduced osteoblast perimeter, and an increase in resorption (eroded perimeter) and osteoclast perimeter. *Day 0: C_{max} 133 ng/mL; $AUC_{0\text{-}inf}$ 558 ng·h/mL (n=2)* *Day 13: C_{max} 395 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 2270 ng·h/mL*	TOX9601/ 4.2.3.2.3 (Cont'd)

(Continued)

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）（続き）

重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Dog/ Beagle 2 M/2 F (SDE)	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	SDE	5	No mortality. Clinical Chemistry: ↑ P, ↑ GLDH. *C_{max} (M/F) 330/229 ng/mL; $AUC_{0\text{-}inf}$ 4170/2932 ng·h/mL*	TOX9500/ 4.2.3.2.6
2 M/2 F (RD)			15	No mortality; slight vomiting (1/2 M, 1/2 F) and slightly excessive salivation within 1 hour after dosing (1/2 M). Clinical Chemistry: ↓ Ca, ↑ P, ↑ GLDH. *C_{max} (M/F) 834/632 ng/mL; $AUC_{0\text{-}inf}$ 17735/16516 (n=1) ng·h/mL*	
			45	No mortality; more pronounced vomiting and excessive salivation, moderate/severe soft feces (1/2 M, 1/2 F) and slight tremors (1 F; up to 2 hours after dosing). Hematology: ↓ WBC (neutrophils, monocytes). Clinical Chemistry: ↓ Ca, ↑ GLDH. *C_{max} (M/F) 2035/1985 ng/mL; $AUC_{0\text{-}inf}$ 39142/43641 (n=1) ng·h/mL*	
		5 days	5 q.d.	2 M were sacrificed after 5 daily doses due to inability to stand on the hind legs (2/2 M), slight tremors (2/2 M), increased body temperature (2/2 M), non-physiological posture (1/2 M), and catalepsy (1/2 M); As clinical observations were less pronounced in both female dogs, they were allowed a drug-free period of 9 days; BW loss (up to 9%, M/F), ↓ FC. Coagulation and Hematology: ↑ APTT, ↑ fibrinogen, ↑ WBC, ↑ neutrophils, ↓ lymphocytes, ↓ basophils, ↓ eosinophils, ↓ RBC, ↓ reticulocytes, ↑ thrombocytes. Clinical Chemistry and Biomarkers: ↓ SOD, ↓ POT, ↓ CHL, ↓ Ca, ↑ P, ↓ albumin, ↑ cholesterol, ↑ TGL, ↑ ALP (2.3x), ↑ CK. No relevant changes in osteocalcin and NTx. Urine Biomarkers: ↓ Ca/creatinine, ↑ deoxypyridinoline/creatinine. No relevant changes in P/creatinine.	

(Continued)

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）（続き）

重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Dog/ Beagle (Cont'd)		5 days	5 q.d. (Cont'd)	Histopathology: Pathology at the physis-metaphysis of the long bones (distal femur and proximal tibia) and in the periost; Metastatic calcifications in several tissues, mainly in aortic wall, subendocardial region, gastric fundus, and respiratory tract. Recovery (2 F): inability to stand on their hind legs, slight tremors, a tendency to increased body temperature and mucoid feces (up to 3 days after dosing cessation), soft/hemorrhagic feces and slightly decreased general activity (up to 5 days after dosing cessation); ↓ FC; ↑ APTT, ↑ thrombocytes, ↑ CK, ↓ Ca, ↓ albumin, ↑ TGL, ↑ ALP. Ongoing recovery for bone pathology and mineralization by after 9 days	TOX9500/ 4.2.3.2.6 (Cont'd)
			15 q.d.	2 M/2 F were sacrificed after 5 daily doses due to similar or more pronounced clinical anomalies as at 5 mg/kg/day, and also decubitus position, not reacting to snout stimuli, soft feces, myosis, decreased frequency of licking, no pupil reflexes (1 dog), an abnormal proprioception (1 dog); BW loss (up to 8%, M/F). Coagulation and Hematology: ↑ APTT, ↑ fibrinogen, ↑ WBC, ↑ neutrophils, ↓ lymphocytes, ↓ basophils, ↓ eosinophils, ↓ RBC, ↓ reticulocytes. Clinical Chemistry and Biomarkers: ↓ SOD, ↓ POT, ↓ CHL, ↓ Ca, ↑ P, ↓ albumin, ↑ cholesterol, ↑ TGL, ↑ ALP (2x), ↑ AST (3.4x), ↑ CK. No relevant changes in osteocalcin and NTx. Urine Biomarkers:↓ Ca/creatinine, ↑ deoxypyridinoline/creatinine. No relevant changes in P/creatinine. Histopathology: Similar but more pronounced bone pathology changes and metastatic calcifications as at 5 mg/kg.	

(Continued)

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）（続き）

重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Dog/ Beagle 2 M/2 F	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	2 weeks	1 q.d.	No mortality. No relevant clinical observations or relevant changes on BW/BWG, food consumption and ophthalmology. Coagulation and Hematology: No relevant changes. Clinical Chemistry and Biomarkers: ↑ P (marginal), ↑ Ca, ↑ ALT (marginal), ↑ FGF23 (following an initial decrease at 4 hours after 1st dose), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (24 hours after 1st dose only; no longer present at end of study), ↓ PTH (following an initial increase at 4 hours after 1st dose). No relevant change in $25(OH)D_3$. Urine Biomarkers: No relevant changes in Ca/creatinine or P/creatinine. Histopathology: Minimal cartilage hypertrophy (all dogs), aortic mineralization (1 dog). *Day 0 (M/F): C_{max} 23.8/7.87 ng/mL; $AUC_{0\text{-}inf}$ 146/33.2 ng·h/mL* *Day 10 (M/F): C_{max} 52.6/17.8 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 337/83.5 ng·h/mL*	TOX9571/ 4.2.3.2.7
			5 every two days	Early sacrifice of 1 M and 1 F on Day 8. Both dogs were unable to stand on their hind legs, showed tremors and a moderate to severely decreased general activity. One showed hyperreactivity to touch in the neck/lower jaw region and in both dogs an marked decrease in food consumption and a body weight loss were noted. ↑ APTT, ↑ PT, ↑ Ca, ↑ ALT, ↑ TGL, ↑ total bilirubin. Coagulation and Hematology: ↓ RBC, ↓ reticulocytes, ↑ thrombocytes, ↑ WBC, ↑ neutrophils, ↑ monocytes, ↓ lymphocytes, ↓ eosinophils, ↑ fibrinogen. Clinical Chemistry and Biomarkers: ↑ P, ↑ cholesterol, ↑ ALP, ↑ AST, ↑ ALT, ↑ TGL, ↑ BUN, ↑ FGF23 (following a decrease at 4 and 24 hours after 1st and 2nd dose), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (24 hours after 1st and 2nd dose with a decrease to baseline in between doses), ↓ PTH (following an initial increase at 4 hours). No relevant change in $25(OH)D_3$. Urine Biomarkers: ↑ Ca/creatinine. No relevant changes in P/creatinine. Necropsy Findings: ↑ heart weight (M), ↓ spleen weithg (F), ↓ thymus weight, white nodules in aorta and heart, dark foci in lung.	

(Continued)

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）（続き）

重要な試験以外の試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Dog/ Beagle 2 M/2 F (Cont'd)			5 every two days (Cont'd)	Histopathology: Chondroid hypertrophy and degeneration, periosteal proliferative and inflammatory changes (with hemorrhage and necrosis), remodeling changes and bone marrow depletion; Mineralization mainly in the aorta and left atrium (but also in coronary arteries, kidney, lung, stomach) and acute inflammation (with hemorrhage and endothelial reaction). DEXA scan: No relevant changes on bone density or morphometry when compared to a vehicle animal. Histomorphometry: Reduced amount of osteoid (area and perimeter), reduced osteoblast perimeter, and an increase in resorption (eroded perimeter) and osteoclast perimeter. *Day 0 (M/F): C_{max} 338/333 ng/mL; $AUC_{0\text{-}inf}$ 3846/4491 ng·h/mL* *Day 10 (M/F): C_{max} 469/561 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 4956/8850 ng·h/mL (n = 1)*	TOX9571/ 4.2.3.2.7 (Cont'd)

↑ = increase; ↓ = decrease; ALP = alkaline phosphatase; ALT = alanine aminotransferase; APTT = activated partial thromboplastin time; AST = aspartate aminotransferase; b.i.d. = twice a day; BUN = blood urea nitrogen; BW = body weight; BWG = body weight gain; Ca = calcium; CHL = chloride; CK = creatine kinase; CTx = C-terminal telopeptide of type I collagen; F = female; FC = food consumption; FGF23 = fibroblast growth factor-23; GI = gastro-intestinal; HP-β-CD = hydroxypropyl-ß-cyclodextrin; M = male; NTx = N-terminal telopeptide of type I collagen; P = phosphate; POT = potassium; PT = prothrombin time; PTH = parathyroid hormone; q.d. = daily; RBC = red blood cells; SD = single dose; SDE = single dose escalation; SOD = sodium; TGL = triglycerides; TK = toxicokinetics; $1,25(OH)_2D_3$ = 1,25 $(OH)_2$ vitamin D_3; $25(OH)D_3$ = 25-hydroxyvitamin D_3; WBC = white blood cells

2.6.7.7　A　反復投与毒性試験（ラットを用いた１カ月間反復経口投与毒性試験及び１カ月間回復試験）

Report Title: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study of JNJ-42756493-AAA in the Rat with a 1-Month Recovery Period and Integrated Irwin Observations

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl:CD® (SD) IGS)
Age at First Dose: Approximately 8-9 weeks
Date of First Dose: [redacted]-20[redacted]
Vehicle/Formulation: 20% w/v HP-β-CD
No Observed Adverse Effect Level: 4 mg/kg (q.d.)
Duration of Dosing: 1 month
Duration of Postdose: 1 month
Route: Oral/Gavage
Study No.: TOX10080
Location in CTD: 4.2.3.2.4
GLP Compliance: GLP

DOSING PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (q.d.)**		**32 (twice weekly)**	
No. of Animals	M:15	F:15	M:10	F:10	M:10	F:10	M:15	F:15	M:15	F:15
Toxicokinetics:										
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Day 0										
C_{max} (ng/mL)	-	-	2.65	3.11	12.1	10.1	30.3	36.4	257	455
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·h/mL)	-	-	12.6[(1)]	13.0	51.4	45.3	182[(2)]	185[(1)]	1459[(1)]	1996
Day 28										
C_{max} (ng/mL)	-	-	3.70	6.29	33.1	46.5	103	201	254	608
AUC $_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	16.9	18.7	113	128	573[(1)]	632	1639	2489
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight Gain	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations [a]										
Hypotonia	0 / 15	-	-	-	-	-	4 / 15	-	-	-
Paralysis	0 / 15	-	-	-	-	-	3 / 15	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[(1)] n = 2; [(2)] n = 1.
[a] Irwin observations are not included in this table.
- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　A　反復投与毒性試験（ラットを用いた１カ月間反復経口投与毒性試験及び１カ月間回復試験）（続き）

Report Title: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study of JNJ-42756493-AAA in the Rat with a 1-Month Recovery Period and Integrated Irwin Observations

Test Article: JNJ-42756493

DOSING PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (q.d.)**		**32 (twice weekly)**	
No. of Animals	M:15	F:15	M:10	F:10	M:10	F:10	M:15	F:15	M:15	F:15
Hematology[a]										
End of Dosing (Days 28/29)										
Reticulocytes (%)	2.3	-	-	-	-	-	0.783 **	-	-	-
Reticulocytes (10^3/µL)	187.5	-	-	-	-	-	0.749 **	-	-	-
Serum Chemistry and Biomarkers[a]										
24 Hours after 1st Dose (Day 1)										
Calcium (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	8.2	7.8	-	-	-	-	1.122 ***	1.090 ***	1.232 ***	1.167 ***
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	409	279	-	-	1.242 *	1.211 *	1.660 ***	1.477 ***	1.760 ***	1.645 ***
Parathyroid hormone (pg/mL)	482	673	-	-	-	0.771 *	0.668 **	0.544 ***	0.703 **	0.519 ***
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)[b]	98.9	76.1	N/A	N/A	N/A	N/A	1.514 **	1.363	2.494 ***	1.624 **
End of Dosing (Days 28/29)										
Calcium (mg/dL)	9.6	9.7	-	-	-	1.031 *	1.052 ***	1.041 **	1.042 ***	-
Phosphate (mg/dL)	7.3	6.6	-	-	-	0.972	1.096 ***	1.121 **	1.219 ***	1.091 **
Alkaline phosphatase (U/L)	125	95	-	-	1.208 *	1.442***	1.448 ***	1.589 ***	1.416 ***	1.368 ***
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	431	278	-	-	1.371 **	1.788***	2.968 ***	2.525 ***	1.589 ***	1.669 ***
Parathyroid hormone (pg/mL)	438	649	-	-	-	-	0.692	0.827	0.811	0.672 *
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)[b]	110.4	72.2	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-	2.303 ***	2.066 **
Urinalysis and Biomarkers[a]										
24 Hours after 1st Dose (Day 1)										
Calcium (mg/mg creatinine)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphate (mg/mg creatinine)	-	3.66	-	-	-	-	-	0.817 **	-	0.727 **
End of Dosing (Days 28/29)										
Calcium (mg/mg creatinine)	0.045	0.112	-	-	2.222 *	2.018 **	4.889 ***	2.893 ***	-	-
Phosphate (mg/mg creatinine)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Proteins (Score)	0.33	0.47	-	-	-	-	2.212	-	-	1.553
Ketones (Score)	0.87	-	-	-	-	-	-	-	0.379	-
Occult Blood (Score)	1.13	-	-	-	-	-	1.301	-	1.478 *	-
White blood cells (Score)	-	0.00	-	-	-	-	-	0.50[c] *	-	0.25[c]
Spermatozoa (Score)	1.00	N/A	-	N/A	-	N/A	2.210 **	N/A	-	N/A
Squamous epithelial cells (Score)	-	0.50	-	-	-	-	-	1.840	-	-
Amorphous material (Score)	0.08	-	-	-	-	-	9.875	-	-	-

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline). * - p<0.05, ** - p<0.01, *** - p<0.001 (Mann-Whitney U test).

