サノフィ株式会社

モゾビル皮下注 24 mg

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.6 毒性試験の概要文

Total number of pages: 72

目　　次

略号の一覧表 **7**

1　まとめ **9**

1.1　一般毒性試験の概要 14

1.2　単回投与毒性試験 14

1.3　反復投与毒性試験 15

1.3.1　ラットを用いた反復投与毒性試験 15

1.3.2　イヌを用いた反復投与毒性試験 16

1.3.3　要約及び結論 17

1.4　遺伝毒性試験 18

1.5　がん原性試験 18

1.6　生殖発生毒性試験 18

1.7　局所刺激性試験 19

1.8　その他の毒性試験 19

1.8.1　In vivo 抗体産生に及ぼす影響（ラット） 19

1.8.2　ヒト全血溶血に対する in vitro 評価 19

1.8.3　光毒性 19

1.8.4　不純物 19

2　単回投与毒性試験 **20**

2.1　マウスを用いた急性皮下投与毒性試験 20

2.2　マウスを用いた急性静脈内投与毒性試験 20

2.3 ラットを用いた急性皮下投与毒性試験 21

2.4 ラットを用いた急性静脈内投与毒性試験 22

2.5 ラットを用いた単回皮下投与による血液学的試験 22

2.6 Plerixafor をラットに単回皮下投与したときの血漿中電解質変化と一般状態の変化の関連 23

2.7 ブタを用いた単回及び反復投与用量設定試験 24

3 反復投与毒性試験 26

3.1 1 日 1 回反復投与毒性試験 26

3.1.1 連日投与による金属ホメオスタシスの試験 26

3.1.2 ラットを用いた 2 週間（16 日間）反復皮下投与用量設定試験 27

3.1.3 ラットを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験 28

3.1.4 ラットを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験（追加試験） 30

3.1.5 イヌを用いた皮下投与による用量設定試験 32

3.1.6 イヌを用いた 2 週間反復皮下投与用量設定試験 32

3.1.7 イヌを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験及び 2 週間回復性試験 34

3.2 1 日 2 回反復投与毒性試験 36

3.2.1 ラットを用いた 1 日 2 回皮下投与用量設定毒性試験 36

3.2.2 ラットを用いた 14 日間の投与スケジュール依存性（1 日 1 回と 1 日 2 回の比較）試験 36

3.2.3 ラットを用いた 1 日 2 回 28 日間反復皮下投与毒性試験及び 14 日間回復性試験 37

3.2.4 イヌを用いた 1 日 2 回反復皮下投与用量設定毒性試験 39

3.2.5 イヌを用いた 1 日 2 回 28 日間反復皮下投与毒性試験及び 14 日間回復性試験 39

4 遺伝毒性試験 42

4.1 In vitro 試験 42

4.1.1 ネズミチフス菌を用いる変異原性試験 42

4.1.2 チャイニーズハムスターV79 細胞を用いる染色体異常試験 42

4.2 In vivo 試験 43

4.2.1 ラット小核試験 43

5 がん原性試験 45

6 生殖発生毒性試験 46

6.1 皮下投与による雌ラット受胎能及び胚・胎児発生に関する探索的毒性試験 46

6.2 ラットを用いた皮下投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験 48

6.3 ラットを用いた皮下投与による胚・胎児発生に関する試験 50

6.4 ウサギを用いた皮下投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験並びにトキシコキネティクス及び胎児への移行 51

7 局所刺激性試験 53

7.1 ウサギを用いた 2 種の溶液の皮内投与刺激性比較試験 53

8 その他の毒性試験 54

8.1 In vivo 抗体産生に対する影響（ラット） 54

8.2 ヒト全血溶血に対する影響の in vitro 評価 54

8.3 光毒性 55

8.4 不純物 56

9 考察及び結論 59

9.1 安全性評価に関連する背景情報 59

9.2 単回投与毒性 60

9.3 1 日 1 回又は 1 日 2 回反復投与毒性試験 61

9.3.1 ラットを用いた反復投与毒性試験における主な所見 61

9.3.2 イヌを用いた反復投与毒性試験における主な所見 63

9.3.3 トキシコキネティクス 65

9.4 遺伝毒性試験及びがん原性試験 69

9.5 生殖発生毒性試験 69

9.6 結論 69

10 図表 71

参 考 文 献 72

表　目　次

表 1 - Plerixafor 及び plerixafor 八塩酸塩の化学構造 9

表 2 - Plerixafor の毒性試験プログラム 11

表 3 - Plerixafor を 10 mg/kg で単回皮下投与したラットにおける平均血液学的パラメータの要約 23

表 4 - 卵巣中 plerixafor 濃度 47

表 5 - 主要な毒性試験で使用した plerixafor バッチのアッセイ及び不純物含量の比較 57

表 6 - 主要な毒性試験で使用した原薬及びバッチ 58

表 7 - Plerixafor の各毒性試験における最小致死量及び最大非致死量 61

表 8 - Plerixafor をラットに反復皮下投与したときの plerixafor 関連の死亡及び用量と曝露量の関連 62

表 9 - 1 日 1 回又は 1 日 2 回、29 又は 30 日間連続皮下投与した雌雄のラットにおける plerixafor の 平均血漿中 TK パラメータ 65

表 10 - 1 日 1 回又は 1 日 2 回、4 週間投与した雌雄のイヌにおける plerixafor の 平均血漿中 TK パラメータ 66

図　目　次

図 1 - Plerixafor の吸光スペクトル試験 55

図 2 - Plerixafor を 4 匹の雄ラットに 11.4 mg/kg の用量で 4 週間皮下投与したときの 血漿中 plerixafor 濃度（µg/mL） 67

図 3 - Plerixafor を 3 匹のビーグル犬に 4 mg/kg の用量で 4 週間皮下投与したときの 血漿中 plerixafor 濃度（ng/mL） 68

略号の一覧表

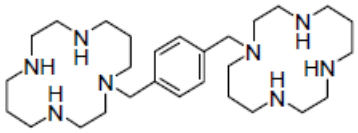
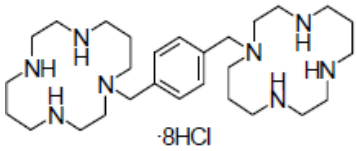
ACTH	Adrenocorticotropic hormone（副腎皮質刺激ホルモン）
ALT	Alanine transaminase（アラニントランスアミナーゼ）
AUC_{0-x}	The area under the plasma concentration versus time curve, from time 0 to time x in hours, calculated by the linear trapezoidal method（台形法で算出した 0 時間から x 時間までの血漿中濃度ー時間曲線下面積）
BID	Twice daily dosing（1 日 2 回投与）
Ca	Calcium（カルシウム）
C_{max}	Maximal concentration in plasma（最高血漿中濃度）
CSF	cerebral-spinal fluid（脳脊髄液）
Cu	Copper（銅）
ECG	Electrocardiograph（心電図）
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid（エチレンジアミン四酢酸）
Fe	Iron（鉄）
G-CSF	Granulocyte colony-stimulating factor（顆粒球コロニー刺激因子）
GD	Gestation day（妊娠日）
GLP	Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準）
IgM	Immunoglobulin M（免疫グロブリン M）
IV	Intravenous（静脈内）
LC-MS/MS	High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry（液体クロマトグラフィー/タンデム型質量分析法）
Mg	Magnesium（マグネシウム）
MTD	Maximum tolerated dose（最大耐量）
NA	Not applicable（該当せず）
n/a	Not available（該当せず）
NOAEL	No observed adverse effect level（無毒性量）
NOEL	No observed effect level（無影響量）
PI	Post-insemination（授精後）
PM	Premating（交配前）
QD	Once daily dosing（1 日 1 回投与）

SC	Subcutaneous（皮下）
SDF-1	Stromal cell-derived factor 1（ストローマ細胞由来因子 1）
SRBC	Sheep red blood cell（ヒツジ赤血球）
TK	TK（トキシコキネティクス）
t_{max}	Time of maximal concentration in plasma（血漿中最高濃度到達時間）
Zn	Zinc（亜鉛）

1　まとめ

Plerixafor（AMD3100）は、1,4-フェニレンビス（メチレン）部分で結合した 2 つの 1,4,8,11-テトラアザシクロテトラデカン（シクラム）環を有するビシクラム化合物である（表 1）。Plerixafor の毒性試験には、plerixafor 八塩酸塩（塩）及び plerixafor（遊離塩基）を使用した。pH を中性に調整した水溶液中では、plerixafor 遊離塩基及び plerixafor 八塩酸塩はいずれも部分的にプロトン付加されるため、溶液の化学的組成は同じである。本項では、特に記載しない限り、用量及び濃度はいずれも遊離塩基当量として表示する。

表 1 - Plerixafor 及び plerixafor 八塩酸塩の化学構造

	Plerixafor	**Plerixafor 八塩酸塩**
構造		
分子式	$C_{28}H_{54}N_8$	$C_{28}H_{54}N_8 \cdot 8HCl$
分子量（g/mol）	502.78	794.48（無水物）又は 829.60（二水和物）
変換係数 **（1 mg 遊離塩基 = X mg）**	1	1.58（無水物） 又は 1.65（二水和物）

Plerixafor の毒性試験は、ICH M3(R2)「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験実施についてのガイダンス」（2010 年 2 月）に従い、本剤の試用期間が短期であることを考慮して実施された。Plerixafor の予定臨床投与レジメンは、240 µg/kg/日での 1 日 1 回、最長 4 日間の皮下投与である。この臨床使用をサポートするための毒性試験計画には、1）マウス、ラット及びブタを用いた単回皮下投与及び静脈内投与毒性試験、2）ラット及びイヌを用いた 1 日 1 回及び 1 日 2 回の 4 週間反復皮下投与毒性試験、3）一連の遺伝毒性試験、4）ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験、並びに 5）局所刺激性試験、免疫毒性試験、溶血性及び血液適合性試験などの特殊毒性試験が含まれる。Plerixafor の予定されている使用法は、化学療法を受けるがん患者における幹細胞動員及びその後の移植処置であるため、ステージ C-D の生殖発生毒性（胚・胎児発生）試験を実施した（ICH-S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」、2010 年 6 月）。ウサギについては、ラットで催奇形性がみられたこと、またノックアウト動物において CXCR4 阻害による発生への有害作用が報告されていることから、胚・胎児発生に関する用量設定試験のみを実施した(1), (2), (3), (4), (5), (6)。Plerixafor

の日本人における予定臨床使用期間は最長 4 日間であるため、ICH M3(R2) に従ってがん原性試験は不要と判断した。全体の毒性試験プログラムを表 2に要約する。毒性試験に使用したバッチを[Module 2.6.7 表 2.6.7.4]に示す。

表 2 - Plerixafor の毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	動物種（系統）	経路	試験番号	GLP	被験物質[a]	Sponsor	試験施設
単回投与	マウス（Hanlbm: NMRI）	皮下	[redacted] 380586 [4.2.3.1-1]	適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、スイス
	マウス（Hanlbm: NMRI）	静脈内	[redacted] 380564 [4.2.3.1-2]	適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、スイス
	ラット（Hanlbm: WIST）	皮下	[redacted] 380575 [4.2.3.1-3]	適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、スイス
	ラット（Hanlbm: WIST）	静脈内	[redacted] 379787 [4.2.3.1-4]	適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、スイス
	ラット（Sprague Dawley - Hsd:SD）	皮下	0835RA69-008 [4.2.3.1-5]	非適用	Plerixafor	AnorMED	[redacted]、米国、[redacted]
	ラット（Crl:WI (GLx/B/BRL/Han) GSBR）	皮下	GT-249-TX-3 [4.2.3.1-6]	適用	Plerixafor	Genzyme	[redacted]、フランス、[redacted]
	ブタ（ヨークシャー）	皮下	AOM0032 [4.2.3.1-7]	非適用	Plerixafor	AnorMED	[redacted]、米国、[redacted]
1 日 1 回反復投与							
14 日間	ラット（WIST）	皮下	GT-249-TX-4 [4.2.3.2-1]	非適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、スイス、[redacted]
2 週間	ラット（Hanlbm: WIST）	皮下	189DFR-tox [4.2.3.2-2] 189DFR-tk [4.2.3.2-3]	非適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、スイス、[redacted]
4 週間	ラット（Hanlbm: WIST）	皮下	428R-tox [4.2.3.2-4] 428R-tk [4.2.3.2-5]	適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、スイス、[redacted]

2.6.6 毒性試験の概要文

plerixafor

試験の種類及び期間	動物種（系統）	経路	試験番号	GLP	被験物質[a]	Sponsor	試験施設
4 週間	ラット（Hanlbm: WIST）	皮下	432R [4.2.3.2-6]	適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、スイス、[redacted]
1～3、8、16 日目	イヌ（ビーグル）	皮下	[redacted]/SPM030/0883 [4.2.3.2-9]	非適用	記載なし	[redacted]	[redacted]、英国、[redacted]
2 週間	イヌ（ビーグル）	皮下	189DFD-tox [4.2.3.2-7] 189DFD-tk [4.2.3.2-8]	非適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、スイス、[redacted]
4 週間	イヌ（ビーグル）	皮下	[redacted]/SPM028/0891-tox [4.2.3.2-10] [redacted]/SPM028/0891-tk [4.2.3.2-11]	適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、英国、[redacted]
1 日 2 回反復投与							
最長 7 日間	ラット（Crl:WI (Gix/BRL/Han) IGS BR）	皮下	[redacted] 89342 [4.2.3.2-12]	非適用	Plerixafor	AnorMED	[redacted]、カナダ、[redacted]
14 日間	ラット（Sprague- Dawley）	皮下	[redacted] 1663 [4.2.3.2-13]	非適用	Plerixafor	AnorMED	[redacted]、カナダ、[redacted]
4 週間	ラット（Crl:WI (Gix/BRL/Han) IGS BR）	皮下	[redacted] 89289 [4.2.3.2-14]	適用	Plerixafor	AnorMED	[redacted]、カナダ、[redacted]
最長 7 日間	イヌ（ビーグル）	皮下	[redacted] 89349 [4.2.3.2-15]	非適用	Plerixafor	AnorMED	[redacted]、カナダ、[redacted]
4 週間	イヌ（ビーグル）	皮下	[redacted] 89290 [4.2.3.2-16]	適用	Plerixafor	AnorMED	[redacted]、カナダ、[redacted]
遺伝毒性							
変異原性試験	ネズミチフス菌	In vitro	Mut.Bakt.15/[redacted] [4.2.3.3.1-1]	適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、スイス、[redacted]
染色体異常試験	V79 細胞	In vitro	Z48 [4.2.3.3.1-2]	適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、スイス、[redacted]

2.6.6 毒性試験の概要文
plerixafor

試験の種類及び期間	動物種（系統）	経路	試験番号	GLP	被験物質[a]	Sponsor	試験施設
小核試験	ラット（Sprague- Dawley Hsd:SD）	皮下	[redacted] 960379 [4.2.3.3.2-1]	適用	Plerixafor	AnorMED	[redacted]、カナダ、[redacted]
生殖発生毒性							
雌受胎能探索的	ラット（Crl: CD (SD)）	皮下	FER0501 [4.2.3.5.1-1]	適用	Plerixafor	サノフィ・アベンティス	[redacted]、米国、[redacted]
胚・胎児発生用量設定	ラット（Crl: CD (SD)IGS BR）	皮下	[redacted] 900518 [4.2.3.5.2-1]	非適用	Plerixafor	AnorMED	[redacted]、カナダ、[redacted]
胚・胎児発生	ラット（Crl: CD (SD)IGS BR）	皮下	[redacted] 900519 [4.2.3.5.2-2]	適用	Plerixafor	AnorMED	[redacted]、カナダ、[redacted]
胚・胎児発生用量設定	ウサギ（Crl: KBL (NZW) BR）	皮下	6045K [4.2.3.5.2-3]	非適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、スイス、[redacted]
局所刺激性							
皮内刺激	ウサギ（NZW）	皮内	[redacted] 89679 [4.2.3.6-1]	非適用	Plerixafor	AnorMED	[redacted]、カナダ、[redacted]
その他の試験							
免疫毒性	ラット（OFA）	皮下	107-025 [4.2.3.7.2-1]	非適用	Plerixafor 八塩酸塩	[redacted]	[redacted]、スイス、[redacted]
溶血性	ヒト全血	In vitro	[redacted] 60101 [4.2.3.7.7-1]	適用	Plerixafor	AnorMED	[redacted]、カナダ、[redacted]

GLP = 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準

[redacted]

a 投与液は、[redacted]、[redacted]又は[redacted]溶液を加えて中性に調整した。

1.1 一般毒性試験の概要

毒性試験プログラムは、造血幹細胞を骨髄から末梢血に動員するための plerixafor の短期（最長 4 日間の連日皮下投与）臨床使用をサポートする目的で立てられた。単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験のいずれにおいても、最も顕著な毒性変化は一般状態の重篤な変化（例：鎮静、平衡障害、横臥位、努力性呼吸、振戦、痙攣）であり、その多くは投与後 15 分～2 時間に認められた。皮下投与後の plerixafor の吸収は速やか、かつほぼ完全であり（[Module 2.6.4.3] 参照）、最高血漿中濃度は、多くの場合、投与後 15 分～1 時間にみられ、7 時間以内に血中から消失する。このように、一般状態の変化が速やかにみられその持続時間が比較的短いこと、及び plerixafor の血漿中濃度プロファイルから、plerixafor は 1 日 2 回投与が可能である。単回投与と比較すると、plerixafor を 1 日 1 回又は 1 日 2 回のスケジュールで反復投与したときの毒性は、皮下投与後 30 分～4 時間にかけて同じ一般状態の変化がみられるという点では同様であるが、初回投与時に良好な忍容性を示した用量においては最初の一般状態変化は 5 日間以上の連日投与後から認められた。単回投与及び反復投与毒性試験における毒性所見は、1）plerixafor の最高血漿中濃度に関連した重度の神経筋関連の徴候が速やかにみられること、又は 2）plerixafor の薬理作用である白血球動員作用の増強並びに脾臓又は肝臓における髄外造血の増加に起因する場合が多かった。注射部位における出血及び組織壊死を除くと、plerixafor の毒性を直接示唆する病理組織学的変化は、いずれの組織及び器官にも認められなかった。

1.2 単回投与毒性試験

Plerixafor の急性毒性を、マウス及びラットを用いた GLP 適用の単回皮下及び静脈内投与毒性試験により評価した。また、ラット及び雄ヨークシャーブタを用いた急性皮下投与用量設定試験、及び血漿イオン化カルシウム（Ca）と一般状態の変化の関連を調べるための雌ラットを用いた GLP 適用の急性毒性試験も実施した。

マウスの単回投与毒性試験において、死亡は、皮下投与では 14 mg/kg 以上、静脈内投与では 5 mg/kg 以上の用量で投与後 1 時間以内に認められた。いずれの試験においても、用量制限毒性として、一過性ではあるが、一般状態の重篤な変化（鎮静、呼吸困難、痙攣、腹臥位、異常姿勢など）が投与後 1～2 時間以内に観察された。多くの場合、投与後 2 時間以内に回復した。無毒性量（NOAEL）は、皮下投与では 2 mg/kg、静脈内投与では 2 mg/kg 未満であった。

ラットの単回投与毒性試験において、死亡は、40 mg/kg 以上の皮下投与後 2 時間以内、及び 5 mg/kg 以上の静脈内投与後 1 時間以内に認められた。いずれの試験においても、用量制限毒性として、一過性ではあるが、重度の一般状態の変化（鎮静、呼吸困難、痙攣、腹臥位、円背位及び非協調運動）が投与後 1～2 時間以内に観察された。一般状態の変化の大部分は、投与後 3 時間以内に回復した。2 mg/kg の単回皮下又は静脈内投与による忍容性は良好であった。

投与後の様々な時点で血液学的変化を検討したラット単回投与毒性試験では、白血球動員の増加のピークが投与約 6 時間後にみられ、好中球数の増加は投与 24 時間後にも持続して認められた。赤血球及び血小板の動員はみられなかった。

血漿中 Ca と一般状態の変化の関連を調べたラット単回皮下投与毒性試験では、40 mg/kg で死亡がみられた。血漿中マグネシウム（Mg）の有意な減少及び Ca ホメオスタシスに関連した血液生化学的パラメータの変化がみられたが、血漿中イオン化 Ca には生物学的意義のある変化は認められなかった。

ブタの単回皮下投与毒性試験では、12 mg/kg 群のブタが投与約 20 分後に死亡した。最大耐量（MTD）は 6 mg/kg であった。

要約及び結論：Plerixafor の急性毒性プロファイルは、検討した動物種（マウス、ラット及びブタ）において、また皮下投与と静脈内投与において類似していた。皮下投与後及び静脈内投与後のいずれにおいても、一般状態の変化及び回復は速やかであったことから、急性毒性は plerixafor の最高血漿中濃度（C_{max}）に関連することが示唆された。マウス及びラットでの静脈内投与による毒性が皮下投与よりわずかに重度であったことも、最高血漿中濃度に毒性発現が関連することを裏付けるものである。Plerixafor 皮下投与毒性の反応性は、マウスが一番高く、次いでブタ、ラットの順であった。

1.3 反復投与毒性試験

Plerixafor の反復投与毒性をラット及びイヌを用いて最長 4 週間の 1 日 1 回（QD）及び 1 日 2 回（BID）皮下投与により評価した。回復性を評価するため、ラットで 2～7 週間、イヌで 2 週間の休薬期間を設定した。

1.3.1 ラットを用いた反復投与毒性試験

血漿中及び尿中の金属ホメオスタシスの検討を、ラットを用いて 14 日間の連日投与により実施した。血漿中金属の分析結果において、銅（Cu）、鉄（Fe）及び亜鉛（Zn）の血漿中濃度は、全体的には対照群と比較して有意な変化は認められなかった。Mg 及び Ca の血漿中濃度は、投与後 2 時間及び 24 時間では、いずれも対照群より有意に低かった。尿中 Zn 及び Cu はいずれも顕著な増加がみられたが、それらは plerixafor の濃度より低かった。尿中 Ca は、試験を通して、対照群よりわずかに高い値から対照群の 2 倍へと次第に増加した。尿中 Mg 排泄の増加は認められなかった。

ラットを用いた用量設定試験を 1 日 1 回又は 1 日 2 回皮下投与により 5 日間から 2 週間のスケジュールで実施した。1 日 1 回投与の試験では、死亡は、9 及び 12 mg/kg/日の 7 日間又は 8 日間の投与後に認められた。1 日 2 回投与試験における死亡は 24 mg/kg BID（48 mg/kg/日）の 7 日間投与後にみられたが、12 mg/kg BID（24 mg/kg/日）の 7 日間投与は良好な忍容性を示した。これらの試験では、遅延性の死亡が皮下投与直後に認められた。1 日 1 回投与用量設定試験における死亡率増加の理由は不明であるが、その結果として、ラットを用いた 1 日 1 回皮下投与による 4 週間反復投与毒性試験では、

設定した用量が低く、plerixafor の MTD を設定できなかった。そのため、GLP 適用の 1 日 1 回 4 週間反復投与毒性試験をより高い用量で追加実施した。

2 つの GLP 適用のラット 4 週間反復投与毒性試験を 1 日 1 回投与により実施した。死亡が 15.2 mg/kg/日皮下投与の 1～4 週目に認められた。11.4 mg/kg/日以下の用量での 4 週間投与では、死亡は認められなかった。重度の一般状態の変化が 7.6 mg/kg/日以上の用量で投与後 15 分～1 時間にかけてみられた。一般状態の変化としては、攣縮、ラッセル音、努力性呼吸、腹臥位及び過興奮性が認められた。血液学的検査では、白血球数が 1.9 mg/kg/日以上の用量で用量依存的に増加した。血清生化学的検査では、7.6 mg/kg/日以上の用量で血清中 Mg 濃度の減少が認められた。尿検査では、7.6 mg/kg/日以上の用量で尿中 Ca 及び Mg 濃度の増加がみられた。骨密度検査では、11.4 mg/kg/日以上の用量で骨塩量及び骨密度の減少が認められた。脾重量（1.9 mg/kg/日以上）及び肝重量（7.6 mg/kg/日、雌のみ）が増加し、胸腺重量（11.4 mg/kg/日以上）が減少した。病理組織学的検査では、肝臓及び脾臓の髄外造血並びに胸腺のリンパ系組織萎縮が観察された。注射部位の刺激性変化を除くと、いずれの組織及び器官系においても、毒性変化を示唆する病理組織学的所見は認められなかった。休薬期間中にすべての毒性所見について回復がみられた。

ラットを用いた GLP 適用の 4 週間反復投与毒性試験を 1 日 2 回投与により実施した。12 mg/kg BID（24 mg/kg/日）以下の用量で実施した本試験において、投与に関連した死亡及び明らかな一般状態の変化はみられなかった。血液学的検査では、白血球数が 2 mg/kg BID 以上の用量で用量依存的に増加した。血清生化学的検査では、12 mg/kg BID 群の雄で血清中 Mg 濃度減少及び血清アラニントランスアミナーゼ（ALT）値増加が示された。尿検査では、12 mg/kg BID で尿中 Ca 濃度増加が認められた。注射部位の刺激性変化を除くと、いずれの組織及び器官においても、毒性変化を示唆する病理組織学的所見は認められなかった。

トキシコキネティクス（TK）は、1 日 1 回投与試験及び 1 日 2 回投与試験のいずれにおいても概ね同様であり、1）用量に比例した血漿中 plerixafor 濃度の増加がみられ、2）曝露量には明らかな性差がみられず、3）最高血漿中濃度（C_{max}）は皮下投与後速やかに認められ（約 0.5～1 時間）、4）C_{max} 及び血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）は 1 日目と比較して 28 日間反復投与後の方がわずかに高かった。

1.3.2 イヌを用いた反復投与毒性試験

イヌを用いた 3 つの用量設定試験、すなわち 1 日 1 回の用量漸増及び 2 週間連日投与試、1 日 2 回の 7 日間連日投与試験を実施した。1 日 1 回投与の 2 週間試験では、6 mg/kg/日群のイヌにおいて、重度の一般状態の変化（無関心、平衡障害、下痢、嘔吐、横臥位、鎮静、振戦 、攣縮など）がみられたため、10 日目に途中安楽殺した。1 日 2 回投与試験では、9 mg/kg BID の初回皮下投与後 20～30 分以内に重度かつ急性の一般状態の変化（重度の流涎、振戦／痙攣、協調運動障害、活動性低下、呼吸困難、

心拍数増加）、及び死亡がみられた。5 日目以降に、plerixafor 6 mg/kg BID 皮下投与群のイヌで、協調運動障害、後肢使用制限、振戦、活動性低下が投与後 30 分～1 時間にかけて観察された。

イヌを用いた GLP 適用の 4 週間反復投与毒性試験を、1 日 1 回の皮下投与で実施した。4 mg/kg/日までの用量で実施した本試験において、死亡は認められなかった。一般状態の変化として、1 mg/kg/日以上の群の多数例に下痢がみられ、4 mg/kg/日群で散発的な活動性低下及び削痩が認められた。1 mg/kg/日以上で摂餌量減少がみられた。体重増加量減少が 4 mg/kg/日群の雌で最も顕著に認められた。4 mg/kg/日群の雄では、尿量増加及び尿比重低下がみられたが、休薬期間中に回復した。軽度の心拍数及び脈拍数の増加（1 mg/kg/日以上）が 1 日目及び 22 日目の投与後 4 時間まで観察された。4 mg/kg/日群では心拍数の増加に伴って QT 間隔の短縮がみられた。注射部位の皮膚肥厚は 1 mg/kg/日以上の群で出現頻度が増加した。すべての投与関連の変化は、2 週間の休薬期間中に対照値に戻った。摂水量、神経学的検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査においては、被験物質関連の変化は認められなかった。

1 日 2 回皮下投与によるイヌを用いた GLP 適用の 4 週間反復投与毒性試験も実施した。4 mg/kg BID（8 mg/kg/日）までの用量で実施した本試験において、死亡は認められなかった。4 mg/kg BID 群で 1 日目に軽度の流涎が観察された。投与の第 1 週に 0.75 mg/kg BID 以上の用量で摂餌量減少及び体重増加量減少がみられた。投与期間終了時（4 週目）に、0.75 mg/kg BID 以上の用量で白血球数増加（主として分節核好中球）及び血清中 Mg 濃度減少が認められた。0.15 mg/kg BID 以上の群の雌では、グロブリンの軽度低下及びアルブミン／グロブリン比の軽度上昇もみられた。投与期間終了時に、0.75 mg/kg BID 以上の用量では尿検査で Ca 増加が示された。すべての投与関連の変化は 2 週間の休薬期間中に対照値に回復した。心電図検査、眼科学的検査、器官重量、骨髄検査、剖検及び病理組織学的検査では、被験物質関連の変化は認められなかった。

1 日 1 回投与及び 1 日 2 回投与試験のいずれにおいても TK 評価を実施した。2 つの試験で得られた結果を合わせて考察したところ、全体として、1）用量に比例した血漿中 plerixafor 濃度の増加、2）曝露量における明らかな性差なし、及び 3）皮下投与後速やか（約 0.5～1 時間）な最高血漿中濃度が認められた。

1.3.3 要約及び結論

ラット及びイヌを用いた 1 日 1 回及び 1 日 2 回投与試験における用量制限毒性は、投与後 1～2 時間以内にみられた死亡及び重度の神経筋関連の徴候であった。ラット及びイヌで忍容性がみられる plerixafor の 1 日当たりの最大総用量は、1 日 1 回皮下投与と比較して、1 日 2 回皮下投与の方が約 2 倍高かった。1 日 1 回及び 1 日 2 回投与での MTD は、ラットでそれぞれ 11.4 mg/kg/日及び 12 mg/kg BID（24 mg/kg/日）、イヌでそれぞれ 4 mg/kg/日及び 4 mg/kg BID（8 mg/kg/日）であった。Plerixafor の皮下投与後にラット及びイヌでみられた変化は、1 日 1 回投与と 1 日 2 回投与でおおむね類似していた。反復投与毒性試験で多くみられた変化は、白血球数の増加（好中球、単球、好酸球、抗塩基球及びリ

ンパ球）、血中 Mg 濃度減少、尿中 Ca 及び Mg 濃度増加並びに注射部位組織の刺激性変化であった。ラットでは、骨密度減少、脾臓及び肝臓の重量増加、胸腺重量減少並びにそれに伴う病理組織学的所見として肝臓での髄外造血及び胸腺萎縮がみられたが、軽度の髄外造血の病理組織学的所見を除いて、これらの所見はイヌでは認められなかった。脾臓及び肝臓の変化は、plerixafor の薬理作用である白血球動員作用が拡大したものと考えられた。下痢並びに心拍数及び脈拍数の増加は、イヌを用いた 1 日 1 回投与の試験のみで認められた。皮下注射部位の局所刺激性変化を除いて、いずれの組織及び器官系においても plerixafor の直接的毒性作用を示唆する病理組織学的所見は認められなかった。

1.4　遺伝毒性試験

Plerixafor は、標準的バッテリー試験である細菌を用いる in vitro 変異原性試験（Ames 試験）、V79 細胞を用いる in vitro 染色体異常試験及び in vivo ラット小核試験において、遺伝毒性を示さなかった。

1.5　がん原性試験

がん原性試験は実施しなかった。

1.6　生殖発生毒性試験

Plerixafor の胚・胎児発生への影響（第 II 節）をラット及びウサギを用いて検討した（ウサギについては GLP 非適用の用量設定試験のみ）。ラットでは、plerixafor の 15 mg/kg/日群で、吸収胚数増加、胎児体重減少、骨格発達遅延及び胎児異常の増加が認められた。ウサギでは、plerixafor による母動物毒性（0.6 mg/kg/日以上）、着床前胚損失率及び着床後胚損失率の増加（6.1 mg/kg/日）、同腹児数減少（6.1 mg/kg/日）並びに趾及び頭部の奇形（1.8 mg/kg/日以上）が認められた。ラットにおける胚・胎児発生に関する NOAEL は 3 mg/kg/日であり、ウサギでは 0.6 mg/kg/日を上回る用量で胚・胎児毒性が認められた。ウサギではすべての用量で母動物毒性がみられた。ラットの試験では母動物毒性に関する NOAEL を決定しなかった。

本剤は化学療法を受ける患者への短期投与を予定しているため、受胎能、並びに出生前及び出生後の発生に及ぼす plerixafor の影響の有無について評価は必要ないと判断した。休薬後の雌受胎能及び胚・胎児発生に関する探索的試験を実施した。雌ラットに plerixafor を 14 日間皮下投与し、2 週間の休薬期間をおいてから交配させ、妊娠 21 日で帝王切開したところ、投与期間中に 15 mg/kg/日の TK サテライト群に死亡がみられ、主試験群でも一般状態変化が認められた。性周期及び生殖パラメータへの影響、剖検所見、帝王切開時検査パラメータ並びに胎児の成長及び発達に対する影響はいずれの用量においても認められなかった。Plerixafor の卵巣中濃度は、交配期間最終日まで検出可能であった。

