

ストラテラカプセル 5 mg
ストラテラカプセル 10 mg
ストラテラカプセル 25 mg

2.6.6 毒性試験の概要文

日本イーライリリー株式会社

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 (Tox 01 : 4.2.3.1.2、Tox 02 : 4.2.3.1.1、Tox 03 : 4.2.3.1.4、Tox 04 : 4.2.3.1.3、Tox 05 : 4.2.3.1.5 及び Tox 06 : 4.2.3.1.6)	4
2.6.6.3	反復投与毒性試験	4
2.6.6.3.1	マウス反復投与毒性試験	5
2.6.6.3.1.1	マウス 3 ヶ月間混餌投与毒性試験 (Tox 16 : 4.2.3.2.1)	5
2.6.6.3.2	ラット反復投与毒性試験	5
2.6.6.3.2.1	ラット 3 ヶ月間混餌投与毒性試験 (Tox 08 : 4.2.3.2.2)	5
2.6.6.3.2.2	ラット 3 ヶ月間混餌投与トキシコキネティクス試験 (Tox 32 : 4.2.3.2.3)	6
2.6.6.3.2.3	ラット 3 ヶ月間固定用量混餌投与毒性・トキシコキネティ クス試験 (Tox 46 : 4.2.3.2.4)	7
2.6.6.3.2.4	ラット 1 年間混餌投与毒性試験 (Tox 18 : 4.2.3.2.5)	8
2.6.6.3.2.5	ラット 2 週間点滴静脈内投与毒性試験 (Tox 51 : 4.2.3.2.6 及び ADME49 : 4.2.2.2.5)	8
2.6.6.3.3	イヌ反復投与毒性試験	9
2.6.6.3.3.1	イヌ 3 ヶ月間反復投与毒性試験 (Tox 07 : 4.2.3.2.7)	9
2.6.6.3.3.2	イヌ 3 ヶ月間反復投与トキシコキネティクス試験 (Tox 35 : 4.2.3.2.8)	9
2.6.6.3.3.3	イヌ 1 年間反復投与毒性試験 (Tox 17 : 4.2.3.2.9)	10
2.6.6.3.3.4	イヌ 2 週間反復静脈内投与毒性試験 (Tox 50 : 4.2.3.2.10)	10
2.6.6.4	遺伝毒性試験	11
2.6.6.4.1	細菌を用いる復帰突然変異試験 (Tox 28 : 4.2.3.3.1.2)	12
2.6.6.4.2	チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞を用いる染色体異常 試験 (Tox 30 : 4.2.3.3.1.3)	12
2.6.6.4.3	マウス骨髄を用いる小核試験 (Tox 29 : 4.2.3.3.2.1)	12
2.6.6.5	がん原性試験	13
2.6.6.5.1	マウスがん原性試験	13
(1)	用量設定根拠	13
(2)	マウスの反復投与におけるトキシコキネティクス (Tox 34 : 4.2.3.4.1.5、 Tox 55 : 4.2.3.4.1.6)	14
(3)	マウスがん原性試験結果 (Tox 21 : 4.2.3.4.1.1)	15
2.6.6.5.2	ラットがん原性試験	16
(1)	用量設定根拠	16
(2)	ラットがん原性試験結果 (Tox 19 : 4.2.3.4.1.2)	17
2.6.6.6	生殖発生毒性試験	17
2.6.6.6.1	胎児検査を含む一世代受胎能及び出生前／出生後試験 (Tox 27 : 4.2.3.5.1.2)	17
2.6.6.6.2	胚・胎児発生に関する試験	18
2.6.6.6.2.1	ラット胚・胎児発生に関する試験 (Tox 11 : 4.2.3.5.2.2、 ADME 72 : 4.2.2.2.11)	19
2.6.6.6.2.2	ウサギ胚・胎児発生に関する試験 (その 1) (Tox 10 : 4.2.3.5.2.4)	19
2.6.6.6.2.3	ウサギ胚・胎児発生に関する試験 (その 2) (Tox 37 : 4.2.3.5.2.5)	20
2.6.6.6.2.4	ウサギ胚・胎児発生に関する試験 (その 3) (Tox 42 : 4.2.3.5.2.6)	20

2.6.6.6.3	幼若動物を用いた試験	21
2.6.6.6.3.1	幼若ラットを用いた試験	21
2.6.6.6.3.1.1	幼若ラットにおける反復経口投与毒性・トキシコキネ ティクス試験 (Tox 45 : 4.2.3.5.4.2)	21
2.6.6.6.3.1.2	幼若期からの投与によるラットにおける生殖能・受胎 能に関する試験 (Tox 49 : 4.2.3.5.4.3)	22
2.6.6.6.3.1.3	幼若ラットにおける発育分化・神経行動に関する試験 (Tox 48 : 4.2.3.5.4.4 及び Tox 62 : 4.2.3.5.4.5)	22
2.6.6.6.3.2	幼若イヌにおける1ヵ月間反復経口投与毒性・トキシコキ ネティクス試験 (Tox 44 : 4.2.3.5.4.6)	23
2.6.6.7	局所刺激性試験	24
2.6.6.8	その他の毒性試験	24
2.6.6.8.1	依存性試験	24
2.6.6.8.1.1	弁別刺激作用に関する試験 (Genpharm 08 : 4.2.3.7.4.3、 Genpharm 09 : 4.2.3.7.4.1 及び Genpharm 10 : 4.2.3.7.4.2)	25
2.6.6.8.1.2	自己投与試験 (その1) (Genpharm 21 : 4.2.3.7.4.4)	25
2.6.6.8.1.3	自己投与試験 (その2) (Genpharm 22 : 4.2.3.7.4.5)	25
2.6.6.8.2	不純物の毒性試験	26
2.6.6.8.2.1	化合物B	26
2.6.6.8.2.2	化合物A	27
2.6.6.8.3	皮膚及び眼刺激性試験並びに吸入毒性試験 (Tox 52 : 4.2.3.7.7.1)	28
2.6.6.9	考察及び結論	29
2.6.6.10	参考文献	36

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

毒性試験の概略

アトモキセチン塩酸塩について、表 2.6.6-1 に示す一連の毒性評価を行った。使用した動物は薬物代謝試験結果から見て適切な種が選択されており、また試験デザインも適切であったと考える。投与量は、動物において毒性作用を生じるような高用量及び無影響量（NOEL）もしくは無毒性量（NOAEL）が得られるように選択した。アトモキセチン塩酸塩は小児での臨床適用を予定していることから、反復投与毒性及びトキシコキネティクス試験は成熟動物に加え幼若ラット及び幼若イヌを用いて実施し、動物の週齢または年齢が毒性もしくは薬物代謝に及ぼす影響を評価するとともに、成長、身体発育分化、神経行動発達、性成熟及び生殖能に対する毒性評価も併せて実施した。毒性試験（依存性試験を除く）及びトキシコキネティクス試験は、試験実施時に有効であった GLP（Good Laboratory Practices）を遵守して実施した。また、開発の最も初期に実施した試験を除き、個々の試験方法に関しては、日米欧医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン、欧州連合医薬品委員会（CPMP）ガイダンス、米国食品医薬品局（FDA）ガイダンスを参照した。

表 2.6.6-1.アトモキセチン塩酸塩の主要な毒性試験一覧表

試験種及び投与期間	投与経路	動物種
単回投与毒性試験	強制経口及び静脈内 強制経口／経鼻挿管	マウス、ラット イヌ、ネコ
反復投与毒性試験 3 ヶ月間投与試験 1 年間投与試験 2 週間投与試験 トキシコキネティクス試験	混餌／強制経口 混餌／強制経口 静脈内 混餌／強制経口	マウス、ラット、イヌ ラット、イヌ ラット、イヌ マウス、ラット、イヌ
遺伝毒性試験	-	<i>in vitro</i> 、 <i>in vivo</i>
がん原性試験 2 年間がん原性試験 補足試験	混餌 混餌／強制経口	マウス、ラット マウス、ラット
生殖発生毒性試験 胎児検査を含む一世代受胎胎能及び出生前/出生後試験 胚・胎児発生に関する試験	混餌 強制経口	ラット ラット、ウサギ
幼若動物を用いた試験 22-75 日間投与試験 生殖能・受胎能に関する試験 神経行動に関する試験 1 ヶ月間投与試験	強制経口 強制経口 強制経口 強制経口	幼若ラット 幼若ラット 幼若ラット 幼若イヌ
依存性試験 自己投与試験	静脈内	サル

単回投与毒性試験

単回投与毒性試験における経口投与時の半致死量 (LD₅₀) は、イヌでは雌雄ともに 37.5 mg/kg を超える用量、ラットでは雄で 203 mg/kg、雌で 190 mg/kg、マウスでは雄で 330 mg/kg、雌で 274 mg/kg と推定された。毒性学的所見としては、散瞳、瞳孔反射低下、流涎、嘔吐、嗜眠、下肢脱力、振戦、ミオクロニー性攣縮及び痙攣が観察された。

反復投与毒性試験

成熟動物を用いた反復投与毒性試験として、マウスでは 3 ヶ月間、ラット及びイヌでは最長 12 ヶ月間の毒性試験を実施した。アトモキセチン塩酸塩を混餌投与または強制経口投与した成熟げっ歯類における主要な毒性学的所見は、体重増加量減少及び軽度の肝毒性であった。アトモキセチン塩酸塩を 3 ヶ月及び 12 ヶ月間、飼料中濃度 0.03% (約 14 mg/kg/日に相当) 以上で混餌投与した雄ラットでは肝毒性が観察され、肝臓の斑紋形成及び褪色、相対肝重量の増加、肝細胞の空胞化及び血清アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の上昇 (18~46%) が認められた。同様の所見が、アトモキセチン塩酸塩 0.4% (約 600 mg/kg/日) を 3 ヶ月間混餌投与した雌雄マウスにおいても観察されたが、0.1% (約 150 mg/kg/日) 投与群では認められなかった。イヌでは、3 ヶ月及び 12 ヶ月間、16 mg/kg/日までの用量を投与しても肝毒性は認められず、散瞳、瞳孔反射低下、嘔吐及び振戦といった薬理作用に関連すると推察される一般症状が認められた。有害と考えられた作用は薬理作用に関連すると考えられる一般症状のみであり、最長 12 ヶ月までイヌに投与しても 8 mg/kg/日以下の用量では軽微であった。アトモキセチン塩酸塩はマウス、ラット及びイヌにおいて軽度の肝薬物代謝酵素誘導作用を示したが、アトモキセチンの明らかな代謝亢進は認められなかった。

遺伝毒性試験及びがん原性試験

一連の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験においてアトモキセチン塩酸塩に遺伝毒性は認められなかった。マウス及びラットにおける 2 年間のがん原性試験において、アトモキセチン塩酸塩との関連性が懸念されるがん原性は認められなかった。

生殖試験及び胚・胎児発生に関する試験

胎児検査を含む一世代受胎能及び出生前／出生後試験では、予備試験結果 (飼料中濃度 0.04% 以上の混餌投与により出生児の生存率低下及び 0.08% で出生児の体重低下) と異なり、用いた最高用量の 0.06% まで出生児に対する影響は観察されなかった。同試験における胎児検査で雌の胎児体重のわずかな減少が、親動物に影響を生じる用量よりも高い用量で認められた。これに伴い、明らかな用量依存性および統計学的有意差はないものの、胎児骨格検査において発育遅延を示唆する所見が高用量群で対照群よりもわずかに高い頻度で発現した。ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、アトモキセチン塩酸塩による胚胎児に対する影響はないことが示唆された。なお、ウサギの胚・胎児発生に関する試験を 3 試験実施し、そのうち 1 試験で胎児生存率及び雌胎児体重の軽度な低下及び心臓及び大血管における異常の発現率のわずかな増加が認めら

れ、当初アトモキセチン塩酸塩による影響を明確に否定できなかったが、その変化の程度は軽度かつ概して背景データの範囲内であったこと、更に再現性が得られなかったことから、アトモキセチン塩酸塩の投与との関連性はないものと判断した。

幼若動物を用いた試験

8 週齢の幼若イヌにアトモキセチン塩酸塩を 4、8 及び 16 mg/kg/日の用量で 1 ヶ月間投与し、成熟イヌにおける一般毒性所見と比較評価した。幼若イヌにおけるアトモキセチン塩酸塩の忍容性は 16 mg/kg/日まで良好であり、観察された毒性学的所見は成熟イヌでも認められた一般症状（振戦、嘔吐等）のみであり、すべての試験用量で発現したが高用量になるに従い発生頻度及び程度が高まる傾向が見られた。成熟イヌでは 16 mg/kg/日群のみで見られた振戦が幼若イヌでは 4 mg/kg/日群から発現したこと、また、概して成熟イヌと比較して幼若イヌにおけるアトモキセチンの血漿中曝露量が低かったことから、アトモキセチン塩酸塩の薬理作用に対する感受性が幼若イヌではわずかに高くなることが示唆された。体重増加量、神経学的検査、眼科学的検査及び心電図検査においてアトモキセチン塩酸塩の投与に関連した異常はなく、重大な臓器毒性も認められなかった。

10 日齢の幼若ラットに成熟期に至るまでの期間、アトモキセチン塩酸塩を 1、10 及び 50 mg/kg/日の用量で連日投与する一連の毒性試験を実施し、一般毒性、成長、身体発育分化、神経行動発達、性成熟及び受胎能への影響を評価した。高用量では、体重増加量減少及び振戦などの一般症状が観察されたが、骨成長は正常で、重大な臓器毒性は認められず、最終的に身体、行動並びに性的に正常な成熟に達し、受胎能も正常であった。身体発育分化及び神経行動発達に対する評価では、切歯萌出のわずかな遅延と自発運動の亢進が認められたが、これらの変化は軽微もしくは一過性であり、永続的な変化ではなかった。性成熟（膣開口及び包皮分離の発現日）のわずかな遅延（1.3～2.6 日）が認められたが、最終的にすべてのラットが性成熟に達し、膣及び包皮／陰茎亀頭の形成異常は認められず、更に性周期や生殖器官に対する形態学的異常も観察されなかったことから毒性学的な意義は低く、生殖能への実質的な影響はほとんどないと考えられた。また、精巣上部尾部の重量及び精子数がわずかに減少したが、これらの精巣上部への影響は、精子の成熟過程への影響ではなく、精巣上部での精子輸送を薬理的に促進したことによるものと推察された。精巣に対する影響は見られなかった。受胎能試験として 10 日齢の幼若ラットに性的発育期及び交配期間を通してアトモキセチン塩酸塩を投与したが、生殖能、受胎能ともに変化はなかった。アトモキセチン塩酸塩の作用部位であるノルアドレナリン作動性神経は、ラットにおいて精子輸送過程及び春機発動に関与するとされており、薬理学的作用の介在が示唆される。ヒトにおいても同様の作用が発現するか否かは不明であるが、ヒトでの性的発育期は青年期の幅広い年齢層にわたって発現するものであり、仮に軽度な性成熟の遅延が発現したとしても、臨床的意義は高くないと考えられる。また、ヒトにおいて精巣上部精子数が軽度に低下したと仮定しても、正常な精子形成が行われていれば生殖能への影響は考えにくい。以上の結果から、アトモキセチン塩酸塩はラットの性成熟をわずかに遅延させ、精巣上部精子数を軽度に減少させ

るものの、これらの作用は生殖能には実質的な影響をほとんど及ぼさないものと思われた。

本剤の作用機序、臨床で予定している適応症及び対象患者の年齢を考慮し、幼若ラット及び幼若イヌの毒性試験においてノルアドレナリントランスポーターが豊富な脳領域について特に詳細な病理組織学的検査を行ったが、特記すべき影響は認められなかった。

依存性試験

サルを用いた自己投与試験の結果から、アトモセチン塩酸塩に自己投与の増強作用はないと考えられた。

2.6.6.2 単回投与毒性試験 (Tox 01 : 4.2.3.1.2、Tox 02 : 4.2.3.1.1、Tox 03 :

4.2.3.1.4、Tox 04 : 4.2.3.1.3、Tox 05 : 4.2.3.1.5 及び Tox 06 : 4.2.3.1.6)

