テクフィデラカプセル 120mg
テクフィデラカプセル 240mg

第 2 部（モジュール 2）: CTD の概要（サマリー）

2.6.6　毒性試験の概要文

バイオジェン・ジャパン株式会社

目次

頁
2.6.6.1 まとめ 11
2.6.6.2 単回投与毒性試験 16
2.6.6.2.1 マウスを用いたフマル酸ジメチルの経口単回投与毒性試験（試験番号 PD05-27） 17
2.6.6.2.2 マウスを用いたフマル酸ジメチルの腹腔内単回投与毒性試験（試験番号 PD05-24） 18
2.6.6.2.3 Sprague-Dawley ラットを用いたフマル酸ジメチルの経口単回投与毒性試験（試験番号 PD05-25） 19
2.6.6.2.4 Sprague-Dawley ラットを用いたフマル酸ジメチルの腹腔内単回投与毒性試験（試験番号 PD05-26） 20
2.6.6.2.5 非げっ歯類における急性毒性評価 21
2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクスを含む） 21
2.6.6.3.1 マウス 24
2.6.6.3.1.1 C57/BL/6 マウスを用いた BG00012 の 28 日間強制経口投与用量設定毒性試験（試験番号 P00012-04-02） 24
2.6.6.3.1.2 CD-1 マウスを用いたフマル酸ジメチルの 13 週間強制経口投与用量設定試験（試験番号 P00012-04-10） 26
2.6.6.3.2 ラット 28
2.6.6.3.2.1 ラットを用いた BG00012 の 3 ヵ月間強制経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（試験番号 P00012-04-01） 28
2.6.6.3.2.2 ラットを用いたフマル酸ジメチルの 6 ヵ月間強制経口投与毒性試験（試験番号 P00012-04-06） 33
2.6.6.3.3 イヌ 36
2.6.6.3.3.1 イヌを用いた BG00012 の 3 週間経口（カプセル製剤）投与による用量漸増／忍容性試験（試験番号 P00012-05-04） 36
2.6.6.3.3.2 ビーグル犬を用いた BG00012 及び高用量 Fumaderm®の 4 週間強制経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（試験番号 P00012-04-05） 38
2.6.6.3.3.3 ビーグル犬を用いた 11 ヵ月間経口（カプセル製剤）投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験（試験番号 P00012-05-05） 43
2.6.6.3.4 サル 48
2.6.6.3.4.1 カニクイザルを用いたフマル酸ジメチル懸濁液の 14 日間経鼻胃管投与用量設定試験（試験番号 P00012-05-07） 48
2.6.6.3.4.2 カニクイザルを用いたフマル酸ジメチル懸濁液の経鼻胃管投与による 1 年間慢性毒性試験（試験番号 P00012-05-08） 49
2.6.6.4 遺伝毒性試験 55
2.6.6.4.1 ネズミチフス菌／ミクロソームを用いたフマル酸ジメチルの Ames 変異原性試験（試験番号 5403/89） 56
2.6.6.4.2 細菌を用いた MMF の復帰突然変異試験及び確認試験（試験番号 P00012-08-02） ... 57

2.6.6.4.3 チャイニーズハムスター由来 V79 細胞を用いたフマル酸ジメチルの in vitro 変異原性試験（試験番号 5405/89） 58
2.6.6.4.4 培養ヒト末梢血リンパ球を用いたフマル酸ジメチルの in vitro 染色体異常誘発性試験（試験番号 5407/89） 58
2.6.6.4.5 培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（試験番号 P00012-04-16） 59
2.6.6.4.6 培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（試験番号 P00012-08-03） 60
2.6.6.4.7 ラットを用いたフマル酸ジメチルの in vivo 小核試験（試験番号 P00012-04-04） 61
2.6.6.5 がん原性試験（トキシコキネティクスを含む） 62
2.6.6.5.1 マウスを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験（試験番号 P00012-05-03） 62
2.6.6.5.2 ラットを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験（試験番号 P00012-04-11） 68
2.6.6.6 生殖発生毒性試験（トキシコキネティクスを含む） 74
2.6.6.6.1 ラットにおける雄授胎能及び一般生殖能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験（試験番号 P00012-04-03） 75
2.6.6.6.2 ラットにおける雌受胎能及び一般生殖能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験（試験番号 P00012-10-01） 78
2.6.6.6.3 ラットにおける発生に関するフマル酸ジメチル強制経口投与毒性試験（試験番号 P00012-06-02） 80
2.6.6.6.4 ウサギにおける胚・胎児発生に関するフマル酸ジメチル（DMF）経口（胃管）投与毒性試験（試験番号 P00012-06-01） 83
2.6.6.6.5 ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに出生後の行動・機能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験（試験番号 P00012-09-02） 86
2.6.6.6.5.1 F0 母動物 87
2.6.6.6.5.2 F1 出生児 87
2.6.6.6.6 幼若動物を用いた試験 90
2.6.6.6.6.1 幼若ラットにおける BG00012 の経口投与毒性試験（試験番号 P00012-12-02） 90
2.6.6.6.6.2 幼若ラットにおけるフマル酸ジメチル（DMF）の強制経口投与毒性試験（試験番号 P00012-14-02） 92
2.6.6.7 局所刺激性試験 98
2.6.6.8 その他の毒性試験 98
2.6.6.8.1 毒性学的薬物相互作用試験 100
2.6.6.8.1.1 ラットを用いたメトトレキサートとの併用による 90 日間強制経口投与毒性試験：28 日間の回復期間を含む（試験番号 P00012-07-02） 100
2.6.6.8.1.2 カニクイザルを用いたメトトレキサートとの併用による BG00012 の 3 ヵ月間経口投与毒性試験：28 日間の回復期間を含む（試験番号 P00012-07-01） 102
2.6.6.8.2 ラットにおける腎毒性バイオマーカー探索試験 104
2.6.6.8.2.1 Sprague Dawley ラットを用いて腎障害バイオマーカーを確認し、腎毒性の初期経時

変化及び可逆性を検討する探索的毒性試験（試験番号 PD08-03） 105
2.6.6.8.2.2 Sprague Dawley ラットを用いた 14 週間経口投与腎毒性試験及び 4 週間回復性試験（試験番号 P00012-08-01） 107
2.6.6.8.2.3 Sprague Dawley ラットを用いた DMF による腎毒性及びその可逆性の経時的検討：病理組織学的及び Ki-67 解析（試験番号 P0012-09-01） 111
2.6.6.8.3 薬物乱用に関する非臨床試験 112
2.6.6.8.3.1 Sprague Dawley ラットを用いたフマル酸ジメチル（DMF）自己投与試験（試験番号 P00012-13-07） 113
2.6.6.8.3.2 フマル酸ジメチル：雄 Sprague Dawley ラットを用いた薬物弁別試験（試験番号 P00012-14-01） 116
2.6.6.8.4 代謝物の毒性試験 118
2.6.6.8.5 不純物の毒性試験 118
2.6.6.8.6 Fumaderm で実施された試験 119
2.6.6.9 考察及び結論 122
2.6.6.10 参考文献 126

表目次

頁

表 1 DMF の投与に関連した毒性発現に対する安全域 16
表 2 単回投与毒性試験 17
表 3 マウス及びラットにおける DMF の急性毒性プロファイル 17
表 4 試験番号 PD05-027 の試験デザイン 18
表 5 試験番号 PD05-024 の試験デザイン 19
表 6 試験番号 PD05-025 の試験デザイン 20
表 7 試験番号 PD05-26 の試験デザイン 21
表 8 反復投与毒性試験 23
表 9 試験番号 P00012-04-02 の試験デザイン 24
表 10 試験番号 P00012-04-10 の試験デザイン 26
表 11 CD-1 マウスを用いた 1 日 1 回強制経口投与したときの MMF の薬物動態パラメーター 27
表 12 試験番号 P00012-04-01 の試験デザイン 29
表 13 Sprague Dawley ラットに DMF を 1 日 1 回経口投与したときの MMF のトキシコキネティックパラメーター 31
表 14 試験番号 P00012-04-06 の試験デザイン 33
表 15 Sprague Dawley ラットに DMF 25、100 及び 200 mg/kg/日で 1 日 1 回 6 ヵ月間経口投与したときの 0 及び 181 日後における MMF のトキシコキネティックパラメーター 34
表 16 主試験における DMF 投与に関連した腎臓の病理組織学的変化 35
表 17 回復性試験における DMF の投与に関連した腎毒性に関する病理粗気学的変化 36

表 18 試験番号 P00012-05-04 の試験デザイン 37
表 19 試験番号 P00012-04-05 の試験デザイン 38
表 20 イヌに 50、100 又は 250 mg/kg/日で DMF 及び高用量の Fumaderm を 1 日 1 回経口投与したときの投与 1、14、28 日目の MMF のトキシコキネティック（TK）パラメーター 41
表 21 生物学的意義のある DMF 投与と関連した栄養状態不良又はストレスの器官重量への影響 42
表 22 試験番号 P00012-05-05 の試験デザイン 43
表 23 イヌに 5、25、50 又は 75 mg/kg/日で DMF を 11 ヵ月間 1 日 2 回経口投与したときの投与 1、182、330 日目の MMF のトキシコキネティック（TK）パラメーター 45
表 24 主試験剖検における投与に関連した病理組織学的変化（発現例数及び程度） 46
表 25 回復性試験剖検における投与に関連した病理組織学的変化（発現例数及び程度） 47
表 26 試験番号 P00012-05-07 の試験デザイン 48
表 27 試験番号 P00012-05-08 の試験デザイン 49
表 28 カニクイザルに DMF を 1 日 1 回経鼻胃管投与したときの MMF のトキシコキネティックパラメーター 51
表 29 DMF の 1 日 1 回投与後 26 及び 52 週目におけるメタノールの AUC_{0-24h} 52
表 30 DMF を 1 日 1 回投与後 26 週目及び 52 週目におけるギ酸の AUC_{0-24h} 53
表 31 投与に関連した病理組織学的変化の発現例数—主試験剖検 54
表 32 投与に関連した病理組織学的変化の発現例数—回復性試験剖検 54
表 33 遺伝毒性試験 56
表 34 試験番号 P00012-04-04 の試験デザイン 61
表 35 DMF のげっ歯類がん原性試験 62
表 36 DMF 経口投与によるマウスがん原性試験デザイン（P00012-05-03） 63
表 37 DMF 経口投与マウスがん原性試験における生存率 63
表 38 DMF 経口投与マウスがん原性試験における前胃腫瘍性及び非腫瘍性病変 64
表 39 DMF 経口投与マウスがん原性試験における腎臓の腫瘍性及び非腫瘍性病変 65
表 40 DMF 経口投与マウスがん原性試験における腎症の重症度別発現例数 66
表 41 DMF 経口投与マウスがん原性試験における眼の非腫瘍性病変 67
表 42 DMF 経口投与マウスがん原性試験における MMF のトキシコキネティックプロファイル 67
表 43 DMF 経口投与によるラットがん原性試験デザイン（P00012-04-11） 68
表 44 DMF 経口投与によるラットがん原性試験における生存率 69
表 45 DMF 経口投与ラットがん原性試験における胃の腫瘍性及び非腫瘍性病変 70
表 46 DMF 経口投与ラットがん原性試験における精巣の腫瘍性及び非腫瘍性病変 71
表 47 Sprague-Dawley ラットにおける精巣腫瘍発生率の背景対照値 71
表 48 DMF 経口投与ラットがん原性試験における腎臓の腫瘍性及び非腫瘍性病変 72
表 49 6 ヵ月間 DMF 経口投与ラット毒性試験における腎症の程度別発現率 72

表 50 DMF を用いたラットがん原性試験における上皮小体非腫瘍性及び腫瘍性病変 73
表 51 Sprague-Dawley ラットにおける上皮小体腫瘍の発生率の背景対照データ 73
表 52 DMF 経口投与ラットがん原性試験における MMF のトキシコキネティック（TK）プロファイル 74
表 53 DMF で実施された生殖発生毒性試験 75
表 54 試験番号 P00012-04-03 の試験デザイン 76
表 55 試験番号 P00012-10-01 の試験デザイン 79
表 56 試験番号 P00012-06-02 の試験デザイン 81
表 57 Sprague Dawley ラットを用いた 1 日 1 回強制経口投与による推定妊娠 7 及び 17 日目における MMF のトキシコキネティクスパラメーター 82
表 58 試験番号 P00012-06-01 の試験デザイン 83
表 59 推定妊娠ウサギへの 1 日 1 回強制経口投与による推定妊娠 7 及び 19 日目における MMF のトキシコキネティクスパラメーター 85
表 60 試験番号 P00012-09-02 の試験デザイン 86
表 61 母動物に DMF を経口投与した F1 雄ラット水迷路試験［平均潜時（秒）］ 88
表 62 母動物に DMF を経口投与した F1 雌ラット水迷路試験（平均試行数） 89
表 63 幼若動物を用いた DMF の毒性試験 90
表 64 試験番号 P00012-12-02 の試験デザイン 91
表 65 DMF 経口投与による幼若雄ラットにおける MMF の血漿中曝露 91
表 66 雄幼若ラットにおける性成熟（包皮分離日） 92
表 67 試験番号 P00012-14-02 の試験デザイン 92
表 68 主試験及び回復性試験サブセットの選択的検査項目 93
表 69 DMF 経口投与による幼若雌雄ラットにおける PND 93 での MMF 血漿曝露量 94
表 70 幼若ラットの生殖能 95
表 71 主試験剖検（PND 94）時の DMF 投与に関連した剖検変化 96
表 72 主試験剖検（PND 94）時の DMF 投与に関連した器官重量変化 96
表 73 主試験剖検（PND 94）時の DMF 投与に関連した病理組織学的変化 97
表 74 回復性試験剖検時の DMF 投与に関与した病理組織学的変化 97
表 75 DMF 経口反復投与試験における眼科学的検査及び眼の病理組織学的検査結果の要約 100
表 76 試験番号 P00012-07-02 の試験デザイン 101
表 77 試験番号 P00012-07-01 の試験デザイン 103
表 78 ラットを用いた腎毒性バイオマーカー試験 105
表 79 試験番号 PD08-03 の試験デザイン 106
表 80 試験番号 P00012-08-01 の試験デザイン 107
表 81 腎臓の Ki67 免疫組織化学染色 109
表 82 主試験剖検で認められた投与に関連した腎臓の病理組織学的変化の発現例数及び程度 109
表 83 主試験剖検における DMF 投与に関連した器官重量変化（投与 99 日目） 110

表 84 試験番号 P00012-09-01 の試験デザイン 111
表 85 ラットを用いた DMF の薬物乱用試験 113
表 86 試験番号 P00012-13-07 の試験デザイン 113
表 87 フードペレット及び対照薬物訓練の作動性レバー強化スケジュール 114
表 88 自己投与試験の投与回数 115
表 89 試験番号 P00012-14-01 の試験デザイン 116
表 90 フードペレット及び対照薬物訓練作動性レバー押し強化スケジュール 117
表 91 Fumaderm の非臨床安全性試験（重要な試験） 120

図目次

頁

図 1 試験番号 P00012-04-03 の試験概略図 77
図 2 試験番号 P00012-10-01 の試験概略図 79
図 3 試験番号 P00012-06-02 の試験概略図 81
図 4 試験番号 P00012-06-01 の試験概略図 84
図 5 0.010 mg/mL DMF 水溶液の UV・可視吸収スペクトル 99
図 6 MMF の UV・可視吸収スペクトル 99
図 7 尿中アルブミン 111
図 8 試験番号 P00012-13-07 の試験相構成 114
図 9 試験番号 P00012-14-01 の試験相構成 117
図 10 最初の 20 回のレバー反応の薬物弁別試験結果の要約 118

略語・略号一覧

略号	略していない表現	
	英語	日本語
β2M	beta-2-microglobulin	β2-ミクログロブリン
ALB	albumin	アルブミン
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	alanine transaminase	-（アラニンアミノ基転移酵素）
ALUC	absolute large unstained cell count	大型非染色細胞絶対数
AMNO	absolute monocyte count	単球絶対数
ANEU	absolute neutrophil count	好中球絶対数
ANOVA	analysis of variance	分散分析
ARTC	absolute reticulocyte count	網状赤血球絶対数
AST	aspartate aminotransferase	-（アスパラギン酸アミノ基転移酵素）
AUC	area under the curve	血清中濃度時間曲線下面積
AUC_{0-t}	area under the concentration-time curve from time zero to time t	0 時間から t 時間までの濃度-時間曲線下面積
AUC_{inf}	area under the concentration-time curve from time zero to infinity	0 時間から無限大時間まで外挿した濃度-時間曲線下面積
BID	twice daily	1 日 2 回
BUN	blood urea nitrogen	血中尿素窒素
CD	cluster of differentiation	-
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣由来の
CL	clearance	クリアランス
CL/F	oral clearance	経口クリアランス
C_{max}	maximum drug concentration	最高血中濃度
CMJ	corticomedullary junction	皮髄境界部
CPN	chronic progressive nephropathy	慢性進行性腎症
CREA	creatinine	クレアチン
CTD	common technical document	コモン・テクニカル・ドキュメント
DG	day of gestation	妊娠日齢
DL	day of lactation	授乳日齢
DMBA	9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene	9,10-ジメチル-1,2-ベンツアントラオセン 7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン
DMF	dimethyl fumarate; BG12	フマル酸ジメチル：BG00012
DMSO	dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
EMEA	European Medicines Evaluation Agency	欧州医薬品審査庁
EMS	ethyl methanesulfonate	エチルメタンスルホネート
FA	fumaric acid	フマル酸
FACS	fluorescence activated cell sorting	フローサイトメトリー
FD	fumaderm	フマダーム
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GCN	gentamycin	ゲンタマイシン
GGT	gamma glutamyl transferase	γ-GT（γ-グルタミルトランスフェラーゼ）
GI	gastrointestinal	胃腸の
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
HCT	hematocrit	ヘマトクリット値
HGB	hemoglobin	ヘモグロビン濃度

略号	略していない表現	
	英語	日本語
HIF	hypoxia inducible factor	-（低酸素誘導因子）
HPMC	hydroxypropyl methylcellulose	ヒドロキシプロピルメチルセルロース
ICH	international conference on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IP	intraperitoneal	腹腔内
Keap1	Kelch-like ECH-associated protein 1	-
KIM-1	kidney injury molecule-1	-
LC	Leydig cells	ライディヒ細胞
LCT	Leydig cell tumor	ライディヒ細胞腫
LD_{50}	median lethal dose	50%致死量
LH	luteinizing hormone	黄体形成ホルモン
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration	平均赤血球容積濃度
MCV	mean cell volume	平均細胞容積
MEOH	methanol	メタノール
MTD	maximum tolerated dose	最大耐用量
MRHD	maximum recommended human dose	最大臨床推奨用量
MMF	monomethyl fumarate	フマル酸モノメチル
MS	multiple sclerosis	多発性硬化症
MTX	methotrexate	メトトレキサート
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form)	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（還元型）
NA	not applicable	該当せず
NAG	N-acetyl-beta-D-glucosaminidase	N-アセチルグルコサミニダーゼ
NCE	normochromatic erythrocytes	正染性赤血球
NDA	New-drug application	新薬（承認）申請
Nrf2	nuclear factor (erythroid-derived-2)-like 2	-
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構（ヨーロッパ、北米等の先進国によって、国際経済全般について協議することを目的とした国際機関）
PBL	peripheral blood lymphocytes	末梢血リンパ球
PCE	polychromatic erythrocytes	多染性赤血球
PK	pharmacokinetics	薬物動態
PMR	Postmarketing Requirement	-
PND	postnatal day	出生後日数
PSTC	Predictive Safety Testing Consortium	安全性予測試験コンソーシアム
PWG	Pathology Working Group	-
QD	once daily	1 日 1 回
QT interval	measure of the time between the start of the Q wave and the end of the T wave in the heart's electrical cycle	心電図における Q 波の始まりから T 波の終わりにいたるまでの時間
QTc	corrected (calculated) QT interval	補正 QT 時間

略号	略していない表現	
	英語	日本語
RODI	reverse osmosis deionized	逆浸透濾過脱イオン化
S9	exogenous mammalian metabolic activation system	哺乳動物薬物代謝酵素画分
SC	subcutaneously	皮下に
SD	Sprague Dawley	Sprague Dawley（ラット）
$t_{1/2}$	half-life (period)	半減期
TCA	tricarboxylic acid	トリカルボン酸
TID	3-times daily	1 日 3 回
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
t_{max}	time to peak plasma concentration	最高血中濃度到達時間
UV	ultraviolet	紫外線
Vd	Volume of distribution	分布容積
w/w	weight to weight	-

2.6.6.1 まとめ

BG00012（フマル酸ジメチル又は DMF）はフマル酸のジメチルエステルである。BG00012 の臨床製剤は、ゼラチンカプセルに腸溶性コーティングマイクロ錠を充填したものである。この臨床製剤を in vivo のすべての前臨床試験で経口投与に用いることは現実的ではないことから、イヌの反復投与試験でのみ臨床用と同等のカプセル製剤を用い、その他の in vivo 試験には、0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）に DMF を懸濁した即放性製剤を用いた。この DMF/HPMC 懸濁液は、試験報告書では BG00012 と記載されているが、本項では DMF と記載している。

DMF の非臨床毒性試験は、1）急性及び慢性投与による毒性の可能性及び認められたすべての変化の可逆性、2）遺伝毒性及びがん原性の可能性、3）受胎能、胚・胎児発生、出生前、出生後の発生及び幼若動物の発育に対する影響の可能性並びに 4）その他の毒性試験（薬物相互作用、毒性発現機序及び薬物依存性／乱用を生ずる可能性）を評価することを目的として計画された。重要な試験はすべて GLP に準拠して実施した。

非臨床毒性試験に用いた原薬ロットは、臨床評価に用いられた DMF 製剤に含まれる原薬の代表的なロットであった（[M2.6.7.4]項、毒性試験一覧表）。重要な毒性試験はすべて、臨床製剤の代表的な原薬ロットを用いて行われた。非臨床毒性試験に被験物質として用いたロットの純度は、市販製品原薬の申請規格である 98.0～102.0%の範囲内であった。非臨床毒性試験に用いた被験物質ロットでは、2 つの不純物であるフマル酸モノメチル（MMF）及びフマル酸（FA）の含量は、市販製品原薬における各不純物の申請規格である 0.3%以下及び 0.5%以下の範囲内であった。この 2 つの不純物は、動物及びヒトの DMF の代謝産物としても知られている。MMF は DMF の一次活性代謝物であり、すべての哺乳類に内在するトリカルボン酸（TCA）回路によって最終的に FA に代謝される。したがって、上記の不純物及び代謝物の安全性評価は、実施された非臨床毒性試験で十分に網羅されている。

DMF の非臨床毒性試験は、多発性硬化症（MS）治療のための長期投与の安全性を確認する目的で計画された。毒性試験に用いた動物種は、マウス、ラット、イヌ、ウサギ（生殖発生毒性試験）及びサルであった。DMF の代謝は、各動物種間で保持されている処理能の高いエステラーゼによって、遍在的でよく知られている TCA 回路を介して行われ、生成される内因性物質も全哺乳類で共通であることから、毒性試験に用いる動物種を選択するための in vitro 代謝試験は実施しなかった。慢性毒性試験は、2 種の非げっ歯類動物で行った。メタノールの毒性を評価するための DMF の安全性評価にはサルを含めた。反復投与毒性試験では、血液学的及び免疫系器官を病理組織学的に解析し、免疫系に対する DMF の影響を検討した。ラット薬物乱用試験結果では、DMF の薬物依存性又は乱用が生ずる可能性を評価した。DMF 及びその一次代謝物である MMF はいずれも紫外・可視領域で光を吸収しないことから、光毒性試験は実施しなかった。

生殖・発生への影響の評価にはラット及びウサギを用い、2 年間のがん原性の評価にはラット及びマウスを用いた。DMF 及び MMF の遺伝毒性が生じる可能性は、in vitro 及び in vivo 試験で評価した。In vivo 試験は、腹腔内投与で検討した 2 つの単回投与試験及び 1 つの薬物乱用試験を除

き、すべて臨床投与経路（経口投与）で評価した。経口投与後、DMF は全身循環前に速やかに MMF に加水分解されるため、すべての DMF の曝露評価は MMF レベルを測定して検討した。

DMF 毒性試験の種類、投与期間、投与経路及び試験系の一覧を以下に示す。

主な毒性試験の一覧

試験の種類		投与経路	試験系
単回投与毒性		強制経口（胃管） 腹腔内	マウス、ラット マウス、ラット
反復投与毒性	2 週間 3 週間 1 ヵ月間 3 ヵ月間 6 ヵ月間 1 年間 1 年間	強制経口 カプセル 強制経口 強制経口 強制経口 カプセル 経鼻胃管	マウス、イヌ、サル イヌ マウス、イヌ マウス、ラット ラット イヌ サル
遺伝毒性	遺伝子突然変異 染色体異常 小核	In vitro In vitro 強制経口	細菌、哺乳類培養細胞 哺乳類培養細胞、ヒトリンパ球 ラット
がん原性	2 年間	強制経口	マウス、ラット
生殖発生毒性	受胎能及び初期胚発生 胚・胎児発生 出生前及び出生後発生 幼若動物（雄のみ） 幼若動物	強制経口 強制経口 強制経口 強制経口 強制経口	ラット ラット、ウサギ ラット ラット ラット
その他の毒性	毒性発現機序の検討 薬物相互作用 薬物乱用	強制経口 強制経口 In vitro 静脈投与、強制経口	ラット ラット、サル 種々なアッセイ ラット

非臨床試験で確認された標的臓器は、胃（マウス及びラット）、精巣（ラット及びイヌ）及び腎臓（マウス、ラット、イヌ及びカニクイザル）であった。DMF の非臨床長期投与毒性試験で被験物質に関連して認められた毒性とその安全域を表 1 に示す。表 1 には、DMF の非臨床長期投与毒性試験で毒性の安全域の計算に用いた動物の曝露データの要約を示している。

マウス 1 ヵ月間及び 3 ヵ月間、並びにラット 3 ヵ月間及び 6 ヵ月間反復投与毒性試験では、病理組織学的検査で前胃に扁平上皮細胞の過形成及び角化亢進、亜急性炎が認められた。ラットでは、低発現率の扁平上皮癌（投与 3 ヵ月目の早期に発現）及び扁平上皮乳頭腫も認められた。これらの変化は、ラット及びマウスの 2 年間がん原性試験でも認められた。これらげっ歯類の前胃に認められた変化は、DMF の経口投与用懸濁液製剤の局所刺激性によるものであった。げっ歯類の前胃に相当する組織はヒトには存在しない。一部の研究者は、げっ歯類の前胃をヒトの遠位食道と関連付けているが、両者には複数の形態的、生物学的な差異がある。すなわち、げっ歯類の前胃粘膜は角化扁平上皮であるのに対し、ヒトの遠位食道粘膜は非角化扁平上皮である。げっ歯類の前胃は食餌を保持・貯蔵する器官であるのに対し、食道は胃に食物を即時移動させる器官である。

したがって、経口投与時のヒトの前胃類似組織（食道）への曝露時間はげっ歯類よりもはるかに少ない可能性が高い。DMF 製剤の剤型は、胃、食道組織及び口腔にできる限り接触しないように中性 pH で崩壊・放出されるようにデザインされた腸溶性コーティングマイクロ錠剤である。さらに、イヌ試験（臨床製剤）又はカニクイザル試験（DMF/HPMC 懸濁液）では、食道及び口腔に DMF に関連した変化は認められなかった。したがって、ヒトにこの病変が生じるリスクは低い。

C57BL6 マウスの 28 日間投与試験並びにラット及びイヌの長期試験で精巣変化が認められた。精巣変化は、DMF の毒性試験で用いたマウス 2 系統のうち 1 系統でのみ認められ、C57BL6 マウスの 28 日間投与試験では、精巣及び精巣上体の精子肉芽腫が全 DMF 投与群の雄に認められた。C57BL6 より汎用されるマウス系統の CD-1 マウスを用いたより長期の 13 週間及び 2 年間がん原性試験では、これらの精巣変化は認められなかった。C57BL6 の精巣変化は、CD-1 マウスでは認められない系統特異的な変化であった。特にイヌの高用量群で、1 ヵ月間投与後に有意な体重減少を伴って 1 投与に関連した精巣精細管上皮の可逆性の変性が認められた。イヌに認められた体重減少は、精巣に認められた変化からヒトでのリスクを解釈する上で、交絡となる。精細管上皮の変性、並びに間（ライディヒ）細胞の過形成及び腺腫がラットがん原性試験で認められた。ラットの精巣に認められた変化、特に間細胞の過形成及び腺腫は、ラットの内分泌経路では薬剤に対する感受性が非常に高く、薬剤関連変化の結果として、げっ歯類を用いた試験ではよく認められる（Clegg et al., 1997、Cook et al., 1999）。げっ歯類はヒト及び他の動物種と比べて間細胞腫を発生しやすい。このげっ歯類固有の感受性は、ラット間細胞における黄体形成ホルモン（LH）受容体の過多や、視床下部-下垂体-性腺軸における負のフィードバック機構を介した LH の産生過剰によって、LH 刺激の小さな変化に対する感受性が高まる機序を介したものである。ラットでは多数の環境要因、食物及び医薬品によってアンドロゲンシグナリングが低下すると、間細胞の増殖性病変を発生させることが知られているが、ヒトは、ラットと比べて、LH 活性の変動に対する感受性が低いと考えられる（Cook et al., 1999）。投与に関連した間細胞の過形成は、6 ヵ月未満の他のラット反復投与毒性試験では認められなかった。特に、精巣の変化は、感受性がより高い週齢で雄生殖器系への影響に注目した雄幼若ラット毒性試験では認められなかった。

腎臓の DMF 投与に関連した変化は、用量、投与期間及び動物種によって様々な病変が認められたが、腎臓への影響は低い安全域で全動物種に認められ、全般的に、全動物種に尿細管の再生が認められている。したがって、腎臓はヒトでのリスク評価を目的とする DMF 投与に関連性のある標的臓器であると判断された。

マウスの 3 ヵ月間毒性試験では、組織変化と関連しない腎臓重量の増加が観察された。ラットの 6 ヵ月間までの毒性試験では、腎臓重量、尿細管上皮の軽微ないし軽度の好塩基性変化、腎皮質尿細管の変化、ボーマン嚢壁側上皮細胞の肥大並びに腎症の発現率及び重症度の用量依存性の増加が観察されたが、これらの腎臓の変化はマウス及びラットにおいて可逆性の傾向を示した。イヌの 11 ヵ月間慢性毒性試験では、腎臓における用量依存性の被験物質投与関連変化は軽微又は軽度であり、腎皮質尿細管上皮の肥大、拡張、萎縮及び再生、腎乳頭炎症細胞浸潤、並びに腎乳頭尿路上皮過形成が認められた。腎臓に認められた変化の発現率及び程度は、1 ヵ月間の回復期間

後に減少し、可逆性の傾向が示された。

カニクイザル 1 年間慢性毒性試験で確認された DMF の標的臓器は腎臓のみであった。病理組織学的変化として、単細胞壊死及び尿細管上皮細胞の再生が認められた。4 週間の回復期間後の腎臓の変化の程度は減少し、回復する傾向が認められた。さらに、高用量群の雄 2 例で間質の線維化及び腎皮質尿細管委縮が認められ、1 例では BUN 及びクレアチニンの増加と関連した。

ラットを用いて腎毒性バイオマーカーを探索する試験を実施した。BG00012 の現在の市販後データでは DMF が腎尿細管に対する直接的な毒性と関連するエビデンスは得られていない。このことは臨床開発プログラムで観察された結果と一致する。

標準的組合せの遺伝毒性試験〔細菌・哺乳類培養細胞変異原性試験、染色体異常試験及びラット小核試験（後者は DMF のみで実施）〕結果では、DMF 及び MMF に遺伝毒性は認められなかった。染色体異常試験の妥当な試験条件下では、培養ヒトリンパ球に DMF 及び MMF による染色体異常は認められず、細胞毒性を生じる濃度未満の濃度では、染色体損傷を示唆する所見は認められなかった。

マウス 2 年間がん原性試験で、前胃の腫瘍、並びに腎尿細管上皮の過形成、腺腫及び癌が少数例の動物に認められた。ラット 2 年間がん原性試験で、前胃、精巣及び腎臓に腫瘍が認められた。前胃及びライディヒ細胞で認められた腫瘍については上述した。腎臓では、尿細管腺腫が雌雄で、尿細管癌が雌で低い発現率で認められた。

腎臓の増殖性変化は、独立した国際病理レビュー委員会である Pathology Working Group（PWG）で再評価された。マウス及びラットの 2 年間がん原性試験の PWG レビューでは、ラット又はマウスの腎尿細管上皮に DMF による細胞毒性は認められないと判断された。直接的な細胞毒性がなかったこと及び遺伝毒性が陰性であったことを併せると、DMF はラット又はマウスの腎臓に直接的な発がん性を示す可能性は低いことが示唆された。むしろ、PWG の見解は、げっ歯類の腎尿細管腫瘍と腎症の重症度が密接に関連したというものであった。既知の発がん物質の作用機序から、げっ歯類への DMF の生涯経口投与によって発生した低頻度の腎腫瘍は、げっ歯類に特異的な腎症の悪化によるものと考えられた。腎症はげっ歯類特異的でヒトには認められないため、PWG の見解は、げっ歯類の低頻度の腎腫瘍はヒトとはほとんど関連しないというものであった。

一連の生殖・発生毒性試験は DMF を用いて実施した。DMF では、雌雄受胎能に影響は認められず、ラット及びウサギに催奇形性を示さなかった。DMF に関連して認められた変化は、ラット、ウサギともに母体毒性による変化であった。胚・胎児発生試験では、投与に関連した胎児奇形は認められなかった。ラットでは、DMF は母動物及び胎児の体重減少及び胎児中足骨及び指骨の骨化遅延（奇形ではなく変異と判断された）と関連した。ウサギでは、DMF は母動物の体重減少・体重増加の抑制及び流産率の増加と関連した。ラット及びウサギの両方において、胎児で認められた変化（胎児の体重減少、変動した骨化遅延及び流産率の増加）は母動物の毒性に関連していると判断された。DMF に関連した変化とその安全域を表 1 に示す。

ラット出生前・出生後発生試験では、DMF は母動物の体重減少、出生児発育及び雄性成熟の遅延に関連したが、F1 出生児の受胎能には影響が認められなかった。

生殖発生毒性試験の現時点での最良の判断として、乳汁分析は行わなかった。出生前及び出生後発生試験の授乳期間中にラット出生児から薬物は検出されなかった。非臨床における乳汁分析はばらつきが大きく、実質的にヒトでのリスク管理に寄与しないと判断された。

