リフキシマ錠 200mg

医薬品製造販売承認申請書添付資料

2.6.6 毒性試験の概要文

あすか製薬株式会社

目次

2.6.6 毒性試験の概要文 6
2.6.6.1 まとめ 6
2.6.6.2 単回投与毒性試験 12
2.6.6.2.1 CFLP ICI 系マウスを用いた単回経口投与毒性試験 12
2.6.6.2.2 Crl:CD1(ICR)系マウスを用いた単回経口投与毒性試験 13
2.6.6.2.3 SD 系ラットを用いた単回経口投与毒性試験 13
2.6.6.2.4 Hsd:SD(CD)系ラットを用いた単回経口投与毒性試験 13
2.6.6.2.5 Hsd/Ola:ICR 系マウスを用いた単回静脈内投与毒性試験 14
2.6.6.2.6 Hsd:SD(CD)系ラットを用いた単回静脈内投与毒性試験 14
2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 15
2.6.6.3.1 CByB6F1 マウスを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験 15
2.6.6.3.2 Crl:CD 系ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験 16
2.6.6.3.3 COBS CD(SD)系ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験 16
2.6.6.3.4 CRL:CD(SD)BR/LG 系ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験 17
2.6.6.3.5 Crl:CD(SD)IGS BR 系ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験 17
2.6.6.3.6 ビーグル犬を用いた 7 日間反復経口投与毒性試験 18
2.6.6.3.7 ビーグル犬を用いた 4 週間反復経口投与毒性試験 18
2.6.6.3.8 ビーグル犬を用いた 13 週間反復経口投与毒性試験 19
2.6.6.3.9 ビーグル犬を用いた 26 週間反復経口投与毒性試験 19
2.6.6.3.10 ビーグル犬を用いた 39 週間反復経口投与毒性試験 19
2.6.6.4 遺伝毒性試験 20
2.6.6.4.1 *Salmonella typhimurium* を用いた変異原性試験 20
2.6.6.4.2 *Salmonella typhimurium* を用いた変異原性試験 21
2.6.6.4.3 *Saccharomyces cerevisiae* を用いた変異原性試験 21
2.6.6.4.4 *Schizosaccharomyces pombe* を用いた変異原性試験 21
2.6.6.4.5 CHO/HGPRT を用いた変異原性試験 22
2.6.6.4.6 ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験 22
2.6.6.4.7 Crl:CD(SD) BR 系ラット骨髄細胞を用いた小核試験 22
2.6.6.4.8 SD 系ラット初代培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験 23
2.6.6.4.9 Crl:CD(SD)系ラットの胃粘膜を用いたコメットアッセイ試験 23
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） 24
2.6.6.5.1 Crl:CD(SD)系ラットを用いた 2 年間反復経口投与がん原性試験 24
2.6.6.5.2 Tg.rasH2 マウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験 25
2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 28
2.6.6.6.1 SD 系ラットを用いた受胎能及び生殖能に関する試験 28
2.6.6.6.2 SD 系ラットを用いた受胎能並びに周産期及び授乳期の発達に関する予備試験 28
2.6.6.6.3 Crl:CD(SD)ラットを用いた受胎能及び胚・胎児発生毒性に関する試験 29

2.6.6.6.4 New Zealand White ウサギを用いた胚・胎児発生毒性予備試験 29
2.6.6.6.5 New Zealand White ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験 30
2.6.6.6.6 SD 系ラット及び New Zealand White ウサギを用いた胎児発生毒性及び出生前後の毒性試験 31
2.6.6.6.7 Crl:CD(SD)系ラットを用いた出生前及び出生後の発達に関する試験 31
2.6.6.7 局所刺激性試験 32
2.6.6.8 その他の毒性試験 32
2.6.6.8.1 Crl:CD (SD)IGS BR 系ラットを用いた 4 週間反復経口投与免疫毒性試験 32
2.6.6.8.2 代謝物の毒性 33
2.6.6.8.3 不純物の毒性 34
2.6.6.8.4 Dunkin-Hartley 系モルモットを用いた皮膚感作性試験 35
2.6.6.8.5 [redacted] L-105 のビーグル犬を用いた単回経口投与毒性試験 36
2.6.6.8.6 [redacted] L-105 のビーグル犬を用いた 4 週間反復経口投与毒性試験 36
2.6.6.8.7 [redacted] L-105 のビーグル犬を用いた 26 週間反復経口投与毒性試験 37
2.6.6.9 考察及び結論 38
2.6.6.10 参考文献一覧 40

表

表 2.6.6-1. L-105 の単回投与毒性試験一覧 6
表 2.6.6-2. L-105 の反復投与毒性試験一覧 7
表 2.6.6-3. L-105 の遺伝毒性試験一覧 8
表 2.6.6-4. L-105 のがん原性試験一覧 9
表 2.6.6-5. L-105 の生殖発生毒性試験一覧 10
表 2.6.6-6. L-105 のその他毒性試験一覧 12
表 2.6.6-7. マウス 4 週間反復経口投与試験における L-105 の全身曝露 16
表 2.6.6-8. ラット 26 週間反復経口投与試験における L-105 の全身曝露 18
表 2.6.6-9. イヌ 39 週間反復経口投与試験における L-105 の全身曝露 20
表 2.6.6-10. がん原性試験で触知腫瘤が認められた例数 24
表 2.6.6-11. ラット心臓におけるシュワン細胞腫の発現頻度 25
表 2.6.6-12. Tg.rasH2 マウスがん原性試験における投与 1 時間後の血漿中 L-105 濃度 25
表 2.6.6-13. Tg.rasH2 マウスがん原性試験における肺の腫瘍性病変 26
表 2.6.6-14. Tg.rasH2 マウスがん原性試験における脾臓の血管肉腫 27
表 2.6.6-15. Tg.rasH2 マウスがん原性試験における鼻腔の非腫瘍性病変 27
表 2.6.6-16. ウサギの胚胎児毒性試験における L-105 の全身曝露 30
表 2.6.6-17. ラット免疫毒性試験：プラーク形成細胞数に対する L-105 の影響 33
表 2.6.6-18. L-105 及び 25-*O*-脱アセチル体の尿糞中排泄率 34
表 2.6.6-19. GLP 試験で使用したロットに含まれる類縁物質 D+H の含量及び対ヒト用量比 35
表 2.6.6-20. [redacted] L-105 のイヌ単回経口投与試験における L-105 の全身曝露 36

表 2.6.6-21. [redacted]L-105 のイヌ 4 週間反復経口投与試験における L-105 の全身曝露 37
表 2.6.6-22. [redacted]L-105 のイヌ 26 週間反復経口投与試験における L-105 の全身曝露 38

略語一覧表

略語	省略しない形	
	日本語	英語
ALP	アルカリホスファターゼ	Alkaline phosphatase
ALT	アラニンアミノ基転移酵素	Alanine aminotransferase
AST	アスパラギン酸アミノ基転移酵素	Aspartate aminotransferase
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積	Area under the plasma concentration-time curve
CHO	チャイニーズハムスター卵巣	Chinese hamster ovary
C_{max}	最高血漿中濃度	Maximum plasma concentration
CYP	チトクローム P450	Cytochrome P450
DMSO	ジメチルスルホキシド	Dimethyl sulfoxide
FCA	フロインド完全アジュバント	Freund's complete adjuvant
γ-GT	γ-グルタミルトランスフェラーゼ	γ-glutamyltransferase
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	Good laboratory practice
HGPRT	ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase
MC	メチルセルロース	Methylcellulose
ND	データ無し	Not determined
NOAEL	無毒性量	Non-observed adverse effect level
PEG	ポリエチレングリコール	Polyethylene glycol
PFC	プラーク形成細胞	Plaque-forming cell
SRBC	ヒツジ赤血球	Sheep red blood cells
Tg.rasH2	rasH2 トランスジェニック	rasH2 transgenic
TK	トキシコキネティクス	Toxicokinetics

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

L-105 の毒性試験として、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、皮膚感作性試験及び免疫毒性試験を実施した。また、消化管からの吸収性が高い[redacted]の L-105 をイヌに単回投与及び反復投与し、全身曝露を上昇させたときの毒性を検討した。光毒性試験については、諸外国の臨床使用実績等から懸念はないと判断し、実施しなかった。なお、動物試験の多くでは、臨床投与経路と同じ経口投与を選択した。また、生殖発生毒性試験は、ラットでは交配前～器官形成期に反復投与する試験と妊娠 6 日～授乳 20 日に反復投与する試験を実施し、ウサギでは器官形成期に反復投与する試験を実施した。トキシコキネティクス（TK）については、マウス、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験、ウサギを用いた生殖発生毒性試験及びイヌを用いた[redacted]の毒性試験で実施した。

これらの毒性試験には 1986 年の GLP 施行前に実施した古い試験が含まれるが、いずれも諸外国の承認申請で使用された試験資料である。また、Salix 社と Alfa Wassermann 社が米国申請用に追加実施した単回投与毒性 5 試験、反復投与毒性 4 試験、遺伝毒性 1 試験、がん原性 2 試験、生殖発生毒性 3 試験及びその他 5 試験、並びにあすか製薬が本邦申請用に追加実施した遺伝毒性 1 試験は全て GLP に従って実施しており、これら追加試験においても新たな毒性は認められなかった。

(1)　単回投与毒性試験

雌雄のマウスとラットに L-105 の懸濁液を単回経口投与し、一般状態観察及び体重測定等を実施した。また、適切な全身曝露を確保する目的で、L-105 を 50%ポリエチレングリコール（PEG）400 水溶液に溶解させて単回静脈内投与し、同様に検討した（表 2.6.6-1）。

表 2.6.6-1. L-105 の単回投与毒性試験一覧

動物種/系統	性/例数	投与経路	用量（mg/kg）	GLP	項番号
マウス/CFLP ICI	予備試験：♂2, ♀2 本試験：♂5, ♀5	経口	予備試験：1000 本試験：2000	適 [a]	2.6.6.2.1
マウス/Crl:CD1(ICR)	♂3, ♀3	経口	300, 1000, 1500, 2000	適 [a]	2.6.6.2.2
ラット/SD	♂8, ♀8	経口	0, 500, 1000, 2000	非適	2.6.6.2.3
ラット/Hsd:SD(CD)	予備試験：♂2, ♀2 本試験：♂5, ♀5	経口	予備試験：2000 本試験：2000	適 [a]	2.6.6.2.4
マウス/Hsd/Ola:ICR	予備試験：♂2, ♀2 本試験：♂2, ♀2 (0 mg/kg) ♂5, ♀5 (40 mg/kg)	静注	予備試験：40 本試験：0, 40	適 [a]	2.6.6.2.5
ラット/Hsd:SD(CD)	予備試験：♂2, ♀2 本試験：♂2, ♀2 (0 mg/kg) ♂5, ♀5 (40 mg/kg)	静注	予備試験：40 本試験：0, 40	適 [a]	2.6.6.2.6

[a] 米国申請用に追加実施した試験

L-105 を単回経口投与したマウスとラットでは、ラットの非 GLP 試験で呼吸数の増加や興奮、脂肪肝等が認められたが、GLP 試験では立毛や着色便が認められた以外に明らかな影響は認められなかった。概略の致死量は、マウス及びラット共に 2000 mg/kg 超であった。

L-105 を単回静脈内投与したマウスとラットでは、立毛、円背姿勢、呼吸窮迫、眼瞼下垂、蒼白、嗜眠、爪先歩行、振戦、低体温、衰弱及び死亡などが認められた。対照群（0 mg/kg）でも立毛や呼吸窮迫等の同様の一般状態変化や死亡が認められたことから溶媒の影響も考えられるが、概略の致死量はマウス及びラット共に 40 mg/kg であった。

（2） 反復投与毒性試験

反復投与毒性は、雌雄のマウス、ラット及びイヌを用いて検討した（表 2.6.6-2）。

表 2.6.6-2. L-105 の反復投与毒性試験一覧

動物種/系統	性/例数	投与経路	投与期間	用量（mg/kg）	GLP	項番号
マウス/CByB6F1	♂5, ♀5 ♂10, ♀10	経口	予備試験：5 日間 本試験：4 週間	0, 125, 250, 500, 1000, 2000 0, 250, 1000, 2000	適 [a]	2.6.6.3.1
ラット/ Crl:CD	♂5, ♀5	経口	4 週間	0, 100, 300, 1000	非適	2.6.6.3.2
ラット/ COBS®CD (SD)	♂12, ♀12	経口	13 週間	0, 25, 50, 100	非適	2.6.6.3.3
ラット/ CRL:CD(SD)BR/LG	♂20, ♀20	経口	26 週間	0, 25, 50, 100	非適	2.6.6.3.4
ラット/ Crl:CD(SD) IGS BR	♂20, ♀20	経口	26 週間 ＋4 週間回復	0, 50, 150, 300	適 [a]	2.6.6.3.5
イヌ/Beagle	♂1, ♀1	経口	7 日間	♂: 2000, ♀: 3000	非適	2.6.6.3.6
イヌ/Beagle	♂1, ♀1	経口	4 週間	100, 300, 1000	適 [a]	2.6.6.3.7
イヌ/Beagle	♂3, ♀3	経口	13 週間	0, 25, 50, 100	非適	2.6.6.3.8
イヌ/Beagle	♂3, ♀3	経口	26 週間	0, 25, 50, 100	非適	2.6.6.3.9
イヌ/Beagle	♂4, ♀4	経口	39 週間 ＋4 週間回復	0, 100, 300, 1000	適 [a]	2.6.6.3.10

[a] 米国申請用に追加実施した試験

雌雄のマウスに L-105 の 2000 mg/kg までを 4 週間反復経口投与した結果、L-105 投与による明らかな影響は認められず、無毒性量（NOAEL）は雌雄とも 2000 mg/kg であった。TK 測定の結果、雄では用量依存的な全身曝露の増加が認められなかった。雌では、雄よりも高値を示し、高用量群の曝露は低・中用量群を上回ったが、増加の程度は用量比を下回った。

雌雄のラットに L-105 の 1000 mg/kg までを 4 週間、100 mg/kg までを 13 週間又は 26 週間反復経口投与した結果、L-105 投与群では体重増加抑制や白血球数の減少などが認められ、一部の試験（非 GLP）で血中コレステロールの増加や胃腸管のびらん、肝肥大などが認められた。追加実施した GLP 試験で雌雄ラットに L-105 の 300 mg/kg までを 26 週間反復経口投与した結果、体重増加抑制以外に L-105 投与による明らかな影響は認められず、白血球数の減少や血液生化学的変化は

L-105 投与との関連性又は毒性学的意義が低いと考えられた。認められた変化にはほぼ回復性が認められ、NOAEL は雌雄とも 150 mg/kg であった。TK 測定の結果、投与 1 日目の全身曝露は用量依存的に増加したが、増加の程度は用量比を下回った。投与終了時には全身曝露が投与 1 日目よりも減少し、血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）を求められなかった。なお、肝臓と小腸の薬物代謝酵素活性を測定したが、L-105 投与による影響は認められなかった。

L-105 をゼラチンカプセルに充塡し、雌雄ビーグル犬に 2000 又は 3000 mg/kg を 7 日間、1000 mg/kg までを 4 週間、100 mg/kg までを 13 週間又は 26 週間反復経口投与した。その結果、一部の試験（非 GLP）で血中コレステロールの増加や腸管粘膜のびらんが認められたが、他に L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。追加実施した GLP 試験では、L-105 の 1000 mg/kg までを 39 週間反復経口投与しても、胸腺萎縮／退縮が認められた以外に明らかな影響は認められなかった。なお、39 週間反復経口投与試験では、胸腺萎縮／退縮により NOAEL を求められなかったが、胸腺萎縮／退縮には回復傾向が認められた。TK 測定の結果、投与 1 日目及び投与終了時に全身曝露の用量依存的な増加は認められなかった。

（3） 遺伝毒性試験

遺伝毒性は、複数の *in vitro* 試験及び *in vivo* 試験を実施して検討した（表 2.6.6-3）。

表 2.6.6-3. L-105 の遺伝毒性試験一覧

試験の種類	試験系	投与期間	濃度又は用量	GLP	項番号
遺伝子突然変異試験	*Salmonella typhimurium*	－	0.5～500 μg/plate	非適	2.6.6.4.1
	Salmonella typhimurium	－	0.01～5000 μg/plate	適 [a]	2.6.6.4.2
	Saccharomyces cerevisiae D4	－	250, 500, 1000 mg/L	非適	2.6.6.4.3
	Schizosaccharomyces pombe	－	250, 500, 1000 mg/L	非適	2.6.6.4.4
	CHO 細胞	－	10～80 μg/mL（代謝活性化非存在下） 100～250 μg/mL（代謝活性化存在下）	適 [a]	2.6.6.4.5
染色体異常試験	ヒトリンパ球	－	0.1～100 μg/mL	適 [a]	2.6.6.4.6
小核試験	ラット/Crl:CD(SD)BR ♂♀, n = 5	単回投与	0, 1000, 2000 mg/kg 経口	適 [a]	2.6.6.4.7
UDS 試験	ラット/Crl:CD(SD) ♂, n = 3	単回投与	0, 1000, 2000 mg/kg 経口	適 [a]	2.6.6.4.8
Comet Assay	ラット/Crl:CD(SD) ♂, n = 5	2 回投与	0, 500, 1000, 2000 mg/kg 経口	適 [b]	2.6.6.4.9

[a] 米国申請用に追加実施した試験

[b] 本邦申請用に追加実施した試験

In vitro 試験では、細菌又は酵母を用いた遺伝子突然変異試験、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いたヒポキサンチン - グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（HGPRT）遺伝子突然変異試験及びヒトリンパ球を用いた染色体異常試験を実施した。

In vivo 試験では、ラットの骨髄細胞を用いた小核試験を実施した。また、ラット初代培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験及びラットの胃粘膜細胞を用いたコメットアッセイを追加実施した。

いずれの試験においても、L-105 の遺伝毒性は認められなかった。

（4） がん原性試験

がん原性は、雌雄のラット及び rasH2 トランスジェニック（Tg.rasH2）マウスを用いて検討した（表 2.6.6-4）。

表 2.6.6-4. L-105 のがん原性試験一覧

動物種/系統	性/例数	投与経路	投与期間	用量（mg/kg）	GLP	項番号
ラット/ Crl:CD(SD)	♂♀, n = 60	経口	2 年間	0, 20, 50, 150（～27 週目）/200（28～38 週目） /250（39 週目～）	適 [a]	2.6.6.5.1
マウス/ Tg.rasH2	♂♀, n = 25	経口	26 週間	♂: 0, 150, 500, 1500 ♀: 0, 250, 750, 2000	適 [a]	2.6.6.5.2

[a] 米国申請用に追加実施した試験

ラットを用いたがん原性試験では、雌雄ラットに L-105 の 150 mg/kg までを 2 年間反復経口投与した。ただし、高用量投与群では、投与量を 28 週目以後は 150 mg/kg から 200 mg/kg に、39 週目以後は 250 mg/kg に、それぞれ増加させて反復経口投与した。生存率、一般状態、体重、摂餌量、触知腫瘤、肉眼所見及び非腫瘍性病変に L-105 投与と関連する明らかな影響は認められず、いずれの器官・組織にも腫瘍発生率の増加は認められなかった。雄の心臓で悪性シュワン細胞腫の増加傾向が認められたが、対照群との比較で有意差は認められなかった。また、心内膜に他の増殖性病変が認められないこと、雌の心臓を含めた他の臓器に増殖性病変の頻度増加が認められないこと、自然発生的にも散見されることなどから、L-105 投与との関連はないと考えられた。

マウスを用いたがん原性試験では、Tg.rasH2 トランスジェニックマウスに L-105 の 1500 mg/kg（雄）又は 2000 mg/kg（雌）までを 26 週間反復経口投与した。雌の 750 及び 2000 mg/kg 群で一過性の体重増加又は散発的な体重減少が認められたが、雌雄とも摂餌量に明らかな影響は認められなかった。鼻腔に滲出性炎症が認められた以外に L-105 投与による病変は認められず、いずれの器官・組織にも腫瘍発生率の増加は認められなかった。

（5） 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性は、雌雄ラットを用いて受胎能、胚・胎児発生毒性、出生前及び出生後の発生毒性を検討した。また、妊娠ウサギを用いて胚・胎児毒性を検討した（表 2.6.6-5）。

表 2.6.6-5. L-105 の生殖発生毒性試験一覧

試験の種類	動物種/系統性/例数	投与期間	投与量（mg/kg）/投与経路	GLP	項番号
受胎能、出生前及び出生後の発生毒性	ラット/SD/♂10, ♀20	♂：交配前 70 日間及び交配期間中 20 日間 ♀：交配前 14 日～離乳時	0, 25, 50, 100 /経口	非適	2.6.6.6.1
	ラット/Crl:CD(SD)/♂8, ♀8	♂：交配前 15 日～交配終了時 ♀：交配前 15 日～授乳 9 日	0, 150, 300 /経口	非適	2.6.6.6.2
受胎能及び胚･胎児発生毒性	ラット/Crl:CD(SD)/♂22, ♀22	♂：交配前 29 日間 ♀：交配 15 日前～妊娠 17 日	0, 50, 150, 300 /経口	適 [a]	2.6.6.6.3
胚・胎児発生毒性	ウサギ/New Zealand White/♀4	妊娠 6～19 日	0, 100, 300, 1000 /経口	非適	2.6.6.6.4
	ウサギ/New Zealand White/♀22	妊娠 6～19 日	0, 62.5, 250, 1000 /経口	適 [a]	2.6.6.6.5
胎児発生毒性、出生前及び出生後の発生毒性	ラット/SD/♀9～11 ラット/SD/♀7～9 ウサギ/New Zealand White/♀6～8	妊娠 5～18 日 妊娠 17～離乳 妊娠 6～18 日	0, 50, 100 /経口 0, 50, 100 /経口 0, 50, 100 /経口	非適	2.6.6.6.6
出生前及び出生後の発生毒性	ラット/CD(SD)/♀22	妊娠 6 日～授乳 20 日	0, 50, 150, 300 /経口	適 [a]	2.6.6.6.7

[a] 米国申請用に追加実施した試験

GLP 施行前に実施した古い試験（非 GLP）では、雌雄ラットの交配前 15 日～授乳 9 日に L-105 の 300 mg/kg までを反復経口投与した。その結果、親動物（F_0）で体重増加抑制と摂餌量の減少が認められたが、性周期、交尾行動、受胎能、妊娠期間、同腹児数、出生児（F_1）の体重等に L-105 投与の影響は認められなかった。また、妊娠ウサギの器官形成期に 1000 mg/kg までを反復経口投与した結果、投与初期に体重減少が認められ、1000 mg/kg 群では体重増加抑制と摂餌量の減少が認められた。着床数、吸収胚数、生存胎児数及び胎児体重等に L-105 投与の影響は認められなかったが、100 及び 300 mg/kg 群の胎児各 1 例で短顎及び無顎等が認められた。

GLP 試験としては、ラットの交配前から器官形成期に反復投与する試験、妊娠ウサギの器官形成期に反復投与する試験、及びラットの出生前及び出生後の発生毒性試験を追加実施した。

ラットの交配前から器官形成期に L-105 の 300 mg/kg までを反復経口投与した結果、300 mg/kg 群の母動物で体重増加抑制が認められたが、性周期、交配率、受胎率、黄体数、着床数、吸収胚数、同腹児数、同腹児体重、胎児体重及び性比に L-105 投与の影響は認められなかった。150 及び 300 mg/kg 群の胎児で出血や骨格異常が認められたが、人為的過誤や軽度な発達遅延によるものであり、L-105 の催奇形性を示すものではないと考えられた。その他、外表、内臓及び骨格検査にお

いて、L-105 投与の影響は認められなかった。親動物への影響に関する NOAEL は 150 mg/kg、生殖能・受胎能に関する無毒性量（NOAEL）は 300 mg/kg、胎児（F_1）への影響に関する NOAEL は 300 mg/kg であった。

ウサギの器官形成期に L-105 の 1000 mg/kg までを反復経口投与した結果、各用量投与群の母動物で体重、体重増加量及び摂餌量の減少が認められ、胎児で第 13 肋骨、20 胸腰椎体、過剰胸骨核及び骨盤帯接合部の離隔が認められたが、用量反応性はなかった。胎児の外表及び内臓には、L-105 投与の影響が認められなかった。全ての用量投与群で母動物への影響と胎児の骨格異常が認められたため、NOAEL は求められなかった。TK 測定の結果、全身曝露は用量依存的に増加したが、増加の度合いは用量比を下回った。

ラットの出生前及び出生後の発生毒性試験では、妊娠 6 日～授乳 20 日に L-105 の 300 mg/kg までを反復経口投与した結果、150 及び 300 mg/kg 群で母動物の体重増加抑制と摂餌量の減少が認められた。妊娠期間、分娩の状況、同腹児数並びに出生児の体重、成長、成熟度及び生殖能については、L-105 投与の影響は認められなかった。NOAEL は、母動物が 50 mg/kg、胎児（F_1）への影響が 300 mg/kg であった。

（6） その他の試験

その他の試験としては、雌雄ラットを用いた免疫毒性試験、雌性モルモットを用いた皮膚感作性試験を実施した。また、消化管からの吸収性が高い [redacted] の L-105 をイヌに単回経口投与及び 4 週間又は 26 週間反復経口投与して、血中濃度を高めた状態での毒性を検討した。なお、ヒトの主要代謝物 25-*O*-脱アセチル体については、L-105 の消化管吸収率が極めて低いためにヒト血漿中曝露量は明らかでない。しかし、[^{14}C]L-105 経口投与後のヒト尿中及び糞中排泄から推測される 25-*O*-脱アセチル体の構成比は投与薬物に関連する総曝露量の 10%よりも低いと考えられることから、非臨床試験で特徴づける必要はないと考えられた。また、類縁物質 D+H の毒性については、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験及びがん原性試験で不純物の影響を含めた評価が行われていることから、新たな試験を実施しなかった（表 2.6.6-6）。

