

## 2.6.6 毒性試験の概要文

## 目次

|                                                         |    |
|---------------------------------------------------------|----|
| 2.6.6 毒性試験の概要文 .....                                    | 1  |
| 2.6.6.1 まとめ .....                                       | 1  |
| 2.6.6.2 単回投与毒性試験 .....                                  | 4  |
| 2.6.6.2.1 ラット .....                                     | 4  |
| 2.6.6.2.2 イヌ .....                                      | 4  |
| 2.6.6.2.3 ネコ .....                                      | 5  |
| 2.6.6.3 反復投与毒性試験 .....                                  | 6  |
| 2.6.6.3.1 イヌ 4 週間静脈内投与毒性試験（表 2.6.7.7 A） .....           | 6  |
| 2.6.6.3.2 ネコ 4 週間静脈内投与毒性試験（表 2.6.7.7 B） .....           | 7  |
| 2.6.6.4 遺伝毒性試験 .....                                    | 8  |
| 2.6.6.4.1 復帰突然変異試験 .....                                | 8  |
| 2.6.6.4.2 哺乳類細胞遺伝子突然変異試験（表 2.6.7.8 E） .....             | 8  |
| 2.6.6.4.3 染色体異常試験（表 2.6.7.8 F） .....                    | 9  |
| 2.6.6.4.4 小核試験（表 2.6.7.9） .....                         | 9  |
| 2.6.6.5 がん原性試験 .....                                    | 9  |
| 2.6.6.6 生殖発生毒性試験 .....                                  | 10 |
| 2.6.6.6.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（表 2.6.7.12） .....    | 10 |
| 2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 .....                            | 10 |
| 2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 .....               | 12 |
| 2.6.6.7 局所刺激性試験 .....                                   | 12 |
| 2.6.6.7.1 静脈内、静脈周囲及び動脈内投与による局所刺激性試験（表 2.6.7.15 A） ..... | 12 |
| 2.6.6.7.2 筋肉内投与による局所刺激性試験（表 2.6.7.15 B） .....           | 13 |
| 2.6.6.8 その他の毒性試験 .....                                  | 13 |
| 2.6.6.8.1 依存性 .....                                     | 13 |
| 2.6.6.8.2 抗原性 .....                                     | 13 |
| 2.6.6.8.3 イヌの機序検討試験（表 2.6.7.16 C～E） .....               | 14 |
| 2.6.6.8.4 悪性高熱症誘発試験（表 2.6.7.16 G） .....                 | 16 |
| 2.6.6.8.5 類縁物質 .....                                    | 17 |
| 2.6.6.9 考察及び結論 .....                                    | 21 |
| 2.6.6.10 図表 .....                                       | 25 |
| 2.6.6.11 参考文献一覧 .....                                   | 25 |

## 2.6.6 毒性試験の概要文

### 2.6.6 毒性試験の概要文

#### 2.6.6.1 まとめ

Org 9426 はその薬理作用である筋弛緩作用により呼吸停止を引き起こす。毒性評価には一般的にラットなどのげっ歯類を用いるが、本薬の薬効量以上の投与には呼吸管理が必要であるため、一般毒性試験は主に人工呼吸器の装着が容易なイヌ及びネコを用い、麻酔下で単回投与及び反復投与試験を実施した。さらに、より高用量の毒性を評価するため、イヌ及びネコの単回投与試験では 30 分間隔で 2～3 回の累積投与を行い、また反復投与試験では麻酔及び人工呼吸の頻回処置の影響を考慮し、30 分間隔 3 分割投与を週 2 回行った。人工呼吸器の装着が容易でないラット及びウサギを用いた単回投与毒性試験及び生殖発生毒性試験では、分割投与により薬物の曝露量を増加させた。このほか、ブタを用いた悪性高熱症誘発試験も麻酔下及び人工呼吸下で実施した。

主要な毒性試験を表 2.6.6-1 に示した。評価資料とした試験は全て GLP に準拠して実施した。

表 2.6.6-1 毒性試験プログラム

| 試験の種類及び期間                                                           | 投与経路                                                         | 動物種                                               |
|---------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 単回投与毒性試験                                                            | 静脈内<br>経口<br>静脈内持続注入                                         | ラット、イヌ及びネコ<br>ラット<br>ネコ                           |
| 反復投与毒性試験<br>2 週<br>4 週                                              | 静脈内<br>静脈内                                                   | イヌ及びネコ<br>イヌ及びネコ                                  |
| 遺伝毒性試験<br>細菌を用いた復帰突然変異試験<br>哺乳類細胞を用いた遺伝子突然変異試験<br>染色体異常試験<br>小核試験   | <i>in vitro</i><br><i>in vitro</i><br><i>in vitro</i><br>静脈内 | ネズミチフス菌、大腸菌<br>チャイニーズハムスター細胞<br>ヒト末梢血リンパ細胞<br>ラット |
| 生殖発生毒性試験<br>受胎能及び初期胚発生<br>胚・胎児発生への影響<br>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* | 静脈内<br>静脈内<br>静脈内                                            | ラット<br>ラット及びウサギ<br>ラット                            |
| 局所刺激性試験                                                             | 静脈内、動脈内、静脈周囲<br>及び筋肉内                                        | ウサギ                                               |
| その他の毒性試験<br>抗原性<br>悪性高熱症誘発試験<br>類縁物質Ⅲ (Org 9943) 単回投与試験             | 皮下<br>静脈内<br>静脈内                                             | マウス、ラット及びモルモット<br>ブタ<br>ネコ                        |

\*：授乳期投与は除く

## 2.6.6 毒性試験の概要文

### 単回投与毒性：

ラット単回静脈内投与毒性試験において、非人工呼吸下で 0.3 mg/kg の投与後に雌雄各 5 例中 1 例が死亡したことから、静脈内投与での概略の致死量は 0.3 mg/kg と推定された。また、ラット単回経口投与毒性試験の結果、200 mg/kg の投与で一般状態の変化は認められず、死亡例もなかったことから、経口投与での概略の致死量は 200 mg/kg 以上と推定された。非げっ歯類を用いた非人工呼吸下における単回投与毒性試験は実施されなかったが、筋弛緩作用の ED<sub>90</sub> から、概略の致死量はイヌで 0.18 mg/kg、ネコで 0.32 mg/kg と推定された。

一方、麻酔下及び人工呼吸下で実施された単回静脈内投与毒性試験の結果から、麻酔下及び人工呼吸下におけるイヌ及びネコの概略の致死量は、それぞれ 135 mg/kg 及び 87.5 mg/kg 以上と推定された。

### 反復投与毒性：

**イヌ 4 週間静脈内投与毒性試験：**イヌ 4 週間静脈内投与毒性試験の結果、一部の動物に人工呼吸装置からの不適切な離脱によると推察される死亡がみられ、血圧の低下が観察されたが、眼科的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査並びに病理組織学的検査において Org 9426 に起因する明らかな影響は認められなかった。以上より、イヌにおける無毒性量は 10.8 mg/kg/日以上と推定された。

**ネコ 4 週間静脈内投与毒性試験：**ネコを用いて麻酔下及び人工呼吸下の 4 週間静脈内投与毒性試験を行った結果、Org 9426 に起因する毒性学的影響は認められず、無毒性量は 9.3 mg/kg/日以上と推定された。

### 遺伝毒性：

ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）で弱い陽性結果が得られたが、別の 2 施設で追試した結果、陽性反応は認められなかった。そのほか大腸菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類細胞を用いた遺伝子突然変異試験でも陽性反応は認められず、Org 9426 の遺伝子突然変異誘発性は弱いものと判断した。また、ヒト末梢血リンパ球細胞を用いた染色体異常試験及びラットを用いた小核試験を実施したが、陽性反応は認められなかった。

### がん原性：

Org 9426 は臨床において長期反復投与されないこと、また復帰突然変異試験で弱い陽性反応が認められたものの、哺乳類細胞を用いた遺伝子突然変異試験、ヒト末梢血リンパ球細胞を用いた染色体異常試験及びラット小核試験において陰性であったことから、Org 9426 のがん原性に関する懸念は少ないものと判断し、がん原性試験は実施しなかった。

### 生殖発生毒性：

**ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：**親動物の雄 2 例が呼吸抑制により死亡したが、それ以外の一般毒性学的、生殖発生毒性学的異常は認められなかった。雌雄動物の一般毒性学的無毒性量及び生殖毒性学的無毒性量並びに胎児 F<sub>1</sub> 発生に対する無毒性量はいずれも 0.75 mg/kg/日以上と推定された。

**ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する影響：**Org 9426 の胚・胎児発生に関する影響を非人工呼吸下で検討したところ、ラットの 0.9 mg/kg/日投与群及びウサギの 0.12 mg/kg/日投与群で親動物が呼吸抑制により死亡した。しかし、いずれの試験においても胎児の発生に対する影響は認められなかった。以上より、ラットにおける母動物の一般毒性学的無毒性量、生殖毒性学的無毒性量及び胎児 F<sub>1</sub> に対する無毒性量はいずれも 0.9 mg/kg/日以上と推定され、また、ウサギにおける親動物の一般毒性学的無

## 2.6.6 毒性試験の概要文

毒性量, 生殖毒性学的無毒性量及び胎児 F<sub>1</sub> に対する無毒性量はいずれも 0.12 mg/kg/日以上と推定された.

**ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能:** ラットを用いて妊娠末期及び授乳期投与試験を行った. ただし Org 9426 の筋弛緩作用により自然分娩及び哺育が阻害されることが推定されたため, 妊娠 21 日及び授乳期の投与は行わなかった. 特記すべき異常は認められず, 母動物の生殖機能に対する無毒性量は 0.75 mg/kg/日未満, 母動物の一般毒性学的無毒性量及び胎児 F<sub>1</sub> 発生に対する無毒性量はいずれも 0.75 mg/kg 以上と推定された.

### 局所毒性試験:

ウサギを用いて局所刺激性を検討した結果, 静脈周囲投与については, 病理組織学的検査で Org 9426 に起因すると考えられる皮下小空洞内に充満された好酸性物質が認められたことから, 軽度な局所刺激性があると判断した. 静脈内, 動脈内及び筋肉内投与では, 局所刺激性は認められなかった.

### その他の毒性試験:

**依存性:** 一般毒性試験で依存性を疑う所見が認められなかったこと, また血漿中濃度と比較して脳への移行は明らかに低いことから, 依存性試験は実施しなかった.

**抗原性:** 分子量 5000 以下の医薬品の抗原性検出に適切とされるマウス膝窩リンパ節試験 (PLNA) で感作性は認められなかった. なお, モルモットを用いた能動的全身性アナフィラキシー (ASA) 試験及び受身的皮膚アナフィラキシー (PCA) 試験, マウスを用いた異種受身的皮膚アナフィラキシー (PCA) 試験においても陽性反応はみられなかった.

