目次

2.6.6 毒性試験の概要文 6
2.6.6.1 まとめ 6
2.6.6.1.1 単回投与毒性 11
2.6.6.1.1.1 ラット 11
2.6.6.1.1.2 イヌ 11
2.6.6.1.2 反復投与毒性 11
2.6.6.1.2.1 ラット 11
2.6.6.1.2.2 イヌ 12
2.6.6.1.3 遺伝毒性 13
2.6.6.1.4 がん原性 13
2.6.6.1.5 生殖発生毒性 13
2.6.6.1.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響 13
2.6.6.1.5.2 胚・胎児発生への影響 14
2.6.6.1.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体機能に対する影響 14
2.6.6.1.6 幼若毒性 14
2.6.6.1.7 局所刺激性 14
2.6.6.1.8 抗原性 14
2.6.6.1.9 光毒性 14
2.6.6.1.9.1 不純物の毒性評価 15
2.6.6.2 単回投与毒性試験 15
2.6.6.2.1 Wistar ラットを用いたアセナピンの急性経口投与毒性試験 15
2.6.6.2.2 SD ラットを用いたアセナピンの単回経口投与毒性試験 15
2.6.6.2.3 SD ラットを用いたアセナピンの単回静脈内投与毒性試験 16
2.6.6.2.4 ビーグル犬を用いたアセナピンの単回経口投与毒性試験 16
2.6.6.3 反復投与毒性試験 17
2.6.6.3.1 NMRI マウスを用いたアセナピンの 4 週間反復経口投与毒性パイロット試験 17
2.6.6.3.2 CD-1 マウスを用いたアセナピンの 2 週間反復皮下投与がん原性プレパイロット試験 17
2.6.6.3.3 CD-1 マウスを用いたアセナピンの 13 週間反復皮下投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験 18
2.6.6.3.4 CD-1 マウスを用いたアセナピンの 13 週間反復皮下投与用量設定試験 18
2.6.6.3.5 Wistar ラットを用いたアセナピンの 2 週間反復経口投与毒性試験 19
2.6.6.3.6 Wistar ラットを用いたアセナピンの 4 週間反復経口投与毒性試験 20
2.6.6.3.7 Wistar ラットを用いたアセナピンの 13 週間反復経口投与毒性試験 20
2.6.6.3.8 Wistar ラットを用いたアセナピンの 52 週間反復経口投与毒性試験、アセナピン、N-脱メチル体及び N-酸化体の Wistar ラットを用いた単回静脈内投与、単回経口投与及び反復経口投与におけるトキシコキネティクス試験 21
2.6.6.3.9 Wistar ラットを用いたアセナピンの 2 週間反復静脈内投与毒性試験 23
2.6.6.3.10 Wistar ラットを用いたアセナピンの 2 週間反復皮下投与がん原性プレパイロット試験 24
2.6.6.3.11 Wistar ラットを用いたアセナピンの 13 週間反復皮下投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験 24
2.6.6.3.12 SD ラットを用いたアセナピンの 13 週間反復皮下投与用量設定試験 25
2.6.6.3.13 ビーグル犬を用いたアセナピンの経口最大耐量試験 27

2.6.6.3.14 ビーグル犬を用いたアセナピンの 4 週間反復経口投与毒性試験..... 27
2.6.6.3.15 ビーグル犬を用いたアセナピンの反復経口投与用量漸増試験、並びに 4 週間反復投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験..... 28
2.6.6.3.16 ビーグル犬を用いたアセナピンの 13 週間反復経口投与毒性試験..... 29
2.6.6.3.17 ビーグル犬を用いたアセナピンの 52 週間反復経口投与毒性試験、アセナピン、N-脱メチル体及び N-酸化体のビーグル犬を用いた単回静脈内投与、単回経口投与及び反復経口投与におけるトキシコキネティクス試験 30
2.6.6.3.18 ビーグル犬を用いたアセナピンの 1、2、4、13 及び 52 週間反復経口投与毒性試験における肝臓の病理組織学的変化の検討..... 30
2.6.6.3.19 ビーグル犬を用いたアセナピンの 2 週間反復静脈内投与毒性試験..... 31
2.6.6.3.20 ビーグル犬を用いたアセナピンの 13 週間反復静脈内投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験..... 32
2.6.6.3.21 ビーグル犬を用いたアセナピンの 39 週間反復静脈内投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験..... 33
2.6.6.4 遺伝毒性試験 34
2.6.6.4.1 *Salmonella typhimurium* を用いたアセナピンの復帰突然変異試験（Ames 試験） 34
2.6.6.4.2 *Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli* を用いたアセナピンの復帰突然変異試験（Ames 試験） 34
2.6.6.4.3 *Escherichia coli* を用いたアセナピンの復帰突然変異試験（Ames 試験） 35
2.6.6.4.4 マウスリンパ腫細胞 L5178Y$^{+/-}$を用いたアセナピンの遺伝子突然変異試験 35
2.6.6.4.5 ウサギリンパ球を用いたアセナピンの in vitro 姉妹染色分体交換試験 36
2.6.6.4.6 ヒト末梢血リンパ球を用いたアセナピンの in vitro 染色体異常試験 36
2.6.6.4.7 ラットを用いたアセナピンの in vivo 骨髄小核試験 36
2.6.6.4.8 遺伝毒性のまとめ 37
2.6.6.5 がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 38
2.6.6.5.1 CD-1 マウスを用いたアセナピンの 104 週間反復皮下投与試験、アセナピンの病理組織学的評価..... 38
2.6.6.5.2 SD ラットを用いたアセナピンの 104 週間反復皮下投与がん原性試験、アセナピンの病理組織学的評価..... 39
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 41
2.6.6.6.1 重要な試験以外の試験 41
2.6.6.6.1.1 雄及び雌ラットを用いたアセナピンの経口投与における受胎能パイロット試験..... 41
2.6.6.6.1.2 ラットを用いたアセナピンの経口投与における胚・胎児毒性パイロット試験..... 41
2.6.6.6.1.3 ラットを用いたアセナピンの経口投与における胚・胎児毒性パイロット試験（交叉哺育を含む） 42
2.6.6.6.1.4 Sprague Dawley ラットを用いたアセナピンの静脈内投与における出生前及び出生後の発生に関するパイロット試験..... 42
2.6.6.6.1.5 Sprague Dawley ラットを用いたアセナピンの静脈内投与における出生前及び出生後の発生に関するパイロット試験（その 2） 43
2.6.6.6.1.6 Dutch ウサギを用いたアセナピンの経口投与における胚･胎児毒性パイロット試験..... 44
2.6.6.6.2 重要な試験 44
2.6.6.6.2.1 ラットを用いたアセナピンの 1 日 2 回経口投与における受胎能及び胎児検査を含む 2 世代試験..... 44

2.6.6.6.2.2 ラットを用いたアセナピンの 1 日 2 回経口投与における胎児検査を含む 2 世代試験 45
2.6.6.6.2.3 Sprague Dawley ラットを用いたアセナピンの静脈内投与における胚･胎児発生への影響に関する試験 46
2.6.6.6.2.4 ウサギを用いたアセナピンの 1 日 2 回経口投与における胚・胎児毒性試験 47
2.6.6.6.2.5 ウサギを用いたアセナピンの静脈内投与における胚・胎児毒性試験及びトキシコキネティクス試験 47
2.6.6.6.2.6 Sprague Dawley ラットを用いたアセナピンの静脈内投与における出生前及び出生後の発生に関する試験 48
2.6.6.6.2.7 Sprague Dawley ラットを用いたアセナピンの出生前及び出生後の発生に関する試験（その 2） 49
2.6.6.7 幼若動物を用いた試験 51
2.6.6.7.1 幼若ラットを用いたアセナピンの皮下投与における用量設定毒性試験 51
2.6.6.7.2 幼若ラットを用いたアセナピンの 8 週間反復皮下投与毒性試験、幼若 Sprague Dawley ラットを用いたアセナピンの単回皮下投与及び反復皮下投与キネティクス試験 52
2.6.6.8 局所刺激性試験 54
2.6.6.8.1 ビーグル犬を用いたアセナピンの 7 日間反復舌下投与における局所刺激性試験 54
2.6.6.8.2 ビーグル犬を用いたアセナピンの 7 日間反復舌下投与における局所刺激性試験 54
2.6.6.9 その他の毒性試験 55
2.6.6.9.1 抗原性試験 55
2.6.6.9.1.1 モルモットを用いたアセナピンの経口投与及び皮下投与における抗原性評価試験 55
2.6.6.9.2 光毒性試験 56
2.6.6.9.2.1.1 アセナピンの 3T3 ニュートラルレッド取込み（NRU）光毒性試験 56
2.6.6.9.3 プロラクチン放出及び自発運動量試験 56
2.6.6.9.3.1 ラットを用いたアセナピンの 4 週間反復投与毒性試験におけるプロラクチンレベル及び自発運動量に及ぼす影響－対照薬リスペリドン（[redacted]）との比較評価－ 56
2.6.6.9.3.2 ラットを用いたアセナピンの 4 週間反復投与毒性試験におけるプロラクチンレベルに及ぼす影響－対照薬リスペリドン（[redacted]）との比較評価－ 57
2.6.6.9.4 [redacted]の毒性試験 58
2.6.6.9.4.1 類縁物質A* 58
2.6.6.9.4.1.1 Wistar ラットを用いた 類縁物質A* の 2 週間反復静脈内投与試験 58
2.6.6.9.4.1.2 類縁物質A* の *Salmonella Typhimurium* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験） 58
2.6.6.9.4.1.3 類縁物質A* の *Salmonella Typhimurium* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）その 2 59
2.6.6.9.4.1.4 類縁物質A* の *Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験） 59
2.6.6.9.4.1.5 類縁物質A* の培養ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験 59
2.6.6.9.4.2 類縁物質B* 60
2.6.6.9.4.2.1 Wistar ラットを用いた 類縁物質B* の 4 週間反復経口投与毒性試験 60
2.6.6.9.4.2.2 ビーグル犬を用いた 類縁物質B* の 4 週間反復経口投与毒性試験 60
2.6.6.9.4.2.3 類縁物質B* の *Salmonella typhimurium* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験） 60

2.6.6.9.4.2.4 類縁物質B* の *Salmonella typhimurium* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）..... 61
2.6.6.9.4.2.5 類縁物質B* の *Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）..... 61
2.6.6.9.4.2.6 類縁物質B* の *Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）..... 61
2.6.6.9.4.2.7 類縁物質B* の CHO 細胞を用いた in vitro 遺伝子（HPRT）突然変異試験..... 62
2.6.6.9.4.2.8 類縁物質B* のマウスリンパ腫細胞 L5178Y$^{+/-}$を用いた遺伝子突然変異試験..... 62
2.6.6.9.4.2.9 類縁物質B* のラットを用いた骨髄小核試験..... 62
2.6.6.9.4.2.10 類縁物質B* のウサギを用いた胚・胎児毒性パイロット試験..... 63
2.6.6.9.5 [redacted]の毒性試験..... 63
2.6.6.9.5.1 N-酸化体（類縁物質C*）..... 63
2.6.6.9.5.2 類縁物質D*..... 63
2.6.6.9.5.2.1 類縁物質D* の *Salmonella typhimurium* ヒスチジン要求5菌株を用いた復帰突然変異試験..... 63
2.6.6.9.5.2.2 類縁物質D* の培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験..... 63
2.6.6.9.5.2.3 類縁物質D* のコメットアッセイによるラット肝、胃及び十二指腸における DNA 損傷の検出..... 64
2.6.6.9.5.2.4 類縁物質D* のラットを用いた骨髄小核試験..... 64
2.6.6.9.5.3 類縁物質E*..... 65
2.6.6.9.5.3.1 類縁物質E* の *Salmonella typhimurium* ヒスチジン要求5菌株を用いた復帰突然変異試験..... 65
2.6.6.9.5.3.2 類縁物質E* の培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験..... 65
2.6.6.9.5.3.3 類縁物質E* のコメットアッセイによるラット肝、胃及び十二指腸における DNA 損傷の検出..... 66
2.6.6.9.5.3.4 類縁物質E* のラットを用いた骨髄小核試験..... 66
2.6.6.10 考察及び結論..... 67
2.6.6.10.1 重要な試験における安全域..... 67
2.6.6.10.2 毒性の標的臓器..... 68
2.6.6.10.3 生殖発生毒性..... 68
2.6.6.10.4 抗原性試験..... 69
2.6.6.10.5 不純物の毒性評価..... 69
2.6.6.10.5.1 N-脱メチル体及び N-酸化体（類縁物質C*）の毒性..... 69
2.6.6.10.5.2 その他の不純物の毒性評価..... 71
2.6.6.10.6 結論..... 71
2.6.6.11 文献一覧..... 72

*新薬情報提供時に置換えた

略号一覧

略号	用語
AE	活性本体
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	血中濃度－時間曲線下面積
BID	1 日 2 回
BrdU	5-ブロモデオキシウリジン
C_{max}	最高血中濃度
CL	クリアランス
CL/F	見かけのクリアランス
ESR	赤血球沈降速度
GPSA	モルモット血清アルブミン
HGB	ヘモグロビン
HPRT	hypoxanthine phosphoribosyltransferase
hr	時間
HSA	ヒト血清アルブミン
IC_{50}	50%抑制濃度
JTc	補正 JT 間隔
LD_{50}	半数致死量
MD	反復投与
MNPCE	小核を有する多染性赤血球
na	該当なし
NAUC	投与量 1 mg/kg あたりの AUC
NC_{max}	投与量 1 mg/kg あたりの C_{max}
NCE	正染性赤血球
NOAEL	無毒性量
PCE	多染性赤血球
S9 mix	ラット肝代謝活性化系
SCE	姉妹染色分体交換
$t_{1/2}$	消失半減期
t_{max}	最高濃度到達時間

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

アセナピンマレイン酸塩（Org 5222）の一般毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、幼若動物を用いた試験、局所刺激性試験を実施した。その他の毒性試験として、抗原性試験、光毒性試験、プロラクチン放出及び自発運動に関する試験、並びに不純物の毒性試験を実施した。不純物の毒性試験として、[redacted]はアセナピン[redacted]に含まれる 類縁物質A* 及び 類縁物質B*、[redacted]は 類縁物質D* 及び 類縁物質E*（互いに位置異性体である）について毒性試験を行った。

臨床投与経路は舌下であるが、動物を使った舌下投与は困難であるため、主な一般毒性試験、生殖発生毒性試験及びラット骨髄小核試験は経口投与により、がん原性試験及び幼若動物を用いた試験は皮下投与により実施した。さらに、一般毒性試験は皮下及び静脈内投与でも実施し、生殖発生毒性試験は静脈内投与でも実施した。重要な試験は、全て GLP を遵守して実施した。毒性試験の概要を表2.6.6-1に示す。アセナピンの投与用量は、特に記述がない限り、マレイン酸塩として表記した（マレイン酸塩の約 71%が活性本体にあたる）。

表 2.6.6-1 非臨床毒性試験の概要

動物種	用量[a] (mg/kg/日)	投与の経路／期間	用量あたりの動物数	参照
単回投与毒性試験				
ラット†	75 ~ 625	経口／14 日間観察	雄 6 + 雌 6	【4.2.3.1-01】: SDGRR 2723
ラット	50, 100, 200	経口／14 日間観察	雄 6 + 雌 6	【4.2.3.1-02】: SDGRR 3005
ラット	9, 15, 21	静脈内／14 日間観察	雄 6 + 雌 6	【4.2.3.1-03】: SDGRR 3006
イヌ	50, 100, 200	経口／14 日間観察	雄 2	【4.2.3.1-04】: SDGRR 3002
反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験				
マウス†	25, 75	経口／4 週間	雄 6 + 雌 6	【4.2.3.2-01】: SDGRR 2940
マウス†	0.12, 0.6, 3	皮下／2 週間	雄 18 + 雌 18	【4.2.3.2-02】: SDGRR 7013
マウス†	0.5, 1, 2	皮下／13 週間	雄 12 + 雌 12	【4.2.3.2-03】: SDGRR 7026
ラット†	18.75, 37.5, 75, 150	経口／1 又は 2 週間	雄 6 + 雌 6	【4.2.3.2-05】: SDGRR 2724
ラット†	25, 50, 75	経口／4 週間	雄 8 + 雌 8	【4.2.3.2-06】: SDGRR 2664
ラット†	0.12, 0.6, 3	皮下／2 週間	雄 6 + 雌 6	【4.2.3.2-07】: SDGRR 7014
イヌ†	40, 80, 160	経口／1 又は 2 週間	雄 1 + 雌 1	【4.2.3.2-14】: SDGRR 2502
イヌ†	20, 40, 80	経口／4 週間	雄 3 + 雌 3	【4.2.3.2-15】: SDGRR 2663

a：特に記述（AE：活性本体）がない限り、マレイン酸塩としての用量。マレイン酸塩から活性本体（活性本体）への変換係数は 0.71

†：非 GLP 試験

表 2.6.6-1 非臨床毒性試験の概要（続き）

動物種	用量[a](mg/kg/日)	投与の経路／期間	用量あたりの動物数	参照
反復投与毒性試験：重要な試験				
マウス	3, 4, 5/7.5	皮下／13 週間	雄 12 + 雌 12	【4.2.3.2-04】：R&DRR NL0017870
ラット	6.5, 22.5, 75	経口／13 週間	雄 8 ~ 16 + 雌 8 ~ 16	【4.2.3.2-08】：SDGRR 2320
ラット	0.6, 3.6, 21.6 (0.3, 1.8, 10.8 BID)	経口／52 週間	雄 20 ~ 30 + 雌 20 ~ 30	【4.2.3.2-09】：SDGRR 3210 【4.2.3.2-10】：SDGRR 2979†
ラット	0.5, 1, 2	皮下／13 週間	雄 12 + 雌 12	【4.2.3.2-11】：SDGRR 7025
ラット	3, 4, 5	皮下／13 週間	雄 10 + 雌 10	【4.2.3.2-12】：R&DRR NL0017877
ラット	0.1, 0.5, 3	静脈内／2 週間	雄 8 + 雌 8	【4.2.3.2-13】：SDGRR 2798
イヌ	用量漸増パート：7.2, 10.8, 14.4, 21.6 (3.6, 5.4, 7.2, 10.8 BID)	用量漸増パート：経口／各用量2 ~ 5 日間	用量漸増パート：雄 3 + 雌 3	【4.2.3.2-16】：R&DRR NL0001154
	固定用量パート：21.6 (10.8 BID)	固定用量パート：経口／4 週間	固定用量パート：雄 2 ~ 3 + 雌 2 ~ 3	
イヌ	1.25, 7.5, 20	経口／13 週間	雄 3 ~ 5 + 雌 3 ~ 5	【4.2.3.2-17】：SDGRR 2285
イヌ	0.2, 1.2, 7.2 (0.1, 0.6, 3.6 BID)	経口／52 週間	雄 4 ~ 6 + 雌 4 ~ 6	【4.2.3.2-18】：SDGRR 3209 【4.2.3.2-19】：SDGRR 3034†
イヌ	0.1, 0.5, 3	静脈内／2 週間	雄 3 + 雌 3	【4.2.3.2-20】：SDGRR 2799
イヌ	0.1, 0.5, 2.5	静脈内／13 週間	雄 3 + 雌 3	【4.2.3.2-21】：SDGRR 4417
イヌ	0.1, 0.4, 1.6	静脈内／39 週間	雄 4 + 雌 4	【4.2.3.2-22】：R&DRR NL0012511
遺伝毒性試験				
細菌復帰突然変異（Ames）試験		in vitro		【4.2.3.3.1-01】：SDGRR 2283 【4.2.3.3.1-02】：SDGRR 5097 【4.2.3.3.1-03】：SDGRR 2963
哺乳類細胞遺伝子突然変異試験		in vitro		【4.2.3.3.1-04】：SDGRR 4361
姉妹染色分体交換試験（ウサギリンパ球）		in vitro		【4.2.3.3.1-05】：SDGRR 2317
染色体異常試験（ヒトリンパ球）		in vitro		【4.2.3.3.1-06】：SDGRR 4413
ラット骨髄小核試験	25, 50, 75	経口／4 週間	雄 8 + 雌 8	【4.2.3.3.2-01】：SDGRR 2323

a：特に記述（AE：活性本体）がない限り、マレイン酸塩としての用量。マレイン酸塩から活性本体（活性本体）への変換係数は 0.71

BID：1 日 2 回投与

表 2.6.6-1 非臨床毒性試験の概要（続き）

動物種	用量[a](mg/kg/日)	投与の経路／期間	用量あたりの動物数	参照
がん原性試験				
マウス	雄：0.5, 1.5, 5/4 雌：0.5, 1.5, 7.5/5	皮下／ 雄：88 週間 雌：97 週間	低及び中用量： 雄 57 + 雌 57 高用量： 雄 60 + 雌 60	【4.2.3.4.1-01】：R&DRR INT0050405 【4.2.3.4.1-02】：R&DRR INT00090305
ラット	0.3, 1.2, 3/5	皮下／ 雄：105 週間 雌：100 週間	雄 60 + 雌 60	【4.2.3.4.1-03】：R&DRR INT00039803 【4.2.3.4.1-04】：R&DRR INT00090308
生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験				
ラット 受胎能パイロット試験†	30	経口／ 雄：交配前 2 週間及び交配期間中 雌：交配前 1 週間及び妊娠第 6 日まで	雄 12 + 雌 12 対照： 雄 24 + 雌 24	【4.2.3.5.1-01】：SDGRR 2315
ラット 胚・胎児毒性 パイロット試験†	30	経口／ 妊娠第 6 日~第 17 日	妊娠雌 15	【4.2.3.5.2-01】：SDGRR 2316
ラット 出生前及び出生後の発生に関するパイロット試験†	30 (15 BID)	経口／ -妊娠第 17 日~授乳第 14 日 -妊娠第 17 日~第 21 日 対照： -妊娠第 17 日~授乳第 14 日	妊娠雌 11 妊娠雌 10 対照： 妊娠雌 16 妊娠雌 10	【4.2.3.5.3-01】：SDGRR 4299
ラット 出生前及び出生後の発生に関するパイロット試験†	0.3, 3	静脈内／ 妊娠第 6 日~分娩日	妊娠雌 7 ~ 8	【4.2.3.5.3-02】：R&DRR NL0012545
生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験				
ラット 出生前及び出生後の発生に関するパイロット試験†	0.5, 1, 2　AE	静脈内／ 妊娠第6日~分娩後第0日	妊娠雌 7 ~ 8	【4.2.3.5.3-03】：R&DRR NL0048584
ウサギ 胚・胎児毒性パイロット試験†	30	経口／ 妊娠第 6 日~第 18 日	妊娠雌 12	【4.2.3.5.2-02】：SDGRR 2328
生殖発生毒性試験：重要な試験				
受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験				
ラット 受胎能試験（催奇形性及び F1 生殖能を含む）	1, 5, 30 (0.5, 2.5, 15 BID)	経口／ 雄：交配前 60 日間及び交配期間中 雌：交配前 14 日間、交配、妊娠及び授乳期間中	雄 24 + 雌 24	【4.2.3.5.1-02】：SDGRR 3115

a：特に記述（AE：活性本体）がない限り、マレイン酸塩としての用量。マレイン酸塩から活性本体（活性本体）への変換係数は 0.71

†：非 GLP 試験

BID：1 日 2 回投与

表 2.6.6-1 非臨床毒性試験の概要（続き）

動物種	用量[a](mg/kg/日)	投与の経路／期間	用量あたりの動物数	参照
胚・胎児発生への影響に関する試験				
ラット 胚・胎児毒性試験（催奇形性及び F1 生殖能を含む）	1, 5, 30 (0.5, 2.5, 15 BID)	経口／ 妊娠第 7 日~第 17 日	妊娠雌 36	【4.2.3.5.2-03】: SDGRR 2961
ラット 胚・胎児毒性試験	0.3, 0.9, 1.5　AE	静脈内／ 妊娠第 6 日~第 17 日	交配雌 22	【4.2.3.5.2-04】: R&DRR INT00002826
ウサギ 胚・胎児毒性試験	1, 5, 30 (0.5, 2.5, 15 BID)	経口／ 妊娠第 6 日~第 18 日	妊娠雌 16	【4.2.3.5.2-05】: SDGRR 2914
ウサギ 胚・胎児毒性試験	0.025, 0.125, 0.625	静脈内／ 妊娠第 6 日~第 18 日	対照及び高用量： 妊娠雌 26 低及び中用量： 妊娠雌 16	【4.2.3.5.2-06】: SDGRR 4428
出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験				
ラット	0.3, 0.9, 1.5　AE	静脈内／ 妊娠第 6 日~分娩後第 20 日	妊娠雌 20 ~ 22	【4.2.3.5.3-04】: R&DRR NL0052638
ラット	1.5　AE	静脈内／ 妊娠第 6 日~分娩後第 10 日	妊娠雌 30 交叉哺育期は 7 ~ 10 腹	【4.2.3.5.3-05】: R&DRR INT00000051
幼若動物を用いた試験				
ラット （パイロット試験）	0.1, 0.3, 0.5, 0.9, 1.5, 2.5　AE 0.8, 2.4, 4　AE	皮下／1 又は 3 週間	雄 2 + 雌 2 雄 6 + 雌 6	【4.2.3.5.4-01】: R&DRR INT00018058
ラット	0.4, 1.2, 3.2　AE	皮下／8 週間	主試験パート： 雄 22 + 雌 22	【4.2.3.5.4-03】: R&DRR INT00033485
			トキシコキネティクス試験パート： 雄 24 + 雌 24	【4.2.3.5.4-02】: R&DRR INT00020003
局所刺激性試験				
イヌ	0.32　AE (1.6 mg/動物 BID)	舌下／7 日間	雌 4 対照：雌 2	【4.2.3.6-01】: SDGRR 4452
イヌ	3.0　AE (15 mg/動物 BID)	舌下／7 日間	雌 4	【4.2.3.6-02】: R&DRR NL0052735
抗原性試験				
モルモット 抗原性試験	0.03, 1.5, 3	皮下／4 週間に 4 回投与（1 週間に 1 回）	雌 10 又は 15	【4.2.3.7.1-01】: SDGRR 3292
	0.03, 1.5, 3	経口／4 週間に 12 回投与（1 週間に 3 回）		
その他の毒性試験				
光毒性試験 3T3 NRU 試験		in vitro		【4.2.3.7.7-01】: 04230
ラット プロラクチン放出及び自発運動量試験	アセナピン : 2.8　AE リスペリドン : 5	皮下／4 週間 経口／4 週間	雄 12	【4.2.3.7.7-02】: R&DRR INT00040168
ラット プロラクチン放出試験	アセナピン : 2.8　AE リスペリドン : 5	皮下／4 週間 経口／4 週間	雄 12	【4.2.3.7.7-03】: R&DRR INT00060363

a：特に記述（AE：活性本体）がない限り、マレイン酸塩としての用量。マレイン酸塩から活性本体（活性本体）への変換係数は 0.71

BID：1 日 2 回投与

表 2.6.6-1 非臨床毒性試験の概要（続き）

動物種	用量[a](mg/kg/日)	投与の経路／期間	用量あたりの動物数	参照
[redacted]の毒性試験（類縁物質A*）				
ラット	0.2, 1, 5	静脈内／2 週間	雄 10 + 雌 10	【4.2.3.7.6-01】: R&DRR NL0056094
細菌復帰突然変異（Ames）試験†		in vitro		【4.2.3.7.6-02】: 79R-01139 【4.2.3.7.6-03】: 80R-00172
細菌復帰突然変異（Ames）試験		in vitro		【4.2.3.7.6-04】: R&DRR NL0005854
染色体異常試験（ヒトリンパ球）		in vitro		【4.2.3.7.6-05】: R&DRR NL0053577
[redacted]（類縁物質B*）の毒性試験				
ラット†	12.5, 25, 50	経口／4 週間	雄 8 + 雌 8	【4.2.3.7.6-06】: 82R-01801
イヌ†	25, 50, 75	経口／4 週間	雄 3 + 雌 3	【4.2.3.7.6-07】: 83R-00086
細菌復帰突然変異（Ames）試験†		in vitro		【4.2.3.7.6-08】: 79R-00021 【4.2.3.7.6-09】: 79R-01140
細菌復帰突然変異（Ames）試験		in vitro		【4.2.3.7.6-10】: R&DRR NL0006414
細菌復帰突然変異（Ames）試験		in vitro		【4.2.3.7.6-11】: R&DRR NL0052683
哺乳類細胞遺伝子突然変異試験†		in vitro		【4.2.3.7.6-12】: 82R-01562
哺乳類細胞遺伝子突然変異試験		in vitro		【4.2.3.7.6-13】: R&DRR NL0053636
ラット骨髄小核試験†	1, 10, 100	経口／2 日	雄 6 + 雌 6（雌：高用量のみ）	【4.2.3.7.6-14】: 79R-01058
ウサギ胚・胎児毒性パイロット試験†	80	経口／妊娠第 6 日 ~ 第 18 日	雌 12	【4.2.3.7.6-15】: 80R-00224
[redacted]（類縁物質D*）の毒性試験				
細菌復帰突然変異（Ames）試験		in vitro		【4.2.3.7.6-16】: R&DRR INT00009333
染色体異常試験（ヒトリンパ球）		in vitro		【4.2.3.7.6-17】: R&DRR INT00010354
ラットコメットアッセイ	50, 100	経口／2 日	雄 6	【4.2.3.7.6-18】: R&DRR INT00022602
ラット小核試験	17.5, 35, 70	皮下／2 日	雄 6 + 雌 6	【4.2.3.7.6-19】: R&DRR INT00012699

a：特に記述（AE：活性本体）がない限り、マレイン酸塩としての用量。マレイン酸塩から活性本体（活性本体）への変換係数は 0.71

†：非 GLP 試験

表 2.6.6-1 非臨床毒性試験の概要（続き）

動物種	用量[a](mg/kg/日)	投与の経路／期間	用量あたりの動物数	参照
[redacted]（類縁物質E*）の毒性試験				
細菌復帰突然変異（Ames）試験		in vitro		【4.2.3.7.6-20】：R&DRR INT00009335
染色体異常試験（ヒトリンパ球）		in vitro		【4.2.3.7.6-21】：R&DRR INT00010385
ラットコメットアッセイ	50, 100	経口／2 日	雄 6	【4.2.3.7.6-22】：R&DRR INT00022157
ラット小核試験	25, 50, 100	皮下／2 日	雄 6 + 雌 6	【4.2.3.7.6-23】：R&DRR INT00021012

a：特に記述（AE：活性本体）がない限り、マレイン酸塩としての用量。マレイン酸塩から活性本体（活性本体）への変換係数は 0.71

2.6.6.1.1 単回投与毒性

2.6.6.1.1.1 ラット

経口投与（75 ~ 625 mg/kg）によるアセナピンの LD_{50} は 110 ~ 176 mg/kg であり、性差はみられなかった。75 mg/kg から腹臥位、昏睡、振戦、痙攣及び縮瞳等が認められた。100 mg/kg 以上の用量により死亡した動物において胃の腺上皮に表在性壊死がみられた。経口投与の最小致死量は 75 mg/kg であり、死亡が認められなかった 50 mg/kg は臨床における最大推奨用量（体重 60 kg の成人で 10 mg を 1 日 2 回投与又は 0.33 mg/kg/日）の 151 倍であった。