成熟ラット及びイヌの毒性試験で認められた精巣及び精巣上体の変化に基づき、欧州 Pediatric Investigational Plan の一環として DMF の雄生殖器及び副生殖器への影響をさらに検討するため、雄ラットの幼若動物試験を実施した。2 番目の幼若動物毒性試験は、米国 FDA の Postmarketing Requirement（PMR）の一環として DMF で実施された。これらの試験の目的は、長期経口投与したときの幼若雌雄ラットにおける発達、性成熟、生殖能及び神経毒性に対する DMF の影響の可能性を検討することであった。投与から休薬期間にかけて最高用量まで DMF 投与に関連した死亡又は死亡状態は認められなかった。雌幼若動物からの出生児にも発達、生存率及び一般状態に影響は認められなかった。高用量群に平均摂餌量の減少及び平均体重増加の抑制が認められた。最初の幼若動物試験の最高用量雄で、対照群に比べて統計学的に有意な性成熟（包皮分離）の遅延が認められたが、げっ歯類で認められた前胃毒性に起因する低体重及び発育遅延による二次的な影響の可能性がある。最高用量雄の椎骨及び大腿骨全体で、骨塩量及び骨密度に回復性で中等度の減少も認められた。臨床病理変化は雌雄幼若ラットに認められた血清クロールの減少及び尿量の増加のみであった。前胃の肥厚及び扁平上皮過形成は全 DMF 投与群に認められた。腎重量の増加は、尿細管上皮の硝子滴増加及び尿細管変性の病理組織学的変化を伴って認められた。休薬後は、これらの変化のうち前胃の扁平上皮過形成のみがより低い発現率・程度で認められた。

DMF の薬物乱用試験も PMR に従って実施したものであった。自己投与試験及び薬物弁別試験がラットで実施された。これらの試験では、DMF は自己投与を維持せず、薬物弁別性を示さなかった。以上より、DMF の薬物依存性リスクは低いことが示された。

他の適応症での開発を検討するため、ラット及びサルを用いた DMF 及びメトトレキサートの薬物相互作用毒性試験を実施した。これらの試験ではいずれの化合物による影響にも悪化は認められなかったことから、安全性を裏付ける情報が得られた。

結論として、非臨床試験成績から、MS 患者を対象とする DMF の安全性プロファイルが裏付けられた。DMF の標的臓器は前胃、精巣及び腎臓である。げっ歯類及び非げっ歯類の両方で認められた腎臓の変化は、ヒトでのリスク評価で検討された。全体として、現時点まで市販後データには、本剤と腎尿細管に対する直接的な有害作用が関連するエビデンスは認められていない。このことは臨床開発プログラムで観察された結果と一致する。しかしなお、腎障害は依然として重要な潜在的リスクであり、市販後調査で綿密な観察を継続する。

表 1 DMF の投与に関連した毒性発現に対する安全域

動物種 試験番号 試験の種類	投与期間	部位	変化	無毒性量(mg/kg)			動物の AUC_{last} (μg·h/mL)			AUC に基づく安全域 [2]
				雄	雌	雌雄 [1]	雄	雌	平均	
ラット P00012-04-06 毒性試験 2.6.6.3.2.2 項	26 週間	胃	癌	100	200	100	10	24	17	2.06
		腎臓	CPN の悪化 [4]	25	25	25[3]	2.4	4.1	3.3	0.39
			皮質尿細管の変化	25	25	25[3]	2.4	4.1	3.3	0.39
		肝臓	壊死：軽微	25	25	25[3]	2.4	4.1	3.3	0.39
			胆管過形成：軽微	100	25[3]					
ラット P00012-04-03 生殖発生毒性試験（雄のみ） 2.6.6.6.1 項	14 週間	前胃	癌	75 [3]	NA	75 [3]	- [4]	NA	- [4]	- [4]
		精巣	間細胞：過形成	75 [3]	NA	75 [3]	- [4]	NA	- [4]	- [4]
		腎臓	CPN の悪化、皮質尿細管の変化	75 [3]	NA	75 [3]	- [4]	NA	- [4]	- [4]
イヌ P00012-05-05 毒性試験 2.6.6.3.3.3 項	11 ヵ月間	腎臓	皮質尿細管の変化	5[3]	5[3]	5[3]	5.7	7.0	6.4	0.77
			尿細管上皮の再生	5	75/50					
カニクイザル P00012-05-08 毒性試験 2.6.6.3.4.2 項	12 ヵ月間	腎臓	尿細管上皮の再生	25	5	5	2.3	2.7	2.5	0.30
			単細胞壊死	5	5					
マウス P00012-05-03 がん原性試験 2.6.6.5.1 項	2 年間	腎臓	腺腫／癌 [5]	75	200	75	9.8	10.8	10.3	1.25
ラット P00012-04-11 がん原性試験 2.6.6.5.2 項	2 年間	腎臓	尿細管腺腫／癌 [5]	150	50	50[6]	8.7	16.6	12.7	1.5
			尿細管腺腫／癌（PWG 見解）[5]	150	150	150[7]	30.8	37.6	34.2	4.15
ラット P00012-12-02 雄のみの幼若動物 2.6.6.6.6.1 項	65 日間	前胃	刺激性	50[3]	NA	50[3]	8.09	NA	8.09	0.98
			雄生殖器	375	NA	375	111	NA	111	13.5

Data source：[M4.2.3.2-4] P00012-04-06-Appendix S-Table 3, Appendix P-Section II、[M4.2.3.5.1-1] P00012-04-03-Appendix H-Table 1、[M4.2.3.2-7] P00012-05-05-Appendix 22-Table 2, Appendix 20-Table 3、[M4.2.3.2-9] P00012-05-08-Appendix F-Table 2A, Table 2B, Table 2C, Appendix I-Table 6、[M4.2.3.4.1-1] P00012-05-03 -Appendix 20-Table 4, RESULTS-Summary of Statistical Analyses in Selected Tumor Types、[M4.2.3.4.1-2] P00012-04-11-Appendix 19-Table 4, Final Report Amendment No.2、[M5.3.3.3-1] 109HV108-Table 5、[M4.2.3.5.4-1] P00012-12-02-text-Table 4, text-Table 6, Appendix 15-Table 2

[1] 雌雄無毒性量（mg/kg）の総合評価

[2] ヒト臨床用量 240 mg 1 日 2 回（480 mg/日）投与時の MMF 曝露量に対する動物の全身曝露量の比。ヒトの曝露量として、臨床試験 109HV108 の日本人への 240 mg 1 日 2 回投与時の平均 $AUC_{0\text{-}24h}$ = 8.235 μg·h/mL を用いた。

[3] 最低投与量。変化は最低投与量でも認められた。

[4] 最低用量でも変化が認められ、曝露量が測定されず、安全域は求められなかった。

[5] 腺腫／癌は合算で解析された。

[6] 癌（悪性腫瘍）の発現が認められなかった用量

[7] PWG 及び統計解析評価によって確定された無毒性量

CPN：慢性進行性腎症、NA：該当せず

2.6.6.2 単回投与毒性試験

DMF の急性毒性について、4 つの GLP 単回投与毒性試験により検討した。2 試験はマウスで（2.6.6.2.1 項、試験番号 PD05-27 及び 2.6.6.2.2 項、試験番号 PD05-24）、他の 2 試験はラットで

（2.6.6.2.3 項、試験番号 PD05-25 及び 2.6.6.2.4 項、試験番号 PD05-26）、経口及び腹腔内の両投与経路により実施された。試験はすべて、毒性学的評価として LD_{50} を測定することが一般的であった 1986 年に実施された。表 2 に、各試験の用量、投与経路及び試験期間を示す。各試験結果の要約を表 3 に示す。各試験の要約を以下に示す。

表 2 単回投与毒性試験

試験番号	タイトル	動物種及び系統（動物数、雄/雌）	DMF 投与量（mg/kg） 投与方法	試験期間 [a]
PD05-27 2.6.6.2.1 項	マウスを用いたフマル酸ジメチルの単回経口投与毒性試験	マウス/NMRI/HAN Bo (雄 3/雌 3/群)	316, 681, 1000, 1210, 1470 強制経口	単回投与 14 日間
PD05-24 2.6.6.2.2 項	マウスを用いたフマル酸ジメチルの単回腹腔内投与毒性試験	マウス/NMRI/ HAN Bo （雄3/雌3/群）	316, 464, 681, 825, 1000, 1470 腹腔内	単回投与 14 日間
PD05-25 2.6.6.2.3 項	Sprague Dawley ラットを用いたフマル酸ジメチルの単回経口投与毒性試験	ラット/Sprague Dawley （雄3/雌3/群）	681, 1470, 2150, 2610 (雌のみ), 3160, 4640 (雄のみ), 6810 (雄のみ) 強制経口	単回投与 14 日間
PD05-26 2.6.6.2.4 項	Sprague Dawley ラットを用いたフマル酸ジメチルの単回腹腔内投与毒性試験	ラット/Sprague Dawley （雄3/雌3/群）	316, 681, 825, (雌のみ), 1000, 1470 (雄のみ) 腹腔内	単回投与 14 日間

[a] 単回投与後の観察期間

表 3 マウス及びラットにおける DMF の急性毒性プロファイル

動物種、投与方法	無毒性量 (mg/kg)	最小毒性量 (mg/kg)	LD_{50}（mg/kg）	
			雄	雌
マウス、強制経口	316	約 681	1200	1340
マウス、腹腔内	316	464	920	990
ラット、強制経口	681	約 1470	3220	2630
ラット、腹腔内	316	681	910	910

Data source : [M4.2.3.1-1] PD05-27-Table 1, [M4.2.3.1-2] PD05-24-Table 1, [M4.2.3.1-3] PD05-25-Table 1, [M4.2.3.1-4] PD05-26-Figure 1, Figure 2

2.6.6.2.1 マウスを用いたフマル酸ジメチルの経口単回投与毒性試験（試験番号 PD05-27）

記載箇所：参考[M4.2.3.1-1] PD05-27

本 GLP 試験では、マウスにおける DMF の単回投与毒性を強制経口投与により検討した。表 4 に示す NMRI/HAN Bo マウス 5 群を設定した。投与後 14 日間、一般状態、摂餌量及び摂水量、並びに体重を観察した。試験期間終了前に死亡した動物及び試験期間終了時にすべての生存動物を剖検した。高用量群の消化管病変については病理組織学的検査を行った。

表 4 試験番号 PD05-027 の試験デザイン

群番号	被験物質 [a]	動物数（雄：雌）	投与量（mg/kg）	死亡数（雄：雌）
1	DMF	3：3	316	0：0
2	DMF	3：3	681	0：0
3	DMF	3：3	1000	0：0
4	DMF	3：3	1210	2：0
5	DMF	3：3	1470	3：3

Data source：[M4.2.3.1-1] PD05-27-Table 2
[a] 溶媒：0.8%HPMC 水溶性ゲル

DMF 投与により、投与後 90 分から 24 時間以内に 1470 mg/kg 群の 3 例全例及び 1210 mg/kg 群の雄 3 例中 2 例で死亡が認められた（表 4）。一般状態の変化として、681 mg/kg 以上の用量で運動低下、運動失調、呼吸困難、チアノーゼ及び筋弛緩、1210 mg/kg 以上の用量で振戦及び腹臥位、1470 mg/kg 群で挙尾が認められた。投与 1 日目及び 2 日目に 1000 及び 1210 mg/kg 群で、45～80%の摂餌量の減少を伴う 5～10%の体重増加の抑制が認められた。681 mg/kg 群では、投与 1 日目に体重変化を伴わない 40%の摂餌量の減少が認められた。生存動物は、投与後 2 日以内に回復した。

早期死亡例の剖検所見として、肝臓及び腎臓の蒼白、腎臓表面の顆粒状変化、胃壁の菲薄化及び出血巣又は赤色化、並びに腸内の血性内容物が認められた。1470 mg/kg 群で認められた消化管病変の病理組織学的検査により、胃に軽度のうっ血が認められた。生存動物の剖検所見には、投与に関連する変化は認められなかった。

本試験における DMF の最小毒性量は 681 mg/kg、LD_{50} 値は、雄で 1200 mg/kg、雌で 1340 mg/kg であった。

2.6.6.2.2 マウスを用いたフマル酸ジメチルの腹腔内単回投与毒性試験（試験番号 PD05-24）

記載箇所：参考[M4.2.3.1-2] PD05-24

本 GLP 試験では、マウスにおける DMF の単回投与毒性を腹腔内投与により検討した。本試験では、表 5 に示す NMRI/HAN Bo マウス 6 群を設定した。投与後 14 日間、動物の行動、摂餌量及び摂水量、並びに体重を観察した。試験期間終了前の死亡動物及び試験期間終了時にすべての生存動物を剖検した。

表 5 試験番号 PD05-024 の試験デザイン

群番号	被験物質 [a]	動物数（雄：雌）	投与量（mg/kg）	死亡数（雄：雌）
1	DMF	3：3	316	0：0
2	DMF	3：3	464	0：0
3	DMF	3：3	681	0：0
4	DMF	3：3	825	0：2
5	DMF	3：3	1000	3：2
6	DMF	3：3	1470	3：3

Data source：[M4.2.3.1-2] PD05-24-Table 2
[a] 溶媒：0.8%HPMC 水溶性ゲル

DMF の投与により、1470 mg/kg 群の全例、1000 mg/kg 群の雄全例及び雌 3 例中 2 例、並びに 825 mg/kg 群の雌 3 例中 2 例に死亡が認められた（表 5）。死亡例は、1470 mg/kg 群では投与後 6～24 時間に、825 及び 1000 mg/kg 群では投与後 2～4 日に認められた。一般状態の変化として、464 mg/kg 以上の用量で運動失調及び低呼吸、681 mg/kg 以上の用量群で運動低下及び呼吸困難、825 mg/kg 以上の用量群で筋弛緩、振戦及び強直性間代性痙攣、1000 mg/kg 以上の用量で間代性痙攣、眼瞼下垂及び腹臥位、並びに 1470 mg/kg 群で側臥位及び後弓反張が認められた。生存動物は、投与後 2～3 日以内に回復した。投与 1 日目及び 2 日目に 1000 mg/kg 群で、30～80%の摂餌量の減少を伴う 5～10%の体重増加の抑制が認められた。825 mg/kg 群では、投与 1 日目及び 2 日目にそれぞれ 50%及び 10%の摂餌量の減少が認められたが、体重変化は伴っていなかった。

早期死亡例の剖検所見として、肝臓及び腎臓の蒼白、腎表面の顆粒状変化、並びに 1000 mg/kg 群の雄 1 例の胃腸系のガス貯留が認められた。生存動物に剖検変化は認められなかった。

本試験における DMF の最小毒性量は 464 mg/kg、14 日後の LD_{50} 値は、雄で 920 mg/kg、雌で 990 mg/kg、24 時間後の LD_{50} 値は、雌雄ともに 1210 mg/kg であった。

2.6.6.2.3 Sprague-Dawley ラットを用いたフマル酸ジメチルの経口単回投与毒性試験（試験番号 PD05-25）

記載箇所：参考[M4.2.3.1-3] PD05-25

本 GLP 試験では、ラットにおける DMF の単回投与毒性を強制経口投与により検討した。本試験では、表 6 に示す Sprague-Dawley ラット 7 群を設定した。投与後 14 日間、一般状態、摂餌量及び摂水量、並びに体重を観察した。試験期間終了前の死亡動物及び試験期間終了時にすべての生存動物を剖検した。

表 6 試験番号 PD05-025 の試験デザイン

群番号	被験物質 [a]	動物数（雄：雌）	投与量（mg/kg）	死亡数（雄：雌）
1	DMF	3：3	681	0：0
2	DMF	3：3	1470	0：0
3	DMF	3：3	2150	0：0
4	DMF	0[b]：3	2610	1[c]
5	DMF	3：3	3160	1：3
6	DMF	3：0[d]	4640	3[e]
7	DMF	3：0[d]	6810	3[e]

Data source：[M4.2.3.1-3] PD05-25-Table 2
[a] 溶媒：0.8% ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）水溶液
[b] 雌のみ
[c] 本群の雌 1 例が死亡した
[d] 雄のみ
[e] 本群の雄全例が死亡した

DMF の投与により、投与後 7～48 時間以内に、2610 mg/kg 群の雌 3 例中 1 例、3160 mg/kg 群の 6 例中 4 例（雄 1 例及び雌 3 例）、及び 4640 mg/kg 並びに 6810 mg/kg 群の雄全例に死亡が認められた（表 6）。一般状態の変化として、2610 mg/kg 以上の用量で運動失調、筋弛緩、運動低下及び呼吸数の減少が認められた。生存動物は、投与後 24 時間以内に回復した。投与 1 日目及び 2 日目に 2150 mg/kg 以上の用量群で、70～90%の摂餌量の減少を伴う 5～15%の体重増加の抑制が認められた。2150 mg/kg 以上の用量群では以降も 10～15%の体重増加の抑制が認められた。投与 1 日目及び 2 日目に 1470 mg/kg 群で、10～50%の摂餌量の減少を伴う 5%の体重増加の抑制が認められた。

早期死亡例の剖検変化として、胃粘膜の赤色化が認められた。生存動物に剖検変化は全く認められなかった。早期死亡例の病理組織学的変化として、3160 mg/kg 群で胃の出血性びらん、前胃粘膜のうっ血、粘膜内出血及び浮腫による上皮剥離、並びに 6810 mg/kg 群で前胃の軽微のうっ血が認められた。

本試験における DMF の最小毒性量は 1470 mg/kg、14 日後の LD_{50} 値は、雄で 3220 mg/kg、雌で 2630 mg/kg、24 時間後の LD_{50} 値は、雄で 4750 mg/kg、雌で 2630 mg/kg であった。

2.6.6.2.4 Sprague-Dawley ラットを用いたフマル酸ジメチルの腹腔内単回投与毒性試験（試験番号 PD05-26）

記載箇所：参考[M4.2.3.1-4] PD05-26

本 GLP 試験では、ラットにおける DMF の単回投与毒性を腹腔内投与により評価した。本試験では、表 7 に示す Sprague-Dawley ラット 5 群を設定した。投与後 14 日間、一般状態、摂餌量及び摂水量、並びに体重を観察した。試験期間終了前の死亡動物及び試験期間終了時にすべての生存動物を剖検した。

表 7 試験番号 PD05-26 の試験デザイン

群番号	被験物質 [a]	動物数（雄：雌）	投与量（mg/kg）	死亡数（雄：雌）
1	DMF	3：3	316	0：0
2	DMF	3：3	681	0：0
3	DMF	0[b]：3	825	0：2
4	DMF	3：3	1000	2：3
5	DMF	3：0[c]	1470	3：0

Data source：[M4.2.3.1-4] PD05-26-Table 2
[a] 溶媒：0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）水溶液
[b] 雌のみ
[c] 雄のみ

DMF の投与により、投与後 6～24 時間以内に、1470 mg/kg 群の雄 3 例、1000 mg/kg 群の雄 3 例中 2 例及び雌全例、並びに 825 mg/kg 群の雌 3 例中 2 例に死亡が認められた。死亡前に腹臥位での強直性痙攣が認められた。一般状態の変化として、681 mg/kg 以上の用量で運動低下、呼吸数の減少、運動失調及び筋弛緩、825 mg/kg 以上の用量で呼吸困難、1000 mg/kg 以上の用量で振戦及び立毛、並びに 1470 mg/kg 群で腹臥位が認められた。生存動物は、投与後 24 時間以内に回復した。

早期死亡例の剖検変化として、腎臓の部分的な蒼白及び胃の出血性びらん（1 例）が認められた。生存動物に剖検変化は認められなかった。病理組織学的検査では、早期死亡例に変化は認められなかった。

本試験における DMF の最小毒性量は 681 mg/kg、14 日後の LD_{50} 値は、雄で 910 mg/kg、雌で 910 mg/kg、24 時間後の LD_{50} 値は、雄で 910 mg/kg、雌で 820 mg/kg であった。

2.6.6.2.5 非げっ歯類における急性毒性評価

記載箇所：参考[M4.2.3.2-5] P00012-05-04, 参考[M4.2.3.2-8] P00012-05-07

非げっ歯類における DMF の急性毒性として、イヌ 3 週間用量漸増／忍容性試験（2.6.6.3.3.1 項、試験番号 P00012-05-04）で 25 mg/kg 1 日 1 回から 100 mg/kg 1 日 1 回に漸増した最初の 4 日間投与中の毒性及びカニクイザル 14 日間投与試験（2.6.6.3.4.1 項、試験番号 P00012-05-07）で初回投与後の毒性を評価した。イヌでは、用量漸増期間中の投与 2～4 日目に 50 mg/kg 以上の用量で、嘔吐、摂餌量の減少及び体重減少が認められた。サルでは、0、5、25 及び 75 mg/kg の初回投与後に DMF 投与の影響は認められなかった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクスを含む）

マウス、ラット、イヌ及びカニクイザルを用いて、0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液を溶媒とする DMF 調製液又は臨床製剤（イヌ）の強制経口投与により、反復投与毒性試験（3 週間及び 11 ヵ月間）を実施した。慢性毒性試験は、ラット（6 ヵ月間）、イヌ（11 ヵ月間）及びカニクイザル（1 年間）で実施した。DMF の代謝を介して生じる可能性のあるメタノール曝露に

よる影響を検討するため、カニクイザルを用いて慢性毒性試験を実施した。上記の試験はすべて、臨床製剤の製造に用いられる原薬ロットの代表又は同等のロットを被験物質として用い、GLP に準拠して（イヌ 3 週間投与忍容性試験：2.6.6.3.3.1 項、試験番号 P00012-05-04 及びカニクイザル 2 週間投与忍容性試験：2.6.6.3.4.1 項、試験番号 P00012-05-07 を除く）実施された。上記試験結果から、DMF の反復投与毒性が適切に評価された。

上記試験の用量、投与経路及び試験期間を表 8 に示す。

投与後、DMF は急速に MMF に加水分解されるため、全反復投与試験で、一次代謝物である MMF を測定することにより DMF 曝露を評価した。

表 8 反復投与毒性試験

試験番号	タイトル	動物種及び系統(動物数、雄/雌)	DMF 投与量（mg/kg）投与方法	試験期間
P00012-04-02 2.6.6.3.1.1 項	C57/BL/6 マウスを用いた BG00012 の 28 日間強制経口投与用量設定毒性試験	マウス/C57BL/6（雄 6/雌 6/群）	0, 50, 100, 250, 400 強制経口	4 週間
P00012-04-10 2.6.6.3.1.2 項	CD-1 マウスを用いたフマル酸ジメチル (BG00012) の 13 週間強制経口投与用量設定試験	マウス/CD-1（主試験:雄 20/雌 20/群）(回復試験：雄 5/雌 5/群)（TK : 雄 15/雌 15/群）	0, 50, 200, 400 強制経口	13 週間
P00012-04-01 2.6.6.3.2.1 項	ラットを用いた BG00012 の 3 ヵ月間強制経口投与毒性試験及び 4 週間回復試験	ラット/Sprague Dawley（主試験：雄 10/雌 10/群）（回復試験：雄 5/雌 5/群）（TK：雄 3/雌 3/群）	0, 50, 100, 250 (回復性評価), 500 強制経口	3 ヵ月間
P00012-04-06 2.6.6.3.2.2 項	CD®IGS ラットを用いたフマル酸ジメチルの 6 ヵ月間強制経口投与毒性試験	ラット/Sprague Dawley/CD®(SD)IGS（主試験:雄 15/雌 15/群）（回復試験：雄 5/雌 5/群）	0, 25, 100, 200 強制経口	6 ヵ月間
P00012-05-04 2.6.6.3.3.1 項	イヌを用いた BG00012 の 3 週間経口投与（カプセル）用量漸増／忍容性試験	ビーグル犬（雄 2/雌 2/群）	25, 50, 75, 100, 125 経口（カプセル）	3 週間
P00012-04-05 2.6.6.3.3.2 項	ビーグル犬を用いた BG00012 及び高用量 fumaderm®の 4 週間強制経口投与毒性試験及び 14 日間回復試験	ビーグル犬（主試験：雄 4/雌 4/群）（回復試験：雄 3/雌 3/群）	0, 50, 100, 250 : 180/60[a] : Fumaderm[b] 強制経口	4 週間
P00012-05-05 2.6.6.3.3.3 項	ビーグル犬を用いた BG00012 の 11 ヵ月間経口（カプセル）投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復試験	ビーグル犬（主試験：雄 4/雌 4/群）（回復試験：雄 2/雌 2/群	0, 5, 25, 75/50[c] 経口（カプセル）	11 ヵ月間
P00012-05-07 2.6.6.3.4.1 項	カニクイザルを用いたフマル酸ジメチル懸濁液の 14 日間経鼻胃管投与用量設定試験	カニクイザル（雌 4/群）	0, 5, 25, 75/100/125[d] 強制経口	2 週間
P00012-05-08 2.6.6.3.4.2 項	カニクイザルを用いたフマル酸ジメチル懸濁液の経鼻胃管投与 1 年間慢性毒性試験	カニクイザル（主試験：雄 4/雌 4/群）（回復試験：雄 2/雌 2/群）	0, 5, 25, 75 経鼻胃管	1 年間

[a] Fumaderm の投与量は投与 13 日目（雄）及び投与 12 日目（雌）に 180 mg/kg/日から 60 mg/kg/日に減量された。
[b] Fumaderm = 56% w/w DMF、並びにフマル酸モノエチルカルシウム塩、マグネシウム塩及び亜鉛塩の混合物
[c] 7 日目の投与開始時に、有害な症状により投与量は 50 mg/kg に減量された。
[d] 用量漸増：投与開始 1～8 日目に 75 mg/kg、投与 10 日目に 100 mg/kg、投与 11～15 日目に 125 mg/kg

2.6.6.3.1 マウス

2.6.6.3.1.1 C57/BL/6 マウスを用いた BG00012 の 28 日間強制経口投与用量設定毒性試験（試験番号 P00012-04-02）

記載箇所：[M4.2.3.2-1] P00012-04-02

本 GLP 試験では、C57BL/6 及び B6.129-Trp53tm1BrdN5 の野生型マウス（P53N5-W）を用いて DMF（試験報告書中では BG00012 と記載）の 1 日 1 回連続 28 日間の強制経口投与による毒性を検討した。本試験は、B6.129-Trp53tm1BrdN5 ヘテロ接合体トランスジェニックマウスを用いた 6 ヵ月間がん原性試験の用量設定試験として実施された。C57BL/6 及び B6.129-Trp53tm1BrdN5 マウスは、B6.129-Trp53tm1BrdN5 ヘテロ接合体トランスジェニックマウスに対する毒性を推定するための代替動物として望ましい系統であることが既知であること、及び B6.129-Trp53tm1BrdN5 ヘテロ接合体トランスジェニックマウスは、C57BL/6 を初期のバックグラウンド系統として開発された系統であること等から用量設定試験の動物モデルとして選択された。本試験の実施後、DMF の遺伝毒性に関するデータから、がん原性試験モデルとして使用することは裏付けられなかった（2.6.6.4 及び 2.6.6.5 項）ことから、B6.129-Trp53tm1BrdN5 ヘテロ接合体トランスジェニックマウスを用いた試験はこれ以降実施されなかった。

動物は、表 9 に示すように 6 群に無作為割付した。

表 9 試験番号 P00012-04-02 の試験デザイン

群番号	動物数 主試験（TK サテライト試験）		被験物質	投与量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）
	雄	雌				
1	6	6	0.8% HPMC	0	0	10
2	6 (27)	6 (27)	DMF	50	5	10
3	6 (27)	6 (27)	DMF	100	10	10
4	6 (27)	6 (27)	DMF	250	25	10
5	6 (27)	6 (27)	DMF	400	40	10
6	6	6	DMF	250	25	10

Data source：[M4.2.3.2-1] P00012-04-02-text-9.4.1 Study Design
*第 1 群～第 5 群は C57BL/6 マウスを用い、第 6 群は P53N5-W マウスを用いた。
TK：トキシコキネティクス、HPMC：ヒドロキシプロピルメチルセルロース

被験物質又は溶媒対照（0.8% HPMC/RODI 水）は、1 日 1 回連日 28 日間、強制経口投与された。投与前日、投与 6、13、20、27 日目の投与前、及び剖検の前日に一般状態の詳細な観察を行った。投与 0 から 28 日目では、各群の投与終了後約 10 分以内及び投与後およそ 1～2 時間後にケージサイドで投与による一般状態への影響を観察した。投与前日、投与 6、13、20、27 日目に、各動物の体重及び摂餌量を記録した。最終体重は計画剖検前に記録した。計画剖検日（投与 28 日目）に各群雌雄それぞれ最初の 3 例から採血し、血液学的検査を行った。計画剖検日（投与 29 日目）に各群雌雄それぞれ残りの 3 例から採血し、血液生化学的検査を行った。投与開始前（投与開始 9 日前）に 1 回及び計画剖検前（投与 27 日目）に 1 回、眼科学的検査を行った。

死亡時又は試験終了時に（可能な場合、各群雌雄それぞれ最初の 3 例を投与 28 日目に、残りの 3 例を投与 29 日目に）全動物の詳細な剖検を行った。生存動物については新鮮臓器の重量を測定し、全動物（死亡状態で発見された動物を除く）の評価予定組織を保存した。剖検時に第 1、5 及び 6 群から採取された全器官、並びに第 2、3 及び 4 群から採取された胃、腎臓、精巣、精巣上体及び肝臓について病理組織学的検査を行った。

トキシコキネティクス（TK）測定用の血液はサテライト群から採取した。雄 27 例及び雌 27 例を第 2、3、4 及び 5 群に割り付けた。投与 0 及び 27 日目の投与後 0（投与前）、10、30 及び 60 分、並びに投与 13 日目の投与前に、雌雄各 3 例/群から採血した。

本試験では、DMF に関連した死亡例、一般状態又は眼科学的検査における有害な変化は認められなかった。400 mg/kg/日群の雄 1 例及び P53N5-W マウス（第 6 群）の 250 mg/kg/日群の雄 1 例が誤投与によって死亡した。生存動物については、一般状態に DMF に関連した有害な変化は認められなかった。

DMF に関連した摂餌量の減少に伴う体重の減少が 250 及び 400 mg/kg/日群の雄、400 mg/kg/日群の雌、並びに P53N5-W マウスの 250 mg/kg/日群の雌雄に認められた。DMF に関連した赤血球指数の統計学的に有意な減少並びに白血球及び単球の統計学的に有意な増加が 400 mg/kg/日群の雄 5 例に認められた。有意な単球の増加が 400 mg/kg/日群の雌に認められた。体重及び血液学的パラメーターの変化については、偶発的な変化であり、DMF 投与に関連した有害な変化ではないと判断された。

対照群と比較して、250 及び 400 mg/kg/日群の雌雄、並びに P53N5-W マウスの 250 mg/kg/日群の雌雄において、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）及びアルカリホスファターゼ（ALP）の低値がみられたが、統計学的有意差が認められたのは 250 mg/kg/日群の雌の ALT 及び 400 mg/kg/日群の雌の ALP のみであった。総蛋白量は DMF 400 mg/kg/日群の雄に統計学的に有意な低下が認められ、グロブリン値は 250 及び 400 mg/kg/日群の雄、並びに P53N5-W マウスの 250 mg/kg/日群の雄に統計学的に有意な低下が認められた。対照群と比較して、400 mg/kg/日群の雌の BUN 及び血糖値に有意な低下が認められた。血清 γ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT）値は、対照群と比較して、投与群のほとんどの雌で全般的に高く、250 mg/kg/日群の雌に統計学的に有意な増加が認められた。これらの変化は、背景データの範囲内であり、用量依存性が認められないこと及び病理組織学的変化と関連性が認められないことより、DMF 投与に関連した有害な変化ではないと判断された。

DMF の曝露評価は、一次代謝物である MMF を測定して検討した。用量の増加に伴って、MMF 曝露量は用量比例的（C_{max} 値）又は用量比例関係をわずかに上回る（AUC_{last} 値）増加を示した。MMF は急速に吸収・排泄され、t_{max} は 0.17 時間未満、$t_{1/2}$ は 0.58 時間未満であった。1 日 1 回 28 日間の DMF の反復経口投与後、マウスに MMF の有意な蓄積は認められなかった。いずれの投与群にも曝露量に性差は認められなかった。

剖検で被験物質投与に関連して認められた主要な変化は、DMF を 250 mg/kg/日以上での用量で雌

雄における胃重量の増加、胃壁の肥厚、境界縁（胃の腺部と前胃部との境界部）の顕著な隆起、前胃粘膜の扁平上皮細胞過形成及び角化亢進、並びにすべての DMF 投与群の雄における精巣・精巣上体の精子肉芽腫であった。精巣・精巣上体の精子肉芽腫は実験用マウスでは一般的な偶発病変としてしばしば認められるが、本試験では DMF 投与群においてのみ発生したことから、被験物質投与に関連した変化であることが示唆された。

以上、前胃に認められた変化から、本試験における雌マウスにおける DMF の無毒性量は、100 mg/kg/日と判断された。雄マウスについては、このマウス系統で精子肉芽腫は背景データに認められることの多い変化であることから、その関連性は不明ではあるが、全 DMF 投与群の雄で精巣・精巣上体の精子肉芽腫が認められたことから、無毒性量は 50 mg/kg 未満と判断された。

2.6.6.3.1.2 CD-1 マウスを用いたフマル酸ジメチルの 13 週間強制経口投与用量設定試験（試験番号 P00012-04-10）

記載箇所：[M4.2.3.2-2] P00012-04-10

本 GLP 試験では、1 日 1 回連日 13 週間の強制経口投与及びその後の 4 週間の回復期間におけるマウスを用いた DMF の毒性を検討した（[M2.6.7.6]参照）。本試験は、2 年間がん原性試験の用量設定試験として実施された。マウスは表 10 に示すように、4 群に無作為に割り付けられた。

表 10 試験番号 P00012-04-10 の試験デザイン

群番号	動物数 主試験（回復性試験）[TK サテライト試験]		被験物質	投与量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）
	雄	雌				
1	20 (5) [15]	20 (5) [15]	溶媒	0	0	10
2	20 (5) [15]	20 (5) [15]	DMF	50	5	10
3	20 (5) [15]	20 (5) [15]	DMF	200	20	10
4	20 (5) [15]	20 (5) [15]	DMF	400	40	10

Data source：[M4.2.3.2-2] P00012-04-10-text-10.4.1 Study Design
溶媒：0.8% HPMC/RODI 水
TK：トキシコキネティクス、HPMC：ヒドロキシプロピルメチルセルロース