マウス、ラット及びイヌの経口投与による単回投与毒性試験、並びにマウス及びラットの静脈内投与による単回投与毒性試験を実施した。

げっ歯類の経口あるいは静脈内投与試験では、自発運動の亢進、流涎、嗜眠、身づくろいの減少、下肢脱力、振戦、痙攣あるいは昏睡が観察された。絶食マウスでは、すべての用量 (180~400 mg/kg) の経口投与時に一般症状の変化及び死亡が発現し、マウスにおける LD₅₀ は雄で 330 mg/kg、雌で 274 mg/kg であった (表 2.6.7.5 ; Tox 02)。絶食ラットでは、125 mg/kg の経口投与時に影響は認められなかったが、160 mg/kg 以上の用量で一般症状の変化及び死亡が発現し、LD₅₀ は雄で 203 mg/kg、雌で 190 mg/kg であった (表 2.6.7.5 ; Tox 04)。なお、安全性薬理試験試験において非絶食ラットに 300 mg/kg の用量で単回経口投与した場合の死亡は雌 10 匹中 1 匹のみであり (Genpharm 4)、絶食時よりも毒性の発現が緩やかであった。また、静脈内投与時の LD₅₀ はラットで 25 mg/kg、マウスで 34 mg/kg であり、経口投与した場合より毒性が顕著であった (表 2.6.7.5 ; Tox 01 及び 03)。

イヌに 25 及び 37.5 mg/kg の用量を単回経口投与したところ、頻回の嘔吐、流涎、振戦、ミオクロニー性攣縮、瞳孔反射低下及び散瞳が認められた (表 2.6.7.5 ; Tox 05)。いずれの用量においても死亡は認められず、投与 72 時間後には上記の所見は認められず正常であった。

ネコに 12.5 及び 25 mg/kg の用量を経鼻挿管投与したところ、自発運動の低下、軽度の運動失調、流涎、嘔吐、散瞳、さらに 25 mg/kg の用量で振戦及び痙攣が認められ、2 匹中 1 匹が死亡した (表 2.6.7.5 ; Tox 06)。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

本剤の開発初期において、マウスでは 3 ヶ月間 (Tox 16)、ラットでは最長 1 年間まで (Tox 08 及び 18) の混餌投与による毒性試験を実施した。イヌでは最長 1 年間までの反復投与毒性試験を実施した (Tox 07 及び 17)。これらの反復投与毒性試験は適切な

GLP に準拠して実施したが、トキシコキネティクス試験を実施していなかったり、実施したが有意なデータが得られなかったり、あるいは血中の第 I 相反応主要代謝物測定を行っていなかった。そのため、マウスにおける最長 3 ヶ月間まで (Tox 34 及び 55)、並びにラット (Tox 32) 及びイヌ (Tox 35) における 3 ヶ月間投与によるトキシコキネティクス試験を行った (マウスのトキシコキネティクス試験の結果はがん原性試験の用量設定試験の項に示す)。さらに、ラット及びマウスの混餌投与試験では体重及び摂餌量の低下が認められたことから、これらの影響が薬剤混合飼料の嗜好性低下に起因する可能性を検討する目的で、1 ヶ月間強制経口投与試験も実施し体重増加及び摂餌量に及ぼす影響を評価した (Tox 53 及び 54; 結果はがん原性試験の用量設定試験の項に示す)。加えて、ラット及びイヌの 2 週間点滴静脈内投与試験を実施し (Tox 50 及び 51)、臨床薬理試験 (絶対的バイオアベイラビリティ試験) の裏付けとした。

2.6.6.3.1 マウス反復投与毒性試験

2.6.6.3.1.1 マウス 3 ヶ月間混餌投与毒性試験 (Tox 16 : 4.2.3.2.1)

B6C3F₁ マウス (15 匹/性/用量群; 5~6 週齢) にアトモキセチン塩酸塩を飼料中濃度 0、0.025、0.1 及び 0.4% (時間加重平均用量: 約 0、37.5、150 及び 600 mg/kg/日に相当) で 3 ヶ月間混餌投与し毒性を評価した (表 2.6.7.7A; Tox 16)。用量は、マウス 2 週間混餌投与予備試験 (表 2.6.7.6; 試験番号 M00382) で用いた最高用量 (アトモキセチン塩酸塩の飼料中濃度: 0.4%) において、体重増加量の有意な低下及びびまん性の肝細胞空胞化が見られたことに基づき、高用量を 0.4% に設定した。

アトモキセチン塩酸塩の投与と関連があると考えられる死亡及び明らかな一般症状の変化はなかった。高用量群の雌雄ともに平均最終体重の有意な低下 (9~13%、対照群との比較; 以下同様) 及び平均累積体重増加量の有意な低下 (32~39%)、相対肝重量の増加 (11~18%)、肝ミクロソーム酵素活性の増加、びまん性の肝細胞空胞化の発現率上昇が認められた。高用量群の雌では肝臓が褪色し、血清 ALT が有意に上昇した (43%)。以上、アトモキセチン塩酸塩の投与と関連した影響は高用量群の雌雄にのみ見られたことから、本試験の無毒性量は雌雄ともに 0.1% (約 150 mg/kg/日) であった。

2.6.6.3.2 ラット反復投与毒性試験

2.6.6.3.2.1 ラット 3 ヶ月間混餌投与毒性試験 (Tox 08 : 4.2.3.2.2)

Fischer 344 ラット (15 匹/性/用量群; 5~6 週齢) にアトモキセチン塩酸塩を飼料中濃度 0、0.025、0.05 及び 0.1% (時間加重平均用量: 雄で約 0、17、33 及び 65 mg/kg/日、雌で約 0、18、37 及び 71 mg/kg/日に相当) で 3 ヶ月間混餌投与し毒性を評価した (表 2.6.7.7B; Tox 08)。用量は、ラット 2 週間反復混餌投与予備試験 (表 2.6.7.6; 試験番号 R06580、アトモキセチン塩酸塩の飼料中濃度: 0、0.025、0.05、0.1、0.2 及び 0.4%) において、0.1% 以上の投与群の雄で体重増加量の低下が見られたことに基づき設定した。この予備試験において死亡はなく、アトモキセチン塩酸塩の投与に関連した病理所見も認められなかった。

死亡及び明らかな一般症状の変化はなかった。すべてのアトモセチン塩酸塩投与群で体重及び体重増加量の低下が認められたが、明確な用量反応関係は見られなかった。平均最終体重は対照群と比較して雄で4~7%、雌で7~9%、平均累積体重増加量は雄で7~12%、雌で13~21%低下した。摂餌量はすべての投与群の雌で有意に低下した。高用量群の雄で相対肝重量が増加し(8%)、血清ALTが上昇し(18%)、剖検時には肝臓の斑紋形成が併せて認められた。病理組織学的検査では、中及び高用量群の雄で限局性の肝細胞空胞化が発生率及び重症度ともに増加した。肝細胞の空胞は脂肪滴であることが特殊染色により明らかとなっている。雄ではアトモセチン塩酸塩の用量増加に伴い肝*p*-ニトロアニソール代謝酵素が軽度に誘導された。前立腺重量(絶対重量、対体重及び脳重量相対重量)が中用量群でのみ有意に低下したが、病理組織学的変化は認められなかった。以上、アトモセチン塩酸塩の投与と関連すると考えられる毒性学的影響として、0.025%以上の群の雌雄で体重増加量の低下が、0.05%以上の群の雄で限局性の肝細胞空胞化が発生率及び重症度ともに増加したことから、本試験におけるアトモセチン塩酸塩の無毒性量は雌雄ともに0.025%(約17~18 mg/kg/日)未満であった。

2.6.6.3.2.2 ラット3ヵ月間混餌投与トキシコキネティクス試験(Tox 32 : 4.2.3.2.3)

Fischer 344 ラット(6~7週齢)にアトモセチン塩酸塩を飼料中濃度0、0.01、0.03及び0.1%(時間加重平均用量:雄で約0、7、21及び69 mg/kg/日、雌で約0、8、24及び75 mg/kg/日に相当)で3ヵ月間混餌投与し、血漿中アトモセチン及びその第I相反応主要代謝物である4-ヒドロキシ体(化合物424478)及びN-デスメチル体(化合物137877)のトキシコキネティクス評価並びに肝ミクロソーム酵素活性を評価した(表2.6.7.7C; Tox 32)。このほか、毒性評価項目として、生死及び一般症状観察、体重及び摂餌量測定を実施した。用量については、ラット1年間混餌投与毒性試験(Tox 18)及びがん原性試験(Tox 19)と同一の用量段階であり、かつ3ヵ月間混餌投与毒性試験(Tox 08)の用量域を含む用量を設定した。

アトモセチンの血漿中曝露量は飼料中濃度と比例的であった。投与開始当初は雌雄間で実質的な差がなかったが、混餌投与の継続により雄で血漿中アトモセチン濃度が35~45%低下した。この低下は試験期間中に特に雄の体重が顕著に増加したことが原因と考えられた。また、肝チトクロームP450酵素の誘導が認められ、誘導の程度は雌で高かった。第I相反応主要代謝物の血漿中濃度はアトモセチンと比べ低く、ほぼすべての測定時点で検出されたのは0.1%投与群の4-ヒドロキシ体のみであった。N-デスメチル体濃度は4-ヒドロキシ体よりもはるかに低かった。アトモセチン塩酸塩の投与に関連した毒性変化として、対照群と比べ平均体重、体重増加量及び摂餌量の一過性から持続的な低下が見られた。これらの結果は3ヵ月間及び1年間毒性試験の所見とほぼ一致するものであった。低及び中用量群の雌各1匹がそれぞれ採血操作後に死亡したが、高用量群には死亡例が発現していないことから、被験物質投与に関連しない死亡であると考えられた。

2.6.6.3.2.3 ラット3ヵ月間固定用量混餌投与毒性・トキシコキネティクス試験 (Tox 46 : 4.2.3.2.4)

Fischer 344 ラット (15 匹/性/用量群 ; 6~7 週齢) にアトモキセチン塩酸塩を、1 日あたりの用量が 0、5、40、80 及び 160 mg/kg/日となるように、ほぼ週に 1 回混餌濃度を調整して 3 ヶ月間混餌投与し、毒性及びトキシコキネティクスを評価した (表 2.6.7.7D ; Tox 46)。この試験は、先に実施したラット 3 ヶ月間 (Tox 08) 及び 1 年間混餌投与毒性試験 (Tox 18) 並びにがん原性試験 (Tox 19) で用いた用量 (最高用量 : 0.1%、時間加重平均用量 : 約 71 mg/kg/日) の妥当性を検討する目的で実施した。

アトモキセチンの血漿中曝露量は用量比例的に増加し、雌雄でほぼ同等であった。アトモキセチンの血漿中濃度と比較し第 I 相反応主要代謝物の血漿中濃度は低く、中でも N-デスメチル体の血漿中濃度は 4-ヒドロキシ体より低かった。この結果は先に実施した 3 ヶ月間混餌投与毒性試験と類似するものであった。一方、先に実施した 3 ヶ月間混餌投与毒性試験で見られたような血漿中アトモキセチン濃度の経時的低下は見られず、むしろ試験期間を通してほぼ一定か、またはわずかに増加した。これは、アトモキセチン塩酸塩の体重あたりの摂取量を試験期間中一定に保つため、飼料中濃度を調整した点が過去の試験とは異なるためである可能性がある。死亡はなく、160 mg/kg 群の雄 2 匹に消瘦が認められた以外に明らかな一般症状の変化は見られなかった。40 mg/kg 以上の用量群で顕著で用量依存的な体重及び摂餌量低下が見られた。平均最終体重は 40、80 及び 160 mg/kg 群でそれぞれ対照群と比べて 8%、13~14% 及び 19~23% 低下した。先の試験と同様に、160 mg/kg 群の雄で相対肝重量の軽微な増加 (10%) が見られた。さらに病理組織学的検査では 40 mg/kg 以上の投与群の雄で肝小葉中間領域に肝細胞の空胞化が見られ、高用量になるに従い変化の程度が増大する傾向があった。全アトモキセチン塩酸塩投与群における脾臓の相対重量、40 mg/kg 以上の用量群における前立腺の相対重量、80 mg/kg 以上の用量群の雌における副腎の相対重量及び 160 mg/kg 群の子宮における相対重量にそれぞれ低下を認めたが、組織学的変化を伴っていなかったことからいずれも有害作用であるとは判断しなかった。なお、臓器重量における同様の変化は他のラット反復投与毒性試験でも散見されている。以上、アトモキセチン塩酸塩の投与と関連すると考えられる毒性学的影響として、40 mg/kg 以上の投与群の雌雄で体重増加抑制及び摂餌量低下が見られ、さらに 40 mg/kg 以上の投与群の雄で肝細胞の空胞化が認められたことから、この試験の無毒性量は雌雄ともに 5 mg/kg/日であった。飼料中濃度を一定にして混餌投与したラット 3 ヶ月間混餌投与毒性試験 (Tox 32) と比較すると、本試験で用いた高用量は約 1.5~3 倍の用量であった。本試験では先に実施したラット 3 ヶ月間及び 1 年間混餌投与毒性試験並びにがん原性試験と同様、明らかな体重低下作用が認められたが、その変化の程度は過去の試験と比較し強かった。一方、その他認められた所見の種類及び程度は過去の試験とよく類似しており、新規の毒性発現はなかった。このことから、先に実施した試験における用量設定が妥当であり、毒性評価が適切に行われていたことが裏付けられたと考える。

2.6.6.3.2.4 ラット1年間混餌投与毒性試験 (Tox 18 : 4.2.3.2.5)

Fischer 344 ラット (20 匹/性/用量群 ; 5~6 週齢) に、アトモキセチン塩酸塩を飼料中濃度 0、0.01、0.03 及び 0.1% (時間加重平均用量 : 雄で約 0、5、14 及び 46 mg/kg/日、雌で約 0、6、17 及び 56 mg/kg/日に相当) で 1 年間混餌投与し毒性を評価した (表 2.6.7.7E ; Tox 18) 。用量は、先に実施したラット 3 ヶ月間混餌投与試験 (Tox 08、飼料中濃度 : 0.025、0.05 及び 0.1%) において、摂餌量の低下、血清 ALT 値の上昇、限局性の肝細胞空胞化の重症度の増加が見られたことを基に設定した。

アトモキセチン塩酸塩の投与に関連した死亡及び明らかな一般症状の変化は見られなかった。低用量群の雄 1 匹が投与 330 日に慢性呼吸器疾患で死亡したが、投与との関連性はないと判断した。体重、体重増加量及び摂餌量低下が、高用量群の雄並びに全投与群の雌で生じた。飼料利用効率は高用量群の雌雄でわずかに低下した。高用量群では、投与 3~12 ヶ月の間に体重が雄で 8~12%、雌で 10~18%、体重増加量は雄で 10~17%、雌で 16~25% 低下した。平均最終体重は高用量群の雄で 10%、雌で 17%、中用量群の雌で 10% 低下した。高用量群の雄では相対肝重量が増加し (19%)、血清 ALT が上昇し (46%)、剖検時に肉眼的に肝臓の斑紋形成及び褪色化が認められた。中及び高用量群の雄で肝細胞の限局性空胞化の発生率及び重症度が増加し、高用量群の雄では肝肉芽腫の発生率増加が顕著であった。肝 p-ニトロアニソール代謝酵素のわずかな誘導が中及び高用量群の雌で認められた。低用量群では、わずかな摂餌量減少、体重及び体重増加量の低下が雌で見られたが、雄にアトモキセチン塩酸塩の投与によると考えられる影響は認められなかったことから、本試験におけるアトモキセチン塩酸塩の無毒性量は、雄では 0.01% (約 5~6 mg/kg/日)、雌では 0.01% (約 5~6 mg/kg/日) 未満であると判断した。

2.6.6.3.2.5 ラット2週間点滴静脈内投与毒性試験 (Tox 51 : 4.2.3.2.6 及び ADME49 : 4.2.2.2.5)