静脈内投与（9、15 及び 21 mg/kg）では、投与可能な最高用量である 21 mg/kg（溶解性限界）まで死亡はみられなかった。一般状態観察では主に中枢神経系への作用がみられ、最低用量である 9 mg/kg の投与から鎮静等がみられ、15 mg/kg 以上の投与では痙攣も認められた。経口投与の死亡のみられない最高用量 21 mg/kg は、臨床における最大推奨用量の 63 倍であった。

2.6.6.1.1.2 イヌ

雄イヌを用いた経口投与（50、100 及び 200 mg/kg）においてアセナピンは 200 mg/kg まで忍容性が認められた。最低用量である 50 mg/kg 以上の投与により自発運動の減少及び縮瞳がみられ、100 mg/kg 以上の投与により強迫行動もみられた。また、200 mg/kg の経口投与により BUN 及びクレアチニンが増加し、腎毒性が示唆された。

2.6.6.1.2 反復投与毒性

2.6.6.1.2.1 ラット

経口投与試験では、重要な試験として、1 日 1 回投与により 13 週間、1 日 2 回投与により 52 週間の投与を行い毒性を評価した。

13 週間経口投与試験（6.5、22.5 及び 75 mg/kg/日）では、22.5 mg/kg/日以上の用量で死亡が認められた。6.5 mg/kg/日以上の用量で、用量の増加に伴って流涙、眼瞼下垂、痙攣等の全身状態の悪化が認められた。投与初期に摂餌量が減少し、体重の増加抑制又は減少も用量依存的にみられた。
75 mg/kg/日の投与後期に摂餌量が著しく増加した。22.5 mg/kg/日以上の投与により AST 及び ALT が上昇し、75 mg/kg/日投与により ALP の上昇及び肝臓重量の増加もみられたが、病理組織学的検査に

おいて肝臓に傷害性の変化は認められなかった。同試験では、6.5 mg/kg/日以上の投与により BUN 及びクレアチニンが増加し、75 mg/kg/日投与では腎重量も増加したが、腎臓に組織学的変化はみられなかった。これらの変化は、休薬期間中に回復性が認められた。

52 週間経口投与試験（0.6、3.6 及び 21.6 mg/kg/日）では、アセナピンの血漿中濃度に関連した一般状態変化を軽減するために 1 日 2 回の分割投与とした。その結果、0.6 mg/kg/日投与から縮瞳及び自発運動の減少がみられ、3.6 mg/kg/日以上の投与により全身状態が悪化した。21.6 mg/kg/日投与では振戦及び痙攣等もみられ、死亡が認められた。体重は 0.6 mg/kg/日以上の投与により増加が抑制された。血液生化学検査では、0.6 mg/kg/日投与からグルコース及びコレステロールが減少し、3.6 mg/kg/日以上の投与ではトリグリセリド及びリン脂質の減少がみられた。また、3.6 mg/kg/日以上の投与により BUN 及びクレアチニンが増加し、尿量の増加もみられた。病理組織学的検査では、肝臓及び腎臓を含め毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

ラットを用いた反復投与毒性試験は、皮下投与（0.12 ~ 5 mg/kg/日、2 及び 13 週間投与）及び静脈内投与（0.1 ~ 3 mg/kg/日、2 週間投与）においても実施した。これらの試験でみられた変化は、経口投与試験の結果とほぼ同様であった。

2.6.6.1.2.2 イヌ

主要な経口投与試験として、1 日 1 回投与により 4 及び 13 週間、1 日 2 回投与により 52 週間の投与を行い、毒性を評価した。

4 週間（20、40 及び 80 mg/kg/日）及び 13 週間投与試験（1.25、7.5 及び 20 mg/kg/日）では、いずれの試験においても低用量からアセナピンの中枢神経系への作用によると考えられる一般状態変化がみられた。すなわち、1.25 mg/kg/日以上の投与により縮瞳及び自発運動の亢進がみられ、用量の増加に伴って強迫行動、自発運動の減少、振戦及び心拍数の増加が認められた。13 週間投与試験では、7.5 mg/kg/日以上で摂餌遅延又は摂餌量の減少がみられ、体重の減少もみられた。4 週間経口投与試験では 20 mg/kg/日以上、13 週間経口投与試験では 7.5 mg/kg/日以上の投与により、肝臓において ALT の上昇を伴う肝細胞の壊死又は小葉間の線維増生等が認められ、これらの傷害性変化は用量の増加及び投与期間の延長に応じて発現した。また、4 週間投与試験では、40 mg/kg/日以上の投与により腎臓の皮質尿細管に好塩基性変化及び上皮細胞の脱落等が認められた。その他に、4 週間経口投与試験では 40 mg/kg/日以上の投与により雄に精子形成阻害が、80 mg/kg/日の投与により雌に乳腺の腫脹及び分泌活性亢進がみられ、13 週間経口投与試験でも 20 mg/kg/日の投与により雌で乳腺の分泌活性亢進及び下垂体プロラクチン産生細胞の活性亢進がみられた。これらの作用は、アセナピンのドパミン受容体拮抗作用に基づく内分泌器官への二次的な影響と考えられた。13 週間投与試験でみられた所見については、休薬により回復性が認められた。

52 週間経口投与試験（0.2、1.2 及び 7.2 mg/kg/日）では、アセナピンの血漿中濃度に関連した一般状態変化を軽減するために 1 日 2 回の分割投与とした（0.2、1.2 及び 7.2 mg/kg/日）。その結果、最高用量の 7.2 mg/kg/日投与まで一般状態の変化はみられず、毒性学的意義のある変化も認められなかった。

静脈内投与試験では 1 日 1 回投与により 2、13 及び 39 週間の投与（0.1 ~ 3.0 mg/kg/日）を行い、毒性を評価した。いずれの試験においても低用量から一般状態の変化がみられた。すなわち、0.1 mg/kg/日以上の投与では、自発運動の減少、強迫行動及び心拍数の増加等が認められ、縮瞳及び振戦も用量に依存して観察された。2 週間投与試験の 3 mg/kg/日及び 13 週間投与試験の 0.5 mg/kg/日以上の投与により軽度な体重減少がみられた。13 週間投与試験の 0.1 mg/kg/日以上の投与により雌に

乳腺の分泌亢進を示唆する病理組織学的所見がみられ、0.5 mg/kg/日以上の投与では雄に前立腺腺房の萎縮が観察された。静脈内投与試験において肝臓又は腎臓への影響は認められなかった。

2.6.6.1.3 遺伝毒性

In vitro の細菌（*Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli*）を用いた復帰突然変異（Ames）試験及び L5178Y 細胞を用いるマウスリンフォーマ Tk（チミジンキナーゼ）試験においてアセナピンは変異原性を示さず、またウサギリンパ球を用いた姉妹染色分体交換試験及びヒト培養リンパ球を用いた染色体異常試験において染色体異常の誘発はみられなかった。さらに、in vivo 骨髄小核試験として、ラットにアセナピンを 25、50 及び 75 mg/kg/日の用量で 4 週間反復経口投与したところ、骨髄細胞に対し小核誘発性を示さなかった。以上の結果より、アセナピンは遺伝毒性を示さないと考えられた。

2.6.6.1.4 がん原性

CD-1 マウス（雄 : 0.5、1.5 及び 5/4 mg/kg/日、雌 : 0.5、1.5 及び 7.5/5 mg/kg/日）及び Sprague Dawley ラット（0.3、1.2 及び 3/5 mg/kg/日）を用いた皮下投与がん原性試験において、アセナピンの用量依存的な腫瘍発現頻度の増加はみられず、がん原性は認められなかった。アセナピンは血中プロラクチンの上昇作用を有することが示されているが、プロラクチンが作用する下垂体、乳腺等における腫瘍の増加もみられなかった。マウス及びラット 13 週間皮下投与毒性試験の反復投与時の $AUC_{0\text{-}2.5}$（マウス $AUC_{0\text{-}2.5}$：雄 507 ng·hr/mL、雌 879 ng·hr/mL、ラット：雄 458 ng·hr/mL、雌 362 ng·hr/mL）並びに臨床での最大推奨用量（10 mg を 1 日 2 回）を投与した時の $AUC_{0\text{-}12}$=33.6 ng·hr/mL【2.7.2.3.2.5】に基づき、安全域を算出したところ、安全域は投与用量ベースで 9.6 ~ 17.5 倍、AUC ベースで 11 ~ 26 倍であった（表 2.4.4-1 を参照）。

表 2.6.6-2 げっ歯類がん原性試験における曝露を基準とした安全域

動物種		用量 (mg/kg/日)	安全域	
			mg/kg ベース	AUC ベース
マウス	雄	4[a]	9.8	15
	雌	5[b]	9.6	26
ラット	雄及び雌	5	9.6~17.5	11~14

a：投与第 25 週に 5 mg/kg から減量
b：投与第 25 週に 7.5 mg/kg から減量
ヒト男性の体重は 70 kg、女性は 55 kg とした。

2.6.6.1.5 生殖発生毒性

2.6.6.1.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響

雌雄ラットにアセナピンを交配前から交配期間、さらに雌では妊娠期間及び分娩後 21 日まで 1 日 2 回反復経口投与した試験（1、5 及び 30 mg/kg/日）を用いて、受胎能及び着床までの初期胚発生に対する評価を行った。その結果、1 mg/kg/日以上で F0 動物の一般状態変化及び生殖能低下、並びに胎児骨格の軽微な発達遅延が認められた。

2.6.6.1.5.2 胚・胎児発生への影響

妊娠ラットの器官形成期にアセナピンを 1 日 2 回反復経口投与した（1、5 及び 30 mg/kg/日）結果、1 及び 5 mg/kg/日では胚・胎児への影響はみられず、30 mg/kg/日で着床後胚損失率の増加及び胎児体重の減少がみられたが、催奇形性は認められなかった。妊娠ウサギの器官形成期にアセナピンを 1 日 2 回経口投与した（1、5 及び 30 mg/kg/日）ところ、1 及び 5 mg/kg/日では胚・胎児への影響はみられず、30 mg/kg/日では母動物の死亡及び胎児体重の減少がみられたが、催奇形性は認められなかった。妊娠ラット（0.3、0.9 及び 1.5 mg/kg/日、活性本体として）及び妊娠ウサギ（0.025、0.125 及び 0.625 mg/kg/日）の器官形成期にアセナピンを 1 日 1 回静脈内投与した結果、ラットでは 0.3 mg/kg/日以上、ウサギでは 0.125 mg/kg/日において一般状態変化がみられたが、催奇形性は認められなかった。

2.6.6.1.5.3 出生前及び出生後の発生並びに母体機能に対する影響

ラットに器官形成期から分娩後の授乳期を通じてアセナピンを 1 日 1 回静脈内投与した（0.3、0.9 及び 1.5 mg/kg/日、活性本体として）結果、0.3 mg/kg/日以上で自発運動の減少等がみられ、0.9 mg/kg/日以上で出生 4 日後の出生児生存率が低下した。また、0.9 mg/kg/日以上で出生児の低体重及び外生殖器の発達の遅れ、1.5 mg/kg/日で光回避性の軽度な低下がみられた。交叉哺育試験を行った結果、アセナピンによる出生児死亡の増加は、母動物の哺育行動の変化によるものではなく、胎児期にアセナピンの曝露を受けたことによる出生児への影響によるものと考えられた。

2.6.6.1.6 幼若毒性

幼若動物を用いた試験において発育に及ぼす影響を検討するため、14 日齢の幼若ラットにアセナピンを 1 日 1 回 56 日間反復皮下投与した結果（0.4 ~ 3.2 mg/kg/日）、性成熟の時期及び雌の発情周期への影響はみられなかった。最終投与後の行動検査では、0.4 mg/kg/日以上で自発運動量が増加し、雌では投与終了から 30 日まで持続したが、学習機能への影響はみられなかった。

2.6.6.1.7 局所刺激性

局所刺激性について、アセナピン 5 mg を含む舌下錠をビーグル犬に 1 日 2 回 7 日間反復舌下投与して検討したところ、投与部位に病理組織学的変化はみられなかった。

2.6.6.1.8 抗原性

抗原性について、アセナピンをモルモットに経口及び皮下投与し、能動的アナフィラキシー反応試験を行ったところ、ヒト血清アルブミン結合アセナピン（コンジュゲート）を用いた感作条件下において、アナフィラキシー症状がみられたが、アセナピンで感作及び惹起を行った群では、アナフィラキシー症状はみられなかった。

2.6.6.1.9 光毒性

光毒性について、3T3 ニュートラルレッド取込み試験において、アセナピンの光毒性は認められなかった。

2.6.6.1.9.1 不純物の毒性評価

[redacted]及び[redacted]として、類縁物質A*、類縁物質B*、N-酸化体、類縁物質D* 及び 類縁物質E* の毒性評価を行ったが、臨床使用において懸念すべき毒性を示唆する結果は認められなかった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 Wistar ラットを用いたアセナピンの急性経口投与毒性試験

【2.6.7.5】

【4.2.3.1-01】: SDGRR 2723（参考資料）

Cpb：Wistar WU ラット（雄雌各 6 例/群、200 mg/kg 群のみ雄 6 例）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、75、115、160、200、225、315、440 及び 625 mg/kg の用量で単回経口投与し、14 日間の観察期間を設けた。

その結果、全てのアセナピン投与群において死亡が認められた。最小致死量は、雄で 160 mg/kg、雌で 75 mg/kg であった。LD_{50} 値は以下のとおり

表 2.6.6-3 LD_{50} 値とその 95%信頼区間

性別	経過時間	LD_{50} (mg/kg)	95%信頼区間 (mg/kg)
雄	24 時間	176	137 ~ 201
	7 日及び 14 日	176	137 ~ 201
雌	24 時間	168	129 ~ 217
	7 日及び 14 日	139	96 ~ 188

アセナピン投与群において、75 mg/kg 以上で易刺激性、沈鬱、振戦、傾眠、活動性低下、努力性呼吸、縮瞳、円背位、並びに強直性及び間代性痙攣、160 mg/kg 以上で腹臥位、昏睡及び衰弱、200 mg/kg 以上で正向反射の消失、225 mg/kg 以上で立毛、315 mg/kg 以上で虚脱及び眼瞼下垂、440 mg/kg 以上で呼吸頻度減少及び粘膜充血が認められた。症状は投与の約 30 分後に現れ始め、その後 48 時間以内に消失した。半数以上が生存した群（75、115、160 mg/kg 投与群）では、投与 7 日後の摂餌量及び体重増加量が減少した。これらの影響は投与後 14 日までの間に消失した。死亡動物の剖検において、口及び鼻孔周囲の粘液性又は血性分泌物、子宮留水症並びに副腎肥大が認められた。生存動物の剖検においても、115 及び 160 mg/kg の群の雌で副腎肥大が認められた。

2.6.6.2.2 SD ラットを用いたアセナピンの単回経口投与毒性試験

【2.6.7.5】

【4.2.3.1-02】: SDGRR 3005（評価資料）

Sprague Dawley ラット（雄雌各 6 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、50、100 及び 200 mg/kg の用量で単回経口投与し、2 週間の観察期間を設けた。

その結果、200 mg/kg 群では全例が投与後 24 時間以内に死亡した。100 mg/kg 群では、雌 2 例が死亡した。0 及び 50 mg/kg 群では、死亡が認められなかった。LD_{50} 値は雄で 150 mg/kg、雌で 110 mg/kg と推定された。

死亡前に認められた主な症状は、痙攣、鎮静、臥位、眼瞼下垂及び立毛であった。生存例では、投与 7 日後の摂餌量及び体重増加量が減少した。死亡動物の剖検において、口及び鼻孔周囲の分泌物、

胃粘膜の紅斑、並びに死後硬直が認められた。病理組織学的検査では、胃の腺上皮の表在性壊死が認められた。生存動物の剖検では異常は認められなかった。

上記の Wistar 及び SD ラットを用いた単回経口投与毒性試験において、同様の結果が得られた。結論として、アセナピンのラットを用いた急性経口毒性に関して性別及び系統による差は認められなかった。死因は特定できなかった。

2.6.6.2.3 SD ラットを用いたアセナピンの単回静脈内投与毒性試験

【2.6.7.5】
【4.2.3.1-03】: SDGRR 3006（評価資料）

Sprague Dawley ラット（雄雌各 6 例/群）に、溶媒（0.85% NaCl 液）に溶解したアセナピンを尾静脈より単回静脈内投与し、2 週間の観察期間を設けた。用量は 0（溶媒対照群）、9、15 及び 21 mg/kg、投与容量はそれぞれ 7、3、5 及び 7 mL/kg とした。アセナピンは溶解度が低いため、21 mg/kg が静脈内投与可能な最高用量であった。

その結果、死亡例は認められなかった。一般状態変化として、すべての投与群において鎮静（9 及び 15 mg/kg 群では投与後 4-5 時間まで、21 mg/kg 群では 5 時間以上）、9 mg/kg 群において投与直後の歩行失調、15 及び 21 mg/kg 群において最長 1 分間持続した痙攣が認められた。また、すべての投与群の雄において投与 7 日後に体重増加量の軽度な減少、15 及び 21 mg/kg 群の雄において投与 7 日後に摂餌量の軽度な減少が認められた。剖検及び病理組織学的検査において、毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

2.6.6.2.4 ビーグル犬を用いたアセナピンの単回経口投与毒性試験

【2.6.7.5】
【4.2.3.1-04】: SDGRR 3002（評価資料）

ビーグル犬（雄 2 例/群）にアセナピンをカプセルを用いて 0（空カプセル投与、対照群）、50、100 及び 200 mg/kg の用量で単回経口投与し、14 日間の観察期間を設けた。観察期間終了時に剖検は実施しなかった。

その結果、死亡例は認められなかった。一般状態変化として、全てのアセナピン投与群において縮瞳及び自発運動の減少がみられ、100 及び 200 mg/kg 群では強迫行動（飼育ケージの柵を噛む、柵に鼻を押しつける）も認められ、頭部に創傷がみられた。この行動は数日以内に消失した。50 及び 200 mg/kg 群では嘔吐が認められた。また、200 mg/kg 群において体重の減少が認められた。

投与前及び投与直後に実施した心電図測定において、異常は認められなかった。投与翌日には、100 及び 200 mg/kg 群において赤血球数の減少、HGB 濃度及びヘマトクリット値の低下、全てのアセナピン投与群において白血球数の増加、並びに 200 mg/kg 群において BUN 及びクレアチニンの増加が認められた。200 mg/kg 群で認められた BUN 及びクレアチニンの増加は、腎毒性を示唆する変化と考えられた。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 NMRI マウスを用いたアセナピンの 4 週間反復経口投与毒性パイロット試験

【2.6.7.6】

【4.2.3.2-01】: SDGRR 2940（参考資料）

経口投与の場合、肝毒性はイヌでは発現し、ラットでは発現しないことが明らかとなっている。本試験は、マウスにおいてアセナピンが肝毒性を誘発するか検討することを目的とした。

Crl：NMRI BR マウス（雄雌各 6 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、25 及び 75 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与した。

その結果、75 mg/kg/日群において雄 1 例が死亡し雌 1 例を瀕死屠殺したが、原因は特定できなかった。

25 及び 75 mg/kg/日群において、自発運動の減少、眼瞼下垂、眼周囲の痂疲及び円背位が認められた。75 mg/kg/日群において、振戦、痙攣及び衰弱が見られた。25 及び 75 mg/kg/日群において、一過性の体重及び摂餌量減少、用量依存的な空腹時血糖の上昇、並びに肝相対重量の増加が認められた。

結論として、マウスにアセナピンを 4 週間反復経口投与したところ、肝毒性は誘発されなかった。

2.6.6.3.2 CD-1 マウスを用いたアセナピンの 2 週間反復皮下投与がん原性プレパイロット試験

【2.6.7.6】

【4.2.3.2-02】: SDGRR 7013（参考資料）

CD-1 マウス（雄雌各 18 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、0.12、0.6 及び 3 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 2 週間反復皮下投与した。投与経路には、ヒトにおいて舌下投与と同様に曝露され、アセナピンが受けやすい初回通過効果を回避できる皮下投与を選択した。

その結果、アセナピン投与群の雄マウスにおいて、投与第 1 週に軽度の体重減少がみられた。トキシコキネティクスデータから、アセナピンの AUC 及び C_{max} は用量の増加に伴って上昇した。

結論として、マウスにアセナピンを 2 週間反復皮下投与したところ、投与部位にアセナピン投与に関連する影響は認められず、忍容性は良好であった。

表 2.6.6-4 マウスの 2 週間皮下投与試験のトキシコキネティクスデータ

用量	0.12 mg/kg/日 (0.085 mg/kg/日 AE)		0.6 mg/kg/日 (0.42 mg/kg/日 AE)		3 mg/kg/日 (2.1 mg/kg/日 AE)	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌
レジメン	MD	MD	MD	MD	MD	MD
$AUC_{0\text{-}4}$ (ng·hr/mL)	11.4	5.7	61.0	41.4	264.5	249.6
$NAUC_{0\text{-}4}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	95.0	47.5	101.7	69.0	88.2	83.2
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)*	13.2	7.9	77.4	44.4	291	271
$NAUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	155	93	184	106	139	129
C_{max} (ng/mL)	11.3	8.8	30.9	32.5	162	248
NC_{max} (ng/mL)/(mg/kg)	133	104	74	77	77	118
CL/F (L/h/kg)	9.1	15.2	7.8	13.5	10.3	11.1
t_{max} (hr)	1.5	0.25	0.75	0.25	0.5	0.25
$t_{1/2}$ (hr)	-	-	1.77	1.05	1.09	1.20

AE ：活性本体換算用量

-：濃度測定が可能な検体数が少ないため算出できず。

MD：反復投与（2 週目）

*：$AUC_{0\text{-}24}$ は 4 時間までの実測値から外挿した。

2.6.6.3.3 CD-1 マウスを用いたアセナピンの 13 週間反復皮下投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験

【2.6.7.6】

【4.2.3.2-03】: SDGRR 7026（参考資料）

CD-1 マウス（雄雌各 12 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、0.5、1 及び 2 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 13 週間反復皮下投与した。

その結果、全てのアセナピン投与マウスにおいて、投与数分後から数時間後にかけて自発運動の減少がみられた。これは、アセナピンの中枢神経系に対する薬理学的作用によるものと考えられた。

AUC 及び C_{max} は、反復投与に比べ単回投与時の方が高く、曝露量は、雌に比べ雄がやや多かった。AUC 及び C_{max} は用量の増加に伴って上昇した。

なお、CD-1 マウスにアセナピンを 0.5、1 及び 2 mg/kg/日の用量で 13 週間反復皮下投与したところ、忍容性は良好であった。

表 2.6.6-5マウスの 13 週間皮下投与試験のトキシコキネティクスデータ

用量	0.5 mg/kg/日 (0.35 mg/kg/日 AE)				1 mg/kg/日 (0.71 mg/kg/日 AE)				2 mg/kg/日 (1.4 mg/kg/日 AE)			
性別	雄		雌		雄		雌		雄		雌	
レジメン	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD
$AUC_{0\text{-}last}$ (ng·hr/mL)	55	40	28	23	99	75	79	54	228	145	165	131
$NAUC_{0\text{-}last}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	157	114	80	66	139	106	111	76	163	104	118	94
$AUC_{0\text{-}\infty}$ (ng·hr/mL)	57	45	32	27	111	79	102	57	245	157	171	141
$NAUC_{0\text{-}\infty}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	163	129	91	77	156	111	144	80	175	112	122	101
C_{max} (ng/mL)	40	27	28	27	80	55	79	42	160	92	188	74
NC_{max} (ng/mL)/(mg/kg)	114	77	80	77	113	77	111	59	114	66	134	53
t_{max} (hr)	0.5	0.2	0.5	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.3	0.5	0.3	0.2
$t_{1/2}$ (hr)	0.9	1.2	0.6	0.7	1.3	0.9	0.9	1.0	1.1	1.1	0.8	1.0

AE：活性本体換算用量、SD：単回投与、MD：反復投与（13 週目）

$AUC_{0\text{-}last}$：最後に濃度測定が可能だった時間までの AUC

2.6.6.3.4 CD-1 マウスを用いたアセナピンの 13 週間反復皮下投与用量設定試験

【2.6.7.7.A】

【4.2.3.2-04】: R&DRR NL0017870（評価資料）

マウスを用いたがん原性試験の最高用量を選択するため、13 週間反復投与試験を実施した。CD-1 マウス（雄雌各 12 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、3、4、及び 5/7.5 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 13 週間反復皮下投与した。5/7.5 mg/kg/日群は、第 6 週の初日から、用量を 5 mg/kg/日から 7.5 mg/kg/日に増量した。

その結果、雌及び溶媒対照群の雄に死亡はみられなかった。アセナピン投与群の雄では、一般状態の悪化及び死亡例数が用量依存的に増加しており、死亡した 15 例のうち 8 例は死亡時期が投与 13 週付近であった。5/7.5 mg/kg/日群の雄で認められた 2 死亡例には外傷等が認められたため、闘争や自傷が原因と考えられた。5/7.5 mg/kg/日の雄 2 例は増量直後に剖検となり、4 mg/kg/日群の雄 1 例及び 5/7.5 mg/kg/日群の雄 3 例の剖検は投与期間の後半であった。これら 6 例の死亡について、標的臓器を示す病理所見はみられず、死因を特定することができなかった。多くの死亡動物において、脾臓、リンパ節及び胸腺の萎縮がみられたため、投与のストレスによる影響が考えられた。試験期間を通じ、全てのアセナピン投与動物において投与 10 分後から自発運動の減少がみられ、数時間にわたって持

続した。試験期間前半のアセナピン投与群の雄における体重増加量は対照群を下回った。アセナピン投与動物の摂餌量は、対照群に比べて、高値を示した。4 及び 5/7.5 mg/kg/日群の雄において、赤血球数、HGB、PCV 及び総白血球数が減少した。アセナピン投与群の雄において BUN が上昇した。最終剖検時に全てのアセナピン投与群において心重量の増加、4 及び 5/7.5 mg/kg/日群の雌において肝重量の増加がみられた。

肉眼的観察ではアセナピン投与群の雄において、投与部位、皮膚及び尾のびらんの発現頻度が僅かに高かった。病理組織学的検査では 5/7.5 mg/kg/日群の雄において、投与部位の軽度な蜂窩織炎及び筋炎の発現頻度が、対照群に比べて高かった。また、対照群を含む雄で外傷を示唆する皮膚炎、尾の病変及び尿生殖器の傷害が散見されたが、これらは闘争に起因すると考えられた。5/7.5 mg/kg/日群の雌では乳腺の軽度の腺房発達が認められた。このほかに、アセナピン投与による毒性の標的臓器を示唆する肉眼的又は病理組織学的所見は認められなかった。

トキシコキネティクスデータから、13 週間反復投与後の C_{max} は単回投与後に比べて高い傾向があり（AUC でこの傾向がみられたのは 3 mg/kg/日群のみ）、また、曝露量に性差は認められなかった。C_{max} 及び AUC は用量の増加に伴って上昇した。

結論として、5/7.5 mg/kg/日群で認められた所見から、マウスを用いたがん原性試験の高用量は 5 mg/kg/日が適当と考えられた。

表 2.6.6-6マウスの 13 週間皮下投与試験のトキシコキネティクスデータ

用量	3 mg/kg/日 (2.1 mg/kg/日 AE)				4 mg/kg/日 (2.8 mg/kg/日 AE)				SD：5 mg/kg (3.5 mg/kg AE) MD：7.5 mg/kg/日 (5.3 mg/kg/日 AE)			
性別	雄		雌		雄		雌		雄		雌	
レジメン	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD
$AUC_{0\text{-}2.5}$ (ng·hr/mL)	284	426	255	366	432	507	482	435	509	912	537	879
$NAUC_{0\text{-}2.5}$ (ng·hr/mL/(mg/kg))	95	142	85	122	108	127	121	109	102	122	107	117
$AUC_{0\text{-}5}$ (ng·hr/mL)	389	-	368	-	616	-	627	-	650	-	705	-
$NAUC_{0\text{-}5}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	130	-	123	-	154	-	157	-	130	-	141	-
$AUC_{0\text{-}\infty}$ (ng·hr/mL)	465	-	422	-	693	-	710	-	746	-	745	-
$NAUC_{0\text{-}\infty}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	155	-	141	-	173	-	178	-	149	-	149	-
C_{max} (ng/mL)	184	332	184	314	259	385	294	347	314	744	328	900
NC_{max} (ng/mL)/(mg/kg)	61	111	61	105	65	96	74	87	63	99	66	120
t_{max} (hr)	0.33	0.33	0.17	0.33	0.33	0.17	0.33	0.17	0.17	0.33	0.75	0.17
$t_{1/2}$ (hr)	1.9	-	1.8	-	1.6	-	1.8	-	2.0	-	1.1	-

AE：活性本体換算用量、SD：単回投与、MD：反復投与（13 週目）
-：データが少ないため算出できず

2.6.6.3.5 Wistar ラットを用いたアセナピンの 2 週間反復経口投与毒性試験

【2.6.7.6】
【4.2.3.2-05】：SDGRR 2724（参考資料）

Wistar Cpb：WU ラット（雄雌各 6 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、18.75、37.5、75 及び 150 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 2 週間反復経口投与した。ただし、150 mg/kg/日群の投与期間は 1 週間とした。

その結果、150 mg/kg/日群の雄 2 例及び雌全例が、投与開始後 3 日以内に死亡した。死因は特定できなかったが、呼吸抑制が要因であったかもしれない。

全てのアセナピン投与群において、中枢神経系への作用を示す一般状態変化が認められた。投与第1週に全群において、体重増加抑制又は体重減少、並びに摂餌量の減少がみられた。37.5、75及び150 mg/kg/日群でASTの上昇が認められ、37.5及び75 mg/kg/日群において、グルコースの低下が認められた。生存動物の臓器重量測定では、18.75 mg/kg/日以上の群で卵巣重量及び子宮重量の減少、37.5 mg/kg/日以上の群で副腎重量の増加、75 mg/kg/日以上の群で肝重量の増加、150 mg/kg/日群の雄で甲状腺重量の増加がみられた。病理組織学的検査では、75 mg/kg/日群の雄において軽度の胆管上皮細胞の増生、75 mg/kg/日群の雌雄及び150 mg/kg/日群の生存例において肝細胞の腫脹及び空胞化が認められた。

