

目次

2.6.6	毒性試験の概要文	2
2.6.6.1	まとめ	2
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	5
2.6.6.4	遺伝毒性試験	9
2.6.6.5	がん原性試験	9
2.6.6.6	生殖発生毒性試験	9
2.6.6.7	局所刺激性試験	10
2.6.6.8	その他の毒性試験	10
2.6.6.9	考察及び結論	10
2.6.6.10	図表	14

2.6.6 毒性試験の概要文

本項で使用した略号及び用語の定義一覧を表 2.6.6-1 に示す。

表 2.6.6-1 略号及び用語の定義一覧

略号及び用語	定義
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC _{24h}	時間 0 から投与後 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC _{inf}	時間 0 から無限時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積
CK	クレアチンキナーゼ
LDH	乳酸脱水素酵素
x mg/kg/4W	x mg/kg を 4 週間隔で投与

2.6.6.1 まとめ

ミノドロン酸水和物（以下、本薬）の毒性に関しては、骨粗鬆症を適応としたミノドロン酸 1 日 1 回経口剤 1mg（製造販売承認：2009 年 1 月）の医薬品製造販売承認申請資料（リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6 毒性試験の概要文及び 2.6.7 毒性試験概要表）において、単回投与毒性試験（ラット及びイヌ：経口及び静脈内投与）、反復投与毒性試験（ラット及びイヌ：経口及び静脈内投与、サル：経口投与）、遺伝毒性試験（復帰突然変異試験、染色体異常試験及び小核試験）、がん原性試験（マウス及びラット：経口投与）、生殖発生毒性試験（ラット及びウサギ：経口及び静脈内投与）、局所刺激性試験（眼粘膜）及びその他の毒性試験（抗原性試験及び機序解明試験）に関して報告している。

今回、月 1 回の間歇経口投与製剤の開発にあたり、ラット及びイヌを用いて 4 週間隔での間歇反復経口投与毒性試験を実施した。試験に用いた動物種は、背景データが豊富であること、本薬にはヒトに特異的な代謝物は認められないことから、本薬の間歇投与における安全性を評価するのに適切な動物種であると考えられた。実施した間歇反復経口投与毒性試験は、医薬品毒性試験法ガイドラインに準拠し、GLP 下で実施した。投与経路は、臨床適用経路である経口投与とし、本薬をメチルセルロース水溶液に溶解（ラット）、あるいはゼラチンカプセルに充填（イヌ）して投与した。また、投与回数は、ラットでは 4 週間隔での 8 回投与（26 週試験に相当）とし、イヌでは 4 週間隔での 13 回投与（52 週試験に相当）とした。なお、反復投与毒性試験以外の試験項目については、既報告の毒性試験の結果を外挿する事で評価可能と考えられることから、間歇反復経口投与毒性試験以外の毒性試験は新たに実施していない。

実施した間歇反復経口投与毒性試験の一覧及びその主たる成績を表 2.6.6-2 に示す。なお、本薬の薬理作用である骨吸収抑制作用に関連すると考えられる骨の変化及び血漿カルシウム、無機リ

ンの減少及びCK活性の増加等の所見は、以下の表及びまとめからは省略し、2.6.6.3 反復投与毒性試験のそれぞれの試験に関する項において記述した。

表 2.6.6- 2 ミノドロン酸水和物の間歇反復経口投与毒性試験一覧

試験項目	動物種 (試験系)	投与(処置) 方法, 期間	投与量 (mg/kg/4W)	GLP 適用	主たる試験成績
反復投与 毒性	ラット	経口, 4 週間 隔 8 回投与 ¹⁾	0, 2, 10/20 ²⁾ , 30, 100	適	2 mg/kg/4W 以上: 腺胃粘膜上皮の単細胞壊死。 10/20 mg/kg/4W 以上: AST 及び ALT 活性増加, 胃の境界縁肥厚, 腸間膜リンパ節のマクロ ファージ集簇。 30 mg/kg/4W 以上: 体重及び摂餌量減少。 100 mg/kg/4W: 白血球数増加, 尿素窒素増加。 無毒性量: 2 mg/kg/4W 未満 (しかし, 1 日 1 回投与における 26 週間反復経口投与試験 (リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.3.2 ラットにおける 26 週間反復経口投 与毒性試験及び 2.6.6.9.1 消化管障害につい て)の結果から, 1 回投与量 1 mg/kg の安全 性は確認されていると判断)
	イヌ	経口, 4 週間 隔 13 回投与 ³⁾	0, 5, 10, 20, 40	適	40 mg/kg/4W: 便性状異常 (粘液便, 軟便, 水 様便, 鮮血便), 雌 1 例が途中剖検 (体重及 び摂餌量の持続的減少。剖検時 AST, ALT, ALP 活性及び総ビリルビン増加, 総コレス テロール, リン脂質及びクレアチニン減少, 大脳, 小脳及び延髄の海綿状態<空胞形成 >)。計画解剖例においても雄 1 例で途中剖 検と類似の大脳及び小脳の海綿状態<空胞 形成> 無毒性量: 20 mg/kg/4W

1): 26 週試験の期間に相当。

2): 2 回目の投与から 20 mg/kg/4W とした。

3): 52 週試験に相当。

単回投与毒性試験

該当資料なし。

反復投与毒性試験

本薬を 4 週間隔でラットには 8 回, イヌには 13 回間歇反復経口投与し毒性を検討した。

ラットにおける 4 週間隔 8 回反復経口投与毒性試験 (投与量: 0, 2, 10/20, 30 及び 100 mg/kg/4W。
なお, 10/20 mg/kg/4W 群は 1 回目の投与は 10 mg/kg で 2 回目以降は 20 mg/kg) では, 2 mg/kg/4W
以上の投与群では, 腺胃粘膜上皮の単細胞壊死が認められた。10/20 mg/kg/4W 以上の投与群では,
AST 及び ALT 活性の増加, 胃で境界縁の肥厚, 幽門部粘膜上皮の腸上皮化生, 幽門部粘膜上皮の
肥大/過形成及び腺胃の炎症細胞浸潤, 前胃境界縁扁平上皮の過形成/角化亢進, 腸間膜リンパ節の
マクロファージの集簇の頻度及び程度の増強が認められた。30 mg/kg/4W 以上の投与群では, 体

重の増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。100 mg/kg/4W 投与群では、白血球数及び尿素窒素の増加、腺胃の線維化が認められた。以上の結果、最低用量とした 2 mg/kg/4W 投与群の雌雄に胃に対する影響が認められたことから、本試験における無毒性量は、雌雄ともに 2 mg/kg/4W を下回るものであった。しかし、本薬の 1 日 1 回投与における 26 週間反復経口投与毒性試験の胃に対する無毒性量は、1 mg/kg/day（リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.3.2 ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験及び 2.6.6.9.1 消化管障害について）であることから、1 回投与量 1 mg/kg の安全性は確認されていると判断した。胃に対する変化は、本薬の胃粘膜への直接的な作用と考えられることから、投与量を基準に評価した結果、臨床用量である 50 mg（骨粗鬆症患者が 50 mg の用量を服用した際の体重を 50 kg として換算した場合、1 mg/kg に相当）との安全域は 1 倍であった。また、曝露量を基準に評価した無毒性量は 2 mg/kg/4W であり、その曝露量（AUC_{24h}）5.70 ng·h/mL は、臨床用量 50 mg における曝露量（AUC_{inf}）77.88 ng·h/mL を下回った。しかしながら、10/20 mg/kg/4W 以上の投与群で認められた AST 及び ALT 活性の増加は、対照群と比較して最大でも約 1.5 倍と軽度なものであり、肝臓や心臓等の関連する臓器に病理組織学的変化は認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。したがって、曝露量を基準に評価した無毒性量 2 mg/kg/4W の曝露量（AUC_{24h}）は臨床用量 50 mg における曝露量（AUC_{inf}）を下回ったが、臨床において問題となる副作用が発現する可能性は低いものと考えられた。

イヌにおける 4 週間隔 13 回反復経口投与毒性試験（投与量：0, 5, 10, 20 及び 40 mg/kg/4W）では、20 mg/kg/4W 以下の投与群では投与に起因した変化は認められなかった。40 mg/kg/4W 投与群では、雌 1 例において、第 2 回投与以降に体重及び摂餌量の持続的な減少が認められ、投与継続が困難であると判断し第 3 回投与後 27 日に途中剖検した。本例では、剖検時に AST, ALT, ALP 活性及び総ビリルビンの増加、総コレステロール、リン脂質及びクレアチニンの減少が認められ、病理組織学検査において、大脳、小脳及び延髄の海綿状態（空胞形成）が認められた。生存例では、40 mg/kg/4W 投与群の雌雄で、便性状の異常（軟便、粘性便、水様便及び鮮血便）が認められた。また、雄 1 例で途中剖検例と同様の変化（大脳及び小脳の海綿状態）が認められた。以上の結果より、無毒性量は雌雄とも 20 mg/kg/4W と判断した。無毒性量における曝露量（AUC_{24h}）は、臨床用量 50 mg における曝露量（AUC_{inf}）と比較すると、5～6 倍であった。

遺伝毒性試験

該当資料なし。

がん原性試験

該当資料なし。

生殖発生毒性試験

該当資料なし。

局所刺激性試験

該当資料なし。

その他の毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.3 反復投与毒性試験……………添付資料 4.2.3.2-1～2

2.6.6.3.1 ラットにおける4週間隔8回反復経口投与毒性試験 添付資料 4.2.3.2-1

本薬のラットの単回経口投与毒性試験（リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.2.1 ラットにおける単回経口投与毒性試験及び2.6.7.5 単回投与毒性試験）の結果、死亡が雄では200 mg/kg以上、雌では283 mg/kg以上で認められたことから、本試験では単回投与で死亡しないと考えられる100 mg/kgを1回（4週間隔）あたりの最高投与量とし、以下に30、10/20及び2 mg/kg/4Wを設定した。なお、10/20 mg/kg/4W群は1回目の投与後に実施した血漿中薬物濃度測定の結果、10 mg/kg/4W投与群のAUC_{24h}が臨床で想定されている曝露量を下回ったため、第2回以降の投与量を20 mg/kg/4Wに変更した。