[b] 1,25-dihydroxyvitamin D_3 was only determined in the 0 (vehicle), 16 and 32 mg/kg dosed groups.

[c] Mean score

- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　A　反復投与毒性試験（ラットを用いた１カ月間反復経口投与毒性試験及び１カ月間回復試験）（続き）

Report Title: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study of JNJ-42756493-AAA in the Rat with a 1-Month Recovery Period and Integrated Irwin Observations

Test Article: JNJ-42756493

DOSING PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (q.d.)**		**32 (twice weekly)**	
No. of Animals	M:15	F:15	M:10	F:10	M:10	F:10	M:15	F:15	M:15	F:15
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology										
Animals Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
BONE, STERNUM										
- Deformity	-	-	-	-	-	-	5	2	1	-
SPINAL CORD, THORAC.										
- Focus/area raised	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-
Histopathology										
Animals Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
BONE, STERNUM										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Chondroid dysplasia/ hyperostosis	-	-	-	-	-	-	10 **	9 **	8 **	5 *
Grade 1	-	-	-	-	-	-	5	9	7	5
Grade 2	-	-	-	-	-	-	5	-	1	-
BONE, STIFLE										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Chondroid dysplasia/ hyperostosis	-	-	-	-	1	-	10 **	6 **	7 **	7 **
Grade 1	-	-	-	-	1	-	5	6	7	7
Grade 2	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-
SPINAL CORD, THORAC.										
- No. Examined	10	10	0	0	0	0	10	10	10	10
- Chondroid dysplasia	-	-					2	1	-	-
MAMMARY GLAND(S)										
- No. Examined	10	10	10	0	10	0	10	10	10	10
- Atrophy	-	-	-		2		7 **	-	2	-
NOSE										
- No. Examined	10	10	9	10	10	10	10	10	10	10
- Chondroid metaplasia	-	-	-	-	-	-	9 **	4*	4*	3
TOOTH/TEETH										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Dentin lines	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-

* - p≤0.05, ** - p≤0.01 (Fisher test).
- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　A　反復投与毒性試験（ラットを用いた１カ月間反復経口投与毒性試験及び１カ月間回復試験）（続き）

Report Title: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study of JNJ-42756493-AAA in the Rat with a 1-Month Recovery Period and Integrated Irwin Observations

Test Article: JNJ-42756493

RECOVERY PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (q.d.)**		**32 (twice weekly)**	
No. of Animals	M:5	F:5	M:0	F:0	M:0	F:0	M:5	F:5	M:5	F:5
Noteworthy Findings										
Clinical Observations										
Hypotonia	0 / 5	-					1 / 5	-	-	-
Hematology[a]										
End of Recovery (Day 56)										
Reticulocytes (%)	2.2	-					0.818	-	0.773	-
Reticulocytes (10^3/µL)	190.1	-					0.807 *	-	0.762	-
Serum Chemistry and Biomarkers[a]										
After 1 Week of Recovery (Day 36)										
Calcium (mg/dL)	-	-					-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	-	-					-	-	-	-
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	394	319					1.617	1.395	-	-
Parathyroid hormone (pg/mL)	565	755					0.572	0.575	0.674	-
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	-	-					-	-	-	-
End of Recovery (Day 56)										
Calcium (mg/dL)	-	-					-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	-	-					-	-	-	-
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	-	-					-	-	-	-
Parathyroid hormone (pg/mL)	-	-					-	-	-	-
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	-	-					-	-	-	-
Urinalysis and Biomarkers[a]										
After 1 Week of Recovery (Day 36)										
Calcium (mg/mg creatinine)	0.040	0.264					6.975	1.345	-	-
Phosphate (mg/mg creatinine)	-	-					-	-	-	-
End of Recovery (Day 56)										
Calcium (mg/mg creatinine)	-	-					-	-	-	-
Phosphate (mg/mg creatinine)	-	-					-	-	-	-
Proteins (Score)	0.80	-					1.750	-	-	-
Occult Blood (Score)	0.80	-					-	-	2.500	-
Histopathology										
BONE, STERNUM										
- No. Examined	5	5					5	5	5	5
- Chondroid dysplasia/ hyperostosis	-	-					3	-	-	-
Grade 1	-	-					3	-	-	-

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline). * - $p<0.05$ (Mann-Whitney U test).

- No noteworthy findings; F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M = male; N/A = not applicable; q.d. = quaque die (once a day)

2.6.7.7　B　反復投与毒性試験（ラットを用いた 3 カ月間反復経口毒性試験）

Report Title: JNJ-42756493-AAA: 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat **Test Article:** JNJ-42756493

Species/Strain: Rat/Sprague Dawley (Crl: CD®) **Duration of Dosing: 3 months** **Study No.: TOX10846**
Age at First Dose: Approximately 6 weeks **Duration of Postdose: N/A** **Location in CTD: 4.2.3.2.5**
Date of First Dose: [redacted]-20[redacted] **Route: Oral/Gavage** **GLP Compliance: GLP**
Vehicle/Formulation: 20% w/v HP-β-CD
No Observed Adverse Effect Level: Males: 4 mg/kg (q.d.) - Females: <4 mg/kg (q.d.)

DOSING PERIOD

Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (7 days on/off)**		**32 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Toxicokinetics:										
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F: 3	M:3	F:3
Day 6										
C_{max} (ng/mL)	-	-	2.64	6.43	6.40	31.9	28.0	257	524	886
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	10.1[(2)]	29.6[(1)]	29.6[(2)]	94.3[(1)]	105[(2)]	936	5580[(2)]	4170
Day 90										
C_{max} (ng/mL)	-	-	6.98	13.4	26.2[(1)]	59.7	88.5	462	360[(1)]	929
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	26.3[(1)]	45.2	99.8[(1)]	231[(1)]	327[(1)]	1780	1910[(1)]	10000[(1)]
Noteworthy Findings										
Sacrificed Moribund Main	-	-	-	1	-	-	-	-	2	-
Treatment related sacrificed Main	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Mortality TK animals	-	-	-	-	2	-	-	-	1	1
Body Weight (g)[a]										
Day 7	267.2	-	-	-	-	-	-	-	0.929 **	-
Day 14	316.1	-	-	-	-	-	-	-	0.962	-
Day 21	350.5	-	-	-	-	-	-	-	0.912 *	-
Day 28	382.5	-	-	-	-	-	-	-	0.909 *	-
Day 35	406.7	-	-	-	-	-	-	-	0.889 **	-
Day 42	431.3	-	-	-	-	-	-	-	0.896 *	-
Day 49	449.9	-	-	-	-	-	-	-	0.869 *	-
Day 56	455.9	-	-	-	-	-	-	-	0.909	-
Day 63	468.1	-	-	-	-	-	-	-	0.904 *	-
Day 70	482.0	-	-	-	-	-	-	-	0.915	-
Day 77	493.0	-	-	-	-	-	-	-	0.902	-
Day 84	506.0	-	-	-	-	-	-	-	0.881 *	-
Day 90	506.6	-	-	-	-	-	-	-	0.880 *	-

[(1)] n = 2; [(2)] n = 1.
[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline). * - $p<0.05$, ** - $p<0.01$ (Mann-Whitney U test).
- No noteworthy findings; N/A = not applicable.

(Continued)

2.6.7.7　B　反復投与毒性試験（ラットを用いた 3 カ月間反復経口毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA: 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD

Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (7 days on/off)**		**32 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Body Weight Gain (g)[a]										
Day 7 (0)	56.9	-	-	-	-	-	-	-	0.710 **	-
Day 14 (0)	105.8	-	-	-	-	-	-	-	0.911	-
Day 21 (0)	140.2	-	-	-	-	-	-	-	0.798 *	-
Day 28 (0)	172.2	-	-	-	-	-	-	-	0.814 **	-
Day 35 (0)	196.4	-	-	-	-	-	-	-	0.786 **	-
Day 42 (0)	221.0	-	-	-	-	-	-	-	0.811 *	-
Day 49 (0)	239.6	-	-	-	-	-	-	-	0.768 *	-
Day 56 (0)	245.6	-	-	-	-	-	-	-	0.848	-
Day 63 (0)	257.8	-	-	-	-	-	-	-	0.841 *	-
Day 70 (0)	271.7	-	-	-	-	-	-	-	0.863	-
Day 77 (0)	282.7	-	-	-	-	-	-	-	0.844	-
Day 84 (0)	295.8	-	-	-	-	-	-	-	0.810 *	-
Day 90 (0)	296.3	-	-	-	-	-	-	-	0.809 *	-
Food Consumption (g)[a]										
Days 0 - 6	25.0	-	-	-	-	-	-	-	0.836	-
Days 7 - 13	28.2	-	-	-	-	-	-	-	0.950	-
Days 14 - 20	28.3	-	-	-	-	-	-	-	0.809	-
Days 21 - 27	28.9	-	-	-	-	-	-	-	0.896	-
Days 28 - 34	29.7	-	-	-	-	-	-	-	0.731	-
Days 35 - 41	30.3	-	-	-	-	-	-	-	0.845	-
Days 42 - 48	29.7	-	-	-	-	-	-	-	0.737	-
Days 49 - 55	26.8	-	-	-	-	-	-	-	0.881	-
Days 56 - 62	30.4	-	-	-	-	-	-	-	0.806	-
Days 63 - 69	29.3	-	-	-	-	-	-	-	0.891	-
Days 70 - 76	29.5	-	-	-	-	-	-	-	0.753	-
Days 77 - 83	30.0	-	-	-	-	-	-	-	0.810	-
Days 84 - 89	30.0	-	-	-	-	-	-	-	0.717	-

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline).
* - $p<0.05$, ** - $p<0.01$ (Mann-Whitney U test for body weight gain, no statistics for food consumption).
- No noteworthy findings

(Continued)

2.6.7.7　B　反復投与毒性試験（ラットを用いた 3 カ月間反復経口毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA: 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (7 days on/off)**		**32 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Clinical Observations										
Deformation of tail	0 / 10	0 / 10	-	-	-	-	2 / 10	-	7 / 10 ***	1 / 10
Haircoat abnormal, thin, local	-	0 / 10	-	-	-	-	-	-	-	1 / 10
Emaciated animal	0 / 10	-	-	-	-	-	-	-	1 / 10	-
Hunched back	0 / 10	0 / 10	-	-	-	-	-	-	8 / 10 ***	10 / 10 ***
Limping	0 / 10	0 / 10	-	-	-	-	1 / 10	-	10 / 10 ***	7 / 10 ***
Paralysis hind-legs	0 / 10	-	-	-	-	-	-	-	1 / 10	-
Nail broken	-	0 / 10	-	-	-	1 / 10	-	-	-	1 / 10
Skin abnormal, swelling	1 / 10	-	-	-	-	-	-	-	1 / 10	-
Skin abnormal, lesion	0 / 10	-	1 / 10	-	6 / 10 **	-	-	-	-	-
Sternum deformation	0 / 10	0 / 10	-	-	-	2 / 10	-	2 / 10	5 / 10 **	9 / 10 ***
Ophthalmoscopy										
End of Dosing										
Corneal opacification	2 / 10	-	-	-	-	-	-	-	4 / 8	-
band-shaped, unilateral, slight	0 / 10	-	-	-	-	-	-	-	1 / 8	-
band-shaped, bilateral, slight	2 / 10	-	-	-	-	-	-	-	1 / 8	-
band-shaped, bilateral, moderate	0 / 10	-	-	-	-	-	-	-	2 / 8	-
Coagulation and Hematology[a]										
End of Dosing										
Reticulocytes (%)	1.7	1.6	-	-	-	0.813	-	-	0.765 *	0.875
Reticulocytes (10E9/L)	149.3	129.2	-	-	-	0.849	-	-	0.757 **	0.927
Thrombocytes (10E3/µL)	-	1018	-	-	-	0.884 *	-	-	-	-
Hemoglobin (g/dL)	-	15.4	-	-	-	1.052 *	-	-	-	-

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline).
* - p<0.05, ** - p<0.01, *** - p<0.001 (Fisher Exact Probability test for clinical observations, and Mann-Whitney U test for coagulation and hematology).
- No noteworthy findings

(Continued)

