

トラマールカプセル 25mg

トラマールカプセル 50mg

医薬品製造販売承認申請書 添付資料

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

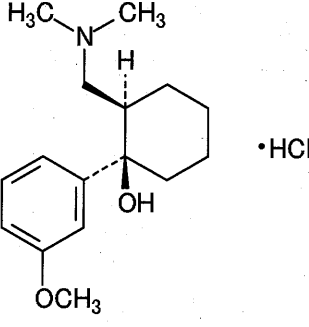
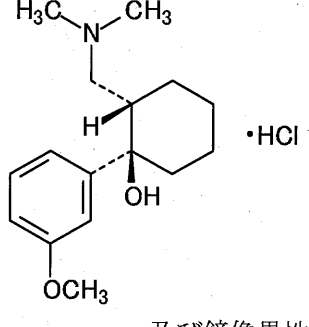
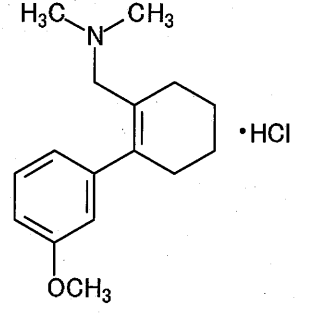
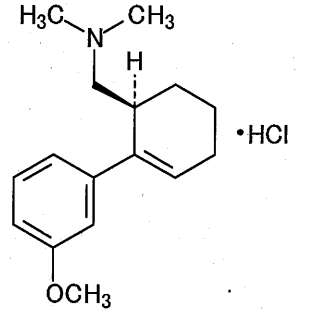
2.6.6 毒性試験の概要文

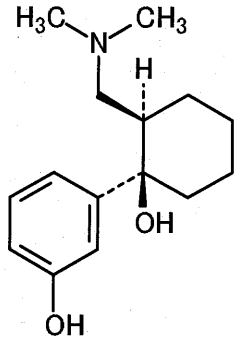
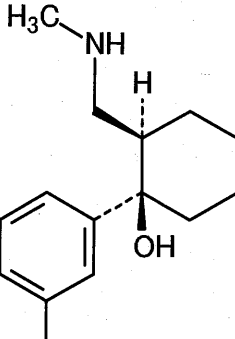
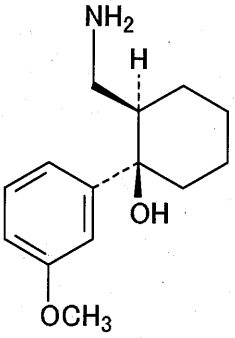
日本新薬株式会社

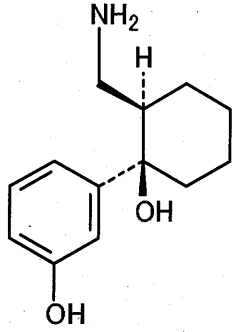
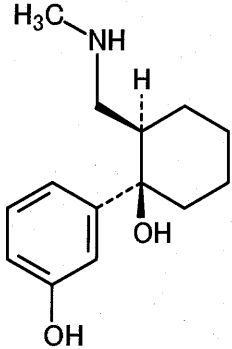
略語一覧表

語句略語	語句略語内容
CHO 細胞	chinese hamster ovary; チャイニーズハムスター卵巣由来の培養細胞
C _{max}	maximum level of concentration; 最高血漿（血清）中濃度
GLP	Good Laboratory Practice; 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
LD ₅₀ 値	50% lethal dose; 50%致死用量
MNPCE	micronucleated polychromatic erythrocytes; 小核を有する多染性赤血球
MNPCE/PCE	micronucleated polychromatic erythrocytes/polychromatic erythrocytes; 全多染性赤血球中の小核を有する多染性赤血球の占める割合（小核を有する多染性赤血球出現率）
NA	noradrenaline; ノルアドレナリン
NCE	normochromatic erythrocytes; 正染性赤血球
PCE	polychromatic erythrocytes; 多染性赤血球
PCE/NCE	polychromatic erythrocytes/normochromatic erythrocytes; 多染性赤血球と正染性赤血球との比
PCE/TE	polychromatic erythrocytes/total erythrocytes; 全赤血球中の多染性赤血球の占める割合（全赤血球中の多染性赤血球の出現率）
QAU	Quality Assurance Unit; 信頼性保証部門
TE	total erythrocytes; 全赤血球
TK 試験	thymidine kinase (tk) 遺伝子を標的として誘起された遺伝子突然変異を定量的に評価する試験系

NS-315 及び関連化合物の名称と構造式

NS-315 及び関連化合物の名称	構造式	由来
トラマドール塩酸塩 [略号] NS-315 [化学名] (1 <i>R</i> S,2 <i>R</i> S)-2-[(Dimethylamino)methyl]- 1-(3-methoxyphenyl)cyclohexanol hydrochloride [化合物記号] CGN-315	 <p style="text-align: center;">及び鏡像異性体 C₁₆H₂₅NO₂ · HCl: 299.84</p>	原薬
[略称] cis 異性体塩酸塩 [化学名] (1 <i>R</i> S,2 <i>S</i> R)-2-[(Dimethylamino)methyl]- 1-(3-methoxyphenyl)cyclohexanol hydrochloride [化合物記号] CGN-9001	 <p style="text-align: center;">及び鏡像異性体 C₁₆H₂₅NO₂ · HCl: 299.84</p>	副生成物 分解生成物
[略称] 1,2-オレフィン塩酸塩 [化学名] [2-(3-Methoxyphenyl)cyclohex-1-enyl]- N,N-dimethylmethanamine hydrochloride [化合物記号] CGN-9002	 <p style="text-align: center;">C₁₆H₂₃NO · HCl: 281.82</p>	副生成物 分解生成物
[略称] 1,6-オレフィン塩酸塩 [化学名] (1 <i>R</i> S)-[2-(3-Methoxyphenyl)cyclohex-2-enyl]- N,N-dimethylmethanamine hydrochloride [化合物記号] CGN-9003	 <p style="text-align: center;">及び鏡像異性体 C₁₆H₂₃NO · HCl: 281.82</p>	副生成物 分解生成物

NS-315 及び関連化合物の名称	構造式	由来
[略号] M1 [略称] モノ-O-脱メチル体 [化学名] (1 <i>RS</i> ,2 <i>RS</i>)-2-[(Dimethylamino)methyl]- 1-(3-hydroxyphenyl)cyclohexanol [化合物記号] CGN-6001	 <p style="text-align: center;">及び鏡像異性体</p>	代謝物
[略号] M2 [略称] モノ-N-脱メチル体 [化学名] (1 <i>RS</i> ,2 <i>RS</i>)-2-[(Methylamino)methyl]- 1-(3-methoxyphenyl)cyclohexanol [化合物記号] CGN-6004	 <p style="text-align: center;">及び鏡像異性体</p>	代謝物
[略号] M3 [略称] ジ-N-脱メチル体 [化学名] (1 <i>RS</i> ,2 <i>RS</i>)-2-[(Amino)methyl]- 1-(3-methoxyphenyl)cyclohexanol	 <p style="text-align: center;">及び鏡像異性体</p>	代謝物

NS-315 及び関連化合物の名称	構造式	由来
[略号] M4 [略称] トリ-N-,O-脱メチル体 [化学名] (1 <i>RS</i> ,2 <i>RS</i>)-2-[(Amino)methyl]- 1-(3-hydroxyphenyl)cyclohexanol	 <p>及び鏡像異性体</p>	代謝物
[略号] M5 [略称] ジー-N-,O-脱メチル体 [化学名] (1 <i>RS</i> ,2 <i>RS</i>)-2-[(Methylamino)methyl]- 1-(3-hydroxyphenyl)cyclohexanol	 <p>及び鏡像異性体</p>	代謝物

目 次

2.6.6 毒性試験の概要文	
2.6.6.1 まとめ	1
2.6.6.2 単回投与毒性試験	5
2.6.6.3 反復投与毒性試験	7
2.6.6.4 遺伝毒性試験	10
2.6.6.5 がん原性試験	16
2.6.6.6 生殖発生毒性試験	22
2.6.6.7 局所刺激性試験	27
2.6.6.8 その他の毒性試験	27
2.6.6.9 考察及び結論	27
2.6.6.10 図表	30
2.6.6.11 参考文献	30

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

トラマドール塩酸塩の経口剤であるトラマドール塩酸塩カプセルは同一成分の注射剤である「トラマール®注 100」の新投与経路医薬品として申請するものであり、申請に添付すべき資料は単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験及びがん原性試験である。また、遺伝毒性試験についても「トラマール®注 100」の製造承認申請書添付資料に掲載されていなかったことから、申請資料とした。

単回投与毒性試験はげっ歯類としてマウス及びラットを、非げっ歯類としてはイヌを用い、投与経路をげっ歯類で強制経口及び静脈内の2経路、イヌでは強制経口とした。反復投与毒性試験では臨床使用期間を考慮して、ラットは6ヵ月間、イヌは52週間の強制経口投与を行い、更にラットでは投与期間終了後に3週間の回復性試験を実施した。遺伝毒性は*in vitro*及び*in vivo*試験で評価した。がん原性試験はマウスで雄24ヵ月間、雌21ヵ月間、ラットで30ヵ月間、共に飲水投与により行った。強制経口投与による生殖発生毒性試験は、受胎能及び初期胚発生に関する試験をラットで、胚・胎児発生への影響に関する試験をラット及びウサギで、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をラットで、それぞれ実施した。

これらの毒性試験は各国のガイドラインに準拠して実施された。そのうち、ラット6ヵ月間反復投与毒性試験及び一部の遺伝毒性試験は Good Laboratory Practice (GLP) 施行前の試験であり、がん原性試験は ██████████ Ltd. で行われた病理組織学的検査自体は GLP 適用であったものの、剖検までの検査については Quality Assurance Unit (QAU) の調査が生データと最終報告書の確認だけであった。その他の試験はすべて GLP を遵守して実施された。実施した主要な毒性試験は以下のとおりである。

表 2.6.6.1-1 毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	動物種
単回投与毒性試験	強制経口及び静脈内 強制経口	マウス及びラット イヌ
反復投与毒性試験 6ヵ月間 52週間	強制経口 強制経口	ラット イヌ
遺伝毒性試験 <i>In vitro</i> 試験： 復帰突然変異試験 遺伝子突然変異試験 <i>In vivo</i> 試験： 染色体異常試験 小核試験 染色体異常試験 優性致死試験	— — — 強制経口及び腹腔内 静脈内 強制経口 強制経口、腹腔内 及び静脈内	ネズミチフス菌及び大腸菌 マウスリンパ腫細胞及びチャイニーズハムスター卵巣由来の培養細胞 ヒト末梢血リンパ球 マウス、チャイニーズハムスター及びラット マウス チャイニーズハムスター及びラット マウス
がん原性試験 雄：24ヵ月間、雌：21ヵ月間 30ヵ月間	飲水 飲水	マウス ラット
生殖発生毒性試験 受胎能及び初期胚発生に関する試験 胚・胎児発生への影響に関する試験 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	強制経口 強制経口 強制経口	ラット ラット及びウサギ ラット

1) 単回投与毒性試験

げっ歯類では、投与量をマウスの強制経口投与で200~500mg/kg、静脈内投与で30~100mg/kg、ラットの強制経口投与で200~500mg/kg、静脈内投与で50~80mg/kgに設定した。概略の致死量は、マウスの強制経口投与で雄300mg/kg、雌400mg/kg、静脈内投与で雌雄とも50mg/kg、ラットの強制経口投与で雄300mg/kg、雌200mg/kg、静脈内投与で雌雄とも60mg/kgであり、またLD₅₀値はマウスの強制経口投与で雄286mg/kg、雌447mg/kg、静脈内投与で雌雄とも48mg/kg、ラットの強制経口投与で雄279mg/kg、雌289mg/kg、静脈内投与で雄60mg/kg、雌62mg/kgであった。死亡時間は静脈内投与でマウス、ラットとも投与後数分以内、強制経口投与でマウスは投与後2時間以内、ラットは殆どが投与後6時間以内であった。一般状態の変化として、痙攣等の中枢神経症状が全ての投与量でマウス、ラットに共通して認められたが、生存動物では投与後4~6時間以内に全ての症状が消失した。マウス、ラットとも体重の推移に異常は認められなかった。剖検では、ラットの強制経口投与で腎臓の色調淡色化及び膀胱の出血が300mg/kgから認められた。

イヌでは25~60mg/kgの投与量で強制経口投与したが、60mg/kgにおいても死亡はみられなかった。一般状態ではげっ歯類と同様、中枢神経症状として痙攣が40mg/kg以上で投与後2時間以内に認められた。体重の推移に異常は認められなかった。

以上、単回投与毒性試験では一般状態の変化として、マウス、ラット、イヌともに痙攣等が観察されたが、これらは他の中枢性の鎮痛剤にも認められる症状であり、本薬に特異的なものではなかった。

2) 反復投与毒性試験

ラット6ヵ月間経口投与毒性試験：ラットに10、25、60mg/kgの投与量で6ヵ月間強制経口投与した。被験物質投与による死亡が25mg/kg以上の投与群で認められ、いずれも痙攣による呼吸困難で死亡したものと推察された。痙攣の他、一般状態の変化としては自咬による脱毛、流涎、攻撃性・防御性亢進等が観察された。この内、自咬による脱毛は、10mg/kg以上の投与群で認められ、この症状は腹、胸、首ないしは前肢の毛を咬んで抜こうとする行動で、本薬の中枢作用との関連性が示唆されたが、6ヵ月間の投与期間を通して各動物とも1~2回散発的に認められたに過ぎず、毒性学的意義はないと判断された。投与期間終了時の病理学的検査では60mg/kg投与群で、重量減少を伴う胸腺の小型化、肝細胞核の小型化及び肺重量の増加が認められたが、毒性学的に重篤な病理組織学的所見は認められなかった。10mg/kg投与群で認められた所見は、自咬による脱毛のみであったことから、ラット6ヵ月間経口投与毒性試験における無毒性量は10mg/kg/日とみなされた。なお、上述した変化はいずれも3週間の休薬により回復しており、可逆性の変化であった。

イヌ52週間経口投与毒性試験：イヌに10、24、40mg/kgの投与量で52週間強制経口投与した結果、被験物質投与による死亡は認められなかった。一般状態の変化として散瞳が10mg/kg以上の投与群で認められたが、この変化は本薬のノルアドレナリン (NA) の再取り込み阻害作用及びムスカリン性アセチルコリン受容体抑制作用が関与したと考えられた。摂餌量の減少を伴う体重増加抑制が24mg/kg以上の投与群で認められた。10mg/kg投与群においても体重増加抑

制がみられたが、摂餌量の減少を伴わない軽度な変化であり毒性学的意義は乏しいと判断された。投与期間終了時の病理組織学的検査では、何ら異常は認められなかった。以上の結果から、イヌ 52 週間経口投与毒性試験における無毒性量は 10mg/kg/日とみなされた。

3) 遺伝毒性試験

In vitro 試験として細菌を用いる復帰突然変異試験、マウスリンフォーマ TK 試験、チャイニーズハムスター卵巣由来の培養細胞 (CHO 細胞) を用いる遺伝子突然変異試験及びヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験を、*in vivo* 試験としてマウス、チャイニーズハムスター及びラットの骨髄細胞を用いる小核試験、チャイニーズハムスター及びラットの骨髄細胞を用いる染色体異常試験並びにマウスを用いる優性致死試験をそれぞれ実施した。

復帰突然変異試験、CHO 細胞を用いる遺伝子突然変異試験、マウス及びチャイニーズハムスターの骨髄細胞を用いる小核試験、チャイニーズハムスター及びラットの骨髄細胞を用いる染色体異常試験並びにマウスを用いる優性致死試験は、いずれも陰性であった。ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験で染色体異常を有する細胞の増加が認められたが、濃度依存性が認められなかったことから、疑陽性と判断した。また、マウスリンフォーマ TK 試験で、ラット肝 S9 を組成とする S9mix の添加 (代謝活性化あり) の条件下、生存率が 30%以下の濃度で変異コロニーの増加が認められた。この変異コロニーは遺伝子突然変異あるいは染色体異常により増加するが、細菌を用いる復帰突然変異試験及び CHO 細胞を用いる遺伝子突然変異試験では陰性であることから、遺伝子突然変異というよりも、染色体異常によるものと考えられた。ラットを用いる小核試験で小核を有する多染性赤血球比率の増加傾向が認められたが、用量依存性は明らかではなかった。また、ラットを用いる染色体異常試験では明らかな毒性兆候を示す 200mg/kg まで投与したが陰性であり、その他の *in vivo* 試験でも全て陰性であったことから、総合的にヒトに対して遺伝毒性のリスクは低いものと評価した。

4) がん原性試験

マウスがん原性試験：マウスに 7.5、15、30mg/kg の投与量で雄は 24 ヶ月間、雌は 21 ヶ月間飲水投与した。死亡率において、被験物質投与による影響は認められなかった。軽度な体重の低値が 30mg/kg 投与群の雄で認められた。腫瘍発生に関して有意な増加が、30mg/kg 投与群の雄の肝細胞腺腫及び 7.5mg/kg 以上の投与群の雌の肺腺腫で認められたが、いずれも発生率そのものは文献での自然発生率の範囲内にあった。また、30mg/kg 投与群の雌で認められた組織球肉腫の有意な増加は、その発生率 3/49 (6%) が報告されている雌の自然発生率 0~4.1%^{3~8)}をやや上回っていたが、本腫瘍はマウスでよくみられること、また各対照群それぞれに対して統計処理を行った結果、有意差が認められなかったことを考慮すると、今回雌の対照群でたまたま本腫瘍が認められなかったために生じた偶発的な変化と考えられた。したがって、マウスにおける発がん性はないものと評価した。

ラットがん原性試験：ラットに 7.5、15、30mg/kg の投与量で 30 ヶ月間飲水投与した。死亡率において、被験物質投与による影響は認められなかった。体重増加抑制が 7.5mg/kg 以上の投与群で認められた。腫瘍発生に関しては対照群と差がなく、ラットにおける発がん性はないもの

と評価した。

5) 生殖発生毒性試験

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験：雌雄ラットに 10、25、50mg/kg の投与量で、雄は交配前 92 日ないしは 85 日から交配期間終了時まで、雌は交配前 14 日から妊娠 20 日ないしは 22 日まで、それぞれ強制経口投与した。50mg/kg 投与群の雌 1 例で死亡が認められたが、死因は不明であった。親動物では 25mg/kg 以上の投与群で体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。親動物の生殖能、出産、離乳、胎児及び出生児の発育に関しては、何ら影響は認められなかった。したがって、無毒性量は親動物の一般毒性に対して 10mg/kg/日、親動物の生殖能、胎児及び出生児に対して 50mg/kg/日とみなされた。

ラット胚・胎児発生への影響に関する試験：妊娠ラットに 25、50、75mg/kg の投与量で、妊娠 7 日から 17 日まで強制経口投与した。死亡動物は認められなかった。母動物では 25mg/kg 以上の投与群で体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。母動物の生殖能に影響はみられなかったが、胎児では 25mg/kg 以上の投与群で尿管拡張の発現率の増加が、50mg/kg 以上の投与群で胸骨不完全骨化の発現率の増加が、出生児では 75mg/kg 投与群で体重の低値、耳介の挙上、耳管の開口比率減少、自発摂餌比率減少及び体重の低値に関連した膈開口比率の減少が、それぞれ認められた。これらの胎児及び出生児の変化は、母動物の一般状態の不良との関連が示唆されたが、両者の相関性は必ずしも明確ではなかった。したがって、無毒性量は母動物の一般毒性に対して 25mg/kg/日未満、母動物の生殖能に対して 75mg/kg/日、胎児に対して 25mg/kg/日未満、出生児に対して 50mg/kg/日と、それぞれみなされた。

ウサギ胚・胎児発生への影響に関する試験：妊娠ウサギに 10、50、125、175mg/kg の投与量で、妊娠 7 日から 19 日まで強制経口投与した。被験物質投与による死亡が 175mg/kg 投与群の 1 例で妊娠 16 日に認められた。剖検では異常所見は認められず、痙攣による呼吸困難で死亡したものと推察された。母動物では痙攣等の中枢神経症状に加え、体重及び摂餌量の減少が 125mg/kg 以上の投与群で認められた。母動物の生殖能に影響はみられなかったが、母動物の一般状態の不良が原因と考えられる生存胎児体重の減少が 125mg/kg 以上の投与群に認められた。したがって、無毒性量は母動物の一般毒性に対して 50mg/kg/日、母動物の生殖能に対して 175mg/kg/日、胎児に対して 50mg/kg/日と、それぞれみなされた。

ラット出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験：妊娠ラットに 8、20、40、80mg/kg の投与量で、妊娠 15 日から授乳 21 日まで強制経口投与した。死亡動物は認められなかった。母動物では眼球突出等の一般状態の変化に加え、体重増加抑制及び摂餌量の減少が 8mg/kg 以上の投与群で認められた。母動物の生殖能に影響はみられなかったが、母動物の一般状態の不良が原因と考えられる出生児の出生 4 日後生存率の低下及び体重の低値が 80mg/kg 投与群で認められた。したがって、無毒性量は母動物の一般毒性に対して 8mg/kg/日未満、母動物の生殖能に対して 80mg/kg/日、出生児に対して 40mg/kg/日と、それぞれみなされた。

以上、生殖発生毒性試験では、母動物に体重増加抑制や摂餌量の減少がみられた投与量で、胎児及び出生児の変化（体重の低値、出生 4 日後生存率の低下、膈開口比率の低下等）が認められたが、生殖能への影響、催奇形性は認められなかった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

1) マウス単回投与毒性試験 (試験番号: █████ 1788 資料番号: 4.2.3.1-1、評価資料)

NMRI マウス (投与開始前体重範囲: 雄;18.9~26.4g、雌;17.1~23.4g) を用いて実施した (表 2.6.6.2-1)。

投与量を強制経口投与で 200、300、400、500mg/kg、静脈内投与で 30、50、100mg/kg に設定し、1 群雌雄各 5 匹のマウスに、被験物質を生理食塩液に溶解して 0.5mL/20g の投与容量で単回投与した。生存動物は投与後 14 日間観察した後、解剖した。

強制経口投与では雄が 300mg/kg 以上で、雌が 400mg/kg 以上で、静脈内投与では雌雄とも 50mg/kg 以上で死亡例が認められ、LD₅₀ 値は強制経口投与で雄 286mg/kg、雌 447mg/kg、静脈内投与で雌雄とも 48mg/kg であった。また死亡時間は、強制経口投与で投与後 2 時間以内、静脈内投与では投与後数分以内であった。いずれも痙攣による呼吸困難で死亡したものと推察された。

一般状態の変化として、痙攣等の中枢神経症状が両投与経路で最低用量から認められたが、生存動物では投与後 4~6 時間以内に全ての症状が消失した。体重の推移に変化はみられず、剖検では死亡例を含め、特に異常は認められなかった。

表 2.6.6.2-1 マウス単回投与毒性試験成績

系統 体重 (g)	投与経路	用量 (mg/kg)	性別	例数	成績		
					概略の致 死量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値 (mg/kg)	一般状態
NMRI (♂:18.9~26.4 ♀:17.1~23.4)	強制経口	0	♂	5	300	286	不穏、自発運動の亢進/抑制、疼痛反射の抑制、身づくろいの減少、体緊張の増加、攻撃性、振戦、痙攣、挙尾、流涎、歩行失調/歩行異常、不規則/頻呼吸、あえぎ呼吸、体温下降、チアノーゼ等。
		200					
	300	♀	5	400	447		
	400						
500	♂	5	50	48			
静脈内					0		
30	♀	5	50	48			
50							
100							

2) ラット単回投与毒性試験 (試験番号: █████ 1789 資料番号: 4.2.3.1-2、評価資料)

Wistar ラット (投与開始前体重範囲: 雄;79~130g、雌;78~114g) を用いて実施した (表 2.6.6.2-2)。

投与量を強制経口投与で 200、300、400、500mg/kg、静脈内投与で 50、60、70、80mg/kg に設定し、1 群雌雄各 10 ないしは 5 匹のラットに、被験物質を生理食塩液に溶解して 5mL/kg の投与容量で単回投与した。生存動物は投与後 14 日間観察した後、解剖した。

強制経口投与では雄が 300mg/kg 以上で、雌が 200mg/kg 以上で、静脈内投与では雌雄とも 60mg/kg 以上で死亡例が認められ、LD₅₀ 値は強制経口投与で雄 279mg/kg、雌 289mg/kg、静脈内

投与で雄 60mg/kg、雌 62mg/kg であった。また死亡時間は、強制経口投与の殆どで投与後 6 時間以内、静脈内投与では投与後数分以内であった。いずれも痙攣による呼吸困難で死亡したものと推察された。

一般状態の変化として、痙攣等の中枢神経症状が両投与経路で最低用量から認められたが、生存動物では投与後 4~6 時間以内に全ての症状が消失した。体重の推移に変化は見られなかった。剖検では強制経口投与の 300mg/kg 以上の投与群で、腎臓の色調淡色化及び膀胱の出血が認められた。