表 2.6.6-6. L-105 のその他毒性試験一覧

試験の種類	動物種/系統性/例数	投与期間	投与量/投与経路	GLP	項番号
免疫毒性試験	ラット/Crl:CD(SD) IGS BR ♂10, ♀10	4 週間	0, 50, 150, 500 mg/kg /経口	適 [b]	2.6.6.8.1
皮膚感作性試験	モルモット/Dunkin-Hartley ♀20	感作：単回 感作：単回 惹起：単回	20% in FCA or corn oil /皮内 50% in corn oil /経皮 20% in corn oil /経皮	適 [b]	2.6.6.8.3
その他	イヌ/Beagle ♂4, ♀4	単回	0, 100[a], 300[a], 1000[a] mg/kg /経口	適 [b]	2.6.6.8.4
	イヌ/Beagle ♂4～6, ♀4～6	4 週間	0, 300[a], 1000[a] mg/kg /経口 1000 mg/kg /経口	適 [b]	2.6.6.8.5
	イヌ/Beagle ♂4, ♀4	26 週間	0, 100[a], 1000[a] mg/kg /経口 1000 mg/kg /経口	適 [b]	2.6.6.8.6

[a] [redacted] の L-105

[b] 米国申請用に追加実施した試験

免疫毒性試験で L-105 の 500 mg/kg までを雌雄ラットに 4 週間反復経口投与した結果、白血球数、白血球分画、骨髄検査、器官重量、剖検所見、病理組織学的検査及びプラーク形成細胞試験のいずれにおいても明らかな影響は認められなかった。リンパ球サブセット分析の結果、150 及び 500 mg/kg 群の雄で T リンパ球の増加が認められたが、片性のみの変化であり、免疫系器官の重量や組織、体液性免疫応答に影響が見られないことから、毒性学的な意義はないと考えられた。

皮膚感作性試験では、L-105 の懸濁液をモルモットに皮内投与及び経皮投与（貼付）して感作し、最終感作の 2 週間後に経皮投与して惹起した結果、惹起部位に発赤や浮腫は認められず、L-105 に皮膚感作性はないと判断された。

[redacted] の L-105 を 1000 mg/kg までビーグル犬に単回経口投与した結果、最高血漿中濃度（C_{max}）は 936～6769 ng/mL と著しく上昇したが、一般状態観察、心電図検査、尿検査、糞便検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査等に明らかな影響は認められなかった。1000 mg/kg までを 4 週間及び 26 週間反復経口投与した試験でも、1000 mg/kg 群における C_{max} は 1370～4050 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ は 7155～40700 ng·hr/mL と、通常の結晶形（*1形）を投与したときの 40 倍以上に曝露が上昇したが、[redacted] の L-105 投与による明らかな影響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　CFLP ICI 系マウスを用いた単回経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.1-1（概要表 2.6.7.5）

雌雄各群 5 匹の CFLP ICI 系マウスに L-105 を 2000 mg/kg の用量で単回経口投与し、14 日間観察した。対照群は設けなかった。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で強制経口

投与した。投与後は一般状態の観察と体重測定を行い、死亡時及び観察期間終了時に剖検して諸臓器を肉眼的に観察した。なお、雌雄各群 2 匹に L-105 を 1000 mg/kg の用量で単回経口投与する予備試験を実施し、その結果により本試験の用量を設定した。

投与 2 日目までに立毛及びオレンジ色の着色便が認められた以外、一般状態観察で L-105 投与の影響は認められなかった。雌の 1/5 例で体重増加抑制が認められ、雄 1/5 例が投与 11 日目に死亡した。死亡例の剖検では、肝の蒼白化並びに胃及び腸の赤色化が認められた。生存例の一般状態及び剖検所見では、L-105 投与の影響は認められなかった。L-105 を経口投与したときの概略の致死量は、2000 mg/kg 超であった。

2.6.6.2.2 Crl:CD1(ICR)系マウスを用いた単回経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.1-2（概要表 2.6.7.5）

雌雄各群 3 匹の Crl:CD1(ICR)系マウスに L-105 を 300、1000、1500 及び 2000 mg/kg の用量で単回経口投与し、少なくとも 3 日間観察した。対照群は設けなかった。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で強制経口投与した。投与後は毎日一般状態を観察し、体重及び摂餌量を測定した。

2000 mg/kg 群の雌でオレンジ色の着色便が見られたが、未吸収の L-105 と考えられた。いずれの用量群においても死亡例はなく、その他一般状態、体重及び摂餌量に L-105 投与の影響は認められなかった。概略の致死量は、2000 mg/kg 超であった。

2.6.6.2.3 SD 系ラットを用いた単回経口投与毒性試験

参考資料 4.2.3.1-3（概要表 2.6.7.5）

雌雄各群 8 匹の SD 系ラットに、L-105 を 0（溶媒）、500、1000 及び 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。L-105 は、5%アラビアゴム水溶液に懸濁し、10 mL/kg の液量で強制経口投与した。投与後は 14 日間にわたって一般状態を観察し、観察期間終了時に剖検して主要臓器を肉眼的に観察した。

投与後 2 時間以内に 1000 mg/kg 以上の群で呼吸数の増加及び感覚鈍麻が認められ、2000 mg/kg 群で興奮が認められた。また、剖検で 2000 mg/kg 群の雄 2/8 例に軽微な脂肪肝が認められた。その他には、一般状態及び剖検時の肉眼的観察で L-105 投与の影響は認められなかった。いずれの用量群においても死亡例はなく、L-105 を経口投与したときの LD_{50} 値は、>2000 mg/kg であった。

2.6.6.2.4 Hsd:SD(CD)系ラットを用いた単回経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.1-4（概要表 2.6.7.5）

雌雄各 5 匹の Hsd:SD(CD)系ラットに L-105 を 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。対照群は設けなかった。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で強制経口投与した。投与

後は 14 日間にわたって一般状態観察と体重測定を行い、観察期間終了時に剖検して諸臓器を肉眼的に観察した。なお、雌雄各 2 匹に L-105 を 2000 mg/kg の用量で単回経口投与する予備試験を実施し、その結果により本試験の用量を設定した。

投与 4 日目までに立毛とオレンジ色の着色便が認められたが、その他に一般状態、体重及び剖検時の肉眼的観察で L-105 投与の影響は認められなかった。死亡例はなく、L-105 を経口投与したときの概略の致死量は、2000 mg/kg 超であった。

2.6.6.2.5 Hsd/Ola:ICR 系マウスを用いた単回静脈内投与毒性試験

評価資料 4.2.3.1-5（概要表 2.6.7.5）

雌雄各 2 匹の Hsd/Ola:ICR 系マウスにに溶媒（対照群）を単回静脈内投与し、雌雄各 5 匹に L-105 を 40 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。L-105 を PEG 400／生理食塩液（1:1）に溶解し、10 mL/kg の液量で動物の尾静脈内に単回投与した。投与後は 14 日間にわたって一般状態観察と体重測定を行い、死亡時及び観察期間終了時に剖検して諸臓器を肉眼的に観察した。なお、雌雄各 2 匹に L-105 を 40 mg/kg の用量で単回静脈内投する予備試験をあらかじめ実施し、7 日間にわたって一般状態を観察した。

対照群及び L-105 投与群の全ての動物で投与直後から一般状態変化が認められ、主に立毛、円背姿勢、呼吸窮迫、眼瞼下垂及び蒼白などが共通して認められた。加えて、L-105 投与群では嗜眠、爪先歩行、振戦、低体温及び衰弱が認められ、雌の 1/2 例（予備試験）及び 1/5 例（本試験）が投与後 1 時間以内に死亡した。生存例では、投与 6 日目までに一般状態が回復し、体重及び剖検時の肉眼的観察で L-105 投与の影響は認められなかった。L-105 を静脈内投与したときの概略の致死量は、40 mg/kg であった。

2.6.6.2.6 Hsd:SD(CD)系ラットを用いた単回静脈内投与毒性試験

評価資料 4.2.3.1-6（概要表 2.6.7.5）

雌雄各 2 匹の Hsd:SD(CD)系ラットに溶媒（対照群）を単回静脈内投与し、雌雄各 5 匹に L-105 を 40 mg/kg の用量で単回静脈内投与した。L-105 を PEG 400／生理食塩液（1:1）に溶解し、10 mL/kg の液量で動物の尾静脈内に単回投与した。投与後は 14 日間にわたって一般状態の観察と体重測定を行い、死亡時及び観察期間終了時に剖検して諸臓器を肉眼的に観察した。なお、雌雄各 2 匹に L-105 を 40 mg/kg の用量で単回静脈内投与する予備試験をあらかじめ実施し、7 日間にわたって一般状態を観察した。

対照群及び L-105 投与群の全ての動物で投与直後から一般状態変化が認められ、主に立毛及び呼吸窮迫が共通して認められた。加えて、L-105 投与群では円背姿勢、あひる歩行、爪先歩行、振戦及び自発運動の亢進が認められ、対照群の雌 1/2 例及び 40 mg/kg 群の雄 1/5 例が投与後 1 時間以内に死亡した。生存例では投与 4 日目までに一般状態が回復し、体重及び剖検時の肉眼的観察

では投与による明らかな影響は認められなかった。L-105 を静脈内投与したときの概略の致死量は、40 mg/kg であった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

2.6.6.3.1 CByB6F1 マウスを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-1（概要表 2.6.7.6）

Tg.rasH2 マウスを用いたがん原性試験の用量設定試験として、5 日間投与による予備試験と 4 週間投与による反復経口投与毒性試験（TK 測定を含む）を実施した。

予備試験では、雌雄各群 5 匹の CByB6F1 マウスに、L-105 を 0（溶媒）、125、250、500、1000 及び 2000 mg/kg の用量で 5 日間反復経口投与した。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で毎日強制経口投与した。投与期間中に毎日 2 回生死の確認又は一般状態観察を行い、投与 1 日目と 5 日目に動物の体重を測定した。剖検は実施しなかった。予備試験の結果では、投与期間中に死亡は認められず、2000 mg/kg 群の雌雄で黄色の着色便が認められた以外に L-105 投与の影響は認められなかった。

本試験では、雌雄各群 10 匹の CByB6F1 マウスに、L-105 を 0、250、1000 及び 2000 mg/kg の用量で 4 週間反復経口投与した。さらに、雌雄各群 20 匹に L-105 を 250、1000 及び 2000 mg/kg の用量で 27 日間反復経口投与し、最終投与の 0.5、1、2、4、8 及び 24 時間後に雌雄各群 3 匹から採血して TK 測定を行った。また、雌雄 5 匹に溶媒を投与し、投与 1 時間後に採血して TK 測定を行った。それぞれ、L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、15 mL/kg の液量で毎日強制経口投与した。投与期間中は毎日 1 回一般状態観察を行い、投与 1、8、15、22 及び 28 日目に体重と摂餌量を測定した。最終投与の翌日（第 29 日目）に動物の体重を測定し、血液学的検査及び血液生化学的検査用に後眼窩静脈叢から採血し、二酸化炭素吸入により安楽死させて剖検した。また、摘出した器官の重量を測定し、対照群（0 mg/kg）と 2000 mg/kg 群については摘出器官の病理組織学的検査を実施した。

対照群の雌 1 例が投与 5 日目に死亡したが、他に死亡は認められなかった。また、2000 mg/kg 群の雌雄で黄色の着色便が認められた以外、いずれの検査項目にも L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。NOAEL は、2000 mg/kg であった。

TK 測定の結果、雄では用量依存的な全身曝露の増加は見られなかった。雌では、雄よりも各用量群で高値を示し、高用量群の全身曝露は低・中用量群よりも高かったが、増加の程度は用量比を下回った（表 2.6.6-7）。

表 2.6.6-7. マウス 4 週間反復経口投与試験における L-105 の全身曝露

性別	雄			雌		
投与量（mg/kg）	**250**	**1000**	**2000**	**250**	**1000**	**2000**
C_{max}（ng/mL）	10.2	9.78	11.8	15.0	13.1	25.8
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·hr/mL）	95.9	69.6	88.4	117	176	215

2.6.6.3.2　Crl:CD 系ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験

参考資料 4.2.3.2-2（概要表 2.6.7.6）

雌雄各群 5 匹の Crl:CD 系ラットに L-105 を 0（溶媒）、100、300 及び 1000 mg/kg の用量で 4 週間反復経口投与した。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で毎日強制経口投与した。投与期間中は毎日一般状態を観察し、週 1 回の頻度で体重と摂餌量を測定した。投与終了時には、後眼窩静脈叢から血液学的検査及び血液生化学的検査用に採血し、二酸化炭素吸入により安楽死させて剖検した。また、摘出した器官の重量を測定した。病理組織学的検査は実施しなかった。

投与期間中に死亡は認められず、1000 mg/kg 群で着色便が認められた以外、一般状態に L-105 投与の影響は認められなかった。300 及び 1000 mg/kg 群の雌雄又はいずれかで体重増加抑制と摂餌量の減少が認められ、血液学的検査と血液生化学的検査で血球容積、赤血球数、ヘモグロビン、ALT、トリグリセライドの増加や白血球数の減少等が認められた。また、雌雄の各用量群で胸腺重量の減少が認められ、雄の 100 mg/kg を除く雌雄各用量群で脾重量の減少が認められた。剖検時の肉眼的観察では、特記所見は認められなかった。各用量群で胸腺重量の減少が認められたため、NOAEL は求められなかった。

2.6.6.3.3　COBS CD(SD)系ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験

参考資料 4.2.3.2-3（概要表 2.6.7.6）

雌雄各群 12 匹の COBS®CD(SD)系ラットに、L-105 を 0（溶媒）、25、50 及び 100 mg/kg の用量で 13 週間反復経口投与した。L-105 を 5%アラビアゴム水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で毎日強制経口投与した。比較の目的で、雌雄各 12 匹に硫酸ネオマイシンを 100 mg/kg の用量で同様に経口投与した。投与期間中は毎日一般状態を観察し、週 1 回の頻度で体重と摂餌量を測定した。また、月 1 回の頻度で尿検査と糞便検査を実施した。投与期間終了時には、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検及び器官重量測定を実施し、脳、肝臓、肺、心臓、腎臓、脾臓、副腎、胸腺、膵臓、腸間膜リンパ節及び消化管の病理組織学的検査を実施した。

投与期間中に対照群の雌 1 例、25 mg/kg 群の雄 1 例及び 100 mg/kg 群の雌雄各 1 例が偶発的な原因により死亡したが、他に死亡は認められなかった。各用量投与群の雌及びネオマイシンを投与した雌で血中コレステロールの増加が認められ、病理組織学的検査で消化管粘膜潰瘍及び粘膜下浮腫を伴う慢性胃腸炎、肝肥大、脂肪肝及び腎症が少数例で認められた。その他には、L-105 投与による明らかな影響は認められなかった（NOAEL の記載はない）。

2.6.6.3.4　CRL:CD(SD)BR/LG 系ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験

参考資料 4.2.3.2-4（概要表 2.6.7.6）

雌雄各群 20 匹の CRL:CD(SD)BR/LG 系ラットに、L-105 を 0（溶媒）、25、50 及び 100 mg/kg の用量で 26 週間反復経口投与した。L-105 を 1%アラビアゴム水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で毎日強制経口投与した。試験期間中は毎日一般状態を観察し、週 1 回の頻度で体重を、月 1 回の頻度で摂餌量を測定した。また、投与開始前と終了時に尿検査及び糞便検査を実施し、投与期間終了時にエーテル麻酔下で心臓採血して安楽死させ、血液学的検査、血液生化学的検査及び剖検を実施した。さらに、摘出した器官の重量を測定し、病理組織学的検査を実施した。

投与期間中に対照群と 50 mg/kg 群の雄各 1 例、25 mg/kg 群と 100 mg/kg 群の雌各 1 例が偶発的な原因により死亡したが、他に死亡は認められなかった。50 mg/kg 群の雌雄と 100 mg/kg 群の雌で血中コレステロールの増加が認められ、50 及び 100 mg/kg 群で胃腸管のびらんや肝小葉周囲の結合組織増殖、腎症等が認められた。その他には、L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。NOAEL は、25 mg/kg と考えられた。

2.6.6.3.5　Crl:CD(SD)IGS BR 系ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-5（概要表 2.6.7.7.A）

雌雄各群 20 匹の Crl:CD(SD)IGS BR 系ラットに、L-105 を 0（溶媒）、50、150 及び 300 mg/kg の用量で 26 週間反復経口投与した。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で毎日強制経口投与した。対照群と 300 mg/kg 群については、4 週間休薬による回復性を検討する目的で雌雄各群 6 匹を追加した。さらに、雌雄各群 9 匹を追加して 50、150 及び 300 mg/kg を 26 週間反復経口投与し、投与 1 日目及び最終投与の 0、1、2、4、6 及び 8 時間後に雌雄各群 3 匹から採血して TK 測定を行った。試験期間中は毎日一般状態を観察し、14 週までは週 1 回の頻度で体重と摂餌量を測定し、以後は 2 週に 1 回の頻度で体重を、4 週に 1 回の頻度で摂餌量を測定した。摂水量は 1、4、12、13、25 及び 26 週目に測定し、眼科学的検査は投与開始前と 25 週目に、尿検査は 12 週目と 25 週目に、血液学的検査及び血液生化学的検査は 13 週目、投与終了時及び休薬終了時にそれぞれ実施した。投与終了時及び休薬終了時にはイソフルラン麻酔下で後眼窩静脈叢から採血し、二酸化炭素吸入により安楽死させて剖検した。また、摘出した器官の重量を測定し、病理組織学的検査を実施し、肝臓と空腸を採取して薬物代謝酵素活性を測定した。

投与期間中に対照群の 3 例、50 mg/kg 群の 2 例、150 mg/kg 群の 1 例、300 mg/kg 群の 2 例が偶発的な原因により死亡したが、他に死亡は認められなかった。雌雄の各用量投与群で体重増加抑制及び白血球数（リンパ球数）の有意な減少が認められたが、腸内細菌叢に対する L-105 の薬理作用の影響と推察された。血液生化学的検査では、雌の各用量投与群で ALP、ALT 及びグルコースの増加が、雄の 150 又は 300 mg/kg 群では ALT とグルコースの増加が認められたが、肝重量や肝臓の病理組織学的検査結果で L-105 投与の影響が認められないことから、毒性学的意義は低い

と考えられた。その他には L-105 投与の影響が認められず、認められた変化のほとんどで回復性が認められた。NOAEL は、150 mg/kg であった。

TK 測定の結果、投与 1 日目には雌雄で投与量の増加に伴った全身曝露の増加が認められたが、増加の程度は用量比を下回った。投与終了時には雌雄とも C_{max} が低下し、$AUC_{0\text{-}8}$ を求められなかった。反復投与により全身曝露は減少したが、肝臓と小腸の薬物代謝酵素活性に L-105 の影響は認められなかった（表 2.6.6-8）。

表 2.6.6-8. ラット 26 週間反復経口投与試験における L-105 の全身曝露

性別		雄			雌		
投与量（mg/kg）		50	150	300	50	150	300
C_{max}（ng/mL）	1 日目	14.86	23.10	30.31	13.56	18.56	19.76
	26 週目	6.11	9.54	5.75	10.05	5.59	6.97
$AUC_{0\text{-}8}$（ng·hr/mL）	1 日目	59.2	100.1	137.9	42.1	84.6	115.5
	26 週目	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND：血中濃度が低く、求められなかった。

2.6.6.3.6　ビーグル犬を用いた 7 日間反復経口投与毒性試験

参考資料 4.2.3.2-6（概要表 2.6.7.6）

雌雄各 1 匹のビーグル犬に、L-105 を 2000 mg/kg（雄）及び 3000 mg/kg（雌）の用量で 7 日間反復経口投与した。L-105 を水に懸濁させ、10 mL/kg の液量で毎日強制経口投与した。投与期間中及びその後 7 日間の観察期間中、一般状態、体重及び摂餌量に L-105 投与による明らかな影響は認められず、観察期間終了時の剖検でも特記所見は認められなかった（NOAEL の記載はない）。

2.6.6.3.7　ビーグル犬を用いた 4 週間反復経口投与毒性試験

参考資料 4.2.3.2-7（概要表 2.6.7.6）

雌雄各群 1 匹のビーグル犬に、L-105 を 100、300 及び 1000 mg/kg の用量で 4 週間毎日反復経口投与した。L-105 をゼラチンカプセルに入れ、毎日強制経口投与した。対照群は設けなかった。投与期間中は毎日一般状態と摂餌量を記録し、週 2 回の頻度で体重を測定した。また、投与開始前と投与終了時に動物の頸静脈から採血して血液学的検査と血液生化学的検査を実施した。投与終了時には、ペントバルビタール麻酔下で放血致死させて剖検し、摘出した器官の重量を測定した。病理組織学的検査は実施しなかった。

投与期間中に死亡は認められず、300 及び 1000 mg/kg 群でオレンジ色の着色便が認められた以外、いずれの検査項目にも L-105 投与の影響は認められなかった。NOAEL は、1000 mg/kg であった。

2.6.6.3.8　ビーグル犬を用いた 13 週間反復経口投与毒性試験

参考資料 4.2.3.2-8（概要表 2.6.7.6）

雌雄各群 3 匹のビーグル犬に、L-105 を 0、25、50 及び 100 mg/kg の用量で 13 週間毎日反復経口投与した。対照群には、乳糖 200 mg を含有するゼラチンカプセルを 2 個経口投与した。試験期間中は毎日一般状態を観察し、週に 1 回の頻度で体重と摂餌量を測定した。また、投与開始前と投与終了時に眼科学的検査と糞便検査を実施し、投与開始前、6 週目及び投与終了時には尿検査を実施し、動物の頸静脈から採血して血液学的検査と血液生化学的検査を実施した。投与期間終了時には、ペントバルビタール麻酔下で放血致死させて剖検し、摘出した器官の重量を測定して病理組織学的検査を実施した。

投与期間中に死亡は認められず、いずれの検査項目にも L-105 投与による明らかな影響は認められなかった（NOAEL の記載はない）。

2.6.6.3.9　ビーグル犬を用いた 26 週間反復経口投与毒性試験

参考資料 4.2.3.2-9（概要表 2.6.7.6）

雌雄各群 3 匹のビーグル犬に、L-105 を 0、25、50 及び 100 mg/kg の用量で 26 週間毎日反復経口投与した。対照群には、乳糖 200 mg を含有するゼラチンカプセルを 2 個経口投与した。投与期間中は毎日一般状態を観察し、週 1 回の頻度で体重と摂餌量を測定した。また、投与開始前と投与終了時に尿検査、血液学的検査及び血液生化学的検査を実施し、投与開始前、投与途中及び投与終了時に糞便検査を実施した。投与期間終了時には、ペントバルビタール麻酔下で放血致死させて剖検し、摘出した器官の重量を測定して病理組織学的検査を実施した。

投与期間中に死亡は認められなかった。100 mg/kg 群の雌で有意な総コレステロールの増加が認められ、対照群及び各用量投与群で腸管粘膜のびらんが認められたが、その他に L-105 投与による明らかな影響は認められなかった（NOAEL の記載はない）。

2.6.6.3.10　ビーグル犬を用いた 39 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-10（概要表 2.6.7.7.B）

雌雄各群 4 匹のビーグル犬に、L-105 を 0、100、300 及び 1000 mg/kg の用量で 39 週間反復経口投与した。対照群には、ゼラチンカプセルを投与した。対照群と 1000 mg/kg 群については、4 週間休薬による回復性を検討するため、雌雄各群 2 匹を追加した。試験期間中は毎日一般状態を観察し、投与 14 週目までは週 1 回の頻度で、以後は 4 週に 1 回の頻度で体重を測定した。また、投与 14 週目まで及び休薬期間中は毎日、14 週目以後の投与期間中は 4 週に 1 回の頻度で摂餌量を測定した。さらに、投与開始前及び／又は 1 週目、以後はおよそ 3 ヵ月に 1 回の頻度で眼科学的検査、心電図測定（第 2 誘導）及び尿検査を実施し、頸静脈から採血して血液学的検査と血液生化学的検査を実施した。投与初日と 39 週目には、投与の 0（投与前）、1、2、4、6 及び 8 時間後

に採血して TK 測定を実施した。投与期間終了時及び休薬期間終了時には、ペントバルビタール麻酔下で放血致死させて剖検し、摘出した器官の重量を測定して病理組織学的検査を実施した。

試験期間中に死亡は認められず、オレンジ色の着色便と被毛の着色が見られた以外、一般状態で異常は認められなかった。雌雄の 1000 mg/kg 群で軽度な体重増加抑制が認められたが、摂餌量に L-105 投与の影響は認められず、眼科学的検査、心電図検査、尿検査、血液学的検査及び血液生化学的検査でも L-105 投与の影響は認められなかった。投与終了時には、各用量投与群で胸腺重量の減少と胸腺萎縮／退縮が認められたが、4 週間の休薬により回復した。胸腺への影響が各用量群で認められたため、NOAEL は求められなかった。

TK 測定の結果、投与 1 日目及び投与終了時における全身曝露は、雌雄とも用量依存性は明確でなかった（表 2.6.6-9）。

表 2.6.6-9. イヌ 39 週間反復経口投与試験における L-105 の全身曝露

性別		雄			雌		
投与量（mg/kg）		100	300	1000	100	300	1000
C_{max}（ng/mL）	1 日目	2.84	19.34	14.51	15.74	20.86	11.16
	39 週目	25.41	33.69	19.39	8.53	9.94	24.36
$AUC_{0\text{-}8}$（ng·hr/mL）	1 日目	6.8	93.8	70.8	76.7	110.4	61.3
	39 週目	80.0	102.5	102.7	42.7	48.4	108.7

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 *Salmonella typhimurium* を用いた変異原性試験