2.6.6.3.6 Wistarラットを用いたアセナピンの4週間反復経口投与毒性試験

【2.6.7.6】

【4.2.3.2-06】: SDGRR 2664（参考資料）

Wistar Cpb : WUラット（雄雌各8例/群）にアセナピンを0（溶媒対照群）、25、50及び75 mg/kg/日の用量で1日1回4週間反復経口投与した。

その結果、試験期間中に25及び75 mg/kg/日群の雄各1例が死亡したが、死亡前に異常はみられなかった。この死亡2例に認められた一般状態変化は、それぞれの群の生存動物と変わらず、病理組織学的検査でも死因は不明であった。

全てのアセナピン投与群において、連日一過性の縮瞳、眼瞼下垂、流涙、紅涙及び自発運動の減少、糞排泄量の減少、体重及び摂餌量の減少、グルコース及び血中トリグリセリドの低下、BUN及び血中総タンパク質濃度の上昇、尿中還元性物質（還元糖等）及び尿中白血球又は尿中上皮細胞の発現頻度上昇、胸腺重量及び子宮重量の減少、並びに肝重量及び副腎重量の増加が認められた。50及び75 mg/kg/日群において、体開口部周囲の被毛の汚れ及び尿量増加が認められた。75 mg/kg/日群では一過性の刺激過敏性及び協調運動障害もみられ、さらに雌では尿タンパク質の増加、発情休止期にある雌の増加、及び甲状腺濾胞上皮細胞の肥大が認められた。特に自律神経系及び運動系に関する一般状態変化は、アセナピンの薬理活性に関連すると考えられた。BUN上昇及び尿タンパク質増加に関連する病理組織学的変化はみられなかった。

結論として、次に行う予定のラットを用いた13週間反復投与試験の高用量には75 mg/kg/日が適当と考えられた。本試験において標的臓器及び作用機序を明確にすることはできなかった。

2.6.6.3.7 Wistarラットを用いたアセナピンの13週間反復経口投与毒性試験

【2.6.7.7.B】

【4.2.3.2-08】: SDGRR 2320（評価資料）

Wistar Cpb : WUラット（雄雌各8例/群）にアセナピンを0（溶媒対照群）、6.5、22.5及び75 mg/kg/日の用量で1日1回13週間反復経口投与した。溶媒対照群及び75 mg/kg/日群には、投与後6週間の回復期を設定した（雄雌各8例/群）。

その結果、22.5 mg/kg/日群の雄4例及び雌3例、並びに75 mg/kg/日群の雄6例及び雌2例が死亡したが、死因は特定できなかった。

全てのアセナピン投与群において、連日一過性の縮瞳及び自発運動の減少、体重増加量の減少、投与初期に摂餌量の減少がみられた。血中グルコース、コレステロール、トリグリセリド及び総脂質の低下、並びにBUN及びクレアチニンの上昇が認められた。22.5及び75 mg/kg/日群ではさらに、過活

動の兆候、白血球数減少、AST 及び ALT の上昇、比重低下を伴う尿量の増加、並びに硬化性萎縮に関連した胸腺重量の減少が認められた。75 mg/kg/日群では、流涙及び眼瞼下垂、散発的な痙攣、試験期間中の全身状態悪化、投与後期の顕著な摂餌量増加、ESR 上昇、ALP 上昇、雌におけるタンパク質尿、肝重量の増加、皮質肥厚等を伴う副腎重量の増加、並びに形態学的な変化を伴わない腎重量の増加が認められた。

投与終了時に 75 mg/kg/日群で認められた影響のうち、雌におけるグルコースの低下を除き、全てが回復期終了時に回復又は回復傾向を示した。

2.6.6.3.8 Wistar ラットを用いたアセナピンの 52 週間反復経口投与毒性試験、アセナピン、N-脱メチル体及び N-酸化体の Wistar ラットを用いた単回静脈内投与、単回経口投与及び反復経口投与におけるトキシコキネティクス試験

【2.6.7.7.C】
【4.2.3.2-09】: SDGRR 3210（評価資料）
【2.6.7.3】
【4.2.3.2-10】: SDGRR 2979（参考資料）

Wistar Bor:WISW ラット（雄雌各 20 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、0.6、3.6 及び 21.6 mg/kg/日（それぞれ 0、0.3、1.8 及び 10.8 mg/kg を 1 日 2 回、約 6 時間間隔）の用量で 52 週間反復経口投与した。溶媒対照群及び 21.6 mg/kg/日群には、投与後 9 週間の回復期を設定した（雄雌各 10 例/群）。

その結果、21.6 mg/kg/日群において死亡例が認められ、呼吸障害、循環障害又は誤投与が原因と考えられた。全てのアセナピン投与群において、投与後の軽度の縮瞳、自発運動の減少、体重増加量の減少、並びに血中グルコース及びコレステロールの低下が認められた。

3.6 及び 21.6 mg/kg/日群では、試験期間中の全身状態の悪化、雄における投与期間を通じた連日の摂餌量の減少、雄における HGB の増加、BUN 及びクレアチニン濃度の上昇、血中トリグリセリド及び血中リン脂質濃度の低下、雄における血中カリウム濃度の低下、尿量増加及び尿 pH 上昇、尿比重及びタンパク質濃度の低下が認められた。

21.6 mg/kg/日群では、投与初期の流涙及び頻尿、投与後期の振戦、旋回運動及び痙攣、雌における投与初期の摂餌量減少に続く摂餌量の軽度増加、全ての白血球分画に影響する白血球数の軽度減少、並びに副腎重量の軽度増加が認められた。病理組織学的検査では、毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

体重増加量の減少、グルコースの低下、BUN 及びクレアチニンの上昇、血中コレステロール、トリグリセリド及びリン脂質の低下、尿量増加及び尿 pH 上昇、並びに尿比重及びタンパク質濃度の低下については、回復期終了時点で完全な回復がみられなかったが、全ての影響は回復性を有すると考えられた。

アセナピン、N-脱メチル体及び N-酸化体のトキシコキネティクスデータを表 2.6.6-7に示す。

表 2.6.6-7 ラットを用いた 52 週間経口投与試験のトキシコキネティクスデータ

アセナピン

用量		0.6 mg/kg (0.4 mg/kg AE)			3.6 mg/kg (2.6 mg/kg AE)			21.6 mg/kg (15.2 mg/kg AE)		
性別		雄		雌	雄		雌	雄		雌
レジメン		SD	MD	SD	SD	MD	SD	SD	MD	SD
AUC_{0-7} (ng·hr/mL)	Mean	45	38	47	88	93	103	1177	355	1600
	S.D.	28	27	23	13	43	47	95	192	1132
$NAUC_{0-7}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)*	Mean	211	180	219	69	73	81	153	46	209
	S.D.	133	125	110	10	34	37	12	25	148
C_{max} (ng/mL)	Mean	16	15	14	35	26	38	238	110	337
	S.D.	11	15	3	15	17	24	46	119	223
NC_{max} (ng/mL)/(mg/kg) *	Mean	75	70	66	27	20	30	31	14	44
	S.D.	52	70	14	12	13	19	6	16	29
t_{max} (hr)	Mean	0.4	0.5	1.0	0.7	0.6	0.4	2.1	0.8	4.1
	S.D.	0.1	0.2	1.4	0.7	0.6	0.1	1.7	0.6	2.7
	中央値	0.4	0.5	0.4	0.3	0.3	0.3	1.6	0.7	5.1
	最小値	0.3	0.4	0.2	0.3	0.2	0.3	0.8	0.1	1.0
	最大値	0.5	0.8	3.1	1.5	1.4	0.5	4.0	1.5	6.1

N-脱メチル体

用量		0.6 mg/kg (0.4 mg/kg AE)			3.6 mg/kg (2.6 mg/kg AE)			21.6 mg/kg (15.2 mg/kg AE)		
性別		雄		雌	雄		雌	雄		雌
レジメン		SD	MD	SD	SD	MD	SD	SD	MD	SD
AUC_{0-7} (ng·hr/mL)	Mean	98	60	92	345	512	322	3453	1407	2590
	S.D.	37	13	20	53	207	245	403	703	457
$NAUC_{0-7}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)*	Mean	462	282	430	270	400	252	450	183	338
	S.D.	172	63	94	42	162	192	53	92	60
C_{max} (ng/mL)	Mean	18	12	18	66	101	88	664	290	561
	S.D.	7	3	5	13	51	47	56	72	214
NC_{max} (ng/mL)/(mg/kg)*	Mean	85	56	85	52	79	69	87	38	73
	S.D.	33	14	23	10	40	37	7	9	28
t_{max} (hr)	Mean	5.5	4.9	4.0	1.4	2.7	6.0	6.7	5.1	4.9
	S.D.	3.2	3.8	3.7	0.7	1.9	1.8	0.6	1.1	2.9
	中央値	7.0	7.0	4.1	1.5	2.5	7.0	7.0	5.1	6.1
	最小値	0.8	0.5	0.5	0.8	0.5	4.0	6.1	4.2	1.6
	最大値	7.1	7.0	7.2	2.0	5.0	7.0	7.0	6.1	7.0

N-酸化体

用量		0.6 mg/kg (0.4 mg/kg AE)			3.6 mg/kg (2.6 mg/kg AE)			21.6 mg/kg (15.2 mg/kg AE)		
性別		雄		雌	雄		雌	雄		雌
レジメン		SD	MD	SD	SD	MD	SD	SD	MD	SD
AUC_{0-7} (ng·hr/mL)	Mean	42	35	40	240	192	183	1272	482	1388
	S.D.	12	2	10	55	65	112	275	197	322
$NAUC_{0-7}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)*	Mean	196	164	188	188	150	143	166	63	181
	S.D.	55	8	47	43	51	87	36	26	42
C_{max} (ng/mL)	Mean	13	12	11	82	66	69	327	146	305
	S.D.	3	5	7	37	50	53	94	67	103
NC_{max} (ng/mL)/(mg/kg)*	Mean	61	56	52	64	52	54	43	19	40
	S.D.	14	23	33	29	39	41	12	9	13
t_{max} (hr)	Mean	0.7	5.7	1.6	0.9	0.4	3.0	0.7	1.6	4.1
	S.D.	0.1	2.3	1.2	0.5	0.1	3.5	0.2	1.8	2.7
	中央値	0.8	7.0	1.4	0.8	0.4	1.5	0.8	1.0	5.1
	最小値	0.5	3.0	0.4	0.5	0.3	0.5	0.5	0.3	1.0
	最大値	0.8	7.0	3.1	1.5	0.5	7.0	0.8	4.2	6.1

AE : 活性本体換算用量、SD : 単回投与（0.3、1.8、10.8 mg/kg）、MD : 52 週間反復投与、1 日 2 回投与（0.3×2、1.8×2、10.8×2 mg/kg）、Mean：平均値、S.D.：標準偏差
*：活性本体として 1 mg/kg あたりの AUC 及び C_{max} を算出した。

Wistar ラットにおける単回経口投与後のアセナピン、並びに代謝物である N-脱メチル体及び N-酸化体のトキシコキネティクスに性差はみられなかった。また、アセナピンのバイオアベイラビリティは 20 ~ 65%であった。

2.6.6.3.9 Wistar ラットを用いたアセナピンの 2 週間反復静脈内投与毒性試験

【2.6.7.7.F】
【4.2.3.2-13】: SDGRR 2798（評価資料）

Wistar Bor：WISW ラット（雄雌各 8 例/群）に、生理食塩液に溶解したアセナピンを尾静脈より 1 日 1 回 2 週間反復静脈内投与した。用量は 0（溶媒対照群）、0.1、0.5 及び 3 mg/kg/日とした。

その結果、全てのアセナピン投与群において投与後連日の縮瞳、体重増加量の減少（0.1 及び 0.5 mg/kg/日群の雌では一過性）、赤血球パラメータ（赤血球数、HGB 及び PCV）の軽度上昇、並びに雄における大型血小板比率の軽度低下が認められた。

0.5 及び 3 mg/kg/日群において、雄における摂餌量減少（0.1 及び 0.5 mg/kg/日群の雌では一過性）、流涙（0.5 mg/kg/日群では 1 例）、自発運動の減少、雌における心重量の増加及び子宮重量の減少、並びに雄における胸腺重量の軽度減少が認められた。

3 mg/kg/日群の雌では、被毛の乱れ及び円背位（1 例）、摂餌量の増加、MCV の増加、並びに卵巣重量の減少も認められた。雄雌いずれにおいても、眼瞼下垂及びハンドリング時の刺激過敏性が認められた。

結論として、本試験において毒性の標的臓器は特定されなかった。

2.6.6.3.10 Wistar ラットを用いたアセナピンの 2 週間反復皮下投与がん原性プレパイロット試験

【2.6.7.6】

【4.2.3.2-07】: SDGRR 7014（参考資料）

Wistar CPB : WU ラット（雄雌各 6 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、0.12、0.6 及び 3 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 2 週間反復皮下投与した。投与経路には、アセナピンが受けやすい初回通過効果を回避でき、ヒトにおいて舌下投与と同様に曝露される皮下投与を選択した。

その結果、アセナピン投与群の雄において、摂餌量減少に関連した用量依存的な体重増加量の減少がみられた。投与部位の病理組織学的検査において、3 mg/kg/日群の 1/3 例に、限局的壊死巣等の軽度な局所反応が認められた。

トキシコキネティクスパラメータ（AUC、C_{max}、t_{max}、$t_{1/2}$ 及び CL/F）に関して、単回投与と反復投与とで明らかな差はみられず、また性差もみられなかった。さらに、アセナピンの AUC 及び C_{max} は用量の増加に伴って上昇した。

表 2.6.6-8 ラットの 2 週間皮下投与試験のトキシコキネティクスデータ

用量	0.12 mg/kg/日 (0.085 mg/kg/日 AE)				0.6 mg/kg/日 (0.42 mg/kg/日 AE)				3 mg/kg/日 (2.1 mg/kg/日 AE)			
性別	雄		雌		雄		雌		雄		雌	
レジメン	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD
AUC* (ng·hr/mL)	-	-	-	18.2	74.0	73.0	62.7	62.0	340	334	287	286
$NAUC_{0\text{-last}}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	-	-	-	214	174	171	147	146	160	157	135	134
C_{max} (ng/mL)	4.8	3.6	4.4	6.4	39.2	22.9	30.4	36.3	144	174	165	166
NC_{max} (ng/mL)/(mg/kg)	56	42	52	75	92	54	71	85	68	82	77	78
CL/F (L/hr/kg)	-	-	-	6.6	8.1	8.2	9.6	9.7	8.8	9.0	10.5	10.5
t_{max} (hr)	0.25	0.75	0.25	0.25	0.25	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
$t_{1/2}$ (hr)	-	-	-	3.86	2.18	1.99	1.97	1.48	2.07	1.91	2.09	1.68

AE：活性本体換算用量、SD：単回投与、MD：反復投与

-：濃度測定が可能な検体数が少なすぎて算出できず

*：SD については $AUC_{0\text{-}\infty}$、MD については $AUC_{0\text{-}24}$

結論として、ラットにアセナピンを 0.12、0.6 及び 3 mg/kg/日の用量で 2 週間反復皮下投与したところ、投与部位において局所反応がみられたものの、忍容性は良好であった。

2.6.6.3.11 Wistar ラットを用いたアセナピンの 13 週間反復皮下投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験

【2.6.7.7.D】

【4.2.3.2-11】: SDGRR 7025（評価資料）

Wistar CPB : WU ラット（雄雌各 12 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、0.5、1 及び 2 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 13 週間反復皮下投与した。

その結果、全てのアセナピン投与群において、投与数分から数時間後にかけて自発運動の減少がみられた。0.5 及び 2 mg/kg/日群において眼瞼下垂の発現頻度が上昇した。雄における体重増加量は、概ね用量依存的に減少した。一方、雌における体重増加量は全てのアセナピン投与群で増加したが、最も増加したのは 0.5 mg/kg/日群であった。摂餌量は、体重の変化と相関がみられた。

全てのアセナピン投与群の雄及び雌において、それぞれ赤血球パラメータ（赤血球数、HGB 及び MCV 等）及び血小板パラメータ（血小板容積、大型血小板比率等）がごく軽度に上昇した。血液生化学検査において、投与 2 週間後に 0.5 mg/kg/日群の雌、1 mg/kg/日群の雄及び 2 mg/kg/日群の雌雄におけるクレアチニンの低下、並びに 1 及び 2 mg/kg/日群の雄における BUN の低下が認められた。血漿中甲状腺刺激ホルモンを測定したところ、薬剤の影響は認められなかった。投与終了時に、雄において 0.5 mg/kg/日群でクレアチニンの低下、2 mg/kg/日群でカリウムの上昇、1 及び 2 mg/kg/日群でカルシウムの低下、並びに 1 mg/kg/日群でコレステロールの低下が認められ、雌における全てのアセナピン投与群でALT及びコレステロールの用量依存的な低下､1及び2 mg/kg/日群でビリルビンの低下、0.5 及び 2 mg/kg/日群でアルブミンの低下、並びに全てのアセナピン投与群でアルブミン／グロブリン比の低下が認められた。

全てのアセナピン投与群の雄において副腎重量が増加し､全てのアセナピン投与群の雌において子宮重量が減少した。また、膣粘液分泌の発現頻度上昇、用量依存的な発情休止期の発現頻度上昇、乳腺葉の発達及び分泌活性亢進がみられた。精子形成への影響は認められなかった。

トキシコキネティクスデータ（表 2.6.6-9）から、ラットにおける性差は認められなかった。反復投与後では単回投与後に比べて $AUC_{0-\infty}$が高値を示したが、これは反復投与後の半減期が長いことが一因と考えられる。AUC 及び C_{max} は用量に比例することが示唆された。

表 2.6.6-9ラットの 13 週間皮下投与試験のトキシコキネティクスデータ

用量	0.5 mg/kg/日 (0.35 mg/kg/日 AE)				1 mg/kg/日 (0.71 mg/kg/日 AE)				2 mg/kg/日 (1.4 mg/kg/日 AE)			
性別	雄		雌		雄		雌		雄		雌	
レジメン	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD
$AUC_{0\text{-last}}$ (ng·hr/mL)	58	63	52	52	105	121	84	111	205	315	194	234
$NAUC_{0\text{-last}}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	163	177	146	146	148	170	118	156	144	222	137	165
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	66	96	54	181	120	161	86	172	222	317	225	278
$NAUC_{0-\infty}$ (ng·h/mL)/(mg/kg)	186	270	152	510	169	227	121	242	156	223	158	196
C_{max} (ng/mL)	42	35	47	35	73	75	58	90	135	103	121	128
NC_{max} (ng/mL)/(mg/kg)	118	99	132	99	103	106	82	127	95	73	85	90
t_{max} (hr)	0.1	0.2	0.1	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.3	0.3	0.1	0.3
$t_{1/2}$ (hr)	1.8	3.4	1.0	12.6	1.8	2.3	0.9	3.8	1.4	1.1	1.7	1.9

AE：活性本体換算用量、SD：単回投与、MD：反復投与（13 週目）、na：該当なし
$AUC_{(0\text{-last})}$：濃度測定が可能だった最後の時間までの AUC

結論として、Wistar ラットにアセナピンを 0.5、1 及び 2 mg/kg/日の用量で 13 週間反復皮下投与したところ、忍容性は良好であった。腎毒性及び甲状腺への影響はみられなかった。自発運動の減少及び眼瞼下垂等の一般状態への影響は､中枢神経系に対するアセナピンの薬理学的作用によるものと考えられた。また、雌の発情周期及び乳腺への影響は、アセナピンのドパミン受容体阻害作用によるプロラクチン放出の増加によるものと考えられた。

2.6.6.3.12 SD ラットを用いたアセナピンの 13 週間反復皮下投与用量設定試験

【2.6.7.7.E】
【4.2.3.2-12】: R&DRR NL0017877（評価資料）

がん原性試験における高用量を選択するために、13 週間反復投与試験を実施した。Sprague Dawley ラット（雄雌各 10 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、3、4、及び 5 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 13 週間反復皮下投与した。

その結果､投与 13 週におけるアセナピン投与群の体重は溶媒対照群に比べて雄で 15～19%少なく、雌で 5～7%多かった。投与 13 週におけるアセナピン投与群の摂餌量は、雄で溶媒対照群より僅かに少なく、雌で多かった。

全てのアセナピン投与群で、投与後活動性の低下が認められた。

雄において総白血球数及びリンパ球数の用量依存的な減少がみられた｡アセナピン投与群の雌雄において血漿中 AST の軽度上昇がみられ、さらに、雄ではクレアチニンの上昇及びカルシウムの低下がいずれも軽度に認められた。しかし、これらの変化に用量依存性はみられなかった。剖検時（最終投与終了からおよそ 24 時間後）の血漿中プロラクチン濃度は、全てのアセナピン投与群の動物で溶媒対照群よりも低値を示した。

5 mg/kg/日群の雄の尿中に、血液及び精子が僅かに高い頻度で認められた。アセナピン投与群において副腎重量の増加、及び雌の子宮重量の減少が認められた。

肉眼的観察において、アセナピン投与群では投与部位の赤色／暗色化の発現頻度が、僅かに上昇したが、用量依存性はみられなかった。投与部位の病理組織学的検査において、全てのアセナピン投与群で出血の発現頻度が高く、5 mg/kg/日群では軽度の筋膜炎／線維化の発現頻度が高かった。内分泌系組織への影響として、5 mg/kg/日群において、副腎皮質肥厚及び甲状腺濾胞細胞肥大の発現頻度が上昇した（3 及び 4 mg/kg/日群に対する全身の組織病理学的検査は実施しなかった）。5 mg/kg/日群の雄では乳腺萎縮が増加したが、雌では、乳腺腺房の発達、著明な黄体形成、発情休止期の子宮及び膣粘液分泌の増加が認められた。その他、5 mg/kg/日群の雄では、腎臓において硝子滴の減少が認められた｡アセナピン投与による標的臓器毒性を示唆する肉眼的所見又は病理組織学的所見は認められなかった。

トキシコキネティクスデータ（表 2.6.6-10を参照）から、曝露量に性差はみられず、反復投与（13 週間）後と単回投与後の C_{max} 及び AUC にも明らかな差はみられなかった。C_{max} 及び AUC は用量の増加に伴って上昇した。

表 2.6.6-10ラットの 13 週間皮下投与試験のトキシコキネティクスデータ

用量	3 mg/kg/日 (2.1 mg/kg/日 AE)				4 mg/kg/日 (2.8 mg/kg/日 AE)				5 mg/kg/日 (3.5 mg/kg/日 AE)			
性別	雄		雌		雄		雌		雄		雌	
レジメン	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD
$AUC_{0\text{-}2.5}$ (ng·hr/mL)	207	279	279	183	331	335	326	256	399	458	442	362
$NAUC_{0\text{-}2.5}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	69	93	93	61	83	84	82	64	80	92	88	72
$AUC_{0\text{-}5}$ (ng·hr/mL)	313	-	384	-	470	-	548	-	577	-	627	-
$NAUC_{0\text{-}5}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	104	-	128	-	118	-	137	-	115	-	125	-
$AUC_{0\text{-}\infty}$ (ng·hr/mL)	474	-	407	-	567	-	-	-	723	-	759	-
$NAUC_{0\text{-}\infty}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	158	-	136	-	142	-	-	-	145	-	152	-
C_{max} (ng/mL)	235	228	193	162	293	233	269	134	244	294	293	233
NC_{max} (ng/mL)/(mg/kg)	78	76	64	54	73	58	67	34	49	59	59	47
t_{max} (hr)	0.17	0.33	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.33	0.33	0.17	0.17	0.17
$t_{1/2}$ (hr)	3.4	-	1.2	-	2	-	-	-	2.1	-	1.9	-

AE：活性本体換算用量、SD：単回投与、MD：反復投与（13 週目）
-：データが少ないため算出できず

結論として、ラットにアセナピンを 3、4、及び 5 mg/kg/日の用量で 13 週間反復投与したところ、雄での体重増加抑制、投与後の長時間の活動性低下、白血球数減少及び投与部位における出血の発現頻度上昇並びに病理組織学的検査では、5 mg/kg/日群で薬理作用と考えられる内分泌系への影響が認められた。しかしながら、5 mg/kg/日群に認められた影響は重篤ではなかったため、がん原性試験の高用量として、5 mg/kg/日は適当であると考えられた。

2.6.6.3.13 ビーグル犬を用いたアセナピンの経口最大耐量試験

【2.6.7.6】

【4.2.3.2-14】: SDGRR 2502（参考資料）

ビーグル犬（雄雌各 1 例/群）にアセナピンを 0（プラセボ錠投与、対照群）、40、80 及び 160 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回反復経口投与した。投与期間は対照群が 15 日間、40 mg/kg/日群が 7 日間、80 mg/kg/日群が 14 日間、160 mg/kg/日群が 8 日間であった。

その結果、薬理作用に起因した変化として、全てのアセナピン投与群に自発運動の減少、飼育ケージの柵を齧る行動及び振戦がみられ、80 及び 160 mg/kg/日群では飼育ケージの柵に鼻を押付ける行動及び甲高い鳴き声も認められた。さらに 160 mg/kg/日群では、不穏な状態が認められた。その他の変化として、80 mg/kg/日群では散発的に、160 mg/kg/日群では連日嘔吐がみられた。

160 mg/kg/日群では摂餌量が減少し、体重の減少もみられた。

80 及び 160 mg/kg/日群では、血液生化学検査において ALT 及び ALP が上昇し、80 mg/kg/日群ではビリルビンも、160 mg/kg/日群では AST も上昇した。両群では肝重量が増加し、肝細胞の肥大が認められた。

また、80 及び 160 mg/kg/日群では BUN の増加がみられ、腎重量が増加し、尿細管上皮細胞の壊死や皮質尿細管の拡張等が認められた。

その他に、全てのアセナピン投与群において副腎重量の増加がみられた。160 mg/kg/日群では、白血球の増加、血沈の高値及び尿糖の陽転が認められた。

結論として、80 mg/kg/日群では散発的に、160 mg/kg/日群では連日嘔吐がみられ、160 mg/kg/日群では摂餌量が減少し、体重も減少した。80 及び 160 mg/kg/日群では、病理組織学的検査において、腎臓に傷害性変化、ALT 等の上昇を伴う肝細胞の肥大化がみられた。全てのアセナピン投与群に薬理活性に起因した一般状態の変化がみられた。以上の結果から、本試験における経口最大耐量は 80 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.3.14 ビーグル犬を用いたアセナピンの 4 週間反復経口投与毒性試験

【2.6.7.6】

【4.2.3.2-15】: SDGRR 2663（参考資料）

ビーグル犬（雄雌各 3 例/群）にアセナピンを 0（プラセボ錠投与、対照群）、20、40 及び 80 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与した。

その結果、薬理作用に起因した変化として、全てのアセナピン投与群に縮瞳、自発運動の減少、飼育ケージの柵に鼻を押付ける行動、甲高い鳴き声が認められ、40 及び 80 mg/kg/日群では振戦、齧る動作、不穏、運動失調もみられた。その他に、全てのアセナピン投与群において散発性の嘔吐、摂餌遅延、心拍数の増加がみられた。

全てのアセナピン投与群において、肝重量が増加し、肝細胞の壊死巣が認められた。血液生化学検査では ALT 及び総ビリルビンが上昇し、ブドウ糖負荷による長時間の高血糖もみられた。40 及び 80 mg/kg/日群では AST 及び ALP も上昇し、尿中の糖及び還元性物質（還元糖等）が陽性となった。40 mg/kg/日群の雄 1 例では胆管上皮細胞の増生も観察された。

40 及び 80 mg/kg/日群では、病理組織学的検査で腎臓の皮質尿細管に変化（好塩基性変化、上皮細胞の脱落等を伴う尿細管拡張、好酸性円柱）がみられ、尿中のタンパク及び白血球が陽性となった。

また、40 及び 80 mg/kg/日群の雄に精子形成阻害が認められた。80 mg/kg/日群では雌に乳腺の腫脹及び分泌活性亢進がみられ、摂餌量の減少及び胸腺重量の減少も認められた。これらの変化はアセナピンの薬理活性の二次的影響と考えられた。

結論として、全てのアセナピン投与群に ALT 等の上昇を伴う肝細胞の壊死が認められ、40 及び 80 mg/kg/日群では腎臓にも傷害性の変化がみられ、標的臓器は肝臓及び腎臓と考えられた。また、全てのアセナピン投与群において、薬理活性に起因した変化が観察された。

2.6.6.3.15 ビーグル犬を用いたアセナピンの反復経口投与用量漸増試験、並びに 4 週間反復投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験

【2.6.7.7.G】

【4.2.3.2-16】: R&DRR NL0001154（評価資料）

本試験は、イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.17、【2.6.7.7.I】、【4.2.3.2-18】を参照）で選択した用量（0.1、0.6 及び 3.6 mg/kg の用量で 1 日 2 回投与、すなわち 0.2、1.2 及び 7.2 mg/kg/日）の妥当性を確認することを目的とした。

用量漸増試験では、ビーグル犬（雄雌各 3 例）にアセナピンをカプセルを用いて 1 日 2 回、約 5 時間間隔をあけて反復経口投与し、用量を 7.2 mg/kg/日から 10.8、14.4 及び 21.6 mg/kg/日（3.6 mg/kg から 5.4、7.2 及び 10.8 mg/kg を 1 日 2 回投与）へと漸増した。1 用量当たりの投与期間は 7.2 mg/kg/日を 2 日間、10.8 mg/kg/日を 4 日間、14.4 mg/kg/日を 3 日間、21.6 mg/kg/日を 5 日間とした。

4 週間反復投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験（以下、用量固定試験）では、ビーグル犬にカプセルを用いてアセナピンを 0（空カプセル投与、対照群）及び 21.6 mg/kg/日（それぞれ 0 及び 10.8 mg/kg を 1 日 2 回、約 5 時間間隔）の用量で 4 週間反復経口投与した。例数は対照群が雄雌各 2 例、21.6 mg/kg/日群が雄雌各 3 例とした。トキシコキネティクス試験の経時採血は、用量漸増試験では 21.6 mg/kg/日の投与 2 日目の 1 回目投与後に、用量固定試験では 21.6 mg/kg/日の投与 25 日目の 2 回目投与直前及び投与後に実施した。

その結果、いずれの投与群でも死亡例は認められなかった。用量漸増試験では、21.6 mg/kg/日（10.8 mg/kg を 1 日 2 回）の 5 日間反復投与において、縮瞳を伴った軽度の自発運動の減少及び／又は筋緊張の低下が雄 2 例及び雌 1 例で認められた。病理検査では、雌雄ともに肝重量が軽度に増加し、雄 1 例の肝臓には小葉中心から中間部に軽度な肝細胞の肥大が認められた。

用量固定試験では、21.6 mg/kg/日群において、投与期間を通じて全例に自発運動の減少及び／又は筋緊張の低下が認められた。これらの所見はほとんどが軽度であったが、投与初期及び投与最終週には散発的に中等度又は重度であった。投与 2 日目に、雄 2 例及び雌 1 例に横臥位が認められた。これらの一般状態変化は投与後 30 分から 1 時間に発現し、1 回目の投与後 2.5 ~ 4.5 時間まで、及び 2 回目の投与後 1 時間以上持続した。また、雄雌各 1 例に強迫行動が認められた。投与期間を通じて、全例で投与後に縮瞳が認められた。その他に、雄 1 例及び雌 2 例に振戦、雄 1 例に呼吸数増加、雌 1 例に常同行動が散発的に認められた。病理検査では、雄 1 例及び雌 2 例において肝重量が軽度に増加し、雄 1 例には小葉中心から中間部に軽度な単核球集簇を伴ったごく軽度な色素蓄積が認められた。