表 2.6.6.2-2 ラット単回投与毒性試験成績

系統 体重 (g)	投与経路	用量 (mg/kg)	性別	例数	成績		
					概略の致死量 (mg/kg)	LD ₅₀ 値 (mg/kg)	一般状態 (剖検所見)
Wistar (♂:79~130 ♀:78~114)	強制経口	0	♂	10	300	279	不穏、自発運動の抑制、疼痛反射の抑制、体緊張の増加、振戦、痙攣、挙尾、流涎、立毛、散瞳、眼球突出、攻撃性、歩行異常、あえぎ呼吸、チアノーゼ等 (腎臓の色調淡色化、膀胱の出血)。
		200					
	300	♀	10	200	289		
	400						
500							
	静脈内	0	♂	5	60	60	自発運動の抑制、疼痛反射の抑制、身づくろいの減少、体緊張の増加、攻撃性、痙攣、挙尾、立毛、歩行失調、散瞳、眼球突出、不規則呼吸、あえぎ呼吸、チアノーゼ等。
		50					
	60	♀	5	60	62		
	70						
80							

3) イヌ単回投与毒性試験 (試験番号: 1367 資料番号: 4.2.3.1-3、評価資料)

Beagle イヌ (投与開始前体重範囲: 雄;10.1~11.7kg、雌;7.3~9.7kg) を用いて実施した (表 2.6.6.2-3)。

投与量を 25、40、60mg/kg に設定し、1 群雌雄各 1 ないしは 2 頭のイヌに、被験物質をゼラチンカプセルに充填して単回強制経口投与した後、14 日間観察した。

死亡例は認められなかった。

一般状態の変化として、散瞳及び流涎が 25mg/kg 以上で、痙攣等の中枢神経症状が 40mg/kg 以上で、投与後 2 時間以内に認められた。体重の推移に異常は認められなかった。

表 2.6.6.2-3 イヌ単回投与毒性試験成績

系統 体重 (kg)	投与経路	用量 (mg/kg)	性別	例数	成績	
					概略の致死量 (mg/kg)	一般状態
Beagle (♂:10.1~11.7 ♀:7.3~9.7)	強制経口	0	♂	1or2 ^{a)}	>60	散瞳、自発運動の抑制、振戦、強直性 一過性痙攣、舌なめずり、異常発声、 流涎、正向反射の消失、軟便、血便を 含む下痢。
		25				
40	♀	1or2 ^{a)}	>60			
60						

^{a)} 25 及び 40mg/kg 投与群は雌雄各 2 例、0 及び 60mg/kg 投与群は雌雄各 1 例

2.6.6.3 反復投与毒性試験

- 1) ラット 6 ヶ月間経口投与毒性試験 (試験番号: █████ 649, █████ 264 資料番号: 4.2.3.2-1, 4.2.3.2-2、参考資料)

6 週齢の Wistar ラット 1 群雌雄各 25 匹に 0 (対照)、10、25、60mg/kg の投与量で 6 ヶ月間強制経口投与した (表 2.6.6.3-1)。被験物質を蒸留水に溶解し、5mL/kg の容量で 1 日 1 回投与した。対照群には同量の蒸留水を投与した。投与期間終了後、各群雌雄各 10 匹の生存動物を解剖に供し、残りの動物を用いて 3 週間の回復性試験を実施した。

表 2.6.6.3-1 ラット 6 ヶ月間経口投与毒性試験成績

系統、体重	Wistar、♂:148~229g ♀:110~179g (投与開始時)								
試験期間	投与期間				回復期間				
用量(mg/kg)	0	10	25	60	0	10	25	60	
死亡率	♂	1/25 (投与過誤)	1/25 (投与過誤)	3/25	8/25	0/14	0/14	0/12	0/7
	♀	0/25	1/25 (投与過誤)	0/25	6/25	0/15	0/14	0/15	0/9
一般状態	—	自咬による 脱毛	自咬による脱 毛、痙攣、流 涎、攻撃性・ 防御性亢進	自咬による脱毛、 痙攣、流涎、攻撃 性・防御性亢進、 発声、呼吸困難	—	—	—	—	
体重、摂餌量	—	—	—	—	—	—	—	—	
摂水量	—	—	—	↑	—	—	—	—	
運動検査 ^{a)} 眼科学的検査 聴覚検査 尿検査 血液学的検査 血液化学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	
剖検	—	—	—	胸腺の小型化	—	—	—	—	
器官重量	—	—	—	肺↑、胸腺↓	—	—	—	—	
病理組織学的検査	—	—	—	肝細胞核の小型化	—	—	—	—	

—: 変化なし、↑: 増加、↓: 減少

^{a)} swimming test、climbing test、lift reaction、正向反射、痛覚反応、平衡感覚

投与量は 10、25、60mg/kg を設定した。これらの投与量を体表面積換算すると 70、175、420mg/m² (Conversion factor : 7.0) となり、ヒトの 1 日最大投与量 400mg (6.7mg/kg) の体表面積換算 248mg/m² (Conversion factor : 37.0) の約 0.28、0.71、1.69 倍に相当する。

被験物質投与に起因する死亡が、25mg/kg 投与群の雄 3 例及び 60mg/kg 投与群の雄 8 例雌 6 例で投与 11~25 週に認められた。死亡の原因は、痙攣による呼吸困難と考えられた。死亡例の内、25mg/kg 投与群の雄 1 例及び 60mg/kg 投与群の雄 4 例雌 2 例では、剖検で脳に出血がみられたが、痙攣時の頭部打撲によるものと推察された。死亡は対照群の雄 1 例及び 10mg/kg 投与群の雌雄各 1 例でも認められたが、これらの動物では死亡前日まで特に重篤な一般状態の変化は観察されておらず、剖検で肺のうっ血・水腫が認められていることから、投与過誤によるものと考えられた。

一般状態の変化として、痙攣、流涎及び攻撃性・防御性の亢進が 25mg/kg 以上の投与群で、発声及び呼吸困難が 60mg/kg 投与群で認められた。また、自咬による脱毛が 10mg/kg 投与群の雌 5/25 例、25mg/kg 投与群の雄 1/25 例、雌 8/25 例、60mg/kg 投与群の雄 2/25 例、雌 7/25 例で認められた。これは腹、胸、首ないしは前肢の毛を咬んで抜こうとする行動であったが、6 ヶ月間の投与期間を通して各動物とも 1~2 回散発的に認められたに過ぎず、毒性学的意義はないと判断された。Thomas らは、サル及びラットに硫酸モルヒネを延髄後角に投与すると、顔面への掻き動作が惹起され、この反応はナロキソンで拮抗されることを報告しており^{1,2)}、一般にオピオイド受容体の刺激は搔痒を招くと考えられている。したがって、自咬は本薬のオピオイド受容体を介した作用による搔痒に対して生じた可能性が示唆された。

摂水量の増加が 60mg/kg 投与群で認められた。

投与期間終了時の病理学的検査では、60mg/kg 投与群で、重量減少を伴う胸腺の小型化、肝細胞核の小型化及び肺重量の増加が認められたが、毒性学的に重篤な病理組織学的所見は認められなかった。なお、肝細胞核の小型化は形態計測で初めて確認される軽微なものであった。

その他、体重、摂餌量、運動検査 (swimming test, climbing test, lift reaction、正向反射、痛覚反応、平衡感覚)、眼科学的検査、聴覚検査、尿検査、血液学的検査及び血液化学的検査において異常は認められなかった。

以上、10mg/kg 投与群で認められた所見は、自咬による脱毛のみであったことから、本試験の無毒性量は 10mg/kg/日とみなされた。なお、上述した変化はいずれも 3 週間の休薬により回復しており、可逆性の変化であった。また、本試験ではトキシコキネティクスを実施しなかったが、ラットに 20mg/kg/日を 28 日間反復経口投与した薬物動態試験の結果 (2.6.5 薬物動態試験の概要表、2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与、1) 血漿中濃度、(5)ラット (性差、単回、反復投与、血清中濃度)) から、本試験の無毒性量 (10mg/kg/日) における最高血中濃度 (C_{max}) を推定すると、未変化体が雄で 56ng/mL、雌で 320ng/mL、代謝物であるモノ-O-脱メチル体 (M1) が雄で 41ng/mL、雌で 74ng/mL となった。一方、ヒト第 I 相反復投与試験での 1 回最大投与量 (100mg/body) における C_{max} (2.7.2 臨床薬理の概要、2.7.2.2 個々の試験結果の要約、2.7.2.2.2 臨床薬理試験、2.7.2.2.2.1 健康成人における薬物動態、2.7.2.2.2.1.2 第 I 相反復投与試験、表 2.7.2.2.2.1.2-1) は、未変化体で 921ng/mL、M1 で 149ng/mL で、ともに本試験の無毒性量での推定 C_{max} より高く、安全域のマージンは未変化体で 0.06~0.35 倍、M1 で 0.28~0.50 倍と、暴露量

の比較からはヒトの安全性を十分担保することはできなかった。

2) イヌ 52 週間経口投与毒性試験 (試験番号: ■■■-90323 資料番号: 4.2.3.2-3、評価資料)

11 ヲ月齡の Beagle イヌ 1 群雌雄各 4 頭に 0 (対照)、10、24、40mg/kg の投与量で 52 週間強制経口投与した (表 2.6.6.3-2)。被験物質をゼラチンカプセルに充填して半量ずつ 1 日 2 回 (朝昼)、約 5 時間間隔で投与した。対照群にはセルロースを充填したカプセルを同様に投与した。

投与量は低用量を 10mg/kg に、高用量をイヌの最大耐量と考えられる 40mg/kg に、中用量を両者のほぼ中間の 24mg/kg に、それぞれ設定した。これらの投与量を体表面積換算すると 206、494、824mg/m² (Conversion factor : 20.6) となり、ヒトの 1 日最大投与量 400mg (6.7mg/kg) の体表面積換算 248mg/m² (Conversion factor : 37.0) の約 0.83、1.99、3.32 倍に相当する。

被験物質投与に起因する死亡は認められなかった。ただし、24mg/kg 投与群の雄 1 例を被験物質投与とは関連のない膀胱結石のため、投与 37 週目に安楽死処分した。

一般状態の変化として散瞳が 10mg/kg 以上の投与群で認められたが、この変化は NA の再取り込み阻害作用及びムスカリン性アセチルコリン受容体抑制作用が関与したと考えられた。摂餌量の減少を伴う体重増加抑制が 24mg/kg 以上の投与群で認められた。10mg/kg 投与群においても体重増加抑制がみられたが、摂餌量の減少を伴わない軽度な変化であり毒性学的意義は乏しいと判断された。

その他、眼科学的検査、心電図検査、尿検査、血液学的検査、血液化学的検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査において異常は認められなかった。

トキシコキネティクスでは、未変化体の血清中濃度が 24mg/kg 投与群と 40mg/kg 投与群で大差なかったが、代謝物であるモノ-N-脱メチル体 (M2) の血清中濃度は、ほぼ投与量に応じて増加した。これら血清中濃度に関し、投与期間による差及び性差は認められなかった。

以上、10mg/kg 投与群では散瞳及び軽度な体重増加抑制がみられたに過ぎず、本試験の無毒性量は 10mg/kg/日とみなされた。なお、ヒト第 I 相反復投与試験での 1 回最大投与量 (100mg/body) における C_{max} (2.7.2 臨床薬理の概要、2.7.2.2 個々の試験結果の要約、2.7.2.2.2 臨床薬理試験、2.7.2.2.2.1 健康成人における薬物動態、2.7.2.2.2.1.2 第 I 相反復投与試験、表 2.7.2.2.2.1.2-1) は未変化体で 921ng/mL であり、本試験の無毒性量における未変化体の血中濃度 (投与 50 週時、雄 : 23.3ng/mL、雌 : 19.8ng/mL) から求めた安全域のマージンは、未変化体で 0.02~0.03 倍と、暴露量の比較からはヒトの安全性を十分担保することはできなかった。

表 2.6.6.3-2 イヌ 52 週間経口投与毒性試験成績

系統、体重		Beagle、♂:10.4~13.6kg ♀:6.6~10.4kg(投与開始時)			
用量(mg/kg)		0	10	24	40
死亡率	♂	0/4	0/4	1/4 (膀胱結石の為安楽死 処分)	0/4
	♀	0/4	0/4	0/4	0/4
一般状態		—	散瞳	散瞳	散瞳
体重		—	増加抑制	増加抑制	増加抑制
摂餌量		—	—	↓	↓
眼科学的検査 心電図検査 尿検査 血液学的検査 血液化学的検査 剖検 器官重量		—	—	—	—
病理組織学的検査		—	—	—	—
血清中薬物濃度 (ng/mL) ^{a)}	未変化体		♂ ♀	♂ ♀	♂ ♀
	投与 7 週時		15.5 6.5	83.5 44.3	19.5 83.8
	投与 19 週時		16.7 5.0	32.8 13.7	11.5 28.0
	投与 30 週時		9.3 11.0	76.0 17.0	49.0 44.8
	投与 50 週時		23.3 19.8	61.3 87.7	47.3 41.0
	M2 ^{b)}		♂ ♀	♂ ♀	♂ ♀
	投与 7 週時		181 93	980 1126	1627 2293
	投与 19 週時		143 84	824 378	579 845
	投与 30 週時		111 111	819 346	2037 2095
	投与 50 週時		102 133	1220 1178	2354 1255

—: 変化なし、↓: 減少

a) 朝投与後 2 時間の群平均値

b) トラマドール塩酸塩の代謝物 (モノ-N-脱メチル体)

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 非哺乳動物細胞系での *in vitro* 試験

1) 細菌を用いる復帰突然変異試験 (試験番号: ██████████ 232/A 資料番号: 4.2.3.3.1-1、評価資料)

ネズミチフス菌を用い遺伝子突然変異誘発性の有無を検討した。

試験菌株として *Salmonella typhimurium* TA97、TA98、TA100 及び TA102 の 4 菌株を用い、プレート法によりラット肝 S9 を組成とする S9mix の無添加 (代謝活性化なし) 及び添加 (代謝活性化あり) の条件下にて実施した。最高用量を 1000µg/plate として、以下公比 10 で 100、10、1 及び 0.1µg/plate の計 5 段階の用量を設定した。

いずれの用量でも、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての試験菌株において plate あたりの復帰変異コロニー数は溶媒対照の 2 倍以上に増加せず、復帰突然変異誘発性は陰性であった。

以上より、トラマドール塩酸塩は細菌を用いる復帰突然変異試験において代謝活性化の有無

にかかわらず遺伝子突然変異誘発性を示さないと判断した。

2) 細菌を用いる復帰突然変異試験 (試験番号: █████ 2/S 資料番号: 4.2.3.3.1-2、評価資料)

ネズミチフス菌及び大腸菌を用い、遺伝子突然変異誘発性の有無を検討した。試験は3回実施した。

試験菌株として *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535 及び TA1537、*Escherichia coli* WP2pKM101、WP2uvrApKM101 の6菌株を用い、プレート法によりラット肝 S9 を組成とする S9mix の無添加 (代謝活性化なし) 及び添加 (代謝活性化あり) の条件下にて実施した。

TA100 を用いた用量設定試験において、最高用量を 5000µg/plate として、以下公比 5 で、1000、200、40 及び 8µg/plate の計 5 段階の用量を設定した。

用量設定試験において、代謝活性化の有無にかかわらず、5000µg/plate まで菌の生育阻害及び復帰変異コロニー数増加が認められなかったことから、本試験 1 では、最高用量を 5000µg/plate として、以下公比 5 で、1000、200、40 及び 8µg/plate の計 5 段階の用量を設定し、その影響を検討した。いずれの用量でも、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての試験菌株において plate あたりの復帰変異コロニー数は溶媒対照の 2 倍以上に増加せず、復帰突然変異誘発性は陰性であった。

本試験 2 では、プレインキュベーション法により最高用量を 5000µg/plate として、以下公差 1000 で、4000、3000、2000 及び 1000µg/plate の計 5 段階の用量を設定し、その影響を検討した。いずれの用量でも、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての試験菌株において plate あたりの復帰変異コロニー数は溶媒対照の 2 倍以上に増加せず、復帰突然変異誘発性は陰性であった。

以上より、トラマドール塩酸塩は細菌を用いる復帰突然変異試験において代謝活性化の有無にかかわらず遺伝子突然変異誘発性を示さないと判断した。

2.6.6.4.2 哺乳動物細胞系での *in vitro* 試験

1) マウスリンフォーマ TK 試験 (試験番号: █████ 12/891422 資料番号: 4.2.3.3.1-3、評価資料)

マウスリンパ腫細胞 (L5178Y tk⁺-3.7.2c 株) を用い、ラット肝 S9 を組成とする S9mix の無添加 (代謝活性化なし) 及び添加 (代謝活性化あり) の条件下にて、遺伝子突然変異誘発性の有無を検討した。試験は3回実施した。

細胞毒性試験の結果に基づき、試験 1 では、代謝活性化なしの場合、最高濃度を 3000µg/mL として、以下 2500、2000、1500、1250、1000、750、500 及び 250µg/mL の計 9 段階の濃度を、代謝活性化ありの場合、最高濃度を 750µg/mL として、以下 625、500、400、300、200、100、50 及び 10µg/mL の計 9 段階の濃度を設定し、処理を開始した。処理開始 48 時間後の細胞増殖率より、代謝活性化なしの場合、1250、1000、500 及び 250µg/mL の計 4 段階、代謝活性化ありの場合、625、400、300、200 及び 10µg/mL の計 5 段階の適用濃度について培養を継続し、遺伝子突然変異誘発性を検討した。

代謝活性化なしの場合、濃度依存的に突然変異頻度は増加しなかったが、代謝活性化ありの

場合、生存率が30%以下となる200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で突然変異頻度が増加し、遺伝子突然変異誘発性を示した。

試験2では、代謝活性化なしの場合、最高濃度を2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ として、以下2000、1500、1250、1000、500、250及び125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の計8段階の濃度を、代謝活性化ありの場合、最高濃度を750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ として、以下625、500、400、300、200、100及び10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の計8段階の濃度を設定し、処理を開始した。処理開始48時間後の細胞増殖率より、代謝活性化なしの場合、1500、1000、500、250及び125 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の計5段階、代謝活性化ありの場合、400、300、200、100及び10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の計5段階の適用濃度について培養を継続し、遺伝子突然変異誘発性を検討した。

代謝活性化なしの場合、濃度依存的に突然変異頻度は増加しなかったが、代謝活性化ありの場合、生存率が30%以下となる100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で突然変異頻度が増加し、遺伝子突然変異誘発性を示した。

試験3では、代謝活性化ありの処理について、最高濃度を750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ として、以下625、500、400、300、200、100、50及び10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の計9段階の濃度を設定し、処理を開始した。処理開始48時間後の細胞増殖率より、300、200、50及び10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の計4段階の適用濃度について培養を継続し、遺伝子突然変異誘発性を検討した。

生存率が30%以下となる200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で突然変異頻度が増加し、遺伝子突然変異誘発性を示した。

以上より、トラマドール塩酸塩はマウスリンフォーマTK試験において、代謝活性化なしの条件下では遺伝子突然変異誘発性を示さないものの、代謝活性化ありの条件下では生存率が30%以下となる100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で遺伝子突然変異誘発性を示した。

2) CHO細胞を用いる遺伝子突然変異試験（試験番号：■■■■ 13/90864 資料番号：4.2.3.3.1-4、評価資料）

CHO細胞を用い、ラット肝S9を組成とするS9mixの無添加（代謝活性化なし）及び添加（代謝活性化あり）の条件下にて、遺伝子突然変異誘発性の有無を検討した。試験は2回実施した。

細胞増殖抑制試験の結果に基づき、試験1では、最高濃度を5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ として、以下公差500で、4500、4000、3500、3000及び2500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の計6段階の濃度を設定し、その影響を検討した。いずれの濃度でも、代謝活性化の有無にかかわらず、濃度依存的に突然変異頻度は増加せず、遺伝子突然変異誘発性は陰性であった。

試験2では、最高濃度を5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ として、代謝活性化なしの処理の場合、以下4500、4000、3500及び3000の計5段階の濃度を、代謝活性化ありの処理の場合、以下3000、2000、1000及び500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の計5段階の濃度を設定し、遺伝子突然変異誘発性の有無を検討した。代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの濃度においても突然変異頻度は増加せず、遺伝子突然変異誘発性は陰性であった。

以上より、トラマドール塩酸塩はCHO細胞を用いる遺伝子突然変異試験において代謝活性化の有無にかかわらず遺伝子突然変異誘発性を示さないと判断した。

3) ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験 (試験番号: ■■■ 2/■■■ 資料番号: 4.2.3.3.1-5、評価資料)

ヒト末梢血リンパ球を用い、ラット肝 S9 を組成とする S9mix の無添加 (代謝活性化なし) 及び添加 (代謝活性化あり) の条件下にて、染色体異常誘発性の有無を検討した。試験は 3 回実施した。

試験 1 では、女性から採血した末梢血リンパ球を用い、適用濃度は、211.2、281.6、375.4、500.6、667.4、889.9、1187、1582、2109、2813、3750 及び 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした。観察濃度としては、分裂指数が 50~80%減少する濃度を上限とする 3 段階の濃度を選択し、代謝活性化なしでは 1187、1582 及び 2109 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、代謝活性化ありでは 2813、3750 及び 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ について染色体異常細胞の出現数を調べた。

代謝活性化なしの場合、1187 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で構造異常を示す細胞が増加したが、濃度依存性は認められなかった。また、代謝活性化ありの場合、2813 及び及び 3750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で構造異常を示す細胞が増加したが、5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では染色体異常を示す細胞は増加せず、濃度依存性は認められなかった。また、代謝活性化ありの場合において数的異常を示す細胞の増加が認められたが、濃度依存性は示さなかった。

試験 2 では、男性から採血した末梢血リンパ球を用い、適用濃度は代謝活性化なしの場合、343.6、429.5、536.9、671.1、838.9、1049、1311、1638、2048、2560、3200 及び 4000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、代謝活性化ありの場合、1049、1311、1638、2048、2560、3200、4000 及び 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした。観察濃度としては、分裂指数が 50~80%減少する濃度を上限とし (20 時間処理の場合: 3 段階、44 時間処理の場合: 1 段階)、代謝活性化なしの場合、20 時間処理では 1638、2048 及び 2560 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、44 時間処理では 838.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、代謝活性化ありの場合、3 時間処理後、17 時間回復処理では 3200、4000 及び 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、3 時間処理後、41 時間回復処理では 4000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ について染色体異常細胞の出現数を調べた。

代謝活性化なしの 20 時間処理では、いずれの濃度でも、構造異常を示す細胞は増加しなかったが、44 時間処理では、構造異常を示す細胞が増加した。また、代謝活性化ありの 3 時間処理後、17 時間回復処理では、4000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で構造異常を示す細胞を増加させたが、3 時間処理後、41 時間回復処理では、構造異常を示す細胞を増加させなかった。また、代謝活性化ありの場合において数的異常を示す細胞の増加が認められたが、濃度依存性は示さなかった。

試験 3 では、女性から採血した末梢血リンパ球を用い、適用濃度は、211.2、281.6、375.4、500.6、667.4、889.9、1187、1582、2109、2813、3750 及び 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とした。観察濃度としては、分裂指数が 50~80%減少する濃度を上限とし (20 時間処理の場合: 3 段階、44 時間処理の場合: 1 段階)、代謝活性化なしの場合、20 時間処理では 1582、2109 及び 2813 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、44 時間処理では 1187 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、代謝活性化ありの場合、3 時間処理後、17 時間回復処理では 2813、3750 及び 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、3 時間処理後、41 時間回復処理では 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ について染色体異常細胞の出現数を調べた。

代謝活性化なしの 20 及び 44 時間処理とも、いずれの濃度でも、構造異常を示す細胞は増加しなかった。また、代謝活性化ありの 3 時間処理後、17 時間回復処理では、2813 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で構造異常を示す細胞が増加したが、3750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上では構造異常を示す細胞は増加せず、濃度依存

性は認められなかった。さらに、3時間処理後、41時間回復処理でも、構造異常を示す細胞は増加しなかった。また、代謝活性化ありの場合において数的異常を示す細胞の増加が認められたが、濃度依存性は示さなかった。

以上より、トラマドール塩酸塩はヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験において、代謝活性化なし及び代謝活性化ありの条件下で構造異常を示す細胞の増加が認められたが、再現性はなく、濃度依存性も明らかではなかった。一方、代謝活性化ありの場合において、3回の実験とも数的異常を示す細胞の増加が認められたが、その発現濃度が2813 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (9.4mM) ~ 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (16.7mM) と10mM付近の高濃度であり、その発現頻度は10%未満と低いこと、また濃度依存性も明確でないことから、数的異常については疑陽性と判断した。

2.6.6.4.3 哺乳動物系での *in vivo* 試験

1) マウス、チャイニーズハムスター及びラットを用いる小核試験 (試験番号: XXXXXXXXXX 811 資料番号: 4.2.3.3.2-1、参考資料)