参考資料 4.2.3.3.1-1（概要表 2.6.7.8.A）

Salmonella typhimurium（ネズミチフス菌）TA 98、TA 100、TA 1535、TA 1537 及び TA 1538 を用い、代謝活性化系（アロクロール誘導ラット肝 S9 画分）の存在下及び非存在下で L-105 の変異原性を検討した。L-105 をジメチルスルホキシド（DMSO）に溶解し、0.5～500 µg/plate の濃度で培地に添加した。陽性対照にはヒドラジン、9-アミノアクリジン、ドキソルビシン及び 2-アミノフルオレンを用いた。

代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの試験菌株においても L-105 による復帰突然変異株数の増加は見られなかった。また、全ての試験菌株で平均復帰突然変異株数の減少やコロニーの消失といった細胞毒性が認められた。以上、L-105 はサルモネラ菌に変異原性を示さないと判断した。

2.6.6.4.2 *Salmonella typhimurium* を用いた変異原性試験

参考資料 4.2.3.3.1-2（概要表 2.6.7.8.B）

Salmonella typhimurium TA 97、TA 98、TA 100、TA 1535 及び TA 1538 を用い、代謝活性化系（アロクロール誘導ラット肝 S9 画分）の存在下及び非存在下で L-105 の変異原性を検討した。TA 100 を用いた予備試験（濃度：0.01～5000 µg/plate）では 0.05 µg/plate 以上の濃度で細胞毒性が認められたため、本試験では 0.01～5 µg/plate の濃度で L-105 を培地に添加した。媒体には DMSO を使用し、陽性対照にはアジ化ナトリウム、2-ニトロフルオレン、ICR-191 アクリジン及び 2-アミノアントラセンを使用した。

代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの試験菌株においても L-105 による復帰突然変異株数の増加は見られなかった。また、0.5 µg/plate 以上の濃度で細胞毒性が認められた。以上、L-105 はサルモネラ菌に変異原性を示さないと判断した。

2.6.6.4.3 *Saccharomyces cerevisiae* を用いた変異原性試験

参考資料 4.2.3.3.1-3（概要表 2.6.7.8.C）

Saccharomyces cerevisiae D4（酵母）を用い、代謝活性化系（アロクロール誘導ラット肝 S9 画分）の存在下及び非存在下で L-105 の変異原性を検討した。L-105 を DMSO に溶解し、終濃度が 250、500 及び 1000 mg/L になるように添加して「Trp 5」遺伝子及び「Ade 2」遺伝子の変換頻度を測定した。陽性対照にはメタンスルホン酸メチル及びシクロホスファミドを用いた。

代謝活性化系の有無にかかわらず、L-105 による変換頻度の増加は見られなかった。代謝活性化系の非存在下では中等度の細胞毒性が認められ、各濃度における細胞生存率は対照の 66～90%に低下した。以上、 L-105 は *Saccharomyces cerevisiae* D4 に変異原性を示さないと判断した。

2.6.6.4.4 *Schizosaccharomyces pombe* を用いた変異原性試験

参考資料 4.2.3.3.1-4（概要表 2.6.7.8.D）

Schizosaccharomyces pombe（酵母）を用い、代謝活性化系（アロクロール誘導ラット肝 S9 画分）の存在下及び非存在下で L-105 の変異原性を検討した。L-105 を DMSO に溶解し、終濃度が 250、500 及び 1000 mg/L になるように添加して遺伝子の変換頻度を測定した。陽性対照にはメタンスルホン酸メチル及びジメチルニトロソアミンを用いた。

代謝活性化系の有無にかかわらず、L-105 による遺伝子変換頻度の増加は見られなかった。また、明らかな細胞毒性も認められなかった。以上、L-105 は *Schizosaccharomyces pombe* に変異原性を示さないと判断した。

2.6.6.4.5　　CHO/HGPRT を用いた変異原性試験

参考資料 4.2.3.3.1-5（概要表 2.6.7.8.E）

CHO 細胞を用い、代謝活性化系（アロクロール誘導ラット肝 S9 画分）の存在下及び非存在下で HGPRT 遺伝子座における変異原性を検討した。予備試験（終濃度：7.81～1000 μg/mL）では、ほとんどの濃度で細胞生存率の低下が認められ、代謝活性化系非存在下 125 μg/mL 以上の濃度では十分な細胞数が得られなかった。そこで本試験においては、代謝活性化系非存在下は 10～80 μg/mL、代謝活性化系存在下は 100～250 μg/mL の終濃度を設定し、DMSO に溶解した L-105 を培養液に添加して試験を実施した。陽性対照には ICR-191 アクリジン及び 3-メチルコラントレンを用いた。

代謝活性化系の有無にかかわらず、L-105 による HGPRT 突然変異の頻度増加は認められなかった。また、全ての濃度において明らかな細胞毒性が見られた。以上、L-105 は CHO 細胞に変異原性を示さないと判断した。

2.6.6.4.6　　ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験

評価資料 4.2.3.3.1-6（概要表 2.6.7.8.F）

ボランティアから採取したリンパ球を用い、L-105 の染色体異常誘発能を検討した。予備試験（終濃度：0.1～1000 μg/mL）の結果、細胞毒性により 1000 μg/mL の濃度ではスライド上に細胞を回収できなかった。そこで本試験においては、代謝活性化系（アロクロール誘導ラット肝 S9 画分）の存在下及び非存在下共に終濃度を 0.1～100 μg/mL に設定し、DMSO に溶解した L-105 を培養液に添加して試験を実施した。各用量で培養を 2 回行い、分裂中期の細胞合計 100 個について評価した。陽性対照にはマイトマイシン C 及びシクロホスファミドを用いた。

代謝活性化系の有無にかかわらず、L-105 による染色体異常陽性細胞数の増加は見られなかった。以上、L-105 はヒトリンパ球に染色体異常を誘発しないと判断した。

2.6.6.4.7　　Crl:CD(SD) BR 系ラット骨髄細胞を用いた小核試験

評価資料 4.2.3.3.2-1（概要表 2.6.7.9.A）

雌雄各群 15 匹の Crl:CD(SD) BR 系ラットに、L-105 を 0（溶媒）、1000 及び 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。L-105 を 0.5% MC 水溶液に懸濁させ、20 mL/kg の液量で強制経口投与した。投与の 18、42 及び 66 時間後に各群の雌雄各 5 匹から骨髄を採取して多染性赤血球 2000 個における小核の出現頻度を測定した。また、骨髄細胞に対する毒性の指標として、多染性赤血球と正染性赤血球の比（P/N 比）についても検討した。陽性対照にはマイトマイシン C を用い、8 mg/kg の用量で単回腹腔内投与して 42 時間後に骨髄を採取し、同様に検討した。

いずれの採取時点においても L-105 投与による小核出現頻度の増加は認められず、P/N 比にも L-105 投与の影響は認められなかった。以上、L-105 の経口投与は、ラットの骨髄に小核を誘発しないと判断した。

2.6.6.4.8　SD 系ラット初代培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験

評価資料 4.2.3.3.2-2（概要表 2.6.7.9.B）

雄性 SD 系ラットに、L-105 を 0（溶媒）、500、1000 及び 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。L-105 を 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で動物に強制経口投与した。各群 4 匹に投与して 2 時間後に各 3 匹から肝臓を採取し、別の各群 4 匹に投与して 14 時間後に各 3 匹から肝臓を採取して、それぞれ初代培養肝細胞を作製した。また、別の 12 匹を用い、2000 mg/kg を単回経口投与する前と投与 1 時間後に各 6 匹から採血して、L-105 の血漿中濃度を測定した。

初代培養肝細胞を 1 動物当たり 2 つ作製し、それぞれ[^{3}H]チミジンを加えて約 4 時間培養した後に非標識チミジンを含む液で一晩培養し、酢酸／エタノール溶液で細胞をスライド上に固定し、−20℃ で 10 日間曝露させた後に現像した。各スライド 2 枚／動物（計 100 個の細胞）を解析し、核グレイン数から細胞質グレイン数を差し引いたネットグレイン／核値を算出した。陽性対照にはメチルニトロソウレア及び 2-アセチルアミノフルオレンを用い、それぞれ 80 mg/kg 又は 100 mg/kg の用量で単回経口投与して 2 時間後又は 14 時間後に肝臓を採取し、同様に検討した。

1000 及び 2000 mg/kg 群のネットグレイン／核の平均値に明らかな増加は認められなかった。したがって、L-105 の経口投与はラットの肝細胞に不定期 DNA 合成を誘発しないと判断した。なお、投与 1 時間後における L-105 の血漿中濃度は、3.646 ng/mL（0.8410～9.638 ng/mL）であった。

2.6.6.4.9　Crl:CD(SD)系ラットの胃粘膜を用いたコメットアッセイ試験

評価資料 4.2.3.3.2-3（概要表 2.6.7.9.C）

L-105 は消化管からの吸収性に乏しいため、経口投与時に曝露が最も高いと予想される胃粘膜を用い、L-105 の DNA 損傷作用をコメットアッセイ試験で検討した。

各群 5 匹の雄性 Crl:CD(SD)系ラットに L-105 を 0（溶媒）、500、1000 及び 2000 mg/kg の用量で、解剖の約 24 時間前及び 4 時間前に、合計 2 回経口投与した。L-105 を 0.5% Tween80 水溶液に懸濁させ、20 mL/kg の液量で強制経口投与した。陽性対照にはメタンスルホン酸エチルを用い、200 mg/kg の用量で同様に経口投与した。解剖時に胃粘膜上皮細胞を採取し、アルカリ条件下でアガロース電気泳動を行って SYBR Gold 染色を施し、コメットテール部に含まれる DNA 量の比率（% Tail Intensity）を計測した。動物ごとに 100 個計測した平均値（Mean % Tail Intensity）を求め、更に群ごとの平均値を算出した。

いずれの用量においても Mean % Tail Intensity の有意な増加は認められなかった。したがって、L-105 はラットの胃粘膜細胞に対して DNA 損傷作用を有さないと判断した。

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　Crl:CD(SD)系ラットを用いた 2 年間反復経口投与がん原性試験

評価資料 4.2.3.4.1-1（概要表 2.6.7.10.A）

雌雄各群 60 匹の Crl:CD(SD)系ラットに、L-105 を 0（溶媒）、20、50 及び 150 mg/kg の用量で、2 年間反復経口投与した。高用量投与群では、投与期間の初期に L-105 投与の影響が認められなかったため、投与量を 28 週目以後は 150 mg/kg から 200 mg/kg に、39 週目以後は 250 mg/kg に、それぞれ増加させて反復経口投与した。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で毎日強制経口投与した。一般状態観察は、52 週目までは 1 日 2 回、それ以後は 1 日 3 回の頻度で行い、週 1 回の頻度で触知腫瘤の観察を行った。体重と摂餌量は、14 週目までは週 1 回、それ以後は 2 週に 1 回の頻度で測定した。死亡例及び安楽死例を含む全ての動物を剖検し、摘出器官の病理組織学的検査を実施した。

対照群及び L-105 の各用量投与群における試験終了時の生存率は、雄が 26.7%、25.0%、33.3%及び 25.0%、雌が 48.3%、41.7%、46.7%及び 40.0%であり、L-105 投与の影響は認められなかった。また、各群とも一般状態、体重及び体重増加量に L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。一部の週で体重又は摂餌量の低値又は高値が散見されたが、軽微であり、毒性学的な意義はないと判断した。肉眼所見については、認められた例数に明らかな用量反応性はなく、対照動物でも同様に認められることから、L-105 投与との関連はないと考えた。触知腫瘤が認められた例数についても、対照と投与動物ではほぼ同等であった（表 2.6.6-10）。

表 2.6.6-10. がん原性試験で触知腫瘤が認められた例数

投与量（mg/kg）	雄	雌
0	1/16	13/29
20	3/15	12/25
50	2/20	10/28
150/200/250	1/15	8/24

触知腫瘤が認められた動物数／試験終了時生存動物数

病理組織学的検査の結果、L-105 投与と関連する非腫瘍性病変は認められず、腫瘍性病変の発生率にも L-105 投与の影響は認められなかった。雄の 50 mg/kg 群で 1/60 例、150/200/250 mg/kg 群で 3/60 例の心臓に悪性シュワン細胞腫が認められ、Cochran-Armitage の傾向性検定（p 値 = 0.0244）及び Peto 検定（p 値 = 0.0246）で統計学的な有意差が認められた。しかしながら、Fisher Exact Test では有意な頻度増加が認められず、心内膜に他の増殖性病変が認められないこと、雌の心臓を含めた他の臓器で頻度増加が認められないこと、自然発生的にも散見されることから、L-105 投与との関連はないと考えられた（表 2.6.6-11）。

以上、L-105 は、ラットで腫瘍の発生率を増加させないと判断した。

表 2.6.6-11. ラット心臓におけるシュワン細胞腫の発現頻度

Heart Schwannoma, malignant		Dose (mg/kg/day)			
		Control	20	50	150/200/250
Male	Number of animals	0/60	0/60	1/60	3/60
	Incidence	0.00%	0.00%	1.67%	5.00%
	Fisher Exact Test; P-value	―	1.0000	1.0000	0.2437
	Cochran-Armitage Trend Test; P-value	0.0244			
	Peto Test; P-value	0.0246			
Female	Number of animals	0/60	0/60	0/60	0/60
	Incidence	0.00%	0.00%	0.00%	0.00%

2.6.6.5.2　Tg.rasH2 マウスを用いた 26 週間反復経口投与がん原性試験

評価資料 4.2.3.4.2-1（概要表 2.6.7.10.B）

雌雄各群 25 匹の rasH2 トランスジェニック（Tg.rasH2）マウスに、L-105 を 0（溶媒）、150、500 及び 1500 mg/kg（雄）又は 0、250、750 及び 2000 mg/kg（雌）の用量で 26 週間反復経口投与した。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、15 mL/kg の液量で毎日強制経口投与した。陽性対照にはウレタンを用い、雌雄各 25 匹に 1000 mg/kg の用量で 1 週目に 3 回腹腔内投与した。また、雌雄各群 8 匹の CByB6F1 マウスに L-105 を同様に反復経口投与し、13 週目及び投与期間終了時の投与 1 時間後に各 3 例から採血して血漿中の L-105 濃度を測定した。

試験期間中は毎日 2 回の頻度で一般状態を観察し、体重測定時には詳細な観察を行った。また、13 週目までは週 1 回の頻度で、以後は 2 週に 1 回の頻度で体重を測定し、週 1 回の頻度で摂餌量を測定した。死亡例及び安楽死例を含む全ての動物を剖検し、摘出した器官の重量を測定して病理組織学的検査を実施した。陽性対照群については、十分な例数を確保するため、17～18 週目に生存例全例を安楽死させて同様に検査した。

血漿中の L-105 濃度は、おおむね用量の増加に伴って上昇したが、用量比を下回った。投与終了時の血漿中濃度は、13 週目の血漿中濃度と大差なかった（表 2.6.6-12）。

表 2.6.6-12. Tg.rasH2 マウスがん原性試験における投与 1 時間後の血漿中 L-105 濃度

性別		雄			雌		
投与量（mg/kg）		150	500	1500	250	750	2000
C_{1hr}（ng/mL）	13 週目	6.84	6.52	11.5	10.5	15.3	17.7
	26 週目	5.03	8.40	14.4	9.17	12.3	17.3

対照群及び L-105 の各用量投与群における死亡数は、雄が 0、1、1、0 例、雌が 0、3、0、1 例であり、L-105 投与の影響は認められなかった。一般状態については、立毛、浅速呼吸、反応性亢進／興奮性、円背位姿勢、被毛の汚れ及び腫瘤等が認められたが、その多くは投与終了時までに消失する一過性の変化であった。体重については、雌の 750 mg/kg 群で 1 週目に一過性の増加が

認められ、雌の 2000 mg/kg 群では投与期間中に散発的及び一時継続的に減少が認められたが、体重増加量及び摂餌量に明らかな影響は認められなかった。

器官重量については、雄の 1500 mg/kg 群で肝臓の絶対重量及び相対重量に有意な減少が認められ、心臓の相対重量に有意な増加が認められた。雌の 2000 mg/kg 群では心臓と脾臓の絶対重量に有意な減少が、脳と腎臓の相対重量に有意な増加が認められたが、病理組織学的に変化が認められないことから、毒性学的な意義はないと考えられた。

病理組織学的検査の結果、L-105 投与による腫瘍の発生率増加は認められなかった。L-105 の投与と関連する肉眼病変は認められず、肺腫瘍（腺腫及び癌）及び血管腫瘍（血管腫及び血管肉腫）の発生率にも有意な増加は認められなかった。したがって、L-105 は、Tg.rasH2 マウスで腫瘍の発生率を増加させないと判断した。なお、高用量投与群の雌雄マウスでは、鼻腔粘膜下に急性炎症及び急性滲出性炎症が認められた。

主な腫瘍性病変として陽性対照物質の標的臓器である肺及び脾臓の所見並びにその他器官の所見を以下に記載する。

（1） 肺

陽性対照のウレタンを投与した雌雄マウスでは、腺腫及び癌を含む肺の腫瘍性病変が有意に増加した。L-105 投与群における腫瘍の発生数は、雄では対照群とほぼ同等の値を示した。雌ではやや高値を示したが、対照群との比較で有意差は認められず、用量反応性がないことから、L-105 投与との関連はないと判断した（表 2.6.6-13）。

表 2.6.6-13. Tg.rasH2 マウスがん原性試験における肺の腫瘍性病変

性別	雄					雌				
投与量（mg/kg）	0	150	500	1500	Urethane [a]	0	250	750	2000	Urethane [a]
評価動物数	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
腺腫	2	3	3	1	0	1	2	4	3	0
多発腺腫	0	0	0	1	25[b]	0	0	1	0	25[b]
癌腫	1	0	0	0	18[b]	0	0	0	0	24[b]
いずれかの腫瘍	3	3	3	2	25	1	2	5	3	25

注：ウレタンを投与した雌雄マウスでは、同一マウスに多発性肺腺腫及び／又は癌腫が認められた。

[a] 陽性対照（1000 mg/kg）

[b] $p<0.05$（Fisher の直接確率法）

Cochran-Armitage の傾向性検定で用量反応性は認められなかった。

（2） 脾臓

陽性対照のウレタンを投与した雌雄マウスでは、血管肉腫の発生数が有意に増加した。L-105 投与群における腫瘍の発生数は、一部の群を除いて雌雄とも対照群より高値を示したが、有意差は認められず、用量依存性がないことから、L-105 投与との関連はないと判断した（表 2.6.6-14）。

表 2.6.6-14. Tg.rasH2 マウスがん原性試験における脾臓の血管肉腫

性別	雄					雌				
投与量（mg/kg）	0	150	500	1500	Urethane [a]	0	250	750	2000	Urethane [a]
評価動物数	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
血管肉腫	0	1	4	0	20[b]	0	1	1	2	25[b]

[a] 陽性対照（1000 mg/kg）

[b] $p<0.05$（Fisher 直接確率法）

Cochran-Armitage の傾向性検定、Trend 解析（回帰分析）で用量反応性は認められなかった。

（3） その他の器官

脾臓以外の器官における血管肉腫の発生数は、対照群及び L-105 の各用量投与群で雄が 1、2、1、3 例、雌が 1、4、2、2 例であり、一部の群で高値を示したものの有意差はなく、用量反応性もなかった。他にも腫瘍は幾つか確認されたが、発生率が低く、対照群との比較で有差は認められなかった。また、用量反応性もないことから、L-105 投与との関連はないと考えられた。非腫瘍性病変については、雌雄の高用量投与群で鼻腔の炎症性変化が頻度及び程度ともに増加して認められたが（表 2.6.6-15）、その他には L-105 投与と関連した病理組織学的変化は認められなかった。

表 2.6.6-15. Tg.rasH2 マウスがん原性試験における鼻腔の非腫瘍性病変

性別	雄				雌			
投与量（mg/kg）	0	150	500	1500	0	250	750	2000
評価動物数	25	25	25	25	25	25	25	25
Inflammation, submucosa, minimal	13	10	9	8	19	13	9	10
Inflammation, acute, exudative	3	0	0	10	3	0	3	9
minimal	3	0	0	2	3	0	3	2
mild	0	0	0	6	0	0	0	4
moderate	0	0	0	2	0	0	0	3

2.6.6.6　生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

2.6.6.6.1　SD 系ラットを用いた受胎能及び生殖能に関する試験

参考資料 4.2.3.5.1-1（概要表 2.6.7.11）

各群 10 匹の雄及び各群 20 匹の雌性 SD 系ラットに L-105 を 0（溶媒）、25、50 及び 100 mg/kg の用量で 70 日間（雄）又は 14 日間（雌）反復経口投与した後に、雌 2 匹に雄 1 匹の割合で交配させた。L-105 を 1%アラビアゴム水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で強制経口投与した。交配期間中並びに雌では妊娠中及び授乳中も投与を継続した。20 日間の交配期間終了時に雄を剖検し、100 mg/kg 投与群では精巣、精巣上体、前立腺及び精嚢の病理組織学的検査を実施した。交配が確認された母動物の各群 10 例を妊娠 12～14 日目に剖検し、吸収胚数及び胎児数（生存胎児及び死亡胎児）を記録した。また、残りの母動物を分娩させ、出生児（F_1）の体重、成熟度、生殖能を評価した。F_2 出生児については、生後 4 日まで観察した。

雌雄親動物（F_0）の一般状態、体重及び受胎能に L-105 投与の影響は認められず、雄の生殖器にも病理組織学的な影響は認められなかった。母動物（F_0）における着床数、吸収胚数及び生存胎児数並びに分娩時の同腹児数は各群で同等に認められ、出生児（F_1）の体重、成熟度（身体発達及び神経筋の発達）及び生殖能にも L-105 投与の影響は認められなかった（NOAEL の記載はない）。

2.6.6.6.2　SD 系ラットを用いた受胎能並びに周産期及び授乳期の発達に関する予備試験

参考資料 4.2.3.5.1-2（概要表 2.6.7.11）

雌雄各群 8 匹の Crl:CD(SD)系ラットに L-105 を 0（溶媒）、150 及び 300 mg/kg の用量で 15 日間反復経口投与した後に、雌 1 匹に雄 1 匹の割合で交配させた。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で強制経口投与した。雄では交配終了時まで投与を継続し、雌では妊娠中及び授乳 9 日目まで投与を継続した。全ての母動物を分娩させ、交配率、受胎能並びに出生児（F_1）の数、性比、体重等を記録した。授乳 10 日目には母動物と出生児を安楽死させて、剖検した。

一般状態が悪化したため、30 日目に 300 mg/kg 群の雄 1 例を安楽死させたが、1 例のみの変化であり、反復経口投与毒性試験では同様な影響が認められないことから、L-105 投与との関連はないと判断した。その他、雌雄親動物（F_0）では一般状態に L-105 投与の影響は認められなかった。L-105 投与群では体重増加量と摂餌量の減少が認められたが、性周期、交尾行動、受胎能、妊娠期間、同腹児数及び出生児の体重等に明らかな影響は認められなかった。授乳 10 日目の剖検においても、母動物と出生児に特記所見は認められなかった（NOAEL の記載はない）。

2.6.6.6.3　Crl:CD(SD)ラットを用いた受胎能及び胚・胎児発生毒性に関する試験

評価資料 4.2.3.5.1-3（概要表 2.6.7.12.A）

雌雄各群 22 匹の Crl:CD(SD)系ラットに、L-105 を 0（溶媒）、50、150 及び 300 mg/kg の用量で 29 日間（雄）又は 15 日間（雌）反復経口投与した後に、雌 1 匹に雄 1 匹の割合で交配させた。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、10 mL/kg 液量で強制経口投与した。雄では剖検時まで投与を継続し、雌では妊娠 17 日目まで投与を継続した。妊娠 20 日目に母動物を剖検して子宮内を検査し、胎児の外表、骨格及び内臓を検査した。また、母動物の剖検後に雄を剖検し、生殖器の重量を測定した。

雌雄親動物の一般状態では、L-105 投与の影響は認められなかった。300 mg/kg 群の雄で軽微な体重増加抑制が認められ、L-105 の腸内細菌叢に対する抗菌作用によると考えられた。150 及び 300 mg/kg 群の雌でも体重増加抑制が認められたが、雌雄とも摂餌量には明らかな影響が認められなかった。性周期、交配率、受胎率、黄体数、着床数、吸収胚数、同腹児数、同腹児体重、胎児体重及び性比については、L-105 投与の影響は認められなかった。各用量投与群で平均胎盤重量の減少が認められたが、平均胎児体重や同腹児総体重に影響が認められないことから、毒性学的な意義はないと考えられた。雄の生殖器重量については、300 mg/kg 群で前立腺重量の増加が認められたが、他の器官には影響が認められず、受胎能にも影響が見られないことから、毒性学的な意義はないと考えられた。

胎児検査では、150 及び 300 mg/kg 群で皮下出血が認められ、300 mg/kg 群では肝臓の出血が認められたが、人為的過誤の結果としても出血が認められることから、L-105 投与との関連はないと考えられた。150 及び 300 mg/kg 群では頭蓋骨及び骨盤骨の不完全骨化が認められたが、軽微な発達遅延によると解釈され、毒性学的な意義はないと考えられた。外表、内臓及び骨格検査において、その他に L-105 投与の影響は認められなかった。親動物への影響に関する NOAEL は 150 mg/kg、生殖能及び受胎能に関する NOAEL は 300 mg/kg、胎児の生存、成長及び発達に関する NOAEL は 300 mg/kg であった。

2.6.6.6.4　New Zealand White ウサギを用いた胚・胎児発生毒性予備試験

参考資料 4.2.3.5.2-1（概要表 2.6.7.11）

各群 4 匹の雌性 New Zealand White ウサギに、L-105 を 0（溶媒）、100、300 及び 1000 mg/kg の用量で妊娠 6 日目から 19 日目まで毎日反復経口投与した。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、5 mL/kg の液量で強制経口投与した。妊娠 29 日目には母動物を剖検して着床数、吸収胚数、生存胎児数及び胎児体重等を記録し、胎児の外表と内臓を肉眼的に観察した。