1.7　局所刺激性試験

ウサギを用いた GLP 非適用の皮内投与刺激性試験において、plerixafor は 3 mg/mL 以上の濃度で軽度の刺激性が示唆された。

1.8　その他の毒性試験

1.8.1　In vivo 抗体産生に及ぼす影響（ラット）

GLP 非適用の脾臓プラーク形成細胞測定試験において、ラットに 5.1 及び 12.7 mg/kg/日を 4 日間皮下投与したところ、一次 IgM 抗体産生に対する阻害作用は認められなかった。

1.8.2　ヒト全血溶血に対する in vitro 評価

GLP 適用試験において、in vitro での plerixafor のヒト全血とのインキュベーションを 0.2 µg/mL の最終濃度で実施したところ、明らかな溶血及び凝固は認められなかった。

1.8.3　光毒性

Plerixafor は、290～700 nm の範囲における光吸収試験において、可視光線の範囲で明らかな吸収を示さなかった。

1.8.4　不純物

すべての特定及び未特定不純物の安全性確認は非臨床試験で使用した plerixafor 及び plerixafor 八塩酸塩の種々のバッチで測定された濃度に基づいて実施されている。不純物の毒性評価は各 GLP 適用毒性試験での評価に含まれていることから、個々の不純物についての毒性試験は実施しなかった（[Module 3.2.S の 3.2.2.2.2 項]）。

2　単回投与毒性試験

2.1　マウスを用いた急性皮下投与毒性試験

試験番号 [redacted] 380586 [4.2.3.1-1]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.5]

試験の目的：Plerixafor をマウスに単回皮下投与し、その後 14 日間観察したときの急性毒性を評価する。

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩を水に溶解させ、生理食塩液で希釈して所定の濃度の溶液を調製した。

投与方法：各群雌雄各 5 匹からなる 4 群のマウス（HanIbm: NMRI）に、plerixafor を 0（プラセボ）、2、14 又は 20 mg/kg（用量は plerixafor 遊離塩基当量として表示）で単回皮下投与した。対照群にはプラセボ液を投与した。すべてのマウスに 2 mL/kg の一定の容量で投与した。

観察：全例について、生死確認及び一般状態観察（1 日目は頻回、その後は 1 日 1 回）並びに体重測定（週 1 回）を実施し、15 日目に剖検して肉眼的に観察した。

結果及び結論：死亡は、投与後 15 分～1 時間にかけて、14 mg/kg 群（雄 1/5 匹、雌 2/5 匹）及び 20 mg/kg 群（雄 3/5 匹、雌 4/5 匹）において認められた。一般状態の変化は、鎮静、痙攣、呼吸困難、腹臥位及び異常姿勢が 14 及び 20 mg/kg 群で認められた。一般状態の変化は投与後 2 時間まで持続的に観察された。被験物質関連の体重の変化及び剖検時の肉眼所見は認められなかった。要約すると、14 mg/kg 以上の単回皮下投与により、死亡及び毒性的な一般状態の変化がみられた。Plerixafor の 2 mg/kg を単回皮下投与したときの忍容性は良好であった。

2.2　マウスを用いた急性静脈内投与毒性試験

試験番号 [redacted] 380564 [4.2.3.1-2]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.5]

試験の目的：Plerixafor をマウスに単回静脈内投与し、その後 14 日間観察したときの急性毒性を評価する。

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩を水に溶解させ、生理食塩液で希釈して所定の濃度の溶液を調製した。

投与方法：各群雌雄各 5 匹からなる 4 群のマウス（HanIbm: NMRI）に、plerixafor を 0（プラセボ）、2、5 又は 8 mg/kg（用量は plerixafor 遊離塩基当量として表示）で単回静脈内投与した。対照群にはプラセボ液を投与した。すべてのマウスに 2 mL/kg の一定の容量及び 0.6 mL/分の一定の速度で投与した。

観察：14 日間の観察期間中、全例について生死確認及び一般状態観察（1 日目は頻回、その後は 1 日 1 回）並びに体重測定（週 1 回）を実施し、15 日目に剖検して肉眼的に観察した。

結果及び結論：死亡が投与後 1 時間以内に 5 mg/kg 群（雄 2/5 匹、雌 2/5 匹）及び 8 mg/kg 群（雄 4/5 匹、雌 5/5 匹）で認められた。一般状態の変化はいずれも投与後 1 時間以内に観察され、その所見は鎮静（2 mg/kg 以上）、呼吸困難（5 mg/kg）、痙攣（5 mg/kg 以上）及び腹臥位（8 mg/kg）であった。体重及び肉眼的剖検所見には、被験物質関連の変化は認められなかった。要約すると、plerixafor を単回静脈内投与したところ、5 mg/kg 以上の用量で死亡がみられ、2 mg/kg 以上の用量で一般状態の変化が認められた。

2.3　ラットを用いた急性皮下投与毒性試験

試験番号 [redacted] 380575 [4.2.3.1-3]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.5]

試験の目的：Plerixafor をラットに単回皮下投与し、その後 14 日間観察したときの急性毒性を評価する。

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩を水に溶解させ、2 mg/kg 検体についてはさらに生理食塩液で希釈して所定の濃度の溶液を調製した。

投与方法：各群雌雄各 5 匹からなる 6 群のラット（HanIbm: WIST）に、plerixafor を 0、2、20、30、40 又は 50 mg/kg（用量は plerixafor 遊離塩基当量として表示）で単回皮下投与した。投与容量は、2、20、30、40 及び 50 mg/kg 群でそれぞれ 2、2、3、4 及び 5 mL/kg とした。対照群にはプラセボ液を 5 mL/kg の容量で投与した。対照群及び 50 mg/kg 群では投与容量が大きかったため、注射部位は 2 箇所とした。

観察：14 日間の観察期間中、全例について生死確認及び一般状態観察（1 日目は頻回、その後は 1 日 1 回）並びに体重測定（週 1 回）を実施し、15 日目に剖検して肉眼的に観察した。

結果及び結論：死亡が投与の 1～2 時間後に 40 mg/kg 群（雌 3/5 匹）及び 50 mg/kg 群（雄 1/5 匹、雌 2/5 匹）で認められた。一般状態の変化として、鎮静、呼吸困難、痙攣、腹臥位、横臥位、非協調運動（20 mg/kg 以上）、粗毛（30 mg/kg 以上）及び円背位（40 mg/kg のみ）が観察された。一般状態の変化は、一過性で、投与の 2～3 時間後に最も顕著に認められた。しかし、鎮静及び呼吸困難は 40 mg/kg 群で引き続き翌日にもみられ、一部のラットでは粗毛が最長 6 日間持続して認められた。30 mg/kg 以上の群の生存例では、軽度の体重増加量減少が認められた。被験物質関連の剖検所見は認められなかった。要約すると、40 mg/kg 以上の用量での単回皮下投与により死亡が認められ、20 mg/kg 以上の用量で毒性的な一般状態の変化が観察された。30 mg/kg 以上の用量で体重増加量減少がみられた。2 mg/kg の単回皮下投与による忍容性は良好であった。

2.4　ラットを用いた急性静脈内投与毒性試験

試験番号 [redacted] 379787 [4.2.3.1-4]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.5]

試験の目的：Plerixafor をラットに単回静脈内投与し、その後 14 日間観察したときの急性毒性を評価する。

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩を水に溶解させ、さらに生理食塩液で希釈して所定の濃度の溶液を調製した。

投与方法：各群雌雄各 5 匹からなる 4 群のラット（HanIbm: WIST）に、plerixafor を 0（プラセボ）、2、5 又は 8 mg/kg（用量は plerixafor 遊離塩基当量として表示）で単回静脈内投与した。対照群にはプラセボ液を投与した。すべてのラットに 2 mL/kg の一定の容量及び 0.6 mL/分の一定の速度で投与した。

観察：14 日間の観察期間中、全例について生死確認及び一般状態観察（1 日目は頻回、その後は 1 日 1 回）並びに体重測定（週 1 回）を実施し、15 日目に剖検して肉眼的に観察した。

結果及び結論：死亡が 5 mg/kg 群（雄 1/5 匹、雌 3/5 匹）及び 8 mg/kg 群（雄 4/5 匹、雌 5/5 匹）で投与直後に認められた。一般状態の変化は、投与後 1 時間以内に鎮静（2 mg/kg 以上）、腹臥位（5 mg/kg）、痙攣及び呼吸困難（5 mg/kg 以上）が認められた。体重には明らかな変化は認められず、被験物質関連の剖検所見はみられなかった。要約すると、5 mg/kg 以上の用量での単回静脈内投与により死亡が認められ、2 mg/kg 以上の用量で毒性的な一般状態の変化が観察された。

2.5　ラットを用いた単回皮下投与による血液学的試験

試験番号 0835RA69-008 [4.2.3.1-5]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.5]（非 GLP）

試験の目的：Plerixafor をラットに単回皮下投与し、血液学的パラメータを測定する。

被験物質の調製：Plerixafor 注射液（5 mg/mL）を生理食塩液（pH 5～7.5）で希釈して所定の濃度の投与液を調製した。

投与方法：絶食させた各群（9 匹）の雄ラット（Sprague Dawley）に plerixafor を皮下投与した。各動物に 10 mg/kg の用量で単回皮下投与した（検体濃度：5 mg/mL、投与容量：2 mL/kg）。各動物から眼窩静脈叢穿刺により血液試料（1 回約 1 mL）を 3 回連続で採取し、EDTA を含む試験管に移した。9 匹のラットを 3 匹ずつの 3 つのサブグループに割り付け、皮下投与した後、以下の時点で血液試料を採取して血液学的検査を実施した：第 1a 群－0、0.5、17 時間；第 1b 群－1、2、4 時間、第 1c 群－6、12、24 時間。動物の観察を馴化期間中は 1 日 1 回以上行い、投与後は各採血時点において実施した。

結果及び結論：Plerixafor の皮下投与時に問題はみられず、9 匹の動物は投与後のすべての時点で正常であった。血液学的検査の結果を以下の表 3に示す。白血球動員における増加のピークは投与 6 時間後にみられた。この増加は主として骨髄球系細胞（好中球、単球、好酸球、好塩基球）によるもの

であり、リンパ球には統計学的有意差のない軽度な増加が認められた。赤芽球系細胞（赤血球、血小板）には動員の増加は認められず、実際、赤血球は減少した。

表 3 - Plerixafor を 10 mg/kg で単回皮下投与したラットにおける平均血液学的パラメータの要約

	白血球 $10^3/mm^3$	好中球 $10^3/mm^3$	リンパ球 $10^3/mm^3$	単球 $10^3/mm^3$	好酸球 $10^3/mm^3$	好塩基球 $10^3/mm^3$	赤血球 $10^6/mm^3$	血小板 $10^3/mm^3$
背景対照	11.56 (3.07)	1.44 (0.18)	9.50 (2.71)	0.32 (0.10)	0.16 (0.06)	0.09 (0.02)	8.0 (0.16)	1108 (156)
投与前	12.18 (2.10)	1.89 (0.83)	9.42 (1.24)	0.39 (0.08)	0.28 (0.05)	0.05 (0.01)	8.38 (0.23)	1146 (123)
0.5 時間	14.46 (4.43)	3.82 (3.00)	9.67 (1.12)	0.59 (0.24)	0.12 (0.02)	0.07 (0.02)	8.03 (0.11)	1083 (100)
1.0 時間	12.99 (1.45)	1.69 (0.55)	10.27 (0.93)	0.44 (0.16)	0.30 (0.08)	0.07 (0.02)	8.69 (0.49)	1057 (37)
2.0 時間	17.58* (1.87)	3.54** (0.83)	12.16 (1.28)	0.83* (0.29)	0.57** (0.10)	0.13** (0.01)	8.30 (0.37)	1039 (62)
4.0 時間	19.93* (3.01)	7.38** (1.65)	10.63 (1.27)	0.88** (0.15)	0.59** (0.09)	0.11 (0.03)	7.21** (0.13)	1029 (55)
6.0 時間	23.10** (0.52)	7.25** (1.13)	13.94 (1.33)	0.74 (0.47)	0.76** (0.13)	0.12 (0.10)	8.67* (0.36)	973 (100)
12.0 時間	18.82* (2.46)	6.25** (1.96)	11.34 (1.30)	0.36 (0.21)	0.41 (0.36)	0.31 (0.27)	7.46** (0.12)	937 (39)
17.0 時間	16.64 (3.50)	3.78** (0.38)	12.18 (3.74)	0.28 (0.25)	0.22 (0.03)	0.06 (0.06)	6.79** (0.32)	1054 (30)
24.0 時間	14.63 (0.90)	2.58** (0.22)	11.32 (0.72)	0.22 (0.04)	0.26 (0.09)	0.07 (0.10)	6.76** (0.36)	880 (57)

* = P≤ 0.05; ** = P≤ 0.01. Dunnett 検定による背景対照からの統計学的有意差
括弧内は標準偏差

2.6　Plerixafor をラットに単回皮下投与したときの血漿中電解質変化と一般状態の変化の関連

試験番号 GT-249-TX-3 [4.2.3.1-6]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.5]

試験の目的：Plerixafor をラットに単回皮下投与したときの血漿中及び尿中電解質変化を評価し、血漿中電解質変化と plerixafor による一般状態の変化を関連づける。

被験物質の調製：Plerixafor 注射液（20 mg/mL）を生理食塩液で希釈して所定の濃度の投与液を調製した。

投与方法：各群雌 15 匹からなる 5 群の Crl:WI (GLx/BRL/Han) GSBR ラットに、plerixafor を 0、10、20、30 及び 40 mg/kg の用量で単回皮下投与した。一定の濃度の投与液を 1、2、3 及び 4 mL/kg の容量で投与した。対照群には溶媒を 4 mL/kg の容量で同様に投与した。

観察：生死確認及び一般状態観察を皮下投与後 0～15 分、15～30 分、30 分～1 時間、1～2 時間及び 4 時間に実施した。各群 5 匹のラットから投与前並びに投与の 15 分後、30 分後、1 時間後、2 時間後及び 4 時間後に血液試料を採取し、血液生化学的検査（pH、Na、K、Cl、Ca、Mg、無機リン、総タンパク質、アルブミン、アルブミン／グロブリン比及びイオン化 Ca）を行った。Plerixafor 皮下投与後に夜間採取した尿について、尿検査（尿量、尿比重、pH、Na、K、Ca、Mg 及び Cl）を実施した。

結果及び結論：死亡が 40 mg/kg 群の雌 2/15 匹で認められた（2 時間 15 分後、及び 8 時間 45 分後）。さらに 2/15 匹を投与後約 4 時間に切迫安楽殺した。毒性的な一般状態の変化が 30 mg/kg 以上の群で投与後 1～3 時間にみられ、所見としては立毛、活動性低下、横臥位、呼吸緩徐、鎮静及び部分的眼瞼下垂が認められた。投与後 1～4 時間に実施したラットでの血液生化学的検査において、統計学的に有意な（$p \leq 0.05$）総タンパク質及びアルブミンの低下が 10 mg/kg 以上の群で、血液 pH 低下、Ca 及び Cl の血漿中濃度の減少並びに無機リンの血漿中濃度増加などが 30 mg/kg 以上の群でみられた。血漿中 Mg の有意な増加（$p \leq 0.05$）が投与 1 時間後にみられ、投与 2 及び 4 時間後には減少が認められた。血漿中 Ca の減少は小さく生物学的意義はないと考えられた。尿検査では、統計学的に有意な（$p \leq 0.05$）pH の低下並びに Na 及び K の減少が 30 mg/kg 以上の群で認められた。Cl の減少が 40 mg/kg のみで認められ、尿量の増加と比重の低下によると考えられた。要約すると、40 mg/kg の単回皮下投与により死亡が認められ、30 mg/kg 以上で一般状態の変化が認められた。血漿生化学的検査では、一定のイオン化 Ca の維持に関与する多数のパラメータ（血漿 pH、無機リン、血漿アルブミン）に有意な変化がみられたが、血漿中総 Ca 及びイオン化 Ca には、生物学的意義のある減少は認められなかった。

2.7　ブタを用いた単回及び反復投与用量設定試験

試験番号 AOM0032 [4.2.3.1-7]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.5]（非 GLP 試験）

試験の目的：雄の幼若ヨークシャーブタを用い、単回皮下投与又は 7 日間連日皮下投与による plerixafor の安全用量を決定し、TK パラメータの検討及び白血球動員を測定する。

被験物質の調製：Plerixafor を生理食塩液（50 mg/mL）又はクエン酸ナトリウム水溶液（100 mg/mL）に溶解させた。

投与方法：4 匹の雄ブタを各群 1 匹からなる 4 群に分け、plerixafor を 2 及び 8 mg/kg、4 及び 12 mg/kg、1 mg/kg、又は 6 mg/kg の用量で単回皮下投与した。Plerixafor の異なる 2 用量を投与した個体については、48 時間のウォッシュアウト期間をおいた。5 匹目の個体には plerixafor を 4.75 mg/kg/日を 4 日間連日皮下投与した。

観察：すべての個体について、投与後、定期的に生死確認、一般状態観察及び心拍数測定を行った。投与後の特定の時点において、白血球動員及び TK 解析用の血液試料を採取した。

結果及び結論：12 mg/kg を投与した個体は投与の約 20 分後に死亡した。8 mg/kg を投与した個体では、投与後 1～3 時間に横臥位が観察された。6 mg/kg の単回投与及び 4.75 mg/kg の 4 日間連日投与で

は良好な忍容性が認められた。すべての用量で循環血中白血球数の増加がみられた。TK では線形性が示され、予測値からの変動はわずかであった。

3　反復投与毒性試験

3.1　1 日 1 回反復投与毒性試験

3.1.1　連日投与による金属ホメオスタシスの試験

試験番号 GT-249-TX-4 [4.2.3.2-1]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.6]（非 GLP 試験）

試験の目的：Plerixafor を 1 日 1 回投与したラットの尿中における生物学的に重要な数種類の金属濃度を連日測定し、対照ラットと比較する。投与前及び投与 2 時間後の血漿試料についても特定の金属を測定し、対照ラットと比較する。

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩を水に溶解させ、重炭酸ナトリウムを加えて中和し、所定の濃度の溶液を調製した。

投与方法及び観察項目：各群 4 匹の雌の Wistar ラットに plerixafor 遊離塩基当量として 9.49 mg/kg/日を 1 日 1 回、14 日間皮下投与した。各投与 24 時間後に尿を採取し、分析まで-20℃ で保存した。1 匹当たりの 24 時間尿量は 8 ± 1 mL であった。尿試料のうち 1 mL は尿中 plerixafor の測定に使用し、残りは金属濃度の測定に使用した。Ni、Co、Mo、Zn、Fe、Mn、Cu、Ca 及び Mg は、酸性化及び希釈した尿試料について、分光計を用いて誘導結合プラズマ発光分析法により分析した。抽出及び調整した尿試料について、イソクラティック条件下での高速液体クロマトグラフィーにより plerixafor の分析を実施した。投与 5、8 及び 12 日目の plerixafor の投与前及び投与 2 時間後並びに 15 日目の最終投与 24 時間後、麻酔下で眼窩静脈叢から採血し、ヘパリン処理した試験管に採取して、金属濃度測定用の血漿を-78℃ で保存した。血漿試料は尿試料と同様に誘導結合プラズマ発光分析法により分析した。

結果：尿中 Mg には、plerixafor 投与の影響はないと考えられた（1 日目の値は低かった）。尿中 Zn 及び Cu は初回投与開始後のすべての時点で 4～8 倍に増加した。尿中 Mn 及び Fe の変化は不明瞭であった。尿中 Ca 排泄は、1 日目の対照値をわずかに上回る値から 14 日目の対照値を約 2 倍上回る値まで、次第に増加した。Ca 及び Mg を除くすべての金属排泄濃度（μmol/L）は、plerixafor の値を下回った。血漿中金属分析の結果において、Cu、Fe 及び Zn の濃度には、対照血漿中濃度と比較して全体的に見て明らかな変化はなかった。血漿中 Mg 及び Ca は、すべての採血時点において対照値より有意に低い値を示した。血漿中 Ca は平均で 31%減少し、Mg は平均で 55%減少した。

結論：本試験の結果により、尿中の金属排泄は plerixafor の連日投与により顕著に増加することが示された。Cu 及び Zn の尿中濃度が顕著に増加し、両金属の尿中排泄は plerixafor による結合に直接起因することが示唆された。投与動物における血漿中 Ca 及び Mg は、いずれも安定した減少を示した。尿中 Ca は投与期間を通して徐々に増加し、14 日目には 2 倍の増加がみられた。投与期間中、Mg の尿中

排泄は増加しなかった。尿中 Ca 濃度は plerixafor の濃度をかなり上回ったことから、plerixafor の Ca への結合は尿中排泄の増加に直接関与していないと考えられる。

3.1.2 ラットを用いた 2 週間（16 日間）反復皮下投与用量設定試験

試験番号 189DFR-tox [4.2.3.2-2]及び 189DFR-tk [4.2.3.2-3]、
[Module 2.6.7 表 2.6.7.6]（非 GLP 試験）

試験の目的：Plerixafor をラットに投与したときの毒性変化並びに過剰な薬理作用の有無を検討し、毒性標的器官の有無を確認する。4 週間反復投与毒性試験の用量設定根拠を提供する。ヒトにおける臨床試験をサポートする。

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩を[redacted]水溶液に溶解させ、生理食塩液で希釈して所定の濃度の溶液を調製した。

投与方法：各群雌雄各 4 匹からなる 5 群のラット（HanIbm: WIST）に plerixafor を 0（溶媒対照）、3、6、9 又は 12 mg/kg/日（用量は plerixafor 遊離塩基当量として表示）で 1 日 1 回、16 日間皮下投与した。溶媒対照群にはプラセボ溶液を投与した。

観察：動物の検査項目は、生死確認及び一般状態観察（毎日）、体重（毎日）、摂餌量（週 1 回）、直腸温（投与前及び 8 日目の投与後に定期的に測定）、血液学的検査（9 及び 12 mg/kg/日群では 9 日目、すべての生存例について 15 日目）、血液生化学的検査（2 日目に全例、9 日目に 9 及び 12 mg/kg/日群、15 日目にすべての生存例）、尿化学的検査及び尿検査（13 又は 14 日目）とした。血漿副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）、アルドステロン及びコルチコステロン値は、すべての生存例について 15 日目に測定した。血液試料を投与 1 又は 2 時間後に採取した。動物を 9 日間投与（12 mg/kg/日群）又は 16 日間投与（他のすべての群）の約 48 時間後に安楽殺し、剖検、器官重量、主要器官の病理組織学的検査及び骨髄塗抹標本検査を実施した。

TK 測定用の血液試料は、9 日目の投与 2、6、24 及び 48 時間後（12 mg/kg/日群のみ）並びに 16 日目の投与 1、3、6、24 及び 48 時間後に採取した。血漿試料は 2 日目の投与 1 時間後にも採取した。

結果及び結論：投与関連の死亡が 9 mg/kg/日群の雄 1/4 匹で 8 日目の投与 1 時間後に、12 mg/kg/日群の雄 1/4 匹及び雌 3/4 匹で 7 又は 8 日目の投与 1 時間後に、それぞれ認められた。死因は不明であった。重度の毒性がみられたため、12 mg/kg/日群の残りのラットは 9 日目の最終投与の約 48 時間後に安楽殺した。

Plerixafor 関連の一般状態の変化として、軽度から中等度の鎮静及び立毛（3 mg/kg/日以上）並びに腹臥位、努力性呼吸及び軽度の攣縮（6 mg/kg/日以上）が観察された。軽度の体重増加量減少が 9 mg/kg/日で認められた。直腸温低下が 9 mg/kg/日（1℃）及び 12 mg/kg/日（2℃）で、8 日目の投与 1 時間後にみられた。

ヘモグロビン減少が、9 mg/kg/日の雌では 3 週目、12 mg/kg/日の雌で 2 週目にみられ、赤血球減少が 9 mg/kg/日 の雌で 3 週目にみられた。軽度の網状赤血球数増加が、9 及び 12 mg/kg/日群の雌で 2 又は 3 週目にみられた。白血球数の軽度の増加が 9 及び 12 mg/kg/日群の雌雄で 2 週目に、軽度の血小板数増加が 9 mg/kg/日群の雌で 3 週目に認められた。

血中 Ca の有意な減少が 3 週目に雄（残ったすべての投与群）及び雌（6 及び 9 mg/kg/日群）でみられた。血中 Mg の減少が 3 週目に雄（6 及び 9 mg/kg/日群）及び雌（9 mg/kg/日群）で認められた。リンの増加が 12 mg/kg/日群の雄で 1 週目にみられた。Fe の増加が雄で 2 週目（9 及び 12 mg/kg/日群）及び 3 週目（3 及び 9 mg/kg/日群）に認められた。尿中 Ca の増加が雄（3、6 及び 9 mg/kg/日群）及び雌（9 mg/kg/日群）でみられた。

統計学的に有意な脾重量の増加が 6 及び 9 mg/kg/日群の雄で観察された。脾臓の腫大が 3 mg/kg/日群（雌のみ）、6 mg/kg/日群及び 9 mg/kg/日群の動物に認められた。血液様の液体が 12 mg/kg/日群の雌 1 匹で腹腔内にみられたが、これに関連する病理組織学的変化はなかった。

病理組織学的検査では、肝臓及び脾臓の用量依存的な髄外造血が 3 mg/kg/日以上の群で観察された。肝臓及び脾臓における巨核球の出現頻度増加がすべての投与群に認められ、用量依存性があった。また、3 mg/kg/日以上で、胸腺における組織球凝集及び局所的リンパ組織過形成、投与部位における複屈折性沈着物、皮膚炎、炎症、出血、壊死並びに筋肉の変性及び再生が認められた。

TK 測定では、急性期投与 1 時間後の曝露量（2 回目投与：9～33 µg/mL）が反復投与後の曝露量（9 回目又は 16 回目の投与：6～16 µg/mL）より高い値を示した。最高血漿中濃度は投与 1～2 時間後にみられたが、高用量群では用量比を下回った。用量の増加に伴う曝露量の増加が特に雄でみられ、その結果として 12 mg/kg/日では雌雄間で顕著な差が認められた。Plerixafor はラット血漿中から速やかに消失した。

要約すると、被験物質の薬理作用に関連する変化として、脾臓の重量増加と腫大、肝臓及び脾臓の髄外造血並びに白血球数の増加がみられた。被験物質関連の毒性として、死亡（9 mg/kg/日以上）、一般状態の変化（3 mg/kg/日以上）、体重増加量減少（9 mg/kg/日）、直腸温低下（9 及び 12 mg/kg/日）及び胸腺のリンパ球枯渇（9 mg/kg/日）が認められた。忍容性が良好な用量は確認できなかった。本試験の結果に基づき、その後の 4 週間反復投与毒性試験の用量を、約 0.6、1.8 及び 7.3 mg/kg/日（plerixafor 八塩酸塩として 1、3、12 mg/kg/日）に設定した。

3.1.3　ラットを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験

試験番号 428R-tox [4.2.3.2-4]、428R-tk [4.2.3.2-5]
[Module 2.6.7 表 2.6.7.7 A]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.3]

試験の目的：Plerixafor をラットに 4 週間連日皮下投与したときの全身毒性及び TK プロファイルを評価するとともに、反復投与による標的器官の有無を確認する。

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩をリン酸緩衝液に溶解させ、生理食塩液で希釈して所定の濃度の溶液を調製した。

投与方法：各群雌雄各 10 匹からなる 4 群のラット（HanIbm: WIST）に、plerixafor を 0（溶媒対照）、0.6、1.9 又は 7.6 mg/kg/日（用量は plerixafor 遊離塩基当量として表示 : plerixafor 八塩酸塩として 1、3、12 mg/kg/日）で 1 日 1 回、28/29 日間皮下投与した。対照群には溶媒を投与した。対照群及び高用量群については、別に 1 群雌雄各 6 匹の動物を割り付け、35 日間の休薬期間をおいて観察された毒性からの回復を検討するとともに、さらに 1 群雌雄各 4 匹のラットを用いて TK 検査を実施した。投与容量は 2 mL/kg とした。

観察：検査項目は、生死確認及び一般状態観察（毎日）、体重（毎日）、摂餌量（週 1 回）、眼科学的検査（試験前及び 23 日目）、直腸温（TK 群のラットについて 25 日目の投与前及び定期的に測定）、血液学的検査（試験前並びに 28/29、44 及び 58 日目）、血液生化学的検査（試験前並びに 3、28/29 及び 44 日目）並びに尿化学的検査及び尿検査（試験前並びに 28/29 及び 44 日目）とした。主試験の動物は 31 又は 32 日目に安楽殺した。回復性試験群の動物は 63 日目に安楽殺した。屠殺時の検査項目は、剖検、器官重量及び病理組織学的検査（対照群及び高用量群のすべての組織、低用量群、中用量群及び回復性試験群の全例については注射部位と肝臓のみ）とした。主試験群の全例並びに回復性試験群の対照群及び高用量群のラットについて、骨髄細胞を 400 個以上数えて分類した。

TK 検査用の血液試料は、1 時点当たり 1 群雌雄各 4 匹のラットから、単回投与及び 30 日間連続投与の投与前（0 時間）並びに投与 0.5、1、2、4、7 及び 24 時間後に採取した。

結果及び結論：本試験において死亡は認められなかった。一般状態の変化として、7.6 mg/kg/日群で腹臥位、攣縮及びラッセル音が認められた。これらの一般状態の変化は、投与後 15 分～1 時間にかけてみられた。体重及び摂餌量の軽微な減少が 7.6 mg/kg/日群で認められた。直腸温及び眼科学的検査では、被験物質関連の変化はみられなかった。

血液学的検査では、軽度の単球数増加が 1.9 mg/kg/日群の雄で示された。単球数、好中球数、好酸球数及び好塩基球数の増加が 7.6 mg/kg/日群の雌で軽度に、雄で中等度に認められた。リンパ球数の軽度から中等度の増加が 7.6 mg/kg/日群の雌雄にみられた。血液生化学的検査では、血清中 Mg が 7.6 mg/kg/日群の雌雄で正常範囲の下限を示した。尿検査では、Mg の増加が 7.6 mg/kg/日群の雌雄にみられ、尿中 Ca の増加も 1.9 mg/kg/日群の雄及び 7.6 mg/kg/日群の雌雄に認められた。

剖検時に、脾臓の絶対及び相対重量の増加が 1.9 mg/kg/日以上でみられ、肝臓の相対重量の増加が 7.6 mg/kg/日群の雌でみられた。病理組織学的検査では、肝臓における軽微から軽度の髄外造血の出現頻度がすべての投与群で増加した。4 週間の休薬期間後に回復がみられた。注射部位における皮下出血及び炎症の出現頻度増加が投与群で認められた。

TK 測定では、初回投与後と比較して高い曝露量（約 20%）が長期投与したラットで示された。最高血漿中濃度は投与後 0.5～1 時間にみられた。雌雄ともに用量の増加に比例して曝露量が増加した。全体に、平均 C_{max} は雌より雄がわずかに高かった。

要約すると、被験物質の薬理作用に関連する変化として、脾重量の増加、肝臓の髄外造血並びに好中球、リンパ球、単球、好酸球及び好塩基球といった白血球数の増加がみられた。被験物質関連の毒性変化として、一般状態の変化、尿中 Mg 排泄増加及び注射部位の局所刺激性変化が 7.6 mg/kg/日群で観察された。尿中 Ca 値における軽度の増加がみられたが、これらは可逆的で、臨床投与用量よりも高用量かつ臨床投与期間よりも長期間の投与で認められたものであることから、毒性学的意義の低い変化と考えられた。Plerixafor の 0.6 mg/kg/日における忍容性は良好であった。したがって、NOEL は 0.6 mg/kg/日、NOAEL は 1.9 mg/kg/日と判断された。

3.1.4 ラットを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験（追加試験）

試験番号 432R [4.2.3.2-6]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.7 B]及び[Module 2.6.7 表 2.6.7.3]

試験の目的：Plerixafor をラットに 4 週間連日皮下投与したときの全身毒性及び TK プロファイルを評価するとともに、反復投与による標的器官の有無を確認する。

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩をリン酸緩衝液に溶解させ、生理食塩液で希釈して所定の濃度の溶液を調製した。

投与方法：各群雌雄各 10 匹からなる 3 群のラット（HanIbm: WIST）に、plerixafor を 0（溶媒対照）、11.4 又は 15.2 mg/kg/日の用量（用量は plerixafor 遊離塩基当量として表示）で 1 日 1 回、31 又は 32 日間皮下投与した。対照群には溶媒を投与した。別の 1 群雌雄各 6 匹の動物について、28 日間の皮下投与後、49 日間の休薬期間をおき、観察された毒性の回復性を検討した。さらに 1 群雌雄各 4 匹のラットを用いて TK 測定を実施した。投与容量は全例とも 3 mL/kg とした。