トキシコキネティクスデータ（表 2.6.6-11を参照）について、投与 2 日目と 4 週目の曝露量に差はみられず、性差もなかった。

表 2.6.6-11 イヌの用量漸増試験及び 4 週間経口投与試験のトキシコキネティクスデータ

用量		21.6 mg/kg/日 (15.2 mg/kg/日 AE) BID			
性別		雄		雌	
レジメン		投与 2 日目 [a]	投与 25 日目 [b]	投与 2 日目 [a]	投与 25 日目 [b]
AUC_{0-3} (ng·hr/mL, Mean ± S.D.)		118 ± 49	112 ± 8	62 ± 51	137 ± 62
AUC_{0-8} (ng·hr/mL, Mean ± S.D.)		-	229 ± 26	-	250 ± 124
C_{max} (ng/mL, Mean ± S.D.)		53 ± 20	49 ± 4	27 ± 23	61 ± 31
t_{max} (hr)	Mean ± S.D.	1.3 ± 0.3	1.5 ± 0	1.7 ± 0.6	1.5 ± 0
	中央値	1.5	1.5	2.0	1.5
	最小値	1.0	1.5	1.0	1.5
	最大値	1.5	1.5	2.0	1.5

AE：活性本体換算用量、Mean：平均値、S.D.：標準偏差
a：用量漸増試験、21.6 mg/kg/日（10.8 mg/kg の 1 日 2 回）の投与 2 日目の 1 回目投与後
b：用量固定試験、21.6 mg/kg/日（10.8 mg/kg の 1 日 2 回）の投与 25 日目の 2 回目投与直前～投与後
-：データが少ないため算出できず

結論として、用量漸増試験においてビーグル犬にアセナピンを 7.2、10.8、14.4 及び 21.6 mg/kg/日の用量で 1 日 2 回経口漸増投与した結果、忍容性は良好であった。病理検査では、肝臓に軽度な肝細胞の肥大が認められた。21.6 mg/kg/日の用量で 1 日 2 回 4 週間経口投与した用量固定試験では、肝臓に軽度な単核球集簇を伴った色素蓄積が認められた。また、用量漸増試験及び用量固定試験の 21.6 mg/kg/日の投与により、アセナピンの薬理活性に起因した一般状態の変化が観察された。

本試験において、アセナピンを 21.6 mg/kg/日の用量で 1 日 2 回 4 週間反復経口投与することにより認められた変化は軽度であり、イヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.17、【2.6.7.7.I】及び【4.2.3.2-18】を参照）で選択した用量（0.1、0.6 及び 3.6 mg/kg の用量で 1 日 2 回投与、すなわち 0.2、1.2 及び 7.2 mg/kg/日）は最大耐量に達していなかったと考えられた。

2.6.6.3.16 ビーグル犬を用いたアセナピンの 13 週間反復経口投与毒性試験

【2.6.7.7.H】
【4.2.3.2-17】: SDGRR 2285（評価資料）

ビーグル犬（雄雌各 3～4 例/群）にアセナピンをカプセルを用いて 0（プラセボ錠投与、対照群）、1.25、7.5 及び 20 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 13 週間反復経口投与した。回復性を確認するため、対照群並びに 7.5 及び 20 mg/kg/日群に雄雌各 1 例を追加し、投与期間終了後 5 週間の回復期間を設定した。

その結果、薬理作用に起因した変化として全てのアセナピン投与群に縮瞳及び自発運動の亢進がみられ、7.5 mg/kg/日以上の群では自発運動の減少及び強迫行動も認められた。さらに 20 mg/kg/日群では振戦が観察された。

7.5 及び 20 mg/kg/日群において、摂餌遅延及び摂餌量減少、体重の減少が認められた。同群では、血液生化学検査において ALT、AST、ALP 及び総ビリルビンの上昇がみられ、肝臓の相対重量が増加し、病理組織学的検査において肝臓に限局性の肝紫斑（ペリオーシス）、小葉間の線維増生、胆管上皮細胞の増生、胆汁栓、限局性の血管周囲炎、肝細胞肥大及び細胞質空胞化が認められた。

また、20 mg/kg/日群では、嘔吐、全身状態悪化（雄 1 例）、心拍数増加（雌 1 例）、乳汁分泌（雌 3 例）、粘膜及び眼強膜の黄色化（雄雌各 1 例）、尿中ビリルビン陽性（雄 2 例）、下垂体プロラクチン産生細胞の活性亢進（雌 2 例）も認められた。

7.5 及び 20 mg/kg/日群で観察された上記の変化には回復性が認められた。

血液学的検査において、毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

結論として、7.5 mg/kg/日以上の群で肝・胆道系に ALT 及び ALP 等の上昇を伴う炎症性及び再生性の変化が認められた。また、全てのアセナピン投与群において、アセナピンの薬理活性に起因した変化が観察された。

2.6.6.3.17 ビーグル犬を用いたアセナピンの 52 週間反復経口投与毒性試験、アセナピン、N-脱メチル体及び N-酸化体のビーグル犬を用いた単回静脈内投与、単回経口投与及び反復経口投与におけるトキシコキネティクス試験

【2.6.7.7.I】

【4.2.3.2-18】: SDGRR 3209（評価資料）

【4.2.3.2-19】: SDGRR 3034（参考資料）

ビーグル犬（雄雌各 4 例/群）にアセナピンを 0（プラセボ錠投与、対照群）、0.2、1.2 及び 7.2 mg/kg/日（それぞれ 0、0.1、0.6 及び 3.6 mg/kg を 1 日 2 回、約 6 時間間隔）の用量で 52 週間反復経口投与した。対照群に雄雌各 1 例、及び 7.2 mg/kg/日群に雄雌各 2 例を追加し、投与期間終了後 6 週間の回復期間を設定した。また、別試験において 0.1、0.6 及び 3.6 mg/kg の単回投与時（雌雄各 3 例/群）並びに 0.2 及び 7.2 mg/kg/日（それぞれ 0.1 及び 3.6 mg/kg を 1 日 2 回）の 51 週間反復投与時（雄 2 例/群）のトキシコキネティクス評価を実施した。

その結果、全てのアセナピン投与群において、小葉中心性に肝細胞の細胞質内に色素の蓄積が認められ、用量依存的に発現例数が増加した。雌では乳腺及び子宮に卵巣との発情周期の不一致がみられた。これらの変化には回復性が認められなかった。

一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査及び臓器重量において、毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

単回投与後のアセナピンの AUC 及び C_{max} はほぼ用量に応じて上昇し、性差はみられなかった。単回投与後のアセナピンの AUC は、N-脱メチル体及び N-酸化体の AUC に比べて低値を示した。3.6 mg/kg 群において、N-脱メチル体 AUC のアセナピン AUC に対する比は雄で約 19、雌で約 34 となり、N-酸化体 AUC のアセナピン AUC に対する比は雄で約 4、雌で約 5 となった。また、51 週間反復投与時の C_{max} は、単回投与時と同程度であった。

結論として、肝細胞における色素蓄積については、肝臓に傷害性の変化や機能障害を示唆する変化がみられないことから、毒性学的な意義は小さいと考えられる。また、ドパミン及びセロトニン経路に影響する薬剤は、脳下垂体に作用し、高プロラクチン血症を起こすことが知られているため、発情周期への影響はアセナピンの薬理活性に関連するものと考えられた。

2.6.6.3.18 ビーグル犬を用いたアセナピンの 1、2、4、13 及び 52 週間反復経口投与毒性試験における肝臓の病理組織学的変化の検討

【2.6.7.7.J】

【4.2.3.2-23】: SDGRR 3290（評価資料）

ビーグル犬にアセナピンを 4、13 及び 52 週間反復経口投与した試験（2.6.6.3.14、2.6.6.3.16及び 2.6.6.3.17参照）において、それぞれ肝臓に壊死巣、小葉間線維増生及び肝細胞内色素蓄積が認められたことから、短期間に高用量を投与した 1～2 週間反復経口投与試験（2.6.6.3.13）も含めた全 4 試験について、肝臓の病理組織学的変化をさらに詳細に検討した。検討では、hematoxylin/eosin 染色に加

えて、特殊染色として Perl 染色（鉄）、Schmorl 染色（リポフスチン）、ルベアン酸染色（銅）、Fouchet 染色（胆汁色素）、Weigert-van Giesson 染色（コラーゲン）、Mallory 三色染色（コラーゲン）及び／又は酸ホスファターゼ染色を行った。

その結果、1～2 週間投与試験（40 及び 160 mg/kg/日の 1 週間並びに 0 及び 80 mg/kg/日の 2 週間投与、雄雌各 1 例/群）（2.6.6.3.13参照）では、80 mg/kg/日群の雌 1 例及び 160 mg/kg/日の雄 1 例において小胆管内に色素の蓄積がみられた。

4 週間投与試験（0、20、40 及び 80 mg/kg/日、雄雌各 3 例/群）（2.6.6.3.14参照）でも、20 mg/kg/日群の雌 1 例、40 mg/kg/日群の雌 1 例並びに 80 mg/kg/日群の雄全例及び雌 1 例に小胆管内の色素蓄積がみられ、この色素は Fouchet 染色で弱い陽性しか示さなかったことから胆汁色素ではないと考えられた。また、20 mg/kg/日群の雄 1 例、40 mg/kg/日群の雄 1 例並びに 80 mg/kg/日群の雄 1 例及び雌 2 例に肝細胞の変性・壊死が認められ、小葉中心性の血管周囲を主とする炎症性細胞の集簇を伴っていた。20 mg/kg/日群の雄 1 例、40 mg/kg/日群の雄 1 例及び 80 mg/kg/日群の雌 1 例では血管周囲に出血もみられ、肝細胞の変性・壊死が著しい 40 mg/kg/日群の雄 1 例では小葉中心性の線維化及び胆管増生も観察された。

13 週間投与試験（0、1.25、7.5 及び 20 mg/kg/日、雄雌各 3～4 例/群）では、7.5 mg/kg/日群の雄雌各 1 例並びに 20 mg/kg/日群の雄 1 例及び雌 2 例に肝細胞の変性・壊死、小葉中心性及び小葉間の線維化が認められ、小葉中心性の血管周囲を主とする炎症性細胞の集簇、血管周囲の出血を伴っていた。7.5 mg/kg/日群の雄 2 例及び雌 1 例並びに 20 mg/kg/日群の雄 1 例及び雌 2 例には胆管増生がみられた。投与終了後 5 週間の回復性を検討した群（0、7.5 及び 20 mg/kg/日、雄雌各 1 例/群）では、上記の変化に回復あるいは回復傾向が認められた。

1 日 2 回投与で実施した 52 週間投与試験（0、0.2、1.2 及び 7.2 mg/kg/日、雄雌各 4 例/群）では、全てのアセナピン投与群において小葉中心性に肝細胞内色素蓄積が認められた。この色素は Schmorl 染色及びルベアン酸染色において陽性であったことからリポフスチン及び銅を含むと考えられ、陽性反応は用量に応じて程度が強くなり例数も増加した。投与終了後 6 週間の回復性を検討した群（0 及び 7.2 mg/kg/日、雄雌各 1～2 例/群）においても同様の変化が認められ、肝細胞内色素蓄積に回復性はみられなかった。

結論として、4 週間及び 13 週間試験において、イヌではアセナピン投与により炎症性細胞の集簇を伴った肝細胞の変性・壊死が認められ、この変化は用量及び投与期間に依存して発現した。一方、52 週間投与試験でみられた肝細胞内の色素蓄積については、傷害性の変化がなく、肝細胞障害に伴う二次的変化もみ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。

2.6.6.3.19 ビーグル犬を用いたアセナピンの 2 週間反復静脈内投与毒性試験

【2.6.7.7.K】

【4.2.3.2-20】: SDGRR 2799（評価資料）

ビーグル犬（雄雌各 3 例/群）に、生理食塩液に溶解したアセナピンを 1 日 1 回 2 週間反復静脈内投与した。用量は 0（溶媒対照群）、0.1、0.5 及び 3 mg/kg/日、投与容量は 1 mL/kg とした。

その結果、全てのアセナピン投与群において飼育ケージの床に頭を押し付ける、噛む、浅速呼吸、吠える、自発運動の減少、強迫行動及び投与直後の心拍数増加が認められた。0.5 及び 3 mg/kg/日群では縮瞳及び振戦も認められた。3 mg/kg/日群ではさらに眼瞼痙攣及び協調運動障害（雌のみ）が観察された。その他に、3 mg/kg/日群の雄において散発的な嘔吐がみられた。

3 mg/kg/日群では雄 2 例に一過性の軽度な体重減少が認められた。

血液学的検査、血液生化学検査、尿検査、剖検及び病理組織学的検査において、毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

結論として、ビーグル犬にアセナピンを 0.1、0.5 及び 3 mg/kg/日の用量で 2 週間反復静脈内投与した結果、いずれの用量も忍容性を示した。また、全てのアセナピン投与群において薬理活性に起因した一般状態の変化が観察された。

2.6.6.3.20 ビーグル犬を用いたアセナピンの 13 週間反復静脈内投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験

【2.6.7.7.L】

【4.2.3.2-21】: SDGRR 4417（評価資料）

ビーグル犬（雄雌各 3 例/群）にアセナピンを 1 日 1 回 13 週間反復静脈内投与した。用量は 0（溶媒対照群）、0.1、0.5 及び 2.5 mg/kg/日、投与容量は 1 mL/kg とした。また、トキシコキネティクス評価のため、投与初日及び 71 日目に全てのアセナピン投与動物から経時採血を行った。

その結果、いずれの群においても死亡はみられなかった。全てのアセナピン投与群において用量依存的な自発運動の減少がみられ、散発的に興奮状態も認められた。0.5 及び 2.5 mg/kg/日群では自発運動の減少と共に横臥位、眼瞼下垂及び外部刺激への反応性低下が散見された。さらに、2.5 mg/kg/日群において強迫行動がみられ、顔面に創傷も散見された。これらの変化の多くはアセナピン投与後 5 分以内に発現し、0.1 mg/kg/日群では投与後 1 ~ 2 時間、0.5 mg/kg/日群では 2 ~ 4 時間、2.5 mg/kg/日群では 6 時間まで持続した。その他に、全てのアセナピン投与群に振戦、呼吸数の増加及びうなり声がみられ、0.1 mg/kg/日群では常同行動、0.1 及び 2.5 mg/kg/日群では流涎過多、2.5 mg/kg/日群では嘔吐、縮瞳及び眼粘膜の赤色化も散見された。

投与開始から 2 ~ 3 週間後に、0.5 mg/kg/日群の雄 1 例、並びに 2.5 mg/kg/日群の雄 2 例及び雌 1 例において、体重の軽度な減少がみられた。

心電図検査では、投与期間終了時に全てのアセナピン投与群において軽度な心拍数の増加が認められ、その発現例数は 0.1 mg/kg/日群では雄 1 例及び雌 2 例、0.5 mg/kg/日群では雄 1 例、並びに 2.5 mg/kg/日群では雄 1 例及び雌 1 例であった。また、T 波の逆転（陰性化）が 0.1 mg/kg/日群の雄 1 例及び雌 1 例、0.5 mg/kg/日群の雄 2 例及び雌 1 例、並びに 2.5 mg/kg/日群の雄 2 例及び雌 1 例に散見されたが、その他の心電図異常及び伝導障害はみられなかった。

血液学的検査では、投与期間終了時に 2.5 mg/kg/日群の雄 1 例で HGB 濃度、ヘマトクリット値及び赤血球数の軽度減少が、雌 1 例で好酸球の数及び比率の軽度上昇が認められた。

血液生化学検査では、投与期間終了時に 2.5 mg/kg/日群の雄 1 例でアルブミンの軽度減少及びグロブリンの軽度増加がみられ、アルブミン／グロブリン比が軽度に低下した。

0.5 mg/kg/日群の雄 1 例及び雌 1 例、並びに 2.5 mg/kg/日群の雄 2 ~ 3 例及び雌 1 例において、脾臓の重量増加及び肉眼的な腫脹がみられ、病理組織学的検査ではうっ血が認められた。

その他に、全てのアセナピン投与群の各雌 1 例において、発情中期から後期に乳腺の分泌亢進が認められた。0.5 mg/kg/日群の雄 1 例及び 2.5 mg/kg/日群の雄 2 例では、前立腺腺房の萎縮が認められた。これらは、アセナピンのプロラクチン分泌亢進作用を介した二次的な影響と考えられた。

摂餌量、眼科学的検査及び尿検査において、毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

トキシコキネティクスパラメータは、単回投与と反復投与の間で差がなく、性差も認められなかった。AUC は用量に比例して上昇した。

結論として、ビーグル犬にアセナピンを 0.1、0.5 及び 2.5 mg/kg/日の用量で 13 週間反復静脈内投与した結果、いずれの用量においても忍容性が認められた。また、2.5 mg/kg/日群における軽度な血液学的及び血液生化学的変化を除き、いずれの変化もアセナピンの薬理活性に起因した影響と考えられ、0.1 mg/kg/日群でみられた変化はごく軽度であった。

2.6.6.3.21 ビーグル犬を用いたアセナピンの 39 週間反復静脈内投与毒性試験及びトキシコキネティクス試験

【2.6.7.7.M】

【4.2.3.2-22】: R&DRR NL0012511（評価資料）

ビーグル犬（雄雌各 4 例/群）にアセナピンを 1 日 1 回 39 週間反復静脈内投与した。用量は 0（溶媒対照群）、0.1、0.4 及び 1.6 mg/kg/日、投与容量は 0.71 mL/kg とした。また、トキシコキネティクス評価のため、投与初日及び投与 37 週間後に全てのアセナピン投与群の雄雌各 3 例から経時採血を行った。

その結果、いずれの群でも死亡は認められなかった。一般状態観察では、全てのアセナピン投与群に自発運動の減少及び／又は筋緊張の低下がみられ、発現頻度、程度及び持続時間に用量依存性が認められた。0.4 及び 1.6 mg/kg/日群では横臥位及び眼瞼下垂もみられた。また、全てのアセナピン投与群に興奮及び強迫行動が認められ、一部の動物では創傷がみられた。自発運動の減少、興奮及び強迫行動は投与後 10 分以内に発現し、0.1、0.4 及び 1.6 mg/kg/日群においてそれぞれ 2、4 及び 6 時間以内に消失した。その他に、縮瞳、眼結膜及び頬粘膜の赤色化、振戦、多呼吸・浅速呼吸、うなり声、吠える、流涎がみられ、1.6 mg/kg/日群では嘔吐も認められた。

全てのアセナピン投与群において雌雄各 1～3 例の体重が減少し、発現例数には用量依存的な増加傾向がみられた。これらの個体の約半数に削痩が認められた。

心電図検査では、投与 1 及び／又は 38 週間後に全てのアセナピン投与群に心拍数の増加が認められた。その多くが QT 間隔及び JT 間隔の短縮並びに QTc 間隔及び JTc 間隔の延長を伴っており、PR 間隔の短縮も散見され、これらの変化は心拍数の増加の影響と考えられた。その他に、全てのアセナピン投与群に T 波の平坦化が、0.4 及び 1.6 mg/kg/日群に T 波の逆転（陰性化）が散見された。

病理検査では、0.1 mg/kg/日群の雌 1 例、0.4 mg/kg/日群の雄雌各 1 例及び 1.6 mg/kg/日群の雌 1 例に脾臓の重量増加がみられ、これらの雌及び 1.6 mg/kg/日群の雄 1 例では脾臓の洞内にうっ血が認められた。

摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査及び剖検において、毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

$AUC_{0-\infty}$、C_{max} 及び CL に単回投与と反復投与の間で差はみられず、性差もなかった。$AUC_{0-\infty}$及び C_{max} は用量に比例して上昇した。単回投与と反復投与とでは $AUC_{0-\infty}$、C_{max} 及び CL に差はみられなかった。

表 2.6.6-12 イヌの 39 週間静脈内投与試験のトキシコキネティクスデータ

用量		0.1 mg/kg/日（0.07 mg/kg/日 AE）				0.4 mg/kg/日（0.28 mg/kg/日 AE）				1.6 mg/kg/日（1.1 mg/kg/日 AE）			
性別		雄		雌		雄		雌		雄		雌	
レジメン		SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD	SD	MD
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	Mean	33	37	26	33	98	121	114	123	492	594	426	759
	S.D.	7	18	9	16	26	35	64	21	67	167	64	137
$NAUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	Mean	339	367	254	323	245	300	289	310	304	370	266	475
	S.D.	75	178	87	155	62	89	160	60	41	98	38	91
C_{max} (ng/mL)	Mean	25	18	27	33	81	58	98	78	388	272	309	351
	S.D.	5	1	12	28	3	5	52	7	5	91	72	82
NC_{max} (ng/mL)/(mg/kg)	Mean	258	182	265	329	203	145	249	196	240	169	193	220
	S.D.	48	6	117	274	12	14	132	20	2	53	43	54
$t_{1/2}$ (hr)	Mean	0.9	1.4	0.7	0.8	0.8	1.4	0.8	1.1	0.9	1.6	1.0	1.5
	S.D.	0.3	0.7	0.1	0.2	0.2	0.3	0.4	0.3	0.1	0.5	0.1	0.1

AE：活性本体換算用量、SD：単回投与、MD：反復投与（投与 37 週間後）、Mean：平均値、S.D.：標準偏差
$V_{central}$：中央コンパートメント分布容積

結論として、ビーグル犬にアセナピンを 0.1、0.4 及び 1.6 mg/kg/日の用量で 39 週間反復静脈内投与した結果、一般状態変化の発現頻度、程度及び持続時間には用量依存性が認められた。1.6 mg/kg/日群では重度の一般状態変化が認められ、体重の減少もみられたことから最大耐用量と考えられた。全てのアセナピン投与群にみられた一般状態及び心電図変化は、アセナピンの薬理活性に関連するものと考えられ、毒性は認められなかった。$AUC_{0-\infty}$及び C_{max} については用量に比例して上昇し、単回投与と反復投与の間で差はみられず、性差もなかった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 *Salmonella typhimurium* を用いたアセナピンの復帰突然変異試験（Ames 試験）

【2.6.7.8.A】
【4.2.3.3.1-01】: SDGRR 2283（評価資料）

Salmonella typhimurium TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538 を用いて、代謝活性化系（ラット肝 S9 mix）の非存在下及び存在下において、アセナピン 8、40、200 及び 1000 µg/plate の濃度における復帰突然変異試験を実施した。陰性対照としてエタノール（溶媒）を用いた。

その結果、S9 mix 非存在下及び存在下ともに、1000 µg/plate の処理濃度において生育阻害が認められた。S9 mix 非存在下及び存在下ともに、アセナピン 8、40 及び 200 µg/plate の処理濃度では、陰性対照と比較して復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上、アセナピンはいずれの *Salmonella typhimurium* 株においても変異原性を示さなかった。

2.6.6.4.2 *Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli* を用いたアセナピンの復帰突然変異試験（Ames 試験）

【2.6.7.8.B】
【4.2.3.3.1-02】: SDGRR 5097（評価資料）

Salmonella typhimurium TA98、TA100、TA1535 及び TA1537、並びに *Escherichia coli* WP2 *uvrA* を用いて、S9 mix の非存在下及び存在下において、アセナピン 8、40、200、1000 及び 2500 µg/plate の濃度における復帰突然変異試験を実施した。陰性対照として DMSO（溶媒）を用いた。

その結果、S9 mix 非存在下及び存在下ともに 1000 µg/plate 以上の処理濃度において生育阻害が認められた。S9 mix 非存在下及び存在下ともに 5 菌株全てにおいて、アセナピン 8、40 及び 200 µg/plate の処理濃度では、陰性対照と比較して復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上、アセナピンはいずれの菌株においても変異原性を示さなかった。

2.6.6.4.3 *Escherichia coli* を用いたアセナピンの復帰突然変異試験（Ames 試験）

【2.6.7.8.C】

【4.2.3.3.1-03】: SDGRR 2963（評価資料）

Escherichia coli WP2 *uvrA* を用いて、S9 mix の非存在下及び存在下において、アセナピン 46.9、93.8、188、375、750 及び 1500 µg/plate の濃度で試験を実施した。陰性対照として DMSO（溶媒）を用いた。上述の条件下において、独立した試験を 2 回行った。

その結果、S9 mix 非存在下では 750 µg/plate 以上、S9 mix 存在下では 1500 µg/plate の処理濃度において、生育阻害ないし復帰変異コロニー数の減少が認められた。S9 mix 非存在下及び存在下ともに、アセナピンはいずれの濃度においても、陰性対照と比較して復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

以上、アセナピンは *Escherichia coli* において変異原性を示さなかった。

2.6.6.4.4 マウスリンパ腫細胞 L5178Y$^{+/-}$を用いたアセナピンの遺伝子突然変異試験

【2.6.7.8.D】

【4.2.3.3.1-04】: SDGRR 4361（評価資料）

培養マウスリンパ腫細胞 L5178Y TK$^{+/-}$を用いて、S9 mix 非存在下ではアセナピンを 3.125、6.25、12.5、25、50 及び 75 µg/mL の濃度で、S9 mix 存在下ではアセナピンを 6.25、12.5、25、50、75 及び 100 µg/mL の濃度で細胞に添加し、遺伝子突然変異試験を実施した。陰性対照として DMSO（溶媒）を用いた。

その結果、S9 mix 非存在下では 50 µg/mL 以上、S9 mix 存在下では 75 µg/mL 以上の処理濃度において細胞傷害性がみられた。S9 mix 非存在下ではアセナピン 6.25、12.5 及び 25 µg/mL、S9 mix 存在下では 6.25、12.5、25 及び 50 µg/mL の処理濃度において、陰性対照と比較して突然変異体発現頻度（MF）の上昇はみられなかった。ただし、細胞傷害性がみられた S9 mix 存在下の 75 µg/mL の濃度では、MF の有意な上昇がみられた。そのため、S9 mix 存在下でアセナピンを 40、46、52、58、64、70 及び 76 µg/mL の濃度で細胞に添加し、追加実験を実施した。

その結果、いずれの濃度においても MF の有意な上昇はみられず、アセナピンによる MF 上昇の再現性は認められなかった。

以上、アセナピンはマウスリンパ腫細胞 L5178Y TK$^{+/-}$において突然変異誘発性を示さなかった。

2.6.6.4.5 ウサギリンパ球を用いたアセナピンの in vitro 姉妹染色分体交換試験

【2.6.7.8.E】
【4.2.3.3.1-05】: SDGRR 2317（評価資料）

24 時間培養した末梢血由来のフィトヘマグルチニン刺激ウサギリンパ球を用いて、S9 mix の非存在下及び存在下において、アセナピンを 12.5、25、50 及び 100 μg/mL の濃度で細胞に添加し、3 時間培養した後、培地を交換し、5-ブロモデオキシウリジン（BrdU）存在下で約 25 時間培養した。その後、分裂中期の細胞を各培養あたり 10 個観察し、分裂中期あたりの姉妹染色分体交換（SCE）数を測定した。陰性対照としてエタノール（溶媒）を用いた。上述の条件下において、雄ウサギ 3 例から作製した 3 系統の培養細胞を用いて試験を行った。

その結果、S9 mix 非存在下及び存在下ともに、アセナピンはいずれの濃度においても、陰性対照と比較して SCE 数の増加は認められなかった。

以上、アセナピンはウサギリンパ球において染色体異常誘発性を示さなかった。

2.6.6.4.6 ヒト末梢血リンパ球を用いたアセナピンの in vitro 染色体異常試験

【2.6.7.8.F】
【4.2.3.3.1-06】: SDGRR 4413（評価資料）

ヒト培養末梢血リンパ球を用いて、S9 mix 非存在下ではアセナピンを 46、55 及び 64 μg/mL の濃度で、S9 mix 存在下ではアセナピンを 75、100 及び 125 μg/mL の濃度で細胞に添加し、染色体異常試験を実施した。陰性対照として DMSO（溶媒）を用いた。試験は各濃度あたり 2 つのシャーレで培養し、分裂中期の細胞を各試験濃度あたり 200 個（各濃度あたり 100 個）観察した。サンプリング時点はそれぞれアセナピン添加後 20 又は 44 時間とした。

その結果、S9 mix 非存在下、20 時間のサンプリング時点で、55 μg/mL の濃度において、構造異常（ギャップを除く）を有する細胞の有意な発現頻度の増加が認められた。そこで、この濃度について観察する細胞数を増やして観察したところ、構造異常（ギャップを除く）を有する細胞数は、いずれも正常範囲内であった。S9 mix 非存在下の 44 時間のサンプリング時点、並びに S9 mix 存在下の 20 及び 44 時間のサンプリング時点においては、いずれの濃度においても構造異常を有する細胞の発現頻度の増加は認められなかった。なお、S9 mix 非存在下では 64 μg/mL の濃度、S9 mix 存在下では 100 及び 125 μg/mL の濃度で数的異常細胞数の増加がみられた。

以上、アセナピンはヒト培養リンパ球において染色体異常誘発性（構造異常）を示さなかった。

2.6.6.4.7 ラットを用いたアセナピンの in vivo 骨髄小核試験

【2.6.7.9A】
【4.2.3.3.2-01】: SDGRR 2323（評価資料）

ラット（雄雌各 8 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）25、50 及び 75 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与した。最終投与の翌日に動物を安楽殺し、大腿骨を採取して骨髄塗沫標本を作製した。各動物あたり幼若多染性赤血球（PCE）1000 個を観察し、小核の有無を判定した。また、動物あたり赤血球 500 個を観察し、正染性赤血球（NCE）に対する PCE の比を求めた。

その結果、75 mg/kg/日群において明らかな毒性が認められた。主な所見は異常行動、体重及び摂餌量減少であった。アセナピン投与群において、溶媒対照群と比較して小核の発現頻度又は PCE／NCE 比の上昇は認められなかった。

ガイドライン（OECD TG474,1997）の改訂案が公示されたことに伴い、観察すべき標本数が増えたことから、溶媒対照群、アセナピン 25、50 及び 75 mg/kg/日群並びに陽性対照群の各群雄雌各 8 例の中からそれぞれ 6 例を選択し、コード化した骨髄塗沫標本について再観察を行った。溶媒対照群、アセナピン 25、50 及び 75 mg/kg/日群については、表 2.6.6-13 に示したように動物を番号順に 8 ブロックに分け、全例が生存したブロック No. 1、2、3、5、7 及び 8（各群雄雌各 6 例）を観察対象とした。陽性対照群については動物番号順に 6 例を選択した。再観察では、各動物あたり PCE 2000 個を観察し、小核を有する PCE（MNPCE）の有無を判定した。また、各動物あたり赤血球 1000 個を観察して NCE（成熟型）に対する PCE の比を求め、アセナピンが赤血球形成に及ぼす影響を評価した。