母動物の一般状態では、L-105 投与の影響は認められなかった。各用量投与群で投与初期に体重と摂餌量の減少が認められ、1000 mg/kg 群では投与期間中に体重増加抑制が認められた。黄体数、着床数、吸収胚数、生存胎児数、胎児体重及び胎盤重量については、L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。100 mg/kg 群の胎児 1 例では短顎、口蓋裂及び胸骨の歪み等が、300 mg/kg

群の胎児 1 例では無顎、横隔膜の発育遅延等が認められたが、L-105 投与との関連はないと考えられた。その他、L-105 投与による胎児への影響は、認められなかった（NOAEL の記載はない）。

2.6.6.6.5　New Zealand White ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験

評価資料 4.2.3.5.2-2（概要表 2.6.7.13.A）

各群 22 匹の雌性 New Zealand White ウサギに、L-105 を 0（溶媒）、62.5、250 及び 1000 mg/kg の用量で妊娠 6 日目から 19 日目まで毎日反復経口投与した。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、5 mL/kg の液量で強制経口投与した。各用量投与群には 4 匹を追加し、妊娠 6 日目と 19 日目の投与 0、1、2、4、6 及び 8 時間後に採血して、血漿中の L-105 濃度を測定した。妊娠 29 日目に母動物を剖検して黄体数、胚吸収数、着床数、生存胎児数、胎盤重量及び胎児体重等を記録し、胎児の外表、内臓及び骨格を検査した。

TK 測定の結果、いずれも血漿中 L-105 濃度は低く、62.5 mg/kg 群では薬物動態パラメーターをほとんど算出できなかった。250 及び 1000 mg/kg 群では、投与量の増加に伴って全身曝露が増加したものの、その増加度合いは用量比を下回った（表 2.6.6-16）。

表 2.6.6-16. ウサギの胚胎児毒性試験における L-105 の全身曝露

投与量（mg/kg）		62.5	250	1000
C_{max}（ng/mL）	妊娠 6 日目	ND	1.046	2.200
	妊娠 19 日目	1.385	1.705	4.006
AUC_{0-8}（ng·hr/mL）	妊娠 6 日目	ND	6.63	10.95
	妊娠 19 日目	ND	8.25	16.97

ND：血中濃度が低く、TK パラメーターを求められなかった。

母動物の一般状態観察では、L-105 の各用量投与群でオレンジ色の着色便が、1000 mg/kg 群で蒼白が認められた。また、妊娠期間中に対照群の 2 例と 250 mg/kg 群の 2 例が流産し、偶発的な要因で対照群の 1 例が死亡した。L-105 の各用量投与群では、投与期間中に母動物で体重増加抑制と摂餌量の減少が認められ、胎児で第 13 肋骨、20 胸腰椎体、過剰胸骨核及び骨盤帯接合部の離隔が認められたが、用量反応性はなかった。胎児の外表及び内臓の検査では、L-105 投与の影響は認められなかった。全ての用量投与群で母動物への影響と胎児の骨格異常が認められたため、NOAEL は求められなかった。

2.6.6.6.6　SD 系ラット及び New Zealand White ウサギを用いた胎児発生毒性及び出生前後の毒性試験

参考資料 4.2.3.5.3-1（概要表 2.6.7.11）

（1） ラットの胎児発生毒性

各群 9～11 匹の雌性 SD 系ラットに、L-105 を 0（溶媒）、50 及び 100 mg/kg の用量で妊娠 5 日目から 18 日目まで毎日反復経口投与した。L-105 を 5%アラビアゴム水溶液に懸濁させ、5 mL/kg の液量で強制経口投与した。妊娠期間中に母動物の一般状態と体重を測定し、妊娠 21 日に剖検して血液学的検査、血液生化学的検査及び子宮の肉眼的観察を行った。また、胎児の体重を測定し、外表、内臓及び骨格を検査した。各用量群の母動物及び胎児共に、L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。

（2） ウサギの胎児発生毒性

各群 6～8 匹の雌性 New Zealand White ウサギに、L-105 を 0（溶媒）、50 及び 100 mg/kg の用量で妊娠 6 日目から 18 日目まで毎日反復経口投与した。L-105 を 5%アラビアゴム水溶液に懸濁させ、1 mL/kg の液量で強制経口投与した。妊娠期間中に母動物の一般状態と体重を測定し、妊娠 28 日目に剖検して血液学的検査、血液生化学的検査及び子宮の肉眼的観察を行った。また、胎児の体重を測定し、外表、内臓及び骨格を検査した。各用量群の母動物及び胎児共に、L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。

（3） ラットにおける出生前後の毒性

各群 7～9 匹の雌性 SD 系ラットに、L-105 を 0（溶媒）、50 及び 100 mg/kg の用量で妊娠 17 日目から授乳 22 日目まで毎日反復経口投与した。L-105 を 5%アラビアゴム水溶液に懸濁させ、5 mL/kg の液量で強制経口投与した。妊娠期間中に母動物の一般状態と体重を測定し、全例を分娩させて出生児の体重、外表、身体発達及び行動等を評価した。また、出生児の雌雄各群 1 例について、脳の病理組織学的検査を実施した。各用量群の母動物及び出生児共に、L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。

2.6.6.6.7　Crl:CD(SD)系ラットを用いた出生前及び出生後の発達に関する試験

評価資料 4.2.3.5.3-2（概要表 2.6.7.14.A）

各群 22 匹の雌性 Crl:CD(SD)系ラットに、L-105 を 0（溶媒）、50、150 及び 300 mg/kg の用量で妊娠 6 日目から授乳 20 日目まで毎日反復経口投与した。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で強制経口投与した。全ての母動物（F_0）を分娩させ、出生児（F_1）の体重、身体発達、視聴覚の発達、神経筋の発達、学習能力及び生殖能を検討した。F_2 出生児については、生後 7 日に剖検して外表と内臓を肉眼的に観察した。

150 及び 300 mg/kg 群の母動物では、投与の初期に体重増加抑制と摂餌量の減少が認められた。妊娠期間、分娩状況、同腹児数並びに出生児の体重、成長、身体発達、視聴覚の発達、自発運動、神経筋の発達、学習指標における成熟度及び生殖能は、全ての群で同等であり、L-105 投与の影響は認められなかった。なお、出生児（雌）の妊娠時体重に有意な低値が認められたが、用量反応性がないことなどから、毒性学的な意義はないと考えられた。母動物への影響に関する NOAEL は 50 mg/kg、出生児の成熟度及び生殖能に関する NOAEL は 300 mg/kg であった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

実施しなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 Crl:CD (SD)IGS BR 系ラットを用いた 4 週間反復経口投与免疫毒性試験

評価資料 4.2.3.7.2-1（概要表 2.6.7.16.A）

ラットの 4 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-2）では白血球数の減少と脾臓及び胸腺の重量減少が認められ、イヌの 39 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-10）で胸腺重量の減少が見られた。そこで、ラットを用いた免疫毒性試験を実施し、L-105 の免疫毒性を検討した。

雌雄各群 10 匹の Crl:CD (SD)IGS BR 系ラットに、L-105 を 0（溶媒）、50、150 及び 500 mg/kg の用量で 4 週間反復経口投与した。L-105 を 1% MC 水溶液に懸濁させ、10 mL/kg の液量で強制経口投与した。剖検の 2 日前には、別の雌雄各 5 匹にシクロホスファミドを 50 mg/kg の用量で単回腹腔内投与し、プラーク形成細胞（PFC）試験の陽性対照とした。

投与期間中は毎日一般状態を観察し、週 1 回の頻度で体重を測定した。また、投与 24 日目には L-105 の各用量投与群から採血して白血球数及び白血球分画の測定並びにフローサイトメトリーによるリンパ球サブセット分析（T リンパ球、B リンパ球及びナチュラルキラー細胞）を行い、投与 28 日目に採血して血漿中の L-105 濃度を測定した。投与期間終了時には、全ての動物を二酸化炭素吸入により安楽死させて剖検し、骨髄検査、器官重量（下顎リンパ、腸管膜リンパ、脾臓、胸腺）の測定及び主要組織の病理組織学的検査を実施した。また、脾臓組織の一部を用い PFC 試験を実施した。PFC 試験は、剖検の 4 日前にヒツジ赤血球（SRBC、2×10^8 個）を各動物に単回静脈内投与し、4 日後に脾細胞を採取して補体依存性に SRBC を溶解させるリンパ球数を顕微鏡で計測した（表 2.6.6-17）。

投与 28 日目の投与 1 時間後における血漿中 L-105 濃度は、50、150 及び 500 mg/kg 群の雄では 27.4、5.3 及び 14.3 ng/mL、雌では 1.0、5.2 及び 9.3 ng/mL であり、用量依存的な増加は見られなかった。

L-105 投与による死亡や一般状態の変化は認められず、体重、白血球数、白血球分画、骨髄検査、器官重量、剖検所見、病理組織学的検査及び PFC 試験のいずれにおいても、L-105 投与の影響は認められなかった。

リンパ球サブセット分析の結果、150 及び 500 mg/kg 群の雄で T リンパ球の増加が認められ、主に CD4 + T リンパ球の増加と 500 mg/kg 群では CD8 + T リンパ球の軽度増加が認められた。しかし、雌では同様な影響が認められず、T リンパ球依存性の体液性免疫応答を評価する PFC 試験（表 2.6.6-17）で L-105 投与の影響が認められないこと、血液学的検査、器官重量、リンパ組織の病理組織学的所見でも L-105 投与の影響が認められないことから、雄で認められた T リンパ球の増加に毒性学的な意義はないと考えられた。

以上、L-105 は、T リンパ球依存性の体液性免疫反応に影響を与えないと判断した。

表 2.6.6-17. ラット免疫毒性試験：プラーク形成細胞数に対する L-105 の影響

投与		脾臓細胞数		細胞 10^6 個当たりの PFC 数		脾臓の PFC 数	
		GMean	p	GMean	p	GMean	p
雄	対照	5.60×10^8	―	1262	―	7.08×10^5	―
	L-105 50 mg/kg	5.44×10^8	>0.999	892	0.617	4.85×10^5	0.762
	150 mg/kg	6.53×10^8	0.481	1134	0.617	7.40×10^5	0.762
	500 mg/kg	6.09×10^8	0.481	907	0.439	5.52×10^5	0.638
	Cyclophosphamide 50 mg/kg	1.66×10^8	<0.001	21	<0.001	3.54×10^3	<0.001
雌	対照	4.94×10^8	―	1524	―	7.52×10^5	―
	L-105 50 mg/kg	3.77×10^8	0.148	1122	0.683	4.23×10^5	0.285
	150 mg/kg	3.47×10^8	0.148	1228	0.683	4.26×10^5	0.285
	500 mg/kg	4.10×10^8	0.148	1353	0.683	5.54×10^5	0.285
	Cyclophosphamide 50 mg/kg	1.25×10^8	<0.001	12	<0.001	1.48×10^3	<0.001

GMean：対数変換による幾何平均値（Geometric mean）

p：p 値（L-105 投与群は Williams 検定、Cyclophosphamide は t 検定）

2.6.6.8.2　　代謝物の毒性

L-105 の代謝物については、*in vitro* 試験結果から 25-*O*-脱アセチル体がヒトの主要代謝物として特定されている（2.6.4.5.1）。一方 *in vivo* においては、消化管吸収率が極めて低いために 400 mg の[^{14}C]L-105 を単回経口投与したときの試料中放射能量は低く、ヒト血漿中代謝物プロファイルに関する有用な情報を得ることができなかった（2.7.1.2.5）。しかし、L-105 を経口投与したヒト尿中 25-*O*-脱アセチル体の存在比が総代謝物の 5%未満、未変化体の 1%未満と著しく少ないこと（表 2.6.6-18）、[^{14}C]L-105 を経口投与したヒト糞抽出物のラジオクロマトグラム（5.3.1.1-5：RFPK9801、Appendix 6）で 25-*O*-脱アセチル体に相当する放射能画分が未変化体以外の放射能画分の合計（吸収後に胆汁排泄されたと推定）の 10%より明らかに小さいことから、25-*O*-脱アセチル体の全身曝露は投与薬物に関連する総曝露量の 10%よりも低いと考えられた。したがって、25-*O*-脱アセチル体の安全性については、非臨床試験で特徴づける必要はないと考えられた。

表 2.6.6-18. L-105 及び 25-*O*-脱アセチル体の尿糞中排泄率

投与薬 （試験番号）	試料	極性 代謝物 [a]	L-105 未変化体 [a]	25-*O*- 脱アセチル体 [a]	備考
[^{14}C] L-105 （RFPK9801）	尿 （0～12 hr）	0.21～ 0.28%	0.01～0.05%	<0.01%	25-*O*-脱アセチル体の尿中存在比（対総代謝物）は 5%未満であった
	糞 （～120 hr）	<2%	60～93%	<3%	糞中の未変化体の大半は未吸収と考えられる
L-105 （RFPK9901）	尿 （0～24 hr）	NA	0.0225～ 0.0509%	0.0002%	25-*O*-脱アセチル体の尿中存在比（対未変化体）は 1%未満であった

[a] 投与量に対する割合（%）
NA：非該当

2.6.6.8.3　　不純物の毒性

L-105 の不純物として、構造を確認し、個別に規格設定する基準を上回る不純物が他に検出されないことから、類縁物質 D+H のみを規格設定している。

類縁物質 D+H は、各種 GLP 試験で使用した原薬（ロット）中に[redacted]～[redacted]%（表 2.6.6-19）含まれており、この不純物の影響を含めて反復投与毒性、遺伝毒性（*in vivo*）及びがん原性が評価されている。マウスとラットの単回投与毒性試験及びウサギの生殖発生毒性試験、*in vitro* 遺伝毒性試験並びに小核試験で使用した原薬（ロット番号 AC/0093、901028/A(G0704)、920531）では個別の不純物含量を測定していないが、各種ロットの分析結果から[redacted]～[redacted]%程度の類縁物質 D+H が含まれていたと推察される（表 2.6.6-19）。ヒト用原薬に含まれる類縁物質 D+H の含量を[redacted]%、ヒトの投与量を 1200 mg、ヒトの体重を 50 kg とした場合、これらの毒性試験ではヒトの投与量と比較しておよそ[redacted]～[redacted]倍高い用量の類縁物質 D+H を投与したことになる。したがって、これら毒性試験では特段懸念される毒性変化が認められていないことから、類縁物質 D+H によって著しい毒性が発現することはないと考えられた。

表 2.6.6-19. GLP 試験で使用したロットに含まれる類縁物質 D+H の含量及び対ヒト用量比

試験番号	動物種	投与期間	L-105 の投与量（mg/kg）	Lot No	類縁物質 D+H	
					含量	対ヒト用量比 [a]
T0801	マウス	単回	1000, 2000	0020340370	[redacted]	
T0802	マウス	4 週間	0, 125, 250, 500, 1000, 2000	0240241172		
T0901	マウス	26 週間	♂0, 150, 500, 1500 ♀0, 250, 750, 2000	0240241172		
				C7G0217		
T0601	ラット	4 週間	0, 50, 150, 500	20060281		
T9901	ラット	26 週間	0, 50, 150, 300	PP2040		
T0902	ラット	2 年間	0, 20, 50, 150/200/250	0020340370		
				C7G0217		
[redacted]74560	イヌ	単回	0, 100[c], 300[c], 1000[c]	BLT284/2008		
T9706	イヌ	4 週間	100, 300, 1000	PP2040		
T1001	イヌ	4 週間	0, 300[c], 1000[c]	0554/2009		
			1000	2009ZA1199		
				2009ZA1267		
[redacted]BQG0004	イヌ	26 週間	0, 100[c], 1000[c]	0557/2010		
			1000	2010ZA1903		
T9902	イヌ	39 週間	0, 100, 300, 1000	PP2040		
				PP2041		
T0803	UDS 試験 [b]		0, 500, 1000, 2000	2007001643		
ARX1GT[redacted]01	Comet assay [b]		0, 500, 1000, 2000	2013001257		

[a] ヒト用原薬に含まれる含量を[redacted]%、ヒトの投与量を 1200 mg、ヒトの体重を 50 kg としたときの類縁物質 D+H の投与量比（動物試験の最高用量／ヒトの投与量）

[b] *in vivo* 遺伝毒性試験（単回投与及び 2 回投与）

[c] [redacted]の L-105

2.6.6.8.4　Dunkin-Hartley 系モルモットを用いた皮膚感作性試験

評価資料 4.2.3.7.7-1（概要表 2.6.7.16.B）

モルモットを用いた Magnusson and Kligman 法により、L-105 の皮膚感作性を検討した。

20 匹の雌性 Dunkin-Hartley 系モルモットの頸背部に、フロインド完全アジュバント（FCA）、L-105 を 20%の濃度でコーンオイル又は FCA に懸濁させた液 0.1 mL をそれぞれ 2 ヵ所ずつ計 6 ヵ所に皮内投与して感作した。また、翌週には L-105 を 50%の濃度でコーンオイルに懸濁させた液 0.4 mL を 20 × 40 mm のガーゼに塗布し、同部位に 48 時間貼付して追加感作した。対照群（雌 10 匹）には FCA、コーンオイル又は FCA とコーンオイルの混液を同様に皮内投与して感作し、コーンオイルを貼付して追加感作した。追加感作の 2 週間後に、L-105 を 20%の濃度でコーンオイルに懸濁させた液又はコーンオイルの 0.2 mL を 20 × 20 mm のガーゼに塗布し、動物の左右背側に 24 時間貼付して惹起した。惹起の 24 及び 48 時間後に惹起部位を観察したが、L-105 投与による発赤や浮腫は認められなかった。

2.6.6.8.5 [redacted]L-105 のビーグル犬を用いた単回経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.7.7-2（概要表 2.6.7.16.C）

雌雄各群 4 匹のビーグル犬に、[redacted]の L-105 をゼラチンカプセルに充填して 0、100、300 及び 1000 mg/kg の用量で単回経口投与した。投与後は 14 日間にわたって毎日一般状態を観察して摂餌量を測定し、1、3、8、12 及び 14 日目に体重を測定した。また、投与前、投与 2 時間後及び剖検前に心電図検査を、投与前、投与 3 日目及び投与 14 又は 15 日目に獣医学的検査、眼科学的検査、尿検査、糞便検査、血液学的検査及び血液生化学的検査を実施した。投与 3 日目及び 15 日目には各群雌雄 2 匹を安楽死させて剖検し、摘出器官の重量測定と病理組織学的検査を実施した。TK 測定は、投与の 0（投与前）、1、2、4、8 及び 24 時間後に頸静脈から採血して血漿中の L-105 濃度を測定した。

300 及び 1000 mg/kg 群で赤色の着色便が認められ、1000 mg/kg 群の雌 1 例で唾液の分泌過剰が認められた。しかし、死亡は認められず、他のいずれの検査項目においても[redacted]L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。

TK 測定の結果、100、300 及び 1000 mg/kg 群の曝露は、投与用量の増加に伴って著しく増加した。明らかな性差は認められなかった（表 2.6.6-20）。

表 2.6.6-20. [redacted]L-105 のイヌ単回経口投与試験における L-105 の全身曝露

性別	雄			雌		
投与量（mg/kg）	**100**	**300**	**1000**	**100**	**300**	**1000**
C_{max}（ng/mL）	936.23	2568.00	5885.25	989.78	3546.50	6769.25
AUC_{0-24}（ng·hr/mL）	6100	17500	71303	4990	22497	59462

2.6.6.8.6 [redacted]L-105 のビーグル犬を用いた 4 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.7.7-3（概要表 2.6.7.16.D）

雌雄各群 6 匹（対照群は 4 匹）のビーグル犬に、[redacted]の L-105 を 0、300 及び 1000 mg/kg の用量で、L-105 を 1000 mg/kg の用量で、それぞれゼラチンカプセルに充填して 4 週間反復経口投与した。ただし、各群の半数例は、投与 2 週間目に安楽死させて検査した。投与期間中は毎日一般状態の観察と摂餌量の測定を行い、週 1 回の頻度で体重を測定した。また、投与開始前と剖検前に獣医学的検査を実施し、投与開始前、2 週目及び 4 週目に頸静脈から採血して血液学的検査、血液凝固検査及び血液生化学的検査を実施した。TK 測定は、投与の 1 日目と 2 週目及び 4 週目に、投与の 0（投与前）、1、2、4、8 及び 24 時間後に各動物の頸静脈から採血して血漿中の L-105 濃度を測定した。2 週目及び 4 週目にはバルビタール麻酔下で放血致死させて剖検し、摘出した器官の重量を測定して病理組織学的検査を実施した。また、肝臓の薬物代謝酵素活性を測定した。

一般状態観察では、L-105 及び[redacted]L-105 の各 1000 mg/kg 投与群で赤色の着色便が認められたが、その他に異常は認められなかった。血液生化学的検査では、各 1000 mg/kg 投与群の一部例で ALP、ALT、AST、γ-GT、グルタミン酸脱水素酵素、総ビリルビンの軽度増加が認められたが、

少数例の軽度な変化であり、肝臓の病理組織学的検査で異常が認められないことから、毒性学的な意義はないと考えられた。また、血液学的検査では、雌の[redacted] L-105 投与群で好酸球の増加が認められたが、他の血液学的パラメーターに変化が見られないことから、偶発的な変化であると考えられた。その他には、各種検査で L-105 及び[redacted] L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。

TK 測定の結果、[redacted]の L-105 の 1000 mg/kg 投与群では、L-105 の 1000 mg/kg 投与群と比較して C_{max} が雄では 119～423 倍、雌では 112～239 倍に増加した。また、AUC_{0-24} が雄では 84～163 倍、雌では 63～107 倍に増加した。肝臓の薬物代謝酵素活性を測定した結果、チトクローム P450（CYP）タンパク量の増加や CYP1A1/2、CYP2B11 及び CYP3A12 の酵素誘導は認められなかった（表 2.6.6-21）。

以上､いずれの群にも特記すべき所見が認められないことから[redacted]の L-105 の NOAEL は 1000 mg/kg と判断した。

表 2.6.6-21. [redacted] L-105 のイヌ 4 週間反復経口投与試験における L-105 の全身曝露

性別		雄			雌		
		L-105 ([redacted])		L-105	L-105 ([redacted])		L-105
投与量（mg/kg）		300	1000	1000	300	1000	1000
C_{max}（ng/mL）	1 日目	1304.2	2568.0	12.5	708.5	2490.3	10.4
	2 週目	1436.7	2158.7	18.2	1309.7	1902.8	17.0
	4 週目	1923.2	2922.0	6.9	1445.1	2226.2	10.6
AUC_{0-24}（ng·hr/mL）	1 日目	12746.0	19622.3	120.4	3152.3	13762.9	128.1
	2 週目	11321.0	11307.6	134.8	4566.4	9653.7	137.9
	4 週目	8750.6	12423.4	80.1	9292.9	7155.1	113.8

2.6.6.8.7　[redacted] L-105 のビーグル犬を用いた 26 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.7.7-4（概要表 2.6.7.16.E）

雌雄各群 4 匹のビーグル犬に[redacted]の L-105 を 0、100 及び 1000 mg/kg の用量で、L-105 を 1000 mg/kg の用量で、それぞれゼラチンカプセルに充填して 26 週間反復経口投与した。投与期間中は毎日一般状態の観察と摂餌量の測定を行い、週 1 回の頻度で体重を測定した。投与開始前、13 週目及び投与終了時には血圧の測定と心電図検査（投与の 2 及び 24 時間後）及び尿検査を実施し、頸静脈から採血して血液学的検査及び血液生化学的検査を実施した。また、投与開始前と投与終了時には眼科学的検査を実施した。TK 測定は、投与 1 日目と 26 週目に、投与の 0（投与前）、1、2、4、8 及び 24 時間後に各動物の頸静脈から採血して血漿中の L-105 濃度を測定した。投与終了時には、ペントバルビタール麻酔下で放血致死させて剖検し、骨髄検査並びに摘出器官の重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

L-105 及び[redacted]の L-105 の各 1000 mg/kg 投与群で赤色の着色便が認められた以外、一般状態に異常は認められなかった。L-105 の 1000 mg/kg 投与群（雌）で軽度な体重増加抑制が認められたが、他の投与群では認められていないことから、L-105 投与との関連はないと考えられた。病理組織学的検査では、雄の各群で胸腺の萎縮が認められたが、器官重量では有意な変化が認められないことや他の免疫系組織に異常が認められないことから、毒性学的な意義はないと考えられた。その他、心電図検査を含め、各種検査では L-105 及び[redacted]L-105 投与による明らかな影響は認められなかった（NOAEL に関する記載はない）。

TK 測定の結果、[redacted]の L-105 の 1000 mg/kg 投与群では、L-105 の 1000 mg/kg 投与群と比較して C_{max} が雄では 121～143 倍、雌では 38～59 倍に増加した。また、$AUC_{0\text{-}24}$ が雄では 72～125 倍、雌では 42～114 倍に増加した。性差や明らかな蓄積は認められなかった（表 2.6.6-22）。

表 2.6.6-22. [redacted]L-105 のイヌ 26 週間反復経口投与試験における L-105 の全身曝露

性別		雄			雌		
		L-105 ([redacted])		L-105	L-105 ([redacted])		L-105
投与量（mg/kg）		100	1000	1000	100	1000	1000
C_{max}（ng/mL）	1 日目	79.6	2460	20.3	111	4050	68.6
	26 週目	445	1370	9.58	172	2820	73.3
$AUC_{0\text{-}24}$（ng·hr/mL）	1 日目	682	19300	155	1070	40700	356
	26 週目	4570	9760	136	870	24300	573

