2.6.6　毒性試験の概要文

ブリリンタ®錠 60 mg/90 mg

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次　　頁

目次 2
略語及び専門用語一覧表 5
2.6.6.1 概要 6
2.6.6.2 急性毒性試験 9
2.6.6.2.1 マウスにおける急性毒性試験 9
2.6.6.2.2 ラットにおける急性毒性試験 10
2.6.6.2.3 マーモセットにおける経口投与最大耐量試験（非げっ歯類の急性毒性評価） 10
2.6.6.3 反復投与毒性試験 10
2.6.6.3.1 マウスにおける反復投与毒性試験 11
2.6.6.3.1.1 マウスにおける 2 週間反復経口投与用量設定試験 11
2.6.6.3.1.2 マウスにおける 13 週間反復経口投与用量設定試験 12
2.6.6.3.2 ラットにおける反復投与毒性試験 13
2.6.6.3.2.1 雄ラットにおける用量設定のための単回漸増投与/5 日間反復投与試験 13
2.6.6.3.2.2 ラットにおける 1 カ月間反復経口投与毒性試験及び回復性試験 13
2.6.6.3.2.3 ラットにおける 3 カ月間反復経口投与毒性試験及び回復性試験 14
2.6.6.3.2.4 ラットにおける 6 カ月間反復経口投与毒性試験（雄の授胎能評価及び 13 週間回復性試験を含む） 15
2.6.6.3.2.5 過去の試験（ラット反復投与試験）における雌生殖器の病理組織学的変化の再検討 16
2.6.6.3.3 マーモセットにおける反復投与毒性試験 16
2.6.6.3.3.1 マーモセットにおける 1 カ月間反復経口投与毒性試験 16
2.6.6.3.3.2 マーモセットにおける 3 カ月間反復経口投与毒性試験及び回復性試験 17
2.6.6.3.3.3 マーモセットにおける忍容性確認試験（1） 18
2.6.6.3.3.4 マーモセットにおける忍容性確認試験（2） 20
2.6.6.3.3.5 マーモセットにおける 12 カ月間反復経口投与毒性試験 20
2.6.6.4 遺伝毒性試験 21
2.6.6.4.1 *In vitro* 遺伝毒性試験 23
2.6.6.4.1.1 チカグレロル及び活性を保持する代謝物の復帰突然変異試験 23
2.6.6.4.1.2 チカグレロル及び活性を保持する代謝物のマウスリンフォーマ試験 23
2.6.6.4.2 *In vivo* 遺伝毒性試験 23
2.6.6.4.2.1 チカグレロルのラット小核試験 23
2.6.6.5 がん原性試験 24
2.6.6.5.1 マウスを用いた 104 週間がん原性試験 25
2.6.6.5.2 ラットを用いた 104 週間がん原性試験 26

2.6.6.6 生殖発生毒性試験 28
2.6.6.6.1 雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 28
2.6.6.6.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 29
2.6.6.6.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 30
2.6.6.6.4 ウサギを用いた網膜発生への影響を確認する試験 31
2.6.6.6.5 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 31
2.6.6.6.6 幼若ラットにおける毒性試験 33
2.6.6.6.6.1 新生児ラットを用いた 19 日間反復経口投与毒性試験及び回復性試験 33
2.6.6.6.6.2 離乳児ラットを用いた 5 週間反復経口投与毒性試験及び回復性試験 33
2.6.6.7 局所刺激性試験 34
2.6.6.8 その他の毒性試験 34
2.6.6.8.1 ラットにおける腫瘍プロファイルの変化の原因を検討するための試験 34
2.6.6.8.1.1 雌ラットを用いた 7 又は 28 日間経口投与による肝臓及び子宮の CYP に対する作用を調べる試験 36
2.6.6.8.1.2 雌ラットを用いた 3 カ月間投与による生殖関連内分泌及び病理、並びに卵巣、子宮、副腎及び肝臓における CYP 発現に関する試験 36
2.6.6.8.1.3 単回投与時のステロイド合成関連遺伝子の発現に対する影響 37
2.6.6.8.1.4 短期（14～18 日間）投与時の子宮内分泌シグナル伝達、増殖マーカー及びステロイド合成関連遺伝子発現への影響 37
2.6.6.8.1.5 培養卵巣細胞におけるステロイド合成に対する影響 38
2.6.6.8.1.6 培養副腎細胞におけるステロイド合成に対する影響 39
2.6.6.8.1.7 アロマターゼ阻害作用の検討 39
2.6.6.8.1.8 雌ラットにおけるプロラクチン放出に対するチカグレロルの影響 39
2.6.6.8.2 不純物の安全性確認 40
2.6.6.8.3 光毒性 44
2.6.6.9 考察及び結論 44
2.6.6.9.1 反復投与毒性 48
2.6.6.9.1.1 消化器系への影響 49
2.6.6.9.1.2 副腎への影響 49
2.6.6.9.1.3 卵巣への影響 49
2.6.6.9.1.4 肝臓への影響 50
2.6.6.9.1.5 出血 50
2.6.6.9.1.6 高用量で特定の 1 動物種においてのみ観察されたその他の変化 50
2.6.6.9.2 遺伝毒性 51
2.6.6.9.3 がん原性 51
2.6.6.9.3.1 肝腫瘍 52
2.6.6.9.3.2 子宮腺がん 52
2.6.6.9.3.3 テストステロンに対する影響 53

2.6.6.9.3.4 副腎及び卵巣の間質細胞肥大 53
2.6.6.9.3.5 プロラクチン作用により説明されるラットの腫瘍パターン変化 53
2.6.6.9.3.6 がん原性試験についてのまとめ 55
2.6.6.9.4 生殖発生毒性 55
2.6.6.9.5 幼若動物における毒性 56
2.6.6.9.6 結語 56
2.6.6.10 参考文献 57

表目次

表 1 チカグレロル（未変化体）及び AR-C124910XX（活性を保持する代謝物）の毒性評価の目的で実施した毒性試験 7
表 2 チカグレロルの反復強制経口投与毒性試験 11
表 3 試験 0005HT における途中死亡例の要約 19
表 4 チカグレロル及び AR-C124910XX の遺伝毒性試験 21
表 5 マウス及びラットで実施した 104 週間がん原性試験のデザイン（供試動物数） 24
表 6 マウス及びラットを用いたがん原性試験における 52 週目の C_{max} 及び AUC 値 24
表 7 2 年間がん原性試験における雌ラットでの原発性の肝臓、子宮、乳腺及び下垂体腫瘍 27
表 8 チカグレロルについて実施した生殖発生毒性試験の一覧 28
表 9 ラットにおける腫瘍発現頻度増加のメカニズムを検討するために実施した試験 34
表 10 チカグレロル原薬中の不純物の安全性確認の目的で実施した試験 40
表 11 個別に規格設定を行う不純物とその規格値 42
表 12 チカグレロルの遺伝毒性試験並びにラット 1 カ月間及び 3 カ月間反復投与毒性試験で使用したロットの不純物プロファイル 42
表 13 不純物3＊ および 不純物4＊ の安全性の確認（試験 0660AR） 43
表 14 各種毒性試験において観察された所見の要約 44
表 15 雌ラットにおける 52 週目のチカグレロル及び AR-C124910XX の AUC 値並びにヒトの治療曝露量に対する曝露マージン 52

図目次

図 1 チカグレロル（AZD6140）によるプロラクチン分泌阻害 40
図 2 チカグレロル及び不純物 3＊ 及び 不純物4＊ の構造 43

＊新薬承認情報提供時に置換えた

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
ACTH	Adrenocorticotropic hormone：副腎皮質刺激ホルモン
ALP	Alkaline phosphatase：アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase：アラニン・アミノトランスフェラーゼ
AST	Aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	Area under concentration-time profile：血漿中濃度－時間曲線下面積
C_{max}	Maximum plasma drug concentration：最高血漿中濃度
CMC	Carboxymethylcellulose：カルボキシメチルセルロース
CYP	Cytochrome P450：チトクロム P450
DAT	Dopamine transporter：ドパミントランスポーター
DHEA	Dehydroepiandrosterone：デヒドロエピアンドロステロン
DISPERSE	D5130C00008：海外第 II 相臨床試験
EMA	European Medicines Agency　：欧州医薬品庁
FOB	Functional observational battery：機能観察バッテリー
FSH	Follicle-stimulating hormone：卵胞刺激ホルモン
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品安全性試験実施基準
IC_{50}	Concentration producing 50% inhibition：50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use： 日米欧医薬品規制ハーモナイゼーション国際会議
Ki	Inhibition constant：阻害定数
LH	Lutenizing hormone：黄体形成ホルモン
MTD	Maximum tolerance dose：最大耐量
PCR	Polymerase chain reaction：ポリメラーゼ連鎖反応
PLATO	D5130C05262：海外第 III 相臨床試験
PS80	Polysorbate80：ポリソルベート 80
S9 mix	S9 混合液（ラットの肝臓の抽出物に補酵素を加えたもの）
t_{max}	Time to maximum concentration following drug administration： 薬物投与後の最高濃度到達時間
TTC	Threshold　of toxicological concern：毒性学的閾値

2.6.6.1 概要

チカグレロルをヒトに投与した際の安全性を担保するため、*in vivo* 及び *in vitro* の各種非臨床試験を実施した。経口投与による急性毒性及び反復投与毒性試験は、マウス（最長 3 カ月間）、ラット（最長 6 カ月間、6 カ月間反復投与毒性試験では回復性試験群を設けた）及びマーモセット（最長 12 カ月間、1 カ月間反復投与毒性試験では回復性試験群を設けた）で実施した。主要な試験はいずれも GLP を適用し、ICH ガイドラインに従って実施した（表 1）。毒性試験に用いたすべての動物種がチカグレロルの薬理作用に反応性を示すと考えられた。

チカグレロルの遺伝毒性については、Ames 試験、マウスリンフォーマ試験及びラット小核試験で検討した。活性を保持する代謝物 AR-C124910XX の遺伝毒性については、Ames 試験及びマウスリンフォーマ試験を実施した。

チカグレロルのがん原性の有無についてはマウス及びラットで検討した。雌ラットにみられた子宮腫瘍の発現頻度増加のメカニズムを検討するため、一連の *in vivo* 及び *in vitro* 試験を実施した。

チカグレロルの生殖発生毒性試験として、雌雄のラットを用いた受/授胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（雄の授胎能については 6 カ月間反復投与毒性試験の一部として評価）、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（ウサギについては観察所見を考察するためのフォローアップ試験も実施）並びにラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験を実施した。胚・胎児発生に関する試験並びに出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験をサポートするため、事前に用量設定試験を実施して曝露量を評価した。

本承認申請では[redacted]であるが、[redacted]における安全性を評価するため幼若動物を用いた毒性試験を実施した。また、ヒトの薬物動態臨床試験で用いるチカグレロル静注製剤の静脈内又は静脈周囲の刺激性を評価するため、3 つの局所刺激性試験を実施した。

更に、不純物及び合成中間体の安全性確認及び遺伝毒性の有無を検討するための *in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した。本薬の半減期は短く、皮膚及び眼における蓄積性がないことから、光毒性試験は実施しなかった。

曝露マージンは、海外第 II 相臨床試験 D5130C00008（以下　DISPERSE 試験）で使用された用量の 100 mg で測定された曝露量に対して算出された。この用量は海外第 III 相臨床試験 D5130C05262（以下 PLATO 試験）及びアジア共同第 III 相臨床試験 D5130C00027（以下アジア共同第Ⅲ相試験）で使用した製剤（市販用製剤）の 90 mg 用量と同等であることが確認されている。

これら一連の試験により以下のことが示された。

- チカグレロルの急性毒性は低い。
- 反復投与毒性試験では、いずれの動物種においても共通して主に消化管に対する影響がみられたが、所見の部位、重症度及び種類について動物種間で一貫性は認められなかった。潜在性出血の徴候もすべての動物種で観察された。
- 高用量を投与したげっ歯類で肝臓重量の増加が認められた。ラットでは、これに伴って小葉中心性肝細胞肥大及びチトクローム P450 肝酵素の誘導がみられた。
- げっ歯類を用いた反復投与毒性試験の高用量では副腎重量増加がみられたが、休薬により回復した。

- チカグレロル及び活性を保持する代謝物 AR-C124910XX には遺伝毒性は認められなかった。不純物 5* で in vivo 遺伝毒性がみられたことから、臨床使用におけるこの不純物の 1 日摂取量が European Medicines Agency （以下 EMA）がガイドラインで定める毒性学的閾値（threshold of toxicological concern、以下 TTC）の 1.5 μg/日を超えることがないよう規格を設定し製造品質管理を徹底する。
- がん原性試験において、雌雄マウス及び雄ラットではチカグレロルのがん原性を示唆する変化は認められなかった。雌ラットでは高用量において腫瘍発現パターンに変化がみられ、特に子宮腫瘍の発現頻度増加、乳腺腫瘍の減少並びに下垂体前葉における腫瘍と過形成を合わせた発現頻度の減少が観察された。これらの所見は、高用量のチカグレロル投与による内分泌系の不均衡が長期に及んだことに起因すると考えられる。ラットで観察されたこれらの腫瘍性変化はげっ歯類に特有の機序によるものであり、ヒトを含む霊長類では起こらないと考えられることから、チカグレロルによるヒトでのがん原性のリスクはないと結論される。
- 高用量群の雌ラットで肝腫瘍の発現頻度の軽度増加がみられたが、これは軽度の肝酵素誘導反応を反映したものであった。肝腺腫は発現頻度が低く、高用量群の雌のみにみられ、適応性の肝酵素誘導反応による二次的な変化と考えられることから、ヒトにおいて問題となるものではないと考えられた。
- 生殖発生毒性試験の結果においては、母動物で忍容性が示される曝露量では、胎児、哺乳児、新生児及び成熟動物に対する生殖発生毒性の徴候はみられなかった。
- 幼若動物を用いた毒性試験においては、7 日齢のラットでは、25 日齢または成獣のラットと比較して同じ投与量でも曝露量が著しく高くなることが確認されたが、成熟ラットでみられていない新たな毒性所見は認められなかった。

表 1　チカグレロル（未変化体）及び AR-C124910XX（活性を保持する代謝物）の毒性評価の目的で実施した毒性試験

試験の種類及び期間	経路	動物種	被験物質	GLP	試験番号
急性毒性試験	経口	マウス	チカグレロル	適用	99219 (SR99219-01)
急性毒性試験	経口	ラット	チカグレロル	適用	99220 (SR99220-02)
単回漸増投与/5 日間反復投与試験（最大耐量確認）	経口	ラット	チカグレロル	適用	98308 (SR98308-01)
単回漸増投与試験（最大耐量確認）	経口	イヌ	チカグレロル	非適用	99184 (SR99184-02)
単回漸増投与/5 日間反復投与試験（最大耐量確認）	経口	マーモセット	チカグレロル	非適用	98293
2 週間反復投与毒性試験	経口	マウス	チカグレロル	非適用	456768 (0061AM)
2 週間反復投与毒性試験	経口	非妊娠ウサギ	チカグレロル	非適用	0035DB
1 カ月間反復投与毒性試験（回復性評価を含む）	経口	ラット	チカグレロル	適用	99302 (SR99302-01)

＊新薬承認情報提供時に置換えた

表 1　チカグレロル（未変化体）及び AR-C124910XX（活性を保持する代謝物）の毒性評価の目的で実施した毒性試験

試験の種類及び期間	経路	動物種	被験物質	GLP	試験番号
1 カ月間反復投与毒性試験（回復性評価を含む）	経口	マーモセット	チカグレロル	適用	99228 (SR99228-01)
3 カ月間反復投与毒性試験	経口	マウス	チカグレロル	適用	456925 (0085PM)
3 カ月間反復投与毒性試験（回復性評価を含む）	経口	ラット	チカグレロル	適用	TPR3143
3 カ月間反復投与毒性試験（回復性評価を含む）	経口	マーモセット	チカグレロル	適用	575049
反復投与忍容性確認試験 (1)	経口	マーモセット	チカグレロル	非適用	0005HT
反復投与忍容性確認試験 (2)	経口	マーモセット	チカグレロル	非適用	0007PT
6 カ月間反復投与毒性試験（回復性評価を含む）	経口	ラット	チカグレロル	適用	456930 (0400PR)
12 カ月間反復投与毒性試験	経口	マーモセット	チカグレロル	適用	505453
遺伝毒性試験（Ames 予備試験）	*in vitro*	ネズミチフス菌	チカグレロル	非適用	98351 (SR98351-02)
遺伝毒性試験（Ames 試験）	*in vitro*	ネズミチフス菌	チカグレロル	適用	99440 (SR99440-01)
遺伝毒性試験（Ames 試験）	*in vitro*	ネズミチフス菌	AR-C124910XX	適用	0109BV
遺伝毒性試験（マウスリンフォーマ試験）	*in vitro*	マウスリンフォーマ細胞	チカグレロル	適用	99441 (SR99441-01)
遺伝毒性試験（マウスリンフォーマ試験）	*in vitro*	マウスリンフォーマ細胞	AR-C124910XX	適用	0110MV
遺伝毒性試験（ラット小核試験）	経口	ラット	チカグレロル	適用	TQR3211
がん原性試験	経口	マウス	チカグレロル	適用	456988 (0107CM)
がん原性試験	経口	ラット	チカグレロル	適用	456993 (0508CR)
生殖発生毒性試験（授/受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験）	経口	ラット	チカグレロル	適用	0337GR [a]
生殖発生毒性試験（胚・胎児発生に関する用量設定試験）	経口	ラット	チカグレロル	適用	0274RR
生殖発生毒性試験（胚・胎児発生に関する試験）	経口	ラット	チカグレロル	適用	0307TR
生殖発生毒性試験（胚・胎児発生に関する用量設定試験）	経口	ウサギ	チカグレロル	適用	0038RB
生殖発生毒性試験（胚・胎児発生に関する試験）	経口	ウサギ	チカグレロル	適用	0046TB

表 1　チカグレロル（未変化体）及び AR-C124910XX（活性を保持する代謝物）の毒性評価の目的で実施した毒性試験

試験の種類及び期間	経路	動物種	被験物質	GLP	試験番号
生殖発生毒性試験（所見再現性確認試験）	経口	ウサギ	チカグレロル	適用	0073KB
生殖発生毒性試験（出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する用量設定試験）	経口	ラット	チカグレロル	適用	AA39254 (1513WR)
生殖発生毒性試験（出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験）	経口	ラット	チカグレロル	適用	AA41453 (1591WR)
幼若動物における毒性試験（予備試験）	経口	ラット（新生児）	チカグレロル	適用	AA93000 (2835LR)
幼若動物における毒性試験（回復性評価を含む）	経口	ラット（新生児）	チカグレロル	適用	AA93001 (2836LR)
幼若動物における毒性試験（回復性評価を含む）	経口	ラット（離乳児）	チカグレロル	適用	2885LR
局所刺激性試験（溶血性）	*in vitro*	ヒト血液	チカグレロル	適用	0031KX
局所刺激性試験（組織刺激）	静脈内	マウス	チカグレロル	適用	0154IM
同上	皮下	ラット	チカグレロル	適用	0798IR
がん原性機序検討試験	経口	ラット	チカグレロル	非適用	3100KR

[a] 雄の授胎能評価はラット 6 カ月間反復投与毒性試験 （試験 456930 (0400PR)）の一部として評価した。

2.6.6.2 急性毒性試験

チカグレロルを 2000 mg/kg までの用量でマウス及びラットに単回経口投与したときの忍容性は良好であった。投与関連の死亡は認められなかった。マウスでは一般状態の変化及び体重の変化はみられず、投与関連の組織学的変化は認められなかった。ラットでは 500 及び 2000 mg/kg で初期に体重減少がみられたが、14 日間の観察期間終了時には体重は回復した。非げっ歯類の急性毒性は、マーモセットにおける単回漸増投与試験で評価した。

2.6.6.2.1 マウスにおける急性毒性試験

参照項：4.2.3.1.1　　試験番号：99219 (SR99219-01)

1 群雌雄各 5 匹の CD-1 マウスにチカグレロルを 1%カルボキシメチルセルロース（以下 CMC）及び 0.1%ポリソルベート 80（以下 PS80）水溶液を媒体とし 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。5 匹からなる別の群に媒体のみを投与して対照群とした。14 日間の観察期間を通して体重測定及び一般状態観察を行った。15 日目に動物を剖検し、肉眼所見を記録した。チカグレロルの投与に関連する死亡、一般状態の変化、体重の変化及び剖検所見は認められなかった。

2.6.6.2.2 ラットにおける急性毒性試験

参照項：4.2.3.1.2　試験番号：99220 (SR99220-02)

1 群雌雄各 2 匹又は 5 匹の Sprague-Dawley ラットにチカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、50、500 及び 2000 mg/kg の用量で単回経口投与した。雌雄各 5 匹からなる別の群に媒体のみを投与して対照群とした。14 日間の観察期間を通して体重測定及び一般状態観察を行った。15 日目に動物を剖検し、肉眼所見を記録した。チカグレロルの投与に関連する死亡、一般状態の変化及び剖検所見は認められなかった。500 及び 2000 mg/kg 群で 4 日目まで体重減少がみられたが、その後体重の回復がみられ、対照群と同程度又はそれ以上の増加が認められた。

2.6.6.2.3 マーモセットにおける経口投与最大耐量試験（非げっ歯類の急性毒性評価）

参照項：4.2.3.1.3　試験番号：98293

漸増投与相では、雌雄各 1 匹のマーモセットに、チカグレロルを 50、100、200、400、800 及び 1600 mg/kg の用量で単回漸増経口投与した。投与間には 2 日間以上の間隔を設けた。13 日目の最終投与後に動物を屠殺した。反復投与相では、1600 mg/kg/日の用量で雌雄各 2 匹の動物に 5 日間の反復投与を行った。対照として、別の雌雄各 2 匹の動物に、媒体（1% CMC/0.1% PS80 水溶液）を 5 日間連日投与した。反復投与相の動物を 5 日間の投与終了後に屠殺して剖検及び器官重量測定を実施し、特定の組織を採取して病理組織学的検査を実施した。

体重測定は、各試験相の投与開始前、それぞれの漸増投与段階の直前及び反復投与相において週 2 回行った。血液学的検査用及び血液生化学的検査用の血液試料は、それぞれの動物について試験前及び剖検前に採取した。尿検査用の試料は、反復投与相の動物について試験前及び 5 日目に採取した。トキシコキネティクス試験用の採血は、試験のそれぞれの相の動物について実施した。

投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。5 日間の反復投与期間中に体重減少がみられた。血液生化学的検査、血液学的検査又は病理組織学的検査では、チカグレロル投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験はマウス、ラット及びマーモセットで実施した。当初、非げっ歯類の動物種としてイヌでの検討を行ったが（4.2.3.2.8 (参)、試験 99184(SR99184-02)）、薬物動態試験において活性を保持する代謝物 AR-C124910XX の生成量が、イヌではヒトを含む他の動物種より低いことが示されたことから、毒性試験の非げっ歯類動物種としてヒトと類似した代謝プロファイルを示すマーモセットが適切であると判断され、イヌの代わりにマーモセットを使用することとした（2.6.4.3.3 項参照）。チカグレロルについて実施した反復投与毒性試験及びその用量について表 2に要約した。

表 2　　チカグレロルの反復強制経口投与毒性試験

試験番号	動物種	期間	用量（mg/kg/日）
456768 (0061AM)	マウス	2 週間	50、250、1000、2000
456925 (0085PM)	マウス	13 週間	0、50、250、750、1250
98308 (SR98308-01)	ラット	単回（漸増）/ 5 日間	単回漸増投与相：0、50、200、400、800、1600 反復投与相：0、100、200、300、800
99302 (SR99302-01)	ラット	1 カ月間 （回復期間あり）	0、20、80、300
TPR3143	ラット	3 カ月間 （回復期間あり）	0、20、60、180
456930 (0400PR)	ラット	26 週間 （回復期間あり）	0、10、60、180
99228 (SR99228-01)	マーモセット	1 カ月間	0、20、200、2000
575049	マーモセット	3 カ月間 （回復期間あり）	0、20、100、1000（途中で 500 に減量）
0005HT	マーモセット	再試験 1：14 日間 再試験 2：22 日間	再試験 1（漸増投与相）：0、20、65、200 再試験 2（反復投与相）：0、65
0007PT	マーモセット	第 1 相：7 週間 第 2 相：15 週間	第 1 相：0（低粘度、小容量の媒体） 第 2 相：0（低粘度、小容量の媒体）、200
505453	マーモセット	12 カ月間	0、10、50、200（途中で 100 に減量）

2.6.6.3.1　　マウスにおける反復投与毒性試験

2.6.6.3.1.1　　マウスにおける 2 週間反復経口投与用量設定試験

参照項：4.2.3.2.1 (参)　　試験番号：456768 (0061AM)

後に実施するチカグレロルの 3 カ月間反復投与毒性試験における適切な用量を決定するため、CD-1 マウスにチカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、50、250、1000 及び 2000 mg/kg/日の用量で 14 日間連日強制経口投与した。

2000 mg/kg/日で死亡がみられ、死亡例の剖検では腹腔の拡張、胃の膨満／拡大、胃及び／又は腸の異常内容物及び／又は腸間膜リンパ節の褪色巣が認められた。2000 mg/kg/日における一般状態の変化は、腹部膨満、円背位、活動性低下及び立毛であった。2000 mg/kg/日で体重減少がみられ、1000 及び 2000 mg/kg/日で摂餌量減少が認められた。1000 mg/kg/日で肝臓、肺及び脾臓の重量増加が観察された。

1000 mg/kg/日で摂餌量減少がみられたことから、無毒性量は 250 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.1.2 マウスにおける 13 週間反復経口投与用量設定試験

参照項：4.2.3.2.2 (参)　　試験番号：456925 (0085PM)

1 群雌雄各 12 匹（主試験群）及び 1 群雌雄各 18 匹（トキシコキネティクス評価群）の CD-1 マウスにチカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、50、250、750 及び 1250 mg/kg/日の用量で、13 週間連日投与した。雌雄各 12 匹（主試験）及び雌雄各 3 匹（トキシコキネティクス評価）の対照群には、媒体（1% CMC/0.1% PS80 水溶液）のみを投与した。

一般状態観察並びに体重、摂餌量及び摂水量の測定を行った。血液学的検査、血液生化学的検査及び血液凝固検査のため採血を行った。13 週間投与後に剖検を行って器官／組織を採取し、重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

チカグレロルを 85 日間経口投与したマウスにおいて、チカグレロル及び活性を保持する代謝物 AR-C124910XX への曝露が確認された。C_{max} はほぼ用量に比例して増加し、$AUC_{(0\text{-}24h)}$は用量間で用量比を上回る増加を示した。C_{max} 又は $AUC_{(0\text{-}24h)}$における統計学的有意差は、経時的にも、また、雌雄間でも認められなかった。3 つのチカグレロル投与群の動物のいずれにおいても、活性を保持する代謝物 AR-C124910XX への曝露量は、未変化体の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$と比較すると、平均でそれぞれ約 75.7%及び 117%であった。

1250 mg/kg/日群の動物では、全般的状態悪化（腹部膨満、立毛、活動性低下、円背位及びよろめき歩行）、体重増加量減少、摂餌量減少及び摂水量増加がみられたため、主試験及びトキシコキネティクス評価群動物ともに 10 日目に投与を中止し、3 週目に途中屠殺した。これらの動物では、病理組織学的検査で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が観察された。

チカグレロル 750 mg/kg/日群でみられた生存期間中の所見は、腹部膨満、立毛、活動性低下、円背位、上顎歯過剰成長、粗毛、よろめき歩行、皮膚変色、体重減少及び呼吸異常であった。この用量では、体重減少に伴って摂餌量減少及び摂水量増加も認められた。750 mg/kg/日群では、12 週目に雄 2 匹、雌 1 匹を全般的状態悪化により途中屠殺した。

後述する病理組織学的変化或いは適応性変化に関連すると考えられる臨床検査値の変化として、赤血球容積分布幅及び網状赤血球数の増加が 50 mg/kg/日以上でみられ、ALP の上昇が 750 mg/kg/日で認められた。

250 mg/kg/日以上の群の雌雄でみられた肝臓重量の増加に伴って、小葉中心性肝細胞肥大が観察された。250 mg/kg/日以上の群で精細管上皮変性が観察されたが、これに伴う精巣重量の変化は認められなかった。

750 mg/kg/日では雌雄で脾造血の増加がみられ、これに伴って雄では脾臓重量の増加が認められた。また、雄では副腎重量の増加に伴った副腎皮質肥大が観察された。腎尿細管好塩基性変化の発現頻度の増加が雌雄で認められた。

750 mg/kg/日群の数匹の雌（及び 1250 mg/kg/日群の途中屠殺例の 1 匹）では、卵巣重量の減少に伴って黄体の欠如がみられ、これらの群の少数例の雌では卵巣間質細胞過形成が認められた。子宮及び膣の検査では、性周期の異常は観察されなかった。

50 mg/kg/日で赤血球パラメータ及び網状赤血球数の変化がみられたため、無作用量は確定できなかった。

2.6.6.3.2 ラットにおける反復投与毒性試験

2.6.6.3.2.1 雄ラットにおける用量設定のための単回漸増投与/5 日間反復投与試験

参照項：4.2.3.2.3 (参)　　試験番号：98308 (SR98308-01)

単回漸増投与相では、雄の Sprague-Dawley ラット 3 匹に、チカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、50、200、400、800 及び 1600 mg/kg の用量で、1 用量につき 1 回、漸増経口投与した。投与の間隔は 2 日以上とした。この単回漸増投与相の後、1 群 3 匹の雄ラットに、チカグレロルを 100、200、300 又は 800 mg/kg/日の用量で 5 日間連日投与した。別の群の雄動物に媒体（1% CMC/0.1% PS80 水溶液）のみを投与し、それぞれの相の対照とした。

漸増投与相終了時におけるチカグレロル投与動物の体重増加量は、対照群と比較して少なかった。チカグレロル投与動物では、白血球数及びトリグリセリドの減少並びにビリルビン、ALP、AST 及び ALT の増加が認められた。

5 日間反復投与相のチカグレロル 200 mg/kg/日群のラットでは、毒性学的意義のある所見は認められなかった。800 mg/kg/日で摂餌量及び体重の減少が、300 mg/kg/日で体重増加量の減少がみられ、300 及び 800 mg/kg/日で ALP、コレステロール及びビリルビンの増加が、800 mg/kg/日で血漿トリグリセリド及びカルシウムの減少が認められた。軽微又は軽度の胸腺萎縮、脾臓における軽微なリンパ球枯渇及び軽微な赤脾髄の萎縮が 800 mg/kg/日で認められた。300 mg/kg/日群の 1 匹では脾臓の軽微なリンパ球枯渇が認められた。胸腺及び脾臓の変化が投与に直接関連するものか、又は動物の全身状態悪化によるものかは不明である。300 及び 800 mg/kg/日では白血球数減少（好中球、単球及びリンパ球）がみられた。胸骨の骨髄は正常であった。

1 カ月間投与毒性試験における最高用量としては 300 mg/kg/日が適切であるとの結論が得られた。

2.6.6.3.2.2 ラットにおける 1 カ月間反復経口投与毒性試験及び回復性試験

参照項：4.2.3.2.4　　試験番号：99302 (SR99302-01)

1 群雌雄各 10 匹の Sprague-Dawley ラットに、チカグレロルを、1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、20、80 又は 300 mg/kg/日の用量で 28 日間経口投与した。対照群には媒体のみを投与した。各用量につき雌雄 5 匹の別の動物を用いて、投与期間の後に 4 週間の休薬期間を設けた。

一般状態観察は毎日、体重及び摂餌量測定は週 1 回実施した。尿検査及び眼科学的検査は、投与前、4 週目及び 4 週間の休薬期間終了時に行った。FOB（機能観察総合評価法）による検査を、投与前、1 週目及び 4 週目に実施した。血液学的検査用の試料を投与の 7 日目、21 日目及び 4 週目並びに休薬期間の 2 週目及び 4 週目に採取した。回復試験群以外については、投与期間終了時に血液生化学的検査用の試料を採取し、動物を屠殺して剖検を行った。特定の器官について重量を測定し、病理組織学的検査用の試料を採取した。肝臓における CYP1A、2B、3A 及び 4A の濃度を測定した。

300 mg/kg/日では CYP4A 蛋白質が雄で 3 倍、雌で 2.3 倍に増加した。CYP1A は対照群では検出限界未満であったが、チカグレロル投与群では定量可能なであり、300 mg/kg/日群では 20 mg/kg/日群の約 1.5 倍であった。CYP2B 及び 3A には変化がみられなかった。

チカグレロルの 300 mg/kg/日の用量においては、特に 1 及び 2 週目に、摂餌量減少、体重減少又は体重増加量減少が認められ、また、立毛、自発運動低下及び筋緊張低下などの一般状態の変化が観察されたが、FOB 検査では神経系に対する異常を示唆する変化はみられなかった。雄 3 匹を途中切迫屠殺した。この用量では胃の病変（びらん、扁平上皮過形成、炎症及び浮腫）、腸の変色及び胃重量の増加がみられ、消化管に対する刺激性が示唆された。28 日間の休薬期間後には刺激性を示唆するこれらの変化は認められなかった。300 mg/kg/日群の動物では、肝臓重量の増加、血漿 ALP、コレステロール及びビリルビンの増加並びにトリグリセリドの減少がみられた。この用量の雌では、総蛋白質、アルブミン及びカルシウムの減少並びに ALT 及びリン酸の増加も認められた。肝臓重量の増加は 80 mg/kg/日群でも観察された。28 日間の休薬期間後にはこれらの変化はみられなかった。300 mg/kg/日群の動物の肺において、肺胞組織球（泡沫状肺胞マクロファージ）集簇の発現頻度及び重症度の増加が観察された。副腎皮質のびまん性空胞化及び巣状肥大が 300 mg/kg/日群にみられ、80 mg/kg/日群でもより軽度に認められた。高用量ではこれに伴って副腎重量の増加もみられた。300 mg/kg/日群の動物では、胸骨骨髄の脂肪萎縮（3/20 匹で軽微、1/20 匹で中等度）が観察された。肺及び骨髄の変化は、28 日間の休薬期間後においても完全には回復していなかった。

80 mg/kg/日で上述したようないくつかの軽微な変化がみられたことから、1 カ月間反復投与した際の無毒性量は低用量の 20 mg/kg/日であった。この用量でのチカグレロルの C_{max} は雄と雌でそれぞれ 1.41 μg/mL 及び 1.29 μg/mL、AUC は同様に 13.6 μg·h/mL 及び 10.5 μg·h/mL あった。80 mg/kg/日群の AUC は雄と雌でそれぞれ 75.8 μg·h/mL 及び 81.9 μg·h/mL、300 mg/kg/日では同様に 560 μg·h/mL 及び 706 μg·h/mL であった。

2.6.6.3.2.3 ラットにおける 3 カ月間反復経口投与毒性試験及び回復性試験

参照項：4.2.3.2.5　試験番号：TPR3143

1 群雌雄各 20 匹の Sprague-Dawley ラットに、チカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、20、60 又は 180 mg/kg/日の用量で、最長 3 カ月間経口投与した。対照群には媒体のみを投与した。対照群及び高用量群では、別の雌雄各 10 匹について、投与期間後に 13 週間の休薬期間を設けた。

動物の一般状態観察並びに体重及び摂餌量測定を定期的に実施し、眼科学的検査及び様々な臨床検査パラメータの測定を行った。トキシコキネティクス評価のための採血を一定の間隔で実施した。全例について剖検を行い、主要な器官については重量を測定して組織を採取し、病理組織学的検査を行った。最高用量群及び対照群の動物の肺については電子顕微鏡検査を実施した。

投与関連の死亡はみられなかった。高用量群では、試験の 1 週目に、軽度の統計学的に有意な摂餌量減少が認められた。高用量群の雄における試験中の体重増加量は、対照群より 13%低かった。

血液学的及び血液生化学的パラメータには軽微な変化がみられたが、これに伴う病理組織学的変化はみられず、休薬期間終了時には完全に回復した。血液学的パラメータの変化としては、4 及び 13 週目に、180 mg/kg/日群で網状赤血球数の軽微な増加及び平均血小板容積の減少がみられ、雌では用量に相関した血小板数増加などが認められた。用量に相関した総カルシウムの減少が 13 週目に観察された。血漿酵素活性の変化としては、ALP 及び ALT の増加が 60 及び 180 mg/kg/日群でみられ、コレステロールの増加及びトリグリセリドの減少も認められた。

180 mg/kg/日群では肝臓（雌のみ）、胃及び副腎の重量が軽度に増加した。雌における副腎重量の増加は 60 mg/kg/日群でも認められた。

投与に関連した唯一の病理組織学的変化は、180 mg/kg/日群の動物にみられたリン脂質含有肺胞泡沫状マクロファージの軽度の発現頻度及び重症度の増加であり、これは 13 週間の休薬期間後には正常組織所見像レベルにまで回復した。

すべての用量で用量に相関した軽度の血小板数の増加がみられたことから、この試験における無作用量は 20 mg/kg/日（低用量）未満であったが、20 及び 60 mg/kg/日での所見はいずれも極めてわずかなものであった。60 mg/kg/日におけるチカグレロルの C_{max} は雄及び雌でそれぞれ 8.41 μg/mL 及び 8.44 μg/mL、AUC は同様に 79.4 μg·h/mL 及び 115 μg·h/mL であった。

2.6.6.3.2.4 ラットにおける 6 カ月間反復経口投与毒性試験（雄の授胎能評価及び 13 週間回復性試験を含む）

参照項：4.2.3.2.6　　試験番号：456930 (0400PR)

1 群雌雄各 20 匹の Han Wistar ラットに、チカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、10、60 又は 180 mg/kg/日の用量で、26 週間連日投与した。別の 1 群雌雄各 3 匹のラットについてトキシコキネティクス試験を実施し、対照群及び高用量群については雄 12 匹、雌 10 匹の回復性試験群を設けた。対照群には媒体のみを投与した。

一般状態観察並びに体重、摂餌量及び摂水量の測定を行い、血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査及び尿検査用の試料を、主試験の動物については 13/14 週目及び 26 週目に、回復性試験の動物については休薬期間最終週に採取した。主試験及び回復性試験のすべての雄について、授胎能評価を実施した。26 週間の投与後、主試験の全生存例について剖検を行い、回復性試験の全例については休薬期間終了時に剖検を実施した。剖検では特定の器官／組織の採取、重量測定及び観察を行った。トキシコキネティクス試験の動物について、投与の 1 日目並びに 3 及び 6 カ月目に採血して、トキシコキネティクスを評価した。

用量範囲及び投与期間を通して、雌における曝露量は概して雄より高かった。3 つの投与群のいずれにおいても、AR-C124910XX の平均曝露量は、未変化体と比較して C_{max} で約 35.8%、$AUC_{(0\text{-}24h)}$で約 49.2%であり、高用量での代謝物への曝露量は、概して雄が雌より高かった。C_{max} は 10～60 mg/kg/日の用量間で用量比を上回る増加を示し、60～180 mg/kg/日の用量間では用量に比例して増加した。$AUC_{(0\text{-}24h)}$は、すべての投与群で用量比を上回る増加を示した。26 週目の曝露量は 1 日目よりも大きかった。投与終了時での 10、60 および 180 mg/kg/日各用量群での C_{max} は 0.674、5.54 及び 16.7 μg/mL（雌雄統合平均）、AUC は同様に 3.41、 50.7 及び 228 μg·h/mL であった。

本試験では投与関連の死亡はみられなかった。60 及び 180 mg/kg/日群の一般状態観察では、過度の流涎並びに口／鼻／口吻周囲の被毛の湿り／汚れが認められた。180 mg/kg/日群でみられた摂水量の増加は、この用量における尿量の増加に寄与したと考えられる。60 及び 180 mg/kg/日群の雄では体重増加量の減少がみられたが、雄の摂餌量には概して変化は認められなかった。これらの変化は総じて休薬期間中に回復したが、雄の摂水量の回復は完全ではなかった。

投与期間終了時剖検例の病理組織学的所見としては、肺、肝臓、副腎及び腸間膜リンパ節の変化が認められた。180 mg/kg/日では、剖検時にみられた肺重量の増加及び肺の褪色巣に対応して、肺胞泡沫状マクロファージ集簇の発現頻度及び重症度の増加が認められた。肝臓重量の増加に符合して軽微な肝臓の小葉中心性細胞肥大が観察された。この病変は雌でより顕著であり、これに伴って雌では有意な肝臓重量の増加が認められた。雄でも肝臓重量の軽度増加がみられたが、統計学的有意差は認められなかった。臨床検査においても、肝臓の適応反応に伴って薬物代謝酵素増加等の変化がみられた。副腎における炎症性細胞巣の増加は、副腎重量の増加に寄与している

と考えられる。60 及び 180 mg/kg/日群の雄では、腸間膜リンパ節における赤血球貪食の発現頻度及び重症度の増加が認められた。これらの所見はいずれも休薬期間終了時には対照群と 180 mg/kg/日群の間で同程度になり、完全な回復性が示唆された。本試験のいずれの用量においても、雄の授胎能に対する悪影響は認められなかった。

以上、チカグレロルを 26 週間経口投与したところ、180 mg/kg/日群の雌雄の一方又は両方で、いくつかの生存期間中における変化、臨床検査値変化及び病理組織学的所見（肺、肝臓、副腎及び腸間膜リンパ節）が認められた。60 mg/kg/日群においても、生存期間中の変化及び臨床検査値の変化の一部がみられ、雄では腸間膜リンパ節の病理組織学的変化も認められた。病理組織学的変化は休薬期間終了時には背景値にまで回復し、生存期間中の変化及び臨床検査値の変化は休薬期間後には認められなかった。本試験の用量においては、雄の授胎能に対する影響は認められなかった。本試験における無毒性量は、雄で 10 mg/kg/日、雌では 60 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.2.5 過去の試験（ラット反復投与試験）における雌生殖器の病理組織学的変化の再検討

参照項：4.2.3.2.7 (参)　　試験番号：0583KY

チカグレロルのラットがん原性試験でみられた子宮、子宮頸部、膣及び卵巣の組織学的変化は、先行したラットにおける 1 カ月間反復投与毒性試験 （試験 99302 (SR99302-01)）、3 カ月間反復投与毒性試験（試験 TPR3143）、6 カ月間反復投与毒性試験（試験 456930 (0400PR)）及び不純物の安全性確認のための 1 カ月間反復投与試験（試験 0660AR）では観察されなかった。本試験では、がん原性試験に先だって実施されたこれらの試験における子宮、子宮頸部、膣及び卵巣を再鏡検し、病理組織学的変化の有無を再確認した。

これらの再鏡検の結果、チカグレロルを 180 mg/kg/日の用量で 3 カ月間又は 6 カ月間投与したラットの卵巣で重要な変化が認められた。変化の特徴は、対照群と比較した卵巣間質細胞の細胞質における空胞化又は泡沫化の重症度の増加であった。しかしながら、チカグレロルの 180 mg/kg/日投与により軽度の空胞化の発現頻度はこれらの期間において明らかに増加したが、同レベルの空胞化は対照群でも時折認められた。1 カ月間のみの投与では、180 mg/kg/日群又は 300 mg/kg/日群のラットにおいて変化はみられなかった。