DMF 又は溶媒対照〔0.8% (w/v) HPMC/RODI 水〕を、1 日 1 回連日 13 週間、強制経口投与した。一般状態を毎日観察した。週 1 回、各動物の体重及び摂餌量を記録した。サテライト群動物で投与開始前に、臨床病理検査を行い、主試験群で剖検日に臨床病理検査を行った。投与開始前（投与開始 5 日前）、投与期間の終了直前（最終投与週）及び回復性試験期間の終了直前に各 1 回、眼科学的検査を実施した。死亡時又は計画剖検時（雄は投与 92 日目、雌は投与 93 日目の投与期間終了後、又は回復性試験期間後の投与 119 日目）に全動物の詳細な剖検を行った。生存動物は、剖検時に器官重量を測定し、全動物（死亡状態で発見された動物を除く）の組織を保存した。剖検時に採取した全組織に病理組織学的検査を行った。さらに解析する場合に備えて計画剖検時に組織を追加採取した。

TK 用にサテライト群（第 1～4 群）から投与 1、45 及び 90 日目の規定した時点で採血した。一般状態及び死亡の有無を午前及び午後の 1 日 2 回観察した。週 1 回、各動物の体重を記録した。全動物を二酸化炭素吸入により安楽死させ、採血後、剖検せずに廃棄した。TK 用動物の組織は保存しなかった。

死亡、一般状態、体重、血液生化学的検査結果又は眼科学的検査結果に DMF に関連した変化は認められなかった。明らかに特発性に死亡した 50 mg/kg/日群の雌 1 例を除き、主試験及び回復性試験群の全動物が剖検日まで生存した。400 mg/kg/日群の雄 4 例で投与 1 及び 4 週目、並びに同群の雌で投与 1 週目の摂餌量に統計学的に有意な減少が認められた。同群の雄では、対照群と比較して、全般的に、回復性試験期間に入るまで摂餌量の減少が認められた。雄の摂餌量減少は、被験物質に関連した変化であると判断された。

200 mg/kg/日以上の雌雄では、対照群と比較して、貧血の可能性を示す赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少が認められた。血液学的検査で認められたこれらの変化は可逆性であった。

MMF 濃度は、全群で投与後 10 分で最大を示した。投与期間中の AUC 及び C_{max} から、MMF の明らかな蓄積は認められなかった。MMF 曝露量は、AUC 及び C_{max} ともにほぼ用量比例的な増加が認められた。いずれの投与群でも曝露量に性差は認められなかった。MMF の消失半減期は、用量に関連せず 0.17～0.35 時間であった（表 11）。

表 11 CD-1 マウスを用いた 1 日 1 回強制経口投与したときの MMF の薬物動態パラメーター

投与量 (mg/kg)	測定日	性別	AUC_{inf} (μg·h/mL)	AUC_{last} (μg·h/mL)	C_{max} (μg/mL)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)
50	45	雄	5.62	5.60	16.9	0.17	0.178
50	45	雌	5.90	5.85	17.4	0.17	0.213
50	90	雄	6.05	6.00	16.0	0.17	0.217
50	90	雌	6.00	5.98	18.6	0.17	0.200
平均値 ± 標準偏差			5.89 ± 0.193	5.87 ± 0.185	17.2 ± 1.08	0.17 (-)	0.202 ± 0.017
200	45	雄	30.7	30.3	56.5	0.17	0.185
200	45	雌	31.7	31.3	52.1	0.17	0.185
200	90	雄	31.3	30.7	74.2	0.17	0.265
200	90	雌	32.7	32.3	72.0	0.17	0.200
平均値 ± 標準偏差			31.7 ± 0.833	31.2 ± 0.882	63.7 ± 11.0	0.17 (-)	0.209 ± 0.038
400	45	雄	73.3	69.8	98.8	0.17	0.308
400	45	雌	75.0	70.7	94.8	0.17	0.355
400	90	雄	64.3	65.7	104	0.17	0.258
400	90	雌	104	101.67	177	0.17	0.238
平均値 ± 標準偏差			79.2 ± 17	77.0 ± 16.6	119 ± 39.1	0.17 (-)	0.290 ± 0.052

Data source：[M4.2.3.2-2] P00012-04-10-Appendix R-Table 2

病理組織学的検査で認められた脾臓の髄外造血の増加は、貧血に対する二次的応答であると考えられ、有害な変化とは判断されなかった。

投与期間終了後の剖検で、主に 200 及び 400 mg/kg/日群の雌雄の前胃に粘膜の隆起、病巣及び胃

壁の肥厚が認められた。これらの変化は、胃重量の増加並びに病理組織学的検査で前胃に認められた軽微～中等度の角化亢進、角化嚢胞、角質層の軽微～軽度の微小膿瘍、軽微～軽度の扁平上皮細胞の過形成、軽微～中等度の慢性活動性炎症、軽微～軽度の亜急性炎症、粘膜下層／漿膜の限局性異物、胃漿膜の軽度の癒着及び軽微な限局性潰瘍と関連した。50 mg/kg/日群の雌雄の前胃に軽微の角化亢進及び軽微の亜急性炎症が認められた。全般的に、剖検で前胃に認められた変化は、200 mg/kg/日群以上の雄及び 200 mg/kg/日群の雌では可逆性であったが、400 mg/kg/日群の雌では可逆性は認められなかった。

回復期間終了後では、200 及び 400 mg/kg/日群の雌雄に軽微～中等度の角化亢進及び軽微の扁平上皮細胞の過形成が認められた。回復期間終了後、低用量である 50 mg/kg/日群には、被験物質に関連した病理組織学的変化は認められなかった。被験物質に関連した同様の変化は、既述の C57BL/6 マウスを用いた 28 日間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1.1 項、試験番号 P00012-04-02）では、200 及び 400 mg/kg/日群の雌雄に胃重量の増加、胃壁の肥厚、境界縁の強調／隆起、前胃粘膜の扁平上皮細胞の過形成及び角化亢進が認められた。

200 mg/kg/日群以上の雌雄で、DMF に関連した腎臓重量の増加が認められたが、DMF に関連した組織学的変化との関連性は認められなかった。また、前述した C57BL/6 マウスを用いた 28 日間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1.1 項、試験番号 P00012-04-02）では、病理組織学的検査で精巣・精巣上体の精子肉芽腫が全 DMF 投与群で認められた。精巣・精巣上体の精子肉芽腫は CD-1 マウスを用いた本試験では認められなかった。これら 2 試験間の精巣・精巣上体に認められた変化の相違は、マウスの系統差によるものと考えられる。

以上、標的臓器として前胃が確認された。全 DMF 投与群で DMF に関連した変化が前胃に認められたことから、無毒性量及び無影響量は確定されなかった。

2.6.6.3.2 ラット

2.6.6.3.2.1 ラットを用いた BG00012 の 3 ヵ月間強制経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（試験番号 P00012-04-01）

記載箇所：[M4.2.3.2-3] P00012-04-01

本 GLP 試験では、ラットにおける DMF（試験報告書中では BG00012）1 日 1 回連日 3 ヵ月間強制経口投与の全身毒性及び 4 週間の回復性を検討した（[M2.6.7.7A]参照）。本試験は、ラットにおける 2 年間がん原性試験の用量設定試験として実施された。

Sprague-Dawley ラットに DMF 又は溶媒対照を 1 日 1 回 3 ヵ月間反復強制経口投与した。溶媒対照は 0.8% (w/v) HPMC/RODI 水とした。投与群及び用量の要約を表 12 に示す。試験開始時の試験デザインでは 4 群が設定された。500 mg/kg/日群の忍容性が不良であったため、7 日間で投与を中止し、8／9 日目及び 36／37 日目に雌雄各 5 例を剖検した。新たに 50 mg/kg/日群を設け、また回復性試験群として 100 及び 250 mg/kg/日群を設けた。本試験では、TK 用に雌雄各 3 例/群のサテライト群を設けた。主試験群は投与 91 日目、回復性試験群は投与 119 日目に剖検した。TK 用のサ

テライト群は、最終採血後に安楽死させ、剖検しなかった。

表 12 試験番号 P00012-04-01 の試験デザイン

群番号	動物数 毒性試験（回復性試験） [TK サテライト試験]		被験物質	投与量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）
	雄	雌				
1	15 (5)	15 (5)	溶媒	0	0	10
2	10 [3]	10 [3]	DMF	100	10	10
3	15 (5) [3]	15 (5) [3]	DMF	250	25	10
4	15 (5) [3]	15 (5) [3]	DMF	500	50	10
5	10 [3]	10 [3]	DMF	50	2.5	10

Data source：[M4.2.3.2-3] P00012-04-01-text Table 2
溶媒：0.8% HPMC/RODI 水
TK：トキシコキネティクス、HPMC：ヒドロキシプロピルメチルセルロース

試験計画書に規定した時点で主試験群及び回復性試験群の一般状態、体重・摂餌量測定、眼科学的検査、並びに臨床病理検査（血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査及び尿検査）用の試料採取を行った。また、本試験では、投与 1、29、57 及び 90 日目の投与前及び投与後 15、30 及び 45 分に雌雄各 3 例/群から、TK 用に採血した。

主試験群及び回復性試験群の各動物について、剖検して病理学的検査及び組織採取を行った。器官重量を記録し、病理組織学的検査を行った。さらに、血液及び尿の最終試料、並びに組織を主試験群及び回復性試験群から採取し、トキシコゲノミクス解析を行った。

500 mg/kg/日群では忍容性が認められなかった。本群では、投与開始から 7 日後に摂餌量及び体重の減少、強制経口投与への抵抗、帯赤色唾液などの毒性変化が認められた。当該動物はその後に剖検（雌雄各 5 例/群）又は 4 週間の回復期間後に剖検した（雌雄各 5 例/群）。

50、100 及び 250 mg/kg/日群では、一般状態及び死亡率、眼科学的検査、血液凝固検査及び尿検査には DMF に関連した変化は認められなかった。死亡が 3 例認められたが、DMF に起因しないと判断された。100 mg/kg/日群の雄 1 例が投与 30 日目に瀕死状態で発見され、安楽死された。本例の衰弱原因は、食道穿孔と考えられ、誤投与によるものと推定された。回復性試験の 250 mg/kg/日群の雄 1 例が投与 50 日目に原因不明で死亡した。50 mg/kg/日群の雄 1 例が投与 16 日目に死亡状態で発見されたが、明らかな死因は不明であった。

一般状態の変化は、50 mg/kg/日群における顔部の乾燥赤色物質であった。100 及び 250 mg/kg/日群では、対照群又は低用量群と比較して、流涎（投与前及び投与直後）及び流涙がより高頻度に認められた。100 及び 250 mg/kg/日群では、唾液の赤変も認められた。また、剖検前に 500 mg/kg/日群で流涎及び顔部の乾燥赤色物質が認められた。250 mg/kg/日群の週ごとの平均体重は、雌雄ともに投与期間中、対照群と比較して統計学的に有意な減少（雄：10～18%、雌：6～8%）が認められ、雄では回復期間中も、対照群と比較して統計学的に有意に低いままであった。250 mg/kg/日群の雌雄の摂餌量は、対照群と比較して最初の 2 週間のみ減少が認められ、摂餌量の減少は全般的

に投与群の雌で最初の 6 週間に認められた。

臨床病理検査では、被験物質投与に関連した変化は認められなかった。血液学的検査及び血液生化学的検査では、対照群と比較して統計学的有意差が全 DMF 投与群の雌雄のさまざまな時点で散発的に認められた。これらの臨床病理変化はすべて背景データの範囲内で、試験前の測定値と同程度で、用量依存性が認められない変化であった。回復期間終了時に、対照群と投与群間で統計学的有意差は認められなかった。

全 DMF 投与群間で、MMF は最大で投与後 45 分に検出された（表 13）。1 日 1 回 3 ヵ月間の DMF 投与後、全投与群の雌雄いずれのラットにも MMF の有意な蓄積は認められず、MMF 曝露量には、ほぼ用量比例的な増加が認められた。曝露量には性差が認められ、雄の平均曝露量は雌よりも低かった（8～41%）。MMF 血漿濃度推移には、50 から 500 mg/kg の用量範囲で、t_{max} が雌では 0.25 時間から 0.75 時間、雄では 0.25 時間から 0.50 時間に延長し、用量の増加に伴う吸収相の延長が認められた。

表 13 Sprague Dawley ラットに DMF を 1 日 1 回経口投与したときの MMF のトキシコキネティックパラメーター

投与量 (mg/kg)	性別	測定日		AUC_{last} (μg·h/mL)	C_{max} (μg/mL)	t_{max} [a] (h)
50	雌	1	平均値	4.72	9.3	0.25
			標準偏差	0.88	2.66	(0.25~0.50)
		29	平均値	4.91	9.6	0.25
			標準偏差	0.91	0.43	(0.25~0.75)
		57	平均値	8.06	18.3	0.25
			標準偏差	4.45	10.42	(0.25~0.75)
		90	平均値	7.13	13.7	0.25
			標準偏差	2.34	3.34	(0.25~0.50)
	雄	1	平均値	4.62	10.5	0.25
			標準偏差	1.76	5.50	(0.25~0.50)
		29	平均値	5.64	12.8	0.25
			標準偏差	2.80	8.06	(0.25~0.50)
		57	平均値	6.22	12.8	0.25
			標準偏差	0.72	0.98	(0.25~0.50)
		90	平均値	5.19	10.6	0.25
			標準偏差	0.79	2.05	(-)
100	雌	1	平均値	13.97	27.4	0.25
			標準偏差	3.36	9.90	(0.25~0.50)
		29	平均値	8.55	14.0	0.50
			標準偏差	3.30	4.92	(0.25~0.75)
		57	平均値	16.78	28.8	0.50
			標準偏差	2.31	3.39	(-)
		90	平均値	13.75	25.6	0.75
			標準偏差	3.88	6.15	(-)
	雄	1	平均値	12.25	26.3	0.25
			標準偏差	4.41	11.60	(0.25~0.50)
		29	平均値	7.50	14.9	0.50
			標準偏差	3.49	5.56	(0.25~0.50)
		57	平均値	7.56	14.5	0.62
			標準偏差	0.64	0.10	(0.25~0.75)
		90	平均値	9.74	20.2	0.25
			標準偏差	2.37	5.71	(-)
250	雌	1	平均値	37.58	57.97	0.50
			標準偏差	17.43	28.78	(-)
		29	平均値	20.61	40.33	0.75
			標準偏差	8.65	16.04	(0.50~0.75)
		57	平均値	28.94	56.60	0.75
			標準偏差	16.72	34.29	(-)
		90	平均値	29.03	53.30	0.25
			標準偏差	10.07	15.89	(0.25~0.50)
	雄	1	平均値	21.57	38.0	0.25
			標準偏差	2.42	6.76	(-)
		29	平均値	10.21	18.8	0.75
			標準偏差	6.59	11.48	(0.18~0.75)
		57 [c]		11.91	22.9	0.25
				25.79	50.2	0.25
		90 [c]		11.6	23.2	0.25
				22.13	41	0.25
500	雌	1	平均値	53.65	96.07	0.75
			標準偏差	6.46	4.05	(0.50~0.75)
	雄	1	平均値	31.45	56.83	0.50
			標準偏差	3.95	9.41	(0.25~0.75)

Data source : [M4.2.3.2-3] P00012-04-01-Appendix 14-Table 2, Table 3, Table 4, Table 5, Table 6, Table 7, Table 8, Table 9

[a] 中央値（範囲）
[b] 個別値

雌雄の胃の平均絶対及び相対重量には、対照群と比較して 100 及び 250 mg/kg/日群で、前胃の過形成に一致した有意な増加が認められた。雄では統計学的有意差に達しなかったが、増加は 50 mg/kg/日群でも明らかであった。

100 及び 250 mg/kg/日群の腎臓、並びに 250 mg/kg/日群の肝臓の絶対及び相対重量は、雌雄とも、対照群と比較して有意な増加が認められた。脳、心臓、下垂体、脾臓及び甲状腺の重量変化には、雌雄とも、用量依存性が認められなかったことから、DMF 投与に関連した変化ではないと判断された。

全 DMF 投与群で前胃に変化が認められ、扁平上皮粘膜に関連した白色～黄色の肥厚又は病巣がさまざまな程度で認められ、赤～褐色の変色巣又は陥凹領域を伴うものもあった。

病理組織学的検査では、DMF に関連した変化が、主に前胃粘膜及びより軽度な程度で腺胃に、性別及び用量に関係なく認められた。急性（好中球主体）及び慢性炎症（リンパ球・組織球主体）、扁平上皮細胞の過形成及び角化亢進が、全 DMF 投与群に認められた。対照群の胃には、剖検又は病理組織学的変化は認められなかった。250 mg/kg/日群の雌雄各 1 例で、前胃に扁平上皮癌が認められた。また、高用量群（500 mg/kg/日群）では、短期間（9 日以内）で著しい壊死巣が形成された胃炎が認められた。しかし、前胃粘膜は、一部の肥厚病変（扁平上皮細胞の過形成及び角化亢進）を除いて、4 週間の回復期間後にほぼ投与前の状態に回復した。

膵臓の腺房細胞のアポトーシス、空胞化及び異物食作用の非用量依存性の増加が認められた。投与群のこれらの変化は軽微～軽度であった。これらはラットに好発する背景データ内の変化であるが、対照群との発現率の比較から DMF の投与に関連した変化と考えられた。腎臓では、尿細管の軽微～軽度の好塩基性変化が認められた。これらの変化は用量依存性で、DMF に関連した変化と判断されたが、尿細管に対する直接的な作用であるのか、老齢ラットで認められる慢性進行性腎症（CPN）が DMF によって悪化した結果によるものであるのかは不明である。

250 mg/kg/日群から採取した腎臓を用いて、転写プロファイリングを解析した。雌雄ラットへの DMF 投与によってアップレギュレートされた遺伝子は、グルタチオン-5-トランスフェラーゼ mu 1 及び Yc サブユニット、グルタチオンペルオキシダーゼ及び NADPH 脱水素酵素であった。腎障害及び腎尿細管の再生に関連して発現が変化した遺伝子も確認された。Kim-1 のアップレギュレーションが雌雄に認められたが、クラステリンの誘導は雄のみに認められた。性特異的な発現の変化が最も顕著に認められたのは、チトクロム P450 2C（CYP2C）及び 2B（CYP2B）の 2 種類であり、それぞれ雄及び雌に抑制が認められた。HIF-1α によって転写活性化される下流遺伝子にアップレギュレーションは認められなかった。

以上、DMF を 500 mg/kg/日の用量における経口投与では忍容性は認められなかった。胃は毒性の標的臓器として確認され、重量の増加、剖検変化として主に前胃粘膜の肥厚及び変色、並びにこ

れらの変化に関連した病理組織学的変化として過形成、角化亢進、及び 250 mg/kg 群の雌雄各 1 例に扁平上皮癌が認められた。また、軽微～軽度の好塩基性化した尿細管も認められた。本試験では、最低用量（50 mg/kg/日）で、投与に関連した軽微な変化が胃に認められたため、無毒性量は 50 mg/kg/日未満であった。

2.6.6.3.2.2 ラットを用いたフマル酸ジメチルの 6 ヵ月間強制経口投与毒性試験（試験番号 P00012-04-06）

記載箇所：[M4.2.3.2-4] P00012-04-06

本 GLP 試験では、ラットに 1 日 1 回連日 6 ヵ月間強制経口投与したときの DMF の毒性及び 1 ヵ月間回復性を検討した（[M2.6.7.7B]参照）。表 14 に示すように、4 群にラットを無作為割付した。

表 14 試験番号 P00012-04-06 の試験デザイン

群番号	動物数 主試験（回復性試験）[TK サテライト試験]		被験物質	投与量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）
	雄	雌				
1	15 (5) [8]	15 (5) [8]	溶媒	0	0	10
2	15 (5) [8]	15 (5) [8]	DMF	25	2.5	10
3	15 (5) [8]	15 (5) [8]	DMF	100	10	10
4	15 (5) [8]	15 (5) [8]	DMF	200	20	10
Data source：[M4.2.3.2-4] P00012-04-06-text-10.4.1 Study Design 溶媒：0.8% HPMC/RODI 水						

DMF 又は溶媒対照を、1 日 1 回 26 週間強制経口投与した。一般状態を毎日観察した。週 1 回、各動物の体重及び摂餌量を記録した。主試験群及び回復性試験群について、投与 91／92 日目、182／183 日目、及び 210 日目に、臨床病理検査を行った。投与開始 6 日前、並びに主試験期間終了直前（最終投与週）及び回復期間終了直前に眼科学的検査を各 1 回行った。ラットはすべて、投与期間が終了した 182／183 日目、又は回復性試験期間が終了した 210 日目に、詳細な剖検を行った。新鮮臓器の重量を測定し、すべてのラット（死亡状態で発見された雌雄各 1 例を除く）の組織を保存した。剖検時に採取した全組織について病理組織学的検査を行った。

TK 試験は DMF の全身曝露及び反復投与後の全身での蓄積性を検討するため、サテライト群を設けて実施した。

DMF の投与に起因する死亡例は認められなかった。また、摂餌量、眼科学的検査、尿検査及び血液凝固検査には、毒性学的に意義のある投与に関連した変化は認められなかった。投与期間中の DMF に関連した一般状態の変化は流涎であった（100 及び 200 mg/kg/日群）。200 mg/kg/日群の雄の平均体重は、対照群と比較して減少し、投与 112 日目～181 日目で統計学的有意差が認められた（対照群から 6.8～9.6%の減少）。

臨床病理検査には、DMF に関連した変化は認められなかった。血液生化学的検査パラメーターの

一部に統計学的に有意な変化が認められたが、散発的な変化であり、毒性学的意義はないと判断された。これらの変化は小さく、背景データの範囲内であった。

曝露は全群で確認された。MMF は急速に吸収、代謝及び排泄され、t_{max} は 0.50 時間以内、$t_{1/2}$ は 1.00 時間未満であった（表 15）。AUC はほぼ用量比例的に増加した。2 倍未満の曝露量の蓄積が 1 日 1 回 6 ヵ月間の反復投与によって認められた。投与 181 日目に雌の曝露量が雄と比較して高値となったが、投与 0 日目では雌雄に差が認められなかったことから、蓄積に経時的な性差があったことが示された。

表 15 Sprague Dawley ラットに DMF 25、100 及び 200 mg/kg/日で 1 日 1 回 6 ヵ月間経口投与したときの 0 及び 181 日後における MMF のトキシコキネティックパラメーター

投与量 (mg/kg)	測定日	性別	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{last} (μg·h/mL)	AUC_{inf} (μg·h/mL)
25	0	雌	0.40	0.25	3.7	2.7	2.9
		雄	0.68	0.25	3.2	2.6	3.0
	181	雌	0.80	0.25	7.0	4.1	4.6
		雄	0.85	0.25	3.6	2.4	2.7
100	0	雌	0.50	0.50	16	14	16
		雄	0.70	0.50	10	11	13
	181	雌	0.83	0.25	41	24	27
		雄	0.67	0.25	12	10	13
200	0	雌	0.43	0.25	34	26	28
		雄	0.82	0.25	26	22	29
	181	雌	1.00	0.25	48	36	46
		雄	0.95	0.25	56	30	37

Data source：[M4.2.3.2-4] P00012-04-06-APPENDIX S-Table 3
0 日目=投与 1 日目

剖検、器官重量及び病理組織学的検査では、腎臓、胃及び肝臓に DMF に関連した変化が認められた。腎臓の腫大及び用量依存性の重量増加（絶対重量及び脳重量比）が、投与 6 ヵ月目の終わり（投与 182／183 日目）に 100 及び 200 mg/kg/日群の雌雄、並びに回復性試験の 100 及び 200 mg/kg/日群の雄に認められた。雄に認められた DMF に関連した変化は、腎症の発現率及び程度の増加であった（100 及び 200 mg/kg/日群のみ、表 16）。

また、腎症との関連性が確認されていないその他の腎臓の変化として、皮質尿細管の変化（びまん性拡張、硝子滴沈着、上皮細胞の核又は細胞の肥大、分節性上皮再生）及びボーマン嚢壁側上皮細胞の肥大が全 DMF 投与群の雄に認められた。投与 182／183 日目に雌の腎臓に認められた DMF に関連した変化は、100 及び 200 mg/kg/日投与群における硝子滴沈着及び皮質尿細管上皮細胞の肥大であった。回復性試験で認められた DMF に関連した腎臓の変化の種類及び程度は、主試験で認められた変化と全般的に類似していたが、発現率は一部の DMF 投与群で減少した（表 17）。

投与に関連した胃の絶対及び相対重量の増加が、100 及び 200 mg/kg/日群の雌雄に認められた。前胃で投与 182／183 日目に DMF 投与に関連した扁平上皮細胞の過形成及び角化亢進（25、100 及び 200 mg/kg/日群）、亜急性炎症（リンパ球及び形質細胞主体）（100 及び 200 mg/kg/日群）、扁平

上皮癌（200 mg/kg/日群の雄 1 例）及び扁平上皮乳頭腫（100 mg/kg/日群の雄 1 例）が認められた。投与 182／183 日目に 100 及び 200 mg/kg/日群で腺胃に認められた亜急性炎症は DMF に関連した変化であると判断された。回復性試験で認められた DMF に関連した変化は前胃に限られ、主試験と比較して、発現率及び程度ともにかなり低かった。回復性試験で認められた胃の変化は、軽微な角化亢進（100 及び 200 mg/kg/日群）、軽微な扁平上皮細胞の過形成（全 DMF 投与群）及び角化嚢胞（200 mg/kg/日群）であった。

投与 182／183 日目に 200 mg/kg/日群の数例で胃炎によると考えられる膵リンパ節又は腹腔内リンパ節のリンパ過形成が認められた。投与 182／183 日目には、投与に関連した肝臓の絶対及び相対重量の増加が、100 及び 200 mg/kg/日群の雌雄に認められた。主試験における DMF 投与群の肝臓に認められた病理組織学的変化は、軽微な多巣性肝壊死及び軽微な胆管の過形成（主に 100 及び 200 mg/kg/日群の雌）であった。回復期間の終了時には、雌に比較的低頻度で軽微な肝細胞の壊死が認められた。胆管の過形成は、回復性試験群では全く認められなかったことから、完全に回復したことが示された。

表 16 主試験における DMF 投与に関連した腎臓の病理組織学的変化

性別	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）	0	25	100	200	0	25	100	200
被験動物数	15	15	14	15	15	15	15	15
腎臓								
腎症								
軽微	7	9	5	5	7	6	7	8
軽度	1	1	8	5	0	0	1	1
中等度	1	0	1	5	0	0	0	0
尿細管拡張								
軽微	4	7	7	6	4	3	4	3
軽度	0	1	5	6	0	0	0	0
尿細管上皮硝子滴								
軽微	0	4	6	7	0	0	3	3
軽度	0	0	1	3	0	0	0	1
ボーマン嚢壁側上皮細胞肥大								
軽微	1	7	6	3	0	0	1	0
軽度	0	0	0	7	0	0	0	0
尿細管上皮細胞肥大								
軽微	0	2	11	13	0	1	12	15
尿細管上皮分節性再生								
軽微	1	11	6	9	0	0	2	1
軽度	0	1	7	6	0	0	0	0

Data source：[M4.2.3.2-4] P00012-04-06-APPENDIX P-SECTION I-Table 3

表 17 回復性試験における DMF の投与に関連した腎毒性に関する病理粗気学的変化

性別	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）	0	25	100	200	0	25	100	200
被験動物数	5	5	5	5	5	5	5	4
腎臓								
腎症								
軽微	5	5	2	0	1	1	2	2
軽度	0	0	3	4	0	0	0	1
中等度	0	0	0	1	0	0	0	0
尿細管拡張								
軽微	1	2	5	2	0	0	0	2
軽度	0	0	0	3	0	0	0	0
尿細管上皮硝子滴								
軽微	1	0	2	4	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
ボーマン嚢壁側上皮細胞肥大								
軽微	1	3	5	3	0	0	0	0
軽度	0	0	0	1	0	0	0	0
尿細管上皮細胞肥大								
軽微	2	1	5	5	0	2	5	4
尿細管上皮の分節性再生								
軽微	1	3	3	2	0	0	0	1
軽度	0	0	1	3	0	0	0	0

Data source：[M4.2.3.2-4] P00012-04-06-APPENDIX P-SECTION I-Table 4

以上、雌雄における DMF の標的臓器として腎臓及び胃が確認された。肝臓での変化は本試験では雌に限定され、マウス及びラットの長期曝露された 2 年間がん原性試験を含むマウス、ラット、イヌ及びサルの他の毒性試験では認められなかった。したがって、肝臓は標的臓器として判断されなかった。低用量 25 mg/kg/日で前胃及び腎臓に組織学的変化が認められたため、無毒性量は 25 mg/kg/日未満であった。

2.6.6.3.3 イヌ

2.6.6.3.3.1 イヌを用いた BG00012 の 3 週間経口（カプセル製剤）投与による用量漸増／忍容性試験（試験番号 P00012-05-04）

記載箇所：参考[M4.2.3.2-5] P00012-05-04

本非 GLP 試験では、漸増又は漸減用量で DMF カプセル製剤（臨床製剤）を 1 日 1 回（QD）又は 1 日 2 回（BID）18 日間投与したときの忍容性を検討した。投与未経験のビーグル犬を表 18 に示すように割り付けた。

表 18 試験番号 P00012-05-04 の試験デザイン

雄動物数	雌動物数	被験物質	投与用量（mg/kg）
2	2	フマル酸ジメチル（DMF）	1 日目：25 mg/kg /日 QD
			2 日目：50 mg/kg/日 QD
			3 日目：75 mg/kg/日 QD
			4 日目：100 mg/kg/日 QD
			8 日目：75 mg/kg/日 BID（37.5 mg/kg/回）
			9 日目：100 mg/kg/日 BID（50 mg/kg/回）
			10 日目：125 mg/kg/日 BID（62.5 mg/kg/回）
			11～17 日目：100 mg/kg/日 BID（50 mg/kg/回）
			18 日目：75 mg/kg/日 BID（37.5 mg/kg/回）

Data source：[M4.2.3.2-5] P00012-05-04-text-Table 3
QD：1 日 1 回、BID：1 日 2 回

ビーグル犬に、投与 1～4 日目は 1 日 1 回（その後 3 日間は回復期間）及び投与 8～18 日目は 1 日 2 回（投与間隔約 4 時間）カプセル製剤を経口投与した。1 日 1 回投与前に一般状態を観察した。最初の投与約 1、2、3、4 時間後にケージサイドで一般状態を観察した。1 日 2 回の 2 回目投与約 1 時間後にもケージサイドで一般状態を観察した。全動物について、1 日 1 回、体重及び摂餌量を記録した。TK 用に投与前及び投与 1 時間後に採血した。全動物について、投与 19 日目に剖検した。異常について記録したが、組織は保存しなかった。

投与に関連した死亡は認められなかった。50 mg/kg/日以上（投与 2～4 日目）では、2 例以上に嘔吐の症状が認められ、摂餌量及び体重の減少を伴った。5～7 日目に休薬した後、摂餌量及び体重は増加した。8 日目に投与を再開したところ、37.5 mg/kg/回及び 50 mg/kg/回で 1 例ずつ並びに 62.5 mg/kg/回で 3 例に嘔吐が認められた。嘔吐の発現率は次第に減少し、投与 17 及び 18 日目には嘔吐の症状は認められなかった。投与 11～18 日目に 4 例中 3 例で摂餌量が急減し、明らかな食欲不振を抑えるために補助食として給餌した缶詰飼料を投与 14 日目までで 1 例のみが完食した。

一般状態の変化として、排便減少、無便、脱水、投与前後の流涎並びに冷感及び削痩が 2 例以上で認められ、明らかに体重減少が認められた。最終日（投与 19 日目）に雄では開始時体重から平均 11.8%及び雌では平均 19.2%の減少が認められた。

MMF 濃度には大きな個体差が認められた。用量増加に伴う明らかな濃度増加傾向は認められなかった。1 日 1 回（QD）の投与後では、各投与日の 1 日の終わりには全般的に検出できない濃度に戻ったが、1 日 2 回（BID）の投与後では、翌日の投与前採血時に濃度は測定可能なレベルであった。

剖検では、2 例で十二指腸粘膜の発赤が認められ、雌 2 例とも胸腺の萎縮が認められた。剖検で認められたその他の変化は、胃及び十二指腸のマイクロ錠残存、結腸の異常内容物、胆嚢の異常内容物、胆嚢病巣及び屠体脱水であった。

以上、DMF をイヌに 1 日 1 回経口投与した後、50 mg/kg 群以上で嘔吐、食欲不振及び体重減少が認められた。50 mg/kg/回以上で 1 日 2 回投与した後、嘔吐が認められたが、発現率は投与の反復

に伴って減少した（投与 11～18 日目）。同時に認められた摂餌量の減少を伴う食欲不振が、この時期に認められた嘔吐の減少の原因だった可能性がある。本試験結果から、50 mg/kg 以上の 1 日 1 回及び 50 mg/kg/日の 1 日 2 回投与は、ビーグル犬の最大耐量を超えたと判断された。

2.6.6.3.3.2 ビーグル犬を用いた BG00012 及び高用量 Fumaderm®の 4 週間強制経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（試験番号 P00012-04-05）

記載箇所：[M4.2.3.2-6] P00012-04-05

本 GLP 試験では、イヌを用いて DMF（試験報告書では BG00012 と記載）の 1 日 1 回 28 日間強制経口投与の毒性及びその後の 2 週間の回復性を Fumaderm 原薬と比較検討した（[M2.6.7.7C]参照）。Fumaderm 原薬は DMF（重量比 56%）及びフマル酸モノエチルを含む。両原薬とも 0.8%HPMC 水溶液を溶媒として調製した。

表 19 に示した試験デザインで、約 4～6 ヵ月齢のビーグル犬 70 例を雌雄各 7 例/群で 5 群に割り付け、被験物質である DMF（第 2～4 群）若しくは Fumaderm（第 5 群）、又は溶媒対照〔第 1 群、0.8% (w/v) HPMC/RODI 水〕を強制経口投与した。

表 19 試験番号 P00012-04-05 の試験デザイン

群番号	被験物質	投与量（mg/kg）	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）	雄動物数		雌動物数	
					主試験	回復性試験	主試験	回復性試験
1	溶媒	0	0	5	4	3	4	3
2	DMF	50	10	5	4	3	4	3
3	DMF	100	20	5	4	3	4	3
4	DMF	250	50	5	4[b]	3[c]	4[b]	3[c]
5	Fumaderm	180 (1～12日目)、60 (13～28日目)[a]	36/12	5	4	3	4	3

Data source：[M4.2.3.2-6] P00012-04-05-text-Materials and Methods-GROUP DESIGNATION AND TREATMENT.
試験は雌雄で時間差で実施した。
[a] 第 5 群は Fumaderm を投与し、雌では 13 日目、雄では 12 日目に 180 から 60 mg/kg/日に減量した。
[b] 13～15 日目に剖検した。
[c] 14 日間の回復性試験期間後、29 日目に剖検した。

一般状態、体重、摂餌量、身体検査、眼科学的検査、心電図、血圧、血漿濃度分析、トキシコゲノミクス（予備的に試料を採取）、血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査を行った。