トラマドール塩酸塩の小核誘発能について、NMRI マウス1群雌雄各5匹、チャイニーズハムスター1群雌雄各5匹及びWistar ラット1群雌雄各5匹を用い、1日1回2日間強制経口投与及び腹腔内投与により検討した。投与量は、各動物種におけるLD₅₀値の約1/3あるいは1/2に相当する用量を設定した。

マウスにおける投与量は、強制経口投与で90及び175mg/kg、腹腔内投与で15及び35mg/kgを設定し、骨髄標本採取時期は2回目投与6時間後とした。90及び175mg/kg強制経口投与群、15及び35mg/kg腹腔内投与群における小核を有する多染性赤血球(MNPCE)の全多染性赤血球(PCE)に対する割合(MNPCE/PCE、小核を有する多染性赤血球出現率)に、雌雄でいずれも溶媒対照との間に有意な差は認められなかった。なお、多染性赤血球の全赤血球(TE)に対する割合(PCE/TE、全赤血球中の多染性赤血球の出現率)は、雄の175mg/kg強制経口投与群で減少し、軽度な骨髄抑制を示した。

チャイニーズハムスターにおける投与量は、強制経口投与で200及び400mg/kg、腹腔内投与で50及び100mg/kgを設定し、骨髄標本採取時期は2回目投与6時間後とした。200及び400mg/kg強制経口投与群、50及び100mg/kg腹腔内投与群において小核を有する多染性赤血球出現率は雌雄でいずれも溶媒対照との間に有意な差を認められなかった。なお、全赤血球中の多染性赤血球の出現率は、400mg/kg強制経口投与群の雌雄、50及び100mg/kg腹腔内投与群の雄で増加した。

ラットにおける投与量は、強制経口投与で57及び114mg/kg、腹腔内投与で72及び143mg/kgを設定し、骨髄標本採取時期は2回目投与6時間後とした。57及び114mg/kg強制経口投与群、72及び143mg/kg腹腔内投与群における小核を有する多染性赤血球出現率及び全赤血球中の多染性赤血球の出現率に、雌雄でいずれも溶媒対照のそれらとの間に有意な差は認められなかったものの、増加傾向を示した。なお、143mg/kg腹腔内投与群では、雌雄とも5例中3例に死亡が認められた。

以上より、トラマドール塩酸塩はマウス及びチャイニーズハムスターで小核誘発作用を示さなかった。一方、ラットでは小核を増加させる傾向を示したが、用量依存性は明確ではなく、

疑陽性と判断した。

2) マウスを用いる小核試験 (試験番号: █████ 2████ 資料番号: 4.2.3.3.2-2、評価資料)

トラマドール塩酸塩の小核誘発能について、CD-1 マウス 1 群雌雄各 5 匹を用い、1 日 1 回 2 日間静脈内投与により検討した。投与量は、用量設定試験において死亡が 34.3mg/kg 投与群で雄 3 例中 1 例、雌 3 例中 2 例、49mg/kg 投与群で雄 3 例中 1 例、雌 3 例中 3 例に認められ、LD₅₀ 値が約 38.6mg/kg であったことから、LD₅₀ 値の 65%に相当する 25mg/kg を設定した。骨髄標本採取時期は 2 回目投与 24 及び 48 時間後とした。

25mg/kg 投与群における小核を有する多染性赤血球出現頻度及び多染性赤血球 (PCE) と正染性赤血球 (NCE) との比 (PCE/NCE) に、雌雄でいずれも溶媒対照との間に有意な差は認められなかった。

以上より、トラマドール塩酸塩は小核誘発作用を示さず、生体内での染色体異常誘発能を有さないと判断した。

3) チャイニーズハムスターを用いる染色体異常試験 (試験番号: █████ 812 資料番号: 4.2.3.3.2-3、参考資料)

トラマドール塩酸塩の染色体異常誘発能について、チャイニーズハムスター 1 群雌雄各 4 匹を用い、単回強制経口投与により検討した。投与量は、10、30 及び 90mg/kg を設定し、骨髄標本採取時期は投与 24 時間後とした。

10、30 及び 90mg/kg 投与群での染色体異常を有する細胞の出現頻度及び細胞あたりの染色体異常数は、いずれも溶媒対照に比べ有意な増加を認めなかった。

以上より、トラマドール塩酸塩は染色体異常を増加させず、生体内での染色体異常誘発能を有さないと判断した。

4) ラットを用いる染色体異常試験 (試験番号: 459800 資料番号: 4.2.3.3.2-4、評価資料)

トラマドール塩酸塩の染色体異常誘発能について、Wistar ラット 1 群雌雄各 5 匹を用い、単回強制経口投与により検討した。投与量は、予備試験の結果、250mg/kg 以上の投与群で死亡が認められ、200mg/kg が最大耐量と考えられたことから、10、45 及び 200mg/kg を設定した。骨髄標本採取時期は 10 及び 45mg/kg 投与群では投与 24 時間後、200mg/kg 投与群で投与 24 及び 48 時間後とした。

10、45 及び 200mg/kg 投与群での染色体異常を有する細胞の出現頻度は、いずれも溶媒対照に比べ有意な増加を認めなかった。

以上より、トラマドール塩酸塩は染色体異常を増加させず、生体内での染色体異常誘発能を有さないと判断した。

5) マウスを用いる単回投与による優性致死試験 (試験番号: █████ 389a 資料番号: 4.2.3.3.2-5、参考資料)

トラマドール塩酸塩の優性致死作用について、NMRI マウス (1 群雄 10 匹、雌 20 匹) を用い、

雄マウスに単回強制経口投与及び静脈内投与により検討した。投与量は、強制経口投与では 60、120 及び 350mg/kg、静脈内投与では 11.3、17 及び 22.6mg/kg を設定した。8 週間にわたり雄マウス 1 匹当たり、無処置雌マウス 2 匹と交配させた。

350mg/kg 強制経口投与群及び 22.6mg/kg 静脈内投与群でそれぞれ 1 匹ずつ死亡例を生じたものの、いずれの投与群とも受胎率に影響はなかった。受胎雌動物の着床数及び生存胎児数はいずれも溶媒対照に比べ有意な差を認めなかった。

以上より、トラマドール塩酸塩は単回投与により雄マウスに対して優性致死作用を有しないと判断した。

6) マウスを用いる単回投与による優性致死試験 (試験番号: ██████████ 421a 資料番号: 4.2.3.3.2-6、参考資料)

トラマドール塩酸塩の優性致死作用について、NMRI マウス (1 群雄 10 匹、雌 30 匹) を用い、雄マウスに 1 日 1 回 5 日間強制経口投与及び腹腔内投与により検討した。投与量は、強制経口投与では 10 及び 50mg/kg、腹腔内投与では 10 及び 20mg/kg を設定した。8 週間にわたり雄マウス 1 匹当たり、無処置雌マウス 3 匹と交配させた。

いずれの投与群とも毒性兆候は認められず、受胎率に影響は認められなかった。受胎雌動物の着床数及び生存胎児数はいずれも溶媒対照に比べ有意な差を認めなかった。

以上より、トラマドール塩酸塩は 5 日間投与により雄マウスに対して優性致死作用を有しないと判断した。

2.6.6.5 がん原性試験

1) マウスがん原性試験 (試験番号: 87/██████████001/936 資料番号: 4.2.3.4.1-2、評価資料; 試験番号: ██████████ 907 資料番号: 4.2.3.4.1-1、参考資料)

5 週齢の NMRI マウス、対照群雌雄各 100 匹 (雌雄各 50 匹で 2 群設定)、被験物質投与群雌雄各 50 匹に、0 (対照)、7.5、15、30mg/kg の投与量で、雄は 24 ヶ月間、雌は 21 ヶ月間、飲水投与した (表 2.6.6.5-1)。

投与量は 7.5、15、30mg/kg を設定した。これらの投与量を体表面積換算すると 24、48、96mg/m² (Conversion factor: 3.2) となり、ヒトの 1 日最大投与量 400mg (6.7mg/kg) の体表面積換算 248mg/m² (Conversion factor: 37.0) の約 0.10、0.19、0.39 倍に相当する。

死亡率において、被験物質投与による影響は認められなかった。対照群に比し体重の低値が 30mg/kg 投与群の雄で投与期間後期に軽度ながら認められた。摂餌量、摂水量、眼科学的検査、聴覚検査、尿検査、便潜血検査、血液学的検査、血液化学的検査、器官重量及び剖検において異常は認められなかった。

腫瘍発生率の統計学的処理を対照群 2 群 (対照群-1 及び対照群-5) の合算と被験物質投与群の間で行った結果、肝細胞腺腫の有意な増加が 30mg/kg 投与群の雄で、肺腺腫の有意な増加が 7.5mg/kg 以上の投与群の雌で、組織球肉腫の有意な増加が 30mg/kg 投与群の雌で、それぞれ認められた。

肝細胞腺腫は自然発生的に加齢マウスでよくみられ、特に雄で発生率が高いとされている³⁾。NMRI マウスで肝細胞腺腫の自然発生率は文献的に 0~30%と様々であるが^{3~8)}、30mg/kg 投与群の雄の発生率 12/50 (24%) は、この範囲内に入り、各対照群との間の統計学的処理では、対照群-1 とは有意な差があったが、対照群-5 とは差がなく、対照群のバラツキの範囲内に含まれると考えられる。また、肝臓で有意に増加したのは良性の肝細胞腺腫であり、悪性の肝細胞癌、さらに前癌病変や過形成病変の増加は認められなかった。肺腺腫についても、7.5、15、30mg/kg 投与群の雌の発生率 9/50 (18%)、8/50 (16%)、5/49 (10%) は、報告されている自然発生率 0~29%^{3~8)}から逸脱するものではなく、対照群-5 との比較では 7.5mg/kg 投与群のみ有意であった。また、悪性の肺腺癌及び肺腺腫と肺腺癌の合算はどちらか一方の対照群との比較で有意となり、対照群のバラツキの範囲内と考えられ、肺の増殖性病変の発生率にも対照群との差は認められなかった。30mg/kg 投与群の雌で認められた組織球肉腫の有意な増加は、その発生率 3/49 (6%) が報告されている雌の自然発生率 0~4.1%^{3~8)}をやや上回っていた。しかしながら、本腫瘍はマウスでよくみられること、また各対照群それぞれに対して統計処理を行った結果、有意差が認められなかったことを考慮すると、今回雌の対照群でたまたま本腫瘍が認められなかったために生じた偶発的な変化と考えられた。

非腫瘍性病変としては、慢性腎症の有意な減少が 7.5mg/kg 以上の投与群の雄で認められた。

トキシコキネティクスでは、未変化体及び M1 の血清中濃度が、ほぼ投与量に応じて増加したが、7.5mg/kg 投与群の未変化体濃度はいずれの投与期間においても定量限界未満であった。M1 のグルクロン酸及び硫酸抱合体の血清中濃度は、未変化体及び M1 に比べ高濃度を示し、ほぼ投与量に応じて増加した。また、これら血清中濃度に関し、投与期間による差は認められなかったが、30mg/kg 投与群では雌より雄で高い傾向がみられた。なお、ヒト第 I 相反復投与試験での 1 回最大投与量 (100mg/body) における C_{max} (2.7.2 臨床薬理の概要、2.7.2.2 個々の試験結果の要約、2.7.2.2.2 臨床薬理試験、2.7.2.2.2.1 健康成人における薬物動態、2.7.2.2.2.1.2 第 I 相反復投与試験、表 2.7.2.2.2.1.2-1) は未変化体で 921ng/mL、M1 で 149ng/mL であり、これらと比較して本試験の血中薬物濃度は明らかに低く、安全域のマージンは未変化体で 0.01~0.04 倍、M1 で 0.10~0.21 倍であった。本試験は飲水投与 (薬剤を飲水に溶かして自由摂取) で、血中薬物濃度測定のための採血を、一般的にマウスの摂水活動が乏しいとされる飼育室点灯時に行ったことから⁹⁾、採血時の血中薬物濃度はトラフレベルにあり、摂水行動が活発な飼育室消灯時には、より高い薬物暴露があった可能性が考えられるが、詳細は明らかではなかった。

以上より、本薬はマウスにおける発がん性はないと評価されたが、臨床での暴露量との比較からはヒトの安全性を十分担保することはできなかった。

表 2.6.6.5-1 マウスがん原性試験成績

系統、体重	NMRI、♂: 21.2±3.4g ♀: 20.1±2.8g (投与開始時、mean±2S.D.)									
投与量(mg/kg)	0				7.5		15		30	
	対照群-1		対照群-5		♂	♀	♂	♀	♂	♀
死亡率 (含む瀕死による安楽死処分)	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
	28/50	34/50	30/50	41/50	39/50	33/50	31/50	35/50	33/50	35/50
死亡動物の剖検	-		-		-		-		-	
一般状態	-		-		-		-		-	
体重	-		-		-		-		↓	
摂餌量	-		-		-		-		-	
摂水量	-		-		-		-		-	
眼科学的検査	-		-		-		-		-	
聴覚検査	-		-		-		-		-	
尿検査	-		-		-		-		-	
便潜血検査	-		-		-		-		-	
血液学的検査	-		-		-		-		-	
血液化学的検査	-		-		-		-		-	
器官重量	-		-		-		-		-	
剖検	-		-		-		-		-	
病理組織学的検査 (主な腫瘍並びに肝・肺の過形成 病変及び増殖性変化)										
認められた動物数/評価動物数	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
ハーダー腺：腺腫	3/47	4/45	4/49	5/42	2/37	5/34	2/29	2/36	7/46	5/45
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					-		-		-	
統計結果(vs 対照群-1)					-		-		-	
統計結果(vs 対照群-5)					-		-		-	
肝臓：肝細胞腺腫	3/50	0/50	6/50	0/49	6/50	1/50	9/49	2/50	12/50	1/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					-		-		*	
統計結果(vs 対照群-1)					-		-		*	
統計結果(vs 対照群-5)					-		-		-	
肝臓：肝細胞癌	2/50	0/50	1/50	0/49	1/50	0/50	0/49	0/50	2/50	0/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					-		-		-	
統計結果(vs 対照群-1)					-		-		-	
統計結果(vs 対照群-5)					-		-		-	
肝臓：Hyperplastic focus	2/50	0/50	2/50	0/49	1/50	0/50	0/49	0/50	2/50	0/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					-		-		-	
統計結果(vs 対照群-1)					-		-		-	
統計結果(vs 対照群-5)					-		-		-	
肝臓：Focal dysplasia	0/50	0/50	0/50	0/49	0/50	1/50	0/49	0/50	0/50	0/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					-		-		-	
統計結果(vs 対照群-1)					-		-		-	
統計結果(vs 対照群-5)					-		-		-	

—: 変化なし/有意差なし、↓: 投与期間後期に軽度な低値、*P<0.05: Fisher's exact test

表 2.6.6.5-1 マウスがん原性試験成績 (続き)

投与量(mg/kg)	0				7.5		15		30	
	対照群-1		対照群-5		♂	♀	♂	♀	♂	♀
	♂	♀	♂	♀						
肺：腺腫	12/50	0/50	14/49	2/48	11/50	9/50	11/49	8/50	9/50	5/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					—	*	—	*	—	*
統計結果(vs 対照群-1)					—	**	—	**	—	*
統計結果(vs 対照群-5)					—	*	—	—	—	—
肺：腺癌	2/50	5/50	6/49	1/48	8/50	3/50	5/49	0/50	8/50	5/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)					*	—	—	—	*	—
統計結果(vs 対照群-5)					—	—	—	—	—	—
肺：腺腫+腺癌	14/50	5/50	20/49	3/48	19/50	12/50	16/49	8/50	17/50	10/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					—	**	—	—	—	*
統計結果(vs 対照群-1)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)					—	*	—	—	—	*
肺：Type II cell proliferation	4/50	3/50	0/49	3/48	2/50	1/50	1/49	3/50	3/50	2/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)					—	—	—	—	—	—
下垂体：腺腫	0/41	3/48	1/43	2/44	0/29	6/33	0/28	5/36	0/38	3/41
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)					—	—	—	—	—	—
悪性リンパ腫 (胸腺型)	0/31	2/46	1/29	2/33	0/27	3/27	0/18	0/31	1/32	4/42
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)					—	—	—	—	—	—
悪性リンパ腫 (その他)	5/50	15/50	7/50	12/49	6/36	15/37	2/32	10/39	1/50	16/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)					—	—	—	—	—	—
組織球肉腫	2/50	0/50	1/49	0/49	2/36	0/37	1/32	1/39	0/50	3/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					—	—	—	—	—	*
統計結果(vs 対照群-1)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)					—	—	—	—	—	—
血清中薬物濃度(ng/mL)										
未変化体										
投与6ヵ月時					n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	25.6	n.d.
投与12ヵ月時					n.d.	n.d.	9.9	8.75	37.7	12.2
投与18ヵ月時					n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	13.1	n.d.
M1 ^{a)}										
投与6ヵ月時					n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	24.7	16.9
投与12ヵ月時					4.04	4.33	8.07	12.3	31.3	15.5
投与18ヵ月時					5.22	n.d.	n.d.	n.d.	16.5	8.71
M1-抱合体 ^{b)}										
投与6ヵ月時					113	n.d.	56.9	81.0	306	131
投与12ヵ月時					251	95.6	242	263	735	278
投与18ヵ月時					93.7	NM	97.2	NM	267	NM

—: 有意差なし、*P<0.05、**P<0.01 : Fisher's exact test

NM: 測定せず (対照群は未実施)、n.d.: 定量限界未満

^{a)} トラマドール塩酸塩の代謝物 (モノ-O-脱メチル体)^{b)} M1-グルクロン酸抱合体と M1-硫酸抱合体の合計

2) ラットがん原性試験 (試験番号: 4/88177 資料番号: 4.2.3.4.1-4、評価資料; 試験番号: 921 資料番号: 4.2.3.4.1-3、参考資料)

5週齢のWistarラット、対照群雌雄各100匹(雌雄各50匹で2群設定)、被験物質投与群雌雄各50匹に0(対照)、7.5、15、30mg/kgの投与量で、30ヵ月間飲水投与した(表2.6.6.5-2)。

投与量は7.5、15、30mg/kgを設定した。これらの投与量を体表面積換算すると52.5、105、210mg/m²(Conversion factor: 7.0)となり、ヒトの1日最大投与量400mg(6.7mg/kg)の体表面積換算248mg/m²(Conversion factor: 37.0)の約0.21、0.42、0.85倍に相当する。

死亡率において、被験物質投与による影響は認められなかった。

体重増加抑制が7.5mg/kg以上の投与群で認められた。

摂餌量、摂水量、眼科学的検査、聴覚検査、尿検査、便潜血検査、血液学的検査、血液化学的検査、器官重量及び剖検において異常は認められなかった。

いずれの腫瘍もその発生率において、対照群と差は認められなかった。

非腫瘍性病変としては、慢性腎症の減少が7.5mg/kg以上の投与群の雌で認められた。

トキシコキネティクスでは、未変化体、代謝物M1並びにM1のグルクロン酸及び硫酸抱合体の血清中濃度が、ほぼ投与量に応じて増加した。これら血清中濃度に関し、投与期間による差は認められなかったが、いずれの被験物質投与群も雄より雌で高い傾向がみられた。なお、ヒト第I相反復投与試験での1回最大投与量(100mg/body)におけるC_{max}(2.7.2臨床薬理の概要、2.7.2.2個々の試験結果の要約、2.7.2.2.2臨床薬理試験、2.7.2.2.2.1健康成人における薬物動態、2.7.2.2.2.1.2第I相反復投与試験、表2.7.2.2.2.1.2-1)は未変化体で921ng/mL、M1で149ng/mLであり、本試験の高用量群における血中薬物濃度から求めた安全域の-marginは、未変化体で0.50~0.75倍、M1で1.08~1.31倍であった。本試験は飲水投与(薬剤を飲水に溶かして自由摂取)で、血中薬物濃度測定のための採血を、一般的にラットの摂水活動が乏しいとされる飼育室点灯時(明期)に行ったことから¹⁰⁾、採血時の血中薬物濃度はトラフレベルにあったと推察された。逆に飼育室消灯時(暗期)の摂水は活発で、ラットの暗期の摂水量は明期の約8倍との報告¹⁰⁾もあり、前述の倍率を8倍した場合、暗期の血中薬物濃度はヒト1回最大投与量でのC_{max}の未変化体で最高6倍、M1で最高10倍と推測された。

以上より、本薬はラットにおける発がん性はないと評価され、臨床での暴露量との比較からもヒトの発がん性のリスクは低いと考えられた。

表 2.6.6.5-2 ラットがん原性試験成績

系統、体重		Wistar、♂: 67.7~95.1g ♀: 61.0~89.2g(投与開始時)							
用量(mg/kg)		0		7.5		15		30	
死亡率(含む瀕死による屠殺)	♂	62/100		31/50		32/50		32/50	
	♀	70/100		31/50		29/50		36/50	
死亡動物の剖検		-		-		-		-	
一般状態		-		-		-		-	
体重		-		増加抑制		増加抑制		増加抑制	
摂餌量		-		-		-		-	
摂水量		-		-		-		-	
眼科学的検査		-		-		-		-	
聴覚検査		-		-		-		-	
尿検査		-		-		-		-	
便潜血検査		-		-		-		-	
血液学的検査		-		-		-		-	
血液化学的検査		-		-		-		-	
器官重量		-		-		-		-	
剖検		-		-		-		-	
病理組織学的検査(腫瘍発生数の増加)		-		-		-		-	
病理組織学的検査(非腫瘍性変化)		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
動物数/評価動物数		69/100 34/100		18/35 2/32		23/39 2/29		26/50 1/50	
腎臓:慢性腎症									
血清中薬物濃度(ng/mL) ^{a)}		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
未変化体									
:投与2ヵ月時				NM NM		NM NM		68.5 400.5	
:投与6ヵ月時				38.6 45.0		n.d. 114.8		56.2 375.8	
:投与12ヵ月時				20.6 43.2		25.7 129.4		72.1 132.1	
:投与18ヵ月時				24.4 55.9		32.8 98.8		107.9 192.4	
:投与24ヵ月時				n.d. 53.7		124.9 120.1		694.8 461.5	
:投与30ヵ月時				29.6 12.7		51.2 23.6		95.2 147.1	
M1 ^{b)}									
:投与2ヵ月時				♂ ♀		♂ ♀		♂ ♀	
:投与6ヵ月時				NM NM		NM NM		22.4 132.0	
:投与12ヵ月時		NM		7.3 36.7		8.9 54.9		38.9 134.5	
:投与18ヵ月時				6.9 26.5		22.8 67.8		41.0 99.7	
:投与24ヵ月時				7.7 30.4		30.2 55.3		52.0 101.4	
:投与30ヵ月時				12.2 25.9		62.1 51.4		194.5 160.9	
				16.6 8.8		36.0 10.8		38.8 43.9	
M1-抱合体 ^{c)}									
:投与2ヵ月時				♂ ♀		♂ ♀		♂ ♀	
:投与6ヵ月時				NM NM		NM NM		231 651	
:投与12ヵ月時				73 312		179 439		301 705	
:投与18ヵ月時				117 322		323 582		512 629	
:投与24ヵ月時				116 323		203 456		441 676	
:投与30ヵ月時				109 244		787 460		1348 911	
				181 151		585 128		422 490	

—: 変化なし、NM:測定せず(対照群は未実施)、n.d.: 定量限界未満

^{a)} 午前9時-10時の群平均値

^{b)} トラマドール塩酸塩の代謝物(モノ-O-脱メチル体)

^{c)} M1-グルクロン酸抱合体とM1-硫酸抱合体の合計

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

1) ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（試験番号： 308/A 資料番号：4.2.3.5.1-1、評価資料）

SD ラット 1 群雌雄各 30 匹に 0（対照）、10、25、50mg/kg の投与量で、雄は交配前 92 日（自然分娩群）又は 85 日（帝王切開群）から交配期間終了時まで、雌は交配前 14 日から妊娠 20 日（帝王切開群）又は 22 日（自然分娩群）まで強制経口投与した（表 2.6.6.6-1）。各群雌雄各 15 匹ずつを帝王切開群、自然分娩群とし、親動物、胎児及び出生児に及ぼす影響について検討した。被験物質を蒸留水に溶解し、5mL/kg の容量で 1 日 1 回投与した。対照群には同量の蒸留水を投与した。

