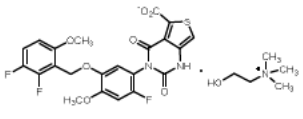
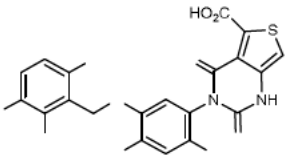
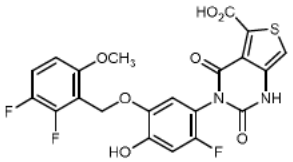
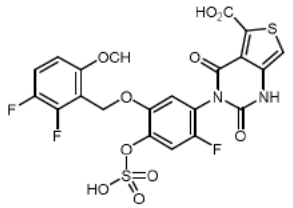
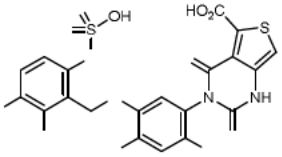
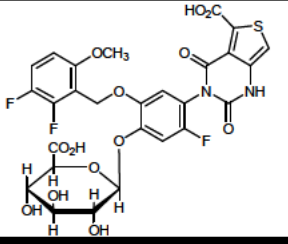
目次

2.6.6 毒性試験の概要文 6
2.6.6.1 まとめ 6
2.6.6.2 単回投与毒性試験 10
2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 10
2.6.6.3.1 ラット 4 週間反復経口投与試験 10
2.6.6.3.2 イヌ 2 週間反復経口投与試験 11
2.6.6.3.3 ラット 4 週間反復経口投与試験及び 4 週間回復試験 12
2.6.6.3.4 ラット 13 週間反復経口投与試験 13
2.6.6.3.5 ラット 26 週間反復経口投与試験及び 10 週間回復試験 15
2.6.6.3.6 サル 4 週間反復経口投与試験及び 4 週間回復試験 16
2.6.6.3.7 サル 13 週間反復経口投与試験 17
2.6.6.3.8 サル 39 週間反復経口投与試験及び 20 週間回復試験 18
2.6.6.3.9 マウス 13 週間反復経口投与試験 19
2.6.6.3.10 イヌ 4 週間反復経口投与試験及び 4 週間回復試験 20
2.6.6.4 遺伝毒性試験 21
2.6.6.4.1 *In vitro* 試験 21
2.6.6.4.1.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 21
2.6.6.4.1.2 チャイニーズ・ハムスターの培養細胞（CHL/IU 細胞）を用いる染色体異常試験 21
2.6.6.4.2 *In vivo* 試験 22
2.6.6.4.2.1 ラットを用いる肝・不定期 DNA 合成試験 22
2.6.6.4.2.2 ラットを用いる小核試験 22
2.6.6.5 がん原性試験 23
2.6.6.5.1 ラット 104 週間反復経口投与がん原性試験 23
2.6.6.5.2 Non-Tg-rasH2 マウス 4 週間反復経口投与用量設定試験 25
2.6.6.5.3 Tg-rasH2 マウス 26 週間反復経口投与がん原性試験 26
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 26
2.6.6.6.1 雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（妊娠前投与）の用量設定試験 27
2.6.6.6.2 雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（妊娠初期投与）の用量設定試験 28
2.6.6.6.3 ラット胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験 28
2.6.6.6.4 ウサギ胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験 28
2.6.6.6.5 ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験の用量設定試験（1） 29
2.6.6.6.6 ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験の用量設定試験（2） 29

2.6.6.6.7 雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（妊娠前投与） 29
2.6.6.6.8 雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（妊娠初期投与） 30
2.6.6.6.9 ラット胚・胎児発生に関する試験 31
2.6.6.6.10 ウサギ胚・胎児発生に関する試験 31
2.6.6.6.11 ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 32
2.6.6.7 新生児を用いた試験 32
2.6.6.8 局所刺激性試験 32
2.6.6.9 その他の毒性試験 33
2.6.6.9.1 光毒性試験 33
2.6.6.9.1.1 Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞株を用いた *in vitro* 光毒性試験 33
2.6.6.9.1.2 有色ラットを用いた単回投与光毒性試験 33
2.6.6.9.2 毒性発現の機序に関する試験 34
2.6.6.9.2.1 イヌ及びサルにおける 1 週間反復経口投与薬物動態試験 35
2.6.6.9.2.2 マウスにおける 1 週間反復経口投与薬物動態試験 35
2.6.6.9.2.3 ヒト胆汁中の KLH-2109 の飽和溶解度 36
2.6.6.9.2.4 イヌ及びマウス胆汁中の KLH-2109 及び代謝物の飽和溶解度 36
2.6.6.9.2.5 性成熟及び加齢雌ラットを用いた単回経口投与後の視床下部におけるドパミン濃度の測定 37
2.6.6.9.2.6 性成熟雌ラットへの単回経口投与による性ホルモンへの影響 38
2.6.6.9.2.7 性成熟雌ラットへの 2 週間反復経口投与による性ホルモン及び性周期への影響 39
2.6.6.9.2.8 加齢雌ラットへの 2 週間反復経口投与による性ホルモン及び性周期への影響 39
2.6.6.9.3 不純物の毒性試験 40
2.6.6.9.3.1 潜在的不純物に関する細菌を用いる復帰突然変異試験 40
2.6.6.10 考察及び結論 41
2.6.6.11 図表 47
2.6.6.12 参考文献 48

化合物一覧

略号・一般名	化学名	構造式	由来
KLH-2109 コリン塩	2-Hydroxy-*N*,*N*,*N*-trimethylethanaminium 3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-methoxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylate		原薬
KLH-2109	3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-methoxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		原薬のフリー体
KP017	3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-hydroxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP047	3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-(sulfooxy)phenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP048	3-(5-{[2,3-difluoro-6-(sulfooxy)phenyl]methoxy}-2-fluoro-4-methoxyphenyl)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP050	4-(5-carboxy-2,4-dioxo-1,2-dihydrothieno[3,4-*d*]pyrimidin-3(4*H*)-yl)-2-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-5-fluorophenyl β-D-glucopyranosiduronic acid		代謝物
不純物A＊	[redacted]	[redacted]	潜在的不純物
不純物D＊	[redacted]	[redacted]	潜在的不純物
不純物B＊	[redacted]	[redacted]	潜在的不純物
不純物E＊	[redacted]	[redacted]	潜在的不純物

＊新薬承認情報提供時に置き換え

略号・一般名	化学名	構造式	由来
不純物C＊	[redacted]	[redacted]	潜在的不純物
不純物F＊	[redacted]	[redacted]	潜在的不純物

＊新薬承認情報提供時に置き換え

略号一覧

略号	略していない表現	内容
ALT	Alanine transaminase	アラニントランスアミナーゼ
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
AUC	Area under the curve	濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24}$	Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours	0～24 時間までの濃度－時間曲線下面積
AUC_{τ}	Area under the concentration-time over a dosing interval	投与間隔における濃度－時間曲線下面積
C_{max}	Maximum (maximal) concentration	最大（最高）濃度
CHL/IU	Chinese Hamster Lung Cell/IU	チャイニーズ・ハムスター肺由来線維芽細胞
E2	Estradiol	エスラジオール
E/P 比	Estradiol-Progesterone ratio	エストラジオール-プロゲステロン比
GLDH	Glutamate dehydrogenase	グルタミン酸脱水素酵素
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GnRH	Gonadotropin releasing hormone	性腺刺激ホルモン放出ホルモン
HPLC	High-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフ法
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
ICR	Institute of Cancer Research	−
LE	Long Evans	−
NZW	New Zealand White	−
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
P4	Progesterone	プロゲステロン
PRL	Prolactin	プロラクチン
SD	Sprague-Dawley	−
Tg-rasH2 マウス	Hemizygous transgenic mouse carrying human c-Ha-ras oncogene	ヒト型 c-Ha-ras 遺伝子導入マウス
TK	Toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
T_{max}	Time to maximum (maximal) concentration	最大（最高）濃度到達時間
UDS	Unscheduled DNA synthesis	不定期 DNA 合成
UVA	Ultraviolet A	紫外線 A 波
UVB	Ultraviolet B	紫外線 B 波
UVR	Ultraviolet rays	紫外線

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

KLH-2109 コリン塩の毒性は、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験及び光毒性試験により評価した。加えて、イヌ 4 週間反復投与試験及びマウス 13 週間反復投与試験で認められた胆嚢内の異常内容物並びにラット 104 週間反復投与がん原性試験で認められた子宮内膜腺癌の発現頻度の増加について、*ex vivo* 又は *in vivo* の発現機序に関する試験を実施した。すべての *in vivo* 毒性試験において、KLH-2109 コリン塩は 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して経口投与した。投与量又は濃度はすべて、フリー体（KLH-2109）換算値で示した。

単回投与毒性試験は、ラット、サル及びイヌを用いて経口投与により実施した。ラット及びサルを用いた単回投与毒性試験は GLP 適用試験として実施した。

反復投与毒性試験は、ラット、サル、マウス及びイヌを用いて経口投与により実施した。KLH-2109 コリン塩の亜急性及び慢性毒性を評価するため、GLP 適用の 4～39 週間反復投与試験をラット、サル、マウス及びイヌを用いて実施した。また、GLP 非適用の試験として、SD 系ラットと Wistar 系ラットにおける毒性発現の同等性を確認するための 4 週間反復投与試験、及びイヌの 4 週間反復投与試験の用量設定を目的とした 2 週間反復投与試験を実施した。

反復投与毒性試験において認められた所見は、生殖器系臓器・組織の萎縮に特徴付けられる本薬の GnRH 受容体アンタゴニストとしての薬理作用に基づくものであり、回復性が確認された。マウス 13 週間反復投与試験における 1500 mg/kg/日での死亡を除いて、重篤な毒性は認められなかった。

反復投与毒性試験では、雌ラットにおいて、1000 mg/kg/日以上で体重増加及び甲状腺ホルモンの合成低下を示唆する甲状腺濾胞の拡張が、1500 mg/kg/日以上で腎臓尿細管障害が、2000 mg/kg/日で赤血球パラメータの低値が認められた。雌サルにおいては、100 mg/kg/日以上で血清肝逸脱酵素の上昇が、1000 mg/kg/日で体重減少及び肝重量の高値が認められた。雌イヌにおいては、100 mg/kg/日以上で体重増加抑制が、1000 mg/kg/日で血清肝逸脱酵素の上昇、肝臓肥大及び胆嚢内の暗色顆粒が認められた。雌マウスにおいては、750 mg/kg/日以上で体重増加、胆嚢内胆砂及び腎尿細管障害が認められた。これらのすべての所見について無毒性量が得られている。

イヌ 4 週間反復投与試験における胆嚢内の暗色顆粒及びマウス 13 週間反復投与試験における胆嚢内の胆砂に関しては、発現機序に関する試験を実施した。その結果、これら所見の発現機序は胆汁中の KLH-2109 濃度が胆汁中の溶解度を超え析出したことに起因するものと推察された。

遺伝毒性試験では、*in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施し、点変異、染色体損傷、ラット骨髄細胞における小核及びラット肝臓における DNA 損傷を調べることにより、本薬の変異原性及び染色体異常誘発性を評価した。すべての遺伝毒性試験は GLP 適用試験として実施した。KLH-2109 コリン塩のがん原性は、ラット 104 週間反復投与試験及び Tg-rasH2 マウス 26 週間反復投与試験により評価した。いずれも、GLP 適用試験として実施した。

KLH-2109 コリン塩は *in vitro* 染色体異常試験を除く遺伝毒性試験において陰性であった。*In vitro* 染色体異常試験では、最高用量で陽性であった。しかしながら、著明な細胞増殖抑制が

認められた濃度のみで認められた変化であること、また、*in vivo* 試験であるラット小核試験及びラット UDS 試験ではいずれも陰性であったことから、*in vitro* 染色体異常試験での陽性結果は、毒性学的意義はないものと判断された。KLH-2109 コリン塩はがん原性を示さず、生存率にも影響を及ぼさなかった。Wistar 系ラットにおける子宮内膜腺癌及び乳腺腺癌の発生頻度のわずかな増加に関しては、前癌病変が認められないことから投与に関連した所見とは判断されなかった。マウスにおける卵巣及び子宮の非腫瘍性病理組織所見、並びにラットにおける卵巣及び雌乳腺の非腫瘍性病理組織所見は本薬の薬理作用に関連するものと推察された。

Wistar 系ラットにおける子宮内膜腺癌及び乳腺腺癌の発生頻度の増加について、発現機序に関する試験を実施した結果、不規則な性周期を示す加齢雌 Wistar 系ラットの視床下部においてドパミンの軽度高値が認められた。性成熟及び加齢雌 Wistar 系ラットにおける血中のプロラクチン、エストラジオール及びプロゲステロンを測定した結果、プロラクチンの意義ある高値は認められず、本薬の主薬理作用に基づくエストラジオール及びプロゲステロンの低値が認められた。

生殖発生毒性は、ラットを用いた受胎能及び初期胚発生試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生試験、並びにラットを用いた出生前及び出生後発生試験により評価した。妊娠前に投与した受胎能及び初期胚発生試験では、本薬の薬理作用からの回復性も評価した。生殖発生毒性試験は GLP 適用試験として実施した。KLH-2109 コリン塩は GnRH 受容体アンタゴニストとして受胎能へ影響を及ぼしたが、回復性が確認された。KLH-2109 コリン塩を妊娠初期の雌ラットへ投与した結果、1000 mg/kg/日で受胎産物の小型化が認められた。ラット及びウサギ胚・胎児発生試験では、催奇形性は認められなかった。しかしながら、高用量では全胚死亡及び不妊が認められた。新生児の出生後の発生への影響はいずれの用量でも認められなかった。

KLH-2109 コリン塩の光毒性は GLP 適用の *in vitro* 及び *in vivo* 試験により評価し、*in vivo* 試験では陰性であった。

KLH-2109 コリン塩の毒性試験概要を表 2.6.6.1-1 に要約する。

表 2.6.6.1-1　　毒性試験概要

Type of Study	Test System	Route of Administration	Duration of Dosing	Study No.
Single-Dose Toxicity				
	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	Single dosing	11070
	Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	Single dosing	[redacted]
	Dog/Beagle	Oral (gavage)	Single dosing	[redacted]
Repeat-Dose Toxicity - Non pivotal				
	Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Daily for 4 weeks	51210
	Dog/Beagle	Oral (gavage)	Daily for 2 weeks	[redacted]
Repeat-Dose Toxicity - Pivotal				
	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	Daily for 4 weeks	11076
	Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Daily for 13 weeks	11090
	Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Daily for 26 weeks	11093
	Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	Daily for 4 weeks	[redacted]
	Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	Daily for 13 weeks	[redacted]
	Monley/Cynomolgus	Oral (gavage)	Daily for 39 weeks	[redacted]
	Mouse/Crl:CD-1(ICR)	Oral (gavage)	Daily for 13 weeks	[redacted]
	Dog/Beagle	Oral (gavage)	Daily for 4 weeks	[redacted]
Genotoxicity				
Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	11077
Chromosomal aberration test	CHL/IU cells	*In vitro*	n/a	11078

Type of Study	Test System	Route of Administration	Duration of Dosing	Study No.
In vivo unscheduled DNA synthesis assay in rat hepatocytes	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	Single dose	[redacted]
Micronucleus test	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	Single dose	11079
Carcinogenicity				
	Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Daily for 104 weeks	[redacted]
Dose-range finding	Mouse/Non-Tg-rasH2	Oral (gavage)	Daily for 4 weeks	[redacted]
	Mouse/Tg-rasH2	Oral (gavage)	Daily for 26 weeks	
Reproduction and Development Toxicity - Non pivotal				
Female fertility and early embryonic development (dose-range finding)	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	4 weeks before mating	51171
Female fertility and early embryonic development (dose-range finding)	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 0 to GD 7	51172
Embryo-fetal development (dose-range finding)	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 6 to GD 17	51173
Embryo-fetal development (dose-range finding)	Rabbit/NZW	Oral (gavage)	From GD 6 to GD 18	51183
Pre- and postnatal development (dose-range finding)	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 6 to LD 20	51215
Pre- and postnatal development (dose-range finding)	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 6 to LD 20	52007
Reproduction and Development Toxicity - Pivotal				
Female fertility and early embryonic development	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	4 weeks before mating	11071
Female fertility and early embryonic development	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 0 to GD 7	11072
Embryo-fetal development	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 6 to GD 17	11073
Embryo-fetal development	Rabbit/NZW	Oral (gavage)	From GD 6 to GD 18	11074
Pre- and postnatal development	Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 6 to LD 20	[redacted]
Studies in Juvenile Animals				
Not applicable				
Local Tolerance				
Not applicable				
Other Toxicity Studies				
Phototoxicity				
	Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts	*In vitro*	n/a	[redacted]
	Rat/Crl:LE	Oral (gavage)	Single dose	[redacted]
Mechanistic studies				
Pharmacokinetic study after 1-week oral administration	Dog/Beagle Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	Daily for 1 week	[redacted]
Pharmacokinetic study after 1-week oral administration	Mouse/Crl:CD-1(ICR)	Oral (gavage)	Daily for 1 week	52167
Saturated solubility of KLH-2109 in human bile	Human bile	*Ex vivo*	n/a	32061
Saturated solubility of KLH-2109 and its metabolites in dog and mouse bile	Dog and mouse bile	*Ex vivo*	n/a	52166
Measurement of dopamine levels at hypothalamus after single dose in sexually mature and aged female rats	Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Single dose	KLH-21027
Effects on sexual hormones in sexually mature female rats after single oral administration	Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Single dose	52257
Effects on sexual hormones and estrous cycle in sexually mature female rats after 2-week repeated oral administration	Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Daily for 2 weeks	52258

Type of Study	Test System	Route of Administration	Duration of Dosing	Study No.
Effects on sexual hormones and estrous cycle in aged female rats after 2-week repeated oral administration	Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Daily for 2 weeks	52262
Studies on impurities				
不純物F＊ Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	11094
KLH-2109: Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	11100
不純物B＊: Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	11102
不純物D＊: Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	11106
不純物E＊: Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	11109
不純物A＊: Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	11111
不純物C＊: Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	12012

n/a：該当なし、GD：妊娠日齢、LD：哺育日齢

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.2 単回投与毒性試験

KLH-2109 コリン塩をラット、サル及びイヌに単回経口投与し、急性毒性を評価した。ラット及びサルの単回投与毒性試験は GLP 適用試験として実施した。

単回投与毒性試験の概要と概略の致死量を表 2.6.6.2-1 に示す。

表 2.6.6.2-1　　単回投与毒性試験概要

Species/strain	Route	Observation period	Dose (mg/kg)	Animals / group	Noteworthy observations	Approximate lethal dose (mg/kg)	Study No.
Rat/Crl:CD(SD)	Oral	15 days	1000, 2000	5 M + 5 F	–	>2000	11070
Monkey/Cynomolgus	Oral	14 days	1000, 2000	2 F	–	>2000	[redacted]
Dog/Beagle	Oral	2 days	10, 100, 1000	2 F	–	>1000	[redacted]

M：雄、F：雌、–：特記所見なし

2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

KLH-2109 コリン塩の亜急性毒性及び慢性毒性について、ラット、サル、マウス及びイヌを用いた反復経口投与毒性試験により評価した。GLP 非適用の試験として、SD 系ラットと Wistar 系ラットにおける毒性発現の同等性を確認する 4 週間反復投与試験、及びイヌの 4 週間反復投与試験の用量設定を目的とした 2 週間反復投与試験を実施した。GLP 適用試験として、ラット、サル、マウス及びイヌを用いた 4～39 週間反復投与試験を実施した。

反復投与毒性試験の概要及び無毒性量を表 2.6.6.3-1 に示す。

表 2.6.6.3-1　　反復投与毒性試験概要

Species/strain	Route of administration	Duration of dosing /recovery period	Dose (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)	Study No.
Non-pivotal studies					
Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Daily for 4 weeks	0, 20, 200, 2000	200	51210
Dog/Beagle	Oral (gavage)	Daily for 2 weeks	0, 10, 100, 1000	not established	[redacted]
Pivotal studies					
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	Daily for 4 weeks / 4 weeks	0, 20, 200, 2000	200	11076
Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Daily for 13 weeks	0, 50, 150, 500, 1500	M: 150 F: 500	11090
Rat/RccHan:WIST	Oral (gavage)	Daily for 26 weeks / 10 weeks	0, 50, 200, 1000	M: 50 F: 200	11093
Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	Daily for 4 weeks / 4 weeks	0, 10, 100, 1000	100	[redacted]
Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	Daily for 13 weeks	0, 10, 100, 1000	10	[redacted]
Monkey/Cynomolgus	Oral (gavage)	Daily for 39 weeks / 20 weeks	0, 10, 100, 1000	10	[redacted]
Mouse/Crl:CD-1(ICR)	Oral (gavage)	Daily for 13 weeks	0, 40, 750, 1500	40	[redacted]
Dog/Beagle	Oral (gavage)	Daily for 4 weeks / 4 weeks	0, 10, 100, 1000	100	[redacted]

NOAEL：無毒性量、M：雄、F：雌

2.6.6.3.1 ラット 4 週間反復経口投与試験

添付資料 4.2.3.2.2

本試験は、4 週間反復投与試験で用いた SD 系ラットと 13 及び 26 週間反復投与試験で用いた Wistar 系ラットにおける毒性発現の同等性を確認する目的で実施した。

KLH-2109 コリン塩の 20、200 及び 2000 mg/kg/日を Wistar 系ラットに 4 週間反復経口投与し、SD 系ラット 4 週間反復経口投与試験（試験番号 11076 – 2.6.6.3.3）の毒性プロファイルと比較

した（2.6.7.6）。

2000 mg/kg/日の雄及び 200 mg/kg/日以上の雌で本薬の主薬理作用の発現を示唆する生殖器の萎縮が、2000 mg/kg/日の雄でストレス関連所見を伴う体重増加量の低値が、2000 mg/kg/日の雌で体重の高値が、2000 mg/kg/日の雌雄で赤血球数の低値及び腎尿細管壊死が認められた。これら Wistar 系ラットにおける所見は SD 系ラットにおける所見と類似していた。

表 2.6.6.3.1-1　　ラット 4 週間反復経口投与試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Day 1	20	M	71100	2	953000	136	2	2380
		F	60300	2	841000	103	2	1300
	200	M	207000	0.5	2730000	2340	2	15300
		F	257000	2	3620000	1640	2	13100
	2000	M	347000	2	6410000	6220	6	90300
		F	428000	2	6260000	3620	2	48600
Week 4	20	M	69600	0.5	778000	135	2	1960
		F	81000	0.5	809000	97.3	4	1320
	200	M	158000	0.5	2740000	931	2	12300
		F	225000	0.5	3650000	572	6	9600
	2000	M	383000	2	7500000	2090	4	32800
		F	319000	0.5	6280000	1490	6	22200

M：雄、F：雌、各時点の平均血漿中濃度より算出

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩の初回投与及び 4 週間反復投与後に KLH-2109 及び KP017 の曝露が確認され、T_{max} は、それぞれ 0.5～2 時間及び 2～6 時間であった。KLH-2109 及び KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は投与量の増加に伴って増加した。KP017 の曝露量は KLH-2109 の曝露量に比して少なく、KP017 の AUC_{0-24} は KLH-2109 との比較で 0.2%～1.4%であった。KLH-2109 の TK パラメータに性差は認められなかったが、KP017 の AUC_{0-24} は雄で高い傾向が認められた。反復投与による明らかな影響は認められなかった（表 2.6.6.3.1-1）。

以上、Wistar 系ラットにおける所見は SD 系ラットにおける所見と類似しており、Wistar 系ラットにおける無毒性量は、SD 系ラットの無毒性量と同等の 200 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.2 イヌ 2 週間反復経口投与試験

添付資料 4.2.3.2.9

本試験は、イヌ 4 週間反復経口投与試験の用量設定を目的として実施した。

KLH-2109 コリン塩の 10、100 及び 1000 mg/kg/日をビーグル犬に 2 週間反復経口投与した（2.6.7.6）。

死亡例は認められなかった。1000 mg/kg/日で体重及び摂餌量の低値、血清肝逸脱酵素の軽度高値、胆嚢における胆石を伴う上皮過形成及び潰瘍が認められた。

表 2.6.6.3.2-1　　イヌ 2 週間反復経口投与試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Day 1	10	F	43200	1.3	527000	6.86	1.3	43.2
	100	F	156000	2.0	2530000	42.6	3.0	544
	1000	F	291000	5.0	4630000	154	5.0	1900
Day 14	10	F	58500	2.0	757000	7.17	1.3	69.9
	100	F	167000	1.3	2250000	67.3	2.0	437
	1000	F	255000	1.3	3430000	155	3.0	1910

F：雌、データは平均値

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩の初回投与及び 2 週間反復投与後に KLH-2109 及び KP017 の曝露が確認され、T_{max} は、いずれも 1.3～5.0 時間であった。KLH-2109 及び KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は投与量の増加に伴って増加した。KP017 の曝露量は KLH-2109 の曝露量に比して少なく、KP017 の AUC_{0-24} は KLH-2109 との比較で 0.01%～0.06%であった。反復投与の影響は認められなかった（表 2.6.6.3.2-1）。

以上、1000 mg/kg/日で毒性学的に意義ある所見が認められた。

2.6.6.3.3 ラット 4 週間反復経口投与試験及び 4 週間回復試験

添付資料 4.2.3.2.1

KLH-2109 コリン塩の 20、200 及び 2000 mg/kg/日を SD 系ラットに 4 週間反復経口投与した（2.6.7.7A）。

死亡例及び投与に関連する一般症状は認められなかった。体重増加は 2000 mg/kg/日で投与期間を通じて雄で抑制され、雌で亢進した。赤血球数の低値が 2000 mg/kg/日で認められ、末梢網状赤血球及び骨髄多染性赤芽球の高値等からなる生体反応を伴うものであった。2000 mg/kg/日での赤血球数の低値に関連して、脾臓重量の高値及び脾臓赤脾髄のうっ血が認められた。2000 mg/kg/日では、胸腺重量の高値及び末梢リンパ球数の高値、並びに脾臓動脈周囲リンパ鞘でのリンパ球密度増加が認められた。総コレステロールの高値が 200 mg/kg/日以上で、中性脂肪の低値が 2000 mg/kg/日の雄で認められた。総蛋白、アルブミン及びカルシウムの高値が関連毒性所見を伴わずに 200 mg/kg/日以上で認められた。雌では、卵巣の萎縮が 20 mg/kg/日以上で認められた。卵巣の萎縮は、大型卵胞の減少及び大型閉鎖卵胞の増加、並びに 200 mg/kg/日以上での黄体減少及び間質腺の増加からなっていた。また、子宮及び膣上皮の萎縮が 2000 mg/kg/日で認められた。雄では、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢及び乳腺の萎縮が 2000 mg/kg/日で認められた。副腎束状帯細胞の過形成が 2000 mg/kg/日の雄で観察された。毒性標的器官は腎臓であり、髄質尿細管の単細胞壊死、尿細管の拡張及び好塩基性変化が 2000 mg/kg/日で観察された。腎毒性に関連する血清クレアチニン、尿量及び尿中ナトリウム及びクロールの排泄量の高値が 2000 mg/kg/日で認められた。

これらの所見のうち、精巣、精嚢及び精巣上体の萎縮及び雌の脾臓での所見が 4 週間の回復期間末期でも認められた。しかしながら、回復期間末期でみられた所見の程度は投与期間末期に比して軽度であった。

表 2.6.6.3.3-1　　ラット 4 週間反復経口投与試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Day 1	20	M	47847.5	4	606274.7	131.29	4	1961.75
		F	67517.5	2	880377.1	114.72	2	1343.63
	200	M	168025.0	2	2151443.8	2553.00	2	17786.68
		F	218725.0	2	3082781.3	2057.75	2	12792.48
	2000	M	353225.0	2	5264618.8	5278.00	6	74922.93
		F	325300.0	2	5687800.0	2656.25	4	29500.42
Week 4	20	M	46865.0	0.5	420107.2	158.48	2	1683.82
		F	77387.5	0.5	877524.3	167.73	2	1610.09
	200	M	121975.0	2	1665954.1	1577.25	2	10562.70
		F	202000.0	0.5	3202877.5	1003.43	2	8599.73
	2000	M	349150.0	2	4979482.5	2858.75	4	31584.60
		F	304325.0	2	5097706.3	1420.50	4	15782.58

M：雄、F：雌、各時点の平均血漿中濃度より算出

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩の初回投与及び 4 週間反復投与後に KLH-2109 及び KP017 の曝露が確認され、T_{max} は、それぞれ 0.5～4 時間及び 2～6 時間であった。KLH-2109 及び KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は投与量の増加に伴って増加した。KP017 の曝露量は KLH-2109 の曝露量に比して少なく、KP017 の AUC_{0-24} は KLH-2109 との比較で 0.2%～1.4%であった。KLH-2109 の AUC_{0-24} は雌で高く、KP017 の AUC_{0-24} は雄で高い傾向が認められた。反復投与による明らかな影響は認められなかった（表 2.6.6.3.3-1）。

以上、薬理作用による生殖器系臓器・組織の萎縮が 2000 mg/kg/日の雄及び 20 mg/kg/日以上の雌で、体重増加抑制が 2000 mg/kg/日の雄で、体重増加亢進が 2000 mg/kg/日の雌で、赤血球数の低値及び腎尿細管壊死が 2000 mg/kg/日で認められた。投与期間末期に認められた毒性は、4 週間の回復期間後に回復した。これらの所見のうち、体重、赤血球及び尿細管への影響が毒性学的に意味ある所見と考えられたことから、無毒性量は雌雄とも 200 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.4 ラット 13 週間反復経口投与試験

添付資料 4.2.3.2.3

KLH-2109 コリン塩の 50、150、500 及び 1500 mg/kg/日を Wistar 系ラットに 13 週間反復経口投与した（2.6.7.7B）。

投与に関連する死亡例及び一般症状は認められなかった。体重増加は 1500 mg/kg/日で投与期間を通じて雄で抑制され、雌で亢進した。赤血球数の低値が 500 mg/kg/日以上の雄で認められ、末梢網赤血球の高値を伴うものであった。胸腺重量の高値が 1500 mg/kg/日の雄で、末梢リンパ球数の高値が 1500 mg/kg/日の雌で認められた。総コレステロールの高値が 150 mg/kg/日以上で、中性脂肪の低値が 1500 mg/kg/日で認められた。血小板数の高値が 1500 mg/kg/日の雄及び 500 mg/kg/日以上の雌で、総蛋白の高値が 500 mg/kg/日以上の雄で関連毒性所見を伴わずに認められた。副腎皮質における褐色色素貪食マクロファージの増加が 500 mg/kg/日以上の雄及び 1500 mg/kg/日の雌で認められた。下垂体重量の低値が 1500 mg/kg/日で認められた。雌では、卵巣の萎縮が 50 mg/kg/日以上で認められた。卵巣の萎縮は、大型閉鎖卵胞の増加、黄体減少及び間質腺の増加、50、150 及び 500 mg/kg/日での未破裂卵胞の増加、並びに 1500 mg/kg/日での大型卵胞の減少からなっていた。また、子宮の萎縮が 500 mg/kg/日以上で、膣上皮及び乳腺の萎縮が 1500 mg/kg/日で認められた。雄では、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢及び乳腺の萎縮が

500 mg/kg/日以上で認められた。毒性標的器官は甲状腺及び腎臓であった。甲状腺では、濾胞の拡張が 500 mg/kg/日以上の雄及び 1500 mg/kg/日の雌で認められた。腎臓では、尿細管の拡張が 1500 mg/kg/日の雄で、好塩基性変化が 1500 mg/kg/日で観察され、関連して尿量の高値が同群で認められた。

表 2.6.6.3.4-1　　ラット 13 週間反復経口投与試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Day 1	50	M	146000	2	1880000	319	2	5090
		F	151000	0.5	1720000	331	2	3790
	150	M	192000	2	2270000	2490	2	12700
		F	240000	2	2860000	2100	2	15700
	500	M	328000	2	3740000	6040	2	39900
		F	406000	2	4990000	3650	2	38100
	1500	M	371000	2	5340000	5610	2	67100
		F	409000	2	5630000	3250	2	41600
Week 4	50	M	132000	0.5	1380000	323	4	3540
		F	163000	0.5	2070000	311	4	3350
	150	M	144000	2	2440000	677	2	8670
		F	271000	0.5	3630000	616	2	7660
	500	M	256000	0.5	4110000	1070	4	14500
		F	341000	0.5	5300000	1090	4	9780
	1500	M	371000	4	6380000	2040	4	23400
		F	386000	0.5	5940000	1370	4	12300
Week 13	50	M	137000	0.5	1720000	362	2	5240
		F	154000	0.5	1800000	386	4	4520
	150	M	174000	2	2480000	1020	2	8350
		F	242000	0.5	3040000	1140	2	11000
	500	M	275000	2	3520000	1590	2	13900
		F	292000	0.5	4350000	1470	2	12100
	1500	M	425000	2	5090000	2320	2	22300
		F	337000	0.5	4530000	2140	2	19700

M：雄、F：雌、各時点の平均血漿中濃度より算出

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩の初回投与並びに 4 及び 13 週間反復投与後に KLH-2109 及び KP017 の曝露が確認され、T_{max} は、それぞれ 0.5～4 時間及び 2～4 時間であった。KLH-2109 及び KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は投与量の増加に伴って増加した。KP017 の曝露量は KLH-2109 の曝露量に比して少なく、KP017 の AUC_{0-24} は KLH-2109 との比較で 0.2%～1.3%であった。明らかな性差は認められなかった。KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は投与 4 及び 13 週目の方が投与 1 日目より低い傾向が認められた（表 2.6.6.3.4-1）。

以上、薬理作用による生殖器系臓器・組織の萎縮が 500 mg/kg/日以上の雄及び 50 mg/kg/日以上の雌で、下垂体重量の低値が 1500 mg/kg/日で認められた。また、体重増加抑制が 1500 mg/kg/日の雄で、体重増加亢進が 1500 mg/kg/日の雌で、赤血球数の低値が 500 mg/kg/日以上の雄で、甲状腺濾胞の拡張が 500 mg/kg/日以上の雄及び 1500 mg/kg/日の雌で、尿細管における変化が 1500 mg/kg/日で認められた。これらの所見のうち、体重、赤血球、甲状腺及び腎臓の影響が毒性学的に意味ある所見と考えられたことから、無毒性量は雄で 150 mg/kg/日、雌で 500 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.5 ラット 26 週間反復経口投与試験及び 10 週間回復試験

添付資料 4.2.3.2.4

KLH-2109 コリン塩の 50、200 及び 1000 mg/kg/日を Wistar 系ラットに 26 週間反復経口投与した（2.6.7.7C）。

投与に関連する死亡例及び一般症状は認められなかった。体重増加は 1000 mg/kg/日で投与期間を通じて雄で抑制され、雌で亢進した。総コレステロールの高値が 50 mg/kg/日以上の雌及び 1000 mg/kg/日の雄で、中性脂肪の低値が 200 mg/kg/日以上の雄で認められた。下垂体重量の高値が 50 及び 200 mg/kg/日の雌で、副腎重量の高値が 200 mg/kg/日以上の雄で、胸腺重量の高値が 1000 mg/kg/日の雄で認められた。雌では、卵巣の萎縮が 50 mg/kg/日以上で認められた。卵巣の萎縮は、大型閉鎖卵胞の増加、黄体減少、間質腺の増加及び未破裂卵胞の増加、並びに 200 mg/kg/日以上での大型卵胞の減少からなっていた。また、卵管、子宮、膣上皮及び乳腺の萎縮が 1000 mg/kg/日で認められた。雄では、前立腺、精嚢及び乳腺の萎縮が 200 mg/kg/日以上で、精巣及び精巣上体の萎縮が 1000 mg/kg/日で認められた。毒性標的器官は甲状腺であり、濾胞の拡張が 200 mg/kg/日以上の雄及び 1000 mg/kg/日の雌で認められた。対照群と 1000 mg/kg/日群について実施した下垂体の甲状腺刺激ホルモンの免疫染色では、所見は認められなかった。

これらの所見のうち、前立腺及び精嚢の萎縮が 10 週間の回復期間末期でも認められた。しかしながら、回復期間末期でみられた所見の程度は投与期間末期に比して軽度であった。また、子宮重量の低値が 1000 mg/kg/日でみられたが、軽度なものであった。

表 2.6.6.3.5-1　　ラット 26 週間反復経口投与試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Day 1	50	M	137000	2	1940000	410	4	7250
		F	162000	0.5, 2	2160000	547	2	4760
	200	M	228000	2	2750000	5380	2	31200
		F	278000	2	3100000	3460	2	24900
	1000	M	298000	2	4030000	6770	2	63800
		F	445000	2	5590000	5990	2	52000
Week 13	50	M	104000	0.5	1160000	544	4	5490
		F	195000	0.5	2380000	387	0.5	5320
	200	M	128000	0.5	1920000	693	0.5	11500
		F	222000	0.5	3310000	1540	2	13700
	1000	M	195000	0.5	3160000	1350	2	19800
		F	307000	0.5	4480000	2270	2	19000
Week 26	50	M	80200	0.5	983000	287	0.5	4120
		F	136000	0.5	1730000	298	2	3770
	200	M	110000	2	1670000	822	2	8460
		F	174000	0.5	2700000	1080	2	12800
	1000	M	173000	2	2580000	1500	2	17100
		F	259000	0.5	3920000	2050	4	19400

M：雄、F：雌、各時点の平均血漿中濃度より算出

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩の初回投与並びに 13 及び 26 週間反復投与後に KLH-2109 及び KP017 の曝露が確認され、T_{max} は、それぞれ 0.5～2 時間及び 0.5～4 時間であった。KLH-2109 及び KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は投与量の増加に伴って増加した。KP017 の曝露量は KLH-2109 の曝露量に比して少なく、KP017 の AUC_{0-24} は KLH-2109 との比較で 0.2%～1.6%であった。明らかな性差は認められなかった。KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は 200 mg/kg/

日以上で投与 13 及び 26 週目の方が投与 1 日目より低い傾向が認められた（表 2.6.6.3.5-1）。

以上、薬理作用による生殖器系臓器・組織の萎縮が 200 mg/kg/日以上の雄及び 50 mg/kg/日以上の雌で認められた。また、体重増加抑制が 1000 mg/kg/日の雄で、体重増加亢進が 1000 mg/kg/日の雌で、甲状腺濾胞の拡張が 200 mg/kg/日以上の雄及び 1000 mg/kg/日の雌で認められた。これらの所見のうち、体重及び甲状腺への影響が毒性学的に意味ある所見と考えられたことから、無毒性量は雄で 50 mg/kg/日、雌で 200 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.6 サル 4 週間反復経口投与試験及び 4 週間回復試験