眼科学的検査、血液凝固検査及び尿検査では、DMF に関連した変化は認められなかった。試験 29 日目に死亡状態で発見された 100 mg/kg/日群の雌 1 例を除く全動物が剖検日まで生存した。死亡状態で発見された雌 1 例の死因は、DMF の投与に関連した持続的な投与後の嘔吐による栄養不良に起因する可能性が最も高い。認められた一般状態の変化（削痩、嘔吐、皮膚の弛緩又は変色、流涎及び活動性低下）は、栄養不良の原因となった投与後の持続的嘔吐に関連した変化であり、

全 DMF 投与群に認められた。投与後の嘔吐に関連した栄養不良の影響を検討するため、試験 13～15 日目に 250 mg/kg/日群（雌雄）の中間剖検を計画した。本群の残りの雌雄それぞれ 3 例は、14 日間の回復性試験後に剖検した。

試験 8 日目の体重には、対照群（雌雄）と比較して、全投与群（DMF 及び Fumaderm）で同程度の減少傾向が認められたことから、50 mg/kg/日の適応が示唆された。DMF 100 mg/kg/日群及び Fumaderm 180/60 mg/kg/日群で可逆性の体重減少が認められた。

試験 1～8 日目の摂餌量には、対照群と比較して、全投与群（DMF 及び Fumaderm、雌雄）で臨床的意義のある減少が認められた。試験 8～15 日目の摂餌量には、DMF 50 及び 100 mg/kg/日群並びに Fumaderm 180/60 mg/kg/日群の雄で減少が認められた。DMF 全投与群（DMF 及び Fumaderm）での投与後の嘔吐に関連した栄養不良を抑えるため、獣医学的処置として軟飼料及び電解質の補給を行った。これらの補給及び頻回の嘔吐から、摂餌量データを解釈する価値が低下したため、試験 21／22 日目（雌／雄）の摂餌量測定は中止した。

DMF 100 及び 250 mg/kg/日群並びに Fumaderm 群で体重及び摂餌量の減少が認められたため、試験 11、12、17、18 及び 19 日目（雄）、及び 10、11、16、17 及び 18 日目（雌）には全群で投与しなかった。また、Fumaderm の用量は、試験 13 日目（雄）及び 12 日目（雌）に 180 mg/kg/日から 60 mg/kg/日に減量した。

全投与群に RR 間隔延長に一致した心拍数の減少（非用量依存性）が認められ、PR 及び QT 間隔の延長を伴っていた。QTc 間隔は対照群と比較してわずかに延長した（8～12%）。投与群における血圧は、対照群と比較して低下した。投与 4 週目には QTc 間隔に変化は認められず、回復性試験期間の終了時には、すべてのパラメーターが正常範囲内であった。試験 1 及び 4 週目に認められた血圧及び心拍数の変化は、一般状態の変化（嘔吐）及び栄養不良状態と関連する可能性があると考えられた。また、血圧及び心拍数に認められた変化の多くは投与前値と同程度又は対照群の投与前値の方が高値であった。さらに、イヌの 11 ヵ月間反復投与試験（2.6.6.3.3.3 項）及びイヌの心血管系・呼吸器系に対する DMF 経口（カプセル製剤）投与試験（[M2.6.2.5.2.6]）では、血行力学パラメーターに有害な変化は認められなかった。

血液学的検査では、対照群と比較して統計学的に有意な変化が全試験期間中の様々な時点で雌雄とも認められた（MCV、HGB 及び HCT の減少並びに MCHC の増加）。これらの変化は、嘔吐に起因する栄養及び健康状態の不良に関連した変化であり、DMF 又は Fumaderm に関連した有害な変化ではないと判断された。

血液生化学的検査では、対照群と比較して統計学的に有意な変化が全試験期間中の様々な時点で雌雄とも認められた（BUN、ALP、CREA 及び電解質の減少並びにコレステロールの増加）。これらの変化は、投与後の嘔吐に起因する栄養不良に関連した変化であり、DMF 又は Fumaderm に関連した有害な変化ではないと判断された。14 日間の回復性試験期間後、血液生化学的検査パラメーターの回復性は全投与群（DMF 及び Fumaderm）で確認された。

MMF 血漿濃度の最大血中濃度到達時間は全群の中央値で 1 時間未満であり、DMF 50、100 及び 250 mg/kg 群の t_{max} の中央値（範囲）はそれぞれ雄 0.75（0.25~1.00）・雌 0.75（0.25~1.00）、雄 0.50（0.25~2.00）・雌 0.88（0.50~1.00）、雄 0.75（0.25~1.00）・雌 0.50（0.25~0.75）時間であり、Fumaderm 180 及び 60 mg/kg 群ではそれぞれ雄 0.50（0.50~0.75）・雌 0.75（0.25~1.00）、雄 0.63（0.25~1.00）・雌 0.88（0.25~1.00）時間であった。DMF の曝露量は用量比例的に増加した。MMF の消失半減期は用量非依存性で、全投与群（DMF 及び Fumaderm）で雄 0.641~0.882・雌 0.589~1.106 時間であった（表 20）。DMF の 28 日間反復経口投与後、ビーグル犬に MMF の有意な蓄積は認められなかった。曝露量の性差に一貫した傾向は認められなかった。

表 20 イヌに 50、100 又は 250 mg/kg/日で DMF 及び高用量の Fumaderm を 1 日 1 回経口投与したときの投与 1、14、28 日目の MMF のトキシコキネティック（TK）パラメーター

投与量 (mg/kg)	性別	測定日		AUC_{last} (μg·h/mL)	t_{max} [a] (h)	C_{max} (μg/mL)	$t_{1/2}$ (h)
DMF							
50	雌	1	平均値	17.39	0.50	11.31	0.651
			標準偏差	3.53	(0.25~0.75)	3.31	0.191
		14	平均値	51.90	1.00	25.43	0.729
			標準偏差	20.86	(0.50~1.00)	8.18	0.195
		28	平均値	54.09	0.75	28.41	0.589
			標準偏差	13.29	(0.50~1.00)	9.92	0.070
	雄	1	平均値	31.47	0.50	17.13	0.740
			標準偏差	10.95	(0.25~1.00)	5.12	0.167
		14	平均値	62.90	0.75	33.01	0.685
			標準偏差	24.06	(0.50~1.00)	8.51	0.147
		28	平均値	65.60	0.75	35.31	0.641
			標準偏差	18.35	(0.50~1.00)	5.84	0.130
100	雌	1	平均値	87.60	0.63	46.62	0.663
			標準偏差	36.52	(0.50~1.00)	13.07	0.037
		14	平均値	109.23	0.75	53.20	0.784
			標準偏差	34.42	(0.50~1.00)	15.62	0.192
		28	平均値	139.64	1.00	53.99	1.106
			標準偏差	41.22	(0.50~1.00)	10.84	0.382
	雄	1	平均値	46.70	0.50	25.27	0.882
			標準偏差	9.46	(0.50~1.00)	2.53	0.378
		14	平均値	68.57	0.50	42.14	0.706
			標準偏差	43.41	(0.25~0.75)	12.69	0.096
		28	平均値	128.69	1.00	51.51	0.748
			標準偏差	46.45	(0.25~2.00)	10.62	0.165
250	雌	1	平均値	92.04	0.50	57.96	0.775
			標準偏差	41.63	(0.25~0.75)	22.46	0.213
	雄	1	平均値	96.93	0.75	58.91	0.711
			標準偏差	31.01	(0.25~1.00)	13.57	0.070
Fumaderm							
180	雌	1	平均値	44.51	0.75	20.73	0.761
			標準偏差	7.69	(0.25~1.00)	1.96	0.099
	雄	1	平均値	35.56	0.50	17.16	0.730
			標準偏差	8.82	(0.50~0.75)	3.42	0.067
60	雌	14	平均値	33.03	1.00	13.79	0.738
			標準偏差	11.14	(0.50~1.00)	3.57	0.150
		28	平均値	28.89	0.75	14.16	0.676
			標準偏差	9.78	(0.25~1.00)	2.51	0.161
	雄	14	平均値	20.66	0.50	11.23	0.721
			標準偏差	8.40	(0.25~0.75)	2.53	0.095
		28	平均値	29.36	1.00	13.91	0.728
			標準偏差	11.49	(0.25~1.00)	5.15	0.106

Data source：[M4.2.3.2-6] P00012-04-05-Appendix 15-Table 1A, Table 2, Table 3, Table 4, Table 5
[a] 中央値（範囲）

剖検では、100 mg/kg/日以上の DMF 群及び Fumaderm 群で DMF に関連した胸腺の萎縮が複数の動物に認められた。これらの動物に認められた胸腺の萎縮は、組織学的にびまん性リンパ萎縮と

一致していた。本変化は栄養及び健康状態の不良によるものと考えられた。投与群及び対照群の胃粘膜に赤色変色巣が認められ、一部の例では組織学的に粘膜出血と一致した。

生物学的意義があると判断された栄養不良又はストレスによる器官重量変化の要約を表 21 に示す。

表 21 生物学的意義のある DMF 投与と関連した栄養状態不良又はストレスの器官重量への影響

器官	変化	投与群（mg/kg/日）	観察項目
副腎	↑%器官重量/体重比	DMF 100（雄) DMF 250（雄)	主試験剖検 中間及び回復性試験剖検
胸腺	↓ 器官重量/体重比 ↓ 器官重量/脳重量比	DMF 100（雄) DMF 250（雄) DMF 100 DMF 250	主試験剖検 中間及び回復性試験剖検 主試験剖検 中間及び回復性試験剖検
脾臓	↓ 器官重量/脳重量比	DMF 50 DMF 100 Fumaderm 180/60 DMF 250（雄）	主試験剖検 主試験剖検 主試験剖検 中間及び回復性試験剖検

Data source：[M4.2.3.2-6] P00012-04-05-text-Table 7
↑ ：増加、↓：減少

中間剖検で DMF 250 mg/kg/日群に認められた胸腺リンパ萎縮、骨髄細胞減少及び胃のびらんは、投与に関連した変化であると判断された。主試験剖検で 100 mg/kg/日以上の DMF 群の雄及び Fumaderm 群に認められた胸腺リンパ萎縮も投与に関連した変化であると判断された。ただし、主試験剖検で雌に認められた胸腺リンパ萎縮は、発現率が低く用量比例性が認められなかったことから、投与に関連しない変化であると判断された。主試験剖検で認められた骨髄細胞減少は、投与に関連した変化である可能性があると判断された。中間剖検で DMF 250 mg/kg/日群の雄に認められた胃のびらんは、投与に関連した変化であると判断された。胃のびらんは、反復性嘔吐の原因又は結果のいずれかであると考えられた。尿細管上皮の空胞化は、複数の対照動物にも認められ用量比例性が乏しかったことから、偶発的な変化であると判断された。

投与に関連した変化の発現率及び程度は、14 日間の回復性試験期間後に低下したが、完全な可逆性ではなかった。投与に関連した変化の発現率及び程度に明らかな性差は認められなかった。トキシコゲノミクス解析は実施しなかった。

以上、イヌへの DMF 又は Fumaderm の強制経口投与は、栄養及び健康状態の不良を引き起こし、血行力学的、臨床病理学的及び病理組織学的変化の原因となった。無毒性量は 50 mg/kg/日未満であった。

2.6.6.3.3.3 ビーグル犬を用いた 11 ヵ月間経口（カプセル製剤）投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験（試験番号 P00012-05-05）

記載箇所：[M4.2.3.2-7] P00012-05-05

本 GLP 試験では、表 22 に示した試験デザインで、1 日 2 回（BID）11 ヵ月間経口（カプセル製剤）投与及び 1 ヵ月間回復期間における DMF の毒性及びトキシコキネティクスを検討した（[M2.6.7.7D]参照）。本試験では DMF 製剤（マイクロ錠製剤）を用いた。

表 22 試験番号 P00012-05-05 の試験デザイン

群番号	動物数 主試験（回復性試験）		被験物質	投与量（mg/kg/日）[b]	剖検日 主試験（回復性試験）
	雄	雌			
1	4 (2)	4 (2)	DMF のプラセボカプセル	0	332/333 (365)
2	4 (2)	4 (2)	DMF カプセル	5	332/333 (365)
3	4 (2)	4 (2)	DMF カプセル	25	332/333 (365)
4	4 (2)	4 (2)	DMF カプセル	75/50[a]	332/333 (365)

Data source：[M4.2.3.2-7] P00012-05-05-text-6.3 Experimental Design
[a] 投与 7 日目に第 4 群は有害な症状により 50 mg/kg に投与量を減量した。
[b] 1 日 2 回（BID）経口投与

一般状態、身体検査、体重、体重変化、摂餌量、眼科学的検査、心機能検査、血圧、臨床病理学的検査（血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査）、トキシコキネティクス、剖検、器官重量及び病理組織学的検査を行った。投与に関連した死亡は認められなかった。眼科学的検査、心機能検査又は血液学的検査では、DMF に関連した有害な変化は認められなかった。

投与期間中の投与に関連した一般状態の変化は、主に胃腸障害に限られ、75/50 mg/kg/日群で軟便の発現率増加、25 及び 75/50 mg/kg/日群で粘液便の発現率増加、主に 75/50 mg/kg/日で吐物の発現率増加、並びに 75/50 mg/kg/日群の雄で無便／便量減少が認められた。また、一部の 75/50 mg/kg/日群動物に眼漏が認められた。回復性試験期間では一般状態に意義のある変化は認められなかった。

投与期間中、75/50 mg/kg/群で体重、体重増加及び摂餌量に DMF に関連した変化が認められた。75/50 mg/kg/日群で DMF 投与に伴う食欲不振により投与初期数週間、初期体重の 15%以上の体重減少が認められ、対照群と比較して体重増加の抑制が全投与期間にわたって認められた。食欲不振のため、75/50 mg/kg/日群に [redacted] の補助食を与えた。投与期間中に 5 及び 25 mg/kg/日群の雌雄における体重増加及び摂餌量は、対照群と同程度であった。25 及び 75/50 mg/kg/日群で認められた体重又は体重増加の抑制は、投与開始から 5 週間以内に生じた。回復性試験期間では体重増加又は摂餌量に顕著な変化は認められなかった。

投与期間中、投与群に認められた被験物質に関連した血液生化学的変化は、25 及び 75/50 mg/kg/日群の雌雄におけるクレアチニンの用量依存性の減少、並びに 25 及び 75/50 mg/kg/日群の雄及び主に 75/50 mg/kg/日群の雌における血中尿素窒素（BUN）の減少に限られた。1 ヵ月間の回復性試

験期間終了時の血清クレアチニン値及び血清尿素窒素値は、対照群と同等であった。

計画剖検前の尿量は、対照群と比較して、75/50 mg/kg/日の雄、並びに 25 及び 75/50 mg/kg/日群の雌に増加が認められた。尿比重の唯一の統計学的に有意な減少が 332/333 日目の 75/50 mg/kg/日群の雌に認められた。回復性試験剖検時の尿量及び尿比重には、対照群と比較して、いずれの投与群でも変化は認められなかった。

曝露は、11 ヵ月間の投与期間中、全動物に確認された。MMF の t_{max} は全般的に投与約 0.5～4 時間後であった（表 23）。AUC 及び C_{max} ともにほぼ用量比例的な増加が認められた。MMF の蓄積は認められず、曝露量に明らかな性差は認められなかった。

DMF に関連した剖検変化として、25 及び 75/50 mg/kg/日群の雄における腎臓腫大、並びに 75/50 mg/kg/日群の雄における副腎腫大、被験物質に関連した器官重量変化として、25 及び 75/50 mg/kg/日群の雌雄における腎臓の絶対及び相対重量（対脳重量）の増加、75/50 mg/kg/日群の雌雄における副腎の絶対及び相対重量（対脳重量）の増加、並びに 75/50 mg/kg/日群の雄における精巣及び精巣上体の絶対及び相対重量（対脳重量）の減少が認められた。腎重量の増加及び腫大は、病理組織学的に尿細管上皮の肥大（雄のみ）及び腎皮質尿細管のびまん性拡張（雌雄）と関連した。副腎の絶対及び相対重量の増加並びに腫大は、病理組織学的に副腎皮質索状帯の肥大と関連性が認められた。精巣重量の減少は、病理組織学的に精細管の変性と、また精巣上体重量の減少は精子減少症と関連性が認められた。

表 23 イヌに 5、25、50 又は 75 mg/kg/日で DMF を 11 ヵ月間 1 日 2 回経口投与したときの投与 1、182、330 日目の MMF のトキシコキネティック（TK）パラメーター

投与量	性別	測定日		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	C_{max} (μg/mL)	t_{max} [a] (h)
5 mg/kg	雌	1 日目	平均値	9.837	2.892	1.0
			標準偏差	4.992	0.726	(1.0~6.0)
		182 日目	平均値	5.697	2.252	1.0
			標準偏差	1.811	0.593	(0.5~5.0)
		330 日目	平均値	6.969	1.687	1.5
			標準偏差	4.084	0.385	(1.5~8.0)
	雄	1 日目	平均値	8.544	2.610	5.0
			標準偏差	2.339	1.335	(1.0~8.0)
		182 日目	平均値	5.805	2.406	1.0
			標準偏差	1.292	0.910	(1.0~5.0)
		330 日目	平均値	5.684	2.072	3.0
			標準偏差	1.768	0.837	(0.5~6.0)
25 mg/kg	雌	1 日目	平均値	49.076	11.388	3.5
			標準偏差	12.691	4.686	(1.0~6.0)
		182 日目	平均値	22.413	8.033	3.3
			標準偏差	3.406	4.162	(1.0~8.0)
		330 日目	平均値	27.336	9.105	3.0
			標準偏差	7.499	1.566	(1.0~6.0)
	雄	1 日目	平均値	40.250	11.230	2.0
			標準偏差	11.605	3.495	(1.0~6.0)
		182 日目	平均値	21.037	8.613	3.0
			標準偏差	6.358	2.465	(0.5~6.0)
		330 日目	平均値	23.998	10.962	1.5
			標準偏差	8.800	4.526	(0.5~6.0)
50 mg/kg	雌	182 日目	平均値	34.996	13.563	1.5
			標準偏差	11.076	5.540	(0.5~2.0)
		330 日目	平均値	44.785	14.548	1.0
			標準偏差	12.233	4.476	(0.5~2.0)
	雄	182 日目	平均値	42.250	12.380	1.5
			標準偏差	27.715	5.482	(1.0~6.0)
		330 日目	平均値	52.045	9.662	2.0
			標準偏差	30.758	4.080	(0.5~4.0)
75 mg/kg	雌	1 日目	平均値	91.086	24.850	3.5
			標準偏差	10.718	5.355	(0.5~6.0)
	雄	1 日目	平均値	74.632	22.933	2.0
			標準偏差	9.371	8.869	(0.5~6.0)

Data source：[M4.2.3.2-7] P00012-05-05-Appendix 22-Table 2, Table A1
[a] 中央値（範囲）

病理組織学的検査で DMF に関連して腎臓に認められた変化は、腎皮質尿細管上皮の肥大、腎皮質尿細管の拡張、腎皮質尿細管上皮の再生、腎皮質の萎縮、腎乳頭炎症細胞の浸潤、並びに腎乳頭尿路上皮過形成であった（表 24）。病理組織学的検査の腎臓の変化は全 DMF 投与群に認められ、回復性試験期間終了時でも 5 mg/kg/日群の雌を除いた各投与群の 1 例以上に認められたが、大部分の発現率及び程度は減少した（表 25）。

表 24 主試験剖検における投与に関連した病理組織学的変化（発現例数及び程度）

	雄				雌			
群番号	1	2	3	4	1	2	3	4
投与量（mg/kg/日）	0	5	25	75/50	0	5	25	75/50
動物数	4	4	4	4	4	4	4	4
腎臓								
尿細管上皮肥大	(0)	(2)	(3)	(4)	(0)	(0)	(0)	(0)
軽微	0	1	2	2	0	0	0	0
軽度	0	1	1	2	0	0	0	0
皮質尿細管拡張	(0)	(1)	(1)	(4)	(0)	(1)	(0)	(3)
軽微	0	1	0	3	0	1	0	3
軽度	0	0	1	1	0	0	0	0
尿細管上皮再生	(0)	(0)	(1)	(2)	(0)	(0)	(0)	(0)
軽微	0	0	0	1	0	0	0	0
軽度	0	0	1	1	0	0	0	0
皮質実質萎縮	(0)	(1)	(1)	(3)	(1)	(0)	(1)	(4)
軽微	0	1	0	1	1	0	1	4
軽度	0	0	1	2	0	0	0	0
腎乳頭混合細胞浸潤	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(1)
軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
中等度	0	0	0	1	0	0	0	0
腎乳頭尿路上皮過形成	(0)	(1)	(2)	(4)	(0)	(0)	(3)	(4)
軽微	0	1	2	2	0	0	1	1
軽度	0	0	0	2	0	0	2	3
精巣								
上皮変性	(1)	(0)	(1)	(3)	NA	NA	NA	NA
軽微	1	0	0	0				
軽度	0	0	1	2				
中等度	0	0	0	1				
多核巨細胞	(0)	(0)	(0)	(2)	NA	NA	NA	NA
軽微	0	0	0	2				
精巣上体								
精液過少症	(0)	(0)	(0)	(3)	NA	NA	NA	NA
中等度	0	0	0	3				
副腎								
索状帯肥大	(0)	(0)	(2)	(1)	(0)	(0)	(2)	(2)
軽微	0	0	1	0	0	0	2	2
軽度	0	0	0	1	0	0	0	0
中等度	0	0	1	0	0	0	0	0

Data source：[M4.2.3.2-7] P00012-05-05-Appendix 20-Table 3
( ) 内に総発現例数を示した。
NA：該当せず

表 25 回復性試験剖検における投与に関連した病理組織学的変化（発現例数及び程度）

	雄				雌			
群番号	1	2	3	4	1	2	3	4
投与量（mg/kg/日）	0	5	25	75/50	0	5	25	75/50
動物数	2	2	2	2	2	2	2	2
腎臓								
尿細管上皮肥大	(0)	(2)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)
軽微	0	2	0	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	1	0	0	0	0
皮質尿細管拡張	(0)	(0)	(1)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)
軽微	0	0	1	1	0	0	0	0
皮質実質委縮	(1)	(1)	(2)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)
軽微	1	1	0	1	0	0	0	0
軽度	0	0	2	0	0	0	0	0
腎乳頭混合細胞浸潤	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)
軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
腎乳頭尿路上皮過形成	(0)	(0)	(2)	(1)	(0)	(0)	(1)	(1)
軽微	0	0	1	1	0	0	1	0
軽度	0	0	1	0	0	0	0	1
精巣								
上皮変性	(0)	(0)	(1)	(0)	NA	NA	NA	NA
軽微	0	0	1	0				
多核巨細胞	(0)	(0)	(0)	(2)	NA	NA	NA	NA
軽微	0	0	0	2				
副腎								
索状帯肥大	(1)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(1)
軽微	1	0	0	1	0	0	0	1

Data source：[M4.2.3.2-7] P00012-05-05-Appendix 20- Table 4
( ) 内に総発現例数を示した。
NA：該当せず

病理組織学的検査で DMF に関連して精巣に認められた変化は、精細管上皮の変性及び精細管内における巨細胞の存在であった。これらの変化は 25 及び 75/50 mg/kg/日群の雄で投与期間終了時及び回復性試験期間終了時に認められたが、回復性試験動物ではこれらの所見の発現率及び程度の減少が認められた。主試験剖検時の病理組織学的検査では、75/50 mg/kg/日群の雄に精巣上体に精子減少症が認められた。体重減少、体重増加抑制及び摂餌量の減少は雄動物の精巣変化の原因であった可能性がある。

25 及び 75/50 mg/kg/日群の雌雄に軽微～中等度の副腎皮質索状帯の肥大が認められた。回復性試験のプラセボ対照群の 1 例に、最終剖検時に数例に認められたのと同様の変化が認められた。回復性試験剖検時に認められた副腎の肥大は、対照群と高用量群で発現率が同程度であったことから、投与に関連した変化ではないと判断された。

以上、DMF の 1 日 2 回のカプセル投与では、75/50 mg/kg/日の忍容性は不良であった。25 mg/kg 以上の投与で精巣に精細管上皮の変性及び精細管内における巨細胞の存在、並びに全 DMF 投与群の腎臓に腎皮質尿細管上皮の肥大、腎皮質尿細管の拡張、腎皮質尿細管上皮の再生、腎皮質実質の萎縮、各種炎症性細胞の腎乳頭浸潤及び腎乳頭尿路上皮過形成が認められ、標的臓器として精

巣及び腎臓が確認された。5 mg/kg/日群では、一般状態及び臨床病理学的に雌雄いずれも十分な忍容性を有すると判断された。病理組織学的検査で 5 mg/kg/日群の雌雄に認められた軽微な尿細管拡張、雄 1 例に認められた腎乳頭過形成、並びに雄のみに認められた尿細管上皮の肥大は、体重、摂餌量、一般状態、血液生化学的検査及び尿検査の変化と関連しなかった。以上の結果から、ビーグル犬における DMF カプセル製剤の長期投与における無毒性量は 5 mg/kg/日であると判断された。

2.6.6.3.4 サル

2.6.6.3.4.1 カニクイザルを用いたフマル酸ジメチル懸濁液の 14 日間経鼻胃管投与用量設定試験（試験番号 P00012-05-07）

記載箇所：参考[M4.2.3.2-8] P00012-05-07

本非 GLP 用量設定試験では、慢性毒性試験の用量設定のため、カニクイザルに DMF（試験報告書中では BG00012）の経口懸濁液を 14 日間経鼻胃管投与した場合の最大耐用量を検討した。

投与経験のある雌カニクイザル 16 例に 0（対照群）、5、25 又は 75 mg/kg（各群 4 例）の用量で DMF 又は溶媒対照〔0.8% (w/v) HPMC/RODI 水〕を 1 日 1 回 8 日間経口投与し、高用量群（75 mg/kg 群）では投与 9 日目に 1 日間のウォッシュアウト期間を設けた。高用量群は、投与 10 日目に 100 mg/kg、投与 11 日目に 125 mg/kg に漸増した。表 26 に概要を示したように、高用量群は 1 日 1 回 125 mg/kg を投与 15 日目まで継続し、その他の群はすべて、投与 14 日目まで 1 日 1 回の投与を継続した。MMF に加えて 2 種の代謝物：メタノール（MeOH）及びギ酸の血漿濃度を測定した。

表 26 試験番号 P00012-05-07 の試験デザイン

群番号	雌動物数	投与量（mg/kg）	投与容量（mL/kg）
1	4	0[a]	10
2	4	5[a]	10
3	4	25[a]	10
4	4	75/100/125[b]	10

Data source：[M4.2.3.2-8] P00012-05-07-V. Summary-C. Medhods
第 1 群は 0.8% HPMC/RODI 水を投与した。
[a] 第 1～3 群は投与開始 1～14 日目に投与した。
[b] 用量漸増：投与開始 1～8 日目 75 mg/kg、投与 10 日目 100 mg/kg、投与 11～15 日目 125 mg/kg
HPMC：ヒドロキシプロピルメチルセルロース

1 日 1 回 8 日間の DMF 投与では、0、5、25 及び 75 mg/kg 群で全般的に良好な忍容性が認められた。100 mg/kg を投与した投与 10 日目から 125 mg を投与した投与 11 日目に、体重減少、摂餌量の減少の出現又は嘔吐及び削痩が認められた。さらに高用量群では、投与 14 日目に血清アルブミン濃度が軽微に減少した。

カニクイザルにおける MMF 曝露は、5 mg/kg 群で 2 時間、25 mg/kg 群で 2～6 時間、75 mg/kg 群で 6 時間認められた。5～75 mg/kg の用量範囲で、カニクイザルにおける MMF 曝露量は用量依存

的であり、AUC 及び C_{max} はほぼ用量比例的に増加した。$t_{1/2}$ は 0.6～1.6 時間であり、反復投与に対して比較的一定であり、用量依存性は認められなかった。連日投与を行ったいずれの DMF 投与群においても、循環血中に MMF の明らかな蓄積は認められなかった。MeOH 及びギ酸の循環血中濃度は、対照群と比較しても比較的低値であり、投与後測定期間において変動が認められた。MeOH 及びギ酸の循環血中濃度は、対照群の 2 倍以内であった。MeOH 濃度は用量増加に伴って増加する傾向を示したが、ギ酸濃度は用量依存性が認められなかった。注意点として、この非 GLP 試験における試料分析の時点では、全試料保存期間における MeOH 及びギ酸の安定性が確認されていないことで、測定された濃度は正確ではない可能性が考えられる。MeOH 及びギ酸試料の保存期間における安定性は、1 年間試験において確定された。

以上、DMF の用量が 75 mg/kg を超えると体重減少、摂餌量の低下又は削痩及び嘔吐が認められたことから、カニクイザルを用いた DMF の慢性毒性試験における限界用量は 75 mg/kg であると判断された。

2.6.6.3.4.2 カニクイザルを用いたフマル酸ジメチル懸濁液の経鼻胃管投与による 1 年間慢性毒性試験（試験番号 P00012-05-08）

記載箇所：[M4.2.3.2-9] P00012-05-08

本 GLP 試験では、カニクイザルに DMF（試験報告書では BG00012 と記載）の経口懸濁液を 52 週間経鼻胃管投与した慢性毒性を検討し、最低 4 週間の休薬期間で被験物質による影響の回復性を検討した（[M2.6.7.7E]参照）。

試験未経験のカニクイザル 48 例を 0（対照）、5、25 及び 75 mg/kg（雌雄各 6 例/各）群に割り付け、DMF 又は溶媒対照〔0.8% (w/v) HPMC/RODI 水〕を 1 日 1 回連続 52 週間経鼻胃管経口投与した。5 mg/kg/日群の雄 1 例は、誤投与のため投与 197 日目に安楽死した。また、25 mg/kg/日群の雌 1 例は、57 週目（回復性試験剖検）ではなく 53 週目（主試験剖検）に誤って剖検された。32 例（第 1 群及び第 4 群は雌 4 例・雄 4 例、第 2 群は雄 3 例・雌 4 例、第 3 群は雄 4 例・雌 5 例）は、最終投与の翌日（投与 365 日目）に剖検した。残りの 15 例（第 1、2 及び 4 群は雌 2 例・雄 2 例、第 3 群は雄 2 例・雌 1 例）は以後投与せず、最終投与から約 4 週間後（投与 393 日目）に剖検した。本試験の試験デザインの概要を表 27 に示す。

表 27 試験番号 P00012-05-08 の試験デザイン

群番号	動物数 雄：雌	投与量 （mg/kg/日）	剖検数	
			投与 53 週目	投与 57 週目
1	6：6	0（溶媒対照）	4：4	2：2
2	6：6	5	3：4[a]	2：2
3	6：6	25	4：5[b]	2：1
4	6：6	75	4：4	2：2

Data source：[M4.2.3.2-9] P00012-05-08-text-Materials and Methods-C. Test and Control Article Administration,, G. Terminal Proceduer and Anatomic Pathology
第 1 群は 0.8% HPMC/RODI 水を投与した。
投与 53 週目に剖検した。回復性試験動物は 4 週間休薬した。

[a] 雄 1 例が投与 197 日目に誤投与のため安楽死させた。
[b] 雌 1 例が試験計画書に規定された投与 57 週目ではなく 53 週目に安楽死された。

初回投与日を 1 日目とした。一般状態の観察（1 日 2 回）、摂餌量測定（1 日 1 回）、体重測定（初回投与前及びその後 1 週間ごと）、及び心電図検査（試験前、投与後 12、24、38 及び 52 週目）及び眼科学的検査（試験前、投与後 12、24、38 及び 52 週目）を行った。心電図検査及び眼科学的検査は、主試験中に変化が認められなかったため、回復性試験期間終了時には実施しなかった。試験前及び全試験期間の様々な時点で血液生化学的検査、血液学的検査、血液凝固検査及び尿検査を行った。

TK 用に投与 1 日目（投与前、投与後 0.5、1、4、8 及び 24 時間）、投与 4、26 及び 52 週目（投与前、投与後 15、30、45 分及び 1、2、4、8、24 時間）、並びに投与 13 及び 39 週目（投与前及び投与後 1 時間）で採血した。代謝物（MeOH 及びギ酸）分析用に投与 1 日目（投与前、投与後 0.5、1、4、8 及び 24 時間）、4、26 及び 52 週目（投与前、投与後 15 分及び 45 分、並びに 2、8 及び 24 時間）、並びに 13 及び 39 週目（投与前及び投与後 1 時間）で採血した。

DMF に関連した死亡又は瀕死は認められず、心電図、眼科学的検査、血液学的検査、血液凝固検査及び尿検査では DMF に関連した変化は認められなかった。

DMF に関連した変化として、75 mg/kg/日群の摂餌量減少の発現率増加及び投与初期（投与 1 週目）の平均体重増加抑制が認められた。血液生化学的検査では、DMF に関連した変化として、25 及び 75 mg/kg/日群の雌雄に BUN の減少、並びに雌数例にクレアチニンの減少が認められた。血清中リン濃度の減少が 75 mg/kg/日群の数例に認められた。BUN、クレアチニン及びリンの減少は、回復性試験期間の終了時には全般的に回復した。

1 日 1 回投与後の MMF の C_{max} は 5～75 mg/kg、$AUC_{0\text{-}24h}$ は 5～25 mg/kg で、いずれも用量比例的に増加し、25～75 mg/kg で用量比例性をわずかに上回って増加した（表 28）。いずれの投与群でも MMF の蓄積は認められず、MMF の曝露量に明らかな性差は認められなかった。25 及び 75 mg/kg 群では消失半減期がわずかに延長し、総クリアランスがわずかに低下した。