**悪性高熱症誘発試験:** 悪性高熱症感受性ブタを用いて実施した試験において, 悪性高熱症の誘発は認められなかった.

**類縁物質Ⅲの単回投与毒性:** ネコを用いた類縁物質Ⅲ (Org 9943) の単回静脈内投与毒性試験において, 筋弛緩作用及び毒性学的影響は認められなかった. 概略の致死量は 3.6 mg/kg 以上と推定された.

## 2.6.6 毒性試験の概要文

### 2.6.6.2 単回投与毒性試験

Org 9426 は、その筋弛緩作用により薬効量で呼吸が停止するため、人工呼吸装置を用いない場合は、薬効量が致死量となる。薬効量を上回る本薬の投与には呼吸管理が必要であるため、単回投与毒性の評価には主に人工呼吸装置の装着が容易なイヌ及びネコを用い、麻酔下及び人工呼吸下で単回投与毒性試験を実施した。非げっ歯類の非人工呼吸下における単回投与毒性については薬理試験より概略の致死量を類推した。

#### 2.6.6.2.1 ラット

##### 2.6.6.2.1.1 単回静脈内投与毒性試験（表 2.6.7.5 B）（評価資料, ■■■41-47 ; 4.2.3.1.1）

雌雄ラットに Org 9426 の 0.15, 0.3 及び 0.6 mg/kg を単回静脈内投与し、14 日間観察し毒性を検討した。

0.6 mg/kg 投与群の雌雄各 5 例中 2 例及び 0.3 mg/kg 投与群の雌雄各 5 例中 1 例で、投与直後より腹臥位及び間代性痙攣が観察され、投与後 5 分以内に死亡した。また、0.6 mg/kg 投与群の雌 1 例で同様の症状がみられたが、投与 15 分後の観察時までには回復した。そのほかの生存例に Org 9426 に起因すると考えられる変化はみられなかった。14 日間の観察期間中体重に変化はなく、死亡例及び生存例の剖検においても Org 9426 に起因すると考えられる異常は認められなかった。

これらの結果から、動物の死亡は、Org 9426 の筋弛緩作用に基づく呼吸抑制によるものと判断した。

以上より、非人工呼吸下のラットに単回静脈内投与したときの概略の致死量は 0.3 mg/kg と推定された。

#### 2.6.6.2.2 イヌ

##### 2.6.6.2.2.1 非人工呼吸下における単回静脈内投与毒性

イヌにおける筋弛緩作用の ED<sub>90</sub> 値は 180 µg/kg であることから (2.6.2.2.2 参照), 非人工呼吸下の概略の致死量も 0.18 mg/kg であると推定された。

##### 2.6.6.2.2.2 人工呼吸下における単回静脈内投与毒性試験（表 2.6.7.5 C）（評価資料, SDGRR2257 ; 4.2.3.1.4）

予備試験 (SDGRR2246 (参考)) において人工呼吸下のイヌに Org 9426 の 0.6 及び 1.8 mg/kg を単回静脈内投与した結果、筋弛緩作用が認められたが、局所性及び全身性毒性所見は認められなかった。この結果を受け、本試験 (SDGRR2257) では 30 分間隔で 2 又は 4 分割投与を行った。

9 mg/kg を投与した 4 例全例が耐過し、初回投与の 30 分後 1 例に 9 mg/kg を、3 例に 18 mg/kg を追加投与した。27 mg/kg (9+18 mg/kg) を投与した 1 例が耐過したため 36 mg/kg を追加投与し、更にその 30 分後に 72 mg/kg を追加投与した。すなわち、投与量と動物数は 18 mg/kg (9+9 mg/kg) 投与が 1 例 (雌), 27 mg/kg (9+18 mg/kg) 投与が 2 例 (雄 2 例), 135 mg/kg (9+18+36+72 mg/kg) 投与が 1 例 (雌) であった。このほかに溶媒投与群として 2 例 (雄 1 例, 雌 1 例) を設けた。

筋弛緩作用が各投与後 30 分以上持続して認められた。持続時間は 18 mg/kg 群でおよそ 3 時間、27 mg/kg 群でおよそ 6.5 時間であった。

## 2.6.6 毒性試験の概要文

135 mg/kg (9+18+36+72 mg/kg) を投与した 1 例で血圧の著しい低下、心拍数の低下及び不整脈が発現し、最終投与 4.5 時間後に死亡したが、これは Org 9426 の大量累積投与に加え、血圧低下作用が知られる<sup>1</sup> ハロタンの長時間投与による持続的な低血圧状態の結果、心血管系が虚脱状態に陥ったためと推定された。また、27 mg/kg (9+18 mg/kg) を投与した 1 例が人工呼吸の停止後に死亡したが、剖検及び病理組織学的検査においても原因となる所見は観察されず、死亡原因はおそらく人工呼吸装置の離脱時期が早すぎたことによる呼吸不全と考えられた。

なお、18 mg/kg (9+9 mg/kg) 及び 27 mg/kg (9+18 mg/kg) 投与群においても血圧低下及び心拍数の減少が観察されたが、これらは一過性であった。

筋弛緩作用の持続時間は 18 mg/kg (9+9 mg/kg) 投与群で約 3 時間、27 mg/kg (9+18 mg/kg) 投与群では約 6.5 時間であった。

27 mg/kg までの累積投与で心電図、体温、呼気中 CO<sub>2</sub> 濃度、血液ガス分析、一般状態、獣医学的検査、眼科学的検査、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査において Org 9426 に起因すると考えられる異常は認められなかった。

以上より、累積投与における概略の致死量は 135 mg/kg (9+18+36+72 mg/kg) と推定された。

### 2.6.6.2.3 ネコ

#### 2.6.6.2.3.1 非人工呼吸下における単回静脈内投与毒性

ネコにおける ED<sub>90</sub> 値は 321 µg/kg であることから (2.6.2.2.2 参照)、非人工呼吸下の概略の致死量は 0.32 mg/kg と推定された。

#### 2.6.6.2.3.2 人工呼吸下における単回静脈内投与毒性試験 (累積投与) (表 2.6.7.5 D) (評価資料, SDGRR2252 ; 4.2.3.1.2)

予備試験 (SDGRR2247 (参考)) においてネコに Org 9426 の 0.8 及び 2.5 mg/kg を単回静脈内投与した結果、特記すべき毒性所見は認められなかった。この結果を受けて、本試験 (SDGRR2252) では人工呼吸下で 30 分間隔 2~3 分割投与を行った。

筋弛緩作用の ED<sub>90</sub> (321 µg/kg, 2.6.2.2.2 参照) の約 40 倍量である 12.5 mg/kg を初回投与量とし、耐過した動物に 30 分間隔で追加投与を行った。12.5 mg/kg を投与した 4 例全例 (雄 2 例, 雌 2 例) が耐過したため、投与 30 分後、12.5 mg/kg を雄 1 例に、25 mg/kg を雄 1 例, 雌 2 例に追加投与した。さらに 30 分後、37.5 mg/kg (12.5+25 mg/kg) の投与に耐過した 1 例 (雌) に 50 mg/kg を投与した。すなわち累積投与量と動物数は、25 mg/kg (12.5+12.5 mg/kg) が 1 例 (雄), 37.5 mg/kg (12.5+25 mg/kg) が 2 例 (雄 1 例, 雌 1 例), 87.5 mg/kg (12.5+25+50 mg/kg) が 1 例 (雌) であった。このほかに溶媒投与群として 2 例 (雄 1 例, 雌 1 例) を設けた。

筋弛緩作用は 30 分の投与間隔以上、少なくとも 5.5 時間にわたって観察された。

いずれの投与群においても死亡は認められなかった。12.5 mg/kg の投与直後に一過性の血圧低下が、また 25 mg/kg の追加投与直後に約 50 % の血圧低下が認められた。なお、溶媒投与群においても同様の血圧低下が観察された。これらの血圧低下は投与 3 分以内で最も顕著で、その後回復傾向が認められた。更に 50 mg/kg を追加投与した 1 例で約 75 % の血圧低下が観察されたが、最終観察時まで回復は認めら

## 2.6.6 毒性試験の概要文

れなかった。また麻酔停止後は全ての動物で血圧の上昇が認められた。

12.5 mg/kg の初回投与、25 mg/kg 及び 50 mg/kg の追加投与直後に、一過性のわずかな心拍数の減少が観察された。同様の所見は溶媒投与群においても認められた。

最終投与後約 5 時間を経過しても筋弛緩から回復しなかったため、全例を安楽死させた。

心電図、呼気中 CO<sub>2</sub> 含量、血液ガス分析、体温、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、剖検、病理組織学的検査及び骨髄像において、Org 9426 に起因すると考えられる異常は認められなかった。

以上より、累積静脈内投与における概略の致死量は 87.5 mg/kg (12.5+25+50 mg/kg) 以上と推定された。

### 2.6.6.2.3.3 人工呼吸下における単回静脈内投与毒性試験（1 時間持続静脈内投与）（表 2.6.7.5 E）（評価資料，SDGRR2251；4.2.3.1.3）

麻酔下及び人工呼吸下の雌雄ネコにOrg 9426 を 1 時間持続静脈内投与し、急性毒性を検討した。投与量は累積投与試験（2.6.6.2.3.2参照）で一過性の血圧低下と軽度の心拍数減少が観察された 37.5 mg/kg とした。このほかに溶媒投与群として雌雄各 1 例を設けた。

37.5 mg/kg を投与した雌雄各 2 例全例において死亡は認められなかった。

投与終了後 5.5～6 時間を経過しても筋弛緩から回復しなかったため、全例を安楽死させた。

投与直後より血圧が低下し、投与後約 30 分で 20～30 %の低下を示したが、投与終了後 10 分で回復傾向が認められた。また、投与後約 3 分でわずかな心拍数の減少が観察された。

心電図、体温、血液ガス分析、血液学的検査、血液生化学的検査、眼科学的検査、尿検査、剖検及び病理組織学的検査において Org 9426 に起因すると考えられる異常は認められなかった。

以上より、持続静脈内投与における概略の致死量は 37.5 mg/kg 以上と推定された。

### 2.6.6.3 反復投与毒性試験

Org 9426 は、その薬理作用である筋弛緩作用により薬効量で呼吸が抑制されるため、人工呼吸装置を用いない場合は、薬効量が致死量となる。従って、Org 9426 の薬効量を上回る用量の投与には呼吸管理が必要であるため、反復投与毒性試験は人工呼吸装置の装着が容易なイヌ及びネコを用いて実施した。投与は 30 分間隔の 3 分割投与とした。なお、Org 9426 は臨床において長期反復投与はされないことから観察期間は 4 週間とし、また麻酔及び人工呼吸の頻回処置の影響を考慮して投与頻度は週 2 日とした。

#### 2.6.6.3.1 イヌ 4 週間静脈内投与毒性試験（表 2.6.7.7 A）（評価資料，SDGRR2282；4.2.3.2.2）

用量設定試験（表 2.6.7.6 参照）（SDGRR2254）で 5.4 mg/kg 投与（1.08 mg/kg×5）によって中程度の低血圧が、18 mg/kg 投与（3.6 mg/kg×5）によって軽度～重度の低血圧が一過性に認められたこと、また筋弛緩作用の持続時間が約 2.5～3 時間と想定されたことから、最高用量を筋弛緩作用の ED<sub>90</sub>（0.18 mg/kg）の 60 倍量である 10.8 mg/kg/日と設定した。最低用量は ED<sub>90</sub> の約 6 倍量である 1.2 mg/kg/