2.6.7.7 B 反復投与毒性試験（ラットを用いた3カ月間反復経口毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA: 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (7 days on/off)**		**32 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Serum Chemistry and Biomarkers[a]										
After 8 Weeks of Dosing (Day 55)[b]										
Calcium (mg/dL)	9.83	9.99	-	-	1.046 **	1.039 **	-	-	1.073 ***	1.065 ***
Phosphate (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	465.5	460.4	1.322 *	1.171 *	1.655 ***	1.553 ***	1.437 *	1.503 **	4.457 ***	3.872 ***
Parathyroid hormone (pg/mL)	216.4	345.2	-	-	-	0.642 **	-	0.608 **	0.238 ***	0.143 ***
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	160.7	71.8	0.795	-	0.851	-	0.245 ***	0.486 **	0.100 ***	0.461 **
End of Dosing (Day 91/92)										
Calcium (mg/dL)	9.69	10.01	-	-	-	-	-	-	1.095 ***	1.072 ***
Phosphate (mg/dL)	6.11	5.02	-	-	-	-	-	-	1.547 ***	1.498 ***
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	450.5	437.8	1.186	-	1.685 ***	1.441 **	2.252 ***	1.915 ***	6.705 ***	5.519 ***
Parathyroid hormone (pg/mL)	280.4	214.1	0.780	-	0.688	0.569 **	0.657	0.511 *	0.242 ***	0.303 ***
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	115.3	36.5	-	-	-	-	-	-	1.194	1.907 **
C-terminal telopeptides of type I collagen (ng/mL)	22.8	13.1	-	-	-	-	1.320 *	-	1.531 ***	1.648 ***
Alkaline phosphatase (U/L)	79.5	45	-	-	1.452 ***	1.418 *	1.726 ***	1.456 **	1.931***	1.740 ***
Aspartate aminotransferase (U/L)	106.2	130	-	-	-	-	1.393 **	-	1.336 *	1.525
Alanine aminotransferase (U/L)	37.9	44	-	-	-	-	2.024 ***	1.407	1.868 ***	1.859 *
Gamma glutamyl transferase (U/L)	0.6	-	-	-	-	-	3.167	-	2.000	-
Globulin (g/dL)	-	1.97	-	-	-	-	-	1.137 ***	-	1.132 *
Albumin-globulin ratio	-	2.46	-	-	-	-	-	0.854 **	-	0.846 ***
Urinalysis and Biomarkers[a]										
End of Dosing (Day 91/92)										
Calcium (mg/mg creatinine)	0.03	0.16	-	-	-	-	-	2.000 *	7.000 ***	4.000 ***
Phosphate (mg/mg creatinine)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Deoxypyridinoline (nmoL/mmoL creatinine)	63.1	30.4	2.052 **	-	1.461 *	1.559 **	1.693 ***	1.911 ***	2.515 ***	2.895 ***
pH (Score)										
6.5	5 / 10	-	-	-	1 / 10	-	-	-	2 / 8	-
7	5 / 10	-	-	-	5 / 10	-	-	-	2 / 8	-
8	0 / 10	-	-	-	4 / 10	-	-	-	4 / 8 *	-
Calcium oxalate crystals (Score)										
0	-	8 / 10	-	-	-	-	-	-	-	2 / 10 *
1	-	0 / 10	-	-	-	-	-	-	-	0 / 10
2	-	0 / 10	-	-	-	-	-	-	-	5 / 10 *

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the multiples of control/baseline). * - $p<0.05$, ** - $p<0.01$, *** - $p<0.001$ (Mann-Whitney U test for serum chemistry and biomarkers, Mann-Whitney U test and Fisher exact Probality test for urinalysis and biomakers).

[b] At the end of the off treatment period for the 16 and 32 mg/kg groups dosed in a 7 days on/off regimen

- No noteworthy findings

(Continued)

2.6.7.7　B　反復投与毒性試験（ラットを用いた3カ月間反復経口毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA: 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (7 days on/off)**		**32 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology										
Animals Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
AORTA										
- Firm	-	-	-	-	-	-	-	-	2[a]	-
- Focus/area discolored	-	-	-	-	-	-	-	-	1[a]	-
BONE										
- Deformity	-	-	-	-	-	-	1	2	3	6
- Discoloration	-	-	-	-	-	1	1	1	3	4
BONE, STERNUM										
- Deformity	-	-	-	1[b]	-	2	-	2	8[c]	8
EXTREMITIES										
- Deformity	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
HEART										
- Discoloration	-	-	-	-	-	-	-	-	1[a]	-
PAW NAILBED										
- Discoloration: red	-	-	-	-	-	-	2	-	2	-
- Malformation	-	-	-	-	-	-	-	-	4	2
- Swollen	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
SKIN										
- Irregular surface	-	-	-	-	-	-	-	-	5	3
STOMACH										
- Thickened	-	-	-	-	-	-	-	-	2[a]	-
TAIL										
- Deformity	-	-	-	-	-	-	2	-	7	3
TOOTH/TEETH										
- Discoloration	-	-	-	-	-	1	1	-	3	4
- Malocclusion	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-

[a] Sacrificed moribund animal.
[b] Incidental.
[C] Included one sacrificed moribund animal.
- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　B　反復投与毒性試験（ラットを用いた 3 カ月間反復経口毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA: 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (7 days on/off)**		**32 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
Histopathology										
AORTA										
- No. Examined	10	10	0	0	10	10	10	0	10	10
- Metaplasia chondroid	-	-			-	-	-		3	-
Grade 1	-	-			-	-	-		3	-
- Mineralization	-	-			-	-	-		4 *	-
Grade 2	-	-			-	-	-		1	-
Grade 3	-	-			-	-	-		1	-
Grade 4	-	-			-	-	-		2	-
BONE										
- No. Examined	0	0	0	1	0	2	2	2	6	9
- Chondroid dysplasia/metaplasia				-		2	2	1	6	9
Grade 1				-		2	1	-	1	1
Grade 2				-		-	-	1	1	2
Grade 3				-		-	1	-	2	6
Grade 4				-		-	-	-	2	-
BONE MARROW, FEMUR										
- No. Examined	10	9	10	1	10	10	10	10	10	10
- Decreased cellularity	-	-	-	-	-	-	-	-	9 **	-
Grade 1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Grade 2	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-
Grade 3	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-
BONE, STERNUM										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Chondroid dysplasia/metaplasia	-	-	-	-	2	2	10 **	7 **	10 **	10 **
Grade 1	-	-	-	-	2	2	8	5	-	1
Grade 2	-	-	-	-	-	-	2	2	6	5
Grade 3	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4

* - p<0.05, ** - p<0.01 (Fisher test).
- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　B　反復投与毒性試験（ラットを用いた 3 カ月間反復経口毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA: 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (7 days on/off)**		**32 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
BONE, STIFLE										
- No. Examined	10	9	10	1	10	10	10	10	10	10
- Chondroid dysplasia/metaplasia	-	-	-	-	5 *	-	10 **	10 **	10 **	10 **
Grade 1	-	-	-	-	5	-	1	6	-	-
Grade 2	-	-	-	-	-	-	7	4	1	10
Grade 3	-	-	-	-	-	-	2	-	8	-
Grade 4	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
- Decreased trabecular number	-	-	-	-	-	-	-	-	8 **	-
Grade 1	-	-	-	-	-	-	-	-	7	-
Grade 2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
- Hyperostosis	-	-	-	-	-	-	10 **	7 **	9 **	10 **
Grade 1	-	-	-	-	-	-	10	7	7	6
Grade 2	-	-	-	-	-	-	-	-	2	3
Grade 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
- Thin cortex metaphysis	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-
Grade 1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-
EXORBIT LACRIMAL GLANDS										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	9	10	10	10
- Atrophy	-	-	-	2	4 *	2	1	1	5 *	3
Grade 1	-	-	-	2	3	2	1	1	3	3
Grade 2	-	-	-	-	1	-	-	-	2	-
EYES										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Atrophy cornea	-	-	-	3	2	2	7 **	9 **	10 **	10 **
Grade 1	-	-	-	2	2	2	5	8	1	1
Grade 2	-	-	-	1	-	-	2	1	9	9
- Mineralization cornea focal	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-
Grade 1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-
HARDERIAN GLANDS										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Dilatation acinus(i)	1	4	4	2	5	7	5	1	10 **	8
Grade 1	1	3	4	1	4	4	3	-	5	3
Grade 2	-	1	-	1	1	3	2	1	4	4
Grade 3	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1

* - p<0.05, ** - p<0.01 (Fisher test).
- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　B　反復投与毒性試験（ラットを用いた 3 カ月間反復経口毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA: 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (7 days on/off)**		**32 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
HEART										
- No. Examined	10	10	0	1	10	10	10	0	10	10
- Mineralization vascular	-	-		-	-	-	-		5 *	-
Grade 1	-	-		-	-	-	-		2	-
Grade 2	-	-		-	-	-	-		3	-
KIDNEYS										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Mineralization artery	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Grade 1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
- Mineralization cortex	2	1	1	-	7 *	-	5	1	9 **	6 *
Grade 1	2	1	1	-	7	-	5	1	4	6
Grade 2	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-
Grade 3	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-
- Mineralization medulla	-	2	-	-	1	1	5 *	2	10 **	8 *
Grade 1	-	2	-	-	1	1	5	2	5	7
Grade 2	-	-	-	-	-	-	-	-	5	1
LARYNX										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Chondroid dysplasia	-	-	-	-	2	1	3	3	7 **	5 *
Grade 1	-	-	-	-	2	1	3	3	6	5
Grade 2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
LUNG										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Mineralization	-	-	-	-	-	-	-	-	4 *	-
Grade 1	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-
- Mineralization interstitium	-	-	-	-	-	-	-	-	4 *	-
Grade 1	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-
MAMMARY GLAND(S)										
- No. Examined	9	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Atrophy	-	-	-	-	5 *	4 *	5 *	7 **	9 **	10 **
Grade 1	-	-	-	-	3	-	2	6	2	2
Grade 2	-	-	-	-	2	2	2	1	3	5
Grade 3	-	-	-	-	-	2	1	-	4	3

* - $p<0.05$, ** - $p<0.01$ (Fisher test).
- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　B　反復投与毒性試験（ラットを用いた 3 カ月間反復経口毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA: 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD

Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (7 days on/off)**		**32 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
NOSE										
- No. Examined	10	10	0	0	10	10	10	0	10	10
- Chondroid metaplasia	-	-			-	-	-		2	-
Grade 1	-	-			-	-	-		2	-
ORAL MUCOSA										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Atrophy	-	-	-	-	-	-	2	1	7 **	9 **
Grade 1	-	-	-	-	-	-	2	1	7	9
OVARIES										
- No. Examined	N/A	10	N/A	1	N/A	10	N/A	10	N/A	10
- Necrosis		-		-		-		-		2
Grade 1		-		-		-		-		2
SALIVARY GLAND PAROTID										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Atrophy	-	-	-	-	1	3	10 **	8 **	10 **	10 **
Grade 1	-	-	-	-	1	2	8	6	4	5
Grade 2	-	-	-	-	-	1	2	2	6	5
SKIN										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Hair follicles increased number/reduced size	-	1	-	1	4 *	2	4 *	4	6 **	8 **
Grade 1	-	1	-	1	4	2	4	4	6	8
SMALL INT. DUODENUM										
- No. Examined	10	10	0	1	10	10	10	0	10	10
- Mineralization	-	-		-	-	-	-		3	-
Grade 1	-	-		-	-	-	-		3	-
STOMACH										
- No. Examined	10	10	0	1	10	10	10	0	10	10
- Mineralization	-	-		-	-	-	1		9	-
Grade 1	-	-		-	-	-	1		5	-
Grade 2	-	-		-	-	-	-		2	-
Grade 3	-	-		-	-	-	-		1	-
Grade 4	-	-		-	-	-	-		1	-

* - $p<0.05$, ** - $p<0.01$ (Fisher test).
- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　B　反復投与毒性試験（ラットを用いた 3 カ月間反復経口毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA: 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Rat **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD

Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**4 (q.d.)**		**8 (q.d.)**		**16 (7 days on/off)**		**32 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
TAIL										
- No. Examined	0	0	0	0	0	0	2	0	7	3
- Chondroid dysplasia/metaplasia							2		7	3
Grade 1							-		-	2
Grade 2							2		2	1
Grade 3							-		5	-
TONGUE										
- No. Examined	10	10	0	1	10	10	10	10	10	10
- Atrophy	-	-		-	-	-	3	3	9 **	8 **
Grade 1	-	-		-	-	-	3	3	5	7
Grade 2	-	-		-	-	-	-	-	4	1
- Mineralization submucosa	-	-		-	-	-	-	-	1	-
Grade 2	-	-		-	-	-	-	-	1	-
- Mineralization vascular	-	-		-	-	-	-	-	7 **	-
Grade 1	-	-		-	-	-	-	-	4	-
Grade 2	-	-		-	-	-	-	-	1	-
Grade 3	-	-		-	-	-	-	-	2	-
TOOTH/TEETH										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Abnormal dentin/degeneration odontoblasts	-	-	-	-	-	-	5 *	-	5 *	2
Grade 1	-	-	-	-	-	-	5	-	4	1
Grade 2	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
- Prominent incremental lines	-	-	-	-	2	-	7 **	3	9 **	10 **
- Irregular (outer) dentin layer incisors	-	-	-	-	-	-	4 *	3	6 **	7 **
TRACHEA										
- No. Examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
- Chondroid dysplasia	-	-	-	-	4 *	1	6 **	6 **	5 *	5 *
Grade 1	-	-	-	-	4	1	6	6	5	5

* - p<0.05, ** - p<0.01 (Fisher test).
- No noteworthy findings.
F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M = male; N/A = not applicable; q.d. = quaque die (once a day)

2.6.7.7　C　反復投与毒性試験（イヌを用いた１カ月間反復経口投与毒性試験及び１カ月間回復試験）

Report Title: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study of JNJ-42756493-AAA in the Beagle Dog with a 1-Month Recovery Period **Test Article:** JNJ-42756493