表 2.6.6.6-1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験成績

系統、体重		SD、 ♂:159.1~246.0g ♀:170.4~237.4g(投与開始時)				
投与量(mg/kg)		0	10	25	50	
親動物	死亡率	♂	1 ^{a)} /30	0/30	0/30	0/30
		♀	0/30	0/30	0/30	1/30 (死因不明)
	一般状態	—	—	—	—	
	体重	—	—	増加抑制	増加抑制	
	摂餌量	—	—	↓	↓	
剖検	—	—	—	—		
親動物生殖	性周期、交尾率、受胎率、黄体数、着床数、妊娠期間、分娩状態	—	—	—	—	
胎児	評価母体数	15	15	15	15	
	妊娠不成立雌動物数	2	2	2	4	
	死胚数、生存胎児数、生存胎児体重、胎盤重量、性比、外表検査、内臓検査、骨格検査	—	—	—	—	
出生児	評価母体数	15	15	15	14	
	妊娠不成立雌動物数	2	4	0	2	
	外表検査、出生 3 日後生存率、離乳時生存率、体重、身体発達、感覚機能、運動機能、学習及び記憶、生殖能力、剖検	—	—	—	—	

—: 変化なし、↓: 減少

^{a)}1 例除外

投与量はラット反復投与毒性試験の結果から母動物に影響が認められる 50mg/kg を高用量とし、以下中用量を 25mg/kg、低用量を 10mg/kg とした。

50mg/kg 投与群の雌 1 例で死亡が認められたが、死因は不明であった。25mg/kg 以上の投与群で体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。親動物の生殖能、出産、離乳、胎児及び出生児の発育に関しては、何ら影響は認められなかった。

以上より無毒性量は、親動物の一般毒性に対して 10mg/kg/日、親動物の生殖能、胎児及び出生児に対して 50mg/kg/日とみなされた。

2) 胚・胎児発生への影響に関する試験

(1) ラット胚・胎児発生への影響に関する試験 (試験番号: █████ 83/301 資料番号: 4.2.3.5.2-1、評価資料)

SD 妊娠ラット (妊娠 1 日目体重範囲; 199.2~279.3g) 1 群 30~35 匹に 0 (対照)、25、50、75mg/kg の投与量で、妊娠 7 日から 17 日まで強制経口投与した。各群 21~24 匹を帝王切開群、9~12 匹を自然分娩群とし、母動物、胎児及び出生児に及ぼす影響について検討した(表 2.6.6.6-2)。被験物質を蒸留水に溶解し、5mL/kg の容量で 1 日 1 回投与した。対照群には同量の蒸留水を投与した。

表 2.6.6.6-2 ラット胚・胎児発生への影響に関する試験成績

系統、体重		♀: SD、 199.2~279.3g(妊娠 1 日目)			
投与量(mg/kg)		0	25	50	75
母動物	死亡率	0/30	0/34	0/35	0/34
	一般状態	—	—	—	—
	体重	—	増加抑制	増加抑制	増加抑制
	摂餌量	—	↓	↓	↓
母動物生殖	黄体数、着床数、着床前死亡率、妊娠期間、分娩状態、胎盤重量	—	—	—	—
胎児	帝王切開母動物数	21	24	23	24
	生存胎児数、生存胎児体重、性比、外表検査	—	—	—	—
	内臓検査 尿管拡張発現率	—	↑	↑	↑
	骨格検査 胸骨不完全骨化発現率	—	—	↑	↑
出生児	自然分娩母動物数	9	10	12	10
	出生 4 日後生存率、離乳時生存率、感覚機能、運動機能、学習及び記憶、剖検	—	—	—	—
	体重	—	—	—	↓
	膈開口比率 (生後 40 日)	—	—	—	↓
	耳介の挙上、耳管開口比率 (生後 16 日)	—	—	—	↓
	自発摂餌比率 (生後 19 日)	—	—	—	↓

—: 変化なし、↑: 増加、↓: 減少

投与量はラット反復投与毒性試験の結果から短期間の投与で母動物に影響が認められる75mg/kgを高用量とし、以下中用量を50mg/kg、低用量を25mg/kgとした。

母動物で死亡例は認められなかった。25mg/kg以上の投与群で体重の低値及び摂餌量の減少が認められた。母動物の生殖能に影響はみられなかったが、胎児では25mg/kg以上の投与群で尿管拡張の発現率の増加が、50mg/kg以上の投与群で胸骨不完全骨化の発現率の増加が、出生児では75mg/kg投与群で体重の低値、出生後16日での耳管の開口比率減少及び耳介の挙上、出生後19日での自発摂餌比率減少並びに体重の低値に関連した出生後40日での膈開口比率の減少が、それぞれ認められた。これらの胎児及び出生児の変化は、母動物の一般状態の不良との関連が示唆されたが、両者の相関性は必ずしも明確ではなかった。

以上より無毒性量は、母動物の一般毒性に対して25mg/kg/日未満、母動物の生殖能に対して75mg/kg/日、胎児に対して25mg/kg/日未満、出生児に対して50mg/kg/日と、それぞれみなされた。

(2) ウサギ胚・胎児発生への影響に関する試験(試験番号: ■-90325 資料番号: 4.2.3.5.2-2、評価資料)

5ヵ月齢のNZW妊娠ウサギ(妊娠0日目体重範囲; 3146~4202g) 1群17ないしは18羽に0(対照)、10、50、125、175mg/kgの投与量で、妊娠7日から19日まで強制経口投与し、母動物及び胎児に及ぼす影響について検討した(表2.6.6.6-3)。被験物質を1%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液に懸濁し、10mL/kgの容量で1日1回投与した。対照群には同量の1%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液を投与した。

妊娠ウサギ1群3~7羽に0(対照)、1、10、25、50、75、125mg/kgの投与量で妊娠7日から19日まで強制経口投与した予備試験では、125mg/kg投与群で便少量、体重減少、摂餌量減少、胎児体重減少が軽度に認められた。したがって、本試験の投与量は死に至らないが母動物に明らかな毒性が予想される175mg/kgを高用量とし、以下軽度な毒性がみられる125mg/kg、無毒性量が期待される50mg/kg、更に低用量の10mg/kgを設定した。

母動物では、被験物質投与に起因する死亡が175mg/kg投与群の1例で妊娠16日に認められた。本例の剖検では特に異常所見は認められず、痙攣による呼吸困難で死亡したものと推察された。この他、50及び175mg/kg投与群の各1例が投与過誤により死亡し、125mg/kg投与群の1例は後肢脱臼により安楽死処分とした。母動物の一般状態の変化としては、125mg/kg以上の投与群で痙攣に加え、虚脱、呼吸促迫、尿量・便量の減少が、175mg/kg投与群で自発運動の低下が認められた。またこれらの投与群では体重及び摂餌量の減少もみられた。母動物の生殖能に影響はみられなかったが、母動物の一般状態の不良が原因と考えられる生存胎児体重の減少が125mg/kg以上の投与群で認められた。

母動物のトキシコキネティクスで、未変化体及び代謝物M1の血漿中濃度は、ほぼ投与量に応じて増加し、投与初日と最終投与日とで明らかな差はみられなかった。なお、ヒト第I相反復投与試験での1回最大投与量(100mg/body)におけるC_{max}(2.7.2 臨床薬理の概要、2.7.2.2 個々の試験結果の要約、2.7.2.2.2 臨床薬理試験、2.7.2.2.2.1 健康成人における薬物動態、2.7.2.2.2.1.2 第I相反復投与試験、表2.7.2.2.2.1.2-1)は未変化体で921ng/mL、M1で149ng/mLであり、本試

験の最終投与時の血中薬物濃度から求めた安全域のマージンは、50mg/kg 投与群で未変化体が 0.66 倍、M1 が 1.79 倍、175mg/kg 投与群で未変化体が 4.98 倍、M1 が 3.27 倍であった。

以上より無毒性量は、母動物の一般毒性に対して 50mg/kg/日、母動物の生殖能に対して 175mg/kg/日、胎児に対して 50mg/kg/日と、それぞれみなされ、臨床での暴露量との比較から妊婦の一般状態には十分配慮する必要があると考えられるが、生殖能及び直接的な胎児への影響の可能性は低いと考えられた。

表 2.6.6.6-3 ウサギ胚・胎児発生への影響に関する試験成績

系統、体重		♀: New Zealand White、3146~4202g(妊娠 0 日目)				
投与量(mg/kg)		0	10	50	125	175
母動物	死亡率	0/18	0/17	1/18 (投与過誤)	1/18 (後肢脱臼の為安楽死処分)	2/18 (内 1 例投与過誤)
	一般状態	—	—	—	呼吸促進、間代性痙攣、 尿量・便量減少、虚脱	呼吸促進、間代性痙攣、 尿量・便量減少、虚脱、 自発運動の低下
	体重	—	—	—	↓	↓
	摂餌量	—	—	—	↓	↓
	剖検	—	—	—	—	—
	血漿中薬物濃度(ng/mL) ^{a)} 未変化体					
	初回投与時(妊娠 7 日)	0	25	396	2949	5998
最終投与時(妊娠 19 日)	0	23	608	4078	4583	
M1 ^{b)}						
初回投与時(妊娠 7 日)	0	57	243	829	814	
最終投与時(妊娠 19 日)	0	66	267	374	487	
母動物生殖	流産数/全吸収胚母動物数	1	1	0	0	1
	黄体数、着床数、 着床前死亡率	—	—	—	—	—
胎児	検査母動物数	17	16	17	17	14
	生存胎児体重	—	—	—	↓	↓
	吸収胚数、生存胎児数、性比、 外表検査、内臓検査、骨格検査	—	—	—	—	—

—: 変化なし、↓: 低値/減少

a) 投与後 1 時間の群平均値

b) トラマドール塩酸塩の代謝物 (モノ-O-脱メチル体)

3) ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 (試験番号: ■-90337
資料番号: 4.2.3.5.3-1、評価資料)

10 週齢の SD 妊娠ラット (妊娠 0 日目体重範囲; 192~266g) 1 群 24 匹または 25 匹に 0 (対照)、8、20、40、80mg/kg の投与量で、妊娠 15 日から授乳 21 日まで強制経口投与し、母動物及

び出生児に及ぼす影響について検討した(表 2.6.6.6-4)。被験物質を 1%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液に懸濁し、10mL/kg の容量で 1 日 1 回投与した。対照群には同量の 1%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液を投与した。

妊娠ラット 1 群 8 匹に 0 (対照)、25、50、75、100、125mg/kg の投与量で妊娠 15 日から授乳 4 日まで強制経口投与した予備試験では、125mg/kg 投与群で死亡例が、75mg/kg 以上の投与群で流涙、紅涙、出生児体重の減少等が、25mg/kg 以上の投与群で眼球突出、散瞳、流涎、摂餌量減少が、それぞれ認められた。したがって、本試験の投与量は死に至らないが母動物に明らかな毒性が予想される 80mg/kg を高用量とし、以下軽度な毒性がみられる 40mg/kg、無毒性量が期待される 20mg/kg、更に低用量の 8mg/kg を設定した。

母動物で死亡例は認められなかった。母動物の一般状態の変化として、眼球突出が 8mg/kg 以上の投与群で、散瞳が 20mg/kg 以上の投与群で、また腹部脱毛の発現例数の増加が 40mg/kg 以上の投与群で、それぞれ認められた。また全ての被験物質投与群で体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。母動物の生殖能に影響はみられなかったが、出生児の出生 4 日後生存率の低下及び体重の低値が 80mg/kg 投与群で認められ、その原因として母動物の一般状態の不良に伴う哺乳不良が考えられた。

以上より無毒性量は、母動物の一般毒性に対して 8mg/kg/日未満、母動物の生殖能に対して 80mg/kg/日、出生児に対して 40mg/kg/日と、それぞれみなされた。

表 2.6.6.6-4 ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験成績

系統、体重		♀: SD、192~266g(妊娠 0 日目)				
投与量(mg/kg)		0	8	20	40	80
母動物	死亡率	0/25	0/24	0/25	0/25	0/25
	一般状態	—	眼球突出	眼球突出、散瞳	眼球突出、散瞳、腹部脱毛	眼球突出、散瞳、腹部脱毛
	体重	—	増加抑制	増加抑制	増加抑制	増加抑制
	摂餌量	—	↓	↓	↓	↓
	剖検	—	—	—	—	—
母動物生殖	妊娠期間、分娩状態、着床数	—	—	—	—	—
出生児	出生児数、離乳時生存率、出生児剖検	—	—	—	—	—
	出生 4 日後生存率	—	—	—	—	↓
	体重	—	—	—	—	↓
	死亡出生児剖検 哺乳不良	—	—	—	+	+

—: 変化なし、↓: 減少ないしは低下

4) 新生児を用いた試験

該当試験なし。

2.6.6.7 局所刺激性試験

該当試験なし。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性試験

該当試験なし。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

該当試験なし。

2.6.6.8.3 毒性発現の機序に関する試験

該当試験なし。

2.6.6.8.4 依存性試験

該当試験なし。

2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験

該当試験なし。

2.6.6.8.6 不純物の毒性試験

該当試験なし。

2.6.6.8.7 その他の試験

該当試験なし。

2.6.6.9 考察及び結論

単回投与毒性試験では、LD₅₀値がマウスの強制経口投与で雄 286mg/kg、雌 447mg/kg、静脈内投与で雌雄とも 48mg/kg、ラットの強制経口投与で雄 279mg/kg、雌 289mg/kg、静脈内投与で雄 60mg/kg、雌 62mg/kg であった。イヌでは雌雄とも 60mg/kg 投与でも死亡はみられず、最小致死量は 60mg/kg 以上であった。一般状態の変化として、マウス、ラット、イヌともに痙攣等が観察されたが、中枢性の鎮痛剤にも認められる症状であり、本薬に特異的なものではなかった。

反復経口投与毒性試験では、ラットの 6 ヶ月間投与で 25mg/kg 以上の投与群に痙攣等の一般

状態の変化が認められ、無毒性量は 10mg/kg/日であった。本試験ではトキシコキネティクスを実施しなかったが、ラットに 20mg/kg/日を 28 日間反復経口投与した薬物動態試験の結果から、無毒性量における C_{max} を推定すると、未変化体が雄で 56ng/mL、雌で 320ng/mL、代謝物である M1 が雄で 41ng/mL、雌で 74ng/mL となり、ヒト第 I 相反復投与試験での 1 回最大投与量 (100mg/body) における C_{max} (未変化体 : 921ng/mL、M1 : 149ng/mL) より低く、安全域のマージンは未変化体で 0.06~0.35 倍、M1 で 0.28~0.50 倍と、暴露量の比較からはヒトでの安全性を十分担保できていないことから、特に痙攣は臨床使用時の留意すべき事象に相当すると考える。投与期間終了時の病理学的検査では 60mg/kg 投与群で、胸腺の小型化、肝細胞核の小型化及び肺重量の増加が認められたが、毒性学的に重篤な病理組織学的所見は認められなかった。また本試験では、自咬による脱毛が 10mg/kg 以上の投与群で認められ、これは腹、胸、首ないしは前肢の毛を咬んで抜こうとする行動であったが、6 ヶ月間の投与期間を通して各動物とも 1~2 回散発的に認められたに過ぎず、毒性学的意義はないと判断された。Thomas らは、サル及びラットに硫酸モルヒネを延髄後角に投与すると、顔面への掻き動作が惹起され、この反応はナロキソンで拮抗されることを報告しており^{1,2)}、一般にオピオイド受容体の刺激は掻痒を招くと考えられている。したがって、自咬は本薬のオピオイド受容体を介した作用による掻痒に対して生じた可能性が示唆された。なお、上述した変化はいずれも休薬により回復しており、可逆性の変化であった。イヌの 52 週間投与試験では、10mg/kg 以上の投与群で散瞳及び体重増加抑制が、24mg/kg 以上の投与群で更に摂餌量の減少が、それぞれ認められたが、散瞳は本薬の NA の再取り込み阻害作用及びムスカリン性アセチルコリン受容体抑制作用が関与したと考えられ、10mg/kg 投与群の体重増加抑制は摂餌量の減少を伴わないごく軽度な変化であったことから、毒性学的には 10mg/kg/日が無毒性量であると評価した。ただし、本試験の無毒性量における未変化体の血中濃度 (投与 50 週時、雄 : 23.3ng/mL、雌 : 19.8ng/mL) は、前述のヒト第 I 相反復投与試験での 1 回最大投与量 (100mg/body) における C_{max} より明らかに低く、安全域のマージンは未変化体で 0.02~0.03 倍と、暴露量の比較からはヒトでの安全性を十分担保できていない。また、本薬の臨床試験で食欲不振が報告されており、食欲減退及びそれに伴う体重減少は、臨床使用時の留意すべき事象であると考えられる。その他、投与期間終了時の病理組織学的検査を含め、本薬による影響は認められなかった。以上のようにラットでは単回投与毒性試験と同様の症状が観察されたが、ラット、イヌともに反復投与により毒性が重篤化することはなかった。

遺伝毒性試験では、*in vitro* 及び *in vivo* 試験の一部 (マウスリンフォーマ TK 試験の代謝活性化ありの条件下、ヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験、ラットを用いる小核試験) で陽性ないしは濃度/用量依存性を欠く疑陽性となった。しかしながら、マウスリンフォーマ TK 試験の代謝活性化ありの条件下で突然変異誘発頻度を増加させなかった濃度 (50 μ g/mL) 及びヒト末梢血リンパ球を用いる染色体異常試験で染色体異常誘発頻度を増加させなかった濃度 (3200 μ g/mL) はヒトに 100mg/body を投与した時の暴露量 (921ng/mL) と比較すると、それぞれ 54 倍及び 3474 倍の開きがあった。また、ラットに 57~143mg/kg を投与した小核試験で疑陽性を示したが、明らかな毒性兆候を示す 200mg/kg まで投与したラットを用いる染色体異常試験では陰性であり、その他の *in vivo* 試験でも全て陰性であったことから、総合的にヒトに対して

遺伝毒性のリスクは低いものと評価した。

がん原性試験では、マウスの雄 24 ヶ月間、雌 21 ヶ月間投与で 30mg/kg 投与群の雄に肝細胞腺腫の発生率の増加が、7.5mg/kg 以上の投与群の雌に肺腺種の発生率の増加が、それぞれ認められた。しかしながらこれらの腫瘍は、加齢マウスによくみられる自然発生腫瘍であり、発生率も文献値^{3~8)}を逸脱するものではなかった。またラットの 30 ヶ月間投与試験では、これらの腫瘍発生率の増加は全く認められなかった。トキシコキネティクスにおいて、高用量群で得られた最高の血中濃度はマウスでは未変化体が 37.7ng/mL (雄) 及び 12.2ng/mL (雌)、M1 が 31.3ng/mL (雄) 及び 16.9ng/mL (雌) であり、ラットでは未変化体が 694.8ng/mL (雄) 及び 461.5ng/mL (雌)、M1 が 194.5ng/mL (雄) 及び 160.9ng/mL (雌) であった。これらの値を、前述のヒト第 I 相反復投与試験での 1 回最大投与量 (100mg/body) における C_{max} と比較すると、マウスでは明らかに低く、安全域のマージンは未変化体で 0.01~0.04 倍、M1 で 0.10~0.21 倍であったが、ラットでは同等と考えられ、安全域のマージンは、未変化体で 0.50~0.75 倍、M1 で 1.08~1.31 倍であった。がん原性試験は飲水投与 (薬剤を飲水に溶かして自由摂取) であり、血中薬物濃度測定のための採血を、げっ歯類では一般的に摂水活動が乏しいとされる飼育室点灯時 (明期) に行ったことから^{9,10)}、採血時の血中薬物濃度はトラフレベルにあったと推察される。逆に飼育室消灯時 (暗期) の摂水は活発で、ラットの暗期の摂水量は明期の約 8 倍との報告¹⁰⁾もあり、ラットの暗期の血中薬物濃度はヒト 1 回最大投与量での C_{max} より高く推移していたと推測される。したがって臨床での暴露量との比較からも、ヒトの発がん性のリスクは低いと考える。

生殖発生毒性試験では、ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験で 25mg/kg 以上の投与の親動物に体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められたが、親動物の生殖能、胎児及び出生児には何ら異常は認められなかった。したがって、無毒性量は親動物の一般毒性で 10mg/kg/日、親動物の生殖能、胎児及び出生児で 50mg/kg/日であった。ラットの胚・胎児発生への影響に関する試験では、25mg/kg 以上の投与群で母動物に体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。母動物の生殖能に影響はみられなかったが、尿管拡張 (25mg/kg 以上) 及び胸骨不完全骨化 (50mg/kg 以上) の発現率の増加が胎児に、体重の低値、耳介の挙上、耳管の開口比率減少、自発摂餌比率減少及び体重の低値に関連した膈開口比率の減少が 75mg/kg 投与群の出生児に、それぞれ認められた。したがって、無毒性量は母動物の一般毒性で 25mg/kg/日未満、母動物の生殖能で 75mg/kg/日、胎児で 25mg/kg/日未満、出生児では 50mg/kg/日であった。またウサギの胚・胎児発生への影響に関する試験では、125mg/kg 以上の投与群で母動物に痙攣、虚脱、呼吸促進、尿量・便量の減少、体重増加抑制及び摂餌量の減少が、175mg/kg 投与群で自発運動の低下が認められた。母動物の生殖能に影響はみられなかったが、母動物の一般状態の不良が原因と考えられる生存胎児体重の減少が 125mg/kg 以上の投与群に認められた。したがって、無毒性量は母動物の一般毒性で 50mg/kg/日、母動物の生殖能で 175mg/kg/日、胎児では 50mg/kg/日であった。本試験の最終投与時の血中濃度は、50mg/kg 投与群で未変化体が 608ng/mL、M1 が 267ng/mL、175mg/kg 投与群で未変化体が 4583ng/mL、M1 が 487ng/mL で、前述のヒト第 I 相反復投与試験での 1 回最大投与量 (100mg/body) における C_{max} との比較から求めた安全域のマージンは、50mg/kg 投与群で未変化体が 0.66 倍、M1 が 1.79 倍、175mg/kg 投与群で未変化体が 4.98

倍、MI が 3.27 倍であった。このように臨床での暴露量との比較から、妊婦の一般状態には十分配慮する必要があると考えられるが、生殖能及び直接的な胎児への影響の可能性は低いと考える。ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、8mg/kg 以上の投与の母動物に眼球突出、体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められ、母動物の生殖能に影響はみられなかったものの、80mg/kg 投与群の出生児に生存率の低下及び体重の低値が認められたことから、無毒性量は母動物の一般毒性で 8mg/kg/日未満、母動物の生殖能で 80mg/kg/日、出生児では 40mg/kg/日であった。以上のように母動物に体重増加抑制や摂餌量の減少がみられた投与量で、胎児及び出生児の変化（体重の低値、出生 4 日後生存率の低下、膈開口比率の低下等）が認められたが、生殖能への影響、催奇形性は全く認められなかった。

以上、本薬の投与により認められた痙攣等の一般状態の変化は、中枢性の鎮痛剤にも認められる症状であり、本薬に特異的なものではなかった。反復投与により毒性が重篤化することはなく、遺伝毒性のリスクは低く、またがん原性は認められなかった。生殖発生毒性試験では母動物への影響はみられたものの、生殖能への影響、奇形及び胚・胎児毒性は認められなかった。

2.6.6.10 図表

図表は、本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.6.11 参考文献

- 1) Thomas DA, Hammond DL. Microinjection of morphine into the rat medullary dorsal horn produces a dose-dependent increase in facial scratching. *Brain Res.* 1995;695:267-70. <資料番号 4.3.2-17>
- 2) Thomas DA, Williams GM, Iwata K, Kenshalo DR, Dubner R. The medullary dorsal horn. A site of action of morphine in producing facial scratching in monkeys. *Anesthesiology.* 1993;79:548-54. <資料番号 4.3.2-18>
- 3) Bomhard E, Mohr U. Spontaneous tumors in NMRI mice from carcinogenicity studies. *Exp Pathol.* 1989;36:129-45. <資料番号 4.3.2-19>
- 4) Bomhard E. Frequency of spontaneous tumours in NMRI mice in 21-month studies. *Exp Toxic Pathol.* 1993;45:269-89. <資料番号 4.3.2-20>
- 5) Kaspereit J, Deerberg F. Tumour incidence and tumour spectrum of male Han: NMRI mice. *Z Versuchstierkd.* 1987; 30:105-9. <資料番号 4.3.2-21>
- 6) Rehm S, Rapp KG, Deerberg F. Influence of food restriction and body fat on life span and tumour incidence in female outbred Han: NMRI mice and two sublines. *Z Versuchstierk.* 1985;27:249-83. <資料番号 4.3.2-22>
- 7) Weisse I, Köllmer H, Tilov T, Stötzer H. Spontantumoren bei einem NMRI/Mäuse-Auszuchtstamm. *Z Versuchstierk.* 1975;17 Suppl:91-8. <資料番号 4.3.2-23>
- 8) Historical control data on neoplastic findings in mice (planned sacrifices after 78 weeks) compiled from RCC studies. Itingen (Switzerland): RCC Ltd.; 1999. <資料番号 4.3.2-24>

- 9) Ikeda T, Abe T, Tashiro K. An actograph for small laboratory animals controlled by a personal computer. *Exp Anim.* 1987;36:453-7. <資料番号 4.3.2-26>
- 10) Torii R, Shimoda K, Hanada K, Takahashi K. Development of photoperiod-controllable clean rack for rats: circadian rhythms of water intake and blood corticosterone levels. *Exp Anim.* 1985;34:57-62. <資料番号 4.3.2-27>

トラマールカプセル 25mg

トラマールカプセル 50mg

医薬品製造販売承認申請書 添付資料

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.7 毒性試験概要表

日本新薬株式会社

目 次

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1	毒性試験：一覧表	1
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	4
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	5
2.6.7.4	毒性試験：被験物質一覧	6
2.6.7.5	単回投与毒性試験	7
2.6.7.6	反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験	8
2.6.7.7	反復投与毒性試験：重要な試験	9
2.6.7.8	<i>In Vitro</i> 遺伝毒性試験	12
2.6.7.9	<i>In Vivo</i> 遺伝毒性試験	19
2.6.7.10	がん原性試験	26
2.6.7.11	生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験	33
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	34
2.6.7.13	生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験	38
2.6.7.14	生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	43
2.6.7.15	新生児を用いた試験	45
2.6.7.16	局所刺激性試験	45
2.6.7.17	その他の毒性試験	45

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

一覧表

被験物質：トラマドール塩酸塩

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	
								Vol.	Section
単回投与 毒性試験	NMRI マウス	強制経口	単回	0,200,300, 400,500	適	■ (独)	■ 1788	IV	4.2.3.1-1
		静脈内	単回	0,30,50,100					
	Wistar ラット	強制経口	単回	0,200,300, 400,500	適	■ (独)	■ 1789	IV	4.2.3.1-2
		静脈内	単回	0,50,60,70,80					
	Beagle イヌ	強制経口	単回	0,25,40,60	適	■ (米)	1367	IV	4.2.3.1-3
	反復投与 毒性試験	Wistar ラット	強制経口	6ヵ月間	0,10,25,60 ^b	適用外	■ (独)	■ 649	IV
							■ 264		4.2.3.2-2
Beagle イヌ		強制経口	52週間	0,10,24,40 ^b	適	■ (米)	■ -90323	IV	4.2.3.2-3
遺伝毒性 試験	ネズミチ フス菌	<i>In vitro</i>	—	S9(-,+): 0,0.1,1,10, 100,1000	適	■ (独)	■ 232/A	IV	4.2.3.3.1-1
	ネズミチ フス菌, 大腸菌	<i>In vitro</i>	—	本試験 1 S9(-,+): 0.8, 40,200,1000, 5000 本試験 2 S9(-,+): 0, 1000,2000, 3000,4000, 5000	適	■ (英)	■ 2/S	IV	4.2.3.3.1-2
	マウスリン パ腫細胞	<i>In vitro</i>	—	試験 1 S9(-): 0,250, 500,750, 1000,1250, 1500,2000, 2500,3000 S9(+): 0,10, 50,100,200, 300,400, 500,625,750 試験 2 S9(-): 0,125, 250,500, 1000,1250, 1500,2000, 2500 S9(+): 0,10, 100,200, 300,400, 500,625,750 試験 3 S9(+): 0,10, 50,100,200, 300,400, 500,625,750	適	■ (英)	■ 12/891422	IV	4.2.3.3.1-3

社
Ltd.