## 2.6.6 毒性試験の概要文

日とし、中間用量は公比 3 で 3.6 mg/kg/日を設定した。

筋弛緩作用の持続時間は投与量の増加に従って延長傾向が認められ、1.2, 3.6 及び 10.8 mg/kg群でそれぞれ 10～30 分、20～70 分及び 1～2 時間であった。10.8 mg/kg/日投与群の雄 2 例及び雌 1 例が、それぞれ投与 4, 18 及び 1 日目に死亡した。これらの死亡は人工呼吸器からの離脱後 0.5～1.5 時間に発見され、生存中の一般状態、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検及び病理組織学的検査における異常は認められなかった。イヌ単回静脈内投与毒性試験において 135 mg/kgの累積投与で初めて動物が死亡したこと（2.6.6.2.2.2参照）を勘案すると、これらの死亡はおそらく自発呼吸が完全に回復する前に人工呼吸器から離脱させたことによるものと考えられた。

筋弛緩作用の持続時間は、投与量の増加に従って延長する傾向が認められた。

10.8 mg/kg 投与群の雄 1 例で両眼、雌 1 例で片眼に眼底血管の拍動が観察された。眼底血管は心臓の活動を反映するといわれている。この 4 週間静脈内投与試験では血圧は測定されていないが、イヌ単回静脈内投与毒性試験では血圧及び心拍数の低下が観察されていることから、本試験で観察された眼底血管の拍動は、Org 9426 の心循環器系への影響によるものと推定された。

溶媒投与群及び Org 9426 投与群において体重の減少と一般状態の悪化が認められたが、これらは絶食、麻酔及び人工呼吸を繰り返したことによるものと考えられた。

摂餌量、獣医学的検査、心電図、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、剖検、病理組織学的検査及び骨髄像に Org 9426 に起因すると考えられる異常は認められなかった。

以上より、イヌにおける無毒性量は 10.8 mg/kg/日（3.6 mg/kg×3）以上と推定された。

### 2.6.6.3.2 ネコ 4 週間静脈内投与毒性試験（表 2.6.7.7 B）（評価資料，SDGRR2299；4.2.3.2.1）

用量設定試験（表 2.6.7.6 参照）（SDGRR2253）で 12.5 mg/kg（2.5 mg/kg×5）投与によって一過性の顕著な血圧低下と一過性で中程度の心拍数低下が観察されたことから、最高用量を 9.3 mg/kg/日（3.1 mg/kg×3）とした。最低用量は筋弛緩作用の ED<sub>90</sub>（321 µg/kg，2.6.2.2.2 参照）の約 3 倍量である 1 mg/kg/日とし、中間用量は公比約 3 で 3 mg/kg/日を設定した。

筋弛緩からの回復時間は、投与量の増加に従って延長し、また雄より雌でやや延長する傾向が認められた。作用持続時間は 1 mg/kg/日投与群、3 mg/kg/日投与群及び 9.3 mg/kg/日投与群の雄でそれぞれ 25, 58 及び 93 分、雌でそれぞれ 27, 62 及び 257 分であった。

9.3 mg/kg/日投与群の雌 1 例が投与開始 23 日目（投与 7 回終了後）の採血時に死亡したが、生存中の一般状態、死亡後の剖検及び病理組織学的検査において Org 9426 の影響は認められなかった。この動物の死亡原因は不明であるが、死亡が投与日ではなく投与翌日に認められたことから、本薬の直接的な影響というよりむしろ、週 2 回 4 週間の長時間麻酔、人工呼吸、筋弛緩状態及び採血などの影響によるものと考えられた。

筋弛緩作用の持続時間は、投与量の増加に従って延長し、また雄より雌でやや延長する傾向が認められた。

溶媒投与群を含む全ての群で、体重及び摂餌量の減少が認められたが、これは絶食、麻酔及び人工呼吸を繰り返したことによるものと考えられた。

一般状態、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、心電図、器官重量、剖検及び

## 2.6.6 毒性試験の概要文

病理組織学的検査で Org 9426 に起因すると考えられる異常は認められなかった。

以上より、ネコにおける無毒性量は 9.3 mg/kg/日 (3.1 mg/kg×3) 以上と推定された。

### 2.6.6.4 遺伝毒性試験

#### 2.6.6.4.1 復帰突然変異試験

ネズミチフス菌にてヒスチジン要求性の変異, 並びに大腸菌にてトリプトファン要求性の変異について検討を行った。

##### 2.6.6.4.1.1 ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験) (表 2.6.7.8 A~C) (評価資料, SDGRR2242 ; 4.2.3.3.3.1.1, SDGRR2231 ; 4.2.3.3.3.1.2, SDGRR2233 ; 4.2.3.3.3.1.3)

Org 9426 のネズミチフス菌 (TA98, TA100, TA1535, TA1537 及び TA1538 株) を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験) は, 以下に述べる 3 ヶ所の独立した施設にて実施した。

最初の試験は N.V.Organon で実施した (表 2.6.7.8 A) (SDGRR2242)。Org 9426 の 8, 40, 200, 1000 及び 5000 µg/プレートについて検討したところ, TA98 株で直接及び代謝活性化法の 5000 µg/プレートにおいて復帰突然変異株数の軽度な増加傾向が認められたが, 背景データの範囲内 (溶媒対照の 2~3 倍) であった。なお, この増加傾向は 1000 µg/プレート以下の濃度では認められなかった。

さらに, 別の試験施設 (試験実施施設: ██████████) において Org 9426 128, 320, 800, 2000 及び 5000 µg/プレートの各濃度について復帰突然変異性を検討した (表 2.6.7.8 B) (SDGRR2231)。TA98 株の復帰突然変異株数の増加は直接法で溶媒対照の 2 倍以下であり, また代謝活性化法では増加傾向は認められなかった。

3 度目の試験 (試験実施施設: ██████████) では, いずれの菌株においても陽性反応は認められなかった (表 2.6.7.8 C) (SDGRR2233)。

以上 3 試験より, ネズミチフス菌に対する Org 9426 の復帰突然変異誘発性は極めて弱いと判断した。なお, 陽性対照群では全て復帰突然変異反応が認められた。

##### 2.6.6.4.1.2 大腸菌を用いた復帰突然変異試験 (表 2.6.7.8 D) (評価資料, SDGRR2970 ; 4.2.3.3.3.1.4)

大腸菌の WP2 uvrA pkM101 株を用い, 直接法並びに代謝活性化法で 313, 625, 1250, 2500 及び 5000 µg/プレートの各濃度における復帰突然変異誘発性の検討を行った。

その結果, 直接法及び代謝活性化法のいずれの濃度においても, 復帰突然変異コロニー数の増加は認められず, 本試験条件下において Org 9426 の復帰突然変異誘発性は認められなかった。

なお, 陽性対照群では全て復帰突然変異反応が認められた。

##### 2.6.6.4.2 哺乳類細胞遺伝子突然変異試験 (表 2.6.7.8 E) (評価資料, SDGRR2232 ; 4.2.3.3.3.1.5)

V79 チャイニーズハムスター細胞を用い, 直接法並びに代謝活性化法で 500, 1000, 2000 及び 5000 µg/mL の各濃度における伴性のヒポキサンチン-グアニン-ホスホリボシル-トランスフェラーゼ (HPRT) 座への塩基対置換型突然変異, フレームシフト型突然変異及び遺伝子欠失による HPRT 欠損

## 2.6.6 毒性試験の概要文

型への前進性の遺伝子突然変異について検討を行った。

その結果、いずれの条件下でも、HPRT 座における突然変異頻度の用量依存的な増加は認められず、本試験条件下において変異原性は認められなかった。

なお、陽性対照群では全て突然変異反応が認められた。

### 2.6.6.4.3 染色体異常試験（表 2.6.7.8 F）（評価資料，SDGRR2960；4.2.3.3.3.1.6）

培養ヒト末梢血リンパ球細胞を用い，Org 9426 の 3.3，33，333，3330 及び 5000 µg/mL で処置後 24 時間及び 48 時間の分裂中期における染色体異常を評価し，Org 9426 の染色体異常誘発能を検討した。

その結果，代謝活性化法の 5000 µg/mL 処理 24 時間後に，ギャップを含む染色体異常細胞数の有意な増加が認められたが，そのほかの形式の染色体異常細胞の増加は認められず，この増加は毒性学的に意味のあるものではないと判断した。なお，直接法では染色体異常細胞数の増加は認められなかった。以上，本試験条件下において Org 9426 の染色体異常誘発能は認められなかった。

なお，陽性対照群では全て染色体異常細胞数の有意な増加が認められた。

### 2.6.6.4.4 小核試験（表 2.6.7.9）（評価資料，SDGRR2250；4.2.3.3.3.2.1）

ラットを用いた静脈内投与による小核試験を実施し，Org 9426 の染色体の突然変異誘発による遺伝的損傷の可能性を検討した。

予備試験において，Org 9426 の 0.4 及び 0.5 mg/kg の単回投与で一過性の四肢の筋力低下及び呼吸困難が認められ，また 0.4 mg/kg の 1 日 3 回投与（1.2 mg/kg/日）でもこれら一過性の症状が認められたことから，最大耐量である 0.3mg/kg の 1 日 3 回投与による 0.9 mg/kg/日を最高用量をとし，以下 0.45 mg/kg/日（0.15 mg/kg×3），0.225 mg/kg/日（0.075 mg/kg×3）を設定した。

その結果，Org 9426 投与群の小核出現頻度は全て正常対照範囲内であった。また，0.225 mg/kg/日投与群の雌 1 例で正常赤血球に対する幼若多染性赤血球数の比の正常対照範囲からの逸脱が認められたが，このほかに高値を示した動物は認められなかったことから，この高値は例外的なもので Org 9426 との関連性はないと判断した。

以上，本試験において Org 9426 の遺伝毒性は認められなかった。

なお，陽性対照群では遺伝毒性が確認された。

### 2.6.6.5 がん原性試験

Org 9426 は臨床において気管挿管時及び麻酔時の筋弛緩に用いられるものであり，長期反復投与されないこと，また復帰突然変異試験で弱い陽性反応が認められたものの，哺乳類細胞を用いた遺伝子突然変異試験，ヒト末梢血リンパ球細胞を用いた染色体異常試験及びラット小核試験において陰性であったことから，Org 9426 のがん原性に関する懸念は少ないものと判断し，がん原性試験は実施しなかった。

## 2.6.6 毒性試験の概要文

### 2.6.6.6 生殖発生毒性試験

#### 2.6.6.6.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（表 2.6.7.12）（評価資料，NL0045758；4.2.3.5.1.1）

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結果（2.6.6.6.3参照）より，投与量は0.25 mg/kgを1日3回投与する0.75 mg/kg/日とした。