2.6.6.3.3 マーモセットにおける反復投与毒性試験

2.6.6.3.3.1 マーモセットにおける 1 カ月間反復経口投与毒性試験

参照項：4.2.3.2.9　　試験番号：99228 (SR99228-01)

1 群雌雄各 3 匹のマーモセット（*Callithrix jacchus*）に、チカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、20、200 又は 2000 mg/kg/日の用量（投与容量は 10 mL/kg）で 4 週間経口投与した。対照群には媒体のみを投与した。別の動物に同じ用量で投与し、トキシコキネティクス試験を実施した。

一般状態観察は毎日、体重測定は週 1 回行った。眼科学的検査を試験前及び試験の最終週に行った。トキシコキネティクス評価群動物から試験の 1、14 及び 28 日目に採血を行いトキシコキネティクス評価を行った。臨床検査用の血液、尿及び糞の試料を、主試験の動物から試験前及び投与 4 週目に採取した。試験終了時に、主試験の全例及び高用量群のサテライト動物の雌 2 匹

（主試験高用量群で死亡がみられたため、代わりにサテライト動物の雌 2 匹を剖検した）を屠殺及び剖検し、器官重量を測定して病理組織学的検査用に特定の組織を採取した。

投与終了時での 20、200 および 2000 mg/kg/日各用量群での C_{max} は 1.39、10.2 及び 26.7 μg/mL（雌雄統合平均）、AUC は同様に 14.0、158 及び 554 μg·h/mL であった。20 又は 200 mg/kg/日の用量では毒性学的意義のある所見は認められなかった。

2000 mg/kg/日群では 3 匹の途中死亡があった。雄 1 匹が 17 日目の投与後に死亡し、雌 2 匹は状態悪化によりそれぞれ投与 21 及び 22 日に動物愛護上の理由から屠殺した。小腸及び／又は盲腸において、萎縮、びらん、微小膿瘍、炎症性変化、急性出血性及び／又は壊死性腸炎並びに出血性内腔残屑が観察された。3 匹の途中死亡例においては、主としてこのような変化が死亡の原因と考えられた。

2000 mg/kg/日群では、体重減少が一貫して認められたが、対照群を含む他のすべての群の個々の動物でも、試験期間を通して幾分かの体重減少が散見された。

2000 mg/kg/日群では、ヘモグロビン量、赤血球数及びヘマトクリット値の減少が認められた。これは消化管に対する刺激に関連すると考えられる出血を示唆するものであると考えられた。総白血球数には変化がみられなかったが、リンパ球数に軽度の減少が認められた。これはリンパ節における病理組織学的変化（腸間膜リンパ節胚中心におけるリンパ球枯渇）に関連する可能性があると考えられた。骨髄塗抹標本の顕微鏡検査では、投与に関連すると考えられる変化は観察されなかった。

2000 mg/kg/日群の雌で心臓重量の軽度な減少がみられたが、雄では認められなかった。

無毒性量は 200 mg/kg/日であった。

2.6.6.3.3.2 マーモセットにおける 3 カ月間反復経口投与毒性試験及び回復性試験

参照項：4.2.3.2.10　　試験番号：575049

1 群雌雄各 5 匹のマーモセット（*Callithrix jacchus*）に、チカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、20、100 及び 1000 mg/kg/日の用量（投与容量は 10 mL/kg）で 91 日間経口投与した。対照群には媒体のみを投与した。別の 1 群雌雄各 3 匹の動物に主試験と同じ用量で投与した後、4 週間の休薬期間を設けた。トキシコキネティクス試験用の採血を全例で実施した。

投与終了時でのチカグレロルの血漿中濃度（投与後 3 時間）は、20 mg/kg/日では雄及び雌でそれぞれ 2.84 及び 2.72 μg/mL、100 mg/kg/日では同様に 10.3 及び 10.8 μg/mL であった。また、投与 56～57 日での AUC は、20 mg/kg/日では雄及び雌でそれぞれ 27.7 及び 20.1 μg·h/mL、100 mg/kg/日では同様に 177 及び 126 μg·h/mL であった。1000 mg/kg/日群では毒性発現が強く、予定投与期間の最後まで投与することができなかったため十分なトキシコキネティクスの評価ができなかったが、投与初日の投与後 3 時間での血漿中濃度は、雄及び雌でそれぞれ 55.6 及び 41.7 μg/mL であった。

一般状態観察は毎日、体重測定は週 1 回行った。眼科学的検査は、試験前、試験の 6 及び 13 週目並びに休薬期間終了時に実施した。トキシコキネティクス試験用の血液試料は、試験の 7 及び 56/57 日目並びに 4 及び 13 週目に採取した。臨床検査用の血液、尿及び糞の試料は、試験前並びに投与 6 及び 13 週目に主試験の動物から採取した。試験期間終了時に主試験の全例を屠殺して剖検し、器官重量を測定するとともに、特定の組織を採取して病理組織学的検査に供した。

高用量群（1000 mg/kg/日）で投与 1 週目に顕著な毒性発現（活動低下、円背位等）がみられたため、雄では 7 日目、雌では 6 日目に用量を 500 mg/kg/日に減量した。動物に一般状態の改善がみられなかったため、雄では 9 日目、雌では 8 日目に投与を中断したが、状態が改善しなかったことから、雄は 35 日目、雌は 34 日目に高用量群の動物を屠殺した。

投与 1～2 週にチカグレロル投与によると考えられる途中死亡が 5 例みられた（1000/500 mg/kg/日群の雄 4 匹、雌 1 匹）。これらの動物では、死亡に先立って活動性低下及び大幅な体重減少が認められた。高用量群のすべての途中死亡例でみられた病理組織学的変化としては、胸腺皮質のリンパ球融解並びに胸骨及び大腿骨の骨髄におけるうっ血／出血が認められた。造血系にみられた他の変化は、下顎及び腸間膜リンパ節の胚中心における硝子化、膵臓リンパ節の濾胞萎縮及び脾臓のリンパ組織萎縮であった。多くの動物では、肝臓及び腎皮質に軽度の脂肪変性が認められた。一部の動物では、腸における毒性変化として炎症、潰瘍形成及び出血などが観察された。その他の所見としては、胆管の慢性炎症及びそれに伴う胆管過形成（軽度）、慢性活動性の膵臓性腹膜炎（中等度）及び腹腔内出血がみられた。1000（途中で 500 に減量）mg/kg/日群では生存例においても大幅な体重減少がみられ、雄 1 匹では軽度の脾臓造血が、雌 2 匹、雄 2 匹では脾臓のリンパ組織萎縮が認められた。

低及び中用量群の動物の一般状態は試験期間を通して正常であったが、投与 1 週目に大半の動物で用量に相関した体重減少が認められた。

血液学的検査、血液生化学的検査又は尿検査のパラメータには、2 匹の途中死亡例でリンパ球数減少がみられた以外には、投与関連の変化は認められなかった。

低及び中用量群の動物において、肝臓、腹腔、副腎及び脾臓の病理組織学的変化が観察された。20 mg/kg/日群の 2 匹及び 100 mg/kg/日群の 4 匹で、肝臓の局所的な慢性／活動性の炎症が認められた。この病変は局在的なものであり、周囲の実質の組織像は正常であったことから、外傷性損傷によるものと考えられた。副腎にみられた壊死及び炎症を伴う腹腔内出血及び血腫は、被験物質の薬理作用に関連するものと考えられた。低及び中用量群の動物で脾臓のリンパ組織萎縮がみられた。この所見に寄与する要因の少なくとも 1 つはストレスであると考えられた。器官重量には投与の影響はみられなかった。

高用量（1000 又は 500 mg/kg/日）群で観察された病理組織学的変化の多くは休薬により回復する兆しがみられたが、同群でみられた一般状態の変化は、休薬期間終了後にも残存した。20 及び 100 mg/kg/日群では、休薬後の異常所見はみられなかった。

低用量（20 mg/kg/日）においても上述した病理組織学的変化が観察されたことから、無毒性量を確認することはできなかった。20 及び 100 mg/kg/日での所見は、チカグレロルの薬理作用あるいはストレスの結果として誘発された二次的な変化である可能性が考えられる。

2.6.6.3.3.3 マーモセットにおける忍容性確認試験（1）

参照項：4.2.3.2.11 (参)　　試験番号：0005HT

先に実施した 1 カ月間反復投与毒性試験 （試験 99228 (SR99228-01)） と 3 カ月間反復投与毒性試験（試験 575049）で所見に違いがみられた。すなわち、3 カ月間投与試験で観察された一部の毒性所見（肝臓の慢性炎症、過度の体重減少、生理的ストレス及びそれに伴う臨床症状）がチカグレロルの投与よりも、むしろ試験処置や手技に関連してもたらされたものであった可能性について検討し、これを踏まえ 12 カ月間反復投与毒性試験の用量及び投与方法をより適切に決定するために追加試験として実施した。

再試験 1 では、雌雄各 2 匹のマーモセット（*Callithrix jacchus*）に、チカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、20 及び 65 mg/kg/日の漸増用量でそれぞれ最長 14 日間投与した。続いて、より高い 200 mg/kg/日の用量で投与を開始したが、一般状態に変化がみられたため約 1 週間後に投与を中止した。再試験 2 においては、雌雄各 2 匹の動物にチカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、65 mg/kg/日の用量で 22 日間投与したが、その時点でやはり一般状態に変化がみられたため投与を中止した。2 つの再試験においては、それぞれ雌雄各 2 匹の媒体対照群を設けた。いずれの試験においても投与容量は 10 mL/kg とした。

5 例のマーモセットが死亡又は計画屠殺に先立って途中屠殺された。これらの死亡例に関する情報を表 3に要約した。

表 3　　試験 0005HT における途中死亡例の要約

試験/群 動物識別番号/性	死亡／屠殺の理由	死亡／屠殺前の投与量
再試験 1/対照群、 1/雄	瀕死状態	媒体を 29 日間投与
再試験 1/チカグレロル投与群、 10/雄	死亡発見	20 mg/kg/日で 14 日間、65 mg/kg/日で 14 日間、200 mg/kg/日で 1 日間
再試験 2/チカグレロル投与群、 11/雄	突然の体重減少及び腹部膨満	65 mg/kg/日で 22 日間
再試験 2/チカグレロル投与群、 12/雄	瀕死状態	65 mg/kg/日で 5 日間
再試験 1/チカグレロル投与群、 13/雌	死亡発見	20 mg/kg/日で 14 日間、65 mg/kg/日で 2 日間、7 日間休薬[a]、65 mg/kg/日で 5 日間、200 mg/kg/日で 8 日間

a：　過度の体重減少からの回復の有無を検討するため、7 日間動物に投与をしなかった。

25%を上回る動物が死亡したため、試験を終了した。再試験 1 のすべての生存例は 37 日目に剖検した。再試験 2 の生存例は 24 日目に剖検した。

剖検所見及び病理組織学的所見において、対照群及びチカグレロル投与群の動物において胃の病変が認められた。病理学的変化のパターンから、胃の血管になんらかの損傷があったことが示唆された。出血及びそれに伴う変化が、動物の臨床状態及び途中死亡の原因になったと考えられる。腹部の線維性癒着と胃の出血性病変及びそれに伴う変化との関連については不明であった。胃に関連した所見は投与群及び対照群の両方でみられたことから、チカグレロルそのものの影響によるものではなく、媒体、投与容量又は投与処置・手技に起因する変化であると考えられた。

結論として、25%の動物に早期死亡がみられたことから、12 カ月間反復投与試験における用量を検討するという本試験の目的は達成されなかったが、毒性所見は対照群及びチカグレロル投与群の両方に分布していたことから、被験物質に起因する変化ではないと判断された。

2.6.6.3.3.4 マーモセットにおける忍容性確認試験（2）

参照項：4.2.3.2. 12 (参)　　試験番号：0007PT

先の追加試験（試験 0005HT）は、説明不能の瀕死例又は死亡例の所見が、媒体対照群（1 匹）及び投与群（4 匹）の両方でみられたために中止した。この試験の病理学的データから、投与による胃及び腹部に対するストレスが示唆された。そこで、本試験の第 1 相では、雌雄各 8 匹のマーモセット（*Callithrix jacchus*）に、チカグレロルを含有しないより粘性の低い媒体（0.6% CMC 水溶液）をより少ない容量（これまでの試験での投与容量の半量の 5 mL/kg）で 7 週間強制経口投与し、この時の忍容性を確認することとなった。第 2 相では、動物を 1 群雌雄各 4 匹の 2 つの投与群に再配置し、改良された条件（媒体：0.6% CMC 水溶液、投与容量：5 mL/kg）により、媒体又はチカグレロル 200 mg/kg/日を 15 週間投与した。

マーモセットについては、健康状態、行動変化又は投与への反応について毎日観察した。体重は投与期間中毎日測定した。剖検直前に血液生化学的検査、血液学的検査及び血液凝固検査のための血液試料を、15 週目にトキシコキネティクス試験用の血液試料を、それぞれ採取した。試験終了時（22 週目）に生存例を剖検して器官重量を測定し、組織試料を採取して病理組織学的検査を実施した。

第 2 相の投与 18 日にチカグレロル投与群の 1 匹が不慮の事故により足を骨折したため、安楽死処分した。また、同群の他の 1 匹で皮膚の黄変がみられたため、投与 84 日に安楽死処分した。皮膚の黄変はチカグレロル投与とは関係のない偶発的な黄疸によるものと考えられた。

試験第 1 相の 1 週目に一過性の体重減少が認められたが、この期間の後は全例とも体重が安定し、雌全例及び大部分の雄で 4 週目までに減少した体重が回復した。チカグレロル投与期間中は一貫した体重変化は認められなかった。

試験第 2 相では、チカグレロル投与によると考えられる器官重量の変化又は病理組織学的変化はみられなかった。

先のマーモセットを用いた 3 カ月間投与試験（試験 0005HT）と本試験を比較すると、投与液に使用する媒体の粘度を低下し、投与容量を少なくすることにより忍容性の改善がみられた。また、200 mg/kg/日のチカグレロルの投与によると考えられる臓器重量の変化或いは病理組織学的変化はみられなかった。

先の試験 0005HT では対照群及びチカグレロル投与群（200 mg/kg/日まで）のいずれにおいても消化管障害が観察されたが、本試験においては 200 mg/kg/日のチカグレロルを 15 週間投与しても消化管障害あるいはその他の毒性変化は認められなかった。このことは、投与液媒体の粘性を低くし投与容量を半減することによって、これまでの試験で観察されていた毒性所見の発現が緩和される可能性を示唆するものであると考えられる。

2.6.6.3.3.5 マーモセットにおける 12 カ月間反復経口投与毒性試験

参照項：4.2.3.2.13　　試験番号：505453

本試験の目的は、1 群雌雄各 6 匹のマーモセット（*Callithrix jacchus*）に、チカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、10、50 又は 200/100 mg/kg/日の用量（投与容量は 5 mL/kg）で、52 週間連日強制経口投与した際の毒性を評価することであった。対照群には媒体のみを投与した。

一般状態観察は毎日行い、体重は最初の 7 週間は週 2 回、以後は週 1 回測定した。眼科学的検査は試験前並びに 26 及び 52 週目に実施した。トキシコキネティクス試験用の血液試料は、28 及び 91 日目並びに 52 週目に採取した。臨床検査用の血液、尿及び糞の試料は、試験前に 1 回並びに 26 及び 49 週目の終わりに全例から採取した。更に血液生化学的検査用の試料を 30 週目に採取した。終了時の検査（剖検、病理組織学的検査及び器官重量）を、全例について 52 週間の投与期間終了時に実施した。

高用量群（200 mg/kg/日）の動物で途中屠殺を含む一般状態変化（活動低下等）がみられたため、短期間の休薬（最長 20 日間）の後、36/37 週目以降に投与量を 100 mg/kg/日に減量した。

投与期間終了時点でのチカグレロル C_{max} は、10、50 及び 100 mg/kg/日の雄/雌で、1.19/0.96、8.67/4.41 及び 7.63/9.67 μg/mL であった。同様に AUC は、8.47/6.27、61.1/44.4 及び 93.0/86.7 μg·h/mL であった。

チカグレロル投与に関連すると考えられる途中屠殺が 7 匹（雄 6 匹、雌 1 匹）に認められた。途中屠殺は、ほとんどのケースが最高用量の 200 mg/kg/日で投与 29～36 週目にみられた。しかしながら、途中屠殺は 50 mg/kg/日群の雄 1 匹（39 週目）及び 10 mg/kg/日群の雄 1 匹（40 週目）にもみられた。途中屠殺例では、死亡に先立って活動性低下及び／又は高度の体重減少が観察された。3 匹の途中屠殺例の屠殺前の検査で、赤血球パラメータ（ヘモグロビン量、赤血球数及びヘマトクリット値）の低値が認められた。

50 又は 200（途中から 100） mg/kg/日群及び途中屠殺例の大半においては、血小板数の増加が認められた。これは経口抗血小板剤である本薬の薬理作用に関連する可能性がある。

病理組織学的検査では、粘膜萎縮及び慢性炎症を特徴とする腸炎が、小腸及び大腸の全体にわたって観察された。投与群の動物にみられた液状便／軟便は、腸炎による二次的変化と考えられる。腸における所見（及び低用量での途中死亡）は、マーモセットがハンドリングや拘束によるストレスに対して感受性が高いことに起因する可能性があるため、ヒトにおける意義については不明である（Ludlage and Mansfield 2003）。

以上、チカグレロルの投与により、途中屠殺、体重減少、活動性低下、液状便／軟便、血小板数増加、赤血球パラメータ減少（途中死亡例のみ）並びに小腸及び大腸における粘膜萎縮及び慢性炎症を特徴とする腸炎が認められた。10 mg/kg/日でも所見（途中死亡、体重減少、赤血球パラメータ減少並びに小腸及び大腸における粘膜萎縮及び慢性炎症を特徴とする腸炎）がみられたことから、本試験の無毒性量は決定できなかった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

チカグレロルについて実施した遺伝毒性試験の一覧を表 4に要約する。

表 4 チカグレロル及び AR-C124910XX の遺伝毒性試験

試験番号	被験物質	試験系	処置	被験物質濃度
98351 (SR98351-02) Ames 試験 [a]	チカグレロル	ネズミチフス菌 TA1535、TA1537、TA98、TA100、TA102	プレート法（-/+ S9）、72 時間	3.3～1000 μg/プレート

表 4　　チカグレロル及び AR-C124910XX の遺伝毒性試験

試験番号	被験物質	試験系	処置	被験物質濃度
99440 (SR99440-01) Ames 試験	チカグレロル	ネズミチフス菌 TA1535、TA1537、TA98、TA100、TA102	アッセイ 1（-/+ S9）、プレート法で 72 時間 アッセイ 2（-/+ S9）、プレインキュベーション（60 分間）及びその後 72 時間のプレートインキュベーション	3～3000 μg/プレート
0109BV Ames 試験	AR-C124910XX（活性を保持する代謝物）	ネズミチフス菌 TA1535、TA1537、TA98、TA100、TA102、	アッセイ 1（-/+ S9）、プレート法で 72 時間 アッセイ 2（-/+ S9）、プレインキュベーション（60 分間）及びその後 72 時間のプレートインキュベーション	プレート法： 3～3000 μg/プレート プレインキュベーション： 1～300 μg/プレート
99441 (SR99441-01) マウスリンフォーマ試験	チカグレロル	L5178Y TK$^{+/-}$ マウスリンフォーマ 3.7.2 C 細胞	アッセイ 1：S9 存在下で 4 時間及び S9 非存在下で 24 時間 アッセイ 2：S9 存在下及び非存在下で 4 時間 アッセイ 3：S9 非存在下で 4 時間	アッセイ 1： +S9 15.7～41.8； -S9 15.7～36.6 μg/mL アッセイ 2： +S9 26.1～39.2； -S9 5.23～15.7 μg/mL アッセイ 3： -S9 7.85～15.7 μg/mL
0110MV マウスリンフォーマ試験	AR-C124910XX（活性を保持する代謝物）	L5178Y TK$^{+/-}$ マウスリンフォーマ 3.7.2 C 細胞	S9 存在下及び非存在下で 4 時間、S9 非存在下で 24 時間	4 時間+S9： 19.2～43.2 μg/mL 4 時間-S9： 4.8～14.4 μg/mL； 24 時間-S9： 4.8～18.3 μg/mL
TQR3211 小核試験	チカグレロル	ラット、*in vivo*	投与 24 及び 48 時間後に骨髄塗抹標本を作製し、各動物当たり 2000 個以上の多染性赤血球について小核を有する幼若赤血球の出現頻度を調べた。	2000 mg/kg、 単回経口投与

a ： 主要試験に先行して実施した予備試験（4.2.3.3.1.1 (参)）

2.6.6.4.1 *In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1.1 チカグレロル及び活性を保持する代謝物の復帰突然変異試験

参照項：4.2.3.3.1.2/4.2.3.3.1.3　　試験番号：99440 (SR99440-01)/0109BV

ネズミチフス菌 5 菌株（TA100、TA1535、TA98、TA1537、TA102）を用い、プレート法及びプレインキュベーション法により、代謝活性化酵素系（以下 S9 mix）の存在下及び非存在下で、チカグレロル及び活性を保持する代謝物 AR-C124910XX の遺伝子突然変異誘発性の有無を検討した。チカグレロルのすべての試験及びプレート法による AR-C124910XX の試験では、プレートあたり 3.0～3000 μg の濃度で、また、プレインキュベーション法による AR-C124910XX の試験では、細胞毒性の発現及び溶解度の制限から、プレートあたり 3.0～300 μg の濃度で試験を行なった。いずれの試験条件においても、復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。以上から、チカグレロル及び AR-C124910XX は細菌に対し復帰突然変異を誘発しないと判断した。

2.6.6.4.1.2 チカグレロル及び活性を保持する代謝物のマウスリンフォーマ試験

参照項：4.2.3.3.1.4/4.2.3.3.1.5　　試験番号：99441 (SR99441-01)/0110MV

マウスリンフォーマ L5178Y $TK^{+/-}$細胞を用い、代謝活性化酵素系（S9 mix）の存在下及び非存在下で、哺乳類細胞に対するチカグレロル及び活性を保持する代謝物 AR-C124910XX のチミジンキナーゼ遺伝子における突然変異誘発能を検討した。S9 非存在下で 4 及び 24 時間、S9 存在下で 4 時間の曝露を行った。いずれの試験においても、被験物質を DMSO に溶解してから培養細胞に添加した。細胞毒性の発現により、チカグレロルの最大被験濃度は、S9 存在下 4 時間曝露では 42 μg/mL、S9 非存在下 24 時間曝露では 37 μg/mL、S9 非存在下 4 時間曝露では 16 μg/mL に制限された。同様に、AR-C124910XX については、S9 存在下 4 時間曝露では 43 μg/mL、S9 非存在下 24 時間曝露では 17 μg/mL、S9 非存在下 4 時間曝露では 14 μg/mL を最高濃度とした。いずれの試験条件においても、チカグレロル及び AR-C124910XX はマウスリンフォーマ L5178Y $TK^{+/-}$細胞に対して突然変異誘発作用を示さなかった。

2.6.6.4.2 *In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.2.1 チカグレロルのラット小核試験

参照項：4.2.3.3.2.1　　試験番号：TQR3211

チカグレロルの *in vivo* における染色体異常誘発性を検索する目的で、Han Wistar ラットを用いた小核試験を実施した。2000 mg/kg のチカグレロルを単回経口投与し、投与 24 及び 48 時間後に骨髄塗抹標本を作製し、各動物当たり 2000 個の多染性赤血球を観察した。正染性赤血球に対する多染性赤血球の比率により細胞毒性を評価した。チカグレロルを投与しても、小核を有する多染性赤血球の出現頻度は増加せず、従って、チカグレロルは *in vivo* で染色体異常を誘発しないと判断した。

2.6.6.5 がん原性試験

チカグレロルの強制経口投与によるがん原性試験を、CD-1 マウスを用いて 50、100 及び 250 mg/kg/日の用量で、Han Wistar ラットを用いて雄は 20、60 及び 120 mg/kg/日、雌は 20、60 及び 180 mg/kg/日の用量で実施した。ラットでは、一般毒性試験で雌雄間に忍容性の違いがみられたことから、がん原性試験における最高用量は雌雄で異なる用量とした。いずれの試験においても、1% CMC/0.1% PS80 水溶液を投与媒体として使用した。2 つの試験のデザインを表 5に示す。

表 5 マウス及びラットで実施した 104 週間がん原性試験のデザイン（供試動物数）

マウス 試験番号 456988（0107CM）				
	主試験		トキシコキネティクス評価	
用量（mg/kg/日）	雄	雌	雄	雌
対照群 1	55	55	6	6
対照群 2	55	55	6	6
50	55	55	20	20
100	55	55	20	20
250	55	55	20	20
ラット 試験番号 456993（0508CR）				
	主試験		トキシコキネティクス評価	
用量（mg/kg/日）	雄	雌	雄	雌
対照群 1	50	50	5	5
対照群 2	50	50	5	5
20	50	50	10	10
60	50	50	10	10
120*	50	--	10	--
180*	--	50	--	10

* 反復投与毒性試験における雄の曝露量及び毒性がわずかにより高かったことから、高用量群では雌雄間で異なる用量を投与した（2.6.6.3項参照）。

試験項目は、一般状態観察、腫瘤の触診、体重、摂餌量、摂水量、眼科学的検査、血液学的検査、剖検及び病理組織学的検査とした。

マウスの試験におけるチカグレロルへの曝露量は、ラットの試験と同程度であった。マウスにおける活性を保持する代謝物 AR-C124910XX への曝露量は、ラットと同程度又はより高かった（表 6）。

表 6 マウス及びラットを用いたがん原性試験における 52 週目の C_{max} 及び AUC 値

動物種	用量（mg/kg/日）	チカグレロル				AR-C124910XX			
		C_{max} (μg/mL)		AUC (μg·h/mL)		C_{max} (μg/mL)		AUC (μg·h/mL)	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
マウス	50	2.6	4.4	12.2	19.4	2.7	3.7	17.0	23.7

表 6　　マウス及びラットを用いたがん原性試験における 52 週目の C_{max} 及び AUC 値

動物種	用量（mg/kg/日）	チカグレロル				AR-C124910XX			
		C_{max} (μg/mL)		AUC (μg·h/mL)		C_{max} (μg/mL)		AUC (μg·h/mL)	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
	100	7.7	16.8	47.9	73.7	10.2	7.4	75.1	73.7
	250	27.1	19.0	174	224	23.5	18.8	240	263
ラット	20	1.6	2.2	12.9	16.4	0.8	0.5	9.6	4.5
	60	9.5	8.2	67.4	85.2	6.6	1.7	48.8	18.9
	120	18.8	--	163	--	9.8	--	123	--
	180	--	26.2	--	311	--	6.6	--	93.3

2.6.6.5.1　　マウスを用いた 104 週間がん原性試験

参照項：4.2.3.4.1.1　試験番号：456988 (0107CM)

マウスではチカグレロルのがん原性は認められなかった。チカグレロル及び活性を保持する代謝物 AR-C124910XX への全身曝露が 1、26 及び 52 週目に全用量で確認され、曝露量は用量の増加に伴って増加した。チカグレロル及び AR-C124910XX の t_{max} は、用量が増加すると遅延する傾向が認められた。雌雄のマウスの血漿中濃度は同様であり、有意な性差は認められなかった。全用量範囲全体での AUC 曝露量の増加は用量比を上回っており、概して AR-C124910XX の方がチカグレロルより高かった。12 カ月間の投与期間におけるチカグレロルの血漿中濃度には用量範囲全体でばらつきがみられたが、AR-C124910XX の血漿中濃度には概して増加が認められた。

一般状態、体重、摂餌量、摂水量及び血液学的パラメータには、チカグレロル投与の影響は認められなかった。また、雌雄のいずれにおいても、対照群とチカグレロル投与群の間で、死亡率に差はみられなかった。チカグレロルを最長 104 週間投与した雌マウスにおいて、3 種の腫瘍、すなわち細気管支肺胞腺腫、濾胞中心細胞リンパ腫及び顆粒球性白血病の発現頻度に有意な増加が認められた。250 mg/kg/日群の雌では、細気管支肺胞腺腫の統計学的に有意な軽度の増加（7/55 匹、12.7%）がみられ、わずかに用量反応を伴っていた。しかしながら、この発現頻度はこの試験を実施した Charles River Laboratories におけるこの週齢及び系統のマウスの自然発生背景病変から予想される範囲（16.3～20.0%；2001～2006 年）を下回っていた。雌マウスにおける有意な発現頻度増加が、濾胞中心細胞リンパ腫（50 及び 100 mg/kg/日で 12/55 匹、21.8%）及び顆粒球性白血病（100 mg/kg/日で 3/55 匹、5.5%）にみられたが、250 mg/kg/日群ではこれらの腫瘍の増加はみられず、用量反応は認められなかった。いずれの用量においても用量反応の兆候はみられず、発現頻度は Charles River Laboratories におけるこの週齢及び系統のマウスの自然発生背景病変から予想される範囲内（濾胞中心細胞リンパ腫では 20.0～44.0%、顆粒球性白血病では 3.3～8.9%；2001～2006 年）であった。

以上、チカグレロルを CD-1 マウスに最長 104 週間経口投与したところ、いずれの用量においても、雌雄ともにがん原性を示唆する変化は認められなかった。

2.6.6.5.2 ラットを用いた 104 週間がん原性試験

参照項：4.2.3.4.1.2　　試験番号：456993 (0508CR)

チカグレロル及び活性を保持する代謝物 AR-C124910XX のトキシコキネティクス試験用の血液試料を、1 日目（対照群は 3 日目）並びに 26 及び 52 週目に採取した。

同程度の用量でのチカグレロルへの曝露量は雌ラットが雄ラットより高かったが、AR-C124910XX への曝露量は雄が雌より高かったことから、雄ラットでチカグレロルへの曝露量がより低かったのは代謝の差によるものと考えられた。

チカグレロルへの曝露量は、雌雄のいずれにおいても、単回投与と 52 週間反復投与の間で同程度であった。AR-C124910XX の血漿中濃度は、2 つの低用量群の雌ラットにおいて、単回投与と反復投与で同程度であった。最高用量における曝露量は、雌雄のいずれにおいても投与の最初の 26 週間は増加したが、その後雌では横ばい状態が認められた。雄ラットにおける AR-C124910XX の全身曝露量は、いずれの用量においても、投与期間全体で 2～3 倍の増加を示した。

C_{max} 及び AUC を指標とするチカグレロル及び AR-C124910XX への曝露量は、雌雄ともに低用量範囲（20 mg/kg/日）～中用量（60 mg/kg/日）において用量比を上回って増加した。高用量（120/180 mg/kg/日）での曝露量は、単回投与後は用量に比例した妥当な増加を示したが、反復投与後は用量比をわずかに上回って増加した。

体重増加量の減少が 120 mg/kg/日群の雄（12%の減少）及び 180 mg/kg/日群の雌（33%の減少）でみられたが、摂餌量には一貫した変化は認められなかった。20 及び 60 mg/kg/日群の雄では体重増加量のわずかな減少が認められた。絶対体重の減少は、雄では対照群より 8%少なく、雌では 19%少なかった。

雄ラットではがん原性を示唆するような変化は認められなかった。

一方、雌ラットでは統計学的に有意な子宮腺癌発現頻度の増加が 180 mg/kg/日群でみられ、これに伴う剖検所見として、子宮の腫瘤及び液体による膨満／拡張が認められた。この群では子宮腺癌が主要な死因であった。子宮腺癌はラットに多くみられる悪性で転移性の高い腫瘍であり、本試験では高頻度の転移（肺、肝臓、脾臓、胃、膵外分泌腺、副腎及び卵巣等の様々な器官）が認められた。チカグレロルに起因すると考えられるその他の増殖性病変として、肝臓の良性肝細胞腫瘍（腺腫）の発現頻度の増加がみられ、また、個々の性索／間質腫瘍には増加はみられなかったものの、すべての種類（例：卵巣莢膜細胞腫、顆粒膜細胞腫及び性索間質腫瘍、その多くは良性）を合わせると増加が認められた。卵巣の性索間質腫瘍の発現頻度の増加は、統計学的に有意（傾向検定が陽性）であったことから投与に関連するものであろうと考えられた。また、卵巣及び子宮は、通常は内分泌障害に対して連動して反応することから、この所見は子宮腺癌の増加にも関連する可能性があると考えられた。また、卵巣嚢胞及び卵巣間質細胞空胞化の発現頻度並びに子宮頸部の腺上皮／扁平上皮又は移行上皮の過形成の発現頻度にも増加が認められた。これらも内分泌系の乱れを示唆するものである。チカグレロル投与に関連すると考えられる他の所見としては、肺の肺胞泡沫状マクロファージ集簇及び炎症（雌雄）、腸間膜リンパ節洞の組織球増殖及び赤血球貪食（雌）、皮膚の毛胞萎縮（雌）、肝臓の巣状壊死（雄）、炎症性細胞浸潤（雄）及び小葉中心性肝細胞色素沈着（雌）、脊髄及び脊椎の狭窄性オステオパシー（雄）、食道炎及び前胃の巣状過形成（雄）が認められた。

チカグレロルの投与によると考えられる変化として、180 mg/kg/日群で乳腺腫瘍及び下垂体腫瘍の発現頻度の低下がみられ、120 及び 180 mg/kg/日群における甲状腺 C 細胞腫瘍及び巣状 C 細

胞過形成、副腎皮質腺腫及び巣状皮質細胞腺腫、肝臓の好塩基性細胞巣（雌のみ）並びに腎臓の腎盂腎炎及び腎盂鉱質沈着の発現頻度の低下も観察された。

以上、Han Wistar ラットにチカグレロルを最長 104 週間経口投与したところ、生存期間中の変化が 120 mg/kg/日群の雄（体重増加量減少、摂水量増加及び疎毛）又は 180 mg/kg/日群の雌（体重増加量減少、腹部の硬化／変形及び疎毛）でみられ、60 mg/kg/日群の雄でもより軽度に認められた（体重増加量減少及び摂水量増加）。雌の病理組織学的検査では、腫瘍性病変の発現頻度の増加が子宮（悪性癌）、卵巣（良性性索間質腫瘍）及び肝臓（良性肝細胞腺腫）にみられ、非腫瘍性の所見が子宮、卵巣、肝臓、肺、副腎、胃／食道、皮膚及び脊椎に認められた。乳腺、下垂体、甲状腺及び副腎では腫瘍性所見の発現頻度の低下もみられ、乳腺、下垂体、甲状腺、副腎及び腎臓で非腫瘍性所見の発現頻度の低下も認められた。最も大きな影響がみられたのは 180 mg/kg/日群の雌であった。肝臓及び子宮の腫瘍における無作用量は、雌では 60 mg/kg/日であり、雄では影響が認められなかった。

表 7　　2 年間がん原性試験における雌ラットでの原発性の肝臓、子宮、乳腺及び下垂体腫瘍

	対照群 1+対照群 2 98-100 匹 [a]	**20 mg/kg/日 チカグレロル 50 匹**	**60 mg/kg/日 チカグレロル 49-50 匹** [b]	**180 mg/kg/日 チカグレロル 50 匹**
肝細胞腺腫	1	1	2	4*
肝細胞癌	0	0	0	1
肝細胞腺腫 + 肝細胞癌の合計§	1	1	2	5*
子宮腺癌§	10	5	6	21***
子宮扁平上皮腺癌	0	0	1	2
子宮扁平上皮癌	0	0	0	1
乳腺線維腺腫	14	11	8	1*
下垂体前葉過形成及び腺腫	66	32	36	25*
雌の死亡例	38 匹	22 匹	15 匹	31 匹
下垂体前葉腺腫	25	12	8	11*

*： P<0.05（Fisher 正確検定）、***： P<0.001（Fisher 正確検定及び PETO 解析）、§： P<0.001（傾向検定）
a:　肝 100 例、下垂体 98 例、他は 99 例
b:　肝及び下垂体は 50 例、他は 49 例

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

チカグレロルについて実施した生殖発生毒性試験の一覧を表 8に示す。

表 8 チカグレロルについて実施した生殖発生毒性試験の一覧

試験番号	試験の種類	動物 (供試数/群)	用量 mg/kg/日	投与期間	無毒性量 mg/kg/日
456930 （0400PR）	雄授胎能	ラット （20-32）	媒体、10、60、180	6 カ月間の一般毒性試験の 11 週目に交配	180
0337GR	雌受胎能	ラット （22）	媒体、20、100、200	交配前 2 週間及び妊娠 6 日まで	200
0274RR [a]	胚・胎児発生	ラット （6）	媒体、20、100、200、300	妊娠 6～16 日	母動物 100 胎児 200
0307TR	胚・胎児発生	ラット （22）	媒体、20、100、300	妊娠 6～16 日	母動物 20 胎児 100
0038RB [a]	胚・胎児発生	ウサギ （6）	媒体、21、42、84、99	妊娠 6～19 日	42
0046TB	胚・胎児発生	ウサギ （22～26）	媒体、21、42、63	妊娠 6～19 日	母動物 63 胎児 42
0073KB	胚・胎児発生（所見確認考察）	ウサギ （44）	媒体、63	妊娠 6～19 日	胎児 63
AA39254 (1513WR) [a]	出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能	ラット （6）	媒体、10、60、180	妊娠 6 日から分娩後 7 日まで	母動物 60 出生児 60
AA41453 (1591WR)	出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能	ラット （25）	媒体、10、60、180	妊娠 6 日から分娩後 20 日まで	母動物 60 出生児 60

a： 主要試験における用量を設定するための予備試験

2.6.6.6.1 雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

参照項：4.2.3.5.1.1 試験番号：0337GR

1 群 22 匹からなる 4 群の Han Wistar 雌ラットに、チカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、20、100 又は 200 mg/kg/日の用量で連日経口投与し、ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に対する影響を検討した。対照群には媒体のみを投与した。

雌ラットに 2 週間投与した後、無投与雄ラットと 1 対 1 で交配させた。雌ラットへの投与は交配期間を通して妊娠 6 日まで行った。体重及び摂餌量の測定並びに一般状態観察を妊娠 12 日ま

で行った後、動物を屠殺して子宮の検査を実施した。腟垢塗抹標本の作製を、それぞれの雌について投与初日に開始し、交尾確認まで継続した。雌の妊娠の有無を確認した後、交尾率及び受胎率を雌雄別に算出した。チカグレロル及び活性を保持する代謝物 AR-C124910XX のトキシコキネティクス評価のための血液試料を、投与 14 日に採取した。妊娠 12 日の剖検時に、それぞれの雌ラットの腹腔及び胸腔を開けて内臓の検査を実施した。卵巣及び子宮を切除し、外表を観察して妊娠の有無を確認した。黄体数、着床数、それぞれの生存胚の数及び位置並びに子宮内死亡の数及び分布を記録した。

統計学的有意差を伴う体重増加量の軽度減少が、交配前投与期間の 1 週目に高用量群で認められた。妊娠中の体重及び体重増加量には変化は認められなかった。高用量群では、交配前投与期間を通して統計学的に有意な摂餌量減少が認められた。中及び高用量群で投与時に流涎反射が低頻度でみられたのを除いて、被験物質関連の一般状態の変化は試験を通して認められなかった。交配前投与期間中に、すべてのチカグレロル投与群で不規則な性周期の回数増加が認められた。最も高頻度にみられた所見は発情期の延長であった。チカグレロルのいずれの用量においても、性周期の不規則性による雌の受胎能及び繁殖成績への悪影響は認められなかった。

雌の受胎能及び生殖能に関する無作用量は 200 mg/kg/日であった。母動物毒性に関する無作用量は 100 mg/kg/日であった

2.6.6.6.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

参照項：4.2.3.5.2.2　　試験番号：0307TR

用量設定のための試験（4.2.3.5.2.1 (参)、試験 0274RR）の結果から、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では、300 mg/kg/日を高用量とすることが推奨された。

1 群 22 匹からなる 4 群の交配済の雌 Han Wistar ラットに、チカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、20、100 及び 300 mg/kg/日の用量で、妊娠 6 日から 16 日まで投与した。対照群には媒体のみを投与した。これらの投与条件で母動物において十分なチカグレロル曝露が得られることを用量設定予備試験（試験 0274RR）におけるトキシコキネティクス評価で確認していることから、本試験ではトキシコキネティクスの測定は行わなかった。

一般状態観察並びに体重及び摂餌量の測定を、試験期間を通して行った。妊娠 21 日の計画剖検時に、子宮の外表を観察して妊娠の有無を調べ、それぞれの卵巣の黄体数を数えた。剖検時に胸部及び腹部の器管を観察した。肉眼的異常については記録して固定し、病理組織学的検査を行った。それぞれの生存胎児について外表奇形の有無を調べ、性別を判定して、口蓋及び肛門を観察した。胎児の軟組織を詳細に観察して軟組織の奇形及び変異の有無を調べた。軟組織検査の後、内臓を除去した胎児について骨格変異の有無を調べた。

300 mg/kg/日では妊娠 12 日から 16 日にかけて母動物の体重、体重増加量及び摂餌量の減少並びに一般状態の毒性変化の発現頻度の増加がみられたため、この群の雌 7 匹を途中屠殺した（うち 1 匹は非妊娠動物）。これらの動物から採取した組織の組織学的検査では、チカグレロルの投与に関連すると考えられる胃及び十二指腸のびらんが観察された。統計学的に有意な母動物の摂餌量の減少が、100 mg/kg/日でも投与期間中に認められた。

チカグレロルのいずれの用量においても、胚又は胎児の生存に対する悪影響は認められなかった。300 mg/kg/日では胎児体重減少が認められた。いずれの群においても重大な外表、内臓又は骨格異常は観察されなかった。300 mg/kg/日では、肝副葉等の軽微な異常及び変異、網膜皺襞及

び様々な軽度の骨格所見（余剰椎骨及び下肢帯の結合変位、第 14 過剰肋骨、胸骨分節の不完全骨化及び分裂/形態異常/不整、後肢踵骨の骨化遅延）を有する胎児の数の増加が認められた。

チカグレロルを妊娠ラットの器官形成期に経口投与したところ、100 mg/kg/日以上の用量で母動物毒性がみられ、その結果、300 mg/kg/日では一部の動物を計画屠殺前に屠殺した。これらの動物では胃及び十二指腸の粘膜びらんが認められた。チカグレロルの 300 mg/kg/日までの用量では、胚又は胎児の生存に対する悪影響はみられなかった。300 mg/kg/日の用量では、母動物毒性の結果として、胚・胎児重量の僅かな減少が観察された。母動物毒性及び胚・胎児毒性に関するチカグレロルの無毒性量は、それぞれ 20 mg/kg/日及び 100 mg/kg/日であった。

2.6.6.6.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

参照項：4.2.3.5.2.5　　試験番号：0046TB

用量設定のための予備試験（4.2.3.5.2.3 (参)、試験 0035DB 及び 4.2.3.5.2.4 (参)、試験 0038RB）の結果から、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験では、高用量として 42 mg/kg/日と 84 mg/kg/日の間の用量が妥当であることが示唆された。

1 群 22～26 匹の交尾が確認された雌のウサギ（ニュージーランドホワイト種）に、チカグレロルを、1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、21、42 及び 63 mg/kg/日の用量で、妊娠 6 日から 19 日まで投与した。対照群には媒体のみを投与した。これらの投与条件で母動物において十分なチカグレロル曝露が得られることを用量設定予備試験（試験 0038RB）におけるトキシコキネティクス評価で確認していることから、本試験ではトキシコキネティクスの測定は行わなかった。