添付資料 4.2.3.2.5

KLH-2109 コリン塩の 10、100 及び 1000 mg/kg/日をカニクイザルに 4 週間反復経口投与した（2.6.7.7D）。

死亡例及び投与に関連する一般症状は認められなかった。軽度な体重減少が 1000 mg/kg/日の雄で認められた。ALT の高値が 100 mg/kg/日以上で、GLDH の高値が 1000 mg/kg/日で認められたが、肝臓での組織所見を伴わなかった。雌では、卵巣及び子宮重量の低値が 100 mg/kg/日以上で認められた。月経周期の延長、子宮頸部上皮及び膣上皮の萎縮を伴う子宮内膜の萎縮が 1000 mg/kg/日で認められた。子宮内膜の萎縮は 100 mg/kg/日でも認められた。雄では、精巣、前立腺、精嚢及び精巣上体重量の低値が 1000 mg/kg/日で認められた。精細管上皮の萎縮、精巣上体上皮の萎縮を伴う精子減少、並びに前立腺及び精嚢の萎縮が 1000 mg/kg/日で認められた。

これらの変化のうち、精巣重量の低値が 1000 mg/kg/日で、精細管上皮の萎縮及び精巣上体での精子減少が 1000 mg/kg/日のそれぞれ雄 2 例及び雄 1 例で 4 週間の回復期間末期においても認められた。

表 2.6.6.3.6-1　　サル 4 週間反復経口投与試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Day 1	10	M	23683	2.00	260460	271.51	4.67	2924.33
		F	26823	2.00	274379	237.36	3.33	2866.35
	100	M	128133	2.67	1444264	433.73	5.33	5937.13
		F	111133	3.33	1579468	2427.97	6.00	36404.91
	1000	M	237040	3.60	3650583	4982.20	6.00	76968.05
		F	168420	2.00	2370201	4169.20	4.80	48151.37
Week 4	10	M	17393	2.67	220424	120.87	2.67	1347.64
		F	25017	2.00	244714	125.82	2.00	1328.25
	100	M	85467	2.00	1097538	403.17	3.33	5196.65
		F	110927	1.50	1132970	1804.23	2.00	17462.12
	1000	M	186520	3.60	2703624	5047.40	4.00	74211.15
		F	160540	1.80	1763695	3584.74	2.40	33251.83

M：雄、F：雌、データは平均値

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩の初回投与及び 4 週間反復投与後に KLH-2109 及び KP017 の曝露が確認され、T_{max} は、それぞれ 1.5～3.6 時間及び 2.0～6.0 時間であった。KLH-2109 及び KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は投与量の増加に伴って増加した。KP017 の曝露量は KLH-2109 の曝露量に比して少なく、KP017 の AUC_{0-24} は KLH-2109 との比較で 0.4%～2.7%であった。明らかな性差及び反復投与の影響は認められなかった（表 2.6.6.3.6-1）。

以上、薬理作用による生殖器系臓器・組織の萎縮が 1000 mg/kg/日の雄及び 100 mg/kg/日以上

の雌で、体重の軽度減少が 1000 mg/kg/日の雄で、血清肝逸脱酵素（ALT 及び GLDH）の上昇が 1000 mg/kg/日で認められた。精細管上皮の萎縮及び精巣上体での精子減少が 4 週間の回復期間後にも 1000 mg/kg/日で認められた。1000 mg/kg/日の雄で体重の軽度減少、雌雄で肝逸脱酵素の上昇が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 100 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.7 サル 13 週間反復経口投与試験

添付資料 4.2.3.2.6

KLH-2109 コリン塩の 10、100 及び 1000 mg/kg/日をカニクイザルに 13 週間反復経口投与した（2.6.7.7E）。

本薬投与に関連する死亡例及び一般症状は認められなかった。軽度かつ一過性の体重減少が 1000 mg/kg/日の雄で認められた。ALT 及び GLDH の高値が 100 mg/kg/日以上で、肝臓重量の高値が 1000 mg/kg/日の雄及び 100 mg/kg/日以上の雌で認められたが、肝臓での組織所見を伴わなかった。脾臓重量の高値が 1000 mg/kg/日の雌で関連毒性所見を伴わずに認められた。雌では、月経周期の延長及び卵巣における新生黄体欠如が 100 mg/kg/日以上で認められた。卵巣及び子宮重量の低値、子宮内膜の萎縮、子宮頸部上皮の萎縮、並びに膣上皮の萎縮が 1000 mg/kg/日で認められた。雄では、精巣、前立腺、精嚢及び精巣上体重量の低値が 1000 mg/kg/日で認められた。精巣における精細管の萎縮、精上皮の変性及び被膜の線維化、精巣上体における精子減少、線維化及び管萎縮、前立腺の萎縮、並びに精嚢の萎縮が 1000 mg/kg/日で認められた。

表 2.6.6.3.7-1　　サル 13 週間反復経口投与試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Day 1	10	M	22100	3.0	253000	141	3.5	1610
		F	36500	1.6	265000	798	2.0	5480
	100	M	84500	3.5	1200000	495	4.5	6510
		F	110000	4.5	1510000	1610	4.5	17700
	1000	M	206000	5.5	3430000	1020	5.0	15900
		F	196000	4.0	2800000	2340	4.0	31400
Week 13	10	M	19900	2.0	209000	91.4	2.0	1050
		F	40200	1.6	282000	334	2.0	2220
	100	M	119000	2.0	1340000	474	4.0	5930
		F	152000	2.1	1550000	538	3.0	6430
	1000	M	199000	2.0	2370000	1340	2.7	14600
		F	206000	2.5	2640000	1430	3.0	15700

M：雄、F：雌、データは平均値

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩の初回投与及び 13 週間反復投与後に KLH-2109 及び KP017 の曝露が確認され、T_{max} は、それぞれ 1.6～5.5 時間及び 2.0～5.0 時間であった。KLH-2109 及び KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は投与量の増加に伴って増加した。KP017 の曝露量は KLH-2109 の曝露量に比して少なく、KP017 の AUC_{0-24} は KLH-2109 との比較で 0.4%～2.1%であった。明らかな性差及び反復投与の影響は認められなかった（表 2.6.6.3.7-1）。

以上、薬理作用による生殖器系臓器・組織の萎縮が 1000 mg/kg/日の雄及び 100 mg/kg/日以上の雌で、体重の軽度減少が 1000 mg/kg/日の雄で、血清肝逸脱酵素（ALT 及び GLDH）の上昇が 100 mg/kg/日以上で、肝臓重量の高値が 1000 mg/kg/日の雄及び 100 mg/kg/日以上の雌で認められた。これらの所見のうち、体重減少及び肝逸脱酵素の上昇が毒性学的に意味ある所見と考

えられたことから、無毒性量は雌雄とも 10 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.8 サル 39 週間反復経口投与試験及び 20 週間回復試験

添付資料 4.2.3.2.7

KLH-2109 コリン塩の 10、100 及び 1000 mg/kg/日をカニクイザルに 39 週間反復経口投与した（2.6.7.7F）。

本薬投与に関連する死亡例及び一般症状は認められなかった。軽度な体重減少が 1000 mg/kg/日の雄で認められた。ALT 及び GLDH の高値が 100 mg/kg/日以上で、肝臓重量の高値が 1000 mg/kg/日で認められたが、肝臓での組織所見を伴わなかった。雌では、月経周期の延長、卵巣重量の低値、卵巣における新生黄体欠如、子宮内膜の萎縮、子宮頸部上皮の萎縮、並びに膣上皮の萎縮が 100 mg/kg/日以上で、子宮重量の低値が 1000 mg/kg/日で認められた。雄では、精巣容積及び精巣重量の低値が 100 mg/kg/日以上で認められた。精巣における精細管の萎縮、精上皮の変性及び被膜の線維化、精巣上体における精子減少、前立腺の萎縮、並びに精嚢の萎縮が 1000 mg/kg/日で認められた。

投与期間中に認められた変化は、20 週間の回復期間中に回復した。

表 2.6.6.3.8-1　　サル 39 週間反復経口投与試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Day 1	10	M	16700	2.6	225000	79	4.0	1110
		F	21800	3.0	222000	209	3.0	1960
	100	M	127000	3.0	1870000	739	4.5	10900
		F	123000	2.5	1490000	363	2.5	4660
	1000	M	228000	4.6	3620000	1470	6.0	22200
		F	217000	3.0	2920000	835	4.0	11600
Week 26	10	M	23300	2.5	328000	169	2.5	2630
		F	29100	2.1	301000	362	3.0	3850
	100	M	87500	2.5	1530000	953	4.5	15600
		F	133000	3.1	1780000	818	3.5	11700
	1000	M	182000	2.7	2710000	1090	3.3	16200
		F	186000	2.0	2400000	1810	3.3	21700
Week 39	10	M	25200	2.0	310000	175	2.5	2640
		F	26200	2.1	310000	332	2.0	3670
	100	M	115000	2.5	1650000	1150	3.0	18200
		F	133000	3.0	1640000	911	2.5	11900
	1000	M	208000	2.3	2840000	2250	3.7	28200
		F	222000	3.0	2910000	2470	2.3	28800

M：雄、F：雌、データは平均値

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩の初回投与、並びに 26 及び 39 週間反復投与後に KLH-2109 及び KP017 の曝露が確認され、T_{max} は、それぞれ 2.0～4.6 時間及び 2.0～6.0 時間であった。KLH-2109 及び KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は投与量の増加に伴って増加した。KP017 の曝露量は KLH-2109 の曝露量に比して少なく、KP017 の AUC_{0-24} は KLH-2109 との比較で 0.3%～1.3%であった。明らかな性差及び反復投与の影響は認められなかった（表 2.6.6.3.8-1）。

以上、薬理作用による生殖器系臓器・組織の萎縮が 100 mg/kg/日以上で、体重の軽度減少が 1000 mg/kg/日の雄で、血清肝逸脱酵素（ALT 及び GLDH）の上昇が 100 mg/kg/日以上で、肝臓

重量の高値が 1000 mg/kg/日で認められた。これらの所見のうち、体重減少及び肝逸脱酵素の上昇が毒性学的に意味ある所見と考えられたことから、無毒性量は雌雄とも 10 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.9 マウス 13 週間反復経口投与試験

添付資料 4.2.3.2.8

KLH-2109 コリン塩の 40、750 及び 1500 mg/kg/日を ICR 系マウスに 13 週間反復経口投与した（2.6.7.7G）。

1500 mg/kg/日の雌雄各 1 例が本薬投与に関連して死亡した。一般症状観察では、被毛粗剛が 1500 mg/kg/日の雄で、一過性の体重減少が 750 mg/kg/日以上の雄及び 1500 mg/kg/日の雌で観察された。体重増加は 40 mg/kg/日以上の雄で抑制され、750 mg/kg/日以上の雌で亢進した。摂餌量の低値が 750 mg/kg/日以上で認められた。胸腺、脾臓及び肝臓重量の高値、脾臓における髄外造血の亢進、並びに小葉中心性肝細胞の肥大が 750 mg/kg/日以上で、脾臓における色素沈着が 750 mg/kg/日以上の雄及び 1500 mg/kg/日の雌で認められた。骨髄における赤血球造血の亢進が 1500 mg/kg/日で観察された。下垂体重量の低値が 1500 mg/kg/日の雌で認められた。雌では、卵巣の萎縮が 40 mg/kg/日以上で、間質腺増加が 40 及び 750 mg/kg/日で、卵管、子宮、膣及び乳腺の萎縮が 750 mg/kg/日以上で認められた。雄では、精嚢重量の低値が 40 mg/kg/日以上で、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、凝固腺及び下顎腺顆粒管の萎縮が 750 mg/kg/日以上で認められた。毒性標的器官は胆嚢及び腎臓であった。胆嚢では、胆嚢内に胆砂が 750 mg/kg/日以上で観察された。腎臓では、重量の低値が 40 mg/kg/日以上の雄で、重量の高値が 1500 mg/kg/日の雌で、尿細管好塩基性変化及び間質線維化が 750 mg/kg/日以上で、尿細管拡張及び単核細胞浸潤が 1500 mg/kg/日で、尿細管円柱が 1500 mg/kg/日の雄で認められた。

表 2.6.6.3.9-1　　マウス 13 週間反復経口投与試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Day 1	40	M	117000	0.5	1190000	6580	2	102000
		F	110000	0.5	1650000	4830	6	72800
	750	M	305000	2	3570000	20700	2	293000
		F	310000	0.5	3420000	22500	2	179000
	1500	M	317000	2	4250000	18300	2	241000
		F	356000	0.5	4860000	18200	2	284000
Week 13	40	M	131000	0.5	1320000	7160	2	85200
		F	216000	0.5	2090000	5270	6	80100
	750	M	338000	2	5910000	16600	2	221000
		F	447000	2	6370000	19500	2	182000
	1500	M	451000	2	7260000	15400	6	251000
		F	496000	0.5	8060000	22000	6	352000

M：雄、F：雌、各時点の平均血漿中濃度より算出

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩の初回投与及び 13 週間反復投与後に KLH-2109 及び KP017 の曝露が確認され、T_{max} は、それぞれ 0.5～2 時間及び 2～6 時間であった。KLH-2109 及び KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は 750 mg/kg/日までは投与量の増加に伴って増加したが、1500 mg/kg/日で頭打ち傾向を示した。KP017 の曝露量は KLH-2109 の曝露量に比して少なく、KP017 の AUC_{0-24} は KLH-2109 との比較で 2.9%～8.6%であった。明らかな性差は認

めらなかった。KLH-2109 の $AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max} は投与 13 週目の方が投与 1 日目より高い傾向が認められた（表 2.6.6.3.9-1）。

以上、薬理作用による生殖器系臓器・組織の萎縮が 40 mg/kg/日以上で、下垂体重量の低値が 1500 mg/kg/日の雌で認められた。また、投与に関連する死亡が 1500 mg/kg/日の雌雄各 1 例で、体重増加抑制が 40 mg/kg/日以上の雄で、体重増加亢進が 750 mg/kg/日以上の雌で、胸腺重量の高値、脾臓における髄外造血の亢進、小葉中心性肝細胞の肥大、胆嚢内胆砂及び尿細管における変化が 750 mg/kg/日以上で、骨髄における赤血球造血の亢進が 1500 mg/kg/日で認められた。これらの所見のうち、胆嚢及び腎臓への影響が毒性学的に意味ある所見と考えられたことから、無毒性量は雌雄とも 40 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.10 イヌ 4 週間反復経口投与試験及び 4 週間回復試験

添付資料 4.2.3.2.10

サルの反復投与毒性試験において、高用量を中心に血清肝逸脱酵素の上昇が認められたことから、異なる非げっ歯類であるイヌを用いて KLH-2109 コリン塩の肝毒性について評価した。

KLH-2109 コリン塩の 10、100 及び 1000 mg/kg/日をビーグル犬に 4 週間反復経口投与した（2.6.7.7H）。

死亡例は認められなかった。淡色便が 1000 mg/kg/日で認められた。体重増加抑制又はその傾向が 100 mg/kg/日以上の雌及び 1000 mg/kg/日の雄で認められた。GLDH の高値並びに肝臓重量の高値又はその傾向並びに肝臓の肥大が 1000 mg/kg/日で認められたが、肝臓での組織所見を伴わなかった。ALP の高値及び胆嚢内に暗色顆粒が 1000 mg/kg/日で認められた。総コレステロール及び中性脂肪の高値又はその傾向が 100 mg/kg/日以上で認められた。雌では、子宮の菲薄化が 10 mg/kg/日以上で認められた。雄では、精巣、前立腺及び精巣上体の小型化が 10 mg/kg/日以上で認められた。

これらの変化のうち、精巣、前立腺及び精巣上体の小型化が 4 週間の回復期間末期においても 1000 mg/kg/日の雄 1 例で認められた。

表 2.6.6.3.10-1　　イヌ 4 週間反復経口投与試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)
Day 1	10	M	55500	1.0	686000	8.83	1.0	87.9
		F	45700	1.5	641000	7.31	1.7	81.9
	100	M	132000	2.0	1930000	38.6	2.0	397
		F	156000	1.5	2110000	56.5	2.0	549
	1000	M	215000	2.8	3600000	107	3.6	1510
		F	178000	1.7	2950000	94.8	6.4	1100
Week 4	10	M	70500	2.0	1010000	9.29	2.2	123
		F	62400	2.0	888000	8.12	1.0	90.8
	100	M	141000	1.0	1930000	49.7	2.0	416
		F	137000	8.3	2200000	33.6	9.3	422
	1000	M	167000	1.1	2370000	76.9	2.0	660
		F	170000	1.7	2480000	102	2.0	768

M：雄、F：雌、データは平均値

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩の初回投与及び 4 週間反復投与後に KLH-2109 及び KP017 の曝露が確認され、T_{max} は、それぞれ 1.0～8.3 時間及び 1.0～9.3 時間で

あった。KLH-2109 及び KP017 の $AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max} は投与量の増加に伴って増加した。KP017 の曝露量は KLH-2109 の曝露量に比して少なく、KP017 の $AUC_{0\text{-}24}$ は KLH-2109 との比較で 0.01%～0.04%であった。明らかな性差及び反復投与の影響は認められなかった（表 2.6.6.3.10-1）。

以上、肝逸脱酵素（GLDH 及び ALP）の上昇及び胆嚢内に暗色顆粒が 1000 mg/kg/日の雌雄で認められたことから、無毒性量は雌雄とも 100 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

KLH-2109 コリン塩の遺伝毒性について、標準的な組合せの遺伝毒性試験及びラットを用いる肝 UDS 試験により評価した。いずれも GLP 適用試験として実施した。

遺伝毒性試験の概要を表 2.6.6.4-1 に示す。

表 2.6.6.4-1　　遺伝毒性試験概要

Test type	Bacterial strain or species/strain	Concentration or dose	Result	Study No.
Bacterial reverse mutation	*Salmonella typhimurium* / *Escherichia coli*	39–5000 µg/plate	Negative	11077
Chromosome aberrations	Chinese hamster lung-derived fibroblast line	0.125–0.8 mg/mL	Positive	11078
Unscheduled DNA synthesis assay	Rat/Crl:CD(SD)	1000, 2000 mg/kg	Negative	[redacted]
Micronucleus induction	Rat/Crl:CD(SD)	500, 1000, 2000 mg/kg	Negative	11079

2.6.6.4.1 *In vitro* 試験

2.6.6.4.1.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

添付資料 4.2.3.3.1.1

KLH-2109 コリン塩の変異原性を評価するために、サルモネラ・チフス菌 TAl00 株、TA98 株、TA1535 株、TA1537 株、大腸菌 WP2*uvrA*/pKM101 株を用いた復帰突然変異試験を実施した（2.6.7.8A）。試験は、代謝活性化系存在化及び非存在下のプレインキュベーション法を用いて実施した。用量設定試験では 39～5000 µg/プレート、本試験では 313～5000 µg/プレートの用量範囲で実施した。

代謝活性化の有無に関わらず、いずれの菌株においても媒体対照に比して 2 倍以上の増加は認められなかった。代謝活性化系の有無に関わらず、いずれの菌株においても被験物質の沈殿や菌の生育阻害は認められなかった。陽性対照物質群では、復帰変異コロニー数の顕著な増加が認められ、媒体対照の復帰変異コロニー数と同様に、背景データの管理範囲内であったことから、試験の妥当性が証明された。

以上、本試験の条件下では KLH-2109 コリン塩は変異原性を有しないと判断された。

2.6.6.4.1.2 チャイニーズ・ハムスターの培養細胞（CHL/IU 細胞）を用いる染色体異常試験

添付資料 4.2.3.3.1.2

KLH-2109 コリン塩の *in vitro* での染色体異常誘発性について、CHL/IU 細胞を用いて評価した（2.6.7.8B）。KLH-2109 コリン塩の処理濃度は細胞増殖抑制試験結果に基づいて設定した。代謝活性化系存在下及び非存在下の短時間処理では、細胞増殖を 50%以上抑制する 0.8 mg/mL

を最高用量として、以下 0.4 及び 0.2 mg/mL の 3 用量について、代謝活性化系非存在下の連続処理法では細胞増殖を 50%以上抑制する 0.5 mg/mL を最高用量として、以下 0.25 及び 0.125 mg/mL の 3 用量について染色体観察を実施した。

代謝活性化系存在下短時間処理法の 0.8 mg/mL、代謝活性化系非存在下短時間処理法の 0.8 mg/mL 及び代謝活性化系非存在下連続処理法の 0.5 mg/mL の濃度で、染色体異常を有する細胞の出現頻度が、それぞれ 17.0%、13.5%及び 9.5%であり、いずれも陰性対照群の染色体異常を有する細胞の出現頻度に比して有意な増加が認められ、用量依存性も認められた。この際の各処理群における細胞増殖率は、それぞれ 24%、48%及び 38%であり、顕著な細胞増殖抑制を示唆した。倍数性細胞の出現頻度は代謝活性化系の有無及び処理時間の長短に関わらず、陰性対照群の出現頻度に比して有意な増加は認められなかった。また、陽性対照物質群では染色体異常を有する細胞の出現頻度に顕著な増加が認められた。

以上、本試験の条件下では KLH-2109 コリン塩は著明な細胞増殖抑制が認められた用量において染色体異常誘発性を有すると判断された。

2.6.6.4.2 *In vivo* 試験

2.6.6.4.2.1 ラットを用いる肝・不定期 DNA 合成試験

添付資料 4.2.3.3.2.1

KLH-2109 コリン塩の DNA 損傷誘発性を、ラット肝細胞を用いた UDS 試験により評価した（2.6.7.9A）。KLH-2109 コリン塩の 1000 及び 2000 mg/kg をラットに単回経口投与し、投与後 2 時間及び 16 時間に肝細胞を単離した。陽性対照として投与後 2 時間ではジメチルニトロソアミン（DMN）5 mg/kg を、投与後 16 時間では 2-アセチルアミノフルオレン（2AAF）100 mg/kg を用いた。

陰性対照群では、投与後 2 時間の UDS 誘発の指標である正味核粒（NNG）値の平均は–1.7、修復細胞出現頻度は 1.6%（7/450 細胞）、投与後 16 時間の NNG 値の平均は–1.5、修復細胞出現頻度は 0.4%（2/450 細胞）であった。KLH-2109 コリン塩の 1000 及び 2000 mg/kg を投与した群での NNG 値の平均は、投与後 2 時間では、それぞれ–1.6 及び–2.0、投与後 16 時間では、それぞれ–1.0 及び–1.4 であった。修復細胞出現頻度は、投与後 2 時間ではそれぞれ 5.6%及び 5.1%、投与 16 時間後では 4.4%及び 4.9%であった。陽性対照群の DMN 投与群では、NNG 値の平均は 27.8 であり、修復細胞出現頻度は 100.0%であった。2AAF 投与群では、NNG 値の平均は 26.6 であり、修復細胞出現頻度は 100.0%であった。いずれの陽性対照物質においても陰性対照に比して明らかな UDS 誘発作用が認められた。

以上、本試験の条件下では KLH-2109 コリン塩は DNA 損傷誘発性を有しないと判断された。

2.6.6.4.2.2 ラットを用いる小核試験

添付資料 4.2.3.3.2.2

KLH-2109 コリン塩の *in vivo* での染色体異常誘発性を評価するため、雄ラットを用いた小核試験を実施した（2.6.7.9B）。KLH-2109 コリン塩の 500、1000 及び 2000 mg/kg を雄性 SD 系ラットに単回経口投与し、投与後 24 及び 48 時間に骨髄塗抹標本を作製し検査した。

観察期間中、いずれの群においても一般症状の変化及び投与に関連した体重の変化は認められなかった。500、1000 及び 2000 mg/kg 群では、投与後 24 及び 48 時間のいずれにおいても、

媒体対照群に比して、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に有意な増加は認められなかった。シクロホスファミド 20 mg/kg を投与した陽性対照群では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度が媒体対照群に比して有意に増加した。KLH-2109 コリン塩投与群では、投与後 24 及び 48 時間のいずれにおいても、媒体対照群に比して、赤血球数全体に占める網状赤血球の比率に有意差は認められなかった。陽性対照群では、媒体対照群に比して網状赤血球比に変化は認められなかった。

以上、本試験の条件下では KLH-2109 コリン塩は染色体異常誘発性を有しないと判断された。

2.6.6.5 がん原性試験

KLH-2109 コリン塩のがん原性について、経口投与によるラット 104 週間反復投与試験及び Tg-rasH2 マウス 26 週間反復投与試験により評価した。ラットがん原性試験の投与量はラット 13 及び 26 週間反復経口投与試験の結果を基に、マウスがん原性試験の投与量は non-Tg-rasH2 マウス 4 週間反復経口投与用量設定試験の結果を基に設定し、米国食品医薬品局（FDA）のがん原性評価委員会（CAC）の承認を得た。

2.6.6.5.1 ラット 104 週間反復経口投与がん原性試験

添付資料 4.2.3.4.1.1

KLH-2109 コリン塩の 5、50 及び 500 mg/kg/日を Wistar 系ラットに 104 週間反復経口投与した。投薬群とは別途、対照群を 2 群（注射用水を投与する対照群 1 及び 0.5%メチルセルロース水溶液を投与する対照群 2）設定した（2.6.7.10A）。

生存率、一般症状、触診及び眼科検査において、投与に関連する変化は認められなかった。

体重については、500 mg/kg/日の雌で投与 21 及び 28 日目に高値が認められた。摂餌量については、500 mg/kg/日の雄で投与 560 及び 588 日目に低値が認められた。

血液検査では、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の低値が 500 mg/kg/日の雄で認められた。

剖検では、子宮における結節の発生頻度の増加が 500 mg/kg/日の雌で認められた。

病理組織検査では、注射用水を投与した対照群 1 に比して、子宮内膜腺癌の発生頻度の増加が 50 及び 500 mg/kg/日群の雌で認められた。発生頻度は 50 mg/kg/日群で 6.7%、500 mg/kg/日群で 16.7%であり、試験実施施設における発生頻度（平均：0.7%、幅：0%～2%）を上回った。しかしながら、KLH-2109 コリン塩の投与媒体である 0.5%メチルセルロース水溶液を投与した対照群 2 における発生頻度（6.7%）も高く、対照群 2 の発生頻度との比較において統計学的有意差は認められず、子宮内膜腺癌の前癌病変である内膜過形成の発生頻度の増加も認められなかったことから、投薬に関連した腫瘍とは判断されなかった（表 2.6.6.5.1-1）。

表 2.6.6.5.1-1　　ラット 104 週間反復経口投与がん原性試験における子宮病理組織所見

Dose (mg/kg/day)	0[a]	0[b]	5	50	500
No. of females	60	60	60	60	60
Gross findings					
Nodule uterus	3	3	4	5	12
Tumors					
Endometrial adenocarcinoma	0[c]	4[d]	0	4[e]	10[e]
Hyperplastic/Preneoplastic Lesions					
Hyperplasia, glandular, focal	1	1	0	2	1

Dose (mg/kg/day)	0[a]	0[b]	5	50	500
Hyperplasia, endometrial, diffuse	0	1	0	1	0
Hyperplasia, endometrial, cystic	1	2	2	2	2

[a]：対照群 1（注射用水を投与）
[b]：対照群 2（0.5%メチルセルロース水溶液を投与）
[c]：p<0.025（対照群 1 と投薬群間の Peto 傾向検定）
[d]：p<0.025（対照群 2 と投薬群間の Peto 傾向検定）
[e]：p<0.05（対照群 1 との Peto 検定）

また、対照群 1 及び 2 に比して、乳腺腺癌の発生頻度の増加が 50 mg/kg/日群の雌で認められた。50 mg/kg/日群の雌における発生頻度は 28.3%であり、試験実施施設における発生頻度（平均：13.2%、幅：7%～20%）を上回った。しかしながら、発生頻度に投与量との相関性が認められず、乳腺腺癌の前癌病変である乳腺過形成の発生頻度の増加も認められなかったことから、投与に関連した腫瘍とは判断されなかった（表 2.6.6.5.1-2）。

表 2.6.6.5.1-2　　ラット 104 週間反復経口投与がん原性試験における雌の乳腺病理組織所見

Dose (mg/kg/day)	0[a]	0[b]	5	50	500
No. of females	60	60	60	60	60
Tumors					
Fibroadenoma	21	19	15	13	11
Adenocarcinoma	6	7	12	17[c]	1
Hyperplastic/Preneoplastic Lesions					
Hyperplasia, lobuloalveolar	51	48	47	32	19
Atypical hyperplasia	0	0	0	0	0

[a]：対照群 1（注射用水を投与）
[b]：対照群 2（0.5%メチルセルロース水溶液を投与）
[c]：p<0.01（対照群 1 及び 2 との Peto 検定）

非腫瘍性病変としては、卵巣における間質細胞空胞化の発生頻度の増加が 5、50 及び 500 mg/kg/日の雌で、卵巣における黄体欠如の発生頻度の増加及び乳腺における変性の発生頻度の増加が 50 及び 500 mg/kg/日の雌で認められた。

表 2.6.6.5.1-3　　ラット 104 週間反復経口投与がん原性試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Week 26	5	M	34900	1.0	294000	108	2.7	1040
		F	31200	2.7	496000	66.8	2.7	931
	50	M	96900	0.50	1240000	454	2.0	5570
		F	213000	0.50	3190000	453	2.0	4490
	500	M	153000	0.50	2310000	1650	2.0	11100
		F	348000	1.0	4050000	2870	2.0	15100
Week 52	5	M	28100	1.0	293000	102	2.0	1210
		F	36900	2.2	534000	76.5	2.7	1050
	50	M	97700	0.50	1240000	540	2.0	6070
		F	179000	1.0	2740000	404	2.7	4520
	500	M	177000	2.0	2440000	2620	2.0	16600
		F	319000	1.0	3850000	2920	2.0	16200

M：雄、F：雌、データは平均値

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩の 26 及び 52 週間反復投与後に KLH-2109 及び KP017 の曝露が確認され、T_{max} については、KLH-2109 は 0.5～2.7 時間、KP017 は 2.0～2.7

時間であった。KLH-2109 及び KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は投与量の増加に伴って増加した。KP017 の曝露量は KLH-2109 の曝露量に比して少なく、KP017 の AUC_{0-24} は KLH-2109 との比較で 0.1%～0.7%であった。KLH-2109 の AUC_{0-24} は雌で高い傾向が認められた。反復投与による明らかな影響は認められなかった（表 2.6.6.5.1-3）。

以上、KLH-2109 コリン塩をラットに 500 mg/kg/日まで投与しても、がん原性は認められなかった。

2.6.6.5.2 Non-Tg-rasH2 マウス 4 週間反復経口投与用量設定試験

添付資料 4.2.3.4.2.1

KLH-2109 コリン塩の 50、250 及び 500 mg/kg/日を non-Tg-rasH2 マウスに 4 週間反復経口投与した（2.6.7.10B）。

投与に関連する死亡例は認められなかった。一般症状、体重、摂餌量、血液検査及び剖検において、投与に関連する変化は認められなかった。雌では、卵巣の萎縮が 250 mg/kg/日以上で、膣の角質化の増加が 500 mg/kg/日で認められた。雄では、前立腺及び精嚢重量の低値が 500 mg/kg/日で認められた。

表 2.6.6.5.2-1　Non-Tg-rasH2 マウス 4 週間反復経口投与用量設定試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Day 1	50	M	145000	0.5	911000	5380	0.5	24500
		F	187000	0.5	1810000	5320	0.5	34600
	250	M	264000	0.5	2390000	10300	1.0	54300
		F	306000	0.5	3250000	9190	1.0	64000
	500	M	297000	0.5	2700000	11100	1.0	56700
		F	340000	0.5	4110000	12300	2.0	90400
Week 4	50	M	166000	0.5	988000	4130	0.5	22900
		F	196000	0.5	2210000	4110	0.5	33500
	250	M	275000	0.5	2210000	9010	0.5	54300
		F	358000	0.5	3880000	8190	2.0	62600
	500	M	329000	0.5	3260000	12000	0.5	76000
		F	415000	0.5	4900000	8760	1.0	72000

M：雄、F：雌、各時点の平均血漿中濃度より算出

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩の初回投与及び 4 週間反復投与後に KLH-2109 及び KP017 の曝露が確認され、T_{max} は、それぞれ 0.5 時間及び 0.5～2.0 時間であった。KLH-2109 及び KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は投与量の増加に伴って増加した。KP017 の曝露量は KLH-2109 の曝露量に比して少なかった。明らかな性差は認められなかった。反復投与による明らかな影響は認められなかった（表 2.6.6.5.2-1）。

以上、薬理作用による生殖器系臓器・組織の萎縮が 500 mg/kg/日の雄及び 250 mg/kg/日以上の雌で認められたが、毒性学的に意味ある所見は認められなかったことから、無毒性量は雌雄とも 500 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.5.3 Tg-rasH2 マウス 26 週間反復経口投与がん原性試験

添付資料 4.2.3.4.2.2

KLH-2109 コリン塩を Tg-rasH2 マウスに 26 週間反復経口投与した。投与量は、雄では 15、50 及び 250 mg/kg/日、雌では 15、50 及び 500 mg/kg/日とした。投薬群とは別途、対照群を 2 群（注射用水を投与する対照群 1 及び 0.5%メチルセルロース水溶液を投与する対照群 2）及び *N*-Methyl-*N*-Nitrosourea の 75 mg/kg を単回腹腔内投与する陽性対照群を設定した（2.6.7.10C）。

なお、陽性対照群では前胃扁平上皮腫瘍及び悪性リンパ腫が高頻度に認められ、試験系の適切性が示された。

生存率、一般症状、触診、体重、摂餌量、血液検査及び剖検において、投与に関連する変化は認められなかった。

病理組織検査では、本薬投与群では腫瘍性病変は認められなかった。非腫瘍性病変として、卵巣における間質腺肥大の増加が 15 mg/kg/日以上で、卵巣における黄体減少が 50 mg/kg/日以上で、子宮における萎縮の増加が 500 mg/kg/日で認められた。

表 2.6.6.5.3-1　Tg-rasH2 マウス 26 週間反復経口投与がん原性試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Day 1	15	M	73300	0.50	354000	2330	0.50	8140
		F	73200	1.0	811000	2080	1.0	14600
	50	M	163000	0.50	868000	6110	0.50	23900
		F	165000	0.50	1830000	4350	0.50	32300
	250	M	264000	0.50	2090000	10900	1.0	51400
	500	F	348000	2.0	4550000	10800	2.0	94000
Week 26	15	M	82300	0.50	505000	1640	0.50	9320
		F	122000	0.50	1500000	2030	0.50	13100
	50	M	181000	0.50	1220000	3920	1.0	24600
		F	208000	0.50	2680000	2470	0.50	21900
	250	M	276000	0.50	2480000	9820	1.0	58500
	500	F	412000	0.50	5290000	7560	2.0	67800

M：雄、F：雌、各時点の平均血漿中濃度より算出

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩の初回投与及び 26 週間反復投与後に KLH-2109 及び KP017 の曝露が確認され、T_{max} は、いずれも 0.5～2.0 時間であった。KLH-2109 及び KP017 の AUC_{0-24} 及び C_{max} は投与量の増加に伴って増加した。KP017 の曝露量は KLH-2109 の曝露量に比して少なく、KP017 の AUC_{0-24} は KLH-2109 との比較で 0.8%～2.8%であった。KLH-2109 の AUC_{0-24} は雌で高い傾向が認められた。反復投与による明らかな影響は認められなかった（表 2.6.6.5.3-1）。

以上、KLH-2109 コリン塩を雄に 250 mg/kg/日まで、雌に 500 mg/kg/日まで投与しても、がん原性は認められなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

KLH-2109 コリン塩の生殖発生毒性について、雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギにおける胚・胎児発生に関する試験、並びにラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験により評価した。受胎能及び着床までの

初期胚発生に関する試験では本薬投与による影響からの回復性も評価した。

生殖発生毒性試験の概要及び無毒性量を表 2.6.6.6-1 に示す。

表 2.6.6.6-1　　生殖発生毒性試験概要

Species/strain	Route of administration	Duration of dosing/ recovery period	Dose (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)			Study No.
				F0	F0R	F1	
Non pivotal							
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	4 weeks before mating	0, 3, 10, 30, 100	n/a	n/a	n/a	51171
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 0 to GD 7	0, 3, 10, 30, 100, 300	n/a	n/a	n/a	51172
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 6 to GD 17	0, 3, 10, 30, 100, 300	n/a	n/a	n/a	51173
Rabbit/NZW	Oral (gavage)	From GD 6 to GD 18	0, 1, 3, 10, 30, 100	n/a	n/a	n/a	51183
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 6 to LD 20	0, 10, 30, 100, 300	n/a	n/a	n/a	51215
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 6 to LD 20	0, 300, 600, 1000	n/a	n/a	n/a	52007
Pivotal							
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	4 weeks before mating / 4 weeks	0, 0.16, 0.8, 4, 20, 100	100	4	4	11071
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 0 to GD 7	0, 100, 300, 1000	<100	300	300	11072
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 6 to GD 17	0, 30, 100, 300	300	100	100	11073
Rabbit/NZW	Oral (gavage)	From GD 6 to GD 18	0, 0.3, 3, 30	30	3	3	11074
Rat/Crl:CD(SD)	Oral (gavage)	From GD 6 to LD 20	0, 30, 100, 300	300	100	300	[redacted]

F0：母動物又は親動物の一般毒性、F0R：母動物又は親動物の生殖機能に対する毒性、F1：初期胚、胚/胎児、GD：妊娠日齢、LD：哺育日齢、n/a：該当なし

2.6.6.6.1 雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（妊娠前投与）の用量設定試験

添付資料 4.2.3.5.1.1

KLH-2109 コリン塩の 3、10、30 及び 100 mg/kg/日を SD 系ラットの交配前約 4 週間及び交配期間中を通じて交尾成立前日までの雌動物に経口投与した。また、100 mg/kg/日を 4 週間投与した後に 4 週間休薬させる群を設け、生殖機能及び初期胚発生に対する影響の回復性についても評価した（2.6.7.11）。

死亡及び一般症状は認められなかった。体重及び摂餌量の変化並びに肉眼所見も認められなかった。

30 mg/kg/日以上で異常性周期を示す動物の発現頻度が増加した。さらに、100 mg/kg/日で性周期の延長、発情前期及び発情期の数の増加並びに発情間期及び発情休止期の数の低下が認められた。回復群の 100 mg/kg/日では、本薬投与による性周期への影響に回復傾向が認められた。

100 mg/kg/日では、交尾所要日数が低値であった。30 及び 100 mg/kg/日で受胎率の低値が認められた。3、10 及び 30 mg/kg/日で着床数の低値及びそれに伴う着床率の低値並びに生存胚数の低値が認められた。回復群の 100 mg/kg/日では、交尾所要日数及び受胎率に変化は認められなかった。回復群では胚発生に影響は認められなかった。

以上、いずれの用量においても雌動物に一般毒性学的な影響は認められなかった。一方、100 mg/kg/日で生殖機能（性周期及び受胎率）に影響が認められたが、4 週間の休薬による回復性が認められた。したがって、本試験の高用量は、100 mg/kg/日が適切であると考えられた。

2.6.6.6.2 雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（妊娠初期投与）の用量設定試験

添付資料 4.2.3.5.1.3

KLH-2109 コリン塩の 3、10、30、100 及び 300 mg/kg/日を SD 系ラットの妊娠 0 日から妊娠 7 日までの母動物に経口投与した（2.6.7.11）。

死亡及び一般症状は認められなかった。体重、摂餌量及び肉眼所見に影響は認められなかった。

受胎率及び生殖機能並びに初期胚発生に影響は認められなかった。

以上、いずれの用量においても雌動物の一般毒性、受胎率及び生殖機能並びに初期胚発生に影響は認められなかった。したがって、本試験の高用量は、1000 mg/kg/日が適切であると考えられた。