その結果，Org 9426 投与群の雄で摂餌量減少及び体重減少が認められた。これらの所見は本薬の反復頻回投与により非人工呼吸下で繰り返し筋弛緩状態になったことの影響が考えられること，またイヌ及びネコの反復投与毒性試験において麻酔及び人工呼吸を繰り返した溶媒投与群でも同様の所見が観察されたことから（2.6.6.3），毒性所見ではないと判断した。投与7日目及び16日目にそれぞれ雄1例の死亡が認められたが，この死亡例について剖検で異常は認められなかった。死亡した2例を含む雌雄親動物において，Org 9426 投与後，腹臥位，鎮静，間代性痙攣及び呼吸困難が，また比較的低頻度でラ音，興奮，無呼吸が観察された。これらの所見及び死亡は，Org 9426 の筋弛緩作用によって呼吸抑制が引き起こされたことによる予測可能な所見であり，人工呼吸下で用いられる臨床現場では容易に回避可能であることから毒性所見ではないと判断した。また，溶媒投与群の雄1例で投与19日目から持続性の下肢の麻痺が，また投与20日目から失禁が認められたため，動物愛護の観点から投与27日目に安楽死させた。なお，この死亡例について剖検で異常は認められなかった。

また，平均交配所要日数，黄体数，着床数，生存胎児数，死亡胎児数，早期吸収胚数，後期吸収胚数，着床前胚損失率及び着床後胚損失率に対する影響は認められなかった。

以上，薬理作用に基づく一般状態の変化がOrg 9426 投与群で認められたが，人工呼吸下で用いられる臨床現場では回避できることから毒性所見ではないと判断し，雌雄動物の一般毒性学的無毒性量及び生殖毒性学的無毒性量は0.75 mg/kg/日（0.25 mg/kg×3）以上と推定された。また胎児F<sub>1</sub>発生に対する無毒性量は0.75 mg/kg/日（0.25 mg/kg×3）以上と推定された。

### 2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

#### 2.6.6.6.2.1 ラット胚・胎児発生に関する試験

##### 2.6.6.6.2.1.1 低用量試験（表 2.6.7.13 A）（評価資料，SDGRR2687；4.2.3.5.2.1）

妊娠ラットを用いた予備試験の結果，0.4 mg/kgの投与で呼吸抑制による死亡が認められたことから最高用量は0.30 mg/kg/日とし，以下0.10，0.05 mg/kg/日を設定した。

その結果，0.30 mg/kg/日を静脈内投与後に短期の痙攣様呼吸が観察されたほかは，母動物の一般状態，体重，摂餌量，剖検所見，黄体数及び着床数に溶媒投与群との間に差はみられなかった。また，Org 9426 投与群における着床後胚損失率，性比，胎児体重，異常胎児を有する母動物の頻度並びに骨格及び内臓異常を有する胎児の発生率に溶媒投与群との間に有意差はなく，また胚胎児における発育抑制，致死及び形態学的変化は認められなかった。

##### 2.6.6.6.2.1.2 高用量試験（表 2.6.7.13 B）（評価資料，SDGRR3864；4.2.3.5.2.2）

Org 9426 の全身曝露量を高めるために，最大耐量の0.3 mg/kgを3時間間隔で3回投与し，累積投与

## 2.6.6 毒性試験の概要文

量を 0.9 mg/kg/日とした追加試験を実施した。

母動物では、Org 9426 投与群の 1 例が投与 1 日目（妊娠 6 日）の 2 回目の投与 5 分後に呼吸停止により死亡したが、これは Org 9426 の筋弛緩作用による予測可能な所見であり、人工呼吸下で用いられる臨床現場では容易に回避可能であることから毒性所見ではないと判断した。また、Org 9426 投与群において、摂餌量、体重増加度の減少がみられたが、これらの所見は本薬の反復頻回投与により非人工呼吸下で繰り返し筋弛緩状態になったことの影響が考えられること、またイヌ及びネコの反復投与毒性試験において麻酔及び人工呼吸を繰り返した溶媒投与群でも同様の所見が観察されたことから（2.6.6.3）、毒性所見ではないと判断した。剖検結果に異常は認められなかった。一方胎児に関しては、溶媒投与群と Org 9426 投与群との間に吸収胎児率及び胎児体重に有意差が認められた。しかし着床後胚損失率に差はないこと、胎児体重におけるわずかな差も背景データの範囲であることから、これらの変化は Org 9426 投与によるものではなく、生理的変動範囲内の変動と判断した。黄体数、着床数、着床後胚損失率、外形異常、骨格異常において溶媒投与群と Org 9426 投与群との間に有意差はなく、また催奇形性も認められなかった。なお、上記体重増加抑制が起きた 0.9 mg/kg という投与量は無麻酔、非人工呼吸下で、単回投与試験の概略の致死量（0.3 mg/kg）である投与量を 1 日 3 回妊娠 6 日から 17 日まで投与するという条件下で発現したものであった。

### 2.6.6.6.2.1.3 まとめ

ラット胚・胎児発生に関する試験及び追加試験から、母動物の一般毒性学的無毒性量、生殖毒性学的無毒性量及び胎児 F<sub>1</sub> 発生に対する無毒性量はいずれも 0.9 mg/kg/日以上と推定された。

### 2.6.6.6.2.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験（表 2.6.7.13 C）（評価資料，SDGRR4069；4.2.3.5.2.3）

ラットの胚・胎児発生試験に関する試験の結果（2.6.6.6.2.1 参照）から、何らかの毒性が予想される 0.12 mg/kg/日を最高投与量とし、その半量の 0.06 mg/kg/日を設定した。妊娠 6 日から 18 日のウサギに 1 日投与量を約 2 時間間隔で 3 分割静脈内投与した。

0.12 mg/kg/日投与群の母動物で Org 9426 投与直後に筋攣縮、自発運動増加、協調運動消失、ラ音、不整呼吸、反応性低下、側臥・腹臥位、異常姿勢がみられ、16 例中 12 例が試験中に死亡した。これらの死亡は、生存中の一般状態の変化から、Org 9426 の筋弛緩作用によって呼吸抑制が起こったことによるものと考えられた。摂餌量、体重、体重増加率、黄体数及び着床数に関しては、溶媒投与群との間に差はみられなかった。また、剖検において異常は認められなかった。

胎児については、着床前及び着床後胚損失率に溶媒投与群との間に差はみられず、胚・胎児の致死、発育抑制及び催奇形性は認められなかった。

以上、薬理作用に基づく一般状態の変化が Org 9426 投与群で認められたが、人工呼吸下で用いられる臨床現場では回避できることから毒性所見ではないと判断し、親動物の一般毒性学的無毒性量、生殖毒性学的無毒性量及び胎児 F<sub>1</sub> 発生に対する無毒性量はいずれも 0.12 mg/kg/日（0.04 mg/kg×3）以上と推定された。

## 2.6.6 毒性試験の概要文

### 2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

#### 2.6.6.6.3.1 ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（表 2.6.7.14）（評価資料，NL0043222；4.2.3.5.3.1）

投与量はラット胚・胎児発生に関する試験（2.6.6.6.2.1.2参照）と同様に 0.3 mg/kg の 1 日 3 回静脈内投与（0.9 mg/kg/日）とし、妊娠 6 日から 20 日まで投与を行った。投与初期に雌 14 例（1 回目投与後に 7 例，2 回目投与後に 3 例，3，4，8 及び 39 回投与後にそれぞれ 1 例ずつ）が死亡したため雌 15 例を追加し，以降の投与量を 0.25mg/kg の 1 日 3 回投与に減量した。従って投与量は

- 1) 0.3 mg/kg の 1 日 3 回投与
- 2) 初めに 0.3 mg/kg，その後 0.25 mg/kg を 1 日 3 回投与
- 3) 0.25 mg/kg の 1 日 3 回投与

の 3 パターンであった。なお，Org 9426 の筋弛緩作用により自然分娩及び哺育が阻害されることが推定されたため，妊娠 21 日及び授乳期の投与は行わなかった。

Org 9426 投与群の雌全例で間代性痙攣，呼吸困難，眼球突出及び腹臥位が認められた。これらの所見及び投与初期に認められた死亡は，Org 9426 の筋弛緩作用によるものと考えられた。母動物の摂餌量及び体重に本薬投与の影響は認められなかった。Org 9426 投与群において妊娠率の減少が認められたが（本薬投与群：85%，溶媒投与群：96%）。本試験の投与開始日（妊娠 6 日）はラットの着床時期に相当することから<sup>2,3</sup>，概略の致死量（0.3 mg/kg）もしくはそれに近い用量を 1 日 3 回無麻酔・非人工呼吸下で投与したことが着床に影響した可能性が示唆された。しかし本所見は非人工呼吸下の反復投与という臨床現場では起こりえない状況で発現した所見であることから，ヒトへの外挿性は極めて低いものと考えられた。なお，妊娠動物の平均着床数（対照群 14.7，Org 9426 投与群：15.1）及び着床後胚損失率（対照群：4.4%，Org 9426 投与群：5.0%）にOrg 9426 投与群と対照群で差は観察されず，ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（2.6.6.6.1）で受胎率，黄体数，着床数，早期/後期吸収胚数，着床前胚損失率及び着床後胚損失率に変化は認められなかった。F<sub>1</sub> の外形観察，性比，体重，身体発達分化，行動発達，離乳率にOrg 9426 投与の影響は認められなかった。また，F<sub>1</sub> の生殖学的パラメータにおいてもOrg 9426 投与の影響は認められなかった。

以上より，母動物の生殖機能に対する無毒性量は 0.75 mg/kg/日（0.25 mg/kg×3）未満，母動物の一般毒性学的無毒性量及び胎児 F<sub>1</sub> 発生に対する無毒性量はいずれも 0.75 mg/kg/日（0.25 mg/kg×3）以上と推定された。

### 2.6.6.7 局所刺激性試験

#### 2.6.6.7.1 静脈内，静脈周囲及び動脈内投与による局所刺激性試験（表 2.6.7.15 A）（評価資料，SDGRR3088；4.2.3.6.1）

雌雄各 4 例のウサギを用い，Org 9426 の静脈内，静脈周囲及び動脈内投与による局所刺激性を検討した。投与経路は臨床投与経路である静脈内投与と，誤投与の可能性を考慮した静脈周囲及び動脈内投与を設定した。各動物に Org 9426 もしくは溶媒を 30 分間隔で左右橈側皮静脈内，左右大腿静脈周囲及び左右中央耳介動脈に投与した。投与液は予定製剤と同じ組成（10 mg/mL）とし，また予定製剤と同様に 121℃ 15 分の加熱滅菌を実施した。投与量は筋弛緩作用のヒトにおける ED<sub>90</sub> の 5 倍量である 1.5 mg/kg

## 2.6.6 毒性試験の概要文

(0.15 mL/kg) とした。

Org 9426 投与群の静脈周囲投与で皮下にコラーゲン変性の残遺物とみられる好酸球物質のわずかな充満が観察された。静脈内及び動脈内投与では異常は認められなかった。