Fischer 344 ラットにアトモキセチン塩酸塩を 0、5、15 及び 20 mg/kg の用量で、大腿静脈に外科的に埋め込んだ留置カテーテルから毎日 20 分かけて 2 週間点滴静注し、毒性評価を行った (10 匹/性/群 ; 13~14 週齢 ; 表 2.6.7.7F ; Tox 51) 。また、別試験にてトキシコキネティクス評価 (8 匹/性/群 ; ADME 49) を行った。この試験は絶対バイオアベイラビリティを検討する臨床薬理試験の開始にあたり、静脈内投与の妥当性を裏付けるために実施したものである。投与量はラット単回点滴静注内投与予備試験 (表 2.6.7.6、試験番号 : Inveresk No. 659893) の結果を基に設定した。すなわち、予備試験では用量増量に伴い毒性発現が急激に増強し、30 mg/kg 群では振戦、円背位、四肢蒼白を含む重篤な一般症状が生じたことから、20 mg/kg を高用量に設定した。

アトモキセチンの血漿中濃度は 20 分間の点滴静脈内投与終了時に最高に到達し、消失半減期は 1.3~1.5 時間であった。点滴静脈内投与時のアトモキセチン曝露量は経口投与時と比べて高く、20 mg/kg の用量を点滴静脈内投与時の C_{max} 及び AUC 値は、飼料中濃度 0.1% (時間加重平均用量 : 約 69~75 mg/kg/日に相当) の用量での混餌投与時と比較して、それぞれ約 50 倍及び 4 倍以上であった。点滴静脈内投与時の 4-ヒドロキシ体及び N-デスメチル体の血漿中曝露量はアトモキセチンのそれぞれ 1.5% 未満及び 0.2% 未

満であった。アトモキセチン塩酸塩の投与に関連した死亡は見られず、一般症状として 20 mg/kg 群で円背位が、全アトモキセチン塩酸塩投与群で斜頭がそれぞれ認められた。さらに、トキシコキネティクス評価用動物の 20 mg/kg 群の 16 匹中 3 匹に痙攣を認めた。15 及び 20 mg/kg 群では体重増加量及び摂餌量低下が認められた。さらに 15 及び 20 mg/kg 群で軽度から中等度の精囊上皮萎縮が認められ、前立腺重量の低下も認められたが、関連する前立腺の病理組織学的変化はなかった。血液学的検査及び血液生化学的検査でアトモキセチン塩酸塩の投与に関連した重大な変化は認めなかった。以上、全アトモキセチン塩酸塩投与群の雌雄で斜頭が認められたことから、ラットにおける本試験の無毒性量は雌雄ともに 5 mg/kg/日未満であった。

2.6.6.3.3 イヌ反復投与毒性試験

2.6.6.3.3.1 イヌ 3 ヶ月間反復投与毒性試験 (Tox 07 : 4.2.3.2.7)

成熟ビーグル犬 (4 匹/性/用量群 ; 14~16 ヶ月齢) にアトモキセチン塩酸塩をカプセルとして 0、4、8 及び 16 mg/kg の用量で 1 日 1 回 3 ヶ月間反復経口投与し、毒性を評価した (表 2.6.7.7G ; Tox 07)。投与量は、2 週間反復投与予備試験 (表 2.6.7.6、試験番号 : D3540) において、10 及び 20 mg/kg で散瞳及び自発運動の亢進が見られ、20 mg/kg の用量の 2 週間投与では死亡はなかったものの、3 ヶ月間の投与には耐えられない可能性があると考えられたことから、本試験では 16 mg/kg を高用量に設定した。

肝 *p*-ニトロアニソール *O*-デメチラーゼ活性及びチトクローム P450 に関する結果から、アトモキセチン塩酸塩は軽微に肝ミクロソーム酵素を誘導することが示唆された。途中死亡例はなかった。一般症状として食欲不振が高用量群の雌雄及び低・中用量の雌で、嘔吐が低用量及び高用量群の雌で、間代性振戦が高用量群の雌で認められた。また、高用量群の雌雄で散瞳が、全用量群の雌雄で瞳孔反射の低下が認められたが、これら瞳孔に対する影響は本剤の薬理作用による変化であり、毒性所見とは考えなかった。低及び中用量群における作用は軽微であり、発現状況も一過性であった。いずれの投与群においても血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査及び骨髄検査パラメータに重大な毒性学的変化は見られなかった。さらにアトモキセチン塩酸塩投与に起因すると考えられる肉眼的及び病理組織学的変化もなかった。以上、高用量群の雄では食欲不振が、雌では間代性振戦が、並びに全アトモキセチン塩酸塩投与群で食欲不振が認められたことから、無毒性量は雄で 8 mg/kg、雌で 4 mg/kg 未満であると考えられた。

2.6.6.3.3.2 イヌ 3 ヶ月間反復投与トキシコキネティクス試験 (Tox 35 : 4.2.3.2.8)

成熟ビーグル犬 (3 匹/性/用量群、8~10 ヶ月齢) にアトモキセチン塩酸塩をカプセルとして 0、4、8 及び 16 mg/kg の用量で 1 日 1 回 3 ヶ月間経口投与し、アトモキセチンとその第 I 相反応主要代謝物である 4-ヒドロキシ体及び N-デスメチル体の血漿中薬物動態並びに肝ミクロソーム酵素活性を評価した (表 2.6.7.7H ; Tox 35)。

先に実施した 3 ヶ月試験とほぼ同様の一般症状の変化及び高用量群の雄で平均体重増加量の低下が認められた。用量の増加に伴いアトモキセチン及び代謝物の曝露量は増加した。血漿中アトモキセチンは投与約 2 時間後に C_{max} に達し、みかけの消失半減期は 3.2

～4.5 時間であった。血漿中への蓄積はわずかであった。いずれの用量群においても、血漿中濃度はアトモキシチンが最も高く、次いで N-デスメチル体であり、4-ヒドロキシ体はかなり低かった。また肝チトクローム P450 酵素誘導が確認された。しかしながらアトモキシチン及び各代謝物の全身曝露量は 90 日間の試験を通じて一定した値を示し、アトモキシチン塩酸塩はイヌにおいて自己代謝を亢進しないことが示唆された。

2.6.6.3.3.3 イヌ 1 年間反復投与毒性試験 (Tox 17 : 4.2.3.2.9)

ビーグル犬 (4 匹/性/用量群 ; 9～10 ヲ月齡) にアトモキシチン塩酸塩をカプセルとして 0、4、8 及び 16 mg/kg の用量で 1 日 1 回 1 年間反復経口投与し、毒性を評価した (表 2.6.7.7I ; Tox 17)。先に実施した 3 ヲ月間投与毒性試験 (Tox 07) で用いた用量が無毒性量及び毒性用量を含む用量であったことから、本試験でも同一の用量を設定した。

高用量群の雄 1 匹が 308 日目に死亡したが、この動物の死因は首輪がケージの床に引っかかったことによる窒息死であり、明らかにアトモキシチン塩酸塩投与と関連がない死亡であると判断した。他のすべての動物は生存した。薬理作用と関連すると推察される一般症状以外に、有害な影響は認められなかった。アトモキシチン塩酸塩投与に起因する一般症状の変化として、すべての動物で散瞳が、また中及び高用量群において低頻度で食欲不振及び嘔吐が認められた。さらに間代性振戦が高用量群のみでほぼ試験期間を通じて発現し、有害と考えられた。散瞳及び振戦は最も重要な一般症状であり、アトモキシチン塩酸塩投与との関連性が明確であった。これらの一般症状は投与期間終了時には消失していた。低用量群における作用は軽微であり、発現状況も一過性であった。その他、タール便及び粘液便が中及び高用量群において低頻度で生じた。眼科学的検査においてアトモキシチン塩酸塩投与と関連すると考えられる異常は観察されなかった。試験期間中を通して顕著な体重変化はなく、摂餌量にも変化はなかった。いずれの投与群にも血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、骨髄、臓器重量パラメータに毒性学的に重要と考えられる変動は認められなかった。アトモキシチン塩酸塩は軽微な肝ミクロソーム酵素誘導作用を示した。アトモキシチン塩酸塩投与に関連した肉眼的及び病理組織学的変化は認められなかった。以上、振戦が高用量群の雌雄で見られたことから、無毒性量は雌雄ともに 8 mg/kg であると推定した。

2.6.6.3.3.4 イヌ 2 週間反復静脈内投与毒性試験 (Tox 50 : 4.2.3.2.10)

成熟ビーグル犬 (3 匹/性/群 ; 9～20 ヲ月齡) にアトモキシチン塩酸塩を 0、3、6 及び 12 mg/kg の用量で 20 分間の点滴静脈内投与を 2 週間連日実施し、毒性及びトキシコキネティクス評価を行った (表 2.6.7.7J ; Tox 50)。この試験は絶対バイオアベイラビリティを検討する臨床薬理試験の開始にあたり、静脈内投与の妥当性を裏付けるために実施したものである。

用量は、予備試験としてイヌ 1 例/性/群にアトモキシチン塩酸塩を 4、8、12 及び 16 mg/kg の用量で 20 分間の単回点滴静脈内投与した時の一般症状を基に設定した (表 2.6.7.6 ; 毒性試験番号 D04299)。すなわち予備試験では、全用量群で散瞳及び瞳孔反射低下が、8、12 及び 16 mg/kg の雌で嘔吐が、8、12 及び 16 mg/kg で中等度の運動失調、

軽度～高度の全身性振戦が、さらに 16 mg/kg でミオクロニー性攣縮及び痙攣が生じた。先に実施した 3 ヶ月間 (Tox 07) 及び 1 年間 (Tox 17) 反復経口投与毒性試験では 16 mg/kg を反復投与しても重篤な毒性は認められず、また成熟イヌにおけるアトモキセチン塩酸塩経口投与時の絶対的バイオアベイラビリティは約 73%であったことから (ADME 32)、12 mg/kg の用量を 20 分かけて 2 週間点滴静脈内投与しても重篤な毒性は生じないであろうと考え、本試験では高用量を 12 mg/kg とし、以下 6 及び 3 mg/kg とした。

いずれの用量でも、20 分間の点滴終了時にアトモキセチンは C_{max} に到達し、消失半減期は 2.7～5.9 時間であった。アトモキセチンの血漿中への蓄積は認められなかった。N-デスメチル体及び 4-ヒドロキシ体の血漿中曝露量はアトモキセチンと比べてそれぞれ 24～57%及び 7～11%であった。間代性痙攣、側臥位、頭部痙動及び前肢パドリング等、中枢神経系に対する重度の影響が 12 mg/kg 群の 2 匹で生じた。そのため、高用量群は投与開始 3 日目に 12 mg/kg から 10 mg/kg に減量したところ、それ以後はこれらの中枢神経系に対する重度の作用は消退した。しかし、10 mg/kg に減量後も振戦が認められ、うち雄 2 匹では試験期間中持続した。同群では刺激に対する反応性亢進、自発運動の亢進、常同行動、散瞳、瞳孔反射低下及び瞳孔反射消失も生じた。一過性の振戦及び流涎が 6 mg/kg 群の 1 匹で、また瞳孔への影響が 6 及び 3 mg/kg 群で認められた。なお、散瞳及び瞳孔反射低下はアトモキセチン塩酸塩投与群のすべてのイヌで用量に関係なく生じた。どのアトモキセチン塩酸塩投与群にも体重に影響は見られなかったが、すべての群で摂餌量の減少が認められ、12/10 mg/kg 群で最も程度が大きかった。相対臓器重量に変化はなく、アトモキセチン塩酸塩の投与に関連した形態学的変化も認められず、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査パラメータにも明らかな変化は認められなかった。以上のように、12/10 mg/kg 群で中枢神経系に対する重度の影響が見られ、また 6 mg/kg 群の雌 1 例で一過性の軽度な中枢神経系への作用が生じたことから、本試験における雄の無毒性量は 6 mg/kg/日、雌の無毒性量は 3 mg/kg/日であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

アトモキセチン塩酸塩について、*in vitro* 及び *in vivo* の一連の遺伝毒性試験を実施した。本薬の開発初期において、*in vitro* 試験として、エームス変法 (勾配プレート法) による細菌を用いる復帰突然変異試験 (表 2.6.7.8A ; Tox 12 : 4.2.3.3.1.1)、マウスリンパ腫由来培養細胞を用いる遺伝子突然変異試験 (表 2.6.7.8D ; Tox 14 : 4.2.3.3.1.4) 及びラット初代培養肝細胞を用いる不定期 DNA 合成試験 (表 2.6.7.8E ; Tox 13 : 4.2.3.3.1.5) を、並びに、*in vivo* 試験として、チャイニーズハムスター骨髄細胞を用いる姉妹染色分体交換試験を行った (表 2.6.7.9B ; Tox 15 : 4.2.3.3.2.2)。不定期 DNA 合成試験を除いて、*in vitro* 試験はすべて Aroclor 誘導ラットから調製した肝 S9 分画を用いた代謝活性化系の存在下/非存在下で実施した。一連の *in vitro* 及び *in vivo* 試験においてアトモキセチン塩酸塩は遺伝毒性を示さなかった。

上記のいずれの試験も適切な GLP に準拠して実施したが、1998 年に遺伝毒性試験実施に関する経済協力開発機構 (OECD) ガイダンスが発効されたことから、このガイドラインに従い、新たに細菌を用いる復帰突然変異試験 (表 2.6.7.8B ; Tox 28)、チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞を用いる染色体異常試験 (表 2.6.7.8C ; Tox 30) 及びマウス骨髄を用いる小核試験 (表 2.6.7.9A ; Tox 29) を実施した。これらの試験結果を以下に示す。

2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 (Tox 28 : 4.2.3.3.1.2)

ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA1535、TA1537、TA98、TA100 及び大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2uvrA を用い、S9 分画を用いた代謝活性化系の非存在下及び存在下でアトモキセチン塩酸塩の復帰突然変異誘発性を検討した。予備試験・本試験とも代謝活性化系の非存在下及び存在下ともに 400~2000 µg/プレートの濃度範囲で実施した (表 2.6.7.8B ; Tox 28)。

本試験において、アトモキセチン塩酸塩は復帰突然変異を誘発しなかった。

2.6.6.4.2 チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞を用いる染色体異常試験 (Tox 30 : 4.2.3.3.1.3)

チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞 (CHO) を用いる染色体異常試験を実施した。代謝活性化法の非存在下では 40、57.5 及び 70 µg/mL の濃度で 4 時間処理、あるいは 15、30 及び 35 µg/mL の濃度で 19 時間処理し、代謝活性化法の存在下では 100、102 及び 112 µg/mL の濃度で 4 時間処理した。陽性対照にはマイトマイシン C (代謝活性化系の非存在下) 及びシクロフォスファミド (代謝活性化系の存在下) を用いた (表 2.6.7.8C ; Tox 30)。

いずれの処理によっても染色体構造異常は誘発されなかったが、核内倍加細胞の出現頻度がわずかに増加した。*In vitro* における核内倍加と染色体構造異常の関係や臨床的意義は不明であるとされている (Sutou 1974)。核内倍加は正確な核型倍加に至る過程であり、様々な植物や動物の正常組織で観察される。リンパ球や線維芽細胞など、ヒト培養リンパ球及び他の哺乳類細胞腫のルーチンの染色体標本でもよく見られる (Schmid 1966)。核内倍加の機序として、細胞膜の修飾や細胞骨格の崩壊 (Sutou 1975)、細胞成分のリン酸化阻害 (Sutou 1981)、正常な DNA 複製停止 (Huang 1983) が考えられている。様々な作用因子 (低温、放射線照射、化学薬品) が核内倍加をもたらすことから、本試験で認められた核内倍加細胞のわずかな増加が分裂細胞膜の修飾から生じている可能性も考えられ、必ずしも DNA に対する作用によるものであるとは断定できない。したがって、この *in vitro* の現象の臨床的意義は不明である。

2.6.6.4.3 マウス骨髄を用いる小核試験 (Tox 29 : 4.2.3.3.2.1)

マウスの骨髄を用いて *in vivo* 小核試験を実施した。ICR マウス (5 匹/性/群) にアトモキセチン塩酸塩を 0 (溶媒対照、精製水)、58、116 及び 232 mg/kg の用量で 2 日間連続経口投与し、2 回目投与の 24 時間後に屠殺して骨髄を採取し小核を有する多染性赤

血球の比率を算出した。予備試験（表 2.6.7.9G、試験番号 980311MTT1671）の結果に基づき、半数致死量の 80%の用量である 232 mg/kg を高用量として設定した。陽性対照群にはシクロフォスファミドを単回経口投与し 24 時間後に同様に骨髄を採取し観察を行った（表 2.6.7.9A ; Tox 29）。