ミノドロン酸水和物を1.5%メチルセルロース水溶液に溶解し、F344系ラット（1群雌雄各12匹、6週齢で投与開始）に4週間隔で8回間歇経口投与し、最終投与の翌日に剖検した。対照群には1.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。また、血漿中の薬物濃度を測定し、本薬の全身曝露量について検討した。

100 mg/kg/4W投与群の雌1例が、第7回投与後10日に死亡発見された。前日までの一般状態には異常は認められず、剖検では胃の境界縁の肥厚に加え、口腔内に餌の貯留が認められるのみで、死因を示唆する病変も認められなかった。このことから、本例の死亡原因は本薬の作用ではなく、F344系ラットに時折認められる偶発死^{1,2}と考えられた。

2 mg/kg/4W以上の投与群では、腺胃粘膜上皮の単細胞壊死が雌雄に認められた。

10/20 mg/kg/4W以上の投与群では、AST及びALT活性の増加が雌で、総コレステロールの減少が10/20及び30 mg/kg/4W投与群の雌及び100 mg/kg/4W投与群の雌雄で、総蛋白質の減少、幽門部粘膜上皮の肥大/過形成及び腸上皮化生、腺胃の炎症細胞浸潤及び腸間膜リンパ節におけるマクロファージの集簇の頻度及び程度の増強が雌雄で認められた。また、胃の境界縁の肥厚が10/20 mg/kg/4W投与群の雌及び30 mg/kg/4W投与群の雄並びに100 mg/kg/4W投与群の雌雄で、前胃境界縁扁平上皮の過形成/角化亢進が10/20 mg/kg/4W投与群の雌及び30 mg/kg/4W以上の投与群の雌雄で認められた。

30 mg/kg/4W 以上の投与群では、体重の増加抑制、摂餌量の減少及び尿中ナトリウム排泄量の減少が 30 mg/kg/4W 投与群の雄及び 100 mg/kg/4W 投与群の雌雄で認められた。なお、体重及び摂餌量の変化の程度は投与回数を重ねるごとに軽減した。

100 mg/kg/4W 投与群では、自発運動の減少、紅涙、リンパ球比率の減少、分葉核好中球比率及び血漿クロライドの増加が雌で認められた。なお、自発運動の減少及び紅涙は少数例で第 3 回投与後 3 及び 4 日に認められたが、第 3 回投与後 8 日には消失した。また、尿浸透圧（第 7 回投与後のみ）及び血漿カリウムの増加が雄で、白血球数及び尿素窒素の増加、尿 pH の低下傾向（第 4 回投与後のみ）及び腺胃の線維化が雌雄で認められた。

その他、30 mg/kg/4W 投与群の雄及び 100 mg/kg/4W 投与群の雌雄で切歯（下顎）のエナメル芽細胞の萎縮が認められた。切歯への影響は、アレンドロネートをラットに反復投与した場合にも認められており、遺伝的に破骨細胞の形成が抑制されている *op/op* マウスでは、骨吸収不全により切歯の短小化や萌出障害が生じることが報告され、これらは骨吸収抑制に関連した変化と考えられている³。本変化は切歯のみで臼歯には変化は認められていないことから、終生成長し続ける常生歯であるげっ歯類の切歯に特異的な変化であり、ヒトへの外挿性のない変化と考えられた。また、本薬の薬理作用に起因する変化として、本薬投与群の雌雄の大腿骨又は胸骨（骨髄）で骨幹端未熟骨梁の増殖/伸長（一次海綿骨領域）及び骨の増加に伴う骨髄腔の減少が、10/20 mg/kg/4W 以上の投与群の雌雄で大腿骨又は胸骨においてアポトーシス様を呈する破骨細胞の変性が認められた。更に、本薬の薬理作用に基づく二次的な変化として、本薬投与群の雌雄で血漿カルシウム又は無機リンの減少が、10/20 mg/kg/4W 以上の投与群の雌雄で CK 活性の増加及び尿中無機リンの排泄増加が認められた。

以上の結果より、最低用量とした 2 mg/kg/4W 投与群の雌雄に胃に対する影響が認められたことから、本試験における無毒性量は、雌雄ともに 2 mg/kg/4W を下回る量と判断した。しかし、本薬の 1 日 1 回投与における 26 週間反復経口投与毒性試験では、胃に対する無毒性量は 1 mg/kg/day（リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.3.2 ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験及び 2.6.6.9.1 消化管障害について）であり、1 回投与量である 1 mg/kg の安全性は確認されていることから、本薬を 4 週間隔で投与した際の無毒性量は 1 mg/kg/4W であると判断した。一方、胃に対する作用を除く無毒性量は 2 mg/kg/4W であり、この曝露量（AUC_{24h}）5.70 ng·h/mL は、臨床用量 50 mg における AUC_{inf} の 77.88 ng·h/mL を下回った。しかし、10/20 mg/kg/4W 以上で認められた AST 及び ALT 活性の増加は、最大でも対照群の 1.5 倍程度と軽度なものであり、いずれ用量においても、肝臓や心臓等の関連臓器に病理組織学的変化は認められなかったことから、AST 及び ALT 活性の増加は毒性学的意義の低い変化と考えられた。

2.6.6.3.2 イヌにおける 4 週間隔 13 回反復経口投与毒性試験 添付資料 4.2.3.2-2

ビーグル犬における単回経口投与毒性試験（リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.2.3 イヌにおける単回経口投与毒性試験（増量方式）及び 2.6.7.5 単回投与毒性試験）の結果、最高投与量の 80 mg/kg 投与において死亡は認められなかったものの、雄で投与後 30 分に嘔吐が 2 回認め

られ、40 mg/kg 以下の投与では一般状態に異常が認められなかった。このことから、最高投与量は 40 mg/kg/4W とし、以下、20、10 及び 5 mg/kg/4W を設定した。

ミノドロン酸水和物をゼラチンカプセルに充填し、ビーグル犬（1 群雌雄各 4 頭、8 カ月齢で投与開始）に 4 週間隔で 13 回間歇経口投与し、最終投与の翌日に剖検した。対照群には空のゼラチンカプセルを投与した。また、血漿中の薬物濃度を測定し、本薬の全身曝露量について検討した。

40 mg/kg/4W 投与群の雌 1 例は、第 2 回投与後に体重及び摂餌量が減少した。更に、第 3 回投与後 3 週より消瘦が認められ、その後、自発運動の減少を呈したことから、回復が見込めず、以後の投与の継続が困難と判断し、第 3 回投与後 27 日（第 3 回投与後 4 週）に途中剖検した。剖検当日の所見として、糞便潜血検査で陽性、血液学検査で好酸球比率及び絶対数の減少、血液生化学検査で AST、ALT 及び ALP 活性の増加並びに総ビリルビンの増加、総コレステロール、リン脂質及びクレアチニンの減少が認められた。また、肝臓の絶対重量及び相対重量減少が認められ、剖検では、胸腺の小型化、胆嚢の拡張及び肝臓の退色が認められた。病理組織学検査では、大脳、小脳及び延髄の海綿状態（空胞形成）、脾臓の被膜下の線維化、盲腸及び結腸の粘膜上皮の単細胞壊死、肝臓の肝細胞の萎縮、空胞化及び単細胞壊死、クッパー細胞/マクロファージのヘモジデリン沈着、肝細胞の褐色色素、腸間膜リンパ節、大腿部骨格筋、表皮/皮膚付属器、脂肪細胞及び胸腺の萎縮が認められた。その他、本薬の薬理作用に起因する変化として、血液生化学検査では CK 活性の増加及びカルシウムの減少、病理組織学検査では肋骨、胸骨及び大腿骨の骨幹端海綿骨の増加、肋骨及び大腿骨の骨髓腔減少が認められた。本例の第 1 回投与後の血漿中薬物濃度 (AUC_{24h}) は、病理組織学検査で同様の变化を認めた同群の雄と同様に高値を示しており、高濃度の本薬に曝露されたことにより、一般状態の悪化に至ったと考えられた。

5、10 及び 20 mg/kg/4W 投与群では本薬投与による影響は認められなかった。

40 mg/kg/4W 投与群では、雄 1 例で自発運動の減少及び流涎が認められた（第 6 回投与後 1 週）。また、雌雄で便性状の異常（軟便、粘性便、水様便及び鮮血便）が対照群と比べ高頻度に認められた。体重は、雄 1 例で第 2 回投与後から第 5 回投与後まで減少したが、その後は増加に転じた。別の雌 1 例においても第 4 回投与後から第 6 回投与後まで減少した。同例では、第 10 回投与後にも一時的に減少したが、その後は増加に転じた。摂餌量は、雄 1 例で上記の体重減少にほぼ一致して、第 3 回投与後 1 週から第 6 回投与後 1 週の間に摂餌量の減少が認められた。同群の雌 1 例においても第 5 回投与後 1 及び 2 週、第 10 回投与後 2 週に体重減少にほぼ一致して、摂餌量の減少が認められた。尿検査では、雄 1 例で、定性検査において色調の濃黄色調、尿潜血陽性反応、ビリルビン陽性反応、尿沈渣中の赤血球の出現が第 6 回投与後に認められた。糞便潜血検査では、雄 2 例で、第 1、3 あるいは 9 回投与後に潜血陽性反応が認められたが、消化管に関連を示唆する組織学的変化は認められなかった。血液学検査では、雄 1 例で、好塩基球比率及び絶対数の増加、単球比率及び絶対数の増加が一般状態に変化（体重及び摂餌量の減少を含む）がみられた時期に一致して第 6 回投与後に認められた。血液生化学検査では、AST 活性の増加（雌）及び尿素窒素の減少（雌）が認められた。個体別には、AST 活性の増加（雌雄各 1 例）、ALT 活性の増加（雌雄各 1 例）、総コレステロール及びリン脂質の減少（雌雄各 1 例）、尿素窒素の減少（雌雄各 1 例）、