2.6.6.9　考察及び結論

単回投与毒性試験では、雌雄マウスと雌雄ラットに L-105 の 2000 mg/kg までを単回経口投与した結果、立毛や着色便が認められた以外に明らかな影響は認められなかった。マウスの単回経口投与毒性試験では、2000 mg/kg を投与した雄 1/5 例が投与 11 日後に死亡したが、残る生存例では影響が認められないことや、反復投与を含む別試験で死亡が認められないことから、偶発的な影響と考えられた。一方、雌雄のマウスとラットに 40 mg/kg の用量で L-105 を単回静脈内投与した結果、それぞれ雌と雄の 1/5 例が死亡したが、対照群でもほぼ同様の症状変化や死亡が認められたことから、溶媒である 50%PEG 400 の影響による可能性が高いと思われた。

反復投与毒性試験では、雌雄マウスに L-105 の 2000 mg/kg までを 4 週間反復経口投与した結果、L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。雌雄ラットに L-105 の 1000 mg/kg までを 4 週間、100 mg/kg までを 13 及び 26 週間、300 mg/kg までを 26 週間反復経口投与した結果、体重増加抑制と白血球数の減少が認められた以外、L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。雌雄ビーグル犬に L-105 の 3000 mg/kg までを 7 日間、1000 mg/kg までを 4 週間、100 mg/kg までを 13 及び 26 週間、1000 mg/kg までを 39 週間反復経口投与した結果、39 週間反復経口投与試験で胸腺の萎縮／退縮が認められた以外、L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。ラットとイヌの古い非 GLP 試験では肝肥大や胃腸管のびらん、血液生化学的検査値の変化等が散見されたが、病理組織学的に異常が認められないことや、追加実施した GLP 試験で高用量を反復投与

しても同様の変化が認められないことから、毒性学的な意義は乏しいと考えられた。白血球数の減少や胸腺の萎縮／退縮についても、免疫毒性試験で L-105 投与の影響が認められないことや、他に免疫毒性を示唆する変化が認められないことから、L-105 の免疫毒性を示すものではないと考えられた。このように、高用量を動物に反復経口投与しても明らかな毒性は認められなかったのは、一つには L-105 は消化管からの吸収性が乏しいという特徴を有するためと考えられた。また、[redacted]の L-105 をイヌに反復経口投与して血漿中濃度を高めた場合にも毒性が認められなかったことから、L-105 を反復投与しても特段懸念される毒性は認められないと考えられた。

遺伝毒性については、細菌、酵母及び CHO 細胞を用いた遺伝子突然変異試験、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験、ラット骨髄細胞を用いた小核試験、ラット初代培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験、ラットの胃粘膜細胞を用いたコメットアッセイのいずれにおいても、遺伝毒性は認められなかった。

がん原性については、雌雄ラットに 250 mg/kg までの用量を 2 年間反復経口投与し、雌雄の Tg.rasH2 マウスに 2000 mg/kg までの用量を 26 週間反復経口投与して検討した結果、いずれの器官・組織にも腫瘍性病変の増加は認められなかった。雄ラットの高用量投与群では心臓に悪性シュワン細胞腫の増加傾向が認められたが、対照群との比較で有意差は認められず、心内膜に増殖性病変が認められないこと、雌の心臓を含めた他の臓器に頻度の増加が認められないこと、自然発生的にも散見される[1]こと、ラットで心臓の悪性シュワン細胞腫を誘発する化学物質は他臓器にも腫瘍を誘発する遺伝毒性発がん物質であり、非遺伝毒性化合物での誘発は報告されていないこと、rasH2 マウスを用いたがん原性試験でがん原性は認められなかったことなどから、L-105 投与のがん原性を示唆する変化ではないと考えられた。

生殖発生毒性については、雌雄のラットに反復経口投与して受胎能、胚・胎児発生毒性、出生前及び出生後の発生毒性を検討し、妊娠ウサギに反復経口投与して胚・胎児発生毒性を検討した。その結果、両動物種とも親動物で体重増加量と摂餌量の減少が認められたが、受胎能、同腹児数、黄体数、着床数、生存胎児数等に L-105 投与の影響は認められなかった。また、ラット出生児（F_1）の体重、成熟度、生殖能にも L-105 投与の影響は認められなかった。ラットとウサギの器官形成期に L-105 を反復投与した結果、ラットの胎児で皮下及び肝臓の出血並びに頭蓋骨及び骨盤骨の不完全骨化が認められ、ウサギの胎児で第 13 肋骨、20 胸腰椎体、過剰胸骨核及び骨盤帯接合部の離隔が認められた。しかし、ラットの胎児で認められた出血については、関連する影響が他に認められないことや、対照動物における出現頻度が実施施設の背景データよりも高いこと、皮下と肝臓の出血が同時に認められないことなどから、剖検担当者の所見に偏りが生じたことが原因と推察された（4.2.3.5.2-3、4.2.3.5.2-4）。ラットとウサギの胎児で認められた骨格異常については、L-105 投与による腸内細菌叢の変化が母動物への栄養供給に影響し、二次的に胎児の骨化に影響が及んだものと考えられた。すなわち、げっ歯類やウサギでは脂質、アミノ酸、ビタミンなどの一部栄養素を腸内細菌からの供給に依存しているため、抗生物質の投与によって腸内細菌叢が変化した場合には全身性の影響が現れやすいとされている[2)3)]。さらに、ウサギでは、食糞行動によって自ら脂肪酸やビタミンを補給しており、食糞行動を阻害すると成長や体重増加抑制が見られるとされている[4)]。したがって骨化異常の原因としては、L-105 の抗菌作用による栄養状態の変化が胎児の骨化に影響を及ぼした可能性が考えられ、ウサギでは食糞行動により未吸収の L-105 が再

摂取されることで影響が強く現れた可能性が考えられた。一方、出生直前の胎児では骨化が急速に進行しており、妊娠 20 日目のラット胎児では骨化の程度にばらつきが見られるとされている[5]。また、ウサギでは肋骨数が 12 又は 13、椎骨数が 19 又は 20 と、正常児でも肋骨・椎骨数に変異が見られるものの、いずれの成熟動物でも機能的な異常は認められないとされている[6)7)8)9)]。したがって、母動物の栄養状態によって胎児の骨化が多少遅延したとしても、児の成長と共に解消される[10]限りは軽度な影響と考えることができ、実際にラットの出生前及び出生後の発達に関する試験では出生児の成長や発育に影響は認められなかった。他に外表異常や内臓異常が認められないこと、胎児が L-105 にほとんど曝露されないこと（2.6.4.4.3 及び 2.6.4.4.4）をも考え合わせると、ラットとウサギの胎児で認められた骨格異常は L-105 の催奇形性を示すものではないと考えられた。

その他、モルモットを用いた皮膚感作性試験で陽性反応は認められず、海外での臨床使用実績等から光毒性の懸念もないと考えられた。類縁物質 D+H の毒性については、反復投与毒性、遺伝毒性及びがん原性で不純物の影響を含めた評価が行われており、これら毒性試験結果から特段懸念となる毒性は認められないと考えられた。

以上のように、L-105 には遺伝毒性やがん原性が認められず、ラットとウサギで体重増加抑制や胎児の骨格異常が認められたこと以外、一連の毒性試験で特段懸念するような毒性は認められなかった。[redacted]の L-105 を経口投与して血中濃度を著しく上昇させたイヌにおいても特記所見は認められず、肝性脳症患者等で血中濃度が高まった場合でも特段の懸念は生じないと考えられた。なお、ラットとウサギで認められた体重増加抑制や胎児の骨格異常は、一部栄養素の供給を腸内細菌に依存している動物種で L-105 の抗菌作用に基づく影響が強く現れた結果であり、ヒトでのリスクはこれらの動物種ほど高くはないと考えられた。

2.6.6.10 参考文献一覧

1) Novilla MN, Sandusky GE, Hoover DM, Ray SE, Wightman KA. A retrospective survey of endocardial proliferative lesions in rats. Vet Pathol. 1991;28:156-65.【4.3-11】

2) 医薬品の生殖発生毒性試験に係るガイドラインの改定について, 薬審第 316 号 (平成 9 年 4 月 14 日、一部改正：平成 12 年 12 月 27 日、医薬審第 1834 号). 【4.3-02】

3) Hood RD, Miller DB. Maternally mediated effects on development. In: Developmental and Reproductive Toxicology, A Practical Approach, 2nd ed., Hood RD, Ed., Boca Raton, FL: CRC Press; 2006, p. 93-124.【4.3-03】

4) 猪股智夫. 7. 比較実験動物学. In: 笠井憲雪, 吉川康弘, 安居院高志, editors. 現代実験動物学. 1. 東京: 朝倉書店; 2009. p.140.【4.3-04】

5) Aliverti V, Bonanomi L, Giavini V, Leone VG, Mariani L. The extent of fetal ossification as an index of delayed development in teratology studies in the rat. Teratology 1979; 20:237-42.【4.3-05】

6) Wilby OK. A Review of the Significance of Supernumerary Ribs and AlteredThoraco-lumbar Vertebrae in Rodent and Rabbit Embryo-fetal Developmental Toxicity Studies. Reproductive Toxicology. 2006;22:287.【4.3-06】

7) Carney EW, Kimmel CA. Interpretation of Skeletal Variations for Human Risk Assessment: Delayed Ossification and Wavy Ribs. Birth. Defects Research (Part B). 2007;80:473-96.【4.3-07】

8) Greenway JB, Partlow GD, Gonsholt NL, Fisher KR. Anatomy of the lumbosacral spinal cord in rabbits. Journal of the American Animal Hospital Association 2001; 37(1):27-34.【4.3-09】

9) Chernoff N, Rogers JM. Supernumerary ribs in developmental toxicity bioassays and in human populations: incidence and biological significance. J Toxicol Environ Health, Part B, 2004; 7:437-49.【4.3-08】

10) Khera KS. Common fetal aberrations and their teratologic significance: a review. Fundam Appl Toxicol 1981; 1:13-8.【4.3-10】

リフキシマ錠 200mg

医薬品製造販売承認申請書添付資料

2.6.7 毒性試験概要表

あすか製薬株式会社

目次

2.6.7 毒性試験概要表 4
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス：試験の一覧表 8
2.6.7.3 トキシコキネティクス：試験成績の一覧 9
2.6.7.4 毒性試験：使用したロット 12
2.6.7.5 単回投与毒性試験 14
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 16
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 18
2.6.7.7.A Rifaximin: Toxicity Study by Oral Gavage Administration to CD Rats for 26 Weeks Followed by a 4-Week Recovery Period 18
2.6.7.7.B Rifaximin: Toxicity Study by Oral Capsule Administration to Beagle Dogs for 39 Weeks Followed by a 4-Week Recovery Period 20
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 22
2.6.7.8.A Study of Mutagenic Activity of the Compound L 105 with *Salmonella Typhimurium* 22
2.6.7.8.B An Evaluation of the Mutagenic Potential of Rifaximin in the Ames *Salmonella*/Microsome Assay 23
2.6.7.8.C Study of Mutagenic Activity of the Compound L 105 with *Saccharomyces cerevisiae* 26
2.6.7.8.D Study of *in vitro* Mutagenic Activity of the Compound L 105 with *Schizosaccharomyces pombe* 27
2.6.7.8.E An Evaluation of the Mutagenic Potential of Rifaximin in the CHO/HGPRT Mutation Assay 28
2.6.7.8.F Study of the Capacity of the Test Article Rifaximin to Induce Chromosome Aberrations in Human Lymphocytes Cultured *in vitro* 30
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 31
2.6.7.9.A Micronucleus Induction in Bone Marrow Cells of Rats Treated by Oral Route with the Test Article Rifaximin 31
2.6.7.9.B Rifaximin Unscheduled DNA Synthesis (UDS) in Primary Rat Hepatocytes after *in vivo* Treatment 32
2.6.7.9.C L-105 のラットを用いた *in vivo* コメットアッセイ試験 33
2.6.7.10 がん原性試験 34
2.6.7.10.A A 2-year Oral Carcinogenicity Study in Rats 34
2.6.7.10.B 26-Week Repeated Dose Oral Carcinogenicity Study of Rifaximin in Tg.rasH2 Mice 35
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 37
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 38

2.6.7.12.A Combined Study of Effects on Fertility and Embryo-Fetal Toxicity in CD Rats by Oral Gavage Administration 38
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 41
2.6.7.13.A Study of Effects on Embryo-Fetal Toxicity in the Rabbit by Oral Gavage Administration 41
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発達並びに母体の機能に関する試験 44
2.6.7.14.A Study of Effects on Pre- and Post-Natal Development in CD Rats by Oral Gavage Administration 44
2.6.7.15 局所刺激性試験 47
2.6.7.16 その他の毒性試験 48
2.6.7.16.A Immunotoxicity Study by Oral Gavage Administration to CD Rats for 28 Days 48
2.6.7.16.B Rifaximin-Alfa delayed dermal sensitization study in Guinea pigs (Magnusson and Kligman test). 49
2.6.7.16.C Rifaximin [redacted] extended single dose oral toxicity study in dogs with toxicokinetics 50
2.6.7.16.D Rifaximin [redacted] 4 week oral toxicity study in dogs with an interim sacrifice after 2 weeks of treatment 51
2.6.7.16.E Rifaximin [redacted]: Toxicity by oral capsule administration to beagle dogs for 26 weeks 53

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質：L-105

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所
単回投与毒性	マウス/CFLP ICI	経口	単回	予備試験：1000 mg/kg 本試験：2000 mg/kg	適 [a]	[redacted]	T9701	4.2.3.1-1
	マウス/Crl:CD1(ICR)	経口	単回	300, 1000, 1500, 2000 mg/kg	適 [a]		T0801	4.2.3.1-2
	ラット/SD	経口	単回	0, 500, 1000, 2000 mg/kg	非適		N2001	4.2.3.1-3
	ラット/Hsd:SD(CD)	経口	単回	予備・本試験：2000 mg/kg	適 [a]		T9703	4.2.3.1-4
	マウス/Hsd/Ola:ICR	静注	単回	予備試験：40 mg/kg 本試験：0, 40 mg/kg	適 [a]		T9702	4.2.3.1-5
	ラット/Hsd:SD(CD)	静注	単回	予備試験：40 mg/kg 本試験：0, 40 mg/kg	適 [a]		T9704	4.2.3.1-6
反復投与毒性	マウス/CByB6F1	経口	予備試験：5 日間 本試験：4 週間	0, 125, 250, 500, 1000, 2000 mg/kg 0, 250, 1000, 2000 mg/kg	適 [a]		T0802	4.2.3.2-1
	ラット/Crl:CD	経口	4 週間	0, 100, 300, 1000 mg/kg	非適		T9705	4.2.3.2-2
	ラット/COBSCD (SD)	経口	13 週間	0, 25, 50, 100 mg/kg	非適		N2002	4.2.3.2-3
	ラット/CRL:CD(SD)BR/LG	経口	26 週間	0, 25, 50, 100 mg/kg	非適		N2004	4.2.3.2-4
	ラット/Crl:CD(SD) IGS BR	経口	26 週間 ＋4 週間回復	0, 50, 150, 300 mg/kg	適 [a]		T9901	4.2.3.2-5
	イヌ/Beagle	経口	7 日間	♂2000 mg/kg, ♀3000 mg/kg	非適		N2005	4.2.3.2-6
	イヌ/Beagle	経口	4 週間	100, 300, 1000 mg/kg	適 [a]		T9706	4.2.3.2-7
	イヌ/Beagle	経口	13 週間	0, 25, 50, 100 mg/kg	非適		N2006	4.2.3.2-8
	イヌ/Beagle	経口	26 週間	0, 25, 50, 100 mg/kg	非適		N2007	4.2.3.2-9
	イヌ/Beagle	経口	39 週間 ＋4 週間回復	0, 100, 300, 1000 mg/kg	適 [a]		T9902	4.2.3.2-10

下線：無毒性量（最終報告書に記載があるもの）、[a]米国申請用に追加実施した試験

[redacted] Italy, [redacted]

Ita y

毒性試験：一覧表（続き 1）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所
遺伝毒性（突然変異）	*Salmonella typhimurium*	*in vitro*	－	0.5～500 μg/plate	非適	[redacted]	T8001	4.2.3.3.1-1
	Salmonella typhimurium	*in vitro*	－	0.01～5000 μg/plate	適		T9101	4.2.3.3.1-2
	Saccharomyces cerevisiae D4	*in vitro*	－	250, 500, 1000 mg/L	非適		T8002	4.2.3.3.1-3
	Schizosaccharomyces pombe	*in vitro*	－	250, 500, 1000 mg/L	非適		T8003	4.2.3.3.1-4
	Chinese hamster ovary (CHO) 細胞	*in vitro*	－	代謝活性化−：10～80 μg/mL 代謝活性化+：100～250 μg/mL	適		T9102	4.2.3.3.1-5
（染色体異常）	ヒトリンパ球	*in vitro*	－	0.1～100 μg/mL	適		T9201	4.2.3.3.1-6
（小核）	ラット/Crl:CD(SD) BR	経口	単回	0, 1000, 2000 mg/kg,	適		T9202	4.2.3.3.2-1
（UDS）	ラット/SD 肝細胞	経口	単回	0, 500, 1000, 2000 mg/kg	適[a]		T0803	4.2.3.3.2-2
（Comet Assay）	ラット/Crl:CD(SD)	経口	2 回	0, 500, 1000, 2000 mg/kg	適[b]	ASK	ARX1GT[redacted]01	4.2.3.3.2-3
がん原性	ラット/Crl:CD(SD)	経口	2 年間	0, 20, 50, 150（～27 週目）/200（28～38 週目）/250（39 週目～）mg/kg	適[a]	[redacted]	T0902	4.2.3.4.1-1
	マウス/Tg.rasH2	経口	26 週間	♂: 0, 150, 500, 1500 mg/kg ♀: 0, 250, 750, 2000 mg/kg	適[a]		T0901	4.2.3.4.2-1

[a] 米国申請用に追加実施した試験、[b] 本邦申請用に追加実施した試験

[redacted], [redacted], [redacted] Italy, [redacted], [redacted], ASK：あすか製薬株式会社　安全性研究施設

毒性試験：一覧表（続き 2）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所
生殖発生毒性（受胎能、出生前及び出生後の発生毒性）	ラット/SD	経口	♂：交配前 70 日間及び交配期間中 20 日間 ♀：交配前 14 日～離乳時	0, 25, 50, 100 mg/kg	非適	[redacted]	N2015	4.2.3.5.1-1
	ラット/Crl:CD(SD)	経口	♂：交配前 15 日～交配終了時 ♀：交配前 15 日～授乳 9 日	0, 150, 300 mg/kg	非適		T9903	4.2.3.5.1-2
（受胎能及び胚・胎児発生毒性）	ラット/Crl:CD(SD)	経口	♂：交配前 29 日間 ♀：交配前 15 日～妊娠 17 日	0, 50, 150, 300 mg/kg	適 [a]		T0001	4.2.3.5.1-3
（胎児発生毒性）	ウサギ/New Zealand White	経口	妊娠 6～19 日	0, 100, 300, 1000 mg/kg	非適		T9707	4.2.3.5.2-1
（胚・胎児発生毒性）	ウサギ/New Zealand White	経口	妊娠 6～19 日	0, 62.5, 250, 1000 mg/kg	適 [a]		T9801	4.2.3.5.2-2
	Huntingdon Report	―	―	―	非適		T0501	4.2.3.5.2-3
	Huntingdon Comment	―	―	―	非適		T1101	4.2.3.5.2-4
（胎児発生毒性、出生前及び出生後の発生毒性）	ラット/SD	経口	妊娠 5～18 日	0, 50, 100 mg/kg	非適		N2008	4.2.3.5.3-1
	ラット/SD	経口	妊娠 17～授乳 22 日	0, 50, 100 mg/kg	非適		N2008	4.2.3.5.3-1
	ウサギ/New Zealand White	経口	妊娠 6～18 日	0, 50, 100 mg/kg	非適		N2008	4.2.3.5.3-1
（出生前及び出生後の発生毒性）	ラット/Crl:CD(SD)	経口	妊娠 6 日～授乳 20 日	0, 50, 150, 300 mg/kg	適 [a]		T0002	4.2.3.5.3-2

下線：無毒性量（最終報告書に記載があるもの）、[a]米国申請用に追加実施した試験

[redacted], [redacted], Italy

毒性試験：一覧表（続き 3）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所
その他 （免疫毒性） （皮膚感作性） （[redacted]）	ラット/ Crl:CD(SD) IGS BR	経口	4 週間	0, 50, 150, 500 mg/kg	適 [a]	[redacted]	T0601	4.2.3.7.2-1
	モルモット/ Dunkin-Hartley	皮内 経皮 経皮	感作：単回 感作：単回 惹起：単回	20% in FCA or corn oil 50% in corn oil 20% in corn oil	適 [a]		T0805	4.2.3.7.7-1
	イヌ/Beagle	経口	単回	0, 100, 300, 1000 mg/kg ([redacted])	適 [a]		[redacted]74560	4.2.3.7.7-2
	イヌ/Beagle	経口	4 週間	0, 300, <u>1000</u> mg/kg ([redacted]) 1000 mg/kg	適 [a]		T1001	4.2.3.7.7-3
	イヌ/Beagle	経口	26 週間	0, 100, 1000 mg/kg ([redacted]) 1000 mg/kg	適 [a]		[redacted]BQG0004	4.2.3.7.7-4

下線：無毒性量（最終報告書に記載があるもの）、[a]米国申請用に追加実施した試験

[redacted]

2.6.7.2 トキシコキネティクス：試験の一覧表

被験物質：L-105

試験の種類	試験系	投与方法	投与量（mg/kg）	GLP 適用	試験番号	記載箇所
反復投与毒性	マウス/CByB6F1	本試験：4 週間経口投与	0, 250, 1000, 2000	適	T0802	4.2.3.2-1
がん原性	マウス/CByB6F1	26 週間経口投与	♂: 0, 150, 500, 1500 ♀: 0, 250, 750, 2000	適	T0901	4.2.3.4.2-1
反復投与毒性	ラット/ Crl:CD(SD) IGS BR	26 週間経口投与	0, 50, 150, 300	適	T9901	4.2.3.2-5
免疫毒性	ラット/ Crl:CD(SD) IGS BR	4 週間経口投与	0, 50, 150, 500	適	T0601	4.2.3.7.2-1
反復投与毒性	イヌ/Beagle	39 週間経口投与	0, 100, 300, 1000	適	T9902	4.2.3.2-10
その他（[redacted]）	イヌ/Beagle	単回経口投与	0, 100, 300, 1000 ([redacted])	適	[redacted]74560	4.2.3.7.7-2
その他（[redacted]）	イヌ/Beagle	4 週間経口投与	0, 300, 1000 ([redacted]) 1000	適	T1001	4.2.3.7.7-3
その他（[redacted]）	イヌ/Beagle	26 週間経口投与	0, 100, 1000 ([redacted]) 1000	適	[redacted]BQG0004	4.2.3.7.7-4
胚胎児発生毒性試験	ウサギ/ New Zealand White	妊娠 6～19 日経口投与	0, 62.5, 250, 1000	適	T9801	4.2.3.5.2-2

2.6.7.3 トキシコキネティクス：試験成績の一覧

被験物質：L-105

試験の種類	投与量 (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)		AUC_8 (ng· hr/mL)[a]		記載箇所
		Male	Female	Male	Female	
マウス 4 週間反復投与毒性試験 （試験番号：T0802）	250 1000 2000	10.2 9.78 11.8	15.0 13.1 25.8	95.9 69.6 88.4	117 176 215	4.2.3.2-1
マウス 26 週間投与 がん原性試験 （試験番号：T0901）		Mean conc. 1 hr after dosing (Week 13)		Mean conc. 1 hr after dosing (Week 26)		4.2.3.4.2-1
	♂150 ♀250	6.84 ± 1.95	10.5 ± 1.82	5.03 ± 0.40	9.17 ± 0.30	
	♂500 ♀750	6.52 ± 0.99	15.3 ± 4.75	8.40 ± 1.84	12.3 ± 2.72	
	♂1500 ♀2000	11.5 ± 8.62	17.7 ± 5.90	14.4 ± 5.98	17.3 ± 7.42	
ラット 26 週間反復投与毒性試験 （試験番号：T9901）	Day 1					4.2.3.2-5
	50	14.86	13.56	59.2	42.1	
	150	23.10	18.56	100.1	84.6	
	300	30.31	19.76	137.9	115.5	
	Week 26					
	50	6.11	10.05	ND[b]	ND[b]	
	150	9.54	5.59	ND[b]	ND[b]	
	300	5.75	6.97	ND[b]	ND[b]	
ラット 4 週間投与 免疫毒性試験 （試験番号：T0601）		Mean conc. 1 hr after dosing (Week 4)				4.2.3.7.2-1
	50	27.4 (<2.5-181)	1.0 (<2.5-6.92)			
	150	5.3 (<2.5-12.3)	5.2 (<2.5-16.4)			
	500	14.3 (3.53-49.7)	9.3 (<2.5-33.9)			
イヌ 39 週間反復投与毒性試験 （試験番号：T9902）	Day 1					4.2.3.2-10
	100	2.84	15.74	6.8	76.7	
	300	19.34	20.86	93.8	110.4	
	1000	14.51	11.16	70.8	61.3	
	Week 39					
	100	25.41	8.53	80.0	42.7	
	300	33.69	9.94	102.5	48.4	
	1000	19.39	24.36	102.7	108.7	

[a] マウス 4 週間反復投与毒性試験では、T_{last} が 24 hr

[b] ラット 26 週間反復投与毒性試験では、投与終了時に投与 2 時間以降の血漿中濃度が定量下限（2.5 ng/mL）未満であったため、AUC を求められなかった。

ND: Not determined.