—：該当せず

a：細菌を用いる *in vitro* 試験の場合は適用量 (µg/plate) を表し、哺乳動物細胞系を用いる *in vitro* 試験の場合は適
用濃度 (µg/mL) を示す。

b：反復投与毒性試験の下線を施した投与量は、無毒性量 (NOAEL) を示す。

一覧表 (続き)

被験物質：トラマドール塩酸塩

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
遺伝毒性試験	CHO細胞	<i>In vitro</i>	—	試験 1 S9(-,+): 0, 2500,3000, 3500,4000, 4500,5000 試験 2 S9(-): 0, 3000,3500, 4000,4500, 5000 S9(+): 0, 500,1000, 2000,3000, 5000	適	■ (英)	■ 13/90864	IV 4.2.3.3.1-4
	ヒト末消血リンパ球	<i>In vitro</i>	—	試験 1 S9(-,+): 0, 211.2,281.6, 375.4,500.6, 667.4,889.9, 1187,1582, 2109,2813, 3750,5000 試験 2 S9(-): 0, 343.6,429.5, 536.9,671.1, 838.9,1049, 1311,1638, 2048,2560, 3200,4000 S9(+):0,1049, 1311,1638, 2048,2560, 3200,4000, 5000 試験 3 S9(-,+): 0, 211.2,281.6, 375.4,500.6, 667.4,889.9, 1187,1582, 2109,2813, 3750,5000	適	■ (英)	■ 2 ■	IV 4.2.3.3.1-5
NMRIマウス	強制経口	2日間	0,90,175	適用外	■ (独)	■ 811	IV 4.2.3.3.2-1	
マウス	腹腔内	2日間	0,15,35					
チャイニーズハムスター	強制経口	2日間	0,200,400					
スター	腹腔内	2日間	0,50,100					
Wistarラット	強制経口	2日間	0,57,114					
	腹腔内	2日間	0,72,143					
CD-1マウス	静脈内	2日間	0,25	適	■ (英)	■ 2 ■	IV 4.2.3.3.2-2	
チャイニーズハムスター	強制経口	単回	0,10,30,90	適用外	■ (独)	■ 812	IV 4.2.3.3.2-3	

Ltd.

社

— : 該当せず

a : 哺乳動物細胞系を用いる *in vitro* 試験の場合は適用濃度 (µg/mL) を示す。

一覧表(続き)

被験物質：トラマドール塩酸塩

試験の種類	動物種/系統	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	
遺伝毒性試験	Wistarラット	強制経口	単回	0,10,45,200	適	■(独)	459800	IV	4.2.3.3.2-4
	NMRIマウス	強制経口 静脈内	単回	0,60,120,350	適用外	■(独)	■389a	IV	4.2.3.3.2-5
			単回	0,11.3,17, 22.6					
NMRIマウス	強制経口 腹腔内	5日間 5日間	0,10,50 0,10,20	適用外	■(独)	■421a	IV	4.2.3.3.2-6	
がん原性試験	NMRIマウス	飲水	M:24ヵ月間 F:21ヵ月間	0,7.5,15,30	適用外 ^a	■(独) ^a	■907 87■001/936	IV	4.2.3.4.1-1 4.2.3.4.1-2
			Wistarラット	30ヵ月間	0,7.5,15,30	適用外 ^a	■(独) ^a	■921 ■4/88177	IV
生殖発生毒性試験	SDラット	強制経口	雄:交配前 92 又は 85 日~交配 期間 雌:交配前 14 日~妊 娠 20 又は 22 日	0,10,25,50	適	■(独)	■308/A	IV	4.2.3.5.1-1
	SDラット	強制経口	雌:妊娠 7 日~妊娠 17 日 ^b	0,25,50,75	適	■(独)	■83/301	IV	4.2.3.5.2-1
	NZWウサギ	強制経口	雌:妊娠 7 日~妊娠 19 日 ^b	0,1,10,25,50, 75,125	適	■(米)	■-90325	IV	4.2.3.5.2-2
		強制経口	雌:妊娠 7 日~妊娠 19 日 ^b	0,10,50,125, 175					
SDラット	強制経口	雌:妊娠 15 日~授乳 4 日 ^b	0,25,50,75, 100,125	適	■(米)	■-90337	IV	4.2.3.5.3-1	
	強制経口	雌:妊娠 15 日~授乳 21 日 ^b	0,8,20,40,80						

社

, Inc.

a : ■, Ltd.、英)で実施した病理組織学的検査は GLP 適用である。

b : 雌の妊娠期又は妊娠期から授乳期にかけて投与

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：トラマドール塩酸塩

試験の種類	試験系	投与方法	投与量 (mg/kg)	GLP 適用	試験番号	記載箇所	
						Vol.	Section
52週間反復投与毒性試験	イヌ	強制経口	10,24,40	適	■■■■-90323	IV	4.2.3.2-3
がん原性試験	マウス	飲水	7.5,15,30	適用外	■■■■ 907	IV	4.2.3.4.1-1
がん原性試験	ラット	飲水	7.5,15,30	適用外	■■■■ 921	IV	4.2.3.4.1-3
胚・胎児発生への影響に関する試験	ウサギ	強制経口	10,50,125,175	適	■■■■-90325	IV	4.2.3.5.2-2

2.6.7.3 トキシコキネティクス

トキシコキネティクス試験成績の一覧

被験物質：トラマドール塩酸塩

未変化体の血漿/血清中濃度(ng/mL)

1日投与量 (mg/kg)	マウス ^a		ラット ^b		イヌ ^c		ウサギ ^d	ヒト ^e
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雌	
1.7	—	—	—	—	—	—	—	342
7.5	n.d.	n.d.	20.6	43.2	—	—	—	—
10	—	—	—	—	15.5	6.5	25	—
15	9.9	8.75	25.7	129.4	—	—	—	—
24	—	—	—	—	83.5	44.3	—	—
30	37.7	12.2	72.1	132.1	—	—	—	—
40	—	—	—	—	19.5	83.8	—	—
50	—	—	—	—	—	—	396	—
125	—	—	—	—	—	—	2949	—
175	—	—	—	—	—	—	5998	—

—：実施せず、n.d.：定量限界未満

a：がん原性試験における飲水投与12ヵ月時の値(n=10)

b：がん原性試験における飲水投与12ヵ月時の午前9-10時の群平均値(n=4)

c：52週間反復投与毒性試験における経口投与7週時の朝投与2時間後の群平均値(n=4)

d：胚・胎児発生への影響に関する試験における経口投与初日（妊娠7日目）の投与1時間後の群平均値(n=6)

e：健康成人日本男性に100mg単回経口投与した時のC_{max}

トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

被験物質：トラマドール塩酸塩

トラマドール塩酸塩の代謝物 M1（モノ-O-脱メチル体）の血漿/血清中濃度(ng/mL)

1日投与量 (mg/kg)	マウス ^a		ラット ^b		イヌ ^c		ウサギ ^d	ヒト ^e
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雌	
1.7	—	—	—	—	—	—	—	86.8
7.5	4.04	4.33	6.9	26.5	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—	57	—
15	8.07	12.3	22.8	67.8	—	—	—	—
24	—	—	—	—	—	—	—	—
30	31.3	15.5	41.0	99.7	—	—	—	—
40	—	—	—	—	—	—	—	—
50	—	—	—	—	—	—	243	—
125	—	—	—	—	—	—	829	—
175	—	—	—	—	—	—	814	—

—：実施せず

a：がん原性試験における飲水投与12ヵ月時の値(n=10)

b：がん原性試験における飲水投与12ヵ月時の午前9-10時の群平均値(n=4)

c：52週間反復投与毒性試験における経口投与7週時の朝投与2時間後の群平均値(n=4)

d：胚・胎児発生への影響に関する試験における経口投与初日（妊娠7日目）の投与1時間後の群平均値(n=6)

e：健康成人日本男性に100mg単回経口投与した時のC_{max}

2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧

トラマドール塩酸塩は日本薬局方外医薬品規格（局外規）収載品であり、申請規格を設定しないため、表を省略した。

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

動物種/系統	投与方法	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	試験番号 (CTDにおける記載箇所)
NMRI マウス	強制経口 (生理食塩液)	0, 200, 300, 400, 500	5M 5F	200 300	300 400	200:不規則/頻呼吸 ≥200:不穏、攻撃性、痙攣、挙尾、歩行異常、自発運動の亢進 200,300:振戦 ≥300:疼痛反射の抑制、身づくろいの減少、歩行失調、流涎、体温下降、あえぎ呼吸、チアノーゼ 200~400:体緊張の増加 ≥400:自発運動の抑制	1788 (Vol.IV,Section 4.2.3.1-1)
	静脈内 (生理食塩液)	0, 30, 50, 100	5M 5F	30 30	50 50	30:振戦 ≥30:痙攣、眼球突出 30,50:不穏、自発運動の抑制、体緊張の増加、攻撃性、挙尾、頻呼吸 50:疼痛反射の抑制、歩行失調 ≥50:あえぎ呼吸、チアノーゼ	1788 (Vol.IV,Section 4.2.3.1-1)
Wistar ラット	強制経口 (生理食塩液)	0, 200, 300, 400, 500	10M 10F	200 <200	300 200	≥200:自発運動の抑制、疼痛反射の抑制、体緊張の増加、攻撃性、痙攣、挙尾、立毛、散瞳、眼球突出、歩行異常、チアノーゼ ≥300:振戦、流涎、あえぎ呼吸、腎臓の色調淡色化、膀胱の出血 500:不穏	1789 (Vol.IV,Section 4.2.3.1-2)
	静脈内 (生理食塩液)	0, 50, 60, 70, 80	5M 5F	50 50	60 60	50:不規則呼吸 60,70:あえぎ呼吸 50~70:自発運動の抑制、身づくろいの減少、歩行失調、疼痛反射の抑制、体緊張の増加、攻撃性、痙攣、挙尾、立毛、散瞳、眼球突出、チアノーゼ (80は投与中に全例死亡の為、観察不可)	1789 (Vol.IV,Section 4.2.3.1-2)
Beagle イヌ	強制経口 (カプセル)	0, 25, 40, 60	1or2M ^a 1or2F ^a	60 60	>60 >60	≥25:散瞳、流涎、 ≥40:自発運動の抑制、振戦、強直性一問代性痙攣、異常発声 25,40:軟便 40:正向反射の消失、血便を含む下痢 60:舌なめずり	1367 (Vol.IV,Section 4.2.3.1-3)

a : 25 及び 40mg/kg 投与群は雌雄各 2 例、0 及び 60mg/kg 投与群は雌雄各 1 例

2.6.7.6 反復投与毒性試験

重要な試験以外の試験

反復投与毒性試験の用量は、ヒトの臨床用量を基準に設定しており、用量設定の為の予備試験は単独で実施していない。

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7A 反復投与毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Tramadol HCl: Chronic toxicity on oral administration to Wistar rats of both sexes for six months.

動物種/系統：Wistar ラット 投与期間：6 カ月間

試験番号：██████ 649, ██████ 264

試験開始週齢：6 週齢

休薬期間：3 週間

CTD における記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.2-1,2

初回投与年月日：19██ 年 █ 月 █ 日

投与方法：強制経口

GLP 適用：適用外

媒体/投与形態：水溶液

特記事項：病理組織学的検査で、肝細胞核のサイズは対照群雄 8 匹及び 60mg/kg 投与群雄 9 匹について、
1 匹当たり約 200 の核のサイズを計測し、その平均を個体値とした。

無毒性量：10mg/kg/日

投与量(mg/kg/日)	0(対照)		10		25		60	
	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25
動物数								
トキシコキネティクス ^a								
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数	1 (投与過誤)	0	1 (投与過誤)	1 (投与過誤)	3	0	8	6
体重	—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量	—	—	—	—	—	—	—	—
摂水量(%) ^b	6.8	11.2	-13	-17	-16	-12	+26**	+35
一般状態								
自咬による脱毛	—	—	—	+	+	+	+	+
痙攣	—	—	—	—	+	+	+	+
流涎	—	—	—	—	+	—	+	+
攻撃性・防御性亢進	—	—	—	—	+	+	+	+
発声	—	—	—	—	—	—	+	+
呼吸困難	—	—	—	—	—	—	—	+
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査	—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
血液化学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量 ^c								
肺、実重量(%)	1.62g	1.22g	+15	+11*	+7	+6	+17	+18**
比体重値(%) ^d	0.38	0.51	+16*	+6	+3	+4	+18**	+14**
胸腺、実重量(%)	0.22g	0.23g	+5	-17*	+18	-17*	+9	-26**
比体重値(%) ^d	0.05	0.09	0	-22*	+20*	-11	+20	-22*

—：特記すべき所見なし +：所見有り

*P≤0.05、**P≤0.01：Student's t-test（実測値での対照群との比較）

a：実施せず。

b：投与 25 週時、対照群は平均値（mL/100g 体重/日）を示す。投与群は対照群との差を%で示す。

c：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。

d：比体重値＝実重量/最終体重×100

2.6.7.7A 反復投与毒性試験

試験番号： █████ 649 (続き) 被験物質：トラマドール塩酸塩

投与量(mg/kg/日)	0(対照)		10		25		60	
	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25	M: 25	F: 25
動物数								
剖検所見検査数 ^a	10	10	10	10	10	10	10	10
胸腺：小型化	3	0	2	1	1	1	4	4
病理組織学的検査検査数 ^a	10	10	10	10	10	10	10	10
肝臓：肝細胞核の サイズ(%) ^b	76.1 (n=8)	NM	NM	NM	NM	NM	-12* (n=9)	NM
その他の検査 ^c	—	—	—	—	—	—	—	—
回復性の評価								
評価動物数	14	15	14	14	12	15	7	9
特記すべき所見	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし NM：測定せず

*P<0.05：Student's t-test (実測値での対照群との比較)

a：投与終了時 (26 週時)

b：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。

c：運動検査(swimming test、climbing test、lift reaction、正向反射、痛覚反応、平衡感覚)、聴覚検査

2.6.7.7B 反復投与毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Fifty-two week oral toxicity study of Tramadol hydrochloride in beagle dogs.

動物種/系統：Beagle イヌ

投与期間：52 週間

試験番号：-90323

試験開始週齢：11 カ月齢

休業期間：なし

CTD における記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.2-3

初回投与年月日：19 年 月 日

投与方法：強制経口

GLP 適用：適

媒体/投与形態：Gelatin カプセルに充填して半量ずつ 1 日 2 回（朝昼）

約 5 時間間隔で投与

特記事項：

- ・トキシコキネティクスは投与 7、19、30、50 週時に実施した。採血は朝投与後 2 時間に行った。
- ・10 及び 24mg/kg 投与群の病理組織学的検査は肉眼的病変部についてのみ実施した。

無毒性量：10mg/kg/日

投与量(mg/kg/日)	0(対照)		10		24		40	
	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	動物数	M: 4	F: 4	M: 4
トキシコキネティクス	雌雄							
未変化体濃度(ng/mL)								
投与 7 週時	0		15.5	6.5	83.5	44.3	19.5	83.8
投与 19 週時	0		16.7 ^b	5.0 ^b	32.8	13.7 ^b	11.5	28.0
投与 30 週時	0		9.3	11.0	76.0	17.0 ^b	49.0 ^b	44.8
投与 50 週時	0		23.3	19.8	61.3 ^b	87.7 ^b	47.3	41.0
代謝物 M2 ^a 濃度(ng/mL)								
投与 7 週時	NM		181	93	980	1126	1627	2293
投与 19 週時	NM		143 ^b	84 ^b	824	378 ^b	579	845
投与 30 週時	NM		111	111	819	346 ^b	2037 ^b	2095
投与 50 週時	NM		102	133	1220 ^b	1178 ^b	2354	1255
特記すべき所見								
死亡及び安楽死処分動物数	0	0	0	0	1 ^c	0	0	0
体重(%) ^d	14.3kg	11.2kg	0	-13	-3	-16*	-8	-16*
摂餌量(%) ^d	302g	258g	+11	+2	-17	-36	+2	-26
一般状態								
散瞳	-	-	+	+	+	+	+	+
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液化学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
回復性の評価	e	e	e	e	e	e	e	e

-：特記すべき所見なし +：所見有り NM：測定せず

*P≤0.05：Dunnett's test（実測値での対照群との比較）

a：トラマドール塩酸塩の代謝物（モノ-N-脱メチル体）

b：動物数；3

c：膀胱結石の為、安楽死処分。

d：投与 51 週時、対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。

e：実施せず。

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験2.6.7.8A *In Vitro* 遺伝毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Determination of the mutagenic potency of Tramadol-HCl in the *Salmonella typhimurium* reverse mutation assay (Ames test).

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：1 試験番号：██████ 232/A

菌株：*S. typhimurium* プレート数：3 CTDにおける記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.3.1-1

代謝活性化系：S9mix（ラット肝 S9）分析細胞数/培養：全コロニー計測 GLP適用：適

溶媒：蒸留水（トラマドール塩酸塩）、DMSO（NPD, NaN₃, MMS, 2-AF, 2-AA）陽性対照：NPD、NaN₃、MMS（以上、代謝活性化なし）、2-AF、2-AA（以上、代謝活性化あり）

処理：プレート法で48時間

処理年月：19██年██月

細胞毒性：なし

遺伝毒性：なし

代謝活性化	被験物質	用量 (µg/plate)	復帰変異数（コロニー数/plate, 平均値）			
			TA97	TA98	TA100	TA102
代謝活性化なし	溶媒対照(蒸留水)	0	63.7	11.3	145.0	185.7
	トラマドール塩酸塩	0.1	59.7	8.7	112.3	151.0
		1	63.3	9.3	126.3	152.3
		10	45.7	7.0	116.3	159.7
		100	57.7	13.3	118.3	155.7
		1000	50.7	7.7	123.3	164.0
	陽性対照(NPD)	20.0	1105.3	1561.2	—	—
陽性対照(NaN ₃)	1.5	—	—	1052.7	—	
	陽性対照(MMS)	1300.0	—	—	—	2033.7
代謝活性化あり	溶媒対照(蒸留水)	0	121.7	28.3	139.3	300.7
	トラマドール塩酸塩	0.1	105.7	21.0	111.0	228.0
		1	120.7	15.0	121.3	266.7
		10	93.0	18.3	129.7	277.3
		100	93.3	16.3	124.7	284.3
	1000	103.0	19.3	137.3	289.7	
陽性対照(2-AF)	10.0	844.4	1483.8	952.5	—	
	陽性対照(2-AA)	10.0	—	—	—	1194.0

DMSO：ジメチルスルホキシド

NPD：4-ニトロ-*o*-フェニレンジアミンNaN₃：アジ化ナトリウム

MMS：メタンサルホン酸メチル

2-AF：2-アミノフルオレン

2-AA：2-アミノアントラセン

—：実施せず。

2.6.7.8B *In Vitro* 遺伝毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Study to determine the ability of Tramadol to induce mutation in four histidine-requiring strains of *Salmonella typhimurium* and two tryptophan-requiring strains of *Escherichia coli*.

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：3 試験番号：■■■■ 2/S

菌株：*S. typhimurium* 及び *E. coli*

プレート数：陰性対照; 5、トラマドール塩酸塩及び陽性対照;3

CTDにおける記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.3.1-2

代謝活性化系：S9mix (ラット肝 S9) 分析細胞数/培養：全コロニー計測 GLP 適用：適

溶媒：蒸留水 (トラマドール塩酸塩)、DMSO (NaN₃, 2-NF, AAC, NQO, 2-AA)陽性対照：NaN₃、2NF、AAC、NQO (以上、代謝活性化なし)、2-AA (代謝活性化あり)

処理：プレート法 (用量設定試験、本試験 1) 及びプレインキュベーション法 (本試験 2) で 72 時間

細胞毒性：なし

処理年月：19■■年■■月

遺伝毒性：なし

代謝活性化	被験物質	用量 (µg/plate)	用量設定試験	
			復帰変異数 (コロニー数/plate, 平均値)	
			TA100	
代謝活性化なし	溶媒対照 (蒸留水)	0	120.8	
	トラマドール塩酸塩	8	173.3	
		40	179.0	
		200	158.7	
		1000	197.3	
		5000	154.7	
陽性対照 (NaN ₃)	2	478.7		
代謝活性化あり	溶媒対照 (蒸留水)	0	119.6	
	トラマドール塩酸塩	8	120.3	
		40	170.3	
		200	169.3	
		1000	178.0	
		5000	131.3	
陽性対照 (2-AA)	5	1369.3		

代謝活性化	被験物質	用量 (µg/plate)	本試験 1					
			復帰変異数 (コロニー数/plate, 平均値)					
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 pKM101	WP2uvrA pKM101
代謝活性化なし	溶媒対照 (蒸留水)	0	29.8	114.8	18.0	16.8	29.6	161.0
	トラマドール塩酸塩	8	27.0	118.3	18.7	19.7	30.0	159.3
		40	31.0	126.0	14.0	21.7	27.3	178.0
		200	38.7	134.0	14.3	16.0	24.0	182.7
		1000	35.0	120.0	19.0	15.7	26.3	187.3
		5000	34.7	130.0	17.0	16.0	24.7	150.3
	陽性対照 (2-NF)	50	1730.0	—	—	—	—	—
	陽性対照 (NaN ₃)	2	—	407.7	401.0	—	—	—
陽性対照 (AAC)	50	—	—	—	946.0	—	—	
陽性対照 (NQO)	4 又は 2	—	—	—	—	87.0	828.7	
代謝活性化あり	溶媒対照 (蒸留水)	0	22.8	113.6	20.6	19.2	49.0	172.0
	トラマドール塩酸塩	8	28.7	110.0	24.0	19.0	38.0	181.3
		40	28.7	139.3	22.3	23.3	47.0	149.3
		200	30.7	122.0	27.0	19.3	42.7	180.7
		1000	30.7	123.3	22.7	23.0	40.3	168.7
		5000	31.0	118.3	22.3	16.0	30.3	173.0
陽性対照 (2-AA)	5	1062.3	—	—	—	—	696.3	

DMSO：ジメチルスルホキシド

NaN₃：アジ化ナトリウム

2-AA：2-アミノアントラセン

2-NF：2-ニトロフルオレン

AAC：9-アミノアクリジン

NQO：4-ニトロキノリン-N-オキシド

—：実施せず。

2.6.7.8B *In Vitro* 遺伝毒性試験

試験番号： █████ 2/S (続き) 被験物質：トラマドール塩酸塩

代謝活性化	被験物質	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	本試験 2 復帰変異数 (コロニー数/plate, 平均値)					
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2 pKM101	WP2 <i>uvrA</i> pKM101
代謝活性化なし	溶媒対照 (蒸留水)	0	17.4	103.6	14.0	8.6	21.4	157.4
	トラマドール 塩酸塩	1000	20.7	113.7	9.7	10.0	19.7	159.0
		2000	16.7	98.7	14.3	10.3	18.7	160.0
		3000	21.7	105.7	13.7	10.0	20.0	157.3
		4000	25.7	93.0	10.7	11.0	20.3	167.7
		5000	24.0	96.3	13.7	9.0	20.0	170.0
	陽性対照 (2-NF)	50	1421.7	—	—	—	—	—
	陽性対照 (NaN_3)	2	—	558.7	448.7	—	—	—
陽性対照 (AAC)	50	—	—	—	767.7	—	—	
陽性対照 (NQO)	4 又は 2	—	—	—	—	67.0	821.7	
代謝活性化あり	溶媒対照 (蒸留水)	0	18.0	97.4	18.2	8.8	35.6	152.8
	トラマドール 塩酸塩	1000	18.0	94.7	13.3	9.7	35.3	159.7
		2000	18.3	105.3	15.7	7.3	34.0	159.3
		3000	19.0	105.0	20.0	6.7	31.0	165.7
		4000	18.3	99.7	18.0	8.7	27.0	152.7
		5000	16.7	106.7	18.3	8.0	28.7	154.7
陽性対照 (2-AA)	5	917.7	—	—	—	—	371.3	

NaN_3 : アジ化ナトリウム 2-AA : 2-アミノアントラセン 2-NF : 2-ニトロフルオレン
 AAC : 9-アミノアクリジン NQO : 4-ニトロキノリン-N-オキシド
 — : 実施せず。

2.6.7.8C *In Vitro* 遺伝毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：An assessment of the mutagenic potential of Tramadol Hydrochloride using the mouse lymphoma TK locus assay.