観察：検査項目は、生死確認及び一般状態観察（毎日）、体重（毎日）、摂餌量（週 1 回）、眼科学的検査（試験前及び 24 日目）、直腸温（TK 群のラットのみについて 26 日目）、血液学的検査（試験前並びに 28/29、44、57 及び 71 日目）、血液生化学的検査（試験前並びに 3、28/29 及び 44 日目、TK 群について 29 日目に Ca 及び Mg 測定）並びに尿化学的検査及び尿検査（試験前並びに 28/29、44 及び 57 日目）とした。主試験の動物は 31 又は 32 日目に安楽殺した。回復性試験群の動物は 77 日目に安楽殺した。安楽殺時の検査項目は、剖検、器官重量及び病理組織学的検査（対照群及び高用量群のすべての組織、低用量群については肉眼病変及び標的器官）とした。主試験の対照群及び高用量群のラットについて、骨髄細胞を 400 個以上数えて分類した。主試験の対照群及び高用量群の動物については、精子形成段階の検査を実施した。主試験及び回復性試験の動物について、左脛骨及び右上腕骨の成長及び骨塩量を評価した。

TK 検査用の血液試料を、1 時点当たり 1 群雌雄各 4 匹のラットから、単回投与及び 29 日間連続投与の投与前（0 時間）並びに投与の 0.5、1、2、4、7 及び 24 時間後に採取した。

結果及び結論： 途中死亡が 15.2 mg/kg/日群（雄 13/20 匹、雌 10/20 匹）で認められた。途中死亡は試験の 1 週目から 4 週目にかけて認められた。これら動物の死因が特定できるような肉眼所見は認められなかった。

一般状態の変化として、腹臥位、努力性呼吸、過興奮性（11.4 及び 15.2 mg/kg/日）及び攣縮（15.2 mg/kg/日）が投与後 15 分～1 時間に観察された。一般状態の変化の出現頻度及び重症度には用量との関連が認められた。注射部位の壊死が対照群を含むすべての群にみられた。一部のラットでは壊死が剖検時まで継続して観察された。体重増加抑制及び摂餌量減少が 11.4 及び 15.2 mg/kg/日群で認められた。直腸温及び眼科学的検査では、被験物質関連の変化は認められなかった。

4 週間の plerixafor 投与後の血液学的検査では、軽度の用量に関連した網状赤血球数減少が示された。また、中等度から重度の用量に関連した総白血球数の増加がみられたが、これは循環血中におけるリンパ球、単球、好中球、好酸球及び好塩基球の絶対数が増加したことによるものであった。6 週間の休薬期間後には、すべての値は対照値と同程度であった。

血液生化学的検査では、4 週間の plerixafor 投与後に、投与群の雄で血清中 Mg の減少が示された。尿検査では、4 週間投与後に、尿中 Ca 及び Mg の増加が両投与群で認められた。

剖検時に、胸腺絶対重量減少が 11.4 mg/kg/日群の雄及び 15.2 mg/kg/日群の雌雄で、胸腺相対重量減少が 11.4 mg/kg/日群及び 15.2 mg/kg/日群の雄のみでみられた。脾臓絶対重量増加が 15.2 mg/kg/日群の雌で、脾臓相対重量の増加が 11.4 mg/kg/日群の雌雄でみられた。病理組織学的検査では、胸腺のリンパ組織萎縮、肝臓及び脾臓における髄外造血の出現頻度又は重症度の増加並びに注射部位の皮下炎症の出現頻度又は重症度の増加が 11.4 及び 15.2 mg/kg/日群の雌雄で示された。造血は副腎皮質においても投与群の雌で散見された。注射部位における皮下出血の出現頻度又は重症度の増加が 15.2 mg/kg/日群の雌雄及び 11.4 mg/kg/日群の雄で認められた。回復性試験群の動物では、すべての投与関連の病理組織学的所見において良好な回復が示された。

脛骨及び上腕骨の骨特殊検査では、用量関連性はあるが可逆的な骨塩量減少及び骨密度減少が認められた。

精子形成ステージ検査では変化はみられなかった。

TK 測定では、用量に比例した AUC 及び最高血漿中濃度の増加が 1 日目に雌雄で認められた。平均 C_{max} は雄が雌と比較してわずかに高かった。1 日目と 30 日目の 1 時間血漿中濃度を比較したところ、長期投与後にわずかな増加が認められた。

要約すると、plerixafor の 15.2 mg/kg/日をラットに反復皮下投与したところ、大部分の動物が死亡した。被験物質の薬理作用に関連する変化として、可逆的な白血球数増加、脾重量の増加、肝臓及び脾臓の髄外造血の出現頻度又は重症度の増加がみられた。11.4 及び 15.2 mg/kg/日では、投与に伴って胸

腺のリンパ組織萎縮、並びに注射部位における皮下炎症及び出血の出現頻度又は重症度の増加が観察された。脛骨及び上腕骨における骨塩含量及び骨密度の減少は、血中 Ca 及び Mg 変化を介した二次的影響に関連する可能性、また、体重及び摂餌量に対する影響に起因する可能性があると考えられた。

3.1.5 イヌを用いた皮下投与による用量設定試験

試験番号 [redacted]/SPM030/0883 [4.2.3.2-9]、 [Module 2.6.7 表 2.6.7.6] （非 GLP 試験）

試験の目的:Plerixafor を雌雄各 1 匹のイヌに連日皮下投与したときの毒性変化を評価するとともに、この動物種における 4 週間反復投与毒性試験の用量設定根拠を提供する。

被験物質の調製：被験物質の調製方法については報告書に記載がない。

投与方法：雌雄各 1 匹のイヌに plerixafor を 1 mL/kg の容量で皮下投与した。投与量は、1～3 日目が 4.0 mg/kg/日、8 日目が 6.0 mg/kg/日、16 日目が 5.0 mg/kg/日であった。報告書には、これらの投与量が遊離塩基当量に基づくか塩型に基づくかという記載はなかった。検査項目は摂餌量、体重、一般状態の変化、血圧及び脈拍数とした。直腸温測定及び心電図検査を 1 日目のみ実施した。

結果及び結論：4.0 mg/kg/日群では投与関連の一般状態の変化は認められなかった。直腸温は 0.5 時間後にはわずかに上昇がみられ、2時間後にはベースラインよりわずかに低かった。試験 1 日目に 4 mg/kg/日群で実施した心電図検査では、異常は示されなかった。5 mg/kg/日群では活動性低下、流涎、運動失調、円背位、両前肢の振戦、虚脱、吐き気、嘔吐及び過剰飲水が観察された。投与 1 時間後には回復がみられた。6 mg/kg/日群における一般状態変化は、5 mg/kg/日群でみられた変化に加えて嘔吐、耳の冷触感並びに歯肉及び耳の褪色が認められた。投与の約 2～3 時間後に回復がみられた。すべての用量でごく軽度の血圧低下及び脈拍数増加が認められた。

3.1.6 イヌを用いた 2 週間反復皮下投与用量設定試験

試験番号 189DFD-tox [4.2.3.2-7]、189DFD-tk [4.2.3.2-8]
[Module 2.6.7 表 2.6.7.6]（非 GLP 試験）

試験の目的：Plerixafor の毒性変化並びに過剰な薬理作用の有無を調べ、標的器官の有無を確認し、今後の毒性試験における適切な用量設定根拠を提供する。plerixafor 皮下投与後の TK プロファイルを検討する。臨床試験をサポートする。

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩を[redacted]水溶液に溶解させ、生理食塩液で希釈して所定の濃度の溶液を調製した。

投与方法:各群雌雄各 1 匹からなる 4 群のビーグル犬に、plerixafor を 0（溶媒対照）、2、4 又は 6 mg/kg/日（用量は plerixafor 塩基当量で表示）で 1 日 1 回、15 日間皮下投与した。溶媒対照群にはプラセボ溶液を投与した。投与容量は 1 mL/kg とした。

観察：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。直腸温は 1 及び 15 日目の投与 1、2、4、6 及び 24 時間後に測定した。心電図検査は、1 日目の投与前及び投与 1 時間後並びに 8 及び 15 日目の投与前、投与 1 及び 24 時間後に行った。血液学的検査及び血液生化学的検査は、試験前、3 日目（血液生化学的検査のみ）及び 15 日目に実施した。また、1 及び 15 日目に TK 測定用に連続採取した血液試料について、血漿中 Ca 及び Mg を測定した。血漿中ホルモン値（ACTH、アルドステロン及びコルチゾール）を試験前、3 日目及び 15 日目に測定した。TK 測定用の血液試料を 1、10 及び 15 日目の投与前並びに投与 0.5、1、2、4、7、24 時間後に、並びに 15 日目（高用量群のみ 10 日目）の投与 48 時間後に採取した。10 日間（高用量群のみ）又は 15 日間（他の全群）投与の約 48 時間後に動物を安楽殺し、剖検、器官重量、病理組織学的検査及び骨髄塗抹標本検査を実施した。6 mg/kg/日群では、毒性がみられたため、上記の臨床検査及び TK 検査はいずれも 10 又は 11 日目に実施し、生存例はすべて 12 日目に途中安楽殺して剖検した。剖検時に脳脊髄液（CSF）の試料を採取して、Ca、Mg 及び plerixafor 未変化体の濃度を測定した。

結果及び結論：6 mg/kg/日群では 2 匹とも重度の一般状態の変化がみられたため、10 日間投与後に途中安楽殺した。安楽殺前にみられた一般状態の変化は、無関心、運動失調、平衡障害、糞排泄増加（雌のみ）、下痢、嘔吐、散瞳、異常姿勢、眼瞼下垂、横臥位、流涎、鎮静、振戦、攣縮、四肢衰弱、口腔粘膜褪色及び眼の瞬膜突出であった。また、下痢及び嘔吐は 2 及び 4 mg/kg/日群でみられたのに対し、運動失調、平衡障害、散瞳、流涎、鎮静及び振戦 は 4 mg/kg/日群で観察された。投与局所に不耐性の徴候が主として対照群にみられ、6 mg/kg/日群ではより軽度であり、2 及び 4 mg/kg/日群では散発的にみられたのみであった。

体重増加量減少が 4 mg/kg/日群（雌のみ）にみられ、摂餌量減少とそれに伴う体重減少が 6 mg/kg/日群で認められた。一過性の体温低下が 6 mg/kg/日群（雌のみ）で初回及び反復投与後 1～2 時間以内に観察された。

心電図検査では、2 mg/kg/日以上の群で一過性の心拍数増加（約 50～100%）が投与 1 時間後にみられた。

軽度のリンパ球数増加が 2 mg/kg/日群の雄並びに 4 及び 6 mg/kg/日群の雌で観察された。軽度の血小板数増加が 6 mg/kg/日群の雌でみられた。骨髄塗抹標本検査では、投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。連続採取した血漿試料中の Mg 値において、長期投与後に散発的な軽度の減少が雄（2 及び 4 mg/kg/日）及び雌（4 及び 6 mg/kg/日）にみられたが、投与後 24 時間以内に投与前値に戻った。CSF 中 Ca 値はすべての投与群で 2～3 倍に増加した。

心臓及び腎臓の絶対重量並びに心臓及び腎臓の脳重量比の増加が 4 mg/kg/日群の雄並びに 2 及び 4 mg/kg/日群の雌にみられたが、関連する組織学的変化は認められなかった。肝臓における髄外造血の軽微な増加がすべての投与群でみられた。6 mg/kg/日群の雌では、心筋血管の中等度のフィブリノイド壊死がみられ、隣接する心筋の軽微な二次的壊死及び線維化が観察された。クレアチンキナーゼ及びそのアイソザイムである CKMB の変化には、この心臓所見との関連はほとんど認められなかった。

2 mg/kg/日以上の群で血漿中アルドステロンの増加、6 mg/kg/日群で血漿中 ACTH 及びコルチゾールの増加が認められた。

$AUC_{0\text{-}24}$及び C_{max}値については、用量比例性が推定された。血漿中における plerixafor の軽度の蓄積（蓄積係数：1.2～2.7）が投与 15 日目（6 mg/kg/日群では投与 10 日目）に認められた。最終投与 48 時間後の CSF 中 plerixafor 濃度の群平均値は、定量限界の 0.007 μg/mL を下回った。

要約すると、plerixafor の忍容性は、検討したいずれの用量においても良好ではなかった。中等度から重度の下痢及び一過性の心拍数増加が 2 mg/kg/日群でも認められたが、より高い用量での下痢の出現頻度はより低かった。4 及び 6 mg/kg/日群で認められた下痢及び多くの一般状態変化は、神経系への影響を示唆するものであった。6 mg/kg/日群の雌で心臓病変がみられたことから、心臓が標的器官である可能性が示唆された。投与群の各 1 例にみられた軽度のリンパ球数増加並びに全例にみられた軽微な髄外造血は、本薬の薬理作用に関連している可能性がある。2 mg/kg/日を 15 回投与後の平均 C_{max}は 13.8 μg/mL、平均 $AUC_{0\text{-}24}$は 59.8 μg·h/mL であった。

3.1.7 イヌを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験及び 2 週間回復性試験

試験番号 [redacted]/SPM028/0891-tox [4.2.3.2-10]、[redacted]/SPM028/0891-tk [4.2.3.2-11] [Module 2.6.7 表 2.6.7.7 D]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.3]

試験の目的：Plerixafor をビーグル犬に 4 週間連日皮下投与したときの毒性を検討し、その後 2 週間の休薬期間における回復性を評価する。

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩をリン酸緩衝液に溶解させ、生理食塩液で希釈して所定の濃度の溶液を調製した。

投与方法：各群雌雄各 3 匹からなる 4 群のビーグル犬に、plerixafor を 0（溶媒対照）、0.25、1 又は 4 mg/kg/日（用量は plerixafor 遊離塩基当量として示す）で、30 日間連日皮下投与した。溶媒対照群にはプラセボ溶液を投与した。主試験群に加えて、対照群及び高用量群については 1 群雌雄各 2 匹のイヌを割り付け、14 日間以上の休薬期間をおいて、観察された毒性の回復を検討した。投与容量は 1 mL/kg とした。

観察：動物の生死確認及び一般状態観察を毎日行い、体重（週 1 回）、摂餌量（毎日）及び摂水量（試験前 2 回及び週 1 回）を測定した。神経学的検査（試験前並びに 1 及び 4 週目）、眼科学的検査（試験前及び 4 週目）及び詳細な身体検査（試験前及び計画剖検前）を実施した。心電図検査及び直接血圧測定を全例について 1 日目並びに 4 週目の投与 0.5、2 及び 4 時間後に行い、血圧は休薬期間中にも 1 回測定した。直腸温を 1 日目及び 4 週目に測定した（投与前並びに投与 0.5 及び 2 時間後）。血液学的検査用及び血液生化学的検査用の血液試料及び尿試料を試験前並びに 4 及び 6 週目（休薬期間）に採取した。主試験の動物を 4 週目（30 日目）、及び回復性試験群の動物を 6 週目（44 又は 45 日目）

に安楽殺した後、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。骨髄細胞分類を対照群及び高用量群のすべての主試験動物及び回復性試験動物について実施した。

TK 検査用の血液試料を 1 群雌雄各 3 匹の動物について 2 日目の投与前（0 時間）並びに投与 0.5、1、2、4、7 及び 24 時間後に採取し、2 週目（投与前）及び 4 週目にも採取した。脳、腎臓及び CSF の試料を主試験動物のそれぞれから剖検時（最終投与の約 24 時間後）に採取し、plerixafor の濃度測定用とした（ただし脳及び腎臓組織における plerixafor 濃度は測定しなかった）。

結果及び結論：試験期間中、死亡は認められなかった。4 mg/kg/日群では散発的な一般状態の変化として、活動性低下が雄 2 匹で投与 1 週目に、削痩が雌 1 匹に、下痢が多数例にみられた。これらの変化は、2 週間の休薬期間後には認められなかった。注射部位の肥厚が 4 mg/kg/日群の全例及び他の群の数例で観察され、1 mg/kg/日以上の投与で出現頻度が増加した。この変化は休薬期間後には認められなかった。体重増加量減少がすべての plerixafor 投与群にみられたが、最も顕著にみられたのは 4 mg/kg/日群の雌であった。摂餌量減少が 1 mg/kg/日群の雌及び 4 mg/kg/日群の雌雄に認められた。摂餌量及び体重増加量は、投与終了後に回復した。

4 mg/kg/日群の雄では、対照群と比較して尿量の増加及び尿比重低下が認められた。

1 及び 22 日目の心電図検査では、投与の影響と考えられる異常は認められなかった。4 mg/kg/日群の心拍数及び脈拍数は、投与前と比較して投与後の方がわずかに高かった。心拍数増加を反映して、QT 間隔は全体に 4 mg/kg/日群が対照群より短縮した。1 mg/kg/日群の脈拍数は、1 日目のみにおいてわずかに高かった。投与終了後には脈拍数の変化は認められなかった。

体温、摂水量、身体検査、神経学的検査及び眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、骨髄検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査では、被験物質関連の変化はみられなかった。

C_{max} は用量の増加に伴って増加し、その増加は用量比を上回っていた。4 mg/kg/日群の用量補正した C_{max} 及び AUC_{0-24} は雌雄間で差があり、雌の平均値は雄より高かった。トラフ濃度（2 及び 30 日目の 24 時間値並びに 2 週目の投与前濃度）は用量の増加に伴って減少し、やはり雌の方が高かった。CSF 中 plerixafor 濃度は認められないか又は極めて低かった。4 mg/kg/日群の最終投与 24 時間後における最高濃度は約 0.015 µg/mL であった。

要約すると、plerixafor をビーグル犬に投与したところ、胃腸障害、体重増加量及び摂餌量減少、頻脈及び注射部位の局所反応が観察された。これらの変化は 4 mg/kg/日で明らかにみられ、1 mg/kg/日でもより軽度に認められた。一般状態、摂餌量、並びに心拍数の変化に基づくと、本試験における無影響量（NOEL）は 0.25 mg/kg/日と判断された。

3.2　1日2回反復投与毒性試験

3.2.1　ラットを用いた1日2回皮下投与用量設定毒性試験

試験番号 [redacted] 89342 [4.2.3.2-12]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.6]（非 GLP 試験）

試験の目的：Plerixafor をラットに1日2回、最長7日間皮下投与したときの毒性を評価するとともに、28日間反復投与毒性試験における用量設定の根拠を提供する。

被験物質の調製：Plerixafor を[redacted]に溶解させ、[redacted]及び[redacted]で pH を 6.0～7.5 に調節した後、注射用水で希釈して保存用溶液を調製し、さらに生理食塩液で希釈して所定の濃度の投与液を調製した。

投与方法：各群雌雄各2匹からなる5群のラット（Crl: WI (Gix/BRL/Han) IGS BR）に、plerixafor を1.5、6、12、24及び50 mg/kg BID（3、12、24、48及び100 mg/kg/日）で1日2回（約7時間の間隔）、5又は7日間皮下投与した。50 mg/kg の単回投与後に死亡及び重度の毒性がみられ、12 mg/kg BID 群では毒性が認められなかったことから、6 mg/kg BID で5日間投与したラットに 36 mg/kg の単回投与を行った。投与容量は 2 mL/kg とした。

観察：生死確認及び一般状態観察を1日2回以上、毎日行った。投与期間終了時に動物を安楽殺して血液学的検査及び血液生化学的検査用の血液を採取したが、剖検は実施しなかった。

結果及び結論：36及び50 mg/kg で、単回投与後2時間以内に死亡が認められた。両投与群でみられた一般状態の変化は、衰弱、活動性低下、横臥位、協調運動障害、浅呼吸及び不規則呼吸、皮膚蒼白、冷触感、異常発声、非持続性痙攣並びに振戦であり、これらの変化は投与後2～3時間以内に観察された。

24 mg/kg BID 群で雌1匹が7日目に死亡した。この用量における一般状態の変化として、活動性低下、冷触感、非持続性痙攣、協調運動障害及び振戦 が1匹で5日目にみられ、7日目に全例で観察された。

12 mg/kg BID 以下の用量では、死亡及び一般状態の変化は認められなかった。血液学的及び血液生化学的パラメータには、投与関連の変化はみられなかった。本試験の結果に基づき、28日間反復投与毒性試験の用量として 0.3、0.6、2及び12 mg/kg BID を設定した。

3.2.2　ラットを用いた14日間の投与スケジュール依存性（1日1回と1日2回の比較）試験

試験番号 [redacted] 1663 [4.2.3.2-13]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.6]（非 GLP 試験）

試験の目的：Plerixafor を雌ラットに1日1回又は1日2回、14日間連続皮下投与したときの投与スケジュール依存性を評価する。

被験物質の調製：Plerixafor を生理食塩液に溶解させ、所定の濃度の溶液を調製した。

投与方法:各群雌 5 匹からなる 4 群の Sprague Dawley ラットに、plerixafor を 0（溶媒対照）、4（2 mg/kg BID）、12（QD）又は 12（6 mg/kg BID）mg/kg/日の総 1 日用量で、1 日 1 回又は 1 日 2 回（約 7 時間の間隔）、14 日間皮下投与した。投与容量は 2 mL/kg とした。

観察：すべての動物の生死確認及び一般状態観察を 1 日 1 回以上、毎日行った。また、各投与日の一般状態観察は、投与前並びに投与 0.5、1、2 及び 4 時間後に実施した。体重は週 1 回測定した。血漿中 plerixafor 濃度測定用の血液試料を投与群の全例から 14 日目の投与 1 時間後（BID 投与群については初回投与後）に採取した。15 日目に全例を安楽殺した。

結果及び結論：試験中、途中死亡は認められなかった。Plerixafor に関連した一般状態の変化及び体重の変化はみられなかった。

3.2.3 ラットを用いた 1 日 2 回 28 日間反復皮下投与毒性試験及び 14 日間回復性試験

試験番号 [redacted] 89289 [4.2.3.2-14]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.7 C]及び[Module 2.6.7 表 2.6.7.3]

試験の目的：Plerixafor をラットに 1 日 2 回（約 7 時間間隔）、28 日間連日皮下投与したときの毒性を検討するとともに、14 日間の休薬期間における変化の回復性を評価する。

被験物質の調製：Plerixafor を[redacted]に溶解させ、[redacted]及び[redacted]により pH を 6.0～7.0 に調節した後、注射用水で希釈して保存用溶液を調製し、さらに生理食塩液で希釈して所定の濃度の投与液を調製した。

投与方法：各群雌雄 10 匹からなる 5 群のラット（Crl: WI (Gix/BRL/Han) IGS BR）に、plerixafor を 0（溶媒対照）、0.3、0.6、2 又は 12 mg/kg BID（0、0.6、1.2、4 又は 24 mg/kg/日）で 1 日 2 回（約 7 時間の間隔）、28 日間皮下投与した。別の 1 群雌雄各 5 匹のラットについて 14 日間の休薬期間をおき、毒性の回復性を調べた。さらに 0.3 及び 12 mg/kg BID 群には、TK 解析用として別の 1 群雌雄各 21 匹の動物をおいた。投与容量は 2 mL/kg とした。

観察：主試験動物及び回復性試験動物について、生死確認及び一般状態観察（1 日 2 回以上）、体重測定（週 1 回）、摂餌量（週 1 回）並びに眼科学的検査（試験前並びに 4 及び 6 週目）を実施した。血液学的検査及び血液生化学的検査用の血液試料並びに尿検査用の尿試料を投与期間終了時（29 日目）及び休薬期間終了時（43 日目）に採取した。主試験動物は 29 日目に、及び回復性試験動物は 43 日目に安楽殺した後、剖検、器官重量及び病理組織学的検査を実施した。骨髄細胞分類を投与期間終了時及び休薬期間終了時に安楽殺した対照群及び 12 mg/kg BID 群の全動物について実施した。

TK 検査用の血液試料を 0.3 及び 12 mg/kg BID 群の 1 群雌雄各 3 匹の TK 用ラットから、1 日目の午前中投与 0.5、1、2、4 及び 7 時間後並びに 1 及び 28 日目の午後投与 0.5、1、2、4、5、6、12、17 及び 24 時間後（28 日目のみ）に採取した。一部の TK 用ラットについては、14 及び 21 日目の投与前（午前中）にも採血を行った。

結果及び結論：試験中、被験物質関連の死亡は認められなかった。12 mg/kg BID（24 mg/kg/日）群の雄 2 匹で、17 及び 23 日目に呼吸数増加、異常呼吸音及び異常発声増加が観察された。軽度の体重減少及びそれに伴う軽度（統計学的有意差のない）摂餌量減少が 12 mg/kg BID 群の雄で投与期間終了時に認められた。被験物質に関連した眼の変化はみられなかった。

29 日目に、2 及び 12 mg/kg BID 群で、総白血球数の増加（主として絶対分節核好中球数の増加による）が認められた。これらの値は休薬期間終了時には群間で同程度であったが、例外として 12 mg/kg BID 群の雌雄では軽度の白血球数増加（主として分節核好中球数及び好酸球数の増加による）が持続して認められた。

29 日目に血清 ALT の増加及び血清 Mg の軽度の減少が 12 mg/kg BID 群の雄で認められた。軽度の尿中 Ca 排泄増加が 2 及び 12 mg/kg BID 群の雄並びに 12 mg/kg BID 群の雌でみられた。これらの変化は 14 日間の休薬期間後に対照値に回復した。

投与期間終了時に実施した 12 mg/kg BID 群の骨髄塗抹標本検査では、毒性学的意義のある所見は認められなかった。

脾重量（雌雄）及び腎重量（雄）の増加が、投与期間終了時に 12 mg/kg BID 群でみられた。2 及び 12 mg/kg BID 群の雄では、胸腺重量（相対及び絶対）減少及び肝重量（相対）増加も認められた。これらの変化に伴う病理組織学的変化はみられなかった。休薬期間終了時には器官重量の差は認められなかった。

剖検時に、12 mg/kg BID 群で注射部位暗色領域の出現頻度がわずかに増加した。この肉眼所見に伴う病理組織学的所見として、皮下の炎症及び出血が認められた。これらの所見は休薬期間終了時にはみられなかった。他には被験物質に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

TK 測定では、いずれのパラメータにおいても雌雄間で明らかな差はみられず、t_{max} は用量間及び投与期間の間で明らかな差は認められなかった。平均 C_{max} 及び推定 AUC は、plerixafor の用量増加に伴って増加した。連続 28 日間反復投与後の C_{max} 及び AUC は全体に単回投与後と比較して増加したが、明らかな傾向は認められなかった。28 日目には半減期の延長（1 日目の 3.5 時間と比較して 28 日目は 7.8 時間）がみられた。12 mg/kg BID 群の雄における定常状態の plerixafor 血漿中濃度は、14 日目に得られた。

要約すると、病理組織学的所見がみられなかったことから、少数の一般状態の変化、尿検査、血液学的検査及び血液生化学的検査値の変化並びに投与期間終了時における器官重量の変化並びに剖検時の肉眼的所見は、毒性学的意義はないと考えられた。2 及び 12 mg/kg BID 群でみられた plerixafor による白血球数の可逆的な増加は、薬理作用によるものと考えられた。軽度の注射部位病変を除いて、NOAEL は 12 mg/kg BID であり、NOEL は 0.3 mg/kg BID であった。

3.2.4 イヌを用いた 1 日 2 回反復皮下投与用量設定毒性試験

試験番号 [redacted] 89349 [4.2.3.2-15]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.6]（非 GLP 試験）

試験の目的: Plerixafor をイヌに 1 日 2 回､最長 7 日間皮下投与したときの毒性を検討するとともに、1 日 2 回 28 日間反復投与毒性試験の用量設定根拠を提供する。

被験物質の調製： Plerixafor を[redacted]に溶解させ、[redacted]及び[redacted]により pH を 6.0～7.5 に調節した後、滅菌水で希釈して保存用溶液を調製し、さらに生理食塩液で希釈して所定の濃度の投与液を調製した。

投与方法： 各群雌雄各 1 匹からなる 2 群のビーグル犬に、plerixafor を 6 及び 9 mg/kg BID で 1 日 2 回（約 7 時間間隔）、7 日間皮下投与した。投与容量は 1 mL/kg とした。

観察： 生死確認を 1 日 2 回以上、詳細な身体検査を入荷時及びその後週 1 回実施し、一般状態観察を各投与 0.5、1 及び 2 時間後に行った。用量算出目的の体重測定を投与前に 1 回実施した。血液学的検査及び血液生化学的検査用の血液試料を試験前及び最終投与後に採取した。安楽死後、剖検を実施した。

結果及び結論： 9 mg/kg BID 群の雌雄が初回投与後の重度かつ急性の一般状態の変化により、死亡又は安楽殺に至った。これらのイヌでは、投与後約 20～30 分において、一般状態の変化として重度の流涎、振戦／痙攣、協調運動障害、活動性低下、呼吸困難、心拍数増加が観察された。

6 mg/kg BID 群では死亡はみられなかったが、協調運動障害、後肢使用制限、振戦、活動性低下が、5 日目以降に遅発性に認められた。これらの一般状態の変化は投与約 30 分後にみられたが、投与 1 時間後の観察では認められなかった。

被験物質の薬理作用に基づく分節核好中球及びリンパ球の増加による白血球数の増加が 6 mg/kg BID 群で 7 日間の投与後に認められた。白血球数増加は、9 mg/kg BID 群でも死亡直前に観察された。本試験の結果に基づき、28 日間反復投与毒性試験の高用量は、6 mg/kg BID 以下とした。

3.2.5 イヌを用いた 1 日 2 回 28 日間反復皮下投与毒性試験及び 14 日間回復性試験

試験番号 [redacted] 89290 [4.2.3.2-16]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.7 E]及び[Module 2.6.7 表 2.6.7.3]

試験の目的： Plerixafor をイヌに 1 日 2 回（7 時間の間隔）、28 日間皮下投与したときの毒性を検討するとともに、14 日間の休薬期間における回復性を評価する。

被験物質の調製： Plerixafor を[redacted]に溶解させ、[redacted]及び[redacted]により pH を 6.0～7.5 に調節した後、注射用水で希釈して保存用溶液を調製し、さらに生理食塩液で希釈して所定の濃度の投与液を調製した。

投与方法： 各群雌雄各 3 匹からなる 4 群のビーグル犬に、plerixafor を 0（溶媒対照）、0.15、0.75 又は 4 mg/kg BID で 1 日 2 回（約 7 時間間隔）、28 日間皮下投与した。主試験の動物に加えて、対照

群及び高用量群には別の 1 群雌雄各 1 匹を割り付け、14 日間の休薬期間における毒性の回復を検討した。投与容量は 1 mL/kg とした。

観察：投与開始 1 週間前から、全例について生死確認及び詳細観察を含む一般状態観察を 1 日 2 回以上実施した。体重を週 1 回、摂餌量を毎日測定した。眼科学的検査を全例について投与開始前に 1 回、4 週目及び休薬期間中に実施した。血液学的検査及び血液生化学的検査用の血液試料並びに尿検査用の尿試料を投与開始前に 1 回、4 週目及び休薬期間中に採取した。心電図検査を投与開始前に 1 回、投与期間の 1 及び 4 週目（午前の被験物質投与後約 0.5～1 時間）並びに休薬期間終了時に実施した。安楽死後、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

TK 検査用の血液試料は、第 2、3 及び 4 群の 1 群雌雄各 3 匹のイヌから、1 日目の午前投与 0.5、1、2、4 及び 7 時間後並びに午後投与 0.5、1、2、4、5、6、12 及び 17 時間後、また 28 日目の午後投与 0.5、1、2、4、5、6、12、17 及び 24 時間後に採取した。

結果及び結論：試験中、死亡は認められなかった。投与関連の一般状態の変化として、軽度の流涎が 1 日目に 4 mg/kg BID 群（雄 1 匹、雌 2 匹）で、削痩が 8～15 日目に 0.75 mg/kg BID 群（雌雄各 1 匹）で観察された。試験の第 1 週に、摂餌量減少及び軽度かつ一過性の平均体重増加量減少が 0.75 mg/kg BID 群（雌）及び 4 mg/kg BID 群（雌雄）で認められた。0.75 mg/kg BID 群の雌 1 匹には、2 週目に補給飼料を与えた。

Plerixafor に関連した眼科学的変化及び心電図変化は認められなかった。

4 週目に、被験物質の薬理作用に基づく総白血球数増加（主として分節核好中球数が増加）が 0.75 mg/kg BID 群（雄）及び 4 mg/kg BID 群（雌雄）で認められた。血液生化学的検査では、血清中 Mg 濃度減少が 0.75 mg/kg BID 群（雌）及び 4 mg/kg BID 群（雌雄）でみられ、ごく軽度のグロブリン濃度減少及びアルブミン／グロブリン比の軽度上昇が 0.15 mg/kg BID 以上の群（雌）で認められた。尿中 Ca 濃度増加が 0.75 mg/kg BID 以上の群（雌雄）でみられた。休薬期間終了時の血液学的検査値、血液生化学的検査値及び尿検査値は、対照群と同程度であった。

