

血漿中抗Xa活性は、投与後0.5又は1時間で最大値($A_{\max}$)に到達し、投与後16時間においても検出されたが、静脈内投与時では、血漿中抗Xa活性は速やかに低下し、投与後、0.425mg/kgでは15分、0.85mg/kgでは2時間、1.7mg/kgでは4時間で定量限界以下となった。 $A_{\max}$ 及びAUCは用量依存的に増加した。

イヌに ^{35}S -本薬1mg/kgを単回静脈内投与した時、血漿中放射能濃度及び抗Xa活性は投与後24時間においても検出されたが、抗IIa活性は7時間以降検出されなかった。

ミニブタに本薬25mg/bodyを単回皮下投与した時、血漿中抗Xa活性は投与後1.0~4.0時間で $A_{\max}$ を示し、24時間後においても検出され、最終相の消失半減期($t_{1/2\alpha}$)は7.04時間であった。また、血漿中抗IIa活性も投与後1.0~4.0時間で $A_{\max}$ を示したが、12時間以降検出されなかった。

ラットに ^{35}S -本薬0.85mg/kgを1日1回7日間反復静脈内投与した時、投与最終日における投与3分後の血液中放射能及びAUCは、単回静脈内投与時の約1.2倍であった。

(2) 分布 (添付資料 4.2.2-7、-9 及び-10)

ラットに ^{35}S -本薬0.85mg/kgを単回皮下投与した時、投与1~4時間後に多くの臓器及び組織で放射能の最高濃度が観察された。投与1時間後において、大動脈、膀胱、腎臓、前立腺、甲状腺及び肝臓の順で高い放射能が検出された。時間の経過とともに、腎臓での放射能濃度が相対的に最も高くなった。脳への移行は少なく、検討された臓器・組織の中で最も低い放射能濃度であった。組織からの放射能の消失は緩徐で、投与後168時間において、最高濃度の1/2以下となった。

ラットに ^{35}S -本薬0.85mg/kgを7日間反復静脈内投与した時、最終投与24時間後の組織内放射能濃度は、初回投与24時間後の濃度の約3~7倍になった。組織からの放射能の消失は緩徐であり、最終投与28日後においても多くの組織で放射能濃度が検出された。

ラットに ^{35}S -本薬0.85mg/kgを皮下又は静脈内投与した時、投与6分後における血漿蛋白結合率(*in vivo*)は約82~92%であったが、代謝に伴い8時間後には約10~20%に低下した。

ラットに ^{35}S -本薬0.85mg/kgを単回皮下投与した時、血漿及び血液中放射能濃度の比は投与後の時間によらず約1.3~1.5であったことから、放射能の血球への取り込みは少ないことが示唆された。

妊娠ラットに ^{35}S -本薬0.85mg/kgを皮下投与した時、胎児への放射能移行が見られたが、胎児組織内の放射能濃度は、母体組織よりも低かった。なお、胎児組織では母体と同様に腎臓で最も高い放射能が検出されたが、その濃度は母体の腎臓中濃度の1/15以下であった。

(3) 代謝 (添付資料 4.2.2-2、-11 及び-12)

本薬投与後の代謝物分析は、ゲル濾過カラムを用い、HPLC法にて、溶出液中の放射能を連続的に検出して行った。溶出した3つの分画の放射能の合計を100% (以下、同様) としたとき、本薬標準品において94.5%は最初の分画に溶出され (以下、多糖類分画)、5.5%はそれ以後の2分画に溶出された (以下、低分子分画)。

ラットに ^{35}S -本薬0.85mg/kgを単回皮下、単回又は反復静脈内投与した時の血漿をゲル濾過カラムを用いたHPLCにより分析した結果、投与6分後では多糖類分画が70.0%であったが、投与1及び8時間後では、40.0及び16.4%であり、時間が経過するとともに低分子量分画が増

加した。一方、腎臓及び肝臓中代謝物の約 40%以上の割合を多糖類分画が占めた。

イヌに ^{35}S -本薬 3mg/kg を単回静脈内投与した時の血漿中成分は、投与 10 分後では多糖類分画と見られるピークが主であったが、3 時間後では多糖類分画とみられるピークとともに、低分子分画とみられるピークが認められた。

ラットに ^{35}S -本薬 0.85mg/kg を単回皮下、単回又は反復静脈内投与した時の尿中代謝物として、0～12 時間蓄尿では多糖類分画が主要成分（約 76～83%）であったが、時間の経過とともに低分子量分画の割合が上昇した（24～48 時間尿で約 77～85%）。糞中（0～24 時間）では低分子量分画が主要成分であった。単回投与時と 7 日間反復静脈内投与時の尿及び糞中代謝物パターンに大きな差はみられなかった。

ラットに本薬 0.85 及び 1.7mg/kg を 7 日間反復皮下投与した時、cytochrome P450（以下、CYP）及び cytochrome b5 含量、並びにアニリン水酸化酵素及びアミノピリン-*N*-脱メチル化酵素活性の増加が認められたが、その増加量はヘパリン投与時と同程度であり、また陽性対照としたフェノバルビタール投与時より小さかった。