一般状態観察並びに体重及び摂餌量の測定を行った。妊娠 28 日に母動物の計画剖検を実施し、胸部及び腹部の器官並びに卵巣及び子宮内容物を検査した。全例から異常がみられた母動物の組織を採取し、途中死亡例及び対照群の 3 匹から特定の組織を採取して、固定及び標本作製を行い、病理組織学的検査を行った。胎児については外表異常、内臓異常及び骨格異常の有無を観察した。

母動物における唯一の投与関連の所見は、チカグレロルのすべての用量の少数例で投与期間中にみられた暗色尿及び／または尿量減少であった。チカグレロル投与群の妊娠動物における平均摂餌量、体重、累積体重増加量又は妊娠子宮重量について補正した妊娠 28 日の体重には、対照群と比較して差は認められなかった。平均黄体数、平均着床数、総死亡胎児数又は総生存胎児数、平均着床前及び着床後死亡率、平均胎児体重、平均同腹児体重及び雄胎児の平均比率（%）には、対照群と比較したチカグレロル関連の影響は認められなかった。

63 mg/kg/日群の母動物から得られた胎児において、軽微な異常及び変異の発現頻度増加が認められた。肝臓の成熟度の遅延を示唆すると考えられる透明な胆嚢内容物を有する胎児の増加（個別胎児数及び母動物数）がみられた。様々な未骨化又は不完全骨化の胎児発現頻度及び同腹児発現頻度の増加がみられたことから、骨格発生における軽度の遅延が示唆された。42 mg/kg/日群の母動物 2 匹から得られた 2 胎児（片側の眼）及び 63 m/kg/日群の母動物 1 匹から得られた 1 胎児（両側の眼）で認められた高度の網膜皺襞の発現は、チカグレロルの投与に関連している可能性がある。

結論として、雌ウサギの器官形成期にチカグレロルを 0、21、42 及び 63 mg/kg/日の用量で投与したところ、63 mg/kg/日群の母動物から得られた胎児に軽度の肝成熟遅延及び骨格発生遅延がみられ、チカグレロル投与により生じた可能性のある変化として、胎児における高度の網膜皺襞が、母動物毒性のみられない 42 及び 63 mg/kg/日群の母動物から得られた胎児で観察された。胎児所見についての無毒性量は 21 mg/kg/日であった。

2.6.6.6.4 ウサギを用いた網膜発生への影響を確認する試験

参照項：4.2.3.5.2.6　試験番号：0073KB

先に実施した胚・胎児発生に関する試験（試験 0046TB）において、発現頻度は低いものの、中用量群の異なる母体から得られた 2 胎児に高度の片側性網膜皺襞がみられ、高用量群の 1 胎児に高度の両側性網膜皺襞が認められた。この所見が被験物質投与に起因する変化であるか又は自然発生所見の背景的範囲内であるかは不明であった。本試験では、1 群の動物数をより多くして、本薬により網膜発生の変化が誘発されるか否かを検討するようデザインした。先に実施した胚・胎児発生に関する試験で使用した高用量と同じ用量を、本試験の用量として選択した。

1 群 44 匹の交尾確認された雌のウサギ（ニュージーランドホワイト種）に、チカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、0（媒体のみ）又は 63 mg/kg/日の用量で、妊娠 6 日から 19 日まで投与した。交尾確認日を妊娠 0 日とした。一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を行った。チカグレロル及び活性を保持する代謝物 AR-C124910XX のトキシコキネティクス試験用の血液試料を、投与の初日及び最終日に採取した。3 匹の対照群の動物についても投与最終日に血液試料を採取して、チカグレロル及び AR-C124910XX が検出されないことを確認した。妊娠 28 日に母動物を計画剖検し、胸部及び腹部の器官並びに卵巣及び子宮内容物を検査した。胎児については外表及び内臓の眼の異常についての観察を実施した。

対照群の 2 匹の動物が投与後又は試験のためのハンドリング後に死亡し、剖検により誤投与が原因であることが確認された。対照群の他の 1 匹は流産により安楽殺した。

63 mg/kg/日群の動物における軽度の母動物毒性として、糞排泄減少、尿変色、被毛の汚れ、妊娠 22 日までの累積体重増加量の軽度の減少及び妊娠 12 日までの摂餌量減少が認められた。チカグレロル投与による胎児の生存率又は体重への影響は認められなかった。

対照群の 3 母体からの 4 胎児及びチカグレロル投与群の 2 母体からの 2 胎児において、眼の重大な異常（高度の片側性網膜皺襞、一部の例では片側水晶体欠損又は片側水晶体の高度の変形を伴う）が認められた。

結論として、チカグレロルを器官形成期に 63 mg/kg/日の用量で投与した雌ウサギにおいて軽度の母動物毒性が認められた。チカグレロルの 63 mg/kg/日の用量では、胎児重量、生存率又は眼の重大な異常の発現率への影響はみられなかった。これらの結果により、試験 0046TB において対照群及びチカグレロル投与群の動物の胎児の間にみられた高度の網膜皺襞の発現頻度の差は、偶発的なものであり本薬投与に起因した変化ではないと判断された。

2.6.6.6.5 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

参照項：4.2.3.5.3.2　試験番号：AA41453 (1591WR)

本試験は、本被験物質を交尾確認雌ラットに妊娠 6 日から離乳時まで投与したときの胚・胎児発生に対する影響、出生前及び出生後の発生に対する影響並びに次世代児の生殖能への影響を検討するために実施した。

用量設定のための予備試験（4.2.3.5.3.1 [参]、試験 AA39254 (1513WR)）の結果から、ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験では、180 mg/kg/日を高用量とすることが推奨された。1 群 25 匹からなる 3 群の交尾が確認された雌の Han Wistar ラットに、チカグレロルを 10、60 及び 180 mg/kg/日の用量で、妊娠 6 日から授乳 20 日まで連日強制経口投与

した。25 匹の対照群には、媒体（1% CMC/0.1% PS80 水溶液）のみを投与した。試験を通して、雌の一般状態観察、体重測定及び摂餌量測定を行った。雌全例を自然分娩させ、出生児数、出生児の生存率及び体重といった同腹児パラメータを離乳時まで調べた。それぞれの同腹児から雄 1 匹、雌 1 匹を選択して F_1 世代とした。母動物及び選択されなかった出生児は分娩後 21 日に剖検した。選択された F_1 児は無投与で飼育し、離乳後の発育の観察、行動検査及び交配を行った。F_1 雌について、交配前期間及び妊娠中の体重を測定した。F_1 雄の体重は選択時から剖検時まで測定した。F_1 雌を妊娠 13 日に帝王切開した後、F_1 雄を剖検して試験を終了した。F_1 動物の全例について肉眼観察を行った。雌について、妊娠状況、黄体数並びに子宮内の着床胚・胎児の状態を調べた。本試験に先行して行われた予備試験（試験 AA39254 (1513WR)）において、母動物及び出生児で十分なチカグレロル曝露が得られることを確認していることから、本試験ではトキシコキネティクスの測定は行わなかった。

明らかな投与関連の死亡は認められなかった。10 mg/kg/日群の母動物 1 匹は分娩時の合併症により安楽殺したが、1 匹のみの発現であったため、チカグレロルとの関連性はないと判断した。被験物質による母動物の一般状態の変化は認められなかった。高用量群（180 mg/kg/日）では母動物の体重増加量減少が投与の最初の 5 日間に一過性にみられ、摂餌量減少が離乳時まで認められたが、中及び低用量群では変化が認められなかった。

対照群を含む全ての試験群で 1～2 匹の非妊娠雌動物がみられた。すべての妊娠母動物で生存児の出産が認められた。妊娠期間には投与の影響は認められなかった。180 mg/kg/日群の 2 匹の母動物で分娩後 4 日までに全児死亡が認められた。他の群のすべての母動物は離乳時まで出生児を哺育した。死亡した低用量群の母動物を除いて、死産児の発現頻度はいずれの群においても低かった（各投与群で 1 匹、対照群ではなし）。平均出産児数及び平均子宮内着床痕数は、対照群と投与群において同程度であった。180 mg/kg/日群では、分娩後の最初の 4 日間の出生児死亡率が、対照群及び他の投与群（いずれも 0 に近い）と比較して増加（10%）していた（$P<0.01$）。それ以降、生後 4 日から離乳までの出生児の生存率は、投与群と対照群で同程度であった。出生時及び離乳時の出生児の性比には、投与関連の傾向はみられなかった。高用量群（180 mg/kg/日）における出生時の平均出生児体重は、対照群と比較して 13%低かった。

その後、高用量群の出生児では離乳時まで成長不良の傾向がみられた。中及び低用量では出生児体重への影響は認められなかった。180 mg/kg/日群では、開眼、切歯萌出及び耳介開展を指標とする出生児の身体発育が、体重減少に伴って遅延したが、中及び低用量群では影響が認められなかった。反射機能の発育はすべての群で正常であった。離乳時の母動物及び F_1 出生児の剖検では、投与関連の病変は観察されなかった。

選択された F_1 ラットでは、投与関連の死亡はみられなかった。選択された F_1 ラットの一般状態には、母動物への投与による悪影響は認められなかった。高用量群の出生児で離乳時に対照群と比較して認められた体重減少は、11 週齢での交配前に部分的に回復したのみであった。中及び低用量群における F_1 雌雄の体重推移は対照群と同様であった。

母動物への投与による F_1 性成熟への影響は認められなかった。水迷路及びオープンフィールド試験では、F_1 動物の行動障害は認められなかった。F_1 世代の交尾能及び受胎能には、母動物への投与による明らかな影響はみられなかった。低用量群の 2 組及び高用量群の 1 組のラットでは交尾が成立しなかった。対照群のすべてのペア及び各投与群の 1～2 組を除くすべてのペアにおいては、4 日以内に交尾が成立した。交尾が成立した雌のうち、対照群及び中用量群の各 5 例、低用量群の 3 匹及び高用量群の 6 匹では妊娠が認められなかった。雌雄の F_1 の剖検では、いずれの群においても投与関連の異常は観察されなかった。精巣及び精巣上体の重量には、母動物への投与による悪影響はみられなかった。黄体数及び子宮内着床数の平均値は、高用量群が対照群より

わずかに少なかったが、これは主として 1 匹の雌で黄体数が 4、着床数が 3 と極端に少なかったことによるものであった。着床前死亡率及び着床後死亡率は、対照群と投与群の間で同程度であった。生存胚数の平均値は、高用量群における偶発的に少ない着床数に影響されたが、すべての群で同程度であった。

チカグレロルの高用量（180 mg/kg/日）では、妊娠中の母動物の体重増加量減少、生後の出生児の生存率低下、出生児の体重減少及び成長遅延を特徴とする軽度の母動物毒性及び発生毒性が認められた。本試験における母動物及び出生児に対する無毒性量は中用量の 60 mg/kg/日であった。

2.6.6.6.6 幼若ラットにおける毒性試験

本承認申請においては、小児適用は対象外であるが、既に実施された幼若動物を用いた毒性試験の結果を示す。

2.6.6.6.6.1 新生児ラットを用いた 19 日間反復経口投与毒性試験及び回復性試験

参照項：4.2.3.5.4.2 (参)　　試験番号：AA93001 (2836LR)

チカグレロルを新生児ラットに 7 日齢より 19 日間連日強制経口投与して毒性並びにトキシコキネティクスの評価を行い、加えて、8 週間の休薬期間による毒性徴候の回復を検討した。

用量設定予備試験（4.2.3.5.4.1 (参)、試験 AA93000 (2835LR)）の結果を踏まえ、雌雄各 24 匹、12 匹、12 匹及び 24 匹の 4 群の Wistar ラット出生児に、チカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし、10、60 及び 180 mg/kg/日の用量で 19 日間経口投与した。対照群には媒体のみを投与した。動物を最終投与日の投与後に剖検したが、対照群及び高用量群の半数については 8 週間の休薬期間を設けた。

180 mg/kg/日群でチカグレロル投与によると考えられる数例の死亡及び体重増加量の減少がみられたが、成熟ラットでみられていない新たな毒性所見は認められなかった。死亡及び体重増加量の減少がみられた 180 mg/kg/日での曝露量は、成熟ラットでこれらの所見が観察された曝露量と同程度であった。無毒性量は 60 mg/kg/日と判断された。この用量での投与初日におけるチカグレロルの血漿中 C_{max} 曝露量は 6.74 μg/mL であった（AUC は 0 日目には算出せず）。60 mg/kg/日群における投与最終日の血漿中 C_{max} 及び $AUC_{(0-\tau)}$は、それぞれ 4.45 μg/mL 及び 35.7 μg·h/mL であった。

2.6.6.6.6.2 離乳児ラットを用いた 5 週間反復経口投与毒性試験及び回復性試験

参照項：4.2.3.5.4.3 (参)　　試験番号：2885LR

1 群雌雄各 10 匹からなる 4 群の Han Wistar ラット離乳児（24 日齢）に、チカグレロルを 1% CMC/0.1% PS80 水溶液を媒体とし 10、60 又は 180 mg/kg の用量で 1 日 1 回、5 週間連日経口投与し、毒性並びにトキシコキネティクスの評価を行い、加えて、4 週間の休薬期間による毒性徴候の回復を検討した。対照群には媒体のみを投与した。

180 mg/kg/日群の雌 1 匹が 3 日目に死亡した。肺の病理所見から投与液の誤嚥が示唆されたものの、最終的な死因が不明であったことから、被験物質による直接の関与の可能性は否定できない。

180 mg/kg/日群で ALT の軽度増加がみられたことから、肝臓への影響の可能性が示唆された。肝臓重量の増加がみられたものの、これに伴う病理組織学的所見は観察されなかった。その他にはチカグレロルに関連すると考えられる毒性変化は認められなかった。4 週間の休薬期間終了時には毒性所見はみられなかった。180 mg/kg/日において軽度の ALT 増加がみられ、また、投与との関係が否定できない死亡が 1 例認められたことから、無毒性量は 60 mg/kg/日と判断した。60 mg/kg/日における血漿中 C_{max} 及び AUC は、それぞれ 4.15～4.80 μg/mL（雄～雌）及び 35.0～50.8 μg·h/mL（雄～雌）であった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

参照項：4.2.3.6.1 (参)、4.2.3.6.2 (参)、4.2.3.6.3 (参)　試験番号：0154IM、0798IR、0031KX

チカグレロルの局所刺激性については、2 つの *in vivo* 試験（試験 0154IM、試験 0798IR）及びヒトにおける絶対バイオアベイラビリティ測定の一部として実施した静脈内投与時の安全性担保を目的とするヒト血液を用いた *in vitro* 溶血、凝集及び沈降試験（試験 0031KX）で検討した。*In vivo* において、注射用水、0.62% 塩化ナトリウム、0.395% エタノール及び 0.1% PS80 を用いたチカグレロルの静注製剤を、マウスに静脈周囲皮下投与（試験 0154IM）又はラットに静脈内投与（試験 0798IR）したとき、投与部位の静脈及び周辺の組織への影響は認められなかった。チカグレロル製剤、対照物質製剤又は試験法対照と混合したいずれの血液試料においても、赤血球凝集、溶血又は血漿蛋白沈降は認められなかった。本製剤はヒトへの静脈内投与用として適切であると結論された。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 ラットにおける腫瘍プロファイルの変化の原因を検討するための試験

ラットがん原性試験において、高用量群の雌ラットで認められた子宮がんの発現頻度増加のメカニズムを検討するため、表 9に示した一連の試験を実施した。

表 9　ラットにおける腫瘍発現頻度増加のメカニズムを検討するために実施した試験

試験番号	試験の種類	用量/濃度	主要な検査項目
1801KR（2.6.6.8.1.1項）	7 日間または 1 カ月間投与時の雌ラットにおける肝臓及び子宮の CYP 発現に対する影響	媒体、20、60、180 mg/kg/日	a) 肝臓における CYP450 蛋白質発現 b) テストステロン及びエストラジオールの CYP 依存的肝代謝 c) 肝臓及び子宮の CYP1A1 及び 4A1 並びに卵巣の ERαの免疫組織化学的検査を含む生殖組織、副腎、肝臓及び下垂体の病理組織学的検査
1800KR	3 カ月間投与時の雌ラットにおける	媒体、60、180 mg/kg/日	a) 血中の内分泌変化（エストラジオール、テストステロン、プロゲステロン、

表 9　　ラットにおける腫瘍発現頻度増加のメカニズムを検討するために実施した試験

試験番号	試験の種類	用量/濃度	主要な検査項目
（2.6.6.8.1.2項）	生殖内分泌及び CYP 発現への影響		デヒドロエピアンドロステロン、アンドロステンジオン） b) 生殖器官、肝臓及び副腎の病理組織学的変化 c) 生殖器官及び肝臓における CYP 蛋白質及び／又は mRNA の変化 d) 卵巣におけるアロマターゼ活性 e) アンドロゲン及びエストロゲンにより制御される子宮遺伝子発現の変化 f) エストラジオール及びテストステロンの肝ミクロソーム代謝
2144KR （2.6.6.8.1.3項）	単回投与時のラットでのステロイド合成関連遺伝子の発現に対する影響	媒体、180 mg/kg/日	発情間期におけるステロイドホルモン値及び遺伝子発現マーカーの測定
2227KR （2.6.6.8.1.4項）	14～18 日間投与時のラットでのステロイド合成関連遺伝子の発現に対する影響	媒体、60、180 mg/kg/日	テストステロン、エストラジオール、プロゲステロン、LH（黄体形成ホルモン）、FSH（卵胞刺激ホルモン）、増殖マーカー及びレポーター遺伝子マーカー生成物
1778KV （2.6.6.8.1.5項）	培養卵巣細胞におけるステロイド合成に対する影響	最高 3 μmol/L のチカグレロル	エストラジオール、テストステロン、プロゲステロン及びアンドロステンジオン合成に対するチカグレロルの作用の検討
1517KV （2.6.6.8.1.6項）	培養副腎細胞におけるステロイド合成への影響	最高 10 μmol/L のチカグレロル	ACTH 誘導性のコルチコステロン合成に対するチカグレロルの作用の検討
1918KV （2.6.6.8.1.7項）	アロマターゼ阻害作用の検討	10 μmol/L のチカグレロル	ラット卵巣ミクロソームにおける *in vitro* でのアンドロステンジオンの 1β部位からの ^{3}H-水放出を指標とするアロマターゼ活性
3100KR （2.6.6.8.1.8項）	4 日間投与時のラットでのラットにおけるプロラクチン放出阻害の検討	媒体、 180 mg/kg/日	卵巣摘出雌ラットにおけるエストラジオール誘発性プロラクチン分泌の阻害

2.6.6.8.1.1 雌ラットを用いた 7 又は 28 日間経口投与による肝臓及び子宮の CYP に対する作用を調べる試験

参照項：4.2.3.7.3.1 (参)　　試験番号：1801KR

本試験の目的は、チカグレロルがエストラジオール及びテストステロンの異化代謝に関与する酵素の発現又は活性への影響を介して性ホルモンの循環血中濃度に影響を及ぼすか否かを検討することであった。この目的のために、異化作用を有する P450 酵素の肝臓及び子宮における発現を、酵素免疫測定法（ELISA 法）及び免疫組織化学的検査により検討し、肝臓由来のミクロソームによる放射性標識エストラジオール及びテストステロンの異化作用を *ex vivo* で測定した。

1 群 10 匹の雌 Han Wistar ラットにチカグレロルを 0（媒体のみ）、20、60 又は 180 mg/kg/日の用量で 7 日間又は 28 日間投与した。チカグレロルを 180 mg/kg/日の用量で投与した雌ラットでは、CYP 誘導が肝臓（CYP1A1/2 及びより軽度に CYP4A1）及び子宮血管系（CYP1A1）に認められた。*Ex vivo* での肝ミクロソーム介在性の ^{14}C-テストステロン代謝又は *in vitro* での ^{3}H-エストラジオール代謝には、チカグレロルによる顕著な影響は認められなかったが、180 mg/kg/日の用量での 7 日間投与により、総テストステロン及びエストラジオール代謝のわずかな増加がみられた。ホルモン障害を示唆する変化として、チカグレロルを 7 日間投与した動物で発情期延長の発現頻度の増加がみられ、中等度の卵巣間質細胞空胞化及び軽微から軽度の副腎皮質空胞化の発現頻度の増加が認められた。

2.6.6.8.1.2 雌ラットを用いた 3 カ月間投与による生殖関連内分泌及び病理、並びに卵巣、子宮、副腎及び肝臓における CYP 発現に関する試験

参照項：4.2.3.7.3.2 (参)　　試験番号：1800KR

本試験の目的は、ラット 2 年間がん原性試験でみられた子宮、肝臓、乳腺及び下垂体の腫瘍の発現頻度の変化に内分泌不均衡が関与しているか否かを検討することであった。

1 群 20 匹の雌 Han Wistar ラットにチカグレロルを 0（媒体のみ）、60 又は 180 mg/kg/日の用量で、2、4 又は 13 週間（3 カ月間）投与した。投与期間中、定期的に、エストラジオール、テストステロン、プロゲステロン及びデヒドロエピアンドロステロン（以下 DHEA）の測定のための採血を行った。剖検時に、病理組織学的検査用の卵巣、肝臓、副腎、下垂体、乳腺、膣、子宮頸部及び子宮の試料、CYP 酵素発現検査用の肝臓及び子宮の試料並びにアロマターゼ活性測定用の卵巣の試料を採取した。子宮の CYP（CYP1A1 及び CYP4A1）の免疫組織化学的検査を全例について行った。対照動物及び 180 mg/kg/日の用量で 13 週間投与した動物の副腎及び卵巣の組織について、StAR 蛋白質（Steroidogenic Acute Regulatory 蛋白質：ステロイド合成の律速となる）の免疫組織化学的検査を実施した。13 週間投与した動物について、肝臓の CYP 蛋白質及び mRNA（CYP1A1/2、CYP2B1、CYP3A2 及び CYP4A1）並びに子宮の CYP mRNA（CYP1A1、CYP2B1、CYP3A2 及び CYP4A1）を測定した。肝臓におけるテストステロン及びエストラジオールの CYP 依存的代謝を、ex vivo で全例について検討した。13 週間投与した動物については、子宮内でアンドロゲン及びエストロゲンにより調節を受ける種々の遺伝子の発現並びに卵巣ミクロソーム内におけるアロマターゼ活性も測定した。

180 mg/kg/日群の動物では、平均テストステロン値が、大部分の試料採取期間を通して対照群より 2 倍高く、発情期の午後 0 時（正午）における平均血漿エストラジオール値が対照群よりわずかに低かった。

チカグレロルの 180 mg/kg/日の用量での 4 又は 13 週間投与により、中等度の卵巣間質細胞空胞化がみられる動物の発現頻度が全用量で増加を示した。チカグレロル 180 mg/kg/日の 13 週間投与により、グラーフ卵胞並びに卵胞周囲及び黄体にうっ血／出血が少ない動物も増加した。

180 mg/kg/日の用量での投与後のすべての時点及び 60 mg/kg/日の用量での 2 又は 4 週間投与後に肝臓重量の増加がみられたが、病理組織学的検査では肝細胞肥大又はその他の異常は観察されなかった。

2 又は 4 週間投与後に用量に相関した副腎重量の増加が認められた。チカグレロルの 180 mg/kg/日の用量での 13 週間投与により、副腎皮質空胞化の発現頻度の増加が、いずれの投与群においても球状帯（軽微から中等度）及び束状帯（軽微から軽度）で認められた。

チカグレロルの 180 mg/kg/日の用量での 13 週間投与により、肝臓の CYP1A1/2 及び肝臓の CYP1A1 mRNA の軽度誘導がみられた。肝臓の CYP1A1 mRNA の誘導は、60 mg/kg/日の用量での 13 週間投与後にも認められた。CYP2B1、3A2 及び 4A1 への影響又は肝臓の CYP1B1 又は CYP4A1 mRNA への影響は認められなかった。チカグレロルは 60 又は 180 mg/kg/日の用量での 13 週間投与により子宮の CYP1A1 mRNA の発現を用量依存的に誘導したが、子宮の CYP1B1、CYP3A2 又は CYP4A1 mRNA は誘導しなかった。

子宮におけるアンドロゲン受容体又はエストロゲン受容体の発現には、一貫した変化はみられなかった。アンドロゲン又はエストロゲンへの反応性が知られており、子宮において調節障害がみられた遺伝子は、180 mg/kg/日の投与後では Dmbt（deleted malignant brain tumors）蛋白質のみであり、また、60 及び 180 mg/kg/日投与後においては腎臓アンドロゲン調節蛋白質（Kap）のみであった。これらの変化は、子宮におけるアンドロゲン駆動の増加よりもエストロゲン駆動の低下に一致するものと考えられた。

2.6.6.8.1.3 単回投与時のステロイド合成関連遺伝子の発現に対する影響

参照項：4.2.3.7.3.3 (参)　　試験番号：2144KR

本試験の目的は、卵巣におけるステロイド合成に関わる遺伝子の転写に対するチカグレロルの影響の有無を検討し、前述の試験 1800KR で報告された循環血中性ステロイドの変化を説明できるか否かを調べることであった。1 群 10 匹の雌 Han Wistar ラットの発情間期に、チカグレロルを 0（媒体のみ）又は 180 mg/kg の用量で単回投与した。

卵巣の試料も剖検時に採取し、ステロイド合成に関連する一連の遺伝子（Actinb、Gapdh、StAR、CYP19、CYP11a1、CYP17a1、CYP21a1、Nr4a1、Ccnd2、Esr1、Ar、Hsd17b1 及び Hsd17b2）の mRNA 発現も検討した。

卵巣において観察された遺伝子発現の変化はいずれも軽微で、かつ生物学的重要生の低いものばかりであった。このことからは、チカグレロルが卵巣におけるステロイド合成関連遺伝子の転写に実質的な影響を及ぼしていないことが示唆された。

2.6.6.8.1.4 短期（14～18 日間）投与時の子宮内分泌シグナル伝達、増殖マーカー及びステロイド合成関連遺伝子発現への影響

参照項：4.2.3.7.3.4 (参)　　試験番号：2227KR

本試験の目的は、チカグレロルの短期投与（14～18 日間）により、腫瘍誘発のメカニズムを示唆するような子宮の変化がみられるか否かを検討することであった。1 群 20 匹の雌 Han Wistar ラットに、チカグレロルを 0（媒体）、60 又は 180 mg/kg の用量で 14～18 日間連日投与した。剖検

日に血液試料を採取して、エストラジオール、プロゲステロン、テストステロン、DHEA、黄体形成ホルモン（以下 LH）及び FSH を測定した。発情前期にある動物を安楽殺して剖検した。子宮の試料を採取して、病理組織学的検査、免疫組織化学的検査並びに Ki-67（細胞周期関連核タンパク質）及びリン酸化ヒストン H3 染色切片の画像解析を行い、これに加えてアンドロゲン受容体及びエストロゲン受容体の免疫組織化学染色も実施した。子宮頸部及び腟についても病理組織学的検査を行った。子宮の試料を採取し、mRNA 発現によるアンドロゲン受容体及びエストロゲン受容体レポーター遺伝子産物を測定した。卵巣の試料を採取して Actinβ、Star、CYP19、CYP11a1、CYP17a1、Nr4a1、Ccnd2、Hsd17β1 及び Hsd3β1（いずれもステロイド合成に関連）の mRNA 発現を調べた。定量的 PCR による mRNA 解析も行い、選択された遺伝子の相対的発現を調べた。アロマターゼ活性測定用の卵巣試料も採取した。

チカグレロルを 60 及び 180 mg/kg/日の用量で投与したところ、血漿テストステロン値の増加がみられ、それと並行してエストラジオール値及び FSH 値の減少（60 mg/kg/日のみ）が認められた。子宮では、チカグレロルを 180 mg/kg/日の用量で Mmp7（細胞外基質分解酵素マトリライシン）、Dmbt1（Deleted in malignant brain tumors 1）及び Kap（kidney androgen regulated protein）遺伝子の転写減少がみられ、これに一致してエストロゲン駆動の低下が認められた。転写解析により子宮におけるアンドロゲン駆動の増加を示すことはできなかった。特異的な卵巣アロマターゼ活性には投与の影響はみられなかった。子宮にはチカグレロル投与に関連する子宮の形態学的変化はみられず、投与群の動物にみられた子宮の上皮及び間質の増殖活性の差は、ホルモンへの影響による二次的な性周期の変化を反映したものと考えられる。

2.6.6.8.1.5 培養卵巣細胞におけるステロイド合成に対する影響

参照項：4.2.3.7.3.5 (参)　　試験番号：1778KV

本試験は、チカグレロルが性ホルモンの内分泌、合成及び卵巣からの放出に影響を及ぼすか否かを検討し、影響がある場合はその分子的メカニズムを検討するために実施した。

新鮮なラット卵巣から調製した初代培養細胞を用い、黄体形成ホルモン（LH）又はウマ絨毛膜ゴナドトロピン（eCG）を作用させ、培地内にエストラジオール、テストステロン、プロゲステロン及びアンドロステンジオンを分泌させた。これにより示されたステロイド合成は、ケトコナゾール、トリロスタン及びアリミデックス（アナストロゾール）により阻害された。チカグレロルは測定したすべてのステロイドを 3 μmol/L の濃度で阻害した。チカグレロルと同様に $P2Y_{12}$ 受容体を標的とするカングレロールにはそのような作用はみられなかったことから、ステロイド合成阻害作用はチカグレロルの薬効薬理作用によるものではないことが示唆された。さらにステロイド添加実験を実施してチカグレロルがステロイド合成酵素を直接阻害するか否かを検討し、定量的 PCR 法を用いてチカグレロルが培養中での転写レベルにおいてステロイド合成酵素の発現に影響を及ぼすか否かを検討した。その結果、チカグレロルは培養ラット卵巣細胞によるステロイド合成を阻害することが示された。本薬は、テストステロン、エストラジオール及びプロゲステロンを含む測定されたすべての性ステロイドの合成を阻害した。チカグレロルは、前駆体としてのプレグネノロンに依存するステロイド合成に関与するいずれの酵素の活性に対しても、測定可能な阻害作用を示さなかった。チカグレロルは CYP19 又は StAR の発現に影響を及ぼさなかったが、24 時間での LH による CYP17 の誘導を阻害した。

2.6.6.8.1.6 培養副腎細胞におけるステロイド合成に対する影響

参照項：4.2.3.7.3.6 (参)　　試験番号：1517KV

本試験の目的は、ラットの初代培養副腎細胞を用いて、コルチコステロン放出を指標としてステロイドホルモン合成に対するチカグレロルの影響を検討することであった。新鮮なラットの副腎組織を酵素分解処理し、チカグレロルの存在下で 24 時間培養した。必要に応じて副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）を添加し、ステロイド合成を誘導した。ラジオイムノアッセイにより組織培地中に蓄積されたステロイドを測定することにより、ステロイド合成を評価した。

ACTH による外部刺激の非存在下では、コルチコステロンの基礎的合成及び放出はチカグレロルにより阻害され、その IC_{50} は 5.0 μmol/L ± 3.6 であった。高濃度の ACTH（1 nmol/L）の存在下では、明らかな阻害作用は認められなかった。チカグレロルによる阻害作用に対するコルチコステロン合成の感受性は ACTH の濃度に依存し、ACTH の 0.03 nmol/L の濃度ではチカグレロルに対する感受性が約 50%低下した。

2.6.6.8.1.7 アロマターゼ阻害作用の検討

参照項：4.2.3.7.3.7 (参)　　試験番号：1918KV

本試験では、チカグレロルによる *in vitro* でのアロマターゼ阻害作用の有無を検討した。チカグレロルをラット卵巣ミクロソームとともにインキュベートし、アンドロステンジオンの 1β部位からの ^{3}H-水放出をシンチレーション計数により測定した。チカグレロルは、*in vitro* において、10 μmol/L の濃度で卵巣ミクロソームのアロマターゼ活性を阻害しなかった。

2.6.6.8.1.8 雌ラットにおけるプロラクチン放出に対するチカグレロルの影響

参照項：4.2.3.7.3.8　　試験番号：3100KR

チカグレロルの副次的薬理試験により、ドパミントランスポーター（以下 DAT）への結合能が示された。ドパミンはプロラクチン産生機能に対し負の調節作用を示し、DAT 阻害剤は卵巣摘出ラットからのエストラジオール誘発性プロラクチン放出を阻害することが示されているため、エストラジオール誘発性プロラクチン放出に対するチカグレロルの影響を、卵巣摘出ラットを用いて検討した。雌の Han Wistar ラットを麻酔下での外科手術により卵巣を摘出し、頸静脈及び大腿静脈カテーテルを埋設した。7 日間以上の回復期間の後、チカグレロル（180 mg/kg/日；10 匹）又は媒体（1% CMC/0.1% PS80 水溶液；10 匹）を 1 日 1 回、4 日間強制経口投与した。一般状態を毎日観察し、体重を 1、3 及び 4 日目に測定した。重要な試験日（4 日目）におけるチカグレロル又は媒体投与の 1 時間後に、すべてのラットにエストラジオールを投与し（2 μg；頸静脈カテーテル）、プロラクチン放出を誘発した。その後 4 時間にわたり大腿カテーテルから血液試料を定期的に採取し、プロラクチン濃度を測定した。チカグレロル投与の 5 時間後に最終の血液試料を採取し、チカグレロル及び活性を保持する代謝物 AR-C124910XX の血漿中濃度を測定した。試験終了時に全例を剖検して両側の卵巣がないことを確認した。

投与期間中、チカグレロルの投与による一般状態の変化は認められなかった。チカグレロルは媒体対照群と比較して有意に体重を減少させた（5.4%）。チカグレロル投与群では 1 日目から 4 日目にかけて体重減少（平均で 14 g）がみられたが、対照群では体重増加（平均 6.5 g）が認められた。媒体投与群のラットでは、投与の約 2～3 時間後にエストラジオールによるプロラクチン放出のサージが誘発され、平均ベースラインの 2.8 ng/mL からピークの 15.1 ng/mL に上昇した。

対照的に、チカグレロル投与群のラットでは、エストラジオール誘発性のプロラクチン濃度増加がほとんど又は全く認められなかった（図 1）。

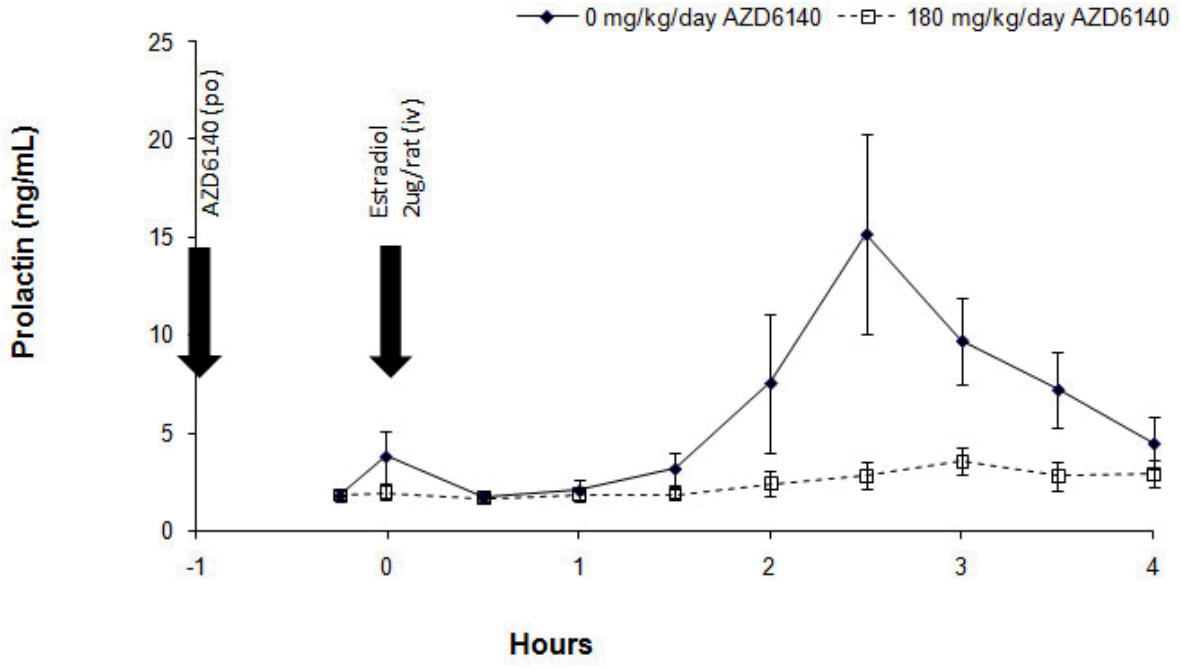


図 1　　チカグレロル（AZD6140）によるプロラクチン分泌阻害

チカグレロル及び AR-C124910XX は、チカグレロルを投与したすべてのラットの血漿中に認められた。チカグレロルの血漿中濃度は 17.3 μg/mL であった。蛋白結合について補正したチカグレロルの血漿中濃度は、チカグレロルによる DAT 結合阻害作用の Ki 値（阻害定数）と非常に近かった（試験 0951SY、2.6.2 項参照）。

以上のように、卵巣摘出ラットにチカグレロル（180 mg/kg/日）を経口投与すると、エストラジオール誘発性プロラクチン放出がほぼ完全に阻害された。

2.6.6.8.2　　不純物の安全性確認

参照項：4.2.3.7.6.1～4.2.3.7.6.14　（いずれも参考資料）

チカグレロル原薬中の不純物の安全性確認の目的で実施した試験を表 10に要約する。

表 10　　チカグレロル原薬中の不純物の安全性確認の目的で実施した試験

被験物質	試験の種類及び期間	投与経路	動物種	GLP	試験番号
不純物1＊	Ames 試験	*in vitro*	ネズミチフス菌及び大腸菌	適用	YV7312
不純物1＊	染色体異常試験	*in vitro*	ヒトリンパ球	適用	SV1355

＊新薬承認情報提供時に置換えた

表 10　チカグレロル原薬中の不純物の安全性確認の目的で実施した試験

被験物質	試験の種類及び期間	投与経路	動物種	GLP	試験番号
不純物1*	染色体異常試験	*in vitro*	ヒトリンパ球	適用	2396-0012
不純物2*	Ames 試験	*in vitro*	ネズミチフス菌及び大腸菌	適用	1415BV
不純物2*	染色体異常試験	*in vitro*	ヒトリンパ球	適用	1889/130 (1420YV)
不純物2*	ラット小核試験	経口	ラット	適用	1885QR
[redacted]（ACP）	Ames 試験	*in vitro*	ネズミチフス菌及び大腸菌	適用	K01-4067
不純物8*	Ames 試験	*in vitro*	ネズミチフス菌及び大腸菌	適用	YV6647
不純物8*	染色体異常試験	*in vitro*	ヒトリンパ球	適用	SV1225
不純物8*	ラット小核試験	経口	ラット	適用	1403QR
DL-マンデル酸	染色体異常試験	*in vitro*	ヒトリンパ球	適用	SV1381
不純物3*/[redacted]*	Ames 試験	*in vitro*	ネズミチフス菌及び大腸菌	適用	0366BV
不純物3*/[redacted]*	マウスリンフォーマ試験	*in vitro*	マウス	適用	0367MV
不純物3*/[redacted]*	1 カ月間反復投与毒性試験	経口	ラット	適用	0660AR

不純物1* は Ames 試験（試験 YV7312）及びヒトリンパ球を用いる染色体異常試験（試験 SV1355、試験 2396-0012）において陰性であった。不純物2* 及は、Ames 試験（試験 1415BV）では陰性であり、ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験（試験 1889/130 (1420YV)） では陽性であったものの、ラット小核試験（試験 1885QR）では陰性であったことから遺伝毒性はないと結論された。これらの不純物は、個別の規格を設定しない有機不純物として 0.1%以下の含有率となるよう管理される（2.3.S.3.2.1 項参照）。

[redacted]* は Ames 試験（試験 K01-4067）で陰性であり、不純物8*（チカグレロル合成の出発物質であり、[redacted]* のマンデル酸塩）も Ames 試験（試験 YV6647）で陰性であったが、ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験（試験 SV1225）においてラット肝 S9 代謝活性化の非存在下で陽性であった。この物質の *in vivo* での染色体異常誘発能の有無を調べるため、ラット小核試験（試験 1403QR）を実施したところ、5 mg/kg の投与量までは陰性であったが、最大耐量である 25 mg/kg において小核を有する幼若赤血球の出現頻度を増加させた。これらの結果から [redacted]* は染色体異常誘発能を有すると判断された。一方、[redacted]* と共に 不純物8* を形成するマンデル酸（ラセミ体）がヒトリンパ球染色体異常試験において陰性であったことから（試験 SV1381）、染色体異常を誘発するのはマンデル酸ではなく [redacted]* であることが示され、[redacted]* を遺伝毒性不純物と判断し、原薬中の含有量を 8 ppm 未満にコントロールすることとなった。この規格設定により、チカグレロル 90 mg を 1 日 2 回服用した際の [redacted]* の 1 日摂取量を 1.5 μg/日以下にコントロールすることが可能となり、この値は遺伝毒性を有する不純物について許容可能なものとされている（Műller et al 2006; European Medicines Agency, 2006）。

＊新薬承認情報提供時に置換えた

安全性の確認が必要となる閾値 0.15%を超えて存在する可能性がある不純物　3＊　、不純物4＊ 及び 不純物6＊ については、表 11に示すようにそれぞれに個別の規格を設定する。

表 11　　個別に規格設定を行う不純物とその規格値

不純物	由来	規格 (%)
不純物3＊	合成中間体	[redacted]
不純物4＊	分解物	[redacted]
不純物6＊	分解物/代謝物	[redacted]

不純物の安全性を確認する目的で、他の一連のロットと比較して不純物含有量が高かった 4855R/A を選択し、[redacted]%の 不純物4＊ を添加した。チカグレロルの遺伝毒性試験（試験 99440 (SR99440-01)、試験 99441 (SR99441-01)、試験 TQR3211）並びにラット 1 カ月間反復投与毒性試験(試験 99302 (SR99302-01))及び 3 カ月間反復投与毒性試験（試験 TPR3143）で使用したロットの不純物含有量を表 12に示す。

表 12　　チカグレロルの遺伝毒性試験並びにラット 1 カ月間及び 3 カ月間反復投与毒性試験で使用したロットの不純物プロファイル

	不純物濃度（%）			
不純物	ロット [redacted][1]	ロット [redacted][2]	ロット [redacted][3]	ロット [redacted][4]
不純物3＊	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
不純物4＊	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted][5]

1　*In vivo* ラット小核試験（試験 TQR3211）で使用した。
2　ラット 1 カ月間反復投与毒性試験（試験 99302）、*in vitro* Ames 試験（試験 99440 (SR99440-01) ）及び *in vitro* マウスリンフォーマ TK 試験（試験 99441 (SR99441-01) ）で使用した。
3　ラット 3 カ月間反復投与毒性試験（試験 TPR3143）で使用した。
4　不純物3＊ 及び 不純物4＊ の安全性確認の目的で実施したラット 1 カ月間反復投与毒性試験（試験 0660AR）、*in vitro* Ames 試験（試験 0366BV）及び *in vitro* マウスリンフォーマ TK 試験（試験 0367MV）において使用した。
5　安全性確認の目的で、ロット [redacted] には 不純物4＊ を [redacted]%の濃度になるように添加した。

ロット [redacted] に 不純物4＊ を添加し、その含有量が [redacted]%となるようにした。このロットには 不純物3＊ も [redacted]%の含量で含まれていた。このロットは Ames 試験（試験 0366BV）及びマウスリンフォーマ試験（試験 0367MV）において陰性であったことから、不純物3＊ 及び 不純物4＊ はいずれも遺伝毒性はないと結論された。 不純物3＊ 及び 不純物4＊ は、チカグレロルそのものと極めて類似した化学構造を共有している（図 2）。チカグレロル自体には遺伝毒性はなく（2.6.6.4項参照）、構造活性相関の観点からも 不純物3＊ 及び 不純物4＊ が非遺伝毒性不純物であるということが裏付けられる。

＊新薬承認情報提供時に置換えた

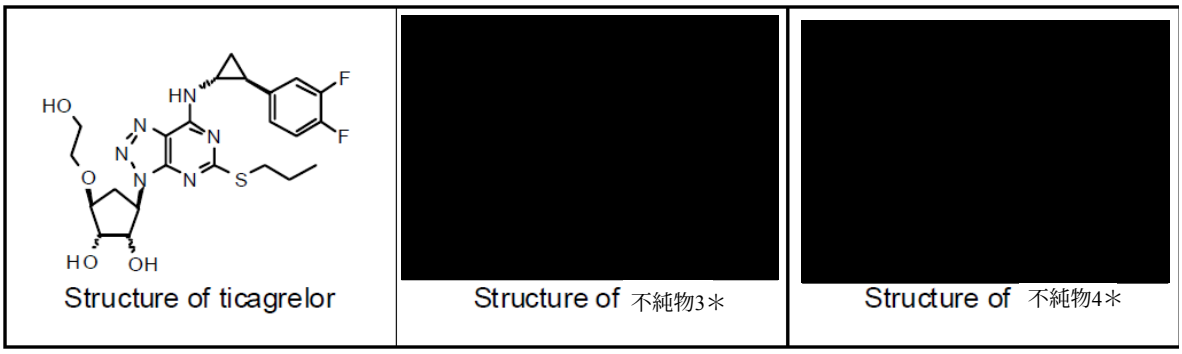


図 2　　チカグレロル及び不純物　3＊　及び 不純物4＊ の構造

安全性の評価に必要な十分な量の 不純物3＊ 及び 不純物4＊ を含有するロット（[redacted]）を用いて実施したラット 1 カ月間反復投与毒性試験（試験 0660AR）で観察された毒性所見は、ラットの一般毒性試験で得られた結果と差がなかった。すなわち、最高用量（180 mg/kg/日）で胃、副腎及び肝臓重量の増加、並びに、胃、副腎及び肺の病理組織学的変化が観察され、60 mg/kg/日では、雌のみで胃及び肝臓重量の増加がみられた。これらの毒性変化は、ラットの 1 カ月間反復投与毒性試験（試験 99302 (SR99302-01)）及び 3 カ月間反復投与毒性試験（試験 TPR3143）でも観察されたものであり、このロットを使用した試験だけで観察された毒性変化はなかった。従って、不純物に起因すると考えられる毒性の発現はなかったと判断できる。このことから、このロットを用いて 180 mg/kg/日の投与量で投与した際の各不純物の摂取量をそれぞれの無毒性量と考えることができ、その値は、不純物3＊ で [redacted]mg/kg/日、不純物4＊ では [redacted] mg/kg/日となる。動物試験及びヒト臨床試験においては、不純物3＊ 及び 不純物4＊ への曝露量を測定していないことから、体表面積当たりの摂取量に換算して臨床用量を服用した際のヒトでの摂取量とラット 1 カ月間反復投与毒性試験（試験 0660AR）での無毒性量を比較すると、不純物3＊ 及び 不純物4＊ でそれぞれ少なくとも 3.8 倍及び 3.2 倍の安全域が存在することがわかり、原薬におけるこれらの不純物の含有量に関する規格が妥当なものであることが示される（表 13）。

表 13　　不純物3＊ および 不純物4＊ の安全性の確認（試験 0660AR）

不純物	規格値案 (%)	[redacted] における含有量 (%)	無毒性量（体表面積当たり摂取量）[1] (mg/m^2/日)	ヒトでの予想最大摂取量（体表面積当たり摂取量）[2] (mg/m^2/日)	安全域[3]
不純物3＊	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	3.8
不純物4＊	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	3.2

1　試験 0660AR において確認された不純物の無毒性量を体表面換算で示した値 (mg/m^2/日) = （不純物含有量/100）×（180 mg/kg/日）× 6 kg/ m^2

2　ヒトでの予想最大摂取量　体表面積当たり摂取量） (mg/m^2/日) = （規格値/100）× 90 mg ×2 / ヒト体重 50 kg × 37 kg/m^2.