一般症状の変化として、低用量群の雄 1 匹及び高用量の雄 2 匹で立毛が、中及び高用量群で振戦が、また高用量群で運動失調が見られ、試験中に高用量群の雌雄 1 匹ずつが死亡した。アトモキセチン塩酸塩投与群で、小核を有する多染性赤血球の増加はなかった。以上、アトモキセチン塩酸塩は本試験においてマウス骨髄細胞に小核を誘発しないと結論した。

更に、N-デスメチル体についても、エームス変法（勾配プレート法）による細菌を用いる復帰突然変異試験、マウスリンパ腫由来培養細胞を用いる遺伝子突然変異試験、ラット初代培養肝細胞を用いる不定期 DNA 合成試験及びチャイニーズハムスター骨髄細胞を用いる姉妹染色分体交換試験を実施した（表 2.6.7.9C～2.6.7.9F ; Tox 22 : 4.2.3.7.5.3、Tox 23 : 4.2.3.7.5.2、Tox 24 : 4.2.3.7.5.1 及び Tox 25 : 4.2.3.7.5.4）。N-デスメチル体の遺伝毒性は陰性であった。

2.6.6.5 がん原性試験

本剤は長期間にわたる投与が行われる可能性があることから、マウス及びラットの 2 年間がん原性試験を実施した。本試験で用いた高用量は最大耐量であった（ICH ガイドライン、1994 年）。

マウス及びラットがん原性試験では、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定（ラットのみ）、血液生化学的検査、血液学的検査、酵素誘導の検査（ラットのみ）、臓器重量測定、剖検肉眼的観察、病理組織学的検査を行った。トキシコキネティクス測定はがん原性試験では実施しなかったことから、後日、がん原性試験で用いた用量範囲を含む用量を用いて、ラット及びマウスの 3 ヶ月間トキシコキネティクス試験を実施した（表 2.6.7.7C 及び 2.6.7.10E ; Tox 32 及び 34）。

2.6.6.5.1 マウスがん原性試験

(1) 用量設定根拠

マウス 2 年間試験におけるアトモキセチン塩酸塩用量は飼料中濃度 0、0.03、0.1 及び 0.3%とした。用量設定は、先に実施した 3 ヶ月間毒性試験において、飼料中 0.4%のアトモキセチン塩酸塩において雌及び雄でそれぞれ 9 及び 13%の最終体重減少、32～39%の体重増加量減少及び肝臓に対する影響があったことに基づいた（表 2.6.7.7A ; Tox 16）。さらに、以下に示すように、投与期間中に生じた平均体重増加量の大幅な低下は、アトモキセチン塩酸塩混合飼料の嗜好性低下により摂餌量が低下したためではなく、アトモキセチン塩酸塩の薬理作用又は毒性作用によるものである可能性が高いこと、飼料中アトモキセチン濃度が 0.3%を超える用量では 2 年間の試験中に生存率が低下するおそれが

あることが後日実施した試験より示唆され (Tox 26、Tox 54) がん原性試験の用量設定の妥当性が示された。

摂餌量への影響に関するマウス混餌投与試験 (Tox 26 : 4.2.3.4.1.3)

B6C3F₁ マウス (5~6 週齢 ; 24 匹/性/用量群) にアトモセチン塩酸塩を飼料中濃度 0 及び 0.3% で 5 ヶ月半混餌投与し、アトモセチン塩酸塩がマウスの摂餌量に及ぼす影響を評価した (表 2.6.7.10C ; Tox 26)。0.3% 群では、摂餌量の減少は比較的軽度であったが (8~11%)、顕著な体重増加量減少 (44~55%) が見られることが示された。これらのデータから、アトモセチン塩酸塩投与中に生じた平均体重増加量の大幅な減少はアトモセチン塩酸塩の薬理作用又は毒性作用によるものである可能性が高く、また、飼料中アトモセチン濃度が 0.3% を超える用量では 2 年間の試験中に生存率が低下するおそれがあることが示唆された。

摂餌量への影響に関するマウス 1 ヶ月間強制経口投与試験 (Tox 54 : 4.2.3.4.1.8)

B6C3F₁ マウス (6~7 週齢 ; 10 匹/性/用量群) にアトモセチン塩酸塩を 0、50、100 及び 150 mg/kg の用量で 1 ヶ月間強制経口投与し、摂餌量及び体重増加量に及ぼす影響を評価した (表 2.6.7.10C ; Tox 54)。本試験でも摂餌量及び体重増加量低下が混餌投与試験と同様に認められた。このことから、一連の混餌投与試験で見られた体重増加量の低下はアトモセチン塩酸塩の薬理作用又は毒性作用によるものである可能性が高く、アトモセチン塩酸塩混合飼料の嗜好性低下により摂餌量が低下したためではないと考えられた。

(2) マウスの反復投与におけるトキシコキネティクス (Tox 34 : 4.2.3.4.1.5、Tox 55 : 4.2.3.4.1.6)

B6C3F₁ マウスにアトモセチン塩酸塩を飼料中濃度 0.025、0.1 及び 0.4% の濃度で 3 ヶ月間混餌投与し、アトモセチン及びとその第 I 相反応主要代謝物である 4-ヒドロキシ体及び N-デスメチル体の血漿中薬物動態と肝ミクロソーム酵素活性を評価した (表 2.6.7.10E ; Tox 34)。なお、補足として、がん原性試験で用いられた用量 (飼料中濃度 0.03、0.1 及び 0.3%) を含む用量を用いて 1 ヶ月間トキシコキネティクス試験 (飼料中濃度 0.03、0.1、0.3 及び 0.4%) も実施した結果 (表 2.6.7.10F ; Tox 55)、3 ヶ月トキシコキネティクス試験と同様の結論が得られている。

3 ヶ月間トキシコキネティクス試験では、すべてのアトモセチン塩酸塩投与群でアトモセチンの血漿中濃度が測定可能であり、90 日間の試験期間中はほぼ一定した値を示し、投与 5 日では高用量群の血漿中濃度は雄は雌と比べて 2~3 倍高値であった (表 2.6.7.10E ; Tox 34)。代謝物の血漿中濃度は 0.4% 投与群ではほとんどの測定ポイントで測定可能であり、このうち 4-ヒドロキシ体濃度は N-デスメチル体よりかなり低かった。0.025 及び 0.1% 投与群ではいずれの代謝物も低値又は定量限界以下であった。軽度~高度の肝チトクローム P450 酵素の誘導が認められたが、試験期間中を通じて血漿中薬物濃度はほぼ一定した値を示したことから、アトモセチン塩酸塩はマウスにおいて代謝

亢進しないことが示唆された。平均体重及び体重増加量に及ぼす影響の程度は過去の 3 ヶ月間反復投与試験もしくは 2 年間がん原性試験で認められたものとほぼ同程度であった。しかし、高用量群の雄マウス（飼料中濃度 0.4%）で投与開始 4 日目に原因不明の死亡が 44 匹中 17 匹で発現した。マウス 3 ヶ月間混餌投与毒性試験（高用量群の飼料中濃度：0.4%、Tox 16）では死亡はなく、また 2 年間がん原性試験（表 2.6.7.10A ; Tox 21）における高用量（飼料中濃度：0.3%）群の雄の死亡率（投与初期 6 ヶ月間）は低かったことから、これらと比較しトキシコキネティクス試験の死亡は予想外の高頻度であった。

トキシコキネティクス試験で用いた原薬ロットの製造法は 3 ヶ月試験やがん原性試験で用いた原薬ロットの古い製造法と異なっていたことから、ロット間の差と死亡の因果関係の有無を明らかにする目的で、雄マウスを用いた 10 日間混餌投与ロット比較試験（飼料中濃度：0.4%）（表 2.6.7.10D ; Tox 36 : 4.2.3.4.1.4）及び 2 週間強制経口投与ロット比較試験（50~200 mg/kg）（表 2.6.7.10D ; Tox 33 : 4.2.3.4.1.7）を実施した。その結果、毒性及び薬物動態のいずれにおいてもロット間に顕著な差は認められなかった。さらに、これらのロット比較試験ではトキシコキネティクス試験で見られた早期死亡は再現されなかった。一方で、アトモキセチンの血漿中濃度を 10 日間混餌投与ロット比較試験とトキシコキネティクス試験で比較すると、トキシコキネティクス試験では投与初期の雄で血漿中濃度が高かったことが明らかとなった。この原因は不明であるが、トキシコキネティクス試験において死亡が高頻度だったのは投与初期の曝露量が高かったためである可能性が示唆された。

（3）マウスがん原性試験結果（Tox 21 : 4.2.3.4.1.1）

B6C3F₁ マウス（5~6 週齢 ; 60 匹 / 性 / 用量群）に、混餌投与（飼料中濃度 0、0.03、0.1 及び 0.3%）で 2 年間アトモキセチン塩酸塩を投与した（表 2.6.7.10A ; Tox 21）。本試験において摂餌量の測定を行わなかったことから、摂餌量の背景データを基に時間加重平均用量を算出した結果、これらの濃度は雄で約 0、34、120 及び 436 mg/kg/日、雌で約 0、34、124 及び 479 mg/kg/日の時間加重平均用量に相当した。なお、前述の摂餌量への影響に関する試験（表 2.6.7.10C ; Tox 26）の摂餌量データを基にさらに正確に算出した高用量群（飼料中濃度 0.3%）の投与用量は、雄及び雌でそれぞれ 401.1 及び 426.3 mg/kg/日と推察された。

マウス 2 年間試験において、投与期間終了時の生存率はアトモキセチン塩酸塩投与の影響を受けなかったが、高用量群の雄マウス 11 匹が投与開始 6 ヶ月までに早期死亡した。このうち 4 匹についてはケージ内でのファイティングが原因である可能性が考えられたが、残りの 7 匹の死因は不明であった。本試験は 2 回に分けて実施しているが、投与終了時における高用量群の雄の生存率が対照群に比較し低かったのは 2 回に分けて実施したうちの一方のみであったことから、この早期死亡はアトモキセチン塩酸塩投与の影響ではないと考えられた。アトモキセチン塩酸塩投与に関連した影響は中及び高用量群における用量依存的な体重及び体重増加量低下のみであった。すなわち、高用量群では、投与 1 年目の平均体重に 31~34%の低下及び投与終了時の最終体重に 19~32%の低

下が見られ、体重増加量では雌雄で試験期間中、最大 54%まで低下した。中用量群では投与 1 年目の平均体重で 11%、投与終了時体重で 7~10%の低下が見られ、体重増加量では試験期間中、雄で最大 22%、雌で最大 17%の低下であった。血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査においてアトモキセチン塩酸塩投与による毒性学的に重要な変化はなかった。加齢に関連すると考えられる炎症性の変化及び変性、過形成あるいは腫瘍性病変を含むさまざまな変化が対照群及び投与群ともに生じた。肝細胞の空胞化がすべての投与群で見られたが、明らかな用量依存性が見られなかったことから毒性学的意義は低いと考えられた。いずれの腫瘍においてもアトモキセチン塩酸塩の投与に関連すると考えられる発生率増加はなく、また、まれな腫瘍の数の増加もなかった。眼付属器の腺腫の発現率が低用量群の雌及び中用量の雄でわずかに高かったが、実施施設における背景データの範囲内でありアトモキセチン塩酸塩の投与に関連するものではないと考えられた。以上、本試験において明らかな長期毒性及び累積毒性並びにがん原性は見られなかった。

2.6.6.5.2 ラットがん原性試験

(1) 用量設定根拠

ラット 2 年間試験の用量は飼料中濃度 0、0.01、0.03 及び 0.1%であった。用量については、先に行った 3 ヶ月間混餌投与毒性試験において (表 2.6.7.7B ; Tox 08)、本剤投与群 (飼料中濃度 0.025~0.1%) で用量との相関はないものの 4~9%の最終体重減少と 7~21%の体重増加量減少が見られたことに基づいた。この 3 ヶ月間毒性試験では主として中及び高用量群の雄で肝細胞空胞化 (脂肪滴) など肝への影響が見られた。

更に、1 年間反復投与試験 (表 2.6.7.7E ; Tox 18) では、高用量の 0.1%投与群では対照群と比較して雄で 12%まで、雌で 18%までの体重減少があった。3 ヶ月間トキシコキネティクス試験 (表 2.6.7.7C ; Tox 32) では、高用量の 0.1%投与群では投与終了時体重に 6~14%の低下及び体重増加量に 10~34%の低下が見られた。3 ヶ月間混餌投与 (固定用量) 毒性試験 (表 2.6.7.7D ; Tox 46) では、投与終了時体重は対照群と比較し 40 mg/kg 群で 8%、80 mg/kg 群で 13~14%、160 mg/kg 群で 19~23%低下し、これら高用量投与により他の試験と同様に肝臓への軽度な影響が見られたが、他に標的臓器毒性は認められなかった。以上の結果からラットがん原性試験の高用量の設定の妥当性が裏付けられた。さらに、下記のラット強制経口投与試験を実施した結果から、混餌投与試験における体重低下の原因が薬物混合の飼料に対するラットの嗜好性が悪いためではないことが示唆され、がん原性試験の用量設定の妥当性が裏付けられた。

摂餌量への影響に関するラット 1 ヶ月間強制経口投与試験 (Tox 53 : 4.2.3.4.1.9)

Fischer 344 ラット (6~7 週齢 ; 10 匹/性/用量群) にアトモキセチン塩酸塩を 0、40、80 及び 160 mg/kg の用量で 1 ヶ月間強制経口投与し、摂餌量と体重を評価した (表 2.6.7.10G ; Tox 53)。この試験においても、混餌試験と同様に摂餌量と体重の低下が認められたことから、混餌投与試験における体重の低下は薬物混合飼料の嗜好性の問題が原因ではないと考えられた。

(2) ラットがん原性試験結果 (Tox 19 : 4.2.3.4.1.2)

Fischer 344 ラット (5~6 週齢 ; 60 匹/性/用量群) にアトモキセチン塩酸塩を飼料中濃度 0、0.01、0.03 及び 0.1% で 2 年間、混餌投与した (表 2.6.7.10B ; Tox 19)。これらの濃度は雄で約 0、4、13 及び 42.5 mg/kg/日、雌で約 0、5、15 及び 51 mg/kg/日の時間加重平均用量に相当した。

生存率にあトモキセチン塩酸塩投与の影響はなかった。アトモキセチン塩酸塩投与に関連すると考えられる変化として、中及び高用量群に体重及び体重増加量の低下が、中及び高用量群の雌及び高用量群の雄に摂餌量の低下、高用量群の雌雄に飼料利用効率の断続的でわずかな低下が認められたのみであった。高用量群では、試験期間中の体重は雄と雌でそれぞれ最大約 11% 及び 15% まで、体重増加量は雄で最大 13% まで、雌で 22% まで低下した。中及び低用量群の試験期間中の体重と体重増加量の低下は、いずれも 10% 以下であった。血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、酵素誘導のパラメータにおいてアトモキセチン塩酸塩投与による毒性学的に重要な変化はなかった。炎症、変性、過形成あるいは腫瘍性変化を含むさまざまな変化が対照群及び投与群ともに生じ、その種類及び発現率から、いずれも加齢に関連するものと考えられた。また、非腫瘍性の変化の発現率にあトモキセチン塩酸塩投与の影響は見られなかった。通常見られる腫瘍にあトモキセチン塩酸塩投与によると考えられる発生率増加はなく、また、まれな腫瘍の数の増加もなかった。また各腫瘍の発生率は悪性及び良性腫瘍とも有意な増加はなかった。以上、明らかな長期毒性及び累積毒性並びにがん原性は見られなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

ラットを用いた一代受胎能及び出生前/出生後試験、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験、ウサギを用いた 3 つの胚・胎児発生に関する試験、幼若ラット及びイヌを用いた一連の反復投与毒性試験を実施した。

2.6.6.6.1 胎児検査を含む一代受胎能及び出生前/出生後試験 (Tox 27 :

4.2.3.5.1.2)