骨髄検査、器官重量、剖検及び病理組織学的検査では、毒性学的意義のある所見は認められなかった。

いずれの TK パラメータにおいても雌雄間で明らかな差はみられず、t_{max} は用量間及び投与期間の間で明らかな差は認められなかった。平均 C_{max} 値及び推定 AUC 値は、plerixafor の用量増加に伴って増加した。連続 28 日間反復投与後の C_{max} 及び AUC は 1 日目と比較して全体に増加したが、4 mg/kg BID では C_{max} が約 30～40%減少した。4 mg/kg BID 群では、plerixafor の血漿中濃度が 14 日目に定常状態に達した。

要約すると、plerixafor をビーグル犬に 1 日 2 回、28 日間連日皮下投与したところ、0.75 mg/kg BID 以上の用量で軽度な一般状態の変化並びに尿検査、血液学的検査及び血液生化学的検査値における軽

度の変化が観察された。いずれの群においても、毒性学的意義のある組織学的変化は認められなかった。いずれの変化も 14 日間の休薬期間終了時に回復がみられた。NOAEL は 4 mg/kg BID であった。

4 遺伝毒性試験

4.1 In vitro 試験

4.1.1 ネズミチフス菌を用いる変異原性試験

試験番号 Mut.Bakt.15/[redacted][4.2.3.3.1-1]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.8 A]

試験の目的：Plerixafor の変異原性の有無を、細菌を用いる in vitro 変異原性試験（ネズミチフス菌：TA1535、TA97a、TA98、TA100 及び TA102）において、哺乳類代謝活性化系（ラット肝 S9 mix）の存在下又は非存在下で評価する

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩を蒸留水により溶解・希釈し、1 アッセイでは 5、25、127、633 及び 3165 µg/plate の plerixafor 遊離塩基当量、他の 3 アッセイでは 198、396、791、1582 及び 3165 µg/plate の plerixafor 遊離塩基当量の各濃度に調製した。

方法：本試験においては、細菌、被験物質溶液、及びリン酸緩衝液又はラット肝 S9 mix のいずれかをプレートに播種し、37°C のインキュベーター内で暗所においた。栄養要求性細菌の増殖は培地中のヒスチジンが不足することにより制限され、背景の菌の生育叢（back-ground lawn）を形成する。したがって、2～4 日間のインキュベーション後に出現するコロニーはすべて変異細胞からなる。溶媒処置対照プレート上のコロニー数を被験物質処理プレート上のコロニー数と比較することにより、遺伝子突然変異誘発能を評価した。

結果及び結論：Plerixafor は、検討したいずれの菌株においても、復帰変異コロニー数を増加させなかった。Plerixafor による生育阻害作用が TA100 及び TA102（S9 の存在下及び非存在下で 3165 µg/プレート）、TA1535 及び TA98（S9 の非存在下で 3165 µg/プレート）並びに TA98 及び TA100（S9 の非存在下で 1582 µg/プレート）に認められた。

以上、plerixafor は Ames 試験で変異原性を示さなかった。

4.1.2 チャイニーズハムスターV79 細胞を用いる染色体異常試験

試験番号 Z48 [4.2.3.3.1-2]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.8 B]

試験の目的： Plerixafor の in vitro 染色体異常誘発能を検討するため、チャイニーズハムスターV79 細胞における染色体異常出現頻度に対する被験物質の影響をラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で評価する。

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩を蒸留水により溶解・希釈し、濃度として 158（S9 非存在下のみ）、633、1899 及び 3165 µg/mL の plerixafor 遊離塩基当量を調製した。S9 非存在下で 3 アッセイ（20 時間処理）を、S9 存在下で 2 アッセイ（3 時間処理）を実施した。

方法：約 500×10^3 個の細胞を含む培養液をプレートに播種した。播種後 1 日目に、これらの細胞を培養液又は S9 mix で希釈した被験物質により 3 時間処理した（37°C 及び 5% CO_2 の条件下）。プレートを一度 PBS で洗い、培養液を加えてさらに約 17 時間インキュベートした。他の実験では細胞を約 20 時間処理した（回復期間なし）。インキュベーション終了の 2 時間前に、コルセミドをプレートに添加した。その後、培養液を試験管に移し、細胞をトリプシン処理して対応する試験管に移した。低張処理してスライド標本を作製した。スライドをギムザ染色してマウントし、染色体異常を調べた。プレート 1 枚当たり 100 個の分裂像を解析し、以下の染色体異常を記録した：染色分体切断、同位切断、環状染色体及び中間部欠失。溶媒対照実験を S9 mix の存在下及び非存在下で実施した。溶媒対照プレートを被験物質と比較するための参照ポイントとした。

1 つのプレートにつき 1000 個の細胞（濃度当たり 2000～4000 個の細胞）を数えて分裂指数を算出し、そのうち分裂中期の数を記録した。分裂指数は関連する対照値に対する比率（%）で示した。

結果及び結論：最初のアッセイにおいて、S9 非存在下の 3165 µg/mL の濃度で、染色体異常を有する細胞の出現頻度増加がみられた（異常細胞は 14.1%）。しかし、その後の 2 アッセイでは、この活性は確認されなかった。S9 存在下では、検討した濃度において染色体異常出現頻度の増加は認められなかった（異常細胞は 1.5%以下）。

以上、plerixafor は V79 細胞を用いたこの染色体異常試験において、染色体異常誘発能を示さなかった。

4.2 In vivo 試験

4.2.1 ラット小核試験

試験番号 [redacted] 960379 [4.2.3.3.2-1]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.9 A]

試験の目的:ラットを用いて骨髄細胞中の小核を有する未成熟赤血球を測定することにより、plerixafor の遺伝毒性を検討する。

被験物質の調製：Plerixafor 注射液 20 mg/mL を生理食塩液で希釈し、所定の濃度の投与液を調製した。

投与方法:本試験は 5 群で実施した。各群雌雄各 5 匹からなる 4 群のラット（Sprague-Dawley Hsd:SD）に、plerixafor を 0（溶媒対照）、6.25、12.5 又は 25 mg/kg で単回皮下投与し、1 群雌雄各 3 匹からなる第 5 群（陽性対照）にはシクロホスファミド（20 mg/kg）を単回強制経口投与した。投与容量は plerixafor が 4 mL/kg、シクロホスファミドは 10 mL/kg とした。

試験処置：ラットを投与後 24 時間（すべての群）及び 48 時間（溶媒対照群及び plerixafor 25 mg/kg 群のみ）に安楽殺し、骨髄塗抹標本を作製して解析した。塗抹標本について、小核を有する未成熟赤血球の出現頻度増加（染色体損傷物質への最近の曝露を示唆する）及び未成熟赤血球の比率低下（骨髄細胞毒性又は抑制を示唆する）を検討した。小核様アーチファクトを評価するため、小核を有する成熟赤血球の出現頻度も記録した。

結果及び結論：小核を有する成熟赤血球はみられず、小核様アーチファクトは存在しないことが示唆された。溶媒対照と比較して、シクロホスファミドは小核を有する未成熟赤血球の出現頻度を増加したことから、本試験系の感受性が確認された。Plerixafor 投与 24 及び 48 時間後において、小核を有する未成熟赤血球数及び未成熟赤血球の比率に変化は認められなかった。

以上、plerixafor はこの in vivo 試験において、検討した 25 mg/kg までの用量で遺伝毒性を示さなかった。

5　がん原性試験

がん原性試験は実施しなかった。

ICH-S1A「医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンス」（1997 年 4 月）から、予定連続臨床使用期間が 3 ヵ月あるいは 6 ヵ月未満の医薬品については、通常がん原性試験は必要とされない。

6　生殖発生毒性試験

6.1　皮下投与による雌ラット受胎能及び胚・胎児発生に関する探索的毒性試験

試験番号 FER0501 [4.2.3.5.1-1]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.11]

試験の目的：Plerixafor を雌ラットに 14 日間連日皮下投与し、2 週間の休薬期間をおいたのちに 3 週間交配させ、妊娠 21 日で帝王切開したときの、交尾行動、着床、妊娠、性周期などの全般的な雌生殖能及び胚・胎児発生への影響を評価し、TK を測定する。

被験物質の調製： Plerixafor 注射液は 20 mg/mL 濃度のまま希釈せず、投与量を調節して各群に投与した。

投与方法：各群 22 匹の雌ラット（Crl:CD (SD)）に、plerixafor を 0（生理食塩液、溶媒対照）、3 及び 15 mg/kg/日で 2 週間連日皮下投与した。2 週間の休薬期間をおいたのち、交配用雄ラットと 3 週間の交配期間（投与は行わない）を設け、妊娠 21 日で帝王切開した。投与容量は 0.15～0.75 mL/kg とした。1 群 15 匹の雌ラットを TK 群として主試験群と同様の投与と休薬を行い、これらの動物は交配を行わなかった。

観察項目：全例について、生死確認及び一般状態観察を 1 日 2 回以上実施した。体重測定は投与前の性周期観察期間に 3 回、投与初日、また投与期間中及び休薬期間中、交配期間中は週 2 回行い、交尾が確認されなかった個体は交配期間終了後も週 2 回測定した。交尾が確認された雌の体重を妊娠 0、3、7、10、13、15、18、21 日に測定した。摂餌量を投与期間中並びに休薬期間中は毎週測定し、交配期間中は測定しなかった。交尾雌は体重測定と同じスケジュールで摂餌量を記録した。性周期は投与開始 2 週間前から投与期間中並びに休薬期間中（交配前期間）に観察した。雌動物は同系統の交配用無処置雄動物と最長 3 週間同居させ、交配が確認された日を妊娠 0 日とした。母動物を妊娠 21 日に帝王切開した。それぞれの動物について肉眼的検査を実施し、生殖器を摘出した。妊娠子宮重量を測定し、黄体数、着床数、早期、中期及び後期吸収胚数並びに生存及び死亡胎児数を記録した。胎児の外的性別を判定して体重を測定し、外表観察を行った。腹ごとに約半数の胎児を内臓検査し、残りを骨格検査に供した。TK 群の動物は最終採血の後に卵巣を回収した。

結果及び結論： 主試験群の動物では死亡例はなかった。しかし TK 群の動物では 15 mg/kg/日群の 6 例が投与期間中に死亡した。死亡前の一般状態所見は、痙攣、横臥位、努力呼吸であった。これらの死亡は被験物質の投与に関連すると考えられた。主試験群の動物では、投与に関連した一般状態変化は投与 6 日目（交配前期間［PM］1～6 日）まで認められなかった。投与 7 日目（PM 7 日）から、15 mg/kg/日群で痙攣、活動低下、横臥位、筋攣縮、皮膚蒼白、努力呼吸が認められ、同じ投与第 2 週目に振戦、運動失調、異常呼吸が認められた。これらの変化は主に投与直後から発現し、次回の観察までに回復

した。投与期間の終了後は、試験の終了時までこれらの変化は認められなかった。これら以外に投与に関連すると考えられる一般状態変化はみられなかった。

投与による体重及び摂餌量への影響は、交配前投与期間に、投与に関連すると考えられる PM 0～14 日の平均体重増加量の低下あるいは体重減少が 15 mg/kg/日群で認められた。投与期間終了後、15 mg/kg/日群の平均体重増加量は増加し、平均摂餌量の増加と関連していた。性周期への影響はみられず、剖検時に肉眼的所見も認められなかった。生殖能あるいは交尾所要日数への影響はなかった。交尾、受胎、妊娠に関するパラメータに特記すべき変化は認められなかった。帝王切開時のパラメータや補正平均胎児体重への影響は認められなかった。胎児観察において、外表検査、内臓検査、骨格検査とも被験物質投与による異常（奇形あるいは変異）はみられなかった。

Plerixafor の皮下投与後の吸収は投与 14 日目においていずれの群でも一貫性がみられ、t_{max} は投与 0.5 時間後（0.5～1 時間）であった。投与 14 日目の平均 C_{max} 及び AUC_{0-t} は用量に比例して増加した。2 週間の休薬期間後、血漿中の plerixafor 濃度はいずれの投与群でも定量限界下限以下であったが、卵巣中の plerixafor 濃度は交配期間の最終日、すなわち最終投与の 5 週間後でも検出可能であった。投与 14 日（最終日）における平均の卵巣中 - 血漿中薬物濃度比は、3 mg/kg/日群では左卵巣で 184、右卵巣で 174 であり、15 mg/kg/日群では左卵巣で 92.2、右卵巣で 72.4 であった。卵巣中薬物濃度は投与最終日から交配最終日までの間に、3 mg/kg/日群の左右卵巣とも約 13 分の 1 に低下し、15 mg/kg/日群の左卵巣で約 12 分の 1、右卵巣で約 10 分の 1 に低下した。以下の表 4 に、卵巣中 plerixafor 濃度の測定結果を示す。

表 4 - 卵巣中 plerixafor 濃度

投与量（mg/kg/日）	卵巣	濃度（ng/g）		
		試験 14 日（投与最終日）	交配初日	交配最終日
3	左	1270	527	98.7
	右	1200	591	94.8
15	左	3880	1170	334
	右	3050	1190	292

以上、plerixafor を雌ラットに 14 日間連日皮下投与し、2 週間の休薬期間をおいたのちに交配させ、妊娠 21 日で帝王切開したとき、15 mg/kg/日の投与により投与期間中に TK サテライト群で死亡がみられ、一般状態の変化が認められた。性周期、生殖パラメータ、剖検所見、帝王切開パラメータあるいは胎児の成長及び発達に対し、いずれの投与量でも影響は認められなかった。したがって、本試験条件下において、母体毒性の NOEL は 3 mg/kg/日、受胎能及び生殖能、並びに発生毒性の NOEL は 15 mg/kg/日であった。14 日間投与後の平均 C_{max} 及び AUC_{0-t} は、3 mg/kg/日群においてそれぞれ 5660 ng/mL 及

び 11100 ng·h/mL、15 mg/kg/日群において 28700 ng/mL 及び 59100 ng·h/mL であった。Plerixafor の卵巣中濃度は、交配期間最終日まで検出可能であった。

6.2　ラットを用いた皮下投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験

試験番号 [redacted] 900518 [4.2.3.5.2-1]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.11]（非 GLP 試験）

試験の目的：Plerixafor の催奇形性を評価するとともに、その後に実施するラットを用いた胚・胎児発生に関する本試験のための用量設定根拠を提供する。

被験物質の調製：Plerixafor 注射液 20 mg/mL を生理食塩液で希釈し、所定の濃度の投与液を調製した。

投与方法：各群 6 匹からなる 5 群の妊娠ラット（Crl: CD(SD)IGS BR）に、plerixafor を 0（溶媒対照）、1、5、15 及び 30 mg/kg/日で、妊娠 6～17 日まで 12 日間、1 日 1 回皮下投与した。投与容量は 2 mL/kg とした。

観察：全例について、生死確認及び一般状態観察を 1 日 2 回実施した。詳細な観察及び体重測定を妊娠 0、3、6、9、12、15、18 及び 21 日に行った。摂餌量を妊娠 3～6 日、6～9 日、9～12 日、12～15 日、15～18 日及び 18～21 日に測定した。母動物を妊娠 21 日に帝王切開した。それぞれの動物について、剖検後生殖器を摘出した。妊娠子宮重量を測定し、黄体数、着床数、早期、中期及び後期吸収胚数並びに生存及び死亡胎児数を記録した。胎児の性別を判定して体重を測定し、肉眼的に外表観察を行った。異常を大外表奇形と小外表異常に分類した。妊娠率、着床前胚損失率、着床後胚損失率、総吸収胚率及び性比を算出した。

結果及び結論：ラットは全例とも妊娠が確認された。30 mg/kg/日群のラットは、全例が妊娠 6 日又は 8 日に死亡（2/6 匹）又は状態悪化により安楽殺（4/6 匹）した。

15 mg/kg/日群では妊娠 6～21 日にかけて体重増加量が減少し、妊娠子宮重量にも減少が認められた。妊娠子宮重量減少は生存胎児数減少及び胎児体重減少に関連していた。生存胎児数減少は、早期及び中期吸収胚数増加によるものであった。1 胎児において大奇形の臍帯ヘルニア（臍帯における腸の突出）が観察された。しかし、この大奇形の出現頻度は背景データの範囲内であった。小異常は認められなかった。

15 mg/kg/日群では、早期、中期及び総吸収胚数並びに着床後胚損失率において、対照群と比較して統計学的有意差はみられなかったものの、背景データ範囲を上回る増加がみられ、その結果として上記の生存胎児数減少がみられた。黄体数、着床数、性比、後期吸収胚数及び死亡胎児数には、plerixafor 投与の影響は認められなかった。雄、雌及び合計の胎児体重には、5 及び 15 mg/kg/日群で、対照群と比較して有意な減少がみられた。

1 mg/kg/日群では、被験物質関連の変化は認められなかった。

以上、plerixafor をラットに妊娠 6～17 日まで皮下投与したところ、30 mg/kg/日群で死亡、15 mg/kg/日群で母動物毒性（補正体重増加量減少）、胎児毒性（胎児体重減少）及び胚致死（早期及び中期吸収胚数増加）、5 mg/kg/日群で胎児毒性（胎児体重減少）が認められた。1 mg/kg/日群では plerixafor に関連した変化はみられなかった。これらの結果に基づき、胚・胎児発生に関する試験の投与量として、0、0.5、3 及び 15 mg/kg/日を設定した。

6.3　ラットを用いた皮下投与による胚・胎児発生に関する試験

試験番号 [redacted] 900519 [4.2.3.5.2-2]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.13 A]

試験の目的： Plerixafor を妊娠ラットに妊娠 6～17 日まで皮下投与したときの催奇形性を評価する。

被験物質の調製：Plerixafor 注射液 20 mg/mL を生理食塩液で希釈し、所定の濃度の投与液を調製した。

投与方法：各群 22 匹からなる 4 群の妊娠ラット（Crl: CD (SD)IGS BR）に、plerixafor（遊離塩基）の 0（溶媒対照）、0.5、3 又は 15 mg/kg/日を、妊娠 6～17 日まで 12 日間、1 日 1 回皮下投与した。主試験群に加えて、それぞれの plerixafor 投与群に TK 試験用の追加動物（各群 6 匹）を割り付けた。妊娠 6 及び 17 日に、各用量につき 3 匹の雌動物から、投与の 0.5、2、6、12 及び 24 時間後に採血した。投与容量は 2 mL/kg とした。

観察：全例について、一般状態の変化又は投与に対する反応を 1 日 2 回以上観察した。詳細な観察及び体重測定を妊娠 0、3、6、9、12、15、18 及び 21 日に実施した。摂餌量を妊娠 3、6、9、12、15、18 及び 21 日に測定した。妊娠 21 日に母動物を帝王切開し、剖検後、生殖器を摘出した。妊娠子宮重量を測定して黄体数を計測した。着床部位の数及び位置、早期、中期及び後期吸収胚数並びに生存及び死亡胎児数を記録した。胎児の性別を判定して体重を測定し、肉眼的外表観察を行った。

各腹の約半数の胎児について詳細な内臓観察を実施し、残りの半数の胎児は固定して骨格観察を行った。異常を大奇形、外表、内臓若しくは骨格の小異常又は一般的な骨格変異に分類した。

結果及び結論:Plerixafor に関連した死亡、一般状態の変化及び肉眼所見は認められなかった。Plerixafor に関連した体重増加量減少（妊娠 9～12 日、12～15 日及び 15～18 日）及び体重の低値（妊娠 15、18 及び 21 日）が 15 mg/kg/日群でみられた。補正体重増加量減少（妊娠 6～21 日）が 15 mg/kg/日群でみられたことから、上記の変化のすべてが必ずしも子宮重量減少に起因するものではないことが示唆された。有意な摂餌量減少が 3 mg/kg/日群で妊娠 15～18 日に、15 mg/kg/日群で妊娠 12～18 日に認められた。3 mg/kg/日群での摂餌量減少に起因する体重又は体重増加量の変化はみられなかった。

15 mg/kg/日群では、早期吸収胚数、総吸収胚数及び着床後胚損失率の有意な増加が認められた。中期及び後期吸収胚数は背景データ範囲を上回って増加した。15 mg/kg/日群では死亡胎児が 1 匹みられた。このため、15 mg/kg/日群では生存胎児数及び母動物の妊娠子宮重量が軽度減少した。黄体数、着床数、着床前胚損失率及び性比には、plerixafor の影響は認められなかった。

15 mg/kg/日群で、雄、雌及び合計の胎児体重に減少がみられた。大奇形がみられた腹及び胎児の総出現頻度が 15 mg/kg/日群で増加した。最も高頻度にみられた奇形は水頭症で、しばしば重度の嗅脳室拡張を伴っていた。他の奇形は、頭部（頭頂骨／前頭骨の嚢胞）、眼（小眼球症、無眼球症）、心臓及び大血管（心臓球状化、上行大動脈拡張、重複大動脈弓、心室中隔欠損、肺動脈幹拡張及び下行大

動脈狭窄）、腹部（臍帯ヘルニア、鎖肛、腸狭窄）、四肢（短指）及び尾（無尾、短尾）に認められた。15 mg/kg/日群では外表及び内臓の小奇形のみられた腹及び胎児の総出現頻度にも増加がみられ、所見としては中等度の側脳室及び嗅脳室拡張も含まれていた。

15 mg/kg/日群では、仙椎椎弓未骨化及び胸椎椎体の正中線からの変位の出現頻度並びに胸椎椎体変異及び第 5 胸骨分節及び剣状突起変異の出現頻度も、対照群と比較して増加が認められた。

要約すると、plerixafor を 0.5、3 及び 15 mg/kg/日で妊娠ラットに妊娠 6～17 日まで皮下投与したところ、母動物の摂餌量減少が 3 mg/kg/日以上でみられ、体重増加量減少及び体重減少が 15 mg/kg/日群で認められた。胚致死が 15 mg/kg/日群でみられ、吸収胚数が増加した。15 mg/kg/日群では、胎児毒性として胎児体重減少及び骨格発達遅延が認められた。15 mg/kg/日群では胎児異常（大奇形並びに外表及び内臓の小奇形）の出現頻度が増加した。

15 mg/kg/日で妊娠ラットに妊娠 6～17 日まで投与したところ、吸収胚数増加、胎児体重減少、骨格発達遅延及び胎児異常の出現頻度の増加が認められた。

したがって、胚・胎児発生に関する NOAEL は 3 mg/kg/日と判断された。母動物毒性に関する NOAEL は決定しなかった。

6.4 ウサギを用いた皮下投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験並びにトキシコキネティクス及び胎児への移行

試験番号 6045K [4.2.3.5.2-3]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.11]（非 GLP 試験）

試験の目的：妊娠ウサギにおける plerixafor の毒性学的プロファイルを検討し、主要な胚・胎児発生に関する試験の用量を設定するとともに、TK 及び胎児への移行を検討する。

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩を水に溶解させ、生理食塩液で希釈して所定の濃度の投与液を調製した。

投与方法：各群 6 匹からなる 4 群の人工授精したニュージーランドホワイトウサギ（Crl:KBL(NZW)BR）に、plerixafor の 0（溶媒対照）0.6、1.8 又は 6.1 mg/kg/日（plerixafor 遊離塩基当量）を、人工授精後（PI）6～18 日まで 13 日間、1 日 1 回皮下投与した。投与容量は 1 mL/kg とした。

観察：動物の一般状態の観察を 1 日 1 回以上実施した。体重を PI 0 及び 3 日に測定し、PI 6～18 日までは毎日測定した。摂餌量は、PI 0～3 日、3～6 日、6～9 日、9～12 日、12～15 日及び 15～18 日に測定した。摂水量は残量を目視で評価した。

母動物を PI 18 日の最終投与 6 時間後に帝王切開した。それぞれの動物について肉眼的病理検査を行い、生殖器を摘出した。黄体数、着床数、早期及び後期吸収胚数並びに生存及び死亡胎児数を記録した。胎児の外表異常を肉眼的に観察した。妊娠率、着床前胚損失率及び着床後胚損失率を算出した。

TK 検査用の血液試料を PI 18 日の投与前並びに最終投与 0.5、1、2、4 及び 6 時間後の間隔で採取し、血漿中 plerixafor 濃度を測定した。腹ごとに胎児組織も採取した。

結果及び結論：0.6 mg/kg/日以上の用量で母動物毒性がみられた。体重増加量減少が 0.6 mg/kg/日群で、体重減少が 1.8 及び 6.1 mg/kg/日群で認められ、体重の変化に伴って摂餌量の減少がみられた。母動物の死亡が 1.8 mg/kg/日群（1/6 匹）及び 6.1 mg/kg/日群（3/6 匹）で認められ、一般状態の変化が 1.8 mg/kg/日以上の群で認められた。1.8 mg/kg/日では、四肢の脱力、側臥位、緩徐呼吸及び自発運動の亢進が投与 1 時間後まで認められた。6.1 mg/kg/日では、鎮静、側臥位あるいは腹臥位、筋緊張の低下、筋収縮、四肢の脱力、縮瞳、眼球突出、角膜反射消失、チアノーゼ、緩徐呼吸あるいは浅呼吸が投与 5 時間後までみられた。

0.6 及び 1.8 mg/kg/日群では、生殖パラメータの妊娠率、黄体数、着床数、着床前胚損失率、同腹児数及び着床後胚損失率に変化は認められなかった。6.1 mg/kg/日群では、生存例の妊娠雌 2 匹中 1 匹において着床前損失率が増加した。おそらく、投与開始の時点で着床がまだ完了していなかったため、それにより平均着床数が減少したと考えられた。また、6.1 mg/kg/日群では着床後胚損失率の増加及び同腹児数の減少も認められた。

奇形のみられた胎児の出現頻度が 1.8 mg/kg/日群（3/33 匹）及び 6.1 mg/kg/日群（1/3 匹）で増加した。1.8 mg/kg/日群では 1 匹に趾無形成、2 匹に頭部奇形が観察された。6.1 mg/kg/日群では、同様の頭部及び趾の奇形が 1 匹に認められた。

TK 検査として、PI 18 日の最終投与後に plerixafor の血漿中濃度を測定したところ、用量の増加に伴ってほぼ線形の曝露量増加が認められた。0.6、1.8 及び 6.1 mg/kg/日群における平均 $AUC_{0\text{-}6\,h}$ 値は、それぞれ 4882.1、11124.4 及び 35840.2 ng·h/mL であった。0.6、1.8 及び 6.1 mg/kg/日の用量における用量補正した AUC 値は、それぞれ 8064.3、6125.1 及び 5920.1 ng·h/mL であった。0.6、1.8 及び 6.1 mg/kg/日の用量における C_{max} 値はそれぞれ 1761.4、4116.6 及び 13641.9 ng/ml であり、同様に用量の増加に伴ってほぼ線形の増加を示した。0.6、1.8 及び 6.1 mg/kg/日群における平均胎児組織内濃度はそれぞれ 111.3、509.6 及び 1286.6 ng/g であり、胎盤通過が示唆された。PI 18 日の投与 6 時間後における胎児組織内濃度と母動物血漿中濃度の比率は、それぞれ 0.62、1.97 及び 1.55 であった。

要約すると、妊娠ウサギに plerixafor を PI 6～18 日まで 1 日 1 回皮下投与したところ、母動物の死亡（1.8 mg/kg/日以上）、一般状態の変化（1.8 mg/kg/日以上）、体重増加量減少又は体重減少（0.6 mg/kg/日以上）、摂餌量減少（0.6 mg/kg/日以上）、着床前及び着床後胚損失率増加（6.1 mg/kg/日）、同腹児数減少（6.1 mg/kg/日）並びに趾及び頭部の奇形（1.8 mg/kg/日以上）が認められた。母動物毒性が検討したすべての用量（0.6 mg/kg/日以上）でみられた。

7　局所刺激性試験

7.1　ウサギを用いた 2 種の溶液の皮内投与刺激性比較試験

試験番号 [redacted] 89679 [4.2.3.6-1]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.16]（非 GLP 試験）

試験の目的：ニュージーランドホワイトウサギを用いて、7 濃度の plerixafor を単回皮内投与したときの皮膚刺激性を評価する。

被験物質の調製：[redacted]又はクエン酸を用いて調製された plerixafor 溶液（それぞれ 50.1 mg/mL、124.7 mg/mL）を、生理食塩液で希釈して所定の濃度の投与液を調製した。

投与方法：各群 3 匹からなる 2 群のウサギを用いて、plerixafor 投与液を 1 匹当たり 6 部位に皮内注射した。1 群には plerixafor [redacted]調製液（50.1、25、12、6、3 及び 1.5 mg/mL）を、別の群には plerixafor クエン酸調製液（124.7、50、25、12、6、3 及び 1.5 mg/mL）を、それぞれの部位に 1 濃度ずつ注射した。また、各個体について、0.9%生理食塩液（陰性対照）及び綿実油（陽性対照）をそれぞれ 6 ヵ所に注射した。Plerixafor を脊柱の片側に注射し、対照物質を反対側に注射した。投与容量は 1 注射部位あたり 0.2 mL とした。

観察：注射直後並びに注射 24、48 及び 72 時間後に、注射部位における刺激性の徴候を採点した。

結果及び結論：Plerixafor クエン酸調製液を 6 ヵ所に皮内注射した 1 匹のウサギは、投与に関連する一般状態の変化として重度の協調運動障害、横臥位、努力性呼吸、衰弱、振戦及び痙攣がみられたため、投与後 1 時間以内に安楽殺した。Plerixafor [redacted]調製液では、死亡及び一般状態の変化は認められなかった。Plerixafor は、[redacted]調製液では 3 mg/mL 以上の濃度で、クエン酸調製液では 25 mg/mL 以上の濃度で、それぞれ弱い刺激性が認められた。

8　その他の毒性試験

8.1　In vivo 抗体産生に対する影響（ラット）

試験番号 107-025 [4.2.3.7.2-1]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.17]（非 GLP 試験）

試験の目的：ヒツジ赤血球（SRBC）への in vivo 抗体（IgM）産生に対する plerixafor の影響を評価する。ラットに plerixafor を 1 日 1 回、4 日間皮下投与し、その脾臓から採取したプラーク形成細胞を用いて、SRBC に対する一次抗体（IgM）応答を評価する。

被験物質の調製：Plerixafor 八塩酸塩をエタノール、Tween 80 及び水に溶解させ、[redacted]を用いて pH を 7.3 に調節した。シクロスポリンは溶媒 G 及びコーン油を用いて調製した。

投与方法：各群 5 匹からなる 5 群の雌ラット（OFA）を 0 日目に 1×10^8 個の SRBC の静脈内投与により免疫した。1 つの群にシクロスポリンを 3 mg/kg/日の用量で、2 つの群に plerixafor の 5.1 又は 12.7 mg/kg/日（plerixafor 遊離塩基当量）を、0、1、2 及び 3 日目に皮下投与した。2 つの対照群（1 つはシクロスポリン用、1 つは plerixafor 八塩酸塩用）には SRBC のみを投与した。

観察：動物の体重を 0 及び 6 日目に測定した。6 日目に動物を安楽死させて脾臓を摘出し、細胞懸濁液を調製した。脾細胞（1.5×10^6 個）を新鮮な SRBC（2×10^8 個）及び補体（新鮮モルモット血清）を加えた軟寒天上に播種した。2 時間インキュベートした後にプラークを計数した。

結果及び結論：Plerixafor 及びシクロスポリンは、6 日間の試験期間中の体重増加量に影響を及ぼさなかった。脾重量及び脾臓当たりの細胞数の減少がシクロスポリン投与群のラットでみられたが、plerixafor 投与群のラットでは認められなかった。シクロスポリンがプラーク形成能をほぼ完全に抑制した（脾臓当たりのプラーク数は対照群で 114,000 ± 65,000 個に対し、5700 ± 4500 個）のに対し、plerixafor は影響を示さなかった。

以上、plerixafor をラットに 12.7 mg/kg/日まで 1 日 1 回、4 日間皮下投与しても、SRBC に対する一次抗体 IgM 応答阻害作用は示されなかった。

8.2　ヒト全血溶血に対する影響の in vitro 評価

試験番号 [redacted] 60101 [4.2.3.7.7-1]、[Module 2.6.7 表 2.6.7.17]