2.6.6.6.3 ラット胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験

添付資料 4.2.3.5.2.1

KLH-2109 コリン塩の 3、10、30、100 及び 300 mg/kg/日を SD 系ラットの妊娠 6 日から妊娠 17 日までの母動物に経口投与した（2.6.7.11）。

死亡及び一般症状は認められなかった。300 mg/kg/日の 7 例中 2 例で全胚死亡に起因したと考えられる体重及び摂餌量の低下が認められた。剖検ではいずれの母動物にも所見は認められなかった。

流早産は認められなかった。300 mg/kg/日では 7 例中 2 例の母動物が全胚死亡であった。また、着床後胚・胎児死亡率の高値傾向及び生存胎児数の低値が認められた。その他の胚・胎児発生への影響は認められなかった。

以上、300 mg/kg/日の 7 例中 2 例で全胚死亡並びに母動物の体重及び摂餌量の低値が認められた。したがって、本試験の高用量は、300 mg/kg/日が適切であると考えられた。

2.6.6.6.4 ウサギ胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験

添付資料 4.2.3.5.2.3

KLH-2109 コリン塩の 1、3、10、30 及び 100 mg/kg/日を NZW 系ウサギの妊娠 6 から妊娠 18 日までの母動物に経口投与した（2.6.7.11）。

死亡及び一般症状は認められなかった。母動物の体重及び摂餌量に有意な影響は認められなかった。剖検では異常所見は認められなかった。

流早産及び全胚死亡は認められなかった。30 mg/kg/日の 6 例中 5 例、100 mg/kg/日の 6 例中 6 例が不妊動物であった。1、3 及び 10 mg/kg/日で着床数、着床率又は生存胎児数の低値が認められた。胚・胎児発生への影響は認められなかった。

以上、いずれの用量においても母動物に一般毒性学的な影響は認められなかった。一方、30 及び 100 mg/kg/日で不妊動物の頻度増加が認められた。したがって、本試験の高用量は、30 mg/kg/日が適切であると考えられた。

2.6.6.6.5 ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験の用量設定試験（1）

添付資料 4.2.3.5.3.1

KLH-2109 コリン塩の 10、30、100 及び 300 mg/kg/日を SD 系ラットの妊娠 6 日から哺育 20 日までの母動物に経口投与した（2.6.7.11）。

300 mg/kg/日で母動物の死亡が妊娠 22 日に 1 例認められたが、この機序は不明であった。いずれの用量においても、一般症状、体重及び摂餌量に影響は認められなかった。母動物の剖検時に本薬投与に起因した所見は認められなかった。

流早産は認められなかった。出生児に外表異常は認められなかった。妊娠期間及び着床数、出生数、死亡児数、性比、妊娠率、出産率、生後 4 日生存率並びに離乳率への影響は認められなかった。F1 動物に本薬投与に起因した一般症状や剖検所見は認められなかった。また、F1 動物の発育（分化）及び感覚機能、学習・行動、性周期並びに生殖機能にも影響は認められなかった。

F1 妊娠動物の妊娠期間中の体重及び摂餌量に特記すべき変化は認められなかった。

以上、300 mg/kg/日まで明確な毒性が認められなかったため、KLH-2109 コリン塩の 300、600 及び 1000 mg/kg/日を投与する用量設定試験を追加実施した。

2.6.6.6.6 ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験の用量設定試験（2）

添付資料 4.2.3.5.3.2

KLH-2109 コリン塩の 300、600 及び 1000 mg/kg/日を SD 系ラットの妊娠 6 日から哺育 20 日までの母動物に経口投与した（2.6.7.11）。

300 及び 1000 mg/kg/日で母動物の死亡が、それぞれ妊娠 23 及び 22 日に 1 例認められた。本薬投与に起因した一般症状は認められなかった。1000 mg/kg/日で対照群に比して有意な体重及び体重増加量並びに摂餌量の減少が認められた。母動物の剖検時に本薬投与に関連した所見は認められなかった。

流早産は認められなかった。全胚死亡（初期胚死亡）が 300、600 及び 1000 mg/kg/日でそれぞれ 9 例中 2 例、9 例中 3 例及び 8 例中 7 例認められた。関連して妊娠率の低下が認められた。出生児に外表異常は認められなかった。妊娠期間及び着床数、出生児数、死産児数、性比、出生率、生後 4 日生存率、離乳率並びに出生後体重への影響は認められなかった。F1 動物に本薬投与に起因した一般症状や剖検所見は認められなかった。また、F1 動物の発育（分化）及び感覚機能、学習・行動、性周期並びに生殖機能にも影響は認められなかった。F1 妊娠動物の妊娠期間に、一般症状、体重及び摂餌量への影響は認められなかった。

以上、300 及び 1000 mg/kg/日で母動物の死亡がそれぞれ 1 例認められ、300 mg/kg/日以上で全胚死亡（初期胚死亡）が認められた。したがって、本試験の高用量は、300 mg/kg/日が適切であると考えられた。

2.6.6.6.7 雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（妊娠前投与）

添付資料 4.2.3.5.1.2

KLH-2109 コリン塩の 0.16、0.8、4、20 及び 100 mg/kg/日を SD 系ラットの交配前約 4 週間及び交配期間中を通じて交尾成立前日までの雌動物に経口投与した。また、100 mg/kg/日を 4 週

間投与した後に 4 週間休薬させる群を設け、生殖機能及び初期胚発生に対する影響の回復性についても評価した（2.6.7.12A）。

死亡及び投与に関連する一般症状は認められなかった。体重、摂餌量及び剖検において本薬投与に関連する変化は認められなかった。平均性周期日数の延長が 100 mg/kg/日で認められた。また、性周期回数の減少及び異常性周期（周期なし又は不規則）を示す動物数が 20 mg/kg/日以上で増加した。しかし、4 週間の休薬により、本薬投与による性周期への影響に回復傾向が認められた。100 mg/kg/日では交尾所要日数の短縮及び受胎率の低値が認められた。着床数の低値及びこれに伴う着床率及び生存胚数の低値傾向が 20 mg/kg/日以上で認められた。交尾未成立雌動物及び不妊動物の病理組織学検査により、20 mg/kg/日以上の卵巣で大型閉鎖卵胞の増加、大型卵胞の減少及び黄体数の減少が認められた。休薬群では交尾所要日数、受胎率及び胚発生に対する影響は認められなかった。したがって、4 週間の休薬によって受胎及び着床数に対する本薬投与による影響は回復することが確認された。

交配に用いた無処置雄動物に雌の生殖機能の評価に影響を及ぼす所見は認められなかった。

表 2.6.6.6.7-1　雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（妊娠前投与）のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Day 29	0.16	F	1147.6	2.00	15034.8	2.52	2.00	30.93
	0.8	F	6143.8	2.00	81032.0	11.88	3.00	210.81
	4	F	25200.0	2.00	302512.5	52.95	2.00	777.93
	20	F	94190.0	2.00	1124122.5	220.35	2.00	2571.13
	100	F	206200.0	2.00	3001650.0	682.23	2.00	5961.95

F：雌、データは平均値

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩を投与した雌動物において、KLH-2109 及び KP017 の十分な曝露が確認され、投与 29 日の C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量の増加に伴って増加した（表 2.6.6.6.7-1）。

以上、雌親動物（F0）の一般毒性学的無毒性量は 100 mg/kg/日と判断された。20 及び 100 mg/kg/日で性周期及び着床数への影響が認められたことから、雌生殖機能（F0）及び初期胚発生（F1）に対する無毒性量はともに 4 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.6.8 雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（妊娠初期投与）

添付資料 4.2.3.5.1.4

KLH-2109 コリン塩の 100、300 及び 1000 mg/kg/日を SD 系ラットの妊娠 0 日から妊娠 7 日までの母動物に経口投与した（2.6.7.12B）。

死亡及び投与に関連する一般症状は認められなかった。全投薬群において妊娠 1 日以降に母動物の体重増加量の低値が認められた。1000 mg/kg/日の妊娠 1 日の摂餌量に低値が認められたが、妊娠 4 日以降回復した。受胎率に本薬投与による影響は認められず、剖検においても異常は認められなかった。1000 mg/kg/日で受胎産物の小型化が 20 例中 7 例の母動物で認められ、KLH-2109 コリン塩の薬理作用に伴う変化であると推察された。その他、胚発生に対する影響は認められなかった。

以上、100 mg/kg/日以上で母動物の体重増加量抑制が認められたことから、母動物（F0）の一般毒性学的無毒性量は 100 mg/kg/日未満と判断された。1000 mg/kg/日で受胎産物の小型化が認められたことから、雌生殖機能（F0）及び初期胚発生（F1）に対する無毒性量はともに 300 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.6.9 ラット胚・胎児発生に関する試験

添付資料 4.2.3.5.2.2

KLH-2109 コリン塩の 30、100 及び 300 mg/kg/日を SD 系ラットの妊娠 6 日から妊娠 17 日までの母動物に経口投与した（2.6.7.13A）。

死亡及び投与に関連する一般症状は認められなかった。体重増加量、摂餌量及び剖検に特記すべき変化は認められなかった。全胚死亡の母動物が 300 mg/kg/日の 24 例中 3 例に認められた。これに伴い、着床後胚・胎児死亡率の高値傾向及び生存胎児数の低値傾向が同群で認められた。しかし、その他に本薬投与による胚・胎児発生への影響は認められず、催奇形作用も認められなかった。

表 2.6.6.6.9-1　　ラット胚・胎児発生に関する試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Gestation Day 6	30	F	115552.0	2.00	1269690.4	233.06	2.00	2678.28
	100	F	172980.0	2.00	2013104.0	978.02	2.00	6789.97
	300	F	318820.0	2.00	3189237.2	4465.2	2.00	32235.67
Gestation Day 17	30	F	110600.0	2.00	1354532.0	214.66	2.00	2452.06
	100	F	173400.0	2.00	2384012.0	634.90	2.00	6096.98
	300	F	225980.0	2.00	3093440.0	1622.6	2.00	18781.64

F：雌、データは平均値

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩を投与した母動物において KLH-2109 及び KP017 の十分な曝露が確認され、初回投与後及び最終投与後の C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量の増加に伴って増加した（表 2.6.6.6.9-1）。

以上、母動物（F0）の一般毒性学的無毒性量は 300 mg/kg/日と判断された。300 mg/kg/日で 24 例中 3 例の母動物に全胚死亡が認められ、わずかに胚・胎児死亡率の増加傾向が認められたことから、生殖機能（F0）及び胚・胎児発生（F1）に対する無毒性量はともに 100 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.6.10 ウサギ胚・胎児発生に関する試験

添付資料 4.2.3.5.2.4

KLH-2109 コリン塩の 0.3、3 及び 30 mg/kg/日を NZW 系ウサギの妊娠 6 から妊娠 18 日までの母動物に経口投与した（2.6.7.13B）。

死亡及び投与に関連する一般症状は認められなかった。体重増加量、摂餌量及び剖検に特記すべき変化は認められなかった。30 mg/kg/日の 22 例中 15 例が妊娠しなかった。これは KLH-2109 コリン塩の薬理作用による早期胚と子宮間の関係及び妊孕への影響が関連していると推察された。黄体数、着床数、着床率、着床後胚・胎児死亡率、生存胎児数、胎児体重及び胎盤重量のいずれに対しても本薬投与による影響は認められず、催奇形作用も認められなかっ

た。

表 2.6.6.6.10-1　　ウサギ胚・胎児発生に関する試験のトキシコキネティクス成績

Occasion	Dose (mg/kg/day)	Sex	KLH-2109			KP017		
			C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)
Gestation Day 6	0.3	F	4.0	0.50	4.0	17.46	0.80	78.80
	3	F	133.0	1.10	869.7	157.88	1.10	848.69
	30	F	1425.0	0.50	11795.6	869.80	0.50	4808.25
Gestation Day 18	0.3	F	4.4	0.50	4.4	24.37	1.60	114.38
	3	F	186.2	0.50	1499.9	271.38	0.50	1783.78
	30	F	2808.0	0.50	49120.1	528.40	0.50	9228.28

F：雌、データは平均値

トキシコキネティクスでは、KLH-2109 コリン塩を投与した母動物において KLH-2109 及び KP017 の十分な曝露が確認され、初回投与後及び最終投与後の C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与量の増加に伴って増加した（表 2.6.6.6.10-1）。

以上、母動物（F0）の一般毒性学的無毒性量は 30 mg/kg/日と判断された。30 mg/kg/日で 22 例中 15 例が妊娠しなかったことから、生殖機能（F0）に対する無毒性量は 3 mg/kg/日と判断された。30 mg/kg/日において評価に用いた腹数は 7 例であり、胚・胎児発生に対する影響を評価するうえで不十分と判断した。したがって、胚・胎児発生（F1）に対する無毒性量は 3 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.6.11 ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

添付資料 4.2.3.5.3.3

KLH-2109 コリン塩の 30、100 及び 300 mg/kg/日を SD 系ラットの妊娠 6 日から哺育 20 日までの母動物に経口投与した（2.6.7.14A）。

母動物（F0）に関して、死亡及び投与に関連する一般症状は認められなかった。体重、摂餌量及び剖検に特記すべき変化は認められなかった。全胚死亡の母動物が 300 mg/kg/日の 22 例中 3 例に認められた。これに伴い、出産率の低値傾向が同群で認められた。

出生児（F1）に関して、一般症状、体重、発育分化、感覚機能、学習及び行動並びに生殖機能には何ら影響は認められなかった。

以上、母動物（F0）の一般毒性学的無毒性量は 300 mg/kg/日と判断された。300 mg/kg/日で 22 例中 3 例の母動物に全胚死亡が認められ、出産率の低値傾向が認められたことから、生殖機能（F0）に対する無毒性量は 100 mg/kg/日と判断された。出生児（F1）に対する無毒性量は、300 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.7 新生児を用いた試験

実施していない。

2.6.6.8 局所刺激性試験

KLH-2109 コリン塩の臨床適用経路は経口投与であるため、局所刺激性試験を実施していない。

2.6.6.9 その他の毒性試験

2.6.6.9.1 光毒性試験

KLH-2109 コリン塩の光毒性について、*in vitro* 及び *in vivo* 試験により評価した。いずれも GLP 適用試験として実施した。

光毒性試験の概要を表 2.6.6.9.1-1 に示す。

表 2.6.6.9.1-1　　光毒性試験概要

Test type	Cell type or species/strain	Concentration or dose	Result	Study No.
Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay	Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts	7.0–400.0 mg/L	Positive	[redacted]
Single dose study in pigmented rats	Rat/Crl:LE	10, 100, 1000 mg/kg	Negative	[redacted]

2.6.6.9.1.1 Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞株を用いた *in vitro* 光毒性試験

添付資料 4.2.3.7.7.1

KLH-2109 コリン塩の光毒性誘発性を Balb/c マウス 3T3 線維芽細胞を用いて評価した。KLH-2109 コリン塩を曝露させた細胞に 5 J/cm^2 の紫外線 A 波（UVA）を照射した。細胞生存率を細胞への生体染色色素であるニュートラルレッドの取り込み量により測定し、光照射下と非照射下における生存率の比から光毒性を予測した。光毒性誘発性は用量設定試験及び 2 回の確定試験によって判定した。陽性対照物質にはクロルプロマジン（CPZ）を用いた（2.6.7.17.1A）。

KLH-2109 コリン塩の溶媒への溶解度は 847.6 mg/L であり、当該試験系の上限濃度を充足させるものであった。用量設定試験では 0.27～847.6 mg/L 濃度の KLH-2109 コリン塩の光毒性誘発性を検討し、陽性と判定された。

確定試験では、用量設定試験の結果を基に 7.0～400.0 mg/L 濃度の KLH-2109 コリン塩の光毒性誘発性を検討した。その結果、KLH-2109 コリン塩は光毒性陽性と判定された。陽性対照物質の CPZ は濃度依存的に光毒性を誘発した。

2.6.6.9.1.2 有色ラットを用いた単回投与光毒性試験

添付資料 4.2.3.7.7.2

KLH-2109 コリン塩の 10、100 及び 1000 mg/kg を LE 系雌有色ラットに単回経口投与した後、眼及び皮膚に UVR 照射し、光毒性誘発性を検討した。陽性対照物質には 8-メトキシソラレン（8-MOP）を用いた（2.6.7.17.1B）。

UVR 照射前、動物をケタミン及びキシラジンにより麻酔した後、トレイ上に固定した。皮膚へ UVR 照射するために直径 1.3 cm の穴を開けたアルミホイルで動物を覆った。皮膚への UVR 照射時に眼にも UVR 照射した。眼は開眼状態とし、UVR 照射の直前、中、後に滅菌点眼液を点眼した。媒体群及び KLH-2109 群では、UVR 照射は被験物質の濃度が眼及び皮膚で最高となる投与後 8 時間に開始した（2.6.7.17.1B）。8-MOP 投与群では、UVR 照射は投与後 1 時間に開始した。全群で UVR 照射時間は 30 分間とした。照射源には、中緯度での夏の太陽光に相当する光を発する 6.5 kw キセノンランプを用い、UVB 減弱フィルターを用いた。照射時には動物は UVR 照射源から 1.2 メートルの位置に固定し、皮膚及び眼の高さは同一とした。

死亡例は認められなかった。本薬投与に関連する一般症状は観察されず、体重への影響も認

められなかった。本薬投与群では皮膚又は眼に対する光毒性を示唆する反応は眼科学的及び病理組織学的に検出されなかった。8-MOP 群では、低色素皮膚及び高色素皮膚で光毒性を示唆する反応（紅斑及び浮腫）が、眼でも光毒性を示唆する反応（び慢性の角膜表層浮腫）が認められた。

表 2.6.6.9.1.2-1　有色ラットを用いた単回投与光毒性試験のトキシコキネティクス成績

Dose (mg/kg)	Sex	KLH-2109	KP017
		C_{8hr} (ng/mL)	C_{8hr} (ng/mL)
10	F	24215.0	48.34
100	F	133742.5	219.05
1000	F	236125.0	1648.00

F：雌、データは平均値

トキシコキネティクスでは、UVR 照射時の KLH-2109 及びその代謝物である KP017 への曝露が認められた（表 2.6.6.9.1.2-1）。

以上、KLH-2109 コリン塩の 1000 mg/kg までを雌 LE 系有色ラットに単回経口投与した 8 時間後に UVR を単回照射した結果、光毒性を示唆する皮膚及び眼の反応は観察されなかった。

2.6.6.9.2 毒性発現の機序に関する試験

イヌ 4 週間反復投与試験で認められた胆嚢内暗色顆粒及びマウス 13 週間反復投与試験で認められた胆嚢内胆砂の発現機序並びにラット 104 週間反復投与がん原性試験で認められた子宮内膜腺癌の発生頻度の増加の発現機序に関する試験を実施した。

毒性発現の機序に関する試験概要を表 2.6.6.9.2-1 に示す。

表 2.6.6.9.2-1　毒性発現の機序に関する試験概要

Type of Study	Test system	Dose (mg/kg/day)	Study No.
Pharmacokinetic study after 1-week oral administration	Dog/Beagle Monkey/Cynomolgus	10, 100, 1000	[redacted]
Pharmacokinetic study after 1-week oral administration	Mouse/Crl:CD-1(ICR)	0, 40, 200, 750	52167
Saturated solubility of KLH-2109 in human bile	*Ex vivo* human bile	n/a	32061
Saturated solubility of KLH-2109 and its metabolites in dog and mouse bile	*Ex vivo* dog and mouse bile	n/a	52166
Measurement of dopamine levels at hypothalamus in sexually mature and aged female rats	Rat/RccHan:WIST	0, 500	KLH-21027
Effects on sexual hormones in sexually mature female rats after single oral administration	Rat/RccHan:WIST	0, 5, 50, 500, 2000	52257
Effects on sexual hormones and estrous cycle in sexually mature female rats after 2-week repeated oral administration	Rat/RccHan:WIST	0, 5, 50, 500, 2000	52258
Effects on sexual hormones and estrous cycle in aged female rats after 2-week repeated oral administration	Rat/RccHan:WIST	0, 5, 50, 500, 2000	52262

n/a：該当なし

2.6.6.9.2.1 イヌ及びサルにおける 1 週間反復経口投与薬物動態試験

添付資料 4.2.3.7.3.1

KLH-2109 コリン塩の 10、100 及び 1000 mg/kg/日を胆管カニューレを施した雌ビーグル犬及びカニクイザルに 1 週間反復経口投与し、KLH-2109 及びその代謝物の濃度並びに生化学成分を測定した（2.6.7.17.2）。

薬物濃度測定では、イヌ及びサルにおいて KLH-2109 は胆汁及び血漿中の主要成分であった。

イヌにおいては、胆汁中の KLH-2109 の最高濃度は 1000 mg/kg/日での 16763 µg/mL であった。血漿中の KLH-2109 の最高濃度は 100 mg/kg/日での 575 µg/mL であった。

サルにおいては、胆汁中の KLH-2109 の最高濃度は 1000 mg/kg/日での 3603 µg/mL、血漿中の KLH-2109 の最高濃度は 348 µg/mL であった。

KLH-2109 の代謝物の薬物動態は以下のようであった。検出された代謝物の濃度は KLH-2109 に比して低かった。

- KP017：イヌ及びサルの胆汁、血漿及び尿中に検出された。
- KP047：イヌ及びサルの胆汁、血漿及び尿中に検出されなかった。
- KP048：イヌの胆汁、血漿及び尿中に検出された。サルの胆汁中に検出されたが、血漿及び尿中には検出されなかった。
- KP050：イヌの尿中に検出されたが、胆汁及び血漿中には検出されなかった。サルの胆汁、血漿及び尿中に検出された。

イヌにおいて、1000 mg/kg/日の最終投与後 4～12 時間及び 12～24 時間に 1 例の胆汁より回収した胆石の薬物成分及び生化学成分を測定した。その結果、KLH-2109 が最も優位な薬物成分であり、総蛋白が最も優位な生化学成分であった。

生化学成分の測定では、イヌ 4 週間反復投与試験で認められた胆嚢内暗色顆粒の形成と関連する変化は認められなかった。

2.6.6.9.2.2 マウスにおける 1 週間反復経口投与薬物動態試験

添付資料 4.2.3.7.3.2

KLH-2109 コリン塩の 40、200 及び 750 mg/kg/日を ICR 系雌マウスに 1 週間反復経口投与し、胆汁、血漿及び尿中の KLH-2109 及びその代謝物の濃度並びに生化学成分を測定した（2.6.7.17.2）。

薬物濃度測定では、KLH-2109 は胆汁及び血漿中の主要成分であった。胆汁中の KLH-2109 の最高濃度は 750 mg/kg/日での 7490 µg/mL であった。血漿中での KLH-2109 の最高濃度は 750 mg/kg/日での 366 µg/mL であった。

KLH-2109 の代謝物の薬物動態は以下のようであった。検出された代謝物の濃度は KLH-2109 に比して低かった。

- KP017、KP048 及び KP050：胆汁、血漿及び尿中に検出された。
- KP047：胆汁、血漿及び尿中に検出されなかった。

生化学成分の測定では、マウス 13 週間反復投与試験で認められた胆嚢内胆砂の形成と関連する変化は認められなかった。

2.6.6.9.2.3 ヒト胆汁中の KLH-2109 の飽和溶解度

添付資料 4.2.3.7.3.3

ヒト胆汁中での KLH-2109 の飽和溶解度を LC-MS/MS 法により測定し、200 mg/日をヒトに投与したときの胆汁中 KLH-2109 の推定濃度と比較した（2.6.7.17.2）。

平均飽和溶解度は、男性胆汁では5180 µg/mL、女性胆汁では6410 µg/mL、男女胆汁では5850 µg/mL であった。

個別飽和溶解度は、男性胆汁では 3230～6280 µg/mL、女性胆汁では 2700～13500 µg/mL、男女胆汁では 2700～13500 µg/mL であった。

ヒト胆汁中の KLH-2109 の推定最高濃度は、第 I 相試験において 200 mg/日を日本人の健康閉経前女性に 7 日間投与したときの血中曝露量に、10 mg/kg/日（ヒトの 300 mg/日相当）をイヌに投与したとき、又は 40 mg/kg/日（ヒトの 180 mg/日相当）をマウスに投与したときの胆汁曝露量と血中曝露量の比を乗じることにより推定した。ヒト胆汁中の KLH-2109 の推定最高濃度は、ヒト胆汁中での KLH-2109 の平均溶解度の 4.3%～5.7%（イヌデータからの推定）及び 3.2%～4.2%（マウスデータからの推定）であった（表 2.6.6.9.2.3-1）。

また、ヒト成人の胆嚢容積 40～50 mL を考慮したとき、すべての KLH-2109 が胆汁を介して排泄された場合であったとしても、胆汁 40 mL は KLH-2109 の 200 mg/日を溶解するには十分であった。

表 2.6.6.9.2.3-1　臨床用量（200 mg/日）におけるヒト胆汁中 KLH-2109 の推定曝露量

Race	Maximum plasma concentration of KLH-2109 (µg/mL) [a]	Maximum bile concentration of KLH-2109 (µg/mL)		Percentages of the saturated solubility of KLH-2109 in human bile	
		estimated from dog data [b]	estimated from mouse data [c]	estimated from dog data [d]	estimated from mouse data [d]
Japanese premenopausal women	35.2 – 46.9	250 – 333	187 – 249	4.3 – 5.7	3.2 – 4.2
Caucasian premenopausal women	32.5 – 45.7	231 – 324	172 – 242	3.9 – 5.5	2.9 – 4.1

データは最小値と最大値の範囲で示した
[a]：試験番号 KLH1101 の反復投与パートより引用
[b]：イヌに 10 mg/kg（ヒト 300 mg/日相当）を投与したときの胆汁中 KLH-2109 濃度と血漿中 KLH-2109 濃度の比をヒトの血漿中 KLH-2109 濃度に乗じることにより算出
[c]：マウスに 40 mg/kg（ヒト 180 mg/日相当）を投与したときの胆汁中 KLH-2109 濃度と血漿中 KLH-2109 濃度の比をヒトの血漿中 KLH-2109 濃度に乗じることにより算出
[d]：ヒト胆汁中の KLH-2109 の飽和溶解度である 5850 µg/mL との比較

2.6.6.9.2.4 イヌ及びマウス胆汁中の KLH-2109 及び代謝物の飽和溶解度

添付資料 4.2.3.7.3.4

KLH-2109 コリン塩の高用量を投与したイヌ及びマウスの胆嚢内に形成された異常内容物の発現機序検討のため、イヌ及びマウス胆汁中での KLH-2109、KP017、KP047、KP048 及び KP050 の飽和溶解度を LC-MS/MS 法により測定した（2.6.7.17.2）。

KLH-2109 コリン塩の 1000 mg/kg/日をイヌに投与した時の KLH-2109 の胆汁中濃度は 16763 µg/mL であった（試験番号 [redacted] – 2.6.6.9.2.1）。KLH-2109 コリン塩の 750 mg/kg/日を

マウスに投与した時の KLH-2109 の胆汁中濃度は 7490 µg/mL であった（試験番号 52167 – 2.6.6.9.2.2）。イヌ及びマウスにおける KLH-2109 の胆汁中濃度は KLH-2109 の胆汁中飽和溶解度を上回っていたことから、胆嚢所見の発現機序は胆汁中の KLH-2109 濃度が胆汁中の溶解度を超えて析出したことに起因するものと推察された（表 2.6.6.9.2.4-1）。

表 2.6.6.9.2.4-1　イヌ及びマウス胆汁中の平均飽和溶解度

Species	Test article / metabolite	Mean saturated solubility (µg/mL)
Dog	KLH-2109	5850
	KP017	4530
	KP047	31300
	KP048	67100
	KP050	13200
Mouse	KLH-2109	6330
	KP017	4800
	KP047	35300
	KP048	88200
	KP050	11400

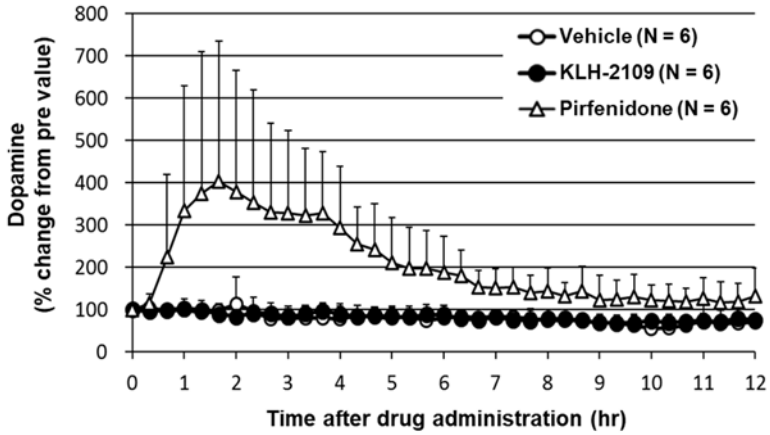
2.6.6.9.2.5 性成熟及び加齢雌ラットを用いた単回経口投与後の視床下部におけるドパミン濃度の測定

添付資料 4.2.3.7.3.5

KLH-2109 コリン塩の 500 mg/kg を非拘束下で性成熟（10～13 週齢）及び加齢（25～31 週齢）Wistar 系雌ラットに単回経口投与したときの視床下部における細胞外ドパミン濃度を測定した（2.6.7.17.2）。

実験期間を通じて膣垢により性周期を観察した。事前に留置したガイドカニューレから透析プローブを視床下部に挿入し、細胞外ドパミン濃度をマイクロダイアリシス法により測定した。ドパミン濃度は、20 分毎に採取した透析液を電気化学検出器を連結した HPLC 装置に自動注入し測定した。

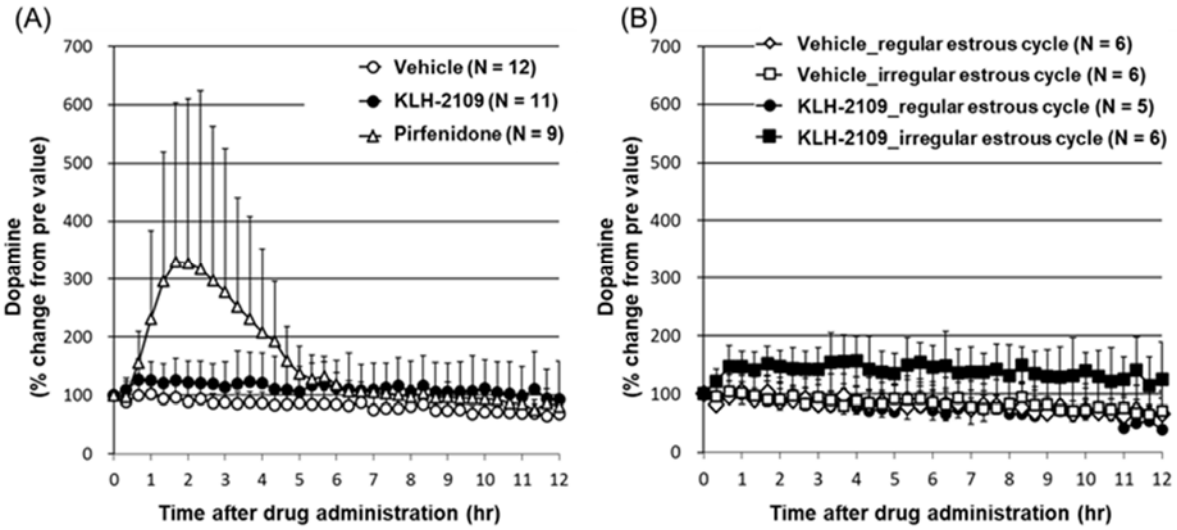
性成熟雌ラットでは、KLH-2109 コリン塩はドパミン濃度に影響を及ぼさなかった（図 2.6.6.9.2.5-1）。



データはベースラインからの変化率の平均値 ± 標準偏差、括弧内は実験例数

図 2.6.6.9.2.5-1　KLH-2109 コリン塩投与後の性成熟雌ラット視床下部における細胞外ドパミン濃度の時間推移

加齢雌ラットでは、KLH-2109 コリン塩による影響を性周期別に解析した。発情期又は発情休止期を 3 日以上連続して示した場合、異常な性周期と判断した。正常な性周期を示す加齢雌ラットでは、KLH-2109 コリン塩はドパミン濃度に影響を及ぼさなかった。異常な性周期を示す加齢雌ラットでは、KLH-2109 コリン塩はドパミン濃度を約 1.5 倍増加させた。ドパミン濃度の増加は 12 時間の測定時間を通じて認められ、KLH-2109 コリン塩の血漿中曝露推移との関連性は認められなかった（図 2.6.6.9.2.5-2）。



(A)：正常性周期及び異常性周期の統合データ、(B)：正常性周期と異常性周期別のデータ
データはベースラインからの変化率の平均値 ± 標準偏差、括弧内は実験例数

図 2.6.6.9.2.5-2　KLH-2109 コリン塩投与後の加齢雌ラット視床下部における細胞外ドパミン濃度の時間推移

陽性対照物質として用いたピルフェニドンは、性成熟及び加齢雌ラットの視床下部ドパミン濃度を増加させた。

以上、KLH-2109 コリン塩の 500 mg/kg の単回経口投与は、性成熟雌ラット及び正常な周期を示す加齢雌ラットのドパミン濃度に影響を及ぼさなかったが、異常な性周期を示す加齢雌ラットのドパミン濃度をわずかに増加させた。

2.6.6.9.2.6 性成熟雌ラットへの単回経口投与による性ホルモンへの影響

添付資料 4.2.3.7.3.6

KLH-2109 コリン塩の 5、50、500 及び 2000 mg/kg/日を性成熟 Wistar 系雌ラット（10 週齢）に単回経口投与し、血漿中プロラクチン（PRL）、エストラジオール（E2）及びプロゲステロン（P4）濃度並びに E2/P4（E/P）比への影響を評価した（2.6.7.17.2）。

死亡及び特記すべき一般症状は認められなかった。

KLH-2109 コリン塩は PRL、E2 及び P4 濃度並び E/P 比に影響を及ぼさなかった（表 2.6.6.9.2.6-1）。

陽性対照群ではブロモクリプチンメシル酸塩の 5 mg/kg/日を単回経口投与した。ブロモクリプチンは、PRL 濃度を顕著に低下させた。

以上、KLH-2109 コリン塩の 5～2000 mg/kg の単回経口投与は、性成熟雌ラットの血漿中 PRL、

E2 及び P4 濃度並びに E/P 比に影響を及ぼさなかった。

表 2.6.6.9.2.6-1　性成熟雌ラットへ単回経口投与したときの性ホルモン濃度

Dose (mg/kg)	Prolactin (ng/mL)	Estradiol (pg/mL)	Progesterone (ng/mL)	E/P ratio
0	24.4 ± 22.6	0.300 ± 0.000	9.66 ± 2.12	0.0324 ± 0.00704
5	19.1 ± 11.2	0.300 ± 0.000	8.35 ± 2.01	0.0375 ± 0.00754
50	33.8 ± 43.7	0.300 ± 0.000	8.07 ± 3.77	0.0438 ± 0.0176
500	42.9 ± 66.8	0.667 ± 0.971	10.2 ± 3.87	0.0757 ± 0.116
2000	18.8 ± 14.3	0.300 ± 0.000	8.72 ± 3.48	0.0394 ± 0.0153

データは平均値 ± 標準偏差

2.6.6.9.2.7 性成熟雌ラットへの 2 週間反復経口投与による性ホルモン及び性周期への影響

添付資料 4.2.3.7.3.7

KLH-2109 コリン塩の 5、50、500 及び 2000 mg/kg/日を性成熟 Wistar 系雌ラット（10 週齢）に 2 週間反復経口投与し、性周期、血漿中 PRL、E2 及び P4 濃度、E/P 比、並びに卵巣、子宮、膣、乳腺及び下垂体へ及ぼす影響を評価した（2.6.7.17.2）。

投与期間を通じて死亡及び特記すべき一般症状は認められなかった。

50 mg/kg/日では、E2 濃度及び E/P 比の高値が認められたが、いずれの臓器・組織でも E2 優位を示唆する病理組織学的所見は認められなかった。50 及び 500 mg/kg/日では、性周期の延長及び異常性周期（持続休止期又は持続発情期）を示す動物の発現頻度の増加が認められた。50 mg/kg/日以上では、卵巣重量の低値、大型閉鎖卵胞数及び未破裂卵胞数の増加並びに黄体数の減少が認められた。2000 mg/kg/日では、性周期の停止、E2 及び P4 濃度の低値、E/P 比の低値、下垂体及び生殖器重量の低値並びに萎縮性変化が認められた。KLH-2109 コリン塩は PRL 濃度に意義のある影響を及ぼさなかった（表 2.6.6.9.2.7-1）。

以上、KLH-2109 コリン塩の 5～2000 mg/kg を性成熟雌ラットへ 2 週間反復投与した結果、50 mg/kg/日で血漿中 E2 濃度及び E/P 比の高値が認められたが、雌生殖器における E2 優位を示唆する変化は認められなかった。

表 2.6.6.9.2.7-1　性成熟雌ラットへ 2 週間反復経口投与したときの性ホルモン濃度

Dose (mg/kg/day)	Prolactin (ng/mL)	Estradiol (pg/mL)	Progesterone (ng/mL)	E/P ratio
0	7.28 ± 6.32	7.09 ± 7.20	5.32 ± 2.08	1.91 ± 2.07
5	17.3 ± 22.6	9.74 ± 9.72	6.02 ± 2.14	2.07 ± 2.25
50	112 ± 222	18.4 ± 13.1	4.10 ± 1.39	4.49 ± 3.11
500	108 ± 276	9.31 ± 11.6	3.43 ± 2.29	2.35 ± 1.73
2000	3.13 ± 3.78	0.474 ± 0.234	2.04 ± 0.750[a]	0.263 ± 0.169

データは平均値 ± 標準偏差
[a]：p<0.001（Dunnet の多重比較検定）

2.6.6.9.2.8 加齢雌ラットへの 2 週間反復経口投与による性ホルモン及び性周期への影響

添付資料 4.2.3.7.3.8

KLH-2109 コリン塩の 5、50、500 及び 2000 mg/kg/日を異常な性周期（持続休止期又は持続発情期）を示す加齢 Wistar 系雌ラット（7～8 ヵ月齢）に 2 週間反復経口投与し、性周期、血漿中 PRL、E2 及び P4 濃度、E/P 比、並びに卵巣、子宮、膣、乳腺及び下垂体へ及ぼす影響を評価した（2.6.7.17.2）。

投与期間を通じて死亡及び特記すべき一般症状は認められなかった。

50 mg/kg/日以上で E2 濃度の低値が、500 mg/kg/日以上で P4 濃度の低値が認められた。E/P 比はいずれの用量にも変化はなかった。2000 mg/kg/日では、投与期間中に性周期が持続休止期から持続発情期に転換した。この変化は本薬の薬理作用とは相反する変化であり、機序は不明であった。KLH-2109 コリン塩は PRL 濃度に影響を及ぼさなかった（表 2.6.6.9.2.8-1）。