クレアチニンの減少（雌雄各1例）が認められた。器官重量では、雄1例で肝臓の絶対及び相対重量減少、脾臓の絶対及び相対重量増加が認められた。また、雌1例で腎臓（左右合計）の絶対及び相対重量増加が認められた。病理組織学検査では、雄1例で途中剖検例と同様な変化（大脳及び小脳のスポンジ状態（空胞形成）、脾臓の被膜下の線維化、盲腸及び結腸の粘膜上皮の単細胞壊死、肝臓のクッパー細胞/マクロファージのヘモジデリン沈着及び肝細胞の褐色色素）及び顎下腺のび慢性の萎縮が認められた。

その他、本薬の薬理作用に起因する変化として、本薬投与群の雌雄全例で、肋骨、胸骨あるいは大腿骨の骨幹端海綿骨の増加が認められ、5 mg/kg/4W 以上の投与群の肋骨及び20 mg/kg/4W 以上の投与群の大腿骨に骨髓腔減少が認められた。また、本薬の薬理作用に基づく二次的な変化として、血液生化学検査では、10 及び40 mg/kg/4W 投与群の雌でカルシウムの減少が、10 mg/kg/4W 以上の投与群の雌で無機リンの減少が、20 及び40 mg/kg/4W 投与群の雌雄でCK 活性の増加が認められた。

以上の結果から、無毒性量は雌雄とも20 mg/kg/4W と判断した。この時の曝露量（AUC_{24h}）は雄では480.4、雌では408.1 ng·h/mL であり、臨床用量50 mg における曝露量（AUC_{inf}）の77.88 ng·h/mL と比較すると、雄で6 倍、雌で5 倍であった。

2.6.6.3.3 溶媒に []（ [] ）を用いた間歇反復経口投与毒性試験

添付資料 4.2.3.2-3(参)～5(参)

ミノドロン酸水和物をはじめとするビスホスホネート系化合物は、化合物の直接的な刺激性によると考えられる食道及び胃に対する障害（消化管障害）が副作用として報告されている^{4,5,6}。

間歇投与では1日1回投与に比べ1回の投与量は多くなるが、[]させ1回当たりの投与量を減らすことで直接的な刺激に伴う消化管障害を軽減することができ、より安全に臨床使用できると考えられる。このことから、本薬の[]を目的として、本薬の[]（ [] ）含有剤の臨床使用を目的として [] を用いた4週間隔4回投与の間歇反復経口投与毒性試験を実施した。

その結果、ラットでは0.3 mg/kg/4W から胃に刺激性の変化（腺胃粘膜の単細胞壊死）が認められた（表2.6.6-3）。このことから、[] の臨床適用は不適と判断し、[] はミノドロン酸水和物間歇経口剤には使用しなかった。したがって、[] を用いた間歇反復経口投与毒性試験は今回の申請において評価資料とはせず、参考資料に留めた。

表 2.6.6- 3 〇の間歇反復経口投与毒性試験一覧

試験項目	動物種 (試験系)	投与(処置) 方法, 期間	投与量 (mg/kg/4W)	GLP 適用	主たる試験成績
反復投与 毒性	ラット	経口, 4 週間隔 4 回投与	0, 3, 10, 30, 100	適	≥3 : 幽門部粘膜上皮の肥大/過形成, 幽門部粘膜上皮の腸上皮化生, 腺胃の炎症細胞浸潤, 線維化又は腺胃粘膜上皮の単細胞壊死あるいは前胃境界縁扁平上皮の過形成/角化亢進 ≥10 : AST 又は ALT 活性の増加, 胃の境界縁の肥厚 ≥30 : 血小板数及び白血球数増加, 腸間膜リンパ節のマクロファージ集簇 100 : 死亡 (雄); 前胃の暗赤色巣, 副腎の大型化, 腺胃粘膜の潰瘍, 前胃粘膜錯角化・出血。生存動物; LDH 活性の増加, 尿素窒素の増加。なお, 100 mg/kg/4W 投与群では休薬期間中に切歯破損あるいは不正咬合がみられ, 病理組織学検査では歯髓腔内の骨様象牙質形成, 象牙質及び象牙芽細胞の限局性の減少, 歯周の炎症が認められた。
			0, 0.1, 0.3, 1	適	≥0.3 : 腺胃粘膜上皮の単細胞壊死 1 : 幽門部粘膜上皮の肥大/過形成
反復投与 毒性	イヌ	経口, 4 週間隔 4 回投与	0, 1, 3, 10	適	10 : 嘔吐, 雌 1 例 (途中剖検); AST, ALT 及び ALP 活性の増加, クレアチニン, 総蛋白質, アルブミン及び A/G 比の減少, 腹水の貯留, 脾臓の退色, 周囲組織の水腫様変化及び胸腺の小型化, 大脳, 小脳及び延髄の海綿状態, 腎臓の近位尿細管の拡張, 肝臓のクッパー細胞におけるヘモジデリン沈着, 小葉中心性肝細胞の萎縮, 肝細胞の空胞化, 褐色色素の沈着及び単細胞壊死, 脾臓の間質性水腫, 脾臓の被膜下の線維化及び赤脾髄におけるヘモジデリンの沈着, 舌下腺における粘膜細胞の肥大, 大腿部骨格筋の萎縮

2.6.6.4 遺伝毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.5 がん原性試験

該当資料なし。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.7 局所刺激性試験

該当資料なし。

2.6.6.8 その他の毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.9 考察及び結論

2.6.6.9.1 消化管障害について

間歇反復経口投与毒性試験の結果、イヌでは最高投与量の 40 mg/kg/4W においても胃に変化は認められなかった。一方、ラットでは最低用量とした 2 mg/kg/4W より胃の病理組織学検査において腺胃粘膜上皮の単細胞壊死が認められ、10/20 mg/kg/4W 以上では幽門部粘膜上皮の腸上皮化生あるいは肥大/過形成等の所見が認められた。これらラットで認められた胃の障害は、投与量の増加に伴い発現例数及び病変の程度が増加した。胃に対する障害は、本薬の 1 日 1 回投与におけるラットの反復経口投与毒性試験においても同様に認められ、更にマウス、イヌ及びサルすべての動物種(表 2.6.6-4)において共通して認められた(リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.9.1 消化管障害について)。胃の障害は、ビスホスホネート系化合物に共通する毒性所見であり、その原因はビスホスホネート系化合物の刺激性による変化と考えられている^{4,5,6}。本薬には、ウサギの眼粘膜刺激性試験(リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.7.1 ウサギにおける眼粘膜刺激性試験)の成績から、強い刺激性を有することが明らかとなっており、経口投与した際の消化管障害は、本薬の直接刺激と考えられた。本薬を 4 週間隔で投与した際の胃に対する無毒性量は、本薬の 1 日 1 回投与におけるラット 26 週間反復経口投与毒性試験の結果(リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.3.2 ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験)から 1 mg/kg/4W と判断され、臨床用量である 50 mg(骨粗鬆症患者が 50 mg の用量を服用した際の体重を 50 kg として換算した場合、1 mg/kg/month に相当)との安全域は 1 倍であった。しかしながら、イヌでは最高投与量の 40 mg/kg/4W まで胃に対する変化は認められず、更に本薬の第 II/III 相試験

[ONO-5920-05/529-CL-028]においても、間歇剤 50 mg での胃腸障害に関連した有害事象の発現率及びその有害事象程度別発現例数・発現率は、連日剤 1 mg と比較して大きな差は認められなかった(2.7.6.4 及び 5.3.5.1-1 第 II/III 相試験 [ONO-5920-05/529-CL-028])。

以上のことから、本薬の臨床用法・用量で臨床使用上問題となる胃粘膜や消化管に対する作用が発現する可能性は低いと考えられた。

表 2.6.6- 4 消化管障害に対する無毒性量

試験	無毒性量	臨床用量との比 ⁴⁾
連日 ¹⁾	ラット 13 週試験	6.25 mg/kg/day
	ラット 26 週試験	1 mg/kg/day
	イヌ 13 週試験	3 mg/kg/day
	イヌ 52 週試験	3 mg/kg/day
	サル 13 週試験	3 mg/kg/day
	サル 52 週試験	1 mg/kg/day
	マウスがん原性試験	6 mg/kg/day
	ラットがん原性試験	2 mg/kg/day
間歇	ラット 8 回投与 ²⁾	1 mg/kg/4W
	イヌ 13 回投与 ³⁾	40 mg/kg/4W

1): リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.9.1 消化管障害について

2): ラットにおける 4 週間隔 8 回経口投与毒性試験 (添付資料 4.2.3.2-1)

3): イヌにおける 4 週間隔 13 回経口投与毒性試験 (添付資料 4.2.3.2-2)

4): 骨粗鬆症患者の体重を 50 kg とし、臨床用量 (連日剤: 1 mg/day, 間歇剤 50 mg/month) を服用した際の値を規準とした (連日剤: 0.02 mg/kg/day, 間歇剤: 1 mg/kg/month)

2.6.6.9.2 イヌにみられた脳における空胞形成について

イヌの間歇反復経口投与毒性試験において、途中剖検した 40 mg/kg/4W 群の雌 1 例の脳、小脳及び延髄、計画解剖例の雄 1 例の脳及び小脳の病理組織学検査において海綿状態 (空胞形成) が認められた。同様な変化は、本薬の 1 日 1 回投与における反復経口投与毒性試験 (リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.3.9 イヌにおける 13 及び 52 週間反復経口投与毒性試験 (追加試験)) においてもイヌの 3 mg/kg/day で小脳白質を中心とする空胞形成として観察され、電子顕微鏡による精査の結果、神経細胞及び軸索には異常は認められず、神経線維髄鞘 (ミエリン) の解離 (intralamellar splitting) によって形成された変化であった (リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.3.7 イヌにおける 13 週間反復経口投与毒性試験)。また、脳の空胞形成は、回復性を検討した試験において休薬例には認められず、可逆性の変化であった (リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.3.10 イヌでみられた脳における空胞形成の回復性試験)。この脳の空胞形成は、血漿カルシウムを正常範囲に維持することにより抑制される (リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.8.2.2 イヌでみられた脳の空胞形成に及ぼすカルシウム補給の影響) ことから、空胞形成の発現に本薬による血漿カルシウムの減少作用も関与しているものと考えられる。