トキシコキネティクス：試験成績の一覧（続き 1）

試験の種類	投与量 (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)		AUC_{24} (ng·hr/mL)[a]		記載箇所
		Male	Female	Male	Female	
その他（[redacted]イヌ単回投与） （試験番号：[redacted]74560）	100[c]	936.23	989.78	6100	4990	4.2.3.7.7-2
	300[c]	2568.00	3546.50	17500	22497	
	1000[c]	5885.25	6769.25	71303	59462	
その他（[redacted]イヌ 4 週間投与） （試験番号：T1001）	Day 1					4.2.3.7.7-3
	300[c]	1304.2	708.5	12746.0	3152.3	
	1000[c]	2568.0	2490.3	19622.3	13762.9	
	1000	12.5	10.4	120.4	128.1	
	Day 14					
	300[c]	1436.7	1309.7	11321.0	4566.4	
	1000[c]	2158.7	1902.8	11307.6	9653.7	
	1000	18.2	17.0	134.8	137.9	
	Day 28					
	300[c]	1923.2	1445.1	8750.6	9292.9	
	1000[c]	2922.0	2226.2	12423.4	7155.1	
	1000	6.9	10.6	80.1	113.8	
その他（[redacted]イヌ 26 週間投与） （試験番号：[redacted]BQG0004）	Day 1					4.2.3.7.7-4
	100[c]	79.6	111	682	1070	
	1000[c]	2460	4050	19300	40700	
	1000	20.3	68.6	155	356	
	Week 26					
	100[c]	445	172	4570	870	
	1000[c]	1370	2820	9760	24300	
	1000	9.58	73.3	136	573	

[a] その他（[redacted]イヌ単回～26 週間投与）では、T_{last} が 24 hr

[c] [redacted]

トキシコキネティクス：試験成績の一覧（続き 2）

試験の種類	投与量 (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)		AUC_8 (ng·hr/mL)		記載箇所
		Male	Female	Male	Female	
ウサギ生殖発生毒性試験（胚胎児発生毒性） （試験番号：T9801）	Gestation day 6 62.5 250 1000 Gestation day 19 62.5 250 1000		ND[d] 1.046 2.200 1.385 1.705 4.006		ND[d] 6.63 10.95 ND[d] 8.25 16.97	4.2.3.5.2-2
ヒト単回投与 （試験番号：L-105/1-A）	550 mg 1100 mg 1650 mg	3.055 ± 1.631 7.09 ± 4.25 5.521 ± 2.746		9.46 ± 4.81 23.62 ± 14.37 14.05 ± 3.68		5.3.1.1-1
ヒト反復投与 （試験番号：L-105/1-A）	1 日目 1100 mg 1650 mg 7 日目 1100 mg 1650 mg	3.333 ± 1.032 2.294 ± 1.463 4.660 ± 2.611 2.449 ± 1.407		11.64 ± 4.78 8.14 ± 4.66 19.60 ± 8.45 11.26 ± 4.20		5.3.1.1-1
肝性脳症患者 反復投与 （海外試験番号：RFHE3002PK） Child-Pugh A (mild) (n = 18) Child-Pugh B (moderate) (n = 7) Child-Pugh C (severe) (n = 4)	 1100 mg 1100 mg 1100 mg	 19.5 ± 11.4 25.1 ± 12.6 35.5 ± 12.5		 118 ± 67.8 161 ± 101 246 ± 119		5.3.3.2-2

[d] ウサギ生殖発生毒性試験（胚胎児毒性）の 62.5 mg/kg 群では、血漿中濃度が定量下限（0.500 ng/mL）未満であったため、求められなかった。
ND: Not determined.

2.6.7.4　毒性試験：使用したロット

被験物質：L-105

バッチ番号	純度	規格設定された不純物			試験番号	試験の種類
		D+H	その他	総量		
申請規格	[redacted]					
PP2040					T9705	ラット 4 週間反復投与毒性
					T9901	ラット 26 週間反復投与毒性
					T9706	イヌ 4 週間反復投与毒性
					T9902	イヌ 39 週間反復投与毒性
					T9903	ラット生殖発生毒性（受胎能、出生前後の発生毒性）
					T0001	ラット生殖発生毒性（受胎能及び胚・胎児発生毒性）
					T0002	ラット生殖発生毒性（出生前及び出生後の発生毒性）
PP2041					T9902	イヌ 39 週間反復投与毒性
					T9801	ウサギ生殖発生毒性（胚・胎児発生毒性）
901028/A(G0704)					T9101	遺伝毒性（Ames 試験）
					T9102	遺伝毒性（CHO 細胞突然変異試験）
920531					T9201	遺伝毒性（染色体異常試験）
					T9202	遺伝毒性（ラット小核試験）
AC/0093					T9701、T9702	マウス単回投与毒性
					T9703、T9704	ラット単回投与毒性
					T9707	ウサギ生殖発生毒性（胎児発生毒性）
20060281					T0601	ラット免疫毒性
2007001643					T0803	遺伝毒性（UDS 試験）
2007002245					T0805	その他（モルモット皮膚感作性）

NA: Not available

毒性試験：使用したロット（続き）

バッチ番号	純度	規格設定された不純物			試験番号	試験の種類
		D+H	その他	総量		
0240241172	[redacted]				T0802	マウス 4 週間反復投与毒性
					T0901	マウス 26 週間投与 がん原性
C7G0217					T0901	マウス 26 週間投与 がん原性
					T0902	ラット 2 年間投与 がん原性
0020340370					T0801	マウス単回投与毒性
					T0902	ラット 2 年間投与 がん原性
2009ZA1199					T1001	その他（[redacted]イヌ 4 週間反復投与）
2009ZA1267					T1001	その他（[redacted]イヌ 4 週間反復投与）
2010ZA1903					[redacted]BQG0004	その他（[redacted]イヌ 26 週間反復投与）
BLT284/2008					[redacted]74560	その他（[redacted]イヌ単回投与）
0554/2009					T1001	その他（[redacted]イヌ 4 週間反復投与）
0557/2010					[redacted]BQG004	その他（[redacted]イヌ 26 週間反復投与）
2013001257					ARX1GT[redacted]01	遺伝毒性（Comet Assay）

[a]D+H を除く。

2.6.7.5　単回投与毒性試験

被験物質：L-105

動物種 /系統	投与方法 （溶媒/投与形態）	投与量 （mg/kg）	性別及び 一群の動物数	最大 非致死量	概略の 致死量	特記所見	記載箇所 試験番号
マウス /CFLP ICI	経口投与/ 1% methylcellulose	予備試験：1000 本試験　：2000	予備試験：♂2♀2 本試験　：♂5♀5	2000 mg/kg	>2000 mg/kg	2000 mg/kg の雌 1 例で体重増加抑制が認められ、雄 1 例が投与 11 日目に死亡した。剖検で肝臓の蒼白化と胃及び腸の赤色化が認められた。全例で立毛とオレンジ色の着色便が認められたが、生存例の剖検を含めて他に特記所見は認められず、偶発的な影響と考えられた。	4.2.3.1-1 T9701
マウス /Crl:CD1(ICR)	経口投与/ 1% methylcellulose	300, 1000, 1500, 2000	♂3♀3	2000 mg/kg	>2000 mg/kg	2000 mg/kg 群の雌でオレンジ色の着色便が認められたが、死亡は認められず、その他一般状態、体重及び摂餌量に特記所見は認められなかった。	4.2.3.1-2 T0801
ラット/SD	経口投与/ 5%アラビアゴム	0, 500, 1000, 2000	♂8♀8	2000 mg/kg	>2000 mg/kg	1000 mg/kg 以上の群で呼吸数増加と感覚鈍麻が、2000 mg/kg 群で興奮が認められたが、他に一般状態の異常及び死亡は認められなかった。剖検では 2000 mg/kg 群の雄 2 例に軽微な脂肪肝が認められたが、その他に異常は認められなかった。	4.2.3.1-3 N2001
ラット /Hsd:SD(CD)	経口投与/ 1% methylcellulose	予備試験：2000 本試験　：2000	予備試験：♂2♀2 本試験　：♂5♀5	2000 mg/kg	>2000 mg/kg	立毛とオレンジ色の着色便が認められたが、その他一般状態、体重及び剖検で特記所見は認められなかった。	4.2.3.1-4 T9703

単回投与毒性試験（続き）

動物種 /系統	投与方法 （溶媒/投与形態）	投与量 (mg/kg)	性別及び 一群の動物数	最大 非致死量	概略の 致死量	特記所見	記載箇所 試験番号
マウス /Hsd/Ola:ICR	静脈内投与/ 50% PEG 400 /Saline	予備試験：40 本試験　：0, 40	予備試験：♂2♀2 本試験： ♂2♀2 (0 mg/kg), ♂5♀5 (40 mg/kg)	<40 mg/kg	40 mg/kg	L-105 投与群の雌 2 例（うち予備試験で 1 例）が投与直後に死亡した。各群で立毛、円背姿勢、呼吸窮迫、蒼白等が認められ、L-105 投与群では嗜眠、爪先歩行、振戦、低体温及び衰弱が認められた。生存例の剖検では異常が認められなかった。	4.2.3.1-5 T9702
ラット /Hsd:SD(CD)	静脈内投与/ 50% PEG 400 /Saline	予備試験：40 本試験　：0, 40	予備試験：♂2♀2 本試験： ♂2♀2 (0 mg/kg), ♂5♀5 (40 mg/kg)	<40 mg/kg	40 mg/kg	対照群の雌 1 例と L-105 群の雄 1 例が投与後に死亡した。各群で立毛、呼吸窮迫等が認められ、L-105 投与群では円背姿勢、あひる歩行、爪先歩行、振戦、自発運動の亢進が認められた。剖検では異常が認められなかった。	4.2.3.1-6 T9704

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：L-105

動物種 /系統	投与方法 （溶媒/投与形態）	投与期間	投与量 (mg/kg)	性別及び 一群の動物数	無毒性量 (mg/kg)	特記すべき所見	記載箇所 試験番号
マウス /CByB6F1	経口投与/ 1% methylcellulose	予備試験 5 日間	0, 125, 250, 500, 1000, 2000	♂5 ♀5	♂♀2000	2000 mg/kg 群で着色便が認められた以外、一般状態、体重、体重増加量、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検時の肉眼観察、器官重量及び病理組織学的検査で、L-105 投与による影響は認められなかった。	4.2.3.2-1 T0802
		本試験 4 週間	0, 250, 1000, 2000	♂10 ♀10			
ラット /Crl:CD	経口投与/ 1% methylcellulose	4 週間	0, 100, 300, 1000	♂5 ♀5	－[a]	1000 mg/kg 群で着色便が認められた以外、一般状態に異常は認められなかった。300, 1000 mg/kg 群の雌雄又はいずれかで体重増加抑制と摂餌量の減少が認められ、赤血球数やHb、ALT、TG の増加や白血球数の減少等の臨床病理検査値の変化が認められた。また、雌雄の各用量群で胸腺重量の減少が認められ、雄の 100 mg/kg を除く雌雄各用量群で脾重量の減少が認められた。剖検時の肉眼的観察では、L-105 投与による影響は認められなかった。	4.2.3.2-2 T9705
ラット /COBS®CD (SD)	経口投与/ 5%アラビアゴム	13 週間	0, 25, 50, 100	♂12 ♀12	－[a]	投与期間中に対照群の雌 1 例、25 mg/kg 群の雄 1 例、100 mg/kg 群の雌雄各 1 例が偶発要因で死亡した。各用量投与群の雌で血中コレステロールの増加が認められ、病理組織学的検査では消化管粘膜潰瘍及び粘膜下浮腫を伴う慢性胃腸炎、肝肥大、脂肪肝及び腎症が各用量群で認められた。一般状態、体重、摂餌量、他の臨床病理検査値及び器官重量では、L-105 投与による影響は認められなかった。	4.2.3.2-3 N2002

[a] 最終報告書に無毒性量は記載されていない。

反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験（続き）

動物種 /系統	投与方法 （溶媒/投与形態）	投与期間	投与量 (mg/kg)	性別及び 一群の動物数	無毒性量 (mg/kg)	特記すべき所見	記載箇所 試験番号
ラット /CRL:CD(SD) BR/LG	経口投与/ 1%アラビアゴム	26 週間	0, 25, 50, 100	♂20 ♀20	♂♀25	投与期間中に対照群を含む各群 1 例（雄又は雌）が偶発要因で死亡した。50 mg/kg 群の雌雄と 100 mg/kg 群の雌で血中コレステロールの増加が認められた。病理組織学的検査では、50 及び 100 mg/kg 群で胃腸管のびらんや肝小葉周囲の結合組織増殖、腎症等が認められた。一般状態、体重、摂餌量、他の臨床病理検査及び器官重量では、L-105 投与による影響は認められなかった。	4.2.3.2-4 N2004
イヌ/Beagle	経口投与/水	7 日間	♂2000, ♀3000	♂1 ♀1	－[a]	一般状態、体重及び剖検時の肉眼的観察では、特記所見は認められなかった。	4.2.3.2-6 N2005
イヌ/Beagle	経口投与/ ゼラチンカプセル	4 週間	100, 300, 1000	♂1 ♀1	1000	便の着色以外、一般状態、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検時の肉眼的観察及び器官重量では、L-105 投与による影響は認められなかった。	4.2.3.2-7 T9706
イヌ/Beagle	経口投与/ ゼラチンカプセル	13 週間	0, 25, 50, 100	♂3 ♀3	－[a]	一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、糞便検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検時の肉眼的観察、器官重量及び病理組織学的検査では、L-105 投与による影響は認められなかった。	4.2.3.2-8 N2006
イヌ/Beagle	経口投与/ ゼラチンカプセル	26 週間	0, 25, 50, 100	♂3 ♀3	－[a]	100 mg/kg 群の雌で血中コレステロールの増加が認められ、各用量投与群で腸管粘膜のびらんが認められた。その他、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、糞便検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検時の肉眼的観察、器官重量及び病理組織学的検査では、L-105 投与による影響は認められなかった。	4.2.3.2-9 N2007

[a] 最終報告書に無毒性量は記載されていない。

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.A　Rifaximin: Toxicity Study by Oral Gavage Administration to CD Rats for 26 Weeks Followed by a 4-Week Recovery Period

被験物質：L-105

動物種/系統：ラット/Crl:CD(SD)IGS BR
投与開始時週齢：38～42 日齢
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日
特記事項：なし
無毒性量：150 mg/kg

投与期間：26 週間
休薬期間：4 週間
投与方法：経口投与
溶媒：1% Methylcellulose

試験番号：T9901
CTD における記載箇所：4.2.3.2-5
GLP 適用：適

トキシコキネティクス	投与量（mg/kg）	0		50		150		300	
	性別・動物数	♂0	♀0	♂9	♀9	♂9	♀9	♂9	♀9
C_{max} (ng/mL)[a]	Day 1			14.86	13.56	23.10	18.56	30.31	19.76
	Week 26			6.11	10.05	9.54	5.59	5.75	6.97
$AUC_{0\text{-}8}$ (ng·hr/mL)[a]	Day 1			59.2	42.1	100.1	84.6	137.9	115.5
	Week 26			ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND: Not determined［投与 2 時間以降の血漿中濃度が定量下限（2.5 ng/mL）未満であったため、AUC は求められなかった。］
[a] n=3

試験番号：T9901；4.2.3.2-5（続き）

毒性試験	投与量（mg/kg）	0		50		150		300	
	性別・動物数	♂26[a]	♀26[a]	♂20	♀20	♂20	♀20	♂26[a]	♀26[a]
死亡及び安楽死動物数		1	2	0	2	1	0	1	1
一般状態		—	—	—	—	—	—	—	—
体重 (%)[b]	Week 26	643 g	334 g	−7	−3	−9	−8	−13	−11
摂餌量 (%)[b]	Week 26	198 g	129 g	−5	0	−9	0	−8	−2
摂水量 (n = 5-7、%)[b]	Week 26	35 mL	30 mL	0	13	−3	10	14	13
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査 (Week 26)	WBC (10^9/L)	11.3	8.1	↓9.5**	↓6.0***	↓10.0*	↓5.3***	↓9.8**	↓5.9***
	Lymphocytes (× 10^9/L)	9.0	6.9	↓7.5**	↓4.9***	↓7.5**	↓4.1***	↓7.5**	↓4.5***
血液生化学的検査 (Week 26)	ALT (IU/L)	47	61	49	72	↑54*	75	↑57**	79
	ALP (IU/L)	70	35	67	↑43*	72	43	77	↑48**
	Glucose (mmol/L)	8.5	7.5	8.6	↑8.2**	8.3	↑8.2**	↑9.4**	↑8.8***
尿検査		—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量		—	—	—	—	—	—	—	—
剖検所見		—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織所見		—	—	—	—	—	—	—	—
回復性の評価:	評価動物数	6	5	0	0	0	0	6	5
体重 (%)[c]	R-Week 4	680 g	371 g					−11	−14
血液学的検査	WBC (10^9/L)	10.5	6.9					10.0	6.4
	Lymphocytes (× 10^9/L)	7.8	5.5					6.9	4.9
血液生化学的検査	ALT (IU/L)	44	64					48	58
	ALP (IU/L)	67	29					67	42
	Glucose (mmol/L)	8.2	7.7					9.2	7.7

[a] 回復性評価用動物を含む。
[b] 投与終了時（投与群では対照群からの変化率%を表示。有意差は、0～26 週間の体重増加量(g)を対照群と比較）
[c] 休薬終了時（投与群では対照群からの変化率%を表示）
－：特記所見なし。
*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001（体重：Bartlett's test, followed by a Behrens-Fisher or a Dunnett's test、血液学的検査、血液生化学的検査：Student's t-test）

2.6.7.7.B Rifaximin: Toxicity Study by Oral Capsule Administration to Beagle Dogs for 39 Weeks Followed by a 4-Week Recovery Period

被験物質：L-105

動物種/系統：イヌ／Beagle
投与開始時週齢：21～25 週齢
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日
特記事項：なし
投与期間：39 週間
休薬期間：4 週間
投与方法：経口投与
溶媒/投与形態：ゼラチンカプセル
試験番号：T9902
CTD における記載箇所：4.2.3.2-10
GLP 適用：適

無毒性量：全ての用量群で胸腺の萎縮が認められたため、無毒性量は求められなかった。

トキシコキネティクス	投与量（mg/kg）	0		100		300		1000	
	性別・動物数	♂0	♀0	♂4	♀4	♂4	♀4	♂4	♀4
C_{max} (ng/mL)	Day 1			2.84	15.74	19.34	20.86	14.51	11.16
	Week 39			25.41	8.53	33.69	9.94	19.39	24.36
$AUC_{0\text{-}8}$ (ng·hr/mL)	Day 1			6.8	76.7	93.8	110.4	70.8	61.3
	Week 39			80.0	42.7	102.5	48.4	102.7	108.7

試験番号：T9902；4.2.3.2-10（続き）

毒性試験	投与量（mg/kg）	0		100		300		1000	
	性別・動物数	♂6[a]	♀6[a]	♂4	♀4	♂4	♀4	♂6[a]	♀6[a]
死亡及び安楽死動物数		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態		—	—	—	—	—	—	—	—
体重（kg）	Week 0	10.8	8.9	10.7	9.3	10.6	9.6	10.4	9.4
	Week 39	14.8	12.4	14.1	12.8	14.8	12.6	13.4	12.1
	Week 0-39（増加量）	4.0	3.5	3.4	3.5	4.2	3.1	3.0	2.7
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
心電図検査		—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
血液生化学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査		—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量（g）	Thymus	9.4	13.6	7.7	9.5	6.7	5.8*	4.2*	3.6**
剖検所見[b]	Thymus Small	0/4	0/4	0/4	1/4	1/4	2/4	2/4	3/4
病理組織所見[b]	Thymus Atrophy +	1/4	1/4	0/4	1/4	2/4	3/4	0/4	1/4
	++	0/4	0/4	1/4	1/4	1/4	0/4	0/4	2/4
	+++	0/4	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4	4/4	1/4
回復性の評価	評価動物数	2	2	0	0	0	0	2	2
体重（kg）	Recover 4week	14.1	11.6					14.0	12.6
器官重量（g）	Thymus	10.1	12.6					12.9	18.6
剖検所見[b]	Thymus	0/2	0/2					0/2	0/2
病理組織所見[b]	Thymus Atrophy ++	1/2	0/2					1/2	0/2

[a] 回復性評価用動物を含む。
[b] 例数／評価動物数
－：特記所見なし。
+：軽度、++：中等度、+++：重度
*p<0.05、**p<0.01 (Bartlett's test, followed by a Behrens-Fisher or a Dunnett's test)

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8.A Study of Mutagenic Activity of the Compound L 105 with *Salmonella Typhimurium*

被験物質：L-105

試験の種類：遺伝子突然変異試験　独立した試験数：1　試験番号：T8001
菌株：*Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538　プレート数：3　CTD における記載箇所：4.2.3.3.1-1
代謝活性化系：Aroclor-induced rat liver, S9　GLP 適用：非適
媒体：DMSO　処理年月日：不明（報告書：19[redacted]年 [redacted]月 [redacted]日）
細胞毒性：代謝活性化系の有無にかかわらず、全ての試験菌株で平均復帰突然変異株数の減少又はコロニーの消失が認められた。
遺伝毒性：代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの試験菌株においても投与に関連した復帰突然変異株数の増加は見られなかった。

代謝活性化	被験物質	用量 (µg/plate)	Number of revertants / plate (mean ± SD)				
			TA 1535	TA 1537	TA 1538	TA 98	TA 100
Without Activation	Control (DMSO)	(100 µL)	15.67 ± 3.05	7.67 ± 1.53	23.67 ± 3.21	37.33 ± 1.15	288.00 ± 26.15
	L-105	0.5	20.00 ± 2.00	4.67 ± 1.15	15.33 ± 3.05	23.67 ± 3.05	192.67 ± 24.68
		5	5.33 ± 1.15	4.33 ± 0.58	1.33 ± 1.53	26.67 ± 5.03	19.67 ± 0.58
		50	4.00 ± 1.73	2.67 ± 2.52	Toxic	3.33 ± 1.53	15.50 ± 3.53
		500	6.67 ± 3.51	Toxic	Toxic	Toxic	11.67 ± 3.51
	Hydrazine[a]	500	180.0 ± 8.72				
	9-Aminoacridine[a]	20		42.00 ± 4.00			
	Doxorubicin[a]	4			128.00 ± 8.00	320.67 ± 41.00	495.33 ± 16.04
With Activation	Control (DMSO)	(100 µL)	19.00 ± 2.65	5.33 ± 1.53	33.00 ± 4.36	46.00 ± 2.00	218.00 ± 9.02
	L-105	0.5	13.67 ± 5.51	4.67 ± 0.58	27.00 ± 9.85	36.67 ± 4.16	195.67 ± 8.74
		5	14.33 ± 2.08	4.67 ± 1.53	15.67 ± 2.52	21.67 ± 6.03	27.67 ± 16.20
		50	7.33 ± 5.13	8.67 ± 1.53	5.00 ± 1.00	22.67 ± 0.58	27.67 ± 1.53
		500	Toxic	1.67 ± 0.58	Toxic	18.67 ± 3.51	15.33 ± 4.73
	2-Aminofluorene[a]	5			282.00 ± 18.00	403.33 ± 13.87	610.33 ± 21.55

[a] 陽性対照
Tocix: 細胞毒性が認められた。

2.6.7.8.B An Evaluation of the Mutagenic Potential of Rifaximin in the Ames *Salmonella*/Microsome Assay

被験物質：L-105

試験の種類：遺伝子突然変異試験
菌株：*Salmonella typhimurium* TA97, TA98, TA100, TA1535, TA1538
代謝活性化系：Aroclor-induced rat liver, S9
媒体：DMSO
独立した試験数：2
プレート数：3
試験番号：T9101
CTD における記載箇所：4.2.3.3.1-2
GLP 適用：適
処理年月日：19[redacted]年[redacted]月

細胞毒性：0.05 µg/plate 以上の用量で、復帰突然変異株数の減少又はコロニーの消失が認められた。
遺伝毒性：代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの試験菌株においても投与に関連した復帰突然変異株数の増加は見られなかった。

【細胞毒性試験】

被験物質	用量 (µg/plate)	Number of revertants / plate (TA100)	
		Without Activation	With Activation
Control (DMSO)	(50 µL)	76	105
L-105	0.01	93	109
	0.05	56	50
	0.1	67	81
	0.5	32	30
	1	1	0
	5～1000	Toxic	Toxic
	5000	Toxic	Toxic

Tocix: 細胞毒性が認められた。

試験番号：T9101；4.2.3.3.1-2（続き 1）

【試験 1】

代謝活性化	被験物質	用量（μg/plate）	Number of revertants / plate (mean ± SEM)				
			TA97	**TA98**	**TA100**	**TA1535**	**TA1538**
Without Activation	Control (DMSO)	(50μL)	81 ± 9.0	26 ± 1.5	84 ± 3.0	19 ± 0.9	13 ± 0.3
	L-105	0.01	117 ± 13.2	25 ± 3.3	130 ± 21.7	16 ± 1.5	14 ± 1.9
		0.05	140 ± 9.3	24 ± 3.5	93 ± 9.3	25 ± 0.9	11 ± 1.8
		0.1	111 ± 6.2	22 ± 2.4	113 ± 12.7	23 ± 2.7	14 ± 3.0
		0.5	93 ± 5.8	23 ± 1.0	62 ± 11.6	23 ± 4.1	15 ± 4.0
		1	57 ± 7.9	16 ± 1.5	8 ± 5.6	16 ± 1.5	8 ± 2.1
		5	ND	ND	ND	10 ± 3.3	ND
	Sodium azide[a]	1			545 ± 31.7[b]	412 ± 38.7[b]	
	2-Nitrofluorene[a]	2.5		457 ± 20.2[b]			571 ± 42.2[b]
	ICR-191 Acridine[a]	0.5	1017 ± 120.6[b]				
With Activation	Control (DMSO)	(50μL)	83 ± 11.9	34 ± 2.6	80 ± 5.2	9 ± 2.3	21 ± 3.3
	L-105	0.01	114 ± 1.5	39 ± 4.7	114 ± 7.2	19 ± 3.8[b]	23 ± 2.6
		0.05	131 ± 13.5	31 ± 3.2	98 ± 4.1	16 ± 1.5	28 ± 5.0
		0.1	105 ± 11.9	33 ± 3.1	105 ± 5.7	20 ± 4.4[b]	25 ± 2.9
		0.5	91 ± 6.8	35 ± 3.5	47 ± 5.0	21 ± 2.3[b]	21 ± 1.3
		1	47 ± 5.1	24 ± 3.7	13 ± 1.3	13 ± 2.6	18 ± 3.0
		5	ND	ND	ND	7 ± 0.7	ND
	2-Aminoanthracene[a]	1	1139 ± 86.2[b]	1934 ± 97.5[b]	1975 ± 42.1[b]	137 ± 11.0[b]	1601 ± 90.0[b]