試験の目的：ヒト全血に対する plerixafor の影響を in vitro 溶血の程度に基づいて評価する。

被験物質の調製：Plerixafor 注射液 10 mg/mL を生理食塩液で希釈し、所定の濃度の投与液を調製した。

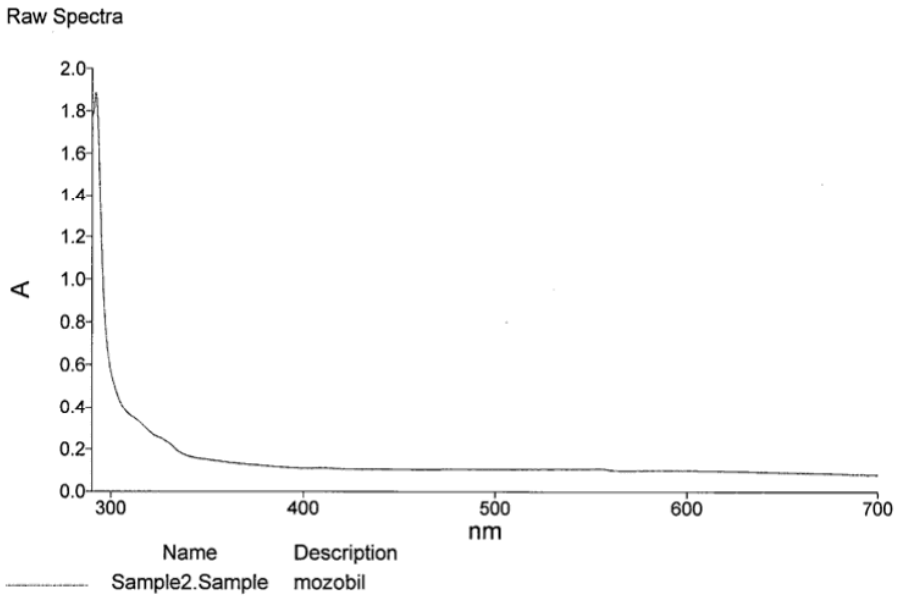
方法：男性 2 人及び女性 2 人から採取した全血（1.8 mL）に、0.2 mL の 0.9%生理食塩液（陰性対照）、5%サポニン（陽性対照）、plerixafor 溶媒（0.9%緩衝生理食塩液）又は plerixafor を添加し、37°C で 1 時間インキュベートした。Plerixafor の最終濃度は 0.2 µg/mL とした。インキュベーション終了時に検体を 3000 rpm で約 15 分間遠心分離し、血漿を得た。溶血及び凝集のレベルを目視で観察した。血漿 A660、ヘモグロビン及び溶血指数を測定した。

結果及び結論：Plerixafor は、in vitro でヒト全血とともに 1 時間インキュベートしても、明らかな溶血及び凝集を示さなかった。

8.3 光毒性

Plerixafor の光毒性の有無を検討するため、290～700 nm の範囲における plerixafor の光吸収試験を実施した。図 1 に示す通り、そのスペクトルにおいて、plerixafor は可視光線の範囲で明らかな吸収を示さなかった。これは強い吸収を示すクロモフォアがない plerixafor の構造と一致するものである。このため、ICH S10「医薬品の光安全性評価ガイドライン」（2014 年 5 月）に従って、光毒性試験は実施しなかった。

図 1 - Plerixafor の吸光スペクトル試験



8.4 不純物

Plerixafor は比較的単純な [redacted] 段階の合成過程に従って合成される[Module 2.3.S の 2 項]。開発を通して合成経路の最適化を行い、八塩酸塩から遊離塩基型への製造の変更及び合成経路の改善を実施した結果、特定された不純物及び未特定の不純物の濃度は、いずれも全体的に低下した。Plerixafor 八塩酸塩の 2 つのバッチ（[redacted]、[redacted]）及び plerixafor の 2 つのバッチ（[redacted]、[redacted]）を用いて、大部分の非臨床安全性試験を実施した。八塩酸塩型は初期に実施した一連の非臨床試験に使用し、それ以降に実施した大部分の非臨床試験及びすべての臨床試験では、遊離塩基型を使用した。製造販売承認申請をサポートするために実施した毒性試験及び各試験で使用した物質のバッチの一覧については、表 6を参照のこと。

バッチ [redacted] については分析証明書が得られていないが、このバッチはラット及びイヌを用いて実施した 2 週間用量設定試験のみで使用した。その後に実施した GLP 適用の 28 日間反復投与毒性試験、マウス及びラットの急性毒性試験、in vitro 遺伝毒性試験並びにウサギを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験ではバッチ [redacted] を使用した。

Plerixafor 八塩酸塩及び遊離塩基の各バッチにおける不純物プロファイルの比較を表 5に示す。既知の不純物の大部分は類縁物質* A、B 及び C（当初は不純物 H、I 及び K と同定された）、類縁物質D* 及び[redacted]である。バッチ [redacted] には類縁物質* B 及び C 並びに[redacted]が最も高い濃度で含まれ、2 番目に高い濃度でみられたのは類縁物質* A（バッチ [redacted] ではわずかにより高い濃度で存在）であった。バッチ [redacted] には、他のバッチでは存在しないか又はより低い濃度で存在するその他の多数の未特定不純物も含まれていた。バッチ [redacted]、[redacted] 及び [redacted] を用いて実施した GLP 適用毒性試験の所見には一覧表に示した不純物が含まれていることから、それらの存在による毒性への影響が評価されており、その所見は不純物の安全性確認及び plerixafor の臨床試験用バッチの規格設定において重要と考えられる。

すべての特定及び未特定不純物の安全性確認は非臨床試験及び臨床試験で使用した plerixafor 及び plerixafor 八塩酸塩の種々のバッチで測定された濃度に基づいて実施されていることから、個々の不純物についての毒性試験は実施しなかった（[Module 3.2.S の 3.2.2.2.2 項]）。

＊新薬承認情報提供時に置換

表 5 - 主要な毒性試験で使用した plerixafor バッチのアッセイ及び不純物含量の比較

検査の内容	被験物質のバッチ		
	[redacted][a]	[redacted]	[redacted]
製造業者	[redacted]	[redacted]	[redacted]
型	八塩酸塩	遊離塩基	遊離塩基
HPLC による純度 (%w/w oab)	検査せず	101.8	99.3
特定された不純物 (%w/w oab)[b]			
類縁物質D*	報告せず	報告せず	< 0.05
類縁物質* A	0.24	0.14	0.26
類縁物質* B	0.69	0.16	0.34
類縁物質* C	0.16	0.00	0.12
未特定の不純物 (%w/w oab)[b]			
A	0.48	検出されず	検出されず
B	0.14	検出されず	検出されず
C	0.17	検出されず	検出されず
D	0.17	検出されず	検出されず
E	0.32	0.13	検出されず
F	1.06	0.19	検出されず
G	0.34	0.15	検出されず
J	0.12	検出されず	検出されず
[redacted] (%w/w oab)	1.18	0.07	< 0.03
不純物の合計 (%w/w)	5.07	0.84	0.80

oab: 無水物換算

a 一部の毒性報告では、バッチ[redacted]の一定分量の凍結乾燥により製造し、バイアルに充填して毒性試験機関での取扱いをしやすくしたバッチ[redacted]を使用した（[Module 3.2.S の 2.6.2 項]）。

b 不純物 A、B、C、D、E、F、G 及び J は plerixafor の最終規格では特定されていないが、初期のバッチに含まれていた。不純物 H、I 及び K は、それぞれ類縁物質* A、B 及び C と同定された。

＊新薬承認情報提供時に置換

表 6 - 主要な毒性試験で使用した原薬及びバッチ

試験の種類及び期間	動物種（系統）	経路	試験番号	GLP	原薬（提供時）	バッチ番号
単回投与毒性試験	マウス (NMRI)	皮下	[redacted] 380586 [Module 4.2.3.1-1]	適	八塩酸塩	[redacted][a]
	マウス (NMRI)	静脈内	[redacted] 380564 [Module 4.2.3.1-2]	適	八塩酸塩	[redacted]
	ラット (Wistar)	皮下	[redacted] 380575 [Module 4.2.3.1-3]	適	八塩酸塩	[redacted]
	ラット (Wistar)	静脈内	[redacted] 379787 [Module 4.2.3.1-4]	適	八塩酸塩	[redacted]
1 日 1 回反復投与毒性試験						
4 週間	ラット (Wistar)	皮下	428R-tox [Module 4.2.3.2-4]	適	八塩酸塩	[redacted]
4 週間	ラット (Wistar)	皮下	432R [Module 4.2.3.2-6]	適	八塩酸塩	[redacted]
4 週間	イヌ（ビーグル）	皮下	[redacted]/SPM028/0891-tox [Module 4.2.3.2-10]	適	八塩酸塩	[redacted]
1 日 2 回反復投与毒性試験						
4 週間	ラット (Wistar)	皮下	[redacted] 89289 [Module 4.2.3.2-14]	適	遊離塩基	[redacted]
4 週間	イヌ（ビーグル）	皮下	[redacted] 89290 [Module 4.2.3.2-16]	適	遊離塩基	[redacted]
遺伝毒性試験						
変異原性試験	ネズミチフス菌	In vitro	Mut.Bakt.15/[redacted] [Module 4.2.3.3.1-1]	適	八塩酸塩	[redacted]
染色体異常試験	V79 細胞	In vitro	Z48 [Module 4.2.3.3.1-2]	適	八塩酸塩	[redacted]
小核試験	ラット (Sprague-Dawley)	皮下	[redacted] 960379 [Module 4.2.3.3.2-1]	適	遊離塩基	[redacted]
生殖発生毒性試験						
胚・胎児試験	ラット (Sprague-Dawley)	皮下	[redacted] 900519 [Module 4.2.3.5.2-2]	適	遊離塩基	[redacted]

a 一部の毒性報告では、バッチ [redacted] の一定分量の凍結乾燥により製造し、バイアルに充填して毒性試験機関での取扱いをしやすくしたバッチ [redacted] を使用した（[Module 3.2.S の 2.6.2 項]）。

9　考察及び結論

9.1　安全性評価に関連する背景情報

Plerixaforは、ケモカイン受容体CXCR4及びそのリガンドであるストローマ細胞由来因子1（SDF-1、別名 CXCL12）の選択的アンタゴニストである。CXCR4は、CD34陽性前駆細胞（造血幹細胞）を含む造血細胞、Tリンパ球、Bリンパ球、単球、マクロファージ、好中球及び好酸球上に広く発現する(7),(8),(9)。また、CXCR4は、脳、肺、結腸、心臓、腎臓及び肝臓といった多数の非造血組織にも発現し、内皮細胞、上皮細胞、小膠細胞、星状膠細胞及び神経細胞上にも認められる(10)。SDF-1/CXCR4結合相互作用は、造血において、また、造血幹細胞及び白血球のトラフィッキング及びホーミング並びに新生児発育において重要な役割を果たす。CXCR4は、すべての哺乳類動物種において保存性が高く、マウス及びイヌのCXCR4に対するplerixaforのSDF-1介在性Ca流動阻害作用の効力は、ヒト受容体に対する阻害作用の効力と同程度であることが示されている(4),(11),(12)。

図2及び図3に示したように、plerixafor皮下投与後の全身曝露は、検討したいずれの動物種においても速やかかつ完全であり、最高血漿中濃度は投与後15分～1時間以内に認められた。^{14}C-plerixafor皮下投与後の組織への移行は、脳、筋肉、膵臓、腎周囲脂肪組織、唾液腺、脊髄及び精巣で低く、腎臓、肝臓、軟骨及び血管壁で高かった。多くの組織における放射能活性は4～24時間で下降し始めたが、脾臓、肝臓及び腎臓では6日間にわたって持続的であった。ラットを用いたマスバランス試験では、最大で投与量の約30%が7日後も保持された（[Module2.6.4の4項]）。

Plerixaforを単回又は反復皮下投与したときの用量制限毒性は、いずれも重度の神経筋関連徴候であり、通常は投与後30分～2時間にかけて観察された。反復投与毒性試験では、初回投与後に良好な忍容性を示した一部の用量で、5日間以上連日投与した場合に、投与後間もなくこれらの一過性の神経筋関連の徴候がみられることがあった。Plerixaforの組織内貯留、毒性の蓄積又は金属平衡に対する影響が反復投与時の毒性発現の遅延において役割を果たしている可能性が考えられる。また、plerixaforを4週間投与しても血漿中における明らかな蓄積がみられず（通常は2倍未満）、このことからも神経筋関連徴候の閾値の低下が示唆される。

Plerixafor血漿中濃度の速やかな上昇及び低下が神経筋関連徴候の発現及び消失に反映されていたことから、plerixaforの血漿中濃度が急性毒性の重要な決定因子であると考えられる。神経筋関連徴候のメカニズムは不明であるが、血漿中及び尿中Ca及びMgの変化が観察されたこと、また急性低Ca血症及び低Mg血症の臨床徴候とが類似していることから、金属の濃度又は細胞膜電位の異常に起因した可能性があると考えられる。これら急性変化に関連する以外の毒性所見は、plerixaforの造血幹細胞、前駆細胞及び白血球に対する動員作用の延長であると考えられた。この作用の二次的影響として、髄外造血の所見並びに多数の組織、特に肝臓及び脾臓の器官重量増加が認められた。Plerixaforによる軽

度の刺激作用が注射部位に認められた。注射部位を除くと、いずれの組織及び器官においても、plerixaforの直接作用を示唆する病理組織学的変化は認められなかった。

9.2 単回投与毒性

Plerixaforの単回皮下又は静脈内投与による用量制限毒性は、いずれの動物種においても死亡又は重度の神経筋関連徴候であり、それらは投与後1～2時間以内に認められた。死亡及び重度の一般状態変化は、投与後速やかに認められたことから、これらの急性毒性はAUCよりもC_{max}に関連していることが示唆された。ラット及びイヌにおけるplerixaforの皮下投与後のほぼ完全な吸収及び速やかな血中への出現は、投与後の速やかな毒性発現と一致していた。一般状態の変化の大部分は、中枢神経系又は神経筋肉系のいずれかに作用したものと考えられるが、ラットを用いた組織内分布試験において、脳（及び脊髄）、筋肉、脂肪、膵臓及び精巣への^{14}C-plerixaforの移行は少ないことが示された（[Module 2.6.4 の 4.1 項]）。脳、眼及び精巣における組織関門通過性の低さは、plerixaforの荷電ビシクラム構造に起因すると考えられる。これらのデータから、一般状態の毒性学的な変化は、本薬の中枢神経系への直接作用によるものではないと考えられる。

Plerixaforの急性毒性としてみられた神経筋関連の徴候（痙攣、筋協調運動障害、鎮静、腹臥位又は横臥位、呼吸困難）から、低Ca血症又は低Mg血症が発現したことが示唆される。血漿中Ca又はMg減少のメカニズムは、plerixaforビシクラム構造が二価カチオンキレート活性をもつことから説明できる。しかし、plerixaforを投与したラットにおける血漿中Ca減少を検討した試験において、一般状態の変化と血漿中Ca減少の関連は示されなかった。

単回投与毒性試験における一般状態の毒性学的な変化の多くにおいて、毒性発現の時期とplerixaforの血漿中濃度のピークとが関連していることは明らかであった。

通常想定される通り、plerixaforの静脈内投与による毒性は、マウス及びラットともに皮下投与による毒性より強かった（表 7参照）。Plerixaforの静脈内投与はいずれの動物種とも静脈内急速ボーラス投与（投与容量：0.6 mL/kg）で行い、この静脈内投与に対する反応性はマウスとラットで同程度であった。対照的に、plerixaforの皮下投与による毒性は、マウスがラットより強かった。Plerixaforの毒性は最高血漿中濃度に関連すると考えられるため、動物種による反応性の違いは、ラットにおける皮下吸収がマウスより遅いことによる可能性が考えられる。

表 7 - Plerixafor の各毒性試験における最小致死量及び最大非致死量

動物種	投与経路	最小致死量（mg/kg）	最大非致死量（mg/kg）	試験番号
マウス	静脈内	5	2	[redacted] 380564
	皮下	14	2	[redacted] 380586
ラット	静脈内	5	2	[redacted] 379787
	皮下	24 BID（48 mg/kg/日）	12 BID（24 mg/kg/日）	[redacted] 89342
	皮下	40	30	[redacted] 380575
	皮下	40	30	GT-249-TX-3
イヌ	皮下	9 BID（18 mg/kg/日）	6 BID（12 mg/kg/日）	[redacted] 89349
ブタ	皮下	12	8	AOM0032

9.3 1 日 1 回又は 1 日 2 回反復投与毒性試験

9.3.1 ラットを用いた反復投与毒性試験における主な所見

単回投与毒性試験の所見と同様に、ラットを用いた 1 日 1 回及び 1 日 2 回反復投与毒性試験における plerixafor の用量制限毒性は、死亡又は重度の神経筋関連の徴候であり、投与後 1～2 時間以内に認められた。ラットを用いたいずれの試験においても、注射部位の局所刺激性変化を除き、いずれの器官及び組織に対する直接的な毒性作用を示唆する病理組織学的所見はみられなかった。

単回投与毒性試験とは異なり、反復投与毒性試験における死亡及び神経筋関連の徴候は遅れて発現し、多くの場合、数日間の連続投与後から認められた。この毒性発現遅延の理由は不明であるが、組織における plerixafor の貯留又は神経筋関連徴候に対する閾値低下による可能性が考えられた。

Wistar ラットを用いた 1 日 1 回 4 週間反復投与毒性試験における MTD は 11.4 mg/kg/日、最小致死量は 15.2 mg/kg/日であった。1 日 1 回投与に比べ、7 時間間隔で 1 日 2 回投与（午前及び午後に投与）した場合に MTD は倍加した。たとえば、1 日 1 回 4 週間反復投与毒性試験における MTD は 11.4 mg/kg/日であり、Sprague-Dawley ラットを用いた 1 日 2 回 4 週間反復投与毒性試験における MTD は 12 mg/kg BID（24 mg/kg/日）であった。

2 週間用量設定試験でみられた毒性は、他の毒性試験の結果と比較すると、予想されるより低い用量で認められた。この試験では、9 及び 12 mg/kg/日の用量で投与 7 又は 8 日目に死亡が認められた。この試験における毒性増強の理由は不明であった。この試験において 9 及び 12 mg/kg/日でみられた

plerixafor の C_{max} は、4 週間反復投与毒性試験で忍容性がみられた 11.4 mg/kg/日の値と比べても高くなかったが、この 2 週間投与試験における初回採血時点は投与後 1 時間であったことから、C_{max} が過小に推定されている可能性があった（表 8）。

表 8 - Plerixafor をラットに反復皮下投与したときの plerixafor 関連の死亡及び用量と曝露量の関連

用量 (mg/kg/回)	試験期間	C_{max} (µg/mL)[a]		死亡		死亡日		試験番号
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	
9 QD	2 週間	9.27	7.06	1/4	0/4	8	----	189DFR-tox
12 QD	2 週間	14.37	12.74	1/4	3/4	7, 8	7, 8	189DFR-tox
12 BID	4 週間	11.07[b]	13.58[b]	0/10	0/10	----	----	[redacted] 89289
11.4 QD	4 週間	36.90	28.40	0/16	0/16	----	----	432R
15.2 QD	4 週間	33.40	32.10	9/16	8/16	5 - 27	8 - 27	432R

投与量は遊離塩基等量として表す。

a 投与初日の測定値

b 投与初日の 2 回目投与後の値

1 日 1 回及び 1 日 2 回反復投与毒性試験で観察された重度の神経筋関連の徴候は、単回投与毒性試験でみられたものとほぼ同じで、鎮静、腹臥位、過興奮性、努力性呼吸及び攣縮であった。これらの変化の多くは 3～5 日間の連日投与後、投与後 15 分～1 時間以内に認められた。多くの場合、死亡はこれら一般状態の変化の数日後にみられ、投与 5～10 日目が多かった。ラットの単回投与毒性試験と同様に、死亡は plerixafor の投与後 2 時間以内に発現した。一般状態の変化及び死亡が投与後速やかに認められたことから、毒性は plerixafor の AUC 増加又は plerixafor の C_{max} の高さに関連すると考えられる。

ラットの 2 週間及び 4 週間反復投与毒性試験では、顕著な血漿中 Ca 及び Mg の減少並びに尿中 Mg 及び Ca の排泄増加が共通して認められた。さらに、ラットにおける神経筋関連徴候は、急性の低 Ca 血症及び低 Mg 血症に伴う既知の臨床症状によく類似していた。このことから、仮説として、plerixafor の急性毒性には、Ca 及び Mg の体内動態の変化又は細胞膜電位への影響が寄与因子となっている可能性がある。また、plerixafor の尿中 Ca 排泄増加が、ラットの 1 日 1 回 4 週間反復投与毒性試験の 11.4 及び 15.2 mg/kg/日群でみられた脛骨及び上腕骨の骨塩量及び骨密度の減少のメカニズムとなった可能性がある。摂餌量減少及び体重増加量減少も、骨密度低下の原因となったと考えられる。全体として、plerixafor が血漿中及び尿中 Ca と Mg に影響を与えることは明らかになったが、plerixafor による血中 Ca 又は Mg の減少と神経筋関連徴候との関係は十分には検証されていない。

ラットでみられたその他の plerixafor による変化には、白血球数増加、脾重量及び肝重量の増加、胸腺重量減少、病理組織学的検査における脾臓、肝臓及び副腎皮質（散発的）の髄外造血並びに注射部

位の出血増加であった。白血球数増加、脾重量及び肝重量の増加並びに脾臓及び肝臓における髄外造血は、plerixafor の薬理作用（造血幹細胞及び白血球の動員と移動）と直接的又は間接的に関連していると考えられる。

1 日 1 回及び 1 日 2 回投与によるラットの 2 週間及び 4 週間反復皮下投与毒性試験において、用量に関連した軽度から顕著な総白血球数の増加が約 0.6～15.2 mg/kg の単回皮下投与後に一貫して認められた。これらの変化の多くは、2 週間又は 4 週間の投与期間の最終投与 24 時間後に認められた。総白血球数の増加は、循環血中リンパ球、単球、好中球、好酸球及び好塩基球の絶対数増加によるものであった。

いくつかの試験では、好中球及び単球の絶対数増加がリンパ球の絶対数増加よりも大きかった。これらの変化は、plerixafor の薬理作用である白血球並びに CD34 陽性造血幹細胞及び前駆細胞の動員と一致していた。

ラットを用いた 2 週間及び 4 週間反復皮下投与毒性試験の大部分では、一貫した所見として、1.9～15.2 mg/kg/日で、用量に関連した脾重量増加（約 15～30%）が認められた。これらの試験の一部では、相対肝重量の増加もみられた。この脾重量増加を反映した病理組織学的所見として、髄外造血増加が観察された。髄外造血は、plerixafor 投与群のラットにおいて、肝臓及び時に副腎にも認められた。これは Plerixafor の薬理作用により多数の造血幹細胞が肝臓及び脾臓へ移動し、これらの器官において造血が誘発された可能性がある。また、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）を投与したマウス、ラット及びイヌの肝臓及び脾臓において、顆粒球髄外造血が観察されたという報告も、この髄外造血の誘導に関するメカニズムを裏付ける(13)。いずれの赤血球指標及び骨髄の骨髄球：赤芽球比においても、plerixafor による変化は認められなかったことから、低酸素症誘発性の髄外造血である可能性は低いと考えられる。脾重量及び肝重量増加のメカニズムとして可能性が高いのは、過剰に放出された白血球の脾臓内又は肝臓内捕捉及び蓄積である。

ラットを用いた多数の皮下投与毒性試験において、plerixafor による胸腺重量減少がみられ、病理組織学的検査で胸腺のリンパ組織萎縮が観察された。げっ歯類におけるリンパ組織萎縮はストレスの影響（内因性コルチコステロイド）に対して感受性が極めて高く、リンパ組織萎縮は他のリンパ系器官（脾臓、リンパ節など）ではみられなかったことから、この胸腺の変化は、おそらくストレス誘発性変化に伴うものであり、投与後間もなく観察された神経筋関連徴候に関連する可能性がある。

9.3.2 イヌを用いた反復投与毒性試験における主な所見

Plerixafor の反復投与毒性試験における用量制限毒性は、一連の重度の神経筋関連の徴候（無関心、四肢衰弱、異常姿勢、平衡障害、呼吸困難、運動失調、攣縮及び振戦／痙攣など）の速やかな発現（投与後約 15 分～1 時間）と、それに伴う死亡であった。死亡は 8～10 日間の投与以降に遅延してみられたが、発生は投与直後であった。概ね死亡の数日前に、神経筋関連徴候の出現と、その頻度及び重症度の増加が観察された。非致死量では投与直後に同様の一般状態の変化がみられたが、その頻度及び

重症度はより低かった。投与後に一般状態の変化が速やかに認められたことは、速やかな吸収及び血漿中 plerixafor 濃度増加に一致していた。このことから、plerixafor 血漿中の濃度増加速度又はピークの高さが plerixafor 投与に伴う毒性及び死亡における重要な要因であることが示唆される。この毒性の蓄積及び遅発性の理由は不明である。6 mg/kg/日群の雌の死亡は、心筋血管壁における中等度のフィブリノイド壊死によるものと考えられた。この所見は 1 例のみに認められたもので、毒性学的意義は不明であるが、重度の一般状態の悪化により安楽殺した 6 mg/kg/日群の雄では心臓の血管及び組織の病理組織学的変化はみられず、plerixafor を投与した他のいずれのイヌ（4 mg/kg/日以下）及びラット（15.2 mg/kg/日以下）にも認められなかったことから、心臓は標的器官ではないと考えられる。

イヌに認められた神経筋毒性のメカニズムは不明であるが、仮説として、ラットと同様に、Ca 及び Mg の濃度又は細胞膜電位の変動が関与している可能性がある。イヌの試験では、多くの場合、血清 Mg の減少並びに尿中 Ca 及び Mg 排泄の増加がみられている。しかし、連続採血及び血漿中総 Ca 濃度測定を行った試験では、血漿中総 Ca の減少は認められなかった。血中 Mg 減少の程度は、一般状態の変化を Mg 欠乏によるものと明確に関連付けるには不十分であった。

神経筋関連徴候に加えて、下痢並びに心拍数又は脈拍数の増加がイヌにおける重要な所見であった。軽度から重度の下痢が 1 日 1 回投与による 2 週間及び 4 週間反復投与毒性試験で観察された。2 週間反復投与毒性試験における下痢の頻度及び重症度は、低用量（2 mg/kg/日）で最も強く、高用量（6 mg/kg/日）における下痢の頻度は低かった。下痢は 1 日 1 回投与による 4 週間反復投与毒性試験でも 1 及び 4 mg/kg/日でみられたが、1 日 2 回投与での 2 週間及び 4 週間反復投与毒性試験では、6 mg/kg BID まで認められなかった。消化管に病理組織学的変化がみられなかったことから、下痢は消化管上皮への直接的な毒性作用ではなく、神経筋の変化に伴って認められた可能性がある。イヌの 1 日 1 回 2 週間反復投与毒性試験において、2、4 及び 6 mg/kg/日での皮下投与後 1 時間以内に一過性の頻脈（50～100%の増加）がみられ、1 日 1 回 4 週間反復投与毒性試験でも、1 及び 4 mg/kg/日の皮下投与後に心拍数及び脈拍数の増加が認められた。1 日 2 回投与による 2 週間又は 4 週間反復投与毒性試験において、6 mg/kg BID までの用量で頻脈がみられた。これらの試験では、いずれのイヌにおいても投与に直接関連した心電図の変化はみられなかったことから、頻脈は心臓への直接作用によるものではないと考えられた。1 日 1 回投与の 4 週間反復投与毒性試験又は心血管系安全性薬理試験では、覚醒下のイヌで実施した血圧測定において、頻脈を説明できる投与関連の血圧低下は示されなかった。

イヌの毒性試験でみられたその他の plerixafor による変化として、用量に関連した白血球数増加及び肝臓の散発的かつ軽微な髄外造血が観察された。ラットの毒性試験でみられた脾重量及び肝重量の増加は、イヌの毒性試験では認められなかった。1 日 1 回又は 1 日 2 回投与スケジュールによるイヌの 2 週間及び 4 週間反復皮下投与毒性試験において、1.5 mg/kg/回以上の連日皮下投与により総白血球数の増加がみられた。これらの変化の多くは、7 日間、2 週間又は 4 週間の投与期間における最終投与の 24 時間後にみられたことから、毎日の投与後に同程度の増加が生じていたと考えられる。総白血球数の増加は、循環血中における分節核好中球及びリンパ球の絶対数増加によるものであった。これらの

変化は、plerixafor の薬理作用である白血球及び CD34 陽性造血前駆細胞及び幹細胞の動員に一致するものであった。

9.3.3 トキシコキネティクス

ラット及びイヌを用いた 1 日 1 回及び 1 日 2 回投与による 4 週間反復投与毒性試験でみられた TK パラメータの値を以下の表 9（428R-tox [4.2.3.2-4], 432R [4.2.3.2-6], [redacted] 89289 [4.2.3.2-14]）及び表 10（[redacted]/SPM028/0891-tk [4.2.3.2-11], [redacted] 89290 [4.2.3.2-16]）に示す。

表 9 - 1 日 1 回又は 1 日 2 回、29 又は 30 日間連続皮下投与した雌雄のラットにおける plerixafor の平均血漿中 TK パラメータ

用量 (mg/kg)	測定日 (日)	雄					雌				
		AUC_{0-24} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	% 1 日目 C_{max}	t_{max} (時間)	$t_{1/2}$ (時間)	AUC_{0-24} (µg·h/mL)	C_{max} (µg/mL)	% 1 日目 C_{max}	t_{max} (時間)	$t_{1/2}$ (時間)
1 日 1 回投与											
0.6	1	8.76	2.45	----	0.5	n/a[a]	3.31	1.39	----	0.5	n/a[a]
	30	18.19	2.73	+11	0.5	n/a	6.51	1.87	+34	0.5	n/a
1.9	1	21.90	6.08	----	0.6	n/a	19.60	4.89	----	1.0	n/a
	30	30.36	7.55	+24	0.5	n/a	22.39	6.25	+28	0.6	n/a
7.6	1	57.00	17.13	----	0.8	n/a	67.45	16.98	----	1.0	n/a
	30	63.50	26.61	+55	0.5	n/a	62.66	27.07	+59	0.6	n/a
11.4	1	125.60	36.90	----	0.9	n/a	111.80	28.40	----	1.0	n/a
	29	134.80	47.80	+30	0.6	n/a	110.90	47.00	+65	0.6	n/a
15.2	1	139.90	33.40	----	1.5	n/a	129.40	32.10	----	1.3	n/a
	29[b]	----	----	----	----	----	161.70	54.60	+70	0.8	n/a
1 日 2 回投与[d]											
0.3 BID	1	0.46	0.39	----	0.5	*c*	0.49	0.44	----	0.5	*c*
	28	0.82	0.42	+6	0.5	*c*	1.06	0.50	+14	0.5	*c*
12 BID	1	29.28	11.07	----	0.5	3.8	36.22	13.58	----	0.6	3.1
	28	45.54	23.97	+117	0.5	8.1	39.36	19.81	+46	0.5	7.6

a n/a = 該当せず；1 日 1 回投与スケジュールで投与したラットについては、消失半減期を算出せず。
b この採血時点までに雄全例及び雌半数例が死亡した。
c 消失半減期を算出するには、血漿中濃度データが不十分であった。
d 測定日の 2 回目投与後の値を示す。

表 10 - 1 日 1 回又は 1 日 2 回、4 週間投与した雌雄のイヌにおける plerixafor の平均血漿中 TK パラメータ

用量 (mg/kg)	測定日	雄					雌				
		AUC_{0-24} (μg·h/mL)	C_{max} (μg/mL)	% 1 又は 2 日目 C_{max}	t_{max} (時間)	$t_{1/2}$ (時間)	AUC_{0-24} (μg·h/mL)	C_{max} (μg/mL)	% 1 又は 2 日目 C_{max}	t_{max} (時間)	$t_{1/2}$ (時間)
1 日 1 回投与											
0.25	2 日目	2.06	0.27	----	2.0	n/a[a]	1.59	0.22	----	1.0	n/a[a]
	4 週目	2.55	0.29	+6	2.0	n/a	1.50	0.19	-14	1.0	n/a
1	2 日目	4.58	0.87	----	1.2	n/a	6.27	1.09	----	0.83	n/a
	4 週目	6.92	1.24	+42	1.0	n/a	7.61	1.30	+19	0.83	n/a
4	2 日目	22.68	4.57	----	1.0	n/a	31.29	6.88	----	0.83	n/a
	4 週目	25.80	6.09	+33	0.8	n/a	39.14	12.14	+76	0.66	n/a
1 日 2 回投与[b]											
0.15 BID	1 日目	0.58[c]	0.19	----	0.7	1.6	0.60[c]	0.19	----	1.3	1.6
	28 日目	0.58	0.17	-9	1.0	2.1	0.65	0.25	+29	1.3	2.0
0.75 BID	1 日目	3.95[c]	1.13	----	0.5	2.3	4.62[c]	1.45	----	0.5	2.2
	28 日目	4.47	1.07	-5	0.7	5.6	4.93	1.30	-10	0.7	5.6
4 BID	1 日目	29.92[c]	14.09	----	0.5	3.0	34.45[c]	13.24	---	0.5	3.1
	28 日目	25.71	8.26	-41	0.5	5.7	31.81	9.26	-30	0.5	5.6

a n/a = 該当せず；1 日 1 回投与スケジュールで投与したイヌについては、消失半減期を算出せず。
b 測定日の 2 回目投与後の値を示す。
c AUC_{0-17h} 値を示す。

t_{max} は、用量又は投与期間により変化しなかった。全体として C_{max} 及び AUC は、用量の増加に比例して増加した。

1 日 1 回投与での 4 週間反復投与毒性試験において、全体的に明らかな性差はみられなかった。なお、雄ラットの平均 AUC は最低用量（0.6 mg/kg/日）で雌より高く、雌イヌでの C_{max} は高用量（4 mg/kg/日）において雄に比べて高かったが、他の用量では明らかな差はなかった。1 日 2 回投与の 4 週間反復投与反復投与毒性試験でも、性差は認められなかった。Plerixafor を 1 日 1 回又は 1 日 2 回、長期間（4 週間）投与したところ、ラットにおける C_{max} は、投与期間の延長に伴って増加した（約 6～117%の増加）。イヌでは 1 日 1 回の反復投与により C_{max} が増減した（約 14%の減少～76%の増加）。1 日 2 回投与によるイヌの 4 週間反復投与毒性試験では、概して C_{max} 及び AUC に反復投与に伴う変化はみ