イヌにおける成績から、脳の空胞形成が認められなかった最高投与量 (脳の空胞形成に対する無毒性量) と臨床用量における曝露量の比を表 2.6.6-5 に示した。間歇投与した際の脳の空胞形成が認められなかった 20 mg/kg/4W における曝露量 (AUC_{24h}) は、臨床における曝露量 (AUC_{inf}) の 5~6 倍であった。一方、1 日 1 回投与におけるイヌの 52 週間反復経口投与毒性試験において脳の空胞形成がみられなかった 1 mg/kg/day における曝露量は、臨床における曝露量

の 7～11 倍であり、脳の空胞形成に関しては 1 日 1 回投与と間歇投与でおおむね同等の安全域であった。

したがって、脳の空胞形成は、1 日 1 回経口時と同様にイヌのみで認められた変化であること、臨床用量である 50 mg における曝露量 (AUC_{inf}) に対して 5 倍の安全域があることから、本薬の臨床用法・用量でこのような変化が起こる可能性は低いものと考えられた。

表 2.6.6- 5 脳における空胞形成についての無毒性量と曝露量

試験		性	無毒性量	無毒性量における AUC_{24h} (ng·h/mL)	臨床 ^{3,4)} における AUC_{inf} との比
連日 ¹⁾	イヌ 52 週試験	雄	1 mg/kg/day	21.0	7
		雌	1 mg/kg/day	34.9	11
間歇	イヌ 4 週間隔 13 回試験 ²⁾	雄	20 mg/kg/4W	480.4	6
		雌	20 mg/kg/4W	408.1	5

1): リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.9.3 イヌにみられた脳における空胞形成について。

2): イヌにおける 4 週間隔 13 回反復経口投与毒性試験 (添付資料 4.2.3.2-2)。

3): 連日; リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.7.2.2-2.3.2 臨床薬理試験 (性差及び加齢の影響 [CL-029]) (AUC_{inf} : 3.051 ng·h/mL)。

4): 間歇; 臨床薬理試験 (最終製剤食事の影響試験) (2.7.1.2.2.2, AUC_{inf} : 77.88 ng·h/mL)。

2.6.6.9.3 ラットでの AST 及び ALT 活性の増加について

ラットの間歇反復経口投与毒性試験の結果、10/20 mg/kg/4W 以上の投与群の雌で AST 及び ALT 活性のわずかな増加が認められ、本薬の AST 及び ALT 活性の増加に対する無毒性量は、2 mg/kg/4W であり、その曝露量 (AUC_{24h}) 5.70 ng·h/mL は、臨床用量 50 mg における曝露量 (AUC_{inf}) 77.88 ng·h/mL を下回るものであった (表 2.6.6-6)。しかし、無毒性量の判断基準となった 10/20 mg/kg/4W や臨床用量 50 mg の 11 倍の曝露量 (AUC_{24h}) が得られた最高投与量の 100 mg/kg/4W での AST 及び ALT 活性の増加は、対照群の約 1.3～1.5 倍程度であり、これらの酵素活性の増加に関連する肝臓、心臓等に病理組織学的変化は認められなかった。これらのことから、AST 及び ALT 活性の増加の毒性学的意義は低いものと考えられた。なお、このラットの間歇反復経口投与毒性試験で認められた病理組織学的変化を伴わない AST 及び ALT 活性の増加は、本薬の 1 日 1 回の反復経口投与毒性試験でも同様に認められたが、いずれも休薬により回復するものであった (リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.3.1 ラットにおける 13 週間反復経口投与毒性試験)。

一方、イヌの間歇反復経口投与毒性試験の結果、40 mg/kg/4W の投与群において AST 及び ALT 活性の増加が認められ、肝細胞の空胞化、単細胞壊死及び褐色色素の沈着等の肝障害を示唆する所見が認められたが、無毒性量 20 mg/kg/4W の曝露量 (AUC_{24h}) と臨床用量 50 mg の曝露量 (AUC_{inf}) との乖離は 5～6 倍認められた (表 2.6.6-6)。また、本薬の第 II/III 相試験

[ONO-5920-05/529-CL-028]において、間歇剤 50 mg での AST 及び ALT 活性の増加は連日剤 1 mg 群と比較して大きな差は認められなかった(2.7.4.3 臨床検査値の評価及び5.3.5.1-1 第II/III相試験 [ONO-5920-05/529-CL-028])。

以上のことから、本薬の臨床用法・用量で肝臓等に対する変化が起こる可能性は低いものと考えられた。

表 2.6.6- 6 AST 及び ALT の増加に対する無毒性量

試験		性	無毒性量	無毒性量における AUC _{24h} (ng·h/mL)	臨床 ^{5,6)} における AUC _{inf} との比
連日	ラット 26 週試験 ¹⁾	雄	1 mg/kg/day	0.68	<1
		雌	6.25 mg/kg/day	11.60	4
	イヌ 52 週試験 ²⁾	雄	3 mg/kg/day	70.5	23
		雌	3 mg/kg/day	31.0	10
間歇	ラット 4 週間隔 8 回試験 ³⁾	雄	100 mg/kg/4W	789.46	10
		雌	2 mg/kg/4W	5.70	<1
	イヌ 4 週間隔 13 回試験 ⁴⁾	雄	20 mg/kg/4W	480.4	6
		雌	20 mg/kg/4W	408.1	5

1): リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.3.2 ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験。

2): リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.6.6.3.9 イヌにおける 13 及び 52 週間反復経口投与毒性試験 (追加試験)。

3): ラットにおける 4 週間隔 8 回反復経口投与毒性試験 (添付資料 4.2.3.2-1)。

4): イヌにおける 4 週間隔 13 回反復経口投与毒性試験 (添付資料 4.2.3.2-2)。

5): 連日; リカルボン錠 1mg/ボノテオ錠 1mgCTD 2.7.2.2-2.3.2 臨床薬理試験 (性差及び加齢の影響 [CL-029]) (AUC_{inf}: 3.051 ng·h/mL)。

6): 間歇; 臨床薬理試験 (最終製剤食事の影響試験) (2.7.1.2.2.2, AUC_{inf}: 77.88 ng·h/mL)。

2.6.6.9.4 結論

ミノドロロン酸水和物の 4 週間隔での間歇反復経口投与毒性試験において得られた毒性所見は、いずれも 1 日 1 回の反復経口投与毒性試験で認められる変化であり、間歇投与による特有の変化は認められなかった。

間歇反復経口投与毒性試験の無毒性量はイヌでは 20 mg/kg/4W であり、その時の曝露量 (AUC_{24h}) と臨床用量 50 mg における曝露量 (AUC_{inf}) とは 5~6 倍の乖離が認められた。

一方、ラットでは最低用量とした 2 mg/kg/4W でも本薬の刺激性によると考えられる胃の変化 (腺胃粘膜の単細胞壊死) が認められたが、本薬の 1 日 1 回投与における反復経口投与毒性試験の結果を踏まえた無毒性量は 1 mg/kg/4W と判断した。胃への作用は本薬の刺激性による直接作用と考えられたことから、ラットの無毒性量である 1 mg/kg/4W と臨床用量である 50 mg とは投与量の比較において安全域 (骨粗鬆症患者が 50 mg の用量を服用した際の体重を 50 kg として換算した場合、1 mg/kg/month に相当) は 1 倍であった。しかし、イヌでは 40 mg/kg/4W の投与量でも胃

に変化は認められず、また、本薬の第 II/III 相試験 [ONO-5920-05/529-CL-028] において間歇剤 50 mg での消化管障害に関連した有害事象の発現率及びその有害事象程度別発現例数・発現率は連日剤 1 mg と比較して大きな差は認められなかった (2.7.6.4 及び 5.3.5.1-1 第 II/III 相試験

[ONO-5920-05/529-CL-028])。また、ラットにおいて本薬の直接作用である胃の変化を除いた曝露量に対する作用として AST 及び ALT 活性の増加が認められ、無毒性量である 2 mg/kg/4W における曝露量 (AUC_{24h}) は、臨床用量 50 mg における曝露量 (AUC_{inf}) を下回った。しかしながら、AST 及び ALT 活性の増加に対し、肝臓をはじめとする関連臓器に病理組織学的変化は認められなかったことから、これらの増加の毒性学的意義は低いと考えられた。また、本薬の第 II/III 相試験 [ONO-5920-05/529-CL-028] において、間歇剤 50 mg での AST 及び ALT 活性の増加は連日剤 1 mg と比較して大きな差は認められなかった (2.7.4.3 臨床検査値の評価及び 5.3.5.1-1 第 II/III 相試験 [ONO-5920-05/529-CL-028])。

以上のことから、臨床において、今回の申請用法・用量で本薬による临床上問題となる副作用が発現する可能性は低いものと考えられた。

2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した。

参考文献

- 1) Ohishi T, Kitamura Y, Enami T, Suwa K, Mochizuki M, Tsurukame M and Okazaki S. Sudden death observed in a long-term/carcinogenicity study in Fischer rats administrated by gavage. The Journal Toxicological Sciences, 2001, Vol.26 No4: 238.
- 2) Ohishi T, Mochizuki M, Enami T, Okazaki K and Okazaki S. Unexpected sudden deaths of F344 rats in long-term toxicity studies: relationship between sudden deaths and stomach tube material or feed type. The Journal Toxicological Sciences, 2008, Vol.33 No4: 509-13.
- 3) Wiktor-Jedrzejczak W., Urbanowska E., Aukerman S. L., Pollard J. W., Stanley E. R., Ralph P., Ansari A. A., Sell K. W. and Szperl M. Correction by CSF-1 of defects in the osteopetrotic *op/op* mouse suggests local, developmental, and humoral requirements for this growth factor. Exp. Hematol., 1991; 19: 1049-54.
- 4) アレンドロ酸ナトリウム水和物申請概要
- 5) 山野真由美, 藤原明, 臼田眞治. ラット胃粘膜に対する Incadronate および Alendronate の作用. 応用薬理. 1998;56(1):17-21
- 6) リセドロロン酸ナトリウム水和物申請概要.