臓器重量及び病理組織学的検査では、本薬投与に関連した所見は認められなかった。

以上、KLH-2109 コリン塩の 5～2000 mg/kg を異常な性周期を示す加齢雌ラットに 2 週間反復投与した結果、血漿中 E2 濃度及び E/P 比への影響並びに雌生殖器における E2 優位を示唆する変化は認められなかった。

表 2.6.6.9.2.8-1　加齢雌ラットへ 2 週間反復経口投与したときの性ホルモン濃度

Dose (mg/kg/day)	Prolactin (ng/mL)	Estradiol (pg/mL)	Progesterone (ng/mL)	E/P ratio
0	25.4 ± 31.1	13.6 ± 19.7	29.3 ± 26.4	0.818 ± 0.913
5	17.1 ± 10.6	13.3 ± 14.4	267 ± 599	1.77 ± 2.12
50	24.3 ± 26.8	6.30 ± 5.20	227 ± 580	1.12 ± 1.37
500	17.3 ± 25.8	4.08 ± 3.06	7.81 ± 5.98	0.775 ± 0.604
2000	12.2 ± 11.3	1.42 ± 1.13	6.86 ± 4.57	0.557 ± 0.768

データは平均値 ± 標準偏差

2.6.6.9.3 不純物の毒性試験

2.6.6.9.3.1 潜在的不純物に関する細菌を用いる復帰突然変異試験

添付資料 4.2.3.7.6.1、4.2.3.7.6.2、4.2.3.7.6.3、4.2.3.7.6.4、4.2.3.7.6.5、4.2.3.7.6.6、4.2.3.7.6.7

KLH-2109 コリン塩の潜在的不純物の変異原性を評価するために、サルモネラ・チフス菌 TAl00 株、TA98 株、TA1535 株及び TA1537 株、並びに大腸菌 WP2*uvrA*/pKM101 株を用いた復帰突然変異試験を実施した（2.6.7.17.3）。代謝活性化系存在化及び非存在下のプレインキュベーション法を用いて実施し、5000 μg/プレートの濃度まで評価した。

不純物A＊ については、代謝活性化系の有無に関わらず、TAl00 及び WP2*uvrA*/pKM101 において変異原性が認められた。不純物B＊ については、代謝活性化系存在下の TA100 及び TA1535 において変異原性が認められた。不純物C＊ については、代謝活性化系の有無に関わらず、TA100 において変異原性が認められた。代謝活性化系存在下の WP2*uvrA*/pKM101 において変異原性が認められた。

KLH-2109、不純物D＊、不純物E＊ 及び 不純物F＊ については、代謝活性化系の有無に関わらず、5 菌株のいずれにおいても変異原性は認められなかった。

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.10 考察及び結論

KLH-2109 コリン塩の製造販売承認申請のため、GLP 適用の毒性試験を実施した。GLP 適用の毒性試験として、単回投与毒性試験、39 週間までの反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験及び光毒性試験を実施した。加えて、イヌ及びマウスの反復投与試験において認められた胆嚢内の異常内容物の発現機序を検討するための *ex vivo* 及び *in vivo* 試験、並びにラットのがん原性試験における子宮内膜腺癌の発現頻度のわずかな増加の機序を検討するための性成熟及び加齢ラットを用いた視床下部のドパミン、血中の PRL、E2 及び P4 を測定する試験を実施した。

すべての重要な試験で用いた被験物質は、臨床試験に用いた被験物質と同等の品質であり、市販のための規格値を満たすものであった。毒性試験では、適切な薬物曝露を確認するためのトキシコキネティクス評価を実施した。

単回投与毒性試験では、概略の致死量はラット及びサルでは 2000 mg/kg 超、イヌでは 1000 mg/kg 超であった。単回投与毒性試験における毒性所見は認められなかった。

KLH-2109 コリン塩の反復投与毒性について、ラットを用いた 4 週間投与試験（20、200 及び 2000 mg/kg/日）、13 週間投与試験（50、150、500 及び 1500 mg/kg/日）及び 26 週間投与試験（50、200 及び 1000 mg/kg/日）、サルを用いた 4、13 及び 39 週間投与試験（いずれの試験も 10、100 及び 1000 mg/kg/日）、マウスを用いた 13 週間投与試験（40、750、1500 mg/kg/日）により評価した。加えて、イヌを用いた 4 週間投与試験（10、100、1000 mg/kg/日）を実施し、KLH-2109 コリン塩が肝臓に及ぼす影響を評価した。イヌ 4 週間投与試験では胆嚢内に暗色顆粒が認められたことから、発現機序に関する試験も実施した。

ラットの 4、13 及び 26 週間反復投与試験、サルの 4、13 及び 39 週間反復投与試験、イヌの 4 週間反復投与試験並びにマウスの 13 週間反復投与試験を実施した結果、マウスの 1500 mg/kg/日で死亡例が認められた以外、重篤な毒性はみられず、GnRH 受容体アンタゴニストとしての KLH-2109 コリン塩の薬理作用に由来すると考えられる生殖器の萎縮が主に認められた。これらの萎縮性所見はいずれの投与期間においても同質であり、その回復性も認められている。

4 週間反復投与試験では、雌ラットの 2000 mg/kg/日で体重増加、赤血球数の低値及び腎尿細管障害が、雌サルの 1000 mg/kg/日で軽度な血清肝逸脱酵素の上昇が、雌イヌの 1000 mg/kg/日で軽度な血清肝逸脱酵素の上昇及び胆嚢内に暗色顆粒が認められたことより、雌動物の無毒性量はラットでは 200 mg/kg/日、サルでは 100 mg/kg/日、イヌでは 100 mg/kg/日と判断された。

13 週間反復投与試験では、雌ラットの 1500 mg/kg/日で体重増加、甲状腺ホルモン合成低下を示唆する軽度な甲状腺濾胞の拡張及び軽度な腎尿細管障害が、雌サルの 100 mg/kg/日以上で軽度な血清肝逸脱酵素の上昇が、雌マウスの 750 mg/kg/日以上で胆嚢内胆砂及び腎尿細管障害が認められたことより、雌動物の無毒性量はラットでは 500 mg/kg/日、サルでは 10 mg/kg/日、マウスでは 40 mg/kg/日と判断された。

ラット 26 週間反復投与試験では、雌の 1000 mg/kg/日で体重増加及び軽度な甲状腺濾胞の拡張が認められたことより、雌動物の無毒性量は 200 mg/kg/日と判断された。

サル 39 週間反復投与試験では、雌の 100 mg/kg/日以上で軽度な血清肝逸脱酵素の上昇が認められたことより、雌動物の無毒性量は 10 mg/kg/日と判断された。

反復投与毒性試験において実施されたトキシコキネティクス評価では、KLH-2109 の吸収は

良好であり、蓄積性はないことが確認されている。

反復投与毒性試験の無毒性量における TK パラメータを表 2.6.6.10-1 に示す。

表 2.6.6.10-1　　反復投与毒性試験の無毒性量における TK パラメータ

Species (study No.)	Duration (weeks)	NOAEL (mg/kg/day)	Exposure in females at NOAEL			
			KLH-2109		KP017	
			C_{max} [ng/mL] total *free*	AUC_{0-24} [ng·hr/mL] total *free*	C_{max} [ng/mL] total *free*	AUC_{0-24} [ng·hr/mL] total *free*
Rat (11076)	4	200	202000	3202878	1003	8600
			1111	*17616*	*6*	*47*
Rat (11090)	13	500	292000	4350000	1470	12100
			1606	*23925*	*8*	*67*
Rat (11093)	26	200	174000	2700000	1080	12800
			957	*14850*	*6*	*70*
Monkey ([redacted])	4	100	110927	1132970	1804	17462
			4104	*41920*	*35*	*341*
Monkey ([redacted])	13	10	40200	282000	334	2220
			1487	*10434*	*7*	*43*
Monkey ([redacted])	39	10	26200	310000	332	3670
			969	*11470*	*6*	*72*
Mouse ([redacted])	13	40	216000	2090000	5270	80100
			3348	*32395*	*171*	*2603*
Dog ([redacted])	4	100	137000	2200000	34	422
			not calculated	*not calculated*	*not calculated*	*not calculated*

非結合形の C_{max} 及び AUC_{0-24}：KLH-2109 の非結合形分率；マウス 1.55%、ラット 0.55%、サル 3.7%、ヒト 0.8%（試験番号 DMPK[redacted]-0065）、KP017 の非結合形分率；マウス 3.25%、ラット 0.55%、サル 1.95%、ヒト 0.5%（試験番号 DMPK[redacted]-0011）

臨床用量（200 mg/日）におけるヒト定常状態での曝露量を表 2.6.6.10-2 に示す。

表 2.6.6.10-2　　臨床用量（200 mg/日）におけるヒト定常状態での曝露量

Species (study No.)	Duration (Days)	Dose (mg/day)	KLH-2109		KP017	
			C_{max} [ng/mL] total *free*	AUC_{τ} [ng·hr/mL] total *free*	C_{max} [ng/mL] total *free*	AUC_{τ} [ng·hr/mL] total *free*
Human (KLH1101)	9 [a]	200	41880.5	412144.6	2159.0	19676.1
			335	*3297*	*11*	*98*

試験番号 KLH1101：CSR Tables 14.2.1-12 / 14.2.1-16 より引用

[a]：Day 3～9 の 7 日間、治験薬を反復投与

反復投与毒性試験の無毒性量における曝露量と臨床用量（200 mg/日）におけるヒト曝露量の比較を表 2.6.6.10-3 に示す。

表 2.6.6.10-3　反復投与毒性試験の無毒性量における曝露量と臨床用量（200 mg/日）におけるヒト曝露量の比較

Species (study)	Duration (weeks)	NOAEL (mg/kg/day)	Therapeutic index	
			KLH-2109	
			C_{max} total *free*	AUC_{0-24} total *free*
Rat (11076)	4	200	4.8	7.8
			3.3	*5.3*
Rat (11090)	13	500	7.0	10.6
			4.8	*7.3*
Rat (11093)	26	200	4.2	6.6
			2.9	*4.5*
Monkey ([redacted])	4	100	2.6	2.7
			12.3	*12.7*
Monkey ([redacted])	13	10	1.0	0.7
			4.4	*3.2*
Monkey ([redacted])	39	10	0.6	0.8
			2.9	*3.5*
Mouse ([redacted])	13	40	5.2	5.1
			10.0	*9.8*
Dog ([redacted])	4	100	3.3	5.3
			not calculated	*not calculated*

非結合形の C_{max} 及び AUC_{0-24}: KLH-2109 の非結合形分率；マウス 1.55%、ラット 0.55%、サル 3.7%、ヒト 0.8%（試験番号 DMPK[redacted]-0065）

サルにおける血清肝逸脱酵素の上昇に関しては、サルの 13 週間反復投与試験及び 39 週間反復投与試験の無毒性量である 10 mg/kg/日における曝露量（13 週間反復投与試験での AUC_{0-24}: 282000 ng•hr/mL 又は 39 週間反復投与試験での AUC_{0-24}: 310000 ng•hr/mL）と第 I 相試験において 200 mg/日を日本人の健康閉経前女性に 7 日間投与したときの曝露量（AUC_{τ}: 412144.6 ng•hr/mL）の比較において十分な安全域は得られなかった。しかしながら、サルの 39 週間反復投与試験では、200 mg/日を日本人の健康閉経前女性に 7 日間投与したときの曝露量の 7 倍の曝露量（AUC_{0-24}: 2910000 ng•hr/mL）を示す 1000 mg/kg/日においても肝毒性を示唆する病理組織学的変化は認められず、血清肝逸脱酵素の上昇に関する回復性も良好であった。

腎尿細管障害がマウスの 13 週間反復投与試験での 750 mg/kg/日以上及びラットの 13 週間反復投与試験での 1500 mg/kg/日で認められた。腎尿細管障害は Tg-rasH2 マウス 26 週間反復投与がん原性試験での最高用量である 500 mg/kg/日及びラット 26 週間反復投与試験での最高用量である 1000 mg/kg/日では認められなかった。両試験における定常状態での曝露量は、マウスでは 5290000 ng•hr/mL、ラットでは 3920000 ng•hr/mL であり、200 mg/日を日本人の健康閉経前女性に 7 日間投与したときの曝露量（AUC_{τ}: 412144.6 ng•hr/mL）と比較したときに、マウスでは 13 倍、ラットでは 9.5 倍の安全域が得られていることから、安全性に関する懸念は低いものと考えられた。

ラット 26 週間反復投与試験における 1000 mg/kg/日の雌で認められた甲状腺濾胞の拡張に関しては、10 週間の回復期間後の完全な回復性が確認された。ラット 26 週間反復投与試験での無毒性量 200 mg/kg/日における曝露量（AUC_{0-24}: 2700000 ng•hr/mL）と 200 mg/日を日本人の健康閉経前女性に 7 日間投与したときの曝露量（AUC_{τ}: 412144.6 ng•hr/mL）を比較したときに 6.6 倍の安全域が得られていることから、安全性に関する懸念は低いものと考えられた。

イヌ 4 週間反復投与試験における胆嚢内暗色顆粒及びマウス 13 週間反復投与試験における胆嚢内胆砂に関しては、発現機序に関する試験を実施した。その結果、胆嚢所見を誘発した用量を投与した動物の胆汁中の KLH-2109 濃度は、胆汁中の飽和溶解度を上回っていたことから、これら所見の発現機序は胆汁中の KLH-2109 濃度が胆汁中の溶解度を超えて析出したことに起因するものと推察された。また、リスク評価の結果、200 mg/日を投与したヒト胆汁中の KLH-2109 の推定濃度は、ヒト胆汁中の KLH-2109 の飽和溶解度の 3.2%～5.7%であったことから、ヒトにおいて胆嚢所見が発現する可能性は低いものと考えられた。

遺伝毒性試験では *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施し、点変異、染色体損傷、ラット骨髄細胞における小核及びラット肝臓における DNA 損傷を調べることにより、KLH-2109 コリン塩の変異原性及び染色体異常誘発性を評価した。*in vitro* 染色体異常試験では最高用量で陽性であったが、最高用量では著明な細胞増殖抑制が認められたこと、また、*in vivo* 試験である小核試験及び UDS 試験ではいずれも陰性であったことから、毒性学的意義は無いものと判断された。したがって、KLH-2109 コリン塩は臨床使用において遺伝毒性を示さないものと判断された。

KLH-2109 コリン塩のがん原性について、ラット 104 週間反復投与試験及び Tg-rasH2 マウス 26 週間反復投与試験により評価した。

Tg-rasH2 マウス 26 週間反復投与がん原性試験における投与量は、雄では 15、50 及び 250 mg/kg/日、雌では 15、50 及び 500 mg/kg/日とした。対照群として、媒体又は注射用水を投与する対照群を設けた。また、*N*-methyl-*N*-nitrosourea を腹腔内投与する陽性対照群を設けた。雌雄とも、本薬投与群の生存率は媒体対照群と同程度であり、本薬投与による発がんは認められなかった。本薬投与に関連した所見は、用量設定試験として実施した non-Tg-rasH2 マウス 4 週間反復投与試験における所見と類似していた。

ラット 104 週間反復投与がん原性試験における投与量は、5、50 及び 500 mg/kg/日とした。媒体又は注射用水を投与する対照群 2 群を設けた。雌雄とも本薬投与群の生存率は媒体対照群と同程度であり、本薬投与による発がんは認められなかった。ラット 104 週間反復投与がん原性試験において認められた子宮内膜腺癌及び乳腺腺癌の発生頻度の増加は、本薬投与に関連した腫瘍ではないと結論されている [1)]。本試験では、統計学的に有意な子宮内膜腺癌の発生頻度の増加が、両対照群との傾向検定並びに 50 及び 500 mg/kg/日群と水対照群との対比較において認められた。50 及び 500 mg/kg/日群での発生頻度は試験実施施設における発生頻度を上回っていた。一方、媒体対照群での子宮内膜腺癌の発生頻度も試験実施施設における発生頻度を上回っていた。投薬群と媒体対照群を比較したとき、発生頻度の増加は傾向検定においてのみ認められ、対比較では統計学的有意差は認められなかった。ラットにおける子宮内膜腺癌の可能性のある誘発機序として、遺伝毒性、直接的エストロゲン作用、ホルモン攪乱作用、ドパミン拮抗作用の 4 つが考えられている [2)]。本薬は *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験において陰性であった（試験番号 11077 – 2.6.6.4.1.1、試験番号 11078 – 2.6.6.4.1.2、試験番号 [redacted] – 2.6.6.4.2.1、試験番号 11079 – 2.6.6.4.2.2）。さらに、Tg-rasH2 マウス 26 週間反復投与がん原性試験（試験番号 [redacted] – 2.6.6.5.3）では本薬は発がん性を示さなかった。以上より、遺伝毒性が発現機序であることは除外できる。残り 3 つの機序に基づく場合、内膜過形成が腺癌の前癌病変として認められる [2), 3)]。ラット 104 週間反復投与がん原性試験では腺上皮及び内腔上皮由来の 3 種類の過形成病変が認められたが、本薬投与群において過形成病変の発生頻度の増加及び

投与量との関連性は認められなかった。加えて、過形成病変が進行した子宮内膜腺腫も認められなかった。さらに、子宮内膜腺癌が偶発的所見であり、ヒトでのがん原性リスクが低いことを示す追加根拠が 2 つある。第一に、ラット 104 週間反復投与がん原性試験の 500 mg/kg/日での子宮内膜腺癌の発生頻度（16.7%、10/60 例）は、既報の Wistar 系ラットのがん原性試験における自然発生性の子宮内膜腺癌の発生頻度（～14%）及び Wistar 系ラットにおける一生涯試験の発生頻度（39%）と比較したときに同等以下であった。第二に、げっ歯類及びヒトの両方で、プロゲステロンによる拮抗作用を受けないエストロゲンが相対的に優位な状態又は血清 E/P 比の高値が共通した子宮内膜腺癌の誘発機序であると報告されている [2]。しかしながら、本薬の薬理作用は下垂体前葉からの黄体ホルモン（LH）及び卵胞刺激ホルモン（FSH）の放出を抑制し、引き続いて卵巣でのエストロゲン及びプロゲステロン産生を抑制するものである。エストロゲン優位な状態でないことは Wistar 系ラットを用いた発現機序に関する試験において確認されており、プロラクチン値に意義ある影響を及ぼさないことが確認されている（試験番号 52257 – 2.6.6.9.2.6、試験番号 52258 – 2.6.6.9.2.7、試験番号 52262 – 2.6.6.9.2.8）。最終的に、視床下部におけるドパミン濃度を測定する試験を実施した結果、意義あるドパミンの高値は認められなかった（試験番号 KLH-21027 – 2.6.6.9.2.5）。

乳腺腺癌に関しては、統計学的に有意な発生頻度の増加が両対照群との対比較において 50 mg/kg/日で認められた。その発生頻度（28.3%）は試験実施施設の発生頻度（平均：13.2%、幅：7%～20%）を上回っていた。しかしながら、傾向検定において有意な正の傾向は認められず、500 mg/kg/日における発生頻度は 5 及び 50 mg/kg/日に比して低かった。乳腺における腺腫、線維腺腫又は腺癌の前癌病変と考えられている小葉胞状過形成 [4]の発生頻度は、50 及び 500 mg/kg/日群の雌では対照群に比して低く、他の型の乳腺腫瘍の発生頻度の増加は本薬投与群では認められなかった。加えて、前癌病変として知られる乳腺の異形過形成 [5]は雌では認められなかった。また、KLH-2109 コリン塩は遺伝毒性を示さず、Tg-rasH2 マウス 26 週間反復投与がん原性試験（試験番号 [redacted] – 2.6.6.5.3）における発がん性も認められなかった。なお、ラット 104 週間反復投与がん原性試験における投与 26 及び 52 週目の曝露量と 200 mg/日を日本人の健康閉経前女性に 7 日間投与したときの曝露量（AUC_{τ}: 412144.6 ng•hr/mL）の比は、50 mg/kg/日ではそれぞれ 7.7 倍及び 6.6 倍、500 mg/kg/日ではそれぞれ 9.8 倍及び 9.3 倍であった。以上、500 mg/kg/日における子宮内膜腺癌の発生頻度の増加及び 50 mg/kg/日の雌における乳腺腺癌の発生頻度の増加は、本薬投与に関連しないものと考えられた。

生殖発生毒性試験では、雌ラットの受胎能及び初期胚発生に関する試験（妊娠前投与、0.16、0.8、4、20 及び 100 mg/kg/日）において、KLH-2109 コリン塩を妊娠前に約 4 週間反復投与した結果、20 及び 100 mg/kg/日で性周期及び着床数への影響が、100 mg/kg/日で受胎率への影響が認められた。しかしながら、100 mg/kg/日における受胎能への影響は 4 週間の休薬により回復したことから、KLH-2109 コリン塩は女性の生殖機能に不可逆的な影響を及ぼさないと考えられた。また、雌ラットの初期胚発生に関する試験（妊娠初期投与、100、300 及び 1000 mg/kg/日）において、1000 mg/kg/日で受胎産物の小型化が認められた。ラット胚・胎児発生に関する試験（30、100 及び 300 mg/kg/日）及びウサギ胚・胎児発生に関する試験（0.3、3 及び 30 mg/kg/日）では、器官形成期の雌ラット及び雌ウサギに KLH-2109 コリン塩を投与した結果、いずれの動物種においても催奇形性を示さなかった。しかしながら、ラットの

300 mg/kg/日で全胚死亡の母動物数の増加及び胚・胎児死亡の増加傾向が認められ、ウサギの30 mg/kg/日ではほとんどの動物が妊娠しなかった。これらラット及びウサギの胚・胎児発生に対する影響は、KLH-2109 コリン塩の薬理作用に起因する可能性が推察された。ラット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において、300 mg/kg/日で全胚死亡の母動物数の増加及び出産率の低値傾向が認められた。ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験における生殖機能（F0）及び胚・胎児発生（F1）に対する無毒性量における曝露量と200 mg/日を日本人の健康閉経前女性に 7 日間投与したときの曝露量（AUC_{τ}: 412144.6 ng•hr/mL）を比較したときの安全域は、それぞれ 5.8 倍及び 0.004 倍であった。したがって、妊婦又は妊娠している可能性のある女性では KLH-2109 コリン塩の使用を避けるべきであると考えられた。

光毒性は *in vitro* 及び *in vivo* 試験で評価した。ラットに 10、100 及び 1000 mg/kg を投与した結果、KLH-2109 コリン塩は光毒性を示唆する反応を誘発しなかったことから、KLH-2109 コリン塩は臨床使用において光毒性を示さないと考えられた。

以上、ラット、サル、マウス及びイヌを用いた毒性評価では、過剰な薬理作用に基づく所見が認められたが、懸念すべき毒性は認められなかった。遺伝毒性、がん原性、光毒性並びにラット及びウサギにおける予期しない生殖毒性は認められなかった。毒性試験パッケージは KLH-2109 コリン塩の 200 mg/日までの臨床投与量の長期投与の安全性をサポートするものであった。

2.6.6.11 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.6.12 参考文献

1) Okazaki Y. Assessment report on incidences of uterine endometrial adenocarcinoma and female mammary gland adenocarcinoma found in the 104-week rat carcinogenicity study of KLH-2109 Choline (linzagolix). Assessment report. [redacted]

2) Klaunig JE, Dekant W, Plotzke K, et al. Biological relevance of decamethylcyclopentasiloxane (D5) induced rat uterine endometrial adenocarcinoma tumorigenesis: Mode of action and relevance to humans. Regul Toxicol Pharmacol. 2016, 74: S44-S56.

3) Dunnick JK, Sanders JM, Kissling GE, et al. Environmental chemical exposure may contribute to uterine cancer development: studies with tetrabromobisphenol A. Toxicol Pathol. 2015, 43: 464-473.

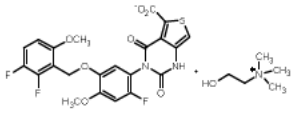
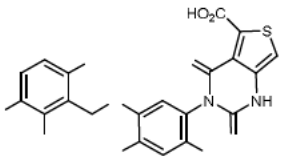
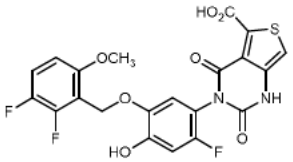
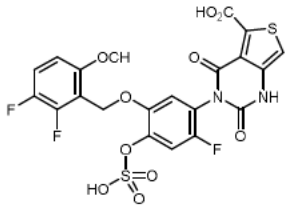
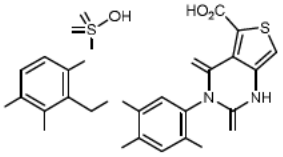
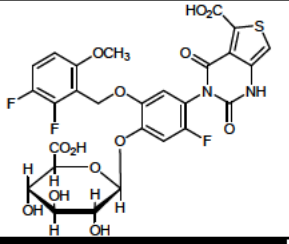
4) Eighmy JJ, Sharma AK, Blackshear PE. Chapter 21 - Mammary gland A2. In: Boorman's Pathology of the Rat. 2nd ed. Academic Press; Boston; 2018, 369-388.

5) Greaves P. Mammary Gland. In: Histopathology of Preclinical Toxicity Studies. 4th ed. London: Elsevier B. V; 2012, 69-97.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 5
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 5
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 11
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 12
2.6.7.4 毒性試験：使用ロット 17
2.6.7.5 単回投与毒性試験 19
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 21
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 25
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 49
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 54
2.6.7.10 がん原性試験 56
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 70
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 73
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 77
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 81
2.6.7.15 新生児を用いた試験 84
2.6.7.16 局所刺激性試験 84
2.6.7.17 その他の毒性試験 85
2.6.7.17.1 光毒性試験 85
2.6.7.17.2 毒性発現の機序に関する試験 88
2.6.7.17.3 不純物の毒性試験 96
2.6.7.17.3.1 潜在的不純物に関する細菌を用いる復帰突然変異試験 96

化合物一覧

略号・一般名	化学名	構造式	由来
KLH-2109 コリン塩	2-Hydroxy-*N*,*N*,*N*-trimethylethanaminium 3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-methoxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylate		原薬
KLH-2109	3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-methoxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		原薬のフリー体
KP017	3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-hydroxyphenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP047	3-{5-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-2-fluoro-4-(sulfooxy)phenyl}-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP048	3-(5-{[2,3-difluoro-6-(sulfooxy)phenyl]methoxy}-2-fluoro-4-methoxyphenyl)-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydrothieno[3,4-*d*]pyrimidine-5-carboxylic acid		代謝物
KP050	4-(5-carboxy-2,4-dioxo-1,2-dihydrothieno[3,4-*d*]pyrimidin-3(4*H*)-yl)-2-[(2,3-difluoro-6-methoxyphenyl)methoxy]-5-fluorophenyl β-D-glucopyranosiduronic acid		代謝物
不純物A＊	[redacted]	[redacted]	潜在的不純物
不純物D＊	[redacted]	[redacted]	潜在的不純物
不純物B＊	[redacted]	[redacted]	潜在的不純物
不純物E＊	[redacted]	[redacted]	潜在的不純物

＊新薬承認情報提供時に置き換え

略号・一般名	化学名	構造式	由来
不純物C＊	[redacted]	[redacted]	潜在的不純物
不純物F＊	[redacted]	[redacted]	潜在的不純物

＊新薬承認情報提供時に置き換え

略号一覧

略号	略していない表現	内容
A/G	Albumin/Globulin	アルブミン/グロブリン
ALT	Alanine transaminase	アラニントランスアミナーゼ
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
AUC	Area under the curve	濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-24}	Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours	0～24 時間までの濃度－時間曲線下面積
AUC_{τ}	Area under the concentration-time over a dosing interval	投与間隔における濃度－時間曲線下面積
BW	Bodyweight	体重
C_{max}	Maximum (maximal) concentration	最大（最高）濃度
CHL/IU	Chinese Hamster Lung Cell/IU	チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞
CAC	Carcinogenicity Assessment Committee	FDA の発がん性評価委員会
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DPBS	Dulbeccos's phosphate buffered saline	—
E2	Estradiol	エストラジオール
E/P ratio	Estradiol/Progesterone ratio	エストラジオール-プロゲステロン比
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GD	Gestation day	妊娠日齢
GLDH	Glutamate dehydrogenase	グルタミン酸脱水素酵素
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GnRH	Gonadotropin releasing hormone	性腺刺激ホルモン放出ホルモン
HPLC	High-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフ法
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
ICR	Institute of Cancer Research	—
LC-MS/MS	Liquid chromatography tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析法
LD	Lactation day	哺育日齢
LE	Long Evans	—
NZW	New Zealand White	—
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
ONL	Outer nuclear layer	外顆粒層
P4	Progesterone	プロゲステロン
PCE	Polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
PIF	Photoirritancy factor	光刺激性ファクター
PN	Postnatal day	出生後日齢
PRL	Prolactin	プロラクチン
SD	Sprague-Dawley	—
S.D.	Standard deviation	標準偏差
Tg-rasH2 mouse	Hemizygous transgenic mouse carrying human c-Ha-ras oncogene	ヒト型 c-Ha-ras 遺伝子導入マウス
TK	Toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
T_{max}	Time to maximum (maximal) concentration	最大（最高）濃度到達時間
UDS	Unscheduled DNA synthesis	不定期 DNA 合成
UVA	Ultraviolet A	紫外線 A 波
UVB	Ultraviolet B	紫外線 B 波
UVR	Ultraviolet rays	紫外線

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: KLH-2109 Choline

Type of Study	Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Single-Dose Toxicity								
	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single dose	1000, 2000	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11070	4.2.3.1.1
	Monkey/Cynomolgus	Oral gavage	Single dose	1000, 2000	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1.2
	Dog/Beagle	Oral gavage	Single dose	10, 100, 1000	No	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1.3
Repeat-Dose Toxicity - Non pivotal								
	Rat/RccHan:WIST	Oral gavage	Daily for 4 weeks	0, 20, 200, 2000	No	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	51210	4.2.3.2.2
	Dog/Beagle	Oral gavage	Daily for 2 weeks	0, 10, 100, 1000	No	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.9
Repeat-Dose Toxicity - Pivotal								
	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	Daily for 4 weeks	0, 20, 200, 2000	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11076	4.2.3.2.1
	Rat/RccHan:WIST	Oral gavage	Daily for 13 weeks	0, 50, 150, 500, 1500	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd	11090	4.2.3.2.3
	Rat/RccHan:WIST	Oral gavage	Daily for 26 weeks	0, 50, 200, 1000	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11093	4.2.3.2.4
	Monkey/Cynomolgus	Oral gavage	Daily for 4 weeks	0, 10, 100, 1000	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.5
	Monkey/Cynomolgus	Oral gavage	Daily for 13 weeks	0, 10, 100, 1000	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.6
	Monkey/Cynomolgus	Oral gavage	Daily for 39 weeks	0, 10, 100, 1000	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.7
	Mouse/Crl:CD-1(ICR)	Oral gavage	Daily for 13 weeks	0, 40, 750, 1500	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.8
	Dog/Beagle	Oral gavage	Daily for 4 weeks	0, 10, 100, 1000	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2.10

Type of Study	Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Genotoxicity - *In vitro*								
Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	±S9: 0, 39, 78, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11077	4.2.3.3.1.1
Chromosomal aberration test	CHL/IU cells	*In vitro*	n/a	+S9: 0, 0.2, 0.4, 0.8 µg/mL −S9 (6hr): 0,0.2, 0.4, 0.8 −S9 (24hr): 0, 0.125, 0.25, 0.5 µg/mL	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11078	4.2.3.3.1.2
Genotoxicity - *In vivo*								
In vivo unscheduled DNA synthesis assay in rat hepatocytes	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single dose	0, 1000, 2000	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.2.1
Micronucleus test	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	Single dose	0, 500, 1000, 2000	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11079	4.2.3.3.2.2
Carcinogenicity								
	Rat/RccHan:WIST	Oral gavage	Daily for 104 weeks	0, 5, 50, 500	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.4.1.1
	Mouse/nonTG RasH2	Oral gavage	Daily for 4 weeks	0, 50, 250, 500	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.4.2.1
	Mouse/TG RasH2	Oral gavage	Daily for 26 weeks	0, 15, 50, 250 (M), 500 (F)	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.4.2.2
Reproduction and Development Toxicity								
Female fertility and early embryonic development (before pregnancy, dose-range finding)	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	4 weeks before mating	0, 3, 10, 30, 100	No	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	51171	4.2.3.5.1.1
Female fertility and early embryonic development (before pregnancy)	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	4 weeks before mating	0, 0.16, 0.8, 4, 20, 100	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11071	4.2.3.5.1.2

Type of Study	Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Female fertility and early embryonic development (early pregnancy, dose-range finding)	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	From GD 0 to GD 7	0, 3, 10, 30, 100, 300	No	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	51172	4.2.3.5.1.3
Female fertility and early embryonic development (early pregnancy)	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	From GD 0 to GD 7	0, 100, 300, 1000	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11072	4.2.3.5.1.4
Embryo-fetal development (dose-range finding)	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	From GD 6 to GD 17	0, 3, 10, 30, 100, 300	No	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	51173	4.2.3.5.2.1
Embryo-fetal development	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	From GD 6 to GD 17	0, 30, 100, 300	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11073	4.2.3.5.2.2
Embryo-fetal development (dose-range finding)	Rabbit/NZW	Oral gavage	From GD 6 to GD 18	0, 1, 3, 10, 30, 100	No	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	51183	4.2.3.5.2.3
Embryo-fetal development	Rabbit/NZW	Oral gavage	From GD 6 to GD 18	0, 0.3, 3, 30	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11074	4.2.3.5.2.4
Pre- and postnatal development (dose-range finding)	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	From GD 6 to LD 20	0, 10, 30, 100, 300	No	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd	51215	4.2.3.5.3.1
Pre- and postnatal development (dose-range finding)	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	From GD 6 to LD 20	0, 300, 600, 1000	No	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	52007	4.2.3.5.3.2
Pre- and postnatal development	Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage	From GD 6 to LD 20	0, 30, 100, 300	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.3.3
Studies in Juvenile Animals								
Not applicable								
Local Tolerance								
Not applicable								

Type of Study	Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Other Toxicity Studies								
Phototoxicity								
	Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts	*In vitro*	n/a	±UVA: 7.0, 12.5, 22.5, 40.0, 70.0, 125.0, 225.0, 400.0 mg/L	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.7.1
	Rat/Crl:LE	Oral gavage	Single dose	0, 10, 100, 1000	Yes	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.7.2
Mechanistic studies								
Pharmacokinetic study after 1-week oral administration	Dog/Beagle, Monkey/Cynomolgus	Oral gavage	Daily for 1 week	10, 100, 1000	No	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.3.1
Pharmacokinetic study after 1-week oral administration	Mouse/Crl:CD1(ICR)	Oral gavage	Daily for 1 week	0, 40, 200, 750	No	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	52167	4.2.3.7.3.2
Saturated solubility of KLH-2109 in human bile	Human bile	*Ex vivo*	n/a	n/a	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	32061	4.2.3.7.3.3
Saturated solubility of KLH-2109 and its metabolites in dog and mouse bile	Dog and mouse bile	*Ex vivo*	n/a	n/a	No	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	52166	4.2.3.7.3.4
Measurement of dopamine levels at hypothalamus after single dose in sexually mature and aged female rats	Rat/RccHan:WIST	Oral gavage	Single dose	0, 500	No	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	KLH-21027	4.2.3.7.3.5
Effects on sexual hormones in sexually mature female rats after single oral administration	Rat/RccHan:WIST	Oral gavage	Single dose	0, 5, 50, 500, 2000	No	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	52257	4.2.3.7.3.6

Type of Study	Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Effects on sexual hormones and estrous cycle in sexually mature female rats after 2-week repeated oral administration	Rat/RccHan:WIST	Oral gavage	Daily for 2 weeks	0, 5, 50, 500, 2000	No	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	52258	4.2.3.7.3.7
Effects on sexual hormones and estrous cycle in aged female rats after 2-week repeated oral administration	Rat/RccHan:WIST	Oral gavage	Daily for 2 weeks	0, 5, 50, 500, 2000	No	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	52262	4.2.3.7.3.8
Studies on impurities								
不純物F＊：Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	±S9: 0, 39, 78, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11094	4.2.3.7.6.1
KLH-2109: Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	±S9: 0, 39, 78, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11100	4.2.3.7.6.2
不純物B＊: Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	±S9: 0, 39, 78, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11102	4.2.3.7.6.3
不純物D＊: Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	±S9: 0, 39, 78, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11106	4.2.3.7.6.4
不純物E＊: Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	±S9: 0, 39, 78, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11109	4.2.3.7.6.5

＊新薬承認情報提供時に置き換え

Type of Study	Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
不純物A*: Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	±S9: 0, 39, 78, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	11111	4.2.3.7.6.6
不純物C*: Reverse mutation test	*Salmonella typhimurium* *Escherichia coli*	*In vitro*	n/a	±S9: 0, 39, 78, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate	Yes	Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.	12012	4.2.3.7.6.7

n/a: Not applicable; F: female; M: male; GD: Gestation Day; LD: Lactation Day; For Single-Dose Toxicity, the maximum non-lethal dose is underlined; For Repeat-Dose Toxicity, the highest NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) in female animals is underlined; For Reproductive Toxicity, the highest NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) on F1 development is underlined.