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：3

系統：マウスリンパ腫細胞(L5178Y tk⁺-3.7.2c株)

試験番号：12/891422

プレート数：陰性対照;3 ないし 4、トラマドール塩酸塩及び陽性対照;2

CTDにおける記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.3.1-3

GLP 適用：適

代謝活性化系：S9mix (ラット肝 S9)

溶媒：蒸留水 (トラマドール塩酸塩,EMS)、DMSO (20-MC)

陽性対照：EMS (代謝活性化なし)、20-MC (代謝活性化あり)

処理：被験物質 3 時間処理後、新鮮培地で 14 日間培養

処理年月：19 年 月

細胞毒性：濃度依存性の細胞生存率低下

遺伝毒性：あり

代謝活性化	被験物質	試験 1		
		濃度(µg/mL)	細胞生存率(%)	突然変異頻度(/10 ⁶ 細胞中)
代謝活性化なし	溶媒対照(蒸留水)	0	100	98
	トラマドール塩酸塩	250	69	95
		500	54	153*
		1000	34	137
		1250	32	133
陽性対照(EMS)	500	35	659 [#]	
代謝活性化あり	溶媒対照(蒸留水)	0	100	118
	トラマドール塩酸塩	10	73	150
		200	28	248**
		300	23	222**
		400	12	253**
625	6	318***		
陽性対照(20-MC)	2.5	16	582***	

代謝活性化	被験物質	試験 2		
		濃度(µg/mL)	細胞生存率(%)	突然変異頻度(/10 ⁶ 細胞中)
代謝活性化なし	溶媒対照(蒸留水)	0	100	58
	トラマドール塩酸塩	125	104	56
		250	64	52
		500	59	49
		1000	26	59
1500	6	48		
陽性対照(EMS)	500	18	743 [#]	
代謝活性化あり	溶媒対照(蒸留水)	0	100	84
	トラマドール塩酸塩	10	93	96
		100	21	221**
		200	19	190*
		300	12	134
400	6	295**		
陽性対照(20-MC)	2.5	6	781**	

代謝活性化	被験物質	試験 3		
		濃度(µg/mL)	細胞生存率(%)	突然変異頻度(/10 ⁶ 細胞中)
代謝活性化あり	溶媒対照(蒸留水)	0	100	120
	トラマドール塩酸塩	10	85	75
		50	70	122
		200	29	264**
		300	20	332**
陽性対照(20-MC)	2.5	19	720***	

DMSO：ジメチルスルホキシド EMS：メタンサルホン酸エチル 20-MC：20-メチルコランズレン

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001：one-sided t-test (溶媒対照群との比較)

#1 プレートのため、統計処理実施せず。

2.6.7.8D *In Vitro* 遺伝毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：An assessment of the mutagenic potential of Tramadol Hydrochloride in a mammalian cell mutation assay using the Chinese hamster ovary/HPRT locus assay.

試験の種類：哺乳動物細胞を用いる遺伝子突然変異試験 独立して実施した試験数：2

系統：チャイニーズハムスター卵巣由来細胞(CHO 細胞)

試験番号：13/90864

プレート数：陰性対照; 4、トラマドール塩酸塩及び陽性対照; 2

CTD における記載箇所：Vol. IV Section：4.2.3.3.1-4

代謝活性化系：S9mix (ラット肝 S9) 分析細胞数/培養：不明

GLP 適用：適

溶媒：蒸留水 (トラマドール塩酸塩, EMS)、DMSO (20-MC)

陽性対照：EMS (代謝活性化なし)、20-MC (代謝活性化あり)

処理：被験物質 4 時間処理後、新鮮培地で 7 日間培養

処理年月：19 年 月

細胞毒性：濃度依存性の細胞生存率低下

遺伝毒性：なし

代謝活性化	被験物質	試験 1		
		濃度(µg/mL)	細胞生存率(%)	突然変異頻度(/10 ⁶ 細胞中)
代謝活性化なし	溶媒対照(蒸留水)	0	100	10
	トラマドール塩酸塩	2500	107	13
		3000	79	8
		3500	68	9
		4000	57	7
		4500	121	20
		5000	79	7
陽性対照(EMS)	250	96	377	
代謝活性化あり	溶媒対照(蒸留水)	0	100	15
	トラマドール塩酸塩	2500	102	12
		3000	76	18
		3500	66	11
		4000	60	4
		4500	53	10
		5000	57	4
陽性対照(20-MC)	5	83	280	

代謝活性化	被験物質	試験 2		
		濃度(µg/mL)	細胞生存率(%)	突然変異頻度(/10 ⁶ 細胞中)
代謝活性化なし	溶媒対照(蒸留水)	0	100	5
	トラマドール塩酸塩	3000	63	10
		3500	65	6
		4000	57	6
		4500	62	11
		5000	66	4
陽性対照(EMS)	250	74	271	
代謝活性化あり	溶媒対照(蒸留水)	0	100	3
	トラマドール塩酸塩	500	132	1
		1000	89	5
		2000	95	5
		3000	87	3
		5000	66	1
陽性対照(20-MC)	5	112	274	

DMSO：ジメチルスルホキシド EMS：メタンサルホン酸エチル 20-MC：20-メチルコランズレン

2.6.7.8E *In Vitro* 遺伝毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Study to evaluate the chromosome damaging potential of Tramadol by its effects on cultured human lymphocytes using an in vitro cytogenetics assay.

試験の種類：哺乳動物細胞を用いる染色体異常試験 独立して実施した試験数：3 試験番号：[] 2 []
系統：ヒト末梢血リンパ球 プレート数：2 CTDにおける記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.3.1-5

代謝活性化系：S9mix (ラット肝 S9) 分析細胞数/培養：200,陽性対照;50

溶媒：蒸留水 (トラマドール塩酸塩)、DMSO (NQO,CPA) GLP 適用：適

陽性対照：NQO (代謝活性化なし)、CPA (代謝活性化あり)

処理：代謝活性化なしで、20 又は 44 時間連続処理 処理年月：19 [] 年 [] 月

代謝活性化ありで、被験物質 3 時間処理後、17 時間の回復又は 41 時間の回復

細胞毒性：濃度依存性の細胞増殖率低下

遺伝毒性：疑陽性 (濃度依存性が明らかではなかった)

代謝活性化	被験物質	試験 1			
		濃度(µg/mL)	分裂指数(%)	構造異常細胞 ^a 出現頻度 (%)	数的異常細胞出現頻度 (%)
代謝活性化なし (20 時間処理)	溶媒対照 (蒸留水)	0	7.6	0.0	1.5
	トラマドール塩酸塩	1187	2.0	4.0**	1.0
		1582	2.4	4.5***	1.0
		2109	2.5	3.5**	1.5
	陽性対照 (NQO)	2.5	—	22.0***	3.8
代謝活性化あり (3 時間処理+17 時間回復)	溶媒対照 (蒸留水)	0	8.3	0.5	1.0
	トラマドール塩酸塩	2813	4.1	4.5**	3.8
		3750	4.5	3.5*	4.8
		5000	4.5	2.0	4.8
	陽性対照 (CPA)	12.5	—	22.0***	0.0

代謝活性化	被験物質	試験 2			
		濃度(µg/mL)	分裂指数(%)	構造異常細胞 ^a 出現頻度 (%)	数的異常細胞出現頻度 (%)
代謝活性化なし (20 時間処理)	溶媒対照 (蒸留水)	0	7.6	1.0	1.0
	トラマドール塩酸塩	1638	2.3	1.5	0.0
		2048	3.1	2.3	1.7
		2560	2.5	3.0	2.0
	陽性対照 (NQO)	5	—	42.0***	0.0
代謝活性化なし (44 時間処理)	溶媒対照 (蒸留水)	0	3.1	1.5	1.0
	トラマドール塩酸塩	838.9	0.8	5.0*	1.5
代謝活性化あり (3 時間処理+17 時間回復)	溶媒対照 (蒸留水)	0	6.4	0.0	0.0
	トラマドール塩酸塩	3200	6.6	1.0	3.8
		4000	6.6	2.0*	2.0
		5000	4.7	3.0**	4.3
	陽性対照 (CPA)	25	—	48.0***	2.0
代謝活性化あり (3 時間処理+41 時間回復)	溶媒対照 (蒸留水)	0	3.2	1.5	0.5
	トラマドール塩酸塩	4000	3.3	1.5	3.4

DMSO：ジメチルスルホキシド NQO：4-ニトロキノリン-N-オキシド CPA：シクロフォスファミド

*P≤0.05, **P≤0.01, ***P≤0.001：Fisher's exact test (溶媒対照群との比較)

a：ギャップを除く構造異常細胞

—：実施せず。

2.6.7.8E *In Vitro* 遺伝毒性試験

試験番号： 2 (続き) 被験物質：トラマドール塩酸塩

代謝活性化	被験物質	試験 3			
		濃度(μg/mL)	分裂指数(%)	構造異常細胞 ^a 出現頻度(%)	数的異常細胞出現頻度(%)
代謝活性化なし (20 時間処理)	溶媒対照(蒸留水)	0	5.7	1.0	0.0
	トラマドール塩酸塩	1582	3.1	2.5	2.4
		2109	2.3	3.0	3.4
		2813	2.3	3.0	2.0
陽性対照(NQO)	5	—	28.0***	0.0	
代謝活性化なし (44 時間処理)	溶媒対照(蒸留水)	0	5.1	0.5	1.5
	トラマドール塩酸塩	1187	1.3	1.0	2.0
代謝活性化あり (3 時間処理+17 時間回復)	溶媒対照(蒸留水)	0	6.8	1.5	0.0
	トラマドール塩酸塩	2813	6.1	5.0*	7.4
		3750	4.1	3.0	6.5
		5000	4.1	3.0	2.9
陽性対照(CPA)	25	—	36.0***	0.0	
代謝活性化あり (3 時間処理+41 時間回復)	溶媒対照(蒸留水)	0	5.7	1.0	0.0
	トラマドール塩酸塩	5000	5.2	1.0	1.0

NQO : 4-ニトロキノリン-N-オキシド CPA : シクロフォスファミド

*P≤0.05, ***P≤0.001 : Fisher's exact test (溶媒対照群との比較)

a : ギャップを除く構造異常細胞

— : 実施せず。

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験2.6.7.9A *In Vivo* 遺伝毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Tramadol Hydrochloride: Micronucleus test on the bone marrow of male and female mice, rats and Chinese hamsters following double oral and intraperitoneal administration.

試験の種類：骨髄細胞の小核試験 処理計画：2日間反復投与 試験番号：811

動物種/系統：NMRI マウス、チャイニーズハムスター、Wistar ラット

CTDにおける記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.3.2-1

試験開始週齢：不明（体重範囲：マウス 20~25g、チャイニーズハムスター20~30g、ラット 150~200g）

評価した細胞：多染性赤血球 標本作製時期：最終投与6時間後 GLP適用：適用外

陽性対照：Triaziquone

投与方法：強制経口（トラマドール塩酸塩）、腹腔内（トラマドール塩酸塩及び陽性対照）

分析細胞数/動物：2000 (MNPCE/PCE)、200 (PCE/TE)

溶媒/投与形態：蒸留水（経口）又は生理食塩水（腹腔内）に溶解

投与年月：19 年 月

特記事項：なし

遺伝毒性：

マウス；なし

チャイニーズハムスター；なし

ラット；疑陽性（用量依存性が明らかではなかった）

暴露証明：なし

動物種	投与経路	被験物質	投与量 (mg/kg)	性別	動物数	PCE/TE (%)	MNPCE/PCE (%)
マウス	強制経口	溶媒対照 (蒸留水)	0	M	5	64.3	0.24
				F	5	52.2	0.70
		トラマドール 塩酸塩	90	M	5	58.9	0.18
				F	5	49.6	0.32
			175	M	5	45.7*	0.14
				F	5	50.9	0.24
	腹腔内	溶媒対照 (生理食塩水)	0	M	5	45.9	0.18
				F	5	47.4	0.16
		トラマドール 塩酸塩	15	M	5	59.6	0.38
				F	5	50.6	0.26
			35	M	5	61.6	0.24
				F	5	57.9	0.28
陽性対照 (Triaziquone)	0.125	M	5	76.2*	5.46*		
		F	5	73.9*	6.30*		
チャイ ニーズ ハム スター	強制経口	溶媒対照 (蒸留水)	0	M	5	47.0	0.16
				F	5	52.5	0.36
		トラマドール 塩酸塩	200	M	5	49.0	0.18
				F	5	57.4	0.60
			400	M	5	59.2*	0.16
				F	5	64.7*	0.16
	腹腔内	溶媒対照 (生理食塩水)	0	M	5	47.6	0.24
				F	5	53.2	0.22
		トラマドール 塩酸塩	50	M	5	57.0*	0.20
				F	5	59.5	0.16
			100	M	5	56.0*	0.18
				F	5	53.4	0.20
陽性対照 (Triaziquone)	0.125	M	5	62.0*	4.80*		
		F	5	62.9*	6.70*		

PCE/TE：全赤血球中の多染性赤血球の占める割合（全赤血球中の多染性赤血球の出現率）

MNPCE/PCE：全多染性赤血球中の小核を有する多染性赤血球の占める割合（小核を有する多染性赤血球出現率）

*P<0.01：Student's t-test（溶媒対照群との比較）

2.6.7.9A *In Vivo* 遺伝毒性試験

試験番号： █████ 811 (続き) 被験物質：トラマドール塩酸塩

動物種	投与経路	被験物質	投与量 (mg/kg)	性別	動物数	PCE/TE (%)	MNPCE/PCE (%)
ラット	強制経口	溶媒対照 (蒸留水)	0	M	5	60.6	0.44
				F	5	46.2	0.34
		トラマドール 塩酸塩	57	M	5	63.9	1.38
				F	5	52.8	1.10
			114	M	5	61.5	1.26
				F	5	57.6	1.32
	腹腔内	溶媒対照 (生理食塩水)	0	M	5	61.1	0.46
				F	5	44.3	0.42
		トラマドール 塩酸塩	72	M	5	64.5	1.12
				F	5	61.7	0.88
			143	M	2 [#]	75.0	1.10
				F	2 [#]	64.0*	0.55
		陽性対照 (Triaziquone)	0.125	M	5	72.3*	3.62*
				F	5	60.8*	3.64*

PCE/TE：全赤血球中の多染性赤血球の占める割合（全赤血球中の多染性赤血球の出現率）

MNPCE/PCE：全多染性赤血球中の小核を有する多染性赤血球の占める割合（小核を有する多染性赤血球出現率）

*P<0.01：Student's t-test（溶媒対照群との比較）

#：投与後、3例死亡

2.6.7.9B *In Vivo* 遺伝毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Study to evaluate the potential of Tramadol to induce micronuclei in the polychromatic erythrocytes of CD-1 mice.

試験の種類：骨髄細胞の小核試験 処理計画：2日間反復投与 試験番号：■■■2■■■
 動物種/系統：CD-1 マウス 標本作製時期：最終投与24及び48時間後
 週齢（本試験）：雄4週齢、雌5週齢 CTDにおける記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.3.2-2
 評価した細胞：多染性赤血球 投与方法：静脈内 GLP適用：適
 陽性対照：CPA 溶媒/投与形態：蒸留水（トラマドール塩酸塩）又は生理食塩水（CPA）に溶解
 分析細胞数/動物：2000 (MNPCE/1000PCE)、1000 (PCE/NCE) 投与年月：19■■年■■月
 特記事項：なし
 遺伝毒性：なし

暴露証明：用量設定試験の結果、LD₅₀値は約38.6mg/kg（34.3mg/kg投与群で雄1/3例、雌2/3例死亡）

被験物質	投与量 (mg/kg)	標本作製時期 (hr)	性別	動物数	PCE/NCE	MNPCE/1000PCE
溶媒対照(蒸留水)	0	24	M	5	0.87	0.69
			F	5	0.84	0.60
		48	M	5	0.84	0.40
			F	5	0.88	0.49
トラマドール塩酸塩	25	24	M	5	0.89	0.59
			F	5	0.87	0.98
		48	M	5	0.88	0.89
			F	5	0.89	0.73
陽性対照(CPA)	40	24	M	5	0.92	20.40
			F	5	0.81	13.53

CPA：シクロフォスファミド

PCE/NCE：多染性赤血球と正染性赤血球との比

MNPCE/1000PCE：全多染性赤血球1000個中の小核を有する多染性赤血球の占める割合（小核を有する多染性赤血球出現頻度）

*P≤0.001： χ^2 test（溶媒対照群との比較）

2.6.7.9C *In Vivo* 遺伝毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Tramadol Hydrochloride: Chromosome aberration test on the bone marrow of male and female Chinese hamsters after single oral administration.

試験の種類：骨髄細胞の染色体異常試験 処理計画：単回投与 試験番号：██████ 812

動物種/系統：チャイニーズハムスター CTDにおける記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.3.2-3

週齢：不明（体重範囲：30~50g）

陽性対照：CPA

標本作製時期：投与 24 時間後

分析細胞数/動物：100

投与方法：強制経口

GLP 適用：適用外

特記事項：なし

溶媒/投与形態：蒸留水に溶解

投与年月：19██年██月

遺伝毒性：なし

暴露証明：なし

被験物質	投与量 (mg/kg)	性別	動物数	構造異常出現数 ^a	構造異常細胞出現頻度 ^a (%)	構造異常数 ^a /細胞	構造異常数 ^a /細胞
溶媒対照 (蒸留水)	0	M	4	4	1.0	0.010	0.010
		F	4	4	1.0	0.010	
トラマドール 塩酸塩	10	M	4	8	1.75	0.020	0.015
		F	4	4	1.0	0.010	
	30	M	4	2	0.5	0.005	0.008
		F	4	4	1.0	0.010	
	90	M	4	5	1.25	0.013	0.009
		F	4	2	0.5	0.005	
陽性対照 (CPA)	200	M	4	56*	12.0	0.14*	0.128*
		F	4	46*	10.5	0.115*	

CPA：シクロfosファミド

*P<0.01： χ^2 test（溶媒対照群との比較）

a：ギャップを除く構造異常

2.6.7.9D *In Vivo* 遺伝毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Chromosome aberration assay in bone marrow cells of the rat with Tramadol Hydrochloride.

試験の種類：骨髄細胞の染色体異常試験

処理計画：単回投与

試験番号：459800

動物種/系統：Wistar ラット

CTDにおける記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.3.2-4

週齢：雄7～9週齢、雌7～10週齢

陽性対照：CPA

標本作製時期：投与24及び48時間後(200mg/kg)

分析細胞数/動物：100

投与方法：強制経口

GLP適用：適

特記事項：なし

溶媒/投与形態：蒸留水（トラマドール塩酸塩）又は生理食塩水（CPA）に溶解

投与年月：19 年 月

遺伝毒性：なし

暴露証明：250mg/kg 投与で死亡例が認められ、200mg/kg 投与で自発運動の低下、無関心、腹臥位の毒性兆候を示した。

被験物質	投与量 (mg/kg)	標本作製時期 (hr)	性別	動物数	構造異常細胞 出現頻度 ^a (%)	分裂指数(%)
溶媒対照 (蒸留水)	0	24	M	5	0.7	2.63
			F	5		
トラマドール塩酸塩	10	24	M	5	0.5	2.81
			F	5		
	45	24	M	5	0.6	2.40
			F	5		
	200	24	M	5	1.1	2.52
			F	5		
48		M	5	0.5	4.09	
		F	5			
陽性対照 (CPA)	7.5	24	M	5	5.3	2.94
	12.5		F	5		

CPA：シクロフォスファミド

a：ギャップを除く構造異常細胞

2.6.7.9E *In Vivo* 遺伝毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Tramadol: Testing of Tramadol (CG 315) for mutagenicity by the dominant lethal test after single oral or intravenous administration in male mice.

試験の種類：優性致死試験

処理計画：単回投与

試験番号：████████ 389a

動物種/系統：NMRI マウス

交配期間：8週間（1週間×8回）

CTDにおける記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.3.2-5

週齢：8~9週齢

投与方法：強制経口、静脈内（陽性対照は腹腔内） GLP 適用：適用外

陽性対照：Trenimon

溶媒/投与形態：蒸留水（強制経口）又は生理食塩水（静脈内及び腹腔内）に溶解

特記事項：なし

投与年月：不明（報告年月：19██年██月）

優性致死作用：なし

暴露証明：350mg/kg 経口投与及び 22.6mg/kg 静脈内投与で死亡例が認められた。

投与経路	被験物質	投与量 (mg/kg)	動物数	受胎率 (%)	平均死亡 胎児数	平均 着床数	平均生存 胎児数
強制経口	溶媒対照(蒸留水)	0	M:10、F:20	72.5	0.4	10.5	10.03
	トラマドール塩酸塩	60	M:10、F:20	80.0	0.4	11.2	10.83
		120	M:10、F:20	88.1	0.4	11.0	10.58
		350	M: 9 [#] 、F:18	79.9	0.4	11.0	10.58
静脈内	溶媒対照(生理食塩水)	0	M:10、F:20	81.3	0.3	10.9	10.46
	トラマドール塩酸塩	11.3	M:10、F:20	77.5	0.4	10.8	10.33
		17	M:10、F:20	73.1	0.4	10.7	10.30
		22.6	M: 9 [#] 、F:18	86.1	0.3	10.9	10.55
腹腔内	溶媒対照(生理食塩水)	0	M:10、F:20	70.0	0.5	11.6	11.19
	陽性対照(Trenimon)	0.125	M:10、F:20	65.6	1.0	9.1	8.05

[#]：投与後、1例死亡

2.6.7.9F *In Vivo* 遺伝毒性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Tramadol: Testing of Tramadol (CG 315) for mutagenicity by the dominant lethal test after five-fold oral or intraperitoneal administration in male mice.

試験の種類：優性致死試験 処理計画：5日間投与

試験番号：██████ 421a

動物種/系統：NMRI マウス 交配期間：8週間（1週間×8回）

CTDにおける記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.3.2-6

週齢：8～9週齢

投与方法：強制経口、腹腔内（陽性対照は腹腔内） GLP適用：適用外

陽性対照：Trenimon

溶媒/投与形態：蒸留水（強制経口）又は生理食塩水（腹腔内）に溶解

特記事項：なし

投与年月：不明（報告年月：19██年██月）

優性致死作用：なし

暴露証明：なし

投与経路	被験物質	投与量 (mg/kg)	動物数	受胎率 (%)	平均死亡 胎児数	平均 着床数	平均生存 胎児数
強制経口	溶媒対照(蒸留水)	0	M:10、F:30	55.0	0.33	9.41	9.09
	トラマドール塩酸塩	10	M:10、F:30	45.4	0.46	10.49	9.98
		50	M:10、F:30	57.1	0.43	10.58	10.13
腹腔内	溶媒対照(蒸留水)	0	M:10、F:30	54.6	0.33	11.04	10.69
	溶媒対照(生理食塩水)	0	M:10、F:30	49.2	0.33	10.60	10.23
	トラマドール塩酸塩	10	M:10、F:30	66.7	0.35	10.36	10.00
		20	M:10、F:30	47.5	0.40	10.45	10.08
	陽性対照(Trenimon)	0.125	M:10、F:30	45.4	0.77	9.41	8.60

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10A がん原性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Tramadol Hydrochloride: Test for carcinogenicity with daily oral administration with the drinking water for 24 months in NMRI-mice.