3　規格上限条件でのヒトの不純物摂取量に対する、ラット試験で確認された不純物無毒性量の比

不純物　6＊　(AR-C133913XX)については、この不純物が毒性試験に使用した動物種（試験 6140DMR20 及び試験 6140DMP21、2.6.4 項参照）及びヒト（試験 D5130C00049、 試験 D5130C00037）における主要な代謝物であり、不純物としてのこの物質への曝露量が代謝物とし

てのこの物質への曝露量を下回ることから、安全性確認を目的とした試験の実施は不要であると判断した。

2.6.6.8.3 光毒性

チカグレロルは体内での半減期が短く、皮膚や眼の組織に蓄積しないことが確認されていることから、光毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.9 考察及び結論

チカグレロルの毒性については一連の *in vivo* 及び *in vitro* 非臨床試験で検討されており、その中には、急性毒性試験、並びにマウスで最長 3 カ月間、ラットで最長 6 カ月間、マーモセットで最長 12 カ月間の反復投与毒性試験が含まれる。主要試験はいずれも GLP を遵守し、ICH ガイドラインに従って実施された。また、一般毒性試験に加え、一連の遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験並びにマウス及びラットを用いた生涯投与によるがん原性試験での検討も行った。

毒性試験で使用した動物種における曝露量は臨床治療時の曝露量を上回っており、これらの動物種では薬理作用が認められたことから、高用量のチカグレロル投与による危険の有無について毒性試験で十分に検討された。チカグレロルについて得られたトキシコキネティクスデータにより、用量増加に伴う曝露量の増加が認められたことから、用量の増加に伴う毒性を十分に検討することができた。非臨床動物種における活性を保持する代謝物 AR-C124910XX への曝露量は高く、毒性試験で使用した動物種における転換率は、未変化体の 28%から未変化体を上回る値までであった。ヒトでは約 40%が転換される。これにより、未変化体のみならず代謝物の安全性についても実施済み毒性試験の中で十分に検討されたと考えられる。ヒトに特有の代謝物は同定されていない。

反復投与毒性試験でみられたチカグレロル投与関連の所見を表 14に要約し、それらの所見が観察された各試験において、臨床治療用量である 90 mg 1 日 2 回投与との比較により算出した曝露マージンを示した。

表 14 各種毒性試験において観察された所見の要約

観察された所見	動物種	試験期間 試験番号	影響がみられない用量とその時のチカグレロル曝露量				
			投与量 mg/kg/日	C_{max} [a] μg/mL	C_{max} 比 [b]	AUC [a] μg·h/mL	AUC 比 [c]
消化管の変化							
胃の刺激性変化（びらん、扁平上皮過形成、浮腫及び炎症）	ラット	1 カ月 99302 (SR99302-01)	80	6.52	7.0	78.9	6.5
		3 カ月 TPR3143	180	26.3	28.2	414	34.0
		6 カ月 456930 (0400PR)	180	16.7	17.9	228	18.8

表 14　各種毒性試験において観察された所見の要約

観察された所見	動物種	試験期間 試験番号	影響がみられない用量とその時のチカグレロル曝露量				
			投与量 mg/kg/日	C_{max} [a] μg/mL	C_{max} 比 [b]	AUC [a] μg·h/mL	AUC 比 [c]
胃重量増加	マウス	3 カ月 456925 (0085PM)	250	14.1	15.1	164.6	13.5
	ラット	1 カ月 99302 (SR99302-01)	20	1.35	1.5	12.1	1.0
		3 カ月 TPR3143	60	8.43	9.1	97.2	8.0
		6 カ月 456930 (0400PR)	60	5.54	6.0	50.7	4.2
以下の所見の 1 つ以上： 小腸：萎縮、びらん、微小膿瘍、急性出血性及び／又は壊死性腸炎及び出血性内腔残屑（日和見細菌感染が 2 例）；盲腸：大腸炎、びらん、出血性内腔残屑、炎症性細胞浸潤、出血性変性	マーモセット	1 カ月 99228 (SR99228-01)	200	10.2	11.0	158	13.0
		3 カ月 575049	100[d]	13.1	14.1	152	12.5
		12 カ月 505453	<10	<1.10	<1.2	<7.4	<0.6
副腎の変化							
副腎重量増加	マウス	3 カ月 456925 (0085PM)	250	14.1	15.1	164.6	13.5
	ラット	1 カ月 99302 (SR99302-01)	80	6.52	7.0	78.9	6.5
		3 カ月 TPR3143	20	2.01	2.2	19	1.6
		6 カ月 456930 (0400PR)	60	5.54	6.0	50.7	4.2
以下の所見の 1 つ以上： 副腎：巣状皮質肥	マウス	3 カ月 456925 (0085PM)	250	14.1	15.1	164.6	13.5

表 14　各種毒性試験において観察された所見の要約

観察された所見	動物種	試験期間 試験番号	影響がみられない用量とその時のチカグレロル曝露量				
			投与量 mg/kg/日	C_{max} [a] μg/mL	C_{max} 比 [b]	AUC [a] μg·h/mL	AUC 比 [c]
大、炎症巣、空胞化	ラット	1 カ月 99302 (SR99302-01)	20	1.35	1.5	12.1	1.0
		3 カ月 TPR3143	180	26.3	28.2	414	34.0
		6 カ月 456930 (0400PR)	60	5.54	6.0	50.7	4.2
卵巣の変化							
卵巣重量減少、間質細胞肥大及び／又は黄体欠如	マウス	3 カ月 456925 (0085PM)	250	14.1	15.1	164.4	13.5
卵巣間質細胞の空胞化／泡沫化	ラット	1 カ月 0660AR	>180	18.5	19.9	235.7	19.4
		1 カ月 99302 (SR99302-01)	>300	41.2	44.3	706	58.1
		3 カ月 TPR3143	60	8.43	9.1	97.2	8.0
		6 カ月 456930 (0400PR)	60	5.54	6.0	50.7	4.2
肝臓の変化							
血漿 ALP 増加	マウス	3 カ月 456925 (0085PM)	250	14.1	15.1	164.6	13.5
	ラット	1 カ月 99302 (SR99302-01)	80	6.52	7.0	78.9	6.5
		3 カ月 TPR3143	60	8.43	9.1	97.2	8.0
		6 カ月 456930 (0400PR)	60	5.54	6.0	50.7	4.2
血漿 ALT 増加（2 倍未満）	ラット	1 カ月 99302 (SR99302-01)	80	6.52	7.0	78.9	6.5
		3 カ月 TPR3143	60	8.43	9.1	97.2	8.0

表 14　各種毒性試験において観察された所見の要約

観察された所見	動物種	試験期間 試験番号	影響がみられない用量とその時のチカグレロル曝露量				
			投与量 mg/kg/日	C_{max} [a] μg/mL	C_{max} 比 [b]	AUC [a] μg·h/mL	AUC 比 [c]
		6 カ月 456930 (0400PR)	60	5.54	6.0	50.7	4.2
肝臓重量増加	マウス	3 カ月 456925 (0085PM)	50	3.03	3.3	12.9	1.1
	ラット	1 カ月 99302 (SR99302-01)	20	1.35	1.5	12.1	1.0
		3 カ月 TPR3143	60	8.43	9.1	97.2	8.0
		6 カ月 456930 (0400PR)	60	5.54	6.0	50.7	4.2
出血性変化							
ヘモグロビン量、ヘマトクリット値及び赤血球数の減少及び／又は網状赤血球数増加	マウス	3 カ月 456925 (0085PM)	50	3.03	3.3	12.9	1.1
	ラット	1 カ月 99302 (SR99302-01)	80	6.52	7.0	78.9	6.5
		3 カ月 TPR3143	60	8.43	9.1	97.2	8.0
	マーモセット	1 カ月 99228 (SR99228-01)	>200	>10.2	>11.0	>158	>13.0
		3 カ月 575049	>100[d]	>13.1	>14.1	>152	>12.5
		12 カ月 505453	50	6.53	7.0	52.8	4.3
高用量で 1 種においてのみ観察されたその他の変化							
骨髄の漿液性萎縮／脂肪萎縮	ラット	1 カ月 99302 (SR99302-01)	80	6.52	7.0	78.9	6.5
		3 カ月 TPR3143	>180	>26.3	>28.2	>414	>34.0

表 14　各種毒性試験において観察された所見の要約

観察された所見	動物種	試験期間 試験番号	影響がみられない用量とその時のチカグレロル曝露量				
			投与量 mg/kg/日	C_{max} [a] μg/mL	C_{max} 比 [b]	AUC [a] μg·h/mL	AUC 比 [c]
		6 カ月 456930 (0400PR)	>180	>16.7	>17.9	>228	>18.8
	マーモセット	1 カ月 99228 (SR99228-01)	200	10.2	11.0	158	13.0
		3 カ月 575049	100[d]	13.1	14.1	152	12.5
		12 カ月 505453	>50	>6.54	>7.0	>52.8	>4.3
腎尿細管の好塩基性化	マウス	3 カ月 456925 (0085PM)	250	14.1	15.1	164.6	13.5
精細管上皮変性	マウス	3 カ月 456925 (0085PM)	50	3.03	3.3	12.9	1.1
泡沫状肺胞マクロファージの発現頻度及び重症度の増加（「軽微」を上回る）	ラット	1 カ月 99302 (SR99302-01)	80	6.52	7.0	78.9	6.5
		3 カ月 TPR3143	60	8.43	9.1	97.2	8.0
		6 カ月 456930 (0400PR)	60	5.54	6.0	50.7	4.2

a　卵巣の変化に関するトキシコキネティクスデータが雌のみのデータであるのを除き、C_{max} 及び AUC は、各試験の最終試料採取日における測定値の雌雄平均値。

b　C_{max} 比は、表に示した動物での曝露量（C_{max}）と、アジア共同第Ⅱ相試験（試験 D5130C00065）の 28 日目における 90 mg 1 日 2 回投与後に測定されたヒト（安定期の冠動脈疾患を有する日本人患者）での C_{max} である 0.931 μg/mL との比として算出した。

c　AUC 比は、表に示した動物の曝露量（AUC）と、アジア共同第Ⅱ相試験（試験 D5130C00065）の 28 日目ににおける 90 mg 1 日 2 回投与後に測定されたヒト（安定期の冠動脈疾患を有する日本人患者）での 1 日の AUC（28 日目、12 時間の AUC 6.08 μg·h/mL の 2 倍が 1 日の AUC 12.16 μg·h/mL）との比として算出した。

2.6.6.9.1　反復投与毒性

チカグレロルの反復投与毒性試験では、消化管、副腎、卵巣及び肝臓に変化がみられ、また高用量を投与した際に 1 動物種のみで観察された変化がいくつかあった。また、潜在性出血の徴候が観察された。これらの所見の毒性学的意義について以下に考察する。

2.6.6.9.1.1 消化器系への影響

すべての非臨床動物種で共通してみられた主要な毒性の標的器官は消化管であった。観察された所見の部位及び内容は動物種間で違いが認められたが、いずれも可逆的な変化であった。マウスでは腹部膨満がみられたが、これに伴う組織学的変化は認められなかった。ラットでは胃重量の増加がみられ、粘膜びらん、扁平上皮過形成、浮腫及び炎症といった変化が、主に上部消化管に認められた。マーモセットは消化管への影響に対する感受性が最も高い動物種であったが、小腸及び／又は大腸における所見には一貫性がなく、この動物種で通常みられる腸炎に一致するものであった。これらの所見は多くの試験において、投与群及び対照群の動物のいずれにおいても観察され、チカグレロルの用量の増加及び投与期間の延長に伴って発現頻度及び重症度が増加した。このことから、実験用マーモセットで高頻度にみられる背景的な腸炎が、チカグレロルの投与により増悪したと考えられる。消化管の変化が局所的な刺激性変化であるか又は全身性薬理作用の血小板凝集阻害に起因する出血の増加によるものかは不明であるが、出血性壊死はマーモセットのみで散発的にみられ、げっ歯類では認められなかった。マーモセットでは消化管の変化を除いて他に毒性の標的器官はみられず、安全域は広かった。

個々の試験の一部ではマーモセットにおける消化管の変化がチカグレロルの投与に関連するものと述べられているが、これらの変化を総覧すると、以下の理由から、ヒトへの外挿性に関しては明確な結論が難しい。

- マーモセットは取扱い及び拘束のストレスによる腸炎に対する感受性が高いことが知られており（Ludlage and Mansfield 2003; Tucker 1984）、試験の所見はこれに一致する。
- マーモセットに通常みられる腸炎が、チカグレロルの投与により、少なくとも部分的にはその薬理作用に関連して増悪したと考えられる。

他の動物種における消化管の変化は概して高用量で観察され、ヒトへの治療効果がみられる曝露量より明らかに高い曝露量で認められた（表 14）。

2.6.6.9.1.2 副腎への影響

げっ歯類ではチカグレロルによる可逆的な副腎重量の増加がみられ、副腎皮質の空胞化又は巣状肥大を伴う場合もあった。これらの変化は、一般状態の変化及び／又は死亡もみられる十分に高い用量のみで認められた。ラットで 6 カ月間投与によりみられた病理組織学的変化の無作用量は 60 mg/kg/日、マウス 3 カ月間投与では 250 mg/kg/日であり、臨床用量での曝露と比較した時の安全域はそれぞれ約 4 倍及び 13 倍であった。チカグレロルは *in vitro* でラット副腎細胞におけるステロイド合成（プロゲステロン及びコルチコステロン）を阻害したが、この作用は生理学的濃度の ACTH により抑制された。また、鉱質コルチコイド作用の低下に一致して、摂水量及び尿量の増加並びにナトリウム排泄（ラットのみで測定）がげっ歯類で認められた（試験 456925 (0085PM)、試験 456930 (0400PR)）。これらの所見により、副腎が視床下部－下垂体－副腎軸を介した刺激の増加に反応したことが示唆される。マーモセットでは、一般状態の変化及び死亡がみられる用量においても、同様の変化は認められなかった。更に、臨床試験では副腎機能障害を示唆する徴候又は症状は認められなかった。

2.6.6.9.1.3 卵巣への影響

マウス 3 カ月間反復投与毒性試験（試験 456925 (0085PM)）において、間質細胞肥大及び黄体欠如を伴う卵巣重量の減少が、750 mg/kg/日群の雌の数例に認められた。この用量では一般状態の変化及び死亡もみられている。この所見の確定した無作用量は 250 mg/kg/日であり、臨床用量

での曝露と比較すると、13 倍の安全域が得られている。これらの所見は最大耐量を大幅に上回る用量で観察されており、マウスのみの所見であることから、ヒトへのリスクを示すものではないと結論される。

ラット 3 カ月間（試験 TPR3143）及び 6 カ月間反復投与毒性試験（試験 456930 (0400PR)）の高用量群では、卵巣間質細胞の空胞化／泡沫化の発現頻度の増加がみられ、安全域は臨床用量における曝露量の約 4 倍であった。しかしながら、これらの反復投与毒性試験又は雌の受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験においては、排卵又は黄体形成への影響は認められなかった。これらの卵巣間質細胞の変化は適応的な性質のものと考えられ、ラットの培養卵巣細胞におけるチカグレロルのステロイド合成阻害作用に一致するものである。

2.6.6.9.1.4 肝臓への影響

マーモセットの肝臓においてはチカグレロルによる毒性変化は認められなかった。マーモセット 3 カ月間反復投与毒性試験でみられた肝臓の病変は、投与時の外傷によるものでありチカグレロルとは関連しないと判断された。

チカグレロルの影響によるげっ歯類の肝臓の変化としては、肝臓重量の増加、肝酵素誘導、ALP 及び／又は ALT の軽度増加並びに小葉中心性肝細胞肥大が認められた。ALP 及び ALT の増加を説明できる肝細胞障害の組織学的エビデンスはみられず、この所見はラットでは回復性が示された。したがって、げっ歯類の肝臓で観察されたこれらの変化は、肝臓における高い薬物負荷への反応による適応性酵素誘導と考えられる。この変化に伴って、げっ歯類の肝臓ではしばしば腺腫及び癌の増加が認められる。ラットの最高用量ではビリルビンの変化も観察された。

ラット長期投与試験における酵素濃度増加についての無作用量は 60 mg/kg/日であり、それによる安全域は 4 倍以上であった。肝臓重量の増加は、マウスでは 250 mg/kg/日以上、ラット（特に雌）では 180 mg/kg/日以上で約 25%にも達したが、統計学的に有意な増加はより低い用量でも認められた。その結果、無作用量はマウスで 50 mg/kg/日、ラットで 20 mg/kg/日となり、それによる安全域はそれぞれ 1.1 及び 1.0 であった。

2.6.6.9.1.5 出血

試験に用いたすべての動物種において、高用量での潜在性出血の徴候がみられ、その所見として脾臓の重量増加及び造血増加、ヘモグロビン量、赤血球数及び／又はヘマトクリット値の減少並びに網状赤血球数及び血小板数の増加といった臨床検査値の変化が認められた。剖検では明らかな出血はみられなかったが、胃の刺激性変化に関連する出血及び腸間膜リンパ節における赤血球貪食の所見により、潜在性の出血が示唆された。これらの変化の無作用量は、ラット及びマーモセットではヒトにおける治療時曝露量より 4〜9 倍高く、マウスではヒトへの曝露量と同程度であった。これらの所見は、チカグレロルの薬理作用である血小板凝集阻害作用に一致するものである。

2.6.6.9.1.6 高用量で特定の 1 動物種においてのみ観察されたその他の変化

チカグレロル高用量群のマーモセットにおいては、リンパ組織及び時には骨髄にも変化が認められた。マーモセットにみられた変化は、この動物種での発現が知られている背景所見の増悪に関連すると考えられる（Ludlage and Mansfield 2003; Tucker 1984）。末梢血白血球分類では一貫した変化はみられなかった。これらの所見の多くは、高度の一般状態の変化がみられた高用量で観

察されたことから、最高用量でのストレスによる二次的な変化と考えられ、患者へのリスクを提示するものではないと考えられる。

チカグレロルの投与に関連した唯一の呼吸系の毒性所見は、ラットにおける泡沫状肺胞マクロファージの発現頻度及び重症度の増加であった。この所見は他の動物種ではみられず、最高用量群において 1 カ月間以上の投与により観察され、回復が認められた。これらの所見は軽度の病変であり、6 カ月間投与による無作用量が 60 mg/kg/日であることから（ヒトにおける治療時曝露量に対する安全域は約 4 倍から 9 倍）、この所見は患者におけるリスクを提示するものではないと考えられる。

マウス 3 カ月間反復投与毒性試験においては、投与関連の腎症が 750 mg/kg/日以上の群の雌雄で認められた。所見としては、慢性進行性腎症と呼ばれる腎尿細管の好塩基性化の亢進が認められた。750 mg/kg/日では一般状態の変化及び死亡も観察された。これらの所見に関する無作用量は 250 mg/kg/日であり、この用量での安全域は 13 倍である。この所見は高用量でみられ安全域が大きいことから、ヒトへのリスクを提示するものではないと結論される。

マウス 3 カ月間反復投与毒性試験においては、軽微から中等度の精細管上皮変性が、チカグレロル 250 mg/kg/日以上の用量で数例の雄に認められた。無作用量の 50 mg/kg/日では 1.1 倍の安全域が示された。この所見はマウスに限定的で、ラット及びマーモセットにおいては、はるかに高い曝露量でも認められなかったことから、ヒトへのリスクを提示するものではないと考えられる。

2.6.6.9.2 遺伝毒性

チカグレロル及び活性を保持する代謝物 AR-C124910XX は *in vitro* の Ames 試験及びマウスリンフォーマ試験で遺伝毒性を示さず、チカグレロルは *in vivo* ラット小核試験において遺伝毒性を示さなかった。合成中間体及びチカグレロル不純物の遺伝毒性に関する一連の評価において、問題があると判明した唯一の不純物は [redacted] であった。ヒトへの経口用量である 90 mg 1 日 2 回において、この不純物は TTC（Műller et al 2006; European Medicines Agency, 2006）の 1.5 μg/日を超えることがないようにコントロールされている。

2.6.6.9.3 がん原性

マウスの試験ではチカグレロルのがん原性のエビデンスは認められなかった。雄ラットにおいてもチカグレロルのがん原性のエビデンスは認められなかった。雌ラットでは、高用量群において腫瘍発現頻度パターンの変化がみられた。その変化は、子宮腫瘍（腺癌）の発現頻度の増加、肝腺腫の発現頻度の増加、乳腺線維腺腫の発現頻度の低下並びに下垂体腺腫及び過形成の発現頻度の低下であった（表 7）。高用量群の雌では性索間質腫瘍の合計の発現頻度の増加がみられたが、個々の腫瘍の有意な増加は認められなかった。表 15にがん原性試験で用いた 3 つの用量での雌ラットにおけるチカグレロル及び AR-C124910XX の曝露量（AUC）と、これらの値をヒト臨床用量での曝露量と比較した際のマージンを示す。雌ラットにおいて腫瘍発現パターンに変化がみられた高用量でのチカグレロル曝露量は臨床用量での曝露量の約 26 倍であり、影響がみられなかった中用量での曝露量は約 7 倍の安全域を与える。

表 15　雌ラットにおける 52 週目のチカグレロル及び AR-C124910XX の AUC 値並びにヒトの治療曝露量に対する曝露マージン

	チカグレロル		AR-C124910XX	
用量 mg/kg/日	AUC(0-24) (µg·h/mL)	曝露マージン [a]	AUC(0-24) (µg·h/mL)	曝露マージン [b]
20	16.4	1.3	4.5	0.83
60	85.2	7.0	18.8	3.5
180	311	25.6	93.2	17.1

a　曝露マージンは、表に示した動物における曝露量（AUC）と、アジア共同第Ⅱ相試験（試験 D5130C00065）の 28 日目における 90 mg 1 日 2 回投与時のヒト（安定期の冠動脈疾患を有する日本人患者）におけるチカグレロルの 1 日曝露量（AUC）との比として算出した。1 日目曝露量は 1 投与間隔（12 時間）の AUC（6.08 µg·h/mL）の 2 倍（12.16 µg·h/mL）とした。

b　曝露マージンは、表に示した動物における曝露量（AUC）と、アジア共同第Ⅱ相試験（試験 D5130C00065）の 28 日目における 90 mg 1 日 2 回投与時のヒト（安定期の冠動脈疾患を有する日本人患者）における AR-C124910XX の 1 日曝露量（AUC）との比として算出した。1 日目曝露量は 1 投与間隔（12 時間）の AUC（2.72 µg·h/mL）の 2 倍（5.44 µg·h/mL）とした。

2.6.6.9.3.1　肝腫瘍

高用量群の雌では、肝腫瘍の発現頻度の軽度増加が認められた。これは酵素誘導、小葉中心性肝細胞肥大及び肝臓重量の増加に関連すると考えられる。ラットでは、チカグレロルによる肝 CYP 酵素誘導が認められた。チカグレロルを雌雄のラットに 20、80 又は 300 mg/kg/日の用量で 1 カ月間投与したところ、肝臓の CYP1A2 及び 4A 蛋白質の増加がみられた。この試験で得られた肝臓の試料について更に解析した結果、肝臓の CYP1A2、2B、2C、2E1、2A、3A 及び 4A に関連する活性の増加が観察された。この酵素誘導による未変化体及び／又は代謝物への全身曝露量の変化は認められなかった。

チカグレロルの酵素誘導能を 1 カ月間の探求的試験（試験 1801KR）で確認したところ、雌ラットにおいて、180 mg/kg/日の用量で CYP1A1/2 及び CYP4A1 値の増加が認められた。この誘導作用は投与後 1 週間及び試験終了時に観察された。この誘導能について更に 3 カ月間の探求的試験で検討したところ、180 mg/kg/日の用量で肝臓の CYP1A1/2 の発現増加がみられ、これに伴って子宮の CYP1A1/2（蛋白質及び mRNA）の発現増加も認められた。肝臓又は子宮における CYP1B1 値（mRNA）の増加は検出されなかった。ラットがん原性試験における肝腫瘍の増加は、軽度の酵素誘導反応を軽度に反映したものである。肝腺腫は発現頻度が低く、高用量群の雌のみにみられ、適応性の肝酵素誘導反応による二次的な変化と考えられることから、 ヒトにおいて問題となるものではないと考えられた。

2.6.6.9.3.2　子宮腺がん

反復投与毒試験及びがん原性試験における所見として、副腎皮質及び卵巣間質細胞の肥大及び空胞化、卵巣嚢胞の増加、性周期の変化並びに腫瘍発現頻度のパターンがみられたことから、高用量群の雌では持続的な内分泌の不均衡が生じたとの仮説が得られた。メカニズム検討試験においてステロイドの合成、血中濃度及びクリアランスへの影響が示され、内分泌系における広範な相互干渉を反映するものと考えられた。エストロゲン受容体又はアロマターゼ活性への直接作用は認められなかった。後述するように（2.6.6.9.3.5項参照）、高用量のチカグレロル投与により雌

ラットでプロラクチン放出の阻害がみられ、これがげっ歯類特異的な機序を介して子宮腺がんの発現につながったと考えられる。

2.6.6.9.3.3 テストステロンに対する影響

経時変化を検討した試験において、チカグレロル投与により発情前期にテストステロンの増加が認められた。この所見は、*in vitro* でみられたテストステロンクリアランスの阻害に関連する可能性がある。雌ラットから採取した肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験により、チカグレロルによるテストステロンのクリアランスの阻害がみられ、その IC_{50}（50%阻害濃度）は 12 μmol/L であった。ヒト肝ミクロソームを用いた同様の試験においても、チカグレロルによるテストステロンのクリアランスの阻害がみられ、その IC_{50} は 23 μmol/L であった。ラットの反復投与毒性試験及びがん原性試験における高用量群の血漿中濃度は、肝ミクロソームを用いたクリアランス阻害についての IC_{50} を大幅に上回っていた。対照的に、ヒトの治療用量における最高血漿中濃度は、ヒト肝ミクロソームを用いたテストステロンのクリアランス阻害についての IC_{50} を顕著に下回っていた。このことから、この作用は毒性試験及びがん原性試験に用いた高用量のみでみられるものと考えられる。

アンドロゲン受容体は子宮内に発現し（Pelletier 2000; Pelletier et al 2000）、テストステロンは卵巣摘出ラットの子宮内膜及び間質のいずれにおいても刺激作用を示す可能性がある（Nantermet et al 2005）。探求的な 3 カ月間反復投与試験（試験 1800KR）においては、卵巣非摘出ラットにおいて、最高用量の 180 mg/kg/日で刺激作用は示されなかった。子宮においてアンドロゲン駆動のエビデンスがみられるか否か、またチカグレロル関連の内分泌不均衡の発現に伴って子宮の前腫瘍性変化が検出されるか否かを検討する試験を並行して実施した。試験 2144KR においては、チカグレロルを 180 mg/kg の用量で雌ラットに単回投与した。この試験ではテストステロン及びエストラジオールの血漿中濃度に明らかな影響はみられなかったことから、この目的を果たすには不十分であると考えられた。試験 2227KR では、チカグレロルによる明らかな血漿テストステロン濃度増加及び血漿エストラジオール濃度低下が認められた。文献により、ラット子宮内でテストステロン及び／又はエストラジオールにより調節されることが示唆されている遺伝子の発現を検討した。これらのデータでは子宮におけるアンドロゲン駆動のエビデンスは示されなかったが、子宮全体における遺伝子発現の変化は比較的感度の低い指標である可能性がある。この試験は期間が短かったことから、子宮における増殖促進作用のエビデンスも十分に示すことができなかった。

2.6.6.9.3.4 副腎及び卵巣の間質細胞肥大

反復投与毒性試験及びがん原性試験でみられた副腎及び卵巣の間質細胞肥大は、適応性の性質を有するものと考えられ、*in vitro* でみられたステロイド合成に対する作用により生じた可能性がある。

2.6.6.9.3.5 プロラクチン作用により説明されるラットの腫瘍パターン変化

観察された腫瘍発現パターン変化（子宮腫瘍の増加並びに乳腺及び下垂体の過形成／腫瘍の減少）は、高用量群の雌における持続的なプロラクチン値低下により特異的に誘発される変化である。これらの投与群では、ヒトにおける治療時曝露量の 22 倍を上回る曝露量が示されている。

いくつかの所見により、高用量群のラットにみられた子宮腫瘍の発現頻度増加には、プロラクチンのメカニズムが関与していることが示唆される。

下垂体の過形成及び腫瘍の発現頻度低下：下垂体腫瘍の発現頻度は、視床下部が促進するプロラクチン産生の低下により減少する。また、ラット下垂体腫瘍は大量のプロラクチンを産生することが多いため、その発現頻度が低下すると循環血中プロラクチンが大幅に減少すると考えられる（Gent et al 1996; Kovacs et al 1977; Neumann 1991）。

乳腺腫瘍の発現頻度低下：プロラクチンは乳腺において直接的な刺激作用を有することから、プロラクチンの低下により乳腺腫瘍は減少する。この現象に関しては十分な科学的検証がなされている（Welsch et al 1970; Blankenstein et al 1984; O'Connor et al 2000; Greaves and Faccini 1984）。

6 カ月後の体重減少：食餌制限及びそれによる体重増加量の減少には、プロラクチン放出の低下を伴うことが示されている。Wistar ラットを用いて食餌制限を行った試験では、下垂体腫瘍及び乳腺腫瘍の発現頻度の低下並びに子宮腫瘍の発現頻度の増加が認められた（Roe et al 1995; Keenan et al 1995a; Keenan et al 1995b）。チカグレロルのラットがん原性試験の高用量群では、これらの所見に符合して、20%を上回る体重増加量の減少が認められた（Roe et al 1995）。

ドパミントランスポーターの阻害：副次的薬理試験（試験 1064SY、2.6.2.3.3 項参照）のデータにより、チカグレロル及び活性を保持する代謝物 AR-C124910XX（試験 1064SY の報告書では AZ11939728 の名称を使用）はドパミントランスポーターと結合し、その Ki はそれぞれ 0.2 μmol/L 及び 0.8 μmol/L、IC_{50} はそれぞれ 0.1 μmol/L 及び 0.6 μmol/L であった。がん原性試験の高用量と同じ 180 mg/kg/日のチカグレロルを投与した雌ラットにおける遊離体の C_{max} は約 300 nmol/L であると算定され、この濃度ではドパミントランスポーター阻害が起こり得ると考えられる。ドパミントランスポーターの阻害によりドパミン濃度が上昇し、その結果、プロラクチン放出が阻害され（Demaria et al 2000）、低プロラクチン状態を惹起すると考えられる。一方、臨床用量のチカグレロルを服用した際のヒトでのフリー体チカグレロルの C_{max} はおよそ 9 nmol/L であると算定され、この濃度ではドパミントランスポーターの有意な阻害は起こらないと考えられる。

チカグレロルによるプロラクチン放出阻害作用の直接的エビデンス：雌ラットの腫瘍発現パターン変化を誘発したチカグレロルの用量と同じ 180 mg/kg での経口投与により、チカグレロルがほぼ完全にプロラクチン分泌を阻害することが確認された（試験 3100KR、2.6.6.8.1.8項参照）。この作用はチカグレロルの副次的薬理作用であるドパミントランスポーター阻害作用によるものと考えられ、これにより下垂体のレベルでドパミン作用促進効果が生じると予想される。

ドパミン作動薬のがん原性試験：ドパミン作動薬であるブロモクリプチンの試験により、本薬のがん原性試験で高用量雌ラットで観察されたのと同様の腫瘍発現パターン変化、すなわち、乳腺及び下垂体腫瘍の減少並びに子宮腫瘍の発現頻度の増加が示されている（Griffith 1977; Richardson et al 1984）。

腫瘍発現頻度データ及び腫瘍データのコインシデンス解析：プロラクチン低下が乳腺及び下垂体腫瘍の減少及び子宮腫瘍の増加という腫瘍発現パターン変化の主要な原因であるという仮説を更に検証するため、個々の動物について腫瘍コインシデンス（ある腫瘍がみられた動物で、同時に他の腫瘍がみられるかどうか）を調べた。がん原性試験で使用した動物について、個体ごとに乳腺腫瘍の発現と子宮腫瘍の発現の関連生を分析し、これらの内分泌関連腫瘍の発現頻度パターンにおける関連性の有無を検討し、その結果、以下のことが判明した。

- チカグレロルの 60 mg/kg/日までの濃度では、乳腺及び子宮腫瘍の頻度並びにそれらのコインシデンスの頻度への影響は認められない。
- 乳腺及び子宮腫瘍のコインシデンスは低く、チカグレロルの 180 mg/kg/日までの用量では増加しない。

- チカグレロルの 180 mg/kg/日の用量では、子宮腫瘍がみられるが乳腺腫瘍がみられない動物の頻度増加が認められる。また、乳腺腫瘍がみられるが子宮腫瘍がみられない動物の頻度減少も認められる。

これらの結果をまとめると、乳腺腫瘍の発現頻度と子宮腫瘍の発現頻度の間には負の相関関係が認められる。これらのパターンは、ブロモクリプチン投与或いは食餌制限による試験でみられたように、プロラクチン低下の結果による腫瘍発現パターンと一致するものである。

プロラクチン仮説についての結論：プロラクチン濃度の変動による腫瘍パターンへの影響はよく知られており、体重増加量減少又はドパミンへの直接作用を示す他の薬物又は処置によって、チカグレロルでみられたのと同様のラットにおける腫瘍形成パターンの変化が認められる。これらの所見及びその詳細な発症の解析については、多数の報告がある（Griffith 1977; Richardson et al 1984; Roe et al 1995）。ラットがん原性試験で得られたようなチカグレロルの高い血漿中曝露濃度によるプロラクチン放出阻害作用は、恐らくその高濃度におけるドパミントランスポーター阻害能により二次的に生じたものであることが示されている。プロラクチンは、げっ歯類の性周期におけるプロゲスチン優勢相に不可欠な強力な黄体刺激作用をラットで示すことが、文献で報告されている（Ben-Jonathan et al 2008; Smith et al 1976）。このため、プロラクチンが低下すると、対抗するものがなくなった性周期のエストロゲン相が相対的に増加する。長期的には、これにより子宮腫瘍の増殖が促進されると考えられる（Neumann 1991）。プロラクチンは霊長類では黄体刺激作用を示さないため、このメカニズムはヒトには当てはまらない（Alison and Capen 1994; Ben-Jonathan et al 2008; Freeman et al 2000）。したがって、ラットがん原性試験でみられた子宮腫瘍の所見は、ヒトにおいて問題となるものではないと考えられる。

2.6.6.9.3.6 がん原性試験についてのまとめ

以上述べてきたデータにより、子宮癌の発現頻度の増加は、高用量群の雌のみでみられた持続的なホルモン不均衡の変化により生じたと考えられる。これらのメカニズムにおいて最も重要なことは、プロラクチン放出阻害による続発症は高用量群の雌のみにみられており、ヒトの治療用量において問題となるものでないと考えられることである。肝腫瘍の増加は観察された酵素誘導に関連するものと考えられる。チカグレロルには変異原性はみられず、がん原性試験の無作用量である中用量における安全域は約 7 倍である。マウス又は雄ラットにおいては、がん原性は認められなかった。これらのデータに基づく総合的な結論として、チカグレロルはヒトにおいてがん原性のリスクを提示しないと判断した。

2.6.6.9.4 生殖発生毒性

雌ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（試験 0337GR）においては、すべてのチカグレロル投与群において、交配前投与期間中に不規則な性周期の回数増加が認められた。最も高頻度にみられた所見は発情期延長であった。チカグレロルのいずれの用量においても、性周期の不規則による雌の受胎能又は生殖能への悪影響は認められなかった。本試験の最高用量である 200 mg/kg/日での推定 AUC をヒトの治療用量である 90 mg 1 日 2 回投与での曝露量と比較すると約 18 倍であった。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（試験 0307TR）では 300 mg/kg/日で母動物毒性がみられ、これらの動物では、チカグレロル投与による作用に一致して胃及び十二指腸のびらんが認められた。300 mg/kg/日以下の用量では、胚・胎児の生存に対するチカグレロルの悪影響は認められなかった。いずれの群においても、重大な外表、内臓又は骨格異常は観察されなかった。

チカグレロル 300 mg/kg/日での母動物毒性に関連する発生異常のエビデンスとして、肝副葉の同腹児発現頻度の増加、網膜皺襞を有する胎児数の増加並びに軽微な骨格発生所見及び変異の同腹児発現頻度の増加が認められた。母動物毒性及び胚・胎児毒性に関する無毒性量は、それぞれ 20 mg/kg/日及び 100 mg/kg/日であった。胎児への影響に関する無毒性量の 100 mg/kg/日における安全域は、推定 AUC に基づいて算出するとヒト治療用量の 90 mg 1 日 2 回投与と比較して約 4.4 倍である。

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（試験 0046TB）においては、高用量群（63 mg/kg/日）の母動物から得られた胎児に、肝成熟及び骨格発達のわずかな遅延が認められた。母動物への投与に関連する所見は、チカグレロルのすべての用量で投与期間中において少数例にみられた低頻度の暗色尿及び／又は尿産生低下のみであった。胎児の所見に関する無毒性量は 21 mg/kg/日であった。高度の網膜皺襞が、42 mg/kg/日群の異なる 2 腹から得られた 2 胎児で片側にみられ、高用量群（63 mg/kg/日）の 1 胎児で両側に認められた。この非用量依存的な所見とチカグレロル投与との関連の有無を検討するため、作用の差の検出力を高めた第 2 の試験（試験 0073KB）を、ウサギを用いて実施した。この試験において、眼の片側性の重大な異常が、対照群の 44 匹中 3 匹の母動物から得られた 4 胎児及びチカグレロル投与群（63 mg/kg/日）の 44 匹中 2 匹の母動物から得られた 2 胎児に認められた。これらの所見に基づいて、ウサギを用いた最初の試験でみられた網膜の変化は投与関連ではないと結論された。したがって、胎児所見に関する無毒性量は 42 mg/kg/日であり、この用量での推定 AUC をヒトの治療用量である 90 mg 1 日 2 回投与での曝露量と比較すると約 0.9 倍であった。

ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 （試験 AA41453 (1591WR)）では、チカグレロルの高用量（180 mg/kg/日）において軽度の母動物毒性及び発生毒性が認められ、その特徴は、妊娠中の母動物の体重増加量の減少並びに出生児の生存率の低下、出生時体重減少及び成長遅延であった。無毒性量は 60 mg/kg/日であった。反射の発達はいずれの群でも正常であった。離乳時の母動物及び F_1 児の剖検では投与関連の病変はみられず、選択された F_1 ラットには投薬関連の死亡は認められなかった。性成熟には影響はみられず、F_1 世代の交尾能及び受胎能には、母動物への投与による明らかな影響は認められなかった。無毒性量の 60 mg/kg/日での推定 AUC は、ヒト治療用量である 90 mg 1 日 2 回投与での曝露量の約 4.0 である。

以上のように、生殖発生毒性試験の結果から、忍容性のみられる曝露量では、胎児、乳児又は成熟動物における生殖発生へのリスクはないと考えられた。このことから、チカグレロルは治療時曝露量において生殖への影響を示さないと考えられる。

2.6.6.9.5 幼若動物における毒性

ラットの新生児及び離乳児を用いた毒性試験では、成熟ラットにおいて観察されなかった新たな毒性所見は認められなかった。新生児ラットを用いた試験の 180 mg/kg/日の用量でみられた死亡及び体重増加量の減少は、ラット成獣でこれらの所見がみられたのとほぼ同じ曝露量（投与初日に測定）で認められたが、成獣でこの曝露量を得るためには、より高い投与量（300 mg/kg/日）が必要であった（試験 99302 (SR99302-01)）。

2.6.6.9.6 結語

チカグレロルのヒトへの投与時における安全性を担保する目的で、その毒性学的プロファイルを検討するために、包括的な *in vivo* 及び *in vitro* 非臨床試験が実施された。チカグレロルについ

て得られた非臨床データにより、本薬の抗血小板治療薬としての使用時における安全性が確認された。

2.6.6.10 参考文献

Alison and Capen 1994

Alison RH, Capen CC, Prentice DE. Neoplastic lesions of questionable significance to humans Toxicologic Pathology 1994;22:179-186.