られなかった。なお、高用量（4 mg/kg BID）の 1 日目と 28 日目の C_{max}（各測定日の 2 回目投与時）に差がみられたが、1 日目の 1 回目投与時の C_{max} とは同様の値であった。1 日 2 回投与によるラット及びイヌの 4 週間反復投与毒性試験では、長期連日投与に伴って、$t_{1/2}$ の延長が認められた。

ラット及びマウスの単回投与毒性試験並びにラット及びイヌの反復投与毒性試験における主な用量制限毒性は、plerixafor の皮下投与後 15 分～4 時間にみられた死亡及び重度の神経筋関連の一般状態の変化であった。神経筋肉所見及びイヌにおける頻脈が一過性であるという特性が、速やかな発現及び消失により特徴づけられた。4 週間反復投与毒性試験で実施した TK 解析では、血漿中 plerixafor の t_{max} は皮下投与の 0.5～1 時間後に認められた。

図 2 - Plerixafor を 4 匹の雄ラットに 11.4 mg/kg の用量で 4 週間皮下投与したときの血漿中 plerixafor 濃度（µg/mL）

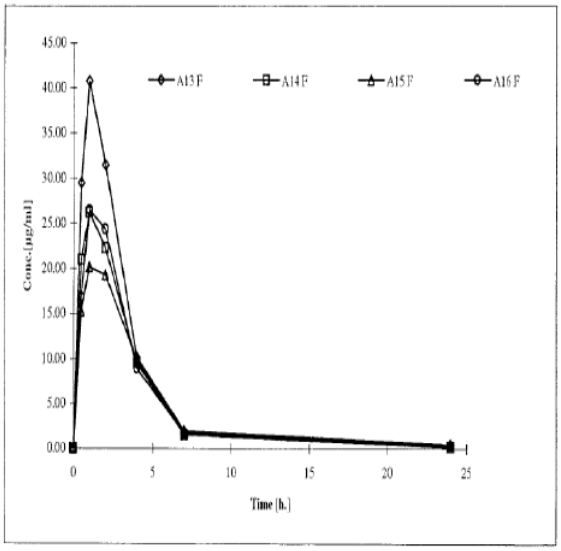
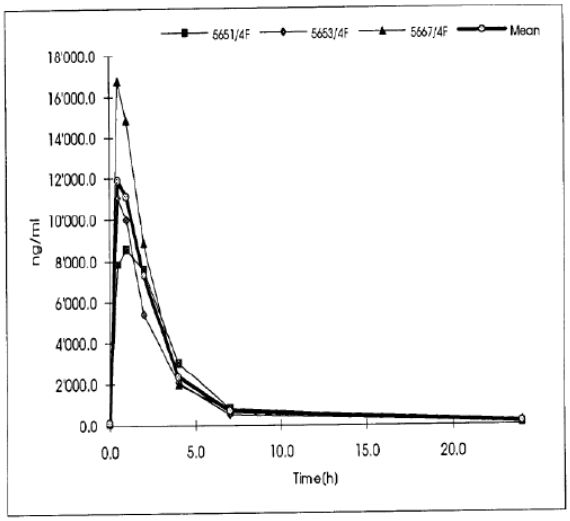


図 3 - Plerixafor を 3 匹のビーグル犬に 4 mg/kg の用量で 4 週間皮下投与したときの血漿中 plerixafor 濃度（ng/mL）



上記の plerixafor 血漿中濃度曲線（図 2及び図 3）は、1 日 1 回投与によるラット及びイヌの 4 週間反復投与毒性試験の MTD（それぞれ 11.4 mg/kg/回及び 4 mg/kg/回）における血漿中濃度を示す。ラット及びイヌに plerixafor を皮下投与したときの C_{max} 値には個体間で軽度のバラツキがみられ、それぞれの MTD で初回投与後の平均 C_{max}（1 日目又は 2 日目）は、ラット（C_{max} は雄で 36.90 µg/mL、雌で 28.40 µg/mL、表 9）の方がイヌ（C_{max} は雄で 4.57 µg/mL、雌で 6.88 µg/mL、表 10）よりかなり高かった。1 日 2 回投与の 4 週間反復投与毒性試験においても、同様の C_{max} の差がイヌとラットの間でみられ、より低い曝露量で MTD に達したことが示唆されることから、plerixafor の急性皮下投与に対する反応性はイヌの方がラットよりも高かった。

1 日 2 回投与（午前と午後に 7 時間の間隔で投与）による 4 週間反復投与毒性試験をラット及びイヌで実施したとき、1 日 1 回投与の 4 週間反復投与毒性試験で決定された MTD を 7 時間の間隔で 2 回投与しても、1 日 2 回投与による毒性の増加は認められなかった（1 日の耐容量は 1 日 2 回投与により倍増した）ことから、急性毒性は plerixafor の C_{max} に関連することが推察された。

要約すると、28～30 日間連続投与後の C_{max} 値は、1 日目又は 2 日目の値と比較してラットで増加する傾向がみられた（約 6～117%の増加）。この増加はイヌでは一定の傾向は見られなかった。4 週間反復投与毒性試験の低用量でみられた急性毒性の発現遅延は、C_{max} が反復投与により高くなったことに起因するとも考え得る。しかし C_{max} 増加は大きなものではなく、4 週間投与の後にみられたものであったのに対し、反復投与毒性試験における重篤な急性毒性は投与 5～9 日目に認められる場合が多かったが、この時点での C_{max} の増加は 4 週間投与後よりかなり低かったと考えられる。このことから、ラット及びイヌにおいて連日反復投与により血漿中 plerixafor 濃度はわずかに増加する可能性があるも

のの、その増加は、連日反復投与毒性試験でみられた急性毒性の発現遅延を説明するには不十分と考えられた。おそらく他のメカニズムが関与していると考えられる。

9.4 遺伝毒性試験及びがん原性試験

Plerixafor は in vitro 及び in vivo 試験の標準バッテリーにおいて遺伝毒性を示さなかった。

予定臨床投与期間が短いため（最長 4 日間）、がん原性試験は実施しなかった。

9.5 生殖発生毒性試験

ラットを用いた plerixafor の胚・胎児発生に関する試験において、吸収胚数増加、胎児体重減少、骨格発達遅延及び胎児異常の増加がみられた。ノックアウトマウスの文献報告では、ホモ接合変異マウスの CXCR4 遺伝子破壊により胎児死亡が発現することが示された。妊娠後期において、CXCR4 が欠損した胎児の多くは死亡し、まれに生存出生児が得られた場合でも数時間以内に死亡した。これらの結果から、CXCR4 は胎児の正常な発生及び機能に不可欠なものと考えられる(1), (2), (3), (4), (5), (6)。CXCR4 は胎児発生において不可欠な役割を果たすことから、妊娠期に plerixafor を投与した場合、胎児に影響を及ぼすリスクが存在すると考えられる。

休薬後の雌受胎能及び胚・胎児発生に関する探索的試験では、雌ラットに plerixafor を 14 日間皮下投与し、2 週間の休薬期間をおいてから交配させ、妊娠 21 日で帝王切開したところ、投与期間中に 15 mg/kg/日の TK サテライト群に死亡がみられ、主試験群でも一般状態変化が認められた。性周期及び生殖パラメータへの影響、剖検所見、帝王切開時検査パラメータ並びに胎児の成長及び発達に対する影響はいずれの用量においても認められなかった。Plerixafor の卵巣中濃度は、交配期間最終日まで検出可能であった。

本剤は化学療法を受ける患者への短期投与を予定しているため、受胎能、並びに出生前及び出生後の発生への影響の評価は必要ないと判断した。なお、反復投与毒性試験において、ラット雌雄生殖器官の重量及び病理組織像には変化はみられず、精子形成段階への影響も認められなかった。

9.6 結論

Plerixafor の投与により、薬理作用に基づく白血球数増加、脾重量増加並びに脾臓及び肝臓における髄外造血増加が認められた。毒性変化として、死亡、神経筋関連の一般状態の変化、摂餌量及び体重の減少、胸腺重量減少並びに胸腺のリンパ組織萎縮が観察された。単回投与及び反復投与毒性試験で動物にみられた plerixafor の用量制限的な急性毒性は、C_{max} に関連したものであった。反復投与毒性試験における標的器官は、造血系及び免疫系の器官と組織、すなわち骨髄、脾臓、肝臓及び胸腺であった。血中及び尿中金属の変化は、Ca 及び Mg の体内動態又は細胞膜電位に対する作用を引き起こした可能性がある。骨塩量及び骨密度の変化は、plerixafor による血中 Ca 及び Mg 変化を介した二次的影響

に関連する可能性、また、体重及び摂餌量に対する影響に起因する可能性があると考えられた。ラット及びウサギにおいて発生毒性が認められた。

がん患者における plerixafor の投与期間は短いことから、得られた試験結果に基づくと、薬理学的用量の plerixafor をヒトに使用した場合の毒性発現リスクは低いと考えられる。

10　図表

図表は本文中に記載した。

参 考 文 献

1. Ma Q, Jones D, Borghesani PR, Segal RA, Nagasawa T, Kishimoto T, Bronson RT, Springer TA. Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis, and derailed cerebellar neuron migration in CXCR4- and SDF-1-deficient mice. Proc Natl Acad Sci USA. 1998;95:9448-53.
2. McGrath KE, Koniski AD, Maltby KM, McGann JK, Palis J. Embryonic expression and function of the chemokine SDF-1 and its receptor, CXCR4. Dev Biol. 1999;213:442-56.
3. Nagasawa T, Hirota S, Tachibana K, Takakura N, Nishikawa S, Kitamura Y, Yoshida N, Kikutani H, Kishimoto T. Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. Nature. 1996;382:635-8.
4. Nagasawa T, Tachibana K, Kishimoto T. A novel CXC chemokine PBSF/SDF-1 and its receptor CXCR4: their functions in development, hematopoiesis and HIV infection. Semin Immunol. 1998;10:179-85.
5. Tachibana K, Hirota S, Iizasa H, Yoshida H, Kawabata K, Kataoka Y, Kitamura Y, Matsushima K, Yoshida N, Nishikawa S, Kishimoto T, Nagasawa T. The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract. Nature. 1998;393:591-4.
6. Zou YR, Kottmann AH, Kuroda M, Taniuchi I, Littman DR. Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development. Nature. 1998;393:595-9.
7. Picardi M, De Rosa G, Selleri C, Scarpato N, Soscia E, Martinelli V, Ciancia R, Rotoli B. Spleen enlargement following recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration for peripheral blood stem cell mobilization. Haematologica. 2003;88:794-800.
8. Wright JR Jr, Yates AJ, Sharma HM, Thibert P. Pathological lesions in the spontaneously diabetic BB Wistar rat: a comprehensive autopsy study. Metabolism. 1983;32:101-5.
9. Dixon D, Heider K, Elwell MR. Incidence of nonneoplastic lesions in historical control male and female Fischer-344 rats from 90-day toxicity studies. Toxicol Pathol. 1995;23:338-48.
10. Crosby WH. Arch Intern Med. 1983;143:1321-2.
11. Moepps B, Braun M, Knöpfle K, Dillinger K, Knöchel W, Gierschik P. Characterization of a Xenopus laevis CXC chemokine receptor 4: implications for hematopoietic cell development in the vertebrate embryo. Eur J Immunol. 2000;30:2924-34.
12. Liang TS, Hartt JK, Lu S, Martins-Green M, Gao JL, Murphy PM. Cloning, mRNA distribution, and functional expression of an avian counterpart of the chemokine receptor/HIV coreceptor CXCR4. J Leukoc Biol. 2001;69:297-305.
13. Fukushima N, Nishina H, Koishihara Y, Ohkawa H. Enhanced hematopoiesis in vivo and in vitro by splenic stromal cells derived from the mouse with recombinant granulocyte colony-stimulating factor. Blood. 1992;80:1914-22.

サノフィ株式会社

モゾビル皮下注 24 mg

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.7 毒性試験概要表

Total number of pages: 60

目　　次

略号と用語の定義 4

1　毒性試験一覧表 6

2　トキシコキネティクス試験の一覧表 11

3　トキシコキネティクス試験成績の一覧 12

4　毒性試験使用ロット 14

5　単回投与毒性試験 16

6　反復投与毒性試験 －重要な試験以外の試験 19

7　反復投与毒性試験 24

8　In Vitro 遺伝毒性試験 41

9　In Vivo 遺伝毒性試験 48

10　がん原性試験 49

11　生殖発生毒性試験－重要な試験以外の試験 50

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 52

13　生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験 53

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 58

15　新生児を用いた試験 58

16　局所刺激性試験 59

17　その他の毒性試験 60

表　目　次

表 2.6.7.1 - Tabulated Summary – Overview - Study Program 6
表 2.6.7.2 - Overview of Toxicokinetics Studies 11
表 2.6.7.3 - Toxicokinetics – Overview of Toxicokinetics Data 12
表 2.6.7.4 - Toxicology Drug Substance 14
表 2.6.7.5 - Single-Dose Toxicity 16
表 2.6.7.6 - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies 19
表 2.6.7.7 A - Repeat-Dose Toxicity – Once daily 4 week SC study in rats 24
表 2.6.7.7 B - Repeat-Dose Toxicity - Once daily 4 week SC additional study in rats 27
表 2.6.7.7 C - Repeat-Dose Toxicity – Twice daily 28 day SC study with 14 day recovery in rats 31
表 2.6.7.7 D - Repeat Dose Toxicity – Once daily 4 week SC study in dogs 34
表 2.6.7.7 E - Repeat Dose Toxicity – Twice daily 28 day SC study with 14 day recovery in dogs 38
表 2.6.7.8 A - Genotoxicity: In Vitro – Ames test 41
表 2.6.7.8 B - Genotoxicity: In Vitro – Chromosomal aberration test 45
表 2.6.7.9 A- Genotoxicity: In Vivo – Micronucleus test 48
表 2.6.7.11 - Reproductive and Developmental Toxicity - Nonpivotal Studies 50
表 2.6.7.13 A - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Embryo-fetal Development 53
表 2.6.7.16 - Local Tolerance 59
表 2.6.7.17 - Other Toxicity Studies 60

略号と用語の定義

ACTH	Adrenocorticotropic hormone（副腎皮質刺激ホルモン）
AUC	Area under the concentration time curve（血漿中濃度ー時間曲線下面積）
BASO	Basophil（好塩基球）
BID	Twice daily dosing（1 日 2 回投与）
C_{max}	The maximal concentration in plasma（最高血漿中濃度）
CSF	Cerebral-spinal fluid（脳脊髄液）
EOS	Eosinophil（好酸球）
EXT	External examination（外表検査）
F	Female（雌）
GD	Gestation day（妊娠日）
GLP	Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準）
IE	Immature erythrocytes（幼若赤血球）
IV	Intravenous（静脈内）
LD_{50}	Lethal dose, 50%（50%致死量）
LYM	Lymphocyte（リンパ球）
M	Male（雄）
M:E	The ratio of myeloid to erythroid（骨髄球：赤芽球比）
ME	Mature erythrocytes（成熟赤血球）
MIE	Micronucleated immature erythrocytes（小核幼若赤血球）
MME	Micronucleated mature erythrocytes（小核赤血球）
MNNG	N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine（N-メチル-N′-ニトロ-N-ニトロソグアニジン）
MONO	Monocyte（単球）
NA	Not applicable（該当せず）
n/a	Not available（該当せず）
ND	Not determined（定義せず）
NEUT	Neutrophil（好中球）
NEUT NSEG	Neutrophils non-segmented（非分節核好中球）
NEUT SEG	Neutrophils segmented（分節核好中球）

NOAEL	No observed adverse effect level（無毒性量）
NOEL	No observed effect level（無影響量）
NTEL	No toxic effect level（非毒性量）
PD1	Post the first daily dose（初回投与後）
PD2	Post the second daily dose（2 回投与後）
PI	Post insemination（授精後）
RBC	Red blood cells（赤血球）
RETIC	Reticulocyte（網状赤血球）
QD	Once daily dosing（1 日 1 回投与）
SC	Subcutaneous（皮下）
SD	Sprague-Dawley
SD	Standard deviation（標準偏差）
SKE	Skeletal examination（骨格検査）
VIS	Visceral examination（内臓検査）
WBC	White blood cells（白血球）
WT	Wilson technique（ウィルソン法）

1　毒性試験一覧表

表 2.6.7.1 - Tabulated Summary – Overview - Study Program

Study Type	Species (Strain)	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor	Location
Single-Dose Toxicity	Mouse (NMRI)	SC	Single dose	0, 2, 14, 20	yes	[redacted] Switzerland	[redacted] 380586	[redacted]	[4.2.3.1-1]
	Mouse (NMRI)	IV	Single dose	0, 2, 5, 8	yes	[redacted] Switzerland	[redacted] 380564	[redacted]	[4.2.3.1-2]
	Rat (WIST)	SC	Single dose	0, 2, 20, 30, 40, 50	yes	[redacted] Switzerland	[redacted] 380575	[redacted]	[4.2.3.1-3]
	Rat (WIST)	IV	Single dose	0, 2, 5, 8	yes	[redacted] Switzerland	[redacted] 379787	[redacted]	[4.2.3.1-4]
	Rat (SD)	SC	Single dose	10	no	[redacted] USA	0835RA69-008	AnorMED	[4.2.3.1-5]
	Rat (WIST (GLx/BRL/Han))	SC	Single dose	0, 10, 20, 30, 40	yes	[redacted] France	GT-249-TX-3	Genzyme	[4.2.3.1-6]
	Pig (Yorkshire)	SC	Up to 4 days	Single dose: 1, 2, 4, 6, 8, 12 Daily for 4 days: 4.75	no	[redacted] USA	AOM0032	AnorMED	[4.2.3.1-7]

表 2.6.7.1 - Tabulated Summary – Overview - Study Program (Continued)

Study Type	Species (Strain)	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor	Location
Repeat-Dose Once Daily Toxicity	Rat (WIST)	SC	14 days	9.49	no	[redacted] Switzerland	GT-249-TX-4	[redacted]	[4.2.3.2-1]
	Rat (WIST)	SC	2 weeks	0, 3, 6, 9, 12	no	[redacted] Switzerland	189DFR-tox 189DFR-tk	[redacted]	[4.2.3.2-2] [4.2.3.2-3]
	Rat (WIST)	SC	4 weeks	0, 0.6, 1.9, 7.6	yes	[redacted] Switzerland	428R-tox 428R-tk	[redacted]	[4.2.3.2-4] [4.2.3.2-5]
	Rat (WIST)	SC	4 weeks	0, 11.4, 15.2	yes	[redacted] Switzerland	432R	[redacted]	[4.2.3.2-6]
	Dog (Beagle)	SC	2 weeks	0, 2, 4, 6	no	[redacted] Switzerland	189DFD-tox 189DFD-tk	[redacted]	[4.2.3.2-7] [4.2.3.2-8]
	Dog (Beagle)	SC	Days 1-3, 8, 16	4, 5, 6	no	[redacted] England	[redacted] SPM030/0883	[redacted]	[4.2.3.2-9]
	Dog (Beagle)	SC	4 weeks	0, 0.25, 1, 4	yes	[redacted] England	[redacted] SPM028/0891-tox [redacted] /SPM028/0891-tk	[redacted]	[4.2.3.2-10] [4.2.3.2-11]

表 2.6.7.1 - Tabulated Summary – Overview - Study Program (Continued)

Study Type	Species (Strain)	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor	Location
Repeat-Dose Twice Daily Toxicity	Rat (Wistar)	SC	1 week	1.5, 6, 12, 24 BID, 36, 50 QD	no	[redacted] Canada	[redacted] 89342	AnorMED	[4.2.3.2-12]
	Rat (SD)	SC	2 weeks	0, 2, 6 BID, 12 QD	no	[redacted] Canada	[redacted] 1663	AnorMED	[4.2.3.2-13]
	Rat (Wistar)	SC	4 weeks	0, 0.3, 0.6, 2, 12 BID	yes	[redacted] Canada	[redacted] 89289	AnorMED	[4.2.3.2-14]
	Dog (Beagle)	SC	1 week	6, 9 BID	no	[redacted] Canada	[redacted] 89349	AnorMED	[4.2.3.2-15]
	Dog (Beagle)	SC	4 weeks	0, 0.15, 0.75, 4 BID	yes	[redacted] Canada	[redacted] 89290	AnorMED	[4.2.3.2-16]
Genotoxicity	*Salmonella typhimurium*	*In vitro*	-	5, 25, 127, 198, 396, 633, 791,1582, 3165 µg/plate	yes	[redacted] Switzerland	Mut.Bakt.15/[redacted]	[redacted]	[4.2.3.3.1-1]
	V79 Chinese hamster cells	*In vitro*	-	158, 633, 1899, 3165 µg/ml	yes	[redacted] Switzerland	Z48	[redacted]	[4.2.3.3.1-2]
	Rat (SD)	SC	Single Dose	0, 6.25, 12.5, 25	yes	[redacted] Canada	[redacted] 960379	AnorMED	[4.2.3.3.2-1]

表 2.6.7.1 - Tabulated Summary – Overview - Study Program (Continued)

Study Type	Species (Strain)	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor	Location
Reproductive and Developmental Toxicity	Rat (SD)	SC	2 weeks, followed by 2-week treatment free period prior to 3-week mating period	0, 3, 15	yes	[redacted] USA	FER0501	sanofi-aventis	[4.2.3.5.1-1]
	Rat (SD)	SC	GD6 through GD17	0, 1, 5, 15, 30	no	[redacted] Canada	[redacted]900518	AnorMED	[4.2.3.5.2-1]
	Rat (SD)	SC	GD6 through GD17	0, 0.5, 3, 15	yes	[redacted] Canada	[redacted]900519	AnorMED	[4.2.3.5.2-2]
	Rabbit (Crl:KBL)	SC	Days 6 through 18 P.I.	0, 0.6, 1.8, 6.1	no	[redacted] Switzerland	6045K	[redacted]	[4.2.3.5.2-3]

表 2.6.7.1 - Tabulated Summary – Overview - Study Program (Continued)

Study Type	Species (Strain)	Route	Duration of Dosing	Doses (mg/kg[a])	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor	Location
Local Tolerance	Rabbit (New Zealand White)	Intradermal	Single Injection	0.2 ml of Formulation A 1.5, 3, 6, 12, 25, 50.1 mg/ml 0.2 ml of Formulation B 1.5, 3, 6, 12, 25, 50, 124.7 mg/ml	no	[redacted] Canada	[redacted] 89679	AnorMED	[4.2.3.6-1]
Other Studies									
Immuno-toxicity	Rat (OFA)	SC	4 days	0, 5.1, 12.7	no	[redacted] Switzerland	107-025	[redacted]	[4.2.3.7.2-1]
Haemolysis	Human whole blood	In vitro	-	0.2 g/ml	yes	[redacted] Canada	[redacted] 60101	AnorMED	[4.2.3.7.7-1]

SC = subcutaneous, IV = intravenous, - = Not applicable, BID = Twice daily, QD = Dose once daily, GD = Gestation Day, P.I. = Post insemination, GLP = Good Laboratory Practices, SD = Sprague-Dawley

[redacted]

a Unless otherwise specified, all doses are expressed as plerixafor (free base) or plerixafor equivalent (1 mg base = 1.58 octahydrochloride anhydrate or 1.65 mg octahydrochloride dihydrate).

2　トキシコキネティクス試験の一覧表

表 2.6.7.2 - Overview of Toxicokinetics Studies

Study Type	Test System	Route	Doses (mg/kg)[a]	GLP Compliance	Study Number	Location
Two week range finding study	Rat	SC	0, 3, 6, 9, 12	no	189DFR-tox 189DFR-tk	[4.2.3.2-2] [4.2.3.2-3]
Four week toxicity study	Rat	SC	0, 0.6, 1.9, 7.6	yes	428R-tox 428R-tk	[4.2.3.2-4] [4.2.3.2-5]
Four week toxicity study	Rat	SC	0, 11.4, 15.2	yes	432R	[4.2.3.2-6]
Four week toxicity study	Rat	SC	0, 0.6, 1.2, 4, 24 (0, 0.3, 0.6, 2, 12 BID)	yes	[redacted] 89289	[4.2.3.2-14]
Two week range finding study	Dog	SC	0, 2, 4, 6	no	189DFD-tox 189DFD-tk	[4.2.3.2-7] [4.2.3.2-8]
Four week toxicity study	Dog	SC	0, 0.25, 1, 4	yes	[redacted] [redacted]SPM028/0891-tox [redacted]/SPM028/0891-tk	[4.2.3.2-10] [4.2.3.2-11]
Four week toxicity study	Dog	SC	0, 0.3, 1.5, 8 (0, 0.15, 0.75, 4 BID)	yes	[redacted] 89290	[4.2.3.2-16]
Single dose study	Pig	SC	1, 2, 4, 6, 8	no	AOM0032	[4.2.3.1-7]
Embryo-fetal developmental study	Rat	SC	0, 0.5, 3, 15	yes	[redacted] 900519	[4.2.3.5.2-2]
Range-finding embryo-fetal developmental study	Rabbit	SC	0, 0.6, 1.8, 6.1	no	6045K	[4.2.3.5.2-3]

a Doses are expressed as plerixafor or plerixafor equivalents.

3　トキシコキネティクス試験成績の一覧

表 2.6.7.3 - Toxicokinetics – Overview of Toxicokinetics Data

Dose (mg/kg[a])	Interval	Steady-State $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)						Study Number
		Rats		Rabbits	Dogs		Humans	
		Male	Female	Female	Male	Female	Male	
0.15 BID[b]	Day 28				575	650		[redacted]89290
0.24 QD							3961	AMD3100-1002
0.25 QD	Week 4				2549	1504		[redacted]/SPM028/0891-tk
0.3 BID[b]	Day 28	819	1055					[redacted]89289
0.5 QD	GD 17		2102					[redacted]900519
0.6 QD	Day 30	18,187	6506					428R-tox, 428R-tk
0.6 QD	Day 18 P.I.			4882[c]				6045K
0.75 BID[b]	Day 28				4470	4926		[redacted]89290
1 QD	Week 4				6915	7611		[redacted]/SPM028/0891-tk
1.8 QD	Day 18 P.I.			11124[c]				6045K
1.9 QD	Day 30	30,360	22,387					428R-tox, 428R-tk
3 QD	GD 17		16751					[redacted]900519
4 QD	Week 4				25,803	39,139		[redacted]/SPM028/0891-tk
4 BID[b]	Day 28				25,713	31,812		[redacted]89290
6.1 QD	Day 18 P.I.			35840[c]				6045K
7.6 QD	Day 30	63,496	62,659					428R-tox, 428R-tk
11.4 QD	Day 29	134,800	110,900					432R
12 BID[b]	Day 28	47,851	41,300					[redacted]89289
15 QD	GD 17		81296					[redacted]900519
15.2 QD	Day 29	NA	161,700					432R

NA = Not Available; no samples, C_{max} = Maximal concentration in plasma, t_{max} = Time of maximal concentration in plasma, AUC = area under curve, QD = Once daily; BID = Twice daily, P.I. = Post insemination.

a Doses are expressed as plerixafor or plerixafor equivalents.

b For twice-daily dosing: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ was the value post the second daily dose.

c $AUC_{(0\text{-}6h)}$

4　毒性試験使用ロット

表 2.6.7.4 - Toxicology Drug Substance

Batch No.	Purity (%w/w oab)	Specified Impurities (%w/w oab)					Study Number	Study Type
		類縁物質* A	類縁物質* B	類縁物質* C	[redacted]	[redacted]		
Proposed Specification	[redacted]	NMT [redacted]	NMT [redacted]	NMT [redacted]	NMT [redacted]	NMT [redacted]	-	-
[redacted]	96.5	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	189DFR-tox	Two-Week Subcutaneous Range-Finding Study in Rats
							189DFD-tox	Two-Week Subcutaneous Range-Finding Study in Dogs
[redacted][a]	Not Tested	0.24	0.69	0.16	Not Reported	1.18	[redacted]380564	Single Dose Intravenous Study in Mice
							[redacted]380586	Single Dose Subcutaneous Study in Mice
							[redacted]379787	Single Dose Intravenous Study in Rats
							[redacted]380575	Single Dose Subcutaneous Study in Rats
							428R-tox	Four-Week Once Daily Subcutaneous Study in Rats
							432R	An Additional Four-Week Once Daily Subcutaneous Study in Rats
							[redacted]SPM028/0891-tox	Four-Week Once Daily Subcutaneous Study in Dogs
							6045K	Range-Finding Embryo-Foetal Development Study in Rabbits

＊新薬承認情報提供時に置換

表 2.6.7.4 - Toxicology Drug Substance (Continued)

Batch No.	Purity (%w/w oab)	Specified Impurities (%w/w oab)					Study Number	Study Type
		類縁物質* A	類縁物質* B	類縁物質* C	[redacted]	[redacted]		
[redacted][a]	Not Tested	0.24	0.69	0.16	Not Reported	1.18	Mut.Bakt.15/[redacted]	Ames Test
							Z48	Chromosomal Aberration Test *In Vitro*
[redacted]	101.8	0.14	0.16	Not detected	Not Reported	0.07	[redacted] 89342	7-day twice daily subcutaneous range-finding study in rats
							[redacted] 89349	7-day twice daily subcutaneous range-finding study in dogs
							[redacted] 1663	2 week once daily versus twice daily subcutaneous study in rats
							[redacted] 89289	28-day twice daily subcutaneous study in rats
							[redacted] 89290	28-day twice daily subcutaneous study in dogs
							[redacted] 89679	Intradermal Irritation study in rabbits
[redacted]	99.3	0.26	0.34	0.12	< 0.05	< 0.03	[redacted] 960379	Micronucleus test in rats
							[redacted] 900518	Range-finding embryo-foetal development study in rats
							[redacted] 900519	Embryo-foetal development study in rats
[redacted]	102.1	0.12 % area (A and B together)		0.05 % (including impurity J)	n/a	n/a	AOM0032	MTD and 4 day repeat dose study in pigs
[redacted]	99.6	n/a					FER0501	Investigative subcutaneous fertility and embryo-fetal development study in female rats

n/a＝ not available

a Some toxicology report reference batch [redacted], which was manufactured by aliquoting and lyophilizing batch [redacted] into vials for easy handling in the toxicology labs.

