

ドキシル注 20mg

第2部 CTD の概要

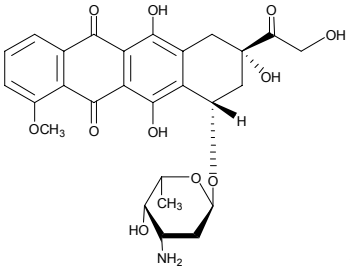
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表 －毒性－

ヤンセン ファーマ株式会社

目次

2.6.6	毒性試験の概要文.....	5
2.6.6.1	まとめ.....	5
2.6.6.2	単回投与毒性試験.....	9
2.6.6.3	反復投与毒性試験.....	11
2.6.6.4	遺伝毒性試験.....	14
2.6.6.5	がん原性試験.....	14
2.6.6.6	生殖発生毒性試験.....	14
2.6.6.7	局所刺激性試験.....	16
2.6.6.8	その他の毒性試験.....	18
2.6.6.9	考察及び結論.....	29
2.6.6.10	図表.....	32
2.6.6.11	参考文献.....	32
2.6.7	毒性試験概要表.....	1

略号一覧表

略号又は略称	化学名又は一般名	構造式	由来
塩酸ドキソルビン ^{a)} Doxorubicin Hydrochloride	(2 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-(3-Amino-2,3,6-trideoxy- α -L- <i>xyo</i> -hexopyranosyloxy)-2,5,12-trihydroxy-2-hydroxyacetyl-7-methoxy-1,2,3,4-tetrahydrotetracene-6,11-dione monohydrochloride 分子式：C ₂₇ H ₂₉ NO ₁₁ ・HCl＝579.98		主薬

a)：第 15 改正日本薬局方ではドキソルビン塩酸塩

略号又は略称	名称及び内容
2-AA	2-アミノアントラセン (2-aminoanthracene)
9-AA	9-アミノアクリジン (9-aminoacridine)
AF-2	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide)
A/G 比	アルブミン/グロブリン比 (albumin/globulin ratio)
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間 (activated partial thromboplastin time)
ASA	能動的全身性アナフィラキシー (active systemic anaphylaxis)
AUC(0→t)	0 から t 時間の血中濃度-時間曲線下面積 (area under the plasma concentration – time curve from 0 to t)
BP	ベンゾ[α]ピレン (benzo[α]pyrene)
CHL/IU 細胞	チャイニーズハムスター肺由来 (Chinese hamster lung) 細胞
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣 (Chinese hamster ovary) 細胞
Cmax	最高血漿中濃度 (maximal plasma concentration)
CP	シクロホスファミド (cyclophosphamide)
DMSO	ジメチルスルホキシド (dimethylsulfoxide)
Doxil-1	JNS002 の初期製剤 (表 2.6.6-2 参照)
Doxil-2	Doxil-1 を処方改良した, JNS002 とほぼ同等の性質を有する製剤 (表 2.6.6-2 参照)
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令 (Good Laboratory Practice)
FCA	Freund's complete adjuvant
FIA	Freund's incomplete adjuvant
HSPC	水素添加大豆ホスファチジルコリン (hydrogenated soy phosphatidylcholine)
JNS002	塩酸ドキソルビン リポソーム注射剤 (Doxil-3)
MCA	メチルコラントレン (methylcholanthrene)
MCV	平均赤血球容積 (mean corpuscular volume)
MCH	平均赤血球血色素量 (mean corpuscular hemoglobin)
MMC	マイトマイシン C (mitomycin C)
MMS	メタンスルホン酸メチル (methyl methanesulfonate)
MPEG-DSPE	N-(Carbonyl-methoxypolyethylene glycol 2000)-1,2-distearoyl- <i>sn</i> -glycero-3-phosphoethanolamine sodium salt (Sodium MPEG-2000-Carbonyl-DSPE)
NZW	ニュージーランドホワイト (New Zealand White)
PC	ホスファチジルコリン (phosphatidylcholine)
PCA	受動的皮膚アナフィラキシー (passive cutaneous anaphylaxis)
PEG	ポリエチレングリコール (polyethylene glycol)
PT	プロトロンビン時間 (prothrombin time)
SD ラット	Sprague-Dawley ラット
SLD	STEALTH [®] リポソーム化した塩酸ドキソルビン
SPL	STEALTH [®] プラセボリポソーム (STEALTH [®] placebo liposome)
TK 試験	トキシコキネティクス (toxicokinetics) 試験

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

JNS002 は、米国 ALZA 社で開発された新規の長時間循環型リポソーム剤である STEALTH[®] プラセボリポソーム (SPL) に、塩酸ドキソルビンンを封入した静脈内投与製剤である。SPL は *N*-(Carbonyl-methoxypolyethylene glycol 2000)-1,2-distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine sodium salt (MPEG-DSPE)、水素添加大豆ホスファチジルコリン (HSPC) 及びコレステロールを [REDACTED] として作製した脂質二重膜 (リポソーム) 内に、[REDACTED] として硫酸アンモニウムを、リポソーム外に [REDACTED] として精製白糖を、[REDACTED] として L-ヒスチジンを、更に pH 調節剤として [REDACTED] 及び [REDACTED] を含む。JNS002 はこの SPL 内の水相に塩酸ドキソルビンンを含有する製剤である (表 2.6.6-1)。

表 2.6.6-1 ドキシル注 20 mg の成分及び分量

配合目的	規格	成分	分量 (mg/vial)
有効成分	日局	塩酸ドキソルビン	20
[REDACTED]	[REDACTED]	HSPC	95.8
[REDACTED]	[REDACTED]	MPEG-DSPE	31.9
[REDACTED]	[REDACTED]	コレステロール	31.9
[REDACTED]	[REDACTED]	硫酸アンモニウム	20
[REDACTED]	[REDACTED]	精製白糖	940
[REDACTED]	[REDACTED]	L-ヒスチジン	15.5
pH 調節剤	[REDACTED]	[REDACTED]	適量
pH 調節剤	[REDACTED]	[REDACTED]	適量
[REDACTED]	[REDACTED]	注射用水	適量

* 注射用水をもって全量 10 mL とする。

JNS002 の開発における初期製剤として、[REDACTED] である硫酸アンモニウム濃度が低い Doxil-1 を用いて予備的な毒性評価を行った。その後に硫酸アンモニウム濃度を 2 倍にし、[REDACTED] として [REDACTED] を使用した Doxil-2 に処方を変更し、更に、[REDACTED] を L-ヒスチジンに変更した JNS002 (Doxil-3) を最終製剤とした。JNS002 は、Doxil-2 と [REDACTED] が異なることを除いて同一の製剤である。Doxil-1、Doxil-2 及び JNS002 の組成比較を表 2.6.6-2 に示す。ラット及びイヌ単回投与毒性試験は、Doxil-2 を用いて実施した。ラット及びイヌ反復投与毒性試験、ラット及びウサギ生殖発生毒性試験 (胚・胎児発生に関する試験) 並びに局所刺激性試験、抗原性試験は最終製剤である JNS002 を用いて実施した。これらの評価資料とした試験は、すべて GLP を遵守して実施した。JNS002、Doxil-2 及び Doxil-1 の投与用量は、すべて塩酸ドキソルビン量として示した。

表 2.6.6-2 Doxil-1, Doxil-2 及び JNS002 の組成比較 (mg/mL)

成分	Doxil-1	Doxil-2	JNS002 (Doxil-3, 本剤)
塩酸ドキソルビン			2.0
HSPC			9.58
MPEG-DSPE			3.19
コレステロール			3.19
硫酸アンモニウム			2
精製白糖			94
			NA
			NA
			NA
L-ヒスチジン			1.55
pH			6.5
ロット番号	B	A, C	D, F, G
ロット番号 (SPL ^{a)})		K	E, L, H

NA : 使用せず, a) : 塩酸ドキソルビンを含まないことを除いて, Doxil-2 又は JNS002 と同一の処方

*新薬承認情報提供時に置き換え

(1) 単回投与毒性試験

ラット及びイヌを用いて Doxil-2 の単回静脈内投与毒性試験を実施した。

雄ラットに Doxil-2 を 4, 8 及び 12 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。その結果, 12 mg/kg 群の 4/10 例, 8 mg/kg 群の 1/10 例が一般状態の悪化を示し, 観察期間中に死亡した。したがって, 雄ラットにおける概略の致死量は 8 mg/kg であると判断した。一般状態の変化として, 尾部, 足蹠, 陰囊などの皮膚障害, 陰茎突出, 嗜眠, 円背位及び呼吸困難などが, 更に血液学及び血液生化学的検査値の変動も認められた。これらの所見は, 生存例では観察期間中に回復性を示した。

イヌに Doxil-2 を 1.5, 1.8 及び 2.1 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。その結果, 試験 28 日に 2.1 mg/kg 群の雌 1/3 例を投与部位の重篤な障害 (腫脹, 炎症及び出血) のため切迫屠殺した。以上のことから, 概略の致死量は雄が 2.1 mg/kg 超, 雌が 2.1 mg/kg と判断した。一般状態の変化として, 便の異常, 皮膚障害, 赤色尿, 活動性低下, 消瘦, 冷触感などが, 更に血液学及び血液生化学的検査値の変動も認められた。これらの所見は, 生存例では観察期間中に回復性を示した。

(2) 反復投与毒性試験

ラットに JNS002 を 0.25, 1.0 及び 1.5 mg/kg の用量で 3 日に 1 回の投与頻度で計 13 回, 反復静脈内投与した。また, 対照群として生理食塩液群, SPL 群及び塩酸ドキソルビン (1.0 mg/kg) 群を設けて, 同様に投与した。その結果, 生理食塩液及び SPL 群では投与に起因する毒性所見は認められなかった。1.5 mg/kg 群では 8 回投与時 (試験 22 日) に雄 7/15 例, 雌 1/15 例を切迫屠殺したため, 生存例の投与を中止しその後の評価から除外した。また, 1.0 mg/kg 群の雌 1/15 例を一般状態悪化のため試験 36 日に切迫屠殺した。更に, 塩酸ドキソルビン 群の雄 2/15 例が試験 66 日及び 68 日に死亡した。一般状態観察では, 1.0 mg/kg 群で皮膚障害及び接触過敏などが認められた。0.25 mg/kg 群で認められた皮膚障害は軽度であった。これらの所見は, 休薬期間終了時にはほとんど回復した。体重増加量及び摂餌量の減少が, 1.0 mg/kg 群と塩酸ドキソルビン群に認められた。血液学的検査, 血液生化学的検査, 尿検査及び病理組織学的検査結果から, 塩酸ドキソルビンと比較して JNS002 は腎臓, 心臓, 骨髄に対する影響が軽度であることが示された。一方, 皮膚障害は JNS002 の方が強く認められ, 精巣及び神経に対する影響は JNS002 と塩酸ドキソルビンで同程度であった。

以上の結果から, ラットにおける JNS002 の無毒性量は 0.25 mg/kg 未満と判断した。

イヌに JNS002 を 0.25, 0.75 及び 1.0 mg/kg の用量で 3 週に 1 回の投与頻度で、計 10 回反復静脈内投与した。また、対照群として生理食塩液群、SPL 群及び塩酸ドキソルビン (1.0 mg/kg) 群を設けて、同様に投与した。その結果、いずれの投与群においても、被験物質投与に起因した死亡は認められなかった。SPL 群で初回投与時に粘膜の蒼白化、嘔吐及び活動性低下が散見されたため、全群で投与速度を減少した。0.75 mg/kg 以上の群で体重増加量と摂餌量の減少傾向が認められた。0.75 mg/kg 以上の群の全例で、多くの部位に皮膚の障害及び色素沈着が認められ、その後同じ部位に脱毛が認められた。皮膚障害の多くは休薬期間中に回復したが、脱毛は継続的に認められた。投与終了時の病理組織学的検査で塩酸ドキソルビン群の全例に心筋細胞の空胞変性が認められ、4 週間の休薬期間終了後には心臓毒性がより重篤に認められた。一方、JNS002 群ではいずれの剖検時にも心臓に対する影響は認められなかった。塩酸ドキソルビン群では雄 1/6 例及び雌 2/6 例に骨髓細胞の減少が観察されたが、JNS002 群では骨髓に対する影響は認められなかった。したがって、塩酸ドキソルビンに比べ JNS002 は心臓及び骨髓に対する影響が弱いことが示された。一方、精巣に対する影響は JNS002 と塩酸ドキソルビンで同程度であった。

以上の結果から、イヌにおける JNS002 の無毒性量は 0.25 mg/kg 未満と判断した。

(3) 遺伝毒性試験

JNS002 の有効成分である塩酸ドキソルビンは遺伝毒性を有することが報告されていることから、JNS002 を用いた遺伝毒性試験は実施していない。

(4) がん原性試験

JNS002 の有効成分である塩酸ドキソルビンは細胞毒性を有する抗がん剤であることから、JNS002 を用いたがん原性試験を実施していない。

(5) 生殖発生毒性試験

1) ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

妊娠ラットに JNS002 を 0.1, 0.5 及び 1.0 mg/kg の用量で妊娠 6 日から 3 日に 1 回、計 4 回 静脈内投与し、胎児の器官形成に及ぼす影響を検討した。対照群として、生理食塩液群及び SPL 群に加え、塩酸ドキソルビンを 0.2 及び 0.4 mg/kg の用量で妊娠 6 日～15 日まで 1 日 1 回静脈内投与する群を設けた。その結果、SPL 群及び 0.1 mg/kg 群の母動物及び胎児に被験物質投与に起因する毒性所見は認められなかった。母動物には、0.5 mg/kg 以上の群で体重増加量及び摂餌量の減少が認められた。胎児への影響としては、1.0 mg/kg 群において生存胎児体重の減少、生存胎児数の減少及び吸収胚率の増加が認められ、胎児毒性が示された。また、同群の胎児に化骨遅延が認められたが、胎児の発育遅延に起因するものと推察された。一方、塩酸ドキソルビン群では胎児への影響は認められなかった。

2) ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

妊娠ウサギに JNS002 を 0.5, 1.5 及び 2.5 mg/kg の用量で妊娠 6 日から 3 日に 1 回、計 5 回静脈内投与し、胎児の器官形成に及ぼす影響を検討した。対照群として生理食塩液群を設けた。1.5 及び 2.5 mg/kg 群において、それぞれ 1/5 例及び 3/5 例が妊娠後期に死亡した。また、0.5 mg/kg 群では全例が流産したため切迫屠殺したところ、全例に吸収胚が認められた。1.5 及び 2.5 mg/kg 群の母動物についても生存胎児は認められず、すべて吸収胚であった。以上の結果から、JNS002 はウサギに対して流産誘発作用及び胚・胎児致死作用を有することが示唆された。

(6) 局所刺激性試験

JNS002 を静脈内及び皮下投与したときの局所刺激性試験を実施した。ウサギに 0.1 又は 1.0 mL の JNS002 (2.0 mg/mL)、塩酸ドキソルビン (2.0 mg/mL) 及び SPL を単回静脈内又は皮下

投与した。静脈内投与においては JNS002、塩酸ドキソルビン及び SPL の忍容性は良好で、肉眼的及び病理組織学的検査において刺激性は認められなかった。JNS002 の皮下投与後に、投与部位に用量依存性に極微から中等度の炎症などが認められたが、回復傾向が示された。これに対し、塩酸ドキソルビン投与後にはより重篤かつ進行性の所見が認められた。SPL は皮下投与による刺激性が認められなかった。これらの試験結果から、JNS002 は塩酸ドキソルビンと比較して局所刺激性が弱いことが示された。

(7) その他の毒性試験

1) 抗原性試験

モルモットを用いた抗原性試験の結果、能動的全身性アナフィラキシー（ASA）反応及び受動的皮膚アナフィラキシー（PCA）反応ともに陰性であった。

2) 毒性の発現機序に関する試験

イヌを用いて JNS002 の反復静脈内投与における皮膚障害及び骨髄抑制の発現とその程度を検討した。その結果、JNS002 投与時の皮膚障害の発現率及び重篤度は、JNS002 の投与間隔を延長させることにより軽減されることが示された。

また、ウサギを用いて JNS002 の反復静脈内投与における心臓毒性の発現とその程度について、塩酸ドキソルビンと比較検討した。その結果、JNS002 は塩酸ドキソルビンの累積投与量と同量及び 1.5 倍量を投与しても、塩酸ドキソルビンより心臓毒性が弱いことが示された。

3) 新添加物に関する試験

a) SPL

本剤で使用している SPL は新規の医薬品添加物を含有することから、*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験を実施した。更に、ラット及びイヌ反復静脈内投与毒性試験、ラット胚・胎児発生に関する試験、局所刺激性試験並びに抗原性試験において、溶媒対照群として SPL 群を設け、SPL の毒性について評価した。

その結果、SPL に遺伝毒性は認められなかった。イヌ反復静脈内投与毒性試験において投与速度に起因すると考えられる急性反応が認められたが、投与速度を減少することで発現頻度と重篤度が減少した。その他、SPL に起因する所見は認められなかった。ラット反復静脈内投与毒性試験、ラット胚・胎児発生に関する試験、局所刺激性試験及び抗原性試験においても、SPL 投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。

b) SPL の構成成分

SPL の構成成分のうち、MPEG-DSPE、HSPC、コレステロール及び硫酸アンモニウムについては、静脈内投与における医薬品添加物としての使用経験がないことから、これらの構成成分の静脈内投与における影響について検討した。なお、これらの構成成分はリポソームを形成する脂質であるか、リポソーム内の水相に封入されているため、本剤の投与においてこれらの構成成分がフリー体として急激に血中濃度の上昇を示すことはないと考えられる。

① MPEG-DSPE

MPEG-DSPE のラット単回静脈内投与における概略の致死量は雌雄とも 1000 mg/kg、ラット 2 週間反復静脈内投与における無毒性量は雌雄とも 100 mg/kg/日と判断され、この用量は臨床における 1 回投与量の約 420 及び 42 倍である。また、復帰突然変異試験及び染色体異常試験結果は陰性であった。

② HSPC

HSPC リポソーム溶液のラット単回静脈内投与における概略の致死量は雌雄とも 672 mg/kg 超、ラット 2 週間反復静脈内投与における無毒性量は雌雄とも 33.6 mg/kg/日と判断され、この用量は臨床における 1 回投与量の約 90 及び 5 倍である。

本剤の 1 回投与における HSPC の総投与量は血中リン脂質濃度の 10%以下であり、リン脂質の生理的日内変動以内の用量であることから、本剤投与により HSPC が生体に対して影響することはほとんどないと考えられる。

③ コレステロール

本剤の 1 回投与におけるコレステロールの総投与量は血中コレステロール濃度の 10%以下であり、生理的日内変動以内の用量であることから、本剤投与によりコレステロールが生体に対して影響することはほとんどないと考えられる。

④ 硫酸アンモニウム

硫酸アンモニウムのラット単回静脈内投与における概略の致死量は雌雄とも 300 mg/kg であり、臨床における 1 回投与量の約 200 倍である。更に、硫酸アンモニウムは遺伝毒性を示さず、13 週間のラット混餌投与における無影響量は雄で 886 mg/kg/日、雌で 1975 mg/kg/日であることが示されている。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

ラット及びイヌに Doxil-2 及び Doxil-1 を単回静脈内投与したときの血漿中薬物動態は有意に異なる (2.6.4.3(1), 1), b), ①項, 及び 2.6.4.3(1), 3), a), ①項参照) が、 の違い (及びヒスチジン) による血漿中薬物動態への影響はほとんどないことが示されている (2.6.4.3(1), 1), c)項参照)。したがって、Doxil-2 と JNS002 は血漿中薬物動態が大きく異ならないと考えられるため、単回投与試験については Doxil-2 を用いた試験で評価した。

(1) ラット単回静脈内投与毒性試験

(評価資料 4.2.3.1.8)

【試験方法】

1 群 10 例の雄 SD ラットに Doxil-2 (Lot A) 及び Doxil-1 (Lot B) を 4, 8 及び 12 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。対照群には生理食塩液を投与した。投与は 90 秒以上かけて行った。投与日 (試験 1 日) から試験 30 日まで観察した。観察期間中に体重測定、並びに血液学的検査及び血液生化学的検査を実施した。剖検は、これらの検査結果から Doxil-2 と Doxil-1 の比較ができると判断したため実施しなかった。

*新薬承認情報提供時に置き換え

また、TK 試験として各 TK 試験用動物から経時的に採血し血漿中ドキソルビン濃度を測定した (2.6.4.3(1), 1), b), ①項参照)。

【用量設定の根拠】

本試験の実施に先立ち、Doxil-1 と塩酸ドキソルビンを比較したマウス単回静脈内投与毒性試験 (参考資料 4.2.3.1.1 - 4.2.3.1.5)、並びに Doxil-1、Doxil-2 及び塩酸ドキソルビンを比較したマウス単回静脈内投与毒性試験 (参考資料 4.2.3.1.6) を実施した。その結果、Doxil-1 においては塩酸ドキソルビンよりも毒性が低い傾向が示されたものの、投与した最低用量である 6 mg/kg 群においても死亡例が認められた。更に、Doxil-1 と Doxil-2 を比較したラット単回静脈内投与毒性試験を 5, 10, 15, 20 及び 25 mg/kg (試験 1) 並びに 12, 15 及び 18 mg/kg (試験 2) の投与量で実施した (参考資料 4.2.3.1.7)。その結果、Doxil-2 では 10 mg/kg 群、Doxil-1 では 12 mg/kg 群で死亡例が認められた。これらの結果を基に、本試験における Doxil-2 及び Doxil-1 の投与量をそれぞれ 4, 8 及び 12 mg/kg と設定した。

【結果及び考察】

Doxil-2 の 12 mg/kg 群で 4 例（試験 17, 22, 24 及び 26 日）、8 mg/kg 群で 1 例（試験 20 日）、並びに Doxil-1 の 12 mg/kg 群で 3 例（試験 10 及び 11 日）が観察期間中に一般状態の悪化により死亡した。なお、Doxil-2 の 4 及び 8 mg/kg 群、並びに Doxil-1 の 12 mg/kg 群の各 1 例が採血時に麻酔の影響で死亡したが、死亡するまで毒性変化は認められなかったことから、被験物質に起因しない死亡であると考えられた。したがって、雄ラットにおける概略の致死量は Doxil-2 が 8 mg/kg、Doxil-1 が 12 mg/kg であると判断した。

被験物質投与に起因し、投与量依存的な一般状態変化として、尾、足蹠及び陰囊の障害、足蹠、陰茎及び陰囊などの腫脹、紅斑、痂皮及びびらん、粗毛、脱毛、陰茎突出、嗜眠、円背位、消瘦並びに呼吸困難などがいずれの投与群にも認められた。

投与量に相関していずれの投与群においても体重減少が認められた。血液学的検査では、白血球数、赤血球数、リンパ球数、単球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少が投与量に相関して試験 14 日まで認められたが、試験 28 日には増加傾向に転じた。血液生化学的検査では、グロブリン、尿素窒素、コレステロール、グルコース及び塩素の増加、並びにアルカリホスファターゼ及びアルブミンの減少が認められた。これらの所見は、いずれの投与群においても認められた。

以上の結果から、Doxil-2 及び Doxil-1 の毒性プロファイルに差は認められなかった。

TK 試験において、Doxil-2 は Doxil-1 と比較して Cmax が高値傾向を、AUC が有意な高値を示した（2.6.4.3(1), 1), b), ①項参照）。

(2) イヌ単回静脈内投与毒性試験

(評価資料 4.2.3.1.11)

【試験方法】

1 群雌雄各 3 例のビーグル犬に Doxil-2 (Lot **C**) 及び Doxil-1 (Lot **B**) を 1.5, 1.8 及び 2.1 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。対照群には生理食塩液を投与した。投与は約 1.5 mL/分の速度で実施した。投与日（試験 1 日）から 30 日間観察した。一般状態観察、体重測定、摂餌量測定のほか、身体検査（心拍数・呼吸数・直腸温）、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査を実施した。剖検は途中死亡例についてのみ行い、生存例については上記の検査結果から Doxil-2 と Doxil-1 の比較ができると判断したため実施しなかった。

また、TK 試験として各投与群から経時的に採血し血漿中ドキシソルビン濃度を測定した（2.6.4.3(1), 3), a), ①項参照）。

*新薬承認情報提供時に置き換え

【用量設定の根拠】

本試験に先立ち、Doxil-1 と塩酸ドキシソルビンを比較したビーグル犬における単回静脈内投与毒性試験を実施した（参考資料 4.2.3.1.9 及び 4.2.3.1.10）。その結果、Doxil-1 の 1.88 mg/kg 投与により 2/4 例が死亡又は切迫屠殺したが、1.7 mg/kg 投与では 1/16 例を切迫屠殺したのみであった。したがって、本試験における Doxil-1 及び Doxil-2 の投与量を 1.5, 1.8 及び 2.1 mg/kg と設定した。

【結果及び考察】

被験物質の漏出に起因する投与部位の重篤な障害及び一般状態の悪化のため、Doxil-2 の 2.1 mg/kg 群の雌 1 例（試験 28 日）、並びに Doxil-1 の 1.5 mg/kg 群の雌 1 例（試験 24 日）、1.8 mg/kg 群の雄 1 例（試験 22 日）及び 2.1 mg/kg 群の雄 1 例（試験 24 日）を切迫屠殺した。投与部位の障害は Doxil-2 の 2.1 mg/kg 群の生存例でもやや軽度認められ、塩酸ドキシソルビンが血管外に漏出した際に認められる所見と同様であった¹⁾。以上のことから、概略の致死量は Doxil-2 は雄で 2.1 mg/kg 超、雌で 2.1 mg/kg、Doxil-1 は雄で 1.8 mg/kg、雌で 1.5 mg/kg と判断した。

身体検査及び眼科学的検査にはいずれの投与群においても被験物質投与に起因する変動は認められなかった。

被験物質投与に起因する所見として、いずれの投与群においても、投与日に粘膜の蒼白化あるいは褪色と異常発声が、観察期間中には皮膚（四肢及び耳）の腫脹、紅斑、脱毛、痂皮及び損傷、便異常（赤色便、軟便、液状便、粘液便）、赤色尿、活動性低下、削瘦、冷触感などが認められた。観察期間終了時までには皮膚障害は回復性を示したが、完全には回復しなかった。その他の所見は回復を示した。

雄 1.8 mg/kg 以上の群、雌 1.5 mg/kg 以上の群で、試験 2 週目に体重減少が認められた。また、雄 2.1 mg/kg 群、雌 1.8 mg/kg 以上の群で、試験 1 週目に統計学的に有意な摂餌量の減少が認められた。雌雄とも投与量に相関してリンパ球数の減少が認められたが、1.5 mg/kg 群では試験 24 日以降に回復が認められた。雌 1.8 mg/kg 以上の群では、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値及び白血球数の低値、並びに総タンパク、アルブミン及びカルシウムの減少が認められた。投与量に相関して雌雄で潜血が、雌で尿タンパクの増加が認められたが、多くは軽度であり観察期間中に回復した。

一般状態観察所見、血液学的検査及び血液生化学的検査の結果から、Doxil-2 と Doxil-1 の毒性プロファイルに差は認められなかった。

TK 試験において、Doxil-2 は Doxil-1 と比較して Cmax には差は認められなかったが、AUC は有意に高値を示した（2.6.4.3(1), 3), a), ①項参照）。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

(1) ラット反復静脈内投与毒性試験

(評価資料 4.2.3.2.3)

【試験方法】

1 群雌雄各 15 例の SD ラットに JNS002 (Lot **D**) を 0.25, 1.0 及び 1.5 mg/kg, 並びに塩酸ドキシソルビンシンを 1.0 mg/kg の用量で、60～90 秒かけて 3 日に 1 回の間隔で計 13 回反復静脈内投与した。対照群として生理食塩液及び SPL (Lot **E**, JNS002 の 1.5 mg/kg 群と同量) を静脈内投与した。雌雄各群 10 例を試験 40 日（投与期間終了時）に、残りの動物を休薬後（雌は試験 67 日、雄は試験 68 日）に剖検した。試験期間中に一般状態観察、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査並びに尿検査を実施した。

また、TK 試験として TK 試験用動物から初回及び最終投与後に経時的に採血し血漿中ドキシソルビンシン濃度を測定した（2.6.4.3(2), 1)項参照）。

※新薬承認情報提供時に置き換え

【用量設定の根拠】

先に実施した Doxil-1 による雄ラットを用いた反復静脈内投与毒性試験（投与量：0.5, 1.0, 2.0 mg/kg, 投与間隔：3 日に 1 回、投与回数：13 回）において、2.0 mg/kg 群で死亡例が、0.5 mg/kg 以上の群で尾に壊死、痂皮及び鱗状皮膚、並びに足蹠及び陰囊に紅斑、びらん及び粗毛が認められた（参考資料 4.2.3.2.1）。次に、Doxil-1 による雌雄ラットを用いた反復静脈内投与毒性試験（投与量：0.25, 1.0, 1.5 mg/kg, 投与間隔：3 日に 1 回、投与回数：13 回）において、1.5 mg/kg 群の雄 1 例を一般状態悪化のため試験 35 日に切迫屠殺し、0.25 mg/kg 以上の群で精巣重量の減少が、1.0 mg/kg 以上の群で皮膚（主に四肢、足蹠、尾）に腫脹、びらん、痂皮及び鱗状皮膚、更に体重増加抑制が認められた（参考資料 4.2.3.2.2）。このことから、本試験の最高用量を 1.5 mg/kg と設定し、以下 1.0 及び 0.25 mg/kg 群を設けた。また、投与間隔及び投与回数はこれらの試験と同様に、3 日に 1 回、計 13 回とした。比較対照には塩酸ドキシソルビンシンの 1.0 mg/kg 群（JNS002 群の中間用量と同用量）を設けた。

【結果及び考察】

1.5 mg/kg 群においては、試験 6 日（採血日）に雌 1 例で採血手技に起因した死亡が認められ、8 回投与（試験 22 日）した時点で、雄 7 例及び雌 1 例の一般状態が悪化したため、試験 22～24 日にかけて切迫屠殺した。したがって、この時点で 1.5 mg/kg 群の投与を中止し、その後の評価から除外した。