表 28 カニクイザルに DMF を 1 日 1 回経鼻胃管投与したときの MMF のトキシコキネティックパラメーター

投与量	測定日	性別		C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	t_{max} [c] (h)	CL/F (L/h/kg)	$t_{1/2}$ (h)
5 mg/kg	1 日目	雌	平均値	1.65	2.83	0.50	2.58	1.17
			標準偏差	0.95	1.38	(-)	0.60	0.51
		雄	平均値	2.03	2.82	0.50	-	-
			標準偏差	0.47	0.59	(0.50~0.60)	-	-
	4 週目	雌	平均値	1.83	2.23	0.34	2.32	0.58
			標準偏差	0.33	0.25	(0.25~0.50)	0.24	0.08
		雄	平均値	1.88	1.99	0.25	2.70	0.46
			標準偏差	0.35	0.44	(0.25~0.62)	0.77	0.19
	26 週目	雌	平均値	2.46	2.51	0.25	2.09	0.53
			標準偏差	0.85	0.4	(0.25~0.50)	0.34	0.17
		雄	平均値	1.99	2.05	0.34	2.68	0.52
			標準偏差	0.44	0.56	(0.25~0.50)	0.86	0.16
	52 週目	雌	平均値	2.06	2.73	0.25	1.88	0.73
			標準偏差	0.39	0.34	(0.25~0.45)	0.25	0.13
		雄 [a]	平均値	2.03	2.32	0.25	2.29	0.60
			標準偏差	0.99	0.53	(0.25~0.50)	0.52	0.20
25 mg/kg	1 日目	雌	平均値	7.03	11.6	0.50	2.50	0.84
			標準偏差	1.83	3.21	(-)	0.94	0.14
		雄	平均値	9.89	14.43	0.50	1.88	0.92
			標準偏差	1.76	3.24	(-)	0.50	0.41
	4 週目	雌	平均値	9.71	12.9	0.50	2.03	0.58
			標準偏差	2.66	3.02	(0.25~0.75)	0.45	0.18
		雄	平均値	10.98	12.74	0.50	2.51	0.42
			標準偏差	3.41	4.51	(0.25~0.88)	1.81	0.10
	26 週目	雌	平均値	11.62	15.26	0.50	1.72	0.62
			標準偏差	3.1	2.56	(0.30~0.75)	0.30	0.30
		雄	平均値	10.92	14.57	0.50	2.01	0.80
			標準偏差	3.55	4.93	(0.50~0.75)	0.92	0.71
	52 週目	雌	平均値	11.79	15.58	0.50	1.69	0.88
			標準偏差	4.85	2.22	(0.25~1.00)	0.26	0.39
		雄	平均値	8.82	12.21	0.41	2.17	0.89
			標準偏差	2.39	2.31	(0.25~0.75)	0.40	0.38
75 mg/kg	1 日目	雌	平均値	27.78	39.46	0.50	1.96	0.74
			標準偏差	12.35	19.15	(0.50~1.00)	0.66	0.28
		雄	平均値	30.33	40.71	0.50	2.14	0.73
			標準偏差	10.57	10.76	(0.50~0.65)	0.74	0.31
	4 週目	雌	平均値	26.97	50.39	0.63	1.56	0.87
			標準偏差	8.12	8.15	(0.50~0.75)	0.20	0.40
		雄 [b]	平均値	31.95	58.41	0.85	1.32	0.90
			標準偏差	6.99	7.00	(0.75~1.00)	0.14	0.21
	26 週目	雌	平均値	35.22	53.21	0.75	1.48	0.84
			標準偏差	14.60	9.26	(0.25~1.00)	0.26	0.24
		雄	平均値	29.00	49.63	0.75	1.61	0.81
			標準偏差	9.14	12.09	(0.50~1.00)	0.37	0.11
	52 週目	雌	平均値	31.47	43.63	0.50	1.87	0.91
			標準偏差	12.30	11.41	(0.25~0.75)	0.47	0.23
		雄	平均値	23.92	47.42	0.88	1.73	1.04
			標準偏差	6.80	11.27	(0.50~2.00)	0.50	0.15

Data source：[M4.2.3.2-9] P00012-05-08-Appendix F-Table 2A, Table 2B, Table 2C, Table A1
[a] n = 5、[b] n = 4（他は n = 6）

[a] n = 5、[b] n = 4（ほかは n = 6）
[c] 中央値（範囲）

投与 26 週目のメタノールの全身曝露量は、対照群と比較して 25 mg/kg 群の雄及び 75 mg/kg 群の雌雄に約 40%の増加（$AUC_{0\text{-}24h}$）が認められた。しかし、投与 52 週目のメタノールの $AUC_{0\text{-}24h}$ では、対照群と比較していずれの投与群の雌雄にも差異が認められなかった。メタノールの $AUC_{0\text{-}24h}$ は、投与 26 週目よりも投与 52 週目の方が高値であったが、投与 52 週目の投与群のメタノール濃度は対照群と同程度であったことから、投与 26 週目と 52 週目の差異は DMF の投与に関連しない変化であると考えられた（表 29）。全 DMF 投与群のメタノール曝露量に有意な性差は認められなかった。

表 29 DMF の 1 日 1 回投与後 26 及び 52 週目におけるメタノールの $AUC_{0\text{-}24h}$

DMF 投与量	試験日	性別		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)
溶媒対照	26 週目	雌	平均値	198.61
			標準偏差	12.73
		雄	平均値	206.27
			標準偏差	22.84
	52 週目	雌	平均値	341.81
			標準偏差	136.11
		雄	平均値	337.64
			標準偏差	115.6
5 mg/kg	26 週目	雌	平均値	237.54
			標準偏差	37.98
		雄	平均値	206.29
			標準偏差	29.94
	52 週目	雌	平均値	313.72
			標準偏差	83
		雄 [a]	平均値	312.12
			標準偏差	101.88
25 mg/kg	26 週目	雌	平均値	232.69
			標準偏差	64.34
		雄	平均値	284.2
			標準偏差	88.3
	52 週目	雌	平均値	310.32
			標準偏差	90.52
		雄	平均値	319.88
			標準偏差	75.47
75 mg/kg	26 週目	雌	平均値	283.54
			標準偏差	37.93
		雄	平均値	296.47
			標準偏差	84.6
	52 週目	雌	平均値	349.05
			標準偏差	51.5
		雄	平均値	383.39
			標準偏差	88.03

Data source：[M4.2.3.2-9] P00012-05-08-Appendix F-Table 3A, Table 3B, Table 3C, Table 3D
[a] n = 5（ほかは n = 6）

ギ酸の $AUC_{0\text{-}24h}$ は、投与 26 週目に 75 mg/kg 群の平均 $AUC_{0\text{-}24h}$ は対照群と比較して約 30%の減少が認められた以外、投与群間で同程度であった（表 30）。ギ酸は、DMF の 1 日 1 回投与によって蓄積する可能性は低い。全 DMF 投与群のギ酸曝露量に性差は認められなかった。

表 30　DMF を 1 日 1 回投与後 26 週目及び 52 週目におけるギ酸の $AUC_{0\text{-}24h}$

DMF 投与量	試験日	性別		$AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)
溶媒対照	26 週目	雌	平均値	66.42
			標準偏差	17.6
		雄	平均値	73.33
			標準偏差	22.27
	52 週目	雌	平均値	62.6
			標準偏差	17.58
		雄	平均値	58.39
			標準偏差	13.38
5 mg/kg	26 週目	雌	平均値	55.31
			標準偏差	12.82
		雄	平均値	55
			標準偏差	13.17
	52 週目	雌	平均値	55.19
			標準偏差	4.72
		雄 [a]	平均値	57.58
			標準偏差	24.84
25 mg/kg	26 週目	雌	平均値	60.13
			標準偏差	15
		雄	平均値	58.41
			標準偏差	6.58
	52 週目	雌	平均値	48.64
			標準偏差	13.46
		雄	平均値	57.3
			標準偏差	8.98
75 mg/kg	26 週目	雌	平均値	44.93
			標準偏差	4.17
		雄	平均値	51.6
			標準偏差	4.8
	52 週目	雌	平均値	43.84
			標準偏差	9.13
		雄	平均値	58.16
			標準偏差	13.91

Data source：[M4.2.3.2-9] P00012-05-08-Appendix F-Table 4A, Table 4B, Table 4C, Table 4D
[a] n = 5（他は n = 6）

主試験剖検時に認められた DMF に関連した病理学的変化は、腎臓に限定された。剖検では、25 及び 75 mg/kg/日群の雌雄の腎臓に認められた変化は蒼白、腫大及び浸潤であった。75 mg/kg/日群の雌では、投与に関連した腎絶対、脳比及び体重比重量の増加が認められた。

病理組織学的変化として、腎皮質尿細管上皮の単細胞壊死及び再生が 25 及び 75 mg/kg/日群に認められ、発現率及び程度は 75 mg/kg/日群の方がより高かった（表 31）。回復性試験剖検では、75 mg/kg/日群の雄雌それぞれ 1 例に腎臓蒼白、75 mg/kg/日群の雄に腎絶対、脳比及び体重比重量

の増加が認められた。回復性試験剖検では、25 及び 75 mg/kg/日群に認められた投与に関連した変化は主試験剖検時と同様の変化であったが、尿細管上皮の単細胞壊死及び再生の発現率又は程度が低下した投与群もあったことから、回復傾向が示唆された（表 32）。さらに、回復性試験の 75 mg/kg/日群では、雌には認められなかったものの、雄全例で不可逆性の形態変化である尿細管萎縮を伴う軽度～中等度の間質の線維化が認められた。投与 38、52 及び 56 週目に壊死と線維化の両方が認められた 1 例では、線維化は BUN 及びクレアチニンの増加（それぞれベースライン値から 42～77%及び 22～56%の増加）と関連した。

表 31 投与に関連した病理組織学的変化の発現例数—主試験剖検

	雄				雌			
群番号	1	2	3	4	1	2	3	4
投与量（mg/kg/日）	0	5	25	75	0	5	25	75
動物数	4	3	4	4	4	4	5	4
腎臓								
尿細管上皮単細胞壊死　限局性／多巣性	(0)	(0)	(1)	(3)	(0)	(0)	(2)	(4)
軽微	0	0	1	3	0	0	2	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	4
尿細管上皮再生	(0)	(0)	(0)	(3)	(0)	(0)	(2)	(4)
軽微	0	0	0	1	0	0	2	1
軽度	0	0	0	1	0	0	0	0
中等度	0	0	0	1	0	0	0	3

Data source：[M4.2.3.2-9] P00012-05-08-Appendix I-Table 6
( ) 内に総発現例数を示した。

表 32 投与に関連した病理組織学的変化の発現例数—回復性試験剖検

	雄				雌			
群番号	1	2	3	4	1	2	3	4
投与量（mg/kg/日）	0	5	25	75	0	5	25	75
動物数	2	2	2	2	2	2	1	2
腎臓								
尿細管上皮単細胞壊死　限局性／多巣性	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(1)	(0)
軽微	0	0	0	1	0	0	1	0
尿細管上皮再生	(0)	(0)	(0)	(2)	(0)	(0)	(1)	(2)
軽微	0	0	0	0	0	0	1	1
軽度	0	0	0	2	0	0	0	1
間質の線維化　多巣性／びまん性	(0)	(0)	(0)	(2)	(0)	(0)	(0)	(0)
軽度	0	0	0	1	0	0	0	0
中等度	0	0	0	1	0	0	0	0
皮質尿細管委縮　限局性／多巣性拡散	(1)	(1)	(0)	(2)	(0)	(0)	(0)	(1)
軽微	1	1	0	0	0	0	0	1
軽度	0	0	0	1	0	0	0	0
中等度	0	0	0	1	0	0	0	0

Data source：[M4.2.3.2-9] P00012-05-08-Appendix I-Table 7
( ) 内に総発現例数を示した。

以上、DMF に関連した一般状態の変化は、75 mg/kg/日群における摂餌量の減少のみであった。早期の投与 1 週目に 75 mg/kg 群の雌雄に体重増加抑制が認められた。血液生化学的検査では、雌雄に BUN の減少及び雌数例でクレアチニンの減少が認められた（25 及び 75 mg/kg/日群）。血清中

リン濃度の減少が 75 mg/kg/日群の数例で認められた。主試験剖検時には、DMF に関連して認められた肉眼的及び組織学的変化は腎臓に限られ、25 及び 75 mg/kg/日群で蒼白、重量増加（最高用量群における腎臓の絶対及び相対重量の増加）及び浸潤が認められた。組織学的には、尿細管上皮の単細胞壊死及び再生と関連した。4 週間の回復性試験剖検時では、一部の投与群に回復傾向のある同様の変化が腎臓に認められた。ただし、回復性試験の 75 mg/kg/日群の雄全例に尿細管萎縮を伴う軽度～中等度の間質の線維化が認められ、このうち 1 例では BUN 及びクレアチニンの増加と関連した。

以上の結果から、本試験における DMF の無毒性量は 5 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

DMF 及び MMF は、標準的組合せの in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験で遺伝毒性を示さなかった。DMF の遺伝毒性として、in vitro で変異原性及び染色体異常誘発能並びに in vivo で染色体異常誘発能を検討した。さらに、DMF の一次代謝物である MMF の遺伝毒性も in vitro で変異原性及び染色体異常誘発能を検討した。DMF では、2 種類の染色体異常試験を行った。初回の試験は 1989 年に行われたが（2.6.6.4.4 項、試験番号 5407/89；表 33）、使用された条件はその後、本試験法に関する現行の最良の実施基準とは合致しないと判断されたため、2004 年に再試験を行った（2.6.6.4.5 項、試験番号 P00012-04-16；表 33）。他のすべての試験は GLP に準拠して行われた。

各試験の詳細を表 33 に示す。

表 33　遺伝毒性試験

試験番号	タイトル	試験系	投与濃度/投与経路
5403/89 2.6.6.4.1 項	フマル酸ジメチルのネズミチフス菌／ミクロソームを用いた Ames 変異原性試験 （DMF）	In vitro	± S9：3.16, 10, 31.6, 100, 316, 1000, 3160 µg/プレート
P00012-08-02 2.6.6.4.2 項	細菌を用いた復帰突然変異試験及び確認試験 （MMF）	In vitro	1 回目の試験： ± S9:：1.60, 5, 16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/プレート 2 回目の試験： ± S9:：50.0, 160, 500, 1600, 3330, 5000 µg/プレート
5405/89 2.6.6.4.3 項	チャイニーズハムスター由来 V79 細胞を用いた in vitro フマル酸ジメチルの変異原性試験 （DMF）	In vitro	- S9：0.3, 1, 3, 10, 30 µg/mL + S9：312.5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/mL
5407/89 2.6.6.4.4 項	培養ヒト末梢血リンパ球を用いたフマル酸ジメチルの in vitro 染色体異常誘発性試験 （DMF）	In vitro	1 回目の試験： - S9：1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25 µg/mL + S9：12.5, 25, 50, 100 µg/mL 2 回目の試験： - S9：3.13, 6.25, 12.5, 25 µg/mL + S9:6.25, 12.5, 25, 50, 100, 150 µg/mL
P00012-04-16 2.6.6.4.5 項	培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常誘発性試験 （DMF）	In vitro	1 回目の試験： ± S9：20.8, 29.7, 42.4, 60.6 µg/mL 2 回目の試験： - S9：0.938, 1.88, 3.75, 7.5 µg/mL + S9：30, 40, 50, 60 µg/mL
P00012-08-03 2.6.6.4.6 項	培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 （MMF）	In vitro	1 回目の試験： - S9：74.9, 153, 218 µg/mL + S9：153, 312, 446 µg/mL 2 回目の試験： - S9：20.2, 28.8, 41 µg/mL + S9：100, 156, 245 µg/mL
P00012-04-04 2.6.6.4.7 項	ラットを用いたフマル酸ジメチルの in vivo 小核試験	ラット	0, 250, 500, 1000 mg/kg 強制経口投与

2.6.6.4.1　ネズミチフス菌／ミクロソームを用いたフマル酸ジメチルの Ames 変異原性試験（試験番号 5403/89）

記載箇所：[M4.2.3.3.1-1] 5403/89

本 GLP 試験では、当初 Ames et al., 1973, Ames et al., 1975 により報告され、その後 Maron and Ames, 1983 により改訂された哺乳類代謝活性化系の存在下（+S9）及び非存在下（-S9）で DMF の細菌における変異原性（遺伝子変異）を検討した（[M2.6.7.8A]参照）。5 菌株のネズミチフス菌（主としてフレームシフト型変異原性物質に反応する TA1537、TA1538 及び TA98 株並びに塩基対置換型変異原性物質に反応する TA1535 及び TA100 株）を用いて、代謝活性化系（Aroclor1254 誘導ラット肝臓由来 S9）の存在下及び非存在下の独立した 2 試験で DMF の試験を実施した。3.16～10,000 µg/プレートの濃度範囲で 8 濃度の DMF を用いた。アジ化ナトリウム水溶液（10 µg/プレート、TA1535、TA100）、2-ニトロ-9H-フルオレンのジメチルスルホキシド（DMSO）溶液（10 µg/プレート、TA1538、TA98）及び 9-アミノアクリジンのエタノール溶液（50 µg/プレート、TA1537）

を、代謝活性化系非存在下の陽性対照として用い、2-アミノアントラセンの DMSO 溶液（2 µg/プレート、全試験株）を S9 存在下の陽性対照として用いた。

細胞毒性は、S9 非存在下の試験で約 1000 µg/プレートの濃度から観察した。S9 存在下の試験で 10,000 µg/プレートまで細胞毒性はほとんど観察されなかった。

陽性対照が強い変異原性効果を示す条件下で、5 菌株のネズミチフス菌試験株を用い、S9 の存在下で DMF を最高 10,000 µg/プレートの濃度まで、S9 の非存在下で最高 1,000 µg/プレートの濃度まで試験したが、変異の増加は観察されなかった。

2.6.6.4.2 細菌を用いた MMF の復帰突然変異試験及び確認試験（試験番号 P00012-08-02）

記載箇所：[M4.2.3.3.1-2] P00012-08-02

本 GLP 試験は、細菌を用いる突然変異試験であり、外因性の哺乳類代謝活性化系（S9）の存在下又は非存在下で、4 菌株のネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）のヒスチジン遺伝子座及び大腸菌 WP2*uvrA* 株のトリプトファン遺伝子座において、DMF の活性代謝物であるフマル酸モノメチルの復帰突然変異誘発能を検討した（[M2.6.7.8B]参照）。

MMF の変異試験は、S9 の存在下及び非存在下で、5 菌株及び 1.60、5.00、16.0、50.0、160、500、1600 及び 5000 µg/プレートの濃度を用いて実施した。すべての濃度の被験物質並びに同時陽性対照及び溶媒対照で、プレートを二重測定した。MMF は、S9 の存在下及び非存在下におけるすべての濃度で水性上層寒天に溶けやすかった。増殖阻害（復帰突然変異体の発生頻度の低下又はバックグラウンドローンの薄層化を特徴とする）は、S9 の存在下及び非存在下、1600 及び 5000 µg/プレートの濃度で、5 菌株すべてに観察された。すべての用量の MMF による復帰突然変異体の発生頻度は、S9 の存在下及び非存在下、すべての試験菌株で、溶媒対照培養における復帰突然変異体の発生頻度と同等又はそれ以下であった。

MMF の確認試験は、S9 の存在下及び非存在下及び 50.0、160、500、1600、3330 及び 5000 µg/プレートの濃度を用いて実施した。すべての濃度の被験物質並びに同時陽性対照及び溶媒対照で、プレートを三重測定した。MMF は、S9 の存在下及び非存在下におけるすべての濃度で溶けやすかった。増殖阻害は、3300 µg/プレート以上の用量で、S9 の存在下では試験菌株 TA1535、S9 の非存在下では 5 菌株すべてに観察された。復帰突然変異体の発生頻度は、すべての濃度の MMF、S9 の存在下及び非存在下、すべての試験菌株で、対照値と同等又はそれ以下であった。陽性及び溶媒対照値はすべて許容範囲内にあり、試験の妥当性基準はすべて満たされていた。

以上、細菌復帰突然変異試験及び確認試験では MMF は陰性であることが示された。

2.6.6.4.3 チャイニーズハムスター由来 V79 細胞を用いたフマル酸ジメチルの in vitro 変異原性試験（試験番号 5405/89）

記載箇所：[M4.2.3.3.1-3] 5405/89

本 GLP 試験では、代謝活性化系の存在下及び非存在下で V79 細胞を用いて DMF の変異原性を検討した（[M2.6.7.8C]参照）。予備試験では、S9 非存在下で 5 µg/mL、S9 存在下で 1000 µg/mL の DMF 濃度から細胞毒性が認められた。このため、主試験では S9 非存在下では 30 µg/mL、S9 存在下では 5000 µg/mL を最高濃度として使用し、両濃度では細胞毒性が認められた。

DMF を被験物質とし、哺乳類由来培養細胞（V79 細胞、HGRPT 遺伝子座を標的とする）を用いて、Arcolor 1254 誘導動物由来のラットポストミトコンドリア分画（S9 mix）による代謝活性化系の存在下及び非存在下で試験を実施した。DMF への曝露時間は、S9 非存在下で 24 時間、S9 存在下で 2 時間とした。濃度は、S9 存在下で 312.5、625、1250、2500 及び 5000 µg/mL、S9 非存在下で 0.3、1、3、10 及び 30 µg/mL を用いた。S9 の非存在下及び存在下における陽性対照は、それぞれエチルメタンスルホン酸（EMS）及び 9,10-ジメチル-1,2-ベンズアントラセン（DMBA）を使用した。

陽性対照が強い変異原性作用を示す試験条件下で、2 回の独立した試験で S9 の存在下及び非存在下に細胞毒性濃度まで検討した V79 哺乳類細胞を用いた変異原性試験では、DMF は陰性であった。

2.6.6.4.4 培養ヒト末梢血リンパ球を用いたフマル酸ジメチルの in vitro 染色体異常誘発性試験（試験番号 5407/89）

記載箇所：参考[M4.2.3.3.1-4] 5407/89

本試験では、ヒト末梢血リンパ球（PBL）を用い、代謝活性化系の存在下及び非存在下で DMF の染色体異常誘発性（染色体異常）を検討した（[M2.6.7.8D]参照）。2 人のドナー由来のヒト PBL 培養系を用い、Arcolor 1254 で誘導したラット由来の肝ポストミトコンドリア分画（S9）の代謝活性化系の存在下及び非存在下で in vitro で評価した。DMF の細胞毒性予備試験では、S9 非存在下で 10～50 µg/mL、S9 存在下で 50～100 µg/mL の濃度から細胞毒性が認められた。このため、主試験は、S9 非存在下で 1.56～50 µg/mL、S9 存在下で 6.25～100 µg/mL の DMF を用いて実施した。

主試験に使用した用量は、S9 非存在下で 1.56、3.13、6.25、12.5、25.0 及び 50 µg/mL、S9 存在下で 6.25、12.5、25.0、50.0、100.0 及び 150.0 µg/mL であった。処理時間は、S9 非存在下で 24 時間、S9 存在下で 2 時間であった。マイトマイシン C 及びシクロホスファミドは、それぞれ S9 の非存在下及び存在下における陽性対照として用いた。顕著な細胞毒性は、S9 の存在下及び非存在下の高用量で観察された。

S9 非存在下で行った 2 つの試験では、細胞毒性濃度でより高い発現率で染色体異常が観察された。最初の試験では、12.5 及び 25 µg/mL の濃度で染色体異常を有する細胞の割合が対照と比較して統計学的に有意に高かった。25 µg/mL の濃度では、ほとんどすべての細胞に細粉化が観察された。

分裂指数に基づく細胞毒性は、12.5 及び 25 µg/mL の濃度でそれぞれ 29 及び 33%であった。2 番目の試験では、S9 非存在下、12.5 µg/mL の濃度で染色体異常を有する細胞の割合が統計学的に有意に高かった。25 µg/mL の濃度では、評価を続けるために十分な分裂中期細胞が存在しなかった。12.5 及び 25 µg/mL の濃度で分裂指数がそれぞれ 31 及び 23%であり、細胞毒性が認められた。細胞毒性を示す高濃度でのみ染色体異常発生率が増加した。

2 回の独立した試験で、S9 存在下に DMF で処理した細胞のうち染色体異常（ギャップを除く）を有する細胞の割合は 0.0～3.0%の範囲であった。これらの結果は対照の正常範囲内にあり、有意ではなかった。

陽性対照群では、マイトマイシン C 及びシクロホスファミド処理により、異常分裂中期の有意な増加が観察された（$p < 0.05$）。

この哺乳動物培養細胞を用いた in vitro 試験条件下では、染色体異常は、S9 非存在下で細胞毒性濃度（> 12.5 µg/mL）にのみ認められた。陽性対照が強い変異原性を示す条件下で、S9 存在下で DMF は染色体異常を発現しなかった。本試験は、1989 年に実施されたが（2.6.6.4.4 項、試験番号 5407/89；表 33）、その後、試験条件が現行のガイドライン要件に合致しないと判断されたため、2004 年に再試験を行い（2.6.6.4.5 項、試験番号 P00012-04-16）、DMF は染色体異常誘発性がないことが再確認された。

2.6.6.4.5 培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（試験番号 P00012-04-16）

記載箇所：[M4.2.3.3.1-5] P00012-04-16

本 GLP 試験では、外因性代謝活性化系の存在下（S9）及び非存在下（-S9）における、培養ヒトリンパ球を用いた DMF の染色体異常誘発性を in vitro で検討した（[M2.6.7.8E]参照）。初回試験では、S9 の存在下及び非存在下で 3 時間で処理した。S9 の存在下及び非存在下で、ヒト全血リンパ球を 10.2、14.5、20.8、29.7、42.4、60.5、86.5、124、176、252、360、515、735、1050 及び 1500 µg/mL の濃度の DMF と二重培養した。これらの濃度のサブセット（20.8、29.7、42.4 及び 60.5 µg/mL）を、初回試験における染色体異常解析用に選択した。

S9 存在下では、有意な変化は観察されなかった。S9 非存在下では、42.4 及び 60.5 µg/mL の濃度で統計学的に有意な（$p \leq 0.01$）染色体異常の増加が示された。これらの濃度ではいずれも細胞毒性が観察された（対照と比較して、分裂指数が 41～56%減少）。代謝活性化存在下（15～120 µg/mL の濃度で 3 時間処理）及び S9 非存在下（0.469～90 µg/mL の濃度で 22 時間処理）で確認試験を行った。染色体異常に関する解析濃度は、S9 存在下 3 時間処理で 30、40、50 及び 60 µg/mL、S9 非性存在下 22 時間処理で 0.938、1.88、3.75 及び 7.50 µg/mL を用いた。確認試験では、S9 の存在下及び非存在下のいずれでも、染色体異常を有する細胞の統計学的に有意な増加は観察されなかった。初回試験では、S9 の非存在下で陽性反応が 42.4 及び 60.5 µg/mL の濃度で観察された。S9 非存在下 22 時間処理で観察された細胞毒性の増加のため、確認試験では、染色体異常に関する解析

濃度を、初回試験における染色体異常誘発濃度の約 1/10 にした。確認試験で陽性反応が観察されなかったのはこのためであると考えられる。溶媒、ジメチルスルホキシド及び陰性対照培養は、背景対照データから予想される範囲内であった。陽性対照培養は、染色体異常が有意に増加した。

結論として、本試験では、DMF は遺伝毒性を示さないと考えられた。染色体異常の増加は、本試験及び前項の試験（2.6.6.4.4 項、試験番号 5407/89）の両試験で S9 非存在下で細胞毒性濃度にのみ観察された。

2.6.6.4.6 培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（試験番号 P00012-08-03）

記載箇所：[M4.2.3.3.1-6] P00012-08-03

本 GLP 試験では、外因性の代謝活性化系（S9）の非存在下及び存在下で、培養末梢血ヒトリンパ球を用いて MMF の染色体構造異常誘発性を検討した（[M2.6.7.8F]参照）。

DMSO を試験溶媒とした。最高濃度は約 10 mM の MMF に相当する 1300 µg/mL を用いた。保存溶液及び希釈溶液は 1%（10 µL/mL）を用い、溶媒対照培養は、10 µL/mL の DMSO で処理した。

初回試験では、S9 の非存在下及び存在下で処理時間は 3 時間とし、処理開始から約 22 時間後に培養した細胞を回収した。S9 の非存在下及び存在下で、8.82、12.6、18.0、25.7、36.7、52.5、74.9、107、153、218、312、446、637、910 及び 1300 µg/mL の濃度で試験を行った。S9 非存在下で 153、312 及び 446 µg/mL の濃度で処理した細胞及び S9 存在下で 74.9、153 及び 218 µg/mL の濃度で処理した細胞について、染色体異常を解析した。解析した結果、倍数体又は核内倍加を有する細胞の有意な増加は観察されず、S9 存在下では染色体異常を有する細胞の有意な増加は観察されなかった。染色体異常を有する細胞の統計学的に有意な増加は、代謝活性非存在下で 312 及び 446 µg/mL の濃度に観察され、それぞれ分裂指数が 39%及び 56%減少していた。

確認試験では、S9 非存在下における処理時間は約 22 時間、代謝活性の存在下における反応時間は 3 時間とし、反応開始から約 22 時間後に培養した細胞を回収した。S9 存在下では、2.50、5.00、10.0、20.2、28.8、41.0、58.0、80.0、100、125、156、196、245、350 及び 500 µg/mL の濃度で試験を行い、S9 存在下では、64.0、80.0、100、125、156、196、245 及び 350 µg/mL の濃度で試験を実施した。分裂中期の頻度が低かったため、本試験を中止して再度試験を実施した。

再度実施した確認試験は、同一の条件下で行った。S9 非存在下では 20.2、28.8 及び 41.0 µg/mL の濃度で処理し、細胞を回収した。S9 存在下では 100、156 及び 245 µg/mL の濃度で処理し、細胞を回収し、染色体異常を解析した。解析した結果、倍数体又は核内倍加を有する細胞の有意な増加は観察されなかった。染色体異常を有する細胞の統計学的に有意な増加が、S9 非存在下の 41.0 µg/mL の濃度で観察された。この培養条件では、溶媒対照と比較して分裂指数の 54%の減少が確認された。異常細胞数の増加（染色体及び染色分体ギャップを除いて 4%）は、同時に培養した溶媒対照に異常細胞が存在しなかったことによる統計上の変則的な差であると考えられ、生物

学的に有意な増加とは考えられなかった。S9 存在下の 245 µg/mL の濃度で染色体異常を有する細胞の有意な増加（ギャップを除いて 6%）が観察された。この培養条件では、溶媒対照と比較して分裂指数の 56%の減少が確認された。

単一の高濃度に観察された増加はおそらく細胞毒性により誘発されたものであり、被験物質の真の染色体異常誘発性効果によるものではないことを示す十分なエビデンスがある（Galloway, 2000, Hilliard et al., 1998, Kirkland and Muller, 2000）。比較的細胞毒性を示す濃度でわずかな増加（ほとんどすべてが単純切断）が観察され（分裂指数の約 50%の減少）、より細胞毒性の低い濃度では増加が観察されなかったため、染色体異常は細胞毒性に起因するものと考えられる。

溶媒対照培養は、染色体異常に関する背景対照範囲内にあり、陽性対照培養では、染色体異常を有する細胞が溶媒対照培養と比較して有意に増加した。解析用に選択された高用量は、OECD 試験ガイドラインによりこの試験法で推奨されている分裂指数に 50%以上の減少を示した。

MMF は、初回（B1）試験では、S9 非存在下で分裂指数を減少させる（39～56%）濃度でわずかに陽性であった。確認試験においては、S9 の存在下及び非存在下のいずれにおいても、細胞毒性と考えられる濃度においてのみ（50%を超える分裂指数の減少）陽性結果が得られた。本試験条件下において、MMF は染色体異常誘発性ではないと考えられる。

2.6.6.4.7 ラットを用いたフマル酸ジメチルの in vivo 小核試験（試験番号 P00012-04-04）

記載箇所：[M4.2.3.3.2-1] P00012-04-04

本 GLP 試験では、Crl:CD (SD)IGS BR ラット骨髄中の多染性赤血球（PCE）における小核を検出することにより、DMF の in vivo 染色体異常誘発性又は細胞分裂機能の障害を検討した。小核試験では、表 34 に示すように、0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）/RODI 水を溶媒として DMF を調製し、雄の Sprague Dawley ラットに強制単回経口投与した（[M2.6.7.9]参照）。

表 34 試験番号 P00012-04-04 の試験デザイン

雄動物数	被験物質	投与量（mg/kg）	動物数/採取時点	
			24 時間	48 時間
6	陽性対照 [a]	60	6	-
12	溶媒対照 [b]	0	6	6
6	DMF	250	6	-
6	DMF	500	6	-
12	DMF	1000	6	6

Data source：[M4.2.3.3.2-1] P00012-04-04-text-EXPERIMENTAL DESIGN
[a] 陽性対照：シクロホスファミド（60 mg）
[b] 溶媒対照：0.8% HPMC/RODI 水

DMF のラットへの単回経口投与における最小毒性量は約 1400 mg/kg であったことから（表 3）、本試験では、過剰な死亡を避けながら毒性を引き起こすために、高用量として 1000 mg/kg を選択

した。ラット 90 日間反復投与試験では雌雄両方で同様の毒性が観察されたことから（2.6.6.3.2.1 項、試験番号 P00012-04-01）、雄のみを用いた。

DMF は、250、500 又は 1000 mg/kg の用量で投与した動物に一般状態の変化及び死亡を起こさなかった。骨髄を採取し、1 個体当たり 2000 個以上の PCE を用いて小核の頻度を解析した。

細胞毒性は、各動物で、少なくとも最初の 500 個の赤血球中の PCE 及び正染性赤血球（NCE）数を計測することにより評価した。すべての用量（250、500 又は 1000 mg/kg）で、DMF は小核 PCE を有意に増加させなかった。しかし、DMF は 1000 mg/kg の用量で、48 時間後の骨髄採取時点で、骨髄に対して細胞毒性（すなわち、統計学的に有意な PCE：NCE 比の減少）を示した。溶媒対照と比較して、被験物質の PCE：NCE 比の統計学的に有意な減少は、標的組織（骨髄）の被験物質又はその代謝物への曝露を示す直接的な証拠である。

本試験条件下のラット骨髄小核試験では、DMF は陰性であった。

2.6.6.5 がん原性試験（トキシコキネティクスを含む）

GLP 2 年間強制経口投与がん原性試験をマウス及びラットにそれぞれ 1 日 1 回 0、25、75、200、600/400 mg/kg/日及び 0、25、50、100、150 mg/kg/日の DMF を強制経口投与して実施した（表 35）。被験物質（試験報告書では BG00012 と記載。DMF を有効成分とする）は、試験期間中げっ歯類に 1 日 1 回経口投与するため、HPMC を含む懸濁液に調製した。以下、記載の整合性のため、被験物質懸濁液製剤は、DMF と記載する。

表 35　DMF のげっ歯類がん原性試験

タイトル	試験系	投与量（mg/kg/日）	投与期間	試験番号
マウスを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験	CD-1 マウス	0, 25, 75, 200, 600/400[a]	2 年間	P00012-05-03 2.6.6.5.1 項
ラットを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験	Sprague Dawley ラット	0, 25, 50, 100, 150	2 年間	P00012-04-11 .2.6.6.5.2 項
[a] 死亡例の発現により 600 mg/kg/日の投与量は投与 6～8 日目に中止され、投与 9 日目に 400 mg/kg/日の投与量で再開された。				

2.6.6.5.1　マウスを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験（試験番号 P00012-05-03）

記載箇所：[M4.2.3.4.1-1] P00012-05-03

本試験では、CD-1 マウスを用いて 104 週間 1 日 1 回強制経口投与における DMF のがん原性を検討した。6 ヵ月トキシコキネティクス用にサテライト動物を設定した。投与量は、マウスを用いた 13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.1.2 項、試験番号 P00012-04-10）結果より設定した。試験の概要を表 36 に示す（[M2.6.7.10A]参照）。