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: KLH-2109 Choline

Type of Study	Test System	Method of Administration	Dose (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Single dose toxicity study	Rat	Oral (gavage)	1000, 2000	Yes	11070	4.2.3.1.1
Single dose toxicity study	Monkey	Oral (gavage)	1000, 2000	Yes	[redacted]	4.2.3.1.2
Single dose toxicity study	Dog	Oral (gavage)	10, 100, 1000	No	[redacted]	4.2.3.1.3
4-week toxicity study (with 4-week recovery period)	Rat	Oral (gavage)	0, 20, 200, 2000	Yes	11076	4.2.3.2.1
4-week toxicity study	Rat	Oral (gavage)	0, 20, 200, 2000	No	51210	4.2.3.2.2
13-week toxicity study	Rat	Oral (gavage)	0, 50, 150, 500, 1500	Yes	11090	4.2.3.2.3
26-week toxicity study (with 10-week recovery period)	Rat	Oral (gavage)	0, 50, 200, 1000	Yes	11093	4.2.3.2.4
4-week toxicity study (with 4-week recovery period)	Monkey	Oral (gavage)	0, 10, 100, 1000	Yes	[redacted]	4.2.3.2.5
13-week toxicity study	Monkey	Oral (gavage)	0, 10, 100, 1000	Yes	[redacted]	4.2.3.2.6
39-week toxicity study (with 20-week recovery period)	Monkey	Oral (gavage)	0, 10, 100, 1000	Yes	[redacted]	4.2.3.2.7
13-week toxicity study	Mouse	Oral (gavage)	0, 40, 750, 1500	Yes	[redacted]	4.2.3.2.8
2-week toxicity study	Dog	Oral (gavage)	0, 10, 100, 1000	No	[redacted]	4.2.3.2.9
4-week toxicity study (with 4-week recovery period)	Dog	Oral (gavage)	0, 10, 100, 1000	Yes	[redacted]	4.2.3.2.10
104-week carcinogenicity study in Wistar rats	Rat	Oral (gavage)	0, 5, 50, 500	Yes	[redacted]	4.2.3.4.1.1
4-week toxicity study in CB6F1-non Tg rasH2 mice	Mouse	Oral (gavage)	0, 50, 250, 500	Yes	[redacted]	4.2.3.4.2.1
26-week carcinogenicity study in CB6F1-Tg rasH2 mice	Mouse	Oral (gavage)	0, 15, 50, 250 (M), 500 (F)	Yes	[redacted]	4.2.3.4.2.2
Female fertility and early embryonic development study (administration before pregnancy)	Rat	Oral (gavage)	0, 0.16, 0.8, 4, 20, 100	Yes	11071	4.2.3.5.1.2
Embryo-fetal development study	Rat	Oral (gavage)	0, 30, 100, 300	Yes	11073	4.2.3.5.2.2
Embryo-fetal development study	Rabbit	Oral (gavage)	0, 0.3, 3, 30	Yes	11074	4.2.3.5.2.4
Phototoxicity study	Rat	Oral (gavage)	0, 10, 100, 1000	Yes	[redacted]	4.2.3.7.7.2
Pharmacokinetic study after 1-week oral administration	Dog, monkey	Oral (gavage)	10, 100, 1000	No	[redacted]	4.2.3.7.3.1
Pharmacokinetic study after 1-week oral administration	Mouse	Oral (gavage)	0, 40, 200, 750	No	52167	4.2.3.7.3.2

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

2.6.7.3A Overview of Toxicokinetics Data; Mouse

Daily Dose (mg/kg)	Time	AUC_τ (ng·hr/mL)							
		Mouse							Human
		[redacted]		52167	[redacted]		[redacted]		KLH1101
		M	F	F	M	F	M	F	F
1.7	Day 1								163053.6
	Day 9								206075.5
3.3	Day 1								323309.7
	Day 9								412144.6
6.7	Day 1								613149.9
	Day 9								873119.2
15	1st dose						354000	811000	
	Week 26						505000	1500000	
40	1st dose	1190000	1650000						
	7th dose			1940000					
	Week 13	1320000	2090000						
50	1st dose				911000	1810000	868000	1830000	
	Week 4				988000	2210000			
	Week 26						1220000	2680000	
200	7th dose			2530000					
250	1st dose				2390000	3250000	2090000		
	Week 4				2210000	3880000			
	Week 26						2480000		
500	1st dose				2700000	4110000		4550000	
	Week 4				3260000	4900000			
	Week 26							5290000	
750	1st dose	3570000	3420000						
	7th dose			4490000					
	Week 4								
	Week 13	5910000	6370000						
1500	1st dose	4250000	4860000						
	Week 4								
	Week 13	7260000	8060000						

τ denotes dosing interval of 24 hours; M: Males; F: Females.

2.6.7.3B Overview of Toxicokinetics Data; Rat

Daily Dose (mg/kg)	Time	AUC_τ (ng·hr/mL)														
		Rat														Human
		51210		11076		11090		11093		[redacted]		11070		11071	11073	KLH1101
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	F	F	F
0.16	29th dose													15035		
0.8	29th dose													81032		
1.7	Day 1															163053.6
	Day 9															206075.5
3.3	Day 1															323309.7
	Day 9															412144.6
4	29th dose													302516		
5	Week 26									294000	496000					
	Week 52									293000	534000					
6.7	Day 1															613149.9
	Day 9															873119.2
20	1st dose	953000	841000	606275	880377											
	Week 4	778000	809000	420107	877524											
	29th dose													1124123		
30	1st dose														1269690	
	12th dose														1354532	
50	1st dose					1880000	1720000	1940000	2160000							
	Week 4					1380000	2070000									
	Week 13					1720000	1800000	1160000	2380000							
	Week 26							983000	1730000	1240000	3190000					
	Week 52									1240000	2740000					
100	1st dose														2013104	
	12th dose														2384012	
	29th dose													3001650		
150	1st dose					2270000	2860000									
	Week 4					2440000	3630000									
	Week 13					2480000	3040000									
200	1st dose	2730000	3620000	2151444	3082781			2750000	3100000							
	7th dose															
	Week 4	2740000	3650000	1665954	3202878											
	Week 13							1920000	3310000							
	Week 26							1670000	2700000							
300	1st dose														3189237	
	12th dose														3093440	
500	1st dose					3740000	4990000									
	Week 4					4110000	5300000									
	Week 13					3520000	4350000									
	Week 26									2310000	4050000					
	Week 52									2440000	3850000					

Daily Dose (mg/kg)	Time	AUC_τ (ng·hr/mL)														
		Rat														Human
		51210		11076		11090		11093		[redacted]		11070		11071	11073	KLH1101
		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	F	F	F
1000	1st dose							4030000	5590000			3684225	4550975			
	Week 13							3160000	4480000							
	Week 26							2580000	3920000							
1500	1st dose					5340000	5630000									
	Week 4					6380000	5940000									
	Week 13					5090000	4530000									
2000	1st dose	6410000	6260000	5264619	5687800							4221144	4745131			
	Week 4	7500000	6280000	4979483	5097706											

τ denotes dosing interval of 24 hours; M: Males; F: Females.

2.6.7.3C Overview of Toxicokinetics Data; Rabbit, Dog

Daily Dose (mg/kg)	Time	AUC_τ (ng·hr/mL)						
		Rabbit	Beagle Dog					Human
		11074	[redacted]					KLH1101
		F	F	F	F	M	F	F
0.3	1st dose	4.0						
	13th dose	4.4						
1.7	Day 1							163053.6
	Day 9							206075.5
3	1st dose	870						
	13th dose	1500						
3.3	Day 1							323309.7
	Day 9							412144.6
6.7	Day 1							613149.9
	Day 9							873119.2
10	1st dose		724000	527000		686000	641000	
	7th Dose				3167000			
	14th dose			757000				
	Week 4					1010000	888000	
30	1st dose	11796						
	13th dose	49120						
100	1st dose		1980000	2530000		1930000	2110000	
	7th dose				4920000			
	14th dose			2250000				
	Week 4					1930000	2200000	
1000	1st dose		3170000	4630000		3600000	2950000	
	7th dose				6603000			
	14th dose			3430000				
	Week 4					2370000	2480000	

τ denotes dosing interval of 24 hours; M: Males; F: Females.

2.6.7.3D Overview of Toxicokinetics Data; Monkey

Daily Dose (mg/kg)	Time	AUC_τ (ng·hr/mL)								
		Cynomolgus Monkey								Human
		[redacted]		[redacted]		[redacted]		[redacted]		KLH1101
		F	M	F	M	F	M	F	F	F
1.7	Day 1									163053.6
	Day 9									206075.5
3.3	Day 1									323309.7
	Day 9									412144.6
6.7	Day 1									613149.9
	Day 9									873119.2
10	1st dose		260460	274379	253000	265000	225000	222000		
	7th Dose								290000	
	Week 4		220424	244714						
	Week 13				209000	282000				
	Week 26						328000	301000		
	Week 39						310000	310000		
100	1st dose		1444264	1579468	1200000	1510000	1870000	1490000		
	7th dose								1053000	
	Week 4		1097538	1132970						
	Week 13				1340000	1550000				
	Week 26						1530000	1780000		
	Week 39						1650000	1640000		
1000	1st dose	2643073	3650583	2370201	3430000	2800000	3620000	2920000		
	7th dose								3410000	
	Week 4		2703624	1763695						
	Week 13				2370000	2640000				
	Week 26						2710000	2400000		
	Week 39						2840000	2910000		
2000	1st dose	2503015								

τ denotes dosing interval of 24 hours; M: Males; F: Females.

2.6.7.4 毒性試験：使用ロット

Test Article: KLH-2109 Choline

Batch No.	Purity (%)	Study Number	Type of Study
[redacted]	[redacted]	11077	Reverse mutation test
		11078	Chromosomal aberration test
		[redacted]	Unscheduled DNA synthesis assay
		11079	Micronucleus test in rat
		[redacted]	4-week toxicity in monkey
		11093	26-week toxicity in rat
		[redacted]	2-week toxicity in dog
			Single dose in dog
			39-week toxicity in monkey
			13-week toxicity in mouse
		11090	13-week toxicity in rat
		[redacted]	13-week toxicity in monkey
		11071	Fertility and early embryonic development in rat
		11072	Fertility and early embryonic development in rat
		11073	Embryo-fetal development in rat
		11074	Embryo-fetal development in rabbit
		[redacted]	Neutral red uptake phototoxicity assay
			Phototoxicity study in pigmented rat
		11070	Single dose in rat
		11076	4-week toxicity in rat
		[redacted]	Single dose in monkey
		51210	4-week toxicity in rat
		52007	Pre- and postnatal development in rat (dose-range finding)
		51215	Pre- and postnatal development in rat (dose-range finding)
		[redacted]	4-week toxicity in dog
			Mechanistic study
			Carcinogenicity in mouse
			Carcinogenicity in rat
			Pre- and postnatal development in rat
		KLH-21027	Mechanistic study
		52257	Mechanistic study

Batch No.	Purity (%)	Study Number	Type of Study
[redacted]	[redacted]	52258	Mechanistic study
		52262	Mechanistic study
		52167	Mechanistic study
		[redacted]	Preliminary carcinogenicity in mouse
		51171	Fertility and early embryonic development in rat (dose-range finding)
		51172	Fertility and early embryonic development in rat (dose-range finding)
		51173	Embryo-fetal development in rat (dose-range finding)
		51183	Embryo-fetal development in rabbit (dose-range finding)

—: Data not indicated in the study report

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: KLH-2109 Choline

<table>
<tr><th>Species/Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle/ Formulation)</th><th>Dose (mg/kg)</th><th>Gender and No. per Group</th><th>Observed Maximum Non-Lethal Dose (mg/kg)</th><th>Approximate Lethal Dose (mg/kg)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th><th>Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Rat/ Crl:CD(SD)</td><td>Oral gavage (0.5% methylcellulose solution)</td><td>1000, 2000</td><td>5M + 5F</td><td>2000</td><td>>2000</td><td>No relevant toxicological findings.

TK data for KLH-2109:
<table>
<tr><th>Dose (mg/kg)</th><th>Sex</th><th>C_{max} (ng/mL)</th><th>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</th></tr>
<tr><td>1000</td><td>M</td><td>268800.0</td><td>3684225.0</td></tr>
<tr><td>2000</td><td>M</td><td>286725.0</td><td>4221143.8</td></tr>
<tr><td>1000</td><td>F</td><td>326650.0</td><td>4550975.0</td></tr>
<tr><td>2000</td><td>F</td><td>306675.0</td><td>4745131.3</td></tr>
</table>
TK data for metabolite KP017:
<table>
<tr><th>Dose (mg/kg)</th><th>Sex</th><th>C_{max} (ng/mL)</th><th>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</th></tr>
<tr><td>1000</td><td>M</td><td>4734.50</td><td>26704.20</td></tr>
<tr><td>2000</td><td>M</td><td>5770.75</td><td>57858.84</td></tr>
<tr><td>1000</td><td>F</td><td>1942.00</td><td>20482.15</td></tr>
<tr><td>2000</td><td>F</td><td>2524.25</td><td>21957.54</td></tr>
</table>
There were tendencies indicating that KLH-2109 exposure was greater in females and KP017 exposure was greater in males.</td><td>11070</td><td>4.2.3.1.1</td></tr>
</table>

<table>
<tr><th>Species/Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle/ Formulation)</th><th>Dose (mg/kg)</th><th>Gender and No. per Group</th><th>Observed Maximum Non-Lethal Dose (mg/kg)</th><th>Approximate Lethal Dose (mg/kg)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th><th>Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Monkey/ Cynomolgus</td><td>Oral gavage (0.5% methylcellulose solution)</td><td>1000, 2000</td><td>2F</td><td>2000</td><td>>2000</td><td>No relevant toxicological findings.

TK data for KLH-2109:<table><tr><th>Dose (mg/kg)</th><th>Sex</th><th>C_{max} (ng/mL)</th><th>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</th></tr><tr><td>1000</td><td>F</td><td>194250</td><td>2643073</td></tr><tr><td>2000</td><td>F</td><td>173900</td><td>2503015</td></tr></table>TK data for metabolite KP017:<table><tr><th>Dose (mg/kg)</th><th>Sex</th><th>C_{max} (ng/mL)</th><th>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</th></tr><tr><td>1000</td><td>F</td><td>2683</td><td>32403</td></tr><tr><td>2000</td><td>F</td><td>4871</td><td>55130</td></tr></table>Toxicokinetic saturation suggested at 1000 mg/kg.</td><td>[redacted]</td><td>4.2.3.1.2</td></tr>
<tr><td>Dog/Beagle</td><td>Oral gavage (0.5% methylcellulose solution)</td><td>10, 100, 1000</td><td>2F</td><td>1000</td><td>>1000</td><td>No relevant toxicological findings.

TK data for KLH-2109:<table><tr><th>Dose (mg/kg)</th><th>Sex</th><th>C_{max} (ng/mL)</th><th>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</th></tr><tr><td>10</td><td>F</td><td>59000</td><td>724000</td></tr><tr><td>100</td><td>F</td><td>134000</td><td>1980000</td></tr><tr><td>1000</td><td>F</td><td>231000</td><td>3170000</td></tr></table>TK data for metabolite KP017:<table><tr><th>Dose (mg/kg)</th><th>Sex</th><th>C_{max} (ng/mL)</th><th>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</th></tr><tr><td>10</td><td>F</td><td>7.60</td><td>42.8</td></tr><tr><td>100</td><td>F</td><td>22.9</td><td>277</td></tr><tr><td>1000</td><td>F</td><td>88.4</td><td>780</td></tr></table></td><td>[redacted]</td><td>4.2.3.1.3</td></tr>
</table>

M: Males; F: Females

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: KLH-2109 Choline

<table>
<tr><th>Species/Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle/ Formulation)</th><th>Duration of Dosing</th><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>Gender and No. per Group</th><th>NOAEL (mg/kg/day)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th><th>Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Rat/RccHan:WIST</td><td>Oral (0.5% methylcellulose solution)</td><td>4 weeks</td><td>0, 20, 200, 2000</td><td>10M + 10F</td><td>200</td><td>At 20 mg/kg/day: No noteworthy findings.

At 200 mg/kg/day: Total cholesterol increased in both sexes and calcium increased in males. Gonads weight decreased in females.

At 2000 mg/kg/day: Transient body weight decrease in males and increase in females. Increased urine volume, erythrocyte parameters decreased in both sexes, platelet count increased in males and leukocyte count increased in females. Increased cholesterol, decreased triglycerides and increased creatinine in both sexes.
Gonads weight decreased in both sexes with weight of accessory sex organs decreased. Weights of thymus and spleen increased in both sexes. Weight of adrenal glands and pituitary gland increased in males and females, respectively. Mammary glands atrophy and adrenal glands hypertrophy in males. Necrosis of the medullary renal tubules and dilatation observed in both sexes.

TK data for KLH-2109 (Day 1):
<table>
<tr><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>Sex</th><th>C_{max} (ng/mL)</th><th>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</th></tr>
<tr><td>20</td><td>M</td><td>71100</td><td>953000</td></tr>
<tr><td>20</td><td>F</td><td>60300</td><td>841000</td></tr>
<tr><td>200</td><td>M</td><td>207000</td><td>2730000</td></tr>
<tr><td>200</td><td>F</td><td>257000</td><td>3620000</td></tr>
<tr><td>2000</td><td>M</td><td>347000</td><td>6410000</td></tr>
<tr><td>2000</td><td>F</td><td>428000</td><td>6260000</td></tr>
</table>
</td><td>51210</td><td>4.2.3.2.2</td></tr>
</table>

<table>
<tr><th>Species/Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle/ Formulation)</th><th>Duration of Dosing</th><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>Gender and No. per Group</th><th>NOAEL (mg/kg/day)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th><th>Location in CTD</th></tr>
<tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>
TK data for metabolite KP017 (Day 1):
<table>
<tr><td>Dose (mg/kg/ day)</td><td>Sex</td><td>C_{max} (ng/mL)</td><td>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</td></tr>
<tr><td>20</td><td>M</td><td>136</td><td>2380</td></tr>
<tr><td>20</td><td>F</td><td>103</td><td>1300</td></tr>
<tr><td>200</td><td>M</td><td>2340</td><td>15300</td></tr>
<tr><td>200</td><td>F</td><td>1640</td><td>13100</td></tr>
<tr><td>2000</td><td>M</td><td>6220</td><td>90300</td></tr>
<tr><td>2000</td><td>F</td><td>3620</td><td>48600</td></tr>
</table>
TK data for KLH-2109 (Week 4):
<table>
<tr><td>Dose (mg/kg/ day)</td><td>Sex</td><td>C_{max} (ng/mL)</td><td>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</td></tr>
<tr><td>20</td><td>M</td><td>69600</td><td>778000</td></tr>
<tr><td>20</td><td>F</td><td>81000</td><td>809000</td></tr>
<tr><td>200</td><td>M</td><td>158000</td><td>2740000</td></tr>
<tr><td>200</td><td>F</td><td>225000</td><td>3650000</td></tr>
<tr><td>2000</td><td>M</td><td>383000</td><td>7500000</td></tr>
<tr><td>2000</td><td>F</td><td>319000</td><td>6280000</td></tr>
</table>
TK data for metabolite KP017 (Week 4):
<table>
<tr><td>Dose (mg/kg/ day)</td><td>Sex</td><td>C_{max} (ng/mL)</td><td>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</td></tr>
<tr><td>20</td><td>M</td><td>135</td><td>1960</td></tr>
<tr><td>20</td><td>F</td><td>97.3</td><td>1320</td></tr>
<tr><td>200</td><td>M</td><td>931</td><td>12300</td></tr>
<tr><td>200</td><td>F</td><td>572</td><td>9600</td></tr>
<tr><td>2000</td><td>M</td><td>2090</td><td>32800</td></tr>
<tr><td>2000</td><td>F</td><td>1490</td><td>22200</td></tr>
</table>
</td><td></td><td></td></tr>
</table>

<table>
<tr><th>Species/Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle/ Formulation)</th><th>Duration of Dosing</th><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>Gender and No. per Group</th><th>NOAEL (mg/kg/day)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th><th>Location in CTD</th></tr>
<tr><td>Dog/Beagle</td><td>Oral gavage (0.5% methylcellulose solution)</td><td>2 weeks</td><td>0, 10, 100, 1000</td><td>2F</td><td>Not established</td><td>At 10 mg/kg/day: No noteworthy findings.

At 100 mg/kg/day: Higher triglyceride values in 2 out of 2 dogs.

At 1000 mg/kg/day: Pale feces, lower food consumption and bodyweight loss.

Following 2 weeks of treatment, higher GLDH values in 2 out of 2 dogs and higher bilirubin, cholesterol and triglyceride values in 1 or 2 out of 2 dogs.

Higher relative to bodyweight liver weight in 2 out of 2.
Macroscopically, liver enlargement, gallbladder thickening and abnormal contents were noted.

Microscopically, slight epithelial hyperplasia and minimal or slight inflammatory infiltration of the gallbladder, associated with the presence of choleliths and minimal or slight ulceration were observed. There were also minimal or slight increases in glycogenic vacuolation in liver.

TK data for KLH-2109 (Day 1):
<table>
<tr><th>Dose (mg/kg/ day)</th><th>C_{max} (ng/mL)</th><th>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</th></tr>
<tr><td>10</td><td>43200</td><td>527000</td></tr>
<tr><td>100</td><td>156000</td><td>2530000</td></tr>
<tr><td>1000</td><td>291000</td><td>4630000</td></tr>
</table>
</td><td>[redacted]</td><td>4.2.3.2.9</td></tr>
</table>

<table>
<tr><th>Species/Strain</th><th>Method of Administration (Vehicle/ Formulation)</th><th>Duration of Dosing</th><th>Dose (mg/kg/day)</th><th>Gender and No. per Group</th><th>NOAEL (mg/kg/day)</th><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th><th>Location in CTD</th></tr>
<tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>
TK data for metabolite KP017 (Day 1):
<table>
<tr><td>Dose (mg/kg/ day)</td><td>C_{max} (ng/mL)</td><td>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</td></tr>
<tr><td>10</td><td>6.86</td><td>43.2</td></tr>
<tr><td>100</td><td>42.6</td><td>544</td></tr>
<tr><td>1000</td><td>154</td><td>1900</td></tr>
</table>
TK data for KLH-2109 (Week 2):
<table>
<tr><td>Dose (mg/kg/ day)</td><td>C_{max} (ng/mL)</td><td>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</td></tr>
<tr><td>10</td><td>58500</td><td>757000</td></tr>
<tr><td>100</td><td>167000</td><td>2250000</td></tr>
<tr><td>1000</td><td>255000</td><td>3430000</td></tr>
</table>
TK data for metabolite KP017 (Week 2):
<table>
<tr><td>Dose (mg/kg/ day)</td><td>C_{max} (ng/mL)</td><td>AUC_{0-24} (ng·hr/mL)</td></tr>
<tr><td>10</td><td>7.17</td><td>69.9</td></tr>
<tr><td>100</td><td>67.3</td><td>437</td></tr>
<tr><td>1000</td><td>155</td><td>1910</td></tr>
</table>
</td><td></td><td></td></tr>
</table>

M: Males; F: Females

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7A 4-Week Oral Gavage Toxicity Study in Sprague-Dawley rats with a 4-Week Recovery Period

Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD)
Initial Age: 6 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Duration of Dosing: Daily for 4 weeks
Duration of Post-dose: 4 weeks recovery
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution
Location in CTD: 4.2.3.2.1
Study Number: 11076
GLP compliance: Yes
Test Article: KLH-2109 Choline

Special Features: –
No Observed Adverse Effect Level: 200 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		200		2000	
Number of Animals	**15M**	**15F**	**15M**	**15F**	**15M**	**15F**	**15M**	**15F**
Toxicokinetics								
KLH-2109 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	606274.7	880377.1	2151443.8	3082781.3	5264618.8	5687800.0
On the 4th week:	n/c	n/c	420107.2	877524.3	1665954.1	3202877.5	4979482.5	5097706.3
KP017 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	1961.75	1343.63	17786.68	12792.48	74922.93	29500.42
On the 4th week:	n/c	n/c	1683.82	1610.09	10562.70	8599.73	31584.60	15782.58
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Mean Body Weight (g)								
Day 8	277.4	192.8	279.4	191.8	274.7	189.0	258.1**	203.4
Day 15	322.0	209.1	322.2	209.6	318.9	200.6	294.4**	234.0**
Day 22	357.7	227.2	359.7	225.7	357.2	220.2	328.0**	261.1**
Day 28	379.3	237.9	380.9	234.4	378.8	231.5	345.6**	274.1**
Day 29	375.8	241.4	381.4	240.1	367.0	240.1	352.1	288.8**
Day 56 (recovery)	483.4	287.7	482.8	284.9	459.0	276.7	455.6	282.2
Food Consumption (g)								
Day 2	24.9	18.4	24.7	17.5	23.4	16.7	18.3**	13.3**
Day 9	26.4	17.2	25.2	17.8	25.6	16.3	23.3**	19.1
Day 16	26.0	18.9	26.8	18.7	27.4	17.3	25.4	21.8*
Day 23	23.9	16.9	24.3	16.6	24.1	16.1	23.3	20.1**
Day 30	26.0	21.1	25.5	20.0	26.3	18.1	28.9	25.3*
Day 56 (recovery)	27.6	18.7	26.8	20.5	26.7	16.7	26.7	17.7

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		200		2000	
Clinical Observations [a]	–	–	–	–	–	–	–	–
Ophthalmoscopy [a]	–	–	–	–	–	–	–	–
Auditory Function [a]	–	–	–	–	–	–	–	–
Number Evaluated	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**
Urinalysis (Week 4)								
Mean urine volume (mL/day)	11.1	7.6	12.3	8.5	13.2	6.5	29.3**	19.3**
Proteins [b]	+	+	+	+	+	+	±	±
Specific Gravity (g/mL)	1.066	1.071	1.062	1.068	1.062	1.076	1.026**	1.032**
Na (mEq/L)	176	146	156	134	151	147	75**	87**
Cl (mEq/L)	171	152	152	133	164	165	68**	84**
Ketones [b]	+	–	+	–	±	–	–	–
Hematology (Week 4)								
Erythrocytes (10^6/μl)	7.66	7.48	7.58	7.43	7.47	7.07*	6.82**	6.55**
Hemoglobin (g/dL)	14.8	14.5	14.9	14.7	14.5	13.9	12.6**	12.7**
Hematocrit (%)	43.9	42.3	43.8	42.3	42.5	40.1*	37.5**	37.5**
Mean corpuscular volume (fL)	57.3	56.5	57.8	57.0	57.0	56.9	55.1*	57.3
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	19.3	19.4	19.7	19.7	19.4	19.7	18.4*	19.5
Reticulocytes (%)	2.2	1.9	2.0	2.0	2.3	1.9	5.9**	5.1**
Leukocytes (10^3/μl)	9.24	9.35	9.37	9.16	11.67	8.86	17.89**	16.31*
Lymphocytes (10^3/μl)	7.37	7.63	7.48	7.03	9.65	7.18	15.10**	13.85*
Number Evaluated	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**
Hematology (Recovery)								
Reticulocytes (%)	2.5	2.4	2.6	2.3	2.6	2.1	1.5**	1.4**
Hemoglobin (g/dL)	14.2	14.3	14.7	14.6	14.7	14.2	15.1*	14.9
Number Evaluated	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**
Clinical Chemistry (Week 4)								
Total Cholesterol (mg/dL)	59	58	62	64	79*	86**	90**	92**
Calcium (mg/dL)	9.7	9.6	9.8	9.6	10.0*	10.1*	10.1**	9.9
Total proteins (g/dL)	5.1	5.4	5.1	5.5	5.4**	6.2**	5.4**	5.3
Albumin (g/dL)	2.2	2.3	2.2	2.4	2.3*	2.9**	2.3	2.3
A/G ratio [c]	0.8	0.8	0.7	0.8	0.7	0.9**	0.7	0.8
Triglycerides (mg/dL)	125	74	107	68	107	102	41**	48
Creatinine (mg/dL)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4**	0.3
Bilirubin (mg/dL)	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.1*	0.1*	0.1*

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		200		2000	
Number Evaluated	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**
Bone Marrow Cytology (Week 4)								
Granuloblastic/Erythroblastic ratio	1.00	0.87	0.88	1.11**	0.83	0.96	0.67**	0.66*
Mature neutrophils (%)	22.2	19.0	19.3	23.0*	19.4	20.4	16.7**	16.0
Number Evaluated	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**
Organ Weights (Week 4)								
Testes, absolute weight (g)	3.21	n/a	3.14	n/a	3.06	n/a	0.73**	n/a
Testes, relative weight (g/kg BW)	8.32	n/a	8.10	n/a	7.87	n/a	2.11**	n/a
Prostate, absolute weight	1.06	n/a	1.15	n/a	0.90	n/a	0.09**	n/a
Prostate. relative weight	2.75	n/a	2.98	n/a	2.31	n/a	0.27**	n/a
Seminal vesicles, absolute weight	1.39	n/a	1.32	n/a	1.06	n/a	0.09**	n/a
Seminal vesicles, relative weight	3.59	n/a	3.40	n/a	2.72	n/a	0.25**	n/a
Epididymides, absolute weight	1.02	n/a	1.03	n/a	0.95	n/a	0.22**	n/a
Epididymides, relative weight	2.64	n/a	2.66	n/a	2.44	n/a	0.63**	n/a
Thymus, absolute weight	0.520	0.457	0.491	0.440	0.628	0.425	0.756*	0.709*
Thymus, relative weight	1.334	1.932	1.272	1.904	1.598	1.882	2.143**	2.616*
Spleen, absolute weight	0.78	0.51	0.73	0.52	0.78	0.46	1.12*	0.92**
Spleen, relative weight	2.01	2.15	1.88	2.27	1.99	2.05	3.15**	3.42**
Adrenals, absolute weight	0.054	0.074	0.060	0.075	0.060	0.079	0.071**	0.077
Adrenals, relative weight	0.141	0.316	0.154	0.329	0.155	0.350	0.202**	0.287
Liver, absolute weight	15.84	8.67	15.35	9.03	16.78	9.46	15.19	11.83**
Liver, relative weight	40.85	36.64	39.49	38.72	42.89	41.76**	43.21	43.96**
Kidneys, absolute weight	3.03	1.82	3.03	1.90	2.91	1.92	2.77	2.16**
Heart, absolute weight	1.28	0.81	1.29	0.87	1.24	0.83	1.13**	0.88
Heart, relative weight	3.31	3.45	3.31	3.75**	3.18	3.66	3.23	3.27
Lungs, absolute weight	1.45	1.13	1.42	1.11	1.47	1.08	1.50	1.24*
Lungs, relative weight	3.74	4.80	3.65	4.82	3.78	4.77	4.27**	4.61
Brain, relative weight	5.59	8.42	5.50	8.53	5.47	8.77	6.01	7.51*
Ovaries, absolute weight	n/a	0.102	n/a	0.098	n/a	0.047**	n/a	0.045**
Ovaries. relative weight	n/a	0.435	n/a	0.429	n/a	0.207**	n/a	0.168**
Number Evaluated	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**
Organ Weights (Week 8, Recovery)								
Testes, absolute weight (g)	3.21	n/a	3.07	n/a	2.95	n/a	2.11**	n/a
Testes, relative weight (g/kg BW)	6.63	n/a	6.38	n/a	6.47	n/a	4.57**	n/a
Epididymides, absolute weight	1.29	n/a	1.27	n/a	1.18	n/a	0.56**	n/a
Epididymides, relative weight	2.66	n/a	2.64	n/a	2.60	n/a	1.22**	n/a

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		200		2000	
Seminal vesicles, absolute weight	1.61	n/a	1.76	n/a	1.38	n/a	1.30*	n/a
Seminal vesicles, relative weight	3.31	n/a	3.64	n/a	3.04	n/a	2.82	n/a
Spleen, absolute weight	0.86	0.54	0.84	0.58	0.77	0.51	0.81	0.61*
Number Evaluated	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**
Gross Pathology (Week 4)								
Spleen, enlarged	0	0	0	0	0	0	5	5
Spleen, malformation	0	0	0	0	0	1	0	0
Liver, focus white linear right median lobe	0	0	1	0	0	0	0	0
Liver, small left lateral lobe	0	0	0	0	0	1	0	0
Kidneys, enlarged	0	0	0	0	0	0	1	0
Testes, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	10	n/a
Epididymides, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	10	n/a
Prostate, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	10	n/a
Seminal vesicles, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	10	n/a
Ovaries, small	n/a	0	n/a	0	n/a	10	n/a	10
Uterus, small	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3
Number Evaluated	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**
Gross Pathology (Recovery)								
Testes, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a
Epididymides, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	5	n/a
Number Evaluated	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**
Histopathology (Week 4) [d]								
Testes, atrophy [e]	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1+,2++,7+++	n/a
Epididymides, atrophy [e]	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1+,9+++	n/a
Prostate, atrophy [e]	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1++,9+++	n/a
Seminal vesicles, atrophy [e]	0	n/a	0	n/a	0	n/a	10+++	n/a
Uterus, atrophy [e]	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3+
Vagina, atrophy epithelium [e]	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3+
Ovaries, decrease corpora lutea [e]	n/a	0	n/a	0	n/a	2++,8+++	n/a	2+,6++,1+++
Ovaries, decrease follicle large sized [e]	n/a	0	n/a	1+	n/a	7+	n/a	8+
Ovaries, increase atretic follicle large sized [e]	n/a	0	n/a	1+	n/a	1+,9++	n/a	4+,3++
Ovaries, increase interstitial cell [e]	n/a	0	n/a	0	n/a	8+	n/a	5+
Mammary glands, atrophy [e]	0	0	0	–	0	–	5+,5++	0
Kidneys, single cell necrosis medulla [e]	0	0	0	0	0	0	5+	1+
Kidneys, basophilic change of tubule [e]	2+	0	2+	1+	1+	1+	4+,4++	1+,1++
Kidneys, dilatation renal tubule [e]	0	0	0	0	0	0	6+,1++	4+

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		20		200		2000	
Kidneys, infiltration mononuclear cell focal [e]	2+	0	1+	0	1+	0	9+	0
Spleen, congestion red pulp [e]	0	0	0	0	0	0	7+	5+
Spleen, increased lymphocyte cellularity [e]	0	0	0	0	0	0	5+	6+
Adrenals, hypertrophy of the fasciculata cells [e]	0	0	0	–	0	–	2+	0
Number Evaluated	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**
Histopathology (Recovery) [d]								
Testes, atrophy [e]	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1+	n/a
Epididymides, atrophy [e]	0	n/a	0	n/a	0	n/a	5+	0

Dunnett's test: * P<0.05 vs controls; ** P<0.01 vs controls; n/c: Not calculated; n/a: Not applicable; –: Data not generated
[a]: – No noteworthy findings
[b]: +: small amount; ±: trace; –: negative
[c]: A/G ratio was calculated from the measured values of total protein and albumin
[d]: Data expressed as incidence and severity grading
[e]: +: slight; ++: moderate; +++: marked

2.6.7.7B 13-Week Oral Gavage Toxicity Study in Wistar Rats

Species/Strain: Rat/RccHan:WIST
Initial Age: 6 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Duration of Dosing: Daily for 13 weeks
Duration of Post-dose: None
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution
Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.3.2.3
Study Number: 11090
GLP Compliance: Yes

Special Features: –
No Observed Adverse Effect Level: 150 mg/kg/day in males and 500 mg/kg/day in females

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		50		150		500		1500	
Number of Animals	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**
Toxicokinetics										
KLH-2109 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)										
After 1st dose:	n/c	n/c	1880000	1720000	2270000	2860000	3740000	4990000	5340000	5630000
On the 4th week:	n/c	n/c	1380000	2070000	2440000	3630000	4110000	5300000	6380000	5940000
On the 13th week:	n/c	n/c	1720000	1800000	2480000	3040000	3520000	4350000	5090000	4530000
KP017 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)										
After 1st dose:	n/c	n/c	5090	3790	12700	15700	39990	38100	67100	41600
On the 4th week:	n/c	n/c	3540	3350	8670	7660	14500	9780	23400	12300
On the 13th week:	n/c	n/c	5240	4520	8350	11000	13900	12100	22300	19700
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	1 [b]	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Signs [a]	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Body Weights (g)										
Day 36	312.0	199.8	315.4	196.5	305.4	193.2	297.4	211.0	285.5*	252.2**
Day 43	329.3	207.3	331.7	202.9	323.3	199.3	310.6	219.4	297.2*	258.9**
Day 50	344.9	215.0	346.4	211.7	339.1	208.8	324.8	226.4	305.7**	265.1**
Day 57	357.6	221.5	356.9	218.6	352.2	213.9	333.7	233.1	314.5**	271.2**
Day 64	369.7	226.9	371.0	224.7	362.5	223.1	348.4	237.4	323.1**	273.2**
Day 71	377.0	230.2	378.5	227.4	369.7	224.8	357.2	240.3	329.1**	275.9**
Day 78	386.7	234.2	387.0	230.2	380.8	230.8	368.0	247.2	334.9**	277.1**
Day 85	393.7	236.5	395.6	236.0	389.0	235.0	374.8	248.3	337.6**	278.9**
Day 91	396.2	239.8	399.5	234.7	392.3	233.6	380.3	249.8	340.5**	279.2**
Food Consumption (g)										
Day 2	18.4	13.7	17.4	13.4	16.4*	15.0	16.8	13.6	15.4**	11.7*
Day 9	20.2	15.3	20.2	14.1	19.2	16.4	18.4*	15.4	17.3**	17.4*
Day 16	21.6	15.9	21.7	15.9	21.2	16.2	21.1	16.3	19.7	19.8**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		50		150		500		1500	
Day 23	22.3	16.1	23.0	15.6	22.2	14.8	21.5	16.6	19.7	20.7**
Day 30	21.1	15.2	21.5	15.6	21.8	15.0	21.5	16.6	21.0	20.0**
Day 37	22.2	16.9	21.9	17.3	22.2	16.8	23.3	17.2	21.9	20.1**
Day 91	21.4	16.6	21.5	15.6	20.8	16.5	21.4	15.6	18.9*	16.9
Urinalysis										
Proteins [c]	+	+	+	+	+	+	±/+	+	±	±
Urine Volume (mL/day)	10.2	7.8	10.1	7.9	10.9	5.8	12.3	8.8	19.2**	16.2*
Specific Gravity (g/mL)	1.057	1.063	1.063	1.059	1.060	1.066	1.052	1.051	1.033**	1.035**
Na (mEq/L)	119	152	159	133	138	124	114	109*	68	85**
K (mEq/L)	246	281	291	249	250	281	221	223	130**	149**
Cl (mEq/L)	101	137	138	111	114	119	93	112	60	71**
Na (mEq/day)	1.2	1.1	1.6	1.0	1.5	0.7*	1.3	0.9	1.3	1.3
K (mEq/day)	2.4	2.1	2.9	1.8	2.7	1.6	2.5	1.8	2.4	2.3
Cl (mEq/day)	1.0	1.0	1.4	0.8	1.2	0.7*	1.0	0.9	1.1	1.1
Hematology										
Erythrocytes (10^6/µL)	8.48	7.69	8.28	7.57	8.20	7.46	8.10*	7.53	7.85**	7.76
Leucocytes (10^3/µL)	6.67	5.55	6.14	4.67	6.87	4.95	6.71	5.90	7.20	8.04**
Hemoglobin (g/dL)	15.4	14.5	14.9	14.3	14.9	14.1	14.7*	14.3	14.2**	14.3
Hematocrit (%)	46.6	43.5	45.7	43.1	45.0	42.5	44.6*	43.0	43.0**	42.9
Platelet (10^3/µL)	968	983	917	995	951	1014	993	1127*	1111*	1187**
Reticulocytes (%)	1.9	2.4	2.0	2.4	1.9	2.4	2.4**	2.3	2.8**	2.8
Clinical Chemistry										
Total cholesterol (mg/dL)	68	57	79	71	90**	91**	89**	95**	105**	96**
Total proteins (g/dL)	5.3	5.7	5.4	6.2**	5.5	6.2**	5.5*	6.3**	5.6*	5.6
Triglycerides (mg/dL)	156	106	146	131	121	118	116	124	100**	70
Organ Weights (Week 13)										
Epididymides, absolute weight (g)	1.31	n/a	1.21	n/a	1.26	n/a	1.03*	n/a	0.17**	n/a
Epididymides, relative weight (g/kg BW)	3.29	n/a	3.05	n/a	3.21	n/a	2.64	n/a	0.50**	n/a
Testes, absolute weight	3.26	n/a	3.02	n/a	3.12	n/a	2.88	n/a	0.50**	n/a
Testes, relative weight	8.17	n/a	7.57	n/a	7.95	n/a	7.47	n/a	1.46**	n/a
Prostate, absolute weight	1.08	n/a	0.96	n/a	0.97	n/a	0.67**	n/a	0.06**	n/a
Seminal vesicles, absolute weight	1.33	n/a	1.28	n/a	1.10	n/a	0.75**	n/a	0.04**	n/a
Seminal vesicles, relative weight	3.36	n/a	3.20	n/a	2.83	n/a	1.89**	n/a	0.12**	n/a
Ovaries, absolute weight	n/a	0.114	n/a	0.089	n/a	0.058**	n/a	0.049**	n/a	0.041**
Ovaries, relative weight	n/a	0.479	n/a	0.377	n/a	0.250*	n/a	0.196**	n/a	0.149**
Uterus, absolute weight	n/a	0.80	n/a	0.65	n/a	0.66	n/a	0.60	n/a	0.34**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		50		150		500		1500	
Uterus, relative weight	n/a	3.31	n/a	2.77	n/a	2.83	n/a	2.42	n/a	1.23**
Pituitary gland, absolute weight	0.011	0.016	0.011	0.017	0.011	0.019*	0.011	0.019**	0.009*	0.011**
Pituitary gland, relative weight	0.028	0.066	0.028	0.071	0.028	0.080**	0.028	0.077*	0.026	0.039**
Thymus, absolute weight	0.328	0.299	0.291	0.277	0.362	0.290	0.384	0.306	0.499*	0.385
Thymus, relative weight	0.828	1.247	0.730	1.175	0.923	1.232	1.011	1.218	1.450**	1.372
Liver, absolute weight	12.54	8.43	13.30	8.69	13.32	9.21	13.35	9.95**	11.05	9.60*
Liver, relative weight	31.55	35.15	33.19	36.82	33.86*	38.93*	34.67**	39.81**	32.32	34.49
Spleen, relative weight	1.71	2.30	1.83	2.28	1.72	2.23	1.87	2.32	2.03**	2.28
Brain, relative weight	5.33	8.32	5.34	8.45	5.50	8.50	5.71	8.08	6.11**	7.20**
Submandibular glands, absolute weight	0.69	0.51	0.64	0.50	0.65	0.50	0.65	0.51	0.55**	0.51
Submandibular glands, relative weight	1.73	2.13	1.61	2.10	1.66	2.13	1.69	2.03	1.63	1.82**
Lung, relative weight	3.42	4.55	3.35	4.44	3.50	4.37	3.45	4.26	3.68*	4.21
Adrenals, relative weight	0.177	0.356	0.173	0.362	0.189	0.379	0.203	0.366	0.194	0.292**
Heart, absolute weight	0.96	0.68	0.96	0.71	0.99	0.72	0.94	0.73	0.78**	0.71
Heart, relative weight	2.41	2.85	2.40	3.01	2.51	3.05	2.46	2.93	2.30	2.57**
Thyroid, absolute weight	0.021	0.020	0.023	0.021	0.022	0.021	0.026*	0.022	0.024	0.023
Thyroid, relative weight	0.052	0.086	0.059	0.089	0.056	0.091	0.068*	0.086	0.070*	0.082
Gross Pathology										
Testes, small	1	n/a	1	n/a	1	n/a	1	n/a	10	n/a
Epididymides, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a	10	n/a
Prostate, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a	10	n/a
Seminal vesicles, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a	10	n/a
Ovaries, small	n/a	0	n/a	2	n/a	5	n/a	9	n/a	9
Histopathology [d]										
Testes, atrophy [e]	1++	n/a	1++	n/a	1+	n/a	1++	n/a	1+, 9+++	n/a
Epididymides, atrophy [e]	1+	n/a	1+	n/a	1+	n/a	1++	n/a	1++, 9+++	n/a
Prostate, atrophy [e]	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1+++	n/a	10+++	n/a
Seminal vesicles, atrophy [e]	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1+++	n/a	10+++	n/a
Uterus, atrophy [e]	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1+	n/a	2+, 4++
Vagina, atrophy epithelium [e]	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1+, 3++
Ovaries, decrease corpora lutea [e]	n/a	0	n/a	1+, 4++	n/a	2+, 3++, 5+++	n/a	2++, 8+++	n/a	4+, 2++, 4+++
Ovaries, decrease follicle large sized [e]	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3+, 3++
Ovaries, increase atretic follicle large sized [e]	n/a	0	n/a	4+	n/a	8+	n/a	9+,1++	n/a	4+
Ovaries, increase interstitial cell [e]	n/a	0	n/a	2+	n/a	5+	n/a	7+	n/a	3+

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		50		150		500		1500	
Ovaries, increase unruptured follicle [e]	n/a	0	n/a	3+	n/a	5+	n/a	1+	n/a	0
Mammary glands, atrophy [e]	0	0	0	0	0	0	2+, 2++	0	2+, 3++, 5+++	1+
Kidneys, basophilic change of tubule [e]	0	0	0	0	0	0	0	0	3+	3+
Kidneys, dilatation renal tubule [e]	0	0	0	0	0	0	0	0	2+	0
Thyroid, dilatation follicle [e]	0	0	0	1+	0	0	4+	0	6+	5+
Adrenals, increased brown pigmented macrophage cortex [e]	0	1+	0	1+	0	0	2+	1+	10+	6+

Dunnett's test *: P<0.05 **: P<0.01; n/c: Not calculated; n/a: Not applicable
[a]: – No noteworthy findings
[b]: Misdosing
[c]: ±: trace; +: small amount; ++: moderate amount
[d]: Data expressed as incidence and severity grading
[e]: +: slight; ++: moderate, +++: marked

2.6.7.7C 26-Week Oral Gavage Toxicity Study in Wistar Rats with a 10-Week Recovery Period

Species/Strain: Rat/RccHan:WIST
Initial Age: 6 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Duration of Dosing: Daily for 26 weeks
Duration of Post-dose: 10 weeks recovery
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution
Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.3.2.4
Study Number: 11093
GLP compliance: Yes

Special Features: –
No Observed Adverse Effect Level: 50 mg/kg/day in males and 200 mg/kg/day in females.