生理食塩液群及び SPL 群には投与に起因する毒性所見は認められなかった。

塩酸ドキシソルビシン群の雄2例が試験66日及び68日に死亡した。また、1.0 mg/kg群の雌1例を一般状態悪化のため試験36日に切迫屠殺した。

一般状態観察では、1.0 mg/kg群で皮膚障害（四肢、足蹠、頭部、陰囊及び尾に腫脹、紅斑、粗毛、脱毛、痂皮、びらん及び鱗状皮膚）、円背位、接触過敏、陰茎突出が認められた。一方、0.25 mg/kg群では軽度の皮膚障害が認められたのみであった。塩酸ドキシソルビシン群では赤色尿が認められたが、皮膚障害は認められなかった。休薬期間終了時には、脱毛及び尾部（投与部位）のびらんを除きほとんどの所見に回復性が認められた。

体重増加量及び摂餌量の減少が1.0 mg/kg群及び塩酸ドキシソルビシン群に認められたが、0.25 mg/kg群では影響は認められなかった。

血液学的検査では、1.0 mg/kg群と塩酸ドキシソルビシン群で赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数及びリンパ球数の減少、並びに血小板数の増加が認められた。更に、塩酸ドキシソルビシン群では、MCVとMCHの上昇が認められた。これらの赤血球系パラメータとリンパ球数の減少は塩酸ドキシソルビシン群の方が強く認められ、これらの所見は1.0 mg/kg群では休薬期間終了時に回復したのに対し、塩酸ドキシソルビシン群では完全には回復しなかった。0.25 mg/kg群では変動は認められなかった。

血液生化学的検査及び尿検査では、塩酸ドキシソルビシン群で総タンパク、アルブミン、アルカリホスファターゼ、ナトリウム及び尿比重の減少、並びにグロブリン、コレステロール、カリウム、尿量及び尿中タンパク排泄量の増加が認められ、ほとんどの所見は休薬による回復性が認められなかった。これらの所見は塩酸ドキシソルビシン群の病理組織学的検査において、剖検時及び休薬後ともに認められた慢性進行性腎症に起因すると考えられた。一方、JNS002群では検査値の変動及び腎臓の病理組織学的変化ともに認められなかった。

試験40日の剖検において、1.0 mg/kg群と塩酸ドキシソルビシン群で胸腺重量の減少が、病理組織学的検査においてリンパ球枯渇が認められたが、休薬により回復した。また、0.25 mg/kg以上の群及び塩酸ドキシソルビシン群で精巣重量の減少が認められ、病理組織学的検査においては1.0 mg/kg群の1例で重度な精子数減少が認められた。休薬終了時にも精巣重量の減少は持続しており、病理組織学的検査において精巣及び精巣上体に重度な精子数減少が認められた。1.0 mg/kg群で認められた皮膚障害は、病理組織学的検査において軽微から重篤な表皮の潰瘍及び軽微からやや重篤な急性から慢性炎症として認められた。これらの所見は休薬期間終了時には回復した。骨髄抑制が0.25 mg/kg群で軽微に、1.0 mg/kg群と塩酸ドキシソルビシン群では軽微からやや重篤に認められた。骨髄抑制の発現頻度と重篤度は、塩酸ドキシソルビシン群の方がJNS002群より高かった。いずれの投与群においても、休薬により骨髄抑制の発現頻度と重篤度の低下が認められた。

以下の所見が休薬終了後の剖検時にのみ認められ、試験40日の剖検時には認められなかった。心筋細胞の空胞化及び変性がJNS002群で軽微に、塩酸ドキシソルビシン群で軽微からやや重篤に認められ、塩酸ドキシソルビシン群の方がJNS002群よりも発現例数及び重篤度が高かった。心臓の所見は塩酸ドキシソルビシン群の死亡例においても同様に認められた。坐骨神経と脊髄に軸索変性が塩酸ドキシソルビシン群の雌雄と1.0 mg/kg群の雄で軽微から軽度認められたが、0.25 mg/kg群では影響は認められなかった。

以上のことから、JNS002をラットに3日ごとに13回投与したとき、0.25 mg/kg以上の群で精巣重量の減少、病理組織学的検査において精巣及び精巣上体内の精子数減少、心筋細胞の空胞化/変性並びに骨髄細胞減少などが認められたことから、無毒性量は雌雄ともに0.25 mg/kg未満であると判断した。また、JNS002は塩酸ドキシソルビシンに比べて、心臓毒性、腎臓毒性及び骨髄抑制が軽度であるのに対し、皮膚障害はJNS002の方が強く認められることが示された。

TK試験において、JNS002群では塩酸ドキシソルビシン群と比較してC_{max}及びAUCともに極めて高値を示し、緩やかな消失を示した（2.6.4.3(2), 1)項参照）。しかしながら、JNS002群ではSPL中に存在するドキシソルビシン量をあわせて測定しており、SPLから放出されたドキシソルビシンの割合は2.5～5.0%であること（2.6.4.3(1), 1), e)項参照）から、塩酸ドキシソルビシン群と比較し

て JNS002 群の方が Cmax 及び AUC が高いにもかかわらず、毒性所見が軽度であったものと考えられる。

(2) イヌ反復静脈内投与毒性試験

(評価資料 4.2.3.2.7)

【試験方法】

1 群雌雄各 6 例のビーグル犬に JNS002 (Lot **D**) を 0.25, 0.75 及び 1.0 mg/kg, 並びに塩酸ドキシソルビンシンを 1.0 mg/kg の用量で、3 週に 1 回の間隔で 10 回静脈内投与した。対照群として生理食塩液及び SPL (Lot **E**, JNS002 の 1.0 mg/kg 群と同量) を同様に静脈内投与した。投与速度は、後述の SPL 投与時の影響を考慮し、初回投与は 2.0 mL/分、2 回目の投与は 2.0 あるいは 1.0 mL/分、3 回目以降は 0.5 mL/分で行った。

※新薬承認情報提供時に置き換え

雌雄各群 4 例は試験 197 又は 198 日 (最終投与後 7 又は 8 日) に、雌雄各群 2 例は休薬後の試験 223~225 日 (最終投与後 33~35 日) にそれぞれ剖検した。

試験期間中に、一般状態観察、身体検査 (心拍数・呼吸数・直腸温)、体重及び摂餌量測定、眼科学的検査、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査並びに尿検査を実施した。

【用量設定の根拠】

Doxil-1 の 1.33 mg/kg を雌雄各 1 例のビーグル犬に週 1 回、5 週間静脈内に投与する用量設定試験において、投与 2 回目以降瀕死状態となったため試験 12 及び 15 日に切迫屠殺した (参考資料 4.2.3.2.4)。続いて実施した Doxil-1 及び Doxil-2 の 1.0 mg/kg を雄ビーグル犬に週 1 回、4 週間静脈内に投与した試験では、Doxil-1 群で 1 例の死亡が認められたが、その他 Doxil-1 と Doxil-2 間で毒性プロファイルに差は認められなかった (参考資料 4.2.3.2.5)。更に、ビーグル犬を用いた Doxil-1 の反復静脈内投与予備試験 (参考資料 4.2.3.2.6) において、Doxil-1 の 0.8 及び 1.0 mg/kg を週 1 回、並びに 1.2 及び 1.5 mg/kg を 2 週に 1 回静脈内投与した結果、試験 4 週 (週 1 回投与群では 4 回、2 週に 1 回投与群では 2 回投与後) に動物の状態悪化により投与を中止した。

JNS002 の毒性は、その薬物動態から投与間隔を広げることにより減弱されることが予想された。そこで、投与間隔を 3 週に 1 回と設定し、最高用量を 1.0 mg/kg, 以下 0.75 及び 0.25 mg/kg 群を設けた。比較対照として塩酸ドキシソルビンシンの 1.0 mg/kg 群を設けた。

【結果及び考察】

いずれの投与群においても、被験物質投与に起因した死亡は認められなかった。また、体温、心拍数、呼吸数、眼科学的検査、心電図、血液生化学的検査及び尿検査において被験物質投与に起因する影響はなかった。

初回投与は 2.0 mL/分の速度で投与したが、投与中又は直後に雄 6 例及び雌 2 例で粘膜の蒼白化が認められた。2 回目投与時には最初に投与した雌雄各 2 例のうち、雄 2 例で嘔吐、活動性亢進後の嗜眠という急性反応が認められたため、その後の雌雄各 4 例では投与速度を 1.0 mL/分に減少した。しかしながら、雌雄とも全例で粘膜の蒼白化、皮膚の発赤、嘔吐ないしは流涎等の急性反応が依然として認められたため、3 回目投与以後は更に 0.5 mL/分に減少した。その結果、投与中の粘膜の蒼白化、嘔吐及び活動性亢進/低下は散見されたものの、その発現頻度と重篤度は減少したので、その後の投与では投与速度を 0.5 mL/分とした。JNS002 及び塩酸ドキシソルビンシン群においても粘膜の蒼白化が散見された。

JNS002 の 0.75 mg/kg 以上の群で体重増加量と摂餌量の減少傾向が認められたが、後述の皮膚障害が強く認められた結果、動物において身体的不快感を生じたことにより生じた二次的な変動であると考えられた。

0.25 mg/kg 群の雄 2 例で軽度の皮膚の色素沈着、雌 1 例で脱毛が認められたが、皮膚障害は認められなかった。0.75 mg/kg 以上の群の全例で、多くの部位 (四肢、顔部、鼻部、尾部、鼠径部、陰茎部及び腹部) で皮膚の障害及び色素沈着が認められた。その後、皮膚障害が認められた部位と同じ部位に脱毛が認められた。皮膚障害の多くは休薬期間中に完治したが、脱毛は休薬期間終了時にも認められた。皮膚における所見は、剖検では潰瘍、脱毛及び紅斑として、病理組織学的

検査では、毛包の変性/萎縮，不全角化，棘細胞離開あるいは慢性活動性炎症として認められた。生理食塩液群，SPL 群及び塩酸ドキシソルビン群では皮膚障害を示唆する変化は認められなかった。

血液学的検査では，JNS002 の高用量群及び塩酸ドキシソルビン群で対照群に比し統計学的に有意なリンパ球数減少が認められた。

器官重量測定において，投与期間終了時及び休薬期間終了時ともに JNS002 群及び塩酸ドキシソルビン群で精巣重量の減少が認められ，休薬による回復性は認められなかった。病理組織学的検査においては精巣の精細管変性及び精巣上体の精子未形成が認められた。1.0 mg/kg 群の雄で試験期間終了時に，0.75 mg/kg 群の雌で休薬期間終了時に副腎重量の増加が認められたが，病理組織学的検査で実質細胞に投与に起因した所見が認められなかったことから，本剤が副腎に直接的に影響したのではなく，皮膚障害に起因する一般状態の悪化により二次的所見として生じたストレス反応である可能性が考えられる。

病理組織学的検査において，塩酸ドキシソルビン群で心筋細胞の空胞変性が認められ，投与期間終了時よりも休薬期間終了時の方がより重篤であったことから，遅発性の心臓毒性が認められた。一方，JNS002 群ではいずれの剖検時にも心臓毒性を示唆する変化は認められなかった。また，投与期間終了時に塩酸ドキシソルビン群の雄 1 例と雌 2 例で軽度の骨髓細胞減少が認められ，塩酸ドキシソルビン投与に起因する骨髓抑制が生じたものと考えられた。休薬期間終了時には回復が認められた。一方，JNS002 群では，骨髓抑制所見は認められなかった。

以上の結果から，イヌに JNS002 を 3 週に 1 回の間隔で 10 回投与したとき，0.25 mg/kg 以上の群において精巣重量の減少，病理組織学的検査における精細管変性及び精巣上体の精子未形成が認められたことから，無毒性量は雌雄とも 0.25 mg/kg 未満であると判断した。また，JNS002 の心臓毒性と骨髓抑制は同用量の塩酸ドキシソルビンより弱いことが示された。一方，皮膚障害は JNS002 の方が強く認められることが示された。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

塩酸ドキシソルビンは，*in vitro* における細菌を用いた復帰突然変異試験²⁾，チャイニーズハムスター V79 培養細胞を用いた染色体異常試験及び姉妹染色分体交換試験²⁾，*in vivo* でのラットの小核試験²⁾並びにマウスリンフォーマ TK 試験³⁾において，遺伝毒性を有することが認められている。したがって本剤は，塩酸ドキシソルビンと同様に遺伝毒性を示すと考えられることから，遺伝毒性試験を実施しなかった。

SPL における遺伝毒性試験の結果は，2.6.6.8 (3), 1), b)項に記載した。

2.6.6.5 がん原性試験

本剤の有効成分である塩酸ドキシソルビンは，がん原性を有することが報告されており^{4, 5)}，本剤が細胞毒性を有する抗がん剤であることから，「抗がん剤の臨床試験実施及び承認申請のために実施される毒性試験に関する Q & A について」⁶⁾の抗がん剤の毒性試験に関する Q & A の Q8・A8 を参考にし，がん原性試験は実施しなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

本剤の有効成分である塩酸ドキシソルビンは雄ラットにおいて精巣重量減少及び精子形成に影響を及ぼし，授胎能を低下させることが報告されており⁷⁾，本剤のラット及びイヌの反復投与毒性試験においても，病理組織学的検査で精巣萎縮が認められた（2.6.6.3 項参照）。また，塩酸ドキシソルビンの出生児に対する影響としては，幼若雄ラットにおいて雄性生殖能の発達及び生殖能に影響を及ぼすことが報告されている⁸⁾。

更に、本剤は有効成分である塩酸ドキシソルピシンが細胞毒性を有する抗がん剤であることから、「抗がん剤の臨床試験実施及び承認申請のために実施される毒性試験に関する Q & A について」⁶⁾の抗がん剤の生殖発生毒性試験に関する Q & A の Q6・A6 をふまえて、胚・胎児発生に関する試験のみ実施した。

(1) ラットにおける胚・胎児発生に関する試験

(評価資料 4.2.3.5.2.1)

【試験方法】

1 群 22～25 例の妊娠雌 SD ラットに本剤 (Lot **F**) を 0.1, 0.5 及び 1.0 mg/kg の用量で妊娠 6 日から 15 日の間、3 日に 1 回、計 4 回 (妊娠 6, 9, 12, 15 日) 反復静脈内投与した。また、比較対照群として塩酸ドキシソルピシンの 0.2 及び 0.4 mg/kg を妊娠 6 日から 15 日の間、1 日 1 回反復静脈内投与した。対照群は、生理食塩液及び SPL (Lot **E**, JNS002 の 1.0 mg/kg 群と同量) を本剤と同様に投与した。いずれの群も妊娠 20 日に母動物を剖検し、肉眼的観察、子宮内検査 (妊娠状態、黄体数、着床数、吸収胚数、生存胎児数及び死亡胎児数) を行った。一方、胎児においては、胎児体重の測定及び性別識別後、外表観察、内臓検査及び骨格検査を行った。

【用量設定の根拠】

*新薬承認情報提供時に置き換え

本試験の用量は、本試験に先立ち実施されたラットにおける反復静脈内投与毒性試験 (2.6.6.3(1)項参照) より設定した。1 群雌雄各 15 例の SD ラットに JNS002 を 0.25, 1.0 及び 1.5 mg/kg の用量で 3 日に 1 回、計 13 回反復静脈内投与した結果、1.5 mg/kg 群の雄 7 例及び雌 1 例を一般状態の悪化により試験 22～24 日に切迫屠殺したことから、試験途中で投与を中止した。1.0 mg/kg 群では、雌 1 例を一般状態悪化のため試験 36 日に切迫屠殺したが、それ以外の動物では途中死亡例は認められなかった。したがって、本剤の投与による毒性の発現が予想される 1.0 mg/kg を最高用量として、以下 0.5 及び 0.1 mg/kg を設定した。

【結果及び考察】

試験期間中に死亡は認められなかった。

母動物では、一般状態観察において対照群を含む全投与群で投与に関連した所見は認められなかった。投与期間中に 0.5 mg/kg 以上の群及び塩酸ドキシソルピシン群で体重増加量及び摂餌量の減少が認められ、投与終了後から剖検までの間、1.0 mg/kg 群で体重増加量の減少及び 0.5 mg/kg 以上の群で摂餌量の減少が継続して認められた。子宮内検査では、1.0 mg/kg 群に平均着床後死亡数の増加が認められたが、妊娠状態、肉眼的観察、平均黄体数及び平均着床数にいずれの群でも投与に関連した変化は認められなかった。母動物の剖検において、1.0 mg/kg 群の不妊動物 1 例で腹腔内に外因性の凝血塊と思われる暗赤色の半固形物質が認められたのみであった。

胎児検査では、1.0 mg/kg 群で胎児体重の減少、吸収胚率の増加、生存胎児数の減少が認められた。外表検査、内臓検査及び骨格検査では、いずれの群においても被験物質投与に起因する所見は認められず、催奇形性も認められなかった。また、1.0 mg/kg 群では胎児体重の減少に伴う化骨遅延が認められた。塩酸ドキシソルピシン群では胎児に対する影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験において母動物では 0.5 mg/kg 以上の群に体重増加量及び摂餌量の減少が認められたため母動物の一般毒性に関する無毒性量は 0.1 mg/kg、子宮内検査において 1.0 mg/kg 群に平均着床後死亡数の増加が認められたため母動物の生殖毒性に関する無毒性量は 0.5 mg/kg と判断された。また、胎児では 1.0 mg/kg 以上の群に胎児体重の減少、吸収胚率の増加及び生存胎児数の減少、並びに胎児体重の減少に伴う化骨遅延が認められたため胎児に対する無毒性量は 0.5 mg/kg と判断した。

(2) ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験 (用量設定試験)

(評価資料 4.2.3.5.2.2)

【試験方法】

1 群各 5 例の妊娠雌 NZW ウサギに本剤 (Lot **F**) を 0.5, 1.5 及び 2.5 mg/kg の用量で妊娠 6 日から 18 日の間, 3 日に 1 回, 計 5 回 (妊娠 6, 9, 12, 15, 18 日) 反復静脈内投与した。対照群は, 生理食塩液を同様に投与した。いずれの群も妊娠 29 日に母動物を剖検し, 肉眼的観察, 子宮内検査 (妊娠状態, 黄体数, 着床数, 吸収胚数, 生存胎児数及び死亡胎児数) を行った。また, 胎児は胎児体重の測定及び性別識別を行った。

※新薬承認情報提供時に置き換え

【用量設定の根拠】

用量設定は, 本試験に先立ち実施されたウサギにおける局所刺激性試験成績 (2.6.6.7(1)項参照) において, ウサギに JNS002 の 2.0 mg/mL 溶液を 0.1 及び 1.0 mL の容量で耳介静脈内に単回ボーラス投与した結果, 試験期間中に死亡例は認められず, 刺激性評価, 剖検及び病理組織学的検査において本剤の投与に関連した変化は認められなかった。したがって, 本剤の投与による影響が認められない 0.5 mg/kg (ウサギの体重を 4 kg として, 局所刺激性試験に用いた 2.0 mg/body の用量を体重換算した) を低用量として選択し, 中用量及び高用量として, 1.5 及び 2.5 mg/kg と設定した。

【結果及び考察】

全投与群に流産を示唆するケージ皿の赤色分泌物, 体重増加量の減少及び摂餌量減少が認められた。また, 妊娠 19 日から 23 日の間に 1.5 mg/kg 群の 1 例及び 2.5 mg/kg 群の 3 例が死亡し, 剖検の結果すべての死亡例で吸収胚が認められた。また, 妊娠 21 日から 27 日の間に 0.5 mg/kg 群の全例が流産したことから切迫屠殺を実施した結果, 全例に吸収胚が認められた。1.5 及び 2.5 mg/kg 群の生存例における剖検では, 全例ですべての胚が早期吸収胚を示し, 生存胎児は認められなかった。

以上の結果から, ウサギを用いた用量設定試験において, 本剤は低用量から母動物に対して流産誘発作用を示し, また, 胚・胎児致死作用を有することが示唆されたため, 本試験を実施しなかった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

(1) ウサギを用いた単回静脈内投与における局所刺激性試験 (評価資料 4.2.3.6.1)

【試験方法】

1 群 12 例の雄 NZW ウサギに, JNS002 (Lot **D**) の 2.0 mg/mL 溶液を 0.1 又は 1.0 mL の容量で耳介静脈内に 30 秒以内に単回投与し, 局所刺激性を検討した。対照として生理食塩液群, SPL (Lot **E**) 群のほか, 塩酸ドキシソルピシン 2.0 mg/mL 溶液を同容量投与する群を設定した (表 2.6.6-3)。投与 24, 48 及び 72 時間後 (試験 2, 3 及び 4 日), 並びに試験 8, 15, 22 及び 29 日に投与部位の肉眼的観察を行い, 局所刺激性を評価した。また, 投与 24 及び 72 時間後 (試験 2 及び 4 日), 更に試験 15 及び 29 日に各 3 例を剖検し, 病理組織学的検査を実施した。

※新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.6-3 ウサギを用いた単回静脈内投与における局所刺激性試験のデザイン

投与群	投与部位・右耳介静脈		投与部位・左耳介静脈	
	被験物質	投与量 (mL)	被験物質	投与量 (mL)
1	生理食塩液	0.1	生理食塩液	1.0
2	塩酸ドキシソルピシン	0.1	塩酸ドキシソルピシン	1.0
3	JNS002	0.1	SPL	0.1
4	JNS002	1.0	SPL	1.0

【結果及び考察】

試験期間中に死亡例は認められなかった。

局所刺激性評価では生理食塩液群を含む全群に、投与部位で試験 2 日から 4 日に「極めて軽微な紅斑」、試験 3 日及び 4 日に「輪郭が明瞭な紅斑」が散発的に認められたが、浮腫は認められなかった。試験 5 日以降は全群で刺激性反応は認められなかった。

剖検では、JNS002 群及び塩酸ドキシソルビン群ともに、試験 2 日及び 4 日に投与部位で用量相関性のない紅斑が散発的に認められたのみであり、被験物質投与に起因する所見は認められなかった。

病理組織学的検査では生理食塩液群を含む全群に、投与部位で試験 2 日及び 4 日に浮腫、出血、好中球及びリンパ球の浸潤、壊死、血栓並びに表皮の潰瘍が散発的に観察されたのみであり、被験物質に起因する所見は認められなかった。

以上の結果から JNS002 の血管刺激性は陰性対照である生理食塩液投与群と差がなく、単回静脈内投与時の忍容性は良好であると推察される。

(2) ウサギを用いた単回皮下投与における局所刺激性試験

(評価資料 4.2.3.6.2)

【試験方法】

1 群 12 例の雄 NZW ウサギに JNS002 (Lot **D**) の 2.0 mg/mL 溶液を 0.1 又は 1.0 mL の容量で腹側皮下に単回皮下投与し、局所刺激性を検討した。対照として生理食塩液群、SPL (Lot **E**) 群のほか、塩酸ドキシソルビン 2.0 mg/mL 溶液を投与する群を設定した (表 2.6.6-4)。投与 24、48 及び 72 時間後 (試験 2、3 及び 4 日)、並びに試験 8、15、22 及び 29 日に投与部位の肉眼的観察を行い、局所刺激性を評価した。また、投与 24 及び 72 時間後 (試験 2 及び 4 日)、更に試験 15 及び 29 日に各 3 例を剖検し、病理組織学的検査を実施した。

※新薬承認情報提供時に置き換え

表 2.6.6-4 ウサギを用いた単回皮下投与における局所刺激性試験のデザイン

投与群	投与部位・右腹側部		投与部位・左腹側部	
	被験物質	投与量 (mL)	被験物質	投与量 (mL)
1	生理食塩液	0.1	生理食塩液	1.0
2	塩酸ドキシソルビン	0.1	塩酸ドキシソルビン	1.0
3	JNS002	0.1	SPL	0.1
4	JNS002	1.0	SPL	1.0

【結果及び考察】

試験期間中に死亡例は認められなかった。試験 8 及び 15 日に塩酸ドキシソルビン及び JNS002 群で体重増加量の減少が認められた。

局所刺激性評価では JNS002 群及び塩酸ドキシソルビン群で投与部位に試験 2 日から 29 日まで紅斑及び腫脹が認められ、観察期間の経過に伴い軽度になった。刺激性の程度は JNS002 及び塩酸ドキシソルビンの同一用量間で同等であった。

剖検では、試験 2 日に投与部位で限局性からびまん性の紅斑が、JNS002 及び塩酸ドキシソルビンの 1.0 mL 投与で認められた。試験 15 及び 29 日には投与部位で紅斑、痂皮及び肥厚が認められた。

病理組織学的検査では、試験 2 日及び 4 日には被験物質投与に起因する所見は認められなかった。試験 15 日に JNS002 投与部位で軽微からやや重篤な浮腫、軽微な骨格筋変性、軽微な線維化及び極微から中等度な慢性活動性炎症が認められたが、試験 29 日には回復傾向が認められた。

一方、塩酸ドキシソルビン投与部位では、試験 15 及び 29 日に中等度からやや重篤な肉芽腫性炎症、軽微からやや重篤な鉍質沈着、極微から重篤な骨格筋変性が認められたことから、JNS002 よりも重篤かつ進行性であることが示された。

SPL 投与に起因する肉眼的及び病理組織学的所見は認められなかった。

以上の結果から、JNS002 の皮下投与時の刺激性は塩酸ドキシソルビンに比べ弱いと考えられる。

2.6.6.8 その他の毒性試験

(1) 抗原性試験

1) モルモットを用いた抗原性試験

(評価資料 4.2.3.7.1.1)

【試験方法】

1 群 5 例の雄 Hartley モルモットに、JNS002 (Lot **G**) の 0.16 及び 0.8 mg/kg の用量で皮下及び静脈内に 2 週間間隔で 3 回投与することにより能動感作した。皮下感作群では感作 1 回目は FCA、2 及び 3 回目は FIA を使用した。ASA 試験では、最終感作 14 日後 (試験 42 日) に本剤を 5 mg/kg の用量で単回静脈内投与して惹起した。4 時間 PCA 試験では、上記の ASA 試験動物から最終感作 12 日後 (試験 40 日) に採取した血清を 2~64 倍まで段階希釈し、受動的感作用モルモットの背部皮内に投与した。感作 4 時間後に JNS002 を 5 mg/kg の用量で静脈内投与して惹起し、次いで 2%エバンスブルー水溶液を静脈内投与した。30 分後に放血致死させ、皮膚裏面の色素斑を計測した。

※新薬承認情報提供時に置き換え

【用量設定の根拠】

a) 能動感作

予備試験において、8 及び 2.5 mg/kg の JNS002 を皮下投与あるいは静脈内投与した群で、感作期間中に全例あるいは 3 例中 2 例が死亡し、0.8 及び 0.25 mg/kg の JNS002 を皮下投与あるいは静脈内投与した群では、陰性対照群と比べ 4 時間 PCA 抗体価の低下は認められなかった。したがって、死亡例が認められず、更に明確な免疫機能低下が認められなかった 0.8 mg/kg を高用量とし、その 1/5 用量の 0.16 mg/kg を低用量とした。

b) 惹起

予備試験において、10 mg/kg の JNS002 を静脈内投与した動物では、全 2 例で投与約 5 あるいは 10 分後から軽度の自発運動量の減少が認められ、5 及び 2.5 mg/kg の JNS002 を静脈内投与した動物全例では、投与後 30 分まで一般状態に異常は認められなかった。また、10、5 及び 2.5 mg/kg の JNS002 を静脈内投与したいずれの例においても、剥離した背部皮膚表面に色素の漏出は認められなかった。したがって、本試験での惹起量を 5 mg/kg とした。

【結果及び考察】

ASA 試験の結果、0.8 mg/kg 静脈内感作群で惹起後 24 分以降に 5 例中 4 例で搔鼻が、そのうち 1 例では立毛及び運動障害も認められたが、陽性対照群と比較して軽微であり発現時間も遅かった。皮下感作群では ASA 反応は認められなかった。また、4 時間 PCA 試験においては JNS002 惹起による陽性反応は認められなかった。

ASA 試験においては、陽性対照である卵白アルブミンや他の抗原性を有する物質では、一般的に、惹起後数分で ASA 症状が認められることから、0.8 mg/kg の静脈内感作群で認められた搔鼻は、身繕い行動の延長である可能性も推察された。更に、5 例中 1 例で立毛及び運動障害が認められたが、惹起後 24 分に発現したものであり、その作用機序は明確ではないものの遅延性の反応であることから、免疫反応と異なる作用機序による反応であるか、JNS002 が抗原性を有するとしても弱いものであると推察された。

2) モルモットを用いた抗原性試験 —ASA 試験の追加試験—

(参考資料 4.2.3.7.1.2)

【試験方法】

先に実施した JNS002 のモルモットを用いた抗原性試験 (2.6.6.8(1), 1)項参照) において, JNS002 を 0.8 mg/kg の用量で静脈内感作した群で, ASA 様反応が認められた。そこで, JNS002 及び JNS002 の構成成分である SPL, あるいは JNS002 の有効成分である塩酸ドキシソルビシンを用いて, 各成分の種々組み合わせにより感作及び惹起したときの ASA 反応を検討した。

1 群 5 例の雄 Hartley モルモットに, JNS002 (Lot **G**) あるいは SPL (Lot **H**) を 0.8 mg/kg の用量で静脈内に 2 週間間隔で 3 回投与することにより感作し, 最終感作 14 日後 (試験 42 日) に JNS002, SPL 又は塩酸ドキシソルビシンを 5 mg/kg の用量で静脈内投与して惹起した。

【結果及び考察】

*新薬承認情報提供時に置き換え

陽性対照群である卵白アルブミン投与群では ASA 反応が認められた。その他の群において ASA 症状は認められず, JNS002 及び SPL の抗原性は陰性と判断した。

(2) 毒性発現の機序に関する試験

1) 皮膚障害及び骨髄抑制の発現機序に関する試験

(参考資料 4.2.3.7.3.1)