以上、静脈周囲投与で軽度な局所刺激性が認められたが、静脈内及び動脈内投与で局所刺激性は認められなかった。

### 2.6.6.7.2 筋肉内投与による局所刺激性試験（表 2.6.7.15 B）（評価資料，SDGRR3994；4.2.3.6.2）

Org 9426 の 1, 2, 3 及び 4 mg/kg を麻酔下及び人工呼吸下のウサギ右仙骨背筋肉内に単回筋肉内投与し、局所刺激性を検討した。なお、左仙骨背筋には同用量の溶媒を投与した。

4 mg/kg 投与群で投与 2 日後に 1 例の死亡が認められた。この死亡原因は不明であるが、前日までの観察で異常は認められなかったこと、死亡が投与日ではなく投与 2 日後に認められたことから Org 9426 との因果関係はないと判断した。

溶媒，Org 9426 の 1.0 mg/kg 及び 2.0 mg/kg 投与群のそれぞれ 2 例，1 例及び 1 例に投与部位のわずかな赤斑が観察されたが、剖検及び病理組織学的検査での異常は認められなかった。なお，Org 9426 の 3.0 mg/kg 及び 4.0 mg/kg 投与群の投与部位に皮膚所見，剖検及び病理組織学的検査の異常は認められなかった。

以上，本試験において Org 9426 の筋肉内投与による局所刺激性は認められなかった。

### 2.6.6.8 その他の毒性試験

#### 2.6.6.8.1 依存性

単回投与及び反復投与毒性試験では依存性を示唆する所見が認められず，また Org 9426 の脳への移行が明らかに低いこと（2.6.4.4 参照），Org 9426 は麻酔時の筋弛緩に用いられるものであり長期使用されないことから，依存性試験は実施しなかった。

#### 2.6.6.8.2 抗原性

Org 9426 の抗原性試験としてモルモット全身アナフィラキシー試験，同種受身皮膚アナフィラキシー試験及びラット・マウス異種受身アナフィラキシー試験を実施した。しかしながらこれらの試験は，調整物の分析で GLP 不適合事項がみられたこと，Org 9426 のような低分子医薬品の抗原性評価に適していないとの知見がみられるようになったことから，参考資料とした。そこで低分子化合物の感作能検出法として評価されつつある膝窩リンパ節試験を実施し，本試験を評価資料とした。

#### 2.6.6.8.2.1 マウス膝窩リンパ節試験（表 2.6.7.16 B）（評価資料，3387；4.2.3.7.1.1）

予備試験において 16 µg/匹の Org 9426 皮下投与で特記すべき毒性反応が認められなかったことから，投与量は 0.16, 1.6, 16µg/匹とした。

製剤（Org 9426 10mg/mL）または製剤を生理食塩水で希釈した液（投与容量 50 µL）を 1 群 5 例の雌マウスの左後肢趾蹠皮下に投与した。溶媒投与群には生理食塩水を，陽性対照群には生理食塩水に溶解した塩化水銀 50 µg/匹を 1 群 5 例の雌マウスに投与した。投与 7 日後に <sup>3</sup>H-チミジン（100 µCi/匹）を静

## 2.6.6 毒性試験の概要文

脈内投与し、5 時間後に動物を頸椎脱臼させたのち、左右の膝窩リンパ節を採取しその重量を測定後、膝窩リンパ節あたりの  $^3\text{H}$ -チミジン結合を液体シンチレーションカウンターで測定し、PLN index（処置リンパ節：左の  $^3\text{H}$ -チミジン結合/無処置リンパ節：右の  $^3\text{H}$ -チミジン結合）を算出した。

膝窩リンパ節の重量、 $^3\text{H}$ -チミジン結合及び PLN index に感作肢（左）と非感作肢（右）との間で明らかな差はみられなかった。なお、陽性対照投与群では各項目に有意な差が認められた。

以上より、Org 9426 のマウス膝窩リンパ節増殖反応は認められず、感作性は検出されなかった。

### 2.6.6.8.2.2 モルモットにおける試験（表 2.6.7.16 A）（参考資料，XXXX9662；4.2.3.7.1.2）

予備試験において死亡や瀕死が認められなかった 0.15 mg/kg を高用量とし、その半量の 0.075 mg/kg を低用量として設定した。惹起用量は、一般状態に異常がみられない範囲での十分な投与量と考えられた 0.03 mg/kg とした。

雌雄モルモットの背部皮下に溶媒（0.2 %酢酸ナトリウム，0.33 %塩化ナトリウム，pH 4.0）並びに Org 9426 の 0.075 mg/kg，0.15 mg/kg を単独又は FCA との等量混合乳化物として週 1 回の頻度で計 3 回感作した。最終感作の 14 日後に Org 9426 を 0.03 mg/kg 静脈内投与し、能動的全身性アナフィラキシー（ASA）反応の発現を検討したが、陽性反応は認められなかった。

また、最終感作の 10 日後に感作モルモットから採取した血清を用いて惹起による PCA 反応についても検討したが、陽性反応は認められなかった。

### 2.6.6.8.2.3 マウス-ラット系における試験（表 2.6.7.16 A）（参考資料，XXXX9670；4.2.3.7.1.3）

マウスの感作用量は、予備検討で死亡が認められなかった 1.2 mg/kg を高用量、その半量の 0.6 mg/kg を低用量として設定した。ラットの惹起用量は、予備検討で一般状態の異常や死亡が認められなかった 0.15 mg/kg とした。

雌性マウス（Balb/cAnNCrj 系，C3H/HeNCrj 系）に Org 9426 の 0.6 mg/kg，1.2 mg/kg を週 5 回 3 週間反復皮下投与により感作を行った（第 1 群，第 2 群）。Org9426 の 0.6 及び 1.2 mg/kg 又は卵白アルブミン 0.01 mg/kg と，FCA との等量混合乳化物を 21 日間隔で 2 回皮下投与により感作した（第 3～5 群）。なお，感作期間中，1.2 mg/kg 反復投与で Balb/cAnNCrj 系マウスの 5 例中 3 例及び C3H/HeNCrj 系マウスの 5 例中全例が，また，0.6 mg/kg 反復投与で C3H/HeNCrj 系マウスの 5 例中 1 例が死亡した。第 1 群及び第 2 群のマウスからは最終感作の 10 日後に採取した血清を，第 3～5 群のマウスからは最終感作 7 日目に採取した血清を雌性ラット（Crj:CD 系）に皮内投与し，Org9426 の 0.15 mg/kg 又は卵白アルブミン 5 mg/kg 静脈内投与の惹起による PCA 反応を検討した。この結果，Org 9426 投与群ではいずれにおいても陽性反応はみられなかった。なお，卵白アルブミンを投与した第 5 群では明瞭な陽性反応が認められた。

### 2.6.6.8.3 イヌの機序検討試験（表 2.6.7.16 C～E）（参考資料，SDGRR3056；4.2.3.7.3.3，SDGRR3012；4.2.3.7.3.2，SDGRR3048；4.2.1.3.1，SDGRR3055；4.2.3.7.3.1）

イヌ 4 週間静脈内投与毒性試験（2.6.6.3.1参照）の最高投与量群 3 例に認められた死亡の原因を明らかにする目的で機序検討試験を実施した。



## 2.6.6 毒性試験の概要文

予備試験として、雌雄各 1 例ずつに筋弛緩作用の  $ED_{90}$  (2.6.2.2.1 参照) の 60 倍量である 10.8 mg/kg の Org 9426 を 30 分おきに 3 分割投与し ( $3 \times 3.6$  mg/kg), 4 週間投与毒性試験と同様に針電極で坐骨神経を刺激し下肢の単収縮反応をみるモニター法と、外科的に露出させた坐骨神経を直接刺激し前脛骨筋の TOF 反応 (四連反応) をみるモニター法を併行して実施した。単収縮反応の回復を確認した後、人工呼吸装置から抜管した。

抜管後、雄動物では速やかに自発呼吸の回復が観察されたが、雌動物の自発呼吸の回復は遅延し、その後動脈血の pH 低下、 $PCO_2$  上昇、 $PO_2$  減少といったアシドーシス傾向を示し、再挿管を行う必要があった。以上より、単収縮反応において筋弛緩からの回復が認められた時点においても、TOF 反応での筋弛緩からの回復及び呼吸筋の回復は十分でないことが示された。

本試験 (SDGRR3048, 表 2.6.7.16 E) において、単収縮反応及び TOF 反応の回復を人工呼吸装置からの抜管の基準とし、それぞれの基準を用いた動物における抜管後の筋弛緩状態からの回復を比較観察した。

本試験において同じ用量 (10.8 mg/kg :  $3 \times 3.6$  mg/kg) を 2 例に投与したところ筋弛緩状態の著しい延長がみられたため、別の 2 例を用いて  $ED_{90}$  を再度算出した。算出された  $ED_{90}$  が約 0.1 mg/kg であったことから (図 2.6.7.16 D), 本試験の投与量はその 60 倍量の 6.0 mg/kg ( $3 \times 2.0$  mg/kg) とした。

単収縮回復後に抜管した 1 例 (動物番号: 2205M) で、抜管後速やかに自発呼吸が回復したが、抜管後 5 分で再び呼吸が停止し、引き続いて心拍数増加、血圧上昇、pH 低下、 $PCO_2$  上昇及び  $PO_2$  の著しい減少が観察された。抜管後 9 分で再挿管を行い人工呼吸を施し、その後 10 分で再び抜管を行った。再抜管の 5 分後から過呼吸、pH 低下、 $PCO_2$  減少、 $PO_2$  上昇が観察されが、これらの所見は再抜管後 20 分で回復した。また、再抜管後 145 分及び 155 分に短期間の無呼吸が観察された。この動物は再抜管 4 時間後においても筋弛緩状態からの十分な回復が認められなかったため、動物福祉の観点から観察期間終了を待たずに安楽死させた。

また、同様に単収縮回復後に抜管するという基準を用いた 1 例 (動物番号: 1207M) で、抜管後に著しい pH 低下、 $PO_2$  減少及び  $PCO_2$  上昇、並びに血圧、心拍数及び呼吸数の上昇が認められた。これらの変化はおそらく筋弛緩状態からの不十分な回復による呼吸不足が原因であると考えられた。

同じ抜管基準を用いたそのほかの動物 (動物番号: 1208M, 1705F 及び 1706F) において心拍数、血圧、pH、 $PCO_2$  及び  $PO_2$  の一過性で軽度な変化が認められたが、これらは抜管後の呼吸変動によるものと考えられた。

TOF 比が 70%以上になった時点を抜管の基準とした動物では、心拍数、血圧、pH、 $PCO_2$  及び  $PO_2$  の変化はわずかであり、抜管後速やかに呼吸の回復が認められた。

なお TK 試験の結果、Org 9426 の 6.0 mg/kg を 3 分割投与した 7 例中 5 例の血漿中未変化体濃度の消失は 3-コンパートメントモデルによくフィットした。1 例 (動物番号: 2706F) は抜管前後で消失速度が一時的に減少したが、これらの異常値を除くとモデルによくあてはまった。ほかの 1 例 (動物番号: 1208M) においても抜管時に消失速度が一時的に減少したが、これらの異常値を除いてもモデルにあてはまらなかった。なお、Org 9426 の投与後に血漿中濃度の 2 次的な上昇は認められなかった (2.6.4.3.1.2 参照)。