Species/Strain: Dog/Beagle (Marshall)
Age at First Dose: Approximately 7.5 - 8.5 months
Date of First Dose: [redacted]-20[redacted]
Vehicle/Formulation: 20% w/v HP-β-CD
No Observed Adverse Effect Level: 0.5 mg/kg (q.d.)
Duration of Dosing: 1 month
Duration of Postdose: 1 month
Route: Oral/Gavage
Study No.: TOX10083
Location in CTD: 4.2.3.2.8
GLP Compliance: GLP

DOSING PERIOD

Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**0.25 (q.d.)**		**0.5 (q.d.)**		**1 (q.d.)**		**2 (twice weekly)**	
No. of Animals	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Toxicokinetics:										
No. of Animals	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3	M:3	F:3
Day 0										
C_{max} (ng/mL)	-	-	2.15	0.444	4.63	1.27	17.3	9.38	53.9	99.2
$AUC_{0\text{-}inf}$ (ng·h/mL)	-	-	13.6[1]	NC[2]	35.8[1]	5.32[1]	102	36.3	377	782
Day 26/28										
C_{max} (ng/mL)	-	-	1.88	0.788	7.05	4.68	39.8	38.5	60.4	102
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)	-	-	9.66[1]	NC[2]	49.2	17.1[1]	305	251	429	823
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (kg)[a]										
Day 28	-	7.6	-	-	-	-	-	0.947	-	-
Body Weight Gain (kg)[a]										
Day 28	-	0.1	-	-	-	-	-	-2.000	-	-
Food Consumption (kg)[a]										
Day 28	-	1.66	-	-	-	-	-	0.958	-	-

[1] n = 2; [2] NC: not calculated, more than 25% extrapolation or insufficient plasma concentration data.
[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown.
- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　C　反復投与毒性試験（イヌを用いた１カ月間反復経口投与毒性試験及び１カ月間回復試験）（続き）

Report Title: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study of JNJ-42756493-AAA in the Beagle Dog with a 1-Month Recovery Period **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**0.25 (q.d.)**		**0.5 (q.d.)**		**1 (q.d.)**		**2 (twice weekly)**	
No. of Animals	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Clinical Observations										
Excessive salivation	0 / 5	0 / 5	-	-	-	-	1 / 5	1 / 5	-	-
Feces, soft	0 / 5	0 / 5	-	-	-	-	2 / 5	2 / 5	-	-
Feces, hemorragic	-	0 / 5	-	-	-	-	-	1 / 5	-	-
Feces, mucoid	-	0 / 5	-	-	-	-	-	1 / 5	-	-
Decreased general activity	-	0 / 5	-	-	-	-	-	1 / 5	-	-
Nasal discharge, purulent	-	0 / 5	-	-	-	-	-	1 / 5	-	-
Ocular discharge, purulent	-	0 / 5	-	-	-	-	-	1 / 5	-	-
Ophthalmoscopy										
Ocular discharge, mucoid	-	0 / 5	-	-	-	-	-	1 / 5	-	-
Conjunctiva, pale	-	0 / 5	-	-	-	-	-	1 / 5	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation and Hematology[a]										
Week 2 (Day 12/13)										
Fibrinogen (mg/dL)	-	172	-	-	-	-	-	2.657	-	-
White blood cells (10^3/µL)	-	9.3	-	-	-	-	-	1.269	-	-
Hematocrit (%)	-	52.8	-	-	-	-	-	0.892	-	-
Reticulocytes (%)	-	1.5	-	-	-	-	-	0.400	-	-
Reticulocytes (10^3/µL)	-	109.4	-	-	-	-	-	0.379	-	-
Neutrophils (10^3/µL)	-	5.59	-	-	-	-	-	1.449	-	-
Monocytes (10^3/µL)	-	0.47	-	-	-	-	-	1.638	-	-
End of Dosing (Day 28/29)										
Eosinophils (10^3/µL)	-	0.35	-	-	-	-	-	1.429	-	-
Serum Chemistry and Biomarkers[a,b]										
6 Hours after 1st Dose (Day 0)										
Calcium (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	159	150	0.698	0.953	0.585	0.660	0.428	0.520	0.340	0.387
Parathyroid hormone (pg/mL)	-	27	-	-	-	-	-	3.296	-	2.333
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-	N/A	N/A

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown.

[b] 1,25-dihydroxyvitamin D_3 was only determined in the 0 (vehicle) and 1 mg/kg dosed groups, and on some occasions in the 2 mg/kg group dosed twice weekly (Day 1, 11, 28).

- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　C　反復投与毒性試験（イヌを用いた１カ月間反復経口投与毒性試験及び１カ月間回復試験）（続き）

Report Title: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study of JNJ-42756493-AAA in the Beagle Dog with a 1-Month Recovery Period **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**0.25 (q.d.)**		**0.5 (q.d.)**		**1 (q.d.)**		**2 (twice weekly)**	
No. of Animals	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Serum Chemistry and Biomarkers[a,b]										
24 Hours after 1st Dose (Day 1)										
Calcium (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	5.8	4.8	-	-	-	-	-	1.125	1.155	1.458
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Parathyroid hormone (pg/mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	46.0	31.8	N/A	N/A	N/A	N/A	1.735	2.057	2.789	3.642
Day 2 (Predose)										
Calcium (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	6.0	5.0	-	-	-	-	1.150	1.100	-	1.280
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	230	225	-	-	-	-	1.557	1.0622	1.243	1.844
Parathyroid hormone (pg/mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	47.6	31.2	N/A	N/A	N/A	N/A	1.895	1.721	N/A	N/A
Day 4 (Predose)[c]										
Calcium (mg/dL)	-	-							-	-
Phosphate (mg/dL)	-	-							-	-
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	-	-							-	-
Parathyroid hormone (pg/mL)	-	-							-	-
Day 7 (Predose)										
Calcium (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	5.9	-	-	-	-	-	1.136	-	-	-
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	277	259	-	-	-	-	2.195	1.301	-	-
Parathyroid hormone (pg/mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-	N/A	N/A
Day 11 (Predose)										
Calcium (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	5.9	4.7	-	-	-	-	1.136	1.277	-	1.128
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	261	230	-	-	-	-	1.966	1.352	-	-
Parathyroid hormone (pg/mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	56.4	38.2	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-	0.280	0.458

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown.
[b] 1,25-dihydroxyvitamin D_3 was only determined in the 0 (vehicle) and 1 mg/kg dosed groups, and on some occasions in the 2 mg/kg group dosed twice weekly (Day 1, 11, 28).
[c] On Day 4, analyses were only performed in the 0 (vehicle) and 2 mg/kg group dosed twice weekly (prior to the second dose administration).
- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　C　反復投与毒性試験（イヌを用いた１カ月間反復経口投与毒性試験及び１カ月間回復試験）（続き）

Report Title: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study of JNJ-42756493-AAA in the Beagle Dog with a 1-Month Recovery Period **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**0.25 (q.d.)**		**0.5 (q.d.)**		**1 (q.d.)**		**2 (twice weekly)**	
No. of Animals	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
Serum Chemistry and Biomarkers[a,b]										
Day 11 (6 Hours after Dose)										
Calcium (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	7.8	6.8	-	-	-	-	1.218	1.265	-	-
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	182	177	-	-	-	-	-	0.593	0.396	0.548
Parathyroid hormone (pg/mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	-	-	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-	N/A	N/A
Week 2 (Day 12/13)										
Calcium (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	5.6	4.8	-	-	-	-	1.161	1.313	1.125	1.125
Cholesterol (mg/dL)	-	142	-	-	-	-	-	1.387	-	-
Alkaline phosphatase (U/L)	-	105	-	-	-	-	-	1.629	-	-
End of Dosing										
Calcium (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	5.6	-	-	-	-	-	1.196	-	-	-
Triglycerides (mg/dL)	40	-	-	-	-	-	0.550	-	0.550	-
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	307	305	-	-	1.205	-	2.189	1.213	1.160	1.652
Parathyroid hormone (pg/mL)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	45.6	34.4	N/A	N/A	N/A	N/A	-	-	0.522	0.500
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology										
Animals Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
AORTA										
- No. Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
- Mineralization	1	1	-	1	-	-	2	-	-	-
Grade 1	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Grade 2	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-
Grade 3	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown.
[b] 1,25-dihydroxyvitamin D_3 was only determined in the 0 (vehicle) and 1 mg/kg dosed groups, and on some occasions in the 2 mg/kg group dosed twice weekly (Day 1, 11, 28).
- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　C　反復投与毒性試験（イヌを用いた１カ月間反復経口投与毒性試験及び１カ月間回復試験）（続き）

Report Title: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study of JNJ-42756493-AAA in the Beagle Dog with a 1-Month Recovery Period **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD

Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**0.25 (q.d.)**		**0.5 (q.d.)**		**1 (q.d.)**		**2 (twice weekly)**	
No. of Animals	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
BONE, DISTAL FEMUR										
- No. Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
- Chondroid dysplasia and/or metaplasia periost	-	-	-	-	-	-	3	3	3	2
Grade 1	-	-	-	-	-	-	-	1	1	1
Grade 2	-	-	-	-	-	-	2	1	2	1
Grade 3	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-
BONE, STERNUM										
- No. Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
- Chondroid dysplasia	-	-	-	-	-	-	3	3	2	2
Grade 1	-	-	-	-	-	-	-	2	2	1
Grade 2	-	-	-	-	-	-	2	-	-	1
Grade 3	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-
HEART										
- No. Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
- Mineralization	-	1	-	-	-	-	-	1	1	-
Grade 1	-	1	-	-	-	-	-	-	1	-
Grade 2	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
KIDNEYS										
- No. Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
- Mineralization	-	-	-	-	-	1	2	1	-	1
Grade 1	-	-	-	-	-	1	1	-	-	1
Grade 2	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-
LUNG										
- No. Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
- Mineralization	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-
Grade 1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
Grade 2	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
SALIVARY GLAND SUBLINGUAL										
- No. Examined	2	3	3	3	2	3	3	3	3	3
- Mineralization	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Grade 1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-

- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　C　反復投与毒性試験（イヌを用いた１カ月間反復経口投与毒性試験及び１カ月間回復試験）（続き）

Report Title: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study of JNJ-42756493-AAA in the Beagle Dog with a 1-Month Recovery Period **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD										
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**0.25 (q.d.)**		**0.5 (q.d.)**		**1 (q.d.)**		**2 (twice weekly)**	
No. of Animals	M:5	F:5	M:3	F:3	M:3	F:3	M:5	F:5	M:5	F:5
STOMACH										
- No. Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
- Mineralization	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
Grade 1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
TONGUE										
- No. Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
- Mineralization vascular	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Grade 1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
TOOTH/TEETH										
- No. Examined	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
- Irregular dentin/Incremental line(s) dentin	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Grade 1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-

- No noteworthy findings.

(Continued)

Report Title: 1-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study of JNJ-42756493-AAA in the Beagle Dog with a 1-Month Recovery Period **Test Article:** JNJ-42756493

RECOVERY PERIOD

Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**0.25 (q.d.)**		**0.5 (q.d.)**		**1 (q.d.)**		**2 (twice weekly)**	
Number Evaluated	M:2	F:2	M:0	F:0	M:0	F:0	M:2	F:2	M:2	F:2
Noteworthy Findings										
Serum Chemistry and Biomarkers[a,b]										
Day 30 (48 hours post last dose on Day 28)										
Calcium (mg/dL)	-	-					-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	-	-					-	-	-	-
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	371	250					1.908	1.520	0.854	1.932
Parathyroid hormone (pg/mL)	-	-					-	-	-	-
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	34.2	27.6					0.500	0.362	N/A	N/A
Day 31 (72 hours post last dose on Day 28)										
Calcium (mg/dL)	-	-					-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	-	-					-	-	-	-
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	306	293					1.742	1.321	0.912	1.294
Parathyroid hormone (pg/mL)	-	-					-	-	-	-
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	27.3	32.3					0.366	0.310	N/A	N/A
End of Recovery (Day 55)										
Calcium (mg/dL)	-	-					-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	-	-					-	-	-	-
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	-	-					-	-	-	-
Parathyroid hormone (pg/mL)	-	-					-	-	-	-
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	-	-					-	-	-	-
Histopathology										
AORTA										
- No. Examined	2	2					2	2	2	2
- Mineralization	1	-					2	-	-	-
Grade 1	1	-					-	-	-	-
Grade 2	-	-					2	-	-	-
BONE, DISTAL FEMUR										
- No. Examined	2	2					2	2	2	2
- New bone formation	-	-					1	-	-	-
Grade 1	-	-					1	-	-	-
BONE, STERNUM										
- No. Examined	2	2					2	2	2	2
- Chondroid dysplasia	-	-					1	-	-	-
Grade 1	-	-					1	-	-	-

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown.

[b] 1,25-dihydroxyvitamin D_3 was only determined in the 0 (vehicle) and 1 mg/kg dosed groups, and on Day 55 in the 2 mg/kg group dosed twice weekly.

- No noteworthy findings.