目次

2.6.7	毒性試験概要表.....	2
2.6.7.1	毒性試験：一覧表.....	2
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.....	3
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.....	4
2.6.7.4	毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧.....	5
2.6.7.5	単回投与毒性試験.....	6
2.6.7.6	反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験.....	6
2.6.7.7	反復投与毒性試験：重要な試験.....	7
2.6.7.8	<i>in vitro</i> 遺伝毒性試験.....	22
2.6.7.9	<i>in vivo</i> 遺伝毒性試験.....	22
2.6.7.10	がん原性試験.....	22
2.6.7.11	生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験.....	22
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.....	22
2.6.7.13	生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験.....	22
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.....	22
2.6.7.15	新生児を用いた試験.....	23
2.6.7.16	局所刺激性試験.....	23
2.6.7.17	その他の毒性試験.....	23

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質：ミノドロン酸水和物

試験の種類	動物種及び系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg/4W)	GLP 適用	実施施設 ^a	試験番号	添付資料番号
反復投与毒性試験	F344 ラット	経口 (4 週間隔)	8 回	0, 2, 10/20 ^b , 30, 100	適	■■■■■	529-TX-508	4.2.3.2-1
	ビーグル犬	経口 (4 週間隔)	13 回	0, 5, 10, 20, 40	適	■■■■■	529-TX-509	4.2.3.2-2

a : ■■■■■ : 株式会社■■■■■, b : 1 回目は 10 mg/kg を投与し, 2 回目から 8 回目投与まで 20 mg/kg を投与

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：ミノドロシ酸水和物

試験の種類	動物種及び系統	投与方法	投与回数	投与量 (mg/kg/4W)	GLP 適用	試験番号	添付資料番号
反復投与毒性試験	F344 ラット	経口 (4 週間隔)	8 回	0, 2, 10/20 ^a , 30, 100	適	529-TX-508	4.2.3.2-1
	ビーグル犬	経口 (4 週間隔)	13 回	0, 5, 10, 20, 40	適	529-TX-509	4.2.3.2-2

a : 1 回目は 10 mg/kg を投与し, 2 回目から 8 回目投与まで 20 mg/kg を投与

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：ミノドロシ酸水和物

1 回投与量 (mg/kg/4W)	定常状態での C_{max} (ng/mL)					定常状態での AUC_{24h} (ng·h/mL)				
	ラット ^a		イヌ ^b		ヒト ^c	ラット ^a		イヌ ^b		ヒト ^c
	雄	雌	雄	雌		雄	雌	雄	雌	
2	9.51	7.78	-	-	16.759 (50 mg/man/month)	7.11	5.70	-	-	77.88 ^d (50 mg/man/month)
5	-	-	21.62	22.56		-	-	57.0	68.3	
10	-	-	95.03	124.13		-	-	213.4	321.2	
20	179.01	151.67	329.33	222.00		233.15	134.71	754.5	725.8	
30	282.03	322.69	-	-		374.45	337.09	-	-	
40	-	-	655.41	495.44		-	-	1586.1	2142.4	
100	894.01	502.20	-	-		1424.46	838.98	-	-	

-：該当する投与量の設定なし

a：ラット 4 週間隔 8 回経口投与試験の 8 回目投与時の値

b：イヌ 4 週間隔 13 回経口投与試験の 13 回目投与時の値

c：最終製剤食事の影響試験（2.7.1.2.2.2）

d： AUC_{inf} の値

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

被験物質：ミノドロン酸水和物

ロット番号	純度 (%)	試験番号	試験の種類
申請規格	■■■■～■■■■	-	-
GLP-K5290531	99.6%	529-TX-508	ラット 4 週間隔 8 回経口投与試験
		529-TX-509	イヌ 4 週間隔 13 回経口投与試験 ^a
GLP-K5290531A	100.2%	529-TX-509	イヌ 4 週間隔 13 回経口投与試験 ^a

a：イヌ 4 週間隔 13 回経口投与試験では，投与前半に GLP-K5290531，後半に GLP-K5290531A を使用

2.6.7.5 単回投与毒性試験

該当なし。

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当なし。

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験 報告書の題名：YM529 のラットを用いた間歇経口投与（4 週間間隔×8 回）毒性試験（その 1）

被験物質：ミノドロン酸水和物

動物種/系統：F344 系ラット

試験開始時週齢：6 週齢

初回投与年月日：20 年 月 日（雄）

20 年 月 日（雌）

投与期間：4 週間隔 8 回

休薬期間：なし

投与方法：経口（絶食下）

溶媒/投与形態：1.5%メチルセルロース水溶液/溶液

試験番号：529-TX-508

添付資料番号：4.2.3.2-1

GLP 適応：適

特記事項：10 mg/kg/4W 群は 2 回目の投与から投与量を 20 mg/kg/4W に変更（1 回目投与時は 10 mg/kg，2-8 回目投与時は 20 mg/kg を投与）。以降，この群は 10/20 mg/kg/4W と表記する（トキシコキネティクスを表を除く）。

無毒性量：2 mg/kg/4W 未満^a

投与量（mg/kg/4W）		0（対照）		2		10		20		30		100	
トキシコキネティクス：動物数/ポイント		雄：3 ^b	雌：3 ^b	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
T _{max} （h）；	1 回目投与時	NC	NC	0.5	0.5	0.5	0.5	1.0 ^c	0.5 ^c	0.5	0.5	0.5	0.5
	8 回目投与時	NC	NC	0.5	0.5	NA	NA	0.5 ^d	0.5 ^d	0.5	0.5	0.5	0.5
C _{max} （ng/mL）；	1 回目投与時	NC	NC	3.27	10.87	34.03	22.97	38.02 ^c	76.40 ^c	187.56	218.62	586.71	1131.52
	8 回目投与時	NC	NC	9.51	7.78	NA	NA	179.01 ^d	151.67 ^d	282.03	322.69	894.01	502.20
AUC _{24h} （ng・h/mL）；	1 回目投与時	NC	NC	3.71	8.71	25.00	21.55	54.94 ^c	89.41 ^c	145.83	161.91	789.46	1031.26
	8 回目投与時	NC	NC	7.11	5.70	NA	NA	233.15 ^d	134.71 ^d	374.45	337.09	1424.46	838.98

NC：算出せず，NA：該当せず

a：2 mg/kg/4W で胃の腺胃粘膜上皮に単細胞壊死が認められたため。なお，ラット 26 週試験（リカルボン錠 1mg/ボノデオ錠 1mgCTD 2.6.6.3.2 ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験）の結果では胃に対する無毒性量は 1 mg/kg/日であったことから，間歇投与においても無毒性量は 1 mg/kg/4W であると判断した

b：1 回目及び 8 回目投与時の投与後 30 分に測定したところ，対照群はいずれの動物においても定量限界未満（0.20 ng/mL）であった

c：1 回目投与時は 10 mg/kg を投与し，2 回目投与時に 20 mg/kg を投与した値を，20 mg/kg の 1 回目投与時として記載

d：1 回目投与時は 10 mg/kg を投与し，2 回目から 8 回目投与時まで 20 mg/kg を投与した際の値を，20 mg/kg の 8 回目投与時として記載

（続く）

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験

試験番号：529-TX-508（その2）

被験物質：ミノドロン酸水和物

投与量（mg/kg/4W）	0（対照）		2		10/20		30		100	
特記すべき所見：動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12
死亡及び瀕死屠殺動物数：	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1-6 回目投与後	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7 回目投与後	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 ^b
8 回目投与後	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
最終投与翌日剖検数：	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11
一般症状 ^a ：検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
1-2 回目投与後										
異常なし	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
3 回目投与後										
異常なし	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10
自発運動の減少	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
紅涙	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
4-5 回目投与後										
異常なし	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
6 回目投与後										
異常なし	12	12	12	12	12	12	12	12	12	11
眼球混濁（片側性）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
7 回目投与後										
異常なし	12	12	12	12	12	12	12	12	12	10
眼球混濁（片側性）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

a：所見を呈した最大動物数，b：動物番号 5103（7 回目投与後 10 日に死亡）

（続く）

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験

試験番号：529-TX-508（その3）

被験物質：ミノドロン酸水和物

投与量 (mg/kg/4W)	0 (対照)		2		10/20		30		100	
体重 (g) : 検査動物数	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12
投与開始前	83	76	84	74	84	76	84	76	82	74
1 回目投与後 7 日	119	100	120	98	118	99	112	97	104**	90**
1 回目投与後 27 日	157	116	161	115	156	117	152	116	145*	113
2 回目投与後 7 日	188	132	191	128	182	129	174	127	162**	123*
2 回目投与後 27 日	200	137	203	133	198	135	193	135	187	132
3 回目投与後 7 日	221	146	225	140	216	143	206	142	197**	132**
3 回目投与後 27 日	223	146	225	138*	220	145	216	144	211	139
4 回目投与後 7 日	238	156	239	146*	233	151	223*	150	222*	146*
4 回目投与後 27 日	233	153	232	144*	229	151	226	149	222	145
5 回目投与後 7 日	249	160	246	150*	242	159	236	157	234	151
5 回目投与後 27 日	243	158	241	149*	238	157	235	157	233	150
6 回目投与後 7 日	255	165	250	155	245	164	244	164	239	157
6 回目投与後 27 日	249	163	244	155	242	162	240	162	237	155
7 回目投与後 7 日	262	169	254	159	254	170	249	169	243*	161
7 回目投与後 27 日	254	164	245	155*	244	164	244	162	240	157 ^a
摂餌量 (g) : 検査動物数	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12
1 回目投与後 7 日	13	12	13	11	12	11	11**	11	10**	9**
1 回目投与後 27 日	12	10	11	10	11	10	11	10	11	10
2 回目投与後 7 日	15	11	15	10	14	10	13*	9**	11**	9**
2 回目投与後 27 日	12	10	12	10	12	10	11	9	12	9
3 回目投与後 7 日	15	11	15	10	14	10	12*	10	11**	7**
3 回目投与後 27 日	12	10	12	9*	12	10	12	10	12	10
4 回目投与後 7 日	16	11	16	10	15	10	13**	9*	13**	10
4 回目投与後 27 日	12	10	12	9	13	10	13	10	13	9
5 回目投与後 7 日	15	10	15	9	15	10	13	10	13	9
5 回目投与後 27 日	12	10	11	9	12	9	12	10	12	9