その結果、50 mg/kg/日群の雄で MNPCE 発現頻度の軽度な上昇が認められたが、用量依存性は認められず、個別値はいずれも正常範囲（0 ~ 5/PCE 1000 個）内であった。また、50 mg/kg/日群の雄及び 75 mg/kg/日群の雌で軽度の PCE／NCE 比の上昇が認められたが、正常範囲（0 ~ 3/PCE 500 個）内の変化であった。

以上の結果から、アセナピンは MNPCE を誘発せず、骨髄における赤血球形成にも影響を及ぼさないことが示唆された。

以上、アセナピンはラットを用いた骨髄小核試験において小核誘発能を示さなかった。

表 2.6.6-13 動物番号表（対照群及びアセナピン投与群）

		動物番号							
群（mg/kg）		溶媒対照		25		50		75	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
ブロック No.	1	1101	1102	2101	2102	3101	3102	4101	4102
	2	1203	1204	2203	2204	3203	3204	4203	4204
	3	1305	1306	2305	2306	3305	3306	4305	4306
	4 [a)]	1407	1408	2407（死亡）	2408	3407	3408	4407	4408
	5	1509	1510	2509	2510	3509	3510	4509	4510
	6 [a)]	1611	1612	2611	2612	3611	3612	4611（死亡）	4612
	7	1713	1714	2713	2714	3713	3714	4713	4714
	8	1815	1816	2815	2816	3815	3816	4815	4816

a) ブロック No. 4 及び 6 は各 1 例が死亡したため観察対象外とした。

2.6.6.4.8 遺伝毒性のまとめ

アセナピンは、in vitro の細菌（*Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli*）を用いた復帰突然変異試験及びマウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験において突然変異を誘発しないこと、並びに真核細胞（ウサギリンパ球）を用いた姉妹染色体分体交換試験及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験において染色体異常を誘発しないことが示された。さらに、in vivo 骨髄小核試験において、ラットにアセナピンを 25、50 及び 75 mg/kg/日の用量で 4 週間反復経口投与したところ、骨髄細胞に小核を誘発しなかった。したがって、アセナピンは一連の in vitro 試験及び in vivo 試験において遺伝毒性を示さないと結論された。

2.6.6.5 がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

2.6.6.5.1 CD-1 マウスを用いたアセナピンの 104 週間反復皮下投与試験、アセナピンの病理組織学的評価

【2.6.7.10.A】
【4.2.3.4.1-01】: R&DRR INT0050405（評価資料）
【2.6.7.10B】
【4.2.3.4.1-02】: R&DRR INT00090305（評価資料）

本試験は、マウスにアセナピンを 104 週間反復皮下投与したときの腫瘍の発現及び形態に及ぼす影響を評価することを目的とした。しかし、死亡率が高かったため、雄は第 89 ~ 90 週に、雌は第 98 ~ 99 週に安楽殺した。Crl：CD-1®（ICR）BR マウスを 5 群に振り分け（雄雌各 57 ~ 60 例/群）、試験開始時に雄にはアセナピンを 0（溶媒対照群）、0.5、1.5 及び 5.0 mg/kg/日の用量で、雌にはアセナピンを 0（溶媒対照群）、0.5、1.5 及び 7.5 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回反復皮下投与した。また、無処置対照群を設定した。投与経路には、ヒトにおいて舌下投与と同様に曝露され、アセナピンが受けやすい初回通過効果を回避できる皮下投与を選択した。著しい衰弱又は死亡が頻発したことから、第 25 週に高用量群の用量を雄では 5.0 mg/kg/日から 4.0 mg/kg/日に、雌では 7.5 mg/kg/日から 5.0 mg/kg/日に減量した。

その結果、雄では 1.5 mg/kg/日群及び 5.0/4.0 mg/kg/日群において溶媒対照群と比べて死亡率が上昇し、雌では無処置対照群及び全てのアセナピン投与群において溶媒対照群と比べて死亡率が上昇した。統計解析の手法としては腫瘍発生時期を考慮して統計を行う Peto 検定を行い、アセナピン投与により腫瘍発生率が増加する傾向及び腫瘍の発生時期が早期になる傾向は無かった。アセナピン投与に関連した、一般状態の悪化及び死因を示唆する所見は認められなかった。一方、皮膚・付属器、尿生殖路及び消化管の傷害、並びに血液リンパ細網系腫瘍を含む様々な所見がみられ、これらが死亡又は衰弱の原因であると考えられた。

アセナピン投与群の雄において、溶媒対照群に比べて体重増加量が少なかった。アセナピン投与群の摂餌量は溶媒対照群に比べて多かったが、無処置対照群とは同程度であった。

アセナピンによる局所又は全身毒性、並びにがん原性を示唆する肉眼的所見は認められなかった。病理組織学的検査では、高用量（雄 5.0/4.0 mg/kg/日、雌 7.5/5.0 mg/kg/日）群における投与部位の非腫瘍性所見は溶媒対照群と同程度であったが、軽度な筋膜炎・線維化の範囲拡張がみられ、軽微な局所反応が示唆された。中用量（雄雌ともに 1.5 mg/kg/日）群及び高用量（雄 5.0/4.0 mg/kg/日、雌 7.5/5.0 mg/kg/日）群の雄雌いずれにおいても、心筋症発現頻度の軽度上昇がみられたが、この病変は高齢マウスで自然発生することが知られている。その他の組織において、病変の発現頻度は背景値の範囲内で変化したが、肝臓、腎臓等の主要臓器に全身毒性を示唆する異常所見は認められなかった。7.5/5.0 mg/kg/日群の雌において、悪性リンパ腫の発現頻度が溶媒対照群に比べて高かったが、無処置対照群とは同程度であった。

アセナピンの血漿中濃度を表 2.6.6-14に示す。

表 2.6.6-14 マウスにおけるアセナピン皮下投与後の平均血漿中濃度（104 週間試験）

	平均濃度±標準偏差 (ng/mL)［n=3］					
	0.5 mg/kg/日 (0.35 mg/kg/日 AE)					
	単回投与		第 27 週		第 90/99 週*	
プロトコール規定採血時間 (hr)	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0.25	24.1 ± 7.8	24.2 ± 10.3	31.2 ± 4.7	26.2 ± 3.2	33.3 ± 7.0	< 7.09
0.5	17.2 ± 3.0	28.3 ± 4.6	29.4 ± 0.7	22.7 ± 3.0	25.0 ± 2.7	40.6 ± 24.5
1	15.3 / 18.5 [a]	15.2 ± 6.1	25.6 / 19.7[a]	15.3 ± 2.0	14.5 ± 2.1	17.2[b]
	1.5 mg/kg/日 (1.06 mg/kg/日 AE)					
	単回投与		第 27 週			
プロトコール規定採血時間 (hr)	雄	雌	雄	雌		
0.25	92.4 ± 9.2	93.9 ± 14.0	88.4 ± 12.1	70.7 ± 9.2		
0.5	83.7 ± 17.1	70.9 ± 14.8	66.4 ± 8.3	50.6 ± 11.1		
1	61.2 ± 3.8	42.8 ± 2.2	52.7 ± 9.2	58.7 / 102[a]		
	雄：5.0/4.0 mg/kg/日 (3.55/2.84 mg/kg/日 AE) 雌：7.5/5.0 mg/kg/日 (5.32/3.55 mg/kg/日 AE)					
	単回投与		第 27 週			
プロトコール規定採血時間 (hr)	雄	雌	雄	雌		
0.25	228 ± 21	332 ± 84	219 / 183 [a]	24.6 [b]		
0.5	217 ± 15	273 ± 81	113 ± 90	7.4 / 210 [a]		
1	164 ± 19	263 ± 20	68.5 / 243 [a]	166 [b]		

a：n=2（個別値）、b：n=1、AE：活性本体換算用量
* 第 90/99 週の検体は、それぞれ 0.5 mg/kg/日群の雄及び雌のみから採取した。

本試験では、検体数及び検体採取回数が限られていたため、トキシコキネティックパラメータを算出することはできなかった。血漿中濃度に性差はみられず、単回投与と反復投与とでも差はみられなかった。投与用量の増加に伴って血漿中濃度が上昇する傾向が認められた。

結論として、マウスにアセナピンを、雄には 0、0.5、1.5 及び 5.0/4.0 mg/kg/日の用量で、雌には 0、0.5、1.5、7.5/5.0 mg/kg/日の用量でそれぞれ 89 ~ 90 週間及び 98 ~ 99 週間反復皮下投与したところ、投与に関連した局所発がん性を示唆する皮膚・皮下組織及び投与部位の腫瘍の発現頻度増加は認められなかった。また、全身発がん性の兆候も認められなかった。

2.6.6.5.2 SD ラットを用いたアセナピンの 104 週間反復皮下投与がん原性試験、アセナピンの病理組織学的評価

【2.6.7.10.C】
【4.2.3.4.1-03】: R&DRR INT00039803（評価資料）
【2.6.7.10D】
【4.2.3.4.1-04】: R&DRR INT00090308（評価資料）

本試験は、ラットにアセナピンを 104 週間以上反復皮下投与したときの腫瘍の発現及び形態に及ぼす影響を評価することを目的とした。しかし、死亡率が高かったため、雌は第 100 ~ 102 週に、雄は第 106 ~ 107 週に安楽殺した。Crl：CD®（SD）IGSBR ラットを 5 群に振り分け（雄雌各 60 例/群）、アセナピンを 0（溶媒対照群）、0.3、1.2 及び 3.0 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回反復皮下投与した。また、無処置対照群を設定した。投与 6 週間後に高用量群の用量を 3.0 mg/kg/日から 5.0 mg/kg/日に増量した。

その結果、全てのアセナピン投与群において、死亡率の上昇は認められなかった。アセナピン投与群の体重増加量は、溶媒対照群及び無処置対照群に比べて少なく、用量依存性がみられた。アセナピ

ン投与群の雌及び 3.0/5.0 mg/kg/日群の雄における摂餌量は、溶媒対照群及び無処置対照群と同程度であった。

病理組織学的検査では、アセナピン投与により投与部位の皮下線維化が増加する等、局所反応の用量依存的な増悪が認められた。さらに、肺におけるマクロファージ泡沫細胞の凝集（NOAEL：1.2 mg/kg/日）及び甲状腺濾胞上皮の肥厚（NOAEL：雄 0.3 mg/kg/日、雌 1.2 mg/kg/日）の発現増加が認められた。1.2 mg/kg/日群及び 3.0/5.0 mg/kg/日群の雄において、副腎における嚢胞性／出血性（皮質）変性の発現頻度上昇が認められた。ほかの非腫瘍性所見とは異なり、甲状腺におけるびまん性 C 細胞過形成の発現頻度及び重症度は用量依存的に低下した。上述した病理組織学的所見はアセナピンによる局所又は全身毒性を示唆するものではなかったが、一般的な背景所見の増悪が認められ、アセナピン投与動物のホルモン又は全身状態の変化に関連性があると考えられた。計画殺以前の死亡率は Peto 法で解析した。生存率の差を考慮すると、統計的にアセナピンによる腫瘍発現頻度の上昇は認められなかった。一方で、雌における良性乳腺腫瘍及び下垂体前葉腫瘍、雄における致死性下垂体前葉腫瘍及び投与部位の線維腫、並びに雄雌ともにおける副腎褐色細胞腫、扁平上皮性腫瘍及び組織球性肉腫等の腫瘍の発現頻度は、アセナピン投与により明らかに低下し、1.2 mg/kg/日群及び 3.0/5.0 mg/kg/日群において、腫瘍の発現頻度は有意に低下した。そのほか、アセナピン投与による腫瘍の発現は認められなかった。アセナピンの血漿中濃度を表 2.6.6-15に示す。

表 2.6.6-15 ラットにおけるアセナピン皮下投与後の平均血漿中濃度（104 週間試験）

	平均濃度±標準偏差(ng/mL)［n=3］							
	0.3 mg/kg/日 (0.2 mg/kg/日 AE)							
	単回投与		第 26 週		第 85 週		第 97 週	
採血時間 (hr)	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0.25	16.7 ± 3.0	11.3 ± 9.0	21.1 ± 10.9	23.0 ± 5.7	23.5/19.3[a]	23.3[b]	34.0 ± 4.1	25.2 ± 4.1
0.5	14.9 ± 0.9	22.4 ± 10.3	17.6 ± 5.5	16.1 ± 2.2	19.3 ± 2.2	19.8 ± 4.8	24.6 ± 5.1	20.1 ± 5.3
1	9.71 ± 1.72	8.37 ± 0.79	14.0 ± 2.0	14.2 ± 2.0	14.5[b]	-[c]	22.6 ± 4.4	19.2 ± 2.2
	1.2 mg/kg/日 (0.9 mg/kg/日 AE)							
	単回投与		第 26 週		第 85 週		第 97 週	
採血時間 (hr)	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0.25	65.1 ± 25.8	45.1 ± 19.6	89.9 ± 46.8	65.2 ± 10.2	73.5 ± 28.2	73.1 ± 12.3	132 ± 33	103 ± 11
0.5	61.4 ± 14.9	50.9 ± 1.0	89.9 ± 12.0	52.8 ± 4.8	72.6 ± 10.3	51.1 ± 1.6	136/124 [a]	103/57.1[a]
1	37.5 ± 12.0	32.9 ± 4.7	59.0 ± 8.1	31.7 ± 6.6	44.0 ± 6.9	37.3 ± 10.8	68.2 ± 33.2	64.4 ± 8.5
	3.0/5.0 mg/kg/日 (2.1/3.5 mg/kg/日 AE)							
	単回投与		第 26 週		第 85 週		第 97 週	
採血時間 (hr)	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0.25	135 ± 7	110 ± 21	160 ± 46	158 ± 53	182 ± 19	138 ± 43	298 ± 38	282 ± 221
0.5	129 ± 20	105 ± 11	215 ± 55	215 ± 67	204 ± 68	136 ± 31	317 ± 46	354 ± 86
1	86.9 ± 16.6	86.9 ± 11.7	148 ± 10	123 ± 21	136 ± 34	120 ± 12	235 ± 164	216 ± 16

a：n=2（個別値）、b：n=1、c：値は全て定量下限未満、AE：活性本体換算用量

性別、用量別及び投与レジメン別に算出した最高血漿中濃度は、投与後 0.5 時間以内に認められた。性差は認められなかった。26 週間及び 85 週間の反復投与後の血漿中濃度は、単回投与後と同程度か僅かに高く、97 週間の反復投与後の値は約 1.5 ~ 2 倍高かった。アセナピン血漿中濃度は投与用量の増加に伴って上昇した。

結論として、雄及び雌ラットにアセナピンを 0、0.3、1.2 及び 3.0/5.0 mg/kg/日の用量でそれぞれ 100 ~ 102 週間及び 106 ~ 107 週間反復皮下投与したところ、アセナピンはがん原性を示さなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 重要な試験以外の試験

2.6.6.6.1.1 雄及び雌ラットを用いたアセナピンの経口投与における受胎能パイロット試験

【2.6.7.11】

【4.2.3.5.1-01】: SDGRR 2315（参考資料）

Sprague Dawley ラット雌雄にアセナピンを 0（溶媒対照群）及び 30 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回反復経口投与した。投与期間は雄では交配前 2 週間及び交配期間中、雌では交配前 1 週間から交配期間を経て妊娠第 6 日までとした。例数は溶媒対照群が雄雌各 24 例、30 mg/kg/日群が雄雌各 12 例とした。溶媒対照群の雄 12 例と雌 12 例、溶媒対照群の雄 12 例とアセナピン投与群の雌 12 例、アセナピン投与群の雄 12 例と溶媒対照群の雌 12 例の組み合わせでそれぞれ交配させた。

試験期間中に一般状態変化、体重及び交尾までの時間を観察・測定した。雄は交尾確認後に剖検を実施し、雌は妊娠第 14 日に剖検し黄体数、着床数、吸収胚数及び生存胎児数を算定した。

その結果、アセナピン投与群で一般状態に異常はみられなかったが、雄では投与期間中、及び雌では妊娠期間中に体重の増加抑制がみられた。アセナピン投与群の雌では交尾率の低下がみられたが、妊娠率に溶媒対照群との有意差はみられず、また雄の交尾率及び妊娠率は溶媒対照群と比較して差がみられなかった。剖検では、アセナピン投与群の雌雄ともに異常はみられなかった。アセナピン投与群の黄体数、着床数、吸収胚数、生存胎児数は溶媒対照群と比較して差がみられなかった。

以上の結果から、アセナピン投与群の雌において交尾率の低下がみられたが、雌の妊娠率に影響はみられず、また雄においては交尾率及び妊娠率に影響がみられなかった。

2.6.6.6.1.2 ラットを用いたアセナピンの経口投与における胚・胎児毒性パイロット試験

【2.6.7.11】

【4.2.3.5.2-01】: SDGRR 2316（参考資料）

妊娠 Sprague Dawley CD/Crl : Cobs ラット（15 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）及び 30 mg/kg/日の用量で妊娠第 6 日から妊娠第 17 日まで、1 日 1 回反復経口投与した。試験期間中、一般状態観察及び体重測定を行った。妊娠第 21 日に帝王切開により胎児を摘出した。すなわち、母動物を安楽殺した後、卵巣及び子宮を摘出し、黄体数、着床数、吸収胚数、死亡胎児数及び生存胎児数を算定した。胎児については体重測定及び外表観察を行った後、内臓検査又は骨格検査に割り当てた。

その結果、アセナピン投与群の母動物において、一般状態に異常はみられなかったが、投与期間中から投与後にかけて体重の増加抑制がみられた。アセナピン投与群では、母動物当りの黄体数、着床数、死亡胎児数、生存胎児数、着床後胚損失、並びに卵巣重量、胎児重量、胎盤重量において溶媒対照と比較して差がみられなかった。胎児検査では、アセナピン投与群の異常を有する胎児の発生頻度に、溶媒対照群と比較して有意な差が認められなかった。

以上の結果から、アセナピンは母動物に体重の増加抑制がみられる用量において、胚・胎児毒性及び催奇形性を示さなかった。

2.6.6.6.1.3 ラットを用いたアセナピンの経口投与における胚・胎児毒性パイロット試験（交叉哺育を含む）

【2.6.7.11】

【4.2.3.5.3-01】: SDGRR 4299（参考資料）

アセナピンを投与した母動物の出生児において、授乳期の死亡が多かった結果（2.6.6.6.2.1、試験番号 3115 を参照）を受け、30 mg/kg/日（15 mg/kg を 1 日 2 回）の用量で投与が可能かを評価する試験を実施した。妊娠 Sprague Dawley ラットにアセナピンを 0（溶媒対照群）及び 30 mg/kg/日（それぞれ 0 及び 15 mg/kg を 1 日 2 回、約 5 時間間隔）の用量で妊娠第 17 日から分娩後第 14 日まで反復経口投与した。

溶媒対照群 26 例のうち 16 例、及びアセナピン投与群 21 例のうち 11 例は自然分娩させ、出生児とともに授乳期第 14 日に剖検を行った。また、残りのアセナピン投与群 10 例は妊娠第 21 日に帝王切開により胎児を摘出し、残りの溶媒対照群 10 例に哺育させた（交叉哺育）。なお、交叉哺育に使用した溶媒対照群の出生児は安楽死させた。2 週間の哺育期間中、一般状態観察、母動物の体重測定を行った。また、帝王切開時には、剖検を行うとともに出生児の体重測定を行った。哺育期間は出生児について観察し、終了後、母動物の剖検を行った。

その結果、アセナピン投与群の母動物では、投与期間中に鎮静、哺育行動の低下及び出生児の食殺がみられ、分娩から 7 日後までの体重は溶媒対照群と比較して低かった。分娩後又は帝王切開後 24 時間以内、並びに分娩後第 7 日の測定において、アセナピン投与群の母動物から生まれた生存児の 1 腹あたりの平均体重は、溶媒対照群の出生児に比べて低かった。アセナピン投与群の母動物 10 例から帝王切開により摘出した胎児はすべて生存胎児で、死亡胎児は認められなかった。一方、アセナピン投与群の母動物 11 例から自然分娩により生まれた児の死亡率は、分娩後 24 時間時点で 85.7%となり、いずれの腹においてもほぼ同様の死亡率であった。また、交叉哺育 24 時間時点の出生児死亡は 10 腹中 6 腹で認められ、死亡率は 29.3%、交叉哺育開始から 6 日間の死亡率は 42%で、10 腹のうち出生児死亡が認められなかったのは僅か 2 腹であった。したがって、新生児死亡は出生後に生じると考えられた。

以上の結果から、アセナピンの 30 mg/kg/日は、1 日 2 回反復経口投与により出生後の出生児の体重及び生存率に影響を及ぼしたことから、出生前及び出生後の発生に関する試験の用量として適さないと考えられた。

2.6.6.6.1.4 Sprague Dawley ラットを用いたアセナピンの静脈内投与における出生前及び出生後の発生に関するパイロット試験

【2.6.7.11】

【4.2.3.5.3-02】: R&DRR NL0012545（参考資料）

ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験における用量設定を目的とし試験を実施した。妊娠 Sprague Dawley ラットにアセナピンを 0（溶媒対照群）、0.3 及び 3 mg/kg/日の用量で妊娠第 6 日から分娩日まで、1 日 1 回反復静脈内投与した。例数は溶媒対照群が 8 例、0.3 mg/kg/日群が 8 例、3 mg/kg/日群が 7 例とした。母動物は自然分娩させ、出生児とともに授乳期第 13、14 及び 15 日に剖検を行った。およそ 2 週間の哺育期間中、一般状態観察を行い、母動物及び出生児の体重を測定した。剖検では全ての母動物について肉眼的観察を行い、出生児については外表観察を行った。

その結果、0.3 mg/kg/日群及び 3 mg/kg/日群の全ての母動物において投与期間を通じ、投与後 5 分以内に活動低下が認められ、その状態が数時間持続した。3 mg/kg/日群においては衰弱に加え、ケージの網に四肢を差し込んだ状態が約 2～3 時間持続した。いずれのアセナピン投与群においても、妊娠第 9 日から分娩日まで体重の増加抑制がみられたが、授乳期は溶媒対照群と同程度であった。また 3 mg/kg/日群においては、投与初期（妊娠第 6～9 日）に体重の軽度な減少がみられた。

3 mg/kg/日群において、妊娠期間は 23.3 日であり、溶媒対照群の 22.4 日と比較して軽度な延長がみられた。3 mg/kg/日群では、全て死産となった母動物、授乳第 1 日に全ての出生児が死亡した母動物、授乳第 4 日に全ての出生児が死亡した母動物が各 1 例ずつみられた。分娩時の 1 腹あたりの出生児数は、溶媒対照群、1 mg/kg/日群及び 3 mg/kg/日群でそれぞれ 12.4 匹、11.8 匹及び 6.9 匹であり、3 mg/kg/日群で低く、死亡児数も多かった（溶媒対照群で 0.1 匹、0.3 mg/kg/日群で 0.3 匹、3 mg/kg/日群で 2.0 匹）。分娩後 24 時間以内の出生児死亡率は溶媒対照群で 0.8%、0.3 mg/kg/日群で 3.3%、3 mg/kg/日群で 42.7%、並びに分娩 24 時間後から授乳期終了時（哺育 2 週間）までの出生児死亡率は溶媒対照群で 2.2%、0.3 mg/kg/日群で 0.9%、3 mg/kg/日群で 35.2%であり、3 mg/kg/日群において分娩後の出生児の死亡率が増加した。

以上の結果から、ラットを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験におけるアセナピンの用量として、0.3 mg/kg/日から 3 mg/kg/日の間が適切と考えられた。

2.6.6.6.1.5 Sprague Dawley ラットを用いたアセナピンの静脈内投与における出生前及び出生後の発生に関するパイロット試験（その 2）

【2.6.7.11】

【4.2.3.5.3-03】: R&DRR NL0048584（参考資料）

Sprague Dawley ラット用いた出生前及び出生後の発生に関する試験の用量設定を目的とし実施した。交配させた雌ラット（8 例/群）にアセナピン（活性本体として）を 0（溶媒対照群）、0.5、1 及び 2 mg/kg/日の用量で妊娠第 6 日から分娩日まで、1 日 1 回反復静脈内投与した。全ての母動物は自然分娩させ、出生児（F_1 動物）とともに授乳期第 14 日に剖検を行った。2 週間の哺育期間中、母動物については一般状態観察、体重及び摂餌量の測定を行い、出生児については外表検査及び体重測定を実施した。また母動物の剖検では黄体数、着床数を算定した。

その結果、アセナピン投与による母動物の死亡はみられなかった。全てのアセナピン投与群の母動物において、アセナピンの薬理活性を反映した自発運動の減少及び筋緊張の亢進が投与直後にみられたが、その日のうちに正常な行動レベルまで回復した。アセナピン投与群では投与期間前半（妊娠第 6～15 日）に母動物の体重増加の抑制がみられ、投与終了時の 0.5、1 及び 2 mg/kg/日群における体重増加量は、溶媒対照群に比べてそれぞれ 6%、6%及び 13%と低かったが、その後の体重は順調に増加し、分娩後第 14 日の体重は溶媒対照群と同程度であった。2 mg/kg/日群の妊娠第 11～21 日に溶媒対照群に比較して摂餌量の減少がみられ、また授乳期間中は全てのアセナピン投与群で摂餌量の減少がみられた。

生存児を出産した母動物数は溶媒対照群が 8 例、0.5、1 及び 2 mg/kg/日群がそれぞれ 8、7 及び 8 例であり、1 mg/kg/日群の雌 1 例は妊娠していなかった。妊娠期間にアセナピン投与の影響はみられなかった。着床数は全ての群で同程度であったが、2 mg/kg/日群における着床後胚損失率は 16.4%であり、溶媒対照群の 6%と比較して高かった。

分娩時は、出生児は全ての生存していたが、授乳期早期（分娩後第 0～4 日）には 1 及び 2 mg/kg/日群において出生後死亡率が上昇し、それぞれ出生児の 12%（6 腹）及び 29%（6 腹）が死亡した状

態でみつかるか、食殺されていた。さらに 2 mg/kg/日群で、分娩後第 4 日で母動物 2 腹の出生児が全て死亡した。これに対して溶媒対照群における出生後死亡率は 2%（1 腹）であった。授乳期間中に出生児の身体各部の皮膚が青く変色した状態が散見され、低酸素状態が示唆された。分娩後第 1 日の出生児の体重は、アセナピン投与群では溶媒対照群に比べ低かったが、授乳期間中は出生児の体重増加量は溶媒対照群と同程度であり、試験終了時におけるその差は僅かであった。アセナピン投与群において出生児の性比に影響はみられなかった。分娩後に死亡した出生児については食殺や胃内に乳がない状態等が認められたが、授乳期第 14 日まで生存した出生児の剖検では、異常はみられなかった。

結論として、アセナピン（活性本体として）の 2 mg/kg/日の用量では着床後胚損失率の増加がみられ、1 及び 2 mg/kg/日の用量では分娩後の出生児死亡数の増加がみられた。さらに 0.5 及び 1 mg/kg/日の用量では、母動物への影響による二次的な影響と思われる分娩時の出生児体重の減少が認められたが、胚・胎児発生への影響は認められなかった。これらの結果から、ラット用いた出生前及び出生後の発生に関する試験におけるアセナピン（活性本体として）の用量は、0.3、1.0 及び 1.5 mg/kg/日が適切と考えられた。

2.6.6.6.1.6 Dutch ウサギを用いたアセナピンの経口投与における胚・胎児毒性パイロット試験

【2.6.7.11】

【4.2.3.5.2-02】: SDGRR 2328（参考資料）

妊娠 Dutch ウサギ（12 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）及び 30 mg/kg/日の用量で妊娠第 6 日から妊娠第 18 日まで、1 日 1 回反復経口投与した。試験期間中、一般状態観察及び体重測定を行い、妊娠第 29 日に帝王切開により胎児を摘出した。すなわち、母動物を安楽死した後、卵巣及び子宮を摘出し、黄体数、着床数、胚損失数、死亡胎児数及び生存胎児数を算定し、また卵巣及び胎盤の重量を測定した。胎児については体重測定及び外表観察を行った後、脳及び眼の欠損検査及び骨格異常の確認を行った。

その結果、アセナピン投与群の母動物の一般状態に異常はみられず、体重及び摂餌量についても溶媒対照群との差はみられなかった。またアセナピン投与群の母動物の生殖能、並びに胎児検査おいて異常はみられなかった。

以上、本試験の結果から、アセナピン投与により母動物への影響、並びに催奇形性及び胚・胎児毒性は認められなかった。

2.6.6.6.2 重要な試験

2.6.6.6.2.1 ラットを用いたアセナピンの 1 日 2 回経口投与における受胎能及び胎児検査を含む 2 世代試験

【2.6.7.12.A】

【4.2.3.5.1-02】: SDGRR 3115（評価資料）

Wistar/HAN ラット（雄雌各 24 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、1、5 及び 30 mg/kg/日（0.5、2.5 及び 15.0 mg/kg を 1 日 2 回投与、約 5 時間間隔）の用量で反復経口投与した。投与期間は雄では交配 60 日前から交配期間中、雌では交配 14 日前から交配期間を経て妊娠第 21 日又は分娩後 21 日（授乳期）までとした。

各群の F_0 雌ラット 12 例を妊娠第 21 日に安楽殺し、帝王切開により胎児を摘出した。母動物については一般状態観察、体重及び摂餌量の測定を行った後、卵巣及び子宮を摘出し、黄体数、着床数、吸収胚数、死亡胎児数及び生存胎児数を算定した。胎児については体重測定、並びに性別及び外表観察を行った後、内臓検査又は骨格検査に割り当てた。

残り 12 例の F_0 雌ラットは自然分娩させ、分娩後第 21 日まで出生児を哺育させた（F_1 動物）。F_1 動物について発達及び行動観察を行った後、一部の F_1 動物を選択して成熟するまで飼育し、F_1 動物同士で交配させて生殖能を評価した。F_1 動物が離乳するまでの授乳期には出生児並びに F_0 母動物の巣作り及び哺育行動を観察し、出生児の体重測定、発達（耳介の展開、切歯萌出、毛生、眼瞼開裂、精巣下降、膣開口）及び行動評価（正向反射、光回避性、断崖回避、前肢把握能、背地走性、探索行動パターン、直接瞳孔反射、聴力、水迷路試験）を実施した。評価対象の F_1 動物の例数は F_0 母動物への影響により、溶媒対照群及び 1 mg/kg/日群が雄雌各 24 例、5 mg/kg/日群が雄雌各 23 例、30 mg/kg/日群が雄雌各 8 例での評価となり、一般状態観察及び体重測定を実施した。F_2 動物の出産後は F_1 母動物の哺育行動及び F_2 児物の一般状態観察を行った。全ての F_1 及び F_2 動物を分娩後第 21 日に安楽殺し、剖検を行った。また、F_2 児の性比並びに F_1 動物の交尾率及び妊娠率を算出した。