JNS002 投与に起因する皮膚障害及び骨髄抑制に対する発現機序を検討するため, イヌを用いた反復静脈内投与試験を実施した。

【試験方法】

1 群雌雄各 2 例のビーグル犬を, 5%デキストロース溶液 (陰性対照) 又は JNS002 (Lot **I**) の 0.5 mg/kg を毎週 1 回計 12 回静脈内投与する群, 0.5 及び 1.0 mg/kg を 2 週間ごとに 6 回静脈内投与する群, 0.5 及び 2.0 mg/kg を 4 週間ごとに 3 回静脈内投与する群に分けた。投与速度は 5 mL/分とした。ただし, 死亡例発現のため 2.0 mg/kg 投与群は 2 回目投与時から 1.5 mg/kg に減量した。また, 0.5 mg/kg を毎週投与する群と, 1.0 mg/kg を 2 週間ごとに投与する群については, 6 週目で投与を中止して回復期間に移行させたため, 実際の投与回数は予定投与回数の半分である。すべての生存動物は, 雄は試験 85 日, 雌は 86 日に剖検した。毎週 2 回, 各々の動物について皮膚障害所見 (紅斑, 滲出物, 痂皮, 潰瘍及び脱毛) を観察した。

*新薬承認情報提供時に置き換え

【結果及び考察】

2.0/1.5 mg/kg 投与群の雌 1 例が消化管出血を示し試験 10 日に死亡し, 雄 2 例を状態悪化により試験 72 及び 77 日に切迫屠殺した。これらの所見は, 皮膚障害の結果生じた二次的なストレス又は栄養不良に起因したものと考えられる。その他の動物は試験終了まで生存した。

JNS002 投与に起因する主な所見として皮膚障害が, 紅斑, 滲出物, 痂皮, 潰瘍の順に重篤に, また回復性所見として脱毛が, 各投与群で認められた。皮膚障害は各投与回ともに投与後 7 から 10 日間は悪化し, その後回復性を示した。0.5 mg/kg を毎週, 1.0 mg/kg を 2 週ごと及び 2.0/1.5 mg/kg を 4 週ごとに投与する群を比較すると, 高用量の方が皮膚障害は重度に認められたが, 投与間隔が長いため次回投与までに皮膚障害からの回復が認められた。0.5 mg/kg を毎週投与する群と比較して, 0.5 mg/kg を 2 週ごと及び 4 週ごとに投与する群では, 投与間隔を延長させるにつれて皮膚障害が軽度であり, 次回投与までの回復性も良好であった。

その他, JNS002 投与に起因する一般状態変化として消化管毒性が認められ, 投与量及び投与頻度に依存的であった。粘膜の蒼白化と異常歩行が初回投与中に認められたが, 2 回目以降の投与時には軽減した。0.5 mg/kg の毎週投与群, 並びに 1.0 及び 2.0/1.5 mg/kg 群では投与終了後 1~3 週目まで体重減少が認められた。摂餌量及び飲水量の減少も認められたが, 皮膚障害に起因すると考えられた。

骨髄抑制はいずれの投与群においても軽度で, JNS002 投与に起因する白血球数の減少は認められなかった。1.0 及び 2.0/1.5 mg/kg 群では軽度なヘモグロビン量とヘマトクリット値の減少が

認められたが、試験終了時には試験前の値と同程度となったことから、回復性が認められた。器官重量測定において精巣重量の減少が認められた。また、血液生化学的検査値に影響は認められなかった。

以上の結果から、皮膚障害の発現率及び重篤度は JNS002 の投与用量と投与間隔に依存し、用量を低下させるか投与間隔を延長させることにより皮膚障害が軽減することが示された。一方、骨髄に対する影響には、投与用量及び投与間隔による差は認められず、すべての群で軽度であった。

2) 心臓毒性の発現に関する試験

(参考資料 4.2.3.7.3.2)

JNS002 と塩酸ドキソルビシンの心臓毒性を比較検討するため、ウサギを用いて静脈内反復投与試験を実施した。

【試験方法】

1 群 15 例の雄 NZW ウサギに、JNS002 (Lot **J**) 又は塩酸ドキソルビシンを 1.0 mg/kg の用量で、約 2 mL/分の速度で静脈内投与した。対照群には生理食塩液を同様に投与した。投与は 5 日毎に 14 回行い、最終投与の 1, 5 あるいは 13 週後に各群 5 例を剖検した。更に、1 群 10 例の雄 NZW ウサギに、JNS002 及び生理食塩液を 5 日毎に 21 回投与し、最終投与の 13 週後に剖検した。

心臓は 4%緩衝パラホルムアルデヒドで固定後に、心房近傍の隔壁、心房近傍の右及び左心室、左心室の乳頭筋並びに心尖について病理組織学的検査を行った。

＊新薬承認情報提供時に置き換え

【結果及び考察】

JNS002 群 3 例 (14 回投与群 2 例, 21 回投与群 1 例) 及び塩酸ドキソルビシン群の 5 例が心臓毒性により死亡し、塩酸ドキソルビシン群では明らかな心臓毒性とうっ血性心不全が認められた。JNS002 の 21 回投与群では更に 6 例が皮膚障害による一般状態の悪化により、死亡又は切迫屠殺した。

病理組織学的検査において、JNS002 群では 14 回投与群の 3/15 例及び 21 回投与群の 1/10 例に極微から軽度な心筋細胞の空胞変性が、14 回投与群の 1/15 例に中等度な萎縮が認められ、投与回数 (総投与量) の違い及び投与終了後の休薬期間の延長は、心臓毒性に対して影響しなかった。一方、塩酸ドキソルビシン群では 14 回投与により 10/15 例に極微から中等度な心筋細胞の空胞変性が、2/15 例に軽微から軽度な萎縮が認められたことから、JNS002 群と比較して心臓毒性がより重篤であり発現頻度も高いことが示された。

JNS002 群では四肢及び生殖器等に腫脹、紅斑、痂皮、落屑及び脱毛等の皮膚障害が認められた。塩酸ドキソルビシン群では主に耳介 (投与部位) にのみ同様の皮膚障害が認められた。更に、JNS002 群及び塩酸ドキソルビシン群ともに精巣重量の減少と精細管変性が認められた。

以上の試験結果から、JNS002 は塩酸ドキソルビシンの総投与量として同量及び 1.5 倍量を投与しても、塩酸ドキソルビシンより心臓毒性が弱いことが示された。

(3) 新添加物に関する毒性試験

1) SPL

SPL の毒性試験として、*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験 (復帰突然変異試験, マウスリンフォーマ試験, 染色体異常試験, マウス小核試験) を実施した。また、JNS002 の毒性試験のうち、ラット及びイヌ反復投与毒性試験, ラット胚・胎児発生に関する試験, ウサギ局所刺激性試験並びに抗原性試験においては、溶媒対照群として SPL 投与群を設けた。これらの試験における SPL は塩酸ドキソルビシンを含まないことを除いて、その他の構成成分、リボソームのサイズなど、JNS002 と同一処方である。

a) 反復投与毒性試験

① ラット反復静脈内投与毒性試験

(評価資料 4.2.3.2.3)

雌雄各 15 例の SD ラットに、JNS002 の最高用量である 1.5 mg/kg 群と同量の SPL (Lot E) を 3 日ごとに計 13 回、反復静脈内投与した。雌雄各 10 例は投与終了後（試験 40 日）に、残りの雌雄各 5 例は 4 週間の休薬後に、それぞれ剖検した（2.6.6.3(1)項参照）。

その結果、SPL 投与に起因する影響は認められなかった。

*新薬承認情報提供時に置き換え

② イヌ反復静脈内投与毒性試験

(評価資料 4.2.3.2.7)

雌雄各 6 例のビーグル犬に、JNS002 の最高用量である 1.0 mg/kg 群と同量の SPL (Lot E) を 3 週ごとに計 10 回、反復静脈内投与した。雌雄各 4 例は投与終了後（試験 197/198 日）に、残りの雌雄各 2 例は 33～35 日間の休薬後に、それぞれ剖検した。

初回投与は 2.0 mL/分の速度で投与したが、投与中又は直後に雄 6 例及び雌 2 例で粘膜の蒼白化が認められた。2 回目投与時には最初に投与した雌雄各 2 例のうち、雄 2 例で嘔吐、活動亢進後の嗜眠という急性反応が認められたため、その後の雌雄各 4 例では投与速度を 1.0 mL/分に減少した。しかしながら、雌雄とも全例で粘膜の蒼白化、嘔吐ないしは流涎等の急性反応が依然として認められたため、3 回目投与以後は更に 0.5 mL/分に減少した。その結果、投与中の粘膜の蒼白化、嘔吐及び活動性亢進/低下は散見されたものの、その発現頻度と重篤度は減少したので、その後の投与では投与速度を 0.5 mL/分とした（2.6.6.3(2)項参照）。投与期間中に、雄で体重増加量の増加が認められたが、投与に起因する所見では無いと判断した。その他、SPL 投与に起因すると考えられる影響は認められなかった。

*新薬承認情報提供時に置き換え

③ 反復静脈内投与試験のまとめ

SPL が細胞膜に取り込まれた場合には、脂質が蓄積したり、細胞膜が障害される可能性が予想されるが、実施期間が最も長い反復投与試験においても、脂質の過剰な蓄積を示唆する所見（脾臓の腫脹、泡沫化マクロファージなど）及び細胞膜の障害所見は認められなかった。

b) 遺伝毒性試験

SPL は特性及び濃度分析の指標として SPL 内のリン濃度を用いていることから、遺伝毒性試験における SPL の投与量をリン濃度として示した。

① 細菌を用いた復帰突然変異試験

(評価資料 4.2.3.7.7.3.1)

【試験方法】

SPL (Lot K) の遺伝子突然変異誘発能をネズミチフス菌 (TA98, TA100, TA1535, TA1537 及び TA1538) を用いてプレート法により、代謝活性化系の存在下及び非存在下にて検討した。予備検討として実施した細胞毒性試験において、SPL はリン濃度として 410～0.410 µg/plate の範囲において細胞毒性が認められなかったことから、本試験系における最高濃度を SPL の原液（リン濃度として 410 µg/plate）とし、以下生理食塩液にて希釈し、リン濃度として 273, 137, 41.0, 27.2, 13.7 µg/plate と設定した。代謝活性化系として Aroclor 1254 を投与した雄 SD ラット肝より調製した S9mix を用いた。なお、本試験で用いた SPL は Doxil-2 における SPL であり、XXXXXXXXXXとして L-ヒスチジンの代わりにXXXXXXXXXXを用いている（表 2.6.6-2 参照）。

【結果及び考察】

*新薬承認情報提供時に置き換え

SPL は代謝活性化系の存在下及び非存在下ともに、復帰突然変異コロニー数の増加が認められなかったことから、本試験条件下における遺伝毒性は陰性と判断した。

② マウスリンフォーマ TK 試験

(評価資料 4.2.3.7.7.3.2)

【試験方法】

SPL (Lot **L**) の遺伝子突然変異誘発能をマウスリンフォーマ L5178Y TK^{+/+}細胞を用いて、代謝活性化系の存在下及び非存在下にて検討した。予備検討として実施した細胞毒性試験において、SPL はリン濃度として 41.0~0.080 µg/mL の範囲において細胞毒性が認められなかったことから、本試験系における最高濃度は SPL の 10 倍希釈液 (リン濃度として 41 µg/mL, 本試験系における可能な最高濃度: 原液を使用したときと同等) とし、以下生理食塩液にて希釈してリン濃度として 20.5, 10.3, 5.13, 2.56, 1.28 µg/mL を設定した。更に、陰性対照として SPL に使用されている **スクロース/ヒスチジン** (スクロース/ヒスチジン) の 10 倍希釈液についても検討した。代謝活性化系として Aroclor 1254 を投与した雄 SD ラット肝より調製した S9mix を用いた。

【結果及び考察】

*新薬承認情報提供時に置き換え

SPL 及び SPL **スクロース/ヒスチジン** は代謝活性化系の存在下及び非存在下ともに、マウスリンフォーマ細胞の変異体出現頻度を増加させなかったことから、本試験条件下における遺伝毒性は陰性と判断した。

③ CHO 細胞を用いた染色体異常試験

(評価資料 4.2.3.7.7.3.3)

【試験方法】

SPL (Lot **L**) の染色体異常誘発能を CHO 細胞を用いて、代謝活性化系の存在下及び非存在下にて検討した。予備検討として実施した細胞毒性試験において、SPL はリン濃度として 41.0~4.10 µg/mL の範囲において細胞毒性 (有糸分裂指数の変化) が認められなかったことから、本試験系における最高濃度は SPL の 10 倍希釈液 (リン濃度として 41 µg/mL, 本試験系における可能な最高濃度: 原液を使用したときと同等) とし、以下生理食塩液にて希釈してリン濃度として 30.8, 20.5, 10.3, 4.1 µg/mL と設定したが、4.1 µg/mL では評価を実施しなかった。更に、陰性対照として SPL に使用されている **スクロース/ヒスチジン** (スクロース/ヒスチジン) の 10 倍希釈液についても検討した。代謝活性化系として Aroclor 1254 を投与した雄 SD ラット肝より調製した S9mix を用いた。

【結果及び考察】

*新薬承認情報提供時に置き換え

SPL 及び SPL **スクロース/ヒスチジン** は代謝活性化系の存在下及び非存在下ともに、CHO 細胞において染色体異常を増加させなかったことから、本試験条件下における遺伝毒性は陰性と判断した。

④ マウス小核試験

(評価資料 4.2.3.7.7.3.4)

【試験方法】

1 群雌雄各 5 例の ICR マウスに、SPL (Lot **L**) をリン用量として 2.05, 4.10 及び 8.20 mg/kg の投与量で単回静脈内投与した。更に、陰性対照として SPL **スクロース/ヒスチジン** (スクロース/ヒスチジン) を同様に単回静脈内投与した。投与容量は 20 mL/kg とした。投与 24, 48 及び 72 時間後にそれぞれ骨髓塗沫標本作製して、小核を有する多染性赤血球の出現頻度及び正染性赤血球に対する多染性赤血球の比率を測定した。陽性対照物質としてシクロホスファミド (80 mg/kg) を単回強制経口投与し、投与 24 時間後に骨髓塗沫標本作製した。

*新薬承認情報提供時に置き換え

【用量設定の根拠】

最高用量は SPL の原液をマウス単回静脈内投与における最高投与可能容量である 20 mL/kg の容量で投与した際の用量、すなわちリン用量として 8.20 mg/kg とし、中及び低用量はそれぞれ SPL の 2 倍及び 4 倍希釈液を同容量投与、すなわちリン用量として 4.10 及び 2.05 mg/kg とした。この用量は JNS002 の 10, 20 及び 40 mg/kg 投与時に含まれる SPL 量に相当し、十分な高用量であると考えられる。

【結果及び考察】

試験期間中に死亡例及び一般状態の変化は認められなかった。雌雄全群で、小核を有する多染性赤血球の出現頻度の上昇は認められなかった。陽性対照群では小核を有する多染性赤血球の出

現頻度の上昇が認められた。以上の結果より、本試験条件下では SPL は染色体異常誘発能及び骨髄抑制を示さないと判断した。

c) 生殖発生毒性試験

① ラット胚・胎児発生に関する試験

(評価資料 4.2.3.5.2.1)

交尾確認した雌 SD ラット 25 例に、JNS002 の最高用量である 1.0 mg/kg 群と同量の SPL (Lot E) を妊娠 6, 9, 12 及び 15 日に静脈内投与した。妊娠 20 日に剖検し、子宮内検査及び胎児検査を実施した (2.6.6.6(1)項参照)。

※新薬承認情報提供時に置き換え

その結果、試験期間中死亡例は認められず、母動物の一般毒性及び生殖能、並びに胎児に対する影響は認められなかった。

d) 局所刺激性試験

① ウサギを用いた単回静脈内投与における局所刺激性試験

(評価資料 4.2.3.6.1)

1 群 12 例の雄 NZW ウサギに、SPL (Lot E) を 0.1 及び 1.0 mL の容量で、左耳介静脈内に単回投与した。投与 24 及び 72 時間後 (試験 2 及び 4 日)、更に試験 15 及び 29 日に各 3 例を剖検し、病理組織学的検査を実施した (2.6.6.7(1)項参照)。

※新薬承認情報提供時に置き換え

その結果、各時点における刺激性評価において SPL 投与部位に刺激性は認められず、剖検及び病理組織学的検査において SPL 投与に起因する所見は認められなかった。

② ウサギを用いた単回皮下投与における局所刺激性試験

(評価資料 4.2.3.6.2)

1 群 12 例の雄 NZW ウサギに、SPL (Lot E) を 0.1 及び 1.0 mL の容量で、左腹側部に単回皮下投与した。投与 24 及び 72 時間後 (試験 2 及び 4 日)、更に試験 15 及び 29 日に各 3 例を剖検し、病理組織学的検査を実施した (2.6.6.7(2)項参照)。

※新薬承認情報提供時に置き換え

その結果、各時点における刺激性評価において SPL 投与部位に刺激性は認められず、剖検及び病理組織学的検査において SPL 投与に起因する所見は認められなかった。

e) 抗原性試験

① モルモットを用いた抗原性試験

(参考資料 4.2.3.7.1.2)

1 群 5 例の雄 Hartley モルモットに、JNS002 の 0.8 mg/kg と同量の SPL (Lot H) を 2 週間間隔で 3 回静脈内投与して能動感作を行った。最終感作の 14 日後に JNS002 の 5 mg/kg と同量の SPL を静脈内投与することで惹起し、ASA 反応を観察した。更に、JNS002 の 0.8 mg/kg 投与により能動感作した動物を SPL で惹起、又は、SPL で能動感作した動物を JNS002 の 5 mg/kg 投与により惹起して、同様に ASA 反応を観察した (2.6.6.8(1)項参照)。

その結果、SPL による感作動物を SPL 又は JNS002 で惹起したとき、更に JNS002 による感作動物を SPL で惹起したときのいずれにおいても、能動的全身性アナフィラキシー症状は認められなかった。

※新薬承認情報提供時に置き換え

2) SPL の構成成分における検討

SPL の構成成分 (表 2.6.6-1) のうち、コレステロール及び HSPC については医薬品添加物事典に記載されているが、国内においては静脈内投与剤における医薬品添加物としての使用経験がない。また、MPEG-DSPE 及び硫酸アンモニウムに関しては、国内では医薬品添加物としての使用経験がない。JNS002 の塩酸ドキシソルビシンとしての臨床推定投与量が 50 mg/m² であり、身長を 1.65 m、体重を 50 kg としたとき (体表面積約 1.5 m²)、各構成成分の 1 回投与量は、MPEG-

DSPE とコレステロールが 120 mg (2.4 mg/kg) , HSPC が 359 mg (7.2 mg/kg) , 硫酸アンモニウムが 75 mg (1.5 mg/kg) と算出される (表 2.6.6-5)。

表 2.6.6-5 JNS002 を 50 mg/m² の用量で投与したときの各成分の投与量

成分	分量 (mg/vial)	1 回投与量 ^{a)}	
		(mg/body)	(mg/kg)
塩酸ドキシソルビシン	20	75	1.5
MPEG-DSPE	31.9	120	2.4
HSPC	95.8	359	7.2
コレステロール	31.9	120	2.4
硫酸アンモニウム	20	75	1.5

a) : 身長を 1.65 m, 体重を 50 kg, 体表面積 1.5 m² として算出

これらの各構成成分はそれぞれ単独で使用するのではないが、静脈内投与剤における医薬品添加物としての使用経験がないものの毒性について、以下に個別に記載する。

a) MPEG-DSPE

MPEG-DSPE はこれまでに医薬品添加物として使用された実績はない。しかしながら、MPEG-DSPE は、脂肪酸基としてステアリン酸 2 分子を含むホスファチジルエタノールアミンであり食事中にも存在する脂質である DSPE と、分子量約 2000 の MPEG をエステル結合した化合物である。MPEG-DSPE は DSPE がリン脂質として脂質二重膜の構成成分として組み込まれており、MPEG がリポソーム表面 (脂質二重膜の外内) に親水層を形成する皮膜として存在していることから、JNS002 の投与時に急激に乖離して血中 MPEG-DSPE 濃度が上昇することはないと考えられる。MPEG-DSPE の毒性評価においては、単回及び 2 週間反復静脈内投与毒性試験、及び *in vitro* の遺伝毒性試験を実施するとともに、文献調査結果を記載した。

① 単回投与毒性試験

(参考資料 4.2.3.7.7.1.1, 4.2.3.7.7.1.2)

1 群 3 例の雄 ICR マウスに、生理食塩液でミセル化した MPEG-DSPE を 14 及び 284 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。22 日目まで一般状態観察及び体重測定を実施し、23 日目に屠殺した。その結果、284 mg/kg (臨床における 1 回投与量の 118 倍) まで死亡例は認められず、一般状態観察及び体重への影響も認められなかった。

この試験結果を基に、1 群雌雄各 5 例の SD ラットに、生理食塩液でミセル化した MPEG-DSPE を 0 (生理食塩液) , 250, 500 及び 1000 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。試験 15 日まで一般状態観察及び体重測定を行い、死亡例は発見時に、生存例は試験 15 日に剖検した。

その結果、1000 mg/kg 群の雄 1 例及び雌 2 例が不整呼吸、活動性低下、歩行異常を示し、更に腹臥位及びチアノーゼを示した後、投与後 1 時間以内に死亡した。死亡例の剖検において、全例で肺水腫が認められたが、死亡に起因した非特異的变化と判断した。生存例では 1000 mg/kg 群の雄 3 例で不整呼吸、活動性低下、緩徐呼吸、歩行異常が認められたが、いずれも投与翌日には消失した。雌 1000 mg/kg 群の生存例、及びその他の投与群においては一般状態の変化は認められず、体重測定及び剖検においても異常は認められなかった。以上のことから、MPEG-DSPE のラット静脈内投与における概略の致死量は、雌雄とも 1000 mg/kg (臨床における 1 回投与量の 417 倍) であると判断した。

② 反復投与毒性試験

(参考資料 4.2.3.7.7.2.1)

1 群雌雄各 10 例の SD ラットに、生理食塩液でミセル化した MPEG-DSPE を 0 (生理食塩液) , 100, 300 及び 500 mg/kg の用量 (臨床における 1 回投与量の 42, 125 及び 208 倍) で 2 週間反復

静脈内投与した。投与期間中に一般状態観察、体重及び摂餌量測定を行い、投与期間終了時に血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

その結果、死亡例は認められなかった。被験物質投与に起因すると考えられる所見として、以下の影響が認められた。一般状態観察において、500 mg/kg/日群の雄5例で試験15日（剖検日）に虹彩の出血が認められ、病理組織学的検査においても確認されたが、前日に実施した眼科学的検査では異常は認められなかった。試験期間中、500 mg/kg/日群の雄で体重の低値が、500 mg/kg/日群の雌雄で摂餌量の減少が認められた。100 mg/kg/日以上群で総コレステロール、リン脂質、トリグリセライド（100 mg/kg/日群は雄のみ）の増加、並びに脾臓の髄外造血、下顎リンパ節及び精巣上体の空胞化単核細胞浸潤が、300 mg/kg/日以上群で赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値及び単球比の減少、MCV、MCH及び網状赤血球数の増加、PT低値、クレアチニン、 $\alpha 2$ 及び γ グロブリンの上昇、ナトリウム及び塩素の低値（300 mg/kg/日群は雄のみ）、肝臓及び脾臓重量の増加、腸間膜リンパ節、大腿骨骨髓、肝臓、脾臓、精巣、卵巣、子宮、膣、下垂体の空胞化単核細胞浸潤が、500 mg/kg/日群では雄でアルブミン、カルシウム及び無機リンの減少、下垂体重量減少、副腎重量増加、肺の限局性褪色、出血及び肺胞壁の限局性肥厚、肺及び腎臓の空胞化単核細胞浸潤が、雌雄で異形リンパ球比の増加、APTT延長、A/G比及びカリウムの減少、胸腺の空胞化単核細胞浸潤、並びに副腎皮質細胞の肥大が認められた。雌雄生殖器には空胞化単核細胞浸潤以外の影響は認められなかった。

以上のように、低用量群である100 mg/kg/日群においても血中脂質（コレステロール、リン脂質及びトリグリセライド）の増加が認められたが、MPEG-DSPEのDSPEはグリセロール1分子に脂肪酸であるステアリン酸2分子及びリン脂質であるホスファチジルエタノールアミン1分子がそれぞれエステル結合したグリセリドであることから、脂質である被験物質投与に起因する変化であり上昇の程度も軽度なことから、毒性所見では無いと判断した。また、脾臓の髄外造血に関しても、赤血球パラメータが正常範囲内の軽度な変動を示したことに起因するものであり、毒性所見とは判断しなかった。更に、各組織において空胞化した単核食細胞の浸潤が認められているが、MPEG-DSPEがマクロファージに取り込まれた結果であると考えられる。したがって、無毒性量は雌雄とも100 mg/kg/日と判断した。この用量は臨床における1回投与量（表2.6.6-5）の42倍の用量である。

MPEG-DSPEはSPLにおいてリポソームの二重層の皮膜として使用されているため、SPLとしては単核食細胞系に取り込まれにくい構造及び直径を有している。このことから、MPEG-DSPE単独投与で認められた空胞化した単核食細胞系の浸潤は、JNS002を投与しても認められる可能性は低いものと推察される。実際に、SPLの反復投与によりMPEG-DSPEの反復投与試験のような所見は認められなかった。

③ 遺伝毒性試験

（参考資料4.2.3.7.7.3.5, 4.2.3.7.7.3.6）

MPEG-DSPEのネズミチフス菌及び大腸菌を用いた復帰突然変異試験、並びにCHL/IU細胞を用いた染色体異常試験を実施した。代謝活性化系の存在下及び非存在下において、復帰突然変異試験では156～5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の濃度で、染色体異常試験においては5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度まで実験を行い、細胞増殖率が50%未満を示した最も低い濃度を最高濃度として連続した3用量を選択して標本観察を実施した。

その結果、MPEG-DSPEは観察したすべての濃度で復帰突然変異コロニー数の増加及び染色体異常を有する細胞数の増加ともに認められず、本試験条件下ではMPEG-DSPEは遺伝毒性を示さなかった。

④ MPEG-DSPEの安全性に関する文献の調査結果

MPEGをウシ胎児血清アルブミン又は各種酵素に結合させると、ウシ胎児血清アルブミン及び各種酵素の抗原性及び免疫原性を減少させることが報告されている^{9,10)}。また、MPEGはPEGを修飾した分子量約2000の合成化合物であるため、MPEGの分子量前後のPEGを静脈内投与したときの影響についても以下に示す。PEG300、PEG1000、PEG1500、PEG1540、PEG4000及び

PEG6000 を雄ウサギに 10 g/kg の用量で静脈内投与しても死亡例は認められなかった¹¹⁾。更に、これらの PEG を 1 群 5 例のウサギに約 350 mg/kg の用量で週 6 回、5 週間反復静脈内投与したとき、PEG400、PEG4000 及び PEG6000 群の各 1 例が死亡した。生存例では腎尿管上皮細胞と肝実質細胞に混濁した腫脹が認められたが重篤な所見ではなかったことから、PEG 溶液の静脈内投与時の毒性は低いと考えられている¹¹⁾。また、PEG4000 を 10、30 及び 90 mg/kg/日の用量でビーグル犬に 1 年間まで反復静脈内投与したとき、毒性所見はまったく認められなかった¹²⁾。また、ラットに ¹⁴C-PEG4000 を静脈内投与したとき、放射能は尿中に多く排泄された¹²⁾。PEG4000 の 10%溶液を 16 g/kg の用量でラット、モルモット、ウサギ及びサルに単回静脈内投与しても、死亡例は認められなかった¹³⁾。

b) HSPC

ホスファチジルコリン (PC) はリン脂質の代表的なものであり、リポ蛋白中及び細胞膜 (脂質二重膜) に多く存在し、体内のコリンはほとんどが PC として蓄えられている。HSPC は大豆由来の PC に水素添加して二重結合を還元したものである。HSPC は本剤と同一の投与経路を持つアムビゾーム点滴静注用 50 mg (2006 年 4 月作成、承認番号 21800AMY10095、大日本住友製薬株式会社) のリポソーム構成成分として含有される HSPC と同一である。アムビゾームの 1 日最大投与量から算出した HSPC の 1 日最大投与量 (体重を 50 kg として) は 1278 mg であることから、本剤における HSPC の 1 日最大投与量 (表 2.6.6-5) を上回る。血中リン脂質の基準値は 150~280 mg/dL とされていることから、体重 50 kg のヒトにおける血中リン脂質量は、血液量を 4L とすると 6~11.2 g となる。JNS002 における HSPC としての 1 回投与量は約 7.2 mg/kg (360 mg) と血中のリン脂質に対して 10%以下であり、リン脂質の生理的日内変動は±15%とされていることから、JNS002 の投与により HSPC が生体に対して影響を及ぼすことはほとんどないと考えられる。JNS002 において HSPC は MPEG-DSPE 及びコレステロールと脂質二重膜による STEALTH[®] リポソームを形成しており、JNS002 を投与しても血中ではリポソームの形で存在するため、血中 HSPC 濃度が急激に上昇することはないと考えられる。なお、HSPC と同様にリン脂質である精製卵黄レシチンは静脈内投与時の添加物として使用されている。

静脈内投与時の影響を検討する目的で HSPC のラットにおける単回静脈内投与及び 2 週間反復静脈内投与試験を実施するとともに、文献調査結果を記載した。

① 単回静脈内投与試験

(参考資料 4.2.3.7.7.1.3, 4.2.3.7.7.1.4)

雌雄各 5 例の WU ラットに HSPC を生理食塩液にて分散させた 10%溶液を 2000 mg/kg (1000 mg/kg を 1 日 2 回投与) の用量で静脈内投与した。その結果、死亡例は認められず、一般状態及び剖検において異常所見は認められなかったが、体重増加量の減少が認められた。したがって、HSPC の生理食塩液による分散溶液のラットにおける概略の致死量は雌雄とも 2000 mg/kg (臨床における 1 回投与量の 278 倍) 超であると判断した。

更に、1 群雌雄各 5 例の SD ラットに HSPC のリポソーム溶液 (33.60 mg/mL) を 0 (生理食塩液)、67.2、201.6 及び 672 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。最高用量はラット単回静脈内投与における投与可能最大容量 (20 mL/kg) と HSPC リポソーム溶液濃度より決定した。試験 15 日まで一般状態観察及び体重測定を行い、生存例は試験 15 日に剖検した。