動物種/系統：NMRI マウス 投与期間：雄；24ヵ月間、雌；21ヵ月間 試験番号：██████████ 907, 87 ██████████ 001/936

試験開始週齢：5週齢 投与方法：飲水 CTDにおける記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.4.1-1,2

初回投与年月日：19██████年██████月██████日 媒体/投与形態：飲水に溶かして自由に摂取 GLP適用：適用外

対照群の処理：薬剤なしの飲水

高用量の設定根拠：最大臨床用量の約4.5倍

特記事項：

・対照群は雌雄各50匹を2群(対照群 No.1 及び No.5) 設定しており合算した数値で示した。腫瘍発生率の統計学的処理は、対照群2群の合計と被験物質投与群の間で行った。なお、ハーダー腺腫、肝腫瘍(肝細胞腺腫、肝細胞癌)、肺腫瘍(腺腫、腺癌、腺腫と腺癌の合算)、下垂体腺腫、悪性リンパ腫(胸腺型、その他)及び組織球肉腫並びに肝及び肺における過形成病変及び増殖性変化の発生率については、対照群2群の合計に加え、各対照群との間で統計学的処理を行った結果も示した。体重については対照群 No.1 の値を示し、対照群 No.1 と被験物質投与群の間で統計学的処理を行った。

・██████████ Ltd.) で実施した病理組織学的検査は GLP 適用。

・トキシコキネティクスは投与6及び18ヵ月時に被験物質投与群の雌雄各5匹、投与12ヵ月時に投与群の雌雄各10匹について実施した。

投与量(mg/kg/日)	0(対照)		7.5		15		30	
	M	F	M	F	M	F	M	F
性別								
トキシコキネティクス								
未変化体濃度(ng/mL)								
投与6ヵ月時			n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	25.6	n.d.
投与12ヵ月時			n.d.	n.d.	9.9	8.75	37.7	12.2
投与18ヵ月時			n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	13.1	n.d.
代謝物 M1 ^a 濃度(ng/mL)								
投与6ヵ月時		NM	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	24.7	16.9
投与12ヵ月時			4.04	4.33	8.07	12.3	31.3	15.5
投与18ヵ月時			5.22	n.d.	n.d.	n.d.	16.5	8.71
M1-抱合体 ^b 濃度(ng/mL)								
投与6ヵ月時			113	n.d.	56.9	81.0	306	131
投与12ヵ月時			251	95.6	242	263	735	278
投与18ヵ月時			93.7	NM	97.2	NM	267	NM
動物数：								
開始時	100	100	50	50	50	50	50	50
死亡/瀕死による安楽死処分	58	75	39	33	31	35	33	35
共食いによる欠落	0	0	0	0	2	0	0	0
最終剖検時	42	25	11	17	17	15	17	15
生存率(%)	42	25	22	34	34	30	34	30
体重(%) ^c	48g	41g	0	0	-4	0	-6	+5
摂水量	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし NM：測定せず n.d.：定量限界未満

a：トラマドール塩酸塩の代謝物(モノ-O-脱メチル体)

b：M1-グルクロン酸抱合体とM1-硫酸抱合体の合計

c：雄；103週目、雌；89週目、対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。

2.6.7.10A がん原性試験

試験番号： 907 (続き) 被験物質：トラマドール塩酸塩

投与量(mg/kg/日)	0(対照)		7.5		15		30	
	M	F	M	F	M	F	M	F
腫瘍発現動物数/検索動物数								
副腎：皮質腺腫	1/93	0/93	0/36	0/35	1/32	0/34	0/43	0/46
神経節細胞腫	1/93	0/93	0/36	0/35	0/32	0/34	0/43	0/46
髄質腺腫	2/93	1/93	0/36	0/35	0/32	1/34	1/43	1/46
皮質腺癌	1/93	0/93	0/36	0/35	0/32	0/34	0/43	0/46
髄質腺癌	4/93	0/93	0/36	0/35	3/32	0/34	3/43	1/46
直腸：腺癌	0/97	0/88	0/32	0/33	1/29	0/36	0/44	0/44
ハーダー腺：腺腫 ^a	7/96	9/87	2/37	5/34	2/29	2/36	7/46	5/45
腺癌	1/96	0/87	0/37	1/34	0/29	0/36	0/46	0/45
腎臓：腺腫	1/100	1/99	0/39	0/36	0/38	0/38	0/50	0/48
肝臓：肝細胞腺腫 ^a	9/100	0/99	6/50	1/50	9/49	2/50	12/50*	1/49
血管腫	0/100	0/99	1/50	0/50	0/49	0/50	0/50	0/49
肉腫	0/100	0/99	0/50	0/50	1/49	0/50	0/50	0/49
肝細胞癌 ^a	3/100	0/99	1/50	0/50	0/49	0/50	2/50	0/49
肺：腺腫 ^a	26/99	2/98	11/50	9/50*	11/49	8/50*	9/50	5/49*
腺癌 ^a	8/99	6/98	8/50	3/50	5/49	0/50	8/50	5/49
乳腺：腺癌	0/84	2/86	0/32	0/29	1/25	1/28	0/42	0/43
腺癌 (その他)	0/84	4/86	0/32	2/29	0/25	2/28	0/42	2/43
卵巣：夾膜顆粒膜細胞腫		3/96		0/40		1/39		1/48
腺癌		1/96		1/40		5/39		0/48
下垂体：腺腫 ^a	1/84	5/92	0/29	6/33	0/28	5/36	0/38	3/41
神経節細胞腫	1/84	0/92	0/29	0/33	0/28	0/36	0/38	0/41
前立腺：腺癌	0/90		0/39		0/31		1/47	
皮膚：基底細胞腫	0/88	1/87	0/36	0/29	0/27	0/26	0/44	0/44
線維腫	0/88	0/87	1/36	0/29	0/27	0/26	1/44	0/44
血管肉腫	0/88	1/87	0/36	0/29	0/27	0/26	0/44	0/44
肉腫	1/88	1/87	0/36	0/29	4/27	0/26	1/44	0/44
扁平上皮癌	0/88	0/87	0/36	0/29	0/27	0/26	1/44	0/44
脾臓：血管腫	1/96	0/98	0/34	0/34	0/31	0/39	0/48	0/48
胃：平滑筋肉腫	1/98	0/98	0/37	0/36	0/35	0/36	0/48	0/48
精巣：間細胞腺腫	0/100		0/39		1/34		1/50	
胸腺：胸腺腫	1/60	0/79	0/27	0/27	0/18	0/31	0/32	0/42
膀胱：腺腫	4/99	0/87	0/39	0/30	1/32	0/34	1/49	0/45
平滑筋腫	0/99	0/87	0/39	1/30	0/32	0/34	0/49	0/45
癌腫	0/99	0/87	1/39	0/30	0/32	0/34	0/49	0/45
子宮：血管腫		0/94		1/38		0/36		0/48
平滑筋腫		1/94		0/38		0/36		0/48
尿道腺：肉腫	0/23		1/13		0/10		0/11	
造血組織系：悪性リンパ腫 (胸腺型) ^a	1/60	4/79	0/27	3/27	0/18	0/31	1/32	4/42
悪性リンパ腫 (その他) ^a	12/100	27/99	6/36	15/37	2/32	10/39	1/50	16/49
組織球肉腫 ^a	3/100	0/99	2/36	0/37	1/32	1/39	0/50	3/49*
肥満細胞腫	0/88	0/87	1/36	0/29	0/27	0/26	0/44	0/44
縦隔：血管肉腫	1/8	0/16	0/3	0/5	0/2	0/6	0/1	0/11
その他：骨原性肉腫 (骨)						1/1		
肉腫 (肢)						1/1		
癌腫 (尾)				1/1				0/2
癌腫 (起源不明)		0/1			1/1			1/1
特記すべき所見：								
剖検所見	—	—	—	—	—	—	—	—
その他の検査 ^b	—	—	—	—	—	—	—	—

*P<0.05 : Fisher's exact test (対照群との比較)、— : 特記すべき所見なし

a : 各対照群との解析結果は p.28~29 に示した。

b : 摂餌量、眼科学的検査、聴覚検査、尿検査、便潜血検査、血液学的検査、血液化学的検査及び器官重量

2.6.7.10A がん原性試験

試験番号： 907 (続き) 被験物質：トラマドール塩酸塩

投与量(mg/kg)	0				7.5		15		30	
	対照群-1		対照群-5		M	F	M	F	M	F
主な腫瘍並びに肝・肺の過形成病変及び増殖性変化 発現動物数/検索動物数	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
ハーダー腺：腺腫	3/47	4/45	4/49	5/42	2/37	5/34	2/29	2/36	7/46	5/45
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
肝臓：肝細胞腺腫	3/50	0/50	6/50	0/49	6/50	1/50	9/49	2/50	12/50	1/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	*	—
統計結果(vs 対照群-1)	—	—	—	—	—	—	—	—	*	—
統計結果(vs 対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
肝臓：肝細胞癌	2/50	0/50	1/50	0/49	1/50	0/50	0/49	0/50	2/50	0/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
肝臓：Hyperplastic focus	2/50	0/50	2/50	0/49	1/50	0/50	0/49	0/50	2/50	0/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
肝臓：Focal dysplasia	0/50	0/50	0/50	0/49	0/50	1/50	0/49	0/50	0/50	0/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
肺：腺腫	12/50	0/50	14/49	2/48	11/50	9/50	11/49	8/50	9/50	5/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)	—	—	—	—	—	*	—	*	—	*
統計結果(vs 対照群-1)	—	—	—	—	—	**	—	**	—	*
統計結果(vs 対照群-5)	—	—	—	—	—	*	—	—	—	—
肺：腺癌	2/50	5/50	6/49	1/48	8/50	3/50	5/49	0/50	8/50	5/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)	—	—	—	—	*	—	—	—	*	—
統計結果(vs 対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
肺：腺腫+腺癌	14/50	5/50	20/49	3/48	19/50	12/50	16/49	8/50	17/50	10/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)	—	—	—	—	—	**	—	—	—	*
統計結果(vs 対照群-1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)	—	—	—	—	—	*	—	—	—	*
肺：Type II cell proliferation	4/50	3/50	0/49	3/48	2/50	1/50	1/49	3/50	3/50	2/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
下垂体：腺腫	0/41	3/48	1/43	2/44	0/29	6/33	0/28	5/36	0/38	3/41
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—：有意差なし、*P<0.05, **P<0.01：Fisher's exact test

2.6.7.10A がん原性試験

試験番号： █████ 907 (続き) 被験物質：トラマドール塩酸塩

投与量(mg/kg)	0				7.5		15		30	
	対照群-1		対照群-5							
悪性リンパ腫 (胸腺型)	0/31	2/46	1/29	2/33	0/27	3/27	0/18	0/31	1/32	4/42
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)					—	—	—	—	—	—
悪性リンパ腫 (その他)	5/50	15/50	7/50	12/49	6/36	15/37	2/32	10/39	1/50	16/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-1)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)					—	—	—	—	—	—
組織球肉腫	2/50	0/50	1/49	0/49	2/36	0/37	1/32	1/39	0/50	3/49
統計結果(vs 対照群-1+対照群-5)					—	—	—	—	—	*
統計結果(vs 対照群-1)					—	—	—	—	—	—
統計結果(vs 対照群-5)					—	—	—	—	—	—

— : 有意差なし、*P<0.05 : Fisher's exact test

2.6.7.10B がん原性試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Tramadol Hydrochloride: Test for carcinogenicity with daily oral administration with the drinking water for 30 months in Wistar rats.

動物種/系統：Wistar ラット 投与期間：30 ヲ月間

試験番号：921, 4/88177

試験開始週齢：5 週齢 投与方法：飲水

CTDにおける記載箇所：Vol.IV Section: 4.2.3.4.1-3,4

初回投与年月日：19 年 月 日

媒体/投与形態：飲水に溶かして自由に摂取

GLP 適用：適用外

対照群の処理：薬剤なしの水

高用量の設定根拠：最大臨床用量の約 4.5 倍

特記事項：

- ・ () Ltd.) で実施した病理組織学的検査は GLP 適用。
- ・ 対照群は雌雄各 50 匹を 2 群 (対照群 No.1 及び対照群 No.5) 設定しており合算した数値で示した。ただし体重については対照群 No.1 の値を示し、統計学的処理を、対照群 No.1 と被験物質投与群の間で行った。
- ・ トキシコキネティクスは投与 2 ヲ月時に 30mg/kg 投与群の雌雄各 3 匹、投与 6、12、18、24、30 ヲ月時に被験物質投与群の雌雄各 4 匹について実施した。採血は午前 9-10 時に行った。

投与量(mg/kg/日)	0(対照)		7.5		15		30	
	M	F	M	F	M	F	M	F
性別								
トキシコキネティクス								
未変化体濃度(ng/mL)								
投与 2 ヲ月時			NM	NM	NM	NM	68.5 ^d	400.5 ^d
投与 6 ヲ月時			38.6 ^c	45.0	n.d.	114.8	56.2	375.8
投与 12 ヲ月時			20.6 ^d	43.2	25.7 ^d	129.4	72.1	132.1
投与 18 ヲ月時			24.4	55.9	32.8 ^e	98.8	107.9	192.4
投与 24 ヲ月時			n.d.	53.7 ^e	124.9	120.1	694.8	461.5
投与 30 ヲ月時			29.6	12.7 ^e	51.2	23.6	95.2	147.1
代謝物 M1 ^a 濃度(ng/mL)								
投与 2 ヲ月時			NM	NM	NM	NM	22.4 ^e	132.0 ^d
投与 6 ヲ月時		NM	7.3 ^e	36.7	8.9	54.9	38.9	134.5
投与 12 ヲ月時			6.9	26.5	22.8	67.8	41.0	99.7
投与 18 ヲ月時			7.7 ^e	30.4	30.2	55.3	52.0	101.4
投与 24 ヲ月時			12.2 ^d	25.9 ^e	62.1	51.4	194.5	160.9
投与 30 ヲ月時			16.6 ^e	8.8	36.0	10.8	38.8	43.9
M1-抱合体 ^b 濃度(ng/mL)								
投与 2 ヲ月時			NM	NM	NM	NM	231	651
投与 6 ヲ月時			73	312	179	439	301	705
投与 12 ヲ月時			117 ^e	322	323	582	512	629
投与 18 ヲ月時			116 ^d	323 ^d	203 ^d	456 ^d	441 ^d	676 ^d
投与 24 ヲ月時			109	244	787	460	1348	911
投与 30 ヲ月時			181	151	585	128	422	490
動物数：								
開始時	100	100	50	50	50	50	50	50
死亡/瀕死による安楽死処分	62	70	31	31	32	29	32	36
最終剖検時	38	30	19	19	18	21	18	14
生存率(%)	38	30	38	38	36	42	36	28
体重(%) ^f	499g	309g	-11**	-14**	-14**	-14**	-18**	-15**
摂水量	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし NM：測定せず n.d.：定量限界未満

**P≤0.01：Student's t-test (実測値での対照群との比較)

a：トラマドール塩酸塩の代謝物 (モノ-O-脱メチル体)

b：M1-グルクロン酸抱合体と M1-硫酸抱合体の合計

c：動物数；1

d：動物数；2

e：動物数；3

f：104 週目、対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。

2.6.7.10B がん原性試験

試験番号： 921 (続き) 被験物質：トラマドール塩酸塩

投与量(mg/kg/日)	0(対照)		7.5		15		30	
	M	F	M	F	M	F	M	F
腫病発現動物数/検索動物数								
造血系組織：骨髄性白血病	1/100	1/100	0/31	0/32	0/32	0/30	0/50	0/50
リンパ性白血病	0/100	0/100	1/31	0/32	0/32	0/30	0/50	0/50
リンパ肉腫	4/100	4/100	1/31	3/32	0/32	3/30	1/50	1/50
多形成型リンパ肉腫	0/100	0/100	0/31	1/32	0/32	0/30	0/50	0/50
心臓：心上皮様腫瘍	0/100	1/100	0/31	0/32	0/32	0/28	0/50	0/50
肺：扁平上皮癌	0/100	0/100	0/34	0/33	1/33	0/36	0/50	0/50
リンパ節：血管腫	1/94	0/98	0/29	0/29	0/31	0/26	0/49	0/45
肝臓：肝細胞腺癌	3/100	0/100	0/41	1/39	0/39	0/32	0/50	2/50
肝細胞腺腫	0/100	1/100	0/41	0/39	0/39	1/32	0/50	0/50
胆管癌	0/100	0/100	1/41	1/39	0/39	0/32	0/50	0/50
血管肉腫	0/100	1/100	0/41	0/39	0/39	0/32	0/50	0/50
脾臓：血管肉腫	1/100	0/100	0/32	0/31	0/32	0/29	0/50	1/48
組織球肉腫	0/100	0/100	0/32	0/31	1/32	0/29	0/50	0/48
膵臓：島細胞腺腫	3/98	2/100	3/33	0/31	0/32	0/30	2/50	0/50
島細胞腺癌	6/98	2/100	2/33	0/31	0/32	1/30	2/50	0/50
平滑筋腫	0/98	0/100	0/33	0/31	0/32	0/30	0/50	1/50
腎臓：癌腫	1/100	0/100	1/35	0/32	0/39	1/29	1/50	0/49
腎芽腫	0/100	0/100	2/35	0/32	0/39	0/29	0/50	0/49
皮質腺腫	0/100	0/100	1/35	0/32	0/39	0/29	0/50	0/49
間葉腫	0/100	0/100	0/35	0/32	0/39	0/29	0/50	1/49
脂肪腫	0/100	1/100	0/35	0/32	0/39	0/29	0/50	0/49
子宮：血管腫		1/98		0/32		0/31		0/48
腺癌		1/98		0/32		0/31		0/48
内膜間質肉腫		1/98		0/32		0/31		0/48
扁平上皮癌		0/98		0/32		1/31		0/48
組織球肉腫		0/98		0/32		0/31		1/48
線維肉腫		0/98		0/32		1/31		0/48
子宮腺癌		1/98		0/32		1/31		0/48
卵巣：性腺間質腫瘍		1/98		0/32		0/31		0/48
顆粒膜細胞腫		6/98		2/32		0/31		1/48
悪性顆粒膜細胞腫		1/98		0/32		0/31		0/48
夾膜腫		0/98		0/32		0/31		2/48
管状腺腫		4/98		2/32		1/31		2/48
悪性セルトリ細胞腫		1/98		0/32		0/31		0/48
腔：血管腫		2/5		0/1		0/1		0/4
内膜間質肉腫		0/5		0/1		0/1		1/4
血管肉腫		0/5		1/1		0/1		0/4
前立腺：未分化癌	1/96		0/28		0/29		0/49	
精囊：腺癌	0/98		0/31		0/32		1/49	
精巣：間細胞腫	5/99		2/32		5/37		1/50	
甲状腺：濾胞腺腫	6/96	1/95	3/32	1/31	1/30	1/26	0/49	2/49
濾胞腺癌	1/96	1/95	0/32	0/31	1/30	0/26	0/49	1/49
傍濾胞細胞腺腫	0/96	0/95	0/32	0/31	2/30	0/26	0/49	0/49
傍濾胞細胞癌	5/96	11/95	2/32	1/31	1/30	3/26	2/49	2/49
副腎：副腎皮質癌	1/99	1/100	0/31	0/32	0/33	0/29	0/49	0/49
良性クロム親和性細胞腫	3/99	3/100	1/31	0/32	0/33	5/29	1/49	0/49
悪性クロム親和性細胞腫	1/99	1/100	0/31	1/32	3/33	0/29	1/49	1/49
下垂体：前葉腺腫	32/89	62/90	13/31	18/33	6/28	27/37	12/48	26/45
唾液腺：血管肉腫	0/95	0/97	1/31	0/30	0/31	0/28	0/49	0/49
腺癌	1/95	0/97	0/31	0/30	1/31	0/28	0/49	0/49

2.6.7.10B がん原性試験

試験番号： 921 (続き) 被験物質：トラマドール塩酸塩

投与量(mg/kg/日)	0(対照)		7.5		15		30	
	M	F	M	F	M	F	M	F
腫病発現動物数/検索動物数								
胃：腺癌	0/98	0/100	0/32	0/32	0/32	0/29	0/50	1/50
十二指腸：線維肉腫	0/83	0/69	0/15	0/16	0/17	0/11	0/45	1/32
皮膚・皮下：基底細胞癌	1/94	0/96	0/31	0/30	0/34	0/30	0/49	0/47
毛嚢上皮腫	1/94	0/96	0/31	0/30	0/34	0/30	0/49	0/47
線維肉腫	3/94	2/96	1/31	0/30	0/34	1/30	1/49	0/47
線維腫	6/94	0/96	0/31	1/30	1/34	0/30	0/49	0/47
扁平上皮癌	0/94	0/96	0/31	0/30	0/34	0/30	1/49	0/47
乳頭腫	0/94	0/96	1/31	0/30	0/34	1/30	0/49	0/47
粘液腫	1/94	0/96	0/31	0/30	0/34	0/30	0/49	0/47
脂肪腫	2/94	0/96	0/31	0/30	1/34	0/30	2/49	0/47
血管肉腫	0/94	0/96	0/31	0/30	1/34	0/30	2/49	0/47
眼：無色素性黒色腫	0/95	0/96	0/29	0/28	1/28	0/27	0/48	0/47
脳：髄膜腫	0/100	1/99	1/31	0/31	1/32	0/29	1/50	0/50
星状膠細胞腫	3/100	0/99	1/31	0/31	0/32	0/29	0/50	0/50
乏突起膠細胞腫(大脳)	0/100	0/99	0/31	0/31	1/32	0/29	0/50	0/50
未分化肉腫	0/100	1/99	0/31	0/31	0/32	0/29	0/50	0/50
ハーパー腺：腺腫	1/93	0/94	0/29	0/26	0/26	0/27	0/47	0/45
乳腺：混合腫瘍	0/96	0/97	0/30	0/30	1/31	0/29	0/49	0/47
腺腫	0/96	5/97	0/30	0/30	0/31	1/29	0/49	1/47
線維腺腫	0/96	9/97	0/30	12/30	0/31	7/29	0/49	3/47
腺癌	0/96	8/97	0/30	3/30	0/31	3/29	0/49	2/47
ジンバル腺：扁平上皮癌			1/1					
皮脂腺扁平上皮癌		1/1						
その他：線維肉腫 (腹部)	1/1		1/1	0/1				
未分化癌 (腸間膜)					1/1	0/1		
線維腫 (肢/足)	1/15	0/7	0/11	0/1	0/7	0/1	0/19	0/1
線維肉腫 (頭部)	0/1	1/5			1/1		0/1	
特記すべき所見：								
剖検所見	—	—	—	—	—	—	—	—
その他の検査 ^a	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査—非腫瘍性病変								
発現動物数/検索動物数								
腎臓：慢性腎症	69/100	34/100	18/35	2/32	23/39	2/29	26/50	1/50

—：特記すべき所見なし

a：摂餌量、眼科学的検査、聴覚検査、尿検査、便潜血検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び器官重量

2.6.7.11 生殖発生毒性試験

重要な試験以外の試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

動物種/ 系統	投与方法 (媒体/投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg)	一群の動物数	特記すべき所見	試験番号 (CTDにおけ る記載箇所)
NZW ウサギ	強制経口 (1%HPMC ^a 懸濁液)	雌:妊娠 7 日～妊娠 19日	0,1,10,25, 50,75,125	妊娠雌 3～7匹	125:便少量、体重減少、 摂餌量減少、 胎児体重減少	■-90325 (Vol.IV, Section 4.2.3.5.2-2)
SD ラット	強制経口 (1%HPMC ^a 懸濁液)	雌:妊娠 15 日～授乳 4日	0,25,50, 75,100, 125	妊娠雌 8匹	≥25:眼球突出、散瞳、流涎、 摂餌量減少 ≥50:自発運動減少、体重増加 抑制/体重減少 ≥75:流涙、紅涙、出生児体重 減少、生後4日生存率の低 下 ≥100:着色鼻汁、赤色尿、尿に よる腹部の汚れ、角膜混 濁、軟便/水様便、死産増加 125:死亡(剖検で消化管の糜爛 及び小さい脾臓)、正向反 射障害、運動失調、眼瞼下 垂、眼球蒼白、腔赤色物	■-90337 (Vol.IV, Section 4.2.3.5.3-1)

a: HPMC:ヒドロキシプロピルメチルセルロース

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

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Toxicity of tramadol for reproduction. Influence on male and female fertility (rat). Development and reproductive performance of the untreated F₁-generation.