（4）排泄（添付資料 4.2.2-2、-7 及び-10）

^{35}S -本薬を投与した時、ラットでは、皮下又は静脈内投与後 168 時間までに尿中に約 64～73%、糞中に約 8～11%が排泄され、胆汁中に投与後 48 時間までに約 2%が排泄された。イヌでは、静脈内投与後 96 時間までに投与量の約 40%が尿中に排泄され、糞中排泄率は約 2%であった。主排泄経路はラット及びイヌともに尿中であった。

授乳期（分娩後 10 日目）のラットに ^{35}S -本薬を単回皮下又は静脈内投与した時、乳汁中に放射能が検出されたが、その最高濃度は母体の最高血漿中濃度の 1/5 以下であり、授乳期ラットへの投与 48 時間後にはほぼ消失した。

<審査の概要>

本薬の皮下投与時の吸収はラットにおいては良好で、静脈内投与時と同程度の量の本薬が循環血中に移行すると考えられた。また、本薬の主な消失経路は、未変化体及び本薬の代謝物の腎排泄であると考えられた。したがって、腎機能低下時の本薬の薬物動態については、慎重に検討すべきと考える。

（iii）毒性試験成績の概要

<提出された資料の概略>

本邦における承認申請では、本薬の臨床使用経路は皮下投与のみであるが、海外では血液透析時の血液凝固防止を適応とした皮下投与以外の投与経路（血管内投与）による開発もなされ、げっ歯類の単回投与、げっ歯類及び非げっ歯類の反復投与並びに生殖発生毒性試験は、皮下及び静脈内投与により実施された。

（1）単回投与毒性試験（添付資料 4.2.3.-1～5）

単回投与毒性試験は、マウス皮下及び静脈内投与試験、ラット皮下及び静脈内投与試験、並びにイヌ静脈内投与試験が実施された。試験結果は、以下のとおりであった。

皮下投与試験はマウス（1,470、2,150、3,160、4,640、6,810、10,000、14,700 及び 21,500mg/kg :

各群雌雄各 5 例) 及びラット (14.7、46.4、147、316、681、1,470、3,160 及び 6,810mg/kg : 各群雌雄各 5 例) で実施され、概略の致死量は、マウスで雄 3,160mg/kg、雌 4,640mg/kg、ラットで雌雄ともに 46.4mg/kg と判断された。両動物種とも死亡は失血によるものであった。マウスにおける一般状態の変化として、2,150mg/kg 以上で運動失調、運動量低下、筋緊張低下、呼吸困難、立毛、眼蒼白及び摂餌量減少が、6,810mg/kg 以上で腹臥位、昏睡及び体重の増加抑制が、14,700mg/kg 以上でチアノーゼ及び眼瞼下垂が、21,500mg/kg で苦悶症状が認められた。剖検において、生存例では投与部位の黄褐色化が観察され、死亡例では胸腹部臓器の蒼白、腎臓の顆粒状表面、投与部位での出血・血液凝固、消化管内の黒色塊充満が観察された。ラットにおける一般状態の変化として、147mg/kg 以上で摂餌量減少が、681mg/kg 以上で運動失調、呼吸困難、立毛、眼蒼白、腹臥位、昏睡及び体重の増加抑制が、1,470mg/kg/日以上で運動量低下及び筋緊張低下が認められた。剖検において、生存例では、投与部位の褐色化、血液凝固及び滲出性出血が観察され、死亡例では胸腹部臓器の蒼白、肝臓・腎臓の顆粒状表面、消化管内の黒色塊充満投与部位での出血が観察された。

静脈内投与試験はマウス (681、1,470、1,780、2,150、2,610、3,160、雄のみ 3,830mg/kg : 各群雌雄各 5 例)、ラット (215、464、1,000、1,210、1,470、1,780、2,150、雌のみ 2,610mg/kg : 各群雌雄各 5 例) 及び雄イヌ (1,000、1,470 及び 2,150mg/kg : 各群 1 例) で実施され、概略の致死量は、マウスで雄 1,780mg/kg、雌 2,150mg/kg、ラットで雌雄ともに 1,470mg/kg、雄イヌで 2,150mg/kg 超と判断された。マウスにおける一般状態の変化として、1,470mg/kg 以上で運動失調、運動量低下、散瞳、呼吸困難及び腹臥位での強直性痙攣が、2,610mg/kg 以上で体重の増加抑制及び摂餌量減少が認められた。剖検において、生存例には異常は認められず、死亡例で肝臓・腎臓の蒼白が数例観察された。ラットにおける一般状態の変化として、464mg/kg 以上で運動失調が、1,000mg/kg 以上で呼吸困難が、1,210mg/kg 以上で摂餌量減少が、1,470mg/kg 以上で腹臥位及び強直性痙攣が、2,150mg/kg 以上で縮瞳、眼球突出、横臥位及び体重の増加抑制が認められた。

雄イヌにおける一般状態の変化として、1,000mg/kg で軽度頻呼吸及び軽度頻脈が、1,470mg/kg で軽度頻脈及び投与直後の発声・興奮が、2,150mg/kg で投与直後から一過性の横臥位、流涎、散瞳による瞳孔反射の一過性消失並びに一過性の重度頻呼吸及び軽度頻脈が認められた。死亡例はみられなかった。

(2) 反復投与毒性試験 (添付資料 4.2.3.-7、10、11、13、15 及び 16)