その結果、F_0 動物の雄において 1 mg/kg/日以上で立毛及び傾眠、5 mg/kg/日以上で異常姿勢、活動亢進･神経過敏及び体重の増加抑制、30 mg/kg/日で投与 1 週目に摂餌量の減少がみられた。F_0 動物の雌において 1 mg/kg/日以上で立毛及び傾眠､5 mg/kg/日以上で異常姿勢及び体重の増加抑制､30 mg/kg/日で投与 1 週目に体重の減少がみられた。F_0 動物の雌において 1 mg/kg/日以上で交尾までの時間延長がみられ、帝王切開時の検査では 5 mg/kg/日以上で着床前胚損失率の増加がみられた。胎児検査では生存胎児数、性比、体重、外表、内臓に投与に関連した異常はみられなかったが、骨格検査において 1 mg/kg/日以上で軽度な発達遅滞が認められた。また自然分娩させた F0 動物の雌において、5 mg/kg 以上で着床後胚損失率の増加、産児数及び生後 4 日までの新生児数の減少がみられた。F_1 動物において 5 mg/kg 以上で体重増加の遅れ、30 mg/kg で発達の遅延（毛生、開眼、精巣下降、膣開口）、行動評価における低スコア（掌把握反射、水迷路学習）及び生殖能（着床率及び産児数）への軽度な影響も認められた。

結論として、F_0 動物において 1 mg/kg/日以上の用量で一般状態変化、1 mg/kg/日以上で生殖能の低下がみられた。また、胎児への影響として 1 mg/kg/日以上の用量で軽度の胎児骨格の発達遅滞がみられたが、催奇形性は認められなかった。また F_1 動物において、5 mg/kg/日以上で新生児数の減少及び体重増加の遅れ、30 mg/kg で出生児の発達の遅延、行動発達の遅延及び生殖能への軽度な影響がみられた。

2.6.6.6.2.2 ラットを用いたアセナピンの 1 日 2 回経口投与における胎児検査を含む 2 世代試験

【2.6.7.12.B】

【4.2.3.5.2-03】: SDGRR 2961（評価資料）

妊娠 Wistar/HAN ラット（F_0、36 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、1、5 及び 30 mg/kg/日（0.5、2.5 及び 15.0 mg/kg を 1 日 2 回投与、約 5 時間間隔）の用量で妊娠第 7 日から妊娠第 17 日まで反復経口投与した。

各群の F_0 雌ラット 24 例を妊娠第 21 日に安楽殺し、帝王切開により胎児を摘出した。母動物については一般状態観察、摂餌量及び体重の測定を行った後、卵巣及び子宮を摘出し、黄体数、着床数、吸収胚数、死亡胎児数及び生存胎児数を算定した。胎児については体重測定、並びに性別及び外表観察を行った後、内臓検査又は骨格検査に割り当てた。

残り 12 例の F_0 雌ラットは自然分娩させ、分娩後第 21 日まで出生児（F_1 動物）を哺育させ、F_0 母動物の巣作り及び哺育行動を観察し、F_1 出生児の体重測定、発達（耳介の展開、切歯萌出、毛生、眼瞼開裂、精巣下降、膣開口）及び行動評価（正向反射、光回避性、断崖回避、前肢把握能、背地走性、探索行動パターン、直接瞳孔反射、聴力、水迷路試験）を実施した。F_1 動物は、雄雌各 20 例/群を選択して成熟するまで飼育し、F_1 動物同士で交配、自然分娩させて生殖能を評価した。F_2 動物の出産後は F_1 母動物の哺育行動及び F_2 動物の一般状態観察を行った。全ての F_1 及び F_2 動物を分娩後第 21 日に安楽殺し、剖検を行った。また、F_2 児の性比並びに F_1 動物の交尾率及び妊娠率を算出した。

その結果、F_0 動物において、投与期間中、1 mg/kg/日以上で被毛の汚れ、傾眠及び円背位がみられ、また妊娠 7-8 日に一過性の体重減少がみられた。さらに 5 mg/kg 以上で横臥位がみられ、妊娠 21 日目の体重は対照群と比較して低く、摂餌量の減少（妊娠 18-21 日も含む）もみられた。帝王切開時の検査では、30 mg/kg/日群において着床後胚損失の増加、吸収胚率の増加及び胎児体重の減少が認められた。胎児検査では、外表及び内臓にアセナピン投与の影響と考えられる異常はみられなかった。骨格検査では、全てのアセナピン投与群に波状肋骨やダンベル型胸椎体等が認められたが、溶媒対照群にもみられたことから、自然発生性の変化と考えられた。また、30 mg/kg/日群で頸椎や胸骨核の未骨化等の骨化遅延が認められたが、これらは胎児体重の減少に起因した変化と考えられた。

自然分娩させた F_0 動物の雌において生殖能及び哺育に異常はみられなかった。F1 動物では、行動検査の背地走性（%）に有意な減少がみられたが、正常な範囲内であり、その他の行動検査に異常はみられなかった。また F_1 動物の発達及び生殖能にも異常はみられなかった。

結論として、F_0 動物に 1 mg/kg/日以上で一般状態変化及び一過性の体重減少がみられ、30 mg/kg/日群で着床後胚損失の増加及び胎児体重の減少がみられたが、催奇形性並びに F_1 動物の発達、行動及び生殖能に異常は認められなかった。

2.6.6.6.2.3 Sprague Dawley ラットを用いたアセナピンの静脈内投与における胚・胎児発生への影響に関する試験

【2.6.7.13.A】

【4.2.3.5.2-04】: R&DRR INT00002826（評価資料）

交配させた雌 Sprague Dawley ラット（22 例/群）にアセナピン（活性本体として）を 0（溶媒対照群）、0.3、0.9 及び 1.5 mg/kg/日の用量で妊娠第 6 日から妊娠第 17 日まで、1 日 1 回反復静脈内投与した。妊娠第 21 日に母動物を安楽殺し、帝王切開により胎児を摘出した。母動物については一般状態観察、摂餌量及び体重の測定を行った後、卵巣及び子宮を摘出し、黄体数、着床数、吸収胚数、死亡胎児数及び生存胎児数を算定した。胎児については体重測定並びに性別及び外表観察を行った後、内臓検査又は骨格検査に割り当てた。

その結果、アセナピン投与に関連した母動物の死亡はみられなかった。アセナピン投与群の全ての母動物において、投与期間中にアセナピンの薬理活性を反映した顕著な自発運動の低下及び筋緊張の亢進が投与直後に認められたが、その日のうちに徐々に回復する傾向を示した。体重推移及び摂餌量にアセナピン投与による影響はみられなかった。帝王切開時の検査では、1.5 mg/kg/日で胎児体重が僅かに低かったが、アセナピン投与に関連した変化ではなく、特定の母動物で偶発的に生じた所見であると考えられた。着床後胚損失数、胚／胎児の吸収数、1 腹あたりの生存胎児数及び性比においてアセナピン投与の影響は認められなかった。外表観察及び内臓検査においてもアセナピン投与に関連した所見は認められなかった。胎児骨格検査においては、1.5 mg/kg/日群に痕跡頸肋（4 例）、肋骨

癒合（3 例）、頬骨弓癒合（4 例）肩甲骨奇形（2 例）及びダンベル型腰椎体（2 例）がみられたが、これらの骨格異常が認められた胎児 10 例中 4 例が特定の母動物に偏っており、これらの胎児を除外すると、認められた所見は発生頻度が低いあるいは胎児の骨化遅延に関連する自然発生性の変化であった。したがって、アセナピン 1.5 mg/kg/日群で観察された胎児の骨格異常所見については、アセナピン投与に関連した変化ではなく、特定の母動物で偶発的に生じた所見であると考えられた。なお、当該母動物では、胸腔内壁に腫瘤（直径 2 cm）が認められたこと、体重が交尾後 6～10 日に他の個体と比べて著しく減少したこと（4.2%減少）、また、胎児 3/4 例の体重が低値であったことから、母動物の状態悪化が胎児の体重低下や骨形成異常を引き起こす原因の一つとなった可能性も否定できないと考えられた。

結論として、0.3 mg/kg/日以上の群で投与期間中に自発運動の低下及び筋緊張の亢進が認められたが、いずれの群においても胚・胎児毒性及び催奇形性はみられなかった。

母動物及び胚・胎児発生における NOAEL はいずれも 1.5 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.6.2.4 ウサギを用いたアセナピンの 1 日 2 回経口投与における胚・胎児毒性試験

【2.6.7.13.B】

【4.2.3.5.2-05】: SDGRR 2914（評価資料）

交配させた雌チンチラウサギ（16 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、1、5 及び 30 mg/kg/日（0.5、2.5 及び 15 mg/kg を 1 日 2 回投与、約 5 時間間隔）の用量で、妊娠第 6 日から妊娠第 18 日まで反復経口投与した。妊娠第 28 日に母動物を安楽殺し、帝王切開により胎児を摘出した。母動物については一般状態観察、摂餌量及び体重の測定を行った後、卵巣及び子宮を摘出し、黄体数、着床数、吸収胚数、死亡胎児数及び生存胎児数を算定した。胎児については体重測定、並びに性別及び外表観察を行った後、内臓検査又は骨格検査に割り当てた。

その結果、30 mg/kg/日群の母動物 2 例では呼吸困難及び腹臥位がみられ、妊娠第 10 及び 15 日（それぞれ投与 5 及び 10 日目）に死亡した。母動物の体重は、30 mg/kg/日群の妊娠第 19 日～21 日に一過性に減少したが、摂餌量は投与初期（妊娠第 6 日～11 日）に増加傾向がみられ、投与期間終了後（妊娠第 19 日～24 日）には減少した。帝王切開時の検査では、アセナピン投与群において黄体数、着床数、吸収胚数、生存胎児数に異常はみられなかった。胎児検査においては、30 mg/kg/日群で胎児体重の減少がみられたが、性比、外表、内臓にアセナピン投与に関連した異常はみられなかった。骨格検査では、アセナピン投与群に脊椎側弯症（胸椎体又は椎弓の片側性欠損）、胸骨核の骨化異常と癒合、胸椎体又は椎弓の癒合、欠損、肋骨の分岐、癒合又は欠損がみられたが、これらは溶媒対照群にもみられた所見あるいは発現頻度が低いことから自然発生性の変化と考えられた。

結論として、30 mg/kg/日群では母動物の死亡及び胎児体重の減少がみられたが、催奇形性は認められず、1 及び 5 mg/kg/日群では胚・胎児への影響はみられなかった。

2.6.6.6.2.5 ウサギを用いたアセナピンの静脈内投与における胚･胎児毒性試験及びトキシコキネティクス試験

【2.6.7.13C】

【4.2.3.5.2-06】: SDGRR 4428（評価資料）

妊娠 New Zealand white ウサギ（16 例/群）にアセナピンを 0（溶媒対照群）、0.025、0.125 及び 0.625 mg/kg/日の用量で妊娠第 6 日から妊娠第 18 日まで、1 日 1 回反復静脈内投与した。技術的な問

題（骨格染色時の一部の胎児の崩壊）により、対照群及び 0.625 mg/kg/日群に各 10 例を追加した。母動物については生死、一般状態観察、体重及び摂餌量の測定を行った。妊娠第 29 日に母動物を安楽殺し、帝王切開により卵巣及び子宮を摘出し、黄体数、着床数、吸収胚数、死亡胎児数及び生存胎児数を算定した。胎児については体重測定、並びに性別、外表及び内臓の観察を行い、溶媒対照群及び 0.625 mg/kg/日群のみ骨格検査及び頭部検査を実施した。また、妊娠第 10、11、12 又は 15 日（投与 5、6、7 及び 10 日目）に各アセナピン投与群の母動物 5 例からトキシコキネティクス評価用の血液を採取した。

その結果、0.125 mg/kg/日群の母動物 1 例が妊娠第 24 日（投与期間終了後）に、0.625 mg/kg/日群の母動物 1 例が妊娠第 9 日（投与 4 日目）に死亡した。0.625 mg/kg/日群の死亡動物では投与 5 分後から 2 時間後にかけて多呼吸及び眼瞼下垂がみられ、剖検時に肺の表面に多くの赤色巣がみられた。生存動物では、0.025 mg/kg/日群以上で自発運動の亢進がみられた。0.625 mg/kg/日群においては多呼吸、運動協調性の低下及び眼瞼下垂及が認められ、これらの所見は投与の 5 ~ 30 分後に始まり、2 時間後まで持続した。

帝王切開時の検査では、黄体数、着床数、吸収胚数、着床後胚損失率、死亡胎児数、胎児生存数、胎児体重及び性比に毒性学的に意義のある異常は認められなかった。また、胎児検査では外表に異常はみられなかった。内臓及び骨格検査では、0.025 mg/kg/日群に水腎症、0.125 mg/kg/日群に前肢の屈曲、0.625 mg/kg/日群に水腎症、臍帯ヘルニア、脳ヘルニア及び脳橋の奇形がみられたが、いずれの所見も発生頻度が低く、脳橋の奇形以外は同系統のウサギにおける自然発生率[1)]の範囲内であったことから、自然発生所見と考えられた。脳橋の奇形については、脳ヘルニアに伴う変化と考えられ、1/164 例のみにみられた所見であることからアセナピン投与に関連した変化ではないと考えられた。

トキシコキネティクス評価の結果、$AUC_{0-\infty}$は、0.025、0.125、0.625 mg/kg/日群でそれぞれ、4.88、41.5、179 ng·hr/mL であった。

結論として、0.125 及び 0.625 mg/kg/日群の母動物各 1 例が死亡し、0.625 mg/kg/日群では多呼吸、運動協調性の低下、眼瞼下垂及び活動亢進が認められたが、胚・胎児毒性及び催奇形性は認められなかった。

2.6.6.6.2.6 Sprague Dawley ラットを用いたアセナピンの静脈内投与における出生前及び出生後の発生に関する試験

【2.6.7.14.A】

【4.2.3.5.3-04】: R&DRR NL0052638（評価資料）

雌動物に着床時から離乳時までアセナピンを静脈内投与し、妊娠及び授乳期の母動物及び胎児並びに性成熟までの出生児の発達に及ぼす影響を評価した。交配させた雌 Sprague Dawley ラット（21 ~ 22 例/群）にアセナピン（活性本体として）を 0（溶媒対照群）、0.3、0.9 及び 1.5 mg/kg/日の用量で妊娠第 6 日から分娩後第 20 日まで、1 日 1 回静脈内反復投与した。母動物は自然分娩させ、分娩後第 21 日まで出生児（F_1 動物）を哺育させた。およそ 3 週間の哺育期間中、死亡又は早期切迫殺、一般状態、体重及び摂餌量を記録し、F_0 母動物の巣作り及び哺育行動を連日観察した。F_1 動物について発達及び行動観察を行った後、F_1 動物の一部（雄雌各 22 例/群）を成熟するまで飼育し、F_1 動物同士で交配させ、妊娠第 14 日に剖検を行い、生殖能を評価した。

その結果、アセナピン投与による F_0 母動物の死亡はみられなかった。投与期間を通じて、F_0 母動物の 0.3 mg/kg/日以上でアセナピンの薬理活性を反映した顕著な自発運動の減少及び筋緊張亢進が投与直後からみられたが、その日のうちに回復した。全てのアセナピン投与群において、投与開始時に

一過性の体重減少が僅かにみられ、妊娠期間を通じて体重は対照群と比較して低い傾向を示し、さらに授乳期にも体重の増加抑制がみられた。全てのアセナピン投与群において授乳期における摂餌量は、溶媒対照群と比較して低かった。

F_0 雌動物は溶媒対照群、0.3、0.9 及び 1.5 mg/kg/日群でそれぞれ 20、21、21 及び 22 例が妊娠・出産し、妊娠期間は全ての群で同程度であった。全てのアセナピン投与群において着床後胚損失率の増加及び出生率の低下がみられた。0.9 mg/kg/日以上の群では、出生 4 日後までの出生児死亡数（食殺を含む）が増加し、出生 4 日後の出生児生存率が低下した。アセナピン投与群における出生 5 日から 21 日の出生児の死亡数及び離乳率は、対照群と比較して差がみられなかった。また出生 21 日後の出生児の体重は、対照群と比較して 0.3 mg/kg/日群で低い傾向がみられ、0.9 mg/kg/日以上の群で低かった。

F_1 出生児の飼育期（分娩後第 21 ~ 35 日）において 0.9 及び 1.5 mg/kg/日群の F_1 出生児の体重は対照群より低かったが、体重増加量は同程度であった。F_1 動物の発達指標は、雌の膣開口及び雄の陰茎包皮分離で僅かな遅れがみられたが、体重低下の影響と考えられた。F_1 動物の行動指標では、1.5 mg/kg/日群で光回避性の低下が軽度にみられた。

F_1 動物の雄と雌を交配させたところ、全ての雌が妊娠した。交尾までの時間は全ての群で同程度であった。妊娠第 14 日に帝王切開を行ったところ、黄体数、着床数、着床前胚損失率、着床後胚損失率及び生存胚の数は全ての群で同程度か、正常な変動範囲内であった。

結論として、F_0 出生児の食殺や死亡は、アセナピンの薬理作用による F_0 母動物の哺育能の低下による二次的なものと考えられたが、アセナピンの出生児への直接的な影響を否定できなかった。胚・胎児毒性を示す所見はみられず、出生児の外表観察でも異常は認められなかった。

2.6.6.6.2.7 Sprague Dawley ラットを用いたアセナピンの出生前及び出生後の発生に関する試験（その 2）

【2.6.7.14.B】

【4.2.3.5.3-05】: R&DRR INT00000051（評価資料）

着床時（妊娠第 6 日）から分娩後第 10 日までのアセナピンを静脈内投与し、妊娠及び授乳期の母動物、並びに胎児及び分娩後第 10 日までの出生児（F_1 動物）の発達に及ぼす影響を評価した。さらに、先に実施された出生前及び出生後の発生に関する試験（報告書 NL0052638）で認められた新生児の死亡が母動物に対するアセナピンの薬理作用によるものか、新生児への毒性によるものかについて評価するため、本試験では全ての出生児に対して、交叉哺育を実施した。交配させた雌 Sprague Dawley ラット（30 例/群）にアセナピン（活性本体として）を 0（溶媒群）及び 1.5 mg/kg/日の用量で妊娠第 6 日から分娩後第 10 日まで、1 日 1 回静脈内反復投与した。以下の表に従って分娩確認日（最初の出生児確認時）に交叉哺育を開始し、分娩後第 11 日に安楽殺し剖検を行った。

表 2.6.6-16 母動物及び出生児（腹単位）の交叉哺育への割当て

交叉哺育群	母動物及び出生児の由来
溶媒／溶媒	溶媒群の母動物とその出生児
溶媒／アセナピン	溶媒群の母動物とアセナピン群の出生児
アセナピン／溶媒	アセナピン群の母動物と溶媒群の出生児
アセナピン／アセナピン	アセナピン群の母動物とその出生児

交叉哺育しない群	母動物及び出生児の由来
溶媒対照	溶媒群の母動物とその出生児
アセナピン対照	アセナピン群の母動物とその出生児

その結果、アセナピン投与に関連した母動物の死亡はみられなかった。投与期間を通じて、アセナピン群の全ての母動物において、アセナピンの薬理活性を反映した顕著な自発運動の減少及び筋緊張亢進が投与直後から認められたが、その日のうちに軽減した。アセナピン群の妊娠期間中（妊娠第 6 ~ 21 日）の体重増加量は溶媒群に比べて 6 g 少なかった。妊娠期間中の摂餌量は両群とも同程度であったが、アセナピン群において妊娠第 15 ~ 21 日に僅かに減少する傾向がみられた。妊娠期間は両群とも同程度であった。アセナピン群における着床後胚損失（着床数と出産児数との差）率は約 17%で、溶媒群では約 9%であった。

分娩後最初の出生児確認時において、平均出生児数（死亡児を含む）は溶媒群が 14.6 匹、アセナピン群が 13.9 匹であったが、死亡児数は溶媒群で 1 匹であったのに対し、アセナピン群では 23 匹みられ、アセナピン投与群では出生率の低下がみられた。アセナピン群では 3 腹の出生児 3 匹で吸乳がみられず（胃内に乳がみられない状態）、アセナピンに関連した影響と考えられた。また、出生児 2 匹の頭部又は口鼻部の青い変色がみられた。アセナピン群の出生児の体重は、溶媒群と比較して減少がみられた。

交叉哺育期間（分娩後第 1 ~ 10 日）において、アセナピン対照群及びアセナピン／アセナピン群において体重の増加抑制がみられた。アセナピン対照群、アセナピン／アセナピン群、アセナピン／溶媒群の母動物の摂餌量は、溶媒群と比較して低かった。剖検時にアセナピン投与に関連した所見は認められなかった。

交叉哺育期間（分娩後第 1 ~ 10 日）において、分娩後第 4 日までの出生児死亡率は、アセナピン対照群、アセナピン／アセナピン群及び溶媒／アセナピン群で高かった。一方、溶媒／溶媒群、アセナピン／溶媒群及び溶媒対照群の出生児死亡率は、同程度であった。出生児の一般状態観察では、アセナピン／アセナピン群及びアセナピン対照群において胃内に乳がみられない個体の発現頻度の増加がみられた。これは吸乳がない、又は出生児の吸乳能が低いことが示唆された。さらに、溶媒／アセナピン群及びアセナピン／アセナピン群及びアセナピン対照群において、出生児が確認できなくなる頻度が高かった。これは母動物又は哺育雌動物による食殺と考えられた。その頻度は、交叉哺育群である溶媒／アセナピン群で最も高く、アセナピン／溶媒群では増加がみられなかった。出生児の体重増加量は、アセナピン投与群に比べて溶媒投与群の方が大きかった。溶媒／アセナピン群において授乳期開始時には出生児体重が少なかったが、観察期間終了時の体重増加量は最も多く、体重は溶媒対照群と同程度であった。アセナピン／アセナピン群及びアセナピン対照群において、授乳期開始時の出生児体重は少なかったが、体重増加量は溶媒／溶媒群及び溶媒対照群と同程度であった。アセナピン／溶媒群の出生児体重及び体重増加量は、観察期間終了時点で低かった。また、剖検時に胃内に乳がみられない状態の早期死亡児は、溶媒／溶媒群、溶媒／アセナピン群、アセナピン／溶媒群、アセナピン／アセナピン群、溶媒対照群及びアセナピン対照群でそれぞれ 0、1、1、11（5 腹）、0、12（3 腹）匹であった。

結論として、本試験の結果から、分娩前後の母動物へのアセナピン投与による周産期及び出生後の出生児死亡は、母動物の哺育行動の変化によるものではなく、胎児期にアセナピンの曝露を受けたことによる出生児への影響によるものと示唆された。

2.6.6.7 幼若動物を用いた試験

2.6.6.7.1 幼若ラットを用いたアセナピンの皮下投与における用量設定毒性試験

【2.6.7.15A】

【4.2.3.5.4-01】: R&DRR INT00018058（評価資料）

本試験は、幼若動物を用いる毒性試験の用量設定試験として、幼若ラット（14～35 日齢）を用いて実施した。

アセナピンは活性本体を用い、投与は 3 期に分けて実施した。第 1 期には 0（溶媒対照群）、0.1、0.3 及び 0.5 mg/kg/日の用量で 14 日齢から 20 日齢まで離乳前の幼若ラット（雌雄各 2 例/群）に 1 日 1 回皮下投与した。第 2 期には 0、0.9、1.5 及び 2.5 mg/kg/日の用量で 14 日齢から 20 日齢まで離乳前の幼若ラット（雌雄各 2 例/群）に 1 日 1 回皮下投与した。第 3 期には 0、0.8、2.4 及び 4 mg/kg/日の用量で 14 日齢から 34 日齢までの離乳前及び離乳後の幼若ラット（雌雄各 6 例/群）に 1 日 1 回皮下投与した。各投与期間中に一般状態観察、初回投与後の体温計測、体重測定、摂餌量測定（離乳後のみ）を行い、剖検を実施した。第 3 期では、投与開始から数日間は薬理学的作用はほぼみられなかったが、18 日齢頃から自発運動低下及び眼瞼閉鎖を呈する動物が増加し、自発運動がみられない動物も散見された。これらの一般状態変化は 0.8～4 mg/kg/日群において投与後 15 分以内に顕著に現れ、投与後 2 時間まで持続した。しかし、0.8～4 mg/kg/日では明確な用量相関は認められなかった。投与初日の約 7 時間後において、4 mg/kg/日群では溶媒対照群に比べ約 2℃ の体温低下がみられた。

第 1～3 期を通じて、0.1 mg/kg 以上の雌、0.3 mg/kg 以上の雄で投与初日に体重増加抑制ないし軽度な体重減少がみられた。体重への影響において用量相関は明確でなかった。第 3 期では、全てのアセナピン群では離乳時に体重が対照群と比較して低かったが、離乳後の 2 週間では特に雌の体重は順調に増加した。第 3 期の離乳後の摂餌量は、アセナピン投与群と対照群で差はみられなかった。投与終了の翌日に実施した剖検において、第 1～3 期群のいずれの動物も全身毒性を示唆する所見はみられなかった。なお、第 3 期のアセナピン投与群で投与部位における限局性出血が顕著であったが、出血の程度に用量相関はみられなかった。

結論として、アセナピン（活性本体）は、0.1 mg/kg/日以上の用量において幼若ラットに対し離乳前の体重増加抑制ないし行動変化がみられ、4 mg/kg/日にかけて影響が強くなる傾向が認められた。最高用量である 4 mg/kg/日を投与するためには投与容量を 8 mL/kg に設定する必要があったため、次に実施する本試験では投与容量を 6 mL/kg と少なくし、最高用量を 3.2 mg/kg/日とすることにした。また最低用量は、投与期間中にアセナピンの影響が発現すると推察される 0.4 mg/kg/日を設定することとした。

2.6.6.7.2 幼若ラットを用いたアセナピンの 8 週間反復皮下投与毒性試験、幼若 Sprague Dawley ラットを用いたアセナピンの単回皮下投与及び反復皮下投与キネティクス試験

【2.6.7.15.B】
【4.2.3.5.4-03】: R&DRR INT00033485（評価資料）
【2.6.7.3】
【4.2.3.5.4-02】: R&DRR INT00020003（評価資料）

同腹の幼若 Crl : CD®（SD）IGS BR ラット（雄雌各 22 例/群）にアセナピンを活性本体として 0（対照群）、0.4、1.2 及び 3.2 mg/kg/日の用量で 14 日齢（2 週齢）から 69 日齢（9 週齢）までの 56 日間、1 日 1 回反復皮下投与し、その影響について検討した。投与期間中及び休薬（回復）期間中は一般状態観察、体重及び摂餌量測定、性成熟観察を行った。休薬 1 週間後より神経行動学的検査を開始し、自発運動量、協調運動、聴覚性驚愕馴化及び Morris 水迷路における学習／記憶能を評価した。自発運動量は、休薬約 2 週間後及び 4 週間後にも評価した。約 14 週齢に達した動物を交配させて生殖能を評価し、交尾後第 14 日に雌の剖検を行った。溶媒対照群及び 3.2 mg/kg/日群の脳について病理組織学的検査を行った。さらに、単回投与後又は 56 日間反復投与後のアセナピン及び代謝物である *N*-脱メチル体の血漿中薬物濃度を測定した。

その結果、全てのアセナピン投与群において、薬理学的反応として活動量の減少及び眼瞼下垂がみられたが、離乳までの投与前半では影響が少なく、投与期間後半では投与後 15 分以内に症状が顕著になり、4 時間以上持続した。これらの薬理学的反応には、用量相関がみられた。投与初日（14 日齢）から 21 日齢の離乳まで雄雌ともに全てのアセナピン投与群において、体重の増加抑制がみられた。アセナピン投与群の雄の体重増加量は 70 日齢までの投与期間を通じて体重の増加抑制がみられたが、休薬後には体重は順調に増加した。雌の 3.2 mg/kg/日群では、離乳後の翌週まで体重の増加抑制がみられたが、それ以後残りの投与期間中は対照群と同程度以上になり、投与終了後には体重増加率に溶媒対照群との差は認められなかった。雄の全てのアセナピン投与群では、35 日齢から投与終了まで摂餌量の軽度な減少がみられたが、投与終了後は対照群との差はみられなかった。雌の全てのアセナピン投与群では、摂餌量が 42 日齢以降、対照群より僅かに高く、1.2 及び 3.2 mg/kg/日群では休薬期間中並びに妊娠期間中も僅かに高かった。

神経行動学的検査では、最終投与から 5 又は 6 日後に、全てのアセナピン投与群において自発運動量の増加がみられ、3.2 mg/kg/日群では対照群と比較してで約 2 倍、雌で約 1.8 倍であった。アセナピン投与における自発運動量の増加は、観察開始から 60 分間後の観察時間終了時まで持続した。最終投与終了 2 週間後及び 4 週間後の評価でも、アセナピン投与群では自発運動量の増加が同様にみられたが、雄では対照群の値に近づき回復傾向も認められた。3.2 mg/kg/日群では雄雌ともに、協調運動に関する回転棒試験における保持時間が長かった。アセナピン投与群で聴覚性驚愕馴化及び Morris 水迷路における学習への影響は認められなかった。

性成熟の時期及び雌の発情周期にアセナピン投与による影響はみられなかった。1.2 及び 3.2 mg/kg/日群における受胎率は僅かに低かったが、雄雌ともに剖検時に受胎能の低下を示唆する所見はみられず、妊娠雌の生殖パラメータへの影響もみられなかったことから、受胎率の低下に対する毒性学的意義は明らかではなかった。剖検時、3.2 mg/kg/日群では精巣上体の絶対重量は溶媒対照群に比べて低かったが、変化の程度からみて受胎能への影響とは考えにくく、個々の動物の重量と受胎率の低下に関連は認められなかった。

表 2.6.6-17 幼若ラットにアセナピン 0.4、1.2 及び 3.2 mg/kg/日を皮下投与したときの単回投与後及び反復投与後のアセナピンのトキシコキネティクスデータ

アセナピン	性別	0.4 mg/kg/日		1.2 mg/kg/日		3.2 mg/kg/日	
		SD	MD	SD	MD	SD	MD
$AUC_{(0-7)}$ (ng·hr/mL)	雄	154	74.7	364	236	1195	579
	雌	143	66.1	400	194	1113	586
$NAUC_{(0-7)}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	雄	386	187	303	197	374	181
	雌	358	165	334	161	348	183
$AUC_{(0-24)}$ (ng·hr/mL)	雄	-	-	-	-	2227	864
	雌	-	-	-	-	-	-
C_{max} (ng/mL)	雄	41.2	30.5	111	101	275	231
	雌	44.6	30.5	108	75.2	287	212
NC_{max} (ng/mL)/(mg/kg)	雄	103	76.2	92.2	83.8	85.8	72.1
	雌	112	76.3	90.3	62.7	89.8	66.2
t_{max} (hr)	雄	0.5[1)]	0.5[1)]	0.5[1)]	0.5[1)]	0.5[1)]	0.5[1)]
	雌	0.5[1)]	0.5[1)]	0.5[1)]	0.5[1)]	0.5[1)]	0.52[1)]
$t_{1/2}$ (hr)	雄	-	2.4	3.0	2.2	3.6	5.2
	雌	3.4	2.1	2.4	2.3	4.3	-