Ben-Jonathan et al 2008

Ben-Jonathan N, LaPensee CR, LaPensee EW. What can we learn from rodents about prolactin in humans endocrine Rev 2008;29:1-41.

Blankenstein et al 1984

Blankenstein MA, Broerse JJ, van Zwieten MJ, van der Molen HJ. Prolactin concentration in plasma and susceptibility to mammary tumors in female rats from different strains treated chronically with estradiol-17beta. Breast Cancer Res Treatment 1984;4:137-141.

Demaria et al 2000

Demaria JE, Nagy GM, Lerant AA,Fekete MLE, Levenson CW, Freeman ME. Dopamine transporters participate in the physiological regulation of prolactin. Endrocrinol 2000;141,366-374.

European Medicines Agency, 2006

Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities. EMEA/CHMP/QWP/251344/2006, 28 June 2006.

European Medicines Agency, 2010

Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Questions and answers on the 'Guideline on the limits of genotoxic impurities'. EMA/CHMP/SWP/431994/2007 Rev. 3, 23 September 2010.

Freeman et al 2000

Freeman ME, Kanycska B, Lerant A, Nagy G. Prolactin: structure, function and regulation of secretion. Physiol Review 2000;80(4):1523-1631.

Gent et al 1996

Gent M, Beaumont D, Blanchard J, Bousser M-G, Coffman J, J D Easton JD, J R Hampton JR, L A Harker LA, L Janzon L, Kusmierek JJE, Panak E, Roberts RS, JShannon JS, Sicurella J, Tognoni G, Topol EJ, Verstraete M and Warlow C. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). Lancet 1996:348: 1329-1339.

Greaves and Faccini 1984

Greaves P, Faccini JM (1984) Rat histopathology, Elsevier Amsterdam.

Griffith 1977

Griffith RW, Bromocriptine and uterine neoplasia, British Medical Journal 1977;2:1605.

Keenan et al 1994

Keenan KP, Smith PF, Hertzog P, Soper K, Ballam GC, and Clark RL. The Effects of Overfeeding and Dietary Restriction on Sprague-Dawley Rat Survival and Early Pathology Biomarkers of Aging, Toxicologic Pathology 1994;22(3):300-315.

Keenan et al 1995a

Keenan KP, Soper KA, Smith PF, Ballam GC and Clark RL. Diet, Overfeeding, and Moderate Dietary Restriction in Control Sprague-Dawley Rats: I. Effects on Spontaneous Neoplasms, Toxicologic Pathology 1995;23:269-286.

Keenan et al 1995b

Keenan KP, Soper KA, Hertzog PR, Gumprecht LA, Smith PF, Mattson BA, Ballam GC, Clark RL. Diet, Overfeeding, and Moderate Dietary Restriction in Control Sprague-Dawley Rats: II. Effects on Age-Related Proliferative and Degenerative Lesions, Toxicologic Pathology 1995b;23;287-302.

Kovacs et al 1977

Kovacs K, Horwath E,Ilse RG, Ezrin C, Ilse D (1977) Spontaneous pituitary adenomas in aging rats. A light microscopic, immunocytological and fine structural study. Beitr Pathol 1977:197;161:1-16.

Ludlage and Mansfield 2003

Ludlage E and Mansfield K. Clinical care and diseases of the common marmoset (Callithrix jacchus). Comparative Medicine 2003;53:369-82.

Műller et al 2006

Műller, L, Mauthe RJ, Riley CM, Andino MM, De Antonis D, Beels C, DeGeorge J, De Knaep AGM, Ellison D, Fagerland JA, Frank R, Fritschel B, Galloway S, Harpur E, Humfrey CDN, Jacks AS, Jagota N, Mackinnon J, Mohan G, Ness DK, O'Donovan MR, Smith MD, Vudathala G and Yotti L. A rationale for determining, testing, and controlling specific impurities in pharmaceuticals that possess potential for genotoxicity. Regul Toxicol Pharmacol 2006;44:198–211.

Nantermet et al 2005

Nantermet PV, Masarchia P, Gentile MA et al: Androgenic induction of growth and differentiation in the rodent uterus involves the modulation of estrogen-regulated genetic pathways. Endocrinology 2005;146:(2): 564-578.

Neumann 1991

Neumann F (1991) Early factors for carcinogenesis in sex hormone sensitive organs Mut Res 1991;248:341-356.

O'Connor et al 2000

O'Connor JC, Plowchalk DR, Van Pelt CS, Davis LG, Cook J. Role of prolactin in chloro-s-triazine rat mammary tumorigenesis. Drug and Cem Toxicol 2000;23:575-601.

Pelletier 2000

Pelletier G: Localization of androgen and estrogen receptors in rat and primate tissues. Histol. Histopathol 2000;15(4):1261-1270.

Pelletier et al 2000

Pelletier G, Labrie C, Labrie F: Localization of estrogen receptor alpha, estrogen receptor beta and androgen receptors in the rat reproductive organs. J. Endocrinol 2000;165(2):359-370.

Richardson et al 1984

Richardson BP, Turkali I, Flueckiger E.Bromocriptine. In: Safety testing of new drugs. Laurence DR, McLean AEM, Wheatherall M (eds) Academic Press London 1984;pp 19-63.

Roe et al 1995

Roe FJ, Lee PN, Conybeare G, Kelly D, Matter B, Prentice D and Tobin G. The Biosure Study: Influence of Composition of Diet and Food Consumption on Longevity, Degenerative Diseases and Neoplasia in Wisar Rats Studied for up to 30 Months Post Weaning, Fd Chem Toxic 1995;33;S1:1S-100S.

Smith et al 1976

Smith MS, McLean BK, Neill JD (1976) Prolactin: the initial luteotropic stimulus of pseudopregnancy in the rat. Endocrinol 1976;98(6)1370-1377.

Tucker 1984

Tucker M. A survey of the pathology of marmosets (Callithix jacchus) under experiment. Laboratory Animals 1984;18:351-8.

Welsch et al 1970

Welsch CW, Nagasawa H, Meites J.Increased incidence of spontaneous mammary tumors in female rats with induced hypothalamic lesions. Cancer Res 1970;30, 2310-2313.

2.6.7　毒性試験概要表

ブリリンタ® 錠 60 mg/90 mg

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次　　頁

目次 2
2.6.7.1　毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 16
2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 19
2.6.7.4　毒性試験：被験物質一覧 23
2.6.7.5　単回投与毒性試験 25
2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 28
2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験 34
2.6.7.8　In Vitro 遺伝毒性試験 52
2.6.7.9　In Vivo 遺伝毒性試験 72
2.6.7.10　がん原性試験 74
2.6.7.11　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 84
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 92
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 95
2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 103
2.6.7.15　新生児を用いた試験 107
2.6.7.16　局所刺激性試験 110
2.6.7.17　その他の毒性試験 112

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing/ exposure	Doses (mg/kg) or *in vitro* concentration (mass or molar units)	GLP compliance	Testing facility[b]	Study number	Location in Module 4
Single-dose Toxicity	CD-1 Mouse	po	Single dose	0, 2000 Batch [redacted]	Yes	AZC	99219 (SR99219-01)	4.2.3.1
	Sprague-Dawley Rat	po	Single dose	0, 50, 500, 2000 Batch [redacted]	Yes	AZC	99220 (99220-02)	4.2.3.1
	Marmoset	po	Single ascending dose and 5-day repeat dose	50, 100, 200, 400, 800, 1600 1600 Batches [redacted]	Yes	[redacted]	98293	4.2.3.1
Repeat-dose Toxicity Non-pivotal	CD-1 Mouse	po	2 Weeks	50, 250, 1000, 2000 Batch [redacted]	No	[redacted]	456768 (0061AM)	4.2.3.2
	CD-1 Mouse	po	3 Months (13 weeks)	0, 50, 250, 750, 1250 Batch [redacted]	Yes	[redacted]	456925 (0085PM)	4.2.3.2
	Sprague-Dawley Rat	po	Ascending dose 5 Days	50, 200, 400, 800, 1600 Batches [redacted] 100, 200, 300, 800 Batches [redacted]	No	AZC	98308 (SR98308-01)	4.2.3.2

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing/ exposure	Doses (mg/kg) or *in vitro* concentration (mass or molar units)	GLP compliance	Testing facility[b]	Study number	Location in Module 4
	Sprague-Dawley Rat Rat: Wistar Hannover Galas Rat/Han: Wistar (Crl: WI (Glx/BRL/Han) IGSBR)	po	1 Month, 3 Months and 6 Months	Reexamination of tissues from: Study SR99302-01: 0, 300 Study 0660AR: 0, 20, 60, 180 Study TPR3143: 0, 20, 60, 180 Study 0400PR: 0, 10, 60, 180	Yes	AZA	0583KY	4.2.3.2
	Dog Beagle	po	Single ascending dose	50, 200, 800, 2000 Batch [redacted]	No	AZC	99184 (SR99184-02)	4.2.3.2
	Marmoset	po	14 Days 22 Days	0, 20, 65, 200 0, 65 Batch [redacted]	No	AZC	0005HT	4.2.3.2
	Marmoset	po	15 Weeks	200 Batch [redacted]	No	AZC	0007PT	4.2.3.2
Repeat-dose Toxicity Pivotal [a]	Sprague-Dawley Rat	po	1 Month	0, 20, 80, 300 Batch [redacted]	Yes	AZC	99302 (SR99302-01)	4.2.3.2
	Sprague-Dawley Rat	po	3 Months	0, 20, 60, 180 Batch [redacted]	Yes	AZA	TPR3143	4.2.3.2
	Rat/Han: Wistar	po	6 Months (26 weeks)	0, 10, 60, 180 Batch [redacted]	Yes	[redacted]	456930 (0400PR)	4.2.3.2
	Marmoset	po	1 Month	0, 20, 200, 2000 Batch [redacted]	Yes	[redacted]	99228 (SR99228-01)	4.2.3.2

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing/ exposure	Doses (mg/kg) or *in vitro* concentration (mass or molar units)	GLP compliance	Testing facility[b]	Study number	Location in Module 4
	Marmoset	po	3 Months	0, 20, 100, 1000/500 Batch [redacted]	Yes	[redacted]	575049	4.2.3.2
	Marmoset	po	12 Months	0, 10, 50, 200/100 Batch[redacted]	Yes	[redacted]	505453 (0008FT)	4.2.3.2
Genotoxicity *In Vitro*	S. typhim.	*in vitro*	Plate Incorp-oration: 3 Days	-S9: 3.3 – 1000 µg/plate +S9: 3.3 – 1000 µg/plate Batch [redacted]	No	AZC	98351 (SR98351-02)	4.2.3.3.1
	S. typhim.	*in vitro*	Plate Incorp-oration: 3 Days Pre-incubation: 3 Days	-S9: 3.0 -3000 µg/plate +S9: 3.0 -3000 µg/plate Batch[redacted]	Yes	AZC	99440 (SR99440-01)	4.2.3.3.1
	S. typhim.	*in vitro*	Plate Incorp-oration: 3 Days Pre-incubation: 3 Days	Plate Incorporation: 3 – 3000 µg (0.0063 – 6.3 µmol) per plate (± S9) Liquid Pre-incubation: 1 – 300 µg (0.0021 – 0.63 µmol) per plate (± S9) Metabolite AR-C124910XX Batch [redacted]	Yes	AZA	0109BV	4.2.3.3.1

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing/ exposure	Doses (mg/kg) or *in vitro* concentration (mass or molar units)	GLP compliance	Testing facility[b]	Study number	Location in Module 4
	L5178Y $TK^{+/-}$ Mouse Lymphoma Cells	*in vitro*	4 and 24 hours	4 hours +S9: 15.7 – 52.3 µg/mL and 20.9 – 41.8 µg/mL 24 hours –S9: 5.23 – 36.6 µg/mL, 4 hours -S9: 5.23 – 34.0 µg/mL and 7.85 – 20.9 µg/mL Batch [redacted]	Yes	AZC	99441 (SR99441-01)	4.2.3.3.1
	L5178Y $TK^{+/-}$ Mouse Lymphoma Cells	*in vitro*	4 and 24 hours	4 hours +S9: 19.2 – 43.2 µg/mL 4 hours –S9: 9.6 – 14.4 µg/mL and 4.8 – 14.4 µg/mL 24 hours -S9: 4.8 – 16.8 µg/mL Metabolite AR-C124910XX Batch [redacted]	Yes	AZA	0110MV	4.2.3.3.1
Genotoxicity *In Vivo*	Rat Male Alderley Park (Alpk:APfSD)	po	Single dose	2000 Batch [redacted]	Yes	AZA	TQR3211	4.2.3.3.2
Carcinogenicity	CD-1 Mouse (Crl:CD-1^{TM}(ICR) BR).	po	104 Weeks	Males Females 0 0 50 50 100 100 250 250 Batch [redacted]	Yes	[redacted]	456988 (0107CM)	4.2.3.4.

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing/ exposure	Doses (mg/kg) or *in vitro* concentration (mass or molar units)	GLP compliance	Testing facility[b]	Study number	Location in Module 4
	Rat Wistar Han IGS (Crl: WI(Glx/BRL/ Han)GSBR)	po	104 Weeks	Males Females 0 0 20 20 60 60 120 180 Batch [redacted]	Yes	[redacted]	456993 (0508CR)	4.2.3.4.
Reproductive & Developmental Toxicity Non-pivotal	Rat female Han Wistar Crl:WI(Glx/BRL/ Han)BR	po	Days 6 to 16 post-coitum	0, 20, 100, 200, 300 Batch [redacted]	Yes	AZA	0274RR	4.2.3.5.2
	Non-pregnant female rabbit Crl:NZW/ KblBR	po	3, 4 or 13 Days	3 Days: 300 4 Days: 160 13 Days: 40, 80 Batch [redacted]	No	AZA	0035DB	4.2.3.5.2
	Pregnant female rabbit Crl:NZW/ KblBR	po	Days 6 to 19 post-coitum	0, 21, 42, 84, 99 Batch [redacted]	Yes	AZA	0038RB	4.2.3.5.2
	Rat female Wistar rat: Crl: WI (Han)	po	Day 6 of gestation to Post-Natal Day 7	0, 10, 60, 180 Batch [redacted]	Yes	[redacted]	AA39254 (1513WR)	4.2.3.5.3

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing/ exposure	Doses (mg/kg) or *in vitro* concentration (mass or molar units)	GLP compliance	Testing facility[b]	Study number	Location in Module 4
Reproductive & Developmental Toxicity Fertility to Implantation	Rat female Han Wistar Crl:WI(Glx/BRL/Han) IGSBR	po	14 Days prior to pairing, through pairing and until day 6 *post-coitum.*	0, 20, 100, 200 Batch [redacted]	Yes	AZA	0337GR	4.2.3.5.1
Reproductive & Developmental Toxicity Embryofetal Development	Rat female Han Wistar Crl:WI(Glx/BRL/ Han)BR	po	Days 6 to 16 post-coitum	0, 20, 100, 300 Batch [redacted]	Yes	AZA	0307TR	4.2.3.5.2
	Rabbit female Crl:NZW/ KblBR	po	Days 6 to 19 post-coitum	0, 21, 42, 63 Batch [redacted]	Yes	AZA	0046TB	4.2.3.5.2
	Rabbit female Crl:NZW/ KblBR	po	Days 6 to 19 post-coitum	0, 63 Batch [redacted]	Yes	AZA	0073KB	4.2.3.5.2
Reproductive & Developmental Toxicity Pre- and Post-natal Development	Rat female Wistar rat: Crl: WI (Han)	po	Day 6 of gestation to Day 20 of lactation	0, 10, 60, 180 Batch [redacted]	Yes	[redacted]	AA41453 (1591WR)	4.2.3.5.3
Studies in Juvenile Animals	Wistar rats: Crl: WI (Han)	po	19 Days, starting on post natal day 7	0, 10, 60, 180 Batch [redacted]	Yes	[redacted]	AA93000 (2835LR)	4.2.3.5.4

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing/ exposure	Doses (mg/kg) or *in vitro* concentration (mass or molar units)	GLP compliance	Testing facility[b]	Study number	Location in Module 4
	Wistar rats: Crl: WI (Han)	po	19 Days, starting on post natal day 7	0, 10, 60, 180 Batch [redacted]	Yes	[redacted]	AA93001 (2836LR)	4.2.3.5.4
	Rat Wistar Hannover HsdHan: WIST	po	40 Days, starting on post-natal day 24	0, 10, 60, 180 Batch [redacted]	Yes	AZA	2885LR	4.2.3.5.4
Local Tolerance	Mouse Alderley Park (AP) albino	sc	Single dose	0.1 mg/mL solution in aqueous 0.62% w/v sodium chloride solution containing 0.395% w/v ethanol and 0.1% w/v polysorbate 80. Batch [redacted]	Yes	AZA	0154IM	4.2.3.6
	Rat Han Wistar Crl:WI(Glx/BRL/Han) IGSBR	iv	Single dose	0.1 mg/mL solution in Water for Injection containing 0.62% w/v sodium chloride, 0.395% w/v ethanol and 0.1% w/v polysorbate 80. Batch [redacted]	Yes	AZA	0798IR	4.2.3.6

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing/ exposure	Doses (mg/kg) or *in vitro* concentration (mass or molar units)	GLP compliance	Testing facility[b]	Study number	Location in Module 4
	Whole human blood	*in vitro*	Assess-ments immed-iately after mixing	0.1 mg/mL in 0.62% w/v sodium chloride solution containing 0.395% w/v ethanol and 0.1% w/v polysorbate 80. Batch [redacted]	Yes	AZA	0031KX	4.2.3.6
Other Toxicity Studies								
Carcinogenicity	Rat Wistar Hannover substrain Crl:WI (Han)	po	7, 28 Days	0, 20, 60, 180 Batch [redacted]	Yes	AZA	1801KR	4.2.3.7.3
Mechanistic Studies	Rat Wistar Hannover substrain Crl:WI (Han)	po	2, 4, 13 Weeks	0, 60, 180 Batch [redacted]	Yes	AZA	1800KR	4.2.3.7.3
	Rat Wistar Hannover substrain Crl:WI (Han)	po	Single dose	180 Batch [redacted]	No	AZA	2144KR	4.2.3.7.3
	Rat Wistar Hannover substrain Crl:WI (Han)	po	14 – 18 Days	0, 60, 180 Batch [redacted]	No	AZA	2227KR	4.2.3.7.3
	Rat ovarian cells	*in vitro*	4 -72 Hours	0 – 3 μM	No	AZA	1778KV	4.2.3.7.3

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing/ exposure	Doses (mg/kg) or *in vitro* concentration (mass or molar units)	GLP compliance	Testing facility[b]	Study number	Location in Module 4
	Rat adrenal cells	*in vitro*	24 Hours	0 – 10 µM	No	AZA	1517KV	4.2.3.7.3
	Rat ovarian microsomes	*in vitro*	30 Minutes	10 µM	No	AZA	1918KV	4.2.3.7.3
	Rat Han Wistar (female)	po	4 Days	0, 180 (1% w/v sodium carboxymethyl cellulose in 0.1% w/v Polysorbate 80 in water) Batch: [redacted]	No	AZU	3100KR	4.2.3.7.3
Impurities								
	S. typhim. *E. coli*	*in vitro*	Plate Incorp-oration: 3 Days Pre-incubation: 3 Days	-S9: 3 – 1000 µg/plate +S9: 3 – 1000 µg/plate Batch [redacted] with 0.1% 不純物4＊	Yes	AZA	0366BV	4.2.3.7.6
	S. typhim. *E.coli*	*in vitro*	Plate Incorp-oration: 3 Days Pre-incubation: 3 Days	-S9: 100 – 5000 µg/plate +S9: 100 – 5000 µg/plate 不純物8＊ intermediate Batch [redacted]	Yes	[redacted]	YV6647	4.2.3.7.6

＊新薬承認情報提供時に置換えた

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing/ exposure	Doses (mg/kg) or *in vitro* concentration (mass or molar units)	GLP compliance	Testing facility[b]	Study number	Location in Module 4
	S. typhim. *E. coli*	*in vitro*	Plate Incorp-oration: 3 Days Pre-incubation: 3 Days	Plate incorporation: 51.0 to 5100 µg (0.131 to 13.1 µmol) per plate Liquid pre-incubation: 46.1 to 461 µg (0.118 to 1.18 µmol) per plate 不純物2＊ intermediate Batch [redacted]	Yes	AZS	1415BV	4.2.3.7.6
	S. typhim. *E. coli*	*in vitro*	Pre-incubation: 48 hours	-S9: 39.1 – 1250 µg/plate +S9: 156 – 5000 µg/plate ACP intermediate Batch [redacted]	Yes	[redacted]	K01-4067	4.2.3.7.6
	S. typhim E. coli	*in vitro*	Plate Incorp-oration: 3 Days Pre-incubation: 3 Days	-S9: 100 – 5000 µg/plate +S9: 100 – 5000 µg/plate 不純物1＊ intermediate Batch [redacted]	Yes	AZ[redacted]	YV7312	4.2.3.7.6
	Human lymphocytes	*in vitro*	Treatment/ Recovery (hours): 3/17 and 20/0	3/17 +S9: 16.0 – 60.0 µg/mL 3/17 -S9: 16.0 – 60.0 µg/mL 20/0 -S9: 8.0 – 30.0 µg/mL 3/17 –S9 Trial 2: 10.0 – 50.0 µg/mL 不純物2＊ intermediate Batch [redacted]	Yes	[redacted]	1889/130 (1420YV)	4.2.3.7.6

＊新薬承認情報提供時に置換えた

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing/ exposure	Doses (mg/kg) or *in vitro* concentration (mass or molar units)	GLP compliance	Testing facility[b]	Study number	Location in Module 4
	Human lymphocytes	*in vitro*	Treatment/ Recovery (hours): 3/17 and 20/0	3/17 +S9: 10, 250, 500 µg/mL 3/17 -S9: 50, 250, 500 µg/mL 3/17 +S9 Trial 2: 100, 500, 1000 µg/mL 20/20 –S9 Trial 2: 50, 100, 200 µg/mL 不純物8＊ intermediate Batch [redacted]	Yes	[redacted]	SV1225	4.2.3.7.6
	Human lymphocytes	*in vitro*	Treatment/ Recovery (hours): 20/0	-S9: 250, 500, 1000 µg/mL DL-Mandelic acid Sigma-Aldrich Logistic Lot [redacted]	Yes	[redacted]	SV1381	4.2.3.7.6
	Human lymphocytes	*in vitro*	Treatment/ Recovery (hours): 3/17 and 20/0	3/17 +S9: 33, 66, 131 µg/mL 3/17 -S9: 33, 66, 131 µg/mL 3/17 +S9 Trial 2: 75, 100, 150 µg/mL 20/0 –S9 Trial 2: 13, 25, 50 µg/mL 不純物1＊ intermediate Batch [redacted]	Yes	[redacted]	SV1355	4.2.3.7.6

＊新薬承認情報提供時に置換えた

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing/ exposure	Doses (mg/kg) or *in vitro* concentration (mass or molar units)	GLP compliance	Testing facility[b]	Study number	Location in Module 4
	Human lymphocytes	*in vitro*	Treatment/ Recovery (hours): 4/20 and 24/24	4/20 +S9: 32, 64, 128　µg/mL 4/20 -S9: 32, 64, 128 µg/mL 4/20 +S9 Trial 2: 32, 64, 128　µg/mL 24/0 -S9 Trial 2: 16, 32, 48 µg/mL 4/20 +S9 Trial 3: 128, 144, 160 µg/mL 4/20 –S9 Trial 3: 64, 128, 160 µg/mL 不純物1＊ intermediate Batch [redacted]	Yes	[redacted]	2396-0012	4.2.3.7.6
	L5178Y $TK^{+/-}$ Mouse Lymphoma Cells	*in vitro*	3 and 24 Hours	3 hours +S9: 52 – 78.0 µg/mL 3 hours -S9: 7.8 – 21.0 µg/mL 24 hours -S9: 16 – 36 µg/mL Batch [redacted] spiked with 0.1% 不純物4＊	Yes	AZA	0367MV	4.2.3.7.6
	Rat Male Wistar Han substrain AlpkHsdRcc Han:WIST	po	Single dose	24 hours: 0, 100, 500, 1000 48 hours: 0, 1000 不純物2＊ intermediate Batch [redacted]	Yes	AZA	1885QR	4.2.3.7.6

＊新薬承認情報提供時に置換えた

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing/ exposure	Doses (mg/kg) or *in vitro* concentration (mass or molar units)	GLP compliance	Testing facility[b]	Study number	Location in Module 4
	Rat Male Wistar Han substrain AlpkHsdBrlHan:WIST	po	Single dose	24 hours: 0, 5, 25, 50 48 hours: 0, 50 mg/kg 不純物8＊ intermediate Batch [redacted]	Yes	AZA	1403QR	4.2.3.7.6
	Rat: Wistar Hannover Galas	po	1 Month	0, 20, 60, 180 Batch [redacted] spiked with 0.1% 不純物4＊	Yes	AZS	0660AR	4.2.3.7.6

a　For pivotal repeat-dose toxicity studies, the highest NOAEL (No Observed Adverse-Effect Level) is underlined. An underlined 0 means that effects occurred at the lowest dose.

b　Names and addresses of each testing facility are presented below:

AZA = Safety Assessment UK, AstraZeneca R&D, Alderley, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, SK10 4TG, UK
AZC = Safety Assessment UK, AstraZeneca R&D, Charnwood, Bakewell Road, Loughborough, Leics, LE11 5RH, UK
AZS = Safety Assessment, AstraZeneca R&D, Södertälje, Sweden
AZU = Safety Assessment, AstraZeneca R&D, Wilmington DE USA
[redacted] = Japan
[redacted] = [redacted]
[redacted] = UK
[redacted] = [redacted] UK, [redacted]
[redacted] = Scotland
[redacted] = France
[redacted] = [redacted], France
[redacted] = [redacted], UK

＊新薬承認情報提供時に置換えた

2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number
Two Week Dose Range Finding	Mouse	Oral	50 250 1000 2000	No	456768 (0061AM)
13 Week Dose Range Finding	Mouse	Oral	50 250 750 1250	Yes	456925 (0085PM)
Dose Range Finding	Rat (Male)	Oral	50 100 200 300 400 800 1600	No	98308 (SR98308-01)
1 Month Toxicity	Rat	Oral	20 80 300	Yes	99302 (SR99302-01)
3 Months Toxicity Study	Rat	Oral	20 60 180	Yes	TPR3143
26 Week Toxicity Including Male Fertility Assessment Followed by 13 Week Recovery	Rat	Oral	10 60 180	Yes	456930 (0400PR)

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number
2 Week Dose Range Finding	Rabbit	Oral	40 80 160[a] 300[a]	No	0035DB
Ascending Dose Study	Dog	Oral	50[b] 200[b] 800[b] 2000[b]	No	99184 (SR99184-02)
Ascending Dose Study and 5-day repeat dose at 1600 mg/kg	Marmoset	Oral	50 100 200 400 800 1600	Yes	98293
1 Month Toxicity	Marmoset	Oral	20 200 2000	Yes	SR99228 (SR99228-01)
3 Months Toxicity	Marmoset	Oral	20 100 1000	Yes	575049
3 Month Dose Range Finding	Marmoset	Oral	20 65 200[b]	No	0005HT
3 Month Dose Tolerability and Dose Range Finding	Marmoset	Oral	200	No	0007PT
12 Month Toxicity	Marmoset	Oral	10 50 100	Yes	505453

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg/day)	GLP Compliance	Study Number
24 Month Carcinogenicity	Mouse	Oral	50 100 250	Yes	456988 (0107CM)
24 Month Carcinogenicity	Rat	Oral	20 60 120/180[c]	Yes	456993 (0508CR)
Hepatic and Uterine CYPs following up to 1 Month Administration	Rat (Female)	Oral	20 60 180	Yes	1801KR
Fertility and Early Embryonic Development	Rat (Female)	Oral	20 100 200	Yes	0337GR
Dose Range Finding Embryofetal Development	Rat (Female)	Oral	20 100 200 300	Yes	0274RR
Dose Range Finding Embryofetal Development	Rabbit	Oral	21 42 84 99	Yes	0038RB
Retinal Development	Rabbit	Oral	62.7	Yes	0073KB
Dose Range Finding Pre- and Post-Natal Development	Rat (Dams / pups)	Oral	10 60 180	Yes	AA39254 (1513WR)
1 Month Toxicity Including Qualification for Specific Impurities	Rat	Oral	20 60 180	Yes	0660AR

a No blood sampling for toxicokinetic evaluation.
b Toxicokinetics results were not presented in “Overview of Toxicokinetic Data”, since no steady state data exist.
c Male/Female

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

Daily dose	Steady state $AUC_{(0\text{-}24h)}$ of Ticagrelor and its metabolite AR-C124910XX [a] (µmol*h/L)										
(mg/kg/day)	Mouse			Rat			Rabbit	Monkey (Marmoset)			Human
	M	F	M+F	M	F	M+F	F	M	F	M+F	
1.7 (100 mg)[b]											5.5 [3.6][d,e] 7.7 [5.2][d,f]
5.0 (300 mg)[c]											20 [13][d,e] 26 [18][d,f]
10				6.5 [4.0]	6.6 [2.3]	6.5 [3.2]		16 [6.0]	12 [5.7]		
20				20 [15] 25 [20] 26 34	16 [5.6] 22 [7.7] 31 [9.3] 20 39			53	38	27	
21							19 [11][g]				
40							64 [25]				
42							23 [14][g]				
50	23 [36]	37 [50]	18 [18][h] 25 [37]					120 [38]	85 [52]		
60				95 [81] 110 [70] 130 [100] 150	99 [30] 99 [29] 140 [23] 160 [39] 220	97 [55]					
62.7							130 [72][g]				
80				150	160		260 [110]				
84							120 [73][g]				
99							790 [380][g]				
100	92 [160]	140 [150]						180 [76] 340	170 [87] 240		
120				310 [260]							

Daily dose	Steady state $AUC_{(0\text{-}24h)}$ of Ticagrelor and its metabolite AR-C124910XX [a] (µmol*h/L)										
(mg/kg/day)	Mouse			Rat			Rabbit	Monkey (Marmoset)			Human
	M	F	M+F	M	F	M+F	F	M	F	M+F	
180				320 [300] 460 [380] 570	550 [160] 450 [140] 450 [79] 600 [200] 1000	440 [230]					
200										350 [120] 300	
250	330 [500]	430 [550]	130 [85][h] 320 [350]								
300				1100	1400						
750			1200 [1800]								
1000			540 [470][h]								
2000										1100	

Ticagrelor was given as an immediate release tablet to humans and as an aqueous suspension to animals.
For conversion between g and mol, the following MWs have been used: Ticagrelor = 522.57 g/mol; AR-C124910XX = 478.52 g/mol.
M Male
F Female
a The concentration of the metabolite, AR-C124910XX, is given in square brackets ([ ]).
b The dose administered was 100 mg, which gives 1.7 mg/kg assuming an average body weight of 60 kg.
c The dose administered was 300 mg, which gives 5.0 mg/kg assuming an average body weight of 60 kg.
d Clinical Study Code D5130C05267.
e Caucasian volunteers.
f Japanese volunteers.
g Day 19 of gestation.
h AUC(0-8h).
.

Daily dose	Steady state C_{max} Ticagrelor and its metabolite AR-C124910XX [a] (μmol/L)										
(mg/kg/day)	Mouse			Rat			Rabbit	Monkey (Marmoset)			Human
	M	F	M+F	M	F	M+F	F	M	F	M+F	
1.7 (100 mg)[b]											0.86 [0.43][d,e] 1.3 [0.70][d,f]
5.0 (300 mg)[c]											3.1 [1.6][d,e] 4.4 [2.3][d,f]
10				1.2 [0.53]	1.4 [0.37] 0.32[g] 0.43[h]	1.3 [0.45]		2.3 [0.84]	1.8 [0.73]		
20				3.2 [1.5] 3.1 [1.7] 2.7 3.8	3.1 [0.73] 2.7 [0.70] 4.3 [1.0] 2.1 [0.66][i] 2.1 [0.76] 2.5 3.8			6.9	5.1	2.7	
21							3.6 [1.5][j]				
40							13 [3.2]				
42							5.0 [1.7][j]				
50	5.1 [5.6]	8.4 [7.7]	3.9 [3.3] 5.8 [5.5]					17 [2.4]	8.4 [3.3]		
60				12 [5.9] 15 [5.9] 18 [14] 16	9.3 [2.0] 16 [2.8] 12 [1.8] 16 [3.6] 7.7[g] 3.1[h] 16	11 [3.9]					
62.7							16 [6.3][j]				
80				12	13		27 [8.8]				
84							13 [6.1][j]				
99							44 [19][j]				
100	15 [21]	32 [16]			11 [2.0][i] 15 [3.3]			15 [5.0] 30	19 [7.0] 20		
120				36 [21]			16 [6.3][j]				

Daily dose	Steady state C_{max} Ticagrelor and its metabolite AR-C124910XX [a] (µmol/L)										
(mg/kg/day)	Mouse			Rat			Rabbit	Monkey (Marmoset)			Human
	M	F	M+F	M	F	M+F	F	M	F	M+F	
180				26 [19] 38 [23] 47	38 [9.1] 35 [8.7] 38 [5.2] 50 [14] 38[g] 7.8[h] 54	32 [14]					
200					42 [7.2][i] 47 [14]					30 [7.3] 20	
250	52 [49]	36 [39]	21 [13] 27 [22]								
300				36[k] 67	66 [15][i] 79						
750			110 [100]								
800				86[k]							
1000			91 [84]								
2000										51	

Ticagrelor was given as an immediate release tablet to humans and as an aqueous suspension to animals.
For conversion between g and mol, the following MWs have been used: Ticagrelor = 522.57 g/mol; AR-C124910XX = 478.52 g/mol.

M Male
F Female
a The concentration of the metabolite, AR-C124910XX, is given in square brackets ([ ]).
b The dose administered was 100 mg, which gives 1.7 mg/kg assuming an average body weight of 60 kg.
c The dose administered was 300 mg, which gives 5.0 mg/kg assuming an average body weight of 60 kg.
d Clinical Study Code D5130C05267.
e Caucasian volunteers
f Japanese volunteers
g Dams, day 7 of lactation, 7 hours after dosing. Dams dosed once daily since day 6 of gestation.
h Pups, day 7 of lactation, 7 hours after dosing. Dams dosed once daily since day 6 of gestation.
i Value at day 16 of gestation.
j Value at day 19 of gestation
k 4 hours value, day 5.

2.6.7.4　　毒性試験：被験物質一覧

Batch number	Purity (%)	Specified impurities				Study number	Type of study
		不純物3＊	不純物4＊	不純物6＊	不純物7＊		
Proposed specification	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	--	--
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	99219 (SR99219-01)	Single dose (mouse, oral)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	99220 (99220-02)	Single dose (rat, oral)
[redacted]	NA	NA	NA	NA	NA	98293	Single ascending dose (marmoset, oral)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	99302 (SR-99302-01)	Repeat dose (rat, oral, 1 month)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	99228 (SR99228-01)	Repeat dose (marmoset, oral, 1 month)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	456925 (0085PM)	Repeat dose (mouse, oral, 3-month)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	TPR3143	Repeat dose (rat, oral, 3 month)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	0007PT	Repeat dose (marmoset, oral, 3-month tolerability)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	575049	Repeat dose (marmoset, oral, 3 month)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	456930 (0400PR)	Repeat dose (rat, oral, 6 month)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	505453	Repeat dose (marmoset, oral 12-month)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	99440 (SR99440-01)	Genotoxicity (*in vitro*, Ames)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	99441 (SR99441-01)	Genotoxicity (*in vitro*, mouse lymphoma)

＊新薬承認情報提供時に置換えた

Batch number	Purity (%)	Specified impurities				Study number	Type of study
		不純物3＊	不純物4＊	不純物6＊	不純物7＊		
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	TQR3211	Genotoxicity (*in vivo*, rat, oral, micronucleus)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	456988 (0107CM)	Carcinogenicity (mouse, oral, 2 years)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	456993 (0508CR)	Carcinogenicity (rat, oral, 2 years)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	456930 (0400PR)	Reproductive Toxicity (rat, oral, male fertility)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	0337GR	Reproductive Toxicity (rat, oral, female fertility and early embryonic development)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	0307TR	Reproductive Toxicity (rat, oral, embryofetal development)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	0046TB	Reproductive Toxicity (rabbit, oral, embryofetal development)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	0073KB	Reproductive toxicity (rabbit, oral, retinal development)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	AA41453 (1591WR)	Reproductive toxicity (rat, oral, pre- and post-natal development)
[redacted]*	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%*	[redacted]%	[redacted]%	0366BV*	Impurity Qualification (*in vitro*, genotoxicity, Ames)
[redacted]*	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%*	[redacted]%	[redacted]%	0367MV*	Impurity Qualification (*in vitro*, genotoxicity, mouse lymphoma)
[redacted]*	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%*	[redacted]%	[redacted]%	0660AR*	Impurity Qualification (rat, oral, 1 month toxicity)
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	3100KR	Other Toxicity (rat, oral effect on prolactin)

NA = Not available. Impurities were not identified in these early discovery research batches.
* The batch of [redacted] was spiked with [redacted]% 不純物4＊ for these specific experiments, so the amount of 不純物4＊ is at least [redacted]%. Another study (0073KB) used batch [redacted] that had not been spiked.

＊新薬承認情報提供時に置換えた

2.6.7.5 単回投与毒性試験

2.6.7.5A Single Dose Toxicity

Test article: Ticagrelor

Study Title: AR-C126532XX: Single Dose Oral Toxicity Study in the Mouse — Study No. 99219
Location in CTD: M4.2.3.1.1

Testing facility: Safety Assessment, Charnwood — Start Date: [redacted]19[redacted]
Compound: AR-C126532XX — Batch No. : [redacted]
Vehicle Control: Carboxymethylcellulose & Tween 80 Purified Water — Batch No.: [redacted] Batch No. : [redacted]
Administration Route and Frequency: Single Oral Dose
Species/Strain: Mouse /CD1 — Body weights at dosing between: 25.9 – 28.9g (Males), 22.8 – 25.4g (Females)

FINDINGS

Dose Group	1		2	
AR-C126532XX (mg/kg)	0		2000	
Sex	Male	Female	Male	Female
Number	5	5	5	5
Moralities	0	0	0	0
Clinical Signs	There were no clinical signs related to AR-C126532XX.			
Body weights	There were no effects on body weights.			
Macropathology	There were no macroscopic findings on Day 15 in the following organs that could be related to AR-C126532XX: eye, sternum, liver, stomach, pancreas, lungs, heart, kidney, bladder, ureters, thymus, spleen, adrenal glands, thyroid, testis or ovaries.			

2.6.7.5B Single Dose Toxicity

Test article: Ticagrelor

Study Title: AR-C126532XX: Single Dose Oral Toxicity Study in the Rat

Study No. 99220
Location in CTD: M4.2.3.1.2

Testing Facility: Safety Assessment, Charnwood
Start Date: [redacted] 19[redacted]
Compound: AR-C126532XX
Batch No. : [redacted]
Vehicle Control: Carboxymethylcellulose &
Batch No. : [redacted]
Tween 80
Batch No. : [redacted]
Purified Water
Administration Route and Frequency: Single Oral Dose
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley
Body weights at dosing between: 192 – 230g (M)
159 – 175g (F)

FINDINGS

Dose Group	1		2		3		4	
AR-C126532XX (mg/kg)	0		50		500		2000	
Sex	Male	Female	Male	Female	Male	Female	Male	Female
Number	5	5	5	5	2	2	5	5
Moralities	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Signs	There were no clinical signs related to AR-C126532XX.							
Bodyweight Change (g) Days 1-3	+15.4	+2.8	+14.6	+7.4	-0.5	+1.5	-14.2	-5.4
Macropathology	There were no macroscopic findings on Day 15 in the following organs that could be related to AR-C126532XX: eye, sternum, liver, stomach, pancreas, lungs, heart, kidney, bladder, ureters, thymus, spleen, adrenal glands, thyroid, testis, ovaries and at the injection site.							

2.6.7.5C Single Dose Toxicity

Test article: Ticagrelor

Study Title: AR-C125917XX, AR-C126583XX, AR-C126532XX Oral (Gavage) Maximum Tolerated Dose/Dose Range Finding Study in Marmosets		Study No. 98293 Location in CTD: M4.2.3.1.3
Testing Facility: Inveresk, Scotland		Start Date: [redacted] 19[redacted]
Compound:	AR-C126532XX (ticagrelor)	Batch No.: [redacted]
Vehicle Control:	Carboxymethylcellulose &	Batch No. : [redacted]
	Tween 80 in water	Batch No. : [redacted]

Ascending Dose Phase

Administration Route and Frequency: Oral gavage. Single ascending oral doses (at least 48 h between doses)

Species/Strain	Marmoset (*Callithrix jacchus*)	Body weights at start of dosing:	456g (Male) 358g (Female)

Dose Sequence	1		2		3		4		5		6	
AR-C126532XX (mg/kg)	50		100		200		400		800		1600	
Sex	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Number	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Moralities	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Clinical Signs	There were no abnormal clinical signs.
Bodyweights	The animals lost 7-8 g body weight (2%) during the dose escalation period.
Laboratory parameters	Haemoglobin, red blood cell count, and haematocrit levels appeared to be reduced at the end of dosing compared to pre-study values.
Macropathology	Findings reflect the usual range of spontaneously arising background findings in marmosets.