その結果、死亡例は認められず、すべての動物で一般状態、体重測定及び剖検において異常所見は認められなかった。したがって、HSPC リポソーム溶液のラットにおける概略の致死量は雌雄とも 672 mg/kg (臨床における 1 回投与量の 93 倍) 超であると判断した。

② 2 週間反復静脈内投与試験

(参考資料 4.2.3.7.7.2.2)

1 群雌雄各 10 例の SD ラットに HSPC のリポソーム溶液 (33.60 mg/mL) を 0 (生理食塩液)、33.6、100.8 及び 336 mg/kg/日の用量で 2 週間反復静脈内投与した。最高用量はラット反復静脈内投与における投与可能最大容量 (10 mL/kg) と HSPC リポソーム溶液濃度より決定した。投与期

間中に一般状態観察、体重及び摂餌量測定を行い、投与期間終了時に血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

その結果、投与期間中に死亡例は認められなかった。100.8 mg/kg/日以上で血中コレステロール及びリン脂質濃度の上昇が認められたが、脂質である被験物質の投与に起因する所見であることから毒性とは判断しなかった。その他、100.8 mg/kg/日以上で肝類洞、腎糸球体、赤脾髄及び舌粘膜固有層の泡沫細胞集積並びに肝臓重量の高値が、336 mg/kg/日群で副腎皮質の類洞、精巣上体の間質及び回腸の粘膜固有層の泡沫細胞集積並びに脾臓重量の高値がそれぞれ認められた。以上の結果から、HSPC リポソーム溶液の無毒性量は雌雄とも 33.6 mg/kg/日（臨床における1回投与量の5倍）であると判断した。

③ HSPC の安全性に関する文献の調査結果

更に、リポソーム化したレシチンを粥状動脈硬化モデル動物（高コレステロール負荷食投与モデル）に静脈内投与することにより、粥状動脈硬化の形成を抑制することが報告されている¹⁴⁾。その機序として、リポソーム化したレシチンを投与すると循環血中で血管壁を含む各器官から遊離コレステロールを取り除くため、血中コレステロール濃度は一過性に上昇するが、肝臓でリポソームは代謝されコレステロールとして排泄されるため、動脈硬化の形成が抑制されると考えられている¹⁴⁾。

c) コレステロール

コレステロールは生体内物質であり、細胞膜、神経、肝臓に多く存在し、食事より吸収される他に生体内で合成され、その量は約 700 mg/日とされている。血中の基準値は 120～219 mg/dL であることから、体重 50 kg のヒトにおける血中コレステロール量は、血液量を 4L とすると 4.8～8.76 g となる。JNS002 におけるコレステロールの1日最大投与量は約 2.4 mg/kg（約 120 mg）であることから（表 2.6.6-5）、血中のコレステロールに対して 10%以下であり、コレステロールの生理的変動の範囲内であると考えられる。

コレステロールは HSPC と同様にアムビゾーム点滴静注用 50 mg のリポソーム構成成分として含有されており、アムビゾームの1日最大投与量から算出したコレステロールの1日最大投与量（体重を 50 kg として）は 312 mg であることから、本剤におけるコレステロールの1日最大投与量（表 2.6.6-5）を上回る。JNS002 においてコレステロールは MPEG-DSPE 及び HSPC と脂質二重膜による STEALTH[®] リポソームを形成させることでマクロファージに捕捉されにくい構造をしていることから、JNS002 の投与時に SPL 中のコレステロールにより血中コレステロール濃度が急激に上昇することはないと考えられる。実際に JNS002 のラット及びイヌにおける反復静脈内投与試験において、コレステロール値の変動は認められていない。したがって、コレステロールの安全性については、文献調査結果を記載した。

① コレステロールの安全性に関する文献の調査結果

除脳雄ウサギにコレステロールエマルジョンを 0.3 mg/kg/時の用量で 4 時間持続静脈内投与したとき、動脈血圧は 0.5 時間後から有意な上昇が認められ、4 時間後には投与前と比較して 40% 以上上昇したことが報告されている¹⁵⁾。

雄ラットに ¹⁴C-コレステロールを静脈内投与して 72 時間後の ¹⁴C の分布を検討した。その結果、静脈内投与されたコレステロールは体内に取り込まれ、一部は肝臓で代謝され主に CO₂ として排出されるが、尿中及び糞便中（胆汁中）への排泄量は比較的少ないことが示された¹⁶⁾。

雄 NZW ウサギにコレステロール（70 mg）＋レシチン（140 mg）リポソーム、又はレシチン単独（140 mg）リポソームを1日おきに 6～7 回投与を 3 シリーズ、計 20 回静脈内投与した。その結果、コレステロールの単回静脈内投与後 30 分以内に血漿中コレステロール濃度は投与前の約 1.4 倍に上昇したが、その後速やかに低下した。反復投与時の血漿中コレステロール濃度は比較的分動を示さなかった。コレステロールの静脈内投与後に様々な time point で採血した血清は、

ウサギ大動脈内皮細胞に対して細胞毒性を示さなかった。コレステロール併用群とレシチン単独群間で血漿中、大動脈中及び肝臓中コレステロール濃度に差は認められなかった¹⁷⁾。

d) 硫酸アンモニウム

硫酸アンモニウムは1957年に食品添加物として指定されている。静脈内投与された硫酸アンモニウムは体内で硫酸イオンとアンモニウムイオンに遊離する。体内の硫酸イオン濃度は1 mmol/kg (約96 mg/kg)，アンモニアの食事などからの1日吸収量は4150 mg/日とされている。JNS002 投与による硫酸アンモニウムの1回投与量は約75 mg (1.5 mg/kg) である (表 2.6.6-5)。血中の硫酸イオンは腎臓より不揮発性酸として速やかに排泄される。アンモニウムイオンは不揮発性酸を取り込んで尿中へ排泄される。更に、アンモニアは肝臓の尿素サイクルにおいて尿素に代謝されて主に尿中に排泄される (18~27 g/日)。JNS002 において硫酸アンモニウムは NH_4^+ としてリポソーム内の水相に塩酸ドキソルビシンとともに存在し、安定化させている^{18,19)}。したがって、硫酸アンモニウムは塩酸ドキソルビシンと同様に急速に血中に放出されることはなく、リポソームから体内に放出後にも速やかに代謝されるため、安全性が問題となることはないと考えられる。しかしながら、硫酸アンモニウムの単回静脈内投与時の影響について検討するとともに、文献調査結果を記載した。

① 単回静脈内投与毒性試験

(参考資料 4.2.3.7.7.1.5)

1群雌雄各5例のSDラットに硫酸アンモニウム水溶液を30, 100及び300 mg/kgの用量で単回静脈内投与した。陰性対照群には生理食塩液を投与した。

その結果、300 mg/kg 群の雌雄各1例が投与15分後に死亡した。死亡例の剖検において、気管内の泡沫状液体の貯留が認められ、雄では肺の収縮不全及び暗赤色化も認められたが、死戦期における非特異的な変化であり、被験物質に起因するものではないと判断した。300 mg/kg 群では全例で投与直後より腹臥位、活動性低下及び呼吸緩徐が認められ、雄3例及び雌4例では皮膚蒼白も認められた。これらの所見は死亡例を除いて投与後1時間以内に消失し、その後は観察期間中に異常は認められなかった。なお、30 mg/kg 群の雌雄全例で投与後1時間までに散発的に赤色尿が認められたが、硫酸アンモニウム投与液は注射用水で溶解していることから、投与溶液濃度が低いため低浸透圧に起因する溶血が認められたものと推察され、被験物質に起因する影響ではないと判断した。生存例では、体重に影響は認められず、剖検においても異常所見は認められなかった。したがって、硫酸アンモニウムのラットにおける概略の致死量は雌雄とも300 mg/kg (臨床における1回投与量の約200倍) であると判断した。

② 硫酸アンモニウムの安全性に関する文献の調査結果

血中アンモニア濃度の正常値は30~86 µg/dLとされており、血中アンモニア濃度の上昇により、振戦、不明瞭言語、視力不鮮明、昏睡及び死亡のようなアンモニア中毒が生じることが知られている。JNS002 中の総アンモニウムイオン含量が1.15 mmol, すなわち1.15 mEqを1時間で投与終了する。しかしながら、アンモニウムイオンを含む補液である塩化アンモニウム溶液 (補正用電解質液コンクライト-A) は5 mol/Lの塩化アンモニウムを20 mL中に含有する製剤であり、20 mEq/hr以下の速度で投与されることから、JNS002 投与時のアンモニウムイオン濃度の上昇による影響については、塩化アンモニウム溶液の投与時と比較して十分な安全性が保たれると考えられる。

なお、硫酸アンモニウムは *Salmonella* 及び *Saccharomyces* に対して遺伝毒性を示さないことが報告されている²⁰⁾。

その他、硫酸アンモニウムの単回及び反復経口投与時の影響について文献報告されている。

ウサギに硫酸アンモニウムを1500 mg/kgの用量で単回経口投与した時、散瞳、軽度な呼吸不整、局所 (顔面、四肢) の痙攣から全身痙攣、後弓反張が認められ、60~70分後に死亡した。脳波検査において遅い抑制波が認められた後、高振幅波が認められ、高アンモニア血症の所見と同

様であった。心電図検査において徐脈が認められ、徐脈は徐々に進行し 60～70 分後に心室細動を示して心停止した。血圧も低下した。血中 pH 及び HCO_3^- は速やかに低下したが、酸素分圧及び二酸化炭素分圧は変化しなかった。このことから、重度な代謝性アシドーシスが発現したことが示された。アンモニウムイオン及び硫酸イオン濃度は投与直後から高値を示した。しかしながら、血液生化学的検査値の変動及び病理組織学的変化は認められなかった²¹⁾。

雌雄 F344 ラットに硫酸アンモニウムを 0.38～3.0%の濃度で 13 週間混餌投与したとき、投与に起因する変化として雄 3.0%群で下痢が認められたのみであった。その結果、無影響量は雄では 1.5% (886 mg/kg/日)、雌では 3.0% (1975 mg/kg/日) と判断されている²²⁾。

2.6.6.9 考察及び結論

(1) 毒性の標的器官

1) 単回静脈内投与毒性

ラット及びイヌに Doxil-2 を単回静脈内投与した結果、Doxil-2 に起因する所見として皮膚障害（腫脹、紅斑、痂皮、びらん又は損傷、並びに脱毛）、一般状態の悪化、体重減少並びに赤血球パラメータ及びリンパ球数の減少とそれに伴う白血球数の減少が認められた。イヌでは便の異常（赤色便、軟便、液状便、粘液便）も認められた。これらの所見は、JNS002 をラット及びイヌに反復静脈内投与した際にも同様に認められたことから、JNS002 と Doxil-2 の毒性プロファイルに差はないと考えられる。

2) 反復静脈内投与毒性

JNS002 をラットに 3 日に 1 回の投与間隔で計 13 回、及びイヌに 3 週に 1 回の投与間隔で計 10 回、反復静脈内投与し、同じスケジュールで投与した塩酸ドキソルビンと毒性比較した。その結果、JNS002 に起因する所見として単回静脈内投与試験と同様な所見が認められた。ラットにおいては精巣毒性（重量減少と精子数減少）、心臓毒性（心筋細胞の空胞化及び変性）、骨髄抑制（骨髄細胞減少）、神経障害（軸索変性）が認められたが、心臓毒性及び骨髄抑制は塩酸ドキソルビン群と比較して軽度であった。更に、塩酸ドキソルビン群では慢性進行性腎症が認められたが、JNS002 群では認められなかった。イヌにおいては精巣毒性（重量減少及び精細管変性）が認められ、更に塩酸ドキソルビン群では心臓毒性（心筋細胞の空胞変性）、骨髄抑制（骨髄細胞減少）が認められたが、JNS002 群では認められなかった。一方、ラット及びイヌともに、塩酸ドキソルビン群では皮膚障害は認められなかった。精巣毒性は休薬後も持続して認められ、心臓毒性、慢性進行性腎症及び神経障害は休薬後に発現又は重篤化が認められたが、その他の所見は休薬により回復性を示した。心臓毒性、皮膚障害及び精巣毒性はウサギを用いた心臓毒性の発現に関する試験においても認められた。

3) 心臓毒性

ラット及びイヌにおける反復静脈内投与試験において、病理組織学的検査結果から、JNS002 は同用量の塩酸ドキソルビンと比較して心臓毒性が軽度であることが示された。更に、ウサギを用いて JNS002 と塩酸ドキソルビンの心臓毒性を比較検討した（参考資料 4.2.3.7.3.2）。その結果、同用量（1.0 mg/kg を 14 回）の JNS002 と比較して塩酸ドキソルビンは心臓毒性が強く認められた。JNS002 群では投与回数を 21 回に増加しても、14 回投与時と同様な所見が認められ、程度の増強は認められなかった。

4) 骨髄毒性

ラット及びイヌにおける反復静脈内投与試験において、血液学的検査及び病理組織学的検査結果から、JNS002 の骨髄抑制は同用量の塩酸ドキソルビンよりも軽度であることが示された。イヌを用いた JNS002 の皮膚障害及び骨髄抑制の発現機序に関する試験（参考資料 4.2.3.7.3.1）に

において、JNS002 投与全群で白血球数の減少は認められず、高用量群で軽度なヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少が認められたが、休薬により回復性が認められた。したがって、JNS002 による骨髄毒性は可逆性の軽度な所見であることが示された。

5) 腎臓毒性

ラット反復静脈内投与試験において、塩酸ドキシソルビン群では慢性進行性腎症が発現し、それに伴う血液生化学的検査値及び尿検査値の変動も認められた。一方、JNS002 はラット及びイヌともに血液生化学的検査値及び尿検査値の変動並びに腎臓の病理組織学的変化が認められなかったことから、JNS002 は塩酸ドキシソルビンと比較して腎臓に対する影響は弱いと考えられた。

6) 皮膚毒性

Doxil-2 のラット及びイヌ単回静脈内投与試験、並びに JNS002 のラット及びイヌ反復静脈内投与試験において、投与部位、四肢及び足蹠、顔部、生殖器周囲等に腫脹、紅斑、痂皮、びらん、損傷、鱗状皮膚、色素沈着ないしは脱毛のような皮膚障害が認められた。これらの所見は病理組織学的検査においてラットでは潰瘍及び急性から慢性の炎症、イヌでは毛包の変性/萎縮、不全角化、棘細胞離開ないしは慢性活動性炎症所見として認められた。一方、塩酸ドキシソルビン群では、JNS002 群と比較して皮膚障害は軽度であった。これらの所見は休薬により回復性を示した。イヌを用いた JNS002 の皮膚障害及び骨髄抑制の発現機序に関する試験（参考資料 4.2.3.7.3.1）において、投与間隔を延長することで皮膚障害の程度が軽減した。また、塩酸ドキシソルビンを週 3 回の頻度で最長 4 週間腹腔内投与したハムスターにおいても、皮膚表皮細胞層の萎縮及び脱毛が生じることが報告されており²³⁾、塩酸ドキシソルビンが血管外に漏出した際にも同様な皮膚障害が認められる^{1,24)}。

局所刺激性試験において JNS002 及び塩酸ドキシソルビンはウサギに単回静脈内投与しても刺激性を示さなかった。JNS002 をウサギに単回皮下投与したときには紅斑、痂皮及び肥厚が認められ、病理組織学的検査において、試験 15 日に投与部位で軽微からやや重篤な浮腫、軽微な骨格筋変性、軽微な線維化及び極微から中等度な慢性活動性炎症所見が認められたが、試験 29 日には回復性が認められた。一方、塩酸ドキシソルビン投与部位では、試験 15 及び 29 日に中等度からやや重篤な肉芽腫性炎症、軽微からやや重篤な鉍質沈着、極微から重篤な骨格筋変性が認められたことから、JNS002 よりも重篤かつ進行性であることが示された。

これらのことから、JNS002 投与時の皮膚障害は有効成分である塩酸ドキシソルビンに起因し、投与時に血管外に漏出させた際には、JNS002 よりも塩酸ドキシソルビンの方が重篤な所見を示すと考えられる。そこで、JNS002 投与群の方が塩酸ドキシソルビン投与群より皮膚障害が強く発現した理由について以下に考察する。

ラット反復静脈内投与試験において、1.0 mg/kg 投与群の皮膚組織内ドキシソルビン濃度は、塩酸ドキシソルビン群に比べ、最終投与後の 1 日目では 6.1 倍、3 日目では 6.3 倍高値であり、塩酸ドキシソルビンよりも本剤を投与した方が、皮膚組織内濃度が持続的に高いことが示された。また、1.0 mg/kg 投与群の同一ラットにおいて、正常皮膚及び損傷皮膚の組織内ドキシソルビン濃度についても測定した。その結果、損傷皮膚には高濃度のドキシソルビンが蓄積し、正常皮膚に比べ 5~7 倍高値であった（2.6.4.4(2), 1)項参照）。イヌにおいても JNS002 の静脈内投与時には損傷皮膚においてドキシソルビンが蓄積することが報告されている²⁵⁾。

SPL に塩酸ドキシソルビンを封入した本剤は、腫瘍組織等の血管新生部位に対して持続的に低濃度のドキシソルビンを長時間曝露させる²⁶⁾。また、静脈内投与され血管外に漏出した塩酸ドキシソルビンは皮膚障害を惹起するが、その損傷した組織を修復するための血管新生に伴い血管内皮増殖因子が分泌されることで、血管透過性も上昇する²⁷⁾と考えられる。更に、本剤は塩酸ドキシソルビンと比較して正常皮膚に対する移行性が高く、損傷皮膚においてはドキシソルビンの蓄積が認められる。以上のことから、本剤の反復静脈内投与時には塩酸ドキシソルビンと比較して、皮膚障害が強く発現したと推察される。

7) 生殖発生毒性

ラット及びウサギを用いて胚・胎児発生毒性を検討した。JNS002 を器官形成期に 3 日に 1 回静脈内投与した。ラットにおいて、1.0 mg/kg 群で胎児体重の減少、生存胎児数の減少及び吸収胚率の増加が認められたことから、JNS002 の胎児毒性が示された。また、同群の胎児に化骨遅延が認められ、胎児の発育遅延に起因する所見と考えられた。ウサギでは、0.5 mg/kg 以上でウサギ胚・胎児毒性及び流産誘発作用があることが示唆された。

本剤の有効成分である塩酸ドキシソルビンシンは雄ラットにおいて精巣重量減少及び精子形成に影響を及ぼし、授胎能を低下させることが報告されており⁷⁾、本剤のラット及びイヌの反復投与毒性試験においても、病理組織学的検査で精巣萎縮が認められた (2.6.6.3 項参照)。また、塩酸ドキシソルビンシンの出生児に対する影響としては、幼若雄ラットにおいて雄性生殖能の発達及び生殖能に影響を及ぼすことが報告されている⁸⁾。一方、ラットに ¹⁴C-JNS002 を単回静脈内投与したとき、雄性生殖器より雌性生殖器に高濃度に分布することが示されたが (2.6.4.4(1), 2), b) 項参照)、雌性生殖器に対する影響は認められなかった。

(2) 塩酸ドキシソルビンシンの類似点及び相違点

ドキシソルビンシンの主な副作用としては、骨髄抑制、心筋障害、消化器障害 (悪心、嘔吐、口内炎など)、脱毛などがある²⁸⁾。特に心筋障害に関しては、通常の静脈内投与では総投与量が 500 又は 550 mg/m² を超えると急に危険性が増加する^{28, 29, 30)}とされており、用法・用量について塩酸ドキシソルビンシンの総投与量を 500 mg/m² 以下とするよう記載されている²⁸⁾。塩酸ドキシソルビンシンの心臓毒性発現の危険因子として、放射線治療³¹⁾、心臓疾患の合併症³²⁾などがあげられており、1 回投与量の減少又は持続静脈内投与により最高血漿中濃度を低下させることで心臓毒性発現のリスクが減少すると報告されている³³⁾。

各動物実験において、JNS002 投与後に認められた毒性は、塩酸ドキシソルビンシンの既知の毒性と同様であったが、皮膚障害 (JNS002 の方が重篤) や精巣毒性 (同程度) 等の一部の例外を除き、同用量の塩酸ドキシソルビンシン投与時よりも軽度であった。JNS002 を反復静脈内投与したラット、ウサギ及びイヌでは、同じ総投与量の塩酸ドキシソルビンシンを投与した場合よりも心臓毒性の発現率及び重篤度が軽度であった。塩酸ドキシソルビンシン投与により腎臓毒性が生じることが認められているが、JNS002 群では腎臓に対する影響は認められなかった。JNS002 を投与したラット及びイヌに骨髄抑制が認められたが、その重篤度は同じ総投与量の塩酸ドキシソルビンシン投与時に比べて軽度であった。JNS002 は SPL が MPEG の水性皮膜を有することから、血漿タンパク及びリポタンパクとの相互作用を減少させ、単核食細胞系による JNS002 の取り込み速度が低下するため³⁴⁾、SPL 内にドキシソルビンシンが存在した形で長時間循環することに起因すると考えられる。JNS002 投与時の SPL から放出されたドキシソルビンシンの血漿中濃度は、SPL 中に存在するドキシソルビンシンの 2.5~5.0% であることが示されている (2.6.4.3(1), 1), e) 項参照)。組織分布試験では、JNS002 投与動物における最高組織中濃度への到達時間が塩酸ドキシソルビンシンの投与時より遅いが、JNS002 では SPL 内に存在するドキシソルビンシンのクリアランスが緩徐なため、組織中の AUC は同じ用量の塩酸ドキシソルビンシンを投与した動物よりも高く、特に腫瘍に顕著に分布することが示された (2.6.4.4(1) 項参照)。このことから、塩酸ドキシソルビンシン投与時と比較して、JNS002 投与時には毒性が軽度であったと考えられる。

一方、JNS002 投与動物では皮膚障害が認められたが、塩酸ドキシソルビンシン投与動物には認められなかった。しかしながら、皮膚障害は塩酸ドキシソルビンシンにおいても血管外に漏出した際に認められる所見であり¹⁾、塩酸ドキシソルビンシンの持続静脈内投与時に認められることが知られている²⁴⁾。

以上のように、本剤の副作用の特徴として、塩酸ドキシソルビンシンと比較し心臓毒性、腎臓毒性及び骨髄抑制の減弱と、皮膚障害の増強が認められた。しかしながら、塩酸ドキシソルビンシンの持続静脈内投与は静脈内ボラス投与時と比較して最高血漿中濃度が低下するため、心臓毒性及び骨髄抑制の軽減が図れるが^{35, 36, 37)}、Hand-and-foot syndrome が出現することが報告されている³⁷⁾。これらは、本剤の毒性や副作用と類似している。本剤は、塩酸ドキシソルビンシンがリポソーム内に封入されたまま長時間にわたり血中を循環するので、リポソームから塩酸ドキシソルビンシンが徐々

に放出されることによって、長期持続注入と類似した副作用が現れるものと推測される。

2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.6.11 参考文献

- 1) Rudolph R, Stein RS, Pattillo RA. Skin ulcers due to adriamycin. *Cancer*. 1976;38:1087-94.
- 2) Bhuyan BK, Zimmer DM, Mazurek JH, Trzos RJ, Harbach PR, Shu VS, et al. Comparative genotoxicity of adriamycin and menogarol, two anthracycline antitumor agents. *Cancer Res*. 1983;43:5293-7.
- 3) Doerr CL, Harrington-Brock K, Moore MM. Micronucleus, chromosome aberration, and small-colony TK mutant analysis to quantitate chromosomal damage in L5178Y mouse lymphoma cells. *Mutat Res*. 1989;222:191-203.
- 4) Bertazzoli C, Chieli T, Solcia E. Different incidence of breast carcinomas or fibroadenomas in daunomycin or adriamycin treated rats. *Experientia* 1971; 27: 1209-10
- 5) Solcia E, Ballerini L, Bellini O, Sala L, Bertazzoli C. Mammary tumors induced in rats by adriamycin and daunomycin. *Cancer Res*. 1978;38:1444-6.
- 6) 厚生労働省医薬食品局審査管理課 平成16年8月9日 事務連絡「抗がん剤の臨床試験実施及び承認申請のために実施される毒性試験に関するQ & Aについて」
- 7) Kato M, Makino S, Kimura H, Ota T, Furuhashi T, Nagamura Y. Sperm motion analysis in rats treated with adriamycin and its applicability to male reproductive toxicity studies. *J Toxicol Sci*. 2001;26:51-9.
- 8) Bechter R, Haebler R, Ettlin RA, Haseman JK, Dixon RL. Differential susceptibility of immature rat testes to doxorubicin at critical stages of maturation. Biochemical and functional assessment. *Arch Toxicol*. 1987;60:415-21.
- 9) Abuchowski A, Es TV, Palczuk NC, Davis FF. Alteration of immunological properties of bovine serum albumin by covalent attachment of polyethylene glycol. *J Biol Chem*. 1977;252:3578-81.
- 10) Veronese FM, Caliceti P, Schiavon O, Sartore L. Preparation and properties of monomethoxypoly(ethylene glycol)-modified enzymes for therapeutic applications. In: Harris JM, editor. Poly(ethylene glycol) chemistry. Biotechnical and biomedical applications. New York: Plenum Press; 1992. p.127-37.
- 11) Smyth HF Jr, Carpenter CP, Weil CS. The toxicology of the polyethylene glycols. *J Am Pharm Assoc*. 1950;39:349-54.
- 12) Carpenter CP, Woodside MD, Kinkead ER, King JM, Sullivan LJ. Response of dogs to repeated intravenous injection of polyethylene glycol 4000 with notes on excretion and sensitization. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1971;18:35-40.
- 13) Johnson AJ, Karpatkin MH, Newman J. Clinical investigation of intermediate- and high-purity antithaemophilic factor (factor VIII) concentrates. *Br J Haematol*. 1971;21:21-41.
- 14) Williams KJ, Werth VP, Wolff JA. Intravenously administered lecithin liposomes : A synthetic antiatherogenic lipid particle. *Perspect Biol Med*. 1984;27:417-31.
- 15) Burstyn PG, Horrobin DF, Muiruri K. Effects of a high fat diet and of intravenous infusions of cholesterol on arterial pressure in rabbits. *Br J Exp Path*. 1972;53:258-64.
- 16) Wostmann BS, Wiech NL, Kung E. Catabolism and elimination of cholesterol in germfree rats. *J Lipid Res*. 1966;7:77-82.
- 17) Rong JX, Rangaswamy S, Shen L, Dave R, Chang YH, Peterson H, et al. Arterial injury by cholesterol oxidation products causes endothelial dysfunction and arterial wall cholesterol accumulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18:1885-94.
- 18) Lasic DD, Frederik PM, Stuart MCA, Barenholz Y, McIntosh TJ. Gelation of liposome interior. A novel method for drug encapsulation. *FEBS*. 1992;312:255-8.
- 19) Long-circulating liposomes : Physicochemical and physiological characterization (ヤンセンファーマ社内資料 : LTI-30-SU-94-04)
- 20) United Nations Environment Programme, the International Labour Organisation, and the World Health Organization. *Environmental Health Criteria 54 Ammonia*. 1986.
- 21) Sato A, Gonmori K, Yoshioka N. A case of fatal intoxication with ammonium sulfate and a toxicological study using rabbits. *Forensic Sci Int*. 1999;101:141-9.
- 22) 高木久宜, 小野寺博志, 劉雲, 安原加壽雄, 梶谷高敏, 三森国敏, ほか. 硫酸アンモニウムのF344ラットにおける13週間亜慢性毒性試験. 国立医薬品食品衛生研究所報告. 1999;117:108-14.

- 23) Dantchev D, Slioussartchouk V, Paintrand M, Hayat M, Bourut C, Mathe G. Electron microscopic studies of the heart and light microscopic studies of the skin after treatment of golden hamsters with adriamycin, detorubicin, AD-32, and aclacinomycin. *Cancer Treat Rep.* 1979;63:875-88.
- 24) Garnick MB, Weiss GR, Steele GD Jr, Israel M, Schade D, Sack MJ, et al. Clinical evaluation of long-term, continuous-infusion doxorubicin. *Cancer Treat Rep.* 1983;67:133-42.
- 25) Amantea M, Newman MS, Sullivan TM, Forrest A, Working PK. Relationship of dose intensity to the induction of palmar-plantar erythrodysesthesia by pegylated liposomal doxorubicin in dogs. *Hum Exp Toxicol.* 1999;18:17-26.
- 26) Maeda N, Takeuchi Y, Takada M, Sadzuka Y, Namba Y, Oku N. Anti-neovascular therapy by use of tumor neovasculature-targeted long-circulating liposome. *J Control Release.* 2004;100:41-52.
- 27) Cornali E, Zietz C, Benelli R, Weninger W, Masiello L, Breier G, et al. Vascular endothelial growth factor regulates angiogenesis and vascular permeability in Kaposi's sarcoma. *Am J Pathol.* 1996; 149: 1851-69.
- 28) アドリアシン®注添付文書（2005年9月改定，承認番号14900EMZ00275，協和発酵工業株式会社）
- 29) Von Hoff DD, Layard MW, Basa P, Davis HL Jr, Von Hoff AL, Rozenzweig M, et al. Risk factors for doxorubicin-induced congestive heart failure. *Ann Intern Med.* 1979;91:710-7.
- 30) Praga C, Beretta G, Vigo PL, Lenaz GR, Pollini C, Bonadonna G, et al. Adriamycin cardiotoxicity: A survey of 1273 patients. *Cancer Treat Rep.* 1979;63:827-34.
- 31) Torti FM, Bristow MR, Howes AE, Aston D, Stockdale FE, Carter SK, et al. Reduced cardiotoxicity of doxorubicin delivered on a weekly schedule. Assessment by endomyocardial biopsy. *Ann Intern Med.* 1983;99:745-9.
- 32) Weiss AJ, Metter GE, Fletcher WS, Wilson WL, Grage TB, Ramirez G. Studies on adriamycin using a weekly regimen demonstrating its clinical effectiveness and lack of cardiac toxicity. *Cancer Treat Rep.* 1976;60:813-22.
- 33) Lum BL, Svec JM, Torti FM. Doxorubicin: alteration of dose scheduling as a means of reducing cardiotoxicity. *Drug Intell Clin Pharm.* 1985;19:259-64.
- 34) Woodle MC, Lasic DD. Sterically stabilized liposomes. *Biochim Biophys Acta.* 1992;1113:171-99.
- 35) Legha SS, Benjamin RS, MaCkay B, Ewer M, Wallace S, Valdivieso M, et al. Reduction of doxorubicin cardiotoxicity by prolonged continuous intravenous infusion. *Ann Intern Med.* 1982;96:133-9.
- 36) Hortobagyi GN, Frye D, Buzdar AU, Ewer MS, Fraschini G, Hug V, et al. Decreased cardiac toxicity of doxorubicin administered by continuous intravenous infusion in combination chemotherapy for metastatic breast carcinoma. *Cancer.* 1989;63:37-45.
- 37) Samuels BL, Vogelzang NJ, Ruane M, Simon MA. Continuous venous infusion of doxorubicin in advanced sarcomas. *Cancer Treat Rep.* 1987 ;71:971-2.