＊新薬承認情報提供時に置換

5 単回投与毒性試験

表 2.6.7.5 - Single-Dose Toxicity

Test article: Plerixafor

Species (Strain)	Route (Vehicle)	Dose (mg/kg) Free Base Equivalent	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings (mg/kg)	Study Number
Mouse (NMRI)	SC (Saline)	0 2 14 20	5M 5F	2	14	≥ 14: Mortality; Sedation, dyspnea, spasms, ventral recumbency, abnormal posture LD_{50} = 16.30 mg/kg	[redacted] 380586
Mouse (NMRI)	IV (Saline)	0 2 5 8	5M 5F	2	5	≥ 2: Sedation 5: Dyspnea ≥ 5: Mortality; spasms 8: Ventral recumbency LD_{50} = 5.2 mg/kg	[redacted] 380564
Rat (WIST)	SC (Saline)	0 2 20 30 40 50	5M 5F	30	40	≥ 20: Sedation, dyspnea, spasms, lateral or ventral recumbency, uncoordinated movement. ≥ 30: ↓ body weight gain, ruffled fur ≥ 40: Mortality, hunched posture LD_{50} > 50 mg/kg	[redacted] 380575

表 2.6.7.5 - Single-Dose Toxicity (Continued)

Species (Strain)	Route (Vehicle)	Dose (mg/kg) Free Base Equivalent	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings (mg/kg)	Study Number
Rat (WIST)	IV (Saline)	0 2 5 8	5M 5F	2	5	≥ 2: Sedation 5: Ventral recumbency ≥ 5: Mortality, dyspnea, spasms LD_{50} = 5.2 mg/kg	[redacted] 379787
Rat (SD)	SC (Saline)	10	9M	Not Applicable	Not Applicable	10: Maximum mobilisation of WBCs observed at 6 hours post dosing; increase in WBCs due primarily to increase in neutrophils and to lesser extent to monocytes, eosinophils, and basophils; RBCs and platelets were not mobilized; RBCs decreased at 4 to 24 hours post-dosing	0835RA69-008
Rat (WIST (GLx/BRL/ Han))	SC (Saline)	0 10 20 30 40	15F	30	40	≥ 10: Decreased total plasma protein, albumin ≥ 30: Piloerection, hypoactivity, blepharoptosis; decreased blood pH, decreased plasma magnesium, increased plasma inorganic phosphorus; decreased urine pH, sodium, potassium 40: Mortality; lateral recumbency, sedation, hypoactivity, bradypnea; decreased urine chloride, increased urine volume, decreased urine density	GT-249-TX-3

表 2.6.7.5 - Single-Dose Toxicity (Continued)

Species (Strain)	Route (Vehicle)	Dose (mg/kg) Free Base Equivalent	Gender and No. per Group	Observed Maximum Non-lethal Dose (mg/kg)	Approximate Lethal Dose (mg/kg)	Noteworthy Findings (mg/kg)	Study Number
Pig (Yorkshire)	SC (Saline or sodium citrate)	1 2 4 6 8 12 4.75 (daily for 4 days)	1M	8	12	≥ 1: increases in WBC 4: loose faeces 8: lateral recumbency, uncomfortable appearance 12: 1/1 M died	AOM 0032

M = male, F = female, LD_{50} = Lethal dose, 50%, RBC = red blood cell, WBC = white blood cell.

6　反復投与毒性試験 ー重要な試験以外の試験

表 2.6.7.6 - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies

Test article: Plerixafor

Species (Strain)	**Route (Vehicle)**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg) Free Base Equivalent**	**Gender and No. per Group**	**NOAEL (mg/kg)**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
Rat (WIST)	SC (Water)	14 days	9.49	4F	Not Reported	9.49: Copper and zinc - Urinary excretion greatly increased at all times, concentrations in urine less than that of plerixafor, plasma concentrations not affected; Calcium and magnesium – Both show stable decrease in plasma concentrations, urine calcium concentrations progressively increased to two fold over control by study end, urine calcium concentrations higher than plerixafor, magnesium levels in urine not affected.	GT-249-TX-4

表 2.6.7.6 - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies (Continued)

Species (Strain)	Route (Vehicle)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) Free Base Equivalent	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Rat (WIST)	SC (Saline)	16 days (9 days for 12 mg/kg/day group)	0 3 6 9 12	4M 4F	Not Reported	≥ 3: Sedation and piloerection; ↑ blood iron, ↑ urine calcium; ↑spleen size, ↑ extramedullary haematopoiesis and megakaryocytes in the liver and spleen, histiocyte aggregates and/or focal lymphoid hyperplasia in the thymus, birefringent deposits, dermatitis, inflammation, haemorrhage, necrosis and muscle degeneration and regeneration at injection sites ≥ 6: Recumbency, twitching, and laboured respiration; ↓ blood calcium and magnesium; ↑ spleen weights ≥ 9: Mortality; ↓ rectal temperature, ↓ body weight gain, ↓ haemoglobin and/or RBC, ↑ WBC, ↑ reticulocytes 12: ↑ blood phosphorus; hemorrhagic fluid in abdomen Toxicokinetics: Increasing plasma levels with rising doses, increase of Cmax becomes underproportional at higher doses, mean maximal plasma concentrations higher in male than female, 1 hour plasma samples higher on day 2 than day 9 or 16. Plerixafor disappears rapidly from rat plasma	189DFR-tox

表 2.6.7.6 - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies (Continued)

Species (Strain)	Route (Vehicle)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) Free Base Equivalent	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Rat (Wistar)	SC (Saline)	Up to 7 days (5 days for 6 BID and a single dose for 36 and 50)	1.5 BID 6 BID 12 BID 24 BID 36 50	2M 2F	12 BID	≥ 24 BID: Mortality; ↓ activity, cold to touch, head tilt, partly closed eyes, non-sustained convulsion, uncoordination and tremors ≥ 36: Mortality; weakness, recumbency, shallow and irregular breathing, skin pallor, and vocalization	[redacted] 89342
Rat (SD)	SC (Saline)	14 days	0 4 BID 12 BID 12 QD	5F	12 BID 12 QD	4 and 12 BID: No findings 12 QD: No findings	[redacted] 1663
Dog (Beagle)	SC (Vehicle not specified)	Days 1-3, 8, and 16	4.0[a] (Day 1-3) 5.0[a] (Day 16) 6.0[a] (Day 8)	1M 1F	Not Reported	≥ 4.0: Transient increase pulse rate and reduction blood pressure; slight increase in rectal temperature at 0.5 hr and decrease at 2 hours (not measured at higher dose levels) ≥ 5.0: Hypoactivity, salivation, ataxia, hunched posture, tremors prostration, retching, emesis and excessive drinking, recovery seen at 1 hour post dose; slight reduction pulse pressure and marked increase in pulse rate 6.0: Ears cold to touch, pale gums/ears, vomiting	[redacted] / SPM030/ 0883

表 2.6.7.6 - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies (Continued)

Species (Strain)	Route (Vehicle)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) Free Base Equivalent	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Dog (Beagle)	SC (Saline)	15 days (10 days for 6 mg/kg group)	0 2 4 6	1M 1F	< 2	≥ 2: Diarrhoea, emesis; ↑ heart rate by 50-100 % at 1 h post dose; ↑ lymphocytes, ↓ plasma magnesium, 2-3 fold increases in CSF calcium levels; ↑ plasma aldosterone; ↑ extramedullary hematopoiesis in the liver ≥ 4: Salivation, tremor, ataxia, impaired balance, sedation, and mydriasis; ↓ body weight gains. 6: Mortality (sacrifice); abnormal posture, increased defecation, twitches, weak legs, lateral recumbency, apathy, pale oral mucous membrane, ptosis and protrusion of the nictitating membrane; ↓ food consumption; ↓ rectal temperature; ↑ platelets, ↑ plasma ACTH and cortisol; moderate fibrinoid necrosis of the myocardial blood vessel wall with minimal necrosis and fibrosis in adjacent myocardium. Toxicokinetics: Increase in maximal plasma levels and AUC with rising doses, no significant effect of dose or gender on dose normalized C_{max} and AUC_{0-24}, significant increase in normalized C_{max} and AUC after prolonged administration, rapid disappearance of drug from dog plasma	189DFD-tox
Dog (Beagle)	SC (Saline)	Up to 7 days (a single dose for 9 BID)	6 BID 9 BID	1M 1F	< 6 BID	≥ 6 BID: Incoordination, limited use of limbs, tremors, ↓ activity; ↑ WBC 9 BID: Mortality, severe salivation, tremors/convulsions, difficult breathing; ↑ heart rate	[redacted] 89349

表 2.6.7.6 - Repeat-Dose Toxicity - Nonpivotal Studies (Continued)

Species (Strain)	Route (Vehicle)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) Free Base Equivalent	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number
Pig (Yorkshire)	SC (Saline or sodium citrate)	4 days	4.75	1M	4.75	No findings	AOM 0032

M = male, F = female, ACTH = Adrenocorticotropic hormone, CSF = cerebral-spinal fluid, NOAEL = No Observed Adverse Effect Level, SD = Sprague-Dawley

a The report does not indicate whether the dose levels were based on free base equivalents or salt form.

7 反復投与毒性試験

表 2.6.7.7 A - Repeat-Dose Toxicity – Once daily 4 week SC study in rats

Report Title: [redacted] **SID 791: A 4-Week Subcutaneous Toxicity Study in Rats**								
Species (Strain): Rat (HanIbm WIST)	**Duration of Dosing:** Once daily for 4 weeks				**Test article:** Plerixafor			
Initial Age: 8 weeks	**Duration of Postdose:** 5 weeks				**Study No.** 428R-tox, 428R-tk			
Date of First Dose: 19 April 19[redacted]	**Route:** SC				**Location:** [4.2.3.2-4], [4.2.3.2-5]			
Special Features: None	**Vehicle/Formulation:** Saline / Solution				**GLP Compliance:** Yes			
No Observed Effect Level: 0.6 mg/kg/day **No Observed Adverse Effect Level:** 1.9 mg/kg/day								
Daily Dose: plerixafor (mg/kg)	**0**		**0.6**		**1.9**		**7.6**	
Plerixafor Octahydrochloride (mg/kg)	**0**		**1**		**3**		**12**	
Number of Animals	**M**: 16	**F**: 16	**M**: 10	**F**: 10	**M**: 10	**F**: 10	**M**: 16	**F**: 16
Toxicokinetics:								
AUC $_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)								
Day 1	-	-	8764	3310	21,896	19,598	56,999	67,449
Day 30	-	-	18,187	6506	30,360	22,387	63,496	62,659
C_{max} (ng/mL)								
Day 1	-	-	2451	1390	6084	4890	17,130	16,979
Day 30	-	-	2726	1868	7548	6247	26,605	27,069
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)[a]	319 g	211 g	-3	-1	3	-2	-3	-5
Food Consumption (%)[a]	179 g	141 g	-5	-4	-7	0	-3	-4
Clinical Observations								
Recumbency, ventral	-	-	-	-	-	-	present	present
Twitching	-	-	-	-	-	-	present	present
Rales	-	-	-	-	-	-	present	present
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Rectal Temperature	-	-	-	-	-	-	-	-

表 2.6.7.7 A - Repeat-Dose Toxicity – Once daily 4 week SC study in rats (continued)

Report Title: [redacted] SID 791: A 4-Week Subcutaneous Toxicity Study in Rats					Study No. [428R-tox] [428R-tk] (continued)			
Daily Dose: plerixafor (mg/kg)	**0**		**0.6**		**1.9**		**7.6**	
Plerixafor Octahydrochloride (mg/kg)	**0**		**1**		**3**		**12**	
Number of Animals	**M: 16**	**F: 16**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 16**	**F: 16**
Haematology (Week 5)								
WBC (x10^3/µL)	7.67	4.55	7.98	6.46**	9.06	6.84**	14.51**	8.40**
NEUT (/µL)	1225	766	1116	795	1628	976	3995##	1566##
NEUT (%)	16.6	17.1	14.2	12.7#	17.8	14.5	27.5##	19.0
LYM (/µL)	5886	3418	6155	5259#	6441	5249#	8441##	5819##
LYM (%)	76.1	75.1	77.3	81.0	71.3#	76.6	58.3##	69.0
MONO (/µL)	241	144	338	211	545#	279#	1210##	554##
MONO (%)	3.2	3.2	4.1	3.3	6.0#	4.1	8.3##	6.6##
EOS (/µL)	139	80	109	93	109	123	354##	190##
BASO (/µL)	29	20	49	16	58	35	110##	58#
Serum Chemistry (Week 5)								
Mg (mmol/L)	1.16	1.19	1.08*	1.18	1.08*	1.20	0.99**	1.11*
Urinalysis (Week 5)								
Ca (mmol/24h)	0.019	0.039	0.025	0.033	0.041#	0.050	0.080##	0.071
Mg (mmol/24h)	0.27	0.19	0.24	0.20	0.28	0.20	0.37#	0.24
Organ Weights								
Spleen (g)	0.66	0.56	0.67	0.64	0.79*	0.69**	0.87**	0.72**
Spleen (% BW)	0.215	0.280	0.223	0.315	0.250#	0.352##	0.297##	0.373##
Thymus (g)	0.39	0.36	0.33	0.38	0.36	0.33	0.30#	0.32
Liver (g)	11.8	7.9	10.9	7.8	11.5	7.5	11.2	8.2
Liver (% BW)	3.76	3.98	3.62	3.85	3.63	3.81	3.80	4.24*
Gross Pathology								
Number examined	16	16	10	10	10	10	16	16
Injection site, hemorrhagic imbibation	1	0	1	1	0	0	5	3

表 2.6.7.7 A - Repeat-Dose Toxicity – Once daily 4 week SC study in rats (continued)

Report Title: [redacted] SID 791: A 4-Week Subcutaneous Toxicity Study in Rats					Study No. [428R-tox] [428R-tk] (continued)			
Daily Dose: plerixafor (mg/kg)	**0**		**0.6**		**1.9**		**7.6**	
Plerixafor Octahydrochloride (mg/kg)	**0**		**1**		**3**		**12**	
Number of Animals	**M: 16**	**F: 16**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 16**	**F: 16**
Histopathology								
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Liver: Haematopoiesis								
Minimal	4	6	4	9	9	8	6	7
Slight	0	0	1	1	0	2	3	2
Injection site: Haemorrhage								
Slight	0	0	1	1	1	0	3	2
Moderate	1	0	0	0	0	0	1	1
Injection site: Inflammation								
Minimal	1	2	2	3	1	4	1	2
Slight	0	2	0	3	2	2	2	5
Moderate	0	0	2	0	0	0	4	1
Additional Examinations								
Bone marrow: M:E	1.06	1.09	NE	NE	NE	NE	1.15	0.83
Post dose Evaluation:								
Number Evaluated	6	6	0	0	0	0	6	6
NEUT (/µL)	1084	783	NE	NE	NE	NE	1610$	832
MONO (/µL)	194	212	NE	NE	NE	NE	411$	209

Statistical Analysis: * = p < 0.05, ANOVA+Dunnett's test, ** = p < 0.01, ANOVA+Dunnett's test, # = p < 0.05, Kruskal Wallis+Dunn's test, ## = p < 0.01 Kruskal Wallis+Dunn's test

$ = p < 0.05 Mann Whitney U test

- = No noteworthy findings, NE = Not examined, M = male, F = female, BW= Body weight, NEUT = Neutrophils, LYM = Lymphocytes, MONO = Monocytes, EOS = Eosinophils, BASO = Basophils, M:E = the ratio of myeloid to erythroid

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

表 2.6.7.7 B - Repeat-Dose Toxicity - Once daily 4 week SC additional study in rats

Report Title: [redacted] SID 791: An Additional 4-week Subcutaneous Toxicity Study in Rats						
Species (Strain): Rat (HanIbm WIST)		**Duration of Dosing:** Once daily for 4 weeks			**Test article:** Plerixafor	
Initial Age: 8 weeks		**Duration of Post dose:** 7 weeks			**Study No.** 432R	
Date of First Dose: 7 June 19[redacted]		**Route:** SC			**Location:** [4.2.3.2-6]	
Special Features: Special bone examinations, staging of spermatogenesis		**Vehicle/Formulation:** Saline / Solution			**GLP Compliance:** Yes	
No Observed Adverse Effect Level: < 11.4 mg/kg						
Daily Dose: plerixafor (mg/kg)	**0**		**11.4**		**15.2**	
Plerixafor Octahydrochloride (mg/kg)	**0**		**18**		**24**	
Number of Animals	**M: 16**	**F: 16**	**M: 16**	**F: 16**	**M: 16**	**F: 16**
Toxicokinetics						
AUC $_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)						
Day 1	-	-	125,600	111,800	139,900	129,400
Day 29	-	-	134,800	110,900	Not done	161,700
C_{max} (ng/mL)						
Day 1	-	-	36,900	28,400	33,400	32,100
Day 29	-	-	47,800	47,000	Not done	54,600
Noteworthy Findings						
Died or Sacrificed Moribund	-	-	-	-	9 (main study) 4 (TK)	8 (main study) 2 (TK)
Body Weight (%)[a]	307 g	192 g	-8	-4	-9	-7
Food Consumption (%)[a]	158 g/week	116 g/week	-11[#]	-7	-16[#]	-14[#]
Clinical Observations						
Recumbency, ventral	-	-	present	present	present	present
Hyperexcitation	-	-	present	present	present	present
Twitching	-	-	-	-	present	present
Respiration, laboured	-	-	present	present	present	present
Necrosis at injection site	-	present	present	-	present	present

表 2.6.7.7 B - Repeat-Dose Toxicity - Once daily 4 week SC additional study in rats (continued)

Report Title: [redacted] SID 791: An Additional 4-week Subcutaneous Toxicity Study in Rats			Study No. 432R (continued)			
Daily Dose: plerixafor (mg/kg)	**0**		**11.4**		**15.2**	
Plerixafor Octahydrochloride (mg/kg)	**0**		**18**		**24**	
Number of Animals	**M: 16**	**F: 16**	**M: 16**	**F: 16**	**M: 16**	**F: 16**
Rectal Temperature	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-
Haematology						
WBC (x10^3/µL)	6.25	4.14	10.41**	7.12$^{\#\#}$	11.23**	9.77$^{\#\#}$
NEUT (/µL)	982	752	2976$^{\#\#}$	1628$^{\#\#}$	2911$^{\#\#}$	2730$^{\#\#}$
NEUT (%)	16.4	19.0	28.2$^{\#\#}$	22.7	25.4$^{\#}$	26.0
LYM (/µL)	4809	3134	6009	4654$^{\#}$	6897$^{\#}$	5732$^{\#\#}$
LYM (%)	76.2	75.1	58.0$^{\#\#}$	65.5$^{\#}$	62.0$^{\#\#}$	61.6$^{\#}$
MONO (/µL)	248	124	906$^{\#\#}$	504$^{\#\#}$	859$^{\#\#}$	840$^{\#\#}$
MONO (%)	4.0	2.9	8.8$^{\#\#}$	7.1$^{\#\#}$	7.6$^{\#}$	7.8$^{\#\#}$
EOS (/µL)	103	63	221$^{\#\#}$	183$^{\#\#}$	247$^{\#\#}$	239$^{\#\#}$
EOS (%)	1.7	1.5	2.1$^{\#}$	2.6$^{\#\#}$	2.2	2.5$^{\#}$
BASO (/µL)	25	14	82$^{\#\#}$	38$^{\#}$	83$^{\#\#}$	55
RETIC (%)	3.0	2.9	2.6	2.4*	2.4	2.3*
Serum Chemistry						
Mg (mmol/L)	1.19	1.30	1.08**	1.22	0.98**	1.25
Ca (mmol/L)	2.17	2.12	2.20	2.21	2.22	2.26*
Urinalysis						
Ca (mmol/24h)	0.014	0.032	0.036$^{\#\#}$	0.044	0.056$^{\#\#}$	0.054$^{\#}$
Mg (mmol/24h)	0.21	0.16	0.30$^{\#\#}$	0.23$^{\#\#}$	0.31	0.23$^{\#}$

表 2.6.7.7 B - Repeat-Dose Toxicity - Once daily 4 week SC additional study in rats (continued)

Report Title: [redacted] SID 791: An Additional 4-week Subcutaneous Toxicity Study in Rats	Study No. 432R (continued)					
Daily Dose:plerixafor (mg/kg)	**0**		**11.4**		**15.2**	
Plerixafor Octahydrochloride (mg/kg)	**0**		**18**		**24**	
Number of Animals	**M: 16**	**F: 16**	**M: 16**	**F: 16**	**M: 16**	**F: 16**
Organ Weights						
Heart (g)	1.02	0.73	0.91	0.70	0.83*	0.65
Liver (g)	11.7	6.8	10.1*	7.1	9.0**	7.0
Spleen (g)	0.73	0.59	0.84	0.69	0.82	0.78*
Spleen (% BW)	0.244	0.328	0.304##	0.386#	0.314##	0.453##
Thymus (g)	0.42	0.31	0.25##	0.27	0.3#	0.24#
Thymus (% BW)	0.141	0.170	0.091##	0.148	0.112#	0.143
Gross Pathology						
Number Evaluated (excluding decedents)	10	10	10	10	5	6
Injection site, hemorrhagic	3	6	6	4	4	3
Histopathology						
Number examined (excluding decedents)	10	10	10	10	5	6
Adrenals: Haematopoiesis, Minimal	0	0	0	1	0	2
Injection site: Haemorrhage						
Minimal	1	5	2	2	0	0
Slight	1	1	2	2	3	1
Moderate	1	0	2	0	1	2
Injection site: Inflammation						
Minimal	5	4	4	4	0	1
Slight	0	1	3	5	2	4
Moderate	0	0	3	0	3	1

表 2.6.7.7 B - Repeat-Dose Toxicity - Once daily 4 week SC additional study in rats (continued)

Report Title: [redacted] SID 791: An Additional 4-week Subcutaneous Toxicity Study in Rats			Study No. 432R (continued)			
Daily Dose:plerixafor (mg/kg)	**0**		**11.4**		**15.2**	
Plerixafor Octahydrochloride (mg/kg)	**0**		**18**		**24**	
Number of Animals	**M: 16**	**F: 16**	**M: 16**	**F: 16**	**M: 16**	**F: 16**
Liver: Haematopoiesis						
Minimal	0	3	9	5	5	3
Slight	0	0	0	5	0	2
Moderate	0	0	0	0	0	1
Spleen: Haematopoiesis						
Minimal	3	6	5	3	1	2
Slight	0	0	0	7	1	4
Thymus: Atrophy, Minimal	0	1	10	8	5	4
Additional Examinations						
Bone marrow: M:E	1.06	0.88	NE	NE	0.91	0.86
Tibia	N = 20		N = 20		N = 11	
Mineral Content (mg)	163.3		148.2		135.8	
Mineral Density (mg/cm^2)	112.9		110.6		107.2$	
Humerus	N = 20		N = 20		N = 11	
Mineral Content (mg)	97.0		83.6$		79.6$	
Mineral Density (mg/cm^2)	106.2		104.8		102.4$$	
Radiography Density						
Treatment Period	1105		1011$$		985$$	
Recovery Period	1250		1247		1184	
Post dose Evaluation						
Number Examined	6	6	6	6	2	2
Noteworthy Findings	-	-	-	-	-	-

Statistical Analysis: * = p < 0.05, ANOVA + Dunnett's test, ** = p < 0.01, ANOVA + Dunnett's test, # = p < 0.05, Kruskal Wallis + Dunn's test, ## = p < 0.01, Kruskal Wallis + Dunn's test, $ = p < 0.05, ANOVA + Levene F-test + Bonferroni adjusted, $$ = p < 0.01, ANOVA + Levene F-test + Bonferroni adjusted

- = No noteworthy finding, NE= Not examined, RETIC = Reticulocytes

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).

表 2.6.7.7 C - Repeat-Dose Toxicity – Twice daily 28 day SC study with 14 day recovery in rats

Report Title: A 28-Day Twice Daily Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMD3100 Free Base in the Albino Rat with a 14-day Recovery Period										
Species (Strain): Rat (Wistar)			**Duration of Dosing:** Twice daily for 4 weeks				**Test article:** Plerixafor			
Initial Age: 7 weeks			**Duration of Post dose:** 14 days				**Study No.** [redacted]89289			
Date of First Dose: 1 February 20[redacted]			**Route:** SC				**Location:** [4.2.3.2-14]			
Special Features: None			**Vehicle/Formulation:** Saline / Solution				**GLP Compliance:** Yes			
No Observed Adverse Effect Level: 24 mg/kg/day (12 mg/kg BID)										
Daily Dose: plerixafor (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.6 (0.3 BID)**		**1.2 (0.6 BID)**		**4 (2 BID)**		**24 (12 BID)**	
Number of Animals	**M**: 15	**F**: 15	**M**: 15	**F**: 15	**M**: 15	**F**: 15	**M**: 15	**F**: 15	**M**: 15	**F**: 15
Toxicokinetics:										
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)										
Day 1 (PD1 & PD2)	-	-	972	973	-	-	-	-	65,940	67,856
Day 28 (PD2 only)	-	-	819	1055	-	-	-	-	47,851	41,300
C_{max} (ng/mL)										
Day 1 (PD1)	-	-	441	380	-	-	-	-	12,343	12,232
Day 1 (PD2)	-	-	394	441	-	-	-	-	11,070	13,582
Day 28 (PD2)	-	-	417	501	-	-	-	-	23,974	19,809
Noteworthy Findings										
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	1 (Day 32[c])	0	0
Day 28 Body Weight (%)[a]	292.7g	174.9g	1	1	-4	2	-4	2	-7*	3
Week 4 Food Consumption (%)[a]	144.5g/animal	105.4g/animal	1	-3	1	-1	-1	-4	-6	0
Clinical Observations										
Increased respiration rate	-	-	-	-	-	-	-	-	2/15	-
Abnormal breathing sounds	-	-	-	-	-	-	-	-	2/15	-
Increased vocalization	-	-	-	-	-	-	-	-	2/15	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表 2.6.7.7 C - Repeat-Dose Toxicity – Twice daily 28 day SC study with 14 day recovery in rats (continued)

Report Title: A 28-Day Twice Daily Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMD3100 Free Base in the Albino Rat with a 14-day Recovery Period					Study No. [redacted] 89289					
Daily Dose: plerixafor (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.6 (0.3 BID)**		**1.2 (0.6 BID)**		**4 (2 BID)**		**24 (12 BID)**	
Number of Animals	**M**: 15	**F**: 15	**M**: 15	**F**: 15	**M**: 15	**F**: 15	**M**: 15	**F**: 15	**M**: 15	**F**: 15
Haematology										
WBC (x10^3/mm^3)	4.6	2.7	4.6	3.6	5.4	3.8	7.2**	4.8**	9.0**	7.6**
NEUT (/mm^3)	493	447	474	314	663	472	1413##	788	2495##	2234##
NEUT (%)	10.5	16.0	10.2	9.0**	11.8	12.4	19.7**	16.9	26.1**	28.7**
LYM (/mm^3)	4025	2230	3939	3203	4558	3239	5429*	3823**	5818**	5013**
LYM (%)	87.5	82.3	86.5	88.6	84.8	85.2	75.4**	79.3	66.6**	66.7**
MONO (/mm^3)	49.7	28.3	121.0	44.2	123.3	33.3	271.9#	76.9	419.2##	133
MONO (%)	1.1	0.8	2.8	1.1	2.4	1.1	3.7	1.8	4.6##	2.0
EOS (/mm^3)	41.9	24.4	25.9	39.2	48.8	44.2	77.1	90.2	248.1#	197.4**
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	Increased ALT, Decreased Mg	-
Urinalysis										
Ca	10.1	22.9	13.6	20.0	10.6	26.3	22.7##	27.9	41.7##	52.2**
Bone Marrow Smear	-	-	NE	NE	NE	NE	NE	NE	-	-
Organ Weights										
Spleen (g) (%)[b]	0.6103	0.4174	3	8	-3	6	9	15	15	25**
Spleen (% BW)	0.21600	0.24608	0.21590	0.26081	0.21960	0.25657	0.24527	0.27352	0.27092**	0.29883**
Thymus (g) (%)[b]	0.57035	0.37652	-14	14	-14	18	-24**	15	-38**	-8
Thymus (% BW)	0.20219	0.22329	0.17029*	0.24852	0.18084	0.25799	0.16018**	0.24468	0.13748**	0.19685
Kidney (g) (%)[b]	2.0047	1.2857	1	4	0.39	4	-5	9	0.46	5
Kidney (% BW)	0.71059	0.76410	0.69369	0.77454	0.74165	0.77931	0.70177	0.79443	0.78639*	0.77537
Liver (g) (%)[b]	7.6741	4.7323	10	2	0.32	4	4	5	5	11
Liver (% BW)	2.71896	2.79789	2.89712	2.78346	2.84037	2.86994	2.93714#	2.83141	3.14731###	3.00229
Gross Pathology										
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Injection Site										
Clot	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Dark area	3	0	0	1	1	0	4	2	5	5

表 2.6.7.7 C - Repeat-Dose Toxicity – Twice daily 28 day SC study with 14 day recovery in rats (continued)

Report Title: A 28-Day Twice Daily Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMD3100 Free Base in the Albino Rat with a 14-day Recovery Period					Study No. [redacted] 89289					
Daily Dose: plerixafor (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.6 (0.3 BID)**		**1.2 (0.6 BID)**		**4 (2 BID)**		**24 (12 BID)**	
Number of Animals	**M**: 15	**F**: 15	**M**: 15	**F**: 15	**M**: 15	**F**: 15	**M**: 15	**F**: 15	**M**: 15	**F**: 15
Histopathology										
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Injection site scapular										
Haemorrhage	3	1	0	0	1	0	1	1	4	4
Inflammation, adipose tissue	3	1	0	0	0	0	0	0	2	4
Inflammation, subcutis	0	0	0	0	0	0	1	1	3	2
Post Dose Evaluation:										
WBC ($x10^3/mm^3$)	4.0	2.1	4.2	2.6	4.6	2.7	3.8	2.6	5.2	3.6**
NEUT ($/mm^3$)	589	343	502	353	558	415	451	324	1320**	759**
NEUT (%)	14.3	16.2	11.6	13.8	12.4	15.4	12.0	13.0	24.8**	21.4
LYM ($/mm^3$)	3323	1682	3581	2156	3848	2249	3233	2146	3611	2706
LYM (%)	82.8	81.4	84.6	83.4	83.8	82.4	84.8	83.8	69.2**	75.6
MONO ($/mm^3$)	65	36	92	8	87	4	74	18	161	44
MONO (%)	1.8	1.6	2.2	0.4	2.2	0.2	2.0	0.8	3.2	1.2
EOS ($/mm^3$)	50	18	65	63	59	52	42	63	147*	71
EOS (%)	1.3	0.8	1.6	2.4	1.4	2.0	1.2	2.5	2.8	1.8

Statistical Analysis: * = $p < 0.05$, Dunnett's test, ** = $p < 0.01$, Dunnett's test, # = $p < 0.05$, Dunn's test, ## = $p < 0.01$, Dunn's test, ### = $p < 0.001$, Dunn's test

- = No noteworthy findings, NE = Not examined, M = male, F = female, PD1 = Post the first daily dose, PD2 = Post the second daily dose

a 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 Absolute weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights.

c The cause of death was determined to be the development of urinary bladder calculi and not treatment related.