F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M = male; N/A = not applicable; q.d. = quaque die (once a day)

2.6.7.7　D　反復投与毒性試験（イヌを用いた３カ月間経口投与毒性試験）

Report Title: JNJ-42756493-AAA : 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Beagle Dog **Test Article:** JNJ-42756493

Species/Strain: Dog/Beagle (Marshall)
Age at First Dose: Approximately 6-8 months
Date of First Dose: [redacted]-20[redacted]
Vehicle/Formulation: 20% w/v HP-β-CD
No Observed Adverse Effect Level: < 0.5 mg/kg (q.d.)
Duration of Dosing: 3 months
Duration of Postdose: N/A
Route: Oral/Gavage
Study No.: TOX10849
Location in CTD: 4.2.3.2.9
GLP Compliance: GLP

DOSING PERIOD

Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**0.5 (q.d.)**		**0.75 (q.d.)**		**1.5 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Toxicokinetics:								
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Day 6								
C_{max} (ng/mL)	-	-	18.5	8.45	27.2	20.7	117	71.0
AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	-	-	108	40.2	218	146	1130	682
Day 90								
C_{max} (ng/mL)	-	-	21.6	15.9	38.9	26.1	113	98.1
AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	-	-	172	92	394	213	1300	969
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (kg)[a]								
Day 7	8.6	7.4	-	-	-	-	0.965	0.973
Day 90	9.5	8.4	-	-	-	-	1.021	0.976
Body Weight Gain (kg)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (kg)[a]								
Days 0 - 6	0.27	0.24	-	-	-	-	0.889	0.958
Days 84 - 89	0.29	0.23	-	-	-	-	0.862	1.043
Clinical Observations								
Alopecia/hair loss, local	1 / 4	0 / 4	-	-	2 / 4	3 / 4	-	2 / 4
Feces, hemorrhagic	0 / 4	-	-	-	-	-	1 / 4	-
Haircoat abnormal, rough	0 / 4	0 / 4	2 / 4	-	3 / 4	4 / 4	1 / 4	-
Haircoat abnormal, piloerection	0 / 4	0 / 4	2 / 4	3 / 4	4 / 4	4 / 4	4 / 4	4 / 4
Hunched back	-	0 / 4	-	-	-	1 / 4	-	-
Limb stiff	-	0 / 4	-	-	-	1 / 4	-	-
Nail broken	0 / 4	0 / 4	-	-	1 / 4	1 / 4	-	-
Nails long	0 / 4	0 / 4	1 / 4	-	4 / 4	2 / 4	3 / 4	2 / 4
Palpebral fissure narrowed (ptosis), bilateral	0 / 4	0 / 4	-	-	2 / 4	2 / 4	-	-
Skin abnormal, redness	0 / 4	0 / 4	-	-	2 / 4	2 / 4	-	1 / 4

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown.
- No noteworthy findings, N/A = not applicable.

(Continued)

2.6.7.7　D　反復投与毒性試験（イヌを用いた3カ月間経口投与毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA : 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Beagle Dog **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD								
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**0.5 (q.d.)**		**0.75 (q.d.)**		**1.5 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Ocular discharge	0 / 4	0 / 4	1 / 4	-	4 / 4	4 / 4	3 / 4	4 / 4
* unilateral	0 / 4	0 / 4	1 / 4	-	2 / 4	2 / 4	2 / 4	3 / 4
* watery	0 / 4	0 / 4	1 / 4	-	-	2 / 4	1 / 4	1 / 4
* purulent	0 / 4	0 / 4	-	-	2 / 4	1 / 4	2 / 4	2 / 4
* bilateral	0 / 4	0 / 4	1 / 4	-	4 / 4	3 / 4	2 / 4	2 / 4
* watery	0 / 4	0 / 4	1 / 4	-	1 / 4	2 / 4	1 / 4	1 / 4
* mucoid	0 / 4	-	-	-	-	-	1 / 4	-
* purulent	0 / 4	0 / 4	1 / 4	-	4 / 4	3 / 4	1 / 4	1 / 4
Sclera discolored	-	0 / 4	-	-	-	1 / 4	-	-
* bilateral	-	0 / 4	-	-	-	1 / 4	-	-
* red	-	0 / 4	-	-	-	1 / 4	-	-
Ophthalmology								
Blepharospasm	0 / 4	0 / 4	-	-	2 / 4	1 / 4	-	1 / 4
* bilateral	0 / 4	0 / 4	-	-	2 / 4	1 / 4	-	1 / 4
Corneal opacification	0 / 4	0 / 4	-	-	2 / 4	3 / 4	-	1 / 4
* multifocal	-	0 / 4	-	-	-	1 / 4	-	-
* bilateral	-	0 / 4	-	-	-	1 / 4	-	-
* diffuse	0 / 4	0 / 4	-	-	2 / 4	3 / 4	-	1 / 4
* bilateral	0 / 4	0 / 4	-	-	2 / 4	3 / 4	-	1 / 4
Ocular discharge	0 / 4	0 / 4	1 / 4	-	4 / 4	3 / 4	3 / 4	3 / 4
* watery	0 / 4	0 / 4	1 / 4	-	1 / 4	1 / 4	-	1 / 4
* bilateral	0 / 4	0 / 4	1 / 4	-	1 / 4	1 / 4	-	1 / 4
* purulent	0 / 4	0 / 4	-	-	3 / 4	2 / 4	3 / 4	2 / 4
* bilateral	0 / 4	0 / 4	-	-	3 / 4	2 / 4	3 / 4	2 / 4
Periocular alopecia	0 / 4	0 / 4	-	-	2 / 4	4 / 4	4 / 4	4 / 4
* bilateral	0 / 4	0 / 4	-	-	2 / 4	4 / 4	4 / 4	4 / 4
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation and Hematology[a]								
End of Dosing								
Reticulocytes (10E9/L)	64.3	34.9	-	0.542	-	0.490	0.393	0.636
White blood cells (10E3/µL)	8.04	11.33	-	0.638	-	-	0.752	0.667
Neutrophils (10E3/µL)	4.91	7.89	-	0.586	-	-	0.727	0.578
Lymphocytes (10E3/µL)	2.31	2.6	-	0.758	-	-	0.740	0.885
Monocytes (10E3/µL)	0.46	0.56	-	0.732	-	-	0.696	0.696
Fibrinogen (mg/dL)	205.5	216	-	-	-	-	1.503	1.252

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown.

- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7　D　反復投与毒性試験（イヌを用いた３カ月間経口投与毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA : 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Beagle Dog **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD

Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**0.5 (q.d.)**		**0.75 (q.d.)**		**1.5 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Serum Chemistry and Biomarkers[a]								
After 8 Weeks of Dosing (Day 55)[b]								
Calcium (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	4.64	4.85	-	-	1.25	1.25	-	-
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	349.8	322.9	2.01	1.58	2.83	2.05	1.74	2.19
Parathyroid hormone (pg/mL)	47.5	65.3	-	-	0.56	<0.38	<0.53	<0.38
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	60.5	69.9	-	-	-	-	0.19	0.21
N-telopeptides of type I collagen (nmol/L)	-	-	-	-	-	-	-	-
End of Dosing (Day 91)								
Calcium (mg/dL)	-	-	-	-	-	-	-	-
Phosphate (mg/dL)	4.77	4.12	-	-	1.237	1.350	1.627	1.917
Fibroblast growth factor 23 (pg/mL)	366.5	313.1	1.51	1.52	1.44	1.82	1.74	3.24
Parathyroid hormone (pg/mL)	49.5	67.2	-	-	-	-	0.75	<0.37
1,25-dihydroxyvitamin D_3 (pg/mL)	-	-	-	-	-	-	-	-
N-telopeptides of type I collagen (nmol/L)	47.8	41.5	-	-	-	-	2.31	1.49
Alkaline phosphatase (U/L)	137	112.8	-	-	-	-	1.301	1.445
Urinalysis and Biomarkers[a]								
After 8 Weeks of Dosing (Day 55)[b]								
Deoxypyridinoline (nmoL/mmoL creatinine)	4.52	4.38	-	-	1.24	1.25	1.52	1.36
End of Dosing (Day 91)								
Calcium (mg/mg creatinine)	-	0.06	-	-	-	-	-	3.83
Phosphate (mg/mg creatinine)	-	-	-	-	-	-	-	-
Deoxypyridinoline (nmoL/mmoL creatinine)	3.94	5.76	-	-	1.67	1.11	2.24	1.16

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown.

[b] At the end of the off treatment period for the 1.5 mg/kg group dosed in a 7 days on/off regimen

- No noteworthy findings.

(Continued)

2.6.7.7 D 反復投与毒性試験（イヌを用いた3カ月間経口投与毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA : 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Beagle Dog **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD								
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**0.5 (q.d.)**		**0.75 (q.d.)**		**1.5 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
Organ Weights[a,b]								
THYROID GLANDS	-	0.9495	-	0.662	-	0.648	-	0.458
Gross Pathology								
Animals Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
AORTA								
- Irregular surface	-	-	-	-	1	1	3	4
HEART								
- Focus/area: white-tan	-	-	-	-	-	-	1	-
- Irregular surface	-	-	-	-	2	2	4	4
SKIN PERIOCULAR								
- Alopecia	-	-	-	-	2	2	-	-
EXTREMITIES								
- Broken	-	-	-	-	1	-	-	-
- Discoloration	-	-	1	-	-	-	-	-
- Irregular surface	-	-	1	-	-	-	-	-
Histopathology								
Animals Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
AORTA								
- No. Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
- Mineralization/degeneration	-	-	-	-	1	1	3	2
Grade 1	-	-	-	-	-	-	2	-
Grade 2	-	-	-	-	-	-	1	1
Grade 3	-	-	-	-	1	1	-	1
BONE, STERNUM								
- No. Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
- Chondroid dysplasia/metaplasia	-	-	-	-	3	2	4	4
Grade 1	-	-	-	-	3	2	1	-
Grade 2	-	-	-	-	-	-	3	2
Grade 3	-	-	-	-	-	-	-	2

[a] For controls, group means are shown. For treated groups, multiples of control/baseline are shown.
[b] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates multiple of control for the absolute organ weights.
- No noteworthy findings

(Continued)

2.6.7.7　D　反復投与毒性試験（イヌを用いた３カ月間経口投与毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA : 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Beagle Dog **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD								
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**0.5 (q.d.)**		**0.75 (q.d.)**		**1.5 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
BONE, DISTAL FEMUR								
- No. Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
- Closed growth plate	4	4	3	4	1	1	-	4
- Chondroid dysplasia/metaplasia	-	-	-	1	3	3	4	4
Grade 1	-	-	-	1	1	1	2	2
Grade 2	-	-	-	-	2	1	2	2
Grade 3	-	-	-	-	-	1	-	-
HEART								
- No. Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
- Mineralization/degeneration	1	-	-	-	2	3	4	4
Grade 1	1	-	-	-	1	1	-	-
Grade 2	-	-	-	-	1	2	1	-
Grade 3	-	-	-	-	-	-	3	4
LACRIMAL GLANDS								
- No. Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
- Atrophy	-	-	4	4	4	4	4	4
Grade 1	-	-	2	4	1	-	-	-
Grade 2	-	-	2	-	1	3	1	4
Grade 3	-	-	-	-	2	1	3	-
SALIVARY GLAND PAROTID								
- No. Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
- Atrophy	-	-	2	2	4	4	4	4
Grade 1	-	-	1	1	1	2	-	2
Grade 2	-	-	1	1	3	2	4	2
TONGUE								
- No. Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
- Atrophy epithelium	-	-	4	3	4	3	4	4
THYROID GLANDS								
- No. Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
- Small follicles	-	-	-	-	-	4	-	4
Grade 1	-	-	-	-	-	4	-	1
Grade 2	-	-	-	-	-	-	-	3

- No noteworthy findings. F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M = male; q.d. = quaque die (once a day)

(Continued)

2.6.7.7　D　反復投与毒性試験（イヌを用いた３カ月間経口投与毒性試験）（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA : 3-Month Repeated Dose Oral Toxicity Study in the Beagle Dog **Test Article:** JNJ-42756493

DOSING PERIOD								
Dose (mg/kg)	**0 (q.d.) (Vehicle)**		**0.5 (q.d.)**		**0.75 (q.d.)**		**1.5 (7 days on/off)**	
No. of Animals	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
TOOTH/TEETH								
- No. Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
- Abnormal dentin	-	-	-	-	-	-	3	4
ORAL MUCOSA								
- No. Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
- Atrophy epithelium	-	-	-	-	-	-	3	1
Grade 1	-	-	-	-	-	-	2	1
Grade 2	-	-	-	-	-	-	1	-
SKIN EAR								
- No. Examined	4	4	4	4	4	4	4	4
- Increased hair follicles	-	-	-	-	-	-	4	-

- No noteworthy findings. F = female; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; M = male; q.d. = quaque die (once a day)

2.6.7.8 A *In Vitro* 遺伝毒性試験［細菌を用いた復帰突然変異（Ames）試験］

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay of JNJ-42756493-AAA **Test Article:** JNJ-42756493

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells
Strains: *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, and *E. coli* WP2uvrA
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9
Vehicles:
For Test Article: DMSO
For Positive Controls: DMSO, except sterile water for sodium azide
Treatment: Plate incorporation
No. of Independent Assays: 1
No. of Replicates: 3
Study No: TOX10818
Location in CTD: 4.2.3.3.1.1
GLP Compliance: Yes
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic Effects: Toxicity was observed beginning at 600, 1200, 2500 and 5000 µg per plate in the absence and presence of S9, depending on the strain.
Genotoxic Effects: None

			Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean ± SD)				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/plate)**	**TA98**	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**WP2uvrA**
Without Activation	DMSO	100 µL/plate	18 ± 3	116 ± 3	13 ± 6	5 ± 3	25 ± 4
	JNJ-42756493-AAA	10	17 ± 4	118 ± 18	13 ± 4	3 ± 2	30 ± 7
		25	19 ± 2	130 ± 16	16 ± 1	5 ± 2	23 ± 15
		50	19 ± 6	113 ± 10	10 ± 3	4 ± 2	29 ± 4
		75	22 ± 1	119 ± 12	8 ± 2	4 ± 2	25 ± 6
		150	22 ± 5	105 ± 10	16 ± 6	5 ± 3	30 ± 4
		300	14 ± 1	88 ± 23	13 ± 2	4 ± 2	34 ± 9
		600	14 ± 5	38 ± 7	7 ± 1	6 ± 1	31 ± 4
		1200	0 ± 0	24 ± 4	0 ± 0	3 ± 2	29 ± 5
		2500	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	10 ± 1
		5000	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2NF	1.0	172 ± 36	-	-	-	-
	SA	1.0	-	375 ± 45	702 ± 62	-	-
	9AAD	75	-	-	-	448 ± 149	-
	MMS	1000	-	-	-	-	381 ± 3