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験

一覧表

被験物質：SLD

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg） ^{a)}	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
単回投与毒性試験	マウス/ICR	静脈内	単回	Doxil-1（Lot M ^{a)} , N ^{b)} , O ^{c)} ）：26, 28 Doxil-1（Lot P ^{d)} ）：23.9, 26 塩酸ドキシソルピシン：20	非適	Liposome Technology, Inc.	LTI-30-TM-92-01	4.2.3.1.1
				Doxil-1（Lot M ^{b)} , P ^{c)} , Q ^{d)} , R ^{e)} ）：26, 28 Doxil-1（Lot M ^{f)} ）+11% 遊離ドキシソルピシン：28	非適	Liposome Technology, Inc.	LTI-30-TM-92-02	4.2.3.1.2
				Doxil-1（Lot S ^{g)} ）：27.5, 30.4 Doxil-1（Lot M ^{h)} ）：29.9, 33.2 塩酸ドキシソルピシン：20	非適	Liposome Technology, Inc.	LTI-30-92-02	4.2.3.1.3
	マウス/CD-1			Doxil-1（Lot T ⁱ⁾ ）：0, 6, 12, 18, 24, 36 ^{e)} 塩酸ドキシソルピシン：12, 24, SPL	適	██████	LTI-30-92-12	4.2.3.1.4
	マウス/ICR			生理食塩液（陰性対照） Doxil-1（Lot T ^{j)} ）：26, 30 Doxil-1（Lot U ^{k)} ）：26, 30 塩酸ドキシソルピシン：20	非適	Liposome Technology, Inc.	LTI-30-92-10	4.2.3.1.5
				Doxil-2（Lot V ^{l)} , W ^{m)} ）：28, 31 Doxil-1（Lot X ⁿ⁾ , Y ^{o)} ）：28, 31 塩酸ドキシソルピシン：20	非適	Liposome Technology, Inc.	LTI-30-92-05	4.2.3.1.6
	ラット/SD	静脈内	単回	試験 1 Doxil-2（Lot A ^{p)} ） / Doxil-1（Lot S ^{q)} ）：5, 10, 15, 20, 25 試験 2 Doxil-2（Lot C ^{r)} ） / Doxil-1（Lot B ^{s)} ）：12, 15, 18	非適	Liposome Technology, Inc.	LTI-30-92-09	4.2.3.1.7
				Doxil-2（Lot A ^{t)} ）：0, 4, 8, 12 Doxil-1（Lot B ^{u)} ）：4, 8, 12	適	██████████	LTI-30-92-11	4.2.3.1.8

a) : 塩酸ドキシソルピシンとして, b) : 遊離ドキシソルピシンを 2%含有, c) : 遊離ドキシソルピシンを約 13%含有, d) : 遊離ドキシソルピシンを 2.5%含有

e) : 18 mg/kg を 3~4 時間空けて 2 回投与

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.1 毒性試験

一覧表（続き）

被験物質：SLD

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg） ^{a)}	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
単回投与毒性試験	イヌ /ビーグル	静脈内	単回	Doxil-1（Lot T, M）：1.5, 1.88, 2.25 塩酸ドキシソルピシン：1.5, 2.25 SPL	適		LTI-30-91-05	4.2.3.1.9
				Doxil-1（Lot M, N, O）：1.7 塩酸ドキシソルピシン：1.7	適		LTI-30-92-04	4.2.3.1.10
				Doxil-2（Lot C）：0, 1.5, 1.8, 2.1 Doxil-1（Lot B）：1.5, 1.8, 2.1	適		LTI-30-92-13	4.2.3.1.11
反復投与毒性試験	ラット/SD	静脈内	13回 (1回/3日)	Doxil-1（Lot M）：0.5, 1.0, 2.0	非適		LTI-30-92-08	4.2.3.2.1
			13回 (1回/3日)	Doxil-1（Lot S）：0.25, 1.0, 1.5 塩酸ドキシソルピシン：1.0 SPL	適		LTI-30-92-17	4.2.3.2.2
			13回 (1回/3日)	JNS002：0, 0.25, 1.0, 1.5 塩酸ドキシソルピシン：1.0 SPL	適		LTI-30-93-08	4.2.3.2.3
	イヌ /ビーグル	静脈内	5回 (1回/週)	Doxil-1（Lot M）：1.33	非適		LTI-30-92-07	4.2.3.2.4
			4回 (1回/週)	生理食塩液（陰性対照） Doxil-2（Lot C），Doxil-1（Lot B），塩酸ドキシソルピシン：1.0 SPL	適		LTI-30-93-04	4.2.3.2.5
			13回：1回/週 7回：1回/隔週	Doxil-1（Lot M）：0.8, 1.0 塩酸ドキシソルピシン：1.0 Doxil-1（Lot M）：1.2, 1.5	非適		LTI-30-92-16	4.2.3.2.6
			10回 (1回/3週)	JNS002：0, 0.25, 0.75, 1.0 塩酸ドキシソルピシン：1.0 SPL	適		LTI-30-94-07	4.2.3.2.7

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.1 毒性試験

一覧表（続き）

被験物質：SLD

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg） ^{a)}	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
生殖発生毒性試験	ラット/SD	静脈内	妊娠 6, 9, 12 及び 15 日 ^{b)}	JNS002：0, 0.1, 0.5, 1.0 塩酸ドキシソルピシン：0.2, 0.4 SPL	適		LTI-30-94- 13	4.2.3.5.2.1
	ウサギ/NZW	静脈内	妊娠 6, 9, 12, 15 及び 18 日	JNS002：0, 0.5, 1.5, 2.5	適		LTI-30-94- 06	4.2.3.5.2.2
局所刺激性試験	ウサギ/NZW	静脈内	単回	生理食塩液（陰性対照），JNS002，塩酸 ドキシソルピシン，SPL：0.1, 1.0 mL 投与	適		LTI-30-93- 03	4.2.3.6.1
	ウサギ/NZW	皮下	単回	生理食塩液（陰性対照），JNS002，塩酸 ドキシソルピシン，SPL：0.1, 1.0 mL 投与	適		LTI-30-93- 02	4.2.3.6.2

a)：塩酸ドキシソルピシンとして，b)：塩酸ドキシソルピシンは妊娠 6－15 日まで連日投与

2.6.7.1 毒性試験

一覧表（続き）

被験物質：SLD

試験の種類	動物種/系統	投与方法		投与期間	投与量（mg/kg） ^{a)}	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所					
その他の毒性試験														
抗原性試験	モルモット / Hartley	ASA	感作	皮下及び 静脈内	2週間間隔で計3 回	JNS002： 0.16, 0.8	適	■■■■■	■■■■77-49	4.2.3.7.1.1				
			惹起	静脈内	最終感作14日後 （試験42日）	JNS002： 5								
		PCA	感作	皮内	ASA試験の動物から最終感作12日後 （試験40日）に採取した血清						非適	■■■■■	■■■■77-21	4.2.3.7.1.2
			惹起	静脈内	感作の4時間後	JNS002： 5								
抗原性試験 （追加試験）	モルモット / Hartley	ASA	感作	静脈内	2週間間隔で計3 回	JNS002, SPL： 0.8	非適	■■■■■	■■■■77-21	4.2.3.7.1.2				
			惹起	静脈内	最終感作14日後 （試験42日）	JNS002, SPL, 塩酸 ドキシソルビシン：5								
毒性の発現機序に 関する試験	イヌ /ビーグル	静脈内		1回/1週 x 12回 1回/2週 x 6回 1回/4週 x 3回	JNS002 0, 0.5 ^{b)} 0.5, 1.0 ^{b)} 0.5, 2.0 ^{c)}	適	■■■■■	LTI-30-95- 08	4.2.3.7.3.1					
	ウサギ /NZW	静脈内		5日ごとに14回 又は21回 ^{d)}	JNS002：0, 1.0 塩酸ドキシソルビシ ン：1.0	適	■■■■■	LTI-30-94- 28	4.2.3.7.3.2					

a)：塩酸ドキシソルビシンとして、b)：試験6週目に投与中止（実際の投与回数は予定投与回数の半分）、c)：2回目投与から1.5 mg/kg

d)：塩酸ドキシソルビシン群は14回投与のみ

2.6.7.2 トキシコキネティクス

トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：SLD

試験の種類	試験系	投与方法	投与量(mg/kg) ^{a)}	GLP 適用	試験番号	CTD における 記載箇所
単回投与毒性試験	SD ラット	静脈内	Doxil-2 : 4, 8, 12 Doxil-1 : 4, 8, 12	適	毒性試験： LTI-30-92-11 TK 試験： LTI-30-93-06	4.2.3.1.8 4.2.2.2.2
単回投与毒性試験	ビーグル犬	静脈内	Doxil-2 : 1.5, 1.8, 2.1 ^{b)} Doxil-1 : 1.5, 1.8, 2.1 ^{b)}	適	毒性試験： LTI-30-92-13 TK 試験： LTI-30-93-07	4.2.3.1.11 4.2.2.2.7
反復投与毒性試験	SD ラット	静脈内	JNS002 : 0.25, 1.0, 1.5 ^{c)}	適	毒性試験： LTI-30-93-08 TK 試験： LTI-30-93-24	4.2.3.2.3 4.2.2.2.8

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

b)：血漿中濃度測定は 1.5 mg/kg 群のみ実施した

c)：血漿中濃度測定は 0.25 及び 1.0 mg/kg 群のみ実施した

2.6.7.3 トキシコキネティクス

トキシコキネティクス試験成績の一覧表

単回静脈内投与後の $C_{\max}$ ($\mu\text{g/mL}$)

被験物質：SLD

投与量 (mg/kg) a)	ラット (平均値 $\pm$ 標準偏差)	イヌ (平均値 $\pm$ 標準偏差)	ヒト (平均値 $\pm$ 標準偏差)
0.25	3.833 ^{b)}	・	4.12 $\pm$ 0.215 ^{d, f, g)}
0.5	・	・	8.34 $\pm$ 0.490 ^{d, f, g)}
0.75	・	・	19.623 $\pm$ 2.914 ^{e, f)}
1.0	17.4255 ^{b)}	・	26.637 $\pm$ 2.854 ^{e, f)}
1.25	・	・	34.892 $\pm$ 3.721 ^{e, f)}
1.5	・	27.9 $\pm$ 7.9 29.0 $\pm$ 4.1	・
4.0	86.7 $\pm$ 5.4 ^{c)} 121.2 $\pm$ 9.0 ^{c)}	・	・
8.0	164.6 $\pm$ 6.4 ^{c)} 196.7 $\pm$ 20.1 ^{c)}	・	・
12.0	289.9 $\pm$ 29.8 ^{c)} 311.5 $\pm$ 30.4 ^{c)}	・	・
試験番号	b) LTI-30-93-08/LTI-30-93-24 (JNS002)	LTI-30-92-13/LTI-30-93-07 (上段 Doxil-1, 下段 Doxil-2)	d) LTI-30-14
	c) LTI- 30-92-11/LTI-30-93-06 (上段 Doxil-1, 下段 Doxil-2)		e) JNS002-JPN-01 (投与 1 日目)

・：実施せず

a) 塩酸ドキソルビンとして

f)：ヒトの投与量 10, 20, 30, 40 及び 50 mg/m^2 は、それぞれ 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 及び 1.25 mg/kg に対応する

(“医薬審第 551 号, 平成 10 年 7 月 9 日付け「医薬品のがん原性試験のための用量選択」補遺について”より, 係数 40 を用い換算した)

g) 標準誤差

2.6.7.3 トキシコキネティクス

トキシコキネティクス試験成績の一覧表
 単回静脈内投与後の AUC (0→96) (μg・hr/mL)

被験物質：SLD

投与量 (mg/kg) ^{a)}	ラット (平均値±標準偏差)	イヌ (平均値±標準偏差)	ヒト ^{g)} (平均値±標準偏差)
0.25	94.5 ^{b, f)}	・	232±22.7 ^{d, h, i)}
0.5	・	・	532±45.6 ^{d, h, i)}
0.75	・	・	2106.8±518.8 ^{e, h)}
1.0	395.8 ^{b, f)}	・	2785.3±551.2 ^{e, h)}
1.25	・	・	3857.3±468.3 ^{e, h)}
1.5	・	441.0 ± 112.2 605.0 ± 53.4	・
4.0	1348.0±142.3 ^{c)} 2474.9±122.9 ^{c)}	・	・
8.0	3085.0±227.6 ^{c)} 4958.0±367.5 ^{c)}	・	・
12.0	4358.0±426.9 ^{c)} 7770.2±842.9 ^{c)}	・	・
試験番号	b) LTI-30-93-08/LTI-30-93-24 (JNS002)	LTI-30-92-13/LTI-30-93-07 (上段 Doxil-1, 下段 Doxil-2)	d) LTI-30-14
	c) LTI- 30-92-11/LTI-30-93-06 (上段 Doxil-1, 下段 Doxil-2)		e) JNS002-JPN-01 (投与 1 日目)

・：実施せず

a) 塩酸ドキソルビンとして, f) AUC (0→72), g) AUC (0→240)

h) ヒトの投与量 10, 20, 30, 40 及び 50 mg/m² は, それぞれ 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 及び 1.25 mg/kg に対応する

(“ 医薬審第 551 号, 平成 10 年 7 月 9 日付け「医薬品のがん原性試験のための用量選択」補遺について” より, 係数 40 を用い換算した)

i) 標準誤差

2.6.7.3 トキシコキネティクス

トキシコキネティクス試験成績の一覧表
ラット 13 回反復静脈内投与後の C_{max} (ng/mL) 及び AUC(0→72) (μg・hr/mL) 被験物質：SLD

投与量 (mg/kg) ^{a)}	C _{max} (平均値)	AUC(0→72) (平均値)
0.25	7380	271.0
1.0	22463	785.7
試験番号	LTI-30-93-08/LTI-30-93-24 (JNS002)	

a)：塩酸ドキシソルビシンとして

∞

2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧

該当資料なし（塩酸ドキシソルビシンはマスターファイル登録されているため）

2.6.7.5 A 単回投与毒性試験 ー重要な試験以外の試験ー

被験物質：SLD

動物種/ 系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 一群の 動物数	最大 非致死量 (mg/kg)	概略の 致死量 (mg/kg)	特記すべき所見	試験番号
マウス /ICR	静脈内 (懸濁液)	Doxil-1 (Lot M, N, O) : 26, 28 (Lot P) : 23.9, 26 塩酸ドキソルビン : 20	雄 : 10	Lot M, N, O : 26 未満 Lot P : 23.9 未満	Lot M, N, O : 26 Lot P : 23.9	Doxil-1 の各 Lot とも低用量では各 1 例, 高用量では 0 - 4 例に, 塩酸ドキソルビンでは全例に, 死亡例が認められた。 試験 7 - 11 日をピークとして用量依存的な体重減少が認められ, その後回復を示したが, Lot P の高用量群では他 Lot と比較して最終体重が低値を示した。 Doxil-1 の各 Lot とも, 塩酸ドキソルビンより毒性は弱かった。Lot P はその他の Lot と比較して毒性がやや強く認められた。	LTI-30-TM-92-01
マウス /ICR	静脈内 (懸濁液)	Doxil-1 : 26, 28 (Lot M ^{b)} , Q, R ^{c)} , P ^{d)} Doxil-1 (Lot M) +11%遊離ドキソルビン : 28	雄 : 10	26 未満	26	Lot P は全例が死亡し, 平均生存期間も短かった。他の Lot では, 26 mg/kg で 3 - 6 例, 28 mg/kg で 7 - 9 例が死亡した。Lot M に遊離ドキソルビンを添加した群では 9 例が死亡した。 用量依存的な体重減少が認められたが, 試験 16 日から回復を示した。 以上のことから, ドキソルビン含有量の増加により, 毒性が強くなることが示された。	LTI-30-TM-92-02

a) : 塩酸ドキソルビンとして

b) : 遊離ドキソルビンを 2%含有, c) : 遊離ドキソルビンを約 13%含有, d) : 遊離ドキソルビンを 2.5%含有

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 A 単回投与毒性試験（続き）

被験物質：SLD

動物種/ 系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 一群の 動物数	最大 非致死量 (mg/kg)	概略の 致死量 (mg/kg)	特記すべき所見	試験番号
マウス /ICR	静脈内 (懸濁液)	Doxil-1 (Lot S) : 27.5, 30.4 Doxil-1 (Lot M) : 29.9, 33.2 塩酸ドキソルビシン : 20	雄 : 9 (塩酸ドキ ソルビシン 群は雄 7)	Doxil-1 Lot S : 27.5 未満 Lot M : 29.9 未満	Doxil-1 Lot S : 27.5 Lot M : 29.9	Lot S の 27.5 及び 30.4 mg/kg で 1 及び 3 例, Lot M の 29.9 及び 33.2 mg/kg で 2 及び 6 例, 更に塩 酸ドキソルビシンの全例が死亡し た。 用量依存的な体重減少が認めら れ, 試験 16 日までには回復を示し た。 Doxil-1 の各 Lot 間で毒性に差は認 められなかった。	LTI-30-92- 02
マウス /CD-1	静脈内 (生理食塩液 /水溶液)	Doxil-1(Lot T) : 0 (無処 置), 6, 12, 18, 24, 36 ^{b)} 塩酸ドキソルビシン: 12, 24 SPL (Lot Z)	雄 : 14 雌 : 14	Doxil-1 : 6 未満	Doxil-1 : 6	Doxil-1 の 12 及び 24mg/kg 群で 5 及び 3 例が, 塩酸ドキソルビシン の 12 及び 24 mg/kg で 17 及び 22 例が, Doxil-1 の 36 mg/kg 群で 18 例が死亡し, Doxil-1 は死亡率にお いて同用量の塩酸ドキソルビシン より毒性が低いことが示された。 その他の検査結果において, Doxil-1 と塩酸ドキソルビシンに差 は認められなかった。	LTI-30-92- 12
マウス /ICR	静脈内 (生理食塩液 /水溶液)	Doxil-1(Lot T) : 26, 30 Doxil-1(Lot U) : 26, 30 塩酸ドキソルビシン : 20 生理食塩液	雄 : 10	Doxil-1 Lot T : 26 未満 Lot U : 26 未満	Doxil-1 Lot T : 26 Lot U : 26	Lot T の 26 及び 30 mg/kg 群で 4 及び 7 例, Lot U の 26 及び 30 mg/kg 群で 4 及び 3 例, 塩酸ドキ ソルビシン群では全例が死亡し た。 平均生存期間及び体重推移に Doxil-1 の Lot 間で差は認められな かった。	LTI-30-92- 10

a) : 塩酸ドキソルビシンとして, b) : 18 mg/kg を 3-4 時間空けて 2 回投与

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 A 単回投与毒性試験 (続き)

被験物質：SLD

動物種/ 系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 一群の 動物数	最大 非致死量 (mg/kg)	概略の 致死量 (mg/kg)	特記すべき所見	試験番号
マウス /ICR	静脈内 (懸濁液)	Doxil-2 (Lot V, W) : 28, 31 Doxil-1 (Lot X, Y) : 28, 31 塩酸ドキソルビシン : 20	雄 : 10	Doxil-2 : 28 未満 Doxil-1 : 28 未満	Doxil-2 : 28 Doxil-1 : 28	Doxil-2 の 28 及び 31 mg/kg で 9/20 例及び 10/20 例, Doxil-1 の 28 及び 31 mg/kg で 2/20 例及び 14/20 例, 塩酸ドキソルビシンで全例が死亡した。 Doxil-2 及び Doxil-1 とともに, 試験 10 日又は 13 日まで体重減少が認められ, 試験 30 日には Doxil-2 は投与前値まで回復したが, Doxil-1 は投与前値より低値を示した。 Doxil-2 と Doxil-1 の毒性に差は認められず, 塩酸ドキソルビシンより毒性は低かった。	LTI-30-92-05
ラット /SD	静脈内 (懸濁液)	試験 1 Doxil-2 (Lot A) 及び Doxil-1 (Lot S) : 5, 10, 15, 20, 25 試験 2 Doxil-2 (Lot C) 及び Doxil-1 (Lot B) : 12, 15, 18	雄 : 10	試験 1 Doxil-2 : 5 Doxil-1 : 10 試験 2 Doxil-2 : 12 未満 Doxil-1 : 12 未満	試験 1 Doxil-2 : 10 Doxil-1 : 15 試験 2 Doxil-2 : 12 Doxil-1 : 12	試験 1 : Doxil-2 及び Doxil-1 の 5, 10, 15, 20 及び 25 mg/kg で, それぞれ 0, 1, 8, 10, 10 例及び 0, 0, 3, 10, 10 例が死亡した。Doxil-1 は早期に体重減少が認められ, Doxil-2 は体重減少からの回復がやや遅かった。 試験 2 : Doxil-2 及び Doxil-1 の 12, 15 及び 18 mg/kg で, それぞれ 4, 9, 10 例及び 3, 9, 10 例が死亡した。Doxil-2 と Doxil-1 の体重推移に差は認められなかった。 試験 1 及び試験 2 の結果から, Doxil-2 と Doxil-1 の毒性に差は認められなかった。	LTI-30-92-09

a) : 塩酸ドキソルビシンとして

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 A 単回投与毒性試験 (続き)

被験物質：SLD

動物種/ 系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 一群の 動物数	最大 非致死量 (mg/kg)	概略の 致死量 (mg/kg)	特記すべき所見	試験番号
イヌ/ ビーグル	静脈内 (懸濁液)	Doxil-1 (Lot T, M) : 1.5, 1.88, 2.25 塩酸ドキシソルビシン: 1.5, 2.25 SPL (Lot Z)	雄: 2 雌: 2	1.5	1.88	Doxil-1 の 1.88 及び 2.25 mg/kg で 2 及び 4 例, 塩酸ドキシソルビシンの 2.25 mg/kg で 2 例が消化管障害による一般状態の悪化のために死亡又は切迫屠殺した。 Doxil-1 は塩酸ドキシソルビシンと比較して骨髄抑制が軽度であった。 その他の検査結果において, Doxil-1 と塩酸ドキシソルビシンの毒性に差は認められなかった。	LTI-30-91-05
イヌ/ ビーグル	静脈内 (生理食塩液/ 水溶液)	Doxil-1 (Lot M, N,) O : 1.7 塩酸ドキシソルビシン: 1.7	Lot M, N 雄: 6 Lot O 塩酸ドキシソルビシン 雄: 4	Lot O : 1.7 未満 Lot M, N : 1.7	Lot O : 1.7 Lot M, N : 1.7 超	Lot O の 1 例を切迫屠殺した。その他の Lot 及び塩酸ドキシソルビシン群に死亡例は認められなかった。 Doxil-1 は塩酸ドキシソルビシンに比べ骨髄抑制が軽度であった。消化管障害は Doxil-1 で強く認められたが, 回復性を示した。 その他の検査結果において, Doxil-1 の各 Lot 間, 及び Doxil-1 と塩酸ドキシソルビシンの毒性に差は認められなかった。	LTI-30-92-04

a) : 塩酸ドキシソルビシンとして

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 B 単回投与毒性試験 ー重要な試験ー

報告書の題名：ラットにおける Doxil-2 及び Doxil-1 の単回静脈内投与毒性試験

被験物質：SLD

動物種/系統：ラット/SD

投与期間：単回

試験番号：LTI-30-92-11

試験開始週齢：6~8 週齢

休薬期間：29 日間

CTD における記載箇所：4.2.3.1.8

初回投与年月：1992 年 9 月

投与方法：静脈内

GLP 適用：適

特記事項：なし

溶媒/投与形態：生理食塩液/水溶液

概略の致死量：Doxil-2；8 mg/kg Doxil-1；12 mg/kg

被験物質	生理食塩液	Doxil-1 (Lot B)				Doxil-2 (Lot A)		
投与量 ^{a)} (mg/kg)	0	4	8	12	4	8	12	
動物数	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	
死亡例及び切迫屠殺例数	0	0	0	3 ^{b)} (1) ^{c)}	0 (1) ^{c)}	1 ^{c)} (1) ^{c)}	4 ^{d)}	
一般状態								
粗毛	1	3	7	9	6	10	10	
脱毛	1	0	1	6	0	4	10	
陰茎突出	0	0	9	7	3	8	10	
嗜眠	1	1	0	7	1	0	10	
円背位	1	0	0	7	1	1	8	
呼吸困難	0	0	0	7	1	1	3	
消瘦	1	3	5	9	3	7	10	
陰囊の障害	0	0	0	1	0	4	7	
尾の障害	0	0	0	2	0	0	5	
足蹠の障害	0	0	1	3	0	2	9	
足蹠の紅斑/腫脹/びらん	0	0	3	5	0	8	10	
口周囲の障害/紅斑/腫脹/ びらん	1	1	1	0	1	2	8	
鼻周囲の障害/腫脹/痂皮	1	3	2	4	2	4	7	
陰茎/陰囊の腫脹/紅斑	0	1	8	6	4	8	10	
体重 (g)								
4 日	226.0	213.0***	202.7***	200.7***	215.0***	210.5***	205.7***	
30 日	329.0	321.1	287.8	245.1***	296.7	268.4***	229.2***	

***：p < 0.0003 (Tukey multiple comparison)

a)：塩酸ドキソルピシンとして

*新薬承認情報提供時に置き換え

b)：試験 10 及び 11 日にそれぞれ 2 及び 1 例が死亡，c)：試験 20 日に死亡，d)：試験 17，22，24 及び 26 日に各 1 例が死亡

e)：() 内は採血時に麻酔下で死亡した例数 (被験物質投与に起因しない死亡)

2.6.7.5 B 単回投与毒性試験

試験番号：LTI-30-92-11（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液	Doxil-1 (Lot B)				Doxil-2 (Lot A)		
投与量 ^{a)} (mg/kg)	0	4	8	12	4	8	12	
動物数	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	
血液学的検査								
白血球数 (10 ³ /μL)								
3 日	11.1	5.1***	6.2***	4.2***	8.2	6.7	5.6***	
7 日	12.7	5.4***	4.0***	2.1***	5.7***	4.4***	3.4***	
14 日	10.1	5.9	4.4***	3.9***	7.5	2.9***	2.8***	
28 日	14.3	15.8	11.1	11.2	17.6	18.2	21.4	
リンパ球数 (/μL)								
3 日	9211	4317***	5369***	3380***	7271	5866	4877***	
7 日	11282	4704***	2916***	1624***	4912***	3482***	2494***	
14 日	8617	4893***	3318***	1420***	6323	2229***	2237***	
28 日	10565	12688	7734	4970***	12921	8214	4417***	
単球数 (/μL)								
3 日	154	140	65	21	326	125	43	
7 日	316	212	42***	5***	211	38***	32***	
14 日	133	85	120	28	39	37	49	
赤血球数 (10 ⁶ /μL)								
7 日	6.67	6.02	6.66	7.27	6.44	6.70	6.80	
14 日	7.00	6.87	5.98	4.43***	7.04	6.15	4.09***	
21 日	7.36	7.06	6.84	5.59***	7.47	6.84	5.85***	
28 日	7.30	7.41	7.35	6.25***	7.30	6.64	5.79***	
ヘモグロビン量 (g/dL)								
7 日	14.0	12.3*	13.9	14.6	13.3	13.7	14.5	
10 日	13.9	13.5	11.5***	10.7***	12.7	11.9***	12.7	
21 日	15.0	15.5	14.9	12.3***	15.1	13.7	12.9***	
28 日	14.2	14.8	14.8	13.1	14.6	12.6	12.0***	

*：p<0.05, ***：p<0.0003 (Tukey multiple comparison)

a)：塩酸ドキソルビンとして

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 B 単回投与毒性試験

試験番号：LTI-30-92-11（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液		Doxil-1 (Lot B)		Doxil-2 (Lot A)		
投与量 ^{a)} (mg/kg)	0	4	8	12	4	8	12
動物数	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10
ヘマトクリット値 (%)							
7 日	41.9	36.7	40.8	45.2	41.0	38.8	40.2
10 日	42.2	40.5	32.1***	30.7***	38.3	33.5***	36.0***
21 日	44.2	44.7	43.9	37.4*	44.8	40.9	38.6*
28 日	40.8	42.1	43.7	39.0	42.3	36.7	35.2***
血液生化学的検査							
アルカリホスファターゼ ^セ (IU/L)							
3 日	349	287	315***	241***	326***	319***	319***
14 日	207	134	129	107	205	122	310
28 日	239	204	140***	92***	211	209	448***
アルブミン (g/dL)							
3 日	3.2	3.2	3.2	3.0	3.1	3.1	3.1
7 日	3.3	3.2	2.9***	2.8***	3.2	3.2	3.2
21 日	3.1	3.2	2.6***	1.9***	3.2	2.8	2.4***
28 日	3.5	3.5	2.2***	1.9***	3.4	3.0***	2.5***
グロブリン (g/dL)							
14 日	2.6	2.5	2.9	2.4	2.8	2.7	2.5
21 日	3.0	3.4	3.4	3.9*	3.3	3.3	3.5
28 日	2.8	2.5	3.4***	3.6***	2.6	3.1	3.8***
尿素窒素 (mg/dL)							
10 日	21.4	18.6	20.0	24.3	19.5	24.4	25.4
14 日	17.6	17.6	23.2	38.7***	19.2	32.4***	43.2***
21 日	21.0	19.4	19.8	23.0	16.5	31.3	47.0***
28 日	14.0	14.8	14.4	17.3	13.2	23.0*	25.0*

*：p<0.05, ***：p<0.0003 (Tukey multiple comparison)