表 2.6.7.7 D - Repeat Dose Toxicity – Once daily 4 week SC study in dogs

Report Title: [redacted] SID 791 ([redacted] 282 791): Toxicity Study by Subcutaneous Administration to Beagle Dogs for 4 Weeks Followed by a 2 Week Reversibility Period								
Species (Strain): Dog (Beagle)			**Duration of Dosing:** Once daily for 4 weeks			**Test article:** Plerixafor		
Initial Age: 16-18 weeks			**Duration of Post dose:** 2 weeks			**Study No.** [redacted]/SPM028/0891-tox [redacted]/SPM028/0891-tk		
Date of First Dose: 31 May 19[redacted] (M) and 1 June 19[redacted] (F)			**Route:** SC					
Special Features: None			**Vehicle/Formulation:** Placebo / Solution			**Location:** [4.2.3.2-10], [4.2.3.2-11]		
No Observed Effect Level: 0.25 mg/kg/day						**GLP Compliance:** Yes		
Daily Dose: plerixafor (mg/kg/day)	**0**		**0.25**		**1**		**4**	
Number of Animals	**M:** 5	**F:** 5	**M:** 3	**F:** 3	**M:** 3	**F:** 3	**M:** 5	**F:** 5
Toxicokinetics								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg·h/mL)								
Day 2	-	-	2.06	1.59	4.58	6.26	22.68	31.29
Day 28	-	-	2.55	1.50	6.92	7.61	25.80	39.14
C_{max} (µg/mL)								
Day 2	-	-	0.27	0.22	0.87	1.09	4.57	6.88
Day 28	-	-	0.29	0.19	1.24	1.30	6.09	12.14
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight (%)[a]	11.4 kg	10.5 kg	5	-7	-1	-3	-2	-8
Food Consumption (%)[b]	2800 g	2690 g	0	-3	0	-8	-4	-12
Week 4 Water Consumption (mL/kg/day)	100	110	70	90	80	100	100	100

表 2.6.7.7 D - Repeat-Dose Toxicity – Once daily 4 week SC study in dogs (continued)

Report Title: [redacted] SID 791 ([redacted] 282 791): Toxicity Study by Subcutaneous Administration to Beagle Dogs for 4 Weeks Followed by a 2 Week Reversibility Period					Study No. [redacted]/SPM028/0891-tox [redacted]/SPM028/0891-tk (continued)			
Daily Dose: plerixafor (mg/kg/day)	**0**		**0.25**		**1**		**4**	
Number of Animals	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5
Clinical Observations								
Hypoactivity	0	0	0	0	0	0	2	0
Thin build	0	0	0	0	0	0	0	1
Diarrhoea	4	4	2	1	3	3	5	4
Injection Site								
Redness	0	0	0	1	0	0	0	0
Swelling	1	0	0	0	0	0	1	1
Scab	0	0	0	0	0	0	1	1
Scar	0	1	0	0	0	0	0	0
Thickening	2	0	1	0	2	2	5	5
Neurological Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Rectal Temperature	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography								
Week 4 (30 min post dose)								
Heart Rate (b/min)	129	142	123	128	128	124	163*	163
P interval (ms)	39	36	41	38	35	37	34	38
R interval (ms)	104	93	105	86	99	89	82*	88
QRS interval (ms)	39	38	39	37	35	39	38	40
ST interval (ms)	147	142	153	153	146	140	128*	120
QT interval (ms)	186	180	192	190	181	179	166*	160
QTc interval (ms)	270	272	275	273	264	253	272	263

表 2.6.7.7 D - Repeat-Dose Toxicity – Once daily 4 week SC study in dogs (continued)

Report Title: [redacted] SID 791 ([redacted] 282-791): Toxicity Study by Subcutaneous Administration to Beagle Dogs for 4 Weeks Followed by a 2 Week Reversibility Period					Study No. [redacted]/SPM028/0891-tox [redacted]/SPM028/0891-tk (continued)			
Daily Dose: plerixafor (mg/kg/day)	**0**		**0.25**		**1**		**4**	
Number of Animals	**M**: 5	**F**: 5	**M**: 3	**F**: 3	**M**: 3	**F**: 3	**M**: 5	**F**: 5
Week 4 (2 hr post dose)								
Heart Rate (b/min)	132	137	126	125	130	138	147	157
P interval (ms)	39	37	37	36	39	35	38	37
PR interval (ms)	102	96	99	85	100	87	86	88
QRS interval (ms)	36	37	37	39	33	37	36	38
ST interval (ms)	147	134	149	148	141	132	140	125
QT interval (ms)	182	171	187	187	175	169	176	163
QTc interval (ms)	270	257	270	268	256	255	273	262
Mean Heart Rate (/min)								
Day 1 (30 min post dose)	131-140	144-162	122-141	89-132	140-159	141-166	156-161	149-183
Week 4	127-132	137-142	123-135	125-129	128-136	124-138	147-163	151-163
Blood Pressure	-	-	-	-	-	-	-	-
Pulse rate (beat/min)	132	158	120	127*	120	133	116	146
Haematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis								
Volume (mL)	69	70	111	64	47	60	90	41
Specific gravity	1058	1055	1061	1063	1057	1042	1055	1049
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Additional Examinations								
Bone Marrow, M:E	1.8	2.1	2.1	2.2	2.5	2.2	2.4	2.7
Post Dose Evaluation:								
Number Evaluated	2	2	0	0	0	0	2	2
Noteworthy Findings	-	-	-	-	-	-	-	-

- = No noteworthy finding, Statistical Analysis: * = $p < 0.05$, Student's t-test

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

b Last week of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

表 2.6.7.7 E - Repeat Dose Toxicity – Twice daily 28 day SC study with 14 day recovery in dogs

Report Title: A 28-Day Twice Daily Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMD3100 Free Base in the Beagle Dog With a 14-Day Recovery Period								
Species (Strain): Dog (Beagle)		**Duration of Dosing:** Twice daily for 4 weeks			**Test article:** Plerixafor			
Initial Age: 7 months		**Duration of Post dose:** 14 days			**Study No.** [redacted]89290			
Date of First Dose: 17 February 20[redacted]		**Route:** SC			**Location:** [4.2.3.2-16]			
Special Features: None		**Vehicle/Formulation:** Saline / Solution			**GLP Compliance:** Yes			
No Observed Adverse Effect Level: 8.0 mg/kg/day (4 mg/kg BID)								
Daily Dose: plerixafor (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.3 (0.15 BID)**		**1.5 (0.75 BID)**		**8 (4 BID)**	
Number of Animals	**M**: 4	**F**: 4	**M**: 3	**F**: 3	**M**: 3	**F**: 3	**M**: 4	**F**: 4
Toxicokinetics								
$AUC_{0\text{-}24h}$ (ng·h/mL)								
Day 1 (PD1 & PD2)	-	-	1034	1166	7533	8710	51,267	59,456
Day 28 (PD2 only)[a]	-	-	575	650	4470	4926	25,713	31,812
C_{max} (ng/mL)								
Day 1 (PD1)	-	-	176	248	1132	1363	7278	8339
Day 1 (PD2)			186	192	1158	1454	14,088	13,235
Day 28 (PD2)	-	-	169	188	1070	1302	8261	9257
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Day 28 Body Weight (%)[b]	9.75 kg	8.85 kg	-11	-9	-8	-13	-2	-13
Week 4 Food Consumption (%)[c]	283.8	286.2	-18	-19	-3	-27	-3	-22
Clinical Observations								
Salivation	-	-	-	-	-	-	present	present
Thin	-	-	-	-	present	present	-	-
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-

表 2.6.7.7 E - Repeat-Dose Toxicity – Twice daily 28 day SC study with 14 day recovery in dogs (continued)

Report Title: A 28-Day Twice Daily Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMD3100 Free Base in the Beagle Dog With a 14-Day Recovery Period					Study No. [redacted] 89290 (continued)			
Daily Dose: plerixafor (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.3 (0.15 BID)**		**1.5 (0.75 BID)**		**8 (4 BID)**	
Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 4**	**F: 4**
Haematology								
WBC (x10^3/mm^3)	10.8	10.0	13.8	13.5	18.1*	14.1	21.2**	14.6
NEUT SEG (/mm^3)	5784.5	5674.8	5959.7	6204.0	11,072.0	6618.7	14,346.8*	9253.5
NEUT SEG (%)	53.3	56.3	45.0	47.0	61.3	46.7	66.0	62.5
NEUT NSEG (/mm^3)	0.0	0.0	0.0	0.0	70.3	229.7*	112.8	258.0**
NEUT NSEG (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	1.7*	0.5	1.8**
LYM (/mm^3)	4189.3	3937.5	7196.3	6952.7*	6223.3	6494.0	5891.0	4244.0
LYM (%)	39.0	40.0	50.7	50.3	34.3	46.7	29.3	30.0
MONO (/mm^3)	275.0	146.0	396.0	232.7	412.7	289.0	593.5	546.5
MONO (%)	2.8	1.5	2.7	1.7	2.3	2.0	3.0	3.8
Serum Chemistry								
Globulin (g/dL)	2.3	2.4	2.2	1.9**	2.2	1.9*	2.0	1.9**
Albumin/Globulin ratio	1.60	1.52	1.67	2.04**	1.63	1.90*	1.84	1.94*
Mg (mg/dL)	1.6	1.7	1.5	1.7	1.5	1.3**	1.2**	1.0**
Urinalysis								
Ca (mg/dL)	4.6	7.9	4.4	7.7	10.3	12.2	14.1*	17.8*
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology								
Number examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Injection site: Area dark	1	2	0	1	2	2	1	2

表 2.6.7.7 E - Repeat-Dose Toxicity – Twice daily 28 day SC study with 14 day recovery in dogs (continued)

Report Title: A 28-Day Twice Daily Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMD3100 Free Base in the Beagle Dog With a 14-Day Recovery Period					Study No. [redacted] 89290 (continued)			
Daily Dose: plerixafor (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.3 (0.15 BID)**		**1.5 (0.75 BID)**		**8 (4 BID)**	
Number of Animals	**M: 4**	**F: 4**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 4**	**F: 4**
Histopathology								
Number examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Injection Site:								
Haemorrhage	1	2	0	1	2	0	1	2
Inflammation, adipose tissue	1	3	0	2	3	1	2	2
Liver: Cytoplasmic rarefaction	0	1	0	0	0	0	3	2
Post dose Evaluation:								
Number examined	1	1	0	0	0	0	1	1
Noteworthy Findings	-	-	-	-	-	-	-	-

- = No noteworthy finding

Statistical Analysis: * = $p < 0.05$, Dunnett's test, ** = $p < 0.01$, Dunnett's test

PD1 = Post the first daily dose, PD2 = Post the second daily dose, NEUT SEG = Neutrophils segmented, NEUT NSEG = Neutrophils non-segmented, SEG = Segmented

a $AUC_{0\text{-}17h}$

b For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

c Last week of dosing period. For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

8 In Vitro 遺伝毒性試験

表 2.6.7.8 A - Genotoxicity: In Vitro – Ames test

Report Title: [redacted] **SID 791 Mutagenicity Test Using *Salmonella typhimurium***		
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	**No. of Independent Assays:** 4	**Test article:** Plerixafor
Strains: *S. typhimurium*	**No. of Replicate Cultures:** 3	**Study No.** Mut.Bakt. 15[redacted]
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9-mix	**No. of Cells Analyzed/Culture:** -	**Location:** [4.2.3.3.1-1]
Vehicles: Test Article: Distilled water **Positive Controls:** DMSO		**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Plate incorporation for 96 hours		**Date of Treatment:** 25 March 19[redacted]
Cytotoxic Effects: Bacteriotoxic for TA100 and TA102 at 3165 µg plerixafor equivalent/plate (+/-S9), for TA1535 and TA98 at 3165 µg plerixafor equivalent/plate (-S9), and TA98 and TA100 at 1582 µg plerixafor equivalent/plate (-S9).		
Genotoxic Effects: None		

Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/plate)**	**Assay #1 Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**				
			TA1535	**TA97a**	**TA98**	**TA100**	**TA102**
With Activation	Distilled water	-	16 ± 2.6	167 ± 5.7	33 ± 5.7	98 ± 11.0	343 ± 12.8
	Plerixafor Octahydrochloride	5	17 ± 2.6	169 ± 4.9	31 ± 7.4	99 ± 21.1	353 ± 35.3
		25	15 ± 1.0	158 ± 14.1	35 ± 5.5	101 ± 9.5	390 ± 2.6
		127	18 ± 3.8	167 ± 9.5	27 ± 0.6	102 ± 8.7	364 ± 12.7
		633	12 ± 2.5	161 ± 1.0	36 ± 1.7	100 ± 11.9	133 ± 5.7
		3165	15 ± 8.3	153 ± 8.0	29 ± 11.2	86 ± 1.5	374 ± 21.4
	Aminoanthracene	3	191 ± 17.5	782 ± 36.5	1918 ± 76.2	1311 ± 47.6	1120 ± 90.6
	Benzo(a)pyrene	3			478 ± 32.8		

表 2.6.7.8 A - Genotoxicity: In Vitro – Ames test (continued)

Report Title: [redacted] SID 791 Mutagenicity Test Using *Salmonella typhimurium*			Study No. Mut.Bakt. 15[redacted] (continued)				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/plate)**	**Assay #1 Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**				
			TA1535	**TA97a**	**TA98**	**TA100**	**TA102**
Without Activation	Distilled water	-	19 ± 0.6	152 ± 11.0	30 ± 10.1	85 ± 5.3	309 ± 12.2
	Plerixafor Octahydrochloride	5	21 ± 2.5	161 ± 9.6	33 ± 1.0	86 ± 6.6	295 ± 11.1
		25	17 ± 9.2	169 ± 9.3	27 ± 3.1	86 ± 3.2	307 ± 11.7
		127	18 ± 4.6	167 ± 9.5	25 ± 4.2	91 ± 10.0	296 ± 15.0
		633	24 ± 1.7	175 ± 2.6	25 ± 6.2	81 ± 8.1	318 ± 11.7
		3165	15 ± 1.0	157 ± 1.0	27 ± 5.0	57 ± 0.6	183 ± 18.0
	MNNG	3	441 ± 79.9			846 ± 32.9	
	Aminoacridine	100		1281 ± 197			
	Nitrofluorene	2			138 ± 10.7		
	Mitomycin C	0.5					1097 ± 171

表 2.6.7.8 A - Genotoxicity: In Vitro – Ames test (continued)

Report Title: [redacted] SID 791 Mutagenicity Test Using *Salmonella typhimurium*			Study No. Mut.Bakt. 15[redacted] (continued)				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/plate)**	**Assay #2 Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**				
			TA1535	**TA97a**	**TA98**	**TA100**	**TA102**
With Activation	Distilled water	-	16 ± 0.6	175 ± 3.1	39 ± 3.5	110 ± 2.0	345 ± 13.6
	Plerixafor Octahydrochloride	198	12 ± 2.0	198 ± 16.3	34 ± 4.0	138 ± 18.0	349 ± 30.0
		396	19 ± 1.0	204 ± 11.3	28 ± 2.1	129 ± 2.5	372 ± 29.5
		791	17 ± 9.0	195 ± 29.0	36 ± 5.6	133 ± 8.2	349 ± 28.6
		1582	14 ± 2.3	209 ± 9.2	30 ± 3.5	111 ± 8.1	302 ± 24.9
		3165	13 ± 4.4	192 ± 7.5	33 ± 5.0	78 ± 12.5	148 ± 26.8
	Aminoanthracene	3	237 ± 15.5	816 ± 57.2	1842 ± 60.4	1013 ± 55.7	802 ± 57.8
	Benzo(a)pyrene	3			460 ± 37.3		
Without Activation	Distilled water	-	13 ± 3.5	141 ± 5.7	32 ± 3.8	48 ± 21.9	217 ± 27.1
	Plerixafor Octahydrochloride	198	12 ± 2.9	181 ± 19.1	30 ± 6.6	66 ± 18.0	238 ± 11.7
		396	15 ± 2.1	175 ± 8.1	33 ± 8.1	71 ± 3.8	168 ± 11.4
		791	17 ± 3.2	185 ± 14.7	28 ± 1.5	55 ± 6.7	162 ± 28.0
		1582	18 ± 4.0	119 ± 26.5	21 ± 4.0	32 ± 28.0	107 ± 24.7
		3165	16 ± 4.4	175 ± 7.8	18 ± 2.5	*a*	150 ± 18.5
	MNNG	3	1103 ± 35.8			54 ± 9.0	
	Aminoacridine	100		739 ± 171			
	Nitrofluorene	2			186 ± 12.5		
	Mitomycin C	0.5					1255 ± 44.4

表 2.6.7.8 A - Genotoxicity: In Vitro – Ames test (continued)

Report Title: [redacted] SID 791 Mutagenicity Test Using *Salmonella typhimurium*			Study No. Mut.Bakt. 15/[redacted] (continued)				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/plate)**	**Assay #3 Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**				
			TA1535	**TA97a**	**TA98**	**TA100**	**TA102**
With Activation	Aminoanthracene	3	266 ± 11.6			1224 ± 321	
Without Activation	Distilled water	-	24 ± 9.7			121 ± 4.7	
	Plerixafor Octahydrochloride	198	24 ± 2.6			121 ± 16.2	
		396	20 ± 4.5			115 ± 7.1	
		791	17 ± 4.6			106 ± 3.6	
		1582	20 ± 0.6			82 ± 3.1	
		3165	34 ± 2.6			90 ± 12.7	
	MNNG	3	1306 ± 109			1258 ± 36.0	
Metabolic Activation	**Test Article**	**Dose Level (µg/plate)**	**Assay #4 Revertant Colony Counts (Mean ± SD)**				
			TA1535	**TA97a**	**TA98**	**TA100**	**TA102**
With Activation	Aminoanthracene	3					840 ± 35.5
Without Activation	Distilled water	-					325 ± 6.0
	Plerixafor Octahydrochloride	198					344 ± 12.8
		396					350 ± 20.6
		791					368 ± 29.1
		1582					359 ± 5.0
		3165					276 ± 23.2
	Mitomycin C	0.5					1253 ± 24.5

MNNG = N-Methyl-N'-Nitro-N-Nitrosoguanidine, SD = Standard deviation

a Small colony or no background growth

表 2.6.7.8 B - Genotoxicity: In Vitro – Chromosomal aberration test

Report Title: Chromosomal Aberration Test with V79 Chinese Hamster Cells		
Test for Induction of: Chromosome aberrations	**No. of Independent Assays:** 3	**Test article:** Plerixafor
Strains: V79 Chinese hamster Cells	**No. of Replicate Cultures:** 2	**Study No.** Z48
Metabolizing System: Aroclor-induced rat liver S9-mix	**No. of Metaphases Analyzed/Culture:** 100	**Location:** [4.2.3.3.1-2]
Vehicles: **Test Article:** culture media **Positive Controls:** culture media		**GLP Compliance:** Yes
Treatment: Continuous treatment for 20 h without S9, for 3 h with S9	**Date of Treatment:** Study start 03.28.19[redacted] and 04.05.19[redacted]	
Cytotoxic Effects: non-reproducible dose dependent decrease in mitotic indices in the absence of metabolic activation; no decrease in mitotic indices in the presence of metabolic activation		
Genotoxic Effects: Increased frequency of chromosomal aberrations with 3165 µg/mL without metabolic activation observed in assay #1, not reproducible (assays #2 and 3) therefore plerixafor is not considered clastogenic		

Assay #1

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Cytotoxicity[a] (% of control)	Aberrant Cells (Mean %)
Without Activation	Culture media	-	100.0	1.0
	Plerixafor Octahydrochloride	158	64.7	ND
		316	43.5	ND
		633	55.3	0.5
		1266	77.6	ND
		1899	69.4	1.5
		2532	76.5	ND
		3165	60	14.1
	Ethyl methanesulphonate	15 (mmol/L)	ND	5.0
With Activation	Culture media	-	100.0	1.5
	Plerixafor Octahydrochloride	158	96.9	ND
		316	89.9	ND
		633	101.0	0.5
		1266	105.2	ND
		1899	96.9	1.0
		2532	117.7	ND
		3165	107.3	1.5
	Cyclophosphamide	17.5 (µmol/L)	ND	42.0

表 2.6.7.8 B - Genotoxicity: In Vitro – Chromosomal aberration test (continued)

Report Title: Chromosomal Aberration Test with V79 Chinese Hamster Cells		**Study No.** Z48 (continued)		
Assay #2				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (µg/mL)**	**Cytotoxicity[a] (% of control)**	**Aberrant Cells (Mean %)**
Without Activation	Culture media	-	100.0	1.0
	Plerixafor Octahydrochloride	158	105.2	0.5
		316	85.7	ND
		633	63.6	0.0
		1266	36.4	ND
		1899	40.3	2.5
		2532	36.4	ND
		3165	32.5	2.0
	Ethyl methanesulphonate	12.5 (mmol/L)	ND	13.0
With Activation	Culture media	-	100.0	0.5
	Plerixafor Octahydrochloride	158	100.0	ND
		316	112.7	ND
		633	102.7	1.0
		1266	111.8	ND
		1899	107.3	1.0
		2532	104.5	ND
		3165	86.3	0.5
	Cyclophosphamide	17.5 (µmol/L)	ND	38.0

表 2.6.7.8 B - Genotoxicity: In Vitro – Chromosomal aberration test (continued)

Report Title: Chromosomal Aberration Test with V79 Chinese Hamster Cells		**Study No.** Z48 (continued)		
Assay #3				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration (μg/mL)**	**Cytotoxicity[a] (% of control)**	**Aberrant Cells (Mean %)**
Without Activation	Culture media	-	100	1.5
	Plerixafor Octahydrochloride	158	82.4	1.5
		316	92.4	ND
		633	72.1	0.0
		1266	83.8	ND
		1899	73.5	1.5
		2532	72.1	ND
		3165	57.4	3.5
	Ethyl methanesulphonate	15.0 (mmol/L)	ND	14.0

ND = not determined

a Based on mitotic index.

9 In Vivo 遺伝毒性試験

表 2.6.7.9 A- Genotoxicity: In Vivo – Micronucleus test

Report Title: AMD3100 Free Base – Rat Micronucleus Test		
Test for induction of: Bone marrow micronuclei	**Treatment Schedule:** Single administration	**Test article:** Plerixafor
Species (Strain): Rat (SD)	**Sampling Time:** 24 and 48 hours after dosing	**Study No:** [redacted] 960379
Age: 39–46 days	**Method of Administration:** gavage for positive control group, SC for test article and vehicle control groups	**Location:** [4.2.3.3.2-1]
Cells Evaluated: immature/mature erythrocytes		**GLP Compliance:** Yes
No. of Cells Analyzed/Animal: 2000	**Vehicle/Formulation:** Saline / Solution	**Date of Dosing:** 28 September 20[redacted]
Special Features: none		
Toxic/Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		
Evidence of Exposure: None		

24 hour sampling time

Test Article	Dose (mg/kg)	No. of Animals	Mean % IE/(IE+ME)	Mean Incidence[a] MIE male	Mean Incidence[a] MIE female	Incidence MIE[a] (M +F)	Incidence MME[b] (M + F)
Vehicle	-	5M + 5F	46	1.6	3.0	2.3	0.0
Plerixafor	6.25	5M + 5F	48	2.6	2.6	2.6	0.0
	12.5	5M + 5F	45	2.6	2.6	2.6	0.0
	25	5M + 5F	46	2.2	1.4	1.8	0.0
Cyclophosphamide	20	3M + 3F	41	47.7	39.0	43.3***	0.0

48 hour sampling time

Test Article	Dose (mg/kg)	No. of Animals	Mean % IE/(IE+ME)	Mean Incidence[a] MIE male	Mean Incidence[a] MIE female	Incidence MIE[a] (M +F)	Incidence MME[b] (M + F)
Vehicle	-	5M + 5F	45	2.2	1.6	1.9	0.0
Plerixafor	25	5M + 5F	45	1.8	1.4	1.6	0.0

Statistical Analysis: *** = $p < 0.001$, resampling (bootstrap)

IE = Immature erythrocytes, MIE = Micronucleated immature erythrocytes, ME = mature erythrocytes, MME=Micronucleated mature erythrocytes

a Number of micronucleated cells observed per 2000 immature erythrocytes examined.

b Number of micronucleated mature erythrocytes observed (mean value expressed per 2000 mature erythrocytes examined)

10　がん原性試験

化学療法を受ける患者への短期投与を予定しているため、評価は不要と判断した。

11　生殖発生毒性試験－重要な試験以外の試験

表 2.6.7.11 - Reproductive and Developmental Toxicity - Nonpivotal Studies

Test article: Plerixafor

Species (Strain)	Route (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rat (Crl:SD)	SC (None; administered undiluted [20 mg/mL] with dose volume adjusted for different dose groups)	2 weeks, followed by 2-week treatment free period prior to 3-week mating period	0 3 15	22 Females + 15 Females for TK	3: No significant findings. 15: Mortality in 6 TK satellite females, and adverse clinical signs and decreased body weight and food consumption during the dosing period. No adverse effects on reproductive parameters or fetal growth and development. ≥3: Concentrations of plerixafor detectable in ovaries up to last day of cohabitation.	FER0501
Rat (Crl:SD)	SC (Saline)	GD 6 through GD 17	0 1 5 15 30	6 Pregnant Females	1: No significant findings. ≥ 5: ↓ foetal weights. ≥15: ↓ maternal weight gains and live foetuses, ↑ resorptions and post-implantation loss, oemphalocele in one foetus. 30: 2 dams died and 4 dams sacrificed	[redacted] 900518

表 2.6.7.11 - Reproductive and Developmental Toxicity - Nonpivotal Studies (Continued)

Species (Strain)	Route (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rabbit (Crl:KLB)	SC (Saline)	Day 6 through Day 18 P.I.	0 0.6 1.8 6.1	6 Pregnant Females	≥0.6: ↓ Maternal weight gain and food consumption. ≥1.8: Maternal lethality, clinical signs, body weight loss. Dams - Cortical tubular necrosis, mineralization, and nephrosis in the kidney at 1.8. Foetus - Total malformations (3/33 foetuses) - toe aplasia (1/33), and head malformation (2/33). 6.1: ↓ litter size, ↑ pre- and post-implantation loss. Dams - Lipidosis and inflammation in the liver. Foetus - Total malformations (1/3 foetuses) - toe aplasia, and head malformation NTEL: Dams = ≤ 0.6 mg/kg; foetuses = 0.6 mg/kg	6045K

NTEL = no toxic effect level

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

化学療法を受ける患者への短期投与を予定しているため、評価は不要と判断した。

13　生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験

表 2.6.7.13 A - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Embryo-fetal Development

Report Title: AMD3100: A Subcutaneous Injection Teratology Study In the Rat					
Design similar to ICH 4.1.3: Yes		**Duration of Dosing:** GD6 through GD17		**Test article:** Plerixafor	
Species (Strain): Rat (SD)		**Day of Mating:** Day 0		**Study No.** [redacted]900519	
Initial Age: 76-83 days		**Day of C-Section:** GD21		**Location:** [4.2.3.5.2-2]	
Date of First Dose: 29 November 20[redacted]		**Route:** SC			
Special Features: None		**Vehicle/Formulation:** Saline / Solution		**GLP Compliance:** Yes	
No Observed Adverse Effect Level:					
F_0 Females: Not established					
F_1 Litters: 3 mg/kg/day					
Daily Dose (Plerixafor mg/kg)		**0 (Control)**	**0.5**	**3**	**15**
Dams:	Toxicokinetics:				
	$AUC_{0\text{-}24h}$ (µg·h/mL)				
	Day 6	-	3.154	14.056	63.475
	Day 17	-	2.102	16.751	81.296
	C_{max} (µg/mL)				
	Day 6	-	0.843	4.574	13.369
	Day 17	-	0.924	5.951	23.047
	No. Pregnant	22	22	22	21
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	1[a]	0
	No. Aborted or with Total Resorption of Litter	0	0	0	0

表 2.6.7.13 A - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Embryo-fetal Development (continued)

Report Title: AMD3100: A Subcutaneous Injection Teratology Study In the Rat		Study No. [redacted] 900519 (continued)			
Daily Dose (Plerixafor mg/kg)		0 (Control)	0.5	3	15
Dams:	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Day 18 Body Weight (%[b])	352.5 g	-2	-4	-8***
	Day 15-18 Food Consumption (%[b])	31g/animal/day	-6	-13***	-13***
	Gravid Uterus Weight (g)	100.5	93.9	96.8	83.9
	Mean No. Corpora Lutea	16.6	16.4	17.0	17.6
	Mean No. Implantations	14.2	13.5	14.3	14.2
	Mean % Pre-implantation Loss	13.7	17.1	13.6	18.5

表 2.6.7.13 A - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Embryo-fetal Development (continued)

Report Title: AMD3100: A Subcutaneous Injection Teratology Study In the Rat		Study No. [redacted] 900519 (continued)							
Daily Dose (Plerixafor mg/kg)		0 (Control)		0.5		3		15	
Litters:	No. Litters Evaluated	22		22		21		21	
	No. Live Foetuses	13.7		12.6		13.3		12.3	
	Mean No. Resorptions	0.5		0.9		1.0		1.9###	
	Mean No. Early Resorptions	0.5		0.9		1.0		1.4##	
	Mean No. Middle Resorptions	0		0		0		0.2	
	Mean No. Late Resorptions	0		0		0		0.2	
	No. of Litters with Dead Foetuses	0		0		0		1	
	Mean % Post-implantation loss	3.8		6.1		7.1		13.5###	
	Mean Foetal Body Weight (g)	5.49		5.56		5.47		4.90***	
	Foetal Sex Ratios (% males)	48.8		51.0		48.7		48.5	
	Foetal Anomalies	Litters	Foetuses	Litters	Foetuses	Litters	Foetuses	Litters	Foetuses
	External (EXT)	22	301	22	278	21	280	21	259
	Visceral (VIS)	22	152	22	141	21	141	21	133
	Skeletal (SKE)	22	149	22	139	21	140	21	130
	Technique of Wilson (WT)	22	152	22	141	21	140	21	129
	Major Malformations (Total)	3	3	1	2	1	1	13$$	20$$$
	Cranium								
	Cyst at parietal/frontal bones (EXT) (WT)	0	0	0	0	0	0	1	1
	Head								
	Hydrocephaly (WT)	2	2	0	0	0	0	9$	11$$
	Severe dilatation of the olfactory ventricles (WT)	0	0	0	0	0	0	3	6$$
	Eyes								
	Anophthalmia (EXT) (WT)	1	1	0	0	0	0	1	1
	Microphthalmia (EXT) (WT)	0	0	0	0	0	0	1	1

表 2.6.7.13 A - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Embryo-fetal Development (continued)

Report Title: AMD3100: A Subcutaneous Injection Teratology Study In the Rat		Study No. [redacted] 900519 (continued)							
Daily Dose (Plerixafor mg/kg)		0 (Control)		0.5		3		15	
		Litters	Foetuses	Litters	Foetuses	Litters	Foetuses	Litters	Foetuses
Litters:	Heart								
	Globular heart (VIS)	0	0	0	0	0	0	1	1
	Dilatation of the ascending aorta (VIS)	0	0	0	0	0	0	1	1
	Ringed aorta (VIS)	0	0	0	0	0	0	2	2
	Interventricular septal defect (VIS)	0	0	0	0	0	0	3	3
	Dilatation of pulmonary truncus (VIS)	0	0	0	0	0	0	2	2
	Stenosis of descending aorta (VIS)	0	0	0	0	0	0	1	1
	Abdomen								
	Omphalocele (EXT)	0	0	0	0	1	1	1	1
	Anal atresia (EXT)	1	1	0	0	1	1	1	1
	Abdominal Cavity								
	Intestine: Stenosis (VIS)	1	1	0	0	0	0	1	1
	Tail								
	Absent (acaudia) (EXT)	0	0	0	0	0	0	1	1
	Shortened (microcaudia) (EXT)	1	1	0	0	1	1	1	1
	Limbs								
	Digits of hindpaw shortened (brachydactyly) (EXT)	0	0	0	0	0	0	1	1

表 2.6.7.13 A - Reproductive and Developmental Toxicity - Effects on Embryo-fetal Development (continued)

Report Title: AMD3100: A Subcutaneous Injection Teratology Study In the Rat		Study No. [redacted] 900519 (continued)							
Daily Dose (Plerixafor mg/kg)		0 (Control)		0.5		3		15	
		Litters	Foetuses	Litters	Foetuses	Litters	Foetuses	Litters	Foetuses
Litters:	Minor External and Visceral Anormalies (Total)	2	2	2	4	4	5	9$	13$$
	Head								
	Moderate dilation of the lateral ventricles (WT)	0	0	0	0	0	0	3	3
	Moderate dilation of olfactory ventricles (WT)	0	0	0	0	0	0	2	2
	Minor Skeletal Anomalies (Total)	15	40	15	27	10	18$$	19	38
	Vertebral Column								
	Sacral vertebral arches unossified	0	0	0	0	0	0	4$	4$
	Thoracic vertebral centrum displaced from midline	0	0	0	0	0	0	14$$$	21$$$
	Common Skeletal Variants								
	Thoracic centrum variants (unossified / incomplete / semi-bipartite / bipartite) (% Foetuses/Litter)	9.4		17.4		34.9###		87.3###	
	Sternebra 5 and Xiphisternum (unossified / incomplete / semi-bipartite / bipartite) (% Foetuses/Litter)	9.0		5.5		8.8		39.6###	

Statistical Analysis: *** = p < 0.001, Dunnett's test, ## = p < 0.01, Wilcoxon rank-sum test, ### = p < 0.001, Wilcoxon rank-sum test, $ = p < 0.05, Fisher's test, $$ = p < 0.01, Fisher's test, $$$ = p < 0.001, Fisher's test

EXT = external examination, VIS = visceral examination, SKE = skeletal examination, WT = Wilson technique

a Female No. 3515, administered 3 mg/kg/day, was euthanized in poor condition on Day 19 of gestation. Based on the gross pathological findings, it was not possible to determine the cause of its poor condition. Based on the gross pathological findings, it was not possible to determine the cause of its early euthanasia.

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).

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

化学療法を受ける患者への短期投与を予定しているため、評価は不要と判断した。

15　新生児を用いた試験

小児は対象患者に含まれないことから、評価は不要と判断した。

16　局所刺激性試験

表 2.6.7.16 - Local Tolerance

Test article: Plerixafor

Species (Strain)	Route	Doses (mg/ml)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Rabbit (New Zealand White)	Intracutaneous: Formulation A – HCl base	0.2 ml of Formulation A – 1.5, 3, 6, 12, 25, 50.1	Formulation A – 1M + 2F	Formulation A is classified as a slight irritant at concentrations of 3, 6, 12, 25, and 50.1 mg/mL, and a negligible irritant at concentrations of 1.5 mg/mL.	[redacted] 89679	[4.2.3.6-1]
	Intracutaneous: Formulation B – Citric acid base	0.2 ml of Formulation B – 1.5, 3, 6, 12, 25, 50, 124.7	Formulation B – 2M + 1F	Formulation B is classified as a slight irritant at concentrations of 25, 50 and 124.7 mg/mL, and a negligible irritant at concentrations of 1.5, 3, 6, and 12 mg/mL; one rabbit administered six intradermal injections was euthanized within 1 hour of dosing due to severe clinical signs.		

17　その他の毒性試験

表 2.6.7.17 - Other Toxicity Studies

Test article: Plerixafor

Study Type Species (Strain)	Route	Doses	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number	Location
Immunotoxicity Rat (OFA)	SC	5.1 and 12.7 mg/kg/day	5F	Plerixafor did not suppress the primary antibody (IgM) formation	107-025	[4.2.3.7.2-1]
In Vitro Haemolysis Human whole blood	*In vitro*	0.2 µg/mL	2M + 2F	Plerixafor did not show any significant *in vitro* haemolysis or flocculating effect following an incubation of one hour with human whole blood.	[redacted] 60101	[4.2.3.7.7-1]