(Continued)

2.6.7.8 A *In Vitro* 遺伝毒性試験［細菌を用いた復帰突然変異（Ames）試験］（続き）

Report Title: Bacterial Reverse Mutation Assay of JNJ-42756493-AAA **Test Article:** JNJ-42756493

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/plate)	Mutagenicity Assay Revertant Colony Counts (Mean ± SD) TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2uvrA
With Activation	DMSO	100 µL/plate	28 ± 2	95 ± 21	11 ± 3	5 ± 2	37 ± 3
	JNJ-42756493-AAA	10	27 ± 1	112 ± 18	12 ± 2	5 ± 2	25 ± 4
		25	23 ± 5	84 ± 7	9 ± 3	4 ± 1	24 ± 7
		50	36 ± 1	107 ± 8	14 ± 1	4 ± 2	29 ± 12
		75	30 ± 5	78 ± 4	10 ± 5	4 ± 1	39 ± 2
		150	41 ± 6	99 ± 6	17 ± 2	5 ± 2	31 ± 7
		300	40 ± 8	109 ± 20	12 ± 4	7 ± 3	29 ± 13
		600	29 ± 9	87 ± 11	13 ± 3	7 ± 4	37 ± 10
		1200	31 ± 2	42 ± 10	9 ± 1	5 ± 1	46 ± 3
		2500	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	35 ± 10
		5000	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	2AA	1.0	555 ± 323	-	176 ± 20	-	-
	2AA	2.0	-	1063 ± 201	-	48 ± 13	-
	2AA	15	-	-	-	-	616 ± 23

DMSO dimethyl sulfoxide
SA sodium azide
9AAD 9-aminoacridine
2NF 2-nitrofluorene
MMS methyl methanesulfonate
2AA 2-aminoanthracene

2.6.7.8 B *In Vitro* 遺伝毒性試験（TK6 細胞を用いた *in vitro* 小核試験）

Report Title: JNJ-42756493-AAA: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Assay in TK6 Cells **Test Article:** JNJ-42756493

Test for Induction of: Micronuclei
Cell Line: TK6 Cells
Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9
Vehicle for Test Article: DMSO
No. of Independent Assays: 1
No. of Replicate Cultures: 2
No. of Cells Analyzed/Cultured: 1000
Study No: TOX10819
Location in CTD: 4.2.3.3.1.2
GLP Compliance: Yes
Date of Treatment: [redacted] 20[redacted] (Definitive Assay)

Cytotoxic Effects: In the micronucleus assay, substantial cytotoxicity was observed at dose levels ≥ 13.6 µg/mL in the non-activated 3-hour exposure group, at dose levels ≥ 27.5 µg/mL in the S9-activated 3-hour treatment group, and at 5.29 µg/mL in the non-activated 27-hour treatment group.
Genotoxic Effects: None

Metabolic Activation	Test Article	Concentration	PD[a]	Cytotoxicity[b] (% of Control)	Percentage of MNMN[c] Cells Per Total Mononucleate Cells
27 Hour Continuous Treatment	DMSO	N/A	1.8	N/A	0.70
Without Activation	JNJ-42756493-AAA	1.66 µg/mL	1.6	15	0.55
	JNJ-42756493-AAA	3.91 µg/mL	1.2	33	0.45
	JNJ-42756493-AAA	5.29 µg/mL	0.9	52	0.45
	VB	12 ng/mL	1.1	40	6.85**
3 Hour Treatment with 24-Hour Recovery	DMSO	N/A	1.7	N/A	0.60
Without Activation	JNJ-42756493-AAA	4.93 µg/mL	1.2	31	0.45
	JNJ-42756493-AAA	11.6 µg/mL	0.9	45	0.55
	JNJ-42756493-AAA	13.6 µg/mL	0.8	54	0.65
	MMC	0.08 µg/mL	1.2	31	2.50**
3 Hour Treatment with 24-Hour Recovery	DMSO	N/A	1.6	N/A	0.55
With Activation	JNJ-42756493-AAA	11.7 µg/mL	1.3	18	0.55
	JNJ-42756493-AAA	23.3 µg/mL	0.9	41	0.50
	JNJ-42756493-AAA	27.5 µg/mL	0.7	56	0.60
	CP	4 µg/mL	1.1	33	2.30**

N/A not applicable
CP cyclophosphamide
DMSO dimethyl sulfoxide
MMC mitomycin C
VB vinblastine

[a] PD = population doubling
[b] Relative to vehicle control
[c] MNMN = micronucleated mononucleate cells
Fisher's Exact Test: ** $p \leq 0.01$

2.6.7.9　A　*In Vivo* 遺伝毒性試験（ラットを用いた *in vivo* 小核試験の用量設定試験）

Report Title: In Vivo Micronucleus Dose Range Finder Assay in Rats for JNJ-42756493-AAA　**Test Article:** JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Rat, Sprague-Dawley M&F: 3/dose group/sex	Oral gavage (0.5% methocel)	2 days	250, 500, 1000 and 2000	There was no appreciable change in mean group body weight. ≥250 mg/kg/day: piloerection (all animals) 1000 mg/kg/day: crusty eyes (M) and diarrhea (M) ≥1000 mg/kg/day: lethargy (M) and pale ears (M&F) 2000 mg/kg/day: lethargy (F). Mortality was observed in all animals.	TOX10881/ 4.2.3.3.2.1

M = male; F = female

2.6.7.9 B *In Vivo* 遺伝毒性試験（ラットの骨髄を用いた *in vivo* 小核試験）

Report Title: In Vivo Micronucleus Assay in Rats for JNJ-42756493-AAA **Test Article:** JNJ-42756493

Test for Induction of: Micronuclei in bone marrow
Species/Strain/Sex: Hsd:SD rats:Males
Age/Weight: 6 weeks old/184.5 – 201.9 grams
Cells Evaluated: Bone marrow erythrocytes
Treatment Schedule: Once daily dose on two consecutive days
Sample Time: 24 hours after second dose
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% w/v methocel (hydroxypropyl methylcellulose) F4M premium
Positive Control: Cyclophosphamide
Study No: TOX10857
Location in CTD: 4.2.3.3.2.2
GLP Compliance: Yes
Date of Dosing: [redacted]

No. of Cells Analyzed/Animal: 1000 erythrocytes (PCEs + NCEs) for toxicity; 2000 PCEs for micronuclei screening
Toxic/Cytotoxic Effects: All animals appeared normal throughout the study conduct
Genotoxic Effects: No statistically significant increase in the number of micronucleated polychromatic erythrocytes observed in the test article groups compared to the vehicle control group at 24 hours post-dosing.
Evidence of Exposure: Systemic exposure to JNJ-42756493 in male rats following oral doses of JNJ-42756493 on two consecutive days (250, 500 and 1000 mg/kg/day) occurred at all dose levels, as measured by the plasma concentrations at 2h, 7h and 24h post second dose. Plasma concentrations increased in a dose-related manner between 250, 500 and 2000 mg/kg/day. Plasma samples from the vehicle control group showed no quantifiable levels of JNJ-42756493.

Test Article	Dose (mg/kg/day)	No./ Sex	PCE/Total Erythrocyte Ratio[a] (Mean ± SD) Sampling Time[b]	Number MnPCE/PCE scored[c] Sampling Time[b]	No./ Sex	JNJ-42756493 Plasma Concentrations (ng/mL) (Mean ± SD) Sampling Time[d]		
			24 hours	24 hours		2 hours	7 hours	24 hours
Vehicle	0	5/M	0.617 ± 0.08	1/10000	3/M	N/A	N/A	BQL
JNJ-42756493-AAA	250	5/M	0.571 ± 0.06	0/10000	3/M	2760 ± 897	2260 ± 1400	397 ± 359
JNJ-42756493-AAA	500	5/M	0.616 ± 0.05	0/10000	3/M	3210 ± 626	3680 ± 570	2730 ± 956
JNJ-42756493-AAA	1000	5/M	0.603 ± 0.04	0/10000	3/M	6800 ± 2950	6880 ± 2080	11700 ± 2890
Positive Control[e]	40	5/M	0.645 ± 0.02	*71/10000	N/A	N/A	N/A	N/A

[a] Mean ratio of polychromatic erythrocytes (PCEs) to total erythrocytes
[b] Time after second dose
[c] Mean percent of PCEs with one or more micronuclei
[d] Time interval between final dose and blood sample collection
[e] Cyclophosphamide – dosed once on Day 2

BQL = below quantification limit (<0.400 ng/mL); MnPCE = micronucleated polychromatic erythrocytes; PCE = polychromatic erythrocytes; NCE = normochromatic erythrocytes; N/A = not applicable;

* $p \leq 0.05$ (Kastenbaum-Bowman tables)

2.6.7.10　がん原性試験

Not Applicable

2.6.7.11　生殖発生毒性試験

重要な試験以外の試験　　**Test Article:** JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg/day)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Rat, Sprague-Dawley F: 6/dose group	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	Day 6 to 17 inclusive, of pregnancy	0.4	Maternal observations: No effects. Litter data: No effects. Fetal observations: No effects.	TOX12063/ 4.2.3.5.2.1
			4	Maternal observations: ↑ FGF23. Litter data: ↓ mean weight of live fetuses (slight). Fetal observations: ↑ fetuses with incomplete ossification. No relevant changes at external or visceral examination	
			16	Maternal observations: Red vaginal discharge in 1 dam during the dosing and postdosing period (GD 14-15, 17, 19-21). ↓ FC. ↓ BWG during GD 10-13, BW loss during GD 14-17 (mean of -14.4 g) and no BWG during postdosing period. ↓ Corrected mean maternal weight gain. ↑ FGF23 and ↑ Ca. Litter data: ↑ number of early resorptions, 100% postimplantation loss. Fetal observations: No live fetuses for evaluation.	

BW = body weight; BWG = body weight gain; Ca = calcium; F = female; FC = food consumption; FGF23 = fibroblast growth factor 23; GD = gestation day; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin

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

Not Applicable

2.6.7.13 生殖発生毒性試験 - 胚・胎児発生に関する試験

Report Title: JNJ-42756493-AAA: Embryo-foetal Toxicity Study by the Oral Route (Gavage) in the Rat (Segment II) **Test Article:** JNJ-42756493

Design Similar to ICH 4.1.3? Yes
Species/Strain: Rat Sprague-Dawley Crl: OFA (SD)
Age at First Dose: 11 weeks
Date of First Dose: [redacted] to [redacted], 20[redacted] (Main study) and [redacted], 20[redacted] (Satellite study)
Vehicle/Formulation: 20 % w/v hydroxypropyl-β-cyclodextrin
No Observed Adverse-Effect Level:
F_0 Females: 8 mg/kg q.d.
F_1 Litters: 1mg/kg q.d.

Duration of Dosing: D6 – D17
Day of Mating: D0
Day of C-Section: D20 (Main study) / D17 (Satellite study)
Route: Oral/Gavage

Study No.: TOX12329
Location in CTD: 4.2.3.5.2.2
GLP Compliance: Yes

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)	1 (Low dose)	4 (Intermediate dose)	8 (High dose)
No. of Animals	22	22	22	22
Toxicokinetics:				
No. of Animals	3	6	6	6
$AUC_{0\text{-}last}$ (ng·h/mL)				
D 6[#]	-	NC	14.4	47.1
D 17[#]	-	NC	24.1	105
C_{max} (ng/mL)				
D 6[#]	-	0.68	4.93	12.7
D 17[#]	-	0.73	10.0	38.8
Proof of exposure (D17[#]) (ng/mL)				
Dams/fetuses + 1hour	-	0.827/<LLOQ	10.5/<LLOQ	32.2/1.34
Dams/fetuses +2 hours	-	0.436/<LLOQ	5.17/0.545	38.2/2.63
Noteworthy Findings				
No. Pregnant[a]	22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund[a,b]	0	0	0	0
Test Article-related Mortality	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter[a]	0	0	0	6
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight Gain (g)[c,e]				
(D12 – 15)	21.58	-	-	16.25**
(D15 – 18)	41.85	35.54**	32.72***	20.98***
(D18 – 20)	35.22	30.08*	27.86**	16.83***
Corrected Mean Maternal Weight Gain (g)[c,f]	31.67	32.27	31.55	29.20*

(Continued)

2.6.7.13　生殖発生毒性試験 - 胚・胎児発生に関する試験（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA: Embryo-foetal Toxicity Study by the Oral Route (Gavage) in the Rat (Segment II)　**Test Article:** JNJ-42756493