SD：単回投与、MD：反復投与

1) 測定用の最初の検体採取時点であるため、t_{max} 値には過大評価、C_{max} 及び AUC の値には過小評価の可能性がある

- ：確定できなかった

表 2.6.6-18 幼若ラットにアセナピン 0.4、1.2 及び 3.2 mg/kg/日を皮下投与したときの単回投与後及び反復投与後の N-脱メチル体のトキシコキネティクスデータ

N-脱メチル体	性別	0.4 mg/kg/日		1.2 mg/kg/日		3.2 mg/kg/日	
		SD	MD	SD	MD	SD	MD
$AUC_{(0-24)}$ (ng·hr/mL)	雄	270	306	814	980	2586	2776
	雌	206	335	694	1117	1917	3022
$NAUC_{(0-24)}$ (ng·hr/mL)/(mg/kg)	雄	676	765	678	817	808	868
	雌	516	839	578	931	599	944
C_{max} (ng/mL)	雄	13.6	18.0	47.9	59.7	171	185
	雌	11.1	23.6	37.1	74.1	108	182
NC_{max} (ng/mL)/(mg/kg)	雄	34.1	44.9	39.9	49.8	53.5	57.7
	雌	27.8	59.0	30.9	61.8	33.7	56.9
t_{max} (hr)	雄	7.0	4.0	7.0	4.0	7.0	7.0
	雌	7.0	4.0	7.0	4.0	7.0	7.0
親化合物／代謝物比 [1)]	雄	0.6	0.2	0.4	0.2	0.5	0.2
	雌	0.7	0.2	0.6	0.2	0.6	0.2

SD：単回投与、MD：反復投与

1) アセナピン $AUC_{(0-7)}$／N-脱メチル体 $AUC_{(0-24)}$

血漿中薬物濃度の測定では、アセナピンは投与部位から速やかに吸収され、投与後 0.5 時間に C_{max} に達し、代謝物である N-脱メチル体が速やかに変換されることが示された。アセナピンの消失半減期は 2.1 ~ 5.2 時間であった。アセナピン及びその代謝物である N-脱メチル体の全身曝露量は用量に応じて増加し、両者の曝露量に性差はみられなかった。アセナピンの曝露量は初回投与後に比べ反復投与後の方が低く、N-脱メチル体の曝露量は初回投与後に比べ反復投与後に高かった。反復投与後の曝露量の変化は、幼若ラットの成長に基づく代謝活性の上昇が原因である可能性もあり、反復投与の影響であると結論できなかった。

結論として、全てのアセナピン投与群において、離乳前の雄及び雌、並びに投与終了後の雄の体重に影響がみられ、また投与終了後に自発運動量が増加し、その影響は投与後 30 日間持続した。本試

験において幼若ラットにおける一般毒性及び行動発達に関する NOAEL は、0.4 mg/kg/日未満であると考えられた。

2.6.6.8 局所刺激性試験

2.6.6.8.1 ビーグル犬を用いたアセナピンの 7 日間反復舌下投与における局所刺激性試験

【2.6.7.16】

【4.2.3.6-01】: SDGRR 4452（評価資料）

本試験は、ビーグル犬にアセナピンを舌下投与したときの局所毒性を評価することを目的とした。雌ビーグル犬に臨床試験で使用する錠剤と同様のアセナピン錠 4 錠（アセナピンとして 0.4 mg/錠を含有する）を 1 日 2 回、約 5 時間間隔で 7 日間反復舌下投与した。1 日の総投与量はアセナピン（活性本体として）3.2 mg とした。また、プラセボ錠を同様の方法で投与する対照群も設定した。例数は対照群が 2 例、アセナピン投与群が 4 例とし、投与は各錠剤 4 錠のうち 2 錠ずつを両側の唾液腺管開口部付近の舌下溝においた。

全ての動物について、死亡、一般状態、体重及び摂餌量を記録し、さらに口腔内の舌下領域を連日観察して局所における影響を評価した。最終投与の約 24 時間後に全ての動物を剖検し、口腔内の異常を評価した。また、舌下溝の病理組織学検査を実施した。

その結果、アセナピン投与群の 1/4 例において投与初日及び 2 日目の投与時に軽度の流涎が認められた。投与期間中及び剖検時の口腔内観察において、異常所見は認められず、病理組織学的検査でも舌下溝内膜に変化がみられなかったため、局所刺激性はないと考えられた。

結論として、ビーグル犬にアセナピン（活性本体として）3.2 mg/日の用量で 1 日 2 回 7 日間反復舌下投与したところ、局所における影響は認められなかった。

2.6.6.8.2 ビーグル犬を用いたアセナピンの 7 日間反復舌下投与における局所刺激性試験

【2.6.7.16】

【4.2.3.6-02】: R&DRR NL0052735（評価資料）

本試験は、ビーグル犬にアセナピンを 1 日 2 回 7 日間反復舌下投与したときの局所毒性を評価することを目的とした。雌ビーグル犬（4 例）にアセナピン錠剤 1 錠（アセナピンとして 15 mg/錠を含有する）を 1 日 2 回、約 5～6 時間間隔で 7 日間反復舌下投与した（アセナピンとして約 3 mg/kg/日に相当）。投与は錠剤を唾液腺管開口部付近の左側舌下溝におき、約 2 分間固定した。

死亡、一般状態、体重及び摂餌量を記録し、投与期間終了後に剖検を行った。また、右側舌下溝（無処置）を対照部位として投与部位（左側舌下溝）の病理組織学的検査を実施した。

その結果、投与中の流涎過多、飼育ケージの柵を齧る行動、浅速呼吸、ひっかき行動、攻撃行動、吐気／嘔吐、振戦、自発運動の減少及び横臥位、柵を押す行動、頭部反転動作、並びに興奮等の一般状態変化が、軽度から中等度に認められた。体重に影響はみられなかった。投与期間中に 1/4 例において摂餌量の低下がみられた。剖検及び病理組織学検査において、投与部位に異常所見は認められなかった。

結論として、雌ビーグル犬にアセナピンを活性本体として 15 mg の用量で 1 日 2 回 7 日間反復舌下投与したところ、局所における肉眼的及び病理組織学的異常は認められなかったが、軽度から中等度の一般状態変化が認められた。

2.6.6.9 その他の毒性試験

2.6.6.9.1 抗原性試験

2.6.6.9.1.1 モルモットを用いたアセナピンの経口投与及び皮下投与における抗原性評価試験

【2.6.7.17.A】

【4.2.3.7.1-01】: SDGRR 3292（評価資料）

雌モルモット（10 又は 15 例/群）にアセナピンを 0.03 及び 3 mg/kg/日の用量で週 1 回 4 週間反復皮下投与又は週 3 回 4 週間反復経口投与して感作させた。また、皮下にヒト血清アルブミン（HSA）結合アセナピン（アセナピンマレイン酸として 1.5 mg/kg/日）又は生理食塩液（溶媒）並びに腹腔内に Freund 完全アジュバント（FCA）をそれぞれ週 1 回 4 週間投与する群も設定した。さらに、HSA を皮下に 2 回投与する陽性対照群も設けた。モルモットのアレルギー反応は受動的皮膚アナフィラキシー反応を用いた IgG_{1a} 及び IgE/IgG_{1b} 抗体価の評価、能動的アナフィラキシー反応試験、並びに遅延型皮膚反応試験により評価した。

その結果、受動的皮膚アナフィラキシー反応試験において、アセナピン単独で感作後の血清を用いてモルモット血清アルブミン（GPSA）結合アセナピンで惹起した場合、抗体価は陰性を示した。一方、HSA 結合アセナピンで感作後の血清を用いて GPSA 結合アセナピンで惹起した場合、抗体価は陽性を示した。HSA 結合アセナピンで感作後の血清を用いてアセナピンで惹起した場合、抗体価は陰性を示した。この結果は能動的アナフィラキシー反応試験における応答とは異なっていた。HSA 感作動物も抗体価は陽性を示した。

能動的アナフィラキシー反応試験において、アセナピン単独で感作した動物は GPSA 結合アセナピンによる惹起に対してアナフィラキシー反応を示さなかった。一方、HSA 結合アセナピンで感作した動物は GPSA 結合アセナピンによる惹起に対して重度のアナフィラキシー反応を示し（5/5 例が死亡）、アセナピン単独による惹起に対しても顕著な反応を示したことから（2/5 例が死亡）、アセナピン又はその誘導体にハプテンとして働くことが示唆された。HSA 感作動物も HSA による惹起に対してアナフィラキシー反応を示した（1/5 例が死亡）が、GPSA による惹起には反応せず、血清アルブミン間の交叉反応性がないことが示された。

遅延型皮膚反応試験においてアセナピン 0.45 mg/0.1 mL の皮内投与によりいずれの感作動物（FCA のみで感作した動物を含む）においても紅斑が発現し、アセナピンの直接的な皮膚刺激作用が認められたが、遅延型過敏反応は認められなかった。HSA 感作動物は HSA による惹起に対して遅延型皮膚反応を示した。

結論として、モルモットにアセナピンを 0.03 及び 3 mg/kg/日の用量で経口投与又は皮下投与し、受動的皮膚アナフィラキシー反応試験、能動的アナフィラキシー反応試験及び遅延型皮膚反応試験を実施したところ、受動的皮膚アナフィラキシー反応試験及び遅延型皮膚反応試験において、アセナピンの抗原性は認められなかったものの、能動的アナフィラキシー反応試験において、蛋白結合体を用いてアセナピンに対する感作を成立させたモルモットに対して、アセナピン又はその誘導体はアナフィラキシー症状を誘発した。アセナピン又はその誘導体はハプテンとして働くことが示唆されたが、アセナピン（単独）投与による感作及び惹起を行った動物では、アナフィラキシー症状は認められなかった。

2.6.6.9.2 光毒性試験

2.6.6.9.2.1.1 アセナピンの 3T3 ニュートラルレッド取込み（NRU）光毒性試験

【2.6.7.17.B】

【4.2.3.7.7-01】: 04230（参考資料）

Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞（クローン 31）を用いて、UVA の存在下又は非存在下において、アセナピン 0.013、0.064、0.32、1.6、8.0、40、200 及び 1000 μg/mL の濃度におけるニュートラルレッドの取り込みを指標に細胞生存率を測定した。

その結果、アセナピンの IC_{50} は UVA の非存在下及び存在下において、それぞれ 16.6 μg/mL 及び 15.6 μg/mL であった。アセナピンの細胞生存率に UVA の影響は認められなかった。

結論として、3T3 ニュートラルレッド取込み光毒性試験において、アセナピンの光毒性は認められなかった。

2.6.6.9.3 プロラクチン放出及び自発運動量試験

2.6.6.9.3.1 ラットを用いたアセナピンの 4 週間反復投与毒性試験におけるプロラクチンレベル及び自発運動量に及ぼす影響－対照薬リスペリドン（[redacted]）との比較評価－

【2.6.7.17C】

【4.2.3.7.7-02】: R&DRR INT00040168（評価資料）

本試験では成熟した雄の Sprague Dawley ラットにアセナピンを 28 日間反復皮下投与し、リスペリドン（[redacted]）の 28 日間反復経口投与を対照として、両化合物のプロラクチン産生及び運動量に及ぼす影響を評価した。

雄ラット（12 例/群）にアセナピンを活性本体として 0（溶媒対照群）及び 2.8 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 4 週間反復皮下投与した。また、雄ラット（12 例/群）にリスペリドンを 5 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 4 週間経口投与した。回復性を確認するために、最終投与後 8 週間の休薬期間を設けた。アセナピン及びリスペリドンの各用量は、ラットにおいて一般状態及び体重への影響が同程度となる用量を選択した。試験期間中は一般状態の観察、血漿中プロラクチン濃度の測定及び運動量の観察（hight beam：立ち上がり行動、low beam：歩行運動）を実施した。なお、運動量の観察は投与 7 日（夜）、18 日（夜明け前）、28 日（夜）、休薬期間 1、3、5 及び 8 週目（朝）に 1 日 1 回実施した。

その結果、投与期間及び回復期間を通じて動物の死亡はみられなかった。アセナピン群及びリスペリドン群のいずれにおいても、眼瞼閉鎖及び自発運動量の減少等の薬理学的反応がみられた。アセナピン群は、リスペリドン群に比べて、これらの反応の発現が早く投与直後からみられたが、反応の持続時間は僅かに短かった。両群ともに投与翌日には、反応は消失し、28 日間の投与期間中に悪化はみられなかった。また、両群ともに投与期間を通じて体重増加量の軽度の減少（10%）がみられたが、8 週間の休薬期間終了時の体重は、両群ともに溶媒対照群と同程度であった。

投与初日の血漿中プロラクチン濃度は、アセナピン群及びリスペリドン群ともに、投与 1.5 及び 5 時間後に有意に上昇し、最大値を示したのは投与 1.5 時間後であった。両投与群間に有意差はみられなかったものの、両時点において僅かにリスペリドン群の方が高かった。投与 28 日の血漿プロラクチン濃度は、生データの不備から不採用とした。

運動量への影響ついて、投与 7 日（投与 9 時間後：夜）において、アセナピン群及びリスペリドン群で暗期の立ち上がり行動が減少し、リスペリドン群では歩行運動量も少なかった。投与 18 日（投

与後 19 時間：夜明け前）の暗期歩行運動量はアセナピン群で増加したが、リスペリドン群では溶媒対照群と同程度であった。投与 28 日では両群共に明らかな影響はみられなかった。休薬期間 1 週目のアセナピン群における明期運動量は、立上がり行動及び歩行運動量ともに溶媒対照群の 2 倍以上に増加した。一方、リスペリドン群では溶媒対照群に比べて僅かに多い程度で、アセナピン群に比べて有意に少なかった。アセナピン群の運動量増加は、休薬期間に徐々に低下し、8 週目には溶媒対照群と同程度であった。8 週間の休薬期間終了時点で、剖検での肉眼的所見はなく、両薬剤投与による脳重量への影響はみられなかった。

結論として、アセナピンは投与初日の血漿中プロラクチン濃度を増加させたが、その程度はラットに対し同等の一般状態変化を起こす用量におけるリスペリドンの方が、僅かに高かった。アセナピンにより投与期間中の運動量は減少し、休薬期間初期に増加したが、8 週間の休薬期間終了時には溶媒投与群と同程度まで減少した。また、リスペリドンにより投与期間中の運動量が減少したが、休薬期間に運動量の有意な増加はみられなかった。

2.6.6.9.3.2 ラットを用いたアセナピンの 4 週間反復投与毒性試験におけるプロラクチンレベルに及ぼす影響－対照薬リスペリドン（[redacted]）との比較評価－

【2.6.7.17D】

【4.2.3.7.7-03】: R&DRR INT00060363（評価資料）

本試験では、雄の Sprague Dawley ラットにアセナピンを 28 日間反復皮下投与し、リスペリドン（[redacted]）の 28 日間反復経口投与を対照として、両化合物の単回及び反復投与後の血漿中プロラクチン濃度に及ぼす影響を評価した。

雄ラット（12 例/群）にアセナピンを活性本体として 0（溶媒対照群）及び 2.8 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 4 週間反復皮下投与した。また、雄ラット（12 例/群）にリスペリドンを 5 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 4 週間経口投与した。試験期間中は一般状態の観察、体重測定及び血漿中プロラクチン濃度の測定を実施した。

その結果、いずれの群においても一般状態の異常はなく、体重は先行試験（2.6.6.9.3.1）と同様の傾向を示した。

アセナピン投与群及びリスペリドン投与群における投与初日の血漿中プロラクチン濃度は、投与 0.75、1.5 及び 3 時間後とも溶媒対照群に比べて有意に上昇し、その程度は両投与群で同様であった（溶媒対照群の 3.7 ~ 5.0 倍）。投与 28 日目では、投与 0.75 及び 1.5 時間後に両薬剤投与群ともに、過半数の個体で測定上限（200 ng/mL）を超えた。投与 28 日目の 3 時間後の血漿中プロラクチン濃度は、アセナピン群が溶媒対照群の 7.7 倍、リスペリドン群が溶媒対照群の 6.0 倍であった。両投与群間で、投与初日と同様にプロラクチンレベルに明らかな差はみられず、両薬剤投与群ともに、反復投与により血漿中プロラクチン濃度は高くなった。剖検において肉眼的所見は認められなかった。

結論として、雄ラットにアセナピンを活性本体として 2.8 mg/kg/日の用量で 4 週間反復皮下投与又はリスペリドンを 5 mg/kg/日の用量で 4 週間反復経口投与したところ、両薬剤には同様の影響が認められた。

2.6.6.9.4 [redacted]の毒性試験

2.6.6.9.4.1 類縁物質A*

2.6.6.9.4.1.1 Wistar ラットを用いた 類縁物質A* の 2 週間反復静脈内投与試験

【2.6.7.17.E】

【4.2.3.7.6-01】: R&DRR NL0056094（評価資料）

Wistar ラット（雄雌各 10 例/群）に 類縁物質A* を 0（溶媒対照群）、0.2、1 及び 5 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 2 週間反復静脈内投与した。

その結果、全ての 類縁物質A* 投与群において死亡は認められなかったが、軽度から中等度の縮瞳がほぼ連日みられた。1 及び 5 mg/kg/日群においては用量依存的な自発運動量の減少、軽度から中等度の四肢の外転、眼瞼下垂及び流涙がみられた。心電図測定においては、投与 9 日の投与直後に全ての類縁物質A* 投与群において中等度の心拍数増加がみられた。1 mg/kg/日群以上の雄で体重増加量のごく軽度な減少がみられた。また、摂餌量は 1 及び 5 mg/kg/日群の雄において第 2 週に減少したが、雌では投与期間を通じて増加した。血液生化学検査において、1 及び 5 mg/kg/日群の雄及び 5 mg/kg/日群の雌のコレステロール、HDL コレステロール及びリン脂質の低下が認められた。さらに、1 及び 5 mg/kg/日群の雄ではトリグリセリドの低下が認められた。臓器重量は、全ての 類縁物質A* 投与群の雄の副腎において軽度な増加が認められた。剖検時の肉眼的観察及び病理組織学的検査において異常はみられなかった。

結論として、1 mg/kg/日以上の用量で縮瞳及び心拍数増加のアドレナリン系への作用、自発運動の減少、四肢の外転、眼瞼下垂及び流涙等の中枢神経系への作用、体重及び摂餌量の変化、血漿中脂質系パラメータの低下、並びに副腎重量の増加が認められた。いずれの変化も軽微であり、毒性学的意義は低いと考えられた。以上のことから、NOAEL は 5 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.9.4.1.2 類縁物質A* の *Salmonella Typhimurium* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）

【2.6.7.17.F】

【4.2.3.7.6-02】: 79R-01139（参考資料）

Salmonella Typhimurium TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538 を用いて、代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下において 類縁物質A* の変異原性を評価した。

類縁物質A* の 8、40、200、500 及び 1000 µg/plate の処理濃度における生育阻害を評価した後（毒性試験）、類縁物質A* の 8、40、200 及び 1000 µg/plate の処理濃度での S9 mix の非存在下及び存在下における復帰突然変異株を評価した（実験 1）。また、再現性確認を目的として 類縁物質A* の 40、200、500 及び 1000 µg/plate の処理濃度での評価を再度実施した（実験 2）。

その結果、S9 mix 非存在下の 500 及び 1000 µg/plate の処理濃度において、TA98 及び TA1538 にのみ復帰変異体数の増加が認められた。実験 1 及び 2 において TA98 及び TA1538 に対し、これらの濃度での生育阻害はみられなかったものの、先に行った毒性試験では 500 及び 1000 µg/plate の処理濃度において生育阻害がみられていた。

結論として、類縁物質A* の 500 及び 1000 µg/plate において、復帰変異体数の増加がみられたものの、生育阻害がみられる濃度であったため、本試験結果により 類縁物質A* の変異原性に関しては、結論できなかった。

2.6.6.9.4.1.3 類縁物質A* の *Salmonella Typhimurium* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）その 2

【2.6.7.17.G】
【4.2.3.7.6-03】: 80R-00172（参考資料）

Salmonella Typhimurium TA98 及び TA1538 を用いて、代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下において 類縁物質A* 変異原性を評価した。

その結果、これらの試験菌株に弱い陽性反応が認められた先行試験（79R-01139）とは異なり、類縁物質A* は 100 ~ 1000 µg/plate の処理濃度において復帰変異体数の増加を引き起こさなかった。

結論として、本試験条件下において、類縁物質A* は変異原性を示さなかった。

2.6.6.9.4.1.4 類縁物質A* の *Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）

【2.6.7.17.H】
【4.2.3.7.6-04】: R&DRR NL0005854（評価資料）

Salmonella typhimurium（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び *Escherichia coli*（WP2 *uvrA*）において代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下における 類縁物質A* の遺伝子突然変異誘発性を評価した。処理濃度は用量設定試験に基づき 8、40、200、1000、2500 及び 5000 µg/plate とした。

その結果、S9 mix の有無にかかわらず、溶媒（DMSO）及び 類縁物質A* 処理プレートにおける復帰変異体数は、いずれの菌株においても溶媒対照（正常）の基準範囲内であったが、1000 µg/plate 以上の処理濃度において、復帰変異コロニー数の減少がみられた。S9 mix の有無にかかわらず、類縁物質A* はいずれの *S. typhimurium* 菌株及び *E. coli* 菌株においても、用量依存的な復帰変異体数の増加を引き起こさなかった。

結論として、本試験条件下において、類縁物質A* は変異原性を示さなかった。

2.6.6.9.4.1.5 類縁物質A* の培養ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験

【2.6.7.17.I】
【4.2.3.7.6-05】: R&DRR NL0053577（評価資料）

代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下において 類縁物質A* のヒト末梢血リンパ球における染色体異常誘発性を評価した。S9 mix の非存在下における薬剤への曝露時間は 3、24 及び 48 時間で、観察時間はそれぞれ 24、24 及び 48 時間、処理濃度はそれぞれ 100 ~ 250、33 ~ 75 及び 10 ~ 33 µg/mL とした。一方、S9 mix の存在下における薬剤への曝露時間は 3 時間で、観察時間は 24 及び 48 時間、処理濃度はそれぞれ 200 ~ 300 及び 10 ~ 250 µg/mL とした。

その結果、S9 mix の非存在下及び存在下ともに、いずれの条件においても、類縁物質A* は染色体異常を有する細胞数の増加を誘発しなかった。

結論として、類縁物質A* は培養ヒト末梢血リンパ球を用いた本試験において、染色体異常誘発性を示さなかった。

2.6.6.9.4.2 類縁物質B*

2.6.6.9.4.2.1 Wistar ラットを用いた類縁物質B* の 4 週間反復経口投与毒性試験

【2.6.7.17.J】
【4.2.3.7.6-06】: 82R-01801（参考資料）

Wistar ラット（雄雌各 8 例/群）に類縁物質B* を 0（溶媒対照群）、12.5、25 及び 50 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与した。

その結果、25 及び 50 mg/kg/日において一過性の軽度な自発運動量及び糞排泄量の減少がみられた。50 mg/kg/日群では雌雄において一過性の体重増加抑制が認められ、摂餌量は 50 mg/kg/日群の雌において一時的に減少したが、その後すべての類縁物質B* 投与群の雌で摂餌量の増加が認められた。また、50 mg/kg/日群の雌雄で肝重量の増加、雌で肝細胞の膨化及び空胞化及び AST のごく軽度な上昇、雄で甲状腺の濾胞上皮肥大が認められた。

結論として、本試験条件下において類縁物質B* を Wistar ラットに経口投与した場合の NOAEL は 12.5 mg/kg/日であると考えられた。

2.6.6.9.4.2.2 ビーグル犬を用いた類縁物質B* の 4 週間反復経口投与毒性試験

【2.6.7.17.J】
【4.2.3.7.6-07】: 83R-00086（参考資料）

イヌ（雄雌各 3 例/群）に類縁物質B* を 0（プラセボ錠投与、対照群）、25、50 及び 75 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 4 週間反復経口投与した。

その結果、75 mg/kg/日群の雄 2 例を投与 4 日目に一般状態の悪化により安楽殺した。生存例においても、全群で断続的な沈静及び興奮が用量依存的に認められた。50 及び 75 mg/kg/日群では胆管の上皮細胞増生及び軽度の胆管周囲における慢性炎症反応、並びに ALT 及び ALP の上昇がみられた。さらに、75 mg/kg/日群の雄では精子形成抑制、雌の 1 例では乳腺の分泌能亢進が認められた。25 mg/kg/日群においてみられた一般状態変化は薬理学的作用の延長であり、毒性学的意義は低いと考えられた。

結論として、本試験条件下において類縁物質B* をビーグル犬に経口投与した場合の NOAEL は 25 mg/kg/日であると考えられた。

2.6.6.9.4.2.3 類縁物質B* の *Salmonella typhimurium* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）

【2.6.7.17.K】
【4.2.3.7.6-08】: 79R-00021（参考資料）

Salmonella Typhimurium TA98、TA100、TA1535 及び TA1538 を用いて、代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下において類縁物質B* の変異原性を評価した。処理濃度は、8、40、200 及び 500 µg/plate として、試験にはアロクロールで酵素誘導を行ったラットから得られた肝 S9 画分を使用し、陰性対照としてアセトン（溶媒）を用いた。また、同条件下において、再現性の確認を目的とした評価を再度実施した。

その結果、S9 mix の非存在下及び存在下ともに、500 µg/plate の最高処理濃度において TA1538 にのみ、復帰変異コロニー数が約 2 倍に増加した。

結論として、類縁物質B* は本試験条件下において変異原性を示した。

2.6.6.9.4.2.4 類縁物質B* の *Salmonella typhimurium* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）

【2.6.7.17.L】

【4.2.3.7.6-09】: 79R-01140（参考資料）

Salmonella Typhimurium TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538 を用いて、代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下において 類縁物質B* の変異原性を評価した。類縁物質B* の処理濃度は、8、40、200 及び 1000 µg/plate として、試験にはアロクロールで酵素誘導を行ったラットから得られた肝 S9 画分を使用し、陰性対照としてメタノール（溶媒）を用いた。

その結果、S9 mix 存在下の 200 及び 1000 µg/plate の処理濃度において、TA1538 でのみ復帰変異コロニー数が約 2 倍に増加した。

結論として、類縁物質B* は本試験条件下において変異原性を示した。

2.6.6.9.4.2.5 類縁物質B* の *Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）

【2.6.7.17.M】

【4.2.3.7.6-10】: R&DRR NL0006414（評価資料）

Salmonella typhimurium（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び *Escherichia coli*（WP2 *uvrA*）を用いて、代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下における 類縁物質B* の変異原性を評価した。類縁物質B* の処理濃度は 8、40、200、1000 及び 2500 µg/plate として、試験にはアロクロールで酵素誘導を行ったラットから得られた肝 S9 画分を使用し、陰性対照として DMSO（溶媒）を用いた。

その結果、S9 mix の有無にかかわらず、1000 µg/plate 以上の処理濃度において全ての試験菌株に生育阻害が認められた。溶媒（DMSO）及び 200 µg/plate 以下の 類縁物質B* 処理プレートにおける復帰変異体数は S9 mix の非存在下及び存在下ともに、いずれの菌株においても溶媒対照（正常）の基準範囲内であった。

結論として、類縁物質B* は本試験条件下において変異原性を示さなかった。

2.6.6.9.4.2.6 類縁物質B* の *Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli* を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）

【2.6.7.17.N】

【4.2.3.7.6-11】: R&DRR NL0052683（評価資料）

Salmonella typhimurium（TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA1538）及び *Escherichia coli*（WP2 *uvrA*）を用いて、代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下における 類縁物質B* の変異原性を評価した。類縁物質B* の処理濃度は、TA100 及び WP2 *uvrA* は用量設定の目的も併せて 3、10、33、100、333、666、1000、3330、5000 µg/plate、TA98、TA1535、TA1537 及び TA1538 は 3、10、33、100、333、666、1000 µg/plate として、試験にはアロクロールで酵素誘導を行ったラットから得られた肝 S9 画分を使用し、陰性対照として DMSO（溶媒）を用いた。また、上述の条件下で 類縁物質B* の処理濃度 3、10、33、100、333 及び 666 µg/plate における試験及び、S9 mix の存在下での 類縁物質B* の処理濃度 3、10、33、100、333 及び 1000 µg/plate における試験を行った。

その結果、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの *S. typhimurium* 菌株及び *E. coli* 菌株においても復帰変異体数の用量依存的な 2 倍を超える増加はみられなかった。

結論として、類縁物質B* は Ames 試験において変異原性を示さなかった。

2.6.6.9.4.2.7 類縁物質B* の CHO 細胞を用いた in vitro 遺伝子（HPRT）突然変異試験

【2.6.7.17.O】

【4.2.3.7.6-12】: 82R-01562（参考資料）

CHO（チャイニーズハムスター卵巣）細胞を用いて、代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下における 類縁物質B* の HPRT 遺伝子座の遺伝子突然変異誘発能を評価した。類縁物質B* の処理濃度は 25、40、55 及び 70 µg/mL として、試験にはアロクロールで酵素誘導を行ったラットから得られた肝 S9 画分を使用し、陰性対照としてメタノール（溶媒）を用いた。

その結果、S9 mix 非存在下では、対照基準（正常）範囲内であったが、55 及び 70 µg/mL 処理濃度において突然変異の発現頻度は上昇した。一方、S9 mix 存在下において、類縁物質B* の細胞の増殖抑制が顕著にみられ、処理濃度 55 µg/mL において、突然変異の発現頻度が対照基準範囲を超えた。

結論として、類縁物質B* は CHO 細胞を用いた HPRT 突然変異試験において、突然変異誘発能を示した。

2.6.6.9.4.2.8 類縁物質B* のマウスリンパ腫細胞 L5178Y$^{+/-}$を用いた遺伝子突然変異試験

【2.6.7.17.P】

【4.2.3.7.6-13】: R&DRR NL0053636（評価資料）

マウスリンパ腫細胞 L5178Y$^{+/-}$を用いて、代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下における類縁物質B* の変異原性及び染色体異常誘発性を評価した。S9 mix の非存在下では、3 及び 24 時間の薬剤曝露時間を設定し、類縁物質B* の処理濃度はそれぞれ 10 ~ 60 µg/mL 及び 5 ~ 32.5 µg/mL とした。一方、S9 mix の存在下では、薬剤曝露時間は 3 時間、S9 mix の濃度は 8 及び 12%とし、類縁物質B* の処理濃度はそれぞれ 10 ~ 130 µg/mL 及び 10 ~ 120 µg/mL とした。試験にはアロクロールで酵素誘導を行ったラットから得られた肝 S9 画分を使用し、陰性対照として DMSO（溶媒）を用いた。