F₀ 世代の CD ラットに飼料中濃度 0、0.01、0.03 及び 0.06% のアトモキセチン塩酸塩を混餌投与した (表 2.6.7.12 ; Tox 27)。投与量については、一代受胎能試験 (予備試験) 結果を基に設定した (表 2.6.7.11B ; Tox 09 : 4.2.3.5.1.1)。すなわち予備試験では、Wistar 系雌雄ラット (10 匹/性/群) にアトモキセチン塩酸塩を飼料中 0、0.02、0.04 及び 0.08% の濃度で、雌 (12~13 週齢) には交配 2 週間前から交配期間、妊娠期間及び授乳期間を通じて、雄 (4~5 週齢) には交配前 10 週間及び交配期間並びに屠殺時まで投与した結果、0.08% 投与群で親動物の体重及び摂餌量減少が認められ、また、主として生後 1 週目の出生児体重が 0.08% 群で減少し、出生後生存率が 0.04% 以上の群で低下し 0.08% 群で有意であったことから、本試験では出生児生存率に顕著な低下が生じないと考えられる 0.06% を高用量とした。また中・低用量については、弱い薬理作用が生じ

るが顕著な毒性の生じない用量として、ラット 1 年間投与試験の中・低用量と同じ用量を設定した。

本試験では、雄（20 匹/群；約 5 週齢）には交配前 10 週間から 2 回の交配期間終了時まで混餌投与した。帝王切開試験群の雌（20 匹/群；約 10 週齢）には、交配前 2 週間から妊娠 20 日目まで混餌投与した後屠殺し、生殖パラメータの評価と胎児の外表、内臓及び骨格検査を行った。分娩試験群の雌（20 匹/群；約 10 週齢）には交配前 2 週間から授乳期間終了時まで混餌投与し、身体の発達及び 1 児/性/同腹児について感覚、行動及び生殖機能を評価し、生殖組織及び臓器を採取して病理組織学的検査を行った。

F₀ 世代の雄並びに交配前及び妊娠期間中の雌においては、投与した飼料中濃度（0.01、0.03 及び 0.06%）はそれぞれ約 7、20 及び 40 mg/kg/日の時間加重平均用量に相当した。授乳期間 2 週目までに母動物の摂餌量が分娩前レベルの 2 倍以上に増加し、その結果として薬物摂取量も同様に増加した。出生児に対する被験物質曝露の制御は行わなかった。

F₀ 世代には死亡はなく、アトモキセチン塩酸塩の投与に関連した毒性症状も認められなかった。0.03 及び 0.06% 投与群の雌雄ともに体重、体重増加量及び摂餌量の低下が見られた。しかし、F₀ 世代動物の交配能及び受胎能に影響はなかった。帝王切開試験群の胚・胎児検査では、0.06% 群の雌の胎児体重の減少が認められたが、雄胎児に変化はなかった。胎児体重の減少に伴い、明らかな用量依存性および統計学的有意差はないものの、胎児骨格検査において発育遅延を示唆する所見が 0.06% 群で対照群よりもわずかに高い頻度で発現した。奇形、異常あるいは変異をもつ胎児の発現率にアトモキセチン塩酸塩投与の影響はなかった。なお、奇形胎児は 0、0.01、0.03 及び 0.06% 群でそれぞれ 1、4、0 及び 1 例の生存胎児及び 0.01% 群の 1 例の死亡胎児で認められ、その奇形の内容は過剰後肢、過剰尿生殖器結節、奇形心、心臓逆位、小眼球、鼠径ヘルニア及び浮腫であった。発生毒性に関する無毒性量はアトモキセチン塩酸塩濃度 0.03% であった（雄及び雌の親動物でそれぞれ 16~29 及び 20~49 mg/kg/日）。分娩試験群では、妊娠、分娩並びに F₁ 世代の成長、身体発育分化（切歯萌出及び開眼）、行動（自発運動及び感覚運動反射）、交尾能、受胎能に有害な影響は見られず、F₁ 世代の生存率についても、予備試験と異なり変化はなかった。F₂ 世代の生存率及び体重にも有害な影響はなかった。更に、F₀ 雌動物及び F₁ 親動物にもアトモキセチン塩酸塩の投与に関連した組織学的所見は見られなかった。生殖毒性に対する無毒性量は F₀ 動物の雌雄及び F₁ 動物ともにアトモキセチン塩酸塩濃度 0.06% であった（F₀ 雄及び雌動物でそれぞれ約 30~55 及び 40~98 mg/kg/日に相当）。生殖発生毒性に関する無毒性量は親動物に毒性をもたらす用量であった。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

アトモキセチン塩酸塩を妊娠ラット及びウサギの器官形成期に投与し、胚・胎児発生に及ぼす影響について評価した。

2.6.6.6.2.1 ラット胚・胎児発生に関する試験 (Tox 11 : 4.2.3.5.2.2、ADME 72 : 4.2.2.2.11)

交配した雌 Wistar ラット (25 匹/群) に妊娠 6 日目から 15 日目に 0、25、60 及び 150 mg/kg/日の用量でアトモセチン塩酸塩を経口投与し、妊娠 20 日目に安楽殺の上、帝王切開を行い、子宮内生殖パラメータの評価、並びに胎児の外表、内臓及び骨格検査を行った (表 2.6.7.13A ; Tox 11)。用量については、予備試験として、妊娠 Wistar ラット (5 匹/群) に妊娠 6 日目から 15 日目まで 0、25、50、75 及び 100 mg/kg/日の用量でアトモセチン塩酸塩を投与した結果 (表 2.6.7.11A ; Tox 57 : 4.2.3.5.2.1)、母動物の健康状態及び生殖試験評価項目に有害な影響は認められず、また Fischer 344 雌ラットにアトモセチン塩酸塩単回投与時の半数致死量が 190 mg/kg であることに基づき設定した。

150 mg/kg 群で摂餌量減少及び体重増加率低下といった母動物の毒性が認められた。この用量においても、母動物の生殖パラメータ、胎児生存率、胎児体重、胎児の性比及び形態に有害な影響は認められなかった。なお、胎児観察で見られた形態異常は膈ヘルニア、内反足、水腎症、尿管水腫、鼠径ヘルニア、頭蓋骨不完全骨化、矮小過剰肋骨、完全過剰肋骨及び胸骨の変異等であったが、いずれの胎児形態異常所見についても、対照群と同等の頻度、あるいは低頻度で用量反応性を欠いた発現状況から、本剤投与による毒性学的影響とは考えなかった。

以上、ラットの母動物に対する無毒性量は 60 mg/kg/日、胚・胎児発生に対する無毒性量は 150 mg/kg/日であった。

なお、ラット胚・胎児発生に関する試験 (予備試験・本試験) ではトキシコキネティクス評価を実施していなかったことから、別途妊娠 Wistar ラットを用いて補足トキシコキネティクス試験を実施した結果、妊娠ラットにおけるアトモセチン塩酸塩経口投与後のアトモセチン及びその第 I 相反応主要代謝物の血漿中曝露が確認された (ADME 72)。

2.6.6.6.2.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験 (その 1) (Tox 10 : 4.2.3.5.2.4)

Dutch Belted ウサギ (15 匹/群) に、妊娠 6 日目から 18 日目までアトモセチン塩酸塩を 0、25、50 及び 100 mg/kg/日の用量で経口投与し、妊娠 28 日目に安楽殺の上、帝王切開を行った。(表 2.6.7.13B ; Tox 10)。用量は、ウサギ胚及び胎児発生に関する予備試験 (表 2.6.7.11A ; Tox 56 : 4.2.3.5.2.3) の結果を基に設定した。すなわち予備試験として妊娠 Dutch Belted ウサギ 5 匹/群に妊娠 6 日目から 18 日目まで、0、25、50、100 及び 200 mg/kg/日の用量で投与した結果、200 mg/kg を投与したウサギ 4 匹が痙攣を呈した後に死亡した。100 mg/kg 以下の用量では、100 mg/kg で鼻漏を 1 回認めた以外に有害な臨床症状は認められず、体重に変化はなく、摂餌量が 100 mg/kg 群でわずかに減少した。生殖試験評価項目に影響は見られなかった。以上の結果から本試験の高用量を 100 mg/kg に設定した。

対照群の 1 例が妊娠 24 日に、50 mg/kg 群の 1 例が妊娠 17 日にそれぞれ死亡した。25 mg/kg 群の 1 例が妊娠 26 日に流産したため安楽死させた。いずれも用量依存性がなかったことから、被験物質投与との関連はないと判断した。母体毒性として 100 mg/kg

において摂餌量減少が示唆された。すべての用量群で不妊動物が出現したため、各群の妊娠動物数（8～10 匹）及び総胎児数（52～63 匹）が低値であった。本試験において、妊娠動物の生殖パラメータ、胎児生存率、胎児体重、胎児の性比及び形態に有害な影響は認められなかった。以上、本試験における母動物の無毒性量は 50 mg/kg/日、胚・胎児発生に対する無毒性量は 100 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.6.2.3 ウサギ胚・胎児発生に関する試験（その 2）（Tox 37：4.2.3.5.2.5）

Dutch Belted ウサギで実施した試験では妊娠動物数及び総胎児数が低値であったため、2 回目のウサギ胚・胎児発生に関する試験を実施した。New Zealand White ウサギ（20 匹／群）にアトモキセチン塩酸塩を 0、10、30 及び 100 mg/kg/日の用量で妊娠 7 日目から 19 日目まで投与し、妊娠 28 日目に安楽殺の上、帝王切開を行った（表 2.6.7.13C；Tox 37）。

体重減少、体重増加量減少及び摂餌量減少が 30 及び 100 mg/kg の用量で示唆された。100 mg/kg 群では発生毒性が母体毒性と共に生じ、胎児生存率及び雌胎児体重（絶対値は背景データ範囲内）の軽度な低下（それぞれ 6%及び 5%）及び心臓及び大血管の異常の発現率のわずかな増加が認められ、特に左総頸動脈の起始異常を示す胎児数（母動物数）は、0、10、30 及び 100 mg/kg 群でそれぞれ 4（2）、1（1）、1（1）及び 9（4）であり、対照群と高用量群で頻度が高かった。奇形、異常及び変異を有する胎児の発現率に増加は認められなかった。これらの胎児で認められた変化はいずれも軽度であり、Dutch Belted ウサギを用いた試験では認められなかったことから、その再現性、投与との関連性及び毒性学的意義には疑問が残ると考えられ、本試験結果からは妊娠ウサギにおける発生毒性に関する影響については結論に至らなかった。本試験における母動物に対する無毒性量は 10 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.6.2.4 ウサギ胚・胎児発生に関する試験（その 3）（Tox 42：4.2.3.5.2.6）

上記試験結果からは結論が得られなかったことから、追加試験として New Zealand White ウサギ（22 匹／群）にアトモキセチン塩酸塩を 0、10、30、100 及び 150 mg/kg/日の用量で妊娠 7 日目から 19 日目まで投与し、妊娠 29 日目に安楽殺の上、帝王切開を行った。（表 2.6.7.13D；Tox 42）。最高用量は、用量依存性を検討するために、前述の試験で用いた 100 mg/kg から 150 mg/kg へ増量した。さらにトキシコキネティクス評価を 5 匹／群を用いて行った。

アトモキセチン及び第 I 相反応主要代謝物（N-デスメチル体及び 4-ヒドロキシ体）の血漿中曝露量は投与量の増加に伴い増加した。150 mg/kg 群で摂餌量及び体重の高度な低下が生じ、その結果死亡が生じたことから、この群はその後まもなく試験を中止した。100 mg/kg 群では母動物の毒性として摂餌量及び体重の減少が認められ、1 例が妊娠 16 日に死亡し、別の 1 例が妊娠 23 日に流産したため安楽死させたが、同群の母動物の生殖パラメータ、胎児生存率、胎児体重（雄、雌又は雌雄合算）、胎児の性比及び形態には有害な影響を及ぼさなかった。30 mg/kg 群では妊娠 17 日に 1 例死亡したが投与手技による死亡と考えられ、被験物質投与との関連性はないと判断した。胎児の形態学的検

査では、左総頸動脈起始異常が唯一顕著な大血管異常であった。この所見は対照群を含む全群に認められ、かつ試験施設における背景データの範囲内であることから、New Zealand White ウサギによく見られる発生変異の一つと判断した。その他、胎児奇形として、二分脊椎、短尾、肺葉無形成、左精巣及び左精巣上体の欠損、椎骨異常及び肋骨異常（過剰肋骨あるいは肋骨分岐）、胸骨分節配列異常が認められたが、いずれも自然発生の所見と考えられた。

以上、本試験における母動物に対する無毒性量は 30 mg/kg/日であった。また、投与に関連した胎児異常は認められないこと、更に胎児の生存率及び体重に有害な影響が認められないことが示唆され、胚・胎児発生に関する無毒性量はウサギにおいて、100 mg/kg/日であった。

2.6.6.6.3 幼若動物を用いた試験

2.6.6.6.3.1 幼若ラットを用いた試験

ラットに 10 日齢から成熟期までの期間にわたりアトモキセチン塩酸塩を投与し、一般毒性、成長、身体発育分化、神経行動発達、性成熟及び生殖能への影響を評価する一連の毒性試験を実施した。試験は同腹児から雌雄 1 匹ずつを各投与群に振り分けて実施した。

一連の試験で用いた用量（0、1、10 及び 50 mg/kg/日）は、ラットに 10 日齢からアトモキセチン塩酸塩を 0、5、25 及び 75 mg/kg/日の用量で 22 日間にわたり投与した予備試験（表 2.6.7.15A ; Tox 39 : 4.2.3.5.4.1）の結果に基づき設定した。すなわち、予備試験では 25 及び 75 mg/kg 群において低頻度の死亡が認められ、75 mg/kg 群で振戦、運動失調、自発運動の低下及び 10%を超える体重低下、75 mg/kg 群の雌で白血球数及びリンパ球の軽度の低下が認められた。以上の結果から、高用量を 50 mg/kg とした。

2.6.6.6.3.1.1 幼若ラットにおける反復経口投与毒性・トキシコキネティクス試験 （Tox 45 : 4.2.3.5.4.2）

Fischer 344 ラット（10 匹／性／群）にアトモキセチン塩酸塩を 0、1、10 及び 50 mg/kg/日の用量で、10 日齢から性的成熟を経て早期成熟期（約 75 日間、84 日齢）まで経口投与し毒性を評価した（表 2.6.7.15B ; Tox 45）。またトキシコキネティクス評価をサテライト群ラットを用いて行った。

アトモキセチンの血漿中曝露量は、各測定日において用量増加に伴い増加した。各用量群／測定日のほとんどで初回測定時点である 0.25 時間に C_{max} に到達した。曝露量に著しい性差は認められなかった。投与開始約 1 ヶ月目の血漿中薬物濃度が全用量群で著しく減少した。肝薬物代謝酵素の誘導は投与期間後半で高用量群でのみ生じたものの投与開始 1 ヶ月の時点では見られなかったことから、これは代謝酵素の誘導による代謝亢進が生じたためではないと考えている。考えられる理由として、アトモキセチンの吸収又は初回通過効果が動物の成熟に伴い変化したことが関与している可能性が想定される（表 2.6.5.3G ; ADME 14）。この血漿中薬物濃度の経時的な低下を生じた要因は出生後 28 日目までに消失したようである。

対照群 1 匹が試験 18 日に尾部の刺青処理中に保定器内で死亡し、薬物投与と関連する死亡ではないと考えられた。また、血中濃度測定用の高用量群で 1 匹を試験 32 日に切迫殺したが、薬物投与との関連は不明である。50 mg/kg 群の数匹で間代性振戦が生じ、軽度の体重低下（7%以下）、体重増加量及び摂餌量の低下が認められた。大腿長は正常であり、骨の成長は影響を受けないことが示唆された。性周期、精巣上体精子運動性、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量及び組織の病理組織学的検査（大脳皮質、視床、海馬、小脳、髄質／橋（青斑核）等、ノルアドレナリンが豊富なことが知られている脳領域を含む）にはアトモキセチン塩酸塩投与に関連した重大な変化はなく、標的臓器毒性は認められなかった。膣開口及び包皮分離が全用量群で用量依存的に軽度に遅延した。また精巣上体尾部重量は 10 及び 50 mg/kg 群でそれぞれ 14%及び 25%低下し、精巣上体尾部の総精子数も 50 mg/kg 群で 24%減少した。卵巣及び前立腺等の一部の臓器重量に軽微な減少も認められたが、病理組織学的検査に関連する変化はなく、毒性学的に重要ではないと判断した。低用量群における影響は雄では認められず、雌では膣開口の軽度遅延に限られたため、この試験の無毒性量は雌雄ともに 1 mg/kg であると判断した。