a : 11 例（雌 1 例が 7 回目投与後 10 日に死亡したため），* : P<0.05, ** : P<0.01 Dunnett の多重比較検定

（続く）

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験

試験番号：529-TX-508（その4）

被験物質：ミノドロン酸水和物

投与量 (mg/kg/4W)	0 (対照)		2		10/20		30		100	
摂餌量 (g)： 検査動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12
6回目投与後 7日	15	11	14	9	14	10	13**	10	13**	9*
6回目投与後 27日	12	10	12	9**	12	9*	12	9	12	9**
7回目投与後 7日	16	11	15	10	15	11	14**	11	13**	10
7回目投与後 27日	12	10	12	9	12	9	12	9	12	8*b
眼科学検査： 検査動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12
4回目投与後 2-3日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7回目投与後 2日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
糞便潜血検査： 検査動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12
1回目投与後 1日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2回目投与後 1日	NE	NE	NE	NE	-	-	NE	NE	NE	NE
4及び7回目投与後 1日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査： 検査動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12
4回目投与後 1-2日										
pH ^a (≤7.5)	2	1	1	2	5	1	5	2	9	6
ナトリウム (mmol/24h)	1.57	1.10	1.51	0.77*	1.39	0.87	1.02**	0.82	1.09**	0.72**
無機リン (mg/24h)	1.381	0.760	1.409	0.603	4.318 [#]	2.296 [#]	6.996 ^{##}	2.495 [#]	6.441 ^{##}	2.781
7回目投与後 1-2日										
尿量 (mL/24h)	7.8	5.5	9.0	3.5**	6.3	3.6**	5.0 ^{##}	4.0*	5.2 ^{##}	3.6**
浸透圧 (mOsm/kg)	2330	2330	2232	2878*	2562	2724	2668	2731	2830**	2743
ナトリウム (mmol/24h)	1.65	1.13	1.50	0.86	1.32	0.83*	1.05**	0.84	1.00**	0.66**
無機リン (mg/24h)	1.289	0.453	1.084	0.479	2.433	0.731	2.775	1.151	8.384 ^{##}	4.523 ^{##}
血液学検査： 検査動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：11
白血球数 (×10 ² /μL)	43	39	41	42	43	42	45	42	55**	53**
リンパ球比率 (%)	76.5	79.1	76.8	75.8	79.2	77.4	75.7	76.9	70.5	72.3*
分葉核好中球比率 (%)	22.3	19.4	21.5	22.5	19.5	21.3	22.6	21.7	27.8	25.9*

-：特記すべき所見なし，NE：検査せず，a：所見を呈した動物数，b：11例（雌1例が7回目投与後10日に死亡したため）

*：P<0.05，**：P<0.01 Dunnettの多重比較検定，[#]：P<0.05，^{##}：P<0.01 Dunnett型順位検定

（続く）

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験

試験番号：529-TX-508（その5）

被験物質：ミノドロン酸水和物

投与量（mg/kg/4W）		0（対照）		2		10/20		30		100	
血液生化学検査：	検査動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：11
AST（IU/L）		108	82	110	99	109	109*	108	104*	128	124**
ALT（IU/L）		78	56	76	62	81	70 [#]	83	77 ^{##}	93	84 ^{##}
CK（IU/L）		60	67	84	98	220 ^{##}	242 ^{##}	335 ^{##}	333 ^{##}	611 ^{##}	622 ^{##}
総コレステロール（mg/dL）		84	83	79	76	76	75*	76	75*	74*	68**
尿素窒素（mg/dL）		17	18	18	19	18	19	18	20	20**	21**
カリウム（mmol/L）		4.2	4.1	4.3	4.2	4.2	4.2	4.3	4.1	4.4**	4.2
塩素（mmol/L）		107	110	108	110	108	111	108	110	108	111**
カルシウム（mg/dL）		10.3	9.9	10.1*	9.7**	9.9**	9.4**	10.0**	9.5**	9.7**	9.5**
無機リン（mg/dL）		4.9	4.2	4.4**	3.8	4.1**	3.3**	3.9**	3.4**	3.8**	3.4**
総蛋白質（g/dL）		6.3	6.1	6.3	6.0	6.2 [#]	5.9**	6.2 [#]	5.9*	6.0 ^{##}	5.9**
器官重量：	検査動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：11
		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検 ^a ：	検査動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：11(1)
胃：境界縁の肥厚		0	0	0	0	0	1	4	0	10	11(1) ^b
病理組織学検査 ^a ：	検査動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：11(1)
胃：											
腺胃粘膜上皮；単細胞壊死	+	0	0	2	2	5	5	4	3	5	3
	++	0	0	2	0	3	5	5	9	6	8
幽門部粘膜上皮；肥大/過形成	+	0	0	0	0	6	6	3	3	3	3(1) ^b
	++	0	0	0	0	4	5	9	9	8	8
幽門部粘膜上皮；腸上皮化生	+	0	0	0	0	2	1	0	0	1	0
	++	0	0	0	0	8	9	12	12	11	11(1) ^b

-：特記すべき所見なし，a：所見を呈した動物数，b：括弧内の数字は死亡動物（動物番号5103）での発生を示す

*：P<0.05，**：P<0.01 Dunnettの多重比較検定，[#]：P<0.05，^{##}：P<0.01 Dunnett型順位検定

病理組織グレード：+；軽微，++；軽度

（続く）

2.6.7.7.1 反復投与毒性試験

試験番号：529-TX-508（その6）

被験物質：ミノドロロン酸水和物

投与量（mg/kg/4W）		0（対照）		2		10/20		30		100	
病理組織学検査 ^a ：	検査動物数	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：12	雌：11(1) ^b
腺胃；炎症細胞浸潤	+	0	0	0	0	7	11	12	11	11	11
前胃境界縁扁平上皮；	+	0	0	0	0	0	1	4	1	1	1
過形成/角化亢進	++	0	0	0	0	0	0	2	0	5	8(1) ^b
	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	5	2
腺胃；線維化	+	0	0	0	0	0	0	0	0	9	6
	++	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4
大腿骨（骨髓）：											
骨幹端未熟骨梁；増殖/伸張	+	0	0	4	6	0	0	0	0	0	0
（一次海綿骨領域）	++	0	0	8	6	0	0	0	0	0	0
	+++	0	0	0	0	12	12	0	0	0	0
	++++	0	0	0	0	0	0	12	12	12	11(1) ^b
破骨細胞；変性	+	0	0	0	0	5	2	5	4	5	5
骨髓腔；減少	+	0	0	8	6	1	3	0	0	0	0
	++	0	0	0	0	11	9	12	12	12	11(1) ^b
胸骨（骨髓）：											
骨幹端未熟骨梁；増殖/伸張	+	0	0	12	11	0	0	0	0	0	0
（一次海綿骨領域）	++	0	0	0	1	12	12	0	0	0	0
	+++	0	0	0	0	0	0	12	12	12	11(1) ^b
破骨細胞；変性	+	0	0	0	0	0	0	2	0	2	1
骨髓腔；減少	+	0	0	7	6	0	0	0	0	0	0
	++	0	0	0	1	12	12	12	12	12	11(1) ^b
腸間膜リンパ節：マクロファージ集簇	+	8	8	6	7	0	1	0	0	1	1
	++	0	1	0	0	12	10	12	12	11	10(1) ^b
切歯（下顎）：エナメル芽細胞；萎縮	+	0	0	NE	NE	0	NE	2	0	5	4
	++	0	0	NE	NE	0	NE	0	0	4	2

NE：検査せず，a：所見を呈した動物数，b：括弧内の数字は死亡動物（動物番号 5103）での発生を示す

病理組織グレード：+；軽微，++；軽度，+++；中等度，++++；高度

（続く）

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験 報告書の題名：YM529 のイヌを用いた間歇経口投与（4 週間間隔×13 回）毒性試験（その 1）

被験物質：ミノドロン酸水和物

動物種/系統：ビーグル犬
試験開始時月齢：8 カ月齢
初回投与年月日：20 年 月 日（雄）
20 年 月 日（雌）
特記事項：なし
無毒性量：20 mg/kg/4W

投与期間：4 週間隔 13 回
休薬期間：なし
投与方法：経口（カプセル、絶食下）
溶媒/投与形態：ゼラチンカプセルに充填

試験番号：529-TX-509
添付資料番号：4.2.3.2-2
GLP 適応：適

投与量（mg/kg/4W）		0（対照）		5		10		20		40	
トキシコキネティクス：動物数/ポイント		雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^b
T _{max} （h）；	1 回目投与時	NC	NC	3.3	1.4	1.4	2.0	2.8	1.8	3.5	3.5
	13 回目投与時	NC	NC	1.3	1.8	2.3	1.5	2.0	2.5	1.6	3.0
C _{max} （ng/mL）；	1 回目投与時	NC	NC	28.38	23.71	102.46	59.74	197.57	157.31	398.53	238.87
	13 回目投与時	NC	NC	21.62	22.56	95.03	124.13	329.33	222.00	655.41	495.44
AUC _{24h} （ng・h/mL）；	1 回目投与時	NC	NC	94.5	69.6	183.0	153.1	480.4	408.1	1141.4	964.9
	13 回目投与時	NC	NC	57.0	68.3	213.4	321.2	754.5	725.8	1586.1	2142.4
特記すべき所見：											
死亡及び瀕死屠殺動物数		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 ^c
最終投与翌日剖検数		4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
一般症状 ^a ：検査動物数		雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^b
各投与日											
粘性便；3-10 回		0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
各投与日の翌日以降											
自発運動の減少		0	0	0	0	0	1	0	0	1	1 ^c
流涎		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

NC：1 回目及び 13 回目投与時の投与前（13 回目投与時のみ）、投与後 0.5、1、2、4、8 及び 24 時間に測定したところ、対照群はいずれの動物においても定量限界未満（0.20 ng/mL）であったため算出せず、a：所見を呈した動物数、b：4 回目投与日以降の雌の動物数は 3 例、c：動物番号 5104（3 回目投与の投与後 27 日に剖検）