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		50		200		1000	
Number of Animals	**20M**	**20F**	**20M**	**20F**	**20M**	**20F**	**20M**	**20F**
Toxicokinetics								
KLH-2109 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	1940000	2160000	2750000	3100000	4030000	5590000
On the 13th week:	n/c	n/c	1160000	2380000	1920000	3310000	3160000	4480000
On the 26th week:	n/c	n/c	983000	1730000	1670000	2700000	2580000	3920000
KP017 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	7250	4760	31200	24900	63800	52000
On the 13th week:	n/c	n/c	5490	5320	11500	13700	19800	19000
On the 26th week:	n/c	n/c	4120	3770	8460	12800	17100	19400
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	1 [b]	0	0	0	0	0
Clinical Signs [a]	–	–	–	–	–	–	–	–
Body Weights (g)								
Day 1	164.3	134.9	163.4	133.5	163.4	133.2	163.5	132.2
Day 92	412.1	243.1	423.5	239.5	400.4	243.1	352.8**	259.5*
Day 182 (end of treatment)	468.9	270.7	485.7	270.8	459.0	275.1	412.3**	280.1
Day 252 (end of recovery)	475.7	288.4	499.8	282.1	480.0	290.7	420.7	283.9
Food Consumption (g)								
Day 2	18.6	14.7	18.6	14.5	18.2	14.5	16.6**	13.0*
Day 182 (end of treatment)	21.2	16.6	22.2	16.8	21.0	17.4	20.5	15.9
Day 252 (end of recovery)	20.6	17.0	20.8	16.1	21.2	17.6	19.3	14.5
Number Evaluated	**15M**	**15F**	**13M**	**14F**	**15M**	**15F**	**15M**	**15F**
Clinical Chemistry (Week 26)								
Total cholesterol (mg/dL)	82	61	90	86*	93	98**	94*	97**
Triglycerides (mg/dL)	184	100	163	96	112*	108	104*	85
Albumin (g/dL)	2.3	2.7	2.3	2.9**	2.4	2.9**	2.4*	2.8

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		50		200		1000	
Number Evaluated	**15M**	**15F**	**14M**	**15F**	**15M**	**15F**	**15M**	**15F**
Organ Weights (Week 26)								
Epididymides, absolute weight (g)	1.49	n/a	1.46	n/a	1.43	n/a	1.00**	n/a
Epididymides, relative weight (g/kg BW)	3.13	n/a	2.98	n/a	3.11	n/a	2.35**	n/a
Testes, absolute weight	3.66	n/a	3.56	n/a	3.40	n/a	2.79**	n/a
Testes, relative weight	7.68	n/a	7.26	n/a	7.42	n/a	6.59**	n/a
Prostate, absolute weight	1.29	n/a	1.15	n/a	0.91**	n/a	0.54**	n/a
Prostate, relative weight	2.72	n/a	2.34	n/a	1.99**	n/a	1.24**	n/a
Seminal vesicles, absolute weight	1.55	n/a	1.38	n/a	1.10**	n/a	0.56**	n/a
Seminal vesicles, relative weight	3.27	n/a	2.81	n/a	2.42*	n/a	1.27**	n/a
Ovaries, absolute weight	n/a	0.122	n/a	0.067*	n/a	0.054**	n/a	0.042**
Ovaries, relative weight	n/a	0.452	n/a	0.247*	n/a	0.198**	n/a	0.152**
Pituitary gland, absolute weight	0.011	0.018	0.011	0.022*	0.011	0.023**	0.010	0.016
Pituitary gland, relative weight	0.023	0.067	0.022	0.080	0.024	0.086**	0.023	0.057
Thymus, absolute weight	0.270	0.222	0.241	0.229	0.274	0.218	0.340*	0.240
Thymus, relative weight	0.566	0.819	0.494	0.838	0.593	0.795	0.813**	0.849
Liver, absolute weight	14.97	8.68	15.57	9.25	14.51	10.06**	12.71**	8.93
Spleen, absolute weight	0.88	0.59	0.73	0.60	0.74	0.60	0.71**	0.58
Adrenals, relative weight	0.120	0.297	0.122	0.297	0.134*	0.329	0.139**	0.271
Brain, relative weight	4.71	7.66	4.53	7.67	4.85	7.61	5.30**	7.34
Submandibular glands, relative weight	1.44	2.03	1.46	2.00	1.49	2.05	1.56	1.81*
Heart, relative weight	2.29	2.97	2.29	2.96	2.30	2.94	2.34	2.72*
Number Evaluated	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**
Organ Weights (Recovery)								
Seminal vesicles, absolute weight	1.89	n/a	1.21**	n/a	1.64	n/a	1.04**	n/a
Seminal vesicles, relative weight	3.96	n/a	2.41**	n/a	3.40	n/a	2.50**	n/a
Prostate, absolute weight	1.59	n/a	1.31	n/a	1.15*	n/a	0.86**	n/a
Prostate, relative weight	3.35	n/a	2.59*	n/a	2.38**	n/a	2.04**	n/a
Uterus, absolute weight	n/a	0.96	n/a	0.79	n/a	0.80	n/a	0.65*
Uterus, relative weight	n/a	3.42	n/a	2.79	n/a	2.75	n/a	2.28*
Number Evaluated	**15M**	**15F**	**15M**	**15F**	**15M**	**15F**	**15M**	**15F**
Gross Pathology (Week 26)								
Testes, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a
Epididymides, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3	n/a
Prostate, small	0	n/a	0	n/a	1	n/a	8	n/a
Seminal vesicles, small	0	n/a	0	n/a	3	n/a	10	n/a

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		50		200		1000	
Ovaries, small	n/a	0	n/a	7	n/a	12	n/a	15
Uterus, small	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2
Number Evaluated	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**	**5M**	**5F**
Gross Pathology (Recovery)								
Prostate, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a
Seminal vesicles, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2	n/a
Number Evaluated	**15M**	**15F**	**15M**	**15F**	**15M**	**15F**	**15M**	**15F**
Histopathology (Week 26) [c]								
Testes, atrophy [d]	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2+, 1++	n/a
Epididymides, atrophy [d]	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1+, 2++	n/a
Prostate, atrophy [d]	0	n/a	0	n/a	1+	n/a	3+, 4++	n/a
Seminal vesicles, atrophy [d]	0	n/a	0	n/a	1+	n/a	6+, 2++	n/a
Uterus, atrophy [d]	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1+, 2++, 2+++
Vagina, atrophy epithelium [d]	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1++, 1+++
Oviduct, atrophy [d]	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2+
Ovaries, decrease corpora lutea [d]	n/a	2+	n/a	2++, 12+++	n/a	1++, 14+++	n/a	2++, 13+++
Ovaries, decrease follicle large sized [d]	n/a	0	n/a	0	n/a	1+	n/a	2++, 1+++
Ovaries, increase atretic follicle large sized [d]	n/a	2+	n/a	4+, 10++	n/a	10+, 3++	n/a	10+, 1++
Ovaries, increase interstitial cell [d]	n/a	0	n/a	6+	n/a	13+	n/a	8+
Ovaries, increase unruptured follicle [d]	n/a	0	n/a	4+	n/a	3+	n/a	4+
Mammary glands, atrophy [d]	3+, 1++	0	2+, 1++	0	8+, 2++	0	5+, 5++, 3+++	2+
Thyroid, dilatation follicle [d]	2+	7+	3+	8+	5+	9+	9+	14+
Number Evaluated	**5M**	**5F**	**5M**	**0F**	**5M**	**0F**	**5M**	**5F**
Histopathology (Recovery) [c]								
Prostate, atrophy	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1+	n/a
Seminal vesicles, atrophy	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2+	n/a

Dunnett's test *: P<0.05 **: P<0.01; n/c: Not calculated; n/a: Not applicable; –: Data not generated
[a]: –: No noteworthy findings
[b]: Humanely euthanized after biting off and swallowing oral gastric tube during administration on Day 81
[c]: Data expressed as incidence and severity grading
[d]: +: slight; ++: moderate, +++: marked

2.6.7.7D 4-Week Oral Gavage Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Period

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Initial Age: 3–5 years
Date of First Dose: [redacted]
Duration of Dosing: Daily for 4 weeks
Duration of post-dose: 4 weeks recovery
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution
Location in CTD: 4.2.3.2.5
Study Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes
Test Article: KLH-2109 Choline

Special Features: –
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		100		1000	
Number of Animals	**5M**	**5F**	**3M**	**3F**	**3M**	**3F**	**5M**	**5F**
Toxicokinetics								
KLH-2109 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	260460	274379	1444264	1579468	3650583	2370201
On the 4th week:	n/c	n/c	220424	244714	1097538	1132970	2703624	1763695
KP017 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	2924.33	2866.35	5937.13	36404.91	76968.05	48151.37
On the 4th week:	n/c	n/c	1347.64	1328.25	5196.65	17462.12	74211.15	33251.83
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Mean Body Weight Gain (kg) Day 1–28	0.1	–0.0	0.1	–0.1	0.0	–0.0	–0.2	–0.0
Mean Menstrual Cycle Length in Days (Dosing Phase) [a]	n/a	29	n/a	28	n/a	–	n/a	–
Clinical Chemistry (Week 4)								
ALT (U/L)	44.34	37.89	38.76	42.30	66.50	80.24*	88.47	95.44***
GLDH (U/L)	18.91	11.77	10.28	13.91	18.78	19.26	52.54	26.21**
Number Evaluated	**3M**	**3F**	**3M**	**3F**	**3M**	**3F**	**3M**	**3F**
Organ Weights (% of BW) (Week 4)								
Ovaries	n/a	0.018	n/a	0.017	n/a	0.006**	n/a	0.013
Uterus/cervix	n/a	0.234	n/a	0.276	n/a	0.125*	n/a	0.144*
Epididymides	0.080	n/a	0.091	n/a	0.080	n/a	0.062	n/a
Prostate	0.041	n/a	0.062	n/a	0.053	n/a	0.028	n/a
Seminal vesicles	0.072	n/a	0.078	n/a	0.081	n/a	0.041	n/a
Testes	0.581	n/a	0.559	n/a	0.541	n/a	0.407	n/a
Number Evaluated	**2M**	**2F**	**0M**	**0F**	**0M**	**0F**	**2M**	**2F**
Organ Weights (% of BW) (Recovery)								
Testes	0.697	n/a	–	n/a	–	n/a	0.474	n/a

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		100		1000	
Number Evaluated	**3M**	**3F**	**3M**	**3F**	**3M**	**3F**	**3M**	**3F**
Histopathology [b] **(Week 4)**								
Uterus/Cervix, atrophy endometrium	n/a	0	n/a	0	n/a	2	n/a	3
Cervix, epithelial atrophy	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2
Vagina, epithelial atrophy	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2
Epididymides, epithelial atrophy	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a
Epididymides, oligospermia	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2	n/a
Prostate, atrophy	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3	n/a
Seminal vesicles, atrophy	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3	n/a
Testes, atrophy	0	n/a	1	n/a	0	n/a	3	n/a
Number Evaluated	**2M**	**2F**	**0M**	**0F**	**0M**	**0F**	**2M**	**2F**
Histopathology [b] **(Recovery)**								
Epididymis, oligospermia [c]	0	n/a	–	n/a	–	n/a	1	n/a
Testes, atrophy [c]	0	n/a	–	n/a	–	n/a	2	n/a

Dunnett's test for parametric data; Wilcoxon test for non-parametric data; * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; n/a: Not applicable; n/c: Not calculated
[a]: –: Not assessed due to the shortness of dosing period
[b]: Data expressed as incidence
[c]: –: Data not generated

2.6.7.7E 13-Week Oral Gavage Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Initial Age: 4–5 years
Date of First Dose: [redacted]

Duration of Dosing: Daily for 13 weeks
Duration of Post-dose: None
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution

Location in CTD: 4.2.3.2.6
Study Number: [redacted]
Test Article: KLH-2109 Choline

Special Features: –
No Observed Adverse Effect Level: 10 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		100		1000	
Number of Animals	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**
Toxicokinetics								
KLH-2109 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	253000	265000	1200000	1510000	3430000	2800000
On the 13th week:	n/c	n/c	209000	282000	1340000	1550000	2370000	2640000
KP017 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	1610	5480	6510	17700	15900	31400
On the 13th week:	n/c	n/c	1050	2220	5930	6430	14600	15700
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	1 [a]	0
Mean Body Weight gain (kg) Day 1–91	0.7	–0.0	0.5	0.5	0.3	0.2	0.2	–0.2
Normal Menstrual Cycle (Dosing Phase)	n/a	Y	n/a	Y	n/a	N	n/a	N
Clinical Chemistry Day 87								
GLDH (U/L)	21.90	26.17	22.93	26.15	36.61	42.45	28.16	72.33
ALT (U/L)	46.85	68.82	54.78	59.14	84.48	84.79	61.51	136.18
Number Evaluated	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**	**3M**	**4F**
Organ Weights (% of BW)								
Prostate	0.067	n/a	0.048	n/a	0.052	n/a	0.039	n/a
Seminal vesicles	0.075	n/a	0.049	n/a	0.063	n/a	0.031	n/a
Epididymides	0.078	n/a	0.073	n/a	0.079	n/a	0.048	n/a
Testes	0.534	n/a	0.487	n/a	0.479	n/a	0.288	n/a
Ovaries	n/a	0.014	n/a	0.015	n/a	0.012	n/a	0.010
Uterus/Cervix	n/a	0.204	n/a	0.225	n/a	0.158	n/a	0.103
Liver	1.873	1.813	1.789	1.719	1.744	2.161	2.081	2.274
Spleen	0.189	0.116	0.167	0.137	0.159	0.151	0.181	0.208**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		100		1000	
Number Evaluated	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**	**3M**	**4F**
Histopathology (Week 13) [b]								
Uterus/Cervix, endometrial atrophy	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2
Cervix, epithelial atrophy	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2
Vagina, epithelial atrophy	n/a	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2
Ovaries, no fresh corpus luteum	n/a	0	n/a	0	n/a	3	n/a	3
Ovaries, fresh corpus luteum	n/a	4	n/a	4	n/a	1	n/a	1
Epididymides, atrophy	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3	n/a
Epididymides, oligospermia	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3	n/a
Epididymides, fibrosis	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3	n/a
Prostate, atrophy	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3	n/a
Seminal vesicles, atrophy	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3	n/a
Testes, atrophy	0	n/a	0	n/a	1	n/a	3	n/a
Testes, germ cell degeneration	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3	n/a
Testes, Fibrosis, capsule	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3	n/a

Y: Normal cycle; N: Abnormal cycle length/absence of cycle; Dunnett's test; * P<0.05, ** p<0.01; n/a: Not applicable; n/c: Not calculated
[a]: Dead animal on Day 72 due to misdosing
[b]: Data expressed as incidence

2.6.7.7F 39-Week Oral Gavage Toxicity Study in Cynomolgus Monkeys with a 20-Week Recovery Period

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus
Initial Age: 3–7 years
Date of First Dose: [redacted]

Duration of Dosing: Daily for 39 weeks
Duration of Post-dose: 20 weeks recovery
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution

Location in CTD: 4.2.3.2.7
Study Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes
Test Article: KLH-2109 Choline

Special Features: –
No Observed Adverse Effect Level: 10 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		100		1000	
Number of Animals	**6M**	**6F**	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**	**6M**	**6F**
Toxicokinetics								
KLH-2109 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	225000	222000	1870000	1490000	3620000	2920000
On the 26th week:	n/c	n/c	328000	301000	1530000	1780000	2710000	2400000
On the 39th week:	n/c	n/c	310000	310000	1650000	1640000	2840000	2910000
KP017 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	1110	1960	10900	4660	22200	11600
On the 26th week:	n/c	n/c	2630	3850	15600	11700	16200	21700
On the 39th week:	n/c	n/c	2640	3670	18200	11900	28200	28800
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	1 [a]	0
Mean Body Weight Gain (kg) (Dosing Day 1 – 273)	0.5	0.6	1.2	0.8	0.4	0.9	0.2	0.6
Mean Body Weight Gain (kg) (Dosing Day 273 – Recovery Day 140)	0.7	0.2	–	–	–	–	1.1	1.1
Normal Cycle in All Animals (Dosing Period)								
Cycle 1	n/a	Y	n/a	Y	n/a	N	n/a	N
Cycle 2	n/a	Y	n/a	Y	n/a	N	n/a	N
Cycle 3	n/a	Y	n/a	Y	n/a	N	n/a	N
Cycle 4	n/a	Y	n/a	Y	n/a	N	n/a	N
Cycle 5	n/a	Y	n/a	Y	n/a	N	n/a	–
Cycle 6	n/a	Y	n/a	N	n/a	N	n/a	–
Cycle 7	n/a	Y	n/a	Y	n/a	–	n/a	–
Cycle 8	n/a	Y	n/a	Y	n/a	–	n/a	–
Cycle 9	n/a	Y	n/a	–	n/a	–	n/a	–
Cycle 10	n/a	Y	n/a	–	n/a	–	n/a	–

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		100		1000	
Normal Cycle in All Animals (Recovery)								
Cycle 1	n/a	Y	n/a	–	n/a	–	n/a	Y
Cycle 2	n/a	Y	n/a	–	n/a	–	n/a	Y
Cycle 3	n/a	Y	n/a	–	n/a	–	n/a	Y
Cycle 4	n/a	Y	n/a	–	n/a	–	n/a	–
Mean Testicular Volume (mL)								
Dosing Week 6	37.67	n/a	38.30	n/a	28.38	n/a	17.01**	n/a
Dosing Week 12	47.47	n/a	35.68	n/a	30.02	n/a	13.12**	n/a
Dosing Week 18	50.35	n/a	40.67	n/a	27.70*	n/a	13.45**	n/a
Dosing Week 24	51.71	n/a	39.97	n/a	28.47*	n/a	11.85***	n/a
Dosing Week 30	52.93	n/a	44.82	n/a	29.78*	n/a	11.75***	n/a
Dosing Week 36	55.06	n/a	49.24	n/a	34.34	n/a	14.25*	n/a
Dosing Week 39	50.90	n/a	47.99	n/a	31.07	n/a	12.05**	n/a
Recovery Week 5	62.43	n/a	–	n/a	–	n/a	15.64	n/a
Recovery Week 10	54.56	n/a	–	n/a	–	n/a	46.39	n/a
Recovery Week 15	59.79	n/a	–	n/a	–	n/a	52.75	n/a
Recovery Week 20	64.22	n/a	–	n/a	–	n/a	63.54	n/a
Clinical Chemistry								
GLDH (U/L) Dosing Day 179	17.56	22.51	15.42	18.83	43.25	64.82	58.49*	57.02
GLDH (U/L) Dosing Day 270	19.62	24.00	20.22	31.20	37.82	55.29	64.42*	73.43
GLDH (U/L) Recovery Day 134	24.41	26.29	–	–	–	–	16.36	19.02
ALT (U/L) Dosing Day 179	52.24	63.53	53.72	52.64	96.93	113.12	128.32*	138.34
ALT (U/L) Dosing Day 270	53.13	56.08	55.69	63.58	80.43	83.24	111.61	94.36
ALT (U/L) Recovery Day 134	37.76	59.73	–	–	–	–	35.12	54.67
Number Evaluated	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**
Organ Weights (% of BW)								
Prostate	0.061	n/a	0.075	n/a	0.079	n/a	0.057	n/a
Seminal vesicles	0.084	n/a	0.093	n/a	0.108	n/a	0.048	n/a
Epididymides	0.098	n/a	0.088	n/a	0.084	n/a	0.061	n/a
Testes	0.695	n/a	0.590	n/a	0.460	n/a	0.287**	n/a
Ovaries	n/a	0.016	n/a	0.015	n/a	0.009**	n/a	0.008**
Uterus/Cervix	n/a	0.178	n/a	0.233	n/a	0.142	n/a	0.076 [c]
Liver	1.735	1.947	1.750	1.791	1.800	1.938	2.145*	2.346**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		100		1000	
Number Evaluated	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**
Gross Pathology [b]								
Testes, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3	n/a
Testes, discolored	0	n/a	0	n/a	0	n/a	4	n/a
Testes, soft	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2	n/a
Epididymides, discolored	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2	n/a
Epididymides, small	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a
Number Evaluated	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**	**4M**	**4F**
Histopathology [b]								
Epididymides, oligospermia	0	n/a	0	n/a	0	n/a	3	n/a
Prostate, atrophy	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2	n/a
Seminal vesicles, atrophy	0	n/a	0	n/a	0	n/a	2	n/a
Testes. atrophy	0	n/a	1	n/a	0	n/a	3	n/a
Testes, degeneration	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a
Testes, fibrosis	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a
Ovaries, fresh corpus luteum	n/a	4	n/a	2	n/a	1	n/a	0
Ovaries, lack of fresh corpus luteum	n/a	0	n/a	2	n/a	3	n/a	4
Uterus/Cervix, atrophy	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a	4
Uterus/Cervix, epithelial atrophy	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a	4
Vagina, epithelial atrophy	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a	4

Dunnett's test * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001; –: Data not generated; n/c: Not calculated; n/a: Not applicable; Y: Normal cycle; N: Abnormal cycle length/absence of cycle

[a]: Misdosing on Dosing Day 78

[b]: Data expressed as incidence

[c]: Unadjusted weight in g (3.149) is statistically significant (p<0.05)

2.6.7.7G 13-Week Oral (Gavage) Toxicity Study in the CD1-Mouse

Species/Strain: Mouse/Crl:CD-1(ICR)
Initial Age: 6 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Duration of Dosing: Daily for 13 weeks
Duration of Post-dose: None
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution
Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.3.2.8
Study Number: [redacted]
GLP Compliance: Yes

Special Features: –
No Observed Adverse Effect Level: 40 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		40		750		1500	
Number of Animals of Main Groups	**12M**	**12F**	**12M**	**12F**	**12M**	**12F**	**12M**	**12F**
Number of Satellite Animals for TK	**6M**	**6F**	**27M**	**27F**	**27M**	**27F**	**27M**	**27F**
Toxicokinetics								
KLH-2109 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	1190000	1650000	3570000	3420000	4250000	4860000
On the 13th week:	n/c	n/c	1320000	2090000	5910000	6370000	7260000	8060000
KP017 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	102000	72800	293000	179000	241000	284000
On the 13th week:	n/c	n/c	85200	80100	221000	182000	251000	352000
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	1 [a]	1	1
Food Consumption (g/animal/day)								
Days 1–8	5.96	5.30	6.54*	6.20**	6.16	5.83*	5.68	5.43
Days 29–36	5.77	5.76	5.73	6.09	5.77	5.71	5.26	4.86*
Days 36–43	5.75	5.59	5.80	5.83	5.30	5.35	4.91**	4.75*
Days 43–50	5.51	5.07	5.64	5.66	4.86**	5.07	4.48**	4.59
Days 50–57	5.70	5.35	5.57	5.62	4.79**	4.99	4.47**	4.53*
Days 57–64	5.33	5.02	5.32	5.37	4.53**	4.74	4.26**	4.59
Days 64–71	5.40	5.57	5.30	5.73	4.59**	4.86	4.50**	4.65*
Days 71–78	5.09	5.14	5.14	5.37	4.61*	5.07	4.21**	4.25*
Days 85–92	5.03	4.91	4.64	4.96	4.13**	4.39	4.40	3.98*
Absolute Body Weights (g)								
Day 8	31.70	23.92	30.94	25.25**	31.09	24.69	30.51	25.21*
Day 15	33.26	24.61	31.45*	25.40	34.42	25.84	34.17	28.88**
Day 22	34.11	25.11	32.42*	26.15	35.15	27.22**	34.52	30.72**
Day 29	34.85	25.57	32.87*	26.44	35.07	27.79**	34.15	30.27**
Day 36	35.83	26.31	33.86*	27.28	36.31	29.00**	36.01	31.54**

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		40		750		1500	
Day 43	36.48	26.77	34.69	27.85	35.97	29.62**	35.73	31.84**
Day 50	36.77	27.27	34.96	28.38	35.83	30.33**	35.27	32.44**
Day 57	37.85	27.41	35.47*	28.59	36.14	30.66**	35.39*	33.07**
Day 64	38.49	27.90	35.69**	28.91	36.34*	31.15**	35.73**	33.41**
Day 71	39.07	28.28	36.19**	28.99	36.26**	31.53**	35.79**	33.19**
Day 78	39.27	28.09	36.54*	28.96	36.74*	32.29**	35.78**	33.44**
Day 85	39.71	28.52	37.00*	29.43	37.54	33.02**	37.02*	34.09**
Day 92	40.59	29.25	37.07*	28.83	36.50**	32.13**	37.37*	33.94**
Clinical Observations								
Ruffled fur [b]	–	–	–	–	–	–	+	–
Visible weight loss [b]	–	–	–	–	+	–	+	+
Organ Weights (g)								
Pituitary	0.002	0.002	0.002	0.003	0.002	0.002	0.002	0.001**
Liver	2.04	1.42	1.84	1.30	2.30	1.93**	2.58**	2.21**
Thymus	0.032	0.038	0.033	0.037	0.045*	0.049	0.051**	0.054**
Kidneys	0.606	0.342	0.496**	0.338	0.380**	0.360	0.434**	0.386**
Epididymides	0.121	n/a	0.113	n/a	0.032**	n/a	0.024**	n/a
Spleen	0.099	0.107	0.088	0.111	0.172**	0.160**	0.209**	0.184**
Testes	0.269	n/a	0.245	n/a	0.036**	n/a	0.022**	n/a
Prostate	0.076	n/a	0.077	n/a	0.022**	n/a	0.021**	n/a
Seminal vesicles	0.422	n/a	0.359*	n/a	0.021**	n/a	0.017**	n/a
Uterus	n/a	0.370	n/a	0.423	n/a	0.175**	n/a	0.068**
Ovaries	n/a	0.032	n/a	0.024	n/a	0.015	n/a	0.006
Gross Pathology [c]								
Testes, reduced in size	0	n/a	0	n/a	12**	n/a	12**	n/a
Epididymides, reduced in size	0	n/a	0	n/a	12**	n/a	11**	n/a
Epididymides, discoloration	0	n/a	2	n/a	0	n/a	0	n/a
Epididymides, organ missing	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a
Prostate, reduced in size	0	n/a	0	n/a	12**	n/a	12**	n/a
Seminal vesicles, reduced in size	0	n/a	0	n/a	12**	n/a	12**	n/a
Spleen, enlarged	0	n/a	0	n/a	0	n/a	1	n/a
Histopathology [d]								
Liver, hypertrophy, centrilobular	0	0	0	0	2/1.0	2/1.0	6/1.2	4/1.0
Gallbladder, biliary sand	0	0	0	0	3/1.3	2/2.0	5/2.6	5/2.2
Kidneys, tubular basophilia	2/1.0	1/1.0	2/1.0	1/1.0	7/1.0	6/1.0	12/2.6	12/2.6
Kidneys, Tubular dilatation	0	0	1/1.0	0	0	1/1.0	4/1.3	3/1.7

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		40		750		1500	
Kidneys, mononuclear cell infiltration	3/1.0	4/1.0	2/1.0	3/1.0	5/1.0	4/1.0	8/1.4	10/1.3
Kidneys, interstitial fibrosis	0	0	0	0	3/1.0	1/1.0	4/1.5	6/1.2
Kidneys, tubular cast	1/1.0	0	1/1.0	1/1.0	0	0	4/1.0	1/1.0
Spleen, extramedullary hematopoiesis	6/1.2	10/1.2	7/1.0	10/1.0	12/1.4	12/1.6	12/2.2	12/1.8
Spleen, deposit of pigment	10/1.1	12/1.4	12/1.1	12/1.6	12/1.5	12/1.5	12/1.6	12/1.7
Bone marrow, increased erythropoiesis	0	0	0	0	0	0	3/1.3	3/1.0
Testes, atrophy	0	n/a	0	n/a	11/3.7	n/a	12/4.0	n/a
Epididymides, atrophy	0	n/a	0	n/a	11/3.6	n/a	12/4.0	n/a
Prostate, atrophy	0	n/a	0	n/a	12/3.5	n/a	11/4.0	n/a
Seminal vesicles, atrophy	0	n/a	0	n/a	12/3.8	n/a	11/4.0	n/a
Coagulating glands, atrophy	0	n/a	0	n/a	12/3.8	n/a	10/4.0	n/a
Ovaries, atrophy	n/a	0	n/a	9/1.1	n/a	11/2.8	n/a	12/3.5
Ovaries, increased of interstitial gland cell	n/a	0	n/a	9/1.3	n/a	2/1.5	n/a	0
Oviducts, atrophy	n/a	0	n/a	0	n/a	4/1.0	n/a	10/1.2
Uterus, atrophy	n/a	0	n/a	0	n/a	12/2.9	n/a	12/4.0
Cervix, atrophy	n/a	0	n/a	0	n/a	5/4.0	n/a	12/4.0
Vagina, atrophy	n/a	0	n/a	0	n/a	5/3.6	n/a	11/4.0
Mandibular glands, atrophy of granular duct	0	0	0	–	12/2.2	–	12/2.6	0
Mammary glands, atrophy	0	0	–	0	–	8/1.0	0	11/1.0

Dunnett's test *: P<0.05, **: P<0.01; Fisher's exact test: *:P<0.05, **: P<0.01 (macroscopic findings only); n/c: Not calculated; n/a: Not applicable.
[a]: Likely due to misdosing
[b]: +: slight; –: None
[c]: Data expressed as incidence
[d]: Incidence/mean severity: grade 1 = minimal / very few / very small, grade 2 = slight / few / small, grade 3 = moderate / moderate number / moderate size, grade 4 = marked / many / large

2.6.7.7H Toxicity Study by Oral Gavage Administration to Beagle Dogs for 4 Weeks Followed by a 4 Weeks Recovery Period

Species/Strain: Dog/Beagle
Initial Age: 22–26 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Duration of Dosing: Daily for 4 weeks
Duration of Post-dose: 4 weeks recovery
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution
Location in CTD: 4.2.3.2.10
Study Number: [redacted]
GLP compliance: Yes
Test Article: KLH-2109 Choline

Special Features: –
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		100		1000	
Number of Animals	**5M**	**5F**	**3M**	**3F**	**3M**	**3F**	**5M**	**5F**
Toxicokinetics								
KLH-2109 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	686000	641000	1930000	2110000	3600000	2950000
On the 4th week:	n/c	n/c	1010000	888000	1930000	2200000	2370000	2480000
KP017 $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	87.9	81.9	397	549	1510	1100
On the 4th week:	n/c	n/c	123	90.8	416	422	660	768
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Signs								
Pale faeces	0	0	0	0	0	0	5	5
Repetitive movements/head shaking	0	0	0	0	0	0	4	1
Mean bodyweight change (kg) (Weeks 0–4)	0.9	1.0	0.6	1.0	0.7	0.6	0.5	0.5*
Hematology								
Platelets (10^9/L) (Week 4)	369	346	395	386	400	379	535*	525*
Red blood cell distribution width (%) (Week 4)	13.3	13.2	13.4	13.5	13.6	13.6	14.1	14.5**
Blood Chemistry								
GLDH (U/L) (Week 1)	5	5	5	11	5	6	7	15**
GLDH (U/L) (Week 4)	5	5	5	7	5	7	10*	20**
ALP (U/L) (Week 4)	122	135	139	113	123	136	152*	192*
Triglycerides (mmol/L) (Week 1)	0.24	0.26	0.30	0.28	0.40	0.33	0.38*	0.39**
Triglycerides (mmol/L) (Week 4)	0.27	0.31	0.25	0.35	0.55*	0.45	0.50*	0.52*
Cholesterol (mmol/L) (Week 4)	3.60	3.79	3.73	3.15	5.45*	4.25	4.70*	4.77
Organ Weights (g) (Week 4)								
Liver	366	364	366	340	393	378	411	401

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		10		100		1000	
Number Evaluated	**3M**	**3F**	**3M**	**3F**	**3M**	**3F**	**3M**	**3F**
Gross Pathology (Week 4)								
Liver, enlarged	0	0	0	0	0	0	0	2
Gallbladder, abnormal content	0	0	0	0	0	0	3	2
Testes and epididymis, small	0	n/a	3	n/a	3	n/a	3	n/a
Prostate, small	0	n/a	2	n/a	3	n/a	3	n/a
Uterus, thin	n/a	0	n/a	2	n/a	3	n/a	3
Number Evaluated	**2M**	**0F**	**0M**	**0F**	**0M**	**0F**	**2M**	**0F**
Gross Pathology (Recovery)								
Testes and epididymides, small	0	n/a	–	n/a	–	n/a	1	n/a
Prostate, small	0	n/a	–	n/a	–	n/a	1	n/a

Dunnett's test for parametric data and Steel test for non-parametric data: * P<0.05; ** P<0.01; *** P<0.001; n/c: Not calculated; n/a: Not applicable; –: Data not generated

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8A Reverse Mutation Test in Bacteria

Test for Induction of:	Reverse mutation	**Study No:**	11077
Strains:	*Salmonella typhimurium and Escherichia Coli*	**Location in Dossier:**	4.2.3.3.1.1
Metabolizing System:	Phenobarbital and 5,6-Benzoflavone-induced rat liver S9	**GLP Compliance:**	Yes
Vehicles:	DMSO	**Positive Controls:**	As tabulated below
Treatment:	Preincubation method	**Date of Treatment:**	[redacted]
Cytotoxic Effects:	None	**Test Article:**	KLH-2109 Choline
Genotoxic Effects:	No mutagenic effect	**No. of Independent Assays:**	3
		No. of Replicate Cultures:	Triplicate plates for each dose level