本邦における最大臨床投与期間は 2 週間を予定しているが、欧州においては長期間の投与による DVT の予防を想定して開発されたため、反復投与毒性試験の投与期間は 13 週間及び 6 ヶ月間とされ、ラット皮下及び静脈内投与試験、イヌ皮下投与試験、サル皮下及び静脈内投与試験が実施された。試験結果は、以下のとおりであった。なお、反復投与毒性試験において、一般状態、剖検及び病理学的検査において、投与部位に出血・血腫又は腫脹等の変化が認められた。また、血液学的検査においては、赤血球系パラメータの変化 (赤血球数、Ht 値、Hb 量の低下)、血小板数の増加、プロトロンビン消費時間 (以下、PCT) の短縮 (サル 6 ヶ月皮下投与) が認められ、さらにラット 13 週間及び 6 ヶ月皮下投与では病理組織学的検査において骨髓・脾臓に造血亢進を示唆する所見が観察された。これらの所見はいずれもダナパロイドナトリウムや他の低分子量ヘパリン (ダルテパリンナトリウム、レビパリンナトリウム) においても報告されており、投与

部位における投与による物理的傷害及び本薬の薬理作用に起因した変化と考えられたことから、無毒性量の判断根拠としていない。

ラット 13 週間反復皮下投与試験（3、6.5 及び 15mg/kg/日：各群雌雄各 15 例）では、投与期間中、同一部位の反復投与による局所傷害により投与継続不能となったため、試験途中より背部皮下 4 ヶ所に順に投与した。15mg/kg 群の雌雄各 1 例が投与 9 日に死亡（原因不明）した。さらに最終週（投与 13 週目）の採血ミスにより、同群の雌 1 例が死亡した。主な所見として、初回投与 24 時間以降に本薬投与群で投与部位に腫脹（血腫）が観察された。6.5mg/kg/日群の雌雄及び 15mg/kg/日群の雌で軽度の体重増加が認められたが、摂餌量に影響はみられなかった。血液学的検査（投与 6 及び 13 週目）では 15mg/kg/日群で赤血球数、Hb 量及び Ht 値が減少し、白血球数が軽度増加した。血液生化学的検査では投与 13 週目の 15mg/kg/日群でアルカリフォスファターゼ（以下、ALP）が軽度低下し、乳酸脱水素酵素（以下、LDH）及び α -ヒドロキシ酪酸デヒドロゲナーゼ（以下、HBDH）が増加した。剖検では、対照群（生理食塩液投与）を含む全ての群で投与部位に出血が観察され、本薬投与群ではさらに血腫がみられた。15mg/kg/日群で脾臓、肝臓での髓外造血の亢進、白脾髄の増生及びこれに伴う脾臓重量の増加、骨髓中の多数の巨核球出現が認められた。

以上のように、15mg/kg/日群で 3 例の死亡が認められたことから、無毒性量は 6.5mg/kg/日と判断された。

ラット 6 ヶ月間反復皮下投与（3、10 及び 30mg/kg/日：雌雄各群 30 例）及び 6 週間回復性試験（6 ヶ月間皮下投与終了後、各群雌雄各 5 例について 6 週間休薬し、回復性を検討）では、30mg/kg/日群では雄 12 例、雌 9 例が死亡し、また、3 及び 10mg/kg/日群ではそれぞれ雌雄各 1 例及び雌 2 例が死亡した。これらの死亡例のうち 3mg/kg/日群の 2 例では病理組織学的検査において急性気管支肺炎が認められたが、他の用量では同様な所見はみられなかったことから偶発的变化による死亡と考えられた。また、10 及び 30mg/kg/日群のそれぞれ雌 2 及び 1 例は眼窩静脈叢からの採血手技に起因する偶発死であった。30mg/kg/日群の他の死亡例の死因は投与部位からの多量出血であると考えられた。なお、対照群（生理食塩液投与）で死亡した雄 1 例の死因は不明であった。一般状態の変化として、3mg/kg/日以上で群で投与期間を通じて用量依存的な投与部位の腫脹例の増加が観察された。血液学的検査では血小板数の増加が本薬各投与群にみられ、10mg/kg/日以上で群では赤血球数の減少、30mg/kg/日群では Hb 量、Ht 値の減少と PCT の短縮例（100 秒未満）発生頻度の増加がみられた。血液生化学的検査では、コレステロール値の高値が雄の本薬投与群及び雌 30mg/kg/日群でみられ、30mg/kg/日群では休薬期間終了時まで認められた。器官重量では脾臓及び肝臓重量の増加が 10mg/kg/日以上で群で認められたが、休薬後には 30mg/kg/日群の肝臓を除いて対照群との間に有意差はなかった。なお、器官重量の変化には、赤血球系パラメータ減少に対する脾臓髓外造血亢進、肝臓における凝固因子の合成亢進が反映しているものと考えられた。

以上のように、器官重量の変化が 10mg/kg/日群以上で認められたことから、無毒性量は 3mg/kg/日と判断された。

ラット 6 ヶ月間静脈内投与（10、30 及び 90mg/kg/日：10 及び 30mg/kg/日雌雄各 25 例、対照群及び 90mg/kg/日群雌雄各 30 例）及び 4 週間回復性試験（6 ヶ月間静脈内投与終了後、対照群及び 90mg/kg/日群の雌雄各 5 例について 4 週間休薬し、回復性を検討）では、90mg/kg/日群で本薬の過剰な抗凝固作用に起因したと考えられる変化（出血及び血腫）が発現したため、第 4 週以