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 B 単回投与毒性試験

試験番号：LTI-30-92-11（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液	Doxil-1 (Lot B)				Doxil-2 (Lot A)	
投与量 ^{a)} (mg/kg)	0	4	8	12	4	8	12
動物数	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10	雄：10
コレステロール(mg/dL)							
3 日	95	120*	143*	159*	118*	138*	146*
14 日	92	98	186***	225***	112	120***	110
28 日	94	102	396***	580***	95	114	144***
グルコース (mg/dL)							
3 日	132	195	174	193	163	177	186
7 日	88	114	130*	136*	120	114	126*
14 日	58	78	83	128***	83	97***	114***
28 日	119	120	130	90	139	105	104
塩素(mEq/L)							
3 日	101	101	102	102	100	100	101
7 日	100	102	104***	107***	105***	104***	105***
10 日	99	100	101	103	98	98	101

*：p<0.05, ***：p<0.0003 (Tukey multiple comparison)

a)：塩酸ドキシソルビンとして

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 C 単回投与毒性試験 —重要な試験—

報告書の題名：イヌにおける Doxil-2 及び Doxil-1 の単回静脈内投与毒性試験

被験物質：SLD

動物種/系統：ビーグル犬

投与期間：単回

試験番号：LTI-30-92-13

試験開始月齢：4 - 5 ヶ月齢

休薬期間：30 日間

CTD における記載箇所：4.2.3.1.11

初回投与年月：1992 年 9 月

投与方法：静脈内

特記事項：生存例の剖検は実施しなかった

溶媒/投与形態：－/懸濁液

GLP 適用： 適

概略の致死量：Doxil-2；雄 2.1 mg/kg 超，雌 2.1 mg/kg Doxil-1；雄 1.8 mg/kg，雌 1.5 mg/kg

被験物質	生理食塩液	Doxil-1 (Lot B)			Doxil-2 (Lot C)		
投与量 ^{a)} (mg/kg)	0	1.5	1.8	2.1	1.5	1.8	2.1
雄 ^{b)}							
動物数	雄：3	雄：3	雄：3	雄：3	雄：3	雄：3	雄：3
死亡例及び切迫屠殺例数	0	0	1 ^{c)}	1 ^{d)}	0	0	0
一般状態							
腫脹	0	0	1	2	1	1	1
皮膚：紅斑	1	0	1	1	2	3	1
脱毛	0	2	0	0	3	2	2
痂皮	0	0	0	0	1	1	1
損傷	0	1	1	2	1	2	2
赤色便	0	2	2	3	1	2	1
便異常（軟便，液状便，粘液便）	3	3	3	3	3	3	3
赤色尿	0	0	1	1	0	0	1
活動性低下	0	0	0	0	0	0	1
体重 (kg)							
2 週	7.8	7.2	6.6*	6.5*	7.6	6.6*	6.9*
5 週	9.4	8.9	8.8	8.5	9.6	8.8	8.9
摂餌量 (g/週)							
1 週	1556	1217	1112	910*	1571	1296*	1245
4 週	2508	2439	2381	2388	2565	2846	2412

*：p ≤ 0.05 (Dunnett's t-test)

a)：塩酸ドキソルビシンとして，b)：雌雄を分けて表記，c)：薬液の漏れに起因した投与部位の悪化により，試験 22 日に切迫屠殺

d)：薬液の漏れに起因した投与部位の悪化により，試験 24 日に切迫屠殺

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 C 単回投与毒性試験

試験番号：LTI-30-92-13（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液	Doxil- 1 (Lot B)			Doxil-2 (Lot C)		
投与量 ^{a)} (mg/kg)	0	1.5	1.8	2.1	1.5	1.8	2.1
雄							
動物数	雄：3	雄：3	雄：3	雄：3	雄：3	雄：3	雄：3
身体検査 ^{b)}	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査							
リンパ球数 (10 ³ /μL)							
7日	3.8	2.3	2.2	1.9*	2.9	2.3	1.5*
10日	4.1	2.3*	2.1*	2.4*	2.6*	2.0*	1.8*
17日	4.3	2.7	2.5*	2.3*	2.4*	2.9	1.8*
24日	4.0	3.5	2.6	2.0	4.6	3.5	2.5
31日	3.7	3.3	2.4	2.7	4.4	3.1	2.5
血液生化学的検査	—	—	—	—	—	—	—
尿検査							
尿タンパク ^{c)}							
3日	0	0	0	1	0	2	1
7日	0	0	0	0	0	0	1
潜血 (例数)							
7日	0	1	2	3	0	3	3
10日	1	1	2	3	3	3	2
24日	1	2	1	2	1	0	0
雌							
動物数	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3
死亡例及び切迫屠殺例数	0	1 ^{d)}	0	0	0	0	1 ^{e)}
一般状態							
腫脹	0	1	0	0	0	0	1
皮膚：紅斑	0	2	1	2	1	2	2
脱毛	0	1	1	2	0	1	2

*：p≤0.05 (Dunnett's t-test) —：特記すべき所見なし/発現なし

a)：塩酸ドキソルビシンとして、b)：直腸温、心拍数及び呼吸数、c)：2000 mg/dL 超の値を示した動物数

d)：薬液の漏れに起因した投与部位の悪化により、試験 24 日に切迫屠殺、e)：薬液の漏れに起因した投与部位の悪化により、試験 28 日に切迫屠殺

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 C 単回投与毒性試験

試験番号：LTI-30-92-13（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液	Doxil- 1 (Lot B)			Doxil-2 (Lot C)		
投与量 ^{a)} (mg/kg)	0	1.5	1.8	2.1	1.5	1.8	2.1
雌							
動物数	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3
皮膚：損傷	0	2	0	0	0	0	1
赤色便	0	1	2	3	0	2	2
便異常（軟便，液状便，粘液便）	2	3	3	3	3	3	3
赤色尿	0	0	0	1	0	1	1
活動性低下	0	0	0	1	0	1	2
消瘦	0	0	0	0	0	1	2
冷触感	0	0	0	0	0	1	0
体重 (kg)							
2 週	7.8	6.7	6.0*	6.0*	6.6*	6.0*	6.1*
5 週	9.1	8.4	7.6	7.9	7.9	7.6	7.4
摂餌量 (g/週)							
1 週	1557	1505	741*	749*	1411	870*	806*
4 週	2248	2262	2081	2258	2090	2139	2242
身体検査 ^{b)}	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査							
白血球数 (10 ³ /μL)							
10 日	11.7	8.5	7.6*	6.8*	6.6*	6.8*	7.8*
17 日	10.1	9.5	9.5	10.2	9.3	11.1	11.1
リンパ球数 (10 ³ /μL)							
7 日	3.1	2.5	2.5	1.5*	3.0	3.0	1.4*
10 日	3.3	1.9	2.9	1.9	2.5	2.1	2.4
24 日	4.1	3.3	3.0	2.4	3.9	2.4	2.9
31 日	3.5	2.5	2.8	2.1*	3.7	2.1*	2.7

*：p ≤ 0.05 (Dunnett's t-test) —：特記すべき所見なし

a)：塩酸ドキシソルピシンとして，b)：直腸温，心拍数及び呼吸数

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 C 単回投与毒性試験

試験番号：LTI-30-92-13（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液	Doxil- 1 (Lot B)			Doxil-2 (Lot C)		
投与量 ^{a)} (mg/kg)	0	1.5	1.8	2.1	1.5	1.8	2.1
雌							
動物数	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3
分葉核好中球数 (10 ³ /μL)							
10 日	7.5	5.8	4.3*	4.4*	3.5*	4.1*	4.7*
17 日	5.8	6.1	6.2	7.2	5.7	7.1	6.8
赤血球数 (10 ⁶ /μL)							
17 日	6.30	5.90	6.03	6.00	6.13	5.37*	4.97*
24 日	6.40	6.00	6.30	5.90	6.17	5.27*	5.33*
31 日	6.57	6.05	6.53	6.17	6.37	5.83	5.40
ヘモグロビン量 (g/dL)							
17 日	14.0	13.1	13.5	13.5	13.6	12.1	11.2*
24 日	14.4	13.6	14.3	13.5	14.1	12.1*	12.3*
31 日	14.7	13.8	15.0	14.2	14.6	13.5	12.4
ヘマトクリット値 (%)							
17 日	40.4	38.6	38.8	39.1	40.1	35.0	32.3*
24 日	40.9	39.6	41.1	38.7	40.6	34.5*	35.2*
31 日	42.3	40.3	42.9	40.7	42.1	38.3	35.3*
血液生化学的検査							
総タンパク (g/dL)							
7 日	5.6	5.1*	5.5	5.6	5.3	4.7*	5.4
10 日	5.6	5.3	5.2	4.9	5.3	4.4*	4.5*
24 日	5.7	5.6	5.6	5.3	5.6	5.0*	5.4
31 日	5.9	5.6	5.9	5.6	5.8	5.5	5.4
アルブミン (g/dL)							
7 日	3.3	3.2	3.3	3.4	3.3	2.8*	3.1
10 日	3.3	3.2	3.2	3.0	3.2	2.6*	2.7*
24 日	3.5	3.3	3.3	3.3	3.4	3.0*	3.1*
31 日	3.6	3.4	3.5	3.4	3.4	3.2*	3.2*

* : p ≤ 0.05 (Dunnett's t-test)

a) : 塩酸ドキソルピシンとして

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 C 単回投与毒性試験

試験番号：LTI-30-92-13（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液	Doxil- 1 (Lot B)			Doxil-2 (Lot C)		
投与量 ^{a)} (mg/kg)	0	1.5	1.8	2.1	1.5	1.8	2.1
雌							
動物数	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3	雌：3
カルシウム (mg/dL)							
10 日	11.1	11.0	10.5	10.3	10.9	10.1	9.9*
24 日	11.3	11.3	11.4	10.9	11.4	10.6*	10.9
31 日	11.1	11.6	11.1	11.4	11.4	11.6	11.2
尿検査							
尿タンパク ^{b)}							
3 日	1	0	0	0	0	2	3
7 日	0	0	0	0	0	2	2
潜血 (例数)							
7 日	0	0	2	3	1	3	3
10 日	1	1	2	3	1	3	3
24 日	0	0	0	0	0	0	2

—：特記すべき所見なし/発現なし *：p≤0.05 (Dunnett's t-test)

a)：塩酸ドキシソルビシンとして、b)：2000 mg/dL 超の値を示した動物数

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.6 反復投与毒性試験 —重要な試験以外の試験—

被験物質：SLD

動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 一群の 動物数	無毒性量 (mg/kg)	特記すべき所見 (mg/kg)	試験番号
ラット/SD	静脈内 (生理食塩液/ 水溶液)	13 回 (1 回/3 日)	Doxil-1 (Lot M) : 0.5, 1.0, 2.0	雄 : 5	0.5 未満	2.0 : 試験 30 日までに 3 例死亡, 残りの 2 例は状態悪化のため, 試験 31 日に切迫屠殺。 0.5 以上 : 尾の壊死, 痂皮及び鱗状皮膚, 足蹠の紅斑及びびらん, 陰囊の紅斑, 粗毛。 1.0 以上 : 陰茎腫脹及び勃起, 体重減少。 2.0 : 口周囲のびらん及び痂皮, 円背位, 消瘦, 衰弱, 過敏。	LTI-30-92-08
ラット/SD	静脈内 (生理食塩液/ 懸濁液)	13 回 (1 回/3 日)	Doxil-1 (Lot S) : 0.25, 1.0, 1.5 塩酸ドキシソルビ シン: 1.0 SPL (Lot AA)	雄 : 20 雌 : 20	0.25 未満	1.5 : 雄 1 例を試験 35 日に状態悪化のため切迫屠殺, 雌 1 例が試験 6 日に採血中に死亡。 1.0 以上 : 主に四肢, 足蹠, 尾に, 腫脹並びに皮膚のびらん, 痂皮及び鱗状皮膚 (塩酸ドキシソルビシン群では認められず)。体重増加量及び摂餌量の減少。 0.25 以上 : 精巣重量減少 (塩酸ドキシソルビシン群含む)。 心毒性, 骨髄抑制及び腎毒性は, 塩酸ドキシソルビシンよりも同用量の Doxil-1 が軽度であった。 その他の毒性は Doxil-1 と塩酸ドキシソルビシンで差異はなかった。 SPL 投与による影響はみられなかった。	LTI-30-92-17

a) : 塩酸ドキシソルビシンとして

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.6 反復投与毒性試験 —重要な試験以外の試験—

被験物質：SLD

動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 一群の 動物数	無毒性量 (mg/kg)	特記すべき所見 (mg/kg)	試験番号
イヌ /ビーグル	静脈内 (生理食塩液/ 水溶液)	5 回 (1 回/週)	Doxil-1 (Lot M) : 1.33	雄 : 1 雌 : 1	1.33 未満	2 回目投与後 (試験 12 及び 15 日) に瀕死状態のため切迫屠殺。 主に 2 回目投与後に、液状便、粘液便及び無便、嘔吐。体重及び摂餌量の減少、好中球数減少。	LTI-30- 92-07
イヌ /ビーグル	静脈内 (生理食塩液/ 水溶液)	4 回 (1 回/週)	Doxil-2 (Lot C) Doxil-1 (Lot B) : 1.0 塩酸ドキソルビ シン: 1.0 生理食塩液 SPL ^{b)} (Lot AA)	雄 : 6	1.0 未満	Doxil-1 及び塩酸ドキソルビシンの各 1 例が、一般状態の悪化を示し死亡。 Doxil-2 及び Doxil-1 の 2 及び 1 例を皮膚障害に起因した状態悪化のために切迫屠殺。 塩酸ドキソルビシンと比較して Doxil 群では赤血球数、白血球数、血小板数の減少、並びに骨髓細胞の減少が軽度であった。 Doxil 群で四肢の炎症性傷害がみられたが、休薬により回復がみられた。 その他の毒性は Doxil と塩酸ドキソルビシンで差は認められなかった。 SPL 投与群で 2 回目投与以降に流涎、発赤、嘔吐、排便、排尿などの急性反応がみられ、投与 45 分後には消失した。	LTI-30- 93-04

a) : 塩酸ドキソルビシンとして、b) : Doxil-1 における SPL

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.6 反復投与毒性試験 —重要な試験以外の試験—

被験物質：SLD

動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 ^{a)} (mg/kg)	性別及び 一群の 動物数	無毒性量 (mg/kg)	特記すべき所見 (mg/kg)	試験番号
イヌ /ビーグル	静脈内 (生理食塩液/ 水溶液)	13回 (1回/週)	(1回/週投与) Doxil-1 (Lot M) : 0.8, 1.0 塩酸ドキシソルビ シン : 1.0	雄 : 1 雌 : 1	0.8 未満	試験4週(1回/週投与では4回, 1回/隔週投与では2回投与後)に動物の状態悪化により投与を中止。 雄 1.5 mg/kg 群及び雌雄塩酸ドキシソルビシン群は休薬して試験49日に剖検。その他の動物は試験21~28日に切迫屠殺。 (1回/週投与) 0.8以上: 皮膚の紅斑及び損傷, 軟便及び粘液便。体重及び摂餌量減少。リンパ球数, 好酸球数及び赤血球パラメータの減少。 1.0: 血小板数減少。 (1回/隔週投与) 1回/週投与群で認められた所見の他に 1.2以上: 脱毛。	LTI-30- 92-16
		7回 (1回/隔週)	(1回/隔週投与) Doxil-1 (Lot M) : 1.2, 1.5			塩酸ドキシソルビシン群では, Doxil-1で認められた所見に加えて, 分葉核好中球数及びグロブリンの減少が認められた。一方, 皮膚の所見は認められず, 雄では体重減少も認められなかった。	

a): 塩酸ドキシソルビシンとして

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験 —重要な試験—

報告書の題名：ラットを用いた JNS002 の反復静脈内投与毒性試験

被験物質：SLD

動物種/系統：ラット/SD

投与期間：13 回（1 回/3 日）

試験番号：LTI-30-93-08

試験開始日齢：40～47 日齢

休薬期間：4 週間

CTD における記載箇所：4.2.3.2.3

初回投与年月：1993 年 1 月

投与方法：静脈内

GLP 適用： 適

特記事項：なし

溶媒/投与形態：生理食塩液/水溶液

無毒性量：0.25 mg/kg 未満

被験物質	生理食塩液		SPL (Lot E)		塩酸ドキシソルピシン		JNS002 (Lot D)					
投与量 (mg/kg) ^{a)}	0		0		1.0		0.25		1.0		1.5 ^{b)}	
動物数 ^{c)}	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
死亡例及び切迫屠殺例数	0	0	0	0	2 ^{d)}	0	0	0	0	1 ^{e)}	7	2 ^{f)}
一般状態（発現例数）												
円背位	0	0	0	0	0	0	0	0	7	3	14	12
腫脹	0	0	0	0	0	0	0	0	7	1	4	12
皮膚： 紅斑	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	13	12
粗毛	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	15	14
脱毛	3	1	2	3	0	1	2	4	7	6	6	9
痂皮	6	1	3	4	3	1	5	2	8	8	7	8
びらん	0	0	2	3	0	2	4	1	12	12	15	13
鱗状皮膚	0	0	0	0	0	0	0	0	13	6	13	9
接触過敏	0	0	0	0	0	0	0	0	6	2	9	5
赤色尿	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0	0	0
陰茎突出	0	・	0	・	0	・	0	・	2	・	8	・

・：該当せず

※新薬承認情報提供時に置き換え

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

b)：毒性が強く認められたため、投与は 8 回で中止し、状態悪化の雄 7 例と雌 1 例を試験 22～24 日に剖検した。残りのうち、雄 4 例を試験 28 日、雌 6 例を試験 27 日に、雄 4 例を試験 68 日、雌 7 例を試験 67 日にそれぞれ剖検した

c)：各群 10 例は試験 40 日に剖検(投与期間終了時)、残りは休薬し、試験 67 日に各群雌 5 例(1.0 mg/kg 群は 4 例)、試験 68 日に各群雄 5 例を剖検した

d)：試験 66 日及び 68 日に各 1 例死亡、e)：一般状態悪化により試験 36 日に切迫屠殺、f)：1 例の雌は試験 6 日に採血手技に起因した死亡

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験

試験番号：LTI-30-93-08（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液		SPL (Lot E)		塩酸ドキシソルピシン		JNS002 (Lot D)					
投与量 (mg/kg) ^{a)}	0		0		1.0		0.25		1.0		1.5 ^{b)}	
動物数 ^{c)}	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
体重 (g)												
22 日	379.6	240.8	387.0	248.8	336.3 ^{*#}	233.6	376.0 [†]	247.9	300.7 ^{*#†}	229.4	272.7 ^{*#†}	215.6 ^{*#}
37 日	448.5	271.2	462.1	276.9	374.9 ^{*#}	250.3 [#]	439.9 [†]	271.8 [†]	324.1 ^{*#†}	247.3 ^{*#}	・	・
64 日	540.2	289.8	554.9	309.7	408.6 ^{*#}	275.7	535.1 [†]	304.3	405.8 ^{*#}	274.8	・	・
体重増加量 (g)												
37 日	208.5	83.0	225.8	92.6	136.7 ^{*#}	62.8 ^{*#}	201.9 [†]	80.6 [†]	93.8 ^{*#†}	56.9 ^{*#}	・	・
64 日	287.1	100.8	322.6	124.2	175.2 ^{*#}	95.9 [#]	282.2 [†]	112.4	168.9 ^{*#}	84.2 [#]	・	・
摂餌量 (g/週)												
5 週	190.7	142.7	195.7	140.3	165.3 ^{*#}	124.3 [*]	186.7	139.8	134.7 ^{*#†}	118.5 ^{*#}	・	・
10 週	85.9	41.2	89.2	42.0	63.7 ^{*#}	40.9	89.8 [†]	41.1	74.4	36.1	・	・
眼科学的検査												
血液学的検査												
赤血球数 (10 ⁶ /μL)												
15 日	6.69	6.56	6.67	6.62	6.15 ^{*#}	6.08 [#]	6.29	6.82 [†]	6.53	6.51	6.10 ^{*#}	6.24
40 日	7.72	7.55	7.64	7.41	5.52 ^{*#}	6.05 ^{*#}	7.40 [†]	7.58 [†]	6.88 ^{*#†}	6.77 ^{*#}	・	・
68/67 日	7.86	8.22	7.86	7.98	5.83 ^{*#}	7.64	7.90 [†]	8.04	7.52 [†]	7.90	・	・
ヘモグロビン量 (g/dL)												
15 日	14.6	14.3	14.5	14.1	13.6 ^{*#}	13.3 [*]	13.8	14.6 [†]	14.4	14.1	13.5 ^{*#}	13.6
40 日	15.4	15.4	15.2	15.0	12.2 ^{*#}	13.2 ^{*#}	15.0 [†]	15.1 [†]	14.0 ^{*#†}	14.0 ^{*#}	・	・
68/67 日	14.4	15.6	14.5	15.2	12.0 ^{*#}	15.7	14.7 [†]	15.3	15.0 [†]	15.8	・	・

—：特記すべき所見なし ・：該当せず

*^{#†}：p ≤ 0.05 (Games-Howell Modified Tukey-Kramer test, * 生理食塩液群との比較, # SPL 群との比較, † 塩酸ドキシソルピシン群との比較)

*新薬承認情報提供時に置き換え

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

b)：毒性が強く認められたため、投与は8回で中止し、状態悪化の雄7例と雌1例を試験22～24日に剖検した。残りのうち、雄4例を試験28日、雌6例を試験27日に、雄4例を試験68日、雌7例を試験67日にそれぞれ剖検した

c)：各群10例は試験40日に剖検(投与期間終了時)、残りは休薬し、試験67日に各群雌5例(1.0 mg/kg 群は4例)、試験68日に各群雄5例を剖検した

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験

試験番号：LTI-30-93-08（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液		SPL (Lot E)		塩酸ドキシソルビシン		JNS002 (Lot D)					
投与量 (mg/kg) ^{a)}	0		0		1.0		0.25		1.0		1.5 ^{b)}	
動物数 ^{c)}	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
ヘマトクリット値 (%)												
15 日	40.2	38.2	40.0	38.4	36.8* [#]	36.1 [#]	38.2	39.5 [†]	39.2 [†]	37.9	36.8* [#]	36.3
40 日	43.3	42.2	42.5	41.2	33.1* [#]	35.8* [#]	41.4 [†]	41.5 [†]	38.4* ^{#†}	37.9* [#]	・	・
68/67 日	41.7	44.2	41.3	43.3	33.2	43.7	42.2	43.1	42.9	44.9	・	・
MCV (fL)												
15 日	60	58	60	58	60	59	61	58	60	58	60	58
40 日	56	56	56	56	60* [#]	59* [#]	56 [†]	55 [†]	56 [†]	56 [†]	・	・
68/67 日	53	54	53	54	57	57	53	54	57* [#]	57	・	・
MCH (pg)												
15 日	21.8	21.8	21.8	21.4	22.0	21.8	22.0	21.4	22.0	21.7	22.1	21.8
40 日	20.0	20.4	19.8	20.2	22.2* [#]	21.8* [#]	20.3 [†]	20.0 [†]	20.4 [†]	20.7 [†]	・	・
68/67 日	18.3	19.0	18.5	19.1	20.5* [#]	20.5	18.7 [†]	19.0	19.9* [#]	20.0	・	・
血小板数 (10 ³ /μL)												
15 日	995	992	1008	918	1166	1042	1045	1034	1164	1071	1312* [#]	1164 [#]
40 日	915	880	930	879	1368* [#]	1185	872 [†]	922	1244* [#]	1111	・	・
68/67 日	912	920	906	934	830	1050	956	908	1004	1012	・	・
白血球数 (10 ³ /μL)												
15 日	10.1	8.4	11.1	7.3	4.6* [#]	4.2* [#]	11.0 [†]	7.6 [†]	5.8* [#]	4.8* [#]	5.0* [#]	4.4* [#]
40 日	8.3	7.8	10.0	8.5	4.6 [#]	4.2* [#]	8.7 [†]	6.9 [†]	6.1 [#]	4.5* [#]	・	・
68/67 日	7.7	7.7	11.4	8.1	9.5	8.5	11.2	7.1	8.9	9.4	・	・
リンパ球数 (10 ³ /μL)												
15 日	7.8	7.0	9.0	6.2	4.0* [#]	3.7* [#]	8.9 [†]	6.9 [†]	4.8* [#]	4.1*	3.8* [#]	3.8* [#]
40 日	6.9	6.4	8.3	6.8	2.8* [#]	3.1* [#]	7.3 [†]	6.0 [†]	3.2* [#]	3.4* [#]	・	・
68/67 日	6.1	6.4	9.1	6.5	5.9	6.9	8.4	5.8	6.1	7.7	・	・

・：該当せず *^{#†}：p≤0.05 (Games-Howell Modified Tukey-Kramer test, * 生理食塩液群との比較, [#] SPL 群との比較, [†] 塩酸ドキシソルビシン群との比較)

a)：塩酸ドキシソルビシンとして

b)：毒性が強く認められたため、投与は8回で中止し、状態悪化の雄7例と雌1例を試験22～24日に剖検した。残りのうち、雄4例を試験28日、雌6例を試験27日に、雄4例を試験68日、雌7例を試験67日にそれぞれ剖検した

c)：各群10例は試験40日に剖検(投与期間終了時)、残りは休薬し、試験67日に各群雌5例(1.0 mg/kg 群は4例)、試験68日に各群雄5例を剖検した

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験

試験番号：LTI-30-93-08（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液		SPL (Lot E)		塩酸ドキシソルビン		JNS002 (Lot D)					
投与量 (mg/kg) ^{a)}	0		0		1.0		0.25		1.0		1.5 ^{b)}	
動物数 ^{c)}	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
血液生化学的検査												
総タンパク (g/dL)												
15 日	6.4	6.4	6.2	6.5	5.9*	5.9 [#]	6.2	6.6 [†]	6.3 [†]	6.5 [†]	6.4 [†]	6.6 [†]
40 日	6.8	7.0	6.8	7.1	5.6* [#]	6.0* [#]	6.9 [†]	7.2 [†]	6.5 [†]	6.7 [†]	・	・
68/67 日	6.8	7.4	6.9	7.4	6.3	6.6* [#]	7.0 [†]	7.2	6.8	7.1	・	・
アルブミン (g/dL)												
15 日	4.6	4.7	4.6	4.9	4.3* [#]	4.4 [#]	4.3	4.8 [†]	4.5	4.6	4.6	4.7
40 日	4.5	4.8	4.6	5.0	3.0* [#]	3.9* [#]	4.4 [†]	5.0 [†]	4.3 [†]	4.6 [†]	・	・
68/67 日	4.4	5.2	4.6	5.1	2.8* [#]	4.4	4.7 [†]	5.1	4.4 [†]	4.9	・	・
グロブリン (g/dL)												
15 日	1.8	1.7	1.6	1.6	1.6	1.5	1.9 ^{#†}	1.8	1.8 ^{#†}	1.9 [†]	1.8 ^{#†}	1.9 [†]
40 日	2.3	2.2	2.2	2.2	2.6 [#]	2.2	2.4	2.2	2.2 [†]	2.1	・	・
68/67 日	2.4	2.2	2.3	2.3	3.4* [#]	2.2	2.3 [†]	2.1	2.3 [†]	2.3	・	・
コレステロール (mg/dL)												
15 日	56	73	57	69	60	73	63	68	65	81	78* ^{#†}	81
40 日	56	75	59	71	290* [#]	128 [#]	63 [†]	71	70 [†]	94	・	・
68/67 日	60	75	63	67	384* [#]	121* [#]	71 [†]	75 [†]	85 [†]	81	・	・
アルカリホスファターゼ (IU/L)												
15 日	257	163	269	152	204 [#]	139	238	144	227	159	225	172
40 日	158	93	165	96	65* [#]	64* [#]	143 [†]	86	110* ^{#†}	80	・	・
68/67 日	117	74	105	55	64*	60	101	74	110	68	・	・

・：該当せず *^{#†}：p ≤ 0.05 (Games-Howell Modified Tukey-Kramer test, * 生理食塩液群との比較, [#] SPL 群との比較, [†] 塩酸ドキシソルビン群との比較)

a)：塩酸ドキシソルビンとして

b)：毒性が強く認められたため、投与は8回で中止し、状態悪化の雄7例と雌1例を試験22～24日に剖検した。残りのうち、雄4例を試験28日、雌6例を試験27日に、雄4例を試験68日、雌7例を試験67日にそれぞれ剖検した

c)：各群10例は試験40日に剖検(投与期間終了時)、残りは休薬し、試験67日に各群雌5例(1.0 mg/kg 群は4例)、試験68日に各群雄5例を剖検した

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験

試験番号：LTI-30-93-08（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液		SPL (Lot E)		塩酸ドキシソルピシン		JNS002 (Lot D)					
投与量 (mg/kg) ^{a)}	0		0		1.0		0.25		1.0		1.5 ^{b)}	
動物数 ^{c)}	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
ナトリウム (mmol/L)												
15 日	146	148	146	147	144	147	146	150	147	150	147	148
40 日	146	146	145	146	142*	146	146	148	146	147	・	・
68/67 日	149	149	149	147	146	147	149	149	149	149	・	・
カリウム (mmol/L)												
15 日	4.7	4.6	4.9	4.5	5.1	4.7	4.8	4.7	4.8	4.8	5.1	4.8
40 日	4.8	4.7	4.9	4.6	5.7* [#]	5.2 [#]	5.0 [†]	4.7	5.0 [†]	4.8	・	・
68/67 日	5.3	4.8	5.3	4.9	5.5	5.1	5.2	4.9	5.2	5.0	・	・
尿検査												
尿量 (mL)												
15 日	21.1	10.3	21.0	8.1	26.4	19.0 [#]	18.4	13.2	16.5	12.1	22.2	15.6
40 日	15.0	8.9	17.5	6.3	23.7	23.6* [#]	12.3 [†]	7.4 [†]	13.5 [†]	12.9 [†]	・	・
68/67 日	10.0	5.1	10.1	8.3	17.8	13.4	8.8	4.3	18.7	14.2	・	・
尿比重												
15 日	1.014	1.020	1.014	1.019	1.009	1.009	1.016	1.012	1.014 [†]	1.016	1.012	1.012
40 日	1.022	1.024	1.020	1.030	1.012	1.009* [#]	1.024	1.027 [†]	1.021	1.017	・	・
68/67 日	1.030	1.028	1.028	1.024	1.024	1.019	1.033	1.024	1.017	1.022	・	・
尿中タンパク排泄量 (mg)												
15 日	6.1	1.2	6.2	1.1	3.1	1.5	4.5	1.2	3.6	1.1	2.6	1.0
40 日	7.1	1.4	7.9	1.4	190.4* [#]	56.6* [#]	7.8 [†]	1.3 [†]	5.3 [†]	1.8 [†]	・	・
68/67 日	11.7	2.5	8.5	1.3	288.5* [#]	44.9 [#]	9.4 [†]	1.4	15.1 [†]	1.4	・	・
器官重量 ^{d)}												
40 日												
胸腺 絶対重量	0.660	0.579	0.694	0.556	0.088* [#]	0.124* [#]	0.559 [†]	0.493 [†]	0.101* [#]	0.206* [#]	・	・
体重比重量	0.159	0.230	0.160	0.221	0.026* [#]	0.055* [#]	0.136 [†]	0.199 [†]	0.034* [#]	0.092* [#]	・	・