以上より、4 週間静脈内投与毒性試験で認められた死亡は、Org 9426 の血漿中濃度の 2 次的な上昇によるものではなく、筋弛緩測定法が不適切であったため、人工呼吸装置からの抜管時の呼吸機能の回復が不十分であったことによるものと考えられた。

## 2.6.6 毒性試験の概要文

### 2.6.6.8.4 悪性高熱症誘発試験（表 2.6.7.16 G）（参考資料，SDGRR4111；4.2.3.7.7.1）

Org 9426 の悪性高熱症誘発性について，ブタを用いて検討した．4 頭の悪性高熱症感受性ブタ及び 4 頭の正常ブタを用い，チオペンタールにて麻酔導入後，気管挿管し，人工呼吸下で  $O_2/N_2O$  吸入及びチオペンタール点滴により麻酔を維持した．筋収縮の完全回復後，悪性高熱症を誘発させるため，塩化スキサメトニウム（2 mg/kg）を静脈内投与した．悪性高熱症の徴候が認められなかった場合，更に塩化スキサメトニウム（2 mg/kg）を追加投与した．その後も悪性高熱症が発現しなかった場合，発現するまでハロタン（2 %）を吸入させた（最長 30 分間）．

Org 9426 の投与では，全ての悪性高熱症感受性ブタ及び正常ブタにおいて発熱はみられず，終末呼気  $CO_2$ ，動脈血液ガス，血清乳酸，筋肉及び直腸内温度，口腔内圧，後肢硬直性，平均動脈血圧，心拍数，乳酸にも影響は認められなかった．なお，悪性高熱症感受性ブタにおいて 4 例中 3 例が塩化スキサメトニウムの 2 回投与で，1 例がハロタンの 4 回投与で終末呼気炭酸ガス，筋肉及び直腸内温度，四肢硬直性，乳酸の増加， $PO_2$ ，pH，酸塩基平衡の低下を伴う発熱が認められたが，正常ブタではこれらの変化はみられなかった．

以上より，本試験において Org 9426 の悪性高熱症誘発性は認められなかった．

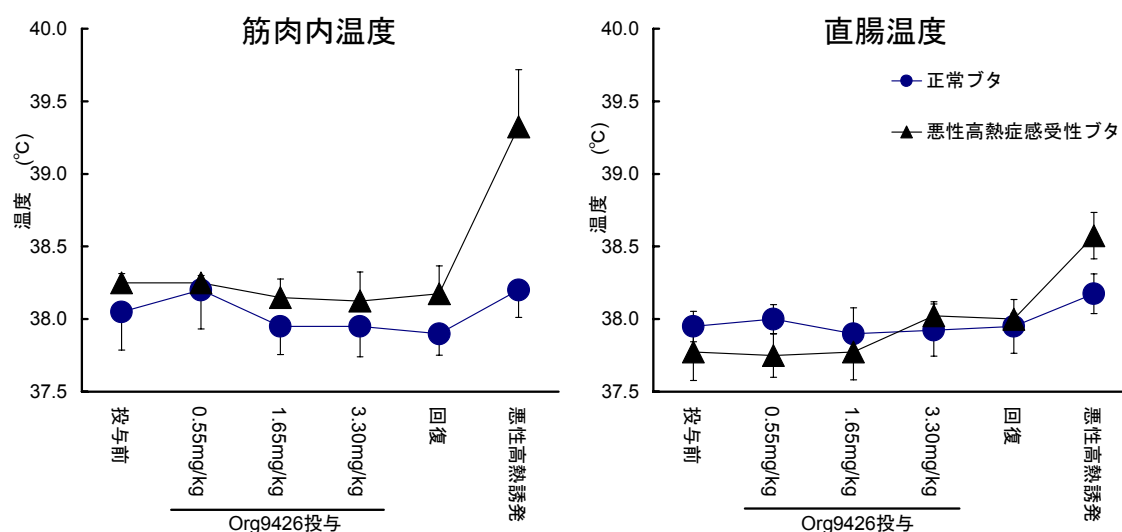


図 2.6.6-1 ブタ悪性高熱症誘発試験

各ポイントは平均値±標準偏差を示す．n=4

## 2.6.6 毒性試験の概要文

### 2.6.6.8.5 類縁物質

Org 9426 の原薬及び製剤の各ロット中に含まれる類縁物質は，合成，製造工程及び保存中において生成する（2.3 及び 2.4.3 参照）。

#### 類縁物質<sup>4</sup>

原薬ロットの既知の類縁物質 8 物質（Ⅰ～Ⅷ）を比較した．類縁物質Ⅰ～Ⅷを表 2.6.6-2に示す。

表 2.6.6-2 Org 9426 類縁物質

| 不純物 | コード       |
|-----|-----------|
| Ⅰ   | Org 20860 |
| Ⅱ   | Org 9419  |
| Ⅲ   | Org 9943  |
| Ⅳ   | Org 20191 |
| Ⅴ   | Org 20162 |
| Ⅵ   | Org 20145 |
| Ⅶ   | Org 21418 |
| Ⅷ   | Org 21947 |

ネコの薬理試験の結果，臨床において類縁物質がヒトへ影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられた（2.6.2.2.5 参照）。

原薬の類縁物質Ⅰ，Ⅱ及びⅢの規格値は「新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドラインの改定について（平成 14 年 12 月 16 日付医薬審発 1216001 号）」で規定された「安全性の確認が必要な閾値」を超える予定である．表 2.6.6-3に毒性試験に使用されたOrg 9426 各ロットの類縁物質含量を示す。

## 2.6.6 毒性試験の概要文

表 2.6.6-3 毒性試験に用いた Org 9426 各ロットの類縁物質含有率（％）

| ロット | 類縁物質 |    |     |    |   |    |     |      |      |    | 試験番号      | 試験の種類          |
|-----|------|----|-----|----|---|----|-----|------|------|----|-----------|----------------|
|     | I    | II | III | IV | V | VI | VII | VIII | その他計 | 合計 |           |                |
| G   |      |    |     |    |   |    |     |      |      |    | SDGRR2251 | ネコ単回投与試験       |
|     |      |    |     |    |   |    |     |      |      |    | SDGRR2252 | ネコ単回投与試験       |
|     |      |    |     |    |   |    |     |      |      |    | SDGRR2257 | イヌ単回投与試験       |
|     |      |    |     |    |   |    |     |      |      |    | SDGRR2242 | Ames 試験        |
|     |      |    |     |    |   |    |     |      |      |    | SDGRR2232 | 哺乳類細胞遺伝子突然変異試験 |
|     |      |    |     |    |   |    |     |      |      |    | SDGRR2250 | ラット小核試験        |
| H   |      |    |     |    |   |    |     |      |      |    | SDGRR2231 | Ames 試験        |
|     |      |    |     |    |   |    |     |      |      |    | SDGRR2233 | Ames 試験        |
|     |      |    |     |    |   |    |     |      |      |    | SDGRR2232 | 哺乳類細胞遺伝子突然変異試験 |
| J   |      |    |     |    |   |    |     |      |      |    | SDGRR2960 | ヒトリンパ球染色体異常試験  |
| Q   |      |    |     |    |   |    |     |      |      |    | SDGRR2970 | Ames 試験        |
| AB  |      |    |     |    |   |    |     |      |      |    | SDGRR3864 | ラット胚・胎児発生試験    |
| AF  |      |    |     |    |   |    |     |      |      |    | SDGRR4069 | ウサギ胚・胎児発生試験    |

類縁物質の毒性リスク評価のため、毒性試験で使用されたロットにおける各類縁物質の含有率のみでなく、実際に動物に投与された類縁物質の量を求め、推定される 1 日最大投与量と比較して検討した。

### 1 日最大投与量<sup>4</sup>

1 日最大投与量は、最大手術時間、患者体重、挿管用量及び維持用量の作用持続時間などの値から表 2.6.6-4 の通り算出した。国内臨床試験の結果から、挿管用量（0.6 mg/kg）投与 40 分以降の維持用量（0.15 mg/kg）の作用持続時間はおよそ 20 分であった（1 時間に 3 回の維持投与）ことから、通常最大と考えられる 10 時間の手術時間の場合、1 日最大投与量は 4.8 mg/kg と推定された。

表 2.6.6-4 1 日最大投与量

| 手術時間  | 1 日最大投与量（1 時間に 3 回の維持投与）                                                           |
|-------|------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 時間  | $0.6 \text{ mg/kg} + 0.15 \text{ mg/kg} \times 1 = \underline{0.75 \text{ mg/kg}}$ |
| 10 時間 | $0.6 \text{ mg/kg} + 0.15 \text{ mg/kg} \times 28 = \underline{4.8 \text{ mg/kg}}$ |

## 2.6.6 毒性試験の概要文

### 毒性試験で用いられた類縁物質量

毒性試験で用いたロットにおける類縁物質を 表 2.6.6-5 に示した。本薬は臨床において長期反復投与されることはほとんどないため、類縁物質の評価には単回投与毒性試験を用いるのが適切であると判断した。

表 2.6.6-5 毒性試験における類縁物質含有量

| 試験の種類                 | 最大投与量<br>(mg/kg/day)     | 最大非致死用量<br>(mg/kg/day) | ロット  | 類縁物質 I<br>( $\mu\text{g/kg/day}$ ) | 類縁物質 II<br>( $\mu\text{g/kg/day}$ ) | 類縁物質 III<br>( $\mu\text{g/kg/day}$ ) |
|-----------------------|--------------------------|------------------------|------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| イヌ 4 週 <sup>1)</sup>  | 10.8 <sup>*</sup>        | n.a.                   | H    |                                    |                                     |                                      |
| ネコ 4 週 <sup>2)</sup>  | 9.3 <sup>**</sup>        | n.a.                   | H    |                                    |                                     |                                      |
| イヌ単回 <sup>3)</sup>    | 135                      | 63                     | G    |                                    |                                     |                                      |
| ネコ単回 <sup>4)</sup>    | 87.5                     | 87.5                   | G    |                                    |                                     |                                      |
| ネコ単回 <sup>5)</sup>    | 3.6                      | 3.6                    | n.a. |                                    |                                     |                                      |
| Ames 試験 <sup>6)</sup> | 5mg/plate <sup>***</sup> | n.a.                   | Q    |                                    |                                     |                                      |
| 染色体異常試験 <sup>7)</sup> | 5mg/mL                   | n.a.                   | J    |                                    |                                     |                                      |

n.a. : not applicable 1) SDGRR2282, 2) SDGRR2299, 3) SDGRR2257, 4) SDGRR2252, 5) SDGRR3057, 6) SDGRR2970, 7) SDGRR2960