降は 30 及び 90mg/kg/日をそれぞれ 20 及び 40mg/kg/日に減量した（以下、それぞれ 30（20）及び 90（40）mg/kg/日群）。本薬群で薬理作用に起因した腹腔内出血による死亡（10mg/kg/日：雌 1 例、30（20）mg/kg/日群：雌雄各 1 例、90（40）mg/kg/日群：雄 5 例、雌 4 例）が認められた。また、10mg/kg/日群以上では腎臓と肝臓の癒着が認められた。

血液学的検査では、30（20）mg/kg/日群及び 90（40）mg/kg/日群で赤血球数、Hb 量の減少及び血小板数の増加が、90（40）mg/kg/日群で Ht 値の低値、網状赤血球数の高値が認められた。血液生化学的検査では、30（20）mg/kg/日群及び 90（40）mg/kg/日群の雌で尿素の増加がみられた。剖検では本薬群で、肝臓及び腎臓に滲出性出血による癒着が観察された。また、脾臓（雌雄）、腎臓、心臓及び肝臓重量（雌）の増加が認められ、90（40）mg/kg/日群で副腎重量（雌雄）の増加もみられた。病理組織学的検査では、90（40）mg/kg/日群で肝臓の血栓、腎臓の尿細管腎炎及び副腎の血栓による梗塞が観察された。これらの変化には休薬による回復性がみられた。

以上のように、本薬各投与群で本薬の薬理作用の過度の発現に起因した腹腔内出血による死亡が認められ、また滲出性出血に起因した腎臓と肝臓の癒着も認められたことから、無毒性量は 10mg/kg/日未満と判断された。

イヌ 13 週間皮下投与試験（3、6.5 及び 15mg/kg/日：各群雌雄各 3 例）では、6.5mg/kg/日以上群では投与部位に皮膚の肥厚、皮下腫脹が認められた。第 12 週の尿検査で尿中リン酸塩濃度の増加が 6.5mg/kg/日以上群で、カルシウム（以下、Ca）の減少が 15mg/kg/日群で認められたため、15mg/kg/日群の投与第 13 週目に、上皮小体ホルモン量を測定したが正常範囲内であった。剖検及び病理組織学的検査では対照群（生理食塩液投与）を含む全ての群で投与部位周囲の出血・炎症と頸部リンパ節のヘモジデリン沈着及び好酸球増多症が散見され、投与部の変化の程度は用量依存的に重篤度を増した。したがって、これらの変化は本薬による直接反応ではなく、投与刺激と出血に対する非特異的な局所反応であると考えられた。15mg/kg/日群では雌雄各 1 例に軽度の上皮小体過形成が認められた。

以上のように、6.5mg/kg/日以上群で投与部位周囲の出血等の所見は軽度又は極軽度であり、また、尿中リン酸濃度の増加がみられたが、Ca 濃度の低下及び上皮小体の変化はみられないため毒性学的意義は低いと考えられ、無毒性量は 6.5mg/kg/日と判断された。

サル 6 ヶ月間皮下投与（3、10 及び 30mg/kg/日：各群雌雄各 7 例）及び 6 週間回復性試験（6 ヶ月間皮下投与終了後、各群雌雄各 2 例 6 週間休薬し、回復性を検討）では、試験期間中に 30mg/kg/日群で雄 2 例が死亡し、雄 1 例、雌 3 例を全身状態悪化のため切迫安楽死させた。安楽死前に実施した血液学的検査結果から、全身状態悪化は出血多量によるものと考えられた。一般状態の変化として、本薬群で、投与部位に浮腫、発赤、挫傷、痂皮形成及び腫脹がみられ、これらの症状の発生頻度は概して用量依存的に増加したが、休薬後にほぼ消失した。10mg/kg/日以上群で、皮膚の発赤、創傷、血腫、嗜眠及び歯肉蒼白が認められ、30mg/kg/日群で、さらに皮膚の腫脹、挫傷、赤色滲出液及び癒着化が観察された。血液学的検査では、10mg/kg/日以上群で、赤血球数、Hb 量及び Ht 値の減少、赤沈値の亢進が認められ、PCT が本薬群で用量依存的に短縮した。またトロンビン凝固時間の延長が 30mg/kg/日群で認められた。これらのパラメータは休薬後にはほぼ正常値を示した。抗 Xa 活性も用量に依存して増加したが、休薬により多数の動物が対照群（生理食塩液投与）と同程度の値を示した。10mg/kg/日以上群で脾臓及び肝臓重量、さらに 30mg/kg/日群で腎臓重量が増加し、休薬後も 30mg/kg 群雄では対照群に比べてやや高かった。剖

検及び病理組織学的検査では本薬群で投与部位に皮下出血又は血腫及びこれらに伴う周囲組織の変性、炎症が認められた。

以上のように、投与部位の変化及び血液学的検査においてみられた変化は本薬の薬理作用（抗凝固作用）及びそれに対する生体反応であるが、10mg/kg/日以上群では、全身状態悪化による昏睡、投与部位以外での皮膚の変化が観察されたことから、無毒性量は3mg/kg/日と判断された。