Dose range finding study #1

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Revertant Colony Counts Per Plate (Mean)				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*/pKM101	TA98	TA1537
Without Activation	DMSO	0	121	9	163	26	6
	KLH-2109	39	108	8	138	23	9
S9 mix (–) [a]	Choline	78	111	12	116	23	11
		156	110	9	121	29	8
		313	117	7	143	27	9
		625	115	8	143	23	10
		1250	122	10	140	23	9
		2500	113	6	152	28	7
		5000	98	9	145	23	8
	AF-2	0.005			835		
		0.01	640				
		0.1				466	
	SA	0.5		435			
	9AA	80					547
With Activation	DMSO	0	118	9	206	37	14
	KLH-2109	39	136	8	211	41	17
S9 mix (+) [b]	Choline	78	113	8	199	32	14
		156	132	11	183	40	11
		313	132	7	207	39	16
		625	120	11	192	42	12
		1250	137	10	205	41	18
		2500	119	9	188	38	11
		5000	130	10	195	43	13
	2AA	0.5				421	
		1	1621				
		2		333	1334		147

[a]: Vehicle control: DMSO; Positive Controls: AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide; SA: Sodium azide; 9AA: 9-Aminoacridine hydrochloride hydrate
[b]: Vehicle control: DMSO; Positive Control: 2AA: 2-Aminoanthracene

Dose range finding study #2

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Revertant Colony Counts Per Plate (Mean)	
			WP2*uvrA*/pKM101	TA98
Without Activation S9 mix (–) [a]	DMSO	0	117	22
	KLH-2109 Choline	39	106	
		78	114	
		156	122	
		313	120	
		625	116	
		1250	121	
		2500	114	
		5000	122	
	AF-2	0.005	618	
		0.1		380
With Activation S9 mix (+) [b]	DMSO	0	154	29
	KLH-2109 Choline	39	156	29
		78	139	40
		156	148	37
		313	169	35
		625	157	30
		1250	154	36
		2500	164	37
		5000	164	39
	2AA	0.5		351
		2	1038	

[a]: Vehicle control: DMSO; Positive Controls: AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide
[b]: Vehicle control: DMSO; Positive Control: 2AA: 2-Aminoanthracene

Main study

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Revertant Colony Counts Per Plate (Mean)				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*/pKM101	TA98	TA1537
Without Activation	DMSO	0	110	11	125	15	10
	KLH-2109	313	108	10	120	15	6
S9 mix (–) [a]	Choline	625	116	8	119	15	7
		1250	117	11	129	18	8
		2500	113	10	125	16	9
		5000	112	11	118	16	7
	AF-2	0.005			584		
		0.01	633				
		0.1				429	
	SA	0.5		457			
	9AA	80					323
With Activation	DMSO	0	124	9	164	19	14
	KLH-2109	313	117	10	188	22	11
S9 mix (+) [b]	Choline	625	125	16	186	22	15
		1250	119	9	170	26	14
		2500	122	12	168	24	11
		5000	121	10	184	26	11
	2AA	0.5				370	
		1	1511				
		2		336	1194		125

[a]: Vehicle control: DMSO; Positive Controls: AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide; SA: Sodium azide; 9AA: 9-Aminoacridine hydrochloride hydrate
[b]: Vehicle control: DMSO; Positive Control: 2AA: 2-Aminoanthracene

2.6.7.8B Chromosomal Aberration Test in Cultured Chinese Hamster Cells

Test for Induction of:	Chromosomal aberration	**Study No:**	11078
Strains:	Fibroblast cell line derived from the lung of the Chinese hamster (CHL/IU)	**Location in Dossier:**	4.2.3.3.1.2
Metabolizing System:	Phenobarbital and 5,6-Benzoflavone-induced rat liver S9 and Cofactor C	**GLP Compliance:**	Yes
Vehicle:	0.5% methylcellulose solution	**Positive Controls:**	As tabulated below
Treatment:	6 hours treatment + 18 hours recovery (+/–S9) or 24 hours (–S9)	**Date of Treatment:**	[redacted]
No. of Independent Assays:	1	**No. Cells Analysed/Culture:**	100
Cytotoxic Effects:	Severe cytotoxicity at highest concentrations	**No. of Replicate Cultures:**	2
Genotoxic Effects:	Chromosomal aberrations induced at highest concentrations	**Test Article:**	KLH-2109 Choline

Metabolic activation	Test article	Concentration (mg/mL)	Cells with aberrations (including gaps)	Cells with aberrations (excluding gaps)	Statistical significance*	Total polyploid cells	Growth rate (%)
Short term treatment							
With activation (6hr treatment + 18hr recovery) [a]	0.5% methylcellulose solution	0	2 (1.0%)	2 (1.0%)		1	100
	KLH-2109 Choline	0.2	2 (1.0%)	2 (1.0%)		0	95
		0.4	6 (3.0%)	4 (2.0%)		0	70
		0.8	37 (18.5%)	34 (17.0%)	P<0.05	2	24
	CPA	1×10^{-2}	157 (78.5%)	149 (74.5%)	P<0.05	1	49
Without activation (6hr treatment + 18hr recovery) [b]	0.5% methylcellulose solution	0	6 (3.0%)	5 (2.5%)		0	100
	KLH-2109 Choline	0.2	6 (3.0%)	4 (2.0%)		0	89
		0.4	5 (2.5%)	5 (2.5%)		0	69
		0.8	31 (15.5%)	27 (13.5%)	P<0.05	3	48
	MMC	1×10^{-4}	87 (43.5%)	82 (41.0%)	P<0.05	0	61
Continuous treatment							
Without activation (24hr treatment) [b]	0.5% methylcellulose solution	0	2 (1.0%)	1 (0.5%)		2	100
	KLH-2109 Choline	0.125	5 (2.5%)	3 (1.5%)		0	83
		0.25	1 (0.5%)	1 (0.5%)		1	79
		0.5	22 (11.0%)	19 (9.5%)	P<0.05	2	38
	MMC	5×10^{-5}	88 (44.0%)	86 (43.0%)	P<0.05	0	62

* Fisher's Exact test
[a]: Positive Control: CPA: cyclophosphamide
[b]: Positive Control: MMC: mitomycin

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9A *In Vivo* Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Assay in Rat Hepatocytes

Test for Induction of:	DNA damage in rat hepatocytes	**Study No:**	[redacted]
Species/Strains:	Rat/Crl:CD(SD)	**Location in CTD:**	4.2.3.3.2.1
Age:	8 weeks	**Test Article:**	KLH-2109 Choline
Cells Evaluated:	Hepatocytes	**GLP Compliance:**	Yes
No. of Cells Observed/Animal:	150	**Date of Dosing**	[redacted]
Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution	**Positive Controls:**	As tabulated below
Sampling Time:	2, 16 hours	**Treatment Schedule:**	Single dose
Toxic / Cytotoxic Effects:	None	**Method of Administration:**	Oral gavage
Genotoxic Effects:	No DNA damage induction in rat hepatocytes		
Evidence of Exposure:	Drug exposure not evaluated		

Test Article	Dose (mg/kg)	No. of Animals	2hr post treatment		16hr post treatment	
			Net Nuclear Grains	%Cells in repair (mean ± S.D.)	Net Nuclear Grains	%Cells in repair (mean ± S.D.)
Vehicle	0	6M [a]	−1.7	1.6 ± 1.7	−1.5	0.4 ± 0.4
KLH-2109 Choline	1000	6M [a]	−1.6	5.6 ± 4.4	−1.0	4.4 ± 2.3
	2000	6M [a]	−2.0	5.1 ± 3.7	−1.4	4.9 ± 3.7
DMN	5	3M	27.8	100.0 ± 0.0	–	–
2AAF	100	3M	–	–	26.6	100.0 ± 0.0

Positive controls: DMN (Dimethyl nitrosamine); 2AAF (2-Acetylaminofluorene); Cells in repair: UDS positive cells; percent of cells having 5 or greater Net Nuclear Grains (NNG);
Net nuclear grains = Nuclear grains (Mean) – Cytoplasmic grains (Mean); –: Not assessed
[a]: Three animals each at 2hr and 16hr post treatment

2.6.7.9B Oral Micronucleus Test in Sprague-Dawley Rats

Test for Induction of:	Micronucleated cells	**Study No:**	11079
Species/Strains:	Rat/Crl:CD(SD)	**Location in CTD:**	4.2.3.3.2.2
Age:	8 weeks	**Test Article:**	KLH-2109 Choline
Cells Evaluated:	Polychromatic erythrocytes (PCE)	**GLP Compliance:**	Yes
No. of Cells Analysed/Animal:	2000	**Date of Dosing:**	[redacted]
Treatment Schedule:	Single dose	**Method of Administration:**	Oral gavage
Sampling Time:	24, 48 hours	**Vehicle/Formulation:**	0.5% methylcellulose solution
Toxic/Cytotoxic Effects:	None		
Genotoxic Effects:	No statistically significant increase in frequency of micronucleated bone marrow cells. The test item did not induce chromosomal aberrations under the conditions of this study		
Evidence of Exposure:	Drug exposure not evaluated		

Test Article	Dose (mg/kg)	No. of Animals	24hr		48hr	
			No. of micronucleated PCE /total No. of PCE (mean ± S.D.)	No. of reticulocytes /total No. of erythrocytes (mean ± S.D.)	No. of micronucleated PCE /total No. of PCE (mean ± S.D.)	No. of reticulocytes /total No. of erythrocytes (mean ± S.D.)
Vehicle	0	6M	0.18 ± 0.03	60.7 ± 8.2	–	–
KLH-2109 Choline	500	12M	0.16 ± 0.06	61.6 ± 5.8	0.20 ± 0.12	64.6 ± 5.6
	1000	12M	0.17 ± 0.10	58.6 ± 3.9	0.23 ± 0.08	62.5 ± 6.9
	2000	12M	0.23 ± 0.08	55.7 ± 6.5	0.22 ± 0.11	60.3 ± 12.7
Cyclophosphamide	20	6M	3.51 ± 0.53**	57.4 ± 3.8	–	–

PCE: Polychromatic erythrocytes; **: Statistical table of Kastenbaum and Bowman; significant different from vehicle control data at $p < 0.01$; –: Not assessed

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10A Carcinogenicity Study by Oral Gavage Administration to Wistar Rats for 104 Weeks

Species/Strain: Rat/RccHan:WIST
Initial Age: 6 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Duration of Dosing: Daily for 104 weeks
Duration of Post-dose: None
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution
Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.3.4.1.1
Study Number: [redacted]
GLP compliance: Yes

Treatment of Controls: Water for injection (Control #1), 0.5% methylcellulose solution (Control #2)
Basis for High-Dose Selection: Toxicity-based endpoint and saturation of absorption in accordance with FDA CAC committee recommendation
Special Features: Blood samples from three animals of each sex and each group were collected in Weeks 26 and 52 for toxicokinetics.

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control #1)		0 (Control #2)		5		50		500	
Gender		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Toxicokinetics (n=3):											
KLH-2109 Week 26	T_{max} (hr)	n/c	n/c	n/c	n/c	1.0	2.7	0.50	0.50	0.50	1.0
	C_{max} (ng/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	34900	31200	96900	213000	153000	348000
	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	294000	496000	1240000	3190000	2310000	4050000
KLH-2109 Week 52	T_{max} (hr)	n/c	n/c	n/c	n/c	1.0	2.2	0.50	1.0	2.0	1.0
	C_{max} (ng/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	28100	36900	97700	179000	177000	319000
	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	293000	534000	1240000	2740000	2440000	3850000
KP017 Week 26	T_{max} (hr)	n/c	n/c	n/c	n/c	2.7	2.7	2.0	2.0	2.0	2.0
	C_{max} (ng/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	108	66.8	454	453	1650	2870
	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	1040	931	5570	4490	11100	15100
KP017 Week 52	T_{max} (hr)	n/c	n/c	n/c	n/c	2.0	2.7	2.0	2.7	2.0	2.0
	C_{max} (ng/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	102	76.5	540	404	2620	2920
	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	1210	1050	6070	4520	16600	16200

n/c: Not calculated

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control #1)		0 (Control #2)		5		50		500	
Gender	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals										
At Start	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
Died/Sacrificed Moribund	23	25	29	25	20	27	20	30	18	22
Terminal Sacrifice	37	35	31	35	40	33	40	30	42	38
Survival (%)	61.7	58.3	51.7	58.3	66.7	55.0	66.7	50.0	70.0	63.3
Body Weight (% [a])	523 g	297 g	520 g	294 g	0	−1	0	+1	−1	+2
Food Consumption (% [a])	23 g/day	18 g/day	23 g/day	18 g/day	0	0	0	0	0	+6
Number Evaluated	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**
Number of Animals with Neoplastic Lesions:										
Abdominal cavity										
Liposarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sarcoma, NOS	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Adrenal										
Adenoma, cortical cell	3	1	0	1	2	0	0	0	0	2
Carcinoma, cortical cell	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Ganglioneuroma, benign	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Pheochromocytoma, benign	4	0	6	0	2	1	4	3	1	0
Pheochromocytoma, malignant	0	0	1	0	2	0	0	2	0	0
Cerebellum										
Granular cell tumor, benign	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Granular cell tumor, malignant	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Cerebrum										
Astrocytoma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ependymoma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Glioma, mixed, malignant	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Granular cell tumor, benign	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0
Granular cell tumor, malignant	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0
Meningioma, benign	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

[a]: At 6 months. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from control #1 are shown.

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control #1)		0 (Control #2)		5		50		500	
Number Evaluated	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**
Number of Animals with Neoplastic Lesions:										
Cerebrum (continued)										
Oligodendroglioma, malignant	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Clitoral gland										
Adenocarcinoma	/	0	/	0	/	0	/	1	/	0
Cranial cavity										
Carcinoma, squamous cell	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Granular cell tumor, benign	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Duodenum										
Leiomyosarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
External auditory meatus										
Papilloma, squamous cell	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Harderian gland										
Adenoma	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Heart										
Paraganglioma, benign	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Schwannoma, malignant	1	0	1	0	0	0	0	0	2	0
Hemolymphoreticular (all sites)										
Leukemia, large granular lymphocytic	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0
Lymphoma, malignant	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0
Sarcoma, histiocytic	2	0	2	0	1	0	2	0	5	0
Hindlimb										
Leiomyosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Ileum (including Peyer's patch)										
Adenoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Adenocarcinoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

/: Not applicable

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control #1)		0 (Control #2)		5		50		500	
Number Evaluated	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**
Number of Animals with Neoplastic Lesions:										
Jejunum										
Adenocarcinoma	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Adenoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Leiomyoma	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Kidney										
Adenoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Liposarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Papilloma, urothelial	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Polyp	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Liver										
Adenoma, hepatocellular	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1
Hemangiosarcoma	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
Lung (including bronchus)										
Adenoma, bronchiolo-alveolar	1	0	1	0	0	0	0	0	2	0
Epithelioma, nonkeratinizing	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Lymph node, mesenteric										
Hemangioma	1	1	0	0	0	2	4	2	2	0
Hemangiosarcoma	1	0	2	0	1	0	2	0	1	0
Lymphangioma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Mammary gland										
Adenocarcinoma	0	6	1	7	1	12	0	17**	0	1
Adenocarcinoma arising in fibroadenoma	0	2	0	1	0	0	0	3	0	1
Adenoma	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0

Peto's test: ** - $p<0.01$ for both controls

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control #1)		0 (Control #2)		5		50		500	
Number Evaluated	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**
Number of Animals with Neoplastic Lesions:										
Mammary gland (continued)										
Carcinosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Fibroadenoma	0	21	0	19	1	15	0	13	0	11
Fibroma	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Mesothelium										
Mesothelioma, malignant	1	0	0	0	2	0	0	0	1	0
Oral cavity										
Carcinoma, squamous cell	1	4	1	2	2	3	0	3	0	4
Ovary										
Adenoma, rete ovarii	/	1	/	3	/	0	/	0	/	0
Cystadenoma	/	0	/	0	/	0	/	1	/	0
Tumor, granulosa cell, benign	/	1	/	2	/	3	/	0	/	0
Tumor, sex cord stromal, mixed, benign	/	0	/	0	/	2	/	0	/	0
Pancreas										
Adenoma, acinar cell	2	0	1	0	1	0	1	1	0	0
Adenoma, acinar-islet cell	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Adenoma, islet cell	8	6	8	4	12	2	14	4	11	5
Carcinoma, islet cell	1	0	1	0	1	0	2	2	1	0
Parathyroid										
Adenoma	0	0	2	1	3	1	0	1	2	0
Pituitary										
Adenoma, pars distalis	19	45	23	42	24	42	21	49	20	37
Adenoma, pars intermedia	1	0	1	0	0	0	0	0	2	0
Carcinoma, pars distalis	2	1	1	2	0	3	0	5	0	2

/: Not applicable

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control #1)		0 (Control #2)		5		50		500	
Number Evaluated	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**
Number of Animals with Neoplastic Lesions:										
Preputial gland										
Schwannoma, malignant	1	/	0	/	0	/	0	/	0	/
Prostate										
Adenocarcinoma	1	/	0	/	0	/	0	/	0	/
Adenoma	2	/	2	/	3	/	2	/	0	/
Seminal vesicle										
Adenocarcinoma	0	/	1	/	0	/	0	/	0	/
Adenoma	0	/	1	/	0	/	0	/	1	/
Skeletal muscle, femoral										
Granular cell tumor, benign	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Skin + subcutis										
Carcinoma, sebaceous cell	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Fibroma	2	0	3	0	1	1	0	0	1	1
Fibrosarcoma	1	0	1	0	1	0	2	0	0	0
Hemangioma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Hemangiosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Keratoacanthoma	1	0	0	0	3	0	2	0	2	1
Leiomyosarcoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Lipoma	0	0	0	1	2	0	0	1	2	0
Melanoma, malignant	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0
Papilloma, squamous cell	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Rhabdomyosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Sarcoma, NOS	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1
Schwannoma, malignant	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Tumor, basal cell, benign	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0

/: Not applicable

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control #1)		0 (Control #2)		5		50		500	
Number Evaluated	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**
Number of Animals with Neoplastic Lesions:										
Skin + subcutis (continued)										
Tumor, hair follicular, benign	0	0	0	0	1	0	2	0	0	0
Spleen										
Hemangioma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Stomach										
Adenocarcinoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Schwannoma, malignant	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Submandibular gland										
Schwannoma, malignant	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sublingual gland										
Adenoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Testis										
Adenoma, Leydig cell	2	/	3	/	1	/	1	/	0	/
Thymus										
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Paraganglioma, malignant	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Thymoma, benign	2	14	5	2	4	6	5	5	6	6
Thyroid										
Adenoma, C cell	9	6	7	4	9	3	9	5	6	6
Adenoma, follicular cell	2	3	2	2	3	3	1	1	1	0
Carcinoma, C cell	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Carcinoma, follicular cell	1	1	1	0	0	2	0	2	1	2
Tissue, unknown										
Carcinoma, squamous cell	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

/: Not applicable

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control #1)		0 (Control #2)		5		50		500	
Number Evaluated	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**
Number of Animals with Neoplastic Lesions:										
Tongue										
Carcinoma, squamous cell	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
Papilloma, squamous cell	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Urinary bladder										
Papilloma, urothelial	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0
Polyp	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Schwannoma, malignant	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Uterus										
Adenocarcinoma, endometrial	/	0 [a]	/	4 [a]	/	0	/	4*	/	10*
Carcinoma, squamous cell	/	0	/	0	/	0	/	0	/	1
Granular cell tumor, benign	/	0	/	0	/	1	/	1	/	0
Leiomyoma	/	0	/	0	/	0	/	1	/	0
Leiomyosarcoma	/	2	/	0	/	1	/	1	/	0
Polyp, endometrial stromal	/	9	/	7	/	7	/	2	/	3
Polyp, glandular	/	3	/	3	/	1	/	2	/	1
Sarcoma, endometrial stromal	/	0	/	1	/	0	/	1	/	0
Schwannoma, malignant	/	0	/	0	/	1	/	0	/	1
Vagina										
Granular cell tumor, benign	/	0	/	0	/	1	/	0	/	0
Polyp, vaginal stromal	/	0	/	1	/	0	/	0	/	0
Zymbal gland										
Carcinoma	1	1	2	0	0	0	0	1	0	0

/: Not applicable
[a]: Trend analysis, $p<0.025$
Peto's test: * – $p<0.05$ for control #1

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control #1)		0 (Control #2)		5		50		500	
Number Evaluated	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**	**M: 60**	**F: 60**
Noteworthy Findings:										
Gross Pathology										
Uterus										
Nodule	/	3	/	3	/	4	/	5	/	12
Histopathology – Non-Neoplastic Lesions										
Ovary										
Absent corpora lutea	/	22	/	21	/	35	/	60	/	59
Vacuolation, interstitial cell	/	15	/	15	/	24	/	39	/	42
Mammary gland										
Degeneration	15	11	17	12	16	16	17	32	14	38
Hyperplasia, lobuloalveolar	0	51	2	48	0	47	0	32	0	19
Atypical hyperplasia	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Uterus										
Hyperplasia, glandular, focal	/	1	/	1	/	0	/	2	/	1
Hyperplasia, endometrial, diffuse	/	0	/	1	/	0	/	1	/	0
Hyperplasia, endometrial, cystic	/	1	/	2	/	2	/	2	/	2

/: Not applicable

2.6.7.10B Preliminary Toxicity Study by Oral Gavage Administration to CB6F1-Non Tg RasH2 Mice for 4 Weeks

Species/Strain: Mouse/Jic:CB6F1-Tg-rasH2
Initial Age: 8 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Duration of Dosing: Daily for 4 weeks
Duration of Post-dose: None
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution
Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.3.4.2.1
Study Number: [redacted]
GLP compliance: Yes

Special Features: –
No Observed Adverse Effect Level: 500 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		50		250		500	
Number of Animals of Main Groups	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**	**10M**	**10F**
Number of Satellite Animals for TK	**4M**	**4F**	**19M**	**19F**	**19M**	**19F**	**19M**	**19F**
Toxicokinetics								
KLH-2109 AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	911000	1810000	2390000	3250000	2700000	4110000
On the 4th week:	n/c	n/c	988000	2210000	2210000	3880000	3260000	4900000
KP017 AUC_{0-24} (ng·hr/mL)								
After 1st dose:	n/c	n/c	24500	34600	54300	64000	56700	90400
On the 4th week:	n/c	n/c	22900	33500	54300	62600	76000	72000
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	1[a]	0	0	0	0[b]	0
Food Consumption (g/animal/day)								
Day 4	4.3	3.7	4.0	3.4	4.2	3.5	4.0*	3.5
Body Weights (g)	–	–	–	–	–	–	–	–
Clinical Observations	–	–	–	–	–	–	–	–
Hematology								
Platelets (10^4/μL)	127.6	112.2	129.4	113.1	136.4*	118.0	146.5**	121.5*
Organ Weights								
Liver - Absolute (g)	1.47	1.22	1.50	1.22	1.63**	1.29	1.59*	1.31
Liver - Relative (g/100 g)	5.22	5.27	5.32	5.26	5.67**	5.53	5.70**	5.58*
Kidneys - Absolute (g)	486	369	478	360	464	354	432*	353
Kidneys - Relative (mg/100 g)	1729	1596	1693	1546	1609*	1519*	1545**	1503**
Prostate and Seminal vesicles Absolute (mg)	327	n/a	322	n/a	305	n/a	258**	n/a
Prostate and Seminal vesicles Relative (mg/100 g)	1163	n/a	1145	n/a	1058	n/a	925**	n/a
Macroscopic Findings	–	–	–	–	–	–	–	–

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		50		250		500	
Microscopic Findings [c]								
Ovaries, atrophy	n/a	0	n/a	0	n/a	10/1	n/a	10/1
Vagina, increased keratinization	n/a	3/2	n/a	6/2	n/a	5/2	n/a	7/2 1/3

Dunnett's test *: P<0.05, **: P<0.01; n/c: Not calculated; n/a: Not applicable
[a]: One male of the main group treated with 50 mg/kg/day died on Day 22. The death was considered to be incidental and caused by eating disorder due to fractured incisors
[b]: One male of the TK group treated with 500 mg/kg/day died on Day 5. At necropsy, there were no abnormal gross lesions in any of the organs/tissues, the cause of death could not be established
[c]: Incidence/severity: grade 1 = minimal / very few / very small, grade 2 = mild / few / small, grade 3 = moderate / moderate number / moderate size, grade 4 = marked / many / large

2.6.7.10C 26-Week Oral Carcinogenicity Study in Tg rasH2 Mice

Species/Strain: Mouse/Jic:CB6F1-Tg-rasH2
Initial Age: 8 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Duration of Dosing: Daily for 26 weeks
Duration of Post-dose: None
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution
Test Article: KLH-2109 Choline
Location in CTD: 4.2.3.4.2.2
Study Number: [redacted]
GLP compliance: Yes

Treatment of Controls: Water for injection (Control #1), 0.5% methylcellulose solution (Control #2)
Basis for High-Dose Selection: Toxicity-based endpoint in accordance with FDA CAC committee recommendation
Special Features: For positive control group (15 animals/sex), *N*-Methyl-*N*-nitrosourea (MNU) was administered intraperitoneally once at 75 mg/kg. Malignant lymphoma was observed in 11/15 males and 10/15 females, and papilloma/carcinoma of the squamous cells in the forestomach was observed in 13/15 males and all females. Additional 4 animals of each sex (control #1 and #2 groups) or 23 animals of each sex (dose groups) were bled on Day 1 and in Week 26 for toxicokinetics.

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control #1)		0 (Control #2)		15		50		250	500
Gender		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Toxicokinetics (n=3):											
KLH-2109 Day 1 (First Dose)	T_{max} (hr)	n/c	n/c	n/c	n/c	0.50	1.0	0.50	0.50	0.50	2.0
	C_{max} (ng/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	73300	73200	163000	165000	264000	348000
	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	354000	811000	868000	1830000	2090000	4550000
KLH-2109 Week 26 (181st Dose)	T_{max} (hr)	n/c	n/c	n/c	n/c	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
	C_{max} (ng/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	82300	122000	181000	208000	276000	412000
	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	505000	1500000	1220000	2680000	2480000	5290000
KP017 Day 1 (First Dose)	T_{max} (hr)	n/c	n/c	n/c	n/c	0.50	1.0	0.50	0.50	1.0	2.0
	C_{max} (ng/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	2330	2080	6110	4350	10900	10800
	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	8140	14600	23900	32300	51400	94000
KP017 Week 26 (181st Dose)	T_{max} (hr)	n/c	n/c	n/c	n/c	0.50	0.50	1.0	0.50	1.0	2.0
	C_{max} (ng/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	1640	2030	3920	2470	9820	7560
	AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	n/c	n/c	n/c	n/c	9320	13100	24600	21900	58500	67800
Number of Animals											
At Start		25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
Died/Sacrificed Moribund		1	1	0*	1	1	0	0	1	3	1
Terminal Sacrifice		24	24	25	24	24	25	25	24	22	24
Survival (%)		96.0	96.0	100.0	96.0	96.0	100.0	100.0	96.0	88.0	96.0
Body Weight		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Food Consumption		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control #1)		0 (Control #2)		15		50		250	500
Number Evaluated	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**
Number of Animals with Neoplastic Lesions:										
Bone, femur (knee joint)										
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Bone marrow, femur										
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Bone marrow, vertebra										
Hemangiosarcoma	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
Bone, tibia										
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Cerebrum										
Hamartoma, lipomatous	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Hemangioma	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Harderian gland										
Adenoma	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
Liver										
Adenoma, hepatocellular	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Hemangioma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Lung (bronchus)										
Adenoma, bronchiolo-alveolar	6	1	1	0	3	2	5	1	3	2
Carcinoma, bronchiolo-alveolar	0	0	1	1	2	1	1	0	0	0
Hemangiosarcoma	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Ovary										
Hemangiosarcoma	/	1	/	0	/	0	/	0	/	0
Skin+subcutis										
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Spleen										
Hemangiosarcoma	2	3	2	0	5	1	2	1	1	0
Stomach										
Papilloma, squamous cell	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Duodenum										
Adenoma	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Testis										
Hemangiosarcoma	0	/	3	/	0	/	0	/	0	/

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control #1)		0 (Control #2)		15		50		250	500
Number Evaluated	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**	**M: 25**	**F: 25**
Number of Animals with Neoplastic Lesions:										
Thoracic wall										
Hemangiosarcoma	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Thymus										
Thymoma	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
Hemangiosarcoma	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Uterus										
Hemangiosarcoma	/	0	/	0	/	1	/	0	/	0
Vagina										
Hemangiosarcoma	/	0	/	2	/	1	/	3	/	0
Hemolymphoreticular (all sites)										
Sarcoma, histiocytic	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lymphoma, malignant	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
Noteworthy Findings:										
Gross Pathology	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Histopathology – Non-Neoplastic Lesions										
Ovary										
Decreased corpus luteum	/	18	/	21	/	20	/	24	/	25
Hypertrophy, interstitial cell	/	0	/	5	/	14	/	25	/	25
Uterus										
Atrophy	/	12	/	7	/	6	/	11	/	23
Hyperplasia, glandular, cystic	/	12	/	13	/	17	/	10	/	0

n/c: Not calculated; Tarone's test *: $p \leq 0.05$; –: No noteworthy findings; /: 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: KLH-2109 Choline

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing period	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage (0.5% methylcellulose solution)	4 weeks before mating	0, 3, 10, 30, 100	10F	Neither mortality nor abnormal clinical signs were observed through the study period. There were no effects on food consumption or bodyweights and no macroscopic pathology findings. An increased incidence of animals with irregular estrus cycles was observed at 30 and 100 mg/kg/day. In addition, treatment at 100 mg/kg/day showed an increase in estrus cycle length together with an overall reduction in the number of observed estrus cycles. Also, increases in the number of pro-estrus and estrus days and decreases in the number of metestrus and diestrus days were observed. The withdrawal group at 100 mg/kg/day showed a tendency to recover from KLH-2109 Choline induced effects on the estrus cycle. In the 100 mg/kg/day group, the pre-coital interval was shorter than that of the control group. A decrease in the fertility index was observed at 30 and 100 mg/kg/day. Treatment at 3, 10 and 30 mg/kg/day resulted in decreased implantation numbers and thus decreased implantation indices and reduced numbers of live embryos. There were no KLH-2109 Choline effects on the number of corpora lutea or on post-implantation loss. The withdrawal group at 100 mg/kg/day had no changes on pre-coital interval or fertility index. Following the withdrawal period, there were no effects on embryonic development.	51171	4.2.3.5.1.1

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing period	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage (0.5% methylcellulose solution)	GD 0 – GD 7	0, 3, 10, 30, 100, 300	8F	Neither deaths nor abnormal clinical signs were observed throughout the study period. There were no effects on food consumption or bodyweights and no macroscopic pathology findings. There were no effects on fertility index, reproductive function or early embryonic development parameters.	51172	4.2.3.5.1.3
Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage (0.5% methylcellulose solution)	GD 6 – GD 17	0, 3, 10, 30, 100, 300	7–8F	Two dams treated at 300 mg/kg/day had reduced food consumption and body weights, probably attributable to total litter loss. Necropsy showed no abnormal findings in any dam. Two out of 7 dams in the 300 mg/kg/day group had a total litter loss. A tendency to increased embryo-fetal mortality and decreased numbers of live fetuses were also observed in this group. There were no other effects on embryo-fetal development endpoints.	51173	4.2.3.5.2.1
Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage (0.5% methylcellulose solution)	GD 6 – LD 20	0, 10, 30, 100, 300	10F	F0 generation: Death of 1 dam at 300 mg/kg/day during delivery (unknown cause). No effects on clinical observations, body weight or food consumption; no abnormal macroscopic findings. No signs of abortion or premature delivery. No external abnormalities in offspring; no effects on gestation length, the number of implantations, number of live births, number of stillborns, sex ratio, gestation index, birth index, viability index on Day 4 after birth, and the weaning index. F1 generation: No effects on clinical observations or postnatal body weight; no abnormal macroscopic findings; no effects on physical development (differentiations), sensory functions, learning and behavior, estrous cycles, and reproductive function. No changes in the body weights and food consumption in F1 dams during the gestational period.	51215	4.2.3.5.3.1

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing period	Dose (mg/kg/day)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Rat/Crl:CD(SD)	Oral gavage (0.5% methylcellulose solution)	GD- 6 – LD 20	0, 300, 600, 1000	10F	F0 generation: Death of 1 dam at 300 mg/kg/day (GD 23) and 1 dam at 1000 mg/kg/day (GD 22). At 1000 mg/kg/day: decreases in body weight, body weight gain and food consumption. No effects on clinical observations and no abnormal macroscopic findings. Total litter loss (early embryonic death) in 2/9, 3/9, and 7/8 dams at 300, 600 and 1000 mg/kg/day, respectively; decrease in gestation index. No signs of abortion or premature delivery. No external abnormalities in offspring; no effects on gestation length, the number of implantations, number of offspring at birth, number of live births, number of stillborns, sex ratio, birth index, viability index on Day 4 after birth, and the weaning index. F1 generation: No effects on clinical observations or postnatal body weights; no abnormal macroscopic findings; no effects on physical development (differentiations), sensory functions, learning and behavior, estrous cycles, and reproductive function. No changes in the body weights and food consumption in F1 dams during the gestational period.	52007	4.2.3.5.3.2
Rabbit/NZW	Oral gavage (0.5% methylcellulose solution)	GD 6 – GD 18	0, 1, 3, 10, 30, 100	6F	Neither deaths nor abnormal clinical signs were observed throughout the study period. There were no effects on food consumption or bodyweights and no macroscopic pathology findings. No abortion, premature delivery or total litter loss was recorded. Non-pregnant animals were observed in 5/6 and 6/6 at 30 and 100 mg/kg/day, respectively. A decrease in the number of implantations, the implantation index or the number of live fetuses was observed at l, 3 and 10 mg/kg/day. There were no KLH-2109 Choline-related effects on the other embryo-fetal development endpoints.	51183	4.2.3.5.2.3

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

2.6.7.12A Oral Study of Female Fertility and Early Embryonic Development in Sprague-Dawley Rats (Administration before Pregnancy)

Design similar to ICH 4.1.1	Yes	**Duration of Dosing:**	Daily for 4 weeks and during mating OR daily for 4 weeks then 4 weeks treatment free and then mating (withdrawal group).	**Study Number:**	11071
Species/Strain:	Rat/Crl:CD(SD)	**Day of Mating:**	Gestation Day 0	**Location in CTD:**	4.2.3.5.1.2
Initial Age:	10 weeks	**Day of C-Section:**	Gestation Day 15	**GLP Compliance:**	Yes
Date of First Dose:	[redacted]	**Method of Administration:**	Oral gavage	**Test Article:**	KLH-2109 Choline
		Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution		

Special Features: Female fertility study
No Observed Adverse Effect Level:
F_0 Females: 100 mg/kg/day (general toxicity), 4 mg/kg/day (reproductive function)
F_1 Litters: 4 mg/kg/day (embryonic development)

	Non withdrawal group					
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**0.16**	**0.8**	**4**	**20**	**100**
Toxicokinetics	4	4	4	4	4	4
$AUC_{0\text{-}24}$ KLH-2109 (ng·hr/mL) on Day 29	n/c	15035	81032	302513	1124123	3001650
$AUC_{0\text{-}24}$ KP017 (ng·hr/mL) on Day 29	n/c	30.93	210.81	777.93	2571.13	5961.95
No. Evaluated	20	20	20	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0
Clinical Observations	–	–	–	–	–	–
Body Weights (g)						
Day 1	245.2	247.2	243.2	246.6	244.0	246.6
Day 8	260.1	258.2	259.7	259.9	254.1	252.9°°
Day 11	265.8	262.9	265.5	264.2	259.5	256.2°°
Day 15	270.5	266.8	271.2	268.7	263.8	260.2°°
Day 18	275.2	272.5	275.8	275.1	267.0	267.6°
Day 29	288.5	288.4	290.8	291.5	284.2	288.6
Food Consumption (g)						
Day 2	19.2	19.6	19.0	18.7	19.8	19.2
Day 29	19.7	20.3	19.2	20.9	19.5	21.1
Mean No. estrous cycles/Length (days) Day 1–15	3.20/4.13	3.08/4.13	3.30/4.03	3.13/4.07	2.78/4.19	1.70**/4.84**
Mean No. estrous cycles/Length (days) Day 16–30	3.18/4.07	3.18/4.12	3.15/4.05	3.20/4.08	2.18*/4.12	0.15**/5.00*

	Non withdrawal group					
Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**	**0.16**	**0.8**	**4**	**20**	**100**
No. of animals with acyclic/irregular cycle Day 1–15	1	2	0	1	4	14**
No. of animals with acyclic/irregular cycle Day 16–30	1	1	0	1	9**	20**
Copulation index (%)	100	100	100	100	100	90.0
Fertility index (%)	100	100	90.0	100	80.0	5.6**
No. of Pregnant Females	20	20	18	20	16	1
Mean No. Days Prior to Mating	2.7	2.6	3.2	2.1	2.1	1.0**
Mean No. Corpora Lutea	16.8	17.1	15.9	17.1	15.7	12.0
Mean No. Implantations	15.2	15.9	14.8	16.0	13.7*	9.0
Mean No. Live Embryos	14.1	15.3	13.9	15.0	12.9	7.0
No. Dead Embryos	22	12	16	20	12	2
Implantation index (%)	90.3	93.0	91.1	93.6	87.4	75.0
Mean % Post-implantation Loss	7.0	3.6	5.5	6.2	5.6	22.2
Histopathology						
No. Evaluated [a]	0	0	2	0	4	19
Ovary: Increased atretic follicles, large size [b]	n/a	n/a	–	n/a	3+	11+, 2++
Ovary: Decreased follicles, large size [b]	n/a	n/a	–	n/a	–	3+
Ovary: Decreased corpora lutea [b]	n/a	n/a	–	n/a	1+, 1++, 2+++	7+, 10+++

Dunnett's test: *P < 0.05; **P< 0.01; –: No noteworthy findings/not remarkable; n/c: Not calculated; °/°°: Body weight gain was significantly reduced (p<0.05)/(p<0.01), respectively;
n/a: Not applicable
[a]: These results include infertile animals with successful copulation and animals with unsuccessful copulation.
[b]: Data expressed as incidence and severity grading; +: Slight; ++: Moderate; +++: Marked

	Withdrawal group	
Daily Dose (mg/kg)	**0**	**100**
No. Evaluated	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0
Clinical Observations	–	–
Body Weights (g)		
Day 1	248.3	244.7
Day 8	260.1	253.9
Day 11	263.6	257.0
Day 15	268.2	262.3
Day 18	272.4	269.8
Day 29	291.3	290.7
Food Consumption (g)		
Day 2	18.2	21.6
Day 29	21.2	21.8
Mean No. Estrous Cycles/Length (days) Day 1–15	3.20/4.08	1.35**/4.89*
Mean No. Estrous Cycles/Length (days) Day 16–30	3.13/4.14	0.05**/7.00**
No. of animals with acyclic/irregular cycle Day 1–15	0	20**
No. of animals with acyclic/irregular cycle Day 16–30	1	20**
Copulation index (%)	95	100
Fertility index (%)	89.5	95.0
No. of Pregnant Females	17	19
Mean No. Days Prior to Mating	3.7	2.3
Mean No. Corpora Lutea	16.2	16.1
Mean No. Implantations	15.3	14.5
Mean No. Live Embryos	14.0	13.1
No. Dead Embryos	22	27
Implantation index (%)	94.4	89.9
Mean % Post-implantation Loss	8.5	12.1

Dunnett's test *P < 0.05; **P< 0.01; –: No noteworthy findings

2.6.7.12B Oral Study of Female Fertility and Early Embryonic Development in Sprague-Dawley Rats (Administration during Early Pregnancy)

Design similar to ICH 4.1.1	Yes	**Duration of Dosing:**	Daily from Gestation Day 0 to Day 7	**Test Article:**	KLH-2109 Choline
Species/Strain:	Rat/Crl:CD(SD)	**Day of Mating:**	Gestation Day 0	**Study Number:**	11072
Initial Age:	10 weeks	**Day of C-Section:**	Gestation Day 15	**Location in CTD:**	4.2.3.5.1.4
Date of First Dose:	[redacted]	**Method of Administration:**	Oral gavage	**GLP Compliance:**	Yes
		Vehicle/Formulation	0.5% methylcellulose solution		

No Observed Adverse Effect Level:
F_0 Females: <100 mg/kg/day (general toxicity), 300 mg/kg/day (reproductive function)
F_1 Litters: 300 mg/kg/day (early embryonic development)

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	100	300	1000
No. Evaluated	20	20	20	20
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	–	–	–	–
Necropsy Observations	–	–	–	–
Mean Body Weights (g)				
GD 0	254.6	255.4	252.0	249.6
GD 8	310.0	303.3	297.4*	292.3**
GD 15	356.0	349.6	343.9	336.9*
Mean Food Consumption (g)				
GD 1	22.2	21.6	20.4	18.3**
GD 15	29.4	27.8	27.9	28.6
No. of Animals with Successful Copulations	20	20	20	20
No. of Pregnant Females	20	20	19	20
Fertility index (%)	100	100	95.0	100
Mean No. Corpora Lutea	16.1	16.0	15.9	15.4
Mean No. Implantations	14.9	15.3	14.7	13.3
Mean No. Live Embryos	13.8	14.9	13.9	12.8
No. Dead Embryos	22	7	15	10
Implantation Index (%)	92.0	95.4	92.1	85.5
Mean % Post-implantation Loss	7.6	2.3	5.8	3.4
No. of Dams with Small Conceptuses	0	0	0	7

Dunnett's test *P < 0.05; **P< 0.01; –: No noteworthy findings

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13A Oral Study for Effects on Embryo Fetal Development in Sprague-Dawley Rats

Design similar to ICH 4.1.3	Yes	**Duration of Dosing:**	Daily from Gestation Day 6 to Day 17	**Test Article:**	KLH-2109 Choline
Species/Strain:	Rat/Crl:CD(SD)	**Day of Mating:**	Gestation Day 0	**Study Number:**	11073
Initial Age:	11 weeks (females)	**Day of C-Section:**	Gestation Day 20	**Location in CTD:**	4.2.3.5.2.2
Date of First Dose:	[redacted]	**Method of Administration:**	Oral gavage	**GLP Compliance:**	Yes
		Vehicle/Formulation:	0.5% methylcellulose solution		

No Observed Adverse Effect Level:
F_0 Females: 300 mg/kg/day (general toxicity and reproductive function)
F_1 Litters: 100 mg/kg/day (embryofetal development). No evidence of teratogenicity for KLH-2109 Choline

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	30	100	300
Toxicokinetics (Satellite Animals):	**5**	**5**	**5**	**5**
AUC_{0-24} KLH-2109 (ng·hr/mL) GD 6	n/c	1269690	2013104	3189237
AUC_{0-24} KLH-2109 (ng·hr/mL) GD 17	n/c	1354532	2384012	3093440
AUC_{0-24} KP017 (ng·hr/mL) GD 6	n/c	2678.28	6789.97	32235.67
AUC_{0-24} KP017 (ng·hr/mL) GD 17	n/c	2452.06	6096.98	18781.64
F0 Females Evaluated	**25**	**25**	**25**	**25**
No. Pregnant	23	24	25	24
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. of Animals with Total Litter Loss	0	0	0	3
Clinical Observations	–	–	–	–
Necropsy Observations	–	–	–	–
Mean Body Weight* (g) on GD 17	376.2	375.0	362.2	372.3
Mean Food Consumption* (g/animal/day) on GD 17	28.8	29.3	28.3	28.1
F0 Females Evaluated	**23**	**24**	**25**	**24**
Mean No. Corpora Lutea	16.7	16.4	16.1	16.6
Mean No. Implantations	16.0	15.4	14.7	15.5
Mean Implantation Index (%)	95.9	94.2	91.4	93.9
F1 Litters				
No. Litters Evaluated	**23**	**24**	**25**	**21**
No. Live Fetuses	347	351	355	297
No. Dead embryos	21	19	12	76
Mean % Post-implantation Loss	5.8	5.0	3.3	19.4

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	30	100	300
Fetal Sex Ratio (males/females)	1.03	0.83	0.95	1.12
Mean Fetal Body Weight (g) (males)	3.86	3.92	3.87	3.95
Mean Fetal Body Weight (g) (females)	3.60	3.71	3.65	3.71
Mean placental weight (g)	0.48	0.48	0.49	0.49
Fetal Anomalies [a]:				
Gross External (% per litter)	1 (0.3)	1 (0.3)	1 (0.3)	0
Visceral Anomalies	7 (3.8)	8 (4.2)	4 (2.5)	4 (2.3)
Skeletal Anomalies	0	0	0	0

–: No noteworthy findings; * Excluding dames with litter loss; n/c: Not calculated

[a]: Data are expressed as incidence (Mean % per litter).