\* : 4 週間 (8 回投与) の累積投与量は 86.4 mg/kg, 類縁物質 II の含有量は  $\mu\text{g/kg}$

\*\* : 4 週間 (8 回投与) の累積投与量は 74.4 mg/kg, 類縁物質 II の含有量は  $\mu\text{g/kg}$

\*\*\* : この試験以外に、製剤を用いた Ames 試験が複数回実施された。

表 2.6.6-5 に示したように、単回投与毒性試験における最大非致死投与量はイヌで 63 mg/kg, ネコで 87.5 mg/kg であった。これらは、それぞれ日本における 1 日最大投与量の 13.1 倍 (63/4.8) 及び 18.2 倍 (87.5/4.8) に相当する。これらの比を用いて、安全性を担保できる類縁物質 I ~ III の量を求めた。

### 類縁物質 I

単回投与毒性試験で使用されたロット G において、類縁物質 I の含有率は  $\square\%$  であった。1 日最大投与量およそ 4.8 mg/kg (手術時間を 10 時間として算出) より、安全性を担保できる類縁物質 I の含有率は、イヌ試験で  $\square\%$  ( $\square\% \times 13.1$ ), ネコ試験で  $\square\%$  ( $\square\% \times 18.2$ ) であった。

復帰突然変異試験及び染色体異常試験で使用されたロット Q 及び J において、類縁物質 I の含量はそれぞれ  $\square\%$  及び  $\square\%$  であった。遺伝毒性に関して、安全性を担保できる類縁物質の含有量は復帰突然変異試験で  $\square\%$  ( $\square\% \times 1.9 \times 10^3$ ), 染色体異常試験で  $\square\%$  ( $\square\% \times 3.8 \times 10^3$ ) であった。

### 類縁物質 II

単回投与毒性試験で使用されたロット G において、類縁物質 II の含有率は  $\square\%$  であった。1 日最大投与量およそ 4.8 mg/kg (手術時間を 10 時間として算出) より、安全性を担保できる類縁物質 II の含有率は、イヌ試験で  $\square\%$  ( $\square\% \times 13.1$ ), ネコ試験で  $\square\%$  ( $\square\% \times 18.2$ ) であった。

復帰突然変異試験及び染色体異常試験で使用されたロット Q 及び J において、類縁物質 II の含量はそ

## 2.6.6 毒性試験の概要文

れぞれ ■■■%及び ■■■%であった。遺伝毒性に関して、安全性を担保できる類縁物質の含有量は復帰突然変異試験で ■■■% (■■■% $\times 1.9 \times 10^3$ )、染色体異常試験で ■■■% (■■■% $\times 3.8 \times 10^3$ ) であった。

### 類縁物質Ⅲ

単回投与毒性試験で使用されたロット G において、類縁物質Ⅲの含有率は ■■■%であった。

雌雄ネコに麻酔下・人工呼吸下で類縁物質Ⅲを 30 分間隔で 5 分割投与し、14 日間観察し毒性を検討した (SDGRR3057, 表 2.6.7.16H)。最大 ■■■%の類縁物質を含有した本剤を欧米の最大臨床用量 1.2 mg/kg 投与した場合に想定される類縁物質投与量 ■■■ mg/kg を 2 倍した ■■■ mg/kg を本試験の最小投与量とし、公比 5 で ■■■ mg/kg, ■■■ mg/kg を設定した。死亡例は認められず、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、心電図、血圧・血液ガス分析、心拍数、呼吸数、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査の異常も認められなかった。以上より、類縁物質Ⅲの概略の致死量は ■■■ mg/kg 以上と推定された。手術時間を 10 時間として算出した結果、安全性を担保できる類縁物質Ⅲの含有率は ■■■% (■■■/4.8 $\times 100$ %) であった。

類縁物質Ⅲの薬理学試験 (SDGRR2831) の結果、類縁物質Ⅲの神経筋遮断作用は Org 9426 の 1/17～1/19 であり、副交感神経系への影響はほとんど認められなかった (2.6.2.2.5.1)。

復帰突然変異試験及び染色体異常試験で使用されたロット Q 及び J において、類縁物質Ⅲの含量はそれぞれ ■■■%及び ■■■%であった。遺伝毒性に関して、安全性を担保できる類縁物質の含有量は復帰突然変異試験で ■■■% (■■■% $\times 1.9 \times 10^3$ )、染色体異常試験で ■■■% (■■■% $\times 3.8 \times 10^3$ ) であった。

### まとめ

Org 9426 の類縁物質の最大許容量は、手術時間を 10 時間として算出した結果、以下の通りであった。

|        |      |
|--------|------|
| 類縁物質Ⅰ： | ■■■% |
| 類縁物質Ⅱ： | ■■■% |
| 類縁物質Ⅲ： | ■■■% |

### 結論

本剤の非臨床試験の結果、特に問題となるような毒性は認められなかった。ネコ及びイヌの単回及び反復投与試験において過剰量の投与で心血管系に対する影響が認められたが、遺伝毒性、生殖発生毒性及び催奇形性は認められなかった。また、局所刺激性及び悪性高熱症の誘発性は認められなかった。

原薬及び製剤の類縁物質の規格について、毒性学的な問題は認められなかった。

## 2.6.6 毒性試験の概要文

### 2.6.6.9 考察及び結論

Org 9426 は筋弛緩作用を有するため、薬効量の投与で動物は呼吸停止を起こし死亡する。Org 9426 の臨床使用にあたって、患者には投与後直ちに人工呼吸器が装着される。このため、各種動物における薬効量以上の Org 9426 の毒性評価には、主に人工呼吸器の装着が容易なイヌ、ネコ、ウサギ及びブタを使用し、麻酔下で試験を実施した。ラットは人工呼吸器の装着が困難であるため、非人工呼吸下の単回投与毒性試験及び生殖発生毒性試験には用いたが、反復投与毒性試験には使用しなかった。

ラットにおける Org 9426 の筋弛緩作用の ED<sub>90</sub> 値は 0.97 mg/kg であるが (2.6.2.2.3 参照)、人工呼吸器を装着しない場合の概略の致死量を求めるため、Org 9426 の 0.15 mg/kg, 0.3 mg/kg 又は 0.6 mg/kg をラットに単回静脈内投与しその毒性を検討した。0.3 mg/kg 投与群の雌雄各 5 例中 1 例、0.6 mg/kg 投与群の雌雄各 5 例中 2 例が投与直後に腹臥位及び間代性痙攣を示し、投与 5 分以内に死亡したことから、概略の致死量は 0.3 mg/kg と推定した。その他の動物における概略の致死量は、薬効量である ED<sub>90</sub> 値からイヌで 0.18 mg/kg, ネコで 0.32 mg/kg と推定した。実験動物における非人工呼吸下の概略の致死量が予定されている臨床挿管用量の約 1/2~1/3 であったことから、Org 9426 の臨床使用においては、投与後速やかに人工呼吸装置による呼吸管理を行うこと、使用上の注意に従い用法・用量を遵守すること、また作用及び使用方法に熟知した医師によってのみ使用されることが必要と考えられる。

イヌを用いた単回静脈内投与毒性試験において最高投与量の 135 mg/kg を投与した 1 例が投与 4.5 時間後に死亡し、また 27 mg/kg を投与した 1 例も死亡した。4 週間静脈内投与毒性試験では、最高投与量の 10.8 mg/kg/日を投与した雄 2 例及び雌 1 例が人工呼吸装置からの離脱後 0.5~1.5 時間に死亡した。

イヌの 27 mg/kg 投与後の死亡例は人工呼吸器の接続ミスによるものであった。一方 135 mg/kg 投与での死亡例の一般症状、臨床検査値等において死亡に関連する異常は認められず、この死亡の原因は、Org 9426 により引き起こされた低血圧状態が累積した結果、心血管系が虚脱状態に陥ったためと推定された。

イヌ 4 週間静脈内投与毒性試験でみられた死亡の原因を検討するため、試験デザインは基本的に同一であるが PK データの解析や筋弛緩のモニター法を追加した試験を実施した。4 週間静脈内投与毒性試験と同じ単収縮反応を抜管の基準として採用した動物で、pH 低下、PO<sub>2</sub> 減少及び PCO<sub>2</sub> 上昇、並びに血圧、心拍数及び呼吸数の上昇が観察され、1 例では呼吸の不十分な回復による脳の低酸素状態が原因と考えられる筋弛緩状態からの回復の著しい遅延が認められた。一方、TOF 反応を採用した動物では抜管後速やかに呼吸機能及び筋弛緩状態からの回復が認められた。なお TK 試験の結果、血漿中 Org 9426 濃度は投与終了から 6 時間減少し続け、血漿中濃度の 2 次的上昇は認められなかった。これらの結果から、4 週間静脈内投与毒性試験で認められた死亡は、Org 9426 の血漿中濃度の 2 次的な上昇によるものではなく、筋弛緩測定法が不適切であったため、人工呼吸装置からの抜管時の呼吸機能の回復が不十分であったことによるものと考えられた。

以上のように単回及び反復投与毒性試験において、人工呼吸装置からの早期離脱によると考えられる死亡が認められた。これらの死亡がみられたのは臨床用量に比較してはるかに高用量であったが、臨床使用の際、筋弛緩作用発現中および人工呼吸装置抜管前の適切なモニタリング及び神経筋機能の評価が重要であることが示唆された。特に筋弛緩からの回復に遅延がみられる肝機能障害患者、高齢者では注意が必要と考えられる。

なお、ネコを用いた 4 週間静脈内投与毒性試験では 3×3.1 mg/kg 投与群の 1 例が投与開始 23 日目に

## 2.6.6 毒性試験の概要文

死亡した。投与中の一般症状、剖検結果、病理組織学的検査において死亡に関連した変化は認められなかった。この死亡例は本薬投与後 159～343 分にわたって筋弛緩状態にあり、この間は麻酔下及び人工呼吸器を装着された状態であった。また、この試験において動物は1週間に2回の頻度で麻酔、人工呼吸器の装着及び筋弛緩薬の投与を受けており、これらの操作及び採血に伴う拘束状態や静脈穿刺が繰り返されたことが動物に悪影響を及ぼし死亡に至ったものと推察された。

Org 9426 の反復投与毒性試験は人工呼吸が可能なイヌ、ネコを用いて実施したが、ラット、イヌ及びネコの筋弛緩作用の ED<sub>50</sub> 値はそれぞれ 0.69 mg/kg, 0.18 mg/kg 及び 0.32 mg/kg と大きくかけ離れたものではないことから (CTD 2.6.6.2), ラットと非げっ歯類で毒性に大きな差はないと推定される。生殖発生毒性試験は通常用いられる動物種であるラット、ウサギを用いて非人工呼吸下で実施したが、このうち反復投与毒性評価の参考にもなると考えられるラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 (NL0045758) の結果は以下のとおりであった。

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 (NL0045758) において、非麻酔下及び非人工呼吸下の雌雄ラットに Org 9426 を 0.75 mg/kg/日 (0.25 mg/kg×3) 投与した。投与期間は雄で 29～42 日 (交配 28 日前～剖検 1 日前)、雌で 21～28 日 (交配 14 日前～妊娠 6 日) であった。