・：該当せず *[†]：p≤0.05 (Games-Howell Modified Tukey-Kramer test, * 生理食塩液群との比較, [#] SPL 群との比較, [†] 塩酸ドキシソルピシン群との比較)

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

b)：毒性が強く認められたため、投与は8回で中止し、状態悪化の雄7例と雌1例を試験22～24日に剖検した。残りのうち、雄4例を試験28日、雌6例を試験27日に、雄4例を試験68日、雌7例を試験67日にそれぞれ剖検した

c)：各群10例は試験40日に剖検(投与期間終了時)、残りは休薬し、試験67日に各群雌5例(1.0 mg/kg 群は4例)、試験68日に各群雄5例を剖検した

d)：絶対重量=g, 体重比重量=%

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験

試験番号：LTI-30-93-08（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液		SPL (Lot E)		塩酸ドキシソルピシン		JNS002 (Lot D)					
投与量 (mg/kg) ^{a)}	0		0		1.0		0.25		1.0		1.5 ^{b)}	
動物数 ^{c)}	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
器官重量 ^{d)} 40 日												
腎臓（左） 絶対重量	1.628	0.969	1.675	0.996	1.825	1.069	1.673	0.977	1.354* ^{#†}	1.015	・	・
体重比重量	0.391	0.390	0.388	0.395	0.536* [#]	0.475* [#]	0.409 [†]	0.395 [†]	0.456* [#]	0.453	・	・
脳比重量	0.769	0.508	0.807	0.519	0.914*	0.552	0.810	0.513	0.676* ^{#†}	0.524	・	・
腎臓（右） 絶対重量	1.622	1.008	1.681	1.009	1.884*	1.107	1.679	1.006	1.360* ^{#†}	1.039	・	・
体重比重量	0.390	0.405	0.390	0.399	0.553* [#]	0.492 [#]	0.410 [†]	0.407	0.458* [#]	0.464* [#]	・	・
脳比重量	0.766	0.528	0.810	0.526	0.943* [#]	0.572	0.813 [†]	0.529	0.679* ^{#†}	0.537	・	・
精巣（左） 絶対重量	1.727	・	1.754	・	0.880* [#]	・	1.427* ^{#†}	・	0.910* [#]	・	・	・
体重比重量	0.417	・	0.408	・	0.258* [#]	・	0.349* ^{#†}	・	0.307* ^{#†}	・	・	・
精巣（右） 絶対重量	1.716	・	1.758	・	0.894* [#]	・	1.460* ^{#†}	・	0.929* [#]	・	・	・
体重比重量	0.415	・	0.408	・	0.262* [#]	・	0.357* ^{#†}	・	0.313* ^{#†}	・	・	・
器官重量 ^{d)} 雄 68 日/雌 67 日												
胸腺 絶対重量	0.532	0.312	0.714	0.422	0.567	0.465	0.628	0.440	0.557	0.503	・	・
体重比重量	0.102	0.116	0.138	0.147	0.141	0.184	0.123	0.160	0.147	0.200	・	・
腎臓（左） 絶対重量	1.714	1.004	1.715	1.064	2.289	1.102	1.861	1.014	1.483* [†]	0.979	・	・
体重比重量	0.334	0.385	0.325	0.371	0.567* [#]	0.439	0.368	0.368	0.393* [#]	0.389	・	・
脳比重量	0.789	0.494	0.810	0.538	1.098* [#]	0.552	0.783 [†]	0.524	0.713 [†]	0.504	・	・
腎臓（右） 絶対重量	1.673	1.039	1.685	1.044	2.438	1.133	1.832	1.034	1.535 [†]	1.031	・	・
体重比重量	0.326	0.399	0.320	0.363	0.604* [#]	0.452 [#]	0.363 [†]	0.375 [†]	0.406* [#]	0.410	・	・
脳比重量	0.770	0.511	0.797	0.527	1.169	0.568	0.769	0.534	0.737	0.530	・	・
精巣（左） 絶対重量	1.703	・	1.774	・	0.469* [#]	・	0.852* ^{#†}	・	0.564* [#]	・	・	・
体重比重量	0.334	・	0.340	・	0.116* [#]	・	0.169* [#]	・	0.149* [#]	・	・	・
精巣（右） 絶対重量	1.710	・	1.769	・	0.460* [#]	・	0.883* ^{#†}	・	0.555* [#]	・	・	・
体重比重量	0.335	・	0.338	・	0.114* [#]	・	0.174* ^{#†}	・	0.147* [#]	・	・	・

・：該当せず *^{#†}：p<0.05（Games-Howell Modified Tukey-Kramer test, * 生理食塩液群との比較, # SPL 群との比較, † 塩酸ドキシソルピシン群との比較）

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

b)：毒性が強く認められたため、投与は8回で中止し、状態悪化の雄7例と雌1例を試験22～24日に剖検した。残りのうち、雄4例を試験28日、雌6例を試験27日に、雄4例を試験68日、雌7例を試験67日にそれぞれ剖検した

c)：各群10例は試験40日に剖検(投与期間終了時)、残りは休薬し、試験67日に各群雌5例(1.0 mg/kg 群は4例)、試験68日に各群雄5例を剖検した

d)：絶対重量=g, 体重比重量, 脳比重量=%

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験

試験番号：LTI-30-93-08（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液		SPL (Lot E)		塩酸ドキシソルピシン		JNS002 (Lot D)					
投与量 (mg/kg) ^{a)}	0		0		1.0		0.25		1.0		1.5 ^{b)}	
動物数 ^{c)}	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
剖検												
検査例数 40 日	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：0	雌：0
胸腺：小型化	0	0	0	0	5	3	0	0	9	4	・	・
精巣：小型化	0	・	0	・	5	・	0	・	7	・	・	・
検査例数 雄 68 日/雌 67 日	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：3	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：4	雄：0	雌：0
胸腺：小型化	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	・	・
精巣：小型化	0	・	0	・	3	・	4	・	5	・	・	・
病理組織学的検査												
検査例数 40 日	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：0	雌：0
胸腺：リンパ球枯渇	0	0	0	0	8	8	0	0	10	5	・	・
心臓：変性／壊死	0	0	2	1	0	0	0	1	0	0	・	・
骨髄：細胞減少（胸骨）	0	0	0	1	10	9	4	2	8	10	・	・
（大腿骨）	0	0	0	2	10	10	0	3	10	8	・	・
（脊椎椎骨）	0	0	0	0	10	8	0	3	10	6	・	・
腎臓：慢性進行性腎症	1	0	0	0	8	3	0	0	0	0	・	・
精巣：精子数減少	0	・	0	・	0	・	0	・	1	・	・	・
皮膚：潰瘍	1	0	0	0	0	0	2 ^{d)}	NE	8	6	・	・
炎症（急性）	1	0	0	0	0	0	2 ^{d)}	NE	8	7	・	・
（慢性）	0	0	0	0	0	0	0 ^{d)}	NE	0	1	・	・

・：該当せず NE：検査せず

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

b)：毒性が強く認められたため、投与は8回で中止し、状態悪化の雄7例と雌1例を試験22～24日に剖検した。残りのうち、雄4例を試験28日、雌6例を試験27日に、雄4例を試験68日、雌7例を試験67日にそれぞれ剖検した

c)：各群10例は試験40日に剖検(投与期間終了時)、残りは休薬し、試験67日に各群雌5例(1.0 mg/kg 群は4例)、試験68日に各群雄5例を剖検した

d)：検査例数2例

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.7 A 反復投与毒性試験

試験番号：LTI-30-93-08（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液		SPL (Lot E)		塩酸ドキシソルピシン		JNS002 (Lot D)					
投与量 (mg/kg) ^{a)}	0		0		1.0		0.25		1.0		1.5 ^{b)}	
動物数 ^{c)}	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15	雄：15	雌：15
病理組織学的検査												
検査例数 雄 68 日/雌 67 日	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：3	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：4	雄：0	雌：0
胸腺：リンパ球枯渇	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	・	・
心臓：変性／壊死	2	0	1	0	3	3	2	0	3	1	・	・
左心房筋の空胞化／変性	0	0	0	2	3	2	0	1	0	0	・	・
右心房筋の空胞化／変性	0	0	0	1	3	2	2	1	1	1	・	・
骨髄：細胞減少（大腿骨）	0	0	0	0	2	3	0	1	2	2	・	・
脊髄：軸索変性	0	0	0	0	3	3	0	0	2	0	・	・
坐骨神経：軸索変性	0	0	0	0	2	0	0	0	4	0	・	・
腎臓：慢性進行性腎症	1	0	1	1	3	4	1	0	2	0	・	・
精巣：精子数減少	0	・	0	・	3	・	5	・	5	・	・	・
精巣上体：精子数減少	0	・	0	・	3	・	5	・	5	・	・	・

・：該当せず

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

＊新薬承認情報提供時に置き換え

b)：毒性が強く認められたため、投与は8回で中止し、状態悪化の雄7例と雌1例を試験22～24日に剖検した。残りのうち、雄4例を試験28日、雌6例を試験27日に、雄4例を試験68日、雌7例を試験67日にそれぞれ剖検した

c)：各群10例は試験40日に剖検(投与期間終了時)、残りは休薬し、試験67日に各群雌5例(1.0 mg/kg 群は4例)、試験68日に各群雄5例を剖検した

2.6.7.7 B 反復投与毒性試験 —重要な試験—

報告書の題名：ビーグル犬を用いた JNS002 の反復静脈内投与毒性試験
動物種/系統： イヌ/ビーグル
試験開始月齢：7 ヲ月齡
初回投与年月：1993 年 3 月
特記事項： なし
無毒性量： 0.25 mg/kg

投与期間：10 回（1 回/3 週）
休薬期間：33～35 日間
投与方法：静脈内
溶媒/投与形態：生理食塩液/水溶液

被験物質：SLD
試験番号：LTI-30-94-07
CTD における記載箇所：4.2.3.2.7
GLP 適用： 適

被験物質	生理食塩液		SPL (Lot E)		塩酸ドキシソルピシン		JNS002 (Lot D)					
投与量 (mg/kg) ^{a)}	0		0		1.0		0.25		0.75		1.0	
動物数 ^{b)}	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6
死亡例及び切迫屠殺例数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態（発現例数）												
粘膜の蒼白化	0	0	6	4	2	2	6	6	0	3	4	4
皮膚：発赤	0	0	2	3	6	6	6	6	0	0	2	0
脱毛	0	0	0	0	0	0	0	1	6	6	6	6
障害	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6	6	6
色素沈着	0	0	0	0	0	0	2	0	6	6	6	6
嘔吐	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0
活動性亢進/低下	0	0	1	3	0	1	1	0	0	0	0	0
嗜眠	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
流涎	0	0	2	2	0	0	2	0	1	0	0	0
体重 (kg) 190 日	10.9	9.8	11.5	9.4	11.1	9.3	12.1	8.9	10.5	8.2*	10.3	8.5
218 日	11.1	9.1	10.4	8.9	11.3	8.5	12.4	8.9	10.9	9.2	10.7	8.9
体重増加量 (kg) 190 日	1.363	1.782	2.138*	1.579	1.702	1.423	2.570	0.921	1.092	0.472*	0.795	0.678*
218 日	1.543	0.933	1.377	1.372	3.515	0.960	2.612	1.092	1.262	1.304	1.548	0.877
摂餌量 (g/日) 189 日	365	365	388	379	389	296	345	246	298	212*	331	299
217 日	298	204	163	158	206	140	216	108	92	46	170	113
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
心電図	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
身体検査 ^{c)}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし *：p ≤ 0.05（Dunnett’s t-test）

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

b)：各群雌雄 4 例を試験 197 及び 198 日（投与期間終了時）に剖検，残りの各群雌雄 2 例は休薬して試験 223～225 日（休薬期間終了時）に剖検した

c)：直腸温，心拍数及び呼吸数

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.7 B 反復投与毒性試験

試験番号：LTI-30-94-07（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液		SPL (Lot E)		塩酸ドキシソルピシン		JNS002 (Lot D)					
投与量 (mg/kg) ^{a)}	0		0		1.0		0.25		0.75		1.0	
動物数 ^{b)}	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6
血液学的検査												
リンパ球数 (/μL)												
8 日	3057	2529	3394	3033	2399 [#]	2395	2579	2760	2542	1874 [#]	2094 ^{+#}	1656 [#]
29 日	3468	2756	3625	3913 ⁺	2223 ^{+#}	2689 [#]	3203 ⁺	3275	2799	2610 [#]	2021 ^{+#}	2359 [#]
92 日	3199	3038	3593	3934	2414 [#]	1932 ^{+#}	3088	3544 ⁺	3446	2264 [#]	1848 ^{+#}	1831 ^{+#}
223-225 日	3561	2072	2709	3283	1866	2592	3739	2358	2224	2069	3055	1737
血液生化学的検査												
尿検査												
剖検												
検査例数 投与期間終了時	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4
皮膚：脱毛	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4
紅斑	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4
潰瘍	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	4	4
検査例数 休薬期間終了時	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2
皮膚：脱毛	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2
紅斑	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2
潰瘍	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
器官重量 投与期間終了時												
精巣 絶対重量 (g)	14.66	・	16.10	・	6.69*	・	7.33*	・	6.65*	・	5.13*	・
体重比重量 (g/100g)	0.137	・	0.140	・	0.063*	・	0.063*	・	0.066*	・	0.052*	・
副腎 絶対重量 (g)	1.39	1.55	1.65	1.44	1.42	1.23	1.55	1.35	1.45	1.22	1.70	1.53
体重比重量 (g/100g)	0.0130	0.0162	0.0143	0.0165	0.0134	0.0132	0.0133	0.0152	0.0143	0.0156	0.0173*	0.0188

—：特記すべき所見なし ・：該当せず

：p ≤ 0.05 (Dunnett's t-test) ⁺⁺：p ≤ 0.05 (Duncan's New Multiple Range Test, ⁺ 生理食塩液群との比較, [#] SPL 群との比較, [†] 塩酸ドキシソルピシン群との比較)

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

b)：各群雌雄 4 例を試験 197 及び 198 日（投与期間終了時）に剖検，残りの各群雌雄 2 例は休薬して試験 223～225 日（休薬期間終了時）に剖検した

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.7 B 反復投与毒性試験

試験番号：LTI-30-94-07（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液		SPL (Lot E)		塩酸ドキシソルピシン		JNS002 (Lot D)					
投与量 (mg/kg) ^{a)}	0		0		1.0		0.25		0.75		1.0	
動物数 ^{b)}	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6	雄：6	雌：6
器官重量 休薬期間終了時												
精巣 絶対重量 (g)	14.76	・	14.12	・	5.59	・	6.62	・	5.95	・	5.62	・
体重比重量 (g/100g)	0.136	・	0.140	・	0.053*	・	0.055*	・	0.058*	・	0.057*	・
副腎 絶対重量 (g)	1.35	1.29	1.39	1.16*	1.02	1.14	1.32	1.26	1.54	1.76*	1.27	1.32
体重比重量 (g/100g)	0.0123	0.0144	0.0138	0.0138	0.0096	0.0138	0.0110	0.0148	0.0150	0.0216	0.0129	0.0154
病理組織学的検査												
検査例数 投与期間終了時	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4
骨髄(大腿骨)：細胞減少	0	0	0	0	1	2	NE	NE	NE	NE	0	0
心臓：空胞変性	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0	0	0
皮膚：毛包の変性/萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4	4	4
不全角化	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	4	3
棘細胞離開	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	4	3
慢性活動性炎症	0	0	2	2	0	0	0	0	3	1	4	3
精巣：精細管変性	0	・	0	・	4	・	4	・	4	・	4	・
精巣上体：精子未形成	0	・	0	・	4	・	4	・	4	・	4	・
検査例数 休薬期間終了時	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2
心臓：空胞変性	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0
皮膚：毛包の変性/萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2
不全角化	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2
棘細胞離開	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	2
慢性活動性炎症	0	0	0	2	1	0	0	0	1	2	2	2
精巣：精細管変性	0	・	0	・	2	・	2	・	2	・	2	・
精巣上体：精子未形成	0	・	0	・	2	・	2	・	2	・	2	・

・：該当せず NE：検査せず

*：p ≤ 0.05 (Dunnett's t-test)

*新薬承認情報提供時に置き換え

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

b)：各群雌雄4例を試験197及び198日（投与期間終了時）に剖検，残りの各群雌雄2例は休薬して試験223～225日（休薬期間終了時）に剖検した

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

該当資料なし

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

該当資料なし

2.6.7.10 がん原性試験

該当資料なし

2.6.7.11 生殖発生毒性試験 —重要な試験以外の試験—

該当資料なし

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

該当資料なし

2.6.7.13 A 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験

報告書の題名：妊娠ラットにおける静脈内投与による JNS002 の発生毒性試験（胚・胎児毒性及び催奇形性）

被験物質：SLD

動物種/系統：ラット/SD

投与期間：妊娠 6～15 日

試験番号：LTI-30-94-13

投与開始日齢：約 66 日

交尾成立日：妊娠 0 日

CTD における記載箇所：4.2.3.5.2.1

初回投与年月：1993 年 12 月

帝王切開日：妊娠 20 日

投与方法：静脈内

GLP 適用： 適

特記事項：なし

溶媒/投与形態：生理食塩液/水溶液

無毒性量：母動物（一般毒性）；0.1 mg/kg, 母動物（生殖機能）；0.5 mg/kg

胎児；0.5 mg/kg

被験物質	生理食塩液 ^{a)}	SPL (Lot E ^{a)})	JNS002(Lot F ^{a)})			塩酸ドキシソルピシン ^{b)}	
投与量 (mg/kg) ^{c)}	0	0	0.1	0.5	1.0	0.2	0.4
母動物							
評価母動物数	23	25	23	23	22	24	24
死亡例及び切迫屠殺例数	0	0	0	0	0	0	0
全吸収胚母動物数	0	0	0	0	1	0	0
一般状態	—	—	—	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—	—	—	—
体重増加量 (g)							
妊娠 6-16 日	69.3	66.4	67.0	55.6**	42.3**	57.0**	42.3**
妊娠 16-20 日	71.3	70.9	73.8	71.0	55.5**	70.8	70.3
摂餌量 (g/日)							
妊娠 6-16 日	25.4	25.2	24.8	23.6**	22.0**	23.6*	21.2**
妊娠 16-20 日	29.6	28.4	28.5	27.2**	25.9**	29.0	27.8
平均黄体数	19.0	18.6	19.3	19.9	17.5	18.3	18.0
平均着床数	16.8	16.3	16.4	16.6	15.0	15.8	15.0

—：特記すべき所見なし *：p≤0.05, **：p≤0.01 (Dunnett's Test, Dunn's Method of Multiple Comparisons 又は Fisher's Exact Test)

a)：投与は妊娠 6 日, 9 日, 12 日及び 15 日に行った

b)：投与は妊娠 6 から 15 日に連続して行った

c)：塩酸ドキシソルピシンとして

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.13 A 生殖発生毒性試験

試験番号：LTI-30-94-13（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液 ^{a)}	SPL (Lot E ^{a)}) ^{a)}	JNS002(Lot F ^{a)}) ^{a)}			塩酸ドキシソルピシン ^{b)}	
投与量 (mg/kg) ^{c)}	0	0	0.1	0.5	1.0	0.2	0.4
胎児							
評価母動物数	23	25	23	23	22	24	24
平均生存胎児数	15.7	15.6	16.0	15.7	12.6**	15.1	14.7
平均着床後死亡数 (%腹)	1.0 (6.2)	0.7 (4.2)	0.4 (3.1)	0.9 (5.5)	2.4* (15.4* ^{d)})	0.7 (4.3)	0.4 (2.3)
平均早期胚吸収数	1.0	0.7	0.4	0.9	2.0	0.7	0.3
平均後期胚吸収数	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.0
死亡胎児数	0	0	0	0	0	0	0
平均胎児体重 (g) 雄	3.84	3.90	3.80	3.77	3.56**	3.81	3.89
雌	3.63	3.68	3.63	3.55	3.34**	3.63	3.70
性比 (% 雄比率)	48.8	55.2	45.5	50.4	52.7	48.6	51.9
胎児形態検査							
評価母動物数	23	25	23	23	21	24	24
評価胎児数	362	391	368	361	277	363	352
形態変化発現胎児数 (%)	7 (1.9)	9 (2.3)	7 (1.9)	15 (4.2)	11 (4.0)	10 (2.8)	6 (1.7)
外表異常 胎児数 (%)							
外脳	0	0	0	1 (0.3) ^{e)}	0	0	0
眼球陥没	0	0	0	1 (0.3)	0	0	0
口蓋裂	0	0	0	1 (0.3) ^{e)}	1 (0.4)	0	0
全身浮腫	0	0	0	1 (0.3)	2 (0.7) ^{f)}	0	1 (0.3)
短軀	0	0	0	0	1 (0.4) ^{f)}	0	0
胃壁破裂	0	0	0	0	1 (0.4) ^{f)}	0	0
糸状尾	0	1 (0.2)	0	0	0	0	0
曲尾	0	0	0	0	1 (0.4)	0	0

* : p<0.05 ** : p<0.01 (Dunnett's Test, Dunn's Method of Multiple Comparisons 又は Fisher's Exact Test)

a) : 投与は妊娠 6 日, 9 日, 12 日及び 15 日に行った, b) : 投与は妊娠 6 から 15 日に連続して行った

c) : 塩酸ドキシソルピシンとして

d) : 全吸収胚母動物を除いた 21 例の母動物数の集計値

e) : 外脳及び口蓋裂の他に眼瞼開裂, 耳介低位置及び舌突出が複合して認められた

f) : 短軀及び全身浮腫の他に胃壁破裂が複合して認められた

※新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.13 A 生殖発生毒性試験

試験番号：LTI-30-94-13（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液 ^{a)}	SPL (Lot E ^{a)})	JNS002(Lot F ^{a)})			塩酸ドキシソルビシン ^{b)}	
投与量 (mg/kg) ^{c)}	0	0	0.1	0.5	1.0	0.2	0.4
内臓観察							
評価胎児数	177	190	180	175	131	177	172
内臓異常 胎児数 (%)							
小眼球	0	0	0	1 (0.6)	0	0	0
腎盂拡張	0	0	0	0	0	1 (0.6)	0
骨格観察							
評価胎児数	185	201	188	186	146	186	180
骨格異常 胎児数 (%)							
上顎骨の短小	0	0	0	1 (0.5) ^{d)}	0	0	0
腰椎，仙椎，尾椎数減少	0	1 (0.5)	0	0	0	0	0
骨格変異	—	—	—	—	—	—	—
骨化状態							
尾椎骨化数	5.00	5.10	5.01	5.09	4.61*	5.18	5.14
剣状突起数	1.00	1.00	1.00	1.00	0.97*	1.00	1.00

—：特記すべき所見なし *：p≤0.05（Dunn's Method of Multiple Comparisons 又は Fisher's Exact Test）

a)：投与は妊娠 6 日，9 日，12 日及び 15 日に行った

b)：投与は妊娠 6 から 15 日に連続して行った

c)：塩酸ドキシソルビシンとして

d)：上顎骨の短小の他に前頭骨，頭頂骨，頭頂間骨及び上後頭骨の未骨化，鼻骨及び右上顎骨の不完全骨化，鼓室輪閉鎖及び口蓋骨の不完全骨化がみられた（外脳等の外表異常児）

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.13 B 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験

報告書の題名：ウサギにおける静脈内投与による JNS002 の用量設定試験（胚・胎児毒性及び催奇形性）

被験物質：SLD

動物種/系統：ウサギ/NZW

投与期間：妊娠 6, 9, 12, 15 及び 18 日

試験番号：LTI-30-94-06

投与開始月齢：8 ヶ月齢

交尾成立日：妊娠 0 日

CTD における記載箇所：4.2.3.5.2.2

初回投与年月：1993 年 12 月

帝王切開日：妊娠 29 日

投与方法：静脈内

GLP 適用： 適

特記事項：なし

溶媒/投与形態：生理食塩液/水溶液

無毒性量：母動物；0.5 mg/kg 未満，胎児；評価不能

被験物質	生理食塩液	JNS002 (Lot F)		
投与量 (mg/kg) ^{a)}	0	0.5	1.5	2.5
母動物				
評価母動物数	5	5	5	5
死亡例及び切迫屠殺例数	0	0	1 ^{b)}	3 ^{c)}
流産例数	0	5 ^{d)}	0	0
一般状態				
ケージ皿に赤色分泌物	0	2	3	3
運動性の低下	0	0	0	1
正向反射の消失	0	0	0	1
無便	0	1	1	0
粘液便	0	0	1	0
剖検	—	—	—	—
体重 (kg) 妊娠 18 日	4.18	4.14	3.82	3.86
体重増加量 (kg) 妊娠 6-19 日	0.25	0.16	-0.06	-0.20
摂餌量 (g/日) 妊娠 6-19 日	175.1	158.2	153.2	126.8

—：特記すべき所見なし

*新薬承認情報提供時に置き換え

a)：塩酸ドキソルピシンとして

b)：妊娠 23 日死亡発見

c)：1 例は妊娠 19 日，2 例は妊娠 22 日に死亡発見

d)：妊娠 21, 23, 24, 25 及び 27 日に各 1 例流産

2.6.7.13 B 生殖発生毒性試験

試験番号：LTI-30-94-06（続き）

被験物質：SLD

被験物質	生理食塩液	JNS002（Lot F）		
投与量（mg/kg） ^{a)}	0	0.5	1.5	2.5
評価母動物数	5	0	4	2
平均黄体数	10.8	・	8.5	8.5
平均着床数	8.2	・	8.2	8.5
平均生存胎児数	8.0	・	0.0	0.0
死亡胎児数	0	・	0	0
平均吸収胚数	0.2	・	8.2	8.5
平均早期吸収胚数	0.0	・	8.2	8.5
平均後期吸収胚数	0.2	・	0.0	0.0
性比（%雄比率）	50.1	・	・	・
平均胎児体重（g） 雄	43.9	・	・	・
雌	43.0	・	・	・

・：該当せず

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

該当資料なし

2.6.7.15 局所刺激性試験

被験物質：SLD

動物種/系統	投与方法	被験物質	投与濃度 (mg/mL) ^{a)}	投与容量 (mL/投与)	性別及び 一群の 動物数	特記すべき所見	試験番号
ウサギ/NZW	静脈内	JNS002 (Lot D) 塩酸ドキシソルピシン SPL (Lot E) 生理食塩液	2.0 2.0 — —	0.1, 1.0	雄：12 ^{b)}	肉眼観察において腫脹は認められず、生理食塩液群を含む全群に投与部位で試験 2～4 日に極めて軽微な紅斑が認められた。病理組織学的検査では被験物質に起因する所見は認められなかった。	LTI-30-93-03
ウサギ/NZW	皮下	JNS002 (Lot D) 塩酸ドキシソルピシン SPL (Lot E) 生理食塩液	2.0 2.0 — —	0.1, 1.0	雄：12 ^{b)}	肉眼観察において JNS002 及び塩酸ドキシソルピシン投与部位に紅斑、腫脹及び痂皮形成が認められ、その程度は同一用量間で同等であった。病理組織学的検査において、JNS002 投与部位では試験 15 及び 29 日に浮腫、骨格筋変性、線維化及び慢性活動性炎症が認められたが、試験 29 日には回復傾向が認められた。塩酸ドキシソルピシン投与部位では、試験 15 及び 29 日に肉芽腫性炎症、鉍質沈着、骨格筋変性が JNS002 よりも重度かつ進行性に認められた。SPL 投与に起因する刺激性は認められなかった。	LTI-30-93-02

a)：塩酸ドキシソルピシンとして

b)：試験 2 日（投与後約 24 時間）、4 日（投与後約 72 時間）、15 及び 29 日に各 3 例を剖検

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.16 その他の毒性試験

2.6.7.16 A 抗原性試験

被験物質：SLD

動物種/系統	投与方法			投与期間	投与量 (mg/kg) ^{a)}	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	試験番号
モルモット/ Hartley	ASA	感作	皮下 ^{b)}	2 週間間隔で計 3 回	JNS002 ^{c)}	雄：5	ASA 試験において、0.8 mg/kg 静脈内感作群で ASA 様反応（搔鼻、立毛ないしは運動障害）が認められたが、陽性対照群と比較して軽微であり発現時間も遅いことから、免疫反応とは異なる作用機序の可能性も示唆された。皮下感作群では、ASA 反応はみられなかった。一方、PCA 試験では陽性反応は認められなかった。	77-49
			静脈内		0.16, 0.8			
	PCA	惹起	静脈内	最終感作 14 日後 （試験 42 日）	JNS002 ^{c)} 5			
		感作	皮内	ASA 試験の動物から最終感作 12 日後（試験 40 日）に採取した血清（段階希釈）				
		惹起	静脈内	感作の 4 時間後	JNS002 ^{c)} 5			
モルモット/ Hartley （追加試験）	ASA	感作	静脈内	2 週間間隔で計 3 回	JNS002 ^{c)} 0.8 ^{d)}	雄：5	各スケジュールにおいて ASA 反応はみられず、本試験条件下では抗原性は陰性と判断した。	77-21
		惹起	静脈内	最終感作 14 日後 （試験 42 日）	JNS002 ^{c)} 5 ^{e)}			

a)：塩酸ドキシソルピシンとして、b)：1 回目の感作は FCA、2 及び 3 回目は FIA を使用、c)：Lot 0217379、d)：SPL 投与群（JNS002 の 0.8 mg/kg に相当）も使用

e)：SPL 投与群（JNS002 の 5 mg/kg に相当）及び塩酸ドキシソルピシン群（5 mg/kg）も使用

2.6.7.16 B イヌを用いた 12 週間反復静脈内投与試験（皮膚障害及び骨髄毒性の発現機序に関する試験）

被験物質：SLD

動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg) ^{a)}	性別及び 一群の 動物数	特記すべき所見	試験番号
イヌ / ビーグル	静脈内 (5%デキストロース溶 液)	1 回/1 週 x 12 回 1 回/2 週 x 6 回 1 回/4 週 x 3 回	JNS002 (Lot J) 0 ^{b)} , 0.5 ^{c)} 0.5, 1.0 ^{c)} 0.5, 2.0 ^{d)}	雌雄：各 2	2.0/1.5 mg/kg 投与群の雌 1 例が消化管出血を示し試験 10 日に死亡，雄 2 例が状態悪化により試験 72 及び 77 日に切迫屠殺。これらは皮膚障害の結果生じた二次的なストレス又は栄養不良に起因したものと考えられる。 皮膚障害は全投与群で認められ，各投与回ともに投与後 7 から 10 日間は悪化し，その後回復性を示した。 骨髄抑制は全群ともに軽度であり，投与に起因する白血球減少は認められなかった。 1.0 及び 2.0/1.5 mg/kg 群ではヘモグロビン量とヘマトクリット値の軽度な減少が認められたが，試験終了時には試験前の値と同程度となった 以上の結果から，JNS002 投与時の皮膚障害は投与用量と投与間隔に依存することが示された。	LTI-30- 95-08

a)：塩酸ドキシソルビシンとして，b)：5%デキストロース溶液，c)：試験 6 週目に投与中止（実際の投与回数は予定投与回数の半分）

d)：死亡例発現のため 2 回目投与時から 1.5 mg/kg

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.16 C ウサギを用いた 33 週間反復静脈内投与試験（心毒性の発現機序に関する試験）