その結果、S9 mix の非存在下及び存在下ともに、突然変異発現頻度の有意な増加はみられなかった。

結論として、類縁物質B* はマウスリンパ腫細胞 L5178Y$^{+/-}$を用いた遺伝子突然変異試験において突然変異及び染色体異常誘発性を示さなかった。

2.6.6.9.4.2.9 類縁物質B* のラットを用いた骨髄小核試験

【2.6.7.17.Q】

【4.2.3.7.6-14】: 79R-01058（参考資料）

Sprague Dawley ラット（雄雌各 6 例/群）に 類縁物質B* を 0（溶媒対照群）、1、10 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 2 日間反復経口投与した。1 及び 10 mg/kg/日群は雄ラットのみとした。最終投与の 5 時間後に動物を安楽殺し、多染性赤血球 1000 個あたりの小核を有する赤血球数を計測した。

その結果、類縁物質B* 投与による小核を有する多染性赤血球数割合の増加はみられなかった。

結論として、類縁物質B* はラットを用いた骨髄小核試験において小核誘発能を示さなかった。

2.6.6.9.4.2.10 類縁物質B* のウサギを用いた胚・胎児毒性パイロット試験

【2.6.7.17.R】
【4.2.3.7.6-15】: 80R-00224（参考資料）

妊娠ウサギ（12 例/群）に 類縁物質B* を 0（溶媒対照群）及び 80 mg/kg/日の用量で、1 日 1 回妊娠第 6 日から 18 日まで反復経口投与し、妊娠及び胚・胎児発生に及ぼす影響を評価した。妊娠が認められた例数は溶媒対照群が 12 例、類縁物質B* 投与群が 12 例であった。

その結果、母動物の体重及び摂餌量は溶媒対照群と同程度であり、母体毒性は認められなかった。一方、胚胎児毒性として、類縁物質B* 投与群における着床後胚損失率は約 54%となり、溶媒対照群の約 2 倍高かった。1 腹あたりの奇形発生率に溶媒対照群との統計学的な差はみられなかったが、重大な異常（major defect）を有する胎児の発現率は溶媒対照群に比べて有意に高かった。

結論として、類縁物質B* は、80 mg/kg/日の用量で器官形成期における経口投与により、胚・胎児毒性及び催奇形性を示した。

2.6.6.9.5 [redacted]の毒性試験

2.6.6.9.5.1 N-酸化体（類縁物質C*）

[redacted]であり、また代謝物でもある N-酸化体に関する試験は実施していない。

2.6.6.9.5.2 類縁物質D*

2.6.6.9.5.2.1 類縁物質D* の *Salmonella typhimurium* ヒスチジン要求５菌株を用いた復帰突然変異試験

【2.6.7.17.S】
【4.2.3.7.6-16】: R&DRR INT00009333（評価資料）

Salmonella typhimurium TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA102 を用いて、代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下において、類縁物質D* の 1.6 ~ 5000 µg/plate の濃度における復帰突然変異試験を実施した。また、上述の条件下で 類縁物質B* の処理濃度 156.25 ~ 5000 或いは 31.25 ~ 5000 µg/plate における試験を追加検討として実施した。陰性対照として DMSO（溶媒）を用いた。

その結果、代謝活性化系の非存在下及び存在下ともに、いずれの菌株においても統計学的に有意で用量依存性及び再現性のある復帰突然変異体数の増加は認められなかった。

結論として、類縁物質D* は本試験条件下で *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA102 において、変異原性を示さなかった。

2.6.6.9.5.2.2 類縁物質D* の培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

【2.6.7.17.T】
【4.2.3.7.6-17】: R&DRR INT00010354（評価資料）

男性ドナー3 名のプール血液から調製した培養ヒトリンパ球を用いて、代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下における、類縁物質D* の in vitro 染色体異常試験を行った。

S9 mix の非存在下では、3 及び 20 時間の薬剤曝露時間を設定し、類縁物質D* の処理濃度はそれぞれ 130 ~ 220 µg/mL（130 ~ 192.5 µg/mL、190.0 ~ 220.0 µg/mL）及び 10 ~ 50 µg/mL とした。一方、S9 mix

の存在下では、薬剤曝露時間は 3 時間、類縁物質D* の処理濃度は 85 ~ 167.3 µg/mL（85 ~ 115.0 µg/mL、120.9 ~ 167.3 µg/mL）とした。試験にはアロクロールで酵素誘導を行ったラットから得られた肝 S9 画分を使用し、陰性対照として DMSO（溶媒）を用いた。

その結果、S9 mix の非存在下では、3 時間処理条件の 167.5 µg/mL 以上において、構造異常（欠失及び交換、但し、ギャップを除く）を有する細胞の発現頻度が用量依存的に有意に上昇した。この上昇は、再現性がみられた。20 時間処理条件では、構造異常を有する細胞の発現頻度の上昇はみられなかった。一方、S9 mix の存在下では、3 時間処理条件の 120.9 µg/mL 以上において、構造異常を有する細胞の発現頻度が用量依存的に有意に上昇した。数的異常を有する細胞に関して、S-9 の有無にかかわらず、類縁物質D* 処理により散見されたが、その発現数は陰性対照で観察される範囲内であった。

結論として、ラット S9 mix の有無にかかわらず、類縁物質D* は培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験において染色体異常誘発性を示した。

2.6.6.9.5.2.3 類縁物質D* のコメットアッセイによるラット肝、胃及び十二指腸における DNA 損傷の検出

【2.6.7.17.U】

【4.2.3.7.6-18】: R&DRR INT00022602（評価資料）

類縁物質D* をラットに投与し、肝臓、胃及び十二指腸における DNA 鎖切断及びアルカリ感受性部位の誘発能を、DNA 損傷の程度により評価した。

用量設定試験では Wistar/HAN ラット（雌雄各 3 例/群）に 類縁物質D* を 100 mg/kg/日（投与可能な最大用量）の用量で 1 日 1 回 2 日間反復経口投与した。その結果、一般状態の変化はみられず、また毒性発現に性差はみられなかったことから、コメットアッセイには雄動物のみを使用した。

コメットアッセイでは、雄ラット（6 例/群）に 類縁物質D* を 0（溶媒対照群）、50 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 2 日間反復経口投与した。陽性対照群として、エチルメタンスルホン酸を 250 mg/kg の用量で単回経口投与した。最終投与の 3 時間後に肝臓、胃及び十二指腸を採材し、各臓器における DNA 損傷を調べた。なお、一般状態に変化は認められなかったが、類縁物質D* 投与群において体重の減少又は増加抑制が散見された。

アッセイの結果、類縁物質D* 投与群の肝臓、胃及び十二指腸における tail moment 及び tail intensity は溶媒対照群と同程度であった。胃及び十二指腸において用量相関性のある減少或いは増加がみられていたものの、変化は小さく、架橋形成又は DNA 損傷を示唆するものではなく生物学的意義は低いと考えられた。なお、類縁物質D* 投与群の全組織における細胞毒性のレベルは許容範囲内であった。

結論として、類縁物質D* はラットを用いる肝臓、胃及び十二指腸を対象としたコメットアッセイにおいて、DNA 損傷誘発能を示さなかった。

2.6.6.9.5.2.4 類縁物質D* のラットを用いた骨髄小核試験

【2.6.7.17.V】

【4.2.3.7.6-19】: R&DRR INT00012699（評価資料）

類縁物質D* のラット骨髄小核試験を実施した。用量設定試験では Wistar/HAN ラット（雌雄各 3-4 例/群）に 類縁物質D* を 50、70 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 2 日間反復皮下投与した。最終投与後 2 日間の動物の状態を観察した。その結果、1 回目の投与後に 100 mg/kg/日群において立毛、眼

瞼閉鎖、自発運動の減少及び体重減少がみられた。雌は翌日になっても一般状態が回復しなかったため全て安楽殺し、雄は一般状態は回復したものの体重減少がみられたため 2 回目の投与を中止した。70 mg/kg/日群において動物の死亡はみられなかったため、70 mg/kg/日を小核試験の最大用量に設定した。

小核試験ではラット（雄雌各 6 例/群）に 類縁物質D* を 0（溶媒対照群）、17.5、35 及び 70 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 2 日間反復皮下投与し、最終投与の 24 時間後に評価を行った。また、主群に加え TK サテライト群としてラット（雄雌各 4 例/群）に 類縁物質D* を小核試験と同様の方法で投与し、最終投与から約 0、1、2、4、8 及び 24 時間後に採血した。その結果、主群において一般状態に変化はみられなかった。小核観察の結果、類縁物質D* 投与群の平均 PCE 率（%）及び小核を有する PCE の発現頻度は、いずれの用量においても溶媒対照群と同程度であり、小核発現頻度の上昇は認められなかった。また、血漿中濃度測定では全ての 類縁物質D* 投与動物において全身曝露が確認された。

結論として、類縁物質D* はラット骨髄小核試験において、小核誘発能を示さなかった。

2.6.6.9.5.3 類縁物質 E*

2.6.6.9.5.3.1 類縁物質 E* の *Salmonella typhimurium* ヒスチジン要求５菌株を用いた復帰突然変異試験

【2.6.7.17.W】

【4.2.3.7.6-20】: R&DRR INT00009335（評価資料）

Salmonella typhimurium TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び TA102 を用いて、代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下において、類縁物質E* の 1.6 ~ 5000 µg/plate の濃度範囲における復帰突然変異試験を実施した。陰性対照として DMSO（溶媒）を用いた。

その結果、代謝活性化系の非存在下及び存在下ともに、いずれの菌株においても統計学的に有意で用量依存性又は再現性のある復帰突然変異体数の増加は認められなかった。

結論として、類縁物質E* は本試験条件下において、変異原性を示さなかった。

2.6.6.9.5.3.2 類縁物質 E* の培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

【2.6.7.17.X】

【4.2.3.7.6-21】: R&DRR INT00010385（評価資料）

男性ドナー3 名のプール血液から調製した培養ヒトリンパ球を用いて、代謝活性化系（S9 mix）の非存在下及び存在下における、類縁物質E* の in vitro 染色体異常試験を行った。

S9 mix の非存在下では、3 及び 20 時間の薬剤曝露時間を設定し、類縁物質E* の処理濃度はそれぞれ 160 ~ 190 µg/mL 及び 50 ~ 90 µg/mL とした。一方、S9 mix の存在下では、薬剤曝露時間は 3 時間、類縁物質E* の処理濃度は 30 ~ 110 µg/mL（70 ~ 110、40 ~ 60、30 ~ 50 µg/mL）とした。試験にはアロクロールで酵素誘導を行ったラットから得られた肝 S9 画分を使用し、陰性対照として DMSO（溶媒）を用いた。

その結果、S9 mix の非存在下では、3 時間処理条件の 160 µg/mL 以上の濃度において、構造異常（欠失及び交換、但し、ギャップを除く）を有する細胞の発現頻度が用量依存的且つ有意に上昇した。また、数的異常を有する細胞数の有意な上昇が認められ、陰性対照の基準範囲を超えた。これは倍数体細胞の発現頻度上昇によるものであった。20 時間処理条件では、構造異常又は数的異常を有する細胞の発現頻度の上昇はみられなかった。一方、S9 mix の存在下では、30 ~ 60 µg/mL の濃度において、

構造異常を有する細胞の発現頻度が用量依存的且つ有意に上昇した。数的異常を有する細胞数の増加もみられたが、用量依存性又は再現性がみられなかったため、生物学的意義はないと考えられた。

結論として、ラット S9 mix の有無にかかわらず、類縁物質 E* は培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験において染色体異常誘発性を示した。

2.6.6.9.5.3.3 類縁物質 E* のコメットアッセイによるラット肝、胃及び十二指腸における DNA 損傷の検出

【2.6.7.17.Y】

【4.2.3.7.6-22】: R&DRR INT00022157（評価資料）

類縁物質 E* をラットに投与し、肝臓、胃及び十二指腸における DNA 鎖切断及びアルカリ感受性部位の誘発能を、DNA 損傷の程度により評価した。

用量設定試験では Wistar/HAN ラット（雌雄各 3 例/群）に 類縁物質 E* を 100 mg/kg/日の用量（投与可能な最大用量）で 1 日 1 回 2 日間反復経口投与した。その結果、一般状態の変化はみられず、また毒性発現に性差はみられなかったことから、コメットアッセイには雄動物のみを使用した。

コメットアッセイでは、雄ラット（6 例/群）に 類縁物質 E* を 0（溶媒対照群）、50 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 2 日間反復経口投与した。陽性対照群として、エチルメタンスルホン酸を 250 mg/kg の用量で単回経口投与した。最終投与の 3 時間後に肝臓、胃及び十二指腸を採材し、各臓器における DNA 損傷を調べた。なお、全ての投与群の一般状態に変化は認められなかった。

アッセイの結果、類縁物質 E* 投与群の肝臓、胃及び十二指腸における tail moment 及び tail intensity は溶媒対照群と同程度であった。なお、類縁物質 E* 投与群の全組織における細胞毒性のレベルは許容範囲内であった。

結論として、類縁物質 E* はラットを用いる肝臓、胃及び十二指腸を対象としたコメットアッセイにおいて、DNA 損傷誘発能を示さなかった。

2.6.6.9.5.3.4 類縁物質 E* のラットを用いた骨髄小核試験

【2.6.7.17.Z】

【4.2.3.7.6-23】: R&DRR INT00021012（評価資料）

類縁物質 E* のラット骨髄小核試験を実施した。用量設定試験では Wistar/HAN ラット（雌雄各 3 例/群）に 類縁物質 E* を 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 2 日間反復皮下投与し、最終投与後 2 日間の動物の状態を観察した。その結果、立毛、眼瞼閉鎖がみられたが重篤な変化はなかったため、100 mg/kg/日を小核試験の最大用量に設定した。

小核試験では主群としてラット（雄雌各 6 例/群）に 類縁物質 E* を 0（溶媒対照群）、25、50 及び 100 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 2 日間反復皮下投与し、最終投与の 24 時間後に評価を行った。また、TK サテライト群としてラット（雄雌各 4 例/群）に 類縁物質 E* を小核試験と同様の方法で投与し、最終投与から約 0、1、2、4、8 及び 24 時間後に採血した。その結果、主群において一般状態に変化はみられなかった。小核観察の結果、類縁物質 E* 投与群の平均 PCE 率（%）及び小核を有する PCE の発現頻度は、いずれの用量においても溶媒対照群と同程度であり、小核発現頻度の上昇は認められなかった。血漿中濃度測定では、全ての 類縁物質 E* 投与動物において全身曝露が確認された。

結論として、類縁物質 E* はラット骨髄小核試験において、小核誘発能を示さなかった。

2.6.6.10 考察及び結論

2.6.6.10.1 重要な試験における安全域

一般毒性及び生殖毒性試験の重要な試験における NOAEL 又は NOEL の曝露量を表 2.6.6-19に示す。臨床最大推奨用量（10 mg、1 日 2 回）投与時の薬物動態に基づき、安全域を算出した。

表 2.6.6-19 NOAEL における曝露量及び安全域

試験	用量（mg/kg/日）	NOAEL（mg/kg/日）		NOAEL を判断した根拠となる所見	NOAEL における AUC (ng·hr/mL), C_{max} (ng/mL)	安全域 AUC, C_{max}
52 週間 ラット 経口投与 2.6.6.3.8	0.6, 3.6, 21.6 1 日 2 回分割	0.6		全身状態の悪化	雄：38, 15 [c]	雄：1.0, 2.7 [a]
4 週間 イヌ 経口投与 2.6.6.3.14	20, 40, 80 1 日 1 回	<20		肝毒性	雄：<350, <127 [d] 雌：<316, <155 [d]	雄：<4.6, <23.5 [b] 雌：<4.2, <28.7 [b]
13 週間 イヌ 経口投与 2.6.6.3.16	1.25, 7.5, 20 1 日 1 回	1.25		肝毒性	雄：10, 4 [e] 雌：14, 6 [e]	雄：0.1, 0.7 [b] 雌：0.1, 1.1 [b]
52 週間 イヌ 経口投与 2.6.6.3.17	0.2, 1.2, 7.2 1 日 2 回分割	7.2		最高用量において毒性なし	雄：63, 23 [f] 雌：57, 28 [f]	雄：1.6, 4.2 [a] 雌：1.5, 5.1 [a]
受胎能及び初期胚発生 ラット 経口投与 2.6.6.6.2.1	1, 5, 30 1 日 2 回分割	親動物	1	体重増加抑制	78, 23 [g]	2.0, 4.2 [a]
		生殖能	<1	交尾までの時間延長	<78, <23 [g]	<2.0, <4.2 [a]
		胚・胎児	30	毒性なし	493, 152 [h]	13.1, 28.2 [a]
		出生児	1	新生児数減少、体重低値	78, 23 [g]	2.0, 4.2 [a]
胚・胎児発生 ラット 経口投与 2.6.6.6.2.2	1, 5, 30 1 日 2 回分割	母動物	1	横臥位、体重増加抑制、摂餌量減少	78, 23 [g]	2.0, 4.2 [a]
		胚・胎児	5	体重低値	143, 52 [i]	3.8, 9.6 [a]
		出生児	30	毒性なし	493, 152[h]	13.1, 28.2 [a]
胚・胎児発生 ラット 静脈内投与 2.6.6.6.2.3	0.3, 0.9, 1.5（AE） 1 日 1 回	母動物	1.5	毒性なし	392 [j], ND	5.2 [b], ND
		胚・胎児	1.5	毒性なし	392 [j], ND	5.2 [b], ND
出生前及び出生後の発生 ラット 静脈内投与 2.6.6.6.2.6	0.3, 0.9, 1.5（AE） 1 日 1 回	母動物	<0.3	体重減少、摂餌量減少、着床後胚損失率の上昇	<88 [k], ND	<1.1 [b], ND
		出生児	0.3	体重低値、出生 4 日後生存率の低下	88 [k], ND	1.1 [b], ND
胚・胎児発生 ウサギ 経口投与 2.6.6.6.2.4	1, 5, 30 1 日 2 回分割	母動物	5	呼吸困難、腹臥位、死亡、摂餌量減少	ND	ND
		胚・胎児	5	体重低値	ND	ND
胚・胎児発生 ウサギ 静脈内投与 2.6.6.6.2.5	0.025, 0.125, 0. 625 1 日 1 回	母動物	0.025	死亡	5.36 [l], ND	0.07 [b], ND
		胚・胎児	0.625	毒性なし	158 [m], ND	2.1 [b], ND

AE：活性本体に換算した用量
ND：未確定
a：ヒト $AUC_{0\text{-}12h}$=37.5 ng·hr/mL 及び C_{max}=5.39 ng/mL に基づく【2.7.2.2.2.1.1】
b：ヒト $AUC_{0\text{-}24h}$=75 ng·hr/mL（$AUC_{0\text{-}12}$ の 2 倍）及び C_{max}=5.39 ng/mL に基づく【2.7.2.2.2.1.1】

c：52 週間ラット経口投与試験（0.6 mg/kg/日 BID の反復投与）の $AUC_{0\text{-}7}$=38 ng·hr/mL 及び C_{max}=15 ng/mL（雄）
d：52 週間イヌ経口投与試験（3.6 mg/kg の単回投与）の $AUC_{0\text{-}8}$=63 ng·hr/mL（雄）、57 ng·hr/mL（雌）及び C_{max}=23 ng/mL（雄）、C_{max}=28 ng/mL（雌）から推定
e：52 週間イヌ経口投与試験（0.6 mg/kg の単回投与）の $AUC_{0\text{-}8}$=5.0 ng·hr/mL（雄）、6.7 ng·hr/mL（雌）及び C_{max}=2 ng/mL（雄）、C_{max}=3 ng/mL（雌）から推定
f：52 週間イヌ経口投与試験（3.6 mg/kg の単回投与）の $AUC_{0\text{-}8}$=63 ng·hr/mL（雄）、57 ng·hr/mL（雌）及び C_{max}=23 ng/mL（雄）、C_{max}=28 ng/mL（雌）
g：52 週間ラット経口投与試験（0.3 mg/kg の単回投与）の $AUC_{0\text{-}7}$=47 ng·hr/mL 及び C_{max}=14 ng/mL（雌）から推定
h：52 週間ラット経口投与試験（21.6 mg/kg/日 BID の反復投与）の $AUC_{0\text{-}7}$=355 ng·hr/mL 及び C_{max}=110 ng/mL（雄）から推定
i：52 週間ラット経口投与試験（1.8 mg/kg の単回投与）の $AUC_{0\text{-}7}$=103 ng·hr/mL 及び C_{max}=38 ng/mL（雌）から推定
j：2 週間ラット静脈内投与 TK 試験（4.2.2.2-03）（1.5 (AE) mg/kg/日の反復投与）の $AUC_{0\text{-}7}$=392 ng·hr/mL（雌）
k：2 週間ラット静脈内投与 TK 試験（4.2.2.2-03）（0.3 (AE) mg/kg/日の反復投与）の $AUC_{0\text{-}7}$=88 ng·hr/mL（雌）
l：ウサギ静脈内投与胚・胎児毒性試験（0.025 mg/kg/日の反復投与）の $AUC_{0\text{-}3}$=5.36 ng·hr/mL（雌）
m：ウサギ静脈内投与胚・胎児毒性試験（0.625 mg/kg/日の反復投与）の $AUC_{0\text{-}3}$=158 ng·hr/mL（雌）

2.6.6.10.2 毒性の標的臓器

ラットを用いた52週間（0.6、3.6及び21.6 mg/kg/日）並びにイヌを用いた4週間（20、40及び80 mg/kg/日）及び13週間（1.25、7.5及び20 mg/kg/日）の反復経口投与毒性試験の結果から、アセナピンの標的臓器は、肝臓及び腎臓と考えられた。

肝臓への影響については、アセナピンをイヌに経口投与することにより用量及び投与期間に応じて次の3種類の変化がみられた。4週間投与では、20 mg/kg/日以上の投与により小胆管内に胆汁とは異なる色素の蓄積が認められた。4及び13週間投与では、7.5 mg/kg/日以上の投与によりALTの上昇及び炎症性細胞の集簇を伴う肝細胞の変性・壊死並びに小葉間線維増生がみられた。これらの肝臓の変化は静脈内投与試験ではみられなかったが、13及び39週間静脈内投与試験の最高用量である2.5及び1.6 mg/kg/日投与時の $AUC_{0\text{-}24/\infty}$はそれぞれ540～580及び590～760 ng·hr/mLであり、肝臓に傷害性変化がみられた7.5 mg/kg/日の経口投与時の $AUC_{0\text{-}8}$（推定で120～130 ng·hr/mL）より4～6倍高かった。肝臓の傷害性変化が静脈内投与より曝露が低い経口投与においてみられた原因として、経口投与ではアセナピンが全身を循環する前に肝臓を通過することが関連していると考えられた。

腎臓への影響については、ラットでは、3.6 mg/kg/日以上の用量において、BUN及びクレアチニンの僅かな上昇がみられ、イヌでは、20 mg/kg/日以上の用量において、皮質尿細管に好塩基性変化及び上皮細胞の脱落等がみられた。また、高用量（200 mg/kg）の単回経口投与においても腎毒性を示唆するBUN及びクレアチニンの増加が認められた。

2.6.6.10.3 生殖発生毒性

生殖発生毒性について、雌雄ラットにアセナピンを交配前から交配期間、さらに雌では妊娠期間及び分娩後21日まで反復経口投与した結果、F0動物の一般状態変化がみられる用量（1 mg/kg/日以上）において、F0動物の生殖能低下及び出生児の発達遅延が認められた。妊娠ラットの器官形成期にアセナピンを反復経口投与した結果、30 mg/kg/日の用量において、着床後胚損失率の増加及び胎児体重の減少がみられたが、催奇形性は認められなかった。妊娠ウサギの器官形成期にアセナピンを経口投与したところ、母動物の死亡がみられる用量（30 mg/kg/日）において、胎児体重の減少がみられたが、催奇形性は認められなかった。妊娠ラット及び妊娠ウサギの器官形成期にアセナピンを静脈内投与した結果、ラットでは0.125 mg/kg/日以上、ウサギでは0.625 mg/kg/日において一般状態変化がみられたが、催奇形性は認められなかった。ラットに器官形成期から分娩後の授乳期を通じてアセナ

ピンを静脈内投与した結果、0.3 mg/kg/日以上で自発運動の減少等がみられ、0.9 mg/kg/日以上での出生 4 日後の出生児生存率が低下した。また、0.9 mg/kg/日以上で出生児の低体重及び外生殖器の発達の遅れ、1.5 mg/kg/日で光回避性の軽度な低下がみられた。交叉哺育試験を行った結果、アセナピンによる出生児生存率の低下は、母動物の哺育行動の変化によるものではなく、胎児期にアセナピンの曝露を受けたことによる出生児への影響によるものと考えられた。ヒトでの妊娠中の投与に関する安全性は確立していないため、「妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には、治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すること」と注意喚起する。

2.6.6.10.4 抗原性試験

抗原性について、モルモットを用いた評価では、アセナピン単独（コンジュゲートでない）投与による感作・惹起条件において、アセナピンに抗原性は認められなかった。

2.6.6.10.5 不純物の毒性評価

2.6.6.10.5.1 N-脱メチル体及び N-酸化体（類縁物質 C*）の毒性

ヒトにおける代謝物としてアセナピンの N-脱メチル体及び N-酸化体（類縁物質 C*）が確認されている。これらの代謝物については、ラット及びイヌを用いたアセナピンの一般毒性試験の曝露量が、ヒト（10 mg/man を 1 日 2 回）の曝露量を上回ることから（表 2.6.6-20を参照）、アセナピンの毒性試験により安全性の評価が可能と考えられた。

表 2.6.6-20 N-脱メチル体及び N-酸化体の最大用量における曝露量

試験	最大用量*	AUC (ng·hr/mL)		
		アセナピン	N-脱メチル体	N-酸化体
52 週間 ラット 経口投与	1: 21.6 mg/kg/日 2: 15.3 mg/kg/日	355（雄）	1407（雄）	482（雄）
52 週間 イヌ 経口投与	1: 7.2 mg/kg/日 2: 5.1 mg/kg/日	63（雄）[b] 57（雌）[b]	1182（雄）[b] 1918（雌）[b]	248（雄）[b] 290（雌）[b]
臨床薬理試験（反復）[a] 健康成人男性（日本人） 舌下投与	1: 該当なし 2: 10 mg×2/man/日	37.5	23.1	—[c]

*：1. 用量、2. 活性本体に換算した用量
a：【2.7.2.2.2.1.1】参照
b：3.6 mg/kg 単回投与時の AUC
c：N-酸化体の濃度は大部分が定量下限（0.100 ng/mL）未満であったため、AUC は算出できなかった。

ラット及びイヌを用いた 52 週間反復経口投与毒性試験の NOAEL 並びに健康成人男性（日本人）における反復舌下投与時の曝露量に基づき、アセナピン及び N-脱メチル体の安全域を算出したところ、それぞれ 1.0 倍以上及び 2.6 倍以上であった（表 2.6.6-21を参照）。N-酸化体については、健康成人男性（日本人）において大部分の濃度が定量下限（0.100 ng/mL）未満であったため AUC を算出することができず、安全域を求めることができなかった。

表 2.6.6-21 N-脱メチル体及び N-酸化体の安全域

試験	NOAEL*	AUC (ng·hr/mL)		
		アセナピン	N-脱メチル体	N-酸化体
52 週間 ラット 経口投与	1: 0.6 mg/kg/日 2: 0.4 mg/kg/日	38（雄）	60（雄）	35（雄）
52 週間 イヌ 経口投与	1: 7.2 mg/kg/日 2: 5.1 mg/kg/日	63（雄）[b] 57（雌）[b]	1182（雄）[b] 1918（雌）[b]	248（雄）[b] 290（雌）[b]
ヒト AUC[a] に基づいた安全域（倍）		ラット（雄）: 1.0 イヌ（雄）: 1.7 イヌ（雌）: 1.5	ラット（雄）: 2.6 イヌ（雄）: 51 イヌ（雌）: 83	ND

*：1. 用量、2. 活性本体に換算した用量
ND : 健康成人男性（日本人）における N-酸化体の濃度は大部分が定量下限（0.100 ng/mL）未満であったため、安全域を算出できなかった。
a：臨床薬理試験（反復）、健康成人男性（日本人）、舌下投与（【2.7.2.2.2.1.1】参照）
b：3.6 mg/kg 単回投与時の AUC

2.6.6.10.5.2 その他の不純物の毒性評価

[redacted]（類縁物質A*、類縁物質B*）及び[redacted]（類縁物質D* 及び 類縁物質E*）の毒性評価のまとめを表 2.6.6-22に示した。

表 2.6.6-22 不純物の毒性評価のまとめ

化合物	試験	用量[a]（mg/kg/日） 結果	安全域[b]	規格	ヒトでの1日当たりの最大摂取量[c]	
					(μg/日)	(μg/kg/日)
[redacted]						
類縁物質A*	ラット 2 週間 i.v.	0.2、1、5	10000	[redacted]	30	0.5
	Ames 試験	陰性	—			
	染色体異常試験	陰性				
類縁物質B*	ラット 4 週間 p.o.	12.5, 25, 50	62500		30	0.5
	イヌ 4 週間 p.o.	25, 50, 75	50000			
	Ames 試験	陽性[d]/陰性	—			
	HPRT 試験	陽性				
	マウスリンフォーマ試験	陰性				
	ラット骨髄小核 p.o.	陰性				
	ウサギ胚・胎児毒性	80 （NOAEL は<80）	<160000			
[redacted]						
類縁物質D*	Ames 試験	陰性	—		100	1.7
	染色体異常試験	陽性				
	ラット胃、腸、肝 コメット p.o.	陰性				
	ラット骨髄小核 s.c.	17.5, 35, 70 陰性	41176			
類縁物質E*	Ames 試験	陰性	—		100	1.7
	染色体異常試験	陽性				
	ラット胃、腸、肝 コメット p.o.	陰性				
	ラット骨髄小核 s.c.	25, 50, 100 陰性	58823			

a) NOAEL を下線で示した。
b) 投与量（mg/kg/日）から算出した安全域
c) ヒトの体重を 60 kg として、臨床最大推奨用量である 20 mg（10 mg を 1 日 2 回投与）に基づき算出した。
d) 参考資料において、TA1538 の復帰コロニー数が約 2 倍に増加
－：計算せず

いずれの[redacted]及び[redacted]においても、広い安全域が認められ、臨床使用において安全性に影響する可能性は低いと考えられた。

2.6.6.10.6 結論

これらの非臨床毒性試験の成績を評価した結果、アセナピンの臨床使用において、重篤な副作用が発現する可能性は低いと考えられた。

2.6.6.11 文献一覧

1) 【4.3-06】Ema M, Aoyama H, Arima A, Asano Y, Chihara K, Endoh K et al. Historical control data on prenatal developmental toxicity studies in rabbits. Congenit Anom. 2012;52(3):155-61.