2.6.6.6.3.1.2 幼若期からの投与によるラットにおける生殖能・受胎能に関する試験 (Tox 49 : 4.2.3.5.4.3)

Fischer 344 ラット（20 匹／性／群）にアトモキセチン塩酸塩を 0、1、10 及び 50 mg/kg/日の用量で、10 日齢から性成熟を経て交配後、雌には着床まで（妊娠 6 日目）、雄には交配期間終了時まで投与し、受胎能及び生殖能に及ぼす影響を評価した（表 2.6.7.15C ; Tox 49）。50 mg/kg 群の雄 1 例が試験 3 日に投与過誤によると思われる原因で死亡した。また、50 mg/kg 群の別の雄 1 例が試験 48 日に死亡したが、一般状態に変化は見られず、また他の動物には試験期間中、健康状態の悪化は認められなかった。この死亡のアトモキセチン塩酸塩投与との関連性は不明である。その他、10 mg/kg 群の雄 1 例を鼻部損傷の為、試験 74 日に安楽死させた。50 mg/kg において上述の反復投与毒性試験と同様の体重増加抑制及び中枢神経症状が見られた。交尾に要した期間、交尾能及び受胎能にアトモキセチン塩酸塩投与に関連した影響は見られなかった。50 mg/kg 群で黄体数の軽微な減少が生じたが、着床数及び着床前死亡率にはアトモキセチン塩酸塩の投与に関連した差は見られなかったことから、毒性学的に重要な所見ではないと判断した。胚胎児生存率及び着床後死亡率にアトモキセチン塩酸塩の投与に関連した差は見られなかった。以上のように、生殖能及び受胎能には高用量群でも明らかな影響が見られなかったことから、ラットに幼若期から投与を開始したときの生殖能及び受胎能に関する無毒性量は、雌雄とも高用量である 50 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.6.3.1.3 幼若ラットにおける発育分化・神経行動に関する試験 (Tox 48 : 4.2.3.5.4.4 及び Tox 62 : 4.2.3.5.4.5)

Fischer 344 ラット（20 匹／性／群）にアトモキセチン塩酸塩を 0、1、10 及び 50 mg/kg/日の用量で、10 日齢から性的成熟を経て早期成熟期（約 75 日間、84 日齢）ま

で経口投与し、発育の指標（切歯萌出及び開眼）及び神経行動学的指標（自発運動、聴覚性驚愕反応、受動的回避反応）を評価した（表 2.6.7.15D ; Tox 48）。

50 mg/kg 群の雄 1 例が試験 45 日に死亡した。死因は明らかではなかったが、投与期間の中期の死亡であり、この死亡例に一般状態の変化は認められておらず、他の生存例でも投与終了時まで健康状態の悪化は見られなかった。この死亡のアトモキセチン塩酸塩投与との関連性は不明である。50 mg/kg の用量で他の試験と同様、様々な一般症状が認められ、10 mg/kg 以上の用量で体重増加抑制が認められた。また、10 mg/kg 以上の用量で切歯萌出発現の軽度遅延が認められた。神経行動学的指標として測定した自発運動量の増加が 15 日齢では 10 及び 50 mg/kg 群の雄で、30 日齢では 50 mg/kg 群の雌で認められたが、60 日齢には認められなかった。開眼及び聴覚性驚愕反応及び受動的回避反応に対するアトモキセチン塩酸塩投与に関連した重大な影響は見られなかった。切歯萌出及び自発運動への影響は、軽微あるいは一過性であり永続的な身体的又は神経行動学的変化を生じなかったことから、毒性ではないと判断した。以上、発育の指標及び神経行動学的指標には高用量群でも明らかな影響が見られなかったことから、幼若ラットにおける発育の指標及び神経行動学的指標に関する無毒性量は、雌雄ともに本試験で用いた高用量の 50 mg/kg/日であった。

なお、本試験の自発運動量は 8 方向放射状迷路を用いて測定していたが、オープンフィールドを用いた神経行動に関する試験も追加実施したところ、一般症状、体重及び自発運動量に関し、上述の試験とほぼ一致する結果が得られた（表 2.6.7.15E、Tox 62）。

2.6.6.6.3.2 幼若イヌにおける 1 ヶ月間反復経口投与毒性・トキシコキネティクス試験 (Tox 44 : 4.2.3.5.4.6)

ビーグル犬（4 匹/性/用量群）にアトモキセチン塩酸塩をカプセルとして 0、4、8 及び 16 mg/kg/日の用量で 8~9 週齢時から 1 ヶ月間連日経口投与した（表 2.6.7.15F ; Tox 44）。用量は、予備試験として 8 週齢のビーグル犬 1 匹/性にアトモキセチン塩酸塩を 8、16、20 及び 24 mg/kg の用量で単回漸増投与した結果（表 2.6.7.6、XXXXXXXXXX 6180-165）を基に設定した。すなわち予備試験では、8 mg/kg を投与後に 2 匹とも軽度の振戦が、1 匹で軽度の運動失調が、また 16 mg/kg 以上を投与後に間代性あるいは持続性の振戦、常同行動、運動失調、嘔吐、空嘔吐あるいは散瞳が見られた。これらの一般症状の程度は用量が高くなるにつれ重篤となり、特に振戦の程度や頻度は高用量でより重篤であり、常同行動の発現期間及び強さも増強し、さらには発声や頭部の押し付け行動などの意識障害の徴候も出現した。さらに 20 及び 24 mg/kg 群では呼吸の異常、あえぎ呼吸、過剰な流涎、あるいはミオクロニー性攣縮が見られ、さらに痙攣が 24 mg/kg 群の雌 1 例で生じた。16 mg/kg 群では 7 日間の投与後にも毒性の増悪は認められなかった。これらの結果から 16 mg/kg は 8 週齢の動物に一般症状を示す用量であることを期待できるが、重篤な毒性は発現しない用量として、幼若イヌを用いた 1 ヶ月間反復経口投与毒性試験の高用量とした。低及び中用量は上記の予備試験結果を参考に、成熟イヌの反復投与毒性試験の用量と同用量を設定した。

血漿中アトモキセチンは投与約 1~2 時間後に C_{max} に到達した後消失し、その半減期は 2.4~3.6 時間であった。アトモキセチンの C_{max} 及び AUC は用量増加に伴い増加した。代謝物の N-デスマチル体及び 4-ヒドロキシ体の血漿中濃度も概して用量増加に伴い増加し、その血漿中濃度はそれぞれアトモキセチンの約 50~90% 及び約 10% であった。肝チトクローム P450 活性の有意な誘導は認められなかった。反復投与により血漿中のアトモキセチン及び N-デスマチル体濃度は高くなり、特に 16 mg/kg では投与 29 日 (12 週齢時) における曝露量が投与 1 日 (8 週齢時) の約 2 倍であった。これは、アトモキセチンの経口絶対バイオアベイラビリティが幼若期から 12 週齢にかけてほぼ 2 倍になり、成熟イヌとほぼ同等になることと関連していると考えられる (表 2.6.5.3G ; ADME 32 及び 38)。なお、このような成熟に伴う曝露量の増加が見られるものの、アトモキセチンの代謝プロファイル及び排泄は全般的に幼若及び成熟イヌで類似していた (第 2.6.4 項参照)。

死亡はなく、薬理作用と関連すると推察される所見以外に有害な影響は認められなかった。嘔吐、空嘔吐及び振戦等の一般症状が 4、8 及び 16 mg/kg 群で用量依存的に見られた。高用量群では振戦の発現時間が長く、投与後 30 分から 4 時間まで持続した。反復性の頭部横振り動作が高用量群の雌 1 匹で認められた。さらに、神経学的検査において、全投与群で瞳孔反射の低下及び散瞳が見られた。しかし、投与期間終了時近く (投与 4 週) に実施した身体検査、神経学的検査及び眼科学的検査時にはアトモキセチン塩酸塩投与に関連した影響や瞳孔反射の低下及び散瞳以外の眼科学的所見は認められなかった。アトモキセチン塩酸塩投与と関連すると考えられる心電図異常も検出されなかった。体重にも有害な影響はなかった。臨床検査値、臓器重量、剖検所見に明らかな影響はなく、病理組織学的検査 (前部及び後部帯状皮質、梨状皮質、内側膝状体、視床、海馬、橋、青斑核、小脳及び髄質等、ノルアドレナリンが豊富なことが知られている脳領域の検査を含む) においても重大な変化は見られなかった。以上、本試験では全ての用量で振戦が発現し、有害であると考えられたことから、無毒性量は雌雄ともに 4 mg/kg/日未満であると考えられた。しかし、振戦を除くと、幼若ビーグル犬にアトモキセチン塩酸塩を 16 mg/kg の用量まで 1 ヶ月間投与しても忍容性は良好であった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

経口経路による投与のため、該当しない。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 依存性試験

サル及びラットを用いたアトモキセチン塩酸塩の弁別刺激作用に関する試験及びサルを用いた自己投与試験を実施した (いずれも非 GLP 試験)。なお、自己投与試験については試験実施中の査察及び報告書の査察は行わなかったことを除き、GLP を遵守して実施した。

2.6.6.8.1.1 弁別刺激作用に関する試験 (Genpharm 08 : 4.2.3.7.4.3、Genpharm 09 : 4.2.3.7.4.1 及び Genpharm 10 : 4.2.3.7.4.2)

サル (Genpharm 08) 及びラット (Genpharm 09 及び 10) を用いてアトモキセチン塩酸塩の弁別刺激作用を検討した。結果を表 2.6.7.17 に示す。

乱用性薬物であるコカインの自覚効果あるいは弁別刺激効果に対し、アトモキセチン塩酸塩は、一定の条件下で例外的に般化作用を示したが、それ以外に般化は認められなかった。すなわち、アトモキセチン塩酸塩は、レバー押し頻度を变化させた用量でのみ般化作用を示した。レバー押し頻度が変化すると結果の解釈が困難になることから、アトモキセチン塩酸塩で見られた般化作用は比較的高用量で生じた非特異的な行動毒性に起因する可能性が示唆される。一方、コカインは、完全な般化作用を示す用量においてもレバー押し頻度に影響を与えなかった。以上から、アトモキセチン塩酸塩で見られた例外的な般化作用は、コカインなどの乱用性物質とは区別されると考えられた。

訓練薬物として用いたコカインが極めて低用量の条件下では、アトモキセチン塩酸塩は部分的に般化作用を示すが、コカインを運動量が亢進する用量まで増量するとアトモキセチン塩酸塩の般化作用は消失する。また、アトモキセチン塩酸塩に類似した薬理作用を有する化合物 (ノルアドレナリン再取り込み阻害薬あるいは三環系抗うつ薬) も、同様の条件下ではアトモキセチン塩酸塩に類似した般化作用を示しており、低用量のコカインを訓練薬剤に用いる条件下での薬物弁別行動は、ノルアドレナリン作動性神経への薬理作用による影響を強く受けることが示唆される。これらの薬剤に乱用性が認められないことを考慮すると、ある一定の条件下でアトモキセチン塩酸塩がコカインに般化作用を示したものの、乱用性を示唆するものではないものと思われる。

2.6.6.8.1.2 自己投与試験 (その 1) (Genpharm 21 : 4.2.3.7.4.4)

自己給餌またはコカインの静脈内自己投与のいずれかを選択するレバー押し反応をするよう訓練したアカゲザル 4 匹/群を用いて、自己投与薬物をアトモキセチン塩酸塩に置き換えた時の自己投与行動 (1 回の注入量 : 0.01~0.32 mg/kg) の継続の有無を調べることによって、乱用性または依存性を評価した (表 2.6.7.17 ; Genpharm 21) 。アトモキセチン塩酸塩の用量は行動に変化を生じると考えられる用量を参考にした。対照薬としてメチルフェニデート、d-アンフェタミン及びデシプラミンの 3 種についても同様に試験し、アトモキセチン塩酸塩と比較した。対照薬のうち、ノルアドレナリン取り込み阻害薬であるデシプラミン (静脈内注入 1 回あたり 0.03~1.0 mg/kg) については、自己投与行動の継続はなかったが、メチルフェニデート及び d-アンフェタミンの 2 剤ではすべてのサルで自己投与が行われ、その作用はメチルフェニデートで静脈内注入 1 回あたり 0.01~0.1 mg/kg、d-アンフェタミンで 0.03~0.1 mg/kg で最大となった。アトモキセチン塩酸塩の場合、いずれのサルにおいても自己投与行動の継続は見られなかった。

2.6.6.8.1.3 自己投与試験 (その 2) (Genpharm 22 : 4.2.3.7.4.5)

コカインを自己投与するよう訓練したアカゲザル 5 匹を用いて、アトモキセチン塩酸塩 (1 回の注入量 : 0.03~3.0 mg/kg) 、デシプラミン (1 回の注入量 : 0.03~3.0 mg/kg) 、

メチルフェニデート（1回の注入量：0.001～0.1 mg/kg）及びそれぞれの溶媒について、コカインとの交差依存性を調べた（表 2.6.7.17；Genpharm 22）。メチルフェニデートの自己投与は、群平均及び個別データのいずれも溶媒レベルより高かった。アトモキセチン塩酸塩及びデシプラミンについては、5匹中1匹で両薬剤に対して溶媒レベルを上回る自己投与が認められたが、このサルについては信頼できる自己投与行動をとらないことが確認されており、残りの4匹の個別データ及び群平均データには溶媒レベルを上回る反応はなかった。メチルフェニデートはヒトにおいて強化作用及び乱用性を示すことが既知であり、一方、デシプラミンはヒトにおいて乱用性を示さないとされるが、本試験結果はこれと一致するものであった。本試験結果から、アトモキセチン塩酸塩は強化作用も乱用性も示さないと考えられた。

2.6.6.8.2 不純物の毒性試験

アトモキセチン塩酸塩の原薬の市販工程製造品ロットに含まれる類縁物質あるいは不純物として、化合物B及び化合物Aの2種が同定された。原薬の規格としてこれらの不純物の許容基準を■%及び■%に設定する予定であることから、その安全性を評価した。

以下に両不純物（化合物B及び化合物A）の安全性評価についてそれぞれ述べる。

2.6.6.8.2.1 化合物B

化合物Bは■である。アトモキセチン塩酸塩と類似した薬理作用を示し、その効力は *in vitro* でアトモキセチン塩酸塩の約 1/9、ラットに投与した場合の *ex vivo* で 1/8 であった（Wong 1982）。

アトモキセチン塩酸塩の毒性試験で用いた最高用量あるいは無毒性量における不純物の投与量と申請最高用量（1.8 mg/kg）における不純物の最大摂取量の比較を表 2.6.7.19A～2.6.7.19E に示す。なお、化合物Bの血漿中濃度測定は行っていないため、血漿中曝露量ではなく体重及び体表面積あたりの用量に基づき比較した。

非臨床試験の中で、化合物Bを比較的多く含むアトモキセチン塩酸塩原薬ロット（ロット 039JD9：化合物Bを■%含有、又はロット 399SB7：化合物Bを許容基準とほぼ同等の■%含有）を用いて、イヌ及びラットの2週間点滴静脈内投与毒性試験（最大耐量までの用量を用いて実施）、ラット3ヵ月間固定用量混餌投与毒性試験、幼若ラット及びイヌを用いた一連の試験、安全性薬理試験、遺伝毒性試験及びウサギ胚・胎児発生に関する試験が実施されている。これらの試験において申請最高用量（1.8 mg/kg）の■%に相当する化合物Bを上回る量が用いられていることから、設定された規格における化合物Bの安全性は確認されていると考える。

さらに、化合物Bの含有量が異なる2種類のアトモキセチン塩酸塩の原薬ロット（ロット 399SB7：■%、ロット DPD12336■%未満）を用いたロット比較試験（マウス2週間強制経口投与ロット比較試験及びマウス10日間混餌投与ロット比較試験）を実施し、化合物Bの含有量の差が毒性及びトキシコネティクス（アトモ