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Vehicle)**	**1 (Low dose)**	**4 (Intermediate dose)**	**8 (High dose)**
Noteworthy Findings (Continued)				
No. of Animals	22	22	22	22
Food Consumption (g/animal/day)[d,e]				
(D18 – 20)	29.74	28.15*	28.16*	27.93*
Gross Pathology	-	-	-	-
Gravid Uterus Weight (g)[d,e]	88.37	0.832**	0.766***	0.442***
No. of Litters Evaluated	22	22	22	16
Mean No. Corpora Lutea of Pregnancy[c]	15.9	14.1*	14.0*	15.0*
Mean No. Implantations[d]	15.3	13.1*	13.1*	14.4*
Mean % Preimplantation Loss	3.75	7.58	6.55	4.11
No. Live Fetuses[d]	319	269**	264**	131***
Mean No. Live Fetuses[d]	14.5	12.2**	12.0**	6.0***
Mean No. Early Resorptions[d]	0.7	0.9	1.0	8.0***
Mean No. Late Resorptions[d]	0	0	0.2	0.5**
Mean No. Total Resorptions[d]	0.8	0.9	1.1	8.5***
No. Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean No. of Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss[c]	5.18	7.03	10.71	58.11***
Mean Fetal Body Weight (g)[c]	4.01	4.02	3.80**	2.90***
Fetal Sex Ratios[g]	46.58	49.01	49.49	51.37
Fetal Anomalies[d]:				
External Anomalies				
Ectrodactyly				
No. Fetuses (%)[i]	0.0	0.0	0.0	7.6
No. Litters (%)	0.0	0.0	0.0	25.0
Visceral Anomalies[h]				
Aortic arch, retroesophageal				
No. Fetuses (%)[i]	0.0	0.0	0.0	11.7
No. Litters (%)	0.0	0.0	0.0	42.9**
Interrupted aortic arch				
No. Fetuses (%)[i]	0.0	0.0	0.0	5.0
No. Litters (%)	0.0	0.0	0.0	21.4
Subclavian artery, retroesophageal				
No. Fetuses (%)[i]	0.0	0.0	0.8	8.3
No. Litters (%)	0.0	0.0	4.5	28.6

(Continued)

2.6.7.13　生殖発生毒性試験 - 胚・胎児発生に関する試験（続き）

Report Title: JNJ-42756493-AAA: Embryo-foetal Toxicity Study by the Oral Route (Gavage) in the Rat (Segment II) **Test Article:** JNJ-42756493

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)	1 (Low dose)	4 (Intermediate dose)	8 (High dose)
Fetal Anomalies[d] (Continued):				
Skeletal Anomalies[h]				
Paw, multiple abnormalities (associated with ectrodactyly noted externally)				
No. Fetuses (%)[i]	0.0	0.0	0.0	9.9
No. Litters (%)	0.0	0.0	0.0	25.0
Thoracic vertebrae, multiple abnormalities				
No. Fetuses (%)[i]	0.0	0.0	0.0	8.5
No. Litters (%)	0.0	0.0	0.0	25.0
Limb, multiple abnormalities (absent or misshapen long bones)				
No. Fetuses (%)[i]	0.6	0.0	0.0	7.0
No. Litters (%)	4.5	0.0	0.0	18.8

[a] Number of positive animals / total number of animals. For the number pregnant, this is the number of pregnant rats / total number of animals alive at the time of c-section.
[b] Number reported as dead or sacrificed moribund does not include animals that aborted (if any).
[c] Statistical analysis method used: Dunnett or Williams test.
[d] Statistical analysis method used: Shirley test or Fisher's exact + Bonferroni.
[e] Finding recorded during the interval shown. Group means are shown.
[f] Corrected mean maternal body weight gain = body weight change (Day 20 minus Day 6) minus the gravid uterus weight.
[g] Expressed as % male fetuses.
[h] Skeletal examinations were conducted in ± 50 % of fetuses. Visceral examinations in the other ± 50 %.
[i] Mean % fetuses affected per litter.

D = Day of presumed pregnancy; LLOQ = Lower Limit of Quantification; NC = not calculated.
[#]: Indicates the day and interval (pregnancy) of dosing.
- No noteworthy findings.
* - $p<0.05$, ** - $p<0.01$, *** - $p<0.001$

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

Not Applicable

2.6.7.15　生殖発生毒性試験 - 新生児を用いた試験

Test Article: JNJ-42756493

Not Applicable

2.6.7.16　局所刺激性試験

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
In Vitro Phototoxicity Study (3T3 NRU Phototoxicity Test)				
Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts N = 6	In Vitro (DMSO)	Experiment A: 0, 3.9, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125, 250, 500, 1000 µg/mL (-UVA/+UVA at 5J/cm^2 for 50 min) Experiment B: 0, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 µg/mL (-UVA) and 0, 0.039, 0.078, 0.156, 0.313, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10 µg/mL (+UVA at 5J/cm^2 for 50 min)	First Experiment: -UV: Concentration-related decrease in viability: IC_{50} = 122.19 µg/mL + UV: Strong decrease in viability at all concentrations: (Estimated) IC_{50} = 0.80 µg/mL PIF value: 152.5 Second Experiment: -UV: Concentration-related decrease in viability: IC_{50} = 152.34 µg/mL + UV: Concentration-related decrease in viability: IC_{50} = 0.52 µg/mL PIF value: 292.07 Conclusion: JNJ-42756493 has an in vitro phototoxic potential under the test conditions of the study	TOX10235/ 4.2.3.6.1
Phototoxicity Study in Pigmented Rat				
Rat/Long Evans (Crl:LE) F: 5/dose group + 3/dose group for TK	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	0, 4, 8 or 16 mg/kg q.d. for 3 days (UVA at 10 ± 1 J/cm^2 for 42 min)	No mortality, clinical observations or body weight changes. No evidence of cutaneous phototoxicity (skin reactions) after a 3-day oral (gavage) administration of JNJ-42756493 at doses as high as 16 mg/kg followed approximately 2 hours after the final administration by a single UVR exposure. Day 3 TK of JNJ-42756493 (mean): 4 mg/kg: C_{max} 2.71 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 10.1 ng·h/mL 8 mg/kg: C_{max} 21.2 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 79.9 ng·h/mL 16 mg/kg: C_{max} 116 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 544 ng·h/mL	TOX10684/ 4.2.3.6.2
Skin Sensitization - Local Lymph Node Assay in the Mouse				
Mouse, CBA/Ca F: 4/concentration level	Topical (dimethylformamide)	25 µL of 0, 2.5, 5, 10% (w/v) concentrations for 3 days	SI: 2.7 (2.5% w/v), 4.1 (5% w/v) and 7.7 (10% w/v) EC3 value: 3.5% w/v Conclusion: JNJ-42756493 is considered to have skin sensitizing potential	TOX10363/ 4.2.3.6.3

(Continued)

2.6.7.16　局所刺激性試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
In Vitro Bovine Corneal Opacity - Permeability (BCOP) Eye Irritation Test				
Isolated Bovine Corneas N = 3	In Vitro (0.9% NaCl)	0, 20% (w/w)	First Experiment: Very severe increase in corneal opacity, no relevant increase in permeability IVIS score = 120.0 ± 22.9 Second Experiment: Very severe increase in corneal opacity, no increase in permeability IVIS score = 109.5 ± 13.1 Moderate/marked corneal changes upon histological examination: - Epithelial changes: minimal/slight desquamation, pale/swollen cytoplasm of the upper part (mainly squamous cells sometimes also wing cells), moderate/marked hypereosinophilia of lower part (basal cells and wing cells), slight coagulation. Epithelial nuclei showed diffuse condensation with pycnosis and cell death of basal cells resulting in loss of adherence between basal cells and cellular debris at epitheliostromal junction. - Stromal changes: minimal/slight stromal swelling with some shrunken/basophilic keratocytes Conclusion: JNJ-42756493 (20% w/w) is classified as a very severe eye irritant	TOX10427/ 4.2.3.6.4
In Vitro Hen's Egg Chorioallantoic Membrane Irritation Test (HET-CAM)				
Fertilized chicken eggs N = 3	In Vitro (0.15 mg eq./mL L-cysteine HCl monohydrate in NaH2PO4.1 aqua par)	JNJ-42756493: 0.02, 0.1 or 0.5 mg eq./mL JNJ-61818549 (C-13 labelled form of JNJ-42756493): 0.1 mg eq./mL	No vascular irritation was observed in the different dosage groups after 60 minutes treatment. A vascular irritation index of 0.0 ± 0.0 was obtained after 60 minutes treatment in all test item formulations. Conclusion: JNJ-42756493 (and JNJ-61818549) did not induce any irritation effects in the HET-CAM when tested under the conditions of the study	TOX10916/ 4.2.3.6.5

DMSO = dimethyl sulfoxide; EC3 = estimated concentration of 3; HP-β-CD = hydroxypropyl-β-cyclodextrin; IVIS = in vitro eye irritancy score; NRU = neutral red uptake; PIF = photo-irritancy factor; SI = stimulation index; TK = toxicokinetics; UV = ultraviolet; UVA = ultraviolet A; UVR = ultraviolet radiation; w/v = weight/volume; w/w = weight/weight

2.6.7.17　その他の毒性試験

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Antigenicity					N/A
Immunotoxicity					N/A
Mechanistic Studies					
Rat/ Sprague-Dawley 3 M/timepoint (vehicle); 3 M (SD): 6 M/timepoint (RD)	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	SD	50	No mortality, clinical observations or post-mortem findings. Clinical Chemistry, Biomarkers and Gene Expression: *4 h after dosing*: ↓ FGF23 (0.64x), ↓ osteopontin (0.77x), ↑ *Cyp27b1* mRNA (4.48x), ↓ *Cyp24a1* mRNA (0.02x). *Day 0:* C_{max} *484 ng/mL;* $AUC_{0\text{-}4h}$ *1351 ng·h/mL*	TOX9636/ 4.2.3.7.3.1
		4 days + 6 days, 2 weeks, 3 weeks recovery	100 q.d.	No mortality or clinical observations; BW loss (slight, day 4), ↓ FC. Clinical Chemistry, Biomarkers and Gene Expression: *4 h after dosing*: ↓ FGF23 (0.69x), ↓ osteopontin (0.67x), ↑ *Cyp27b1* mRNA (5.69x), ↓ *Cyp24a1* mRNA (0.03x). *Day 1*: ↑ P (1.24x), ↑ AST (1.20x), ↑ ALT (1.41x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (3.49x), ↓ osteopontin (0.27x), ↑ *Cyp27b1* mRNA (32.1x), ↓ *Cyp24a1* mRNA (0.17x). *Day 2:* ↑ Ca (1.07x), ↑ P (1.82x), ↑ BUN (1.34x), ↑ creatinine (1.76x), ↑ AST (1.66x), ↑ ALT (1.92x), ↑ ALP (1.62x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (4.59x), ↓ PTH (0.43x), ↑ *Cyp27b1* mRNA (9.59x), ↓ *Cyp24a1* mRNA (0.25x). *Day 3:* ↓ Na (0.97x), ↓ Cl (0.88x), ↓ Alb (0.78x), ↑ Ca (1.02x), ↑ P (2.22x), ↑ K (1.29x), ↑ GGT (2), ↑ BUN (3.85x), ↑ creatinine (3.47x), ↑ AST (2.73x), ↑ ALT (2.68x), ↑ ALP (2.40x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (5.03x), ↑ PTH (1.18x), ↑ osteopontin (1.48x), ↑ *Cyp27b1* mRNA (40.04x), ↓ *Cyp24a1* mRNA (0.24x). Gross Pathology: *Day 3*: dilatation (2/6 rats) or discoloured foci/areas (1/6 rat) in aorta, firm consistency (2/6 rats) or discoloured foci/areas (6/6 rats) in heart, pale discoloration (3/6 rats) in kidney, thickening (1/6 rat) or discoloration (1/6 rat) in GI-tract. Histopathology: *Day 1*: Cartilage dysplasia in stifle (3/6 rats). *Day 2:* Cartilage dysplasia in stifle/sternum (6/6 rats), mineralization (4/6 rats). *Day 3: C*artilage dysplasia in stifle/sternum (6/6 rats), mineralization associated with gross lesions (4/6 rats).	