サル6ヵ月間静脈内投与（5、10及び20mg/kg/日：5及び10mg/kg/日群雌雄各4例、対照群及び20mg/kg/日群雌雄各5例）及び4週間回復性試験（6ヵ月間静脈内投与終了後、対照群及び20mg/kg/日群の雌雄各1例4週間休薬し、回復性を検討）では、20mg/kg/日群の雄1例が投与開始177日目に血性吐物を嘔吐した後、翌日に死亡したが、病理組織学的検査では特記すべき所見は認められなかった。投与部位では、対照群（生理食塩液投与）を含む全ての群で軽度の出血が認められた。さらに、本薬群で四肢腫脹がみられたが、投与終了時までには消失した。生存例における全身への影響として、10mg/kg/日群の雌1例で単発性の血性嘔吐物、10mg/kg/日以上群の少数例で血便が散見されたが、休薬後には認められなかった。剖検では、対照群を含めた全ての群で投与部位に軽度の出血が認められ、病理組織学的検査では、同部位の血管増生が認められたが、休薬後には観察されなかった。

以上のように、10mg/kg/日以上群の少数例で、血性吐物及び血便が散見されたが、5mg/kg/日群では四肢の主張（血腫）のみであったことから、無毒性量は5mg/kg/日と判断された。

(3) 遺伝毒性試験（添付資料 4.2.3.-17、18、19、20 及び 21）

In vitro 試験として細菌を用いた復帰突然変異試験、ヒト末梢リンパ球を用いた染色体異常試験及び哺乳類の培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験、*in vivo* 試験としてラット骨髓細胞を用いた染色体異常試験が実施され、遺伝毒性は認められなかった。

(4) がん原性試験

反復投与毒性試験において前がん病変及び増殖性変化が認められなかったこと、遺伝毒性が認められなかったこと、並びに本薬の臨床における投与期間が2週間であり6ヵ月を超える長期間に渡って使用されないことから、がん原性試験は実施されなかった。

(5) 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験は、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、胚・胎児発生に関する試験及び出生前及び出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験が実施された。なお、親動物の投与部位で観察された青色調変色・腫脹は本薬の薬理作用及び投与による物理的障害による影響と考えられたことから毒性とは捉えず、親動物の一般毒性の無毒性量の判断根拠としなかった。

1) 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（添付資料 4.2.3-23 及び-25）

①皮下投与によるラット一代繁殖毒性試験

成熟SDラット（雄：各群26例、雌：各群24～26例）に本薬3、10及び20mg/kg/日（雄：交配71日前から雌の分娩まで、雌：交配15日前から半数は妊娠21日まで、残り半数は離乳まで）を反復皮下投与した結果、20mg/kg/日群の雄1例が13週目に後肢の爪の創傷からの出血多量により死亡した。10mg/kg/日以上群で投与部位に腫脹（血腫）が認められた。

剖検では、本薬投与群で用量の増加に伴って、投与部皮下出血の発現頻度が増し、その頻度は雌で高かった。以上の結果から、F₀動物の一般毒性学的無毒性量は10mg/kg/日、生殖能及びF₁、F₂の無毒性量は20mg/kg/日と判断された。

②ラット妊娠前及び妊娠初期静脈内投与生殖試験

SD系ラット（各群雌雄各25例）に本薬3、10及び20mg/kg/日（雄：交配9週前から交尾成立まで、雌：交配2週前から交尾成立7日後まで）を反復静脈内投与した結果、雄の20mg/kg/日群、雌の10mg/kg/日群以上で投与部位の青色調変色・腫脹が観察された。剖検では、肺に薬理作用に起因したと考えられる出血性所見が認められた。生殖能及び胎児に及ぼす影響では、10mg/kg/日群で着床数の高値がみられたが、20mg/kg/日では対照群（生理食塩液）との間に差は認められず、用量との関連性がないことから本薬の影響とは考えられなかった。以上の結果から、親動物に対する一般毒性、生殖能及び胎児の発生に対する無毒性量はいずれも20mg/kg/日と判断された。

2) 胚・胎児発生に関する試験（添付資料 4.2.3-27、-29、-30、-32 及び-33）

①ラット器官形成期投与試験

妊娠SD系ラット（各群20例）に本薬3、10及び30mg/kg/日を妊娠6～15日（交尾成立日：妊娠1日）に反復皮下投与した後、妊娠21日に剖検した。母動物の10mg/kg/日以上で投与部位の皮下に腫脹が認められた。30mg/kg/日群の1例は一般状態の悪化を伴う投与部位からの顕著な出血のため切迫安楽死させた。剖検では、本薬投与群で用量依存的な投与部位の皮下出血例の増加が認められた。また、母動物の生殖能及び胎児に対する影響は認められなかった。以上の結果から、母動物に対する一般毒性学的無毒性量は10mg/kg/日、母動物の生殖能及び胎児に対する無毒性量は30mg/kg/日と判断された。

妊娠SD系ラット（各群36～37例）に本薬3、10及び20mg/kg/日を妊娠7～17日（交尾成立日：妊娠0日）に反復静脈内投与した後、妊娠20日に剖検した。母動物の10、20mg/kg/日群では投与部位の青色調変色が観察された。出生児（F₁）では、10mg/kg/日群の離乳後の雄1例が死亡、同群雌1例又は切迫安楽死された。剖検では雄には変化が認められず、死因を特定出来なかった。ただし、20mg/kg/日で死亡例及び一般状態の変化がみられなかったことから、偶発的变化と考えられた、雌には、両側腎臓肥大、腎盂膿瘍貯留及び尿管結石等により一般状態の悪化が考えられた。以上の結果から、投与部位での変化を除く親動物の一般毒性学的、生殖能、胎児、次世代の発生及び次世代の生殖能に対する無毒性量はいずれも20mg/kgと判断された。