表 36 DMF 経口投与によるマウスがん原性試験デザイン（P00012-05-03）

群番号	動物数 がん原性（トキシコキネティクス）		DMF 投与量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）
	雄	雌		
1	75 (12)	75 (12)	0[a]	0
2	75 (30)	75 (30)	25	2.5
3	75 (30)	75 (30)	75	7.5
4	75 (30)	75 (30)	200	20
5	75 (30)	75 (30)	600/400[b]	40

Data source：[M4.2.3.4.1-1] P00012-05-03-text-6.3 Experimental Design
[a] 0.8%HPMC/RODI 水
[b] 死亡例の発現により 600 mg/kg/日の投与量は投与 6～8 日目に中止され、投与 9 日目に 400 mg/kg/日の投与量で再開された。

本試験では、生存率、一般状態、腫瘤の触診、体重、摂餌量、血液学的検査、トキシコキネティクス、剖検及び病理組織学的検査を行った。

被験物質に関連した死亡が、投与 1 週間後までの期間に 600 mg/kg/日群にみられた（表 37）。当群の雄 15 例及び雌 13 例が、投与 5～8 日目に死亡した。3 日間の休薬期間（投与 6～8 日目）の後、投与 9 日目に生存マウスに 400 mg/kg/日の用量で投与を再開した。本群は 400 mg/kg/日群と記載する。400 mg/kg/日群の生存動物（雌 10 例/雄 10 例）は 101 週目（計画剖検の 3 週間前）に安楽死させた。200 mg/kg/日群の雌雄の生存率（それぞれ 44%及び 25.3%）は、対照群の雌雄の生存率（それぞれ 44%及び 32%）と比較してわずかに低かった。25 又は 75 mg/kg/日群の雌雄の生存率は（34.6～46.7%）、対照群の雌雄の生存率（32～44%）と同等であった。

表 37 DMF 経口投与マウスがん原性試験における生存率

DMF 投与量（mg/kg/日）	0		25		75		200		600/400[a]	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与開始時の動物数	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
死亡又は瀕死による屠殺例数	51	42[b]	40	48	49	47[b]	56	51[b]	65	65
最終剖検例数	24	33	35	27	26	28	19	24	10	10
生存率（%）	32.0	44.0	46.7	36.0	34.7	37.3	25.3	32.0	13.3*	13.3*

Data source：[M4.2.3.4.1-1] P00012-05-03-text-Table 2
* $p \leq 0.05$（Kruskal-Wallis/Dunn's Test）
[a] 400 mg/kg/日群の雄 15 例及び雌 13 例が投与開始 5～8 日目に死亡が確認された。死亡例の発現により 600 mg/kg/日の投与量は投与 6～8 日目に中止し、投与 9 日目に 400 mg/kg/日の投与量で再開した。
[b] 溶媒対照群の雌 1 例、75 mg/kg/日群の雌 2 例及び 200 mg/kg/日群の雌 1 例は偶発的死亡と判断された。

生存率以外に、投与に関連した有害な一般状態変化は観察されなかった。600 mg/kg/日の投与を受けた動物では、1 週目から 2 週目における摂餌量の低下に伴い、2 週目までに対照群と比較して体重が有意に低下した（5～7.3%）。3 日間の休薬期間に続き、400 mg/kg/日の用量で投与を再開した。高用量動物の体重及び摂餌量は、対照群と同等であった。

試験終了時に 200 mg/kg/日以上の生存動物に観察された、血液学的変化（赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリットの減少及び白血球パラメーターの増加）は、CD-1 マウスの対照群における背景デ

ータ範囲内又は散発的な変化に起因するものであった。

剖検変化は、主として DMF 投与動物の腎臓及び胃に観察された。腎臓の腫大、表面粗ぞう及び変色の変化は、75 mg/kg/日以上の雄に全般的により高い発現率を示した。これらの変化は、雌では対照群と同様であった。前胃では、75 mg/kg/日以上の動物に上皮表面の隆起の発現率増加が観察された。

統計学的に有意な発現率の増加を示した腫瘍性変化は、前胃及び腎臓にのみ観察された。前胃では、DMF 投与により、扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌の発現率が対照群よりも用量依存的に増加した（表 38）。雌雄における平滑筋肉腫、扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌の発現率及び雌における線維肉腫の発現率に統計学的に有意な用量依存的な増加傾向が認められた。対照群との pairwise 比較では、雌雄の 200 及び 600/400 mg/kg/日群における乳頭腫及び乳頭腫／癌の合算の発現率に統計学的に有意な増加、600/400 mg/kg/日群の雄並びに 200 及び 600/400 mg/kg/日群の雌における癌の発現率の統計学的に有意な増加が観察された。投与群には、対照群と比較してより高い前胃の過形成の発現率が観察された。扁平上皮嚢胞、角化亢進、慢性活動性炎症、びらん及び粘膜下層から漿膜に及んでいる潰瘍及び炎症等の前胃変化の発現率の増加のその他の非腫瘍性変化が観察された（表 38）。

表 38 DMF 経口投与マウスがん原性試験における前胃腫瘍性及び非腫瘍性病変

性別	雄					雌				
DMF 投与量（mg/kg/日）	0	25	75	200	600/400[a]	0	25	75	200	600/400[a]
評価動物数	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
非腫瘍性病変										
前胃　びらん	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1
前胃　過形成	2	12	49	68	60	0	33	56	70	58
前胃　扁平上皮　嚢胞	0	0	0	1	0	1	0	1	1	5
前胃　角化亢進	6	15	64	70	64	5	39	63	75	62
炎症	0	1	1	0	32	0	0	0	0	33
腺胃及び前胃　壊死	0	0	0	0	14	0	0	0	0	14
腺胃及び前胃　潰瘍形成	0	0	1	1	14	0	0	0	4	9
腫瘍性病変										
線維肉腫（R）[b]	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2
平滑筋肉腫（R）[b]	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3
扁平上皮乳頭腫（R）[b]	0	1	3	12[c]	14[c]	1	0	3	6	16[c]
扁平上皮癌（R）[b]	0	1	0	2	6[c]	0	1	1	5[c]	12[c]
扁平上皮乳頭腫／癌合算（R）[b]	0	2	3	12[c]	19[c]	1	1	4	11[c]	26[c]

Data source：[M4.2.3.4.1-1] P00012-05-03-Appendix 14-Table 1, Appendix 15-Table 5.2.1, Appendix 15-Table 5.2.2

[a] 死亡例の発現により 600 mg/kg/日の投与量は投与 6～8 日目に中止され、投与 9 日目に 400 mg/kg/日の投与量で再開された。

試験対照から求めた癌の自然発生率：(R) まれな腫瘍 ＜1%、(C) よくみられる腫瘍 ≥1%

統計学的有意：まれな腫瘍　$p \leq 0.025$ (trend test)、$p \leq 0.05$ (pairwise)

よくみられる腫瘍　$p \leq 0.005$ (trend test)、$p \leq 0.01$ (pairwise)

[b] 雄：平滑筋肉腫、扁平上皮乳頭腫、扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫／癌合算発現率は陽性（trend test）、雌：線維肉腫、平滑筋肉腫、扁平上皮乳頭腫、扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫／癌合算発生率は増加傾向陽性（trend test）であった。

[c] pair-wise 比較で対照群に対して統計学的に有意であった。

マウスにおける DMF の強制経口反復投与による前胃の病理変化は、ヒトには前胃がないため、ヒトと関連するものとは考えられない。

腎臓では、対照群と比較して、DMF 投与群に尿細管過形成が観察された（表 39）。腎臓に尿細管腺腫、癌並びに腺腫及び癌合算に発現率の有意な増加傾向が認められた。対照群との pairwise 比較では、200 及び 600/400 mg/kg/日群に尿細管癌、及び腺腫／癌合算に増加が認められた。

表 39　DMF 経口投与マウスがん原性試験における腎臓の腫瘍性及び非腫瘍性病変

性別	雄					雌				
DMF 投与量（mg/kg/日）	0	25	75	200	600/400[a]	0	25	75	200	600/400[a]
評価動物数	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
非腫瘍性病変										
尿細管　過形成	1	7	16	40	15	0	7	8	13	13
腫瘍性病変										
尿細管腺腫（R）[b]	1	2	0	6	3	0	0	0	2	4[c]
尿細管癌（R）[b]	0	0	2	2	3[c]	0	0	0	0	1
尿細管腺腫／癌合算（R）[b]	1	2	2	8[c]	5[c]	0	0	0	2	4[c]

Data source：[M4.2.3.4.1-1] P00012-05-03-Appendix 14-Table 1, Appendix 15-Table 5.2.1, Appendix 15-Table 5.2.2

[a] 死亡例の発現により 600 mg/kg/日の投与量は投与 6～8 日目に中止され、投与 9 日目に 400 mg/kg/日の投与量で再開された。

試験対照から求めた癌の自然発生率：(R) まれな腫瘍 ＜1%、(C) よくみられる腫瘍 ≥1%

統計学的有意：まれな腫瘍　$p \leq 0.025$ (trend test)、$p \leq 0.05$ (pairwise)

よくみられる腫瘍　$p \leq 0.005$ (trend test)、$p \leq 0.01$ (pairwise)

[b] 雄：尿細管腺腫、尿細管癌及び尿細管腺腫／癌合算発生率は陽性（trend test）、雌：尿細管腺腫及び尿細管腺腫／癌合算発生率は陽性（trend test）であった。

[c] pairwise 比較において対照群に対して統計学的に有意であった。

試験報告書の最終化後、独立した国際病理レビュー委員会である Pathology Working Group (PWG) で腎臓の増殖性変化は再評価された。PWG の再評価結果から、雄における低頻度の尿細管腺腫、尿細管癌及び腺腫／癌合算に統計学的に有意な用量比例性の増加傾向が示された。雄では、対照群との pairwise 比較で 600/400 mg/kg/日群の尿細管癌の発症率並びに 200 及び 600/400 mg/kg/日群の尿細管腺腫／癌合算の発生率に統計学的有意差が認められた。雌では尿細管腺腫及び尿細管腺腫／癌合算の発生率に統計学的に有意な用量比例性の増加傾向が認められた。尿細管癌は DMF 投与雌 1 例にのみ認められ、この 600/400 mg/kg/日投与群の雌は 2 つの癌及び 1 つの腺腫が認められた。対照群との pairwise 比較では、600/400 mg/kg/日群の雌の尿細管腺腫及び尿細管腺腫／癌合算の発生率に増加が認められた。

PWG は直接的な細胞毒性を認めなかったことから、間接的な機序が尿細管腫瘍の発症に関与していることが示唆される。

最も頻度の高い腎臓変化は腎症であった（表 40）。腎尿細管の増殖性変化の発現率増加は加齢性腎症の重症度の増加と密接に関連しており、DMF に直接的な細胞毒性及び遺伝毒性がなかったことを踏まえると、このことは、腎症の重症度の増加がマウスにおける腎腫瘍の発生の根底にあることを示している。マウスの加齢性自然発生性慢性進行性腎症は、実験ラットでよく知られてい

る CPN と形態的に類似している。より高用量で腎症の重症度が増加した動物数が増加したことから、DMF は、加齢性腎症を悪化させたことが示された。糸球体肥大、糸球体萎縮及び硬化、ボーマン嚢過形成及び癒着、尿細管好塩基性変化、基底膜肥厚、間質の炎症及び線維化、尿細管円柱及び嚢胞が観察された。これらの形態学的変化は個別には診断されず、腎症として総括的に診断及び全体の重症度が示された。加齢性腎症はげっ歯類特異的であるため、マウスにおける加齢性腎症の悪化に起因する腎腫瘍はヒトとはほとんど関連しない可能性がある。

表 40 DMF 経口投与マウスがん原性試験における腎症の重症度別発現例数

性別	雄					雌				
DMF 投与量(mg/kg/日)	0	25	75	200	600/400[a]	0	25	75	200	600/400[a]
評価動物数	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
重症度スコア平均値（1～4）	2.19	2.19	2.33	2.92	2.78	2.07	1.71	2.01	1.93	2.20
腎症（合計）	68	69	72	72	58	69	70	72	69	66
腎症（軽微）	18	14	8	3	2	13	34	14	21	13
腎症（軽度）	21	30	35	12	19	41	25	45	34	29
腎症（中等度）	27	23	26	45	27	12	8	11	12	22
腎症（重度）	2	2	3	12	10	3	3	2	2	2

Data source：[M4.2.3.4.1-1] P00012-05-03- Appendix 14-Table 1
[a] 死亡例の発現により 600 mg/kg/日の投与量は投与 6～8 日目に中止され、投与 9 日目に 400 mg/kg/日の投与量で再開された。

200 mg/kg/日及び 600/400 mg/kg/日群の特に雌に、対照群と比較して、非腫瘍性の網膜変性の発現率又は程度の増加が観察された（表 41）。マウス生涯投与試験では、網膜変性が全般的に 1 年齢以上で高頻度に認められた。加齢マウスでは、その他、白内障等の眼疾患も認められた（表 41）。眼疾患はマウスではまれではない。一般的に、DMF のがん原性試験に用いた CD-1 マウスは眼疾患の背景発現率が高く（Hubert et al., 1999）、網膜変性等の所見は様々な CD-1 マウスコロニーで報告されている（Serfilippi et al., 2004）。高い有病率のため、マウス網膜変性モデル（自然発症性及び誘発性）は文献上でよく報告されている（Chang et al., 2002、Chang et al., 2008）。DMF を用いたマウス生涯投与試験で高発現した網膜変性が、特に高用量群の雌に眼疾患を発症する遺伝的素因を有する個体が多かったことによるものかどうかは不明である。しかしながら一般的にはマウスは他の動物種に比べて眼疾患の有病率が高い。他の動物種（ラット、イヌ及びサル）を用いた DMF の反復投与試験及びマウス亜慢性試験では、眼科学的検査又は病理組織学的検査で眼に投与に関連した変化は観察されなかった。サル慢性毒性試験でさらに検討した結果、眼毒性に影響する可能性のある DMF の潜在的な代謝物であるメタノールの総曝露量の増加は認められなかった。

表 41 DMF 経口投与マウスがん原性試験における眼の非腫瘍性病変

性別	雄					雌				
DMF 投与量（mg/kg/日）	0	25	75	200	600/400[a]	0	25	75	200	600/400[a]
評価動物数	64	72	69	63	66	73	68	69	67	62
眼：網膜変性；発現率（%）	7	0	2	9	12	4	4	2	11	23
	10.9	0.0	2.9	14.3	18.2	5.5	5.9	2.9	16.4	37.1
水晶体白内障；発現率（%）	8	5	5	8	9	12	9	9	14	2
	12.5	6.9	7.2	12.7	13.6	16.4	13.2	13.0	20.9	3.2

Data source：[M4.2.3.4.1-1] P00012-05-03-Appendix 14-Table 1
[a] 死亡例の発生により 600 mg/kg/日の投与量は投与 6～8 日目に中止され、投与 9 日目に 400 mg/kg/日の投与量で再開された。

多発性硬化症患者では、視神経炎はよく起こるが（Shams et al., 2009）、第 III 相多発性硬化症試験及び市販後使用では、プラセボ投与被験者に比べて、本剤投与患者に眼疾患の発現率の増加は認められなかった。本剤を投与されたヒトでの網膜変性のリスクは低いと考えられる。

経口投与後、DMF は一次活性代謝物である MMF に急速に変換され測定可能ではないため、TK プロファイルの評価に MMF を解析した（表 42）。マウスに DMF を 6 ヵ月間投与すると、MMF 全身曝露を示す AUC_{last} は、雌雄のいずれも投与 1 日目の 25～600 mg/kg/日及び 90 日目及び 180 日目の 25～400 mg/kg/日に用量比例性を超える増加を示した。t_{max} は 0.33 時間であり、$t_{1/2}$ は 0.13～0.52 時間の範囲であった。マウスにおける DMF の 6 ヵ月間の 1 日 1 回反復投与後に MMF の有意な蓄積は観察されなかった。マウスに増殖性変化を起こす最低用量である 25 mg/kg の DMF の経口投与後では、投与 1 日目、90 日目及び 180 日目における MMF の平均全身曝露量（AUC_{last}）は雄 2.8 µg·h/mL 及び雌 3.2 µg·h/mL であった。

表 42 DMF 経口投与マウスがん原性試験における MMF のトキシコキネティックプロファイル

投与量（mg/kg）	測定日	雄				雌			
		$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (µg/mL)	AUC_{last} (µg·h/mL)
25	1	0.25	0.17	9.4	2.9	0.15	0.08	12.7	3.4
	90	0.13	0.08	11.2	2.6	0.22	0.08	14.0	3.6
	180	0.13	0.17	8.8	3.0	0.20	0.08	9.5	2.6
75[b]	1	0.25	0.17	33.4	12.7	0.17	0.17	28.9	10.4
	90	0.32	0.08	36.4	9.8	0.22	0.17	37.1	10.8
200	1	0.40	0.33	61.2	32.7	0.33	0.33	89.7	42.4
	90	0.33	0.08	90.7	35.3	0.37	0.08	82.6	37.0
	180	0.38	0.08	63.4	31.4	0.28	0.17	76.1	33.6
600/400[a]	90	0.42	0.17	183	107	0.52	0.17	159	99.7
	180	0.28	0.08	212	110	0.52	0.08	197	91.8
600[a]	1	0.52	0.17	197	105	-[c]	0.33	156	112

Data source：[M4.2.3.4.1-1] P00012-05-03-Appendix 20-Table 4
[a] 死亡例の発現により 600 mg/kg/日の投与量は投与 6～8 日目に中止され、投与 9 日目に 400 mg/kg/日の投与量で再開された。
[b] 75 mg/kg/日群の投与 180 日目の TK データは、他の投与群に比べて異常に低い曝露量であったため分析対象より除外した。
[c] 報告なし

結論として、マウスを用いた DMF（25、75、200、600/400 mg/kg/日）の強制経口投与による 2 年間がん原性試験では、腎臓及び胃が標的組織として確認された。前胃における腫瘍性及び非腫瘍性変化は、解剖学的及び製剤的差に基づき、げっ歯類に特異的な局所刺激に起因するものと考えられた。腎臓の増殖性変化は、げっ歯類に特異的な加齢性腎症の悪化に起因するもので直接的な細胞毒性に起因するものではないと判断された。これらの病理変化は、ヒトの相当臓器で腫瘍を発生するリスクは低いと考えられる。マウスに増殖性変化のみられた用量である DMF の 25 mg/kg では、MMF の平均全身曝露量は、240 mg BID 又は 480 mg/日の臨床用量でのヒトの MMF 曝露量（試験番号 109MS101）よりも低かった。マウスに投与に関連した腫瘍が観察されない用量である 75 mg/kg では、MMF の平均全身曝露量は臨床用量でのヒトの MMF 曝露量と同等であった。体重換算すると、25 mg/kg は、体重 60 kg のヒトの投与量（8 mg/kg）の約 3 倍に相当する。

2.6.6.5.2 ラットを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験（試験番号 P00012-04-11）

記載箇所：[M4.2.3.4.1-2] P00012-04-11

本試験では、Sprague-Dawley ラットに DMF を 2 年間 1 日 1 回強制経口投与したがん原性を検討した。本試験には、TK 評価が含まれた。投与量は、ラットを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2.1 項、試験番号 P00012-04-01）結果より設定した。試験のデザインの概要を表 43 に示す（[M2.6.7.10B]参照）。

表 43 DMF 経口投与によるラットがん原性試験デザイン（P00012-04-11）

群番号	動物数 がん原性（トキシコキネティクス）[a]		DMF 投与量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）
	雄	雌		
1	75 (15)	75 (15)	0[b]	0
2	75 (15)	75 (15)	25	2.5
3	75 (15)	75 (15)	50	5
4	75 (15)	75 (15)	100[c]	10
5	75 (15)	75 (15)	150[c]	15

Data source：[M4.2.3.4.1-2] P00012-04-11-text-6.3 Experimental Design
[a] トキシコキネティクス試験動物は試験 24 週間目に開始された。投与開始初日を投与 1 日目とした。トキシコキネティクス試験期間は最低 180 日とした。
[b] 溶媒対照動物は 0.8% (w/v) ヒドロキシプロピルメチルセルロース/RODI 水を投与した。
[c] 第 4 群及び第 5 群（100 mg/kg 及び 150 mg/kg 投与群）雄は、それぞれ投与 81 週目及び 78 週目に高頻度の死亡例発現のため中止した。第 4 群及び第 5 群で生存していた雄は投与 88 週目及び 86 週目に剖検した。

本試験では、生存率、一般状態観察、腫瘤の触診、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、TK、剖検及び病理組織学的検査を行った。

50、100 又は 150 mg/kg/日の雄に用量依存性の生存率の減少が認められた（表 44）。各群の生存ラットが 75 例中 10 例（13.3%）のみであったため、100 及び 150 mg/kg/日群の生存例はそれぞれ 88

及び 86 週目に試験を終了した。50 mg/kg/日群では、試験終了時における生存率は、対照群の生存率 30.7%に対して 17.3%であった。全群における生存雌ラットはすべて、計画剖検した。試験終了時における雌ラットの生存率は 26.7～37.3%であり、対照群の生存率（33.3%）と類似していた。

表 44 DMF 経口投与によるラットがん原性試験における生存率

群番号	1		2		3		4		5	
DMF 投与量（mg/kg/日）	0		25		50		100[a]		150[a]	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与開始時の動物数	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
死亡又は瀕死による屠殺例数	52	50	55	47	62[b]	55	65	53	65	52
最終剖検例数	23	25	20	28	13	20	10	22	10	23
生存率（%）	30.7	33.3	26.7	37.3	17.3*	26.7	13.3*	29.3	13.3*	30.7

Data source：[M4.2.3.4.1-2] P00012-04-11-text-Table 2
* $p \leq 0.05$（Kruskal-Wallis/Dunn's Test）
[a] 第 4 群及び第 5 群（100 mg/kg 及び 150 mg/kg 投与群）雄は、それぞれ投与 81 週目及び 78 週目に高頻度の死亡例発現のため中止した。第 4 群及び第 5 群の生存していた雄は投与 88 週目及び 86 週目に剖検した。
[b] 第 2 及び 3 群の雄に認められたそれぞれ 1 例の死亡は、偶発的であり、Kaplan-Meier 推定に含めなかった。

一般状態の変化は軽微であったが、流涎、痩身及び皮膚蒼白の発現率の増加が 100 及び 150 mg/kg/日群に観察された。対照群及び DMF 群間で、触診可能な腫瘤に差は観察されなかった。雌雄いずれも、試験期間中に投与に関連した体重減少又は体重変化が認められた。100 及び 150 mg/kg/日群の雄では、それぞれ 61 週目及び 33 週目からの体重が、対照群に比べて 10%以下減少した。雌では、150 mg/kg/日群の体重が、69 週目から、対照群に比べて 10%以下減少した。

血液学的変化（雄：白血球パラメーター並びに雌：白血球及び赤血球パラメーター）は、100 及び 150 mg/kg/日群に観察された。これらの変化は、生涯試験中の動物の全般的健康状態が最適でない試験終了時に試料採取が行われたことによる可能性がある。

剖検変化は、腎臓、胃及び精巣に観察された。腎臓の腫大、表面粗ぞう及び変色は、全般的に DMF の用量増加に伴って発現率の増加が認められた。胃における主な変化は上皮表面の隆起であり、用量依存性が観察された。さらに、被験物質を投与された雄に投与に関連した小精巣及び軟精巣が観察された。

被験物質に起因する腫瘍性変化は、胃、精巣、腎臓及び上皮小体に観察された。被験物質に関連した増殖性及び過形成変化が認められた主な部位は前胃粘膜であった（表 45）。全 DMF 投与群の雌雄に扁平上皮過形成の発現率増加が観察された。雄では、全 DMF 投与群に統計学的に有意な良性扁平上皮乳頭腫、悪性扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫／癌合算の発現率増加が認められた。雌では、すべての投与群に統計学的に有意な扁平上皮乳頭腫の発現率増加が認められ、100 及び 150 mg/kg/日群に扁平上皮癌及び扁平上皮乳頭腫／癌合算の発現率増加が統計学的に有意に認められた。雄又は雌の DMF 群に非腫瘍性変化（変性、炎症、石灰化、角化亢進、びらん、潰瘍及び

扁平上皮嚢胞）も増加した。

これらの前胃における病理組織学的変化は、ラットに強制経口投与した懸濁液の局所刺激に起因するものであり、中性 pH で分解するようにデザインされている臨床製剤（DMF マイクロ錠製剤）を反映した変化ではない。さらに、前胃はげっ歯類に特有の組織である。このため、DMF の経口用懸濁液によるげっ歯類における刺激は、ヒトに関連するとは考えられない。

表 45 DMF 経口投与ラットがん原性試験における胃の腫瘍性及び非腫瘍性病変

性別	雄					雌				
DMF 投与量（mg/kg/日）	0	25	50	100	150	0	25	50	100	150
評価動物数	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
非腫瘍性病変										
腺胃　変性	3	8	20	18	21	0	4	1	8	14
腺胃　慢性炎症	1	2	5	18	13	0	0	0	0	2
腺胃　鉱質沈着	5	4	15	15	24	0	3	2	6	11
前胃　慢性活動性炎症	3	11	24	48	51	4	8	13	40	55
前胃　びらん	1	1	3	12	14	2	1	0	1	0
前胃　角化亢進	2	69	75	75	75	6	63	74	75	75
前胃　潰瘍	0	1	0	4	15	1	0	1	0	1
前胃　扁平上皮嚢胞	2	9	28	53	64	1	0	11	45	62
前胃　扁平上皮細胞過形成	3	71	75	75	75	7	73	74	75	75
腫瘍性病変										
扁平上皮細胞乳頭腫（R）[a]	0	22[b]	24[b]	46[b]	49[b]	0	11[b]	21[b]	31[b]	24[b]
扁平上皮細胞癌（R）[a]	0	5[b]	18[b]	51[b]	58[b]	0	1	4	30[b]	48[b]
扁平上皮乳頭腫／癌合算（R）[a]	0	22[b]	34[b]	68[b]	70[b]	0	11[b]	23[b]	48[b]	58[b]

Data source：[M4.2.3.4.1-2] P00012-04-11-Appendix 14-Table 5.2.1, text-Table 9
試験対照から求めた癌の自然発生率：(R) まれな腫瘍 ＜1%、(C) よくみられる腫瘍 ≥1%
統計学的に有意：まれな腫瘍　$p \leq 0.025$ (trend test)、$p \leq 0.05$ (pairwise)
よくみられる腫瘍　$p \leq 0.005$ (trend test)、$p \leq 0.01$ (pairwise)
[a] 雄及び雌：乳頭腫、癌及び乳頭腫／癌合算発生率は陽性（trend test）であった。
[b] pairwise 比較により対照群に対して統計学的に有意であった。

雄では、100 及び 150 mg/kg/日の用量で精巣間細胞（ライディヒ細胞）過形成の発現率及び程度の増加並びに間細胞腺腫の発現率増加が観察された（表 46）。100 及び 150 mg/kg/日では、精巣細管上皮の変性及び萎縮も観察された。げっ歯類は、ヒト及び他の動物種に比べて、間細胞腫を発生しやすい。このげっ歯類固有の感受性は、ラットの間細胞における黄体形成ホルモン（LH）受容体の過多や、テストステロンレベルの低下による視床下部-下垂体-性腺軸における負のフィードバック機構を介した LH の産生過剰によって、LH 刺激の小さな変化に対する感受性が高まる機序を介したものである。LH 経路の過剰な活性化はラットに間細胞腫瘍を発生させることが観察されているが、ヒトはラットと比べて LH 活性の変動に対する感受性が低いと考えられる（Cook et al., 1999）。ラットでは多数の環境要因、食物及び医薬品がアンドロゲンシグナリングを低下させ、間細胞の増殖性病変を発生させることが認められているが、ヒトでは認められていない。エタノール、乳糖、鉛及びニコチン等の食餌及び環境化合物はラット試験で間細胞腫瘍を発生させることが観察されているが、ヒトでは観察されていない。精巣間細胞腫瘍はまれ（0.00004%）であり、ほとんどの場合、良性であり、性索間質細胞に由来する（Cook et al., 1999、Clegg et al., 1997）。ま

た、精巣の変化は、特に雄生殖器系への影響に焦点を合わせた雄のみの幼若動物毒性試験では認められなかった。雄ラット雄授胎能試験では、最高用量の 375 mg/kg/日まで雄授胎能に対する影響は認められなかった。ラット出生前・出生後発生試験では、DMF は母動物の体重減少、胎児発育及び雄性成熟の遅延に関連したが、F1 出生児の受胎能には影響が認められなかった。幼若ラット試験では、140 mg/kg/日まで F1 幼若ラットの授胎能に対する影響は認められなかった。したがって、これらの精巣の変化はヒトでのリスクが低いと考えられた。

表 46 DMF 経口投与ラットがん原性試験における精巣の腫瘍性及び非腫瘍性病変

DMF 投与量（mg/kg/日）	0	25	50	100	150
評価動物数	75	75	75	75	75
非腫瘍性病変					
間細胞過形成	0	2	2	6	10
胚上皮萎縮／変性	8	8	6	20	15
腫瘍性病変					
間細胞腺腫（C） *a	3	3	2	9[b]	19[b]
Data source：[M4.2.3.4.1-2] P00012-04-11- text-Table 9 試験対照から求めた癌の自然発生率：(R) まれな腫瘍 ＜1%、(C) よくみられる腫瘍 ≥1% 統計学的に有意：まれな腫瘍 $p \leq 0.025$ (trend test)、$p \leq 0.05$ (pairwise) よくみられる腫瘍 $p \leq 0.005$ (trend test)、$p \leq 0.01$ (pairwise) [a] 雄：間細胞 腺腫発生率は陽性（trend test）であった。 [b] pairwise 比較により対照群に対して統計学的に有意であった。					

表 47 Sprague-Dawley ラットにおける精巣腫瘍発生率の背景対照値

精巣腫瘍	試験数	発生数/N	%腫瘍発生率
間細胞腺腫（良性）	30	52/2145	2.42
間細胞癌（悪性）	30	5/2145	0.23
Data source：[M4.2.3.4.1-2] P00012-04-11-Appendix 15-Giknis and Clifford (2004). Compilation of spontaneous neoplastic lesions and survival in Crl:CD®(SD) rats from control groups.			

100 又は 150 mg/kg/日では、雄に低発現率の尿細管腺腫、並びに雌において低発現率の尿細管腺腫及び癌が観察された（表 48）。

試験報告書の最終化後、PWG で腎臓の増殖性変化は再評価された。加齢性腎症の用量依存性の悪化は、被験物質を投与された雌雄の腎臓に観察され、被験物質を投与された動物の特に雄の最も多い死因であった（表 48）。100 又は 150 mg/kg/日の尿細管腫瘍の一部は化学物質によるものではなく、形態的に腎尿細管腺腫及び癌とは異なるラットにおける自然発生性腎腫瘍である両染性空胞性尿細管腫瘍と分類された。また、150 mg/kg/日群の雌における癌の 1 つは、原発性腎腫瘍ではなく（腎外性由来の）転移性癌であると判断された。低頻度の腎尿細管腺腫が 50 及び 100 mg/kg/日群の雄に観察され、低頻度の腎尿細管腺腫又は癌が 100 及び 150 mg/kg/日群の雌に観察された。本試験における腎腫瘍の唯一の統計学的有意差は、雌の腎尿細管腺腫及び癌を合算した頻度の用量依存性傾向であった。DMF 投与ラットにおける腎尿細管の増殖性変化の発生頻度の増加は CPN の重症度の増加と密接に関連し、腎腫瘍のあるラットの CPN の重症度が最も高かった。がん原性試験では、対照群も含めてほとんどすべてのラットが腎症を発現した。ラットの 6 ヵ月毒性試験

及び 2 年間がん原性試験の評価結果から、対照群と比較して腎症の発現率及び程度の用量依存的な増加が投与群に観察された（表 48、表 49）。PWG は、変性、壊死又は有糸分裂細胞の増加が認められず、ラットの尿細管に DMF の細胞毒性は認められないと判断した。これらのデータは、DMF の反復長期投与後のラットにおける加齢性腎症の悪化を示すものである。腎症は、多巣性の尿細管上皮好塩基性変化、尿細管又は糸球体基底膜の肥厚、硝子円柱を伴う場合のある尿細管拡張、間質の線維化及び多発性亜急性炎症（リンパ球及び形質細胞を主とする）を特徴とする。全 DMF 投与群における過形成の増殖性変化、雄の 50 mg/kg/日以上の群及び雌の 150 mg/kg/日群における腺腫、並びに雌の 100 mg/kg/日以上の群における癌は、本試験ラットにおける加齢性腎症の DMF を介した悪化によるものであった。加齢性腎症はげっ歯類に特異的であるため、ヒトにこの機序により同様の尿細管の腫瘍性変化が発生する可能性は低い。

表 48　DMF 経口投与ラットがん原性試験における腎臓の腫瘍性及び非腫瘍性病変

性別	雄					雌				
DMF 投与量（mg/kg/日）	0	25	50	100	150	0	25	50	100	150
評価動物数	75	75	75	75	75	75	75	75	75	75
非腫瘍性病変										
腎症　発現例数；	68	75	75	75	75	49	55	68	69	73
程度平均スコア [a]	2.04	2.71	3.16	3.52	3.53	0.95	1.32	1.84	2.44	3.24
過形成　発現例数；	0	5	5	15	11	0	0	4	4	9
程度平均スコア [a]	0.00	0.11	0.13	0.44	0.35	0.00	0.00	0.11	0.05	0.21
腫瘍性病変										
尿細管腺腫（R）	0	0	1	1	0	0	0	0	0	2
尿細管癌（R）	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2[b]
尿細管腺腫／癌合算（R）	0	0	1	1	0	0	0	0	1	3[b,c]
Data source：[M4.2.3.4.1-2] P00012-04-11-Appendix 13-Section 2, Final Report Amendment No. 2, p. 10 試験対照から求めた癌の自然発生率：(R) まれな腫瘍 ＜1% [a] 各投与群の平均スコアは、程度：0=なし、1=軽微、1=軽度、2=中等度、4=重度に基づいて求めた。 [b]150 mg/kg/日の雌 1 例は腺腫／癌合算発生例であった。 [c] pairwise/trend test 比較により対照群に対して統計学的に有意であった［まれな腫瘍　$p \leq 0.025$ (trend test)、$p \leq 0.05$ (pairwise)］。										

表 49　6 ヵ月間 DMF 経口投与ラット毒性試験における腎症の程度別発現率

性別	雄				雌			
DMF 投与量（mg/kg/日）	0	25	100	200	0	25	75	200
評価動物数	15	15	14	15	15	15	15	15
腎症（合計）	8	10	14	15	7	6	8	9
軽微	7	9	5	5	7	6	7	8
軽度	1	1	8	5	0	0	1	1
中等度	0	0	1	5	0	0	0	0
Data source：[M4.2.3.2-4] P00012-04-06-APPENDIX P-SECTION II (2.6.6.3.2.2 項ラットを用いた DMF の 6 ヵ月間強制経口投与毒性試験-表 16)								

腎臓の病理変化と関連して、上皮小体の過形成の発現率の用量依存性の増加が雌雄に観察され、上皮小体腺腫が 50 mg/kg/日及び 150 mg/kg/日群のそれぞれ雄 1 例及び 3 例に観察された（表 50）。腎不全は二次性上皮小体機能亢進症の最もよくみられる原因であり、上皮小体機能亢進症は腎不全によって誘導される高リン酸血症に起因する（Silver et al., 1997）。高リン酸血症は低カルシウム

血症を引き起こし、低カルシウム血症は上皮小体ホルモン作用及び上皮小体の過形成又は腫瘍発生の証拠となる上皮小体の機能亢進を引き起こす。観察された少数の腺腫は統計学的に有意ではなかった。腺腫の発生率は、試験動物供給者から公表されている Sprague Dawley ラット腫瘍の背景対照データの範囲内であった（表 51）。

表 50 DMF を用いたラットがん原性試験における上皮小体非腫瘍性及び腫瘍性病変

性別	雄					雌				
DMF 投与量（mg/kg/日）	0	25	50	100	150	0	25	50	100	150
評価動物数	68	64	70	71	70	65	68	65	67	68
非腫瘍性病変										
過形成	9	16	32	42	48	0	4	5	11	22
腫瘍性病変										
腺腫（R）	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0
Data source：[M4.2.3.4.1-2] P00012-04-11-Appendix 13-Section 1 Project Summary Tables 試験対照から求めた腫瘍の自然発生率：(R) まれな腫瘍 ＜1%、(C) よくみられる腫瘍 ≥1% 統計学的に有意：まれな腫瘍 $p \leq 0.025$ (trend test)、$p \leq 0.05$ (pairwise) よくみられる腫瘍 $p \leq 0.005$ (trend test)、$p \leq 0.01$ (pairwise) 上皮小体腺腫の発現は統計学的に有意ではなかった。										

表 51 Sprague-Dawley ラットにおける上皮小体腫瘍の発生率の背景対照データ

腫瘍	雄			雌		
	試験数	発生数/N	%腫瘍発生率	試験数	発生数/N	%腫瘍発生率
腺腫	30	42/2138	1.96	31	25/2329	1.07
Data source : [M4.2.3.4.1-2] P00012-04-11-Appendix 15-Giknis and Clifford (2004). Compilation of spontaneous neoplastic lesions and survival in Crl:CD®(SD) rats from control groups.						