2.6.7.6　　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

2.6.7.6 Repeat-dose Toxicity (Non-pivotal)

Test article: Ticagrelor

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	NOAELa (mg/kg/day)	Noteworthy findings	Testing facility	Study number & Location in CTD
Mouse CD-1 (Crl:CD-1^{TM}(ICR)BR)	Oral (gavage) 1% Sodium carboxymethyl-cellulose and 0.1% polysorbate 80 in water	14 days (2 weeks)	50 250 1000 2000	3M, 3F TK: 16M, 16F	250	Decreased body weight at 2000 mg/kg/day and decreased food consumption at 1000 and 2000 mg/kg/day. Clinical findings at 2000 mg/kg/day included swollen abdomen and hunched posture, subdued behaviour and piloerection. Mortality and gastrointestinal pathology (abnormal contents and pale foci in mesenteric lynph nodes) at 2000 mg/kg/day. Increased liver, lung and spleen weights at 1000 mg/kg/day.	[redacted] Scotland	456768 (0061AM) M4.2.3.2.1

2.6.7.6 Repeat-dose Toxicity (Non-pivotal)

Test article: Ticagrelor

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	NOAELa (mg/kg/day)	Noteworthy findings	Testing facility	Study number & Location in CTD
Mouse CD-1 (Crl:CD-1^{TM}(ICR)BR)	Oral (gavage) 1% Sodium carboxymethyl - cellulose and 0.1% polysorbate 80 in water	3 months (13 weeks)	0 50 250 750 1250	12 M, 12F TK control: 3M, 3F TK ticagrelor.: 18M, 18F	Not identified	High dose group terminated during week 2 or 3 with swollen abdomen, piloerection, subdued behaviour, hunched posture, rolling gait, and weight loss. Clinical signs, body weight, food and water consumption, clinical pathology, and histopathology effects occurred at 750 mg/kg. Body weight, clinical pathology, and histopathology effects occurred a t 250 mg/kg. Clinical pathology parameters were affected at 50 mg/kg.	[redacted] Scotland	456925 (0085PM) M4.2.3.2.2

2.6.7.6 Repeat-dose Toxicity (Non-pivotal)

Test article: Ticagrelor

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	NOAELa (mg/kg/day)	Noteworthy findings	Testing facility	Study number & Location in CTD
Rat Sprague-Dawley	Oral (gavage) 1% Sodium carboxymethyl-cellulose and 0.1% polysorbate 80 in water	Single ascending dose followed by 5 daily doses	Ascending dose Group 1: 0 Group 2: 2x50, 2x200, 2x300, 2x400, 2x800 Group 3: 50, 200, 400, 600, 800 Group 4: 50, 200, 400, 800, 1600 5-day repeat dose: 100, 200, 300, 2x400, 800	3M	100	Ascending dose phase: Clinical observations normal. Reduced weight gain at end of phase. Repeat dose phase: Decreased body weight, body weight gain, decreased food consumption, increased water consumption at 300 mg/kg/day and above. Increased ALP, 100 mg/kg/day and above. Increased cholesterol, 300 mg/kg/day. Decreased liver glycogen, 200 mg/kg/day and above. .Splenic lymphoid depletion, 300 mg/kg/day and above. Stomach distension and thymic atrophy, 800 mg/kg/day.	AstraZeneca Charnwood, Loughborough, Leicestershire, UK	98308 (SR98308-01) M4.2.3.2.3

2.6.7.6 Repeat-dose Toxicity (Non-pivotal)

Test article: Ticagrelor

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	NOAELa (mg/kg/day)	Noteworthy findings	Testing facility	Study number & Location in CTD
Rat Han Wistar and Sprague Dawley	Oral gavage 1% w/v carboxy-methylcellulose containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80	1, 3, and 6 months	0, 180 (0660AR) 0, 300 (99302) 0, 20, 60, 180 (TPR3134) 0, 10, 60, 180 (456930)	Female 10 Female 10 Female 18-20 (recovery: 8-10) Female 20 (recovery: 10)	180 300 60 60	Special re-evaluation of the uterus, cervix, vagina and ovaries from repeat-dose studies (0660AR, 99302, TPR3143 and 456930) indicated that changes were only present in the ovaries (increased severity of vacuolation or 'foamy appearance' of the interstitial cell cytoplasm) of rats at 180 mg/kg for 3 or 6 months. No changes at 180 or 300 mg/kg after 1 month.	AZA	0583KY M4.2.3.2.7
Dog Beagle	Oral (gavage) 1% Carboxymethyl-cellulose and 0.1% Tween 80 in water	Single ascending doses, with 5, 6 and 15 days between dosing	Ascending doses: 50, 200, 800, 2000	1M, 1F	Not identified	Vomiting and loose faeces were seen following all doses. There were no treatment-related effects on body weights, food consumption, body temperature or urinalysis. Increased neutrophils and monocytes were not dose-related. Decreased cholesterol, triglycerides, albumin and total protein were not considered of toxicological importance. There were no effects on selected organ weights, or on gross or microscopic observations. It was concluded that doses up to 2000 mg/kg were well tolerated.	AstraZeneca Charnwood, Loughborough, Leicestershire, UK	99184 (SR99184-02) M4.2.3.2.8

2.6.7.6 Repeat-dose Toxicity (Non-pivotal)

Test article: Ticagrelor

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	NOAELa (mg/kg/day)	Noteworthy findings	Testing facility	Study number & Location in CTD
Marmoset (*Callithrix jacchus*)	Oral (gavage) 1% Sodium carboxymethyl cellulose and 0.1% polysorbate 80 in water	Replicate 1 Ascending dose. Up to 14 days at each dose level before advancing to next dose level. Replicate 2 Up to 22 days	Replicate 1 0 (vehicle) 20, 65, 200* *discontinued after 8 doses due to adverse effects Replicate 2 0 (vehicle) 65	Replicates 1 and 2 2M, 2F 2M, 2F	Not identified.	Due to adverse findings, one control and 3 ticagrelor-treated marmosets were either killed or died prior the scheduled termination of the study. Macroscopic observations at necropsy and microscopic findings indicated trauma to the stomach. The distribution of findings do not implicate the test compound ticagrelor, but infer an effect primarily attributable to the dosing vehicle, dose volume or dose procedure. Haematology and clinical chemistry results were highly variable but a collective pattern of protein and electrolyte disturbance indicated an effect on the gastro-intestinal tract in both control animals and animals that received ticagrelor.	AstraZeneca Charnwood, Loughborough, Leicestershire, UK	0005HT M4.2.3.2.11

2.6.7.6 Repeat-dose Toxicity (Non-pivotal)

Test article: Ticagrelor

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	NOAELa (mg/kg/day)	Noteworthy findings	Testing facility	Study number & Location in CTD
Marmoset (Callithrix jacchus)	Oral (gavage) 0.6% Sodium carboxymethyl-cellulose in water	Vehicle for 7 Weeks followed by vehicle or ticagrelor for 15 Weeks.	0, 200	Vehicle for 7 Weeks: 8M, 8F Vehicle or ticagrelor for 15 Weeks: 4M, 4F	>200	Reduced triglycerides and increased AST were measured in the ticagrelor treated group. There were no histopathological changes that could be attributed to treatment with ticagrelor. Dosing with reduced dose volume (5 mL/kg) and use of 0.6% CMC as the dosing vehicle was well tolerated by the animals, and should be used in subsequent repeat-dose studies with this species. Using this treatment regime there were no findings that could be attributed to administration of ticagrelor at 384 μmol/kg (200 mg/kg) for 15 weeks.	AstraZeneca Charnwood, Loughborough, Leicestershire, UK	0007PT M4.2.3.2.12

a: No observed adverse effect level

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity

Report title: AR-C126532XX: One month oral toxicity study, with assessment of recovery in the rat

Test Article: Ticagrelor

Species/strain: Rat/Sprague Dawley (Crl CD®BR)

Initial age: 8 to 12 weeks at start of dosing

Date of first dose: [redacted] 19[redacted]

Special features: None

Duration of dosing: 28 days (1 month)

Duration of postdose: 28 days

Method of administration: Oral gavage

Study number: 99302 (SR99302-01)
Location in CTD: 4.2.3.2.4

GLP compliance: Yes

Vehicle/formulation: 1% carboxymethylcellulose with 0.1% Tween 80 in water

No observed adverse-effect level: 20 mg/kg/day

Conclusion: Administration of AR-C126532XX at 300 mg/kg/day was considered to be irritant to the stomach and intestine and induced effects in liver, adrenal, lung, and bone marrow in both male and female animals. Induced effects to the lung and bone marrow did not completely resolve following a 28-day off-dose recovery period. Minimal effects on the lung, adrenal, and liver were seen following administration of 80 mg/kg/day. AR-C126532XX did not induce any changes of toxicological importance when administered at 20 mg/kg/day for 28 days.

Daily dose (mg/kg/day)	0		20		80		300	
Number of animals	10 +5 M	10 +5 F	10 +5 M	10 +5 F	10 +5 M	10 +5 F	10 +5 M	10 +5 F
Toxicokinetics: $AUC_{(0-24)}$ (μg·h/mL) Day 28	--	--	13.6	10.5	75.8	81.9	560	706
C_{max} (μg/mL) Day 28	--	--	1.41	1.29	6.14	6.90	35.1	41.2
Died or Sacrificed Moribund	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	3/15[c]	0/15
Body Weight (%[a])	435.7 g	253.3 g	+1.45%	+4.74%	+5.42%	+6.24%	-5.97%	+5.61%
Food Consumption (%[a])	28.3 (g/day)	20.0 (g/day)	+1.41%	±0%	±0%	+6.50%	+10.6%	-5.0%
Water Consumption (%[a])	34.7 (mL/day)	24.7 (mL/day)	-4.90%	+2.43%	+7.49%	+16.2%	+23.1%	+29.6%
Clinical Observations								
Decreased muscle tone	0	0	0	0	0	0	5	8
Decreased motor activity	0	0	0	0	0	0	15	2
Piloerection	0	0	1	0	4	1	9	3
Cold extremities	0	3	4	10	12	15	13	15
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Hematology—Day 21, Main Study								
HB (g/dL)	15.1	14.7	15.3	14.4	15.0	14.2	14.5*	13.2***
RBC (10^{12}/L)	7.85	7.70	8.11	7.52	7.80	7.34*	7.52	6.84***
HCT (L/L)	0.45	0.43	0.45	0.42	0.44	0.41	0.43	0.38***
RETC (%RBC)	3.58	2.76	3.26	3.40	3.54	3.37*	6.04***	7.52**
Serum Chemistry—Week 4								
ALP (IU/L)	180	145	166	134	163	162	960***	1240***
CHOL (mmol/L)	1.78	1.65	1.52	1.83	1.76	1.93*	2.81**	2.71***
TBIL (μmol/L)	1.50	1.40	1.9	1.30	1.60	1.00	2.40	2.6**
TG (mmol/L)	0.71	0.52	0.72	0.49	0.83	0.61	0.39***	0.29**
Urinalysis								
Volume (mL)	8.8	6.7	9.2	7.5	9.3	8.4	10.6	9.1
Osmolality (mOsmol/kg)	511	431	517	401	588	458	504	485
Protein (g/L)	0.507	0.209	0.394	0.075*	0.574	0.122	0.620	0.157
Absolute Organ Weights (%[b])								
Liver	15.2 g	9.57 g	+5.26	+1.67	+13.8*	+16.0*	+17.1**	+25.4**
Stomach	1.76 g	1.28 g	+6.25	+3.91	+12.5	+17.2*	+34.7**	+40.6**
Adrenal	0.06 g	0.08 g	+16.7	+0.0	+16.7	+0.0	+83.3**	+50**

Daily dose (mg/kg/day)	0		20		80		300	
Number of animals	10 +5 M	10 +5 F	10 +5 M	10 +5 F	10 +5 M	10 +5 F	10 +5 M	10 +5 F
Gross Pathology								
Stomach—distended with ingesta							√	
Duodenum—distended							√	
Ileum—distended with ingesta								√
discoloured, red							√	√
Histopathology								
Stomach—erosion							√	
Lung—alveolar histiocytosis					√		√*	√**
Adrenal—cortical vacuolation					√	√	√	√
Bone Marrow (sternum)—fatty atrophy							√	√
Recovery Group Examinations								
Number Evaluated	5	5	5	5	5	5	5	5
Histopathology								
Lung—alveolar histiocytosis							√	
Bone Marrow (sternum)—fatty atrophy							√	

- = No noteworthy findings　√ = present　ND = not determined

* = p<0.05;** = p<0.01; *** = p<0.001

a　At end of dosing period. For controls, group means are shown in grams; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)

b　At end of dosing period. For controls, group means are shown in grams; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)

c　Due to excessive clinical signs (decreased motor activity and muscle tone, piloerection, hunched posture) and body weight loss, animal 69, 70 (Day10) and animal 67 (Day16) were killed.

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity

Report title: AR-C126532XX: Three month oral toxicity study in rats.

Test Article: Ticagrelor

Species/strain: Rat/Sprague Dawley

Duration of dosing: 91 days

Study number: TPR3143

Location in CTD: 4.2.3.2.5

Initial age: 44-51 days

Duration of postdose: 92 days

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: oral gavage

Vehicle/formulation: 1% (w/v) carboxymethylcellulose solution containing 0.1% polysorbate 80

Special features: None

No observed adverse-effect level: A NOEL was not determined; however, findings at both 20 and 60 mg/kg/day were considered minor.
Conclusion: The oral administration of AR-C126532XX caused minor increases in platelets and decreases in total plasma calcium at all doses. Minor changes were detected at 60 mg/kg/day and 180 mg/kg/day, including a slight decrease in triglycerides and slight increases in relative organ weights (liver, heart, adrenal glands, spleen, and kidney). At 180 mg/kg/day, there were a number of changes, including increases in reticulocytes, red blood cells and lymphocytes, a decrease in platelet volume, increases in ALP, cholesterol, increases in organ weights (liver, lungs) and an increased incidence and severity of alveolar foamy macrophages (alveolar histiocytosis/phospholipidosis) in the lungs. All findings were shown to be fully reversible at the end of the 13 week withdrawal period.

Daily dose (mg/kg/day)	0		20		60		180	
Number of animals	20 + 10 M	20 + 10 F	20 M	20 F	20 M	20 F	20 + 10 M	20 + 10 F
Toxicokinetics: $AUC_{(0-24)}$/mL) Day 90	--	--	17.8	20.2	79.4	115	297	531
C_{max} (μg/mL) Day 90	--	--	2.00	2.01	8.41	8.44	24.6	28.0
Died or Sacrificed Moribund	0	0	1[c]	0	0	2[c]	0	4[c]
Body Weight (%[a])	570 (g)	308 (g)	+1.23	±0.00	-1.40	-1.95	-6.14**	+1.62
Food Consumption (%[a])	28.2 (g/day)	19.2 (g/day)	±0.00	-2.60	-4.61	+8.33	-6.03	-7.81
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Platelets (x 10^9/L)—Week 4	1072	1019	1142	1152	1078	1156**	1088	1308***
Platelets (x 10^9/L)—Week 13	1151	921	1206	1120**	1033	1208***	1253	1302***
RDW (%)—Week 4	12.5	11.8	12.6	11.6	12.7	11.9	13.1**	12.9**
RDW (%)—Week 13	14.0	13.5	14.4	13.0	14.2	12.5	14.0	13.6
Reticulocytes (%)—Week 4	3.14	2.89	3.16	2.88	3.02	3.20	3.67	3.74*
Reticulocytes (%)—Week 13	2.64	2.90	2.97	2.94	2.69	2.95	2.72	3.39
Lymphocytes (x 10^9/L)—Week 4	9.78	6.87	9.41	5.81	9.24	7.94	10.58	8.68*
Lymphocytes (x 10^9/L)—Week 13	8.96	6.04	8.70	6.94	10.50	6.12	11.19*	6.74
Serum Chemistry								
Triglycerides (mmol/L)—Week 4	1.35	1.14	1.14	0.78*	1.26	0.85*	0.88*	0.67***
Triglycerides (mmol/L)—Week 13	1.21	1.22	1.41	1.10	1.59	1.24	0.88	0.53*
Cholesterol (mmol/L)—Week 4	1.9	2.0	1.9	2.0	2.1	2.2	2.1*	2.7***
Cholesterol (mmol/L)—Week 13	2.1	2.2	2.2	2.3	2.2	2.4	2.4	2.7*
ALP (IU/L)—Week 4	598	449	694	428	752	450	890**	1041***
ALP (IU/L)—Week 13	365	236	368	204	374	216	515*	486**
Total Calcium (mmol/L)—Week 13	2.74	2.75	2.69	2.82	2.65*	2.77	2.59***	2.52**
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%[b])								
Liver	21.2 g	10.6 g	-6.13	+6.60	+1.89	+8.49	+5.19	+24.5***
Lung	1.83 g	1.42 g	-2.73	-0.70	-0.55	-1.41	-6.01	+7.75*
Gross Pathology								
Irregularly cream coloured raised area on the surface of the lungs							√	√

Daily dose (mg/kg/day)	0		20		60		180	
Number of animals	20 + 10 M	20 + 10 F	20 M	20 F	20 M	20 F	20 + 10 M	20 + 10 F
Histopathology								
Increased incidence and severity of alveolar foamy macrophages (alveolar histiocytosis) with myelinic whorls (phospholipidosis)							√	√
Additional Examinations								
Recovery Evaluation								
Number Evaluated	10	10	0	0	0	0	10	8
No findings were noted	--	--					--	--

- = No noteworthy findings
√ = present
* = p<0.05; ** = p<0.01;　*** = p<0.001

a　At end of dosing period.　For controls, group means are shown in grams, for treated groups, percent differences from controls are shown.　Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences), ** trend test

b　Control values are grams, treatment groups show % change from control for the absolute organ weights.

c　One death (180 mg/kg/day, female) was considered the result of acute vaginitis, and one death (60 mg/kg/day, female) was due to be cannibalised. Other premature deaths/animals sacrificed moribund (five animals) were attributed to lung dosing.

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity

Report title: AZD6140: 26 Week Toxicity Study in Rats with Administration by Gavage Including Male Fertility Assessment Followed by a 13 Week Recovery Period

Test Article: Ticagrelor

Species/strain: Rat/Han: Wistar(Crl:WI (Glx/BRL/Han) IGSBR)

Initial age: approximately 6 weeks at start of dosing

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of dosing: 26 weeks

Duration of postdose: 13 weeks

Method of administration: oral gavage

Study number: 456930 (0400PR)
Location in CTD: 4.2.3.2.6

GLP compliance: Yes

Vehicle/formulation: 1% (w/v) carboxymethylcellulose solution containing 0.1% polysorbate 80 in water

Special features: Assessment of Male Fertility

No observed adverse-effect level: 10 mg/kg/day was regarded as the no effect level for both sexes. In females, 60 mg/kg/day was regarded as a no adverse effect level.

Conclusion: Daily oral administration of ticagrelor to rats for 26 weeks caused some in-life, clinical pathology and histopathological findings (lungs, liver, adrenals and mesenteric lymph node) of one or both sexes at 180 mg/kg/day. Some of the in-life and clinical pathology changes were seen at 60 mg/kg/day as was the histopathology of the mesenteric lymph node in the males at 60 mg/kg/day. The histopathology changes had returned to background levels at the end of the recovery period and the in-life and clinical pathology changes were not evident after the recovery period. There were no adverse effects on male fertility at the doses used in the study.

Daily dose (mg/kg/day)	0		10		60		180	
Number of main test animals/TK/male fertility †: additional 12 M / 10 F included for withdrawal	23 M †	23 F†	23 M	23 F	23 M	23 F	23 M†	23 F†
Number of animals for reproduction		32F		20F		20F		32F
Toxicokinetics (ticagrerlor):	--	--						
Day 172 AUC (µg·h/mL)			3.39	3.43	49.7	51.8	168	289
Day 172 C_{max} (µg/mL)	--	--	0.622	0.732	6.22	4.84	13.6	19.7
Toxicokinetics (AR-C124910XX):								
Day 172 AUC (µg·h/mL)			1.93	1.08	38.6	14.3	144	74.2
Day 172 C_{max} (µg/mL)			0.255	0.175	2.80	0.962	9.00	4.37
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	2[b]	1[c]	1[d]
Body Weight Gain (%[a]) Week 0 – Week 26	288 g	123 g	-1%	+2%	-7%*	-1%	-18%***	-3%
Food Consumption Week 26 (g/rat/day)	22.3	15.9	22.0	15.5	20.9	16.0	19.5**	15.5
Increased Water Consumption	-	-	-	-	-	-	√	√
Clinical Observations	-	-	-	-				
excessive salivation, wet and stained fur around mouth/nose/muzzle/head					√	√	√	√
abnormal faeces							√	√
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology [a]								
total white blood cells ($\times 10^9$ L) week 13/14	7.72	4.97	-	-	-	+35%**	+25%*	+72%***
total white blood cells ($\times 10^9$ L) week 26	7.21	4.52	-	-	-	+28%*	+26%***	+70%***
lymphocytes ($\times 10^9$ L) week 13/14	5.91	3.76	-	+24%*	-	+39%**	+29%**	+77%***
lymphocytes ($\times 10^9$ L) week 26	5.87	3.27	-	+23%	-	+47%***	+18%	+87%***
Serum Chemistry [a]								
urea (mmol/L) week 13/14	6.2	6.3	-	-	-	-	-	+19%***
urea (mmol/L) week 26	5.9	6.1	-	-	-	-	+14%**	+13%**
alanine aminotransferase (IU/L) week 13/14	62	61	-	-	+31%***	+31%***	+68%***	+46%***
alanine aminotransferase (IU/L) week 26	52	53	-	-	-	-	+42%***	+28%**
alkaline phosphatase (IU/L) week 13/14	81	50	-	-	-	-	+47%***	+98%***
alkaline phosphatase (IU/L) week 26	70	44	-	-	-	-	+31%***	+48%***
cholesterol (mmol/L) week 13/14	1.4	1.4	-	-	-	-	-	+21%***
cholesterol (mmol/L) week 26	1.9	1.6	-	-	-	-	-	+25%**
creatinine (µmol/L) week 13/14	51	58	-	-	-	-	-	-12%***
creatinine (µmol/L) week 26	53	58	-	-	-	-7%**	-	-10%***
phosphate (mmol/L) week 13/14	1.59	1.28	-	-	-	+23%***	-	+34%***

Daily dose (mg/kg/day)	0		10		60		180	
Number of main test animals/TK/male fertility †: additional 12 M / 10 F included for withdrawal	23 M †	23 F†	23 M	23 F	23 M	23 F	23 M†	23 F†
Number of animals for reproduction		32F		20F		20F		32F
phosphate (mmol/L) week 26	1.31	1.18	-	+12%*	-	+16%**	+18%***	+25%***
total bilirubin (µmol/L) week 13/14	0.5	0.7	-	-	+180%***	-	+360%***	+229%***
total bilirubin (µmol/L) week 26	0.8	1.0	-	-	-	-	+375***	+170%***
triglycerides (mmol/L) week 13/14	2.21	1.46	-	-	-	-	-49***	
triglycerides (mmol/L) week 26	2.39	1.42	-	-	-	-	-67%***	-33%*
Urinalysis [a]								
Volume (mL) week 15	1.5	0.9					+47%*	+122%***
Volume (mL) week 26	1.2	0.9			+50%*		+83%**	+67%**
Gross Pathology								
Lung-pale foci	0/20	1/20	0/20	0/20	0/20	2/20	4/20	8/20
Histopathology								
Adrenal gland: Minimal/mild cortical inflammatory cell foci	1/20	3/20	1/20	5/20	2/20	3/20	8/20*	8/20
Liver: Minimal centrilobular hypertrophy	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20	0/20	2/20	11/20***
Mesenteric lymph node: Erythrophagocytosis	2/20	2/20	5/20	5/20	10/20*	0/20	14/20***	5/20
Lung: Alveolar foamy macrophage accumulation	3/20	9/20	9/20	7/20	6/20	10/20	17/20***	18/20**
minimal	2/20	7/20	8/20	6/20	6/20	10/20	8/20	5/20
mild	1/20	2/20	0/20	1/20	0/20	0/20	6/20	10/20*
moderate	0/20	0/20	1/20	0/20	0/20	0/20	3/20	3/20
Additional Examinations								
Reproductive performance: No abnormalities detected								
Recovery Evaluation-13 week withdrawal period (weeks 27-39)								
Clinical Observations: stained fur on body	-	-					√	√
Urinanalysis: Volume (mL) [a]	1.6	1.2					+31%	+8%
Organ weight [a]								
Liver (g) (absolute weight)	17.19	8.36					+3%	+4%
(ANCOVA)	16.86	8.36					+7%	+4%
Gross Pathology								
Lungs: pale foci	1/12	4/10					3/12	8/10
Histopathology								
Adrenal gland : Minimal cortical inflammatory cell foci	1/12	1/10					2/12	1/10

Daily dose (mg/kg/day)	0		10		60		180	
Number of main test animals/TK/male fertility †: additional 12 M / 10 F included for withdrawal	23 M †	23 F†	23 M	23 F	23 M	23 F	23 M†	23 F†
Number of animals for reproduction		32F		20F		20F		32F
Liver: Minimal centrilobular hypertrophy	0/12	0/10					0/12	0/10
Mesenteric lymph node: Minimal erythrophagocytosis	3/12	2/10					2/12	0/10
Lung: Alveolar foamy macrophage accumulation	4/12	4/10					3/12	8/10
minimal	3/12	3/10					2/12	6/10
mild	1/12	0/10					1/12	1/10
moderate	0/12	1/10					0/12	1/10

- = No noteworthy findings
√ = present
ND = not done.
* = p<0.05; ** = p<0.01; *** = p<0.001. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). Statistical analysis : Numerical data analysed using Hartley's jacknifed F-max test and Fishers's F-Protested t test. Histopathological data were analysed using Fisher's Exact test (two-tailed).
a For controls, group means are shown; for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual.
b Accidental deaths in anaesthetic chamber due to problem with oxygen supply.
c Killed due to respiratory abnormalities. Cause of death related to haemorrhage and inflammatory cell infiltrate of oesophagus from gavage procedure.
d Killed due to eye damage from orbital sinus bleed. Cause of death related to retrobulbar haemorrhage from orbital sinus bleed.

2.6.7.7D Repeat-Dose Toxicity

Report title: AR-C126532XX: One Month Oral (Gavage) Toxicity Study in the Marmoset

Test Article: Ticagrelor

Species/strain: Marmoset (*Callithrix jacchus*)

Duration of dosing: 28 days

Study number: 99228 (SR99228-01)
Location in CTD: 4.2.3.2.9

Initial body upon arrival: 306-380 g

Duration of postdose: None

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 19[redacted]

Method of administration: Oral gavage

Vehicle/formulation: 1% sodium carboxymethylcellulose, 0.1% Tween in sterile water

Special features: None

No observed adverse-effect level: 200 mg/kg/day
Conclusion: Administration of 2000 mg/kg/day caused apparent physiological stress effects in both male and female animals. Effects at 2000 mg/kg/day included subdued behaviour, reduction in body weight, decreased levels of haemoglobin, red blood cells, haematocrit, and lymphocytes. Necropsy findings included enlargement of mesenteric and renal lymph nodes, abnormal intestinal contents, distended gall bladder, and a reduction in heart weight. Histopathology revealed secondary stress associated lesions in the gastrointestinal tract, thymus, mesenteric lymph node, and femoral bone marrow.

Daily dose (mg/kg/day)	0		20		200		2000	
Number of animals	3 M	3 F	3 M	3 F	3 M	3 F	3 M	3 F
Toxicokinetics: $AUC_{(0-24)}$ (μg·h/mL) Day 28	--	--	8.91	19.1	195	121	427[#]	618
C_{max} (μg/mL) Day 28	--	--	0.944	1.83	12.5	7.93	19.7[#]	30.3
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	1[d] (TK animal found dead on Day 18)	2[d] (Days 21 and 22)
Body Weight (%[a])	335 g	326 g	+6.6%	+2.8%	+1.2%	+0.9%	-10.1%*	-5.8%
Food Consumption	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Water Consumption	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Clinical Observations (incidence %[b])								
Partial regurgitation of dose	5	0	0	0	19	0	0	25
Subdued behaviour	0	0	0	0	0	0	0	13
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Hematology								
Hemoglobin (g/dL)	15.8	16.4	16.6	14.8	15.5	16.1	13.0*	14.5
Red blood cells ($x10^{12}$/L)	7.40	7.74	8.10	7.38	7.39	7.74	6.46*	7.47
Hematocrit	0.523	0.545	0.541	0.485	0.509	0.520	0.420*	0.483
Monocytes (x 10^9/L)	0.42	0.03	0.33	0.18	0.08	0.18	0.05*	0.24
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights (%[c])								
Heart	2.01 g	1.89 g	+2%	-4%	0%	+6%	-7%	-17%*
Gross Pathology								
Enlarged lymph nodes								√
Abnormal intestinal contents							√	√
Distended gall bladder							√	√
Abnormal heart shape								√
Dilated kidney, right								√

Daily dose (mg/kg/day)	0		20		200		2000	
Number of animals	3 M	3 F	3 M	3 F	3 M	3 F	3 M	3 F
Histopathology								
Lymphoid depletion of germinal centers of mesenteric lymph nodes								√
Thymic cortical atrophy								
Serous atrophy of bone marrow								√
Intestinal pathologies							√	√
Fibrosis and cholecystitis in gall bladder							√	√
Myocardial hypertrophy, mild myocarditis								√
								√

- = No noteworthy findings
√ = present
* = p<0.05;　** = p<0.01;　*** = p<0.001
# N=1

a　At end of dosing period.　For controls, group means are shown, for treated groups, percent differences from controls are shown.　Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)

b　Incidence % = Actual number of incidences week 4/maximum possible number of incidences (e.g., 3 animals x 7 days = 21 as 100%)

c　Control values are in grams.　For treated animals number indicates percent difference for the absolute organ weights.　Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)

d　The cause of death for the three premature decedents (2000 mg/kg/day) was considered to be necrotising enteritis for Animal 18 (male, found dead), haemorrhagic enteritis for Animal 28 (female, sacrificed), and a combination of haemorrhagic enteritis and hypertrophic cardiomyopathy in Animal 29 (female, sacrificed). These findings are consistent with the clinical signs observed in these animals.

2.6.7.7E Repeat-Dose Toxicity

Report title: AR-C126532XX: 3 Month Oral (Gavage) Toxicity Study in the Marmoset with a 1 Month Recovery Period

Test Article: Ticagrelor

Species/strain: Marmoset (*Callithrix jacchus*)

Initial age: 15-20 months

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Duration of dosing: 13 weeks

Duration of postdose: 4 weeks

Method of administration: Oral gavage

Study number: 575049
Location in CTD: 4.2.3.2.10

GLP compliance: Yes

Vehicle/formulation: 1% sodium carboxymethylcellulose, 0.1% Tween 80 in sterile water

Special features: Dose reduction for high dose group from 1000 mg/kg/day to 500 mg/kg/day on Days 6-7 and termination of dosing for that group on Days 8-9.

No observed adverse-effect level: Not established in this study
Conclusion: Administration of ticagrelor was associated with premature death such that dosing was terminated for the high dose group on Day 9 after being reduced on Day 6-7. Other findings included body weight loss and changes in liver and kidney, abdominal cavity, lymphoid tissues, bone marrow, intestinal tract, adrenal gland, spleen and femur. Following completion of dosing evidence of reversibility of these findings was noted in the recovery animals.

Daily dose (mg/kg/day)	0		20		100		1000/500	
Number of animals (Main + Recorery)	8 M (5+3)	8 F (5+3)	8 M (5+3)	8 F (5+3)	8 M (5+3)	8 F (5+3)	8 M (5+3)	8 F (5+3)
Toxicokinetics: $AUC_{(0-24)}$ (μg·h/mL, Day 56, 57)	-	-	27.7	20.1	177	126	#	#
C_{max} (μg/mL, Day 56, 57)	-	-	3.62	2.69	15.5	10.6	#	#
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	4[a]	1[a]
Body Weight (%) [b]	372 g	371	-2%	+2%	+1%	-1%	#	#
Clinical Observations								
Subdued behaviour							√	√
Hunched posture							√	
Reluctant to leave nest box							√	
Emesis after dosing			√		√	√		
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-		
Hematology								
Lymphocyte count ($\times 10^9$/L)	5.92	7.7	5.13	6.91	3.99	4.20*	4.46[#]	5.31[#]
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-		
Urinalysis	-	-	-	-	-	-		
Organ Weights	-	-	-	-	-	-		
Gross Pathology								
Abnormal contents of large intestine	-	-	-	-	-	-	√[c]	√[c]
Reddened/haemorrhagic tissue in abdominal cavity	-	-	√	-	√	-	√[c]	-
Adhesions between liver lobes	-	√	√	-	√	√	-	-
Adrenal gland dark	-	-	-	√	√	-	-	-
Histopathology								
Premature decedents								
Lymphocytolosis of the thymic cortex	NA	NA	NA	NA	NA	NA	√	√
Congestion of marrow from sternum	NA	NA	NA	NA	NA	NA	√	√
Congestion/hemorrhage of femoral marrow	NA	NA	NA	NA	NA	NA	√	√
Hyalinized germinal centers in mandibular and mesenteric lymph nodes	NA	NA	NA	NA	NA	NA	√	√
Follicular atrophy of pancreatic lymph node	NA	NA	NA	NA	NA	NA	√	-
Lymphoid atrophy of spleen	NA	NA	NA	NA	NA	NA	√	-
Scheduled termination								
Lymphoid atrophy of spleen	0/5	0/5	1/5	0/5	1/5	2/5	-	-
Liver: inflammation	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	2/5	-	-

Daily dose (mg/kg/day)	0		20		100		1000/500	
Number of animals (Main + Recorery)	8 M (5+3)	8 F (5+3)	8 M (5+3)	8 F (5+3)	8 M (5+3)	8 F (5+3)	8 M (5+3)	8 F (5+3)
Adrenal gland: polymorphonuclear leukocytic infiltration	0/5	0/5	0/5	0/5	2/5	0/5	-	-
Adrenal gland: haematoma, necrosis, infllammation	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5	-	-
Diaphragm: inflammation,	-	-	√	-	-	√	-	-
Recovery Evaluation: 1-month recovery period								
Number Evaluated	3	3	3	3	3	3	4[d]	7[d]
Mild haematopoiesis in spleen							√	
Lymphoid atrophy of spleen							√	√

- = No noteworthy findings
√ = present
NA = not applicable.
* = p<0.05;　** = p<0.01;　*** = p<0.001
# High dose animals terminated (Day 34-35) before toxicokinetics evaluation/body weight measurements.
a Deaths (1 male, 1 female) or euthanasia for humane reasons (3 males) occurred between Days 7-10; dosing for high dose group terminated on Day 9. Clinical signs included subdued behaviour and/or hunched posture. A sustained period of inappetance is major contributory factor to the premature death of these animals.
b At end of dosing period. For controls, group means are shown, for treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)
c Premature decedents
d Dosing reduced in males on Day 7, stopped on Day 9 and surviving animals necropsied on Day 35; dosing reduced in females on Day 6, stopped on Day 8 and surviving animals necropsied on Day 34.

2.6.7.7F Repeat-Dose Toxicity

Study title: 12 Month Oral (Gavage) Toxicity Study in the Marmoset

Test Article: Ticagrelor

Species/strain: Marmoset (*Callithrix jacchus*)

Duration of dosing: 52 Weeks

Study number: 505453
Location in CTD: 4.2.3.2.13

Initial age: 18-29 months

Duration of postdose: None

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)

Vehicle/formulation: 1.0% w/v carboxymethylcellulose (medium viscosity) in 0.1% w/v Tween 80 in water

Special features: None

No observed adverse-effect level: Given the findings noted at 10 mg/kg/day (premature death, body weight loss, low red blood cell parameters and enteritis, characterised by mucosal atrophy and chronic inflammation, affecting the small and large intestines) a no observed effect level (NOEL) could not be established in this study.
Conclusion: Evidence of toxicity in animals receiving up to 200 mg/kg/day (dose level reduced to 100 mg/kg/day from Week 36/37 of treatment) included premature death, subdued behaviour, liquid/soft faeces, high platelet numbers and enteritis, characterised by mucosal atrophy and chronic inflammation, affecting the small and large intestines. Treatment with AZD6140 resulted in the premature death of 7 treated animals (4 males and 1 female) in the top dose level (200 mg/kg/day), one male at 50 mg/kg/day and one male at 10 mg/kg/day. Subdued behaviour and/or a severe drop in body weight were also observed in the premature decedents prior to death. Low red blood cell parameters (haemoglobin concentration, red blood cell count and haematocrit) were noted in a number of the premature decedents when sampled prior to sacrifice, suggesting possible blood loss due to the GI tract lesions. Marmosets are known to be prone to gastrointestinal lesions if stressed. The findings in the intestines (and premature death at the low dose) may be due to the sensitivity of the marmoset to these kind of effects and therefore relevance to man is equivocal. The severity of this finding noted in control animals was considered to be similar to that observed as a background incidence in marmosets at Inveresk, however, the severity of this finding noted in treated animals was considered to be higher than that expected as a normal background incidence. The liquid faeces, subdued behaviour and body weight loss are considered to be secondary to the enteritis observed in treated animals.

Daily dose (mg/kg/day)	0		10		50		200/100[a]	
Number of animals	6M	6F	6M	6F	6M	6F	6M	6F
Toxicokinetics: Ticagrelor AUC_{0-24} (μg·h/mL)	--	--	8.47	6.27	61.1	44.4	93.0	86.7
C_{max} (μg/mL)	--	--	1.19	0.962	8.67	4.41	7.63	9.67
AR-C124910XX AUC_{0-24} (μg·h/mL)	--	--	2.85	2.72	18.0	24.9	36.5	41.4
C_{max} (μg/mL)	--	--	0.403	0.350	1.15	1.57	2.37	3.33
Clinical Observations								
Liquid/soft faeces					√		√	√
Died or Sacrificed Moribund [b]	0	0	1	0	1	1	4	1
Body Weight Gain (survivors) (g, %) [c]	26 g	45 g	+15%	-13%	-38%	-24%	+35%	-24%
Hematology [d]	15.3	16.9	16.5	15.8	15.5	16.6	17.6	17.2
Hemoglobin (g/dL)			12M 8.8		13M 11.2		23M 13.9	
(outliers indicated by animal number)							24M 9.7	
RBC ($\times 10^{12}$/L)	6.93	7.57	7.47	7.06	7.28	7.57	8.02	7.94
(outliers indicated by animal number)			12M 4.20		13M 5.78		23M 6.82	
							24M 4.50	
Hct	0.517	0.555	0.558	0.528	0.530	0.551	0.579	0.565
(outliers indicated by animal number)			12M 0.302		13M 0.393		23M 0.463	
							24M 0.312	
Gross Pathology								
Premature decedents								
Distended intestines with abnormal contents.			√		√		√	√
Survivors to scheduled necropsy			Typical of spontaneously arising background findings.					
Histopathology								
Premature decedents								
Duodenal, jejunal and/or ileal enteritis, typhlitis, colitis, proctitis			√ ++		√ ++	√+	√ ++	√ +
Survivors to scheduled necropsy								
Duodenal, jejunal and/or ileal enteritis, typhlitis, colitis, proctitis	√ +	√ +	√ +	√ +	√ +	√ +	√ +	√ +

√ = Present. - = No noteworthy findings; + = Minimal to mild; ++ = Mild to moderate

a Due to clinical effects, including mortality, the high dose group animals receiving 200 mg/kg/day had their dose level reduced to 100 mg/kg/day from Week 36/37 onwards following a short period of off-dosing (up to 20 days).

b Eight animals were sacrificed for humane reasons, and enteritis, characterised by mucosal atrophy and chronic inflammation, affecting the whole length of the small and large intestines were observed in these animals. One female (50 mg/kg/day) was sacrificed on Day 141 due to poor clinical condition related to gingivitis, and not considered related to treatment with AZD6140.

c At end of dosing period. For controls, group means are shown, for treated groups, percent differences from controls are shown.

d Group mean values, without decedents, are shown for all dose groups, along with individual values taken at sacrifice for animals sacrificed prematurely.

2.6.7.8 In Vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8A Genotoxicity in vitro (non-pivotal)

AR-C125917XX, AR-C126532XX, AR-C126583XX: Assessment of Mutagenic Potential – Limited Ames Assay

Test article: Ticagrelor

Test for induction of: reverse mutation in bacterial cells

No of independent assays: 1

Study number: 98351(SR98351-02)
Location in CTD: 4.2.3.3.1.1

Strains: *S.typhimurium* LT2 (TA1535, TA1537, TA98, TA100 and TA102)

No of replicate cultures: 3

Testing facility: AstraZeneca R&D Charnwood, Bakewell Road, Loughborough, Leics LE11 5RH, England

Metabolizing system: Aroclor induced rat liver S9, 10%

No of cells analysed/culture: Not applicable

GLP compliance: No

Vehicles: For test article: DMSO (Dimethyl sulphoxide)
For positive controls: DMSO for 2-nitrofluorene, 2-aminoanthracene and cumene hydroperoxide
Water for sodium azide and 9-aminoacridine HCl

Treatment: (-/+ S9), plate incorporation for 72 hours.

Date of treatment: [redacted] 19[redacted]

Cytotoxic effects: The minimum dose showing evidence of cytotoxicity ranged from 33.3 to 1000 µg per plate. The maximum dose level scored for revertant colonies ranged from 33.3 to 1000 µg per plate.

Genotoxic effects: None.

AR-C126532XX: Plate incorporation method - without metabolic activation

Test Material (Dose / plate)		Bacterial Strain and Number of Revertant Colonies per Plate (Mean values ± SD)				
µg	µmol	TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
Solvent (DMSO)		20 ±7	8 ± 4	20 ± 4	126 ± 18	262 ± 13
3.3	0.0062	20 ± 3	10 ± 5	14 ± 4	134 ± 4	280 ± 17
10	0.0185	27 ± 1	7 ± 4	24 ± 7	139 ± 15	295 ± 15
33.3	0.0617	15 ± 3 [s]	9 ± 3	25 ± 3	138 ± 11	269 ± 5
100	0.1850	16 ± 7 [v]	vns	19 ± 3	117 ± 4 [s]	205 ± 20 [v]
333.3	0.6165	11 ± 1 [v/vns]	n/p	13 ± 4 [r]	82 ± 7 [r]	vns
1000	1.8498	vns	n/p	15 ± 2 [r]	49 ± 3	vns
Positive Control		NaN_3	9AA.HCl	2NF	NaN_3	Cumene hydroperoxide
µg / plate		0.5	50	0.5	0.5	80
No. of colonies		143 ± 17	145 ± 59	264 ± 28	504 ± 28	635 ± 20

Positive Controls: sodium azide (NaN3); 9-aminoacridine HCl (9AA.HCl); 2-nitrofluorene (2NF)
s, r, v: background lawns slightly reduced, reduced or very reduced – indicative of antibacterial activity
vns: very reduced lawn, not scorable; n/p: no lawn, pseudorevertant colonies

AR-C126532XX: Plate incorporation method - with metabolic activation

Test Material (Dose / plate)		Bacterial Strain and Number of Revertant Colonies per Plate (Mean values ± SD)				
µg	µmol	TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
Solvent (DMSO)		13 ±2	15 ± 3	32 ± 6	113 ± 2	313 ± 22
3.3	0.0062	13 ± 3	14 ± 2	38 ± 5	128 ± 3	316 ± 11
10	0.0185	10 ± 3	14 ± 1	38 ± 3	133 ± 18	309 ± 14
33.3	0.0617	18 ± 4	12 ± 3	37 ± 4	141 ± 11	321 ± 4
100	0.1850	15 ± 7 [s]	11 ± 4 [s]	34 ± 1	131 ± 9	275 ± 11
333.3	0.6165	11 ± 2 [v]	9 ± 3 [v]	32 ± 5 [s]	118 ± 5	337 ± 28 [s]
1000	1.8498	3 ± 2 [v]	5 ±1 [v]	28 ±1 [r]	40 ± 9 [s]	196 ± 22 [r]
Positive Control		2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
µg / plate		2.0	2.0	2.0	2.0	20
No. of colonies		83 ± 11	110 ± 8	877 ± 21	1359 ± 87	2344 ± 358

Positive Control:　2-aminoanthracene (2AA)
s, r, v: background lawns slightly reduced, reduced or very reduced – indicative of antibacterial activity

2.6.7.8B Genotoxicity in vitro **Report title: AR-C126532XX : Test for gene mutation in bacteria (Ames test)** **Test article: Ticagrelor**

Test for induction of: reverse mutation in bacterial cells

No of independent assays: 2

Study number: 99440 (SR99440-01)
Location in CTD: 4.2.3.3.1.2

Strains: *S.typhimurium* LT2 (TA1535, TA1537, TA98, TA100 and TA102)

No of replicate cultures: 3

Testing facility: AstraZeneca R&D Charnwood, Bakewell Road, Loughborough, Leicestershire, LE11 5RH, UK

Metabolizing system: Aroclor induced rat liver S9, 10%

No of cells analysed/culture: Not applicable

GLP compliance: Yes

Vehicles: For test article: DMSO (Dimethyl sulphoxide)
For positive controls: DMSO for 2-nitrofluorene and 2-aminoanthracene
Water for sodium azide, 9-aminoacridine HCl and mitomycin C

Treatment: Assay 1 (-/+ S9), plate incorporation for 72 hours. Assay 2 (-/+ S9), pre-incubation (60 minutes) followed by 72 hours plate incubation

Date of treatment: [redacted]19[redacted]

Cytotoxic effects: The minimum dose showing evidence of cytotoxicity ranged from 10 to 1000 µg (0.019 to 1.914 µmol) per plate. The maximum dose level scored for revertant colonies ranged from 100 to 3000 µg (0.191 to 5.741 µmol) per plate.