妊娠SD系ラット（各群24例）に本薬10、40及び160mg/kg/日を妊娠6～15日（交尾成立日：妊娠0日）に反復静脈内投与した後、妊娠20日に剖検した。160mg/kg/日群の全例で投与後毎回、投与部位からの出血が観察された。妊娠13及び15日に各1例が多量出血により死亡した。剖検では、これらの動物で実質臓器の蒼白化が観察された。一般状態の変化として、160mg/kg/日群で立毛、眼蒼白及び自発運動の減少が観察された。以上の結果から、母動物の一般毒性学的無毒性量は40mg/kg/日、生殖能及び胚・胎児に対する無毒性量は160mg/kg/日と判断された。

②ウサギ器官形成期投与試験

妊娠 NZW ウサギ（各群 12～14 例）に本薬 3、10 及び 30mg/kg/日を妊娠 6～18 日（交尾成立日：妊娠 0 日）に反復皮下投与した後、妊娠 29 日に剖検した。投与部位における低頻度かつ用量非依存性の挫傷、青色調変色及び腫脹が対照群（生理食塩液投与）を含む全投与群で観察された。妊娠 16～23 日にかけて、10 及び 30mg/kg/日群のそれぞれ 2 及び 1 例を一般状態の悪化により切迫安楽死させたが、剖検所見から消化管障害又は呼吸器感染が原因と考えられた。着床数、生存胎児数、吸収胚数、着床前後胚損失率、胎児・胎盤重量、性比、胎児の外表、内臓及び骨格検査において、本薬投与による影響は認められず、催奇形性は認められなかった。

以上の結果から、投与部位での変化を除く母動物の一般毒性学的及び生殖能並びに胎児に対する無毒性量は 30mg/kg/日と判断された。

妊娠白色ロシアウサギ（各群 12 例）に本薬 10、40 及び 160mg/kg/日を妊娠 6～18 日（交尾成立日：妊娠 0 日）に反復静脈内投与した後、妊娠 29 日に剖検した。10 及び 40mg/kg/日群では投与後、対照群（生理食塩液投与）と同程度の投与部位からの小出血が、160mg/kg/日群で毎投与後、投与部からの 5～10 分間の出血が観察され、出血による胎児への影響を避けるため、投与後毎回、絆創膏を貼付した。160mg/kg/日群で投与 4～6 日目（妊娠 9～11 日）の 4 例に失血による眼の蒼白が観察され、1 例が 3 回目（妊娠 8 日）投与後に出血により死亡し、剖検時に体幹の皮下に出血が認められた。また、同群の 1 例が妊娠 22 日に流産した。160mg/kg/日群における着床胚の吸収率は対照群に比べて有意に高値であり、胎児数は低値を示したが、これは同群の 4 例に着床胚の全例吸収が生じたためであった。また、着床後死亡率も高値であった。以上の結果から、投与部位での変化を除く母動物の一般毒性学的、生殖能ならびに胎児に対する無毒性量は 40mg/kg/日と判断された。

3) 出生前及び出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験（添付資料 4.2.3-34、-35）

①皮下投与によるラット周産期及び授乳期投与試験

妊娠 SD ラット（各群 20 例）に本薬 3、10 及び 20mg/kg/日を妊娠 15 日から分娩後 21 日（交尾成立日：妊娠 1 日）に反復皮下投与した結果、本薬全投与群の多数の母動物で投与部位に皮下出血が生じ、10mg/kg/群の 1 例が投与部位からの出血が止まらず妊娠 22 日に死亡した。剖検では、3mg/kg/日群の約半数と 10 及び 20mg/kg/日群の約 3/4 で投与部位皮下に血腫が観察された。20mg/kg/日群で出生時及び出生 21 日後の体重の低値がみられ、それに伴い切歯萌出及び眼瞼開裂が軽度遅延したが、その他の身体発育（耳介の展開、背部発毛）並びに聴覚及び視覚に影響は認められなかった。

以上の結果から、母動物の一般毒性学的無毒性量は 3mg/kg/日、生殖能に対する無毒性量は 20mg/kg/日、次世代の発育に対する無毒性量は 10mg/kg/日と判断された。

妊娠 SD ラット（各群 22～23 例）に本薬 3、10 及び 20mg/kg/日を妊娠 17 日から分娩後 21 日（交尾成立日：妊娠 0 日）に反復静脈内投与した結果、10mg/kg/日群の 1 例が分娩後 13 日に死亡したが、前日まで異常は認められず、剖検では脳室内出血がみられた。しかし、同群の他の動物及び 20mg/kg/日群では同様な死亡例はみられず、一般状態、体重等に変化がみられなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。10 及び 20mg/kg/日群で本薬の薬理作用に基づく変化と考えられる投与部位の青色調変色、20mg/kg/日群で背部の腫脹（2 例のみ）が観察された。10 及び 20mg/kg/日群で、F₁ 出生児の 4 日生存率が低値を示した。