キセチン及びその第 I 相反応主要代謝物である 4-ヒドロキシ体及び N-デスメチル体)に及ぼす影響を検討した。ロット DPD12336 は 19 年代初期に開発された古い合成過程によって作製された原薬である。マウス 2 週間強制経口投与試験 (用量: 50、100 及び 200 mg/kg、表 2.6.7.10D ; Tox 33 : 4.2.3.4.1.7) では、各ロット投与後のアトモキセチン及び代謝物の薬物動態には、いずれの用量においてもロット間に明らかな差はなかった。毒性については、いずれのロットも投与開始後 5 日以内に死亡が生じ、その頻度はロット DPD12336 で 7 匹 (200 mg/kg 群で 5 匹、50 及び 100 mg/kg 群の各 1 匹ずつ) であり、ロット 399SB7 で 2 匹 (いずれも 200 mg/kg 群) であったのに比べわずかに高かった。また、200 mg/kg 群で毒性症状が認められたが、痙攣もしくは振戦がロット DPD12336 を投与した生存例 2 匹で単発的に生じた以外にロット間に顕著な差はなかった。これらの所見から、本試験条件下において化合物 B はマウスにおけるアトモキセチン塩酸塩投与による毒性所見に重大な変化を及ぼさないことが示唆された。また、マウス 10 日間混餌投与試験 (飼料中濃度 %、表 2.6.7.10D ; Tox 36 : 4.2.3.4.1.4) においても、両ロット間には、アトモキセチン及び代謝物の血漿中濃度に差はなく、毒性にも実質的に差がなかった。

以上、化合物 B は、その安全性が評価されたと考える。

2.6.6.8.2.2 化合物 A

化合物 A は である。毒性試験及び臨床試験に使用したアトモキセチン塩酸塩原薬のロット中の多くに化合物 A が含まれ、含量の範囲は動物試験で % (表 2.6.7.4)、臨床試験で % であった。

アトモキセチン塩酸塩の毒性試験で用いた最高用量あるいは無毒性量における不純物の投与量と申請最高用量 (1.8 mg/kg) における不純物の最大摂取量の比較を表 2.6.7.19F ~ 2.6.7.19J に示す。なお、化合物 A の血漿中濃度測定は行っていないため、体重及び体表面積あたりの用量に基づき比較した。

非臨床試験の中で、マウスがん原性試験が、化合物 A の含有量が比較的高いアトモキセチン原薬の 2 ロット (ロット 866-1G8-071 : % 含有、7.5 ヶ月間使用 ; ロット 866-1G8-070 : % 含有、14 ヶ月間使用) 及びロット 866-83F-249 (% 含有、残り 3.5 ヶ月間使用) を用いて実施された。試験期間中にマウスに投与された化合物 A の時間加重平均使用量は % であった (3 ロット中の化合物 A の平均濃度は %)。マウス 2 年間がん原性試験の無毒性量 (飼料中アトモキセチン塩酸塩 %、時間加重平均用量 mg/kg/日に相当) における化合物 A の投与量は mg/kg/日であり、ヒトに % の化合物 A を含むアトモキセチン塩酸塩原薬を 1.8 mg/kg/日の用量で投与した時の摂取量 (mg/kg) と比較した投与倍数は 倍であった。更に、この試験では高用量群 (時間加重平均用量 mg/kg/日に相当) まで統計学的に有意な腫瘍発生率の増加は見られず、この用量における化合物 A の投与量は mg/kg/日であり、ヒトに比した投与倍数は 倍以上であった。上記の試験において、申請最高用量の % に相当する化合物 A を上回る量が投与され

ていることから、設定された規格における化合物 **A** の安全性は確認されていると考える。

化合物 **A** の安全性を更に確認するために、化合物 **A** を 0.86% の濃度（許容基準の 1 倍を超える濃度）で含むロット 202UM2 を用いて遺伝毒性試験（エームス試験及びチャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞を用いる *in vitro* 染色体異常試験）を実施した（表 2.6.7.18 ; Tox 60 : 4.2.3.7.6.2 及び Tox 61 : 4.2.3.7.6.1）。いずれの遺伝毒性試験においても、これまで実施した試験と同様陰性であった。

以上から、化合物 **A** は、その安全性が評価されたと考える。

2.6.6.8.3 皮膚及び眼刺激性試験並びに吸入毒性試験（Tox 52 : 4.2.3.7.7.1）

アトモキセチン塩酸塩の皮膚毒性／刺激性及び眼刺激性／腐蝕性を New Zealand White ウサギを用いて評価した（表 2.6.7.18 ; Tox 52）。皮膚刺激性試験として、ウサギ（3 匹／性）の皮膚にアトモキセチン塩酸塩を 200 mg/kg の用量で塗布し、24 時間閉塞投与後 2 週間観察を行った。皮膚刺激性及び毒性所見は見られなかった。眼刺激性試験として、アトモキセチン塩酸塩 50 mg（0.1 mL 相当量）をウサギ（3 匹／性）の片眼に単回点眼した結果、重度で非可逆性の眼障害が生じた。すなわち完全な角膜混濁、高度虹彩炎、重度の結膜炎が点眼 1 時間以内に生じた。2 週間の観察期間終了時にも刺激性は持続しており、角膜血管新生が顕著であった。追加試験としてウサギ（3 匹／性）にアトモキセチン塩酸塩点眼後直ちに眼を生理食塩液で洗浄した結果、中等度から重度の眼刺激性が生じたが、2 週間以内に消失した。

アトモキセチン塩酸塩の吸入毒性試験として、絶食 Fischer 344 ラット（10 匹／性／群）に、アトモキセチン塩酸塩（固形粒子エアロゾル）を時間加重平均濃度 0.12、0.23、0.53 及び 1.41 mg/L の用量で 1 時間、経鼻的に吸入曝露した後 2 週間にわたり観察を行った（表 2.6.7.18 ; Tox 52）。半数致死濃度（LC₅₀）は雄ラットで 0.28 mg/L、雌ラットで 1.06 mg/L であった。0.23 mg/L 以上の濃度で、毒性症状として着色鼻漏、紅涙、ラッセル音、呼吸困難、自発運動低下、運動失調、円背位、身づくろいの減少、角膜混濁、体重減少が認められた。

2.6.6.9 考察及び結論

アトモキセチン塩酸塩の毒性を、*in vitro* 及び *in vivo* の一連の毒性試験により評価した。

急性症状として、アトモキセチン塩酸塩の高用量投与によりイヌ及びげっ歯類において散瞳、瞳孔反射低下、嘔吐、振戦及び痙攣など様々な中枢神経症状が認められた。

成熟動物を用いた一連の反復投与試験において、重篤な標的臓器毒性は認められなかった。げっ歯類におけるすべての試験で体重増加量及び摂餌量の低下が認められ、アトモキセチン塩酸塩の毒性作用と考えられた。体重増加量の低下の程度は、必ずしも摂餌量減少の程度と相関していなかった。また、げっ歯類では高用量投与により肝臓における軽度の毒性変化（相対肝重量の増加、肝細胞の空胞化及び ALT の上昇）が認められ、また、肝チトクローム P450 の誘導が主として高用量群で認められた。肝チトクローム P450 の誘導はイヌにおいても主として高用量群で認められたが、肝臓の組織学的変化や肝機能に関連する臨床検査値の変動は認められなかった。ラットではいずれの試験も中及び高用量群で肝臓の病理組織学的変化が見られ、さらに低用量でも体重増加抑制が見られたことから、無毒性量は、ラット 3 ヶ月間混餌投与試験では雌雄とも 0.025% 未満、ラット 1 年間混餌投与試験では雄で 0.01%、雌で 0.01% 未満であると考えられた。イヌでは、アトモキセチン塩酸塩投与に関連して中枢神経症状（振戦、嘔吐、食欲不振、瞳孔反射低下及び散瞳）が認められたのみであった。無毒性量は、イヌ 3 ヶ月間反復投与毒性試験では雄で 8 mg/kg/日、雌で 4 mg/kg/日未満、イヌ 1 年間反復投与毒性試験では、雌雄とも中用量の 8 mg/kg/日と考えられた。

幼若動物を用いた反復投与試験においても、重要と考えられる標的臓器毒性は認められなかった。幼若イヌでは低用量から振戦が発現し、無毒性量は求まらなかった。振戦は成熟動物では高用量に限定して発現しており、幼若イヌの曝露量は成熟イヌよりも低かったことから、アトモキセチン塩酸塩の薬理作用に対する感受性が幼若イヌでは成熟イヌに比較し高いことが示唆された。しかしながら、振戦以外に重要な毒性変化及び幼若イヌにのみに生じた毒性はなく、高用量まで忍容性は良好であった。幼若ラットでは性成熟のわずかな遅延、精巣上体精子数の減少が認められ、これらの指標に基づく無毒性量は低用量の 1 mg/kg/日と考えられたが、身体発育及び神経行動に関する指標は正常に成熟し、骨成長は正常で、重篤な臓器毒性は認められず、交尾能、受胎能も正常であったことから、これらの指標に対する無毒性量は高用量の 50 mg/kg/日と考えられた。

アトモキセチン塩酸塩は遺伝毒性を示さず、またラット又はマウスにおいてがん原性は見られなかった。生殖発生毒性試験において受胎能、生殖能並びに出生後の発育にアトモキセチン塩酸塩の影響は見られず、母動物に毒性の生じる用量のみで胎児体重のわずかな低下が見られたものの胚・胎児に選択的な毒性はなかった。依存性試験においてアトモキセチン塩酸塩は依存性傾向や乱用性を示唆する結果を示さなかった。

肝臓の所見に関する考察

げっ歯類の混餌による反復投与試験において肝臓重量の増加及び肝細胞の空胞化が認められた。

すなわち、マウスでは相対肝重量の増加、肝臓の褪色、及び血清 ALT の有意な上昇及び肝細胞の空胞化の発現率の上昇が認められた。ラットでは、マウスと同様の所見に加えて、剖検時には肝臓の斑紋形成が認められた。肝細胞空胞化はラット混餌投与試験で一貫して見られたが、その発生率及び重症度に投与期間の違いによる顕著な差は見られなかった。ほかに、ラット 1 年間投与試験では肝肉芽腫の発生率増加が顕著であったが、本所見は自然発生でも見られる変化であり、より重篤な肝障害を引き起こしていなかったこと、投与期間の延長により重篤化しなかったことから、その毒性学的意義は高くはないと考える。

イヌでは、いずれの試験においても肝臓の組織学的変化や肝機能に関連する臨床検査値変動は見られなかった。

その他、肝臓に関連する変化として、反復投与により肝薬物代謝酵素活性の増加がマウス、ラット及びイヌのいずれにおいても認められた。

以上を要約すると、げっ歯類の混餌による反復投与試験において肝臓に種々の変化が認められた。しかし血清 ALT の上昇はラット 1 年間投与試験においても最大 46% であり、その他の肝機能に関連する血液生化学的検査項目にも顕著な変化はなかった。さらに、同用量をラットに 2 年間投与したがん原性試験において生存率に本剤の影響は認められなかった。結論として、毒性試験で認められた肝臓における種々の変化の機序は不明であるが、肝機能や動物の生存に重大な影響を及ぼすものではないと考えられる。

膣開口及び包皮分離に関する考察

幼若ラットを用いた試験では、全用量群で膣開口及び包皮分離が用量依存的に遅延した (表 2.6.7.15B ; Tox 45) 。両指標を認めた平均日齢を表 2.6.6-2 に示す。

表 2.6.6-2. 膣開口及び包皮分離の発現が観察された平均日齢

用量 (mg/kg) :	平均日齢 (日) ^a			
	対照群	1	10	50
膣開口	37.0±0.67	38.3±1.64*	38.4±1.43*	39.2±2.25*
包皮分離	42.3±0.71	42.8±1.32	43.7±1.06*	44.9±1.60*

^a = 平均値±標準偏差、* = 逐次傾向検定で p<0.05

群平均値で遅延が見られたものの、最終的にはすべての雌で膣開口及びすべての雄で包皮分離が見られたことから性成熟に到達したと考えられ、また、膣及び包皮/陰茎亀頭の形成異常は認められなかった。さらに、性周期及び生殖器官の形態に対してアトモキセチン塩酸塩の投与に関連した影響もなかった。ラットにおける膣開口及び包皮分離の発現日齢はそれぞれ 31~35 日及び 41~46 日とばらつきがあることが報告されていることから (Clark 1999) 、本試験で見られた最大 2.6 日程度の春機発動の遅れは軽微であり、生殖に有害な影響をもたらさないと考えられた。アトモキセチン塩酸塩投与による春機発動の軽度遅延の原因は不明であるが、アトモキセチン塩酸塩の作用部位であるノルアドレナリン作動性神経がラットにおける春機発動に関与する神経系のひとつであることから (Ojeda 1994) 、この遅延は本剤の薬理作用を介している可能性が考えられる。

ヒトにおいても同様の作用が発現するか否かは不明であるが、ヒトでの性的発育期は青年期の幅広い年齢層にわたって発現するものであり、仮に軽度な性成熟の遅延が発現したとしても、臨床的意義は高くないと考えられる。

精巣上体尾部重量及び精子数に関する考察

幼若ラットを用いた試験において精巣上体尾部重量は 10 及び 50 mg/kg 群でそれぞれ 14 及び 25%減少した（表 2.6.7.15B ; Tox 45）。50 mg/kg 群では精巣上体尾部の総精子数も 24%減少した。精巣上体重量の低下には組織学的変化を伴わず、さらに精巣の重量あるいは病理組織学的検査でも関連する変化は見られず、精巣上体精子の運動能にも影響はなかった。なお、成熟ラットを用いた試験では精子検査は行わなかったが、精巣にアトモキセチン塩酸塩投与による変化は見られなかった。Kempinas らの報告によると、グアナチジンにより末梢ノルアドレナリン神経の機能を選択的に阻害した結果、局所におけるノルアドレナリン量が選択的に減少し、精巣上体収縮能が低下し精巣上体における精子輸送時間が約 4 日遅くなったことが示されている（Kempinas 1998）。この報告では、精巣上体重量及び精巣上体尾部精子数が増加したが、精巣上体輸送が変化しても精巣あたりの精子数及び平均 1 日精子産生量には影響がなかったとされている。一方、グアナチジンと異なり、アトモキセチン塩酸塩はノルアドレナリン再取り込みを選択的に阻害し、局所におけるノルアドレナリン量を増加させると考えられることから、理論上、精巣上体管の収縮能が増強し、精巣上体からの精子輸送が亢進して、精巣上体精子量が低下する可能性が考えられる。さらに、精巣の病理組織学的検査において精子形成への影響が懸念されるような変化はなかったことから、アトモキセチン塩酸塩を投与した幼若ラットにおける精巣上体尾部重量及び精子数の減少といった精巣上体の変化は、性成熟に対する影響というよりは、薬理作用によって精巣上体精子輸送が促進された為である可能性が考えられる。

精巣上体尾部は射精前の成熟精子の貯蔵部位として働いており、健常男性における精巣上体の精子量は精巣から精巣上体に輸送される精子の一日量の数倍であるが（Freund 1962 ; Freund 1963 ; Amann 1980）、精管切除を行っている男性のように射精がない場合、精子の貯蔵量は精巣で産生される量の 75 日分にまで増加する（Amann 1980）。射精により精巣上体尾部の精子量は減少するが、頻回に射精を行っても精巣から精子が毎日輸送され貯蔵されており、精巣上体の精子貯蔵量が精巣から輸送される 1 日量を下回ることはないと推察される。1 日精子産生量は健常男性で約 1 億 2000 万個であり（Amann 1980）、仮に射精液中の精子量がこの 1 日産生量と同等量（4000 万個/mL、射精 1 回当たりの平均精液量は 3 mL として算出 ; Nelson 1974）まで減少したとしても、授胎に必要な精子数下限である 1000 万個/mL あるいは 2500 万個/射精液よりもはるかに多い（Zukerman 1977）。よって、ヒトの射精精子の総数が、ラットで見られた精子輸送の亢進によると考えられる精巣上体精子数の減少（約 25%の減少）と同程度減少したとしても、もともと精巣の精子産生能及び精巣上体の精子量が正常な男性であれば不妊をもたらすレベルとはならないと推察される。以上、ラットで見られた精巣上体精子数減少の臨床的意義は高くないと考える。