(Continued)

2.6.7.17　その他の毒性試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Rat/ Sprague-Dawley (Cont'd)			100 q.d. (Cont'd)	Recovery: 8 rats died or were sacrificed between Day 5 and 9 due to mineralization. Surviving rats: piloerection, ↓ general activity, salivation; Increase in BW from Day 10 onwards but no full recovery after 3 weeks. Full recovery of FC after 2 weeks). Full recovery of serum parameters after 3 weeks; Cartilage dysplasia (slight/moderate up to 6 days of recovery, recovery in 4/5 rats after 2/3 weeks) with discolored foci/areas at thoracic vertebrae (up to Day 6 of recovery), Mineralization associated with gross lesions (partial recovery in heart after 2/3 weeks but not in aorta). *Day 0: C_{max} 837 ng/mL; $AUC_{0\text{-}inf}$ 7495 ng·h/mL;* *Day 1: C_{max} 1184 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 8161 ng·h/mL;* *Day 2: C_{max} 3683 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 54961 ng·h/mL;* *Day 3: C_{max} 14385 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 229999 ng·h/mL*	TOX9636/ 4.2.3.7.3.1 (Cont'd)
Rat/ Sprague-Dawley 6 M (RD) 3 M (TK)	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	2 weeks	50 q.d. standard diet	2 rats died (Day 10/11) due to cardiac or gastric mineralization; Piloerection, hemorrhagic/dark/soft feces, small amount of feces, excessive salivation and emaciation were seen prior to dead and in terminally killed rats; ↓ BWG (2% versus Day 0). Biomarkers: *Day 2:* ↑ FGF23 (6.75x), ↑ osteopontin (2.73x), ↑ P (1.43x), ↑ Ca (1.08x), ↑ Urine P/creatinine (6.12x), ↑ Urine Ca/creatinine (7.08x). *Day 3:* ↑ FGF23 (8.21x), ↑ osteopontin (1.30x), ↑ P (1.45x), ↑ Ca (1.10x), ↑ Urine P/creatinine (5.71x), ↑ Urine Ca/creatinine (5.12x). *Day 8:* ↑ FGF23[a], ↑ $1,25(OH)_2D_3$[a], ↑ P[a], ↑ Urine P/creatinine (7.53x), ↑ Urine Ca/creatinine (1.85x). *Day 14*[b]: ↑ FGF23 (4.30x), ↑ P (1.43x), ↑ Ca (1.08x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (2.30x), ↓ PTH (0.29x), ↑ Urine Ca/creatinine (3.82x), ↑ *Cyp24a1* mRNA (5.09x). Gross Pathology: Mineralization in a range of organs (heart, kidney, gut, pancreas and aorta); bone abnormalities in sternum, accessory sex gland atrophy, abnormal gastrointestinal contents and small spleens. Histopathology: Mineralization and/or arteritis in multiple organs, chondroid dysplasia in sternum, stifle and thoracic vertebrae, atrophy of accessory sex glands, and lymphoid in spleen and thymus. *Day 13: C_{max} 2787 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 18119 ng·h/mL*	TOX10177/ 4.2.3.7.3.2

(Continued)

2.6.7.17　その他の毒性試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Rat/ Sprague-Dawley (Cont'd)			50 q.d. low phosphate (0.22%) diet	3 rats died (Day 11-14) due to cardiac or gastric mineralization; Piloerection, hemorrhagic/dark/soft feces, small amount of feces, excessive salivation, emaciation were seen prior to dead and in terminally killed rats. Clinical observations were slightly more frequent than with the standard or vitamin D_3 deficient diet. ↓ FC and BW loss (16% versus Day 0). Biomarkers: *Day 2:* ↑ FGF23 (7.65x), ↑ osteopontin (3.93x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (2.03x), ↑ P (1.48x), ↑ Ca (1.12x), ↑ Urine P/creatinine (6.00x), ↑ Urine Ca/creatinine (27.3x). *Day 3:* ↑ FGF23 (8.98x), ↑ osteopontin (1.33x), ↑ P (1.50x), ↑ Ca (1.11x), ↑ Urine P/creatinine (2.50x), ↑ Urine Ca/creatinine (7.33x). *Day 8:* ↑ FGF23[a], ↑ $1,25(OH)_2D_3$[a], ↑ P[a], ↑ Urine P/creatinine (1.08x). *Day 14*[b]*:* ↑ FGF23 (6.37x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (2.87x); ↑ P (1.58x), ↑ Urine P/creatinine (2.02x), ↑ Urine Ca/creatinine (1.87x), ↑ *Cyp27b1* mRNA (2.76x), ↑ *Cyp24a1* mRNA (2.19x). Organ Weight: ↑ adrenal weight, ↓ spleen weight, ↓ thymus weight. Gross Pathology: Mineralization in a range of organs (heart, kidney, gut, pancreas and aorta); bone abnormalities in sternum, accessory sex gland atrophy, abnormal gastrointestinal contents and small spleens (more frequently observed compared to the 50 q.d. standard diet group). Histopathology: Mineralization and/or arteritis in multiple organs and more severe in heart, gastro-intestinal tract and kidney, chondroid dysplasia in sternum, stifle and thoracic vertebrae, atrophy of accessory sex glands, and lymphoid in spleen and thymus. *Day 13: C_{max} 2320 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 16878 ng·h/mL*	TOX10177/ 4.2.3.7.3.2 (Cont'd)

(Continued)

2.6.7.17　その他の毒性試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Rat/ Sprague-Dawley (Cont'd)			50 q.d. vitamin D_3 deficient diet	3 rats died (Day 6-9) due to cardiac or gastric mineralization; Piloerection, hemorrhagic/dark/soft feces, small amount of feces, excessive salivation, emaciation were seen prior to dead and in terminally killed rats. ↓ FC and BW loss (13% versus Day 0). Biomarkers: *Day 2:* ↑ FGF23 (6.42x), ↑ osteopontin (2.61x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (2.10x), ↑ P (1.43x), ↑ Ca (1.09x), ↑ Urine P/creatinine (9.29x), ↑ urine Ca/creatinine (7.11x). *Day 3:* ↑ FGF23 (6.71x), ↑ osteopontin (1.20x), ↑ P (1.52x), ↑ Ca (1.10x), ↑ Urine P/creatinine (7.62x), ↑ urine Ca/creatinine (5.81x). *Day 8:* ↑ FGF23[a], ↓ osteopontin[a] , ↑ $1,25(OH)_2D_3$[a], ↑ P[a], ↑ Urine P/creatinine (25.1x). *Day 14*[b]*:* ↑ FGF23 (2.19x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (2.00x); ↑ P (1.43x), ↑ Urine P/creatinine (1.90x), ↑ Urine Ca/creatinine (1.41x), ↑ *Cyp27b1* mRNA (12.25x), ↓ *Cyp24a1* mRNA (0.63x). Organ Weight: ↑ adrenal weight, ↓ spleen weight, ↓ thymus weight. Gross Pathology: Mineralization in a range of organs (heart, kidney, gut, pancreas and aorta); bone abnormalities in sternum, accessory sex gland atrophy, abnormal gastrointestinal contents and small spleens (more frequently observed compared to the 50 q.d. standard diet group). Histopathology: Mineralization and/or arteritis in multiple organs and more severe in heart, gastro-intestinal tract and kidney, chondroid dysplasia in sternum, stifle and thoracic vertebrae, atrophy of accessory sex glands, and lymphoid in spleen and thymus. *Day 13: C_{max} 4310 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 40329 ng·h/mL (n = 1)*	TOX10177/ 4.2.3.7.3.2 (Cont'd)

(Continued)

2.6.7.17　その他の毒性試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	**Route (Vehicle/Formulation)**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg)**	**Noteworthy Findings**	**Study No./ Location in CTD**
Rat/ Sprague-Dawley 6 M (RD) 3 M (TK)	Oral gavage (20% w/v HP-β-CD)	2 weeks	30 q.d. low phosphate (0.22%) diet	2 rats died (Day 9/15) due to cardiac vascular mineralization or mineralization/necrosis after showing a rough haircoat, piloerection or decreased general activity; Piloerection, rough haircoat, slightly decreased general activity, chromodacryorrhea, slight ataxia and pale feces (probably related to diet) were seen in terminally killed rats. ↓ BW (0.84x), ↓ FC (0.36x). Clinical Chemistry: *Day 15*[b]: ↑ BUN (1.28x), ↑ creatinine (1.25x), ↑ ALP (1.57x), ↑ AST (1.93x), ↑ ALT (1.62x), ↑ total bilirubin (1.5x), ↑ glucose (1.34x). Biomarkers: *Day 2:* ↑ FGF23 (4.13x), ↑ osteopontin (2.12x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (1.93x), ↑ P (1.34x), ↑ Ca (1.13x), ↑ Urine P/creatinine (2.0x), ↑ urine Ca/creatinine (15.9x). *Day 3:* ↑ FGF23 (3.52x), ↑ osteopontin (1.23x), ↑ P (1.15x), ↑ Ca (1.09x), ↑ Urine Ca/creatinine (12.2x). *Day 8:* ↑ FGF23[a], ↑ osteopontin[a], ↑ P[a], ↑ Ca[a], ↑ Urine P/creatinine (7.71x), ↑ Urine Ca/creatinine (7.48x). *Day 15*[b]*:* ↑ FGF23 (4.24x), ↑ osteopontin (2.45x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (1.76x), ↑ P (1.46x), ↑ Ca (1.03x), ↑ Urine P/creatinine[c], ↑ Urine Ca/creatinine (7.6x), ↓ PTH (0.49x). Gross Pathology: sternal, stifle bone (femur and tibia) and vertebral bone abnormalities, mineralization in a range of organs (kidney, gut and aorta). Histopathology: mineralization with or without vascular inflammation in a range of tissues (heart, kidney, gut, mesenteric arteries, lung and aorta) and chondroid dysplasia in the sternum, stifle and thoracic vertebrae (spinal cord) and mammary gland atrophy; the lesions in the heart, blood vessels, gastrointestinal tract and kidney were more severe and more frequent in this group than in the other groups. *Day 13: C_{max} 382 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 2190 ng·h/mL (n = 2)*	TOX10178/ 4.2.3.7.3.3

(Continued)

2.6.7.17　その他の毒性試験（続き）

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Rat/ Sprague-Dawley (Cont'd)			30 q.d. phosphate-scavenger (3% sevelamer) diet	1 rat was sacrificed on Day 14 (cause of death was not determined); Slight ataxia or slight salivation was seen in the terminally killed rats. ↓ BW (0.90x), ↓ FC (0.83x). Clinical Chemistry: *Day 15*[b]*:* ↑ BUN (1.25x), ↑ ALP (1.70x); ↑ AST (1.75x), ↑ ALT (2.55x), ↓ albumin (0.88x). Biomarkers: *Day 2:* ↑ FGF23 (2.87x), ↑ osteopontin (2.58x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (1.33x), ↑ P (1.14x), ↑ Ca (1.12x), ↑ Urine Ca/creatinine (27.7x). *Day 3:* ↑ FGF23 (2.80x), ↑ osteopontin (1.54x), ↑ Ca (1.07x), ↑ Urine Ca/creatinine (19.6x). *Day 8:* ↑ FGF23[a], ↑ osteopontin[a], ↑ P[a], ↑ Ca[a], ↑ Urine P/creatinine (x2.14), ↑ Urine Ca/creatinine (10.5x). *Day 15*[b]*:* ↑ FGF23 (4.34x), ↑ osteopontin (1.44x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (1.19x), ↑ P (1.40x), ↑ Ca (1.04x), ↑ Urine P/creatinine[c], ↑ Urine Ca/creatinine (10.0x), ↓ PTH (0.46x). Gross Pathology: sternal, stifle bone (femur and tibia) and vertebral bone abnormalities, mineralization or vascular lesions in a range of organs (heart and gut). Histopathology: mineralization with or without vascular inflammation in a range of tissues (kidney, gut, mesenteric arteries and aorta) and chondroid dysplasia in the sternum, stifle and thoracic vertebrae (spinal cord) and mammary gland atrophy; Lesions in blood vessels, gastrointestinal tract and kidney showed a slightly lower incidence and/or severity than in the 50 mg/kg phosphate-scavenger group. *Day 13: C_{max} 1019 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 8451 ng·h/mL (n = 2)*	TOX10178/ 4.2.3.7.3.3 (Cont'd)

(Continued)

Test Article: JNJ-42756493

Species/Strain Sex/No. Per Group	Route (Vehicle/Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study No./ Location in CTD
Rat/ Sprague-Dawley (Cont'd)			50 q.d. phosphate-scavenger (3% sevelamer) diet (Cont'd)	1 rat was found dead on Day 11 without preceding clinical observations and cardiac vascular mineralization or mineralization/necrosis was considered the cause of death; Piloerection or slight deformation of sternum were seen in 1 rat. ↓ BW (0.88x), ↓ FC (0.83x). Clinical Chemistry: *Day 15*[b]*:* ↑ BUN (1.28x), ↑ ALP (1.46x); ↑ AST (1.62x), ↑ ALT (2.21x), ↑ glucose (1.23x), ↓ albumin (0.90x). Biomarkers: *Day 2:* ↑ FGF23 (2.79x), ↑ osteopontin (2.39x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (1.69x), ↑ P (1.17x), ↑ Ca (1.17x), ↑ Urine Ca/creatinine (32.4x). *Day 3:* ↑ FGF23 (2.94x), ↑ osteopontin (1.72x), ↑ P (1.19x), ↑ Ca (1.12x), ↑ Urine Ca/creatinine (22.9x). *Day 8:* ↑ FGF23[a], ↑ osteopontin[a], ↑ P[a], ↑ Ca[a], ↑ Urine P/creatinine (3.43x), ↑ Urine Ca/creatinine (8.8x). *Day 15*[b]*:* ↑ FGF23 (2.97x), ↑ $1,25(OH)_2D_3$ (1.33x), ↑ P (1.45x), ↑ Ca (1.04x), ↑ Urine P/creatinine[c], ↑ Urine Ca/creatinine (13.9x), ↓ PTH (0.32x). Gross Pathology: sternal, stifle bone (femur and tibia) and vertebral bone abnormalities, mineralization in a range of organs (kidney, gut and aorta). Histopathology: mineralization with or without vascular inflammation in a range of tissues (heart, kidney, gut, mesenteric arteries and aorta) and chondroid dysplasia in the sternum, stifle and thoracic vertebrae (spinal cord) and mammary gland atrophy. *Day 13: C_{max} 1341 ng/mL; $AUC_{0\text{-}24h}$ 8787 ng·h/mL*	TOX10178/ 4.2.3.7.3.3 (Cont'd)
Dependence					N/A
Studies on Metabolites					N/A

[a] Fold-change versus vehicle could not be calculated in absence of concomitant data from vehicle rats
[b] TOX animals
[c] No fold change versus vehicle was calculated as high values were measured in the vehicle group

↑ = increase; ↓ = decrease; ALP = alkaline phosphatase; ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; BUN = blood urea nitrogen; BW = body weight; BWG = body weight gain; Ca = calcium; FC = food consumption; FGF23 = fibroblast growth factor-23; HP-β-CD = hydroxypropyl-ß-cyclodextrin; M = male; mRNA = messenger ribonucleic acid; N/A = not applicable; P = phosphate; PTH = parathyroid hormone; q.d. = daily; $1,25(OH)_2D_3$ = 1,25 $(OH)_2$ vitamin D_3; RD = repeated dose; SD = single dose; TK = toxicokinetics