喰殺児数は用量に依存して増加し、10 及び 20mg/kg/日群では喰殺による死亡が多く含まれていたことから、4 日生存率低値の原因は、喰殺児の増加に伴うものであると考えられた。出生児数、出生児体重、哺育期間中の体重、発育、行動発達及び離乳率には影響は見られていないこと、及び投与部の出血性変化による母体のストレスに起因したものと考えられ、当該所見は母動物に対する影響によるもの推察されたが、10mg/kg/日群では、実施施設の背景値の範囲内（90.5～98.5%）であり、対照群（生理食塩液投与、97.9%）に比べても僅かな変化であることから、当該生存率の低値に毒性学的意義はないと考えられた。生殖能試験に供した F₁ のうち、対照群の雌 1 例が切迫安楽死及び 3mg/kg/日群の雌 1 例が死亡したが、剖検結果から膀胱結石による尿路疾患に起因したものと考えられた。20mg/kg/日群の F₁ の 1 例で分娩後 1 日に F₂ 出生児が全例死亡したが、同群を含めた生後 1～7 日死亡率について、対照群との間に差はみられなかった。また、F₂ 出生児の体重及びその他のパラメータについても投与の影響は認められず、偶発的と判断された。

以上の結果から、投与部位での変化を除く母動物の一般毒性学的無毒性量は 20mg/kg/日、母動物の生殖能に対する無毒性量は 10mg/kg/日と考えられた。また、F₁、F₂ の無毒性量は 20mg/kg/日と判断された。

(6) 局所刺激性試験（添付資料 4.2.3-36）

イヌ（各群雌雄各 3 例）の右側静脈内、筋肉内、動脈内、皮下及び静脈周囲に本薬（200mg/mL）を 0.6mL ずつ投与し、プラセボ（マンニトール）を左側に同様に投与した。

静脈内投与において、投与部位に肉眼観察では病変は認められなかったが、病理組織学的検査では、軽度から中等度の血腫がプラセボ投与部位を含めて観察され、さらに、本薬投与部位では軽度から中等度の炎症性浸潤も認められた。

筋肉内投与部位において、両群の全例の投与部位に 4～8mm 径の血腫が観察され、病理組織学的検査では、全例で血腫が観察され、さらに投与後 24 及び 96 時間の本薬投与部位に中等度の炎症性浸潤、軽度から中等度の壊死領域も観察された。

動脈内投与において、投与当日、両群の全例の投与部位に血腫（5～15 cm 径）が観察され、当該部位の病理組織学的検査では、本薬の全投与部位で軽度～中等度の血管周囲血腫、さらに 1/6 例で軽度の炎症性浸潤が投与後 48 時間まで認められた。なお、プラセボ投与部位においても全例で軽度～中等度の血管周囲血腫が投与後 24 及び 48 時間観察された。

皮下投与において、プラセボ及び本薬投与群ともに特記すべき所見は認められなかった。

静脈周囲投与において、両群の投与部位に小さな血腫が投与後 48 時間まで認められた。病理組織学的検査では、軽度から中等度の血腫がプラセボ投与部位を含めて投与後 48 時間まで観察された。さらに、本薬投与部位では軽度から中等度の炎症性浸潤が投与後 48 時間まで認められた。

(7) その他の毒性試験（添付資料 4.2.3-37、-38、-39）

本薬及び本薬の強制劣化物（以下、劣化物）の抗原性について検討された。

本薬について、モルモットを用いた全身性アナフィラキシー（ASA）試験、受身皮膚アナフィラキシー（PCA）試験及び Schultz-Dale 反応試験が実施されたが、その結果はいずれも陰性であり抗原性は認められなかった。

マウス抗原性試験（ラット PCA 試験）も実施されたが、PCA 反応は陰性であり、本薬に対する抗体は検出されなかった。

モルモット皮膚感作性試験（Maximization test）で本薬の感作性は認められなかった。

以上の結果から、本薬はヒトにおいて抗原性を示す可能性は低いものと判断された。しかし、本薬とヘパリン又は他のヘパリン誘導体との間に交差反応性が考えられることから、ショック及び過敏症症状が発現した場合の症状の重篤度に鑑み、添付文書（案）において過敏症の既往歴のある患者について「禁忌」として注意喚起がされている。

10%本薬溶液を沸騰水中で 72 時間加熱処理した劣化物は、モルモット ASA 及び PCA 試験が実施された結果、ASA 試験、PCA 試験のいずれの試験においても劣化物は抗原性を示さなかった。

また、同様に劣化物を用いて、マウス抗原性試験（ラット PCA 試験）が実施されたが、結果は陰性であり、劣化物に対する抗体も検出されなかった。

<審査の概要>

機構は、皮下投与によるラット器官形成期投与試験の30mg/kg/日群において発現した「脳室拡張」について、胎児の発育障害ではなく胎児発育の遅延に起因した変化と判断した理由を尋ねた。