（続く）

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験

試験番号：529-TX-509（その2）

被験物質：ミノドロン酸水和物

投与量 (mg/kg/4W)		0 (対照)		5		10		20		40	
一般症状 ^a ：	検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^c
削瘦		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 ^c
無排便		0	0	1	0	0	1	0	0	0	1 ^c
軟便，粘性便，水様便；5-11 回		0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
鮮血便（粘液）；3-5 回		0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
体重 (kg)：	検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^c
増加量（群平均値，13 回目投与日-1 回目投与日）		1.5	1.5	1.3	1.2	1.3	1.9	2.0	1.3	2.0 ^{d-BW}	0.9 ^{e-BW, f-BW}
摂餌量 ^a ：	検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^c
摂餌量の減少		-	-	-	-	-	-	-	-	1 ^{d-FC}	2 ^{e-FC, f-FC}
眼科学検査：	検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^c
6 及び 12 回目投与後 2 日		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査 ^b ：	検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^c
6 及び 12 回目投与日		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査 ^a ：	検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^c
6 回目投与後 2 日											
定性；尿潜血及びビリルビン		-	-	-	-	-	-	-	-	1 ^d	-
沈渣；赤血球出現		-	-	-	-	-	-	-	-	1 ^d	-
色調；濃黄色調		-	-	-	-	-	-	-	-	1 ^d	-
12 回目投与後 2 日		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし，a：所見を呈した動物数，b：投与後 1 及び 24 時間，c：4 回目投与日以降の雌の動物数は 3 例，d：動物番号 5001，e：動物番号 5104（3 回目投与の投与後 27 日に剖検）

d-BW：動物番号 5001（2 回目投与後 21 日から 5 回目投与後 27 日にかけて 2.7 kg 減少）

f-BW：動物番号 5103（4 回目投与後 27 日から 6 回目投与後 7 日にかけて 1.9 kg 減少，10 回目投与後 7 日から 10 回目投与後 14 日にかけて 0.8 kg 減少）

e-BW：動物番号 5104（途中解剖動物：2 回目投与後から 3 回目投与後 27 日にかけて 2.9 kg 減少）

d-FC：動物番号 5001（150 g/day 以下の摂餌量減少：3 回目投与後 1 週から 6 回目投与後 1 週）

f-FC：動物番号 5103（150 g/day 以下の摂餌量減少：5 回目投与後 1 及び 2 週，10 回目投与後 2 週）

e-FC：動物番号 5104（150 g/day 以下の摂餌量減少：2 回目投与後 3 週から 3 回目投与後 4 週）

（続く）

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験

試験番号：529-TX-509（その3）

被験物質：ミノドロン酸水和物

投与量 (mg/kg/4W)	0 (対照)		5		10		20		40		
糞便潜血検査 ^a	検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^c
1 回目投与後 1 日		-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
3 回目投与後 1 日		-	-	-	-	-	-	-	-	2	1 ^c
3 回目投与後 27 日 ^b		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	1 ^c
6 回目投与後 1 日		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9 回目投与後 1 日		-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
12 回目投与後 1 日		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学検査：	検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^c
網赤血球 (×10 ⁹ /L, 群平均値)											
3 回目投与後 1 日		56.1	32.7	52.0	45.3	55.9	26.4	46.5	35.2	70.5	25.1 (6.1) ^c
3 回目投与後 27 日 ^b		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(4.3) ^c
6 回目投与後 1 日		59.7	55.5	49.4	68.1	57.2	54.2	48.5	60.2	63.5	44.2
9 回目投与後 1 日		85.1	47.8	53.0	50.4	51.5	61.7	43.3*	32.6	64.6	50.0
12 回目投与後 1 日		46.2	45.1	40.5	52.6	46.1	51.3	40.9	38.6	61.7	44.0
好塩基球 (%/×10 ² /μL, 群平均値)											
3 回目投与後 1 日		0.4/0.4	0.6/0.5	0.8*/0.8	0.6/0.7	0.7/0.8	0.5/0.6	0.7/0.7	0.7/0.7	0.6/0.8	0.5/0.5
3 回目投与後 27 日 ^b		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(0.8/0.8) ^c
6 回目投与後 1 日		0.5/0.5	0.6/0.5	0.9/0.9	0.9/0.9	0.6/0.7	0.5/0.5	0.6/0.6	0.7/0.7	1.0/1.4 (2.9/4.2) ^d	0.7/0.7
9 回目投与後 1 日		0.6/0.5	0.8/0.6	0.7/0.7	0.6/0.7	0.8/0.9*	0.8/0.7	0.6/0.6	0.7/0.6	0.4/0.5	0.4/0.4
12 回目投与後 1 日		0.2/0.2	0.3/0.3	0.5/0.4	0.4/0.4	0.4/0.5	0.4/0.4	0.4/0.4	0.4/0.3	0.3/0.3	0.3/0.3
好酸球 (%/×10 ² /μL, 群平均値)											
3 回目投与後 1 日		3.2/2.9	3.8/3.2	2.4/2.2	3.2/3.7	3.5/3.8	2.9/3.2	3.0/3.3	3.1/3.4	4.2/4.6	3.5/3.6
3 回目投与後 27 日 ^b		NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(0.5/0.5) ^c
6 回目投与後 1 日		3.1/3.1	2.4/2.2	2.7/2.7	3.9/3.9	3.4/4.0	3.1/2.9	3.1/3.1	2.6/2.6	4.5/4.9	2.5/2.4
9 回目投与後 1 日		3.0/2.8	2.9/2.3	2.9/2.9	3.6/3.6	2.8/3.2	3.3/3.0	3.1/3.6	3.1/2.8	2.3/2.8	3.7/4.2
12 回目投与後 1 日		4.3/3.8	3.6/2.9	3.1/2.8	4.2/4.1	3.7/4.0	3.1/2.9	2.9/3.3	2.6/2.3	3.5/3.7	3.1/3.3

-：特記すべき所見なし，NE：検査せず，a：所見を呈した動物数，b：剖検前，c：4回目投与日以降の雌の動物数は3例，d：動物番号5001，e：動物番号5104（3回目投与の投与後27日に剖検），*：P<0.05 Dunnettの多重比較検定

（続く）

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験

試験番号：529-TX-509（その4）

被験物質：ミノドロン酸水和物

投与量 (mg/kg/4W)	0 (対照)		5		10		20		40	
血液学検査： 検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^b
単球 (%/×10 ² /μL, 群平均値)										
3 回目投与後 1 日	5.6/5.2	5.3/4.4	6.4/6.1	4.3/4.8	6.7/7.3	5.1/5.6	5.4/5.8	4.5/5.0	4.9/6.0	5.0/5.1
3 回目投与後 27 日 ^a	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(7.0/7.7) ⁱ
6 回目投与後 1 日	5.1/4.8	4.9/4.0	6.1/6.1	4.0/3.9	6.7/7.8	4.7/4.5	4.8/5.0	4.0/4.1	6.8/8.5 (10.8/15.3) ^h	4.3/4.1
9 回目投与後 1 日	5.1/4.5	4.9/4.2	6.2/6.4	4.1/4.0	7.5/9.0*	4.8/4.4	4.4/5.0	4.1/3.7	5.5/7.0	5.0/5.5
12 回目投与後 1 日	4.5/3.9	4.4/3.4	5.3/5.0	3.7/3.6	6.5/7.2	4.6/4.5	4.9/6.0	4.0/3.5	4.9/5.6	4.4/5.2
血液生化学検査： 検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^b
カルシウム (mg/dL, 群平均値)										
3 回目投与後 1 日	10.4	10.5	10.4	10.1	10.1	9.6**	9.8(9.4) ^{c, f}	10.0	10.0 (9.1) ^h	9.5**
3 回目投与後 27 日 ^a	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(9.1) ⁱ
6 回目投与後 1 日	10.1	10.2	9.8	9.9	9.6 (9.0) ^c	9.7 (9.2) ^d	9.9	10.0	9.8 (9.3) ^h	9.8
9 回目投与後 1 日	9.9	10.1	9.7	9.9	9.7 (8.9) ^c	9.7*	9.8	10.1	9.7 (8.8) ^h	9.7
12 回目投与後 1 日	9.9	10.2	9.8	9.8	9.9 (9.2) ^c	9.9	9.9 (9.4) ^g	10.3	9.6 (9.1) ^h	9.5**
CK (IU/L, 群平均値)										
3 回目投与後 1 日	138	123	129	124	160	160	201 (241) ^f	197	333**	276**
3 回目投与後 27 日 ^a	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(292) ⁱ
6 回目投与後 1 日	116	92	111	99	137	129	182	192**	247**	237**
9 回目投与後 1 日	102	89	103	92	113	127	174	165 [#]	243 ^{##}	232 [#]
12 回目投与後 1 日	93	90	105	96	119	144	171*	179*	250**	183*