2.6.7.13B Oral Study for Effects on Embryo Fetal Development in New Zealand White Rabbits

Design similar to ICH 4.1.3 Yes
Species/Strain: Rabbit/NZW
Initial Age: 20–23 weeks (females)
Date of First Dose: [redacted]

Duration of Dosing: Daily from Gestation Day 6 to Day 18
Day of Mating: Gestation Day 0
Day of C-Section: Gestation Day 28
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution

Test Article: KLH-2109 Choline
Study Number: 11074
Location in CTD: 4.2.3.5.2.4
GLP Compliance: Yes

No Observed Adverse Effect Level:
F_0 Females: 30 mg/kg/day (general toxicity), 3 mg/kg/day (reproductive function)
F_1 Litters: 3 mg/kg/day (embryofetal development). No evidence of teratogenicity for KLH-2109 Choline

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.3	3	30
Toxicokinetics:	**5**	**5**	**5**	**1[§]**
$AUC_{0\text{-}24}$ KLH-2109 (ng·hr/mL) GD 6	n/c	4.0	869.7	11795.6
$AUC_{0\text{-}24}$ KLH-2109(ng·hr/mL) GD 18	n/c	4.4	1499.9	49120.1
$AUC_{0\text{-}24}$ KP017 (ng·hr/mL) GD 6	n/c	78.80	848.69	4808.25
$AUC_{0\text{-}24}$ KP017 (ng·hr/mL) GD 18	n/c	114.38	1783.78	9228.28
F0 Females Evaluated	**22**	**22**	**22**	**22**
No. Pregnant	20	18	19	7
No. Non Pregnant	1	4	2	15°
No. Died or Sacrificed Moribund	1°°°	0	0	1°
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	1°°	0
Clinical Observations				
Scant Feces	0	1	1	0
Necropsy Observations	–	–	–	–
Absolute Body Weight (kg) on GD 18	3.91	3.89	3.91	3.86
Absolute Body Weight Gain (kg) on GD 18	0.21	0.25	0.28	0.32
Food Consumption (g/animal) GD 19	113.5	127.8	113.7	84.1
Mean No. Corpora Lutea	9.5	9.6	9.8	9.9
Mean No. Implantations	8.5	8.7	8.9	9.4
F1 Litters				
No. Litters Evaluated	20	18	19	7
No. Live Fetuses	153	152	151	58
No. of Dead Embryos and Fetuses	17	5	18	8
Mean % Post-implantation Loss	8.4	3.4	11.3	12.2
Mean Fetal Body Weight (g) (males)	35.42	34.03	34.73	32.36
Mean Fetal Body Weight (g) (females)	33.87	33.45	33.17	31.95

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	0.3	3	30
Mean Placental Weight (g)	5.30	5.37	5.37	5.45
Fetal Sex Ratio (Male/Female)	1.10	0.77	1.25	1.52
Number of Fetuses Observed	153	152	151	58
Fetal Anomalies [a]				
Gross External	0	1 (0.6)	0	0
Visceral Anomalies	8 (5.0)	8 (6.3)	6 (4.2)	3 (5.3)
Skeletal Anomalies	2 (1.3)	5 (2.8)	3 (2.0)	2 (4.6)

º One animal found dead on postcoitum day 13 due to misdosing (animal not pregnant); ºº TK animal; abortion on GD 19; § 4 TK animals were not pregnant; ººº Accidental fracture of a vetrebra on GD 6; n/c: Not calculated; –: No noteworthy findings

[a] Data are expressed as incidence (Mean % per litter)

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

2.6.7.14A Oral Study for Effects on Pre and Postnatal Development, Including Maternal Function in Sprague-Dawley Rats

Design similar to ICH 4.1.3 Yes
Species/Strain: Rat/ Crl:CD(SD)
Initial Age: 11–12 weeks
Date of First Dose: [redacted]

Duration of Dosing: Daily from Gestation Day 6 to Lactation Day 20
Day of Mating: Gestation Day 0
Litters Culled/Not Culled: Culled to 4/sex/litter
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution

Test Article: KLH-2109 Choline
Study Number: [redacted]
Location in CTD: 4.2.3.5.3.3
GLP Compliance: Yes

No Observed Adverse Effect Level:
F_0 Females (General Toxicity); 300 mg/kg/day
F_0 Females (Reproductive Function); 100 mg/kg/day
F_1 Males and F_1 Females (Prenatal Development); 100 mg/kg/day
F_1 Males and F_1 Females (Postnatal Development); 300 mg/kg/day

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	30	100	300
F0 Females:				
No. Pregnant	22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Litter Loss	0	0	0	3
Clinical Observations	–	–	–	–
Necropsy Observations	–	–	–	–
Gestation Body Weight (%) [a]				
GD 13	336	100.6	100.9	96.1*
GD 20 [b]	421	101.4	101.0	95.2
Lactation Body Weight (%) [a]				
LD 4	340	97.4	97.4	95.0*
LD 11	357	96.1*	94.7**	93.3**
LD 14	358	95.0**	94.4**	93.9**
LD 17	352	96.3	94.9**	95.5*
LD 21 [c]	335	94.9**	94.9**	94.9**
Gestation Food Consumption (%)[a]				
GD 20 [b]	25	100.0	100.0	96.0
Lactation Food Consumption (%)[a]				
LD 2	30	83.3*	93.3	90.0
LD11	55	92.7*	94.5	92.7
LD 14	61	88.5**	90.2*	93.4

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	30	100	300
LD 21[c]	76	92.1**	100.0	105.3
Mean Duration of Gestation (days)	21.9	21.9	22.0	22.0
Abnormal Parturition	0	0	0	0
F1 Litters (Preweaning):				
No. Litters Evaluated	22	22	22	19
Mean No. of Implantations	14.7	15.4	15.2	14.8
Mean No. Pups/Litter	13.6	14.5	14.3	14.2
Mean No. Liveborn Pups/Litter	13.5	14.4	14.2	14.1
No. of Litters with Stillborn Pups	2	3	1	2
Postnatal Survival to Day 4 (%)	99.3	99.1	97.8	99.6
Postnatal Survival to Weaning (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
Pups Sex Ratios (male %)	46.6	51.1	52.1	52.4
Change in Pup Body Weights (g)				
PN 0 (At Birth) – PN 4 (M/F)	3.9/3.8	3.7/3.5	4.1/3.9	3.9/3.8
PN 4 – Weaning (M/F)	48.8/47.7	44.7**/42.5**	45.7*/43.9**	47.9/45.9
Pup Clinical Signs	–	–	–	–
Pup Necropsy Observations	–	–	–	–
F1 Males (Postweaning):				
No. Evaluated Postweaning	22	22	22	19
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	–	–	–	–
Necropsy Observations	–	–	–	–
Body-Weight Change (g) [d]	345	342	340	348
Preputial Separation	–	–	–	–
Sensory Function	–	–	–	–
Motor Activity	–	–	–	–
Learning and Memory	–	–	–	–
No. Evaluated Postweaning	22[e]	22	22	19
Mean No. Days Prior to Mating	2.7	2.2	3.2	2.8
No. of Males that Mated	17	17	21	18
No. of Fertile Males	15	15	18	16
F1 Females (Postweaning):				
No. Evaluated Postweaning	21	22	22	19
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	–	–	–	–
Necropsy Observations	–	–	–	–

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	30	100	300
Premating Body-Weight Change (g) [d]	171	171	174	167
Gestation Body-Weight Change (g) [f]	65	63	69	65
Vaginal Patency (%)				
PN 35	92.9	75.0*	84.1	92.1
PN 42	100.0	100.0	100.0	100.0
Sensory Function	–	–	–	–
Motor Activity	–	–	–	–
Learning and Memory	–	–	–	–
Water-Filled Multiple T-Maze Test				
Counts of Errors on 3rd trial day	1	2	2*	2
Mean Estrous Cycle (Days)	4.2	4.2	4.1	4.1
Number of Estrus	3.4	3.0	3.1	3.5
Mean No. Days Prior to Mating	2.7	2.2	3.2	2.8
No. of Females Sperm-Positive	17	17	21	18
No. of Pregnant Females	15	15	18	16
Mean No. Corpora lutea	15.9	15.4	15.9	15.5
Mean No. Implantations	15.3	14.5	15.9	15.4
Mean % Preimplantation Loss	4.8	6.2	0.3*	0.4*
F2 Litters:				
Mean No. Live Conceptuses/Litter	14.5	13.0	14.8	14.6
No. of Litter with Dead Conceptuses	9	12	11	7
Mean No. Dead Conceptuses	0.7	1.5	1.1	0.8
Mean % Postimplantation Loss	5.6	11.1*	6.9	5.4

–: No noteworthy findings; *(**): $p < 0.05$ (0.01) (significantly different from the control group, Dunnett's test)
M: Male, F: Female
[a] For controls, group means are shown. For treated groups, values relative to controls are shown in percent. Statistical significance is based on actual data (not on the percentages).
[b] At end of gestation.
[c] At end of lactation.
[d] From weaning to mating.
[e] Reproductive performance test has not been carried out one male because the number of females was one less than the number of males in this group.
[f] From GD 0 to GD 14.

2.6.7.15 新生児を用いた試験

Not applicable given in the intended clinical use.

2.6.7.16 局所刺激性試験

Not applicable given in the intended clinical use.

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17.1 光毒性試験

2.6.7.17.1A Neutral Red Uptake Phototoxicity Assay in Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts

Test for Induction of:	Reduction in viability of fibroblasts exposed to the test article in the presence and absence of light.	**No. of Independent Assays:**	2 definitive assays	**Test Article:**	KLH-2109 Choline
Strains:	Balb/c 3T3 Mouse Fibroblasts	**Date of Treatment:**	[redacted]	**Study No:**	[redacted]
Phototoxic Effects:	KLH-2109 Choline did not show cytotoxicity without UVA irradiation, but did show substantial cytotoxicity with UV irradiation in both definitive assays. KLH-2109 Choline was considered to have *in vitro* phototoxic potential.	**Vehicle:**	Dulbecco's phosphate buffered saline supplemented with Ca^{2+} and Mg^{2+} ions (DPBS)	**Location in Dossier:**	4.2.3.7.7.1
		Positive Control:	Chlorpromazine	**GLP Compliance:**	Yes

Test Item	IC_{50} (mg/L)			
	Definitive assay 1		Definitive assay 2	
	+UVA	−UVA	+UVA	−UVA
KLH-2109 Choline	66.17	NA	67.35	NA
Chlorpromazine	0.588	14.48	0.588	14.48

Test Item	Definitive assay 1		Definitive assay 2	
	MPE	PIF	MPE	PIF
KLH-2109 Choline	0.373	>6.046*	0.357	>5.949*
Chlorpromazine	0.411	24.707	0.411	24.707

* As the IC_{50} (−UVA) index for the tested formulation was not achieved (NA), a ">PIF" index was calculated using the highest concentration tested in the assay to characterize the results. According to the ZEBET/ECVAM/COLIPA recommendations, when only >PIF can be obtained, the >PIF value >1 predicts test article phototoxic potentials.; +UVA: with UVA (315 – 400 nm) exposure 5 J/cm^2; NA: Not achieved; MPE: Mean photo effect; –UVA: without UVA exposure; PIF: Photoirritancy factor

2.6.7.17.1B Single Dosage Phototoxicity Study to Determine the Effects of Oral Gavage Administration on Eyes and Skin in Pigmented Rats

Species/Strain: Rat/Crl:LE (Long Evans)
Initial Age: 10 weeks
Date of First Dose: [redacted]
Special Features: UVR exposure 8 hours post-dose
Phototoxic effect: No indication of phototoxicity

Duration of Dosing: Single dose
Method of Administration: Oral gavage
Vehicle/Formulation: 0.5% methylcellulose solution

Location in CTD: 4.2.3.7.7.2
Study Number: [redacted]
GLP compliance: Yes
Test Article: KLH-2109 Choline

Test Item	Vehicle	KLH-2109 Choline			8-MOP
Daily Dose (mg/kg)	**0**	**10**	**100**	**1000**	**50**
Number of satellite TK animals	**4**	**4**	**4**	**4**	**0**
Toxicokinetics: KLH-2109 mean C_{8hr} (ng/mL)	n/c	24215.0	133742.5	236125.0	Not measured
Toxicokinetics: KP017 mean C_{8hr} (ng/mL)	n/c	48.34	219.05	1648.00	Not measured
Number of animals	**5F**	**5F**	**5F**	**5F**	**3F**
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0
Clinical Observations	–	–	–	–	–
Skin reactions (Lightly pigmented sites)					
Erythema (grade 1)	0	0	0	0	1
Edema (grade 1)	0	0	0	0	3
Skin reactions (Darkly pigmented sites)					
Edema	0	0	0	0	3
Ophthalmological observations					
Focal retinal scar, inferior	**3**	**2**	**4**	**3**	**0**
Diffuse superficial corneal edema	0	0	0	0	3
Histopathology (Total incidence - all grades)					
Number of animals	**5**	**5**	**5**	**5**	**3**
Cornea: infiltration, neutrophils, corneal stroma (L)	2	4	4	3	3
Cornea: infiltration, neutrophils, corneal stroma (R)	1	2	4	5	3
Cornea: edema, corneal stroma (L)	3	1	3	2	3
Cornea: edema, corneal stroma (R)	2	4	3	2	3
Cornea: edema, intercellular, corneal epithelium (L)	0	0	0	0	1
Cornea: edema, intercellular, corneal epithelium (R)	0	0	0	0	2
Cornea: vacuolation, corneal epithelium (L)	0	2	1	0	2
Cornea: vacuolation, corneal epithelium (R)	0	0	0	1	3
Cornea: endothelial cell loss (L)	1	0	0	0	0
Cornea: endothelial cell loss (R)	0	0	0	0	3
Cornea: epithelial separation (L)	4	1	3	3	3

Test Item	Vehicle	KLH-2109 Choline			8-MOP
Daily Dose (mg/kg)	**0**	**10**	**100**	**1000**	**50**
Cornea: epithelial separation (R)	4	1	3	3	1
Aqueus chamber: keratic precipitates (L)	0	0	0	0	1
Aqueus chamber: keratic precipitates (R)	0	0	0	0	3
Iris: anterior synechia (L)	0	0	0	0	0
Iris: anterior synechia (R)	0	0	2	0	0
Lens: necrosis, subcapsular, focal (L)	0	0	0	0	1
Lens: necrosis, subcapsular, focal (R)	0	0	0	0	0
Lens: mitotic activity, lenticular epithelium, focal (L)	0	1	0	0	1
Lens: mitotic activity, lenticular epithelium, focal (R)	0	1	2	3	1
Lens: hyperplasia, lenticular epithelium, focal (L)	0	0	0	0	1
Lens: hyperplasia, lenticular epithelium, focal (R)	0	0	0	0	0
Bulbar conjunctiva: infiltration, mixed inflammatory cells (L)	0	0	0	0	1
Bulbar conjunctiva: infiltration, mixed inflammatory cells (R)	0	0	0	1	2
Retina: loss of photoreceptors / ONL, focal (L)	0	0	1	0	0
Retina: loss of photoreceptors / ONL, focal (R)	0	0	1	0	2

8-MOP: 8-Methoxypsoralen; UVR: Ultraviolet radiation; –: No noteworthy findings; n/c: Not calculated; L: Left eye; R: Right eye; ONL: Outer nuclear layer

2.6.7.17.2 毒性発現の機序に関する試験

Test Article: KLH-2109 Choline

Species/Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg/day)	Frequency	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Dog/ Beagle and Monkey/ Cynomolgus	Oral gavage	10, 100, 1000	Daily for 1 week	3F	The objective of this study was to evaluate the pharmacokinetics of KLH-2109 in bile, urine and plasma. This study supports the clarification of the formation mechanism of choleliths after KLH-2109 Choline administration. Measurement of drug concentration: In monkey and dogs the main component in the bile, plasma and urine was KLH-2109. Higher exposure in dogs compared to monkeys. KLH-2109 concentrations in the bile, plasma and urine in monkeys increased according to doses. In dogs it increased according to the doses in the bile only, whereas in the plasma and urine plateaued at 100 mg/kg/day or more. The C_{max} and AUC_{0-24} of KLH-2109 were higher in dogs than in monkeys. The CL/F in monkeys was higher than in dogs at all doses. The $C_{bile, max}$ and $C_{bile, mean}$ in dogs were higher than in monkeys. The $X_{bile0-24}$ in dogs was higher than in monkey. The CL_{bile} was higher in monkeys than in dogs at low dose. KP017 was detected at low concentrations in the bile, plasma and urine of monkeys and dogs. KP047 was not detectable. KP048 was detected in the bile (low concentration) of monkey and in the bile, plasma and urine (low concentration) in dogs. KP050 was detected in the bile, plasma (low concentration) and urine (low concentration) of monkeys and in the urine (low concentration) in dogs. Cholelith analysis: KLH-2109 was found as the highest in ratio. As KLH-2109 was detected in the choleliths, and exposure to KLH-2109 was higher in dogs than that of monkeys, the choleliths in the dog gallbladder were considered to have been associated with the pharmacokinetics of KLH-2109.	[redacted]	4.2.3.7.3.1

Test Article: KLH-2109 Choline

Species/Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg/day)	Frequency	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Mouse/ Crl:CD1(ICR)	Oral gavage	0, 40, 200, 750	Daily for 1 week	24F	The objective of this study was to clarify the formation mechanism of biliary sand after high doses of KLH-2109 Choline. Concentrations of KLH-2109 and its metabolites: KLH-2109 was the main component in bile, plasma and urine. In bile, plasma and urine, the concentrations, C_{max} and AUC_{0-24} of KLH-2109 increased with dose but showed a tendency to plateau. CL/F of KLH-2109 increased with dose. $X_{urine0-24hr}$ increased with dose but CL_{urine} showed a tendency to be plateau. $C_{bile,\ max}$, $C_{bile,\ mean}$, $X_{bile0-24}$ and CL_{bile} increased with dose up to 200 mg/kg/day but reached plateau at 750 mg/kg/day. KP017 and KP050 were detected in bile, plasma and urine but lower in plasma. KP048 was detected in bile, plasma and urine but lower in plasma and urine. KP047 was not quantitatively detected in bile, plasma or urine. In conclusion, biliary sand formation in the gallbladder of KLH-2109 Choline treated mice is triggered by the saturation of KLH-2109 in bile.	52167	4.2.3.7.3.2

Test Article: KLH-2109

Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
In this study, the saturated solubility of KLH-2109 in human bile was examined using a developed LC-MS/MS method and compared with the estimated concentrations of KLH-2109 in the bile of humans treated with KLH-2109 Choline. The saturated solubility in human bile was 5850 µg/mL. The estimated maximum concentrations of KLH-2109 in human bile were obtained from the KLH-2109 blood exposure when women received KLH-2109 Choline 7 days in a phase I clinical study by multiplying the ratio of KLH-2109 bile exposure to KLH-2109 blood exposure when dogs received at 10 mg/kg (equivalent to 300 mg/day in humans) or mice received at 40 mg/kg (equivalent to 180 mg/day in humans). The estimated maximum concentrations of KLH-2109 in the bile of Japanese premenopausal women given 200 mg/day was 4.3% – 5.7% or 3.2% – 4.2%. That of Caucasian premenopausal women given 200 mg/day was 3.9% – 5.5% or 2.9% – 4.1%. In addition, when considering the gallbladder volume of 40 to 50 mL in adult humans, and assuming that the entire KLH-2109 is excreted via the bile, 40 mL of bile would be sufficient to dissolve 100 or 200 mg/day of KLH-2109 that was administered to humans. Therefore, it is expected that the possibility of developing the gall bladder finding is low in humans.	32061	4.2.3.7.3.3

Test Article: KLH-2109

<table>
<tr><th>Noteworthy Findings</th><th>Study Number</th><th>Location in CTD</th></tr>
<tr><td>In this study the saturated solubility of KLH-2109 and its metabolites in bile of dog and mouse were examined.
Abnormal contents formed in the gallbladders of dogs and mice treated with high dosage of KLH-2109 Choline may be the result of test material precipitation since the maximum concentrations of KLH-2109 in bile exceeded the saturated solubility.

<table>
<tr><th>Species</th><th>Test article / metabolite</th><th>Mean saturated solubility (μg/mL)</th></tr>
<tr><td rowspan="5">Dog</td><td>KLH-2109</td><td>5850</td></tr>
<tr><td>KP017</td><td>4530</td></tr>
<tr><td>KP047</td><td>31300</td></tr>
<tr><td>KP048</td><td>67100</td></tr>
<tr><td>KP050</td><td>13200</td></tr>
<tr><td rowspan="5">Mouse</td><td>KLH-2109</td><td>6330</td></tr>
<tr><td>KP017</td><td>4800</td></tr>
<tr><td>KP047</td><td>35300</td></tr>
<tr><td>KP048</td><td>88200</td></tr>
<tr><td>KP050</td><td>11400</td></tr>
</table>
</td><td>52166</td><td>4.2.3.7.3.4</td></tr>
</table>

Test Article: KLH-2109 Choline

Species/Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg)	Frequency	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Rat/ RccHan:WIST	Oral gavage	0, 500	Single dose	6–12F	The objective of this microdialysis study was to measure extracellular levels of dopamine (DA) in the hypothalamus of freely moving rats after single dosing of KLH-2109 Choline at 500 mg/kg. Both sexually mature female rats (10 – 13 weeks of age) and aged female rats (25 – 31 weeks of age) were used. The estrous cycle was observed by vaginal smear through the experiment period. A microdialysis probe was inserted into the rat hypothalamus via guide cannula. Extracellular DA levels were measured using microdialysis techniques. On the measurement day, dialysate samples were collected every 20 minutes and automatically injected with an auto-injector into HPLC apparatus coupled with an electrochemical detection system. After sampling completion, the position of the probe was verified. Only the data from the rats with correct probe placements were used for the data analysis. A single dose of KLH-2109 Choline at 500 mg/kg had no effect on DA levels in sexually mature or aged female rats with regular estrous cycle. KLH-2109 Choline treatment resulted in a minor statistically significant increase in DA levels in aged female rats with irregular estrous cycle.	KLH-21027	4.2.3.7.3.5

Test Article: KLH-2109 Choline

Species/Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg)	Frequency	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Rat/ RccHan:WIST	Oral gavage	0, 5, 50, 500, 2000	Single dose	7F	The objective of this study was to assess the effects of KLH-2109 Choline on plasma prolactin (PRL), estradiol (E2), and progesterone (P4) levels in sexually mature female Wistar rats. There were no deaths or noteworthy clinical signs throughout the study period. No noteworthy changes in PRL, E2 and P4 levels and the E/P ratio were noted in any of the KLH-2109 Choline-treated groups. A marked decrease in PRL levels in the Bromocriptine-treated group was observed, thus confirming the study design and test system. In conclusion, a single oral administration of KLH-2109 Choline had no effects on PRL, E2, P4 or the E/P ratio, in sexually mature female Wistar rats. Thus, the study confirmed that treatment with KLH-2109 Choline results in no relevant increase in E2 or the E/P ratio which could result in increased incidence of endometrial adenocarcinoma.	52257	4.2.3.7.3.6

Test Article: KLH-2109 Choline

Species/ Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg/day)	Frequency	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Rat/ RccHan: WIST	Oral gavage	0, 5, 50, 500, 2000	Daily for 2 weeks	10F	The objective of this study was to assess the effects of KLH-2109 Choline on estrous cycles, plasma PRL, E2, and P4 levels, organ weights of ovaries, uterus and pituitary glands and histopathological changes in ovaries, uterus, vagina, mammary and pituitary glands in sexually mature rats. There were no deaths or noteworthy clinical signs. Prolonged estrous cycles and/or an increased incidence of animals with irregular estrous cycles (i.e. persistent diestrus or persistent estrus) was observed at ≥50 mg/kg/day. Plasma hormone changes consisted of: PRL: Increased levels at 50 and 500 mg/kg/day and decreased levels at 2000 mg/kg; E2: Increased levels at 50 mg/kg/day and decreased levels at 2000 mg/kg/day; P4: Decreased levels at 2000mg/kg/day; E/P ratio: Increased levels at 50 mg/kg/day and decreased levels at 2000mg/kg/day; with the exception of decreased P4 values at 2000 mg/kg/day in the combined data of diestrus and estrus stages, none of the observed changes achieved statistical significance. Organ weights and histopathological examination of the ovaries revealed reduced weights and increased numbers of large-sized atretic follicles and unruptured follicles and decreased numbers of corpora lutea at ≥50 mg/kg/day. At 2000 mg/kg/day, full suppression of GnRH receptor resulted in reduced weights and atrophic findings in the pituitary gland and genital organs and correlated with the observed estrous cycle arrest and decreases in E2, P4 and E/P ratio. In conclusion, daily oral administration of KLH-2109 Choline to sexually mature female Wistar rats for 2 weeks resulted in non-significant changes in PRL at 50 and 500 mg/kg/day, and E2 at 50 mg/kg/day. In line with the pharmacological action of KLH-2109 Choline, the length of estrous cycle was prolonged at 50 and 500 mg/kg/day due to increased incidence of a persistent estrus stage and atrophic changes of female reproductive organs at ≥50 mg/kg/day. Thus, the study confirmed that treatment with KLH-2109 Choline results in no relevant increase in E2 or the E/P ratio which could result in increased incidence of endometrial adenocarcinoma.	52258	4.2.3.7.3.7

Test Article: KLH-2109 Choline

Species/Strain	Method of Administration	Dose (mg/kg/day)	Frequency	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location in CTD
Rat/ RccHan:WIST	Oral gavage	0, 5, 50, 500, 2000	Daily for 2 weeks	5–8F	The objective of this study was to assess the effects of KLH-2109 Choline on estrous cycles, plasma PRL, E2, and P4 levels, organ weights of ovaries, uterus and pituitary glands and histopathological changes in ovaries, uterus, vagina, mammary and pituitary glands in aged rats with irregular estrous cycles (i.e. persistent diestrus or persistent estrus). There were no deaths or noteworthy clinical signs. Estrus cycles at 2000 mg/kg/day changed from persistent diestrus to persistent estrus, there were no effects at 5, 50 or 500 mg/kg/day. Plasma hormone changes consisted of: PRL: No changes; E2: Decreased levels at ≥50 mg/kg/day; P4: Decreased levels at ≥500 mg/kg/day; E/P ratio: No noteworthy changes. There were no treatment-related organ weight changes or histopathological findings. In conclusion, daily oral administration of KLH-2109 Choline for 2 weeks decreased E2 at ≥50 mg/kg/day and decreased P4 at ≥500 mg/kg/day. These findings correlated with histopathological observations. There were no noteworthy changes in PRL levels or the E/P ratio at any dose level. Thus, the study confirmed that treatment with KLH-2109 Choline results in no relevant increase in E2 or the E/P ratio which could result in increased incidence of endometrial adenocarcinoma.	52262	4.2.3.7.3.8

2.6.7.17.3 不純物の毒性試験

2.6.7.17.3.1 潜在的不純物に関する細菌を用いる復帰突然変異試験

Test Article: 不純物F＊

Strains	Dose level (µg/plate)	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Salmonella typhimurium (TA100, TA98, TA1535 and TA1537) and *Escherichia Coli* (WP2*uvrA*/pKM101)	39 – 5000	Dose range-finding test: 不純物F＊was tested at 39 – 5000 µg/plate in all 5 strains with and without metabolic activation. 不純物F＊ did not cause 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at any doses either with or without metabolic activation. Main test: 不純物F＊ was tested at 313 – 5000 µg/plate in all 5 strains with and without metabolic activation. 不純物F＊ did not cause 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at any doses either with or without metabolic activation.	Yes	11094	4.2.3.7.6.1

＊新薬承認情報提供時に置き換え

Test Article: KLH-2109

Strains	Dose level (µg/plate)	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Salmonella typhimurium (TA100, TA98, TA1535 and TA1537) and *Escherichia Coli* (WP2*uvrA*/pKM101)	39 – 5000	Dose range-finding test: KLH-2109 was tested at 39 – 5000 µg/plate in all 5 strains with and without metabolic activation. KLH-2109 did not cause 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at any doses either with or without metabolic activation. Main test: KLH-2109 was tested at 313 – 5000 µg/plate in all 5 strains with and without metabolic activation. KLH-2109 did not cause 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at any doses either with or without metabolic activation.	Yes	11100	4.2.3.7.6.2

Test Article: 不純物B＊

Strains	Dose level (µg/plate)	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Salmonella typhimurium (TA100, TA98, TA1535 and TA1537) and *Escherichia Coli* (WP2*uvrA*/pKM101)	39 – 5000	Dose range-finding test: 不純物B＊was tested at 39 – 5000 µg/plate in all 5 strains with and without metabolic activation. 不純物B＊ caused 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at 156 – 1250 µg/plate in TA100 and at 78 – 625 and 2500 µg/plate in TA1535 with metabolic activation. Main test: 不純物B＊was tested at 39 – 1250 µg/plate in all 5 strains with and without metabolic activation. 不純物B＊ caused 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at 78 – 1250 µg/plate both in TA100 and TA1535 with metabolic activation.	Yes	11102	4.2.3.7.6.3

＊新薬承認情報提供時に置き換え

Test Article: 不純物D＊

Strains	Dose level (µg/plate)	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Salmonella typhimurium (TA100, TA98, TA1535 and TA1537) and *Escherichia Coli* (WP2*uvrA*/pKM101)	39 – 5000	Dose range-finding test: 不純物D＊was tested at 39 – 5000 µg/plate in all 5 strains with and without metabolic activation. 不純物D＊ did not cause 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at any doses either with or without metabolic activation. Main test: 不純物D＊was tested at 39 – 625 µg/plate in TA100, TA98, TA1535 and TA1537, and at 313 – 5000 µg/plate in WP2*uvrA*/pKM101 without metabolic activation, and was tested at 313 – 5000 µg/plate in all 5 strains with metabolic activation. 不純物D＊did not cause 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at any doses either with or without metabolic activation.	Yes	11106	4.2.3.7.6.4

＊新薬承認情報提供時に置き換え

Test Article: 不純物E＊

Strains	Dose level (µg/plate)	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Salmonella typhimurium (TA100, TA98, TA1535 and TA1537) and *Escherichia Coli* (WP2*uvrA*/pKM101)	39 – 5000	Dose range-finding test: 不純物E＊was tested at 39 – 5000 µg/plate in all 5 strains with and without metabolic activation. 不純物E＊did not cause 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at any doses either with or without metabolic activation. Main test: 不純物E＊was tested at 39 – 625 µg/plate in TA98, at 78 – 1250 µg/plate in TA100, TA1535 and TA1537, and at 156 – 2500 µg/plate in WP2*uvrA*/pKM101 without metabolic activation, and was tested at 156 – 2500 µg/plate in TA1535 and TA1537 and at 313 – 5000 µg/plate in TA100, TA98 and WP2*uvrA*/pKM101 with metabolic activation. 不純物E＊did not cause 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at any doses either with or without metabolic activation.	Yes	11109	4.2.3.7.6.5

＊新薬承認情報提供時に置き換え

Test Article: 不純物A＊

Strains	Dose level (µg/plate)	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Salmonella typhimurium (TA100, TA98, TA1535 and TA1537) and *Escherichia Coli* (WP2*uvrA*/pKM101)	10 – 5000	Dose range-finding test: 不純物A＊was tested at 39 – 5000 µg/plate in all 5 strains with and without metabolic activation. 不純物A＊caused 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at 78 and 156 µg/plate in WP2*uvrA*/pKM101 without metabolic activation, and at 78 and 156 µg/plate both in TA100 and WP2*uvrA*/pKM101 with metabolic activation. Main test 1: 不純物A＊was tested at 10 – 320 µg/plate in all 5 strains with and without metabolic activation. 不純物A＊caused 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at 20 – 80 µg/plate in TA100 and at 160 µg/plate in WP2*uvrA*/pKM101 without metabolic activation, and at 80 and 160 µg/plate both in TA100 and WP2*uvrA*/pKM101 with metabolic activation. Main test 2: 不純物A＊was tested at 10 – 320 µg/plate in all 5 strains with and without metabolic activation. 不純物A＊ caused 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at 40 – 160 µg/plate in TA100 and at 80 and 160 µg/plate in WP2*uvrA*/pKM101 without metabolic activation, and at 80 and 160 µg/plate both in TA100 and WP2*uvrA*/pKM101 with metabolic activation.	Yes	11111	4.2.3.7.6.6

＊新薬承認情報提供時に置き換え

Test Article: 不純物C＊

Strains	Dose level (µg/plate)	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD
Salmonella typhimurium (TA100, TA98, TA1535 and TA1537) and *Escherichia Coli* (WP2*uvrA*/pKM101)	39 – 5000	Dose range-finding test: 不純物C＊was tested at 39 – 5000 µg/plate in all 5 strains with and without metabolic activation. 不純物C＊caused 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at 2500 and 5000 µg/plate in TA100 with and without metabolic activation, and at 5000 µg/plate in WP2*uvrA*/pKM101 with metabolic activation. Main test: 不純物C＊was tested at 313 – 5000 µg/plate in all 5 strains with and without metabolic activation. 不純物C＊caused 2-fold or more increases in the number of revertant colonies at 2500 and 5000 µg/plate in TA100 with and without metabolic activation, and at 2500 and 5000 µg/plate in WP2*uvrA*/pKM101 with metabolic activation.	Yes	12012	4.2.3.7.6.7

＊新薬承認情報提供時に置き換え