試験計画 ICH4.1.1 準拠：適

試験番号：████████ 308/A

投与期間：

CTD における記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.5.1-1

雄：交配前 92 日(自然分娩)又は 85 日(帝王切開)～交配期間

雌：交配前 14 日～妊娠 20 日(帝王切開)又は 22 日(自然分娩)

GLP 適用：適

動物種/系統：SD ラット

試験開始週齢：雄：5 週齢(投与開始時体重範囲 159.1～246.0g)

雌：不明(投与開始時体重範囲 170.4～237.4g)

交尾成立日：妊娠 0 日

初回投与年月日：19██年██月██日

帝王切開日：妊娠 20 日

投与方法：強制経口

媒体/投与形態：水溶液

特記事項：なし

無毒性量：

F₀ 雄：一般毒性 25mg/kg/日、生殖能 50mg/kg/日F₀ 雌：一般毒性 10mg/kg/日、生殖能 50mg/kg/日F₁ 胎児及び出生児：50mg/kg/日

投与量(mg/kg/日)		0(対照)	10	25	50
雄 (自然 分娩)	評価動物数	15	15	15	15
	死亡及び瀕死期安楽死動物数	0	0	0	0
	一般状態	—	—	—	—
	剖検	—	—	—	—
	体重(%) 11 週時 ^a	430g	+2	-3**	-12**
	体重(%) 剖検時 ^a	481.4g	-1	-3	-11**
	摂餌量(%) 11 週時 ^a	26.8g	-4	-6**	-12**
	平均交配所要日数	NC	NC	NC	NC
	交尾動物数	15	13	15	13
	授胎動物数	13	11	15	13
雄 (帝王 切開)	評価動物数	14	15	15	15
	死亡及び瀕死期安楽死動物数	(1) ^b	0	0	0
	一般状態	—	—	—	—
	剖検	—	—	—	—
	体重(%) 12 週時 ^a	469g	-3	-5	-11**
	体重(%) 剖検時 ^a	483.9g	-3	-4	-8
	摂餌量(%) 12 週時 ^a	29.7g	0	-5	-4
	平均交配所要日数	NC	NC	NC	NC
	交尾動物数	13	15	13	12
	授胎動物数	13	13	13	11

—：特記すべき所見なし NC：算出せず

**P<0.01：Dunnett's test (実測値での対照群との比較)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。

b：除外

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

試験番号： 308/A (続き) 被験物質：トラマドール塩酸塩

投与量(mg/kg/日)		0(対照)	10	25	50
雌 (自然 分娩)	評価動物数	15	15	15	14
	死亡及び瀕死期安楽死動物数	0	0	0	1 ^b
	一般状態	—	—	—	—
	剖検	—	—	—	—
	交配前体重(%) ^a	230g	-5**	-8**	-10**
	妊娠時体重(%)妊娠 20 日 ^a	373g	-8**	-12**	-14**
	授乳時体重(%)授乳 20 日 ^a	316g	-6	-5	-6
	交配前摂餌量(%) ^a	22.2g	-1	-5	-8
	妊娠時摂餌量(%)妊娠 19 日 ^a	27.4g	-20**	-18**	-13
	授乳時摂餌量(%)授乳 20 日 ^a	34.6g	-3	5	4
	性周期	—	—	—	—
	平均交配所要日数	NC	NC	NC	NC
	交尾動物数	15	13	15	13
	妊娠動物数	13	11	15	12
	平均妊娠期間(日)	22.4	22.9	22.6	22.8
	平均黄体数	NM	NM	NM	NM
	平均着床数	14.2	13.7	13.3	12.9
	平均着床前胚死亡率(%)	NC	NC	NC	NC
	平均着床後胚死亡率(%)	5.4	1.3*	5.5	5.2
	雌 (帝王 切開)	評価動物数	15	15	15
死亡及び瀕死期安楽死動物数		0	0	0	0
一般状態		—	—	—	—
剖検		—	—	—	—
交配前体重(%) ^a		229g	0	-5**	-6**
妊娠時体重(%)妊娠 19 日 ^a		334g	-1	-3	-7
交配前摂餌量(%) ^a		21.1g	-4	-15**	-20**
妊娠時摂餌量(%)妊娠 19 日 ^a		24g	+8	+4	-11
性周期		—	—	—	—
平均交配所要日数		NC	NC	NC	NC
交尾動物数		14	15	13	12
妊娠動物数		13	13	13	11
平均黄体数		14.5	16.1	15.3	15.1
平均着床数		11.5	13.6	13.8	12.5
平均着床前死亡率(%)		21.2	15.3	9.5	17.5
胎盤重量(%) ^a		0.6g	-17	-17	0
平均生存胎児数		11.2	12.8	13.5	11.9
平均死亡胎児数		0.0	0.0	0.2	0.0
平均吸収胚数 早期		0.2	0.5	0.1	0.5
後期		0.0	0.2	0.1	0.0
平均着床後死亡率(%)	2.0	5.6	2.2	4.4	
平均胎児体重(g)	3.4	3.3	3.2	3.4	
胎児の性比(%雄)	47.9	50.3	43.2	45.8	
胎児検査 外表・内臓・骨格異常	—	—	—	—	

—：特記すべき所見なし NC：算出せず NM：測定せず

*P<0.05、**P<0.01：Dunnett's test (実測値での対照群との比較)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。

b：死因不明

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

試験番号： 308/A (続き) 被験物質：トラマドール塩酸塩

投与量(mg/kg/日)		0(対照)	10	25	50
F ₁ 出生児 (離乳前)	評価母体数	13	11	15	12
	平均生存出生児数/腹	13.2	13.5	12.6	11.8
	平均死亡出生児数/腹	0.3	0.0	0.0	0.4
	出生3日後生存率	91.0	100.0	94.7	84.5
	離乳時生存率 ^a	57.9	65.5	69.1	51.7
	生後20日体重(g)	40.3	41.5	43.2	43.4
	出生児性比(%雄)	44.6	54.4	48.1	45.6
	出生児一般状態	—	—	—	—
	出生児剖検(途中死亡動物)	—	—	—	—
	身体発達	—	—	—	—
	感覚機能	—	—	—	—
運動機能	—	—	—	—	
F ₁ 雄 (離乳後)	一般状態	—	—	—	—
	剖検：精巣重量減少	—	—	—	+
	交配前体重(g) ^b	334.0	322.5	325.8	319.2
	摂餌量(%)	NM	NM	NM	NM
	包皮の分離	NM	NM	NM	NM
	学習及び記憶	—	—	—	—
	平均交配所要日数	NC	NC	NC	NC
	交尾動物数	15	14	13	14
	授胎動物数	15	14	13	11
	—	—	—	—	—
F ₁ 雌 (離乳後)	一般状態	—	—	—	—
	剖検	—	—	—	—
	交配前体重(g) ^b	230.0	233.9	226.4	221.4
	妊娠20日体重(g)	387.5	393.8	380.0	347.9**
	授乳0日体重(g)	305.7	315.1	297.7	303.6
	授乳20日体重(g)	337.4	355.6	331.8	327.8
	交配前摂餌量(%)	NM	NM	NM	NM
	妊娠時摂餌量(%)	NM	NM	NM	NM
	膣開口までの平均日齢(日数)	39.2	39.1	39.1	39.1
	学習能及び記憶	—	—	—	—
	平均交配所要日数	NC	NC	NC	NC
	交尾動物数	15	14	13	14
	妊娠動物数	15	14	13	11
	生存胎児が確認されなかった動物数	0	1	0	1
	平均黄体数	NM	NM	NM	NM
	平均着床数	15.5	15.9	16.5	14.5
平均着床前死亡率(%)	NC	NC	NC	NC	

—：特記すべき所見なし +：所見有り NC：算出せず NM：測定せず

**P<0.01：Dunnnett's test (対照群との比較)

a：(出生後20日の生存出生児数)/(出生後3日の生存出生児数)

b：9週齢時の体重、統計学的評価は実施せず。

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

試験番号： XXXXXXXXXX 308/A (続き) 被験物質：トラマドール塩酸塩

投与量(mg/kg/日)		0(対照)	10	25	50
F ₂ 出生児	平均着床後死亡率(%)	10.3	18.8**	11.2	15.7
	評価母体数	15	13	13	10
	平均生存出生児数/腹	13.8	13.4	14.6	13.4
	平均死亡出生児数/腹	0.1	0.6	0.0	0.0
	出生3日後生存率	84.1	94.8**	86.3	96.3**
	離乳時生存率 ^a	87.4	43.0**	54.3**	73.6
	出生児体重(g) ^b	34.1	38.8	39.3	35.4
	出生児性比(%雄)	49.8	49.2	51.6	47.8
	出生児一般状態	—	—	—	—
	出生児剖検	—	—	—	—
	身体発達	—	—	—	—
	感覚機能	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし

**P<0.01：Dunnett's test (対照群との比較)

a：(出生後20日の生存出生児数)/(出生後3日の生存出生児数)

b：出生後20日の平均体重

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験

2.6.7.13A 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Tramal (CG 315): Teratogenicity testing of tramal (CG 315) in the rat.

試験計画 ICH4.1.3 準拠：適 投与期間：妊娠7日～妊娠17日

試験番号：83/301

動物種/系統：SD ラット

交尾成立日：妊娠1日

CTDにおける記載箇所：Vol.IV Section: 4.2.3.5.2-1

試験開始週齢：不明

帝王切開日：妊娠21日

GLP 適用：適

(妊娠1日目体重範囲：199.2～279.3g)

初回投与年月日：19 年 月 日(帝王切開群)

投与方法：強制経口

19 年 月 日(自然分娩群)

媒体/投与形態：水溶液

同腹児子の調整/非調整：非調整

特記事項：なし

無毒性量：

F₀雌；一般毒性 25mg/kg/日未満、生殖能 75mg/kg/日F₁胎児；25mg/kg/日未満

出生児；50mg/kg/日

投与量(mg/kg/日)		0(対照)	25	50	75
母体/ 雌動物 (帝王 切開)	妊娠動物数	21	24	23	24
	死亡及び瀕死期安楽死動物数	0	0	0	0
	流産あるいは全胚吸収母体数	0	0	0	0
	一般状態	—	—	—	—
	剖検	ND	ND	ND	ND
	体重(%) ^a	307.9g	-12**	-12**	-15**
	摂餌量(%) ^b	27.7g	-17	-16	-17
	平均黄体数	15.5	14.5	15.3	14.2
	平均着床数	13.0	13.2	14.2	11.8
	平均着床前死亡率(%)	16.31	9.17	7.12	16.72
	胎盤重量(%) ^c	0.57g	-7***	-5***	-2
胎児	評価母体数	21	24	23	24
	平均生存胎児数	12.8	13.0	13.9	11.7
	死亡胎児数	3	5	6	4
	平均着床後胚死亡率(%)	1.10	1.58	2.15	1.41
	平均胎児体重(g)	3.6	3.4*	3.3**	3.5
	胎児の性比(%雄)	45.7	49.7	54.9	49.5

—：特記すべき所見なし ND：実施せず

*P≤0.05、**P≤0.01、***P≤0.001：two-tailed t-test (実測値での対照群との比較)

a：投与終了時(妊娠17日)の値。対照群の値は平均値、投与群の数字は対照群との差を%で表す。

b：投与終了時(妊娠17日)の値。対照群の値は平均値、投与群の数字は対照群との差を%で表す。
統計学的評価は実施せず。

c：対照群の値は平均値、投与群の数字は対照群との差を%で表す。

2.6.7.13A 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験

試験番号： █████ 83/301（続き）被験物質：トラマドール塩酸塩

投与量(mg/kg/日)		0(対照)	25	50	75
胎児	胎児の異常				
	外表異常				
	臍ヘルニア				
	胎児数(%)	1(0.4)	1(0.3)	0	1(0.4)
	母体数(%)	1(4.8)	1(4.2)	0	1(4.2)
	前頭骨の異常				
	胎児数(%)	0	0	0	1(0.4)
	母体数(%)	0	0	0	1(4.2)
	下顎:短小				
	胎児数(%)	0	0	1(0.3)	0
	母体数(%)	0	0	1(4.3)	0
	内臓異常				
	尿管拡張				
	胎児数(%)	14(8.9)	30(18.8)	53(32.5)	35(23.8)
母体数(%)	NC	NC	NC	NC	
骨格異常					
下顎:短小					
胎児数(%)	0	0	1(0.6)	0	
母体数(%)	0	0	1(8.3)	0	
骨化異常					
胸骨不完全骨化					
胎児数(%)	9(5.7)	12(7.5)	26(16.0)	45(30.6)	
母体数(%)	NC	NC	NC	NC	

NC：算出せず

2.6.7.13A 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験

試験番号： █████ 83/301 (続き) 被験物質：トラマドール塩酸塩

投与量(mg/kg/日)		0(対照)	25	50	75
雌 (自然 分娩)	妊娠動物数	9	10	12	10
	死亡及び瀕死期安楽死動物数	0	0	0	0
	一般状態	—	—	—	—
	剖検	ND	ND	ND	ND
	妊娠時体重(%)妊娠 21 日 ^a	355.5g	-4	-3	-8**
	授乳時体重(%)授乳 21 日 ^a	311.9g	-3	1	-8
	妊娠時摂餌量(%)妊娠 20 日 ^b	24.1g	2	1	-5
	授乳時摂餌量(%)	NM	NM	NM	NM
	平均妊娠期間(日)	22.1	22.1	22.4	22.2
	異常分娩	—	—	—	—
	平均着床後死亡率(%)	0.0	0.0	0.0	0.7
F ₁ 出生児	評価母体数	9	10	12	10
	平均生存出生児数/腹	11.8	12.9	13.4	13.3
	平均死亡出生児数/腹	0.0	0.0	0.0	0.1
	出生 4 日後生存率	94.3	89.1	97.5	96.2
	離乳時生存率 ^c	44.0	68.7	59.2	73.4
	出生児体重(g) ^d	37.9	33.4	38.2	32.7
	出生児性比(%雄)	45.3	49.6	42.9	48.5
	出生児一般状態	—	—	—	—
	出生児剖検	ND	ND	ND	ND
	感覚機能	—	—	—	—
	運動機能	—	—	—	—
	学習及び記憶	—	—	—	—
	膈開口比率(%) ^e	87.5	82.9	86.5	69.6
	耳介の挙上、耳管開口比率(%) ^f	87.8	82.7	87.9	51.0 [#]
	自発摂餌比率(%) ^g	93.5	98.7	74.0	56.8 [#]

—：特記すべき所見なし ND：実施せず NM：測定せず

**P≤0.01：two-tailed t-test (実測値での対照群との比較)

[#]P<0.001：χ² test

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。

b：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的評価は実施せず。

c：(出生後 21 日の生存出生児数)/(出生後 4 日の生存出生児数)

d：出生後 21 日の平均体重

e：出生後 40 日での割合

f：出生後 16 日での割合

g：出生後 19 日での割合

2.6.7.13B 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Segment II (teratogenicity/developmental toxicity) study in female New Zealand White rabbits treated orally (gavage) with tramadol hydrochloride.

試験計画 ICH4.1.3 準拠：適 投与期間：妊娠 7 日-妊娠 19 日 試験番号：■■-90325
 動物種/系統：NZW ウサギ 交尾成立日：妊娠 0 日 CTD における記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.5.2-2
 試験開始月齢：5 ヶ月齢 帝王切開日：妊娠 29 日 GLP 適用：適
 初回投与年月日：19■■年■■月■■日 投与方法：強制経口
 媒体/投与形態：1%ヒドロキシプロピルメチルセルロース懸濁液

特記事項：トキシコキネティクスは初回投与（妊娠 7 日）及び最終投与（妊娠 19 日）に各群 6 羽について実施した。採血は投与後 1 時間に行った。

無毒性量：

F₀ 雌；一般毒性 50mg/kg/日、生殖能 175mg/kg/日F₁ 胎児；50mg/kg/日

投与量(mg/kg/日)		0(対照)	10	50	125	175
母体/ 雌動物	トキシコキネティクス					
	未変化体濃度(ng/mL)					
	初回投与時(G7)	0	25 ^d	396	2949	5998
	最終投与時(G19)	0	23	608 ^e	4078	4583 ^e
	代謝物 M1 ^a 濃度(ng/mL)					
	初回投与時(G7)	0	57	243	829	814
	最終投与時(G19)	0	66	267 ^e	374	487 ^e
	妊娠動物数	18	17	18	18	18
	死亡及び瀕死期安楽死動物数	0	0	1 (投与過誤)	1 (後肢脱臼の 為安楽死処 分)	2 (内 1 例 投与過誤)
	流産あるいは全胚吸収 母体数	1	1	0	0	1
	一般状態					
	呼吸促進	—	—	—	+	+
	間代性痙攣	—	—	—	+	+
	尿量・便量減少	—	—	—	+	+
虚脱	—	—	—	+	+	
自発運動の低下	—	—	—	—	+	
評価母体数	17	16	17	17	14 ^f	
剖検	—	—	—	—	—	
体重(%) ^b	3893g	-2	-1	-5	-8**	
摂餌量(%) ^c	147.5g	-5	-8	-42 [#]	-57 [#]	
平均黄体数	11.0	9.6	9.1	10.1	9.4	
平均着床数	8.0	8.6	7.2	7.2	6.6	
平均着床前死亡率(%)	27.8	9.7*	19.7	28.2	28.2	

—：特記すべき所見なし +：所見有り

*P≤0.05、**P≤0.01：two-tailed t-test test（実測値での対照群との比較）

#P≤0.01：Dunn's test

a：トラマドール塩酸塩の代謝物（モノ-O-脱メチル体）

b：投与終了時(妊娠 19 日)の値。対照群の値は平均値、投与群の数字は対照群との差を%で表す。

c：妊娠 16~20 日の平均値。対照群の値は平均値、投与群の数字は対照群との差を%で表す。

d：定量限界以下の 1 例を 0 ng/mL として平均値を算出

e：動物数；5

f：175mg/kg 投与群の 1 例は投与ミスのため統計学的処理から除外

2.6.7.13B 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験

試験番号：■■-90325（続き） 被験物質：トラマドール塩酸塩

投与量(mg/kg/日)	0(対照)	10	50	125	175
胎児					
評価母体数	17	16	17	17	14 / 15 ^b
平均生存胎児数	7.4	8.1	7.2	6.7	6.1
平均吸収胚数 早期	0.4	0.3	0.1	0.1	0.1
後期	0.2	0.2	0.0	0.4	0.3
死亡胎児数	2	0	0	0	0
平均着床後胚死亡率(%)	7.3	5.5	0.8	6.4	8.1
平均胎児体重(g)	46.6	45.1	45.0	42.8	41.8*
胎児の性比(%雄)	49.9	44.0	41.4	39.1	52.7
胎児の異常					
外表異常					
関節拘縮					
胎児数(%)	0	0	0	0	1(1)
母体数(%)	0	0	0	0	1(7)
小胎児					
胎児数(%)	1(1)	0	0	1(1)	0
母体数(%)	1(6)	0	0	1(6)	0
鼻:非対称					
胎児数(%)	1(1)	0	0	0	0
母体数(%)	1(6)	0	0	0	0
ドーム頭					
胎児数(%)	0	0	0	0	1(1)
母体数(%)	0	0	0	0	1(7)
眼球突出					
胎児数(%)	0	0	0	1(1)	0
母体数(%)	0	0	0	1(6)	0
小眼球					
胎児数(%)	1(1)	0	0	0	1(1)
母体数(%)	1(6)	0	0	0	1(7)
臍帯ヘルニア					
胎児数(%)	0	0	0	1(1)	0
母体数(%)	0	0	0	1(6)	0
内臓異常	—	—	—	—	—
骨格異常					
完全過剰肋骨					
胎児数(%) ^a	30(22)	64(47)	46(39)	46(40)	53(58)
母体数(%)	11(65)	15(94)	11(65)	16(94) [#]	14(93) [#]

—：特記すべき所見なし

* $P \leq 0.05$: Dunnett's test (対照群との比較)、[#] $P \leq 0.05$: Fisher's exact test (対照群との比較)

a：統計学的評価は実施せず。

b：胎児の異常については母体数 15 例で評価。

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

被験物質：トラマドール塩酸塩

報告書の題名：Perinatal and postnatal reproduction study of RWJ-26898-002 administered orally via gavage to Crj:CD® BR VAF/Plus® rats(segment III evaluation).

試験計画 ICH4.1.2 準拠：適用外 投与期間：妊娠 15 日～授乳 21 日 試験番号：■-90337

動物種/系統：SD ラット 交尾成立日：妊娠 0 日 CTD における記載箇所：Vol.IV Section：4.2.3.5.3-1

試験開始週齢：10 週齢 投与方法：強制経口 GLP 適用：適

初回投与年月日：19■年■月■日 媒体/投与形態：1%ヒドロキシプロピルメチルセルロース懸濁液

同腹児子の調整/非調整：4 匹/性/腹

特記事項：F₁ 児の身体的発達、感覚機能、学習能及び記憶、性成熟、受胎能の観察は実施しなかった。

無毒性量：

F₀ 雌：一般毒性 8mg/kg/日未満、生殖能 80mg/kg/日

F₁ 雄：40mg/kg/日

F₁ 雌：40mg/kg/日

投与量(mg/kg/日)		0(対照)	8	20	40	80
F ₀ 雌	妊娠動物数	25	24	25	25	25
	死亡及び瀕死期安楽死動物数	0	0	0	0	0
	一般状態					
	眼球突出	—	+	+	+	+
	散瞳	—	—	+	+	+
	腹部脱毛	—	—	—	+	+
	剖検	—	—	—	—	—
	妊娠時体重(%) ^a	379.1g	-2	-4*	-5*	-9**
	授乳時体重(%) ^b	306.6g	0	-2	-4**	-5**
	妊娠時摂餌量(%) ^c	20.8g	-3	-7	-21 ^{##}	-38 ^{##}
授乳時摂餌量(%) ^d	46.4g	2	0	-1	-6	
平均妊娠期間(日数)	22.3	22.2	22.8**	22.8**	22.7*	
異常分娩	—	—	—	—	—	

—：特記すべき所見なし +：所見有り

*P≤0.05, **P≤0.01：Dunnett's test (実測値での対照群との比較)、^{##}P≤0.01：Dunnett's test (対照群との比較)

a：妊娠 21 日の値。対照群の値は平均値、投与群の数字は対照群との差を%で表す。

b：授乳 21 日の値。対照群の値は平均値、投与群の数字は対照群との差を%で表す。

c：妊娠 20-21 日の値。対照群の値は平均値、投与群の数字は対照群との差を%で表す。

d：授乳 7-14 日の値。対照群の値は平均値、投与群の数字は対照群との差を%で表す。

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

試験番号：■■-90337（続き） 被験物質：トラマドール塩酸塩

投与量(mg/kg/日)	0(対照)	8	20	40	80
F ₁ 出生児					
評価母体数	25	24	25	25	25
平均着床数	15.0	14.2	14.3	14.6	15.3
平均出生児数/腹	14.1	13.4	13.2	13.8	14.8
平均生存出生児数/腹	14.0	13.2	13.0	13.6	14.2
平均死亡出生児数/腹	0.1	0.3	0.2	0.2	0.6
出生児生存率	99.2	97.8	98.8	98.3	96.2
出生4日後生存率	99.1	93.4	99.7	96.8	77.5 ^{††}
離乳時生存率 ^a	100.0	100.0	100.0	99.5	98.8
出生児体重(g) 生後1日	5.8	5.8	6.0	5.8	5.1 ^{**}
生後21日	43.2	42.8	43.9	41.6	39.5 ^{**}
出生児性比(%雄)	48.0	53.2	48.3	52.3	57.0
出生児一般状態 体温低下、蒼白	—	—	—	—	+
死亡出生児剖検					
死亡出生児数	6	28	5	17	96
哺乳不良 胎児数	0	3	0	6 ^{††}	37 ^{††}
母体数	0	3	0	4	7
出生児剖検 哺乳不良	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし

**P≤0.01：Dunnett's test（対照群との比較）、††P≤0.01：Fisher's exact test（対照群との比較）

†††P≤0.01：the variance test for homogeneity of the binomial distribution（対照群との比較）

a：(出生後21日の生存出生児数)/(出生後4日、同腹児子調整後の生存出生児数)

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当試験なし。

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当試験なし。

2.6.7.17 その他の毒性試験**2.6.7.17A その他の毒性試験：抗原性試験**

該当試験なし。

2.6.7.17B その他の毒性試験：免疫毒性試験

該当試験なし。

2.6.7.17C その他の毒性試験：毒性発現の機序に関する試験

該当試験なし。

2.6.7.17D その他の毒性試験：依存性試験

該当試験なし。

2.6.7.17E その他の毒性試験：代謝物の毒性試験

該当試験なし。

2.6.7.17F その他の毒性試験：不純物の毒性試験

該当試験なし。

2.6.7.17G その他の毒性試験：その他の試験

該当試験なし。