経口投与後 DMF は急速に一次活性代謝物である MMF に変換され測定可能ではないため、TK プロファイル評価は、MMF を測定して行った（表 52）。経口投与後、MMF は急速に 0.5 時間までに t_{max} に達し、$t_{1/2}$ は 0.43～1.03 時間であった。全般的に、全身曝露量は雄よりも雌でわずかに高く、投与 6 ヵ月後に蓄積は観察されなかった。ラットにおける増殖性変化の最低用量である 25 mg/kg の DMF 経口投与後、投与 180 日目の MMF の全身曝露量（AUC_{last}）は雄 4.0 及び雌 7.4 µg·h/mL であった。

表 52 DMF 経口投与ラットがん原性試験における MMF のトキシコキネティック（TK）プロファイル

投与量（mg/kg）	測定日	雄				雌			
		$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{last} (μg·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{last} (μg·h/mL)
25	1	0.52	0.25	4.5	3.2	0.87	0.25	5.5	3.3
	90	0.78	0.25	3.1	1.8	0.43	0.25	5.6	3.1
	180	0.78	0.25	3.3	4.0	0.57	0.25	11.3	7.4
50	1	0.78	0.25	9.2	7.5	0.52	0.25	10.0	8.6
	90	0.90	0.25	3.4	4.3	0.48	0.50	8.3	7.5
	180	0.82	0.25	8.2	8.7	0.47	0.25	18.2	16.6
100	1	0.70	0.50	20.1	20.1	0.58	0.25	21.4	22.1
	90	0.88	0.50	7.3	7.5	0.68	0.25	11.2	14.7
	180	0.93	0.50	10.6	11.9	0.78	0.50	24.2	22.9
150	1	0.87	0.50	29.3	33.0	1.03	0.25	31.0	33.7
	90	0.88	0.25	25.6	19.1	0.62	0.50	17.5	23.1
	180	0.87	0.25	51.2	30.8	0.92	0.25	37.8	37.6
Data source：[M4.2.3.4.1-2] P00012-04-11-Appendix 19-Table 4									

結論として、DMF（25、50、100 及び 150 mg/kg/日）の経口投与によるラット 2 年間がん原性試験における腫瘍性変化は、前胃、腎臓、精巣及び上皮小体に観察された。前胃の腫瘍性及び非腫瘍性の変化は、解剖学的差及び強制経口投与に使用された懸濁液製剤によるげっ歯類に特異的な局所刺激に起因するものと考えられた。腎臓の増殖性変化は、げっ歯類に特異的な加齢性腎症の悪化に起因するものであった。上皮小体の増殖性変化は、ラットの腎臓における変化に起因するものと考えられた。精巣間細胞の過形成及び腺腫はラットに特異的なものと考えられた。これらの病理変化は、ヒトに腫瘍が発生するリスクが低い可能性を示す。ラットに増殖性変化を示す用量である 25 mg/kg の DMF 投与後の MMF の全身曝露量は、臨床用量である 240 mg/回又は 480 mg/日（[M5.3.3.2-1] 試験番号 109MS101）投与後のヒトにおける MMF 全身曝露量よりも低かった。ラットに投与に関連した腫瘍が観察されない用量である 100 mg/kg 投与後の全身曝露量は、ヒトにおける臨床用量での MMF 曝露量よりも約 2 倍高かった。体重換算すると、25 mg/kg の投与量は、体重 60 kg のヒトの投与量（8 mg/kg）の約 3 倍である。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験（トキシコキネティクスを含む）

ラット及びウサギにおける ICH ガイドラインに準拠した試験デザインで DMF の生殖発生毒性試験を実施した（M3、S5A 医薬品の生殖毒性試験及び S5B 医薬品の生殖毒性試験の雄の受胎能に関する付記）。雄の授胎能及び雌の受胎能に関する試験、ラット及びウサギにおける胚・胎児試験、及びラットにおける出生前及び出生後発生試験を実施した。妊娠ラット及びウサギにおける胚・胎児発生試験からのデータを用量設定に利用したため、DMF を用いた妊娠動物における用量設定試験は行わなかった。試験は GLP 適用で実施した。試験デザインの要約を表 53 に示し、DMF に関連した所見の安全域を表 1 に示した。

表 53 DMF で実施された生殖発生毒性試験

試験番号	タイトル ［試験の種類］	動物種及び系統、動物数、雄/雌	投与量（mg/kg） 投与方法	投与期間
P00012-04-03 2.6.6.6.1 項	ラットにおける雄授胎能及び一般生殖能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験 ［雄授胎能］	ラット/Sprague Dawley 雄 25/群、雌 25（非投与）/群	0, 75, 250, 375 強制経口	70 日間＋同居期間
P00012-10-01 2.6.6.6.2 項	ラットにおける雌受胎能及び一般生殖能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験 ［雌受胎能］	ラット/Sprague Dawley 雄 25（非投与）/群、雌 25/群	0, 25, 100, 250 強制経口	同居期間：妊娠前 ＋ DG7 までの 21 日間
P00012-06-02 2.6.6.6.3 項	ラットにおける発生に関するフマル酸ジメチル（DMF）強制経口投与毒性試験 ［胚・胎児発生］	ラット/Sprague Dawley 妊娠雌動物 25/群 ＋TK 妊娠雌動物 6/投与群	0, 25, 100, 250 強制経口	DG7～DG17 （11 日間）
P00012-06-01 2.6.6.6.4 項	ウサギにおける発生に関するフマル酸ジメチル（DMF）経口（胃管）投与毒性試験 ［胚・胎児発生］	ウサギ/ New Zealand White (NZW) 妊娠雌動物 20/群 ＋TK 妊娠雌動物 3/群	0, 25, 75, 150 強制経口	DG7～DG19 （13 日間）
P00012-09-02 2.6.6.6.5 項	BG00012：ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに出生後の行動･機能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験 ［出生前及び出生後の発生］	ラット/Sprague Dawley 妊娠雌動物 25/群	0, 25, 100, 250 強制経口	DG7～DL20 （35 日間）
DG：妊娠日齢、TK：トキシコキネティクス、DL：授乳日齢				

2.6.6.6.1 ラットにおける雄授胎能及び一般生殖能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験（試験番号 P00012-04-03）

記載箇所： [M4.2.3.5.1-1] P00012-04-03

本試験では､1 日 1 回 14 週間強制経口投与したときの雄ラットの授胎能及び繁殖能に対する DMF の影響を検討した（[M2.6.7.12A]参照）。本試験は、ICH ガイドラインの生殖発生過程 A（成熟雄ラット生殖機能、交尾行動及び授精）及び B（父動物を介した影響）を評価し、雄ラットの生殖器官の組織学的検査では検出されない可能性がある機能的影響（性欲又は精巣上体精子成熟に対する影響等）を検出するために計画された。

Crl:CD®(SD)IGS BR VAF/Plus®ラットの雄 100 例及び雌 100 例を、雄 25/雌 25/群で 4 群に割り付けた。表 54 及び図 1 に概略を示したように、DMF 又は溶媒 0.8%（w/v）HPMC/RODI 水は、雄ラットに同居前の 70 日間、14 日間の同居期間及び剖検前日まで、0（溶媒）、75、250 及び 375 mg/kg/日の用量で投与した。本試験では、雌には投与しなかった。

表 54 試験番号 P00012-04-03 の試験デザイン

群番号	投与量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）	動物数（雌：雄[a]）
1	0（溶媒）	0	10	25：25
2	75	7.5	10	25：25
3	250	25	10	25：25
4	375	37.5	10	25：25

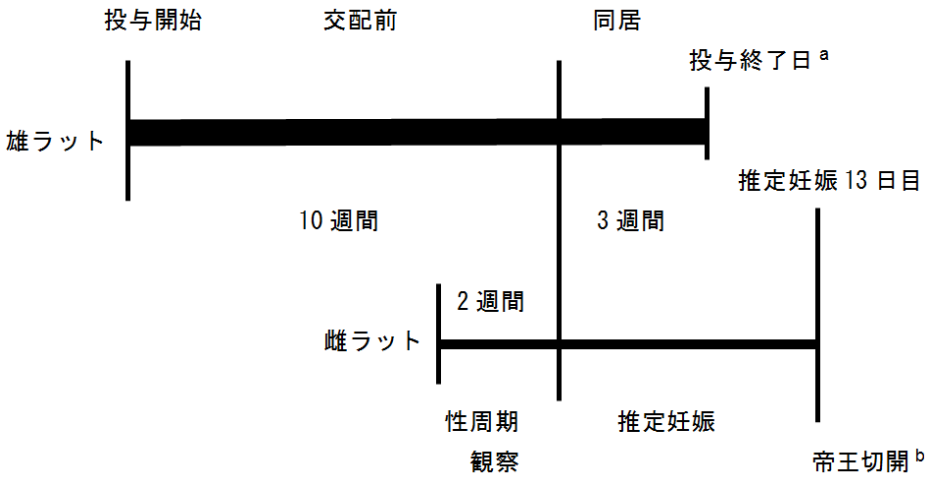
Data source：[M4.2.3.5.1-1] P00012-04-03-text-DESCRIPTION OF TEST PROCEDURES-Methods
[a] 雄のみに被験物質又は溶媒を投与した。

本試験に使用した用量は、ラットにおける 3 ヵ月間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2.1 項、試験番号 P00012-04-01）の結果を考慮して設定された。この試験では、250 mg/kg/日の投与量は、強制投与に抵抗して赤色を帯びた唾液を示した一部の動物に体重増加を約 10%抑制した。このため、75 mg/kg/日を低用量として選択した。ラットの 3 ヵ月試験で 500 mg/kg/日の用量に忍容性が認められなかったことを考慮して、中用量及び高用量は低用量の倍数とした。

一般状態、体重、摂餌量、性周期、交尾及び交尾行為、帝王切開パラメーター（推定妊娠 13 日目）、剖検、精子検査、腎臓、膵臓、胃、精巣上体、前立腺及び精嚢の器官重量及び病理組織学的検査により動物を評価した。腎臓、膵臓及び胃は、ラット DMF 反復投与毒性試験でこれらの臓器に DMF による変化が観察されたため、病理組織学的検査に含めた。

雄動物の交尾及び授胎能は被験物質による影響を受けなかった。投与群間で、同居期間中、交尾動物数、受胎率（妊娠動物数/交尾動物数）又は妊娠動物数/同居動物数の割合に、統計学的に有意又は生物学的に意義のある差は認められなかった。投与しなかった雌では、黄体、着床、同腹出生児数、生存胚数又は死亡胚数、死亡胚がみられた母動物数に統計学的及び生物学的に意義のある差は認められなかった。胎児はすべて生存していた。375 mg/kg/日以外のすべての被験物質群で精子数に影響は認められず、精子の運動性は正常範囲内にあった。375 mg/kg/日投与は非運動性精子数に統計学的に有意（$p \leq 0.05$）な増加が認められたが、運動精子率及び受胎率に影響しないことから生物学的意義はないとは判断された。

図 1　試験番号 P00012-04-03 の試験概略図



Data source：[M4.2.3.5.1-1] P00012-04-03-Appendix D-ATTACHMENT 1
[a] 雄は剖検し、精子検査を行った。
[b] 雌は帝王切開して黄体数、着床数及び生存胚並びに吸収胚を観察した。

250 及び 375 mg/kg/日群で、最終体重が有意に減少した。75 mg/kg/日以上の群で、両側腎臓重量及び胃重量及び最終体重比は有意に増加した。膵臓重量は、75 mg/kg/日投与群で有意に増加、250 及び 375 mg/kg/日群で増加し、最終体重比は 75 mg/kg/日以上の群で有意に増加した。右及び左精巣重量は、375 mg/kg/日群で有意に増加し、これらの器官重量の最終体重比は 250 及び 375 mg/kg/日群で有意に増加した。

左精巣上体尾部の絶対重量は 375 mg/kg/日群で有意に減少し、右精巣上体の絶対重量は 250 及び 375 mg/kg/群で有意に減少した。左右精巣上体重量の最終体重比は、375 mg/kg/日群で有意に増加し、左精巣上体重量も 250 mg/kg/日群で有意に増加した。精嚢液の有無にかかわらず精嚢重量の最終体重比は、375 mg/kg/日群で有意に増加した。

75 mg/kg/日以上の群のすべての雄で、胃底部に肥厚領域が観察された。膵臓リンパ節の腫大が、0、75、250 及び 375 mg/kg/日群でそれぞれ 0、2、25 及び 24 例の雄に認められ、250 及び 375 mg/kg/日群では統計学的に有意であった。

投与に関連した病理組織学的変化は、全 DMF 投与群の雄の前胃、腎臓及び精巣並びに 250 及び 375 mg/kg/日群の腺胃に認められた。最もよくみられた変化は、過形成及び角化亢進に起因する前胃粘膜扁平上皮の肥厚であった。前胃における投与に関連したその他の変化として、粘膜上皮表層及び角化層の微小膿瘍・壊死・空胞変性、潰瘍及び多細胞性炎症が認められた。

扁平上皮細胞癌が、75 mg/kg/日群の 1 例、250 及び 375 mg/kg/日群のそれぞれ 5 例に観察された。これらの病変は、粘膜下組織に浸潤した限局性内方増殖性高分化角化型扁平上皮増殖であった。さらに 375 mg/kg/日群に前胃粘膜の異型を伴う限局性過形成が観察され、375 mg/kg/日群の他の 1 例に扁平上皮乳頭腫が観察された。投与に関連した変化は腺胃にも観察され、250 及び 375 mg/kg/

日群の雄に表在・小窩上皮の過形成、腺過形成、多細胞性炎症及びびらんが認められた。

腎臓における投与に関連した主な病理組織学的変化は、皮質尿細管拡張、腎症、皮質尿細管上皮の核及び細胞肥大、皮質尿細管上皮の分節性再生及び皮質尿細管の硝子滴沈着の発現率又は程度の増加であった。硝子滴沈着を除いて、これらの変化の発現率及び程度は用量依存性であった。

低発現率の軽微から軽度の多巣性間細胞過形成が、全 DMF 投与群の雄の精巣に観察され、被験物質に関連すると考えられた。被験物質のすべての投与量において、雄の精巣上体、前立腺、精嚢及び膵臓に投与に関連した変化は観察されなかった。他の病理組織学的変化が様々な臓器及び組織にいくつか観察されたが、自然発生的、偶発的又は投与による二次的（膵臓リンパ節）なものであり、被験物質とは関連しないと考えられた。

以上の結果から、雄ラットにおける一般毒性の無毒性量は 75 mg/kg/日未満と判断された。75 mg/kg/日以上の群で、一般状態の有害な変化、絶対摂餌量の低下、器官重量変化及び胃、腎臓及び精巣に有害な病理組織学的変化が認められた。

雄ラットの授胎能への影響は最高投与量まで認められなかったことから、雄ラットの生殖発生に関する無毒性量は 375 mg/kg/日と判断された。。

2.6.6.6.2 ラットにおける雌受胎能及び一般生殖能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験（試験番号 P00012-10-01）

記載箇所：[M4.2.3.5.1-2] P00012-10-01

本試験では、Crl:CD(SD)雌ラットにおける DMF の受胎能への影響を検討した。本試験は、ICH ガイドラインの生殖発生段階 A 及び B を評価し、雌ラットの性周期、卵管内輸送、着床及び着床前段階の胚発生への影響を検出する目的で計画された（[M2.6.7.12B]参照）。

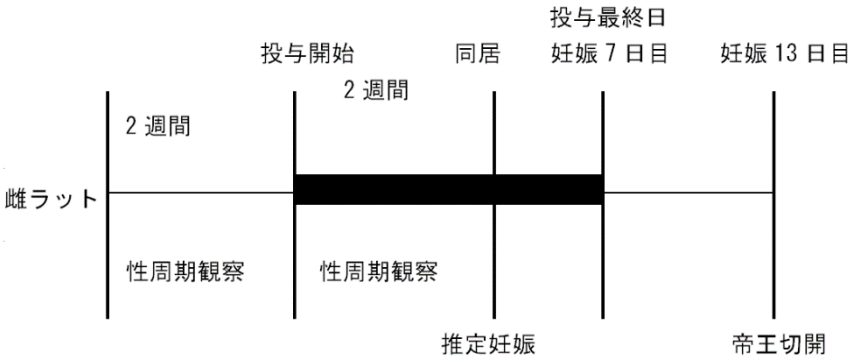
100 例の Crl:CD(SD)雌ラットを各群 25 例で 4 群（第 1 群から第 4 群、表 55 及び図 2）に無作為に割り付けた。被験物質として DMF 又は溶媒として 0.8% HPMC/RODI 水を 1 日 1 回、0（溶媒）、25、100 及び 250 mg/kg/日の用量、10 mL/kg の投与容量で同居 15 日前から（最長 21 日）推定妊娠期間の 7 日目（DG 7）まで連日投与した。用量は、先に実施されたラット胚・胎児発生試験（2.6.6.6.3 項、試験番号 P00012-06-02）を考慮して設定した。当該試験結果では、高用量は母動物毒性（体重減少）に関連したが死亡には関連せず、MTD の良好な推定値と考えられた 100 mg/kg の投与量は体重増加の抑制に関連したが死亡には関連せず、低用量（25 mg/kg）は忍容性が良好であった。

表 55　試験番号 P00012-10-01 の試験デザイン

群番号	投与量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）	雌動物数
1	0（溶媒）	0	10	25
2	25	2.5	10	25
3	100	10	10	25
4	250	25	10	25

Data source：[M4.2.3.5.1-2] P00012-10-01-text-DESCRIPTION OF TEST PROCEDURES-Methods

図 2　試験番号 P00012-10-01 の試験概略図



Data source：[M4.2.3.5.1-2] P00012-10-01-APPENDIX 1-ATTACHMENT 1
帝王切開時に妊娠の状態と子宮内容物を観察した。

すべての生存雌に対して DG13 に帝王切開を行い、胸部、腹部及び骨盤内臓器の剖検を行った。生死、一般状態、体重及び体重変化、性周期、交配、TK、剖検、黄体の数及び分布、着床部位及び子宮内容について評価した。

DMF への曝露は、投与最終日の DG7 の投与後約 30 分に各群 5 例の雌で確認した。血漿濃度は、同用量の DMF を使用した胚・胎児発生試験（2.6.6.6.3 項、試験番号 P00012-06-02）で観察された濃度と類似していた。

被験物質に関連した死亡は認められなかった。対照群の 1 例及び 250 mg/kg/日群の 2 例が計画剖検前に死亡した。これらの死亡は誤投与によるものであった。流涎、脱水、口周囲の赤色物質、被毛粗剛、鼻の有色性分泌物及び被毛粗剛が認められた動物が交配前投与期間の対照群と比較して、250 mg/kg/日群で有意に増加し、流涎、脱水及び被毛粗剛は、250 mg/kg/日群では妊娠期間まで有意に増加したままであった。さらに、100 mg/kg/日群の 3 例が流涎を示し、100 mg/kg/日群の 4 例に妊娠期間中、被毛粗剛が観察された。これらの変化は、被験物質に関連していると考えられ、ラットに本被験物質を使用した過去の試験から予測されるものであった。

250 mg/kg/日投与により交配前の体重減少及び体重増加抑制が認められた。体重増加は、25 及び 100 mg/kg/日群で有意に抑制され、250 mg/kg/日群では、投与 1 週目に対照群と比較して有意な体重減少が観察された。投与 2 週目で 25 mg/kg/日群に体重増加が認められ、100 及び 250 mg/kg/日群では体重の有意な増加が認められた（$P \leq 0.01$～0.05）。

交配前期間全体で、対照群、25 及び 100 mg/kg 群の体重増加は同等であったが、250 mg/kg/日投与群では、交配前期間全体（投与 1～15 日目）で対照群と比較して有意な体重減少（$P \leq 0.01$）が認められた。妊娠投与期間中の体重増加は投与群間で同等であった。100 及び 250 mg/kg/日群では、投与後期間及び妊娠投与期間全体で体重増加が対照群と比較して有意に亢進した。DG 3 から DG 15 まで 250 mg/kg/日群で体重が有意に減少した。

DMF の 250 mg/kg/日では、交配前期間中の絶対及び相対摂餌量が減少した。投与 1 週目の体重増加抑制又は体重減少に反映して、100 及び 250 mg/kg/日群に絶対及び相対摂餌量の有意な減少が認められた。これらの減少は 250 mg/kg/日群でのみ持続し、投与 2 週目（絶対摂餌量のみ）及び交配前期間全体で絶対及び相対摂餌量のいずれにも有意な減少が認められた。絶対及び相対摂餌量は、妊娠投与期間中は群間で同等であり、投与後期間及び妊娠期間全体で 100 mg/kg/日及び 250 mg/kg/日群に増加又は有意な増加が認められた。

14 日間当たりの性周期の回数は、投与開始前では 4 群間で同等であった。250 mg/kg/日群では、対照群と比較して、14 日間当たりの性周期の回数が有意に減少し、6 日間以上の発情休止期を示した例数が有意に増加した。その他すべての交配及び受胎パラメーターは、最高 250 mg/kg/日の投与量まで被験物質の投与による影響を受けなかった。

剖検では、胃の噴門の粘膜表面に多数の白色隆起部位を有する動物数及び胃壁の肥厚を有する動物数が 250 mg/kg/日群で対照群と比較して有意に増加した。被験物質に関連した他の剖検所見は報告されなかった。

妊娠は、対照群、25、100 及び 250 mg/kg/日群でそれぞれ 24 例（96%）、25 例（100%）、25 例（100%）及び 23 例（100% : 250 mg/kg/日投与群の 2 例のラットは交配前に死亡が確認された）に認められた。すべての動物に子宮及び胎児に投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果から、雌ラットにおける DMF の無毒性量は 100 mg/kg/日と判断された。250 mg/kg/日群に認められた体重、体重増加及び摂餌量の減少並びに一般状態の変化は、同投与量の雌での被験物質の有害な変化と一致した。

雌の生殖発生に関する無毒性量も 100 mg/kg/日と判断された。250 mg/kg/日投与群においては、14 日間当たりの性周期の回数の平均が有意に減少し、発情休止期の延長を示した例数が増加したが、これらの変化は受胎能又は発生した生存胚数に影響を与えなかった。

2.6.6.6.3 ラットにおける発生に関するフマル酸ジメチル強制経口投与毒性試験（試験番号 P00012-06-02）

記載箇所：[M4.2.3.5.2-1] P00012-06-02

本試験では、着床から硬口蓋閉鎖までの母動物の DMF への曝露による Crl:CD(SD)妊娠雌ラットにおける DMF の胚・胎児発生に対する影響を検討した（[M2.6.7.13A]参照）。本試験は、ICH ガイドラインの生殖発生段階 C 及び D を評価するために計画された。

100 例の交配済みの雌 Crl:CD(SD)ラットを各群 25 例で 4 群（第 1 群から第 4 群、表 56、図 3）に無作為に割り付けた。さらに、21 例の交配済みの雌を TK 用に第 1 群から第 4 群に無作為に割り付けた（第 1 群に 3 例、第 2 群から第 4 群に各 6 例ずつ）。被験物質として DMF 又は溶媒（0.8% HPMC/RODI 水）を主試験の第 1 群から第 4 群の 0、25、100 及び 250 mg/kg/日の用量で推定妊娠の 7 日目から 17 日目まで（DG 7 から DG17）1 日 1 回強制経口投与した。

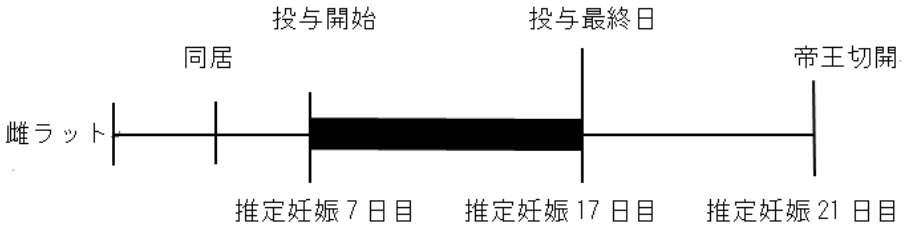
TK 用動物では、第 1 群は DG 7 から DG 17 まで 1 日 1 回、溶媒を投与し、第 2 群から第 4 群の動物は DG 7 から DG 18 まで 1 日 1 回、主試験と同じ用量で被験物質を投与した。10 mL/kg の投与容量で被験物質又は溶媒を 1 日 1 回、ほぼ同時刻に投与した。

表 56　試験番号 P00012-06-02 の試験デザイン

群番号	投与量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）	動物数
1	0　（溶媒）	0	10	25 + 3[a]
2	25	2.5	10	25 + 6[a]
3	100	10	10	25 + 6[a]
4	250	25	10	25 + 6[a]

Data source：[M4.2.3.5.2-1] P00012-06-02-text- DESCRIPTION OF TEST PROCEDURES-Methods
[a] トキシコキネティクス用サテライト動物

図 3　試験番号 P00012-06-02 の試験概略図



Data source：[M4.2.3.5.2-1] P00012-06-02-APPENDIX C-ATTACHMENT 1
帝王切開時に全胎児の外表、各母体当たり半数の胎児の内臓及び骨格を観察した。

本試験の用量は、先に実施されたラット Fumaderm 胚・胎児発生試験（試験番号 5037/1/88）結果に基づいて選択された。本試験の高用量 250 mg/kg/日は、ラットの MTD と同等又はそれに近いと推定されるため設定された。低用量及び中用量には、段階的な毒性反応が示されると期待される高用量の倍数が選択され、低用量の 25 mg/kg/日は毒性がみられた場合でも軽微と予想された。

一般状態の観察は投与前並びに投与初日の最初の 4 時間、1 時間おき及び終業時間に行った。その後の投与後の観察は投与後 2 時間以内に行った。一般状態の観察は、投与後期間でも 1 日 1 回行った。体重は、DG 0、投与期間中及び投与後期間中に 1 日 1 回測定した。摂餌量は DG 0、7、10、12、15、18 及び 21 に測定した。DG 7 及び 17 に、第 1 群の TK 用動物から投与後 15 分、30 分及び 1 時間後に採血した。第 2 群から第 4 群の TK 用動物からは、投与前及び投与後約 15 分、30 分、1 時間、3 時間及び 6 時間後に採血した。DG 18 に第 2 群から第 4 群の胎児から、投与後

30 分（± 3 分）に胎児血を採取した。DG 17（第 1 群）又は DG 18（第 2 群から第 4 群）に、TK 用動物を採血後に剖検し、妊娠状態を観察した。すべての主試験動物は、DG 21 に二酸化炭素による安楽死後、帝王切開を行い、胸部、腹部及び骨盤内臓器の剖検を行った。胎児は、体重を測定し、性別、外表、内臓及び骨格を観察した。

全動物が剖検計画日まで生存した。250 mg/kg/日群では、わずかな流涎を示す動物が有意に増加した。剖検では変化は認められなかった。体重は、100 mg/kg/日群の GD 11 から DG 19 まで及び 250 mg/kg/日群の GD 8 から DG 21 までそれぞれ有意に減少した。体重増加の有意な抑制が 100 及び 250 mg/kg/日群の投与期間全体（DG 7 から DG 18 までとして算出）で認められた。投与後期間（DG 18 から DG 21）の体重増加は群間で同等であり、投与及び投与後の全期間（GD 7 から DG 21）及び試験期間（GD 0 から DG 21）で、体重増加の有意な抑制が 250 mg/kg/日群にのみ認められた。

絶対及び相対摂餌量は、投与期間全体で 100 及び 250 mg/kg/日群で有意に減少した。胎児体重（合計、雄及び雌）は、250 mg/kg/日群で対照群と比較して有意に減少した。DMF は、250 mg/kg/日までの用量でその他の帝王切開又は胎児パラメーターに影響を与えなかった。

母動物の MMF 曝露は、25 mg/kg/日群では 1 日 1 回投与の 3 時間後まで、100 及び 250 mg/kg/日群では 1 日 1 回投与の少なくとも 6 時間後まで確認された（表 57）。投与期間中、25 及び 100 mg/kg 群では循環血中での MMF の明らかな蓄積は認められず、250 mg/kg/日群で極めてわずかな蓄積が観察された。曝露は、25 mg/kg から 100 mg/kg の範囲の用量では用量比例性をわずかに超え、100 mg/kg から 250 mg/kg の範囲の用量ではほぼ用量比例的な増加を示した。$t_{1/2}$ は反復投与で比較的一定しており、0.4 時間から 1.5 時間の範囲であり用量非依存的であった。MMF は胎盤を通過して胎児の血液に入り、胎児と母動物の血漿 MMF 濃度比は 0.48～0.64 の範囲であった。

表 57 Sprague Dawley ラットを用いた 1 日 1 回強制経口投与による推定妊娠 7 及び 17 日目における MMF のトキシコキネティクスパラメーター

投与量 (mg/kg)	試験日	AUC_{inf} (μg·h/mL)	AUC_{last}[a] (μg·h/mL)	C_{max} (μg/mL)	t_{max} (h)	$t_{1/2}$ (h)
25	7 日目	4.262	4.228	4.610	0.25	0.4
	17 日目	4.849	4.784	5.043	0.25	0.5
100	7 日目	28.836	28.652	21.167	0.5	0.8
	17 日目	29.947	29.925	27.800	0.25	0.6
250	7 日目	73.733	69.020	40.667	0.5	1.5
	17 日目	86.521	85.950	63.100	0.5	0.8

Data source：[M4.2.3.5.2-1] P00012-06-02-APPENDIX G-Table 3
[a] MMF 濃度が検出可能な最終測定時点は、25 mg/kg/日群で投与後 3 時間、100 及び 250 mg/kg/日群では投与後 6 時間であった。

変化を示した胎児及び同腹新生児の数は 250 mg/kg/日群で有意に増加し、母動物に毒性を示したこの用量（AUC 換算で 240 mg/kg のヒト臨床用量の約 11 倍）で認められた胎児体重の減少と関連した。被験物質に関連した奇形は認められなかった。統計学的に有意な変化の増加は特定の変化の発生率の増加によるものではなく、胎児体重の減少と関連した発達の遅延の全体的増加の結果

であった。この結果は、発生変異と考えられる骨化中足及び後肢指骨の骨化数の有意な減少にも反映されている。

100 mg/kg/日までの用量で DMF による胎児の外表、内臓又は骨格の奇形又は変化は認められなかった。同腹新生児又は胎児の外表、内臓又は骨格の奇形又は変化の発現率に用量依存性又は有意な差は認められなかった。骨格の平均骨化数は対照群、25 mg/kg/日及び 100 mg/kg/日群間で同等であった。

以上の結果から、母動物の無毒性量は 25 mg/kg/日と判断された（100 mg/kg/日及び 250 mg/kg/日では体重増加の抑制又は体重減少及び摂餌量の減少が認められ、250 mg/kg/日ではわずかな流涎も認められた）。胚・胎児発生に関する無毒性量は 100 mg/kg/日と判断された（250 mg/kg/日群で、胎児体重が減少し、変異を有する胎児の全体数が増加した）。100 mg/kg/日の用量における母動物の曝露量は、ヒトの臨床用量における曝露量より 4 倍高かった（臨床試験 109MS101）。以上の結果から、DMF はラットにおいて生殖発生毒性を示さないことが確認された。

2.6.6.6.4 ウサギにおける胚・胎児発生に関するフマル酸ジメチル（DMF）経口（胃管）投与毒性試験（試験番号 P00012-06-01）

記載箇所：[M4.2.3.5.2-2] P00012-06-01

本試験では、New Zealand White [Hra:(NZW)SPF]妊娠雌ウサギにおける着床から硬口蓋閉鎖までの DMF 曝露による胚・胎児発生に対する DMF の影響を検討した（[M2.6.7.13B]参照）。本試験は非げっ歯類における ICH ガイドライン生殖発生段階 C 及び D を評価するために計画された。

80 例の交配済みの雌 Hra:(NZW)SPF ウサギを各群 20 例で 4 群に無作為に割り付けた（第 1 群から第 4 群、表 58、図 4）。さらに、9 例の交配済みの雌ウサギを TK 用に第 2 群から第 4 群に各群 3 例ずつ無作為に割り付けた。被験物質として DMF 又は溶媒として 0.8% HPMC/RODI 水を主試験の第 1 群から第 4 群の 0（溶媒）、25、75 及び 150 mg/kg/日の用量で推定妊娠の 7 日目から 19 日目まで（DG 7 から DG19）1 日 1 回経口（胃管）投与した。TK 用動物は DG 7 から DG 20 まで 1 日 1 回被験物質を投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。被験物質を 1 日 1 回、ほぼ同時刻に投与した。