Genotoxic effects: None

AR-C126532XX: Plate incorporation method - without metabolic activation　(Assay 1)

Test Material (Dose / plate)		Bacterial Strain and Number of Revertant Colonies per Plate (Mean values　± SD)				
µg	µmol	TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
Solvent (DMSO)		22 ± 4.4	11 ± 0.6	21 ± 1.0	106 ± 10.0	343 ± 12.1
3.0	0.006	20 ± 5.0	10 ± 1.0	22 ± 4.2	116 ± 8.7	366 ± 16.1
10.0	0.019	18 ± 5.0	8 ± 2.1	19 ± 7.0	122 ± 7.8	303 ± 21.5
30.0	0.057	16 ± 3.6 [s]	10 ± 4.4 [s]	21 ± 2.5	122 ± 2.3	345 ± 14.6
100	0.191	15 ± 1.5 [v]	PR	20 ± 5.0 [r]	100 ± 21.0 [s]	306 ± 10.6 [v]
300	0.574	PR	T	14 ± 2.0 [v]	76 ± 5.0 [r]	PR
1000	1.914	PR	T	11 ± 2.1 [v]	25 ± 5.7 [v]	PR
3000	5.741	T [p]	T [p]	14 ± 1.5 [v, p]	23 ± 2.3 [v, p]	PR [p]
Positive Control		NaN_3	9AA.HCl	2AA	NaN_3	MMC
µg / plate		0.5	50	0.5	0.5	0.2
No. of colonies		292 ± 6.0	135 ± 23.0	169 ± 11.6	469 ± 32.1	1042 ± 76.3

Positive Controls:　sodium azide (NaN3); 9-aminoacridine HCl (9AA.HCl); 2-nitrofluorene (2NF); mitomycin C (MMC)
s, r, v: background lawns slightly reduced, reduced or very reduced – indicative of antibacterial activity
PR: pseudorevertant colonies, no lawns
T: toxic, no survival
p: precipitate in agar overlays
Strains TA1535 and TA1537 were scored manually; strains TA98, TA100 and TA102 were scored by image analysis ([redacted])

AR-C126532XX: Plate incorporation method - with metabolic activation (Assay 1)

Test Material (Dose / plate)		Bacterial Strain and Number of Revertant Colonies per Plate (Mean values ± SD)				
µg	µmol	TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
Solvent (DMSO)		14 ± 3.0	13 ± 3.1	30 ± 6.4	102 ± 1.0	420 ± 23.5
3.0	0.006	15 ± 2.5	15 ± 1.7	32 ± 9.0	114 ± 1.2	367 ± 4.5
10.0	0.019	18 ± 9.0	15 [d]	25 ± 6.6	113 ± 9.3	315 ± 67.6
30.0	0.057	14 ± 6.1 [s]	17 ± 2.6 [s]	37 ± 7.4	107 ± 5.8	375 ± 60.9
100	0.191	14 ± 0.6 [r]	18 ± 4.9 [v]	29 ± 2.1 [r]	106 ± 20.9 [r]	329 ± 9.5 [r]
300	0.574	9 ± 2.0 [v]	PR	34 ± 2.3 [v]	81 ± 7.5 [v]	345 ± 11.6 [v]
1000	1.914	PR	PR	23 ± 1.2 [v]	16 ± 5.0 [v]	303 ± 42.1 [v]
3000	5.741	PR [p]	PR [p]	23 ± 2.0 [v, p]	19 ± 2.6 [v, p]	270 ± 19.0 [v, p]
Positive Control		2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
µg / plate		2.0	2.0	2.0	2.0	20.0
No. of colonies		131 ± 5.3	117 ± 5.3	900 ± 116.2	1613 ± 36.9	3610 ± 502.9

Positive Control:　2-aminoanthracene (2AA)
s, r, v: background lawns slightly reduced, reduced or very reduced – indicative of antibacterial activity
PR: pseudorevertant colonies, no lawns
p: precipitate in agar overlays
d: mean of duplicate plates only
Strains TA1535 and TA1537 were scored manually; strains TA98, TA100 and TA102 were scored by image analysis ([redacted])

AR-C126532XX: Liquid pre-incubation method - without metabolic activation (Assay 2)

Test Material (Dose / plate)		Bacterial Strain and Number of Revertant Colonies per Plate (Mean values ± SD)				
µg	µmol	TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
Solvent (DMSO)		20 ± 5.1	11 ± 3.1	29 ± 2.0	138 ± 7.8	395 ± 18.5
3.0	0.006	20 ± 2.6	13 ± 1.0	21 ± 2.5	146 ± 7.0	407 ± 14.3
10.0	0.019	14 ± 1.2	10 ± 4.5 [s]	26 ± 9.0	124 ± 7.1	367 ± 22.5
30.0	0.057	13 ± 2.1 [r]	8 ± 0.6 [s]	20 ± 4.2 [r]	126 ± 15.6	302 ± 14.5 [r]
100	0.191	11 ± 3.1 [v]	PR	22 ± 2.3 [v]	121 ± 17.6	304 ± 7.5 [v]
300	0.574	12 ± 1.0 [v, p]	PR [p]	19 ± 3.8 [v, p]	128 ± 4.0 [p]	276 ± 2.9 [v, p]
1000	1.914	7 ± 3.1 [v, p]	PR [p]	16 ± 1.5 [v, p]	124 ± 3.2 [s, p]	294 ± 4.6 [v, p]
3000	5.741	NS [p]	PR [p]	PR [p]	120 ± 11.9 [s, p]	283 ± 31.3 [v, p]
Positive Control		NaN_3	9AA.HCl	2NF	NaN_3	MMC
µg / plate		0.5	50	0.5	0.5	0.2
No. of colonies		267 ± 13.9	72 ± 13.6	439 ± 8.6	504 ± 36.7	1694 ± 140.1

Positive Controls: sodium azide (NaN3); 9-aminoacridine HCl (9AA.HCl); 2-nitrofluorene (2NF); mitomycin C (MMC)
s, r, v: background lawns slightly reduced, reduced or very reduced – indicative of antibacterial activity
NS: plates not scoreable, lawns very reduced and obscured by precipitate
PR: pseudorevertant colonies, no lawns
p: precipitate in agar overlays
Strains TA1535 and TA1537 were scored manually; strains TA98, TA100 and TA102 were scored by image analysis ([redacted])

AR-C126532XX: Liquid pre-incubation method - with metabolic activation

Test Material (Dose / plate)		Bacterial Strain and Number of Revertant Colonies per Plate (Mean values ± SD)				
µg	µmol	TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
Solvent (DMSO)		15 ± 1.2	16 ± 2.6	35 ± 9.5	128 ± 11.0	455 ± 13.1
3.0	0.006	15 ± 3.5	15 ± 3.8	33 ± 5.3	120 ± 14.5	470 ± 29.3
10.0	0.019	12 ± 3.8	19 ± 4.0	32 ± 4.6	125 ± 1.7	443 ± 41.4
30.0	0.057	17 ± 1.2	17 ± 0.6	37 ± 9.2	130 ± 8.5	467 ± 44.8
100	0.191	14 ± 1.5	16 ± 2.1	38 ± 5.0	139 ± 9.7	431 ± 18.0
300	0.574	14 ± 6.0 [s]	11 ± 3.8 [r]	41 ± 9.5 [s]	114 ± 10.1	382 ± 53.0 [s]
1000	1.914	11 ± 4.0 [r, p]	3 ± 1.0 [v, p]	31 ± 4.0 [r, p]	34 ± 3.0 [r, p]	385 ± 11.0 [r, p]
3000	5.741	8 ± 3.0 [r, p]	NS [p]	37 ± 11.9 [r, p]	29 ± 0.6 [r, p]	354 ± 23.6 [r, p]
Positive Control		2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
µg / plate		2.0	2.0	2.0	2.0	20.0
No. of colonies		183 ± 12.5	293 ± 15.7	1985 ± 71.1	2751 ± 291.7	2581 ± 149.5

Positive Control:　2-aminoanthracene (2AA)
s, r, v: background lawns slightly reduced, reduced or very reduced – indicative of antibacterial activity
NS: plates not scoreable, lawns very reduced and obscured by precipitate
p: precipitate in agar overlays
Strains TA1535 and TA1537 were scored manually; strains TA98, TA100 and TA102 were scored by image analysis ([redacted])

2.6.7.8C　Genotoxicity in vitro

Report title: Genetic Toxicity Evaluation using an Ames Salmonella Test

Test article: AR-C124910XX

Test for induction of: reverse mutation in bacterial cells

No of independent assays: 2

Study number: 0109BV
Location in CTD:　4.2.3.3.1.3

Strains: *S.typhimurium* LT2 (TA1535, TA1537, TA98, TA100 and TA102)

No of replicate cultures: 3

Testing facility: AstraZeneca R&D Alderley, Alderley Park, Macclesfield, SK10 4TG, England

Metabolizing system: Aroclor 1254 induced rat liver S9, 10%

No of cells analysed/culture: Not applicable

GLP compliance: Yes

Vehicles:　For test article:　Dimethyl silphoxide (DMSO)
For positive controls: DMSO for 2-nitrofluorene and 2-aminoanthracene
Water for sodium azide, 9-aminoacridine HCl and mitomycin C

Date of treatment: [redacted]20[redacted]

Treatment: Assay 1 (-/+ S9), plate incorporation for 72 hours.　Assay 2 (-/+ S9), pre-incubation (60 minutes) followed by 72 hours plate incubation

Cytotoxic effects: Cytotoxic at doses of 10 to 30 μg per plate and above, in the presence and absence of S9

Genotoxic effects: None

Assay 1　Plate Incorporation Method - Without Metabolic Activation

Test Material (Dose / plate)		Bacterial Strain and Number of Revertant Colonies per Plate (Mean values ± SD)				
µg	µmol	TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
Solvent (DMSO)		23 ± 5.7	13 ± 1.0	30 ± 4.4	177 ± 25.9	585 ± 6.5
3	0.0063	24 ± 4.7	13 ± 2.0	27 ± 4.6	196 ± 7.0	563 ± 6.8
8.6	0.018	20 ± 9.0 s	7 ± 2.0 s	34 ± 6.7 s	191 ± 13.1 s	580 ± 17.5
30	0.063	18 ± 7.0 r	5 ± 2.0 r	24 ± 5.1 r	162 ± 6.4 r	575 ± 42.5 s
100	0.21	14 ± 3.2 v	3 ± 1.0 v	24 ± 9.1 v	136 ± 2.6 v	69 ± 28.4 v
300	0.63	10 ± 2.5 v	0 v	25 ± 2.6 v	110 ± 4.2 v	0 f
1000	2.1	0 f,p	0 f,p	0 f,p	0 f,p	0 f,p
3000	6.3	0 n,p	0 n,p	0 n,p	0 n,p	0 n,p
Positive Control		NaN_3	9AA.HCl	2NF	NaN_3	MMC
µg / plate		0.5	50	0.5	0.5	0.2
No. of colonies		478 ± 2.0	129 ± 4.0	289 ± 26.5	625 ± 42.5	2066 ± 17.7

Positive Controls:　sodium azide (NaN3); 9-aminoacridine HCl (9AA.HCl); 2-nitrofluorene (2NF); mitomycin C (MMC)
s, r, v:　background lawns slightly reduced, reduced or very reduced – indicative of antibacterial activity
p:　precipitate
f:　pseudorevertants
n:　no survival
Strains TA1535 and TA1537 were scored manually; strains TA98, TA100 and TA102 were scored by image analysis.

Assay 1　Plate Incorporation Method - With Metabolic Activation

Test Material (Dose / plate)		Bacterial Strain and Number of Revertant Colonies per Plate (Mean values ± SD)				
µg	µmol	TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
Solvent (DMSO)		21 ± 5.1	15 ± 1.5	53 ± 2.6	145 ± 8.2	576 ± 11.8
3	0.0063	18 ± 5.9	14 ± 0.6	49 ± 12.1	136 ± 1.0	570 ± 46.0
8.6	0.018	22 ± 5.0 s	13 ± 1.0 s	52 ± 22.5 s	145 ± 4.0	555 ± 17.0
30	0.063	18 ± 5.5 r	5 ± 1.7 r	55 ± 16.5 r	126 ± 2.1	572 ± 14.9 s
100	0.21	19 ± 0.6 v	5 ± 1.0 v	29 ± 37.0 r	140 ± 11.8	635 ± 70.7 r
300	0.63	21 ± 2.9 v	8 ± 7.5 v	11 ± 17.1 v	100 ± 10.7 s	119 ± 20.4 v
1000	2.1	0 f,p	0 f,p	0 n,p	39 ± 2.3 r	0 f,p
3000	6.3	0 n,p	0 n,p	0 n,p	50 ± 10.5 v,p	0 n,p
Positive Control		2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
µg / plate		2.0	2.0	2.0	2.0	20.0
No. of colonies		292 ± 29.7	132 ± 13.8	1558 ± 155.5	1955 ± 246.2	2541 ± 155.8

Positive Control:　2-aminoanthracene (2AA)
s, r, v:　background lawns slightly reduced, reduced or very reduced – indicative of antibacterial activity
p:　precipitate
f:　pseudorevertants
n:　no survival
Strains TA1535 and TA1537 were scored manually; strains TA98, TA100 and TA102 were scored by image analysis.

Assay 2　Liquid Pre-Incubation Method - Without Metabolic Activation

Test Material (Dose / plate)		Bacterial Strain and Number of Revertant Colonies per Plate (Mean values　± SD)				
µg	µmol	TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
Solvent (DMSO)		16 ± 6.0	10 ± 1.0	30 ± 6.1	148 ± 8.3	629 ± 25.7
1	0.0021	15 ± 2.1	11 ± 2.6	28 ± 3.2	147 ± 5.3	646 ± 13.2
3	0.0063	18 ± 0.6	9 ± 5.3	29 ± 6.0	153 ± 15.1	631 ± 18.8
10	0.021	15 ± 5.1 s	7 ± 1.7 s	22 ± 5.0 s	147 ± 9.8 r	620 ± 19.9 s
30	0.063	12 ± 3.0 v	0　f	25 ± 9.2 r	116 ± 3.0 v	563 ± 41.8 r
100	0.21	13 ± 4.5 v	0　f	0 f	114 ± 7.8 v	0　f
300	0.63	11 ± 2.0 v,p	0　f,p	0 f,p	103 ± 9.8 v	0　f,p
Positive Control		NaN_3	9AA.HCl	2NF	NaN_3	MMC
µg / plate		0.5	50	0.5	0.5	0.2
No. of colonies		451 ± 22.5	67 ± 12.2	429 ± 32.9	491 ± 308.9	2999 ± 109.6

Positive Controls:　sodium azide (NaN3); 9-aminoacridine HCl (9AA.HCl); 2-nitrofluorene (2NF); mitomycin C (MMC)
s, r, v:　background lawns slightly reduced, reduced or very reduced – indicative of antibacterial activity
p:　precipitate
f:　pseudorevertants
Strains TA1535 and TA1537 were scored manually; strains TA98, TA100 and TA102 were scored by image analysis.

Assay 2　Liquid Pre-Incubation Method - With Metabolic Activation

Test Material (Dose / plate)		Bacterial Strain and Number of Revertant Colonies per Plate (Mean values　± SD)				
µg	µmol	TA1535	TA1537	TA98	TA100	TA102
Solvent (DMSO)		10 ± 5.5	13 ± 6.0	42 ± 8.1	143 ± 12.1	730 ± 27.3
1	0.0021	11 ± 2.5	10 ± 5.9	44 ± 13.1	147 ± 13.6	723 ± 17.0
3	0.0063	11 ± 1.5	8 ± 2.3	41 ± 5.7	161 ± 11.4	698 ± 46.4
10	0.021	10 ± 3.6	8 ± 2.9	43 ± 11.4	151 ± 8.2	781 ± 19.3
30	0.063	9 ± 1.5	10 ± 2.1	48 ± 5.3	158 ± 23.9	722 ± 28.4
100	0.21	10 ± 2.3	11 ± 2.6	35 ± 5.9 s	156 ± 15.9 r	750 ± 19.7
300	0.63	10 ± 2.0 s	6 ± 4.0 s	36 ± 5.6 r	101 ± 3.8 v	724 ± 24.6 s
Positive Control		2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
µg / plate		2.0	2.0	2.0	2.0	20.0
No. of colonies		208 ± 20.0	194 ± 25.3	2151 ± 57.8	2412 ± 78.7	4650 ± 127.0

Positive Control:　2-aminoanthracene (2AA)
s, r, v:　background lawns slightly reduced, reduced or very reduced – indicative of antibacterial activity
Strains TA1535 and TA1537 were scored manually; strains TA98, TA100 and TA102 were scored by image analysis.

2.6.7.8D Genotoxicity in vitro **Report title: AR-C126532XX: In vitro mouse lymphoma TK Assay** **Test article: Ticagrelor**

Test for induction of: Gene mutation and chromosome aberrations	No of independent assays: 3	Study number: 99441 (SR99441-1) Location in CTD: 4.2.3.3.1.4
Strains: L5178Y $TK^{+/-}$ Mouse Lymphoma 3.7.2.C	No of replicate cultures: 4 solvent control, 2 test concentrations	Testing facility: AstraZeneca R&D Charnwood, Bakewell Road, Loughborough, Leicestershire, LE11 5RH, UK
Metabolizing system: Aroclor induced rat liver S9, 4%	No of cells per culture: 1 x 10^7 (4 hour treatment) 4 x 10^6 (24 hour treatment)	GLP compliance: Yes

Vehicles
For test article: DMSO (Dimethyl sulphoxide)
For positive controls: DMSO (Dimethyl sulphoxide)

Treatment: Assay 1, 4 hours in the presence of S9 and 24 hours in the absence of S9. Assay 2, 4 hours in the presence and absence of S9. Assay 3, 4 hours in the absence of S9

Date of treatment: [redacted] 19[redacted] to [redacted] 20[redacted]

Cytotoxic effects: Survival reduced to approximately 20% concurrent control at 0.08 mmol/L in the presence of S9, 0.03 mmol/L in the absence of S9 4 hours exposure and 0.05 mmol/L in the absence of S9 24 hours exposure

Genotoxic effects: None

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (mmol/L)	Assay 1	
			Cytotoxicity[a] (% of control)	Mutant Frequency x 10^{-6}
Without Activation	DMSO	10 μL/mL	100	82
(24 Hours Exposure)	Ticagrelor	0.03	38	95
		0.04	27	84
		0.05	16	146*
		0.06	11	107
		0.07	2	136
	4-nitroquinoline-1-oxide	0.00033	46	734
With Activation	DMSO	10 μL/mL	100	72
(4 hours Exposure)	Ticagrelor	0.03	91	95
		0.05	97	59
		0.06	92	55
		0.07	68	60
		0.08	17	65
	cyclophosphamide	0.006	47	641

a: Based on Relative Total Growth
* Dunnett's test significant at 5% level
In the absence of S9, 24 hours exposure, linear trend significant ($p<0.05$)
Increases were not considered to be biologically significant

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (mmol/L)	Assay 2	
			Cytotoxicity[a] (% of control)	Mutant Frequency x 10^{-6}
Without Activation	DMSO	10 μL/mL	100	81
(4 Hours Exposure)	Ticagrelor	0.01	101	89
		0.02	84	94
		0.03	28	88
	4-nitroquinoline-1-oxide	0.001	43	847
With Activation	DMSO	10 μL/mL	100	81
(4 hours Exposure)	Ticagrelor	0.05	83	58
		0.06	68	86
		0.065	51	65
		0.07	28	110
		0.075	16	92
	cyclophosphamide	0.006	46	570

a : Based on Relative Total Growth

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (mmol/L)	Assay 3	
			Cytotoxicity[a] (% of control)	Mutant Frequency x 10^{-6}
Without Activation	DMSO	10 μL/mL	100	81
(4 Hours Exposure)	Ticagrelor	0.015	79	86
		0.02	88	59
		0.025	63	51
		0.03	24	49
	4-nitroquinoline-1-oxide	0.001	31	1094

a : Based on Relative Total Growth

2.6.7.8E Genotoxicity in vitro	**Report title: AR-C124910XX: Genetic toxicity Evaluation using the Mouse Lymphoma Cell Thymidine Kinase Locus Assay**	**Test article: AR-C124910XX**

Test for induction of: Gene mutation and chromosome aberrations	No of independent assays: 2	Study number: 0110MV Location in CTD: 4.2.3.3.1.5
Strains: L5178Y $TK^{+/-}$ Mouse Lymphoma 3.7.2.C	No of replicate cultures: 4 solvent control, 2 test concentrations	Testing facility: Safety Assessment UK, AstraZeneca R&D, Alderley Park, Macclesfield, SK10 4TG, England
Metabolizing system: Aroclor induced rat liver S9, 4%	No of cells per culture: 1 x 10^7 (4 hour treatment) 4 x 10^6 (24 hour treatment)	GLP compliance: Yes
Vehicles For test article: DMSO (Dimethyl sulphoxide)	For positive controls: DMSO (Dimethyl sulphoxide)	Date of treatment: [redacted] to [redacted] 20[redacted]

Treatment: 4 hours in the presence and absence of S9 and 24 hours in the absence of S9

Cytotoxic effects: Survival expressed as relative total growth decreased to ≤20% corresponding solvent controls at concentrations of 0.09 mmol/L in the presence of S9, 0.025 mmol/L in the absence of S9 (4 hour) and 0.03 mmol/L in the absence of S9 (24 hour)

Genotoxic effects: None

Metabolic Activation	Test Article	Concentration	Assay 1: 4 Hour Incubation	
		mmol/L (μg/mL)	Cytotoxicity[a] (% of control)	Mutant Frequency x 10^{-6}
Without Activation	DMSO	10 μL/mL	100	89
	AR-C124910XX	0.02 (9.6)	55	115
		0.03 (14.4)	12	137
	4-nitroquinoline-1-oxide	0.001	14	1424
With Activation	DMSO	10 μL/mL	100	105
	AR-C124910XX	0.04 (19.2)	96	93
		0.05 (24.0)	93	95
		0.06 (28.8)	75	84
		0.07 (33.6)	57	94
		0.08 (38.4)	34	79
		0.09 (43.2)	6	118
	cyclophosphamide	0.006	54	684

a: Based on Relative Total Growth
Linear trend was not seen

Metabolic Activation	Test Article	Concentration	Assay 1: 24 Hour Incubation	
		mmol/L (μg/mL)	Cytotoxicity[a] (% of control)	Mutant Frequency x 10^{-6}
Without Activation	DMSO	10 μL/mL	100	87
	AR-C124910XX	0.01 (4.8)	70	78
		0.013 (6.3)	62	74
		0.02 (9.6)	35	100
		0.023 (10.7)	23	96
		0.03 (14.4)	18	97
		0.035 (16.8)	10	127
	4-nitroquinoline-1-oxide	0.00033	35	783

Metabolic Activation	Test Article	Concentration	Assay 2: 4 Hour Incubation	
		mmol/L (μg/mL)	Cytotoxicity[a] (% of control)	Mutant Frequency x 10^{-6}
Without Activation	DMSO	10 μL/mL	100	105
	AR-C124910XX	0.01 (4.8)	76	94
		0.015 (7.2)	76	85
		0.02 (9.6)	46	70
		0.025 (12)	20	90
		0.03 (14.4)	4	106
	4-nitroquinoline-1-oxide	0.001	17	1432

a: Based on Relative Total Growth
Linear trend was not seen

2.6.7.9 In Vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9A Genotoxicity in vivo **Report title: AstraZeneca AZD 6140: Micronucleus Test in the Rat: Oral Administration.** **Test article: Ticagrelor**

Test for induction of: Bone marrow micronuclei

Species/strain: Rat (males only)/Wistar derived Alderley Park (Alpk: APfSD)

Age: Approximately 6-7 weeks

Cells evaluated: Polychromatic erythrocytes (PEs)

Treatment schedule: Single administration

Sampling time: 24 and 48 hours after dosing

Method of administration: Oral

Vehicle/formulation: 1% w/v carboxymethylcellulose solution containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80 (CMC) /suspension

Study number: TQR3211
Location in CTD: 4.2.3.3.2.1

Testing facility: AstraZeneca UK Limited
Safety Assessment UK Alderley
Alderley Park, Macclesfield,
Cheshire SK10 4TG, England

GLP compliance: Yes

Date of dosing: [redacted] 20[redacted]

No. of cells analysed/animal: 6000 PEs scored from each 24 hour animal and 2000 Pes scored for each 48 hour animal for the presence of micronuclei, and the % PEs (ratio of polychromatic to normochromatic erythrocytes) determined in 1000 erythrocytes.

Special features: Tolerance of the limit dose level (2/sex, 2000 mg/kg) and systemic exposure (2/sex, 2000 mg/kg) were confirmed in the pilot phase.

Toxic/cytotoxic effects: None

Genotoxic effects: None

Evidence of exposure: Toxicokinetic data (Pilot phase)

Test Article	Dose (mg/kg)	Sampling time	No. of animals	Mean number of micronucleated polychromatic erythrocytes in 2000 polychromatic erythrocytes	Mean percentage of polychromatic erythrocytes
CMC	0 (20 mL/kg)	24 hours	7	1.34	64.5
Ticagrelor	2000	24 hours	7	1.71	69.7
Cyclophosphamide	20	24 hours	3	57.33***	48.8
CMC	0 (20 mL/kg)	48 hours	7	0.86	68.0
Ticagrelor	2000	48 hours	7	1.57	71.0

*** Pairwise comparison $p<0.001$
CMC: 1% w/v carboxymethylcellulose solution containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10A Carcinogenicity **Report title: 104 Week Carcinogenicity Study in Mice with Administration by Gavage** **Test article: Ticagrelor**

Species/strain: Mouse/CD-1 (Crl:CD-1^{T}M(ICR)BR)

Duration of dosing: 104 weeks

Reference number: 0107CM

Location in CTD: 4.2.3.4.1.1

Initial age: approximately 7 weeks at start of dosing

Method of administration: Oral gavage

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Vehicle/formulation: 1% w/v sodium carboxymethylcellulose in 0.1 % w/v polysorbate 80

Basis for high-dose selection: One third of the dose that was not tolerated and which caused a small number of mortalities in a 13 week preliminary study in mice (Charles River Study No. 456925), and considered to be the maximum dose that could be administered without affecting long term survival.

Special features: None

Conclusion: No effects considered to be of toxicological significance at any of the dose levels tested in either males or females. All tumours in this study were considered to represent biological variation in the incidence of expected spontaneous findings.

Daily dose (mg/kg/kg)	**0**		**50**		**100**		**250**	
Gender: Number Evaluated	**M:110**	**F: 110**	**M:55**	**F:55**	**M:55**	**F:55**	**M:55**	**F:55**
Toxicokinetics of Ticagrelor [a]: AUC or AUC $_{0\text{-}24}$								
Day 1/Day 3 for Controls (h.µmol/L)	NA	NA	29.2	22.7	98.6	104	467	501
Week 26 (h.µmol/L)	NA	NA	26.8	30.1	80.1	100[b]	302	287
Week 52 (h.µmol/L)	NA	NA	23.4	37.2	91.6	141	333	429
Toxicokinetics of Ticagrelor [a]: C_{max}								
Day 1/Day 3 for Controls (µmol /L)	NA	NA	6.52	6.59	16.9	26.2	56.2	59.8
Week 26 (µmol /L)	NA	NA	4.37	5.67	13.7	19.2	38.8	24.9
Week 52 (µmol /L)	NA	NA	5.06	8.36	14.7	32.2	51.9	36.4
Toxicokinetics of AR-C124910XX: AUC or AUC $_{0\text{-}24}$								
Day 1/Day 3 for Controls (h.µmol/L)	NA	NA	41.8	37.9	134	127	369	403
Week 26 (h.µmol/L)	NA	NA	40.0	47.8	127	120	446	324
Week 52 (h.µmol/L)	NA	NA	35.6	49.6	157	154	502	549
Toxicokinetics of AR-C124910XX: C_{max}								
Day 1/Day 3 for Controls (µmol /L)	NA	NA	6.21	7.41	17.1	16.5	38.2	29.9
Week 26 (µmol /L)	NA	NA	5.42	7.94	21.3	10.3	48.5	26.0
Week 52 (µmol /L)	NA	NA	5.64	7.67	21.4	15.5	49.2	39.2

Daily dose (mg/kg/day)	**0**		**50**		**100**		**250**	
Gender: Number Evaluated	**M:110**	**F: 110**	**M:55**	**F:55**	**M:55**	**F:55**	**M:55**	**F:55**
Number of animals:								
At start	110	110	55	55	55	55	55	55
Died/sacrificed moribund	56	69	25	37	23	39	24	30
Terminal sacrifice	54	41	30	18	32	16	31	25
Survival (%)	49	37	55	33	58	29	56	45
Body weight　g (%[c])	45.4	38.9	-1.8	+6.4	-3.7	+1.5	-3.7	-6.7
Food consumption - g/animal/day(%[c])	5.4	5.3	-3.7	+ 5.7	±0	-5.7	+1.9	-5.7
Number of animals with neoplastic lesions:								
Lung:								
Bronchiolo-alveolar adenomas								
[d]:　(p=0.047)	19	6	11	4	11	6	11	7[d]
Haemopoietic system								
Follicular centre cell lymphomas								
[d]:　(p=0.009, p=0.020 respectively)	14	11	4	12[d]	4	12[d]	3	6
Granulocytic leukaemias								
[d]:　(p=0.033)	0	0	0	2	1	3[d]	1	0

Daily dose (mg/kg/day)	**0**		**50**		**100**		**250**	
Gender: Number Evaluated	**M:110**	**F: 110**	**M:55**	**F:55**	**M:55**	**F:55**	**M:55**	**F:55**
Gross pathology								
Trachea:								
Froth-filled	5	0	3	1[e]	1	4[e]	3	4[e]
Spleen:								
Enlarged	23	28	5	24[f]	10	24[f]	9	18[f]
Uterus:								
Abnormal shape one/both horns		1		1		1		4[e]
Lungs:								
Pale	4	3	2	3	3	10[e]	2	5[e]
Histopathology - non-neoplastic lesions	-	-	-	-	-	-	-	-

- : No noteworthy findings
NA:　not applicable
a　Quantifiable concentrations of Ticagrelor were determined in plasma samples taken from 4 Control males on Day 3. The plasma levels found were low in comparison to the plasma concentrations in corresponding time points that had received Ticagrelor.
b　Based on AUC0-12 .
c　Data from end of Week 104. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.
d　The significance of a linear dose related increase in tumour incidence was evaluated using a one-sided trend test. Furthermore, Peto's one-tailed test was also used to test whether or not the tumour incidence in each treated group was significantly higher than the combined control group. Males and females were analysed separately. For each statistical test performed on a dataset containing 10 or less tumours, the discrete permutation distribution was used to calculate the corresponding p –value
e　increased incidence in comparison to the combined Controls
f　increased incidence in comparison to the individual Control groups (Group 1 = 15/55, Group 2 = 13/55)

2.6.7.10B Carcinogenicity **Report title: 104 Week Carcinogenicity Study in Rats with Administration by Gavage** **Test article: Ticagrelor**

Species/strain: Rat/Wistar Han IGS (Crl:WI(Glx/BRL/Han)IGSBR)

Duration of dosing: 104 weeks

Reference number: 0508CR
Location in CTD: 4.2.3.4.1.2

Initial age: approximately 7 weeks at start of dosing

Method of administration: Oral gavage

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Vehicle/formulation: 1% w/v sodium carboxymethylcellulose in 0.1 % w/v polysorbate 80

Basis for high-dose selection: For the females, 180 mg/kg/day was based on findings from a 26 week toxicity study in rats with administration by gavage including male fertility assessment followed by a 13 week recovery period ([redacted] Study No. 456930), which apart from an increase in stomach weights showed no other adverse effects in females at this dose. In a previous one month study in rats (AstraZeneca Study No. 99302), 300 mg/kg/day caused severe clinical signs in females as well as significant increase in stomach weight without the erosions reported for the males at the same dose. The high dose for the males of 120 mg/kg/day was also based on findings from Study No. 456930 in which 180 mg/kg/day caused significantly increased stomach weights without erosions and showed decreased weight gain compared to the control group.

Special features: None

Conclusion: In-life effects were seen at 120 mg/kg/day in males (reduced body weight gain, increased water consumption and sparse hair), at 180 mg/kg/day in female s (reduced body weight gain, firm/irregular shaped abdomen and sparse hair) and to a lesser degree at 60 mg/kg/day in males (reduced body weight gain and increased water consumption).

Histologically, there was an increase in the incidence of neoplastic findings in the uterus (malignant carcinoma), ovary (benign sex cord stromal tumours) and liver (benign hepatocellular adenoma); and non neoplastic findings in the uterus, ovary, liver, lung, adrenal glands, stomach/oesophagus, skin and vertebrae. There was also a reduction in the incidence of neoplastic findings in the mammary gland, pituitary, thyroid, and adrenals; and non neoplastic findings in the mammary gland, pituitary, thyroid, adrenals and kidney. The most affected group was the female group receiving 180 mg/kg/day. Liver and uterine tumours had a no effect level at 60 mg/kg/day in female s, and male s were unaffected.

Daily dose (mg/kg/day)	**0**		**20**		**60**		**120**	**180**
Gender : Number Evaluated [a]	**M:100**	**F:100**	**M:50**	**F:50**	**M:50**	**F:50**	**M:50**	**F:50**
Toxicokinetics of Ticagrelor: AUC or AUC $_{0\text{-}24}$								
Day 1/Day 3 for Controls (h.µmol/L)	NA	NA	11.9	21.1	85.5	191	200	545
Week 26 (h.µmol/L)	NA	NA	16.8	23.2	98.8	131	222	589
Week 52 (h.µmol/L)	NA	NA	24.7	31.3	129	163	311	595
Toxicokinetics of Ticagrelor: Cmax								
Day 1/Day 3 for Controls (µmol /L)	NA	NA	2.10	3.58	11.3	22.4	25.7	35.9
Week 26 (µmol /L)	NA	NA	2.28	4.07	13.8	17.2	24.3	46.3
Week 52 (µmol /L)	NA	NA	3.08	4.29	18.2	15.7	36.0	50.2
Toxicokinetics of AR-C124910XX: AUC or AUC $_{0\text{-}24}$								
Day 1/Day 3 for Controls (h.µmol/L)	NA	NA	6.91	5.40	45.8	30.8	93.1	66.4
Week 26 (h.µmol/L)	NA	NA	16.3	7.21	77.6	30.5	211	195
Week 52 (h.µmol/L)	NA	NA	20.0	9.33	102	39.4	257	195
Toxicokinetics of AR-C124910XX: Cmax								
Day 1/Day 3 for Controls (µmol /L)	NA	NA	0.739	0.550	3.81	2.74	6.92	3.89
Week 26 (µmol /L)	NA	NA	1.74	0.856	7.40	2.79	16.9	10.0
Week 52 (µmol /L)	NA	NA	1.70	1.04	13.7	3.61	20.5	13.7
Died/sacrificed moribund	25	39	16	22	11	15	15	31
Terminal sacrifice	75	61	34	28	39	35	35	19

Daily dose (mg/kg/day)	**0**		**20**		**60**		**120**	**180**
Gender : Number Evaluated [a]	**M:100**	**F:100**	**M:50**	**F:50**	**M:50**	**F:50**	**M:50**	**F:50**
Survival (%)	75	61	68	56	78	70	70	38
Body weight - g (%[b])	634	361	-1.9	+1.1	-3.2	-0.8	-7.9	-18.8***
Food consumption- g/animal/day(%[b])	20.7	15.7	-0.5	+ 1.3	+2.9	+7.6	+1.4	-9.6
Water consumption - g/animal/day(%[b])	23.5	25.6	+17.0	-3.5	+21.3**	+20.7	+44.7***	+2.7
Clinical observations:								
Firm/irregular shaped abdomen	3	6	0	4	0	5	2	33[b]
Sparse hair	29	49	16	29	19	30	29[c]	38[c]
Number of animals with neoplastic lesions:								
Adrenal Gland:								
Cortical adenoma [B]	4	1	0	1	2	0	1	0
Liver:								
Hepatocellular adenoma [B]	3	1	0	1	1	2	0	4*
Mammary gland:								
Fibroadenoma[B]	2	14	0	11	0	8	0	1*
Ovary:								
Sex cord/stromal tumours [M + B] [c]= (p = 0.029 and 0.031, espectively) [cc] = (p = 0.096)		0		3[c]		2[cc]		3[c]
Pituitary gland:								
Adenoma, anterior lobe [B]	26	49	14	21	13	29	10	17
Adenoma, intermediate lobe [B]	4	1	0	2	0	1	0	0

Daily dose (mg/kg/day)	**0**		**20**		**60**		**120**	**180**
Gender : Number Evaluated [a]	**M:100**	**F:100**	**M:50**	**F:50**	**M:50**	**F:50**	**M:50**	**F:50**
Thyroid gland:								
C-cell carcinoma [M]	1	2	1	2	1	0	0	0
C-cell adenoma [B]	8	15	3	8	5	7	2	6
Focal C-cell hyperplasia	19	17	8	15	10	8	3*	3
Uterus:								
Adenocarcinoma [M]		10		5		6		21***
Hyperplasia of glandular/squamous transitional epithelium		3		1		3		8**
Metastatic spread of primary uterine tumours:								
Lung		3		0		3		8**
Liver		1		0		2		8***
Spleen		1		0		1		6**
Stomach		0		0		3*		9***
Exocrine pancreas		2		0		3		6*
Adrenal gland		1		0		1		4*
Ovary		1		0		1		4*
Gross pathology								
External subcutaneous mass(es)	9	28	6	14	9	11	9	4
Lung:								
Pale foci	38	42	17	23	21	29	27	32
Raised foci	1	1	0	1	0	2	1	5

Daily dose (mg/kg/day)	**0**		**20**		**60**		**120**	**180**
Gender : Number Evaluated [a]	**M:100**	**F:100**	**M:50**	**F:50**	**M:50**	**F:50**	**M:50**	**F:50**
Mass(es)	1	0	0	0	0	2	0	2
Mammary gland:								
Prominent	0	8	0	5	1	7	0	0
Ovary:								
Cyst, one/both		10		5		10		13
Uterus:								
Mass(es), one/both horns		13		6		9		15
Distended/dilated, with fluid, one/both horns		6		3		2		9
Histopathology - non-neoplastic lesions								
Adrenal gland:								
Focal cortical cell hyperplasia	9	8	3	4	2	5	0*	1
Kidney:								
Pelvic mineralisation	12	39	5	21	5	18	8	4***
Pyelonephritis	11	2	4	0	2	2	0*	1
Liver:								
Basophilic cell focus	29	78	13	32	15	30*	10	27**
Pigmentation, centrilobular	0	0	0	1	0		1	31***
Focal necrosis Inflammatory	1	1	4*	0	4*	0	4*	2
cell foci	0	0	1	0	0	0	3	0
Lung:								
Alveolar foamy macrophage accumulation	51	49	26	34*	31	32	40***	45***

Daily dose (mg/kg/day)	**0**		**20**		**60**		**120**	**180**
Gender : Number Evaluated [a]	**M:100**	**F:100**	**M:50**	**F:50**	**M:50**	**F:50**	**M:50**	**F:50**
Inflammation	9	3	5	7*	6	9**	12**	25***
Ovary:								
Cyst		11		5		10		13*
Vacuolation, interstitial cells		47		27		25		36**
Skin and subcutis:								
Follicular atrophy	22	24	8	11	11	20	14	27***
Spinal cord:								
Stenosis	2	0	2	0	0	0	7**	0
Stomach and esophagus:								
Focal hyperplasia, non-glandular stomach, limiting ridge	6	8	5	2	3	7	9*	3
Oesophagitis	0	0	1	1	0	1	3*	1
Uterus:								
Adenomyosis		1		4*		1		2
Metritis		1		1		1		5*

NA = not applicable
B = benign
M= malignant
Histopathological data were analysed using Fisher's Exact test (* =p<0.05, ** =p<0.01, *** =p<0.001)

a tissue/organs were not always available from all animals for histopathological examination

b Data from the end of Week 104. For controls, group means in g or g/animal/day are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

c combined incidence of Thecal cell tumour [B]/ [M], Granulosa cell tumour [B] and Sex cord/Stromal tumour [B], therefore exact Peto analysis results are stated (c and cc). The significance of a linear dose related increase in tumour incidence was evaluated using a one-sided trend test. Furthermore, Peto's one-tailed test was also used to test whether or not the tumour incidence in each treated group was significantly higher than the combined control group. Males and females were analysed separately. For each statistical test performed on a dataset containing 10 or less tumours, the discrete permutation distribution was used to calculate the corresponding p –value

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

2.6.7.11A Reproductive and Developmental Toxicity Non-pivotal Study

Report title: Oral Dose Range Finding Embryofetal Development Study in the Rat.

Test article: Ticagrelor

Design similar to ICH 4.1.3? Yes

Duration of dosing: Day 6 to 16 G

Study number: 0274RR
Location in CTD: 4.2.3.5.2.1

Species/strain: Rat/ Han Wistar Crl:WI(GLX/BRL/Han)BR strain

Day of mating: Day 0 G

Initial age: 64-65 days

Day of C-section: Day 21 G

Testing facility: Safety Assessment Alderley, UK.