その結果、Org 9426 投与群の雄で摂餌量低下及び体重増加抑制が認められた。投与 7 日目及び 16 日目にそれぞれ雄 1 例の死亡が認められたが、この死亡例について剖検で異常は認められなかった。死亡した 2 例を含む雌雄ラットにおいて、Org 9426 投与後、腹臥位、鎮静、間代性痙攣及び呼吸困難が、また比較的低頻度でラ音、興奮、無呼吸が観察された。これらの所見及び死亡は、Org 9426 の筋弛緩作用によって呼吸抑制が引き起こされたことによるものと考えられた。また溶媒投与群の雄 1 例で投与 19 日目から持続性の下肢の麻痺が、また投与 20 日目から失禁が認められたため、投与 27 日目に安楽死させた。なお、これらの死亡例について剖検で異常は認められなかった。

以上、薬理作用に基づく一般状態の変化が Org 9426 投与群で認められたが、人工呼吸下で用いられる臨床現場では回避可能であることから毒性所見ではないと判断し、雌雄動物の一般毒性学的無毒性量は 0.75 mg/kg/日 (0.25 mg/kg×3) 以上と推定された。

麻酔下及び人工呼吸下のウサギに Org 9426 を 1, 2, 3 又は 4 mg/kg 単回筋肉内投与し局所刺激性試験を実施した。4 mg/kg 投与群で投与 2 日後に 1 例が死亡したが、この死亡例の生存時の健康状態は良好で、また死亡に関連する一般状態の変化はみられず、死亡原因を特定することはできなかった。

人工呼吸下での単回静脈内投与毒性試験の結果、概略の致死量はイヌ及びネコでそれぞれ 135 mg/kg 及び 87.5 mg/kg 以上であり、臨床挿管用量の約 225 倍及び約 150 倍以上であった。これら非げっ歯類を用いた単回及び反復静脈内投与毒性試験では、Org 9426 投与後様々な程度の血圧の低下が認められた。一般的に、交感神経節の遮断により顕著な血圧低下が生じることが知られている。ニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) は交感神経節内での情報伝達を介在しているが、神経筋接合部に存在する筋型 nAChR と神経節に存在する神経型 nAChR は生理的・薬理的に異なっており、また構成するサブユニットも異なることが知られている<sup>5</sup>。Org 9426 と同様に非脱分極性筋弛緩剤であるツボクラリンは、筋弛緩に必要な用量で交感神経遮断による血圧低下を引き起こすことから、筋型及び神経型 nAChR の選択性が低いと考えられる。一方、Org 9426 のネコを用いた薬理試験における神経節遮断の ED<sub>50</sub> と神経筋遮断の ED<sub>50</sub> の比は 20 以上であり (2.4.2.3.2 参照)、本薬の高い安全域が認められた。以上より Org 9426 は筋型 nAChR に選択性が高く、筋弛緩作用を示す用量では神経節ブロックによる血圧の低下を示さないことが



## 2.6.6 毒性試験の概要文

示唆された。イヌ及びネコの一般毒性試験において、軽度の血圧低下は溶媒投与群でも認められたが、これはクエン酸緩衝溶媒の使用や麻酔の影響によるものと考えられた。なお、安全性薬理試験で血圧に異常は認められず、臨床試験においてもOrg 9426 投与に関連する血圧低下は報告されていないため、臨床使用において重篤な血圧低下が起こる可能性は極めて低いと考えられる。以上より、Org 9426 は臨床において医師の監視下でのみ使用され、血圧低下が認められた場合は直ちに適切な処置を行える体制が必要である。

イヌ及びネコの単回静脈内投与毒性試験で認められた著しい血圧の低下から、中枢神経系への虚血性変化が懸念されたが、これらの試験において脳を 1) 前頭葉及び大脳基底核、2) 頭頂葉及び視床、3) 小脳及び橋の 3 区画に分け組織学的に検索した結果、どの動物にも特記すべき異常は認められなかった。しかしながらこれら単回投与試験では灌流固定などの特殊な固定法や特殊染色法は実施されていないため、大量の本剤投与による血圧低下のため急性の全脳虚血 (global ischemia) 性変化が生じた可能性は否定できないと判断される。

ネコを用いた単回静脈内投与毒性試験において血漿 ASAT の上昇が観察された。本所見は同じくネコを用いた 4 週間反復静脈内投与毒性試験でも観察され、投与 4 週後の検査で ASAT に加え ALAT 及び LDH の上昇も認められた。しかしながら他のビリルビン、ALP などの肝機能検査値に異常は認められず、肝臓の病理学的検査にも変化は認められなかった。イヌを用いた単回及び反復静脈内投与毒性試験では ASAT の上昇をはじめ臨床病理学的検査値の異常及び病理学的変化は認められていない。以上、上記の毒性試験で観察された臨床検査値の変動は皮膚、骨格筋及び血管に試験手技による組織浸襲に起因するものと推定されたが、本薬の大量投与が肝臓へ影響を及ぼす可能性を完全に否定することはできないものと考えられる。

イヌを用いた 4 週間静脈内投与毒性試験において 10.8 mg/kg を投与した雄 1 例で両眼、雌 1 例で片眼に眼底血管の拍動が観察された。眼底血管は心臓の活動を反映するといわれている。この 4 週間静脈内投与試験では血圧は測定されていないが、イヌ単回静脈内投与毒性試験では血圧及び心拍数の低下が観察されていることから、4 週間静脈内投与試験で観察された眼底血管の拍動は、Org 9426 の心循環器系への影響によるものと推定される。

生殖発生毒性試験の結果、受胎能及び初期胚発生に Org 9426 の影響は認められなかった。また胚・胎児発生に関する試験においても胚・胎児の致死及び発育抑制は認められなかった。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でも Org 9426 の影響は認められなかった。

ラット胚・胎児発生に関する試験 (低用量試験) では溶媒投与群に比べて頻度に有意差はないものの、溶媒投与群にみられなかった合指症や上腕骨形成不全がOrg 9426 投与群で観察された。1 例以上の四肢異常児がみられた母動物は溶媒投与群、0.05、0.10 及び 0.30 mg/kgの各群でそれぞれ、1、1、0 及び 1 例であり、胎児数はそれぞれ 1、1、0 及び 2 例であった。なお投与量を 0.9 mg/kgに増量した追加試験では、上記のような四肢異常は観察されなかった。筋弛緩薬による四肢異常の誘発がShoroによって報告されているが<sup>6</sup>、この報告は妊娠 16 から 19 日にかけて麻痺を惹起する高用量の薬物を直接胎児に投与するという、一般的ではない方法により実施されたものである。また、Org 9426 の標識体を用いた試験において、胎盤を通過して胎児に移行した放射能は、妊娠 13 日目のラットの投与後 10 及び 20 分でそれぞれ投与量の 0.0006 及び 0.0010%、妊娠 19 日目のラットでそれぞれ 0.0084 及び 0.0066%であり、本薬の胎盤通過性は低いと考えられた (SDGRR3186)。以上、Org 9426 が四肢の発生に悪影響を示す可能性

## 2.6.6 毒性試験の概要文

は極めて低いものと判断される。

生殖発生毒性試験では Org 9426 の筋弛緩作用による出産及び哺育の阻害が想定されたため、出産当日及び授乳期の投与を実施しなかった。授乳ラットに本薬の標識体を投与したとき、乳汁中放射能濃度のピークは投与 5 分及び 1 時間後であり、それらの放射能濃度は、乳汁 1g あたり投与量の 0.007% 及び 0.006% であった。その後、乳汁中及び母ラットの血漿中放射能濃度は徐々に低下し、投与 24 時間以後の濃度は極めて少量（いずれも 0.0002%）であった（SDGRR3185）。腸肝循環を検討した結果、腸管からの吸収は 2.4% と低かった（2.6.4.6.8 参照）。また、ラットを用いた単回経口投与試験では、200 mg/kg の投与においても死亡がみられなかった。しかしながら、ヒトでの Org 9426 投与後の母乳中への排泄については検討しておらず、ヒト乳児での経口吸収性も明らかではないため、授乳によって臨床的に有意な量の Org 9426 が乳児の循環血へ到達する可能性は不明である。以上より、使用上の注意には「妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合のみ投与すること [妊娠中の投与に関する安全性は確立していない]」及び「授乳婦への投与は避けさせることが望ましいが、やむを得ず投与する場合は授乳を避けさせること [動物実験（ラット）で乳汁中にわずかに移行することが報告されている]」と記載した。

*in vivo* 及び *in vitro* での遺伝毒性試験については、ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験で極めて軽度な復帰突然変異株数の増加が認められたが、別の施設で実施した追加 2 試験では増加傾向は認められなかった。以上 3 試験の結果から、以下の理由よりネズミチフス菌に対する Org 9426 の復帰突然変異誘発性はないと判断した：

1. 復帰突然変異株数の増加は 3 倍未満と小さい
2. 復帰突然変異株数の増加は背景データの範囲内
3. 復帰突然変異株数の増加傾向は 1000 µg/プレート以上の高濃度でのみ認められた
4. 復帰突然変異株数の増加は 5 菌株のうち 1 菌株でのみ認められた
5. 増加傾向が認められた TA98 株は pKM101 プラスミド導入により検出感度を高められている。  
TA98 と同様にフレームシフト変異が検出され、プラスミド導入されていない TA1538 株では、復帰突然変異株数の増加は認められなかった。従って、増加傾向は修復欠損の状態においてのみ認められた。
6. Organon International では弱い増加傾向が認められたが、                     及び                      では増加傾向は認められなかった。

さらに、大腸菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター細胞突然変異試験、ヒトリンパ球細胞を用いた染色体異常試験及びラット小核試験において陰性であったことから、Org 9426 の遺伝毒性リスクは極めて低いものと判断した。

局所刺激性試験の結果、静脈周囲投与で軽度な局所刺激性が認められたが、静脈内、動脈内及び筋肉内投与では認められなかった。以上から、Org 9426 の臨床使用時には、静脈内に適切に注入するよう留意することが必要であると考えられた。

なお、マウス膝窩リンパ節試験において感作性は認められず、ブタを用いた試験で悪性高熱誘発性は認められなかった。

類縁物質Ⅲ（Org 9943）の毒性試験の結果、筋弛緩作用及び毒性学的影響は認められなかった。概略の致死量は            mg/kg 以上であった。

## 2.6.6 毒性試験の概要文

以上より、適切な臨床使用条件における Org 9426 の安全性が確認されたと判断した。

### 2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した。

### 2.6.6.11 参考文献一覧

- 1 Hardman JG, Limbird LE. Goodman and Gilman's Pharmacological basis of therapeutics. 9th ed. McGraw-Hill;1995. p.309-10.
- 2 細井美彦, 入谷明. 毒性試験講座 11 発生毒性: 地人書館; 9-14
- 3 医薬品の製造（輸入）承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて 平成元年 9 月 11 日薬審 1 第 24 号
- 4 ■■■■■ Impurity II content in preclinical study batches and justification human Maximum Daily Dose Esmeron Japan. NL0055578
- 5 Hardman J G, Limbird L E. Goodman and Gilman's Pharmacological basis of therapeutics. 9th ed. McGraw-Hill;1995. p.178-9.
- 6 Shoro AA. Intra-uterine growth retardation and limb deformities produced by neuromuscular blocking agents in the rat fetus. J Anat 1977;123:341-50.