切歯萌出遅延に関する考察

幼若ラットを用いた試験において、50 mg/kg 群の雌雄及び 10 mg/kg 群の雄で 11 日齢時点での切歯萌出発現率が低下、すなわち切歯萌出の軽度な遅延が生じた（表 2.6.7.15D、Tox 48）。しかしながら、この遅延は平均約 0.5 日とわずかであり、12 日齢時点では全例で切歯萌出が認められた。また、本試験で見られた切歯萌出の発現日は、報告されている切歯萌出の正常値の変動範囲内（10.6～12.2 日）であった（Vorhees 1985）。さらに、同じ日齢の出生児でも、実際の出生のタイミング（出生の確認は午前と午後の 1 日 2 回、出生児は同日中に分娩した母動物によって交叉哺育）は 1 日にわたりばらついていたと考えられる。これらのことから、ラットで見られた切歯萌出のわずかな遅延は毒性とは考えなかった。

自発運動の亢進に関する考察

幼若ラットを用いた試験で 15、30 及び 60 日齢時に自発運動量を測定した結果、15 日齢では 10 及び 50 mg/kg 群の雄で、30 日齢では 50 mg/kg 群の雌で自発運動の亢進が認められた。60 日齢では雌雄とも自発運動に影響は見られなかった。これらのアトモキセチンで認められた自発運動の亢進は一時的な変化であり、また安全性薬理試験においては、アトモキセチン塩酸塩はマウスの自発運動に影響を及ぼさないか、あるいはむしろ減少させた（第 2.6.2 章参照）。中枢刺激剤であるメチルフェニデート（Davids 2002）やアンフェタミン（Solanto 1998）など、一貫して自発運動が亢進するとされている薬剤とは異なっているようであった。これらのことから、幼若ラットにおいて見られた自発運動の亢進は毒性とは考えなかった。

毒性試験における曝露量に関する検討

各種実験動物及びヒトにおける非結合型のアトモキセチンの血漿中濃度を比較した（表 2.6.6-3）。血漿中アトモキセチン濃度は *in vitro* たん白結合データを基に血漿中非結合型薬物濃度として示した（ADME 05 及び 48）。ヒトの曝露量は、申請臨床用量中の最高用量（以下申請最高用量とする）の 1.8 mg/kg/日（0.9 mg/kg 1 日 2 回）をチトクローム P450 2D6（CYP2D6）の Extensive Metabolizer（以下 EM）または Poor Metabolizer（以下 PM）の集団に投与したときのデータを用いた。動物の曝露量は最長 3 ヶ月間までの反復投与時のデータを用いたが、動物ではアトモキセチン塩酸塩の投与により肝薬物代謝酵素誘導が概して高用量で生じたものの代謝亢進はないと考えられたため、これら 3 ヶ月投与までのデータから、より長期投与した場合の曝露量が推察できると考える。

ヒトにおいてアトモキセチンの主代謝酵素は CYP2D6 である。この酵素は遺伝子多型が知られており、それにより PM 及び EM が存在し、日本人では 1%未満が PM と報告されている。アトモキセチン塩酸塩を同用量で投与した場合、PM は EM よりも定常状態における血漿中アトモキセチン濃度が有意に高くなる。

また、ヒトでは第 I 相反応主要代謝物として、4-ヒドロキシ体及び N-デスメチル体が存在する。これらの代謝物について薬理活性を評価した結果、両代謝物ともに親化合物と同様にノルアドレナリントランスポーターに対する阻害が最も強く、4-ヒドロキシ体の活性はアトモキセチンと同等、一方、N-デスメチル体は約 20 分の 1 であった（第 2.6.2 章参照）。N-デスメチル体の血漿中濃度はアトモキセチンより低い、PM での定常状態における血漿中濃度はアトモキセチン濃度の約 54% に達する。一方、4-ヒドロキシ体はさらなる代謝を受けるため血漿中ではごく低い濃度で循環するに過ぎない [EM 及び PM で、それぞれアトモキセチンの 2 及び 0.2% 未満]。げっ歯類およびイヌではヒトのように CYP2D6 を発現しないが、アトモキセチンはヒトと同様に代謝され、同じ第 I 相反応主要代謝物である 4-ヒドロキシ体及び N-デスメチル体が循環血中に認められる。

動物における曝露倍数はヒトと同等以下であることが多かった。

イヌでは、成熟イヌの無毒性量及び幼若イヌにおいて振戦などの毒性症状が認められたが標的臓器毒性が生じなかった用量において、EM より高い曝露量が得られた。さらに、イヌの試験で用いた高用量である 16 mg/kg を投与した幼若及び成熟イヌでは、EM だけでなく PM と比較してもヒトより高い曝露量が得られた。この用量では臨床的にモニター可能な振戦及び嘔吐などの中枢神経症状が認められたもののそれ以外の毒性変化はなく、忍容性は良好であった。さらに、単回投与毒性試験において、より高用量の 37.5 mg/kg を単回経口投与しても中枢神経症状は生じたが死亡はなかった。同試験では血漿中濃度を測定しなかったが、仮にこの用量まで線形の血漿中薬物動態を示すと仮定すれば、ヒトと比較し、かなり高い曝露が得られていたと考えられる。なお、中枢症状が生じるために 16 mg/kg を超える量の反復投与は困難であると考えられ、16 mg/kg が反復投与時の最大耐量であったと考えられる。

成熟マウスの無毒性量及び成熟ラットの低用量における曝露量は、ヒトに申請最高用量を投与したときの曝露量より低かった。一方で、これらの試験の最高用量における曝露量は、成熟ラットではヒト EM とほぼ同等であり、マウスではヒト EM 及び PM の曝露量を上回っていた。げっ歯類の反復投与毒性試験における主要な毒性は体重及び摂餌量の低下であり、肝臓に対する影響も認められたもののごく軽度で重大な臓器毒性は見られず、最高用量まで忍容性が良好であった。なお、幼若ラットを用いた試験で用いた高用量であり、かつ、発育分化・神経行動及び生殖能・受胎能に対する無毒性量である 50 mg/kg を投与した時の、投与初期の曝露量はヒト EM 及び PM の曝露量より高かった。

げっ歯類において曝露量が低い理由として、肝臓での初回通過効果が高く、全身から速やかに消失するためと考えられる（第 2.6.4 項参照）。

げっ歯類の混餌投与による反復投与試験では、高用量で体重及び摂餌量に対する影響が認められており、最大耐量付近までの投与がされていたと考える。ラットの最終体重は対照群と比較して、3 ヶ月毒性試験の高用量群で 4~9%、1 年間毒性試験の高用量群で 10~17%、3 ヶ月間トキシコキネティクス試験の高用量群で 6~14%、3 ヶ月間固定用

量混餌試験の高用量群では 19～23%の低下が見られた。3 ヶ月間固定用量混餌試験ではこれに加え消瘦も見られた。同様の体重・摂餌量に対する変化はラット 1 ヶ月間強制経口投与試験でも認められている。さらにかん原性試験では、試験期間中に体重が最大で 11～14%低下した。マウスでも、反復投与による高用量群の最終体重について、3 ヶ月試験で 9～13%、かん原性試験で 19～32%の低下が見られている。さらに、特にラットにおいては中枢症状が生じたり単回投与時の概略の致死量がそれほど高くなかったことから、反復投与試験の用量を大幅に増量することができないと考えられた。げっ歯類はアトモキセチン塩酸塩の薬理作用に対する感受性が特に高く、アトモキセチン塩酸塩に期待される薬理作用は 10 mg/kg 未満の経口用量で生じるが、これは単回投与時の毒性用量よりかなり低い。そのため、げっ歯類の毒性試験では、最大耐量付近においても曝露倍数が低くなった。

以上、イヌでは、申請最高用量である 1.8 mg/kg/日 (0.9 mg/kg 1 日 2 回投与) をヒトに投与したときの曝露量に相当する曝露量まで投与しても、重篤な毒性は認められなかった。げっ歯類では、マウスの試験で用いた高用量以外はヒトと比べて概して低い曝露量にしか達しなかった。しかしながら、各毒性試験における所見から、アトモキセチン塩酸塩は最大耐量付近まで投与されており、これ以上に用量を増量できなかったと考えられる。したがって、実施可能な範囲でアトモキセチン塩酸塩及びその代謝物の毒性プロファイルは評価されたと考える。

表 2.6.6-3. 動物及びヒトにおけるアトモセチン曝露量の比較

動物種 用量	C _{max} ng/mL	AUC _{0-t} ng·hr/mL	非結合型アトモセチンの曝露倍数 ^a			
			C _{max}		AUC	
			EM	PM	EM	PM
ヒト ^b EM : 1.8 mg/kg/日 PM : 1.8 mg/kg/日	6.7 (517) ^c 34 (2603)	48 (3660) 422 (32450)	-	-	-	-
成熟イヌ ^h (t=18h) NOAEL : 8 mg/kg/日 高用量 : 16 mg/kg/日	59 (1795) 138 (4178)	277 (8384) 767 (23243)	8.8 倍 21 倍	1.8 倍 4.1 倍	5.8 倍 16 倍	0.7 倍 1.8 倍
幼若イヌ (t=24h) 低用量* : 4 mg/kg/日 高用量 : 16 mg/kg/日	52 (1311) 155 (3877)	188 (4691) 693 (17329)	7.8 倍 23 倍	1.5 倍 4.6 倍	3.9 倍 15 倍	0.4 倍 1.6 倍
成熟ラット ^d (t=20h) 低用量* : 飼料中 0.01% (7~8 mg/kg/日) 高用量 : 飼料中 0.1% (69~75 mg/kg/日)	0.6 (4.8) 5.7 (47)	8.7 (72) 92 (759)	0.1 倍 0.8 倍	<0.1 倍 0.2 倍	0.2 倍 1.9 倍	<0.1 倍 0.2 倍
幼若ラット (t=24h) NOAEL ^e : 1 mg/kg/日 NOAEL ^f : 50 mg/kg/日	≤1.2 (≤ 4.9) 7.2 - 98 (60 - 409)	≤7.8 (≤33) 69 - 617 (573 - 2569)	≤0.2 倍 ≤1.1 - 15 倍	<0.1 倍 ≤0.2 - 2.9 倍	≤0.2 倍 ≤1.5 - 13 倍	≤0.1 倍 ≤0.2 - 1.5 倍
成熟マウス (t=24h) ^g NOAEL : 飼料中 0.1% (150 mg/kg/日) 高用量 : 飼料中 0.3% (450 mg/kg/日)	6.7 (37) 32 (179)	84 (466) 478 (2657)	1.0 倍 4.8 倍	0.2 倍 1.0 倍	1.8 倍 10 倍	0.2 倍 1.1 倍
妊娠ラット (t=24h) 胎児 NOAEL: (150 mg/kg/日)	118 (977)	353 (2918)	18 倍	3.5 倍	7.4 倍	0.8 倍
妊娠ウサギ (t=24h) 胎児 NOAEL : 100 mg/kg/日	42 (1114)	123 (3228)	6.3 倍	1.3 倍	2.6 倍	0.3 倍

PM=ヒト CYP2D6 低代謝能群；EM=ヒト CYP2D6 通常代謝能群；NOAEL=無毒性量；低用量*=試験で用いた低用量から毒性が認められた

^a 曝露倍数は、[動物での非結合型アトモセチンの C_{max} 又は AUC_{0-t}] ÷ [ヒト定常状態における非結合型アトモセチンの C_{max} 又は AUC₀₋₂₄] として算出した。

^b ヒト血漿中 C_{max} 及び AUC₀₋₂₄ は、小児患者に対して 5~45 mg のアトモセチン塩酸塩を反復投与した時に収集したデータに基づき、0.9 mg/kg 1 日 2 回 (1.8 mg/kg/日) 投与時における平均曝露量を母集団薬物動態モデルから導いた。

^c 血漿中の非結合型アトモセチン濃度。() 内は血漿中の総アトモセチン濃度。

^d ラット 1 年間試験における低用量 (Tox 18)。曝露量はラット 3 ヶ月間混餌投与トキシコキネティクス試験 (Tox 32) の投与 90 日の値を外挿

^e 一般毒性の無毒性量 (Tox 45)

^f 発育分化・神経行動及び生殖能・受胎能の無毒性量 (Tox 48 及び 49)。

^g マウスがん原性試験の無毒性量 (Tox 21)。曝露量はマウス 1 ヶ月間トキシコキネティクス試験 (Tox 55) の投与 35 日の値を外挿。

^h イヌ 1 年間試験における無毒性量 (Tox 17)。曝露量はイヌ 3 ヶ月間反復投与トキシコキネティクス試験 (Tox 35) の投与 89 日の値を外挿。

以上、アトモキセチン塩酸塩は試験で用いたすべての動物種において一般症状を生じたが重大な毒性はなく、軽微な毒性のみであった。このときのアトモキセチン及びその第 I 相反応主要代謝物の曝露量は、申請最高用量をヒトに投与した時の曝露量と比較し同等以下の場合もあったが、一連の毒性試験において実施可能な範囲でアトモキセチン塩酸塩の安全性プロファイルは評価されたと考える。

2.6.6.10 参考文献

- Amann RP, Howards SS. 1980. Daily spermatozoal production and epididymal spermatozoal reserves of the human male. *The Journal of Urology* 124:211-215.
- Clark RL. 1999. Endpoints of Reproductive System Development. In: Daston G, Kimmel C, editors. *An Evaluation and Interpretation of Reproductive Endpoints for Human Health Risk Assessment*. Washington DC: International Life Sciences Institute Press. p10-27
- Dauids E, Zhang K, Kula NS, Tarazi FI, Baldessarini RJ. 2002. Effects of norepinephrine and serotonin transporter inhibitors on hyperactivity induced by neonatal 6-hydroxydopamine lesioning in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 301:1097-1102.
- Freund M. 1962. Interrelationships among the characteristics of human semen and factors affecting semen-specimen quality. *J Reprod Fertil* 4:143-159.
- Freund M. 1963. Effect of frequency of emission on semen output and an estimate of daily sperm production in man. *J Reprod Fertil* 6:269-286.
- Huang Y, Chang C, Trosko JE. 1983. Aphidicolin-induced endoreduplication in Chinese hamster cells. *Cancer Res* 43:1361-1364.
- Kempinas WDG, Suarez JD, Roberts NL, Strader L, Ferrell J, Goldman JM, Klinefelter GR. 1998. Rat epididymal sperm quantity, quality, and transit time after guanethidine-induced sympathectomy. *Biology of Reproduction* 59:890-896.
- Nelson CMK, Bunge RG. 1974. Semen analysis: evidence for changing parameters of male fertility potential. *Fertility and Sterility* 25(6):503-507.
- Ojeda SR, Urbanski HF. 1994. Puberty in the rat. IN: *The Physiology of Reproduction*. Knobil E, Neil JD, editors. Raven Press: New York, 1994. p.363-409.
- Schmid W. 1966. Multipolar spindles after endoreduplication. *Exp Cell Res* 42:201-204.
- Solanto, MV. 1998. Neuropsychopharmacological mechanisms of stimulant drug action in attention-deficit hyperactivity disorder: a review and integration. *Behavioural Brain Research* 94:127-152.
- Sutou S, Arai Y. 1975. Possible mechanisms of endoreduplication induction. *Exp Cell Res*. 92:15-22.
- Sutou S, Tokuyama F. 1974. Induction of endoreduplication in cultured mammalian cells by some chemical mutagens. *Cancer Res* 34:2615-2623.
- Sutou S. 1981. The mechanisms of endoreduplication. *Cancer Genet Cytogenet* 3:317-325.

Vorhees CV. 1985. Behavioral effects of prenatal methylmercury in rats: A parallel trial to the collaborative behavioral teratology study. *Neurobehavioral Toxicology and Teratology* 7:717-725.

Wong DT, Threlkeld PG, Best KL, Bymaster FP. 1982. A new inhibitor of norepinephrine uptake devoid of affinity for receptors in rat brain. *J Pharmacol Exper Ther* 222:61-65.

Zukerman Z, Rodriguez-Rigau L, Smith KD, Steinberger E. 1977. Frequency distribution of sperm counts in fertile and infertile males. *Fertility and Sterility* 28(12):1310-1313.