[a] 陽性対照

[b] Control の 2 倍以上増加

ND: Not determined

試験番号：T9101；4.2.3.3.1-2（続き 2）

【試験 2】

被験物質	用量（μg/plate）	Number of revertants / plate (mean ± SEM)	
		TA1535	
		Without Activation	With Activation
Control (DMSO)	(50μL)	12 ± 3.2	15 ± 3.0
L-105	0.01	15 ± 2.7	17 ± 3.3
	0.05	18 ± 2.3	11 ± 3.6
	0.1	21 ± 1.9	15 ± 1.3
	0.5	1 ± 0.6	0
	1	7 ± 2.3	9 ± 2.1
	5	ND	ND
Sodium azide[a]	1	442 ± 45.8[b]	
2-Aminoanthracene[a]	1		291 ± 3.5[b]

[a] 陽性対照

[b]Control の 2 倍以上増加

ND: Not determined

2.6.7.8.C Study of Mutagenic Activity of the Compound L 105 with *Saccharomyces cerevisiae*

被験物質：L-105

試験の種類：遺伝子突然変異試験
菌株：*Saccharomyces cerevisiae* D4
(alpha/a, gal2/+, ade2-2/ade2-1, trp 5-12/trp 5-27, leu 1/+)
代謝活性化系：Aroclor-induced rat liver, S9
媒体：DMSO
独立した試験数：1
プレート数：4
試験番号：T8002
CTD における記載箇所：4.2.3.3.1-3
GLP 適用：非適
処理年月日：不明（報告書：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日）

細胞毒性：代謝活性化系非存在下で中等度の細胞毒性が認められ、細胞生存率は対照の 66～90%に減少した。
遺伝毒性：代謝活性化系の有無にかかわらず、投与に関連した変異の増加は見られなかった。

代謝活性化	被験物質	用量（mg/L）	Incubation Time (hr)	Cells/plate × 10^6	Survival (%)	Frequency of Conversion × 10^5 (mean number of conversions/plate)	
						Gene Trp 5	Gene Ade 2
Without Activation	Control (DMSO)	(2.5%)	4	1.29	100	1.16 (15.0)	1.68 (21.7)
	L-105	250	4	1.16	90	1.18 (13.7)	1.74 (20.2)
		500	4	0.92	71	1.49 (13.0)	1.66 (15.0)
		1000	4	0.85	66	1.40 (12.0)	1.80 (16.0)
	Methyl methanesulphonate[a]	87.5	4	1.12	86	9.2 (103.0)***	6.5 (73.0)***
With Activation	Control (DMSO)	(2.5%)	4	1.22	100	1.55 (19.2)	2.06 (25.2)
	L-105	250	4	1.21	99	1.28 (15.5)	1.70 (20.7)
		500	4	1.19	97	1.42 (17.0)	1.76 (21.0)
		1000	4	1.19	97	1.47 (17.5)	1.44 (17.5)
	Cyclophosphamide[a]	375	4	1.14	93	7.1 (81.6)***	8.0 (91.6)***

[a] 陽性対照
***p<0.001 (Chi square test)

2.6.7.8.D Study of *in vitro* Mutagenic Activity of the Compound L 105 with *Schizosaccharomyces pombe*

被験物質：L-105

試験の種類：遺伝子突然変異試験
試験系：*Schizosaccharomyces pombe* (SP ade 6-60/rad 10-198, h-)
代謝活性化系：Aroclor-induced rat liver, S9
媒体：DMSO
細胞毒性：明らかな細胞毒性は、認められなかった。
遺伝毒性：代謝活性化系の有無にかかわらず、投与に関連した変異の増加は見られなかった。

独立した試験数：1
プレート数：3～4

試験番号：T8003
CTD における記載箇所：4.2.3.3.1-4
GLP 適用：非適
処理年月日：不明（報告書：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日）

代謝活性化	被験物質	用量 (mg/L)	Incubation Time (hr)	Survival (%)	Mutants	No. of Colonies	Frequency × 10^4
Without Activation	Control (DMSO)	(2.5%)	4	100	5	58520	0.85
	L-105	250	4	95.5	5	53430	0.93
		500	4	93.7	4	55860	0.71
		1000	4	93.7	4	55800	0.71
	Methyl methanesulphonate[a]	87.5	4	97.4	57	58300	9.7***
With Activation	Control (DMSO)	(2.5%)	4	100	6	57850	1.03
	L-105	250	4	93.9	5	59500	0.84
		500	4	93.7	4	58520	0.68
		1000	4	92.1	4	58100	0.68
	Dimethylnitrosamine[a]	375	4	80.0	40	50540	7.9***

[a] 陽性対照
***p<0.001 (Chi square test)

2.6.7.8.E An Evaluation of the Mutagenic Potential of Rifaximin in the CHO/HGPRT Mutation Assay

被験物質：L-105

試験の種類：遺伝子突然変異試験
試験系：Chinese hamster ovary cells (subline K_1-BH_4)
代謝活性化系：Aroclor-induced rat liver, S9
媒体：DMSO
独立した試験数：2
培養数：3（被験物質）
試験番号：T9102
CTD における記載箇所：4.2.3.3.1-5
GLP 適用：適
処理年月日：19[redacted]年[redacted]月

細胞毒性：ほとんどの用量で細胞生存率の減少が認められ、代謝活性化系非存在下 125 µg/mL 以上の用量では十分な細胞数が得られなかった。
遺伝毒性：投与に関連した HGPRT の変異増加は見られなかった。

【細胞毒性試験】

用量（µg/mL）		Relative Cell Survival on Day 1 (%)	
		Without Activation	With Activation
Control (DMSO)	(1%)	100	100
L-105	7.81	77	81
	15.6	55	112
	31.3	37	91
	62.5	34	77
	125	—[a]	63
	250	—[a]	16
	500	—[a]	15
	750	—[a]	10
	1000	—[a]	14

[a] 十分な細胞数が得られなかったため、継代しなかった。

試験番号：T9102；4.2.3.3.1-5（続き）

【突然変異試験】

代謝活性化	被験物質	用量 (μg/mL)	Relative Cell Survival on Day 1 (%)	Mutant Colonies / Clonable Cells (Combined)	Mutant Colonies / 1×10^6 Clonable Cells
Without Activation	Control (DMSO)	(1%)	100	$10 / 2.34 \times 10^6$	4.3
	L-105	10	84	$3 / 2.57 \times 10^6$	1.2
		25	71	$0 / 2.31 \times 10^6$	0
		60	60	$9 / 2.41 \times 10^6$	3.7
		80	58	$3 / 2.57 \times 10^6$	1.2
	ICR-191 Acridine[a]	1	44	$377 / 1.61 \times 10^6$	234.2**
With Activation	Control (DMSO)	(1%)	100	$18 / 2.55 \times 10^6$	7.1
	L-105	100	67	$0 / 2.78 \times 10^6$	0
		150	19	$2 / 2.58 \times 10^6$	0.8
		200	9	$0 / 2.16 \times 10^6$	0
		250	6	$0 / 2.54 \times 10^6$	0
	3-Methylcholanthrene[a]	5	77	$238 / 1.98 \times 10^6$	120.2**

[a] 陽性対照

**p<0.01. (conditional binomial test)

2.6.7.8.F Study of the Capacity of the Test Article Rifaximin to Induce Chromosome Aberrations in Human Lymphocytes Cultured *in vitro*

被験物質：L-105

試験の種類：染色体異常試験　独立した試験数：2 slides/culture　試験番号：T9201
試験系：Human lymphocytes　培養数：2　CTD における記載箇所：4.2.3.3.1-6
代謝活性化系：Aroclor-induced rat liver, S9　評価細胞数：最低 100　(metaphases/dose)　GLP 適用：適
媒体：DMSO　処理年月日：19[redacted]年[redacted]～[redacted]月
細胞毒性：予備試験の結果、1000 µg/mL では強い細胞毒性が認められ、スライド上に細胞は回収されなかった。
遺伝毒性：染色体異常の増加は見られなかった。

代謝活性化	被験物質	用量 (µg/mL)	Number of Metaphases	Number of cells with aberrations (%) including gaps	Number of cells with aberrations (%) excluding gaps
Without Activation	Control (DMSO)	(1%)	108	2 (1.85)[a]	0
	L-105	0.1	100	0	0
		1	101	0	0
		10	100	1 (1.00)[a]	0
		100	102	1 (0.98)[b]	1 (0.98)[b]
	Mitomicin C[c]	0.75	100	29 (29.00)[d]***	29 (29.00)[d]***
With Activation	Control (DMSO)	(1%)	105	1 (0.95)[b]	1 (0.95)[b]
	L-105	0.1	100	0	0
		1	101	1 (0.99)[b]	1 (0.99)[b]
		10	101	0	0
		100	100	0	0
	Cyclophosphamide[c]	17.25	100	30 (30.00)[e]***	29 (29.00)[e]***

[a]gap
[b]break
[c]陽性対照
[d]14 breaks, 6 fragments; 3 symmetric interchanges, 12 asymmetric interchanges
[e]2 gaps, 14 breaks, 7 fragments, 1 symmetric interchange, 11 asymmetric interchange
***p<0.001 (Chi square test)

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9.A Micronucleus Induction in Bone Marrow Cells of Rats Treated by Oral Route with the Test Article Rifaximin

被験物質：L-105

動物種/系統：ラット／Crl:CD (SD) BR
投与時週齢：6 週齢
評価した細胞：骨髄多染性赤血球
分析細胞数/動物：2000
特記事項：なし

投与期間：単回投与
投与方法：経口投与
媒体：0.5% Methylcellulose
標本採取：投与の 18、42、66 時間後

試験番号：T9202
CTD における記載箇所：4.2.3.3.2-1
GLP 適用：適
投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日

毒性：L-105 投与の影響は認められなかった。

結果：いずれの採取時点においても、L-105 投与による小核の出現頻度増加は見られなかった。

曝露証明：非実施

標本採取時間	被験物質	投与量 (mg/kg)	性別/動物数	Micronuclei / cell (mean ± SD)	Polychromic / Normochromic (mean ± SD)
18 hr	Control	0	♂5 ♀5	0.600 ± 0.516	1.292 ± 0.135
	L-105	1000	♂5 ♀5	0.700 ± 0.823	1.448 ± 0.079
		2000	♂5 ♀5	0.700 ± 0.823	1.476 ± 0.053
42 hr	Control	0	♂5 ♀5	0.600 ± 0.699	1.337 ± 0.133
	L-105	1000	♂5 ♀5	0.800 ± 0.789	1.431 ± 0.158
		2000	♂5 ♀5	0.800 ± 0.632	1.418 ± 0.086
	Mitomicin C[a]	8	♂5 ♀5	10.700 ± 2.669***	0.739 ± 0.087
66 hr	Control	0	♂5 ♀5	0.600 ± 0.699	1.443 ± 0.127
	L-105	1000	♂5 ♀5	0.800 ± 0.632	1.386 ± 0.143
		2000	♂5 ♀5	0.900 ± 0.738	1.322 ± 0.133

[a] 陽性対照
***p<0.001 (Mann Whitney U test)

2.6.7.9.B Rifaximin Unscheduled DNA Synthesis (UDS) in Primary Rat Hepatocytes after *in vivo* Treatment

被験物質：L-105

動物種/系統：ラット／SD
投与時週齢：7-10 週齢
評価した細胞：肝細胞
分析細胞数/動物：50 cells × 2 slides
投与期間：単回投与
投与方法：経口投与
媒体：0.5% Carboxymethyl cellulose
試験番号：T0803
CTD における記載箇所：4.2.3.3.2-2
GLP 適用：適
投与年月日：20[redacted]年[redacted]月 [redacted]日

処置：各群 4 匹に単回経口投与して 2 時間後に各 3 匹から肝臓を採取し、別の各群 4 匹に投与して 14 時間後に各 3 匹から肝臓を採取して初代培養肝細胞を作製し、トリチウムチミジンで 4 時間処置した。

結果：L-105 投与群では被験物質投与による影響が認められず、いずれの用量においても修復が認められた細胞はなかった。陽性対照群では UDS の著明な増加が認められた。

曝露証明：曝露確認用動物（n = 6）で 2000 mg/kg 投与の 1 時間後に採血して測定した。L-105 の血中濃度は、3.646 ± 4.490 ng/mL だった。

投与後時間	被験物質	投与量 (mg/kg)	性別/動物数	Net grains / nucleus (mean ± SD)	% cells in repair (mean ± SD)
2 hr	Control	0	♂3	−0.66 ± 0.04	0.00 ± 0.00
	L-105	1000	♂3	−0.78 ± 0.12	0.00 ± 0.00
		2000	♂3	−0.75 ± 0.27	0.00 ± 0.00
	Methylnitrosourea[a]	80	♂3	6.85 ± 0.38	84.67 ± 1.86
14 hr	Control	0	♂3	−0.93 ± 0.39	0.00 ± 0.00
	L-105	1000	♂3	−0.99 ± 0.35	0.00 ± 0.00
		2000	♂3	−0.73 ± 0.19	0.00 ± 0.00
	2-Acetylaminofluorene[a]	100	♂3	7.29 ± 0.89	79.00 ± 8.02

[a] 陽性対照

2.6.7.9.C　　L-105 のラットを用いた *in vivo* コメットアッセイ試験

被験物質：L-105

動物種/系統：ラット／Crl:CD(SD)　　投与期間：2 回投与（解剖の約 24 時間前と 3～5 時間前）　　試験番号：ARX1GT[redacted]01
投与開始時週齢：8 週齢　　投与方法：強制経口投与　　CTD における記載箇所：4.2.3.3.2-3
評価した細胞：胃粘膜上皮　　媒体：0.5% Tween80　　GLP 適用：適
分析細胞数/動物：100 cells　　標本採取：最終投与の約 4 時間後　　初回投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日

処置：胃粘膜上皮を採取し、アルカリ条件下でアガロース電気泳動を行い、SYBR Gold 染色を施してコメットテール部に含まれる DNA 量の比率%（Mean % Tail Intensity）を計測した。
特記事項：なし
毒性：L-105 投与の影響は認められなかった。
結果：L-105 投与による Mean % Tail Intensity の増加は認められず、コメットアッセイ陰性と判定された。

被験物質	投与量（mg/kg）	性別/動物数	Mean % Tail Intensity[a] (mean ± SD)	Hedgehog (%)[b] (mean ± SD)
Control	0	♂5	2.61 ± 0.52	11.00 ± 1.87
L-105	500	♂5	3.00 ± 0.50	9.80 ± 1.79
	1000	♂5	2.78 ± 0.37	11.20 ± 3.96
	2000	♂5	3.05 ± 0.39	9.20 ± 2.17
Ethyl methanesulfonate[c]	200	♂5	25.50 ± 3.51**	19.40 ± 2.79

[a] コメットテール部に含まれる DNA 量の比率(%)
[b] Hedgehog 像（ヘッドが小さいかなく、テールが大きくて分散している像）の出現頻度
[c] 陽性対照
** $p<0.01$ (Welch's t-test)

2.6.7.10　がん原性試験

2.6.7.10.A　A 2-year Oral Carcinogenicity Study in Rats

被験物質：L-105

動物種/系統：ラット/Crl:CD(SD)　投与期間：2 年間（104 週間）　試験番号：T0902
投与開始時週齢：8 週齢　投与方法：経口投与　CTD における記載箇所：4.2.3.4.1-1
初回投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日　媒体：1% Methylcellulose　GLP 適用：適

高用量設定根拠：慢性毒性試験［AFW032/984432(N2165)］の無毒性量 150 mg/kg を高用量に設定した。しかし、高用量群では被験物質投与による影響が認められなかったため、高用量群の投与量を 28 週目から 200 mg/kg に、39 週目から 250 mg/kg に増加させた。

特記事項：なし

投与量（mg/kg）		0		20		50		150/200/250	
性別・動物数		♂60	♀60	♂60	♀60	♂60	♀60	♂60	♀60
最終剖検例数		16	29	15	25	20	28	15	24
生存率		26.7%	48.3%	25.0%	41.7%	33.3%	46.7%	25.0%	40.0%
体重（%）	Week 104	772.2 g	532.0 g	−0.2	−9.8	−3.1	0.0	−1.7	−6.7
摂餌量		軽度な増減が一時的に認められたが、L-105 投与による明らかな影響は認められなかった。							
一般状態観察		—	—	—	—	—	—	—	—
Palpable masses		1	13	3	12	2	10	1	8
剖検所見		—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織所見（非腫瘍性病変）		—	—	—	—	—	—	—	—
（腫瘍性病変 [a]）									
Heart Schwannoma, malignant		0	0	0	0	1	0	3	0
Kidney Liposarcoma, malignant		1	0	0	0	0	0	3	1
Multicentric Sarcoma, histiocytic, malignant		3	0	1	1	2	2	2	1
Pancreas Carcinoma islet cell, malignant		0	0	1	1	1	3	3	1
Skin, subcutis Fibrosarcoma, malignant		3	2	2	0	2	1	1	1
Mammary Gland Adenocarcinoma		0	14	1	14	1	11	0	16
Pituitary Pars Distalis Carcinoma		1	3	1	4	0	0	0	1
Uterine Stromal Sarcoma			1		0		3		3

[a]3/60 例以上認められた腫瘍性病変
－：特記所見なし。

2.6.7.10.B 26-Week Repeated Dose Oral Carcinogenicity Study of Rifaximin in Tg.rasH2 Mice

被験物質：L-105

動物種/系統： 主試験：マウス／Tg.rasH2
曝露確認：マウス／CByB6F1
投与開始時週齢：7 週齢
初回投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日
投与期間：26 週間
投与方法：経口投与
媒体：1% Methylcellulose
陽性対照：Urethane (1000 mg/kg)
試験番号：T0901
CTD における記載箇所：4.2.3.4.2-1
GLP 適用：適

高用量設定根拠：あらかじめ実施した反復投与試験で 2000 mg/kg を 4 週間マウスに反復投与しても毒性が認められず、無毒性量は>2000 mg/kg/day と考えられた。そこで、雌については 250、750 及び 2000 mg/kg を設定した。雄については、1000 mg/kg 投与と 2000 mg/kg 投与とで全身性曝露量に大差がなかったことから、150、500 及び 1500 mg/kg を設定した。

特記事項：なし

曝露確認	**投与量（mg/kg）**	**0**	**0**	**150**	**250**	**500**	**750**	**1500**	**2000**
	性別・動物数	**♂8**	**♀8**	**♂8**	**♀8**	**♂8**	**♀8**	**♂8**	**♀8**
投与 1 時間後の平均血中濃度（ng/mL）[a]									
	Week 13	BLQ	0.45 ± 0.79	6.84 ± 1.95	10.5 ± 1.82	6.52 ± 0.99	15.3 ± 4.75	11.5 ± 8.62	17.7 ± 5.90
	Week 26	0.51 ± 0.89	BLQ	5.03 ± 0.40	9.17 ± 0.30	8.40 ± 1.84	12.3 ± 2.72	14.4 ± 5.98	17.3 ± 7.42

[a]Week 13 及び Week 26 の投与 1 時間後に、各群雌雄各 3 匹から採血して測定した。残る 2 例は予備採血動物として設定した。
BQL: Below lower limit of quantification (1 ng/mL)

主試験	**投与量（mg/kg）**	**0**	**0**	**150**	**250**	**500**	**750**	**1500**	**2000**	**Urethane**	**Urethane**
	性別・動物数	**♂25**	**♀25**	**♂25**	**♀25**	**♂25**	**♀25**	**♂25**	**♀25**	**♂25**	**♀25**
死亡及び安楽死動物数		0	0	1	3	1	0	0	1	14	5
一般状態											
Hyperactivity		0	8	3	2	1	3	2	6	10	7
Alopecia		0	0	0	0	0	0	0	0	11	0
Ruffled fur		0	0	1	0	0	0	0	2	2	0
Hunched		0	0	0	1	0	0	0	2	2	2
Rapid breathing		0	1	0	9	1	5	0	1	23	25
Palpable mass		0	0	0	0	0	0	0	2	0	1
Stained coat		0	0	0	0	0	4	0	3	0	0

試験番号：T0901；4.2.3.4.2-1（続き）

主試験	投与量（mg/kg）	0	0	150	250	500	750	1500	2000	Urethane	Urethane
	性別・動物数	♂25	♀25	♂25	♀25	♂25	♀25	♂25	♀25	♂25	♀25
体重		—	—	—	—	—	↑week 1	—	↓weeks 4, 7, 12, 22-26	↓week 1 ↑weeks 5-14	↓weeks 1-2 ↑weeks 11, 14
摂餌量						No consistent trend					
器官重量	Brain (g)	0.48080	0.49750	0.48443	0.51649	0.47595	0.49504	0.47726	0.49871	ND	ND
	(g%)	1.74732	2.11811	1.74703	2.21661	1.69414	2.10188	1.75783	↑2.23527		
	Heart (g)	0.17001	0.14649	0.17332	0.13919	0.17361	0.14285	0.18014	↓0.13949	ND	ND
	(g%)	0.61587	0.62228	0.62040	0.59601	0.61583	0.60504	↑0.66136	0.62539		
	Liver (g)	1.46328	1.28607	1.41024	1.26632	1.47303	1.26493	↓1.33689	1.22884	ND	ND
	(g%)	5.29628	5.44948	5.00765	5.44463	5.19465	5.34558	↓4.89095	5.49375		
	Kidney (g)	0.58064	0.37909	0.60142	0.38987	0.58278	0.39341	0.56938	0.37786	ND	ND
	(g%)	2.10515	1.60748	2.14402	1.67044	2.06090	1.66498	2.08484	↑1.69175		
	Spleen (g)	0.07914	0.10198	0.08365	0.09454	0.09658	0.10100	0.07637	↓0.09449	ND	ND
	(g%)	0.28769	0.43420	0.30351	0.40473	0.34864	0.42718	0.28021	0.42340		
剖検所見		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織所見（非腫瘍性病変）											
Nasal cavities	Acute inflammation										
submucosa		13	19	10	13	9	9	8	10	ND	ND
exudative		3	3	0	0	0	3	10	9	ND	ND
病理組織所見（腫瘍性病変）											
Lung	Single adenoma	2	1	3	2	3	4	1	3	0	0
	Multiple adenoma	0	0	0	0	0	1	1	0	25*	25*
	Carcinoma	1	0	0	0	0	0	0	0	18*	24*
	Any Lungs	3	1	3	2	3	5	2	3	25	25
Spleen	Hemangiosarcoma	0	0	1	1	4	1	0	2	20*	25*
Any[a]	Hemangiosarcoma	1	1	2	4	1	2	3	2	1	0
Harderian gland	Adenoma	1	1	0	1	0	0	1	0	0	0
	Adenocarcinoma	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0

ND: Not determined、－：特記所見なし。[a] 脾臓以外

*p<0.05 (Fisher's Exact Test)、↓↑: p<0.05 (ANOVA, Dunnett's t-test)

2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：L-105

動物種 / 系統	投与方法 (溶媒 / 投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg)	性別及び 一群の動物数	特記すべき所見	記載箇所 試験番号
ラット / Sprague Dawley	経口投与 1%アラビアゴム	♂交配前 70 日 ～交配中 ♀交配前 14 日 ～離乳	0, 25, 50, 100	♂10 ♀20	親動物(F_0)の一般状態、体重、受胎能、雄生殖器の病理組織に影響は認められなかった。また、着床数、吸収胚数、生存胎児数及び分娩時の同腹児数に影響は認められず、出生児(F_1)の体重、身体発達及び神経筋の発達、生殖能にも影響は認められなかった。	4.2.3.5.1-1 N2015
	経口投与 1% methylcellulose	♂♀交配前 15 日 ～♂交配終了, ♀授乳 9 日	0, 150, 300	♂8 ♀8	一般状態に変化は認められなかったが、雌雄の各用量投与群で親動物(F_0)の体重増加量と摂餌量に減少が認められた。性周期、交尾行動、受胎能、妊娠期間、同腹児数、出生児(F_1)の体重、剖検時の肉眼的観察に影響は認められなかった。	4.2.3.5.1-2 T9903
	経口投与 5%アラビアゴム	妊娠 5～18 日	0, 50, 100	♀9～11	母動物への影響、胎児の重量、外表、骨格及び内臓等への影響は認められなかった。	4.2.3.5.3-1 N2008
	経口投与 5%アラビアゴム	妊娠 17 日～離乳	0, 50, 100	♀7～9	母動物への影響、出生児の生存状況、体重、外表及び発達への影響は認められなかった。	
ウサギ／New Zealand White	経口投与 5%アラビアゴム	妊娠 6～18 日	0, 50, 100	♀6～8	母動物への影響、胎児の体重、外表、骨格及び内臓等への影響は認められなかった。	
	経口投与 1% methylcellulose	妊娠 6～19 日	0, 100, 300, 1000	♀4	一般状態に明らかな影響は認められなかった。全ての投与群で投与初期に体重と摂餌量の減少が認められ、1000 mg/kg 群では投与期間中体重増加抑制が認められた。黄体数、着床数、吸収胚数、生存胎児数及び胎児体重及び胎盤重量には影響が認められなかった。100, 300 mg/kg 群の胎児各 1 例で短顎及び無顎等が認められた。	4.2.3.5.2-1 T9707