NE：検査せず，a：剖検前，b：4 回目投与日以降の雌の動物数は 3 例，c：動物番号 3004，d：動物番号 3101，e：動物番号 4001，f：動物番号 4003，g：動物番号 4004，

h：動物番号 5001，i：動物番号 5104（3 回目投与の投与後 27 日に剖検）

*：P<0.05，**：P<0.01 Dunnett の多重比較検定，#：P<0.05，##：P<0.01 Dunnett 型順位検定

（続く）

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験

試験番号：529-TX-509（その5）

被験物質：ミノドロン酸水和物

投与量 (mg/kg/4W)	0 (対照)		5		10		20		40	
血液生化学検査： 検査動物数 無機リン (mg/dL, 群平均値)	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^b
3回目投与後1日	4.3	4.1	3.7	3.5	4.0	2.7*	3.2	3.0*	3.6	2.6**
3回目投与後27日 ^a	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(4.2) ^d
6回目投与後1日	3.5	3.3	2.9	2.5	3.5	2.8	3.1	2.8	3.7	3.6
9回目投与後1日	2.9	3.4	2.8	3.2	3.4	2.8	3.2	3.2	3.5	3.2
12回目投与後1日	2.6	3.0	3.1	2.1	3.7	2.6	3.3	3.4	3.2	2.5
AST (IU/L, 群平均値)										
3回目投与後1日	27	30	28	27	27	28	34	38	49 (96) ^c	84 [#]
3回目投与後27日 ^a	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(225) ^d
6回目投与後1日	30	27	31	32	28	29	32	33	48 (91) ^c	42 (59) ^c
9回目投与後1日	27	27	30	25	29	28	36	32	39 (56) ^c	43*
12回目投与後1日	26	28	29	29	29	29	31	34	40 (62) ^c	37 (51) ^c
ALT (IU/L, 群平均値)										
3回目投与後1日	35	40	43	29	33	36	38	45	48 (81) ^c	160 (481) ^d
3回目投与後27日 ^a	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(489) ^d
6回目投与後1日	39	37	49	44	33	43	36	41	61 (126) ^c	87 (173) ^c
9回目投与後1日	33	33	46	27	25	33	43	34	38	37
12回目投与後1日	37	40	52	32	31	35	38	36	49	35
ALP (IU/L, 群平均値)										
3回目投与後1日	342	194	192	186	190	119	179	178	176	305 (758) ^d
3回目投与後27日 ^a	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(1081) ^d
6回目投与後1日	248	161	151	125	169	85	122	130	162	183
9回目投与後1日	253	148	151	153	196	87	139	136	139	183
12回目投与後1日	227	141	146	112	148	77	141	139	118	205

NE：検査せず，a：剖検前，b：4回目投与日以降の雌の動物数は3例，c：動物番号5001，d：動物番号5104（3回目投与の投与後27日に剖検），e：動物番号5103

*：P<0.05 Dunnettの多重比較検定，#：P<0.05 Dunnett型順位検定

（続く）

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験

試験番号：529-TX-509（その6）

被験物質：ミノドロン酸水和物

投与量 (mg/kg/4W)	0 (対照)		5		10		20		40	
血液生化学検査： 検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^b
総ビリルビン (mg/dL, 群平均値)										
3 回目投与後 1 日	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
3 回目投与後 27 日 ^a	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(0.4) ^d
6 回目投与後 1 日	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
9 回目投与後 1 日	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
12 回目投与後 1 日	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
総コレステロール (mg/dL, 群平均値)										
3 回目投与後 1 日	126	128	122	154	110	108	99	116	98 (65) ^c	102 (60) ^d
3 回目投与後 27 日 ^a	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(53) ^d
6 回目投与後 1 日	132	137	118	117	102	130	100	150	102 (64) ^c	101 (59) ^e
9 回目投与後 1 日	129	159	122	192	105	115	95*	116	101	113
12 回目投与後 1 日	125	130	116	118	101	110	93	115	101	137 (69) ^e
リン脂質 (mg/dL, 群平均値)										
3 回目投与後 1 日	258	264	256	301	240	226	218	246	213 (143) ^c	202 (109) ^d
3 回目投与後 27 日 ^a	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(95) ^d
6 回目投与後 1 日	273	288	253	243	224	267	222	301	225 (138) ^c	217 (136) ^e
9 回目投与後 1 日	264	326	258	351	224	244	208	246	220	241
12 回目投与後 1 日	263	280	253	243	220	241	201	239	226	266 (148) ^e
尿素窒素 (mg/dL, 群平均値)										
3 回目投与後 1 日	13	17	15	14	14	13	11	13	13	12 (6) ^d
3 回目投与後 27 日 ^a	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(9) ^d
6 回目投与後 1 日	12	14	13	11	14	14	11	12	12	12 (6) ^e
9 回目投与後 1 日	13	14	15	15	13	13	13	14	12 (7) ^c	11
12 回目投与後 1 日	11	15	17*	11	12	13	12	14	12 (7) ^c	9*

NE：検査せず，a：剖検前，b：4 回目投与日以降の雌の動物数は 3 例，c：動物番号 5001，d：動物番号 5104（3 回目投与の投与後 27 日に剖検），e：動物番号 5103

*：P<0.05 Dunnett の多重比較検定

（続く）

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験

試験番号：529-TX-509（その7）

被験物質：ミノドロン酸水和物

投与量 (mg/kg/4W)	0 (対照)		5		10		20		40	
血液生化学検査： 検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4/3 ^b
クレアチニン (mg/dL, 群平均値)										
3回目投与後1日	0.56	0.59	0.60	0.57	0.54	0.57	0.58	0.60	0.55	0.57
3回目投与後27日 ^a	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	(0.30) ^d
6回目投与後1日	0.64	0.60	0.64	0.62	0.57	0.60	0.66	0.62	0.57 (0.42) ^c	0.54 (0.43) ^c
9回目投与後1日	0.63	0.57	0.60	0.56	0.54	0.61	0.63	0.60	0.54 (0.42) ^c	0.51 (0.36) ^c
12回目投与後1日	0.63	0.61	0.59	0.59	0.54	0.62	0.62	0.63	0.57	0.49 (0.40) ^c
器官重量：(群平均値) 検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：3 ^f
脾臓： 絶対重量 (g)	28.6	24.1	25.6	24.0	23.6	23.5	29.2	26.4	31.1 (41.7) ^c	26.4
脾臓： 相対重量 (g%)	0.28	0.26	0.26	0.26	0.24	0.24	0.28	0.29	0.31 (0.44) ^c	0.29
腎臓： 絶対重量 (g)	49.9	41.0	48.9	41.6	54.4	40.9	52.8	41.3	51.9	45.1 (56.6) ^e
腎臓： 相対重量 (g%)	0.50	0.44	0.49	0.46	0.56	0.42	0.51	0.45	0.51	0.50 (0.69) ^c
肝臓： 絶対重量 (g)	267.3	215.7	248.2	216.8	263.4	226.5	234.8	216.7	221.2 (170.4) ^c	199.8
肝臓： 相対重量 (g%)	2.63	2.22	2.52	2.36	2.70	2.33	2.25	2.35	2.17 (1.79) ^c	2.17
剖検： 検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：1 ^d /3
胆嚢：拡張	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P/-
肝臓：退色	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P/-
胸腺：小型化	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P/-

NE：検査せず，-：特記すべき所見なし，P：所見有り，a：剖検前，b：4回目投与日以降の雌の動物数は3例，c：動物番号5001，d：動物番号5104（3回目の投与後27日に剖検），e：動物番号5103，f：動物番号5104は途中剖検のため統計処理から除外（肝臓の絶対重量（80.6 g）及び相対重量（1.71 g%）低下に加え，一般状態の悪化あるいは著しい体重減少に関連して各種器官の重量変動〔胸腺，心臓，卵巣，脳，下垂体，顎下腺，脾臓，腎臓，副腎，肺，子宮〕が認められた）

（続く）

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験

試験番号：529-TX-509（その8）

被験物質：ミノドロン酸水和物

投与量 (mg/kg/4W)		0 (対照)		5		10		20		40	
病理組織学検査 ^a ：	検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：1 ^b /3
肋骨：											
骨幹端海綿骨；増加	+	0	0	3	4	0	0	0	0	0	0/0
	++	0	0	1	0	4	4	2	3	0	1/0
	+++	0	0	0	0	0	0	2	1	4	0/3
骨髓腔；減少	+	0	0	1	0	4	4	2	3	0	1/0
	++	0	0	0	0	0	0	2	1	4	0/3
大腿骨（骨髓）：											
骨幹端海綿骨；増加	+	0	0	4	3	4	4	2	3	1	0/1
	++	0	0	0	0	0	0	2	1	3	1/2
骨髓腔；減少	+	0	0	0	0	0	0	2	1	3	1/2
胸骨（骨髓）：骨幹端海綿骨；増加	+	0	0	4	4	4	4	3	4	3	1/3
	++	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0/0
小脳：海綿状態（空胞化）	+	0	0	0	0	0	0	0	0	1 ^c	0/0
	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/0
大脳：海綿状態（空胞化）	+	0	0	0	0	0	0	0	0	1 ^c	1/0
延髄：海綿状態（空胞化）	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/0
肝臓：											
クッパー細胞/マクロファージ；	+	0	0	0	0	0	0	0	0	1 ^c	0/0
ヘモジデリン沈着	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/0
肝細胞；萎縮	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/0
肝細胞；空胞化	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/0
肝細胞；褐色色素	+	0	0	0	0	0	0	0	0	1 ^c	1/0
肝細胞；単細胞壊死	+	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1/0

a：所見を呈した動物数，b：動物番号 5104（3 回目の投与後 27 日に剖検），c：動物番号 5001

病理組織グレード：+；軽微，++；軽度，+++；中等度

（続く）

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験

試験番号：529-TX-509（その9）

被験物質：ミノドロン酸水和物

投与量 (mg/kg/4W)		0 (対照)		5		10		20		40	
病理組織学検査 ^a ：	検査動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：1 ^b /3
脾臓：被膜下；線維化	+	0	0	0	0	0	0	0	0	1 ^c	0/0
	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/0
盲腸：粘膜上皮；単細胞壊死	+	0	0	0	0	0	0	0	0	1 ^c	1/0
結腸：粘膜上皮；単細胞壊死	+	0	0	0	0	0	0	0	0	1 ^c	1/0
腸間膜リンパ節：萎縮	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/0
顎下腺：萎縮	+	0	0	0	0	0	0	0	0	1 ^c	0/0
表皮/皮膚付属器：萎縮	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/0
脂肪組織：脂肪細胞萎縮	++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/0
大腿部骨格筋：萎縮	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/0
胸腺：萎縮	+	2	2	2	2	4	3	4	2	3	0/1
	++	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0/0
	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/0

a：所見を呈した動物数，b：動物番号 5104（3 回目の投与後 27 日に剖検），c：動物番号 5001

病理組織グレード：+；軽微，++；軽度，+++；中等度

2.6.7.8 *in vitro* 遺伝毒性試験

該当なし。

2.6.7.9 *in vivo* 遺伝毒性試験

該当なし。

2.6.7.10 がん原性試験

該当なし。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当なし。

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

該当なし。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当なし。

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

該当なし。

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当なし。

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当なし。

2.6.7.17 その他の毒性試験

該当なし。