Date of first dose: [redacted].20[redacted]

Method of administration: Oral, gavage

GLP compliance: Yes

Special features: None

Vehicle/formulation: 1.0 % w/v carboxymethylcellulose solution containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80

No Observed Adverse Effect Level:
F_0 Females: 100 mg/kg/day
F_1 Litters: 200 mg/kg/day

Conclusion: The results of the study indicate that ticagrelor, when administered to pregnant rats during the period of major embryonic organogenesis, was associated with minimal maternal toxicity evident as a statistically significant reduction in food consumption and a slight reduction in maternal body weight gain at dose levels of 200 mg/kg/day and above. With the exception of a small statistically significant reduction in fetal weight at the 300 mg/kg/day dose level there were no adverse changes in embryonic or fetal survival and development at any dose level used on the study.

Daily dose (mg/kg/kg)	0 (Control)	20	100	200	300
Dams:					
Toxicokinetics Day 16 of gestation:					
Ticagrelor ($C_{ss,\ max}$ ±SEM) (ng/mL)	NR	1080±121	5570±1920	22100±2440	34700±1940
AR-C124910XX ($C_{ss,\ max}$ ±SEM) (ng/mL)	NR	316±49	971±302	3430±390	7250±428
Number pregnant	6	6	6	6	6
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0	0
Number aborted or with total resorption of litter	0	0	1	0	0
Clinical observation	-	-	-	ploughing	ploughing salivary reflex piloerection
Necropsy observations	-	-	-	-	-
Body weight (%[a])	266 g	-0.75	±0	-3.38	-3.01
Food consumption (%[a])	23 g/day	-4.35	-4.35	-17.39**	-21.74***
Mean number of corpora lutea	10.8	10.2	11.2	12.0	10.7
Mean number of implantations	8.5	10.0	10.2	11.7	9.7
Mean % preimplantation loss	29.5	1.5	9.2	2.6	9.5
Litters:					
Number of litters evaluated	6	6	5	6	6
Number of live fetuses	46	56	50	64	56
Mean number of resorptions	0.83	0.67	0.20	1.00	0.33
Number of litters with dead fetuses	0	0	0	0	0
Mean % postimplantation loss	12.4	7.3	1.8	8.4	3.1
Mean fetal body weight (g)	5.56	5.27	5.27	5.12	5.03*
Fetal sex ratios (% Males)	52.2	54.1	48.1	50.3	48.0
Fetal anomalies:					

Daily dose (mg/kg/kg)	0 (Control)	20	100	200	300
Gross external	-	-	-	-	-
Visceral anomalies	NA	NA	NA	NA	NA
Skeletal anomalies	NA	NA	NA	NA	NA
Total affected fetuses (litters)	-	-	-	-	-

- = No noteworthy findings
* = p<0.05; ** = p<0.01; *** = p<0.001
G = Gestation
a　At the end of the dosing period.　For controls, group means are shown.　For treated groups, percent differences from controls are shown.　Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
NR – no result
NA – not applicable

2.6.7.11B Reproductive and Developmental Toxicity
Non-pivotal Study

Report title: 0035DB: Oral Dose Finding Toxicity Study in the Non-Pregnant Rabbit.

Test article: Ticagrelor

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	NOAELa (mg/kg/day)	Testing facility	Study Number & Location in CTD
Non-pregnant Rabbit Crl:NZW/ KblBR (New Zealand White)	Oral (gavage) 1% Sodium carboxymethyl cellulose and 0.1% polysorbate 80 in water	13 days	40, 80, 160, 300	2 Female	40	AstraZeneca Alderley Park, Macclesfield, UK	0035DB 4.2.3.5.2.3
Noteworthy findings: 160 and 300 mg/kg/day: Euthanized after 4 or 3 doses. Reduced body weight, reduced food consumption, reduced water consumption and reduced faecal production. Reduced urine production (160 mg/kg/day). Dark foci in stomach. Focal hepatocyte necrosis with mild focal inflammation (160 mg/kg). Minimal bile duct proliferation and minimal focal haemorrhage in the heart (300 mg/kg/day). 80 mg/kg: Survived to scheduled termination. Reduced food and water consumption. Body weight loss and reduced faecal production. Reduced urine production. Reduced activity. No pathology findings. 40 mg/kg/day: Survived to scheduled termination. Reduced urine production. Enlarged spleen without histopathological correlate.							

2.6.7.11C Reproductive and Developmental Toxicity Non-pivotal Study

Report title: AZD6140: Oral Dose Range Finding Embryofetal Development Study in the Rabbit

Test article: Ticagrelor

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Dosing period	Doses (mg/kg/day)	Number per group	Testing facility	Study Number & Location in CTD
Rabbit Crl:NZW/ KblBR (New Zealand White)	Oral gavage of suspensions in aqueous 1% w/v carboxymethylcellulose and 0.1% w/v polysorbate 80	Day 6 to Day 19 (Day 0 = day of mating)	0, 21, 42, 84 , 99	6 females	AstraZeneca Alderley Park, Macclesfield, UK	0038RB 4.2.3.5.2.4

Noteworthy findings: Reduced mean cumulative body weight gain, food and water consumption and an increased incidence of reduced faecal production at 84 and 99 mg/kg/day during the dosing period. Effects on mean cumulative body weight gain and food consumption continued after completion of dosing at 99 mg/kg/day) One animal at each of the 84 and 99 mg/kg/day dose levels were killed for welfare reasons (decreased faecal production, reduced water consumption, markedly reduced/no food consumption, thin and 8 or 9% of body weight lost since the start of dosing) on Day 17 post-coitum. One animal dosed with 99 mg/kg/day littered early on Day 27 post-coitum and was killed for welfare reasons. There were no histopathological findings attributable to ticagrelor treatment in these decedents.

Slight increase in mean percentage post-implantation losses at 84 and 99 mg/kg/day and mean litter weights and fetal weights were slightly reduced at 99 mg/kg/day.

2.6.7.11D Reproductive and Developmental Toxicity Non-pivotal Study

Report title: AZD6140 – Dose range-finding pre- and post-natal development study by the oral route (gavage) in the rat.

Test article: Ticagrelor

Design similar to ICH 4.1.2? Yes

Duration of dosing: Once daily from Day 6 of gestation (G 6) to Post-Natal Day 7 inclusive.

Study number: 1513WR (AA39254)
Location in CTD: 4.2.3.5.3.1

Species/strain: Rat Wistar rat: Crl: WI (Han)

Day of mating: Day 0 of gestation ([redacted] 20[redacted])

Testing facility: [redacted], France.

Initial age: 10 to 13 weeks

Method of administration: Oral

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Vehicle/formulation: 1% w/v sodium carboxymethylcellulose in 0.1% w/v polysorbate 80 in water

Special features: None

Litters culled/not culled: Not culled

No Observed Adverse-Effect Level:
F_0 females: 60 mg/kg/day
F_1 Offspring: 60 mg/kg/day

Conclusion: The high dose level of ticagrelor (180 mg/kg/day) caused slight maternal and developmental toxicity characterised by reduced maternal body weight gain during gestation and reduced birth weight of the pups. The intermediate and low dose levels (60 and 10 mg/kg/day) were no observed adverse effect levels (NOAEL) under the conditions of this preliminary study. Systematic exposure of the suckling pups was demonstrated at all three dose levels. The three dose levels employed in this study would therefore be suitable for use in the main pre- and post-natal study in the rat.

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10	60	180
F_0 females:				
Toxicokinetics: Mean group results (µmol/L) (±SD)				
Day 7 of lactation -7 hours after dosing (Dams)	ND	0.316 (0.0389)	7.66 (NC)	38.2 (7.71)
Day 7 of lactation -24 hours after dosing (Dams)	ND	ND	0.128 (0.0373)	2.62 (NC)
Day 7 of lactation -7 hours after dosing (Pups)	ND	0.429 (0.0565)	3.12 (NC)	7.78 (2.99)
Day 7 of lactation -24 hours after dosing (Pups)	ND	0.253 (0.0766)	2.72 (0.165)	6.29 (NC)
Number pregnant	6	6	5	5
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0
Number aborted or with total resorbtion of litter	0	0	0	0
Clinical observations	-	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-	-
Gestation body weight (%[a])	372.5 g	+ 5.58	- 0.72	-7.76
Lactation body weight (%[a])	309.2 g	+ 4.01	-3.46	- 5.85
Gestation food consumption (%[a])	27.9 g/animal/day	+ 0.7	- 5.0	-18.6
Lactation food consumption (%[a])	48.5 g/animal/day	+ 16.3	- 1.4	- 1.4
Mean duration of gestation (days)	22.0	22.0	22.0	22.0
Abnormal parturition	0	0	0	0
F_1 litters (pre-weaning):				
Number litters evaluated	6	6	5	5
Number of pups evaluated	62	79	57	61
Mean number of implantations (SD)	11.5 (2.3)	14.0 (1.4)	11.8 (1.1)	12.8 (0.8)
Mean number pups /litter (SD)	10.3 (2.1)	13.2 (1.6)	11.4 (1.5)	12.2 (1.3)
Mean number liveborn pups / litter (Day1)	10.2	12.8	11.4	12.0
Number of litters with stillborn pups	1	2	0	0
Posnatal survival to Day 4 (%)	100	100	100	96.7
Number of total litter losses	0	0	0	0

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	10	60	180
Change in pup body weights (g) (Day 1 – 7)	8.3	+ 8.9	- 7.9	- 7.0
Pup sex ratios (% males)	47.5	54.5	56.1	60.0
Pup clinical signs	-	-	-	pale, weak, thin and cold
Pup necropsy observations	-	-	-	-

- = No noteworthy findings
G = Gestation
ND = Not Detected
NC = Not Calculated
a　At end of gestation or lactation. For controls, group means are shown.　For treated groups, percent differences from controls are shown.

Statistical Analysis:
Data were processed, where appropriate, to give mean values and standard deviations using the litter as the basic sample unit.　No statistical analysis was performed owing to the small group sizes.

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 Reproductive and Developmental Toxicity - Fertility and Early Embryonic Development to Implantation

Report title: Oral fertility and early embryonic development study in the female rat 0337GR

Test article: Ticagrelor

Design similar to ICH 4.1.1? Yes

Species/strain: Rat Wistar Han, substrain Crl:WI(Glx/BRL/Han)IGSBR

Initial age: 69 days

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Special features: Females only dosed

Duration of dosing: 14 days prior to pairing, through pairing and until day 6 gestation

Day of mating: Day 0 of gestation

Day of C-section: Day 12 of gestation

Method of administration: oral by gavage

Vehicle/formulation: 1.0 % w/v carboxymethylcellulose solution containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80

Study number: 0337GR
Location in CTD: 4.2.3.5.1.1

Testing facility: Safety Assessment Alderley, AstraZeneca UK

GLP compliance: Yes

No Observed Adverse-Effect Level:
F_0 Females: 100 mg/kg/day
F_1 Litters: 200 mg/kg/day

Conclusion: Ticagrelor, when administered to female rats for 14 days prior to pairing, during pairing and until day 6 *post-coitum*) caused minimal toxicity at a dose level of 200 mg/kg/day. Evidence of increased oestrous cycle irregularity was observed in all ticagrelor dose levels used on the study, however, this did not adversely affect female fertility or reproductive performance. The no effect level for female fertility and reproductive performance was 200 mg/kg/day. The no effect dose level for maternal toxicity was 100 mg/kg/day.

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	20	100	200
Males				
Undosed throughout study				
Females				
Toxicokinetics Day 14 of gestation:				
$C_{ss,max}$ mean ±SEM (ng/mL)	0	1110 ± 199	7830 ± 1790	24400 ± 953
Ticagrelor				
$C_{ss,max}$ mean ±SEM (ng/mL)				
AR-C124910XX	0	362 ± 20	1590 ± 268	6790 ± 1060
Number evaluated	22	22	22	22
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0
Clinical observations	-	-	salivation reflex	salivation reflex
Necropsy observations	-	-	-	-
Premating body weight (%[a])	225 g	±0	±0	- 1.78
Gestation body weight (%[b])	274 g	-0.4	-0.4	-0.7
Premating food consumption (%[c])	15.7 g/animal/day	5.1	1.9	-14.0***
Gestation food consumption (%[d])	20.4 g/animal/day	0.5	5.9	8.8*
Mean number Oestrous cycles/14 days	2.5	2.3	2.6	2.4
Mean number of days prior to mating	2.0	1.9	2.1	2.6
Number of females sperm positive	22	22	22	21
Number of pregnant females	22	20	18	21
Number aborted or with total resorption of litter	0	0	0	0
Mean number of corpora lutea	13.2	13.4	12.7	13.1
Mean number of implantations	11.5	12.1	11.4	11.0
Mean % preimplantation loss	13.2	9.2	10.2	15.6
Mean number of live conceptuses	10.7	11.6	11.1	10.7
Mean number of resorptions	0.8	0.6	0.3	0.3
Number dead conceptuses	0	0	0	0
Mean % postimplantation loss	8.1	4.5	2.9	2.8

- No noteworthy findings
* $p<0.05$; *** $p<0.001$

a After 4 weeks of dosing. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
b At day 12 gestation. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
c During premating period Days 7-13. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
d During Days 9-12 of gestation. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13A Reproductive and Development Toxicity - Effects on Embryo-Fetal Development

Report title: Oral Embryofetal Development Study in the Rat

Test article: Ticagrelor

Design similar to ICH 4.1.3? Yes

Duration of dosing: Day 6 to 16 *post coitum*

Study number: 0307TR
Location in CTD: 4.2.3.5.2.2

Species/strain: Rat/ Han:Wistar substrain Crl:WI(Glx/BRL/Han)BR

Day of mating: 0 *post coitum*

Testing facility: Safety Assessment Alderley, UK

Initial age: Approximately 70 days

Day of C-section: Day 21 *post coitum*

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: oral by gavage

Special features: None

Vehicle/formulation: 1.0 % w/v carboxymethylcellulose solution containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80.

No Observed Adverse Effect Level:
F_0 Females: 20 mg/kg/day
F_1 Litters: 100 mg/kg/day

Conclusion: The results of the study indicate that ticagrelor, when administered orally to pregnant rats during the period of major embryonic organogenesis, caused maternal toxicity at dose levels of 100 mg/kg/day and above. As a consequence of maternal toxicity at 300 mg/kg/day, a number of animals were killed for welfare reasons prior to scheduled termination. Effects attributable to ticagrelor administration, at 300 mg/kg/day were seen in the stomach, duodenum and liver. Ticagrelor had no adverse effect on embryonic or fetal survival at dose levels up to and including 300 mg/kg/day. Evidence of maternal toxicity mediated embryofetal developmental anomalies was observed at the 300 mg/kg/day dose level. The no adverse effect dose levels for maternal toxicity and embryofetal toxicity were 20 mg/kg/day and 100 mg/kg/day, respectively.

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	20	100	300
Dams/does:				
Toxicokinetics: AUC	Not sampled	Not sampled	Not sampled	Not sampled
Number pregnant	22	21	21	20
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	6 [b]
Number with total resorption of litter	0	0	0	4
Clinical observation	-	staining of muzzle	staining of muzzle	staining of muzzle, piloerection, thinness, hunched posture, loss of skin tone
Necropsy observations	-	-	-	-
Body weight (%[a])	281.2 g	+1.42	-1.42	-9.96***
Food consumption (%[a])	22.9 g/animal/day	-4.35	-13.04**	-43.48***
Mean number of corpora lutea	12.0	12.2	12.3	12.8
Mean number of implantations	10.7	11.0	10.2	11.8
Mean % preimplantation loss	11.0	10.0	16.0	7.3
Litters:				
Number of litters evaluated	22	21	21	13
Number of live fetuses	226	216	204	147
Mean number of resorptions	0.4	0.7	0.5	0.5
Number of litters with dead fetuses	0	0	0	0
Mean % postimplantation loss	4.0	5.5	4.6	4.0
Mean fetal body weight (g)	4.96	4.79	5.11	4.61**
Fetal sex ratios (% Males)	50.0	47.4	49.8	52.0
Fetal anomalies				
Gross external	-	-	-	-
Visceral anomalies	-	-	-	Additional liver lobe[1] Folded retina[2]
Skeletal anomalies	-	-	-	27 pre-pelvic arches Displaced articulation of pelvic girdle[3]

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	20	100	300
Total affected fetuses (litters)	-	-	-	Extra 14th rib[4] One or more sternebrae incompletely ossified[5] One or more sternebrae bilobed/bipartite/ misshapen/missaligned[6] Calcaneus ossified[7] [1] 28** (13**) [2] 14 (8) [3] 7* (6*) [4] 13* (10*) [5] 15** (9**) [6] 8** (7**) [7] 8** (2**)

- No noteworthy findings
* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001 (Body weights and food consumption analysed by William's test. Fetal anomalies analysed by Fisher's exact test);
a At the end of the dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
b Six animals (300 mg/kg/day) were killed for welfare reasons (body weight loss, poor clinical conditions) between days 12 and 16 *post-coitum*.

2.6.7.13B Reproductive and Development Toxicity - Effects on Embryo-Fetal Development

Report title: Oral Embryofetal Development Study in the Rabbit 0046TB

Test article: Ticagrelor

Design similar to ICH 4.1.3? Yes

Species/strain: Rabbit/New Zealand White (Crl:NZW/KblBR)

Initial age: 18 to 23 weeks old

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Special features: None

Duration of dosing: Day 6 -19 *post-coitum*

Day of mating: Day 0 *post-coitum*

Day of C-section: Day 28 *post-coitum*

Method of administration: Oral gavage

Vehicle/formulation: 1% w/v carboxymethylcellulose solution containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80 in water

Study number: 0046TB
Location in CTD: 4.2.3.5.2.5

Testing facility: Safety Assessment Alderley, UK

GLP compliance: Yes

No Observed Adverse Effect Level:
F_0 Females: 63 mg/kg/day
F_1 Litters: 21 mg/kg/day

Conclusion: Treatment of female rabbits with ticagrelor during organogenesis at doses of 0, 21, 42 and 63 mg/kg/day resulted in a slight delay in hepatic maturity and skeletal development in fetuses from dams dosed with 63 mg/kg/day and a possible effect of treatment with ticagrelor on the occurrence of severe retinal folding in fetuses from dams dosed with 42 and 63 mg/kg/day, in the absence of maternal toxicity. The no observed adverse effect level for fetal observations was 21 mg/kg/day.

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	21	42	63
Dams/does:				
Toxicokinetics[a]:				
AUC (μg·h/mL) for Ticagrelor	NA	9.78	11.8	<65.1 (84 mg/kg)
C_{max} (ng/mL) for Ticagrelor	NA	1880	2630	<6700 (84 mg/kg)
AUC (μg·h/mL) for AR-C124910XX	NA	5.03	6.86	<34.7 (84 mg/kg)
C_{max} (ng/mL) for AR-C124910XX	-	702	810	<2930 (84 mg/kg)
Number pregnant	22	16	18	16
Number died or sacrificed moribund	1[d]	0	1[f]	0
Number aborted or with total resorption of litter	1[e]	0	0	0
Clinical observation	-	dark urine	dark urine, reduced urine production	dark urine, reduced urine production
Necropsy observations	-	-	-/+	-/+
Body weight (%[b])	3575 g	-0.3	+1.5	+1.3
Food consumption (%[b])	129 g/animal/day	-3.9	-5.4	-11.6
Mean number of corpora lutea	11.0	10.8	11.4	11.9
Mean number of implantations	10.1	10.1	9.2	10.6
Mean % preimplantation loss	8.7	5.6	18.8	11.2
Litters:				
Number of litters evaluated	20	16	17	16
Number of live fetuses	186	147	133	154
Mean number of resorptions	0.8	0.9	1.4	0.9
Number of litters with dead fetuses	0	0	0	0
Mean % postimplantation loss	6.6	8.2	14.5	8.6
Mean fetal body weight (g)	33.9	33.9	35.8	33.7
Fetal sex ratios (% Males)	56.3	56.0	54.1	41.1
Fetal anomalies				
Gross external	-	-	-	-
Visceral anomalies[c]: % fetuses (% litters)				

Daily dose (mg/kg/day)	0 (Control)	21	42	63
Severe unilateral/bilateral retinal folds	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	4.1 (11.8)	1.3 (6.3)
Clear gall bladder contents	19.4 (45.0)	28.9 (68.8)	25.3 (52.9)	37.6** (87.5)*
Skeletal anomalies[c]: % fetuses (% litters)				
Incompletely ossified hyoid	15.8 (45.0)	19.9 (37.5)	16.6 (41.2)	26.9 (62.5)
Incompletely ossified pubis	9.4 (30.0)	9.3 (50.0)	13.8 (47.1)	16.6 (62.5)
Incompletely ossified sternebrae	0.5 (5.0)	1.3 (12.5)	3.2* (11.8)	4.5 (31.3)
5^{th} sternebrae not ossified	9.6 (35.0)	3.1 (25.0)	7.3 (29.4)	15.1 (50.0)

- = No noteworthy findings; + = Mild,　NA=Not applicable
* = $p<0.05$; ** = $p<0.01$ (bodyweights & food consumption analysed using William's test.　Fetal anomalies analysed using Fisher's Exact test)

a　Data from Study Number 0038RB, Day 19 post-coitum

b　At the end of the dosing period (day 19 post-coitum for body weights and day 17 to 19 for food consumption).　For controls, group means are shown.　For treated groups, percent differences from controls are shown.

c　Statistical significance is based on actual data (not on the percent values).

d　One control animal died due to mechanical injury associated with the dosing procedure.

e　One control animal aborted (day 23) and was killed for welfare reasons. This animal had reduced food consumption prior to the start of dosing, throughout the dosing period and up until it was killed.

f　One animal (42 mg/kg/day) continued to lose weight and was killed for welfare reasons (day 9).

2.6.7.13C Reproductive and Development Toxicity - Effects on Embryo-Fetal Development

Report title: Oral Retinal Development Study in the Rabbit 0073KB

Test article: Ticagrelor

Design similar to ICH 4.1.3? Yes

Duration of dosing: Day 6 to 19 *post-coitum*

Study number: 0073KB
Location in CTD: 4.2.3.5.2.6

Species/strain: New Zealand White substrain Crl:NZW/KblBR

Day of mating: Day 0 *post-coitum*

Testing facility: Safety Assessment Alderley, UK

Initial age: 18 to 21 weeks (start of dosing)

Day of C-section: Day 28 *post-coitum*

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: Oral Gavage

Special features: Investigation with control group and one AZD6140 group. All fetuses examined for external & visceral eye defects.

Vehicle/formulation: 1% w/v carboxymethylcellulose solution containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80 in water

No Observed Adverse Effect Level:
F_0 Females: Not established in this study (see 0046TB)
F_1 Litters: 62.7 mg/kg/day

Conclusion: Treatment of female rabbits with ticagrelor during organogenesis at doses of 62.7 mg/kg/day resulted in slight maternal toxicity. There was no effect of administration of ticagrelor on fetal weights, survival or the occurrence of major ocular abnormalities at the 62.7 mg/kg/day dose level. These results demonstrate that the difference in occurrence of severe retinal folds between fetuses from control animals and ticagrelor dosed animals in Study 0046TB was due to chance and was not compound-related.

Daily dose (mg/kg/day)		0 (Control)	62.7
Dams:			
Toxicokinetics: on Day 19 *post-coitum*			
Ticagrelor	**AUC (range) (μg・h/mL)**	Not detected	65.3 (46.5-128)
	C_{max} (range) (μg/mL)	Not detected	8.26 (5.96-12.5)
AR-C124910XX	**AUC (range) (μg・h/mL)**	Not detected	34.4 (25.6-48.8)
	C_{max} (range) (μg/mL)	Not detected	2.99 (2.40-3.41)
Number pregnant		42	40
Number died or sacrificed moribund		2[e]	0
Number aborted or with total resorption of litter		1[e]	0
Clinical observation		-/+	+
Necropsy observations		-	-
Cumulative body weight gain(%[a])		142 g	-55% **
Food consumption (%[b])		159 g	-23% ***
Mean number of corpora lutea[c]		11.3	11.8
Mean number of implantations[c]		10.5	10.8
Mean % preimplantation loss[c]		7.5	8.5
Litters:			
Number of litters evaluated		39	40
Number of live fetuses		384	387
Mean number of embryo-fetal deaths [c]		0.7	1.1
Number of litters with dead fetuses		1	0
Mean % postimplantation loss[c]		5.7	10.1
Mean fetal body weight (g)[d]		34.0	33.6
Fetal sex ratios (% Males)		53.4	49.6
Fetal eye anomalies -- affected fetuses (litters)			
(retinal folding and/or absent lens and/or severely misshapen lens)		4 (3)	2 (2)

- = No noteworthy findings; + = Mild ** = $p<0.01$; *** = $p<0.001$

a Cumulative body weight gain from Day 6 to 19 post-coitum. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). Analysed by Student's t-test.

b Food consumption from Day 6 to 9 For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences). Analysed by Student's t-test.

c Analysed by Wilcoxon's test

d Analysed by Student's t test

e Two control animals died after dosing or handling, and confirmed as being related to the dosing procedure. One control animal was euthanased after aborting.

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

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Pre- and Post-natal Development including Maternal Function

Report title: AZD6140 Pre- and post-natal development study by the oral r Study number 1591WR

Test article: Ticagelor

Design similar to ICH 4.1.2? Yes

Duration of dosing: From Day 6 of gestation to Day 20 post-partum

Study Number: 1591WR (AA41453)
Location in CTD: 4.2.3.5.3.2

Species/strain: Rat Wistar Crl:WI (Han)

Day of mating: Day 0 of gestation

Testing facility: [redacted]

Initial age: 11 to 14 Weeks

Method of administration: Oral (gavage)

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Vehicle/formulation: 1% w/v sodium carboxymethyl cellulose in 0.1% w/v polysorbate 80

Special features: None

Litters culled/not culled: culled

No Observed Adverse-Effect Level:
F_0 females: 60 mg/kg/day
F_1 males: 60 mg/kg/day
F_1 females: 60 mg/kg/day

Conclusion: The high dose level of ticagrelor (180 mg/kg/day) caused slight maternal toxicity and developmental toxicity characterised by reduced maternal body weight gain during gestation, reduced post-natal pup viability, reduced pup weight and delayed growth of pups. The low and intermediate dose levels of 10 and 60 mg/kg/day were no observed adverse effect levels (NOAEL) under the conditions of this study.

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)	10	60	180
F_0 females:				
Toxicokinetics (dams): plasma concentration Day 7 pp at 7hrs post-dose (µmol/L)[A]	ND	0.316	7.66	38.2
Toxicokinetics (dams): plasma concentration Day 7 pp at 24hrs post-dose (µmol/L)[A]	ND	ND	0.128	2.62
Toxicokinetics (pups): plasma concentration Day 7 pp at 7hrs post-dose (µmol/L)[A]	ND	0.429	3.12	7.78
Toxicokinetics (pups): plasma concentration Day 7 pp at 24hrs post-dose (µmol/L)[A]	ND	0.253	2.72	6.29
Number pregnant	23	24	23	24
Number died or sacrificed moribund	0	1[e]	0	0
Number aborted or with total resorption of litter	0	0	0	0
Clinical observations	-	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-	-
Gestation body weight (%[a])	337.9 g	+0.33	-0.27	-9.06**
Lactation body weight (%[a])	293.5 g	+0.1	-0.65	-1.02
Gestation food consumption (%[b])	25.6 g/animal/day	-3.1	-3.1	-15.6**
Lactation food consumption to Day 14 post-partum (%[b])	59.2 g/animal/day	-1.4	-2.9	-13.0**
Mean duration of gestation (days)	22.0	21.8	21.9	22.0
Abnormal parturition	0	1	0	0
F_1 litters (pre-weaning):				
Number litters evaluated	23	23	23	24
Mean number of implantations	11.3	11.7	12.5	11.5
Mean number pups /litter	10.2	11.0	11.7	10.0
Mean number liveborn pups /litter	10.21	10.96	11.61	9.96
Number of litters with stillborn pups	0	1	1	1
Postnatal survival to Day 4 (No. of pups/%)	234/99.6	252/100	267/100	217**/90.8
Postnatal survival to weaning (No. of pups/%)	180/99.4	181/99.5	183/100	169/99.4
Number of total litter losses	0	0	0	2
Change in pup body weights[c] (g)	39.8	39.5	39.5	34.2**

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)	10	60	180
Pup sex ratios (% males, Day 0pp/Day 21pp)	52.3/52.2	49.2/49.2	53.9/53.6	56.4/55.0
Pup physical and functional development:				
Eye opening	-	-	-	delayed
Incisor eruption	-	-	-	delayed
Pinna unfolding	-	-	-	delayed
Reflex development	-	-	-	-
Pup clinical signs	-	-	-	-
Pup necropsy observations	-	-	-	-
F_1 males (post-weaning):				
Number evaluated	25	25	25	25
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	1
Clinical observations	-	-	-	-
Ophthalmological examination	-	NT	NT	-
Necropsy observations	-	-	-	-
Body weight change [d] (g)	321.7	323.1	328.9	312.4
Mean age of preputial separation (days)	44	45	44	44
Watermaze test	-	-	-	-
Open field	-	-	-	-
Mean number of days prior to mating	2.42	3.57	2.52	2.87
Number of males that mated	25	23	25	24
Number of fertile males	20	20	20	18
F_1 female (post-weaning):				
Number evaluated	25	25	25	25
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0
Clinical observations	-	-	-	-
Ophthalmological examination	-	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-	-
Pre-mating body weight change [d](g)	190.7	199.8	199.9	187.3
Gestation body weight change (g)　Day 0-13G	+46.2	+51.1	+51.2	+46.9

Daily dose (mg/kg)	0 (Control)	10	60	180
Mean age of vaginal patency (days)	34	35	34	34
Open field	-	-	-	-
Watermaze test	-	-	-	-
Mean number days prior to mating	2.42	3.57	2.52	2.87
Number of females sperm positive	25	23	25	24
Number of pregnant females	20	20	20	18
Mean number corpora lutea	15	16	15	13
Mean number implantations	14	15	14	12
Mean number of live embryos	13	14	13	11
% pre-implantation loss	8.4	8.2	9.3	11.8

- = No noteworthy findings
** = $p<0.01$
G = Gestation
NT = Not tested
PP = post-partum
ND = Not detected, below lower limit of quantification

a At end of gestation or lactation. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

b Days 18-20 of gestation or Days 10-14 post-partum.. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

c From postnatal Day 4 to weaning.

d From weaning to mating.

e One dam (10 mg/kg/day) was euthanized due to delivery complications during parturition.

A Plasma concentrations based upon results from Dose Range Finding Pre- and Post-natal Development Study by the Oral Route (gavage) in the Rat, Study Number 1513WR (Study No. AA39254)

2.6.7.15 新生児を用いた試験

2.6.7.15A Juvenile Toxicity **Dose Range Finding Neonatal Toxicity following Daily Oral (Gavage) Administration for 19 Days in the Han Wistar Rat** **Test article: Ticagrelor**

Species / strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing (age at first dose)	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	Testing facility	Study Number & Location in CTD
Rat	Oral gavage (1% [w/v] sodium carboxy-methylcellu-lose, 0.1% [w/v] poly-sorbate 80 in water).	19 days (7 days old at start)	0, 10, 60, 180	M+F 0: N = 60 10: N = 60 60: N = 60 180: N = 60	[redacted], France	AA93000 (2835LR) 4.2.3.5.4.1

Noteworthy findings:
Exposures were greater on first day of dosing than last day.
No mortality in any group.
Low dose: no effects.
Mid dose: no effects.
High dose: yellow skin in urogenital region; transient lower body weight gain; mucification of the vaginal epithelium adjacent to the cervix.

No other histopathology findings in any group.

Doses were judged appropriate for main study.

NOAEL [a]: DRF study, NOAEL not specified

a No Observed Adverse Effect Level.
M =male; F = female
TK = toxocokinetics
DRF = dose range finding

2.6.7.15B Juvenile Toxicity **Neonatal toxicity study following daily oral (gavage) administration for 19 days in the Han Wistar rat followed by an 8-week treatment-free period** **Test article: Ticagrelor**

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing (age at first dose)	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	Testing facility	Study Number & Location in CTD
Rat	Oral gavage (1% [w/v] sodium carboxy-methylcellu-lose, 0.1% [w/v] poly-sorbate 80 in water).	19 days (7 days old at start)	0, 10, 60, 180	M+F 0: N = 48 10: N = 24 60: N = 24 180: N = 48 (includes recovery animals) +TK animals in each group (N=8/sex/group)	[redacted], France	AA93001 (2836LR) 4.2.3.5.4.2
Noteworthy findings: Exposures were greater on first day of dosing than last day. Low dose: no effects. Mid dose: Minor transient lower body weight gain. High dose: 9 pretermanal deaths (out of 64 pups including TK) on days 5-8 of dosing. Pallor and respiratory distress, liquid feces; transient lower body weight gain. Slightly reduced kidney weight. Increased incidence of congestion and hemorrhage in the mesenteric lymph node judged to be agonal effect due to target mechanism of action. No toxicity findings after 8-week recovery period						
NOAEL[a]: 60 mg/kg/day						

a No Observed Adverse Effect Level.
M =male; F = female
TK = toxocokinetics

2.6.7.15C Juvenile Toxicity **5-week Oral Toxicity Study With Assessment of Recovery in the Weanling Rat** **Test article: Ticagrelor**

Species/ strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing (age at first dose)	Doses (mg/kg/day)	Gender and number per group	Testing facility	Study Number & Location in CTD
Rat	Oral gavage(1% [w/v] sodium carboxy-methylcellu-lose, 0.1% [w/v] poly-sorbate 80 in water).	40 days (24 days old at start)	0, 10, 60, 180	M+F 0: N = 32 10: N = 20 60: N = 20 180: N = 32 (includes recovery animals) +TK animals in each group	[redacted], France	2885LR 4.2.3.5.4.3
Noteworthy findings: Low dose: no effects. Mid dose: Minor transient lower body weight gain. High dose: One pup (out of 92 including TK) found dead on day 3 after 2 doses, autolysis precluded determination of cause, not clearly treatment related. Transient lower body weight gain. Reduced food consumption. Slight increased ALT. Increased liver weight but no histopathology findings in liver. No histopathology findings in any group. No toxicity findings after 4-week recovery period.						
NOAEL[a]: 60 mg/kg/day						

a No Observed Adverse Effect Level.
M =male; F = female
TK = toxocokinetics

2.6.7.16　局所刺激性試験

2.6.7.16 Local Tolerance

Test article: Ticagrelor

Species/ strain	**Method of administration**	**Doses (mg/kg)**	**Gender and number per group**	**Noteworthy findings**	**Testing facility**	**Study Number & Location in CTD**
Alderley Park albino mouse	Subcutaneous injection	30 μL of ticagrelor 0.1 mg/mL solution in Water for Injection containing 0.62% w/v sodium chloride, 0.395% w/v ethanol and 0.1% w/v polysorbate 80	3 males and 3 females	No adverse systemic effects of treatment were noted by clinical observation and body weight measurement. It was concluded that ticagrelor formulated as a 0.1 mg/mL solution in aqueous 0.62% w/v sodium chloride solution containing 0.395% w/v ethanol and 0.1% w/v polysorbate 80 is unlikely to cause local irritancy if extravasation occurs during intravenous administration to a human subject.	Safety Assessment UK, Alderley Park, Macclesfield, SK10 4TG, England	0154IM 4.2.3.6.1

Species/ strain	Method of administration	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing facility	Study Number & Location in CTD
Wistar Hannover rat sub strain Crl:WI(Glx/ BRL/Han)IG SBR	Intravenous infusion into a lateral tail vein	15 minute infusion at 1.33 mL/min/kg body weight of ticagrelor formulated as a 0.1 mg/mL solution in aqueous 0.62% w/v sodium chloride solution containing 0.395% w/v ethanol and 0.1% w/v polysorbate 80 Total dose: 2 mg/kg (3.8 μmol/kg) ticagrelor	12 Males	Daily inspection of the tails showed no evidence of a local tissue reaction to the intravenous injection. There was no effect on body weight attributable to administration of the ticagrelor formulation. Microscopic examination of the lateral tail vein at the level of the tip of the injection cannula, and at about 2 and 4 cm downstream from this level, showed no evidence of a local tissue irritant response attributable to ticagrelor or to vehicle. ticagrelor formulated as a 0.1 mg/mL solution in aqueous 0.62% w/v sodium chloride solution containing 0.395% w/v ethanol and 0.1% w/v polysorbate 80 is unlikely to cause a local irritant effect during intravenous administration to a human subject.	Safety Assessment UK, Alderley Park, Macclesfield, SK10 4TG, England	0798IR 4.2.3.6.2
Human	*In vitro*	0.1 mg/ml ticagrelor ml in 0.62% w/v sodium chloride solution containing 0.395% w/v ethanol and 0.1% w/v polysorbate 80	Whole blood and plasma from 1M and 1F human volunteer	There was no erythrocyte clumping, haemolysis or plasma protein precipitation recorded in any of the individual blood samples when mixed with the test item formulation, control article formulation or the method control. The formulation containing 0.1 mg ticagrelor /ml in 0.62% w/v sodium chloride solution containing 0.395% w/v ethanol and 0.1% w/v polysorbate 80 and the control article formulation of 0.62% w/v sodium chloride solution containing 0.395% w/v ethanol and 0.1% w/v polysorbate 80 are compatible for intravenous administration.	Safety Assessment UK, Alderley Park, Macclesfield, SK10 4TG, England	0031KX 4.2.3.6.3

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17 Other Toxicity Studies　　**Test article: Ticagrelor**

Species/ strain	Method of administration (vehicle/formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day) or in vitro concentration (molar units)	Gender and number per group	NOAEL a (mg/kg/day)	Testing facility	Study Number & Location in CTD
Rat Wistar Hannover substrain Crl:WI (Han)	Oral gavage 1% w/v carboxy-methylcellulose containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80	7 days, 1 month	0, 20, 60, 180	Female 10	60	AZA	1801KR 4.2.3.7.3.1
Noteworthy findings High dose increased liver CYP1A1 and to a lesser degree CYP 4A1, and increased CYP1A1 in the uterine vasculature. High dose slightly increased total testosterone and estradiol metabolism after 7 days. High dose effects indicating hormonal disturbance were increased incidence of extended oestrus; increased incidence of moderate ovarian interstitial cell vacuolation and minimal to mild adrenal cortex vacuolation.							
Rat Wistar Hannover substrain Crl:WI (Han)	Oral gavage 1% w/v carboxy-methylcellulose containing 0.1% w/v aqueous polysorbate 80	4 weeks, 8 weeks, and 13 weeks	0, 60, 180	Female 20 per dose per dosing duration	ND	AZA	1800KR 4.2.3.7.3.2
Noteworthy findings At high dose during pro-estrus testosterone increased and estradiol.decreased. DHEA increased. At 60 mg/kg, testosterone slightly increased 4 h post-dose. Histopathology showed vacuolation in steroidogenic endocrine interstitial ovarian cells and adrenal gland. No uterine precursors of neoplasia. Hepatocellular enlargement was associated with CYP1A1 induction. CYP1A1 also induced in uterus. Changes in gene expression were consistent with reduced estrogenic drive in the uterus. No marked effect on hepatic enzymes that metabolize testosterone and estradiol in vitro.							
Rat Wistar Hannover Crl:WI (Han)	Oral gavage (containing1% w/v carboxymethylcellulose and 0.1% w/v polysorbate 80 in water)	Single dose	0, 180	Female 10	180	AZA	2144KR 4.2.3.7.3. 3

Species/ strain	Method of administration (vehicle/formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day) or in vitro concentration (molar units)	Gender and number per group	NOAEL a (mg/kg/day)	Testing facility	Study Number & Location in CTD
Noteworthy findings Study attempted to test hypothesis that altered testosterone and estradiol dysregulates the cAMP/PKA signalling pathway. No increase in testosterone or decrease in estradiol occurred, so lack of effect on PKA-mediated gene induction in the ovary cannot be interpreted.							
Rat Wistar Hannover substrain Crl:WI (Han)	Oral gavage (containing1% w/v carboxymethylcellulose and 0.1% w/v polysorbate 80 in water)	14-18 days	0, 60, 180	Female 20	ND	AZA	2227KR 4.2.3.7.3.4
Noteworthy findings 60 and 180 mg/kg increased testosterone and decreased estradiol; 180 mg/kg decreased FSH. 180 mg/kg/day down-regulated uterine transcription of genes Mmp7, Dmbt1 and Kap, indicating reduced estrogenic drive. No evidence of altered androgenic drive. 60 and 180 mg/kg upregulated the ovarian transcription of Cyp17A1. No effect on ovarian aromatase activity.							
Rat (strain not stated)	*In vitro*	4 h - 72h	Up to 3 µmol/L	Primary cultures of ovarian cells	ND	AZA	1778KV 4.2.3.7.3.5
Noteworthy findings Ticagrelor inhibited steroidogenesis of testosterone, estradiol and progesterone. It does not inhibit any of the enzymes responsible for steroidogenesis dependent on pregnenolone as a precursor, suggesting that it may inhibit ovarian steroidogenesis by perturbing regulatory signalling pathways.							
Rat (Han Wistar)	*In vitro*	24 h	Up to 10 µmol/L	Primary cultures of adrenal cells	ND	AZA	1517KV 4.2.3.7.3.6
Noteworthy findings Investigation of the effects of ticagrelor on synthesis of corticosterone showed basal synthesis was inhibited by an IC50 of 5.0µM, but in the presence of ACTH (1nM) no significant inhibition occurred. Sensitivity of corticosterone synthesis to inhibition by ticagrelor was dose-dependent upon ACTH, with 0.03nM ACTH reducing sensitivity to ticagrelor by 50%.							
Rat (AlpkHsdRcc-Han-Wist)	*In vitro*	30 minutes	10 µmol/L	Ovarian microsome	10 µmol/L	AZA	1918KV 4.2.3.7.3.7
Noteworthy findings Ticagrelor did not inhibit ovarian microsomal aromatase activity, indicating that the increased plasma testosterone and reduced plasma estradiol observed in vivo are unlikely to be due to direct inhibition of CYP19 aromatase activity.							

Species/ strain	Method of administration (vehicle/formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg/day) or in vitro concentration (molar units)	Gender and number per group	NOAEL a (mg/kg/day)	Testing facility	Study Number & Location in CTD
Rat Han Wistar (ovariec-tomized)	Oral gavage (1% w/v sodium carboxymethyl cellulose in 0.1% w/v Polysorbate 80 in water)	4 days	0, 180	Female 10	ND	AZU	3100KR 4.2.3.7.3.8
Noteworthy findings Oral administration of ticagrelor (180 mg/kg/day) has ability to almost completely block estradiol-induced prolactin release in ovariectomized rats.							
Rat Wistar Hannover Galas	Oral (gavage) 1% Sodium carboxymethyl- cellulose and 0.1% polysorbate 80 in water	1 month	0 20 60 180	10M, 10F TK: 3M, 3F	20	AZS	0660AR 4.2.3.7.6.14
Noteworthy findings Compared to other studies in rats this study with a spiked impurity (不純物4*) caused similar exposure to parent and metabolite, similar effects on clinical pathology parameters, organ weight changes (liver, stomach and adrenals) and histo-pathological changes (stomach, adrenals and lungs) at similar dose levels. No findings were considered related to the impurities.							

a　No Observed Adverse Effect Level.
ND = Not Determined
AZA = Safety Assessment UK, AstraZeneca R&D, Alderley, Alderley Park, Macclesfield, SK10 4TG, England
AZU = AstraZeneca US, 1800 Concord Pike, Wilmington, DE, USA
AZS = AstraZeneca Mölndal, Sweden

＊新薬承認情報提供時に置換えた