申請者は以下のように回答した。脳室の拡張は、主に本試験における対照群の平均胎児体重（ $3.35 \pm 0.06\text{g}$ ）又は試験施設の背景データ（ $3.13 \sim 3.43\text{g}$ ）に比べ、低値を示した動物で観察された。一方、低体重胎児に脳室拡張が高頻度に認められることはヒトにおいても報告されている（Pediatric Neurology. 9(2): 108-114, 1993）。また、本薬の3、10及び20mg/kg/日を交配前15日から妊娠21日又は離乳までラットに皮下投与した試験（CTD 2.6.6.6.1.1）並びに同用量を妊娠7～17日に静脈内投与した試験（CTD 2.6.6.6.2.2）において、脳室拡張や脳の発育障害を示唆する所見はみられていない。したがって、当該脳室拡張は胎児発育の遅延に起因した変化と判断した。機構は、これらの回答を了承した。

また、HITについて申請者は以下の通り説明した。本薬の類似化合物であるヘパリンでは、ヒトにおいてHITを発症することが報告されており、その発症メカニズムとして、ヘパリンが血小板に直接作用して血小板の凝集・減少を誘発するⅠ型と、抗ヘパリン・血小板第4因子（PF4）複合体抗体を介して血小板の凝集・減少を誘発するⅡ型が報告されている（CTD2.7.4.2.1.5.1）。一方、本薬は血小板への直接作用を検討した副次的薬理試験（CTD2.6.2.3）において血小板凝集作用に影響を与えず、さらにラット及びサルを用いた最長6ヵ月間の反復皮下又は静脈内投与毒性試験においても血小板の減少は認められていないことから、HITを発症する危険性は低いものと判断された。しかしながら、HITの既往歴のある患者には既にPF4複合体に対する抗体が存在する可能性があり、その抗体が低分子量ヘパリンと交差反応を示す可能性が示唆されていることから、本薬の添付文書（案）においてHITの既往歴のある患者には「原則禁忌」として注意を喚起する。

機構は、HIT患者、HITの既往のある患者に対する本薬投与については、その可否を含め、より慎重に検討する必要があると考えるが、具体的な注意喚起等については、後述する（「4.（ii）＜審査の概要＞（5）（6）本薬による血小板減少症のリスク及びヘパリン起因性血小板減少症（HIT）患者における本薬投与について」参照）。

以上のように、本薬には遺伝毒性及び催奇形性は認められず、発現した所見は薬理作用に起因し

たものと考えられることから、本薬の安全性に関わる大きな問題はないと判断した。

4. 臨床に関する資料

(i) 臨床薬物動態及び臨床薬理の概要

本薬の平均分子量は 4,500 (約 3,800～5,000) であるが、その内訳は、2,000 未満が 17.0%、2,000～8,000 が 72.5%、8,000 超が 10.5%と多様であり、現時点では物理化学的に定量することは不可能であるため、本薬の薬物動態は、抗 Xa 及び抗 IIa 活性並びに aPTT を指標として評価した。なお、本薬 1mg は約 100IU に相当する。

<提出された資料の概略>

(1) 製剤間での生物学的同等性 (添付資料 5.3.1-3)

外国人健康成人男性18例に国内後期第Ⅱ相/第Ⅲ相試験 (262試験、263試験) において使用された治験製剤 (本薬20mg/0.4mL) と市販予定製剤 (本薬20mg/0.2mL) 各20mgを単回皮下投与した時 (2期クロスオーバー法)、血漿中抗 Xa 活性の A_{max} 、最終測定時点までの AUC (AUC_{0-t}) 及び AUC の平均値は、治験製剤では、0.264、1.797 及び 1.977、市販予定製剤では、0.273、1.859 及び 2.067 であった。各パラメータにおける対数変換値の平均値の比の 90% 信頼区間は、 A_{max} が 99.8～108.2%、 AUC_{0-t} が 101.5～106.9%、AUC が 102.4～108.1% であり、治験製剤と市販予定製剤が生物学的に同等であることが示された。

(2) バイオアベイラビリティ (以下、BA) (添付資料 5.3.1-1 及び 2)

外国人健康成人男性 8 例に本薬 40 mg、並びに外国人健康成人男女 24 例 (BMI18～25kg/m² : 非肥満) 及び肥満男女 24 例 (BMI30～40kg/m²) に 1.5mg/kg 単回投与した時、血漿中抗 Xa 活性における AUC の比で評価した絶対的 BA の平均値は 92.39%、並びに 106 及び 106% であった。抗 IIa 活性における絶対的 BA は、本薬 40mg 投与時には、活性値が低かったため算出できなかったが、1.5mg/kg 投与時は、抗 Xa 活性に比べ幾分低く、非肥満男女では 85%、肥満男女では 75% であった。

一方、ヘパリン皮下投与時の抗 Xa 活性における BA は 22～40% であり、本薬に比べて低かった。

(3) ヒト生体試料を用いた *in vitro* 試験

1) 血漿蛋白結合 (添付資料 4.2.2-7)

In vitro における ³⁵S-本薬とヒト血漿タンパクとの結合率は、抗 Xa 活性として 0.3～1.2IU/mL の範囲で 90.6～92.7% であった。

2) ヒト肝ミクロソームにおける CYP の阻害作用 (添付資料 5.3.2-1)

ヒト肝ミクロソームに CYP1A2、2C9、2C19、2D6、2E1 及び 3A4 の基質を添加し、本薬 0.5 及び 5.0IU/mL を加えてインキュベートした検討で、本薬はこれらの CYP 分子種に対する明らかな阻害作用を示さなかったことから、これら CYP 分子種によって代謝を受ける薬剤との併用時に、それらの代謝に本薬が影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。