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

2.6.7.12.A　Combined Study of Effects on Fertility and Embryo-Fetal Toxicity in CD Rats by Oral Gavage Administration

被験物質：L-105

試験計画：ICH 4.1.1 準拠
動物種 / 系統：ラット/Crl:CD(SD)
投与開始時週齢：9-11 週齢
初回投与年月日：♂19[redacted]年[redacted]月[redacted]日、♀19[redacted]年[redacted]月[redacted]日
投与期間：♂交配前 29 日～（約 7 週間）
♀交配前 15 日～妊娠 17 日.
交尾成立日：妊娠 0 日
帝王切開日：妊娠 20 日
投与方法：経口投与
媒体：1% Methylcellulose
試験番号：T0001
CTD における記載箇所：4.2.3.5.1-3
GLP 適用：適
特記事項：なし
無毒性量：F_0 一般毒性；♂♀150 mg/kg/day、F_0 生殖能及び受胎能；♂♀300 mg/kg/day、F_1 胎児の成長及び発達；300 mg/kg/day

投与量 (mg/kg)		0	50	150	300
雄	評価動物数	♂22	♂22	♂22	♂22
死亡及び安楽死動物数		0	0	0	0
一般状態		―	―	―	―
体重（変化量）(g)	Day 1-29	131	139	130	126
	Day 1-53	202	208	199	190
摂餌量 (g/rat/week)	Week 2	209	223	211	210
	Week 4	202	208	199	197
剖検所見		―	―	―	―
器官重量	Prostate (g)	0.648	0.735	0.718	↑0.788*
交尾動物数		22	22	22	22
受胎動物数		22	22	22	22
授胎率 (%)		100	100	100	100

－：特記所見なし
*p<0.05 (Dunnett's test or Behrens-Fisher test depending on the homogeneity of variance between groups)

試験番号：T0001；4.2.3.5.1-3（続き 1）

投与量 (mg/kg)		0	50	150	300
雌	評価動物数	♀22	♀22	♀22	♀22
死亡及び安楽死動物数		0	0	0	0
一般状態		―	―	―	―
体重（変化量）(g)	Before pairing Day 1-15	35	31	↓26**	↓19**
	Gestation Day 0-18	121	118	119	↓105**
摂餌量		―	―	―	―
剖検所見		―	―	―	―
正常性周期 (Regular 4-5 day cycles)		22	22	22	21
交配動物数		22	22	22	22
交配率 (%)/受胎率 (%)		100/100	100/100	100/100	100/100
Gestation Day 20 時妊娠動物数		22	22	22	22
平均胎盤重量 (g)		0.54	↓0.49**	↓0.49**	↓0.48**
平均黄体数		16.7	16.7	17.8	16.7
平均着床数		15.6	15.7	16.7	15.1
平均吸収胚数		1.4	0.7	1.1	0.9
平均着床前死亡率 (%)		7.4	6.8	6.5	9.1
平均着床後死亡率 (%)		9.1	4.2	6.6	6.4

－：特記所見なし

**p<0.01 (Williams' test or Kruskal-Wallis followed by Shirley's test depending on the heterogeneity of variance between groups)

試験番号：T0001；4.2.3.5.1-3（続き 2）

投与量 (mg/kg)			0	50	150	300
胎児		評価母体数	♀22	♀22	♀22	♀22
生存同腹児数			14.3	15.0	15.5	14.3
同腹児総体重 (g)			51.93	55.13	55.05	50.31
平均胎児体重 (g)			3.64	3.67	3.55	3.53
胎児性比 (% M)			47.1	48.1	54.2	44.1
胎児異常の出現頻度 (fetus/litters)		評価胎児数	314/22	330/22	342/22	314/22
Major abnormalities			1/1	3/3	5/1	2/2
Minor abnormalities			33/18	37/16	48/19	52/18
Hemorrhage	Subcutaneous		8/5	6/6	18/10	19/10
	Liver		3/3	6/4	6/4	13/7
Incomplete ossification	Cranial centers		3/3	2/2	9/5	11/6
	Pelvic bones		2/2	2/2	2/2	5/4
	Sternebrae		92/20	110/21	116/21	120/21

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.A　Study of Effects on Embryo-Fetal Toxicity in the Rabbit by Oral Gavage Administration

被験物質：L-105

試験計画：ICH 4.1.1 準拠
動物種 / 系統：ウサギ / New Zealand White
投与開始時週齢：19-27 週齢
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日
特記事項：なし
投与期間：妊娠 6～19 日
交尾成立日：妊娠 0 日
帝王切開日：妊娠 29 日
投与方法：経口投与
媒体：1% Methylcellulose
試験番号：T9801
CTD における記載箇所：4.2.3.5.2-2
GLP 適用：適

無毒性量：
F_0：全ての用量群で体重増加抑制と摂餌量の減少が認められたため、求められなかった。
F_1：全ての用量群で骨格異常が認められたため、求められなかった。

投与量（mg/kg）		0	62.5	250	1000
トキシコキネティクス	動物数	0	♀4	♀4	♀4
C_{max} (ng/mL, mean ± SD)	Day 6		BLQ	1.046 ± 0.813	2.200 ± 1.372
	Day 19		1.385 ± 0.656	1.705 ± 0.573	4.006 ± 2.369
AUC_{0-8} (ng·hr/mL, mean ± SD)	Day 6		BLQ	6.63 ± 2.19	10.95 ± 7.98
	Day 19		BLQ	8.25 ± 3.24	16.97 ± 4.80
母動物	評価動物数	♀22	♀22	♀22	♀22
妊娠動物数		20	21	21	22
死亡及び安楽死動物数		1	0	0	0
流産母体数		2	0	2	0
一般状態 [a]	Day 7-19				
Little diet eaten		2	3	5	4
Few feces in undertray		4	6	9	8
Pale feces		0	4	7	21
Orange staining on cage undertray paper		0	19	19	20

[a] 非妊娠動物を除く
BLQ: Below the limit of quantification［血漿中濃度が定量下限（0.500 ng/mL）未満であったため、求められなかった。］

試験番号：T9801；4.2.3.5.2-2（続き 1）

投与量（mg/kg）		0	62.5	250	1000
母動物	評価動物数	♀22	♀22	♀22	♀22
体重 (kg)	Day 0	3.78	3.80	3.79	3.80
	Day 6	3.92	3.99	3.93	3.97
	Day 8	3.98	↓3.95***	↓3.86***	↓3.92***
	Day 10	4.02	↓4.02*	↓3.93**	↓3.97**
	Day 12	4.09	↓4.07*	↓4.00*	↓4.01***
	Day 18	4.26	4.23	4.17	4.19
	Day 28	4.50	4.45	4.35	4.42
摂餌量 (g)	Day 6-12	198	↓161***	↓151***	↓149***
	Day 13-19	190	172	177	173
	Day 20-23	173	159	↓143*	166
	Day 24-28	139	126	119	138
剖検所見		－	－	－	－
Uterine Examination	評価動物数（Day 29 妊娠動物）	♀17	♀21	♀19	♀22
平均黄体数		12.9	11.4	12.7	12.2
平均着床数		9.7	10.2	10.3	9.5
平均着床前死亡率 (%)		25.3	12.2	19.3	23.2
平均着床後死亡率 (%)		18.8	16.3	12.2	21.2
平均胎盤重量 (g)		6.0	5.7	5.4	5.8

－：特記所見なし

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 (Bodyweights: One-way analysis and/or t-test, Food consumption: Mann-Whitney U-test)

試験番号：T9801；4.2.3.5.2-2（続き 2）

投与量（mg/kg）			0	62.5	250	1000
胎児検査		評価母体数	♀17	♀21	♀19	♀22
生存胎児数			134	180	172	164
平均生存胎児数			7.9	8.6	9.1	7.5
平均吸収胚数			1.82	1.67	1.26	2.00
平均胎児体重 (g)			43.1	40.9	40.9	42.5
胎児の性比 (♂:♀)			65:69	103:77	81:91	72:92
胎児の異常						
外表異常	Small fetus (%)[b] (母体数)		6.7(5)	10.6(9)	9.3(8)	8.5(6)
内臓異常	Any visceral anomaly		14(8)	25(9)	13(6)	5(4)
骨格異常	Any skeletal anomaly		42(13)	73(19)	59(17)	55(19)
	Incomplete ossification, cervical vertebrae		4	10	6	13
	Additional sternum centers		3	26	17	14
	Offset pelvic girdle		5	8	15	14
	12/13 or 13/13 Ribs		71	149	144	147
	20 Thoracolumbar vertebrae		25	80	81	71

[b] %Incidence of litters. One fetus may have more than one observation.

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

2.6.7.14.A　Study of Effects on Pre- and Post-Natal Development in CD Rats by Oral Gavage Administration

被験物質：L-105

試験計画：ICH 4.1.2 準拠
動物種 / 系統：ラット/ Crl:CD(SD)
投与開始時週齢：11-12 週齢
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日
特記事項：なし
無毒性量：F_0；50 mg/kg、F_1；300 mg/kg

投与期間：妊娠 6 日～授乳 20 日
交尾成立日：妊娠 0 日
帝王切開/剖検日：F_0；離乳後、F_1；授乳 7 日目、F_2；生後 7 日目
投与方法：経口投与
媒体：1% Methylcellulose

試験番号：T0002
CTD における記載箇所：4.2.3.5.3-2
GLP 適用：適

投与量（mg/kg）			0	50	150	300
雌 (F_0):		評価動物数	♀22	♀22	♀22	♀22
死亡又は安楽死動物数			0	0	0	0
妊娠動物数			22	22	22	22
妊娠率 (%)			100	100	100	100
妊娠期間 (日)			22.2	22.4	22.3	22.3
一般状態			—	—	—	—
体重 (g)	Gestation	Day 14	315	313	306	↓302**
		Day 17	348	345	338	↓332**
		Day 20	390	387	↓376*	↓369**
	Lactation	Day 4	294	294	287	↓281**
		Day 21	331	333	325	324
摂餌量 (g/rat/day)	Gestation	Day 6-9	29	27	↓27*	↓26**
		Day 17-20	30	29	29	28
	Lactation		—	—	—	—
剖検所見			—	—	—	—

－：特記所見なし
*p<0.05, **p<0.01 (Williams' test or Kruskal-Wallis followed by Shirley's test depending on the heterogeneity of variance between groups)

試験番号：T0002；4.2.3.5.3-2（続き 1）

投与量（mg/kg）			0	50	150	300
F_1 出生児（離乳前）		評価母体数	♀22	♀22	♀22	♀22
着床数			15.0	15.0	15.5	15.7
同腹児数 (Day 1)			13.9	14.3	14.0	14.1
平均生存出生児数/腹 (Day 1)			13.6	14.1	13.9	14.0
出生時生存率 (%)			97.9	98.4	94.8	99.2
出生児性比 (% M)		Day 1	49.2	52.1	51.1	49.0
		Day 21	48.9	49.7	49.7	47.5
出生児体重		Day 1-28	－	－	－	－
出生児の身体発達			－	－	－	－
F_1 出生児（離乳後）						
感覚機能（視覚、聴覚）			－	－	－	－
自発運動機能（Beam breaks）			－	－	－	－
学習及び記憶（Water maze performance）			－	－	－	－
神経筋の発達			－	－	－	－
F_1 出生児（生後約 5 週）		評価出生児(F_1)数	♂20♀20	♂20♀20	♂20♀20	♂20♀20
出生児体重	♂5-14Week、♀5-9Week		－	－	－	－
	Gestation (♀)	Day 0	266	254	247	253
		Day 7	311	296	285**	292**
		Day 14	354	340	328*	335*
		Day 20	437	418*	405*	413*
	Lactation (♀)		－	－	－	－

－：特記所見なし

*p<0.05, **p<0.01 (Williams' test or Kruskal-Wallis followed by Shirley's test depending on the heterogeneity of variance between groups)

試験番号：T0002；4.2.3.5.3-2（続き 2）

投与量（mg/kg）		0	50	150	300
F_1 出生児（生後約 5 週）	評価出生児(F_1)数	♂20♀20	♂20♀20	♂20♀20	♂20♀20
膣開口/亀頭包皮分離		—	—	—	—
生殖能・受胎能					
交尾成立日数 (%)	1-4 day	90	100	100	100
交尾率 (%)		100	100	100	100
受胎率 (%)		90	100	95	100
妊娠期間 (%)	21.5 day	6	0	0	0
	22 day	61	25	37	70
	22.5 day	17	60	42	10
	23 day	17	15	21	20
妊娠率 (%)		100	100	100	100
着床数		15.1	14.0	14.8	14.3
平均出生児数/腹 (F_2, Day 1)		14.0	12.7	13.5	13.7
F_2 出生時生存率		99.7	98.5	100.0	99.7
F_2 出生後 7 日生存率		96.1	98.5	96.3	97.2
F_2 出生児性比 (%M, Day 1)		53.1	49.2	54.0	50.1
F_2 出生児体重 (Day 1-7)		—	—	—	—

—：特記所見なし

2.6.7.15 局所刺激性試験

非該当

2.6.7.16　その他の毒性試験

2.6.7.16.A　Immunotoxicity Study by Oral Gavage Administration to CD Rats for 28 Days

被験物質：L-105

動物種/系統：ラット／Crl:CD (SD)IGS BR　　投与期間：4 週間　　試験番号：T0601
投与開始時週齢：40～48 日齢　　休薬期間：－　　CTD における記載箇所：4.2.3.7.2-1
初回投与年月日：♂20[redacted]年[redacted]月[redacted]日　　投与方法：経口投与　　GLP 適用：適
♀20[redacted]年[redacted]月[redacted]日　　溶媒/投与形態：1% Methylcellulose

特記事項： Plaque forming cell assay では、陽性対照として 50 mg/kg の Cyclophosphamide を雌雄 5 匹に腹腔内投与。

投与量（mg/kg）		**0**		**50**		**150**		**500**	
性別・動物数		**♂10**	**♀10**	**♂10**	**♀10**	**♂10**	**♀10**	**♂10**	**♀10**
曝露確認	No. above LLQ	0	0	8	2	7	8	10	9
	Mean (ng/mL)	0	0	27.4	1.0	5.3	5.2	14.3	9.3
	Range	<2.5	<2.5	<2.5-181	<2.5-6.92	<2.5-12.3	<2.5-16.4	3.53-49.7	<2.5-33.9
死亡及び安楽死動物数		0	0	0	0	1	0	0	0
一般状態		－	－	－	－	－	－	－	－
体重増加量 (Weeks 0-4、g)		172.7	77.0	161.6	83.5	164.2	73.9	157.9	78.6
血液学的検査	WBC (10^9/L)	13.85	11.50	13.65	10.00	13.73	9.93	12.61	10.07
	Lymphocytes (10^9/L)	10.89	9.14	11.45	8.30	11.36	8.61	10.57	8.31
器官重量（thymus, lymph nodes, spleen）		－	－	－	－	－	－	－	－
肉眼所見		－	－	－	－	－	－	－	－
病理組織学的所見（thymus, lymph nodes, spleen）		－	－	－	－	－	－	－	－
T and B Cells (Cells/μL)	Total T Cells (CD3+)	2773	3287	3198	2526	4115**	3453	4188**	3544
	Total B Cells (CD45RA+)	1290	827	1661	966	1272	874	1206	606
	NKR Cells (CD3−NKR+)	367	233	446	298	294	235	263	196
	CD4+T cells (CD3+CD4+CD8−)	1426	2046	1860	1516	2527**	2193	2514**	2324
	CD8+T cells (CD3+CD4-CD8+)	1138	1293	1336	1108	1390	1132	1554*	1340
Plaque Forming Assay	Cells/Spleen Geometric Mean (× 10^8)	5.60	4.94	5.44	3.77	6.53	3.47	6.09	4.10
	PFC/10^6 cells Geometric Mean	1262	1524	892	1122	1134	1228	907	1353
	PFC/Spleen Geometric Mean (× 10^5)	7.08	7.52	4.85	4.23	7.40	4.26	5.52	5.54

－：特記所見なし
*p<0.05, ** p<0.01 （Williams' test with log transformation）

2.6.7.16.B Rifaximin-Alfa delayed dermal sensitization study in Guinea pigs (Magnusson and Kligman test).

被験物質：L-105

動物種/ 系統	性別及び 一群の動物数	投与方法・投与量	特記すべき所見	記載箇所 試験番号
モルモット /Dunkin-Hartley 系	♀10 (control) ♀20 (L-105)	1 日目には Freund's complete adjuvant (FCA)、L-105 を 20%の濃度で Corn oil 又は FCA に懸濁させた液 0.1mL を、それぞれ動物の頸背部 2 ヵ所ずつ計 6 ヵ所に皮内投与し、その翌週には 50%の濃度で Corn oil に懸濁させた液 0.4 mL を 20 × 40 mm のガーゼに塗布したものを同部位に 48 時間貼付して感作した。対照群には Corn oil を同様に皮内投与又は貼付した。最終感作の 2 週間後に、Corn oil のみ又は L-105 を 20%の濃度で corn oil に懸濁させた液 0.2 mL を 20 × 20 mm のガーゼに塗布し、動物の左右背側に 24 時間貼付して惹起した。	感作時並びに惹起の 24 及び 48 時間後に投与部位を観察したが、L-105 投与による発赤や浮腫は認められなかった。	4.2.3.7.7-1 T0805

2.6.7.16.C Rifaximin [redacted] extended single dose oral toxicity study in dogs with toxicokinetics

被験物質：L-105

動物種/系統：イヌ/Beagle
投与開始時週齢：28 週齢
初回投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日
特記事項：なし
無毒性量：－（記載なし）

投与期間：単回
休薬期間：14 日間（各群半数例を投与 3 日目に剖検）
投与方法：経口投与
溶媒/投与形態：ゼラチンカプセル

試験番号：[redacted]74560
CTD における記載箇所：4.2.3.7.7-2
GLP 適用：適

投与量（mg/kg）		**0（対照）**		**100 ([redacted])**		**300 ([redacted])**		**1000 ([redacted])**	
性別・動物数		**♂4**	**♀4**	**♂4**	**♀4**	**♂4**	**♀4**	**♂4**	**♀4**
トキシコキネティクス	C_{max} (ng/mL)	ND	ND	936.23	989.78	2568.00	3546.50	5885.25	6769.25
	$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)	ND	ND	6100	4990	17500	22497	71303	59462
死亡及び安楽死動物数		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態		－	－	－	－	－	－	－	－
体重		－	－	－	－	－	－	－	－
摂餌量		－	－	－	－	－	－	－	－
眼科学的検査		－	－	－	－	－	－	－	－
心電図検査		－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査		－	－	－	－	－	－	－	－
血液生化学的検査		－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査		－	－	－	－	－	－	－	－
器官重量		－	－	－	－	－	－	－	－
剖検所見		－	－	－	－	－	－	－	－
病理組織学的所見		－	－	－	－	－	－	－	－

ND：全例の血漿中濃度が定量下限（2.328 ng/mL）未満であったため、求められなかった。
－：特記所見なし

2.6.7.16.D Rifaximin [redacted] 4 week oral toxicity study in dogs with an interim sacrifice after 2 weeks of treatment

被験物質：L-105

動物種/系統：イヌ/Beagle
投与開始時週齢：28 週齢
初回投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日
特記事項：なし
無毒性量：1000 mg/kg

投与期間：4 週間（各群半数例を投与 2 週目に剖検）
休薬期間：－
投与方法：経口投与
溶媒/投与形態：ゼラチンカプセル

試験番号：T1001
CTD における記載箇所：4.2.3.7.7-3
GLP 適用：適

投与量（mg/kg）			**0（対照）**		**300 ([redacted])**		**1000 ([redacted])**		**1000**	
性別・動物数			**♂4**	**♀4**	**♂6**	**♀6**	**♂6**	**♀6**	**♂6**	**♀6**
トキシコキネティクス[a]	C_{max} (ng/mL)	Day 1	ND	ND	1304.2	708.5	2568.0	2490.3	12.5	10.4
		Day 14	ND	ND	1436.7	1309.7	2158.7	1902.8	18.2	17.0
		Day 28	ND	ND	1923.2	1445.1	2922.0	2226.2	6.9	10.6
	$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)	Day 1	ND	ND	12746.0	3152.3	19622.3	13762.9	120.4	128.1
		Day 14	ND	ND	11321.0	4566.4	11307.6	9653.7	134.8	137.9
		Day 28	ND	ND	8750.6	9292.9	12423.4	7155.1	80.1	113.8
死亡及び安楽死動物数			0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態			－	－	－	－	－	－	－	－
体重			－	－	－	－	－	－	－	－
摂餌量			－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査	Eosinophil (%)	Pre	2.73	1.15	2.00	1.60	2.30	1.48	2.92	1.40
		Week 2	3.38	1.18	2.27	↑2.32*	2.63	↑2.63**	2.33	1.68
		Week 4	5.95	1.15	2.83	2.97	2.20	2.87	3.53	1.77

ND：全例の血漿中濃度が定量下限（2.328 ng/mL）未満であったため、求められなかった。
[a] n=2 or 3
－：特記所見なし
*p<0.05, **p<0.01 (Dunnett's test or modified t-test depending on the heterogeneity of variance between groups)

試験番号：T1001；4.2.3.7.7-3（続き）

投与量（mg/kg）			0（対照）		300 ([redacted])		1000 ([redacted])		1000	
性別・動物数			♂4	♀4	♂6	♀6	♂6	♀6	♂6	♀6
血液生化学的検査	Alkaline phosphatase (U/L)	Pre	434.53	244.48	363.08	377.72*	379.48	296.63	290.50	318.70
		Week 2	305.95	232.73	330.20	393.55	376.77	367.97	271.12	274.78
		Week 4	334.80	244.45	302.53	516.33	332.23	425.67	217.33	213.80
	Alanine amino transferase (U/L)	Pre	28.13	32.85	29.75	34.15	30.25	37.47	32.18	29.15
		Week 2	34.15	33.33	36.37	46.27	36.85	43.07	36.75	36.15
		Week 4	32.05	36.05	34.00	42.53	33.50	40.40	33.23	29.40
	Gamma glutamyl transferase (U/L)	Pre	1.30	2.10	2.97	1.58	2.57	2.18	2.95	1.23
		Week 2	3.30	2.65	4.02	2.95	4.37	3.58	2.75	2.40
		Week 4	1.90	1.30	2.20	1.93	2.77	2.33	2.17	2.20
	Glutamate dehydrogenase (U/L)	Pre	3.17	4.00	4.40	5.87	4.73	5.58	4.62	3.26
		Week 2	2.61	3.20	4.30	4.23	5.01*	4.98	4.25	2.20
		Week 4	4.09	4.54	5.11	7.87	4.65	4.97	4.23	2.88
	Total bilirubin (mg/dL)	Pre	0.078	0.110	0.087	0.087	0.082	0.087	0.070	0.093
		Week 2	0.125	0.158	0.122	0.133	0.102	0.147	0.078	0.128
		Week 4	0.135	0.225	0.137	0.177	0.153	0.147	0.173	0.200
器官重量			—	—	—	—	—	—	—	—
剖検所見			—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的所見			—	—	—	—	—	—	—	—
肝臓の CYP450 (Week 4) Total content (nmol/mg mic. protein)			0.548	0.498	0.364	0.651	0.304	0.385	0.308	0.357
7-Ethoxyresorufin *O*-deethylase (nmol/min/mic.protein)			0.0343	0.0342	0.0214	0.0272	0.0199	0.0191	0.0258	0.0231
Pentoxyresorufin *O*-dealkylase (nmol/min/mic.protein)			0.0024	0.0025	0.0019	0.0022	0.0022	0.0017	0.0025	0.0016
Aminopyrine *N*-demethylase (nmol/min/mic.protein)			13.6	7.0	8.7	7.8	8.3	5.5	11.1	6.6

－：特記所見なし

mic. protein：microsomal protein

*p<0.05 (Dunnett's test or modified t-test depending on the heterogeneity of variance between groups)

2.6.7.16.E Rifaximin [redacted]: Toxicity by oral capsule administration to beagle dogs for 26 weeks

被験物質：L-105

動物種/系統：イヌ/Beagle
投与開始時週齢：20～22 週齢
初回投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日
特記事項：なし
無毒性量：－（記載なし）

投与期間：26 週間
休薬期間：－
投与方法：経口投与
溶媒/投与形態：ゼラチンカプセル

試験番号：[redacted]BQG0004
CTD における記載箇所：4.2.3.7.7-4
GLP 適用：適

投与量（mg/kg）		0（対照）		100 ([redacted])		1000 ([redacted])		1000	
性別・動物数		♂4	♀4	♂4	♀4	♂4	♀4	♂4	♀4
トキシコキネティクス C_{max} (ng/mL)	Day 1	ND	ND	79.6	111	2460	4050	20.3	68.6
	Week 26	ND	ND	445	172	1370	2820	9.58	73.3
AUC_{0-24} (ng·hr/mL)	Day 1	ND	ND	682	1070	19300	40700	155	356
	Week 26	ND	ND	4570	870	9760	24300	136	573
死亡及び屠殺動物数		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態		－	－	－	－	－	－	－	－
体重増加量（kg, 0-26 week）		4.5	4.2	4.4	4.3	4.1	4.0	4.5	3.2
摂餌量		－	－	－	－	－	－	－	－
眼科学的検査		－	－	－	－	－	－	－	－
心電図検査		－	－	－	－	－	－	－	－
血圧		－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査		－	－	－	－	－	－	－	－
血液生化学的検査		－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査		－	－	－	－	－	－	－	－
器官重量		－	－	－	－	－	－	－	－
剖検所見		－	－	－	－	－	－	－	－
病理組織学的所見	胸腺萎縮	1	3	3	1	4	3	3	2

ND：半数例以上で血漿中濃度が定量下限（1.00 ng/mL）未満であったため、求められなかった。
－：特記所見なし