被験物質：SLD

動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg) ^{a)}	性別及び 一群の 動物数	特記すべき所見	試験番号
ウサギ/NZW	静脈内 (生理食塩液)	5 日ごとに 14 回あ るいは 21 回投与	JNS002 (Lot J) : 0, 1.0 塩酸ドキシソ ルビシン ^{b)} : 1.0	14 回投与群 雄: 15 ^{c)} 21 回投与群 雄: 10 ^{d)}	JNS002 群の 3 例と塩酸ドキシソルビシン群 の 5 例が心臓毒性により死亡した。更 に, JNS002 群の 6 例が皮膚障害に起因す る一般状態の悪化により, 死亡又は切迫 屠殺した。 心臓の病理組織学的検査結果から, 塩酸 ドキシソルビシンは JNS002 と比較して心臓 毒性 (心筋の空胞変性及び萎縮) がより 重篤であり発現頻度も高かった。	LTI-30- 94-28

a) : 塩酸ドキシソルビシンとして, 投与速度 : 2 mL/分, b) : 14 回投与群のみ, c) : 最終投与の 1, 5 及び 13 週後に各 5 例を剖検

d) : 最終投与の 13 週後に剖検

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17 その他の毒性試験（新添加物）

2.6.7.17.1 A 毒性試験

一覧表

被験物質：SPL

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量 ^{a)}	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
遺伝毒性試験	<i>S. typhimurium</i> （復帰突然変異 試験）	<i>In vitro</i>	—	13.7, 27.2, 41.0, 137, 273, 410 µg/plate ^{b)}	適	■■■■■	LTI-30-93- 19	4.2.3.7.7.3.1
	L5178Y TK ^{+/+} 細胞 （マウスリンフ ォーマ試験）	<i>In vitro</i>	—	1.28, 2.56, 5.13, 10.3, 20.5, 41.0 µg/mL	適	■■■■■	LTI-30-93- 20	4.2.3.7.7.3.2
	CHO 細胞 （染色体異常試 験）	<i>In vitro</i>	—	10.3, 20.5, 30.8, 41.0 µg/mL	適	■■■■■	LTI-30-93- 21	4.2.3.7.7.3.3
	マウス/ICR （小核試験）	静脈内	単回	2.05, 4.10, 8.20 mg/kg	適	■■■■■	LTI-30-93- 18	4.2.3.7.7.3.4

a)：脂質中のリン量として

b)：Doxil-2 における SPL（■■■■■としてヒスチジンの代わりに■■■■■を使用）

被験物質：MPEG-DSPE, HSPC, 硫酸アンモニウム

試験の種類	動物種/系統	被験物質	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所
単回投与毒性試験	マウス/ICR	MPEG-DSPE	静脈内	単回	14, 284	非適	Liposome Technology, Inc.	LTI-30-93-29	4.2.3.7.7.1.1
	ラット/SD	MPEG-DSPE	静脈内	単回	0, 250, 500, 1000	適	██████████	████050148	4.2.3.7.7.1.2
	ラット/WU	HSPC	静脈内	単回	2000	適	██████████	10-04-1156/00-94	4.2.3.7.7.1.3
	ラット/SD	HSPC	静脈内	単回	0, 67.2, 201.6, 672	適	██████████	████041502	4.2.3.7.7.1.4
	ラット/SD	硫酸アンモニウム	静脈内	単回	0, 30, 100, 300	適	██████████	████041496	4.2.3.7.7.1.5
反復投与毒性試験	ラット/SD	MPEG-DSPE	静脈内	2週間	0, 100, 300, 500	適	██████████	████050149	4.2.3.7.7.2.1
	ラット/SD	HSPC	静脈内	2週間	0, 33.6, 100.8, 336	適	██████████	████041503	4.2.3.7.7.2.2
遺伝毒性試験	<i>S. typhimurium</i> 及び <i>E. coli</i> (復帰突然変異試験)	MPEG-DSPE	<i>in vitro</i>	—	0～5000 µg/plate	適	██████████	████050150	4.2.3.7.7.3.5
	CHL/IU 細胞 (染色体異常試験)	MPEG-DSPE	<i>in vitro</i>	—	0～2500 µg/mL	適	██████████	████050151	4.2.3.7.7.3.6

2.6.7.17.5 単回投与毒性試験

被験物質：MPEG-DSPE, HSPC, 硫酸アンモニウム

動物種/ 系統	被験物質	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与量 (mg/kg)	性別及び 一群の動物数	最大 非致死量 (mg/kg)	概略の 致死量 (mg/kg)	特記すべき所見 (mg/kg)	試験番号
マウス /ICR	MPEG-DSPE	静脈内 (生理食 塩液によりミセ ル化)	14, 284	雄：3	284	>284	特記すべき所見なし	LTI-30-93- 29
ラット /SD	MPEG-DSPE	静脈内 (生理食 塩液によりミセ ル化)	0, 250, 500, 1000	雌雄：各 5	500	1000	1000：雄 3 例, 雌 2 例で不整呼吸, 活 動性低下, 歩行異常が認められ, 雄 1 例, 雌 2 例が腹臥位, チアノーゼを示 した後, 投与後 1 時間以内に死亡。剖 検において肺水腫。雄の生存例では投 与翌日には回復。雌生存例では異常認 められず。雌雄生存例で, 投与翌日に 体重減少又は増加抑制 500 以下：特記すべき所見なし	050148
ラット /WU	HSPC	静脈内 (生理食 塩液に分散)	2000 ^{a)}	雌雄：各 5	2000	>2000	2000：体重増加抑制	10-04- 1156/ 00- 94
ラット /SD	HSPC	静脈内 (リポソ ーム溶液)	0, 67.2, 201.6, 672	雌雄：各 5	672	>672	特記すべき所見なし	041502
ラット /SD	硫酸アンモ ニウム	静脈内 (注射用 水)	0, 30, 100, 300	雌雄：各 5	100	300	300：全例で投与直後より腹臥位, 活動 性低下及び呼吸緩徐が認められ, 投与 15 分後に雌雄各 1 例が死亡。死亡例の 剖検で気管内に泡沫状液体の貯留。生 存例は投与 1 時間後には症状消失。 100 以下：特記すべき所見なし	041496

a)：1 日 2 回投与 (午前及び午後に各 1000 mg/kg)

2.6.7.17.6 反復投与毒性試験 ー重要な試験以外の試験ー

被験物質：MPEG-DSPE, HSPC

動物種/ 系統	被験物質	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与 期間	投与量 (mg/kg/日)	性別及び 一群の動物数	無毒性量 (mg/kg/日)	特記すべき所見 (mg/kg/日)	試験番号
ラット /SD	MPEG-DSPE	静脈内（生理 食塩液により ミセル化）	2週間	0, 100, 300, 500	雌雄：各 10	100	100 以上：総コレステロール，リン脂質，トリグリセライド（100 は雄のみ）の増加，脾臓の髄外造血，下顎リンパ節・精巣上体の空胞化単核細胞浸潤 300 以上：赤血球数・ヘモグロビン量・ヘマトクリット値及び単球比の減少，MCV・MCH 及び網状赤血球数の増加，PT 低値，クレアチニン・ $\alpha 2$ 及び γ グロブリンの増加，ナトリウム及び塩素の減少（300 は雄のみ），肝臓・脾臓重量の増加，腸間膜リンパ節・大腿骨骨髓・肝臓・脾臓・精巣・卵巣・子宮・膣・下垂体の空胞化単核細胞浸潤 500：雄；アルブミン，カルシウム及び無機リンの減少，下垂体重量減少，副腎重量増加，肺の限局性褪色，出血及び肺胞壁の限局性肥厚，肺及び腎臓の空胞化単核細胞浸潤 雌雄；異形リンパ球比の増加，APTT 延長，A/G 比及びカリウムの減少，胸腺の空胞化単核細胞浸潤，副腎皮質細胞の肥大	050149
ラット /SD	HSPC	静脈内（リポ ソーム溶液）	2週間	0, 33.6, 100.8, 336	雌雄：各 10	33.6	100.8 以上：総コレステロール及びリン脂質の増加，肝類洞・腎糸球体・赤脾髄及び舌粘膜固有層への泡沫細胞集積，肝臓重量の増加 336：副腎皮質の類洞・精巣上体の間質及び回腸の粘膜固有層への泡沫細胞集積，脾臓重量の増加	041503

2.6.7.17.8 A *In Vitro* 遺伝毒性試験

報告書の題名：STEALTH® プラセボリポソーム（SPL）のサルモネラ菌を用いた復帰突然変異試験(Ames Test)

被験物質：SPL

試験の種類：細菌を用いる復帰突然変異試験

独立して実施した試験数：2

試験番号：LTI-30-93-19

菌株：Salmonella typhimurium

プレート数：3

CTD における記載箇所：4.2.3.7.7.3.1

代謝活性化系：Aroclor1254 誘導したラット肝 S9, 10%

分析細胞数/培養：－

溶媒：被験物質；生理食塩液 陽性対照；不明

GLP 適用： 適

処理：プレート法で 48 時間±8 時間

処理年月：1993 年 6, 7 月

細胞毒性：陰性

遺伝毒性：陰性

53

代謝活性化	被験物質	用量段階 ^{a)} (μg/plate)	Assay 1 復帰コロニー数（平均±標準偏差）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA1538
代謝活性化 なし	生理食塩液	1.0 mL/plate	15 ± 3	85 ± 10	10 ± 3	5 ± 1	9 ± 2
	SPL ^{b)} (Lot K)	13.7	15 ± 5	96 ± 10	13 ± 3	7 ± 4	15 ± 3
		27.2	13 ± 5	84 ± 11	13 ± 2	5 ± 1	17 ± 4
		41.0	16 ± 4	86 ± 18	14 ± 6	5 ± 4	12 ± 0
		137	15 ± 3	93 ± 5	10 ± 6	7 ± 2	13 ± 3
		273	13 ± 6	92 ± 12	11 ± 4	6 ± 4	16 ± 5
		410	16 ± 3	88 ± 6	12 ± 2	6 ± 2	13 ± 1
	2-ニトロフルオレン	1.0	185 ± 26	NA	NA	NA	320 ± 34
	アジ化ナトリウム	2.0	NA	563 ± 11	467 ± 44	NA	NA
	ICR-191	2.0	NA	NA	NA	411 ± 32	NA
代謝活性化 あり	生理食塩液	1.0 mL/plate	31 ± 10	123 ± 5	13 ± 4	10 ± 3	25 ± 7
	SPL ^{b)} (Lot K)	13.7	26 ± 7	126 ± 6	15 ± 4	10 ± 1	16 ± 6
		27.2	31 ± 4	126 ± 16	12 ± 1	11 ± 3	17 ± 8
		41.0	28 ± 7	121 ± 10	12 ± 5	9 ± 2	18 ± 2
		137	31 ± 2	115 ± 16	14 ± 1	10 ± 3	21 ± 1
		273	22 ± 3	109 ± 9	9 ± 3	9 ± 4	27 ± 11
		410	27 ± 2	118 ± 9	13 ± 2	8 ± 6	23 ± 5
	2-AA	2.5	610 ± 32	960 ± 41	216 ± 54	180 ± 14	1053 ± 64

NA：適用なし

＊新薬承認情報提供時に置き換え

a)：SPL の用量は脂質中のリン量を記載した

b)：Doxil-2 における SPL ()としてヒスチジンの代わりに()を使用)

2.6.7.17.8 A *In Vitro* 遺伝毒性試験

試験番号：LTI-30-93-19（続き）

代謝活性化	被験物質	用量段階 ^{a)} (μg/plate)	Assay 2 復帰コロニー数（平均±標準偏差）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA1538
代謝活性化 なし	生理食塩液	1.0 mL/plate	11 ± 3	76 ± 3	11 ± 1	6 ± 3	7 ± 2
	SPL ^{b)} (Lot K)	13.7	13 ± 4	77 ± 9	9 ± 3	7 ± 2	12 ± 1
		27.2	18 ± 4	87 ± 9	8 ± 3	5 ± 2	10 ± 1
		41.0	14 ± 2	79 ± 6	9 ± 3	5 ± 2	6 ± 2
		137	19 ± 7	85 ± 8	10 ± 4	7 ± 3	9 ± 1
		273	16 ± 6	89 ± 11	11 ± 2	7 ± 4	8 ± 3
		410	18 ± 4	90 ± 6	10 ± 5	7 ± 2	9 ± 5
	2-ニトロフルオレン	1.0	216 ± 13	NA	NA	NA	273 ± 6
	アジ化ナトリウム	2.0	NA	595 ± 36	430 ± 22	NA	NA
代謝活性化 あり	ICR-191	2.0	NA	NA	NA	542 ± 104	NA
	生理食塩液	1.0 mL/plate	22 ± 7	130 ± 23	11 ± 5	9 ± 6	14 ± 1
	SPL ^{b)} (Lot K)	13.7	18 ± 1	126 ± 2	11 ± 4	5 ± 2	20 ± 6
		27.2	19 ± 7	123 ± 8	12 ± 4	9 ± 5	12 ± 2
		41.0	19 ± 2	117 ± 18	10 ± 2	6 ± 3	17 ± 3
		137	20 ± 10	113 ± 13	14 ± 2	9 ± 2	14 ± 4
		273	19 ± 7	109 ± 10	11 ± 2	8 ± 3	21 ± 5
		410	15 ± 7	103 ± 14	7 ± 4	5 ± 2	18 ± 2
	2-AA	2.5	1208 ± 73	1310 ± 70	140 ± 9	211 ± 12	1310 ± 107

NA：適用なし

a)：SPL の用量は脂質中のリン量を記載した

b)：Doxil-2 における SPL ()としてヒスチジンの代わりに()を使用)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17.8 B *In Vitro* 遺伝毒性試験

報告書の題名：STEALTH® プラセボリポソーム（SPL）の L5178Y(TK^{+/+})を用いたマウスリンフォーマ試験

被験物質：SPL

試験の種類：マウスリンフォーマ TK 試験

独立して実施した試験数：2

試験番号：LTI-30-93-20

細胞：マウスリンフォーマ L5178Y(TK^{+/+})細胞

試験管数：1

CTD における記載箇所：4.2.3.7.7.3.2

代謝活性化系：Aroclor1254 誘導したラット肝 S9, 2%

分析細胞数/培養：－

溶媒：生理食塩液

GLP 適用： 適

処理：4 時間

処理年月：1993 年 6 月

細胞毒性：陰性

遺伝毒性：陰性

代謝活性化	被験物質	用量段階 ^{b)} (μg/mL)	Assay 1		Assay 2	
			相対増殖率(%) ^{c)}	変異体出現頻度 ($\times 10^{-6}$) ^{d)}	相対増殖率(%) ^{c)}	変異体出現頻度 ($\times 10^{-6}$) ^{d)}
代謝活性化なし	生理食塩液 (対照)	100 μL/mL	100.0	39.8	100.0	36.8
			100.0	42.6	100.0	30.4
			100.0	36.3	100.0	42.6
	■ ^{a)}	100 μL/mL	101.9	46.3	95.4	46.5
	MMS	12.9 ng/mL	24.5	413.8 ^{e)}	11.0	856.8 ^{e)}
		19.4 ng/mL	23.6	606.5 ^{e)}	3.2	1076.7 ^{e)}
	SPL (Lot L-)	1.28	94.9	38.7	91.4	43.9
		2.56	92.0	47.4	105.3	30.6
		5.13	94.6	49.4	77.3	39.4
		10.3	115.6	45.0	78.8	26.3
		20.5	76.1	43.0	77.7	42.9
		41.0	100.0	49.3	97.4	40.6

a)：SPL に使われている ■ (ヒスチジン/スクロース溶液)

b)：SPL の用量は脂質中のリン量を記載した

c)：相対浮遊細胞増殖率×相対コロニー形成率/100

d)：総変異コロニー数/総生存コロニー数 $\times 2 \times 10^{-4}$

e)：変異陽性 (Assay 1： $>79.1 \times 10^{-6}$, Assay2： $>73.2 \times 10^{-6}$)

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17.8 B In Vitro 遺伝毒性試験

試験番号：LTI-30-93-20（続き）

代謝活性化	被験物質	用量段階 ^{b)} (μg/mL)	Assay 1		Assay 2	
			相対増殖率(%) ^{c)}	変異体出現頻度 (×10 ⁻⁶) ^{d)}	相対増殖率(%) ^{c)}	変異体出現頻度 (×10 ⁻⁶) ^{d)}
代謝活性化あり	生理食塩液 (対照)	100 μL/mL	100.0	68.3	100.0	98.9
			100.0	52.5	100.0	100.6
			100.0	58.6	100.0	76.0
	■ ^{a)}	100 μL/mL	87.4	50.9	135.5	73.2
	MCA	2	58.6	348.3 ^{e)}	79.1	261.1 ^{e)}
		4	NA	NA	13.0	371.2 ^{e)}
	SPL (Lot L)	1.28	91.9	55.9	131.4	62.4
		2.56	58.7	50.3	99.0	80.6
		5.13	116.5	60.1	96.5	99.7
		10.3	89.9	70.0	65.7	118.3
		20.5	52.8	63.8	81.8	109.6
		41.0	90.4	64.0	93.4	98.9

NA：適用なし

a)：SPL に使われている■（ヒスチジン/スクロース溶液）

b)：SPL の用量は脂質中のリン量を記載した

c)：相対浮遊細胞増殖率×相対コロニー形成率/100

d)：総変異コロニー数/総生存コロニー数×2×10⁻⁴

e)：変異陽性（Assay1：>119.6×10⁻⁶，Assay2：>183.7×10⁻⁶）

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17.8 C *In Vitro* 遺伝毒性試験

報告書の題名：STEALTH® プラセボリポソーム（SPL）の CHO 細胞を用いた染色体異常試験

被験物質：SPL

試験の種類：染色体異常試験

独立して実施した試験数：2

試験番号：LTI-30-93-21

細胞：チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO 細胞）

プレート数：2（陽性対照は 1）

CTD における記載箇所：4.2.3.7.7.3.3

代謝活性化系：Aroclor1254 誘導したラット肝 S9, 1.5%

分析細胞数/培養：100（陽性対照は 25）

溶媒：被験物質：生理食塩液 陽性対照：蒸留水

GLP 適用： 適

処理：代謝活性化なし；17 時間処理+3 時間回復(Assay 1)及び 41 時間処理+3 時間回復(Assay 2)

処理年月：1993 年 6 月

代謝活性化あり；3 時間処理+17 時間回復(Assay 1)及び 3 時間処理+41 時間回復(Assay 2)

細胞毒性：陰性

遺伝毒性：陰性

代謝活性化	被験物質	用量段階 ^{b)} (µg/mL)	細胞当たりの異常数		異常を有する細胞の出現頻度(%)		複数の異常を有する細胞の出現頻度(%)		倍数体の出現頻度(%)
			Assay 1	Assay 2	Assay 1	Assay 2	Assay 1	Assay 2	Assay 2
代謝活性化なし	無処置	—	0.00	0.01	0.0	0.5	0.0	0.0	3.5
	■■■■ ^{a)}	100 µL/mL	0.01	0.00	1.0	0.0	0.0	0.0	4.5
	SPL (Lot L■■■)	10.3	0.01	0.02	0.5	1.5	0.0	0.0	4.0
		20.5	0.02	0.01	1.5	0.5	0.0	0.0	4.0
		30.8	0.00	0.01	0.0	0.5	0.0	0.0	4.0
		41.0	0.02	0.01	1.5	1.0	0.0	0.0	5.0
	MMC	0.040	0.92	NA	56.0*	NA	20.0*	NA	NA
代謝活性化あり	無処置	—	0.03	0.01	1.5	1.0	1.0	0.0	3.0
	■■■■ ^{a)}	100 µL/mL	0.01	0.02	1.0	2.0	0.0	0.0	5.0
	SPL (Lot L■■■)	10.3	0.01	0.01	0.5	1.0	0.0	0.0	3.0
		20.5	0.00	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	3.5
		30.8	0.00	0.00	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0
		41.0	0.01	0.01	1.0	0.5	0.0	0.0	7.0
	CP	10.0	1.28	NA	52.0*	NA	48.0*	NA	NA

NA：適用なし

*：p<0.01 (Fisher's Exact Test)

a)：SPL に使われている■■■■（ヒスチジン/スクロース溶液）

b)：SPL の用量は脂質中のリン量を記載した

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.17.8 D In Vitro 遺伝毒性試験

報告書の題名：Methoxy-polyethylene glycol distearoyl phosphatidyl ethanolamine (MPEG-DSPE)の細菌を用いる復帰突然変異試験 被験物質：MPEG-DSPE

試験の種類：細菌を用いる復帰突然変異試験

菌株：Salmonella typhimurium 及び Escherichia coli

代謝活性化系：フェノバルビタール及び 5, 6-ベンゾフラボンで誘導したラット肝 S9, 10%

溶媒：被験物質；生理食塩液

処理：プレインキュベーション法で 48 時間

細胞毒性：陰性

遺伝毒性：陰性

独立して実施した試験数：1 回

プレート数：2

分析細胞数/培養：－

試験番号：B050150

CTD における記載箇所：4.2.3.7.7.3.5

GLP 適用： 適

処理年月： 2005 年 10 月

陽性対照；アジ化ナトリウムは注射用水，その他は DMSO

58

代謝活性化	被験物質	用量 (μg/plate)	Assay 1 復帰変異コロニー数 (平均値)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
代謝活性化なし	陰性対照 (生理食塩液)	0.1 mL/plate	118	12	39	20	13
	MPEG-DSPE	156	115	11	43	20	13
		313	121	14	38	20	12
		625	114	13	40	18	13
		1250	102	12	40	23	13
		2500	114	11	39	18	15
		5000	109	13	41	19	14
	AF-2	0.01	668	ND	228	ND	ND
		0.1	ND	ND	ND	753	ND
	アジ化ナトリウム	0.5	ND	474	ND	ND	ND
代謝活性化あり	9-AA	80	ND	ND	ND	ND	238
	陰性対照 (生理食塩液)	0.1 mL/plate	125	14	42	29	19
	MPEG-DSPE	156	110	14	44	27	17
		313	119	12	48	31	16
		625	114	12	43	26	18
		1250	124	13	45	25	19
		2500	119	12	47	28	21
		5000	105	12	47	27	17
	2-AA	0.5	ND	ND	ND	461	ND
		1	1339	ND	ND	ND	ND
		2	ND	241	ND	ND	198
		10	ND	ND	1342	ND	ND

ND：実施せず

2.6.7.17.8 E *In Vitro* 遺伝毒性試験

報告書の題名：Methoxy-polyethylene glycol distearoyl phosphatidyl ethanolamine (MPEG-DSPE)のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

被験物質：MPEG-DSPE

試験の種類：染色体異常試験

独立して実施した試験数：1回

試験番号：B050151

細胞：CHL/IU 細胞

プレート数：2

CTDにおける記載箇所：4.2.3.7.7.3.6

代謝活性化系：フェノバルビタール及び5, 6-ベンゾフラボンで誘導したラット肝 S9, 30%

分析細胞数/培養：100

GLP適用：適

溶媒：被験物質；生理食塩液 陽性対照 MMC；注射用水（溶解）及び生理食塩液（希釈），BP；DMSO

初回処理年月：2005 年 9 月

培養時間：表中に記載 処理：表中に記載

細胞毒性：陰性

遺伝毒性：陰性

59

代謝活性化	被験物質	用量 ($\mu\text{g/mL}$)	分析細胞数	分裂指数 (%)	異常を有する細胞数（200細胞中）		ギャップ数 (200細胞中)
					構造異常	数的異常	
代謝活性化なし (6時間曝露/18時間培養)	陰性対照（生理食塩液）	0.3 mL	200	100.0	2	0	1
	MPEG-DSPE	313	200	67.7	2	0	1
		625	200	40.1	2	0	2
		1250	200	33.6	0	0	0
	MMC	0.1	200	ND	83	0	0
代謝活性化あり (6時間曝露/18時間培養)	陰性対照（生理食塩液）	0.3 mL	200	100.0	0	0	0
	MPEG-DSPE	156	200	70.3	0	0	1
		313	200	59.6	2	0	0
		625	200	47.7	2	0	0
	BP	20	200	ND	166	0	1
代謝活性化なし (24時間曝露)	陰性対照（生理食塩液）	0.5 mL	200	100.0	0	0	0
	MPEG-DSPE	625	200	65.2	2	0	2
		1250	200	58.9	2	0	0
		2500	200	56.3	5	1	0
	MMC	0.05	200	ND	70	0	0
代謝活性化なし (48時間曝露)	陰性対照（生理食塩液）	0.5 mL	200	100.0	2	0	0
	MPEG-DSPE	156	200	54.8	1	0	0
		313	200	50.0	2	0	0
		625	200	45.9	1	0	1
	MMC	0.05	200	ND	134	0	0

ND：実施せず

2.6.7.17.9 In Vivo 遺伝毒性試験

報告書の題名：STEALTH® プラセボリポソーム（SPL）のマウス小核試験

試験の種類：骨髓細胞の小核試験

動物種/系統：マウス/ICR

週齢：8 週齢

評価した細胞：多染性赤血球

分析細胞数/動物：1000

特記事項：なし

毒性/細胞毒性：陰性

遺伝毒性：陰性

曝露証明：実施していない

処理計画：単回投与

計測時間：投与後 24, 48, 72 時間

投与方法：静脈内

溶媒/投与形態：生理食塩液/水溶液

被験物質：SPL

試験番号：LTI-30-93-18

CTD における記載箇所：4.2.3.7.7.3.4

GLP 適用： 適

投与年月：1993 年 6 月

被験物質	投与量 ^{b)} (mg/kg)	動物数	曝露時間 (時間)	小核を有する多染性赤血球(%) (平均±標準誤差)			正染性赤血球に対する多染性赤血球比 (平均±標準誤差)	
				雄	雌	雌雄平均	雄	雌
■■■■ ^{a)}	20 mL/kg	5M, 5F	24	0.04 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.05 ± 0.02	0.63 ± 0.08	0.48 ± 0.14
		5M, 5F	48	0.02 ± 0.02	0.06 ± 0.04	0.04 ± 0.02	0.73 ± 0.06	0.81 ± 0.19
		5M, 5F	72	0.04 ± 0.02	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.62 ± 0.04	0.64 ± 0.07
SPL (Lot L)	2.05	5M, 5F	24	0.02 ± 0.02	0.06 ± 0.06	0.04 ± 0.03	0.71 ± 0.11	0.57 ± 0.09
		5M, 5F	48	0.10 ± 0.04	0.02 ± 0.02	0.06 ± 0.03	0.78 ± 0.15	0.69 ± 0.15
		5M, 5F	72	0.10 ± 0.03	0.02 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.64 ± 0.13	0.59 ± 0.05
	4.10	5M, 5F	24	0.00 ± 0.00	0.04 ± 0.02	0.02 ± 0.01	0.51 ± 0.10	0.56 ± 0.17
		5M, 5F	48	0.02 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.03 ± 0.02	0.39 ± 0.13	0.70 ± 0.09
		5M, 5F	72	0.04 ± 0.02	0.06 ± 0.04	0.05 ± 0.02	0.35 ± 0.09	0.85 ± 0.08
	8.20	5M, 5F	24	0.06 ± 0.04	0.10 ± 0.05	0.09 ± 0.04	0.40 ± 0.19	0.49 ± 0.10
		5M, 5F	48	0.04 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.04 ± 0.02	0.55 ± 0.17	0.82 ± 0.16
		5M, 5F	72	0.06 ± 0.04	0.00 ± 0.00	0.03 ± 0.02	0.58 ± 0.10	0.38 ± 0.12*
	CP	5M, 5F	24	3.42 ± 0.40*	3.44 ± 0.51*	3.43 ± 0.31*	0.50 ± 0.06	0.47 ± 0.10

* : p<0.05 (Tukey's Studentized range test)

a) : SPL に使われている■■■■ (ヒスチジン/スクロース溶液)

b) : SPL の投与量は脂質中のリン量を記載した

*新薬承認情報提供時に置き換え