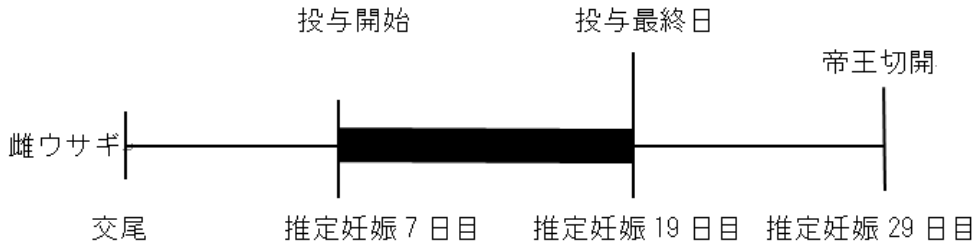
表 58 試験番号 P00012-06-01 の試験デザイン

群番号	投与量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）	動物数
1	0（溶媒）	0	10	20
2	25	2.5	10	20 + 3[a]
3	75	7.5	10	20 + 3[a]
4	150	15	10	20 + 3[a]

Data source：[M4.2.3.5.2-2] P00012-06-01-text- DESCRIPTION OF TEST PROCEDURES-Methods
[a] ウサギ 3 例はトキシコキネティクス用に割り当てた。

本試験の用量は、先に実施された Fumaderm ウサギ胚・胎児発生試験（試験番号 5038/1/88）結果に基づいて選択された。本試験の高用量 150 mg/kg/日は、ウサギにおける MTD と同等又はそれに近いと推定されたため選択された。低及び中用量には、段階的な反応が示されると予想される高用量の倍数が選択され、低用量の 25 mg/kg/日は毒性が軽微と予想された。

図 4 試験番号 P00012-06-01 の試験概略図



Data source：[M4.2.3.5.2-2] P00012-06-01-APPENDIX C-ATTACHMENT 1
帝王切開時に全胎児の外表、内臓及び骨格を観察した。

一般状態の観察は、投与前並びに投与の最初の 3 日間は最初の 4 時間（1 時間おき）及び終業時間に行った。その後の投与後の観察は、投与後 2 時間以内に行った。投与後期間では、1 日 1 回観察した。体重は、DG 0、試験施設へ受入れ時、さらに投与期間中及び投与期間終了後の期間に 1 日 1 回測定した。摂餌量は、試験施設への受入れ後、1 日 1 回測定した。DG 7 及び 19 に、TK 用動物から投与前、投与後 15 分、30 分、1 時間、3 時間及び 6 時間後に採血した。DG 19 に第 1 群の 3 例から投与後約 15 分、30 分及び 1 時間後に採血した。DG 20 に TK 用動物の胎児から投与の 30±5 分後に胎児血を採取した。

DG 20 に TK 用動物を剖検し妊娠状態を観察した。DG 29 に生存しているすべての主試験動物を剖検し、帝王切開を行い、胸部、腹部及び骨盤内臓器の剖検を行った。胎児は、体重を測定し、性別、外表、内臓及び骨格を観察した。

150 mg/kg/日群では、流産雌動物数（4 例）が有意に増加（$p \leq 0.01$）し（DG 19～DG 25）、当該動物は剖検を実施された。これらの流産は、最高投与群において発生し、投与期間中（DG 7～DG 20）の雌動物における体重及び摂餌量の有意な減少を伴っていたことから、DMF 投与に起因するものであった。その他すべての雌動物は剖検計画日まで生存した。150 mg/kg/日群において、排便減少を示す雌動物の数（15 例）が、有意に増加した。150 mg/kg/日群の 20 例の雌動物の 4 例に、統計学的に有意ではないが、主として投与期間後に発生した被毛粗剛が観察された。

平均体重は 150 mg/kg/日群で DG 14～DG 23 に有意に減少したが（$p \leq 0.01$～0.05）、25 及び 75 mg/kg/日群では統計学的に有意差は認められなかった。全投与期間（DG 7～DG 20 として算出）における体重増加は 75 mg/kg/日群で有意に抑制され（$p \leq 0.05$）、当該期間中 150 mg/kg/日群で体重の統計学的に有意な減少（$p \leq 0.01$）が認められた。投与期間終了後（DG 20～DG 29）では、150 mg/kg/日群で体重増加の統計学的に有意な（$p \leq 0.01$）亢進が認められた。

各投与群で 19～20 例が妊娠した。DMF 投与は、帝王切開パラメーター、胎児数、胎児の外表、内臓又は骨格の奇形又は変化に影響を与えなかった。胎児の骨化数の母動物当たりの平均値は群間で同等であった。

MMF 曝露は、25 mg/kg/日群では 1 日 1 回投与の 3 時間後まで、75 及び 150 mg/kg/日群では 1 日 1 回投与の 6 時間後までの母動物で確認された（表 59）。投与期間中、いずれの投与群でも、循環血中への MMF の明らかな蓄積は観察されなかった。曝露は、25 から 75 mg/kg/日の範囲の用量では用量比例性をわずかに超え、75 mg/kg から 150 mg/kg の範囲の用量ではほぼ用量比例性を示した。$t_{1/2}$ は反復投与で比較的一定しており、用量非依存的であった。$t_{1/2}$ は 0.4～1.0 時間の範囲内であった。本試験で、MMF が胎盤を通過して胎児の血液に入ることが示され、胎児と母動物の血漿 MMF 濃度比は約 0.1 であった。

表 59 推定妊娠ウサギへの 1 日 1 回強制経口投与による推定妊娠 7 及び 19 日目における MMF のトキシコキネティクスパラメーター

投与量 (mg/kg)	試験日		AUC_{inf} [b] (μg·h/mL)	AUC_{last} [a b] (μg·h/mL)	C_{max} [b] (μg/mL)	t_{max} [c] (h)	$t_{1/2}$ [b] (h)
25	7 日目	平均値	13.927	13.800	17.000	0.25	0.4
		標準偏差	3.187	3.042	2.689	(-)	0.1
	19 日目	平均値	11.477	11.022	16.667	0.25	0.5
		標準偏差	1.388	2.041	3.372	(-)	0.3
75	7 日目	平均値	58.483	58.384	56.533	0.50	0.6
		標準偏差	8.724	8.687	13.261	(0.25~0.50)	0.0
	19 日目	平均値	55.074	54.595	51.433	0.25	0.6
		標準偏差	10.785	11.177	8.488	(-)	0.1
150	7 日目	平均値	106.924	106.239	87.367	0.25	0.8
		標準偏差	4.262	4.637	20.404	(0.25~0.50)	0.2
	19 日目	平均値	128.201	126.255	106.333	0.25	0.9
		標準偏差	23.869	22.015	14.434	(0.25~0.50)	0.3

Data source：[M4.2.3.5.2-2] P00012-06-01-APPENDIX G-Table 2, Table 5
[a] MMF 濃度が検出可能な最終時点は、5 例の投与後 3 時間及び 1 例の 1 時間を除くほとんどの動物では投与後 6 時間であった。
[b] 平均値 ± 標準偏差
[c] 中央値（範囲）

以上の結果から、母動物における DMF の無毒性量は 25 mg/kg/日と判断された。75 及び 150 mg/kg/日で体重増加の抑制又は体重減少が認められ、150 mg/kg/日で摂餌量の減少及び流産も認められた。胚・胎児発生に関する無毒性量は 150 mg/kg/日と判断された（最高用量で影響が認められなかった）。150 mg/kg/日では、母動物の曝露量はヒトの臨床用量における曝露量より 16 倍高かった（[M5.3.3.2-1] 臨床試験番号 109MS101）。以上の結果から、DMF はウサギに発生毒性を示さないことが確認された。

2.6.6.6.5 ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに出生後の行動・機能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験（試験番号 P00012-09-02）

記載箇所：[M4.2.3.5.3-1] P00012-09-02

本試験では、Crl:CD(SD)雌ラット（F0 世代）における妊娠、出産、授乳及び母性行動に対する影響並びに着床から授乳及び離乳までの出生児（F1 世代）に対する DMF 投与の影響を検討した。本試験は、ICH ガイドラインの生殖発生段階 C から F を評価するために計画されたが、本評価は補助的な試験として実施したため、帝王切開により摘出した胎児の評価（段階 C 及び D）は行わなかった。本期間中の影響に起因する変化が遅れて発生する可能性があるため、F1 世代の性成熟まで観察を継続した（[M2.6.7.14]参照）。

100 例の交配済みの雌 Crl:CD(SD)ラットを各群 25 例で 4 群（第 1 群から第 4 群、表 60）に無作為に割り付けた。被験物質として DMF 懸濁液又は溶媒として 0.8%ヒドロキシメチルセルロース/RODI 水を 0、25、100 及び 250 mg/kg/日の用量で推定妊娠 7 日目（DG 7）から授乳 20 日目（DL 20）又は DG 24（新生児を出産しなかったラットの場合）まで 10 mL/kg の投与容量で 1 日 1 回強制経口投与した。本試験の用量は、ラットにおける発生毒性試験（2.6.6.6.3 項、試験番号 P00012-06-02）結果を考慮して選択した。

表 60 試験番号 P00012-09-02 の試験デザイン

群番号	投与量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）	雌動物数
1	0（溶媒）	0	10	25
2	25	2.5	10	25
3	100	10	10	25
4	250	25	10	25

Data source：[M4.2.3.5.3-1] P00012-09-02-text- DESCRIPTION OF TEST PROCEDURES-Methods

21 日間の出産後期間完了後、F0 世代の雌ラットを剖検した。着床部位数及び分布を観察した。DL 21 に、継続評価用に選択しなかったすべての新生児を剖検した。

F0 世代及び出生児では、生存率、一般状態、体重、体重変化、摂餌量、TK（DL 14 の 1 時点）、母性行動、出生児の一般状態、自然分娩及び剖検の評価を行った。

離乳時に、F1 世代 200 例（雌雄各 100 例；1 群当たり 25 例の雄新生児及び 25 例の雌新生児）を継続評価のため無作為に選択した。可能な限り、各新生児から少なくとも雌雄 1 例ずつ選択した。同居期間完了後、すべての生存雄ラットを剖検した。すべての生存雌ラットは DG 21 に帝王切開し、剖検した。

F1 世代では、生存率、一般状態、体重、体重変化、摂餌量、TK（TK 用の 5 例の母動物から出生した 1 例の雄及び 1 例の雌から DL 14 に 1 回採血）、離乳後の行動・機能検査（受動的回避行動試験、性成熟、水迷路試験、生殖能力）、剖検、黄体数及び分布、着床部位、子宮内容、一部の雄器

官重量並びに胎児の体重、性別及び外表を観察した。

DL 14 における 5 例の対照群母動物の TK 解析結果から、低用量群（25 mg/kg/日）の母動物の DL 14 における血中被験物質レベルに相当する被験物質レベルが示された。各群試料はそれぞれ異なる日付に採取された。調査の結果、DL 14 の対照投与液中に被験物質が含まれていた可能性が明らかとなった。この DL 14 に使用された投与液は、5 例の対照群雌動物への投与にのみ使用されたことが明らかとなった。本試験における無毒性量は 25 mg/kg/日と判断されたため、本試験における 5 例の対照群母動物への単回被験物質曝露は試験結果に影響を与えないと考えられる。

2.6.6.6.5.1 F0 母動物

すべての F0 世代は計画剖検日まで生存した。250 mg/kg/日群では、対照群と比較して、一般状態観察では、わずかな流涎、軽度の脱水及びラッセル音の発現率が（妊娠期間に 4 例及び授乳期間に 2 例）増加した。ラッセル音の正確な発現機序は不明であるが、胃に対する本薬の刺激に起因する可能性のほか、妊娠状態及び衰弱状態に伴う嗜好性の低下と関連した流涎とも関連した可能性がある。ラットの妊娠末期では肺容量が減少することが知られており（Faridy, 1981）、本試験でのみ認められたことから妊娠自体が原因だった可能性もある。

250 mg/kg/日群の妊娠期間中の体重は、妊娠 9 日目から 20 日目まで（DG 9～DG 20）対照群に比較して有意に減少した。250 mg/kg/日群の体重増加は、各期間及び全妊娠投与期間（DG 7～DG 20 として算出）で有意に減少した。250 mg/kg/日投与後、DG 7～DG 10 の期間に体重減少が観察された。100 mg/kg/日群で DG 7～DG 10 の期間に体重減少が観察されたが、これは母動物への投与の最初の 3 日間に相当する。DG 7～DG 20 の期間の全体的体重増加は減少したが、これは、DG 7～DG 10 の期間に観察された作用に関連していると考えられた。

250 mg/kg/日群の授乳期間中の体重は、授乳の 0 日目から 14 日目（DL 0～DL 14）に有意に減少していた。一方、100 及び 250 mg/kg/日群の体重増加は、DL 1～DL 4 及び授乳期間全体（DL1～DL21）で対照群よりも亢進した。

妊娠期間の摂餌量は 100 mg/kg/日群の DG7～DG10、DG10～DG12 及び DG7～DG20 で減少し、250 mg/kg/日群の DG7～DG20 の投与期間の全測定時点及び DG0～DG20 の全妊娠期間で減少した。

250 mg/kg/日群の出生児の体重は、分娩後 1 日目（PND 1）から PND 21 まで減少した。触診時の冷感が認められた新生児数は 250 mg/kg/日群では対照群に比較して増加した。

100 及び 250 mg/kg/日群の F0 母動物の剖検では、胃壁の肥厚、胃壁の白色化又は隆起した白色巣を有する例数が対照群と比較して有意に増加した。250 mg/kg/日群では、胃の噴門部粘膜表面にピンク色巣を有する例数が増加した。

2.6.6.6.5.2 F1 出生児

母動物への DMF 投与に関連した F1 世代の死亡はなかった。対照群、25、100、及び 250 mg/kg/

日群で、それぞれ合計 1、0、2 及び 1 例の F1 雄並びに 100 mg/kg/日群の 2 例の F1 雌が剖検計画日までに死亡した。F1 世代の雌雄におけるすべての一般状態及び剖検変化は、母動物への被験物質投与とは関連しないと考えられた。

250 mg/kg/日群の F1 雄の体重は、離乳から PND 120 まで減少した。当群の出生児は離乳前に他群より小さく、体重増加は離乳期間後 PND 22～PND 50 で最初に減少した。この期間後以降の体重増加は、同居前まで溶媒対照群と同等であった。

250 mg/kg/日群の F1 雌の体重は、離乳から PND 92 まで及び同居前で有意に減少した。当群の出生児は離乳前に他群より小さく、体重増加は離乳期間後 PND 22～PND 43 で最初に減少した。この期間後以降の体重増加は、全般的に、溶媒対照群と同等であった。全般的に、PND 22 から同居前までの体重増加は、いずれの投与群も溶媒対照群と同等であった。妊娠期間中の 250 mg/kg/日群における平均体重は、DG 0、7 及び 14 で 0 mg/kg/日（溶媒）群よりも有意に減少した。体重増加には、妊娠期間中、群間差は認められなかった。

250 mg/kg/日群における剖検前の最終体重は、対照群よりも有意に減少した。250 mg/kg/日群では、剖検前の最終体重減少及び離乳後の全般的な体重減少を反映して、両側精巣の絶対重量が対照群と比較して減少したが、相対重量は減少しなかった。

250 mg/kg/日までの用量の母動物への投与では、交配及び受胎能又はすべての帝王切開パラメーターに統計学的有意又は生物学的意義のある変化は認められなかった。胎児に剖検で認められた変化の発現は 1 例で用量非依存性であったため、母動物への DMF 投与には関連しないと考えられた。

250 mg/kg/日群では、F1 雌雄の離乳時の体重が有意に減少したことを反映して、包皮分離日が遅延した（溶媒対照群における 47.1 日から 49.7 日に遅延）。250 mg/kg/日群で性成熟に達した日の平均体重は、F1 雄で低く（対照群より 5%減少）、F1 雌で対照群より有意に（$p \leq 0.05$）低かった（7%）。

F1 雌雄では、受動的回避行動試験で評価された学習、短期記憶、長期記憶及び反応抑制に統計学的有意及び生物学的意義のある差は認められなかった。

水迷路試験では、250 mg/kg/日群の F1 雄の 1 及び 2 回目セッションにおける潜時は、対照群と比較して有意に増加した（表 61）。発育遅延の認められた 250 mg/kg/日の F1 雄に水迷路完了時間（潜時）の有意差が認められたが、母動物への影響によるものと判断された。これは、運動能力への依存性が少ない受動的回避行動試験に変化が認められなかったことから裏付けられた。母動物への影響からの二次的な影響が 250 mg/kg/日群の F1 雄の水迷路完了時間に認められたが、学習及び記憶には影響は認められなかった。同様の統計学的に有意な増加は、F1 雌には認められなかった。

表 61 母動物に DMF を経口投与した F1 雄ラット水迷路試験［平均潜時（秒）］

平均潜時[a]（秒）			
DMF 投与量（mg/kg/日）	セッション 1	セッション 2	差
0	10.5 ± 7.2	7.0 ± 3.8	3.6 ± 8.8

25	12.6 ± 10.9	8.6 ± 5.6	4.3 ± 11.6
100	12.2 ± 6.7	9.8 ± 5.8	1.8 ± 10.1
250	19.0 ± 12.8[b]	12.9 ± 7.8[b]	6.4 ± 13.6

Data source：[M4.2.3.5.3-1] P00012-09-02-Final Report Amendment No. 1-text-Table 1
[a] 潜時（秒）は試行完了時間
[b] $p \leq 0.01$
各セッション間は 15 秒あけ、ラットが 5 回連続した無誤試行の基準を達成するまで実施した。差はセッション 1 とセッション 2 の平均所要時間の差（学習時間）。2 つのセッションは 1 週間あけて実施された。

25 mg/kg/日以上の F1 雌ラットのセッション 2 で基準達成までの試行数に有意な増加（$p \leq 0.05$～$p \leq 0.01$）が認められた。エラー数に有意差は認められなかった。試験セッションを完了した試行数が対照群及び投薬群のセッション 2 で 2.4～3.3 減少した全群で（表 62）、記憶は同等であることが示された。投薬群における試行数は試験施設の背景対照値と同等であった。対照群のセッション2の目標達成の試行数は背景データ範囲の最小値であったことが対照群と DMF 群間の統計学的有意差の一因であった。

表 62 母動物に DMF を経口投与した F1 雌ラット水迷路試験（平均試行数）

DMF 投与量（mg/kg/日）	セッション 1	セッション 2	差
0	8.8 ± 2.5	5.5 ± 1.5	3.3 ± 3.0
25	9.2 ± 2.7	6.4 ± 1.9[a]	2.6 ± 3.3
100	10.9 ± 3.2	7.4 ± 3.3[b]	2.4 ± 4.5
250	10.1 ± 2.6	7.6 ± 3.1[b]	2.4 ± 4.4
背景対照値[c]	8.8 (7～11.2)	7.0 (5.4～9.3)	1.8 (1.6～5.8)

Data source：[M4.2.3.5.3-1] P00012-09-02-Final Report Amendment No. 1-text-Table 2
[a] $p \leq 0.05$
[b] $p \leq 0.01$
[c] 水迷路試験の試行数の背景対照平均値及び範囲
各セッション間は 15 秒あけ、ラットが 5 回連続した無誤試行の基準を達成するまで実施した。差はセッション 1 とセッション 2 の平均試行数の差。2 つのセッションは 1 週間あけて実施された。

F1 雌雄で評価された交配及び受胎能パラメーターに統計学的有意及び生物学的意義のある影響は認められなかった。同居日数、交尾動物数、受胎率（交配動物数当たりの妊娠動物数）、同居 1 及び 2 週目に交配日が確認された動物数並びに同居動物数当たりの妊娠動物数は、4 群間で同等で有意差は認められなかった。

以上の結果から、高用量群で体重増加抑制、摂餌量減少及び前胃に剖検変化が認められ、DMF の母動物における無毒性量は 25 mg/kg/日と判断された。250 mg/kg/日（AUC 換算でヒトの臨床用量の約 10 倍）では、一般状態の変化及び出生児の体重減少、F1 世代の雄に性成熟の遅延が認められ、出生児の生存能力及び発育における無毒性量は 100 mg/kg/日と判断された。これらの変化はこの用量で観察された母動物の毒性に関連していると考えられた。

2.6.6.6.6 幼若動物を用いた試験

幼若動物を用いた DMF の 2 つの毒性試験が実施された。最初の試験は、欧州 Pediatrics Commitment の一環として小児を対象とした臨床試験をサポートするために実施した。マウス、ラット及びイヌを用いた毒性試験（2.6.6.3.1.1 項、試験番号 P00012-04-02 ; 2.6.6.6.1 項、試験番号 P00012-04-03、2.6.6.5.2 項、試験番号 P00012-04-11、2.6.6.3.3.3 項、試験番号 P00012-05-05）における精巣及び精巣上体の変化が試験実施根拠とされたことから、雄幼若ラットのみで実施し、雄幼若ラットの成長及び発達に焦点をあてた。最初の試験は雄ラットのみで実施したため、2 番目の試験は雌雄ラットで実施し、DMF の成長、発達、生殖能及び神経毒性に対する影響の可能性を検討した。2 番目の試験は FDA による Postmarketing Requirement（PMR）（Approval Letter NDA 204063）に従って実施され、現在進行中である。これらの試験は GLP に準拠して実施された。試験デザインを表 63 に示し、関連する安全域を表 1 に示す。

表 63 幼若動物を用いた DMF の毒性試験

試験番号	タイトル ［試験の種類］	動物種及び系統、動物数、雄/雌	投与量（mg/kg） 投与方法	投与期間
P00012-12-02 2.6.6.6.6.1 項	BG00012：幼若ラットを用いた経口投与毒性試験	ラット/Sprague Dawley 雄 30/群+ TK 雄 27/群	0, 50, 140, 375 強制経口	PND 28～PND 92
P00012-14-02 2.6.6.6.6.2 項	幼若ラットを用いたフマル酸ジメチルの強制経口投与毒性試験	ラット/Sprague Dawley 雄 35/群、雌 35/群	0, 5, 15, 50, 140 強制経口	PND 28～PND 93

PND：出生後日数

2.6.6.6.6.1 幼若ラットにおける BG00012 の経口投与毒性試験（試験番号 P00012-12-02）

記載箇所：[M4.2.3.5.4-1] P00012-12-02

本試験の目的は、幼若ラットに 9 週間〔出生後日数（PND）28 から PND 90～92 まで〕強制経口投与したときの雄生殖器に対する DMF の毒性を評価すること及び 8 週間の回復期間終了時に認められた変化の可逆性を検討することであった（[M2.6.7.15A]参照）。また、幼若ラットの TK プロファイルも解析した。本試験は、欧州の Pediatric Investigation Plan に従って実施された。

雄のみの同腹児（8～10 例）を有する Sprague Dawley ラット母動物（28 例）を、本試験に雄幼若動物を割り当てるために用いた。母動物は離乳後の幼若動物の選別後に安楽死させた。雄幼若動物は、PND 28～PND 92 に DMF（3 用量群）又は溶媒対照（1 群）を 1 日 1 回強制経口投与された。投与量はラット出生前及び出生後試験（2.6.6.6.5 項、試験番号 P00012-09-02）、ラット胚・胎児発生試験（2.6.6.6.3 項、試験番号 P00012-06-02）及びラット雄授胎能試験（2.6.6.6.1 項、試験番号 P00012-04-03）に基づいて選択した。本試験デザインの概要を表 64 に示す。

表 64　試験番号 P00012-12-02 の試験デザイン

群番号	F1 世代雄新生児動物数				投与量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）
	サブセット 1（主試験）	サブセット 2（回復性試験）	サブセット 3（TK）	サブセット 4（TK）			
1	20	10	18	9	0（対照）	0	10
2	20	10	18	9	50	5	10
3	20	10	18	9	140	14	10
4	20	10	18	9	375	37.5	10

Data source：[M4.2.3.5.4-1] P00012-12-02-text-Table 3

TK 解析のため 2 つのサブセットに動物を割り当て、それぞれ PND 28 及び PND 91 に安楽死後採血した。主試験動物は PND 91/PND 92 に剖検し、8 週間の回復性試験動物は PND 147/PND 148 に剖検した。一般状態、体重、摂餌量、臨床病理（血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査）、包皮分離、TK、剖検、器官重量及び病理組織学的検査を評価した。

幼若雄ラットにおける MMF の全身血漿曝露量は、PND 28 及び PND 90 に 50～375 mg/kg/日投与で用量依存性に増加した（表 65）。Cmax 及び AUC の増加は、PND 28 では用量比例性であり、PND 90 では用量比例性を超えた。DMF の 9 週間の反復投与後、MMF は血漿中で蓄積しなかった。

表 65　DMF 経口投与による幼若雄ラットにおける MMF の血漿中曝露

投与量（mg/kg/日）	C_{max} (μg/mL)		AUC_{last} (μg·h/mL)		t_{max} (h)	
	PND 28	PND 90	PND 28	PND 90	PND 28	PND 90
50	11.9	6.19	9.78	7.85	0.25	0.50
140	30.3	21.2	30.5	23.3	0.50	0.25
375	74.2	104	77.3	111	0.50	0.50

Data source：[M4.2.3.5.4-1] P00012-12-02-Appendix 15-Table 2

DMF 投与に起因する死亡は認められなかった。一般状態の変化としては、140 mg/kg/日以上で認められた流涎、軽度の脱水、口周囲の赤色物質、被毛粗剛であった。375 mg/kg/日では有色性鼻漏の増加も認められた。

成長及び発達に関連した変化としては、全 DMF 投与群（50 mg/kg/日以上）で摂餌量の減少に起因した用量依存性の体重増加抑制が認められた。摂餌量は休薬期間に増加したが、体重は対照群に比較して 375 mg/kg/日群では休薬期間終了時まで低いままであった。摂餌量の減少及びその後の体重増加の抑制は以下に示す前胃の局所刺激性に関連している可能性があった。

また、375 mg/kg/日群では、発達の指標である包皮分離に統計学的に有意な遅延が認められた。これは、ラット出生前及び出生後試験（2.6.6.6.5 項、試験番号 P00012-09-02）の F1 世代で認められた遅延と一致した（表 66）。375 mg/kg/日における包皮分離の遅延は体重減少と関連し、ホルモンの影響ではなかった。

表 66 雄幼若ラットにおける性成熟（包皮分離日）

投与量（mg/kg/日）	包皮分離日 平均 ± 標準偏差 （出生後日数）	g/体重（溶媒対照からの%変化）
0	44.1 ± 1.8	225
50	44.3 ± 2.2	220 (-2.2%)
140	45.5 ± 2.6	219 (-2.7%)
375	47.3 ± 2.5*	196* (-12.9%)

Data source： [M4.2.3.5.4-1] P00012-12-02-text-Table 6
* $p \leq 0.05$

剖検時では、対照群に比べて、全 DMF 群でクレアチニン及びアルカリホスファターゼの減少が認められた。一部の DMF 投与動物では、刺激性があったことを示す胃の噴門及び胃底部に可逆性の隆起した白色巣が認められた。375 mg/kg/日では、膵リンパ節及び腎臓の腫大（蒼白及びわずかな拡張を伴う）も認められた。

生殖器及び副生殖器（精巣上体、精巣、下垂体、前立腺及び精嚢）に病理組織学的変化は認められなかった。

以上の結果から、雄幼若ラットにおける無毒性量は、摂餌量の減少に起因した体重増加抑制が認められたため、50 mg/kg/日未満と判断された。

雄幼若ラットの生殖に関する無毒性量は、雄生殖器官への有害な変化が認められなかったため、375 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.6.6.2 幼若ラットにおけるフマル酸ジメチル（DMF）の強制経口投与毒性試験（試験番号 P00012-14-02）

記載箇所：[M4.2.3.5.4-2] P00012-14-02

本試験の目的は、PND 28～PND 93 に長期経口投与したときの幼若雌雄ラットにおける発達、性成熟、生殖能及び神経毒性に対する DMF の有害な影響の可能性を検討することであった（[M2.6.7.15B]参照）。本試験では 56 日間の回復期間の評価も行った。また、MMF の TK プロファイルも解析した。本試験は FDA による PMR（Approval Letter NDA 204063）に従って実施された、試験デザインの概要を表 67 に示す。

表 67 試験番号 P00012-14-02 の試験デザイン

群番号	動物数 [a]		被験物質	投与量（mg/kg/日）	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）
	雄	雌				
1	35	35	溶媒	0	0	10
2	35 (36) [b]	35	DMF	5	0.5	10
3	35	35	DMF	15	1.5	10
4	35	35	DMF	50	5	10
5	35	35	DMF	140	14	10

Data source：[M4.2.3.5.4-2] P00012-14-02-
[a] 35/雌雄/群のうち 15/雌雄/群が主試験剖検（投与期間終了後）に割り当てられ、20/雌雄/群が回復性試

験剖検（休薬期間終了後）に割り当てられた。主試験剖検及び回復性試験剖検時に、10/雌雄/群は臨床病理、精子形成（雄のみ）、剖検、器官重量、病理組織学的検査及び神経組織学的検査を実施し、残りの動物には精子形成（雄のみ）、剖検及び器官重量測定を行った。
[b] 雄 1 例が PND 29 に瀕死状態で発見され、安楽死された。DMF 投与に関連しない早期終了のため、新たに 1 例が補充され、安楽死例のデータを報告書に記載した。

一般状態、体重、摂餌量、臨床病理（血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査）、PND 94 の TK パラメーター、性成熟（包皮分離及び膣開口）、短期（PND 83～PND 85）及び長期（PND 139～141）神経行動学的検査〔詳細な観察（FOB）、驚愕反応、運動量、学習及び記憶／Biel 型水迷路〕、眼科学的検査、生殖機能検査（性周期、交尾、PND 4 までの分娩観察及び精子形成）及び神経組織、骨密度測定及び長骨測定を含む病理組織学的検査並びに尿中ミクロアルブミン等の項目を評価した。

無処理交配日指定妊娠雌ラットから得らた新生児を 0、5、15、50 及び 140 mg/kg/日の 5 投与群に各群雌雄 35 例で割付けた。同腹児の偏りを避けるため同腹出生児は 1 群 1 例/雌雄で割り付けた。各群ラットは主試験及び回復性試験のサブセットに割付けられ、選択的検査項目が評価された。各試験サブセットの選択的評価項目を表 68 に示す。

表 68 主試験及び回復性試験サブセットの選択的検査項目

<table>
<tr><td colspan="4">動物数/群：35/雌雄</td></tr>
<tr><td colspan="4">一般状態
体重
摂餌量
性成熟（包皮分離及び膣開口）
TK：PND 93、6/雌雄</td></tr>
<tr><td colspan="2">サブセット I（主試験、15/雌雄）
主試験剖検： PND 94</td><td colspan="2">サブセット II（回復性試験、20/雌雄）
回復性試験剖検： 雌；PND 10、雄；雌剖検時</td></tr>
<tr><td colspan="2">神経行動学的検査（PND 83～85)
眼科学的検査（投与前、剖検前）</td><td colspan="2">神経行動学的検査（PND 139～141）
眼科学的検査（投与前、剖検前）</td></tr>
<tr><td>サブセット IA
（10/雌雄）</td><td>サブセット IB
（5/雌雄）</td><td>サブセット IIA
（10/雌雄）</td><td>サブセット IIB
（10/雌雄）</td></tr>
<tr><td>臨床病理
尿中ミクロアルブミン
精子形成（雄）
剖検
器官重量
病理組織学的検査
神経組織学的検査
骨密度</td><td>精子形成（雄）</td><td>臨床病理
尿中ミクロアルブミン
精子形成（雄）
剖検
器官重量
病理組織学的検査
神経組織学的検査
骨密度</td><td>精子形成（雄）
剖検 [a]
器官重量 [b]</td></tr>
</table>

[a] 頭蓋腔、胸腔、腹腔及び骨盤腔のみの剖検.
[b] 生殖器のみの器官重量

TK は PND 93 で評価した。幼若ラットにおける MMF の全身血漿曝露量は、5～140 mg/kg/日投与で、AUC が用量比例関係をわずかに上回る増加を示し、C_{max} が用量比例関係をわずかに下回る増

加を示した（表 69）。雌雄の全身曝露量の差は 2 倍を下回った。最大 MMF 血漿中濃度は雄 0.25～1.05 時間、雌 0.28～0.92 時間、消失 $t_{1/2}$ は雄 0.36～1.05 時間、雌 0.28～0.92 時間であり、全般的に DMF の用量に伴い増加した。

表 69　DMF 経口投与による幼若雌雄ラットにおける PND 93 での MMF 血漿曝露量

投与量（mg/kg/日）	性別	AUC_{last} (μg·h/mL)	C_{max}（μg/mL）	t_{max}（h）	$t_{1/2}$（h）
5	雄	0.672	0.946	0.25	0.36
	雌	0.968	1.70	0.25	0.28
15	雄	2.35	2.94	0.25	0.52
	雌	3.12	4.36	0.25	0.45
50	雄	9.02	8.21	0.25	0.69
	雌	11.9	13.5	0.25	0.41
140	雄	24.1	23.9	0.25	1.05
	雌	38.3	34.6	0.5	0.92

Data source：[M4.2.3.5.4-2] P00012-14-02-Appendix 9-Table 5

雌雄とも DMF 投与に関連した死亡は認められなかった。死亡状態で発見された又は瀕死状態で発見され安楽死されたラットは、対照群、5、15、50 及び 140 mg/kg/日でそれぞれ、2、2、1、1 及び 2 例であった。そのうち対照群 2 例、50 mg/kg/日群 1 例及び 140 mg/kg/日群 1 例で誤投与の病理組織学的又は剖検変化が認められた。また、15 mg/kg/日群の雌 1 例で採血に関連することが示唆される一般状態の変化が認められた。死亡又は瀕死の状態で発見されたラットに用量依存性の一般状態及び肉眼的・病理組織学的変化は認められなかった。DMF を投与され、主試験剖検前に死亡状態で発見された雌全例の前胃に扁平上皮過形成が認められた。この所見は他の毒性試験の成熟ラットに認められた所見と類似している。

DMF 投与に関連した一般状態の変化として、全般的に PND 28～93 の投与期間全体で、口周囲の赤色物質が 50～140 mg/kg/日群の雌雄で投与後約 30 分に、流涎が 140 mg/kg/日群の雌雄で投与時及び投与後約 30 分に認められた。

140 mg/kg/日群雌雄の PND 28～PND 31 及び PND 31～PND 35 に DMF 投与に関連した平均体重増加の抑制が認められた。平均体重増加の抑制は、140 mg/kg/日群雄では全般的にその後の投与期間中、継続したが、140 mg/kg/日群雌では全般的にその後の投与期間中、対照群と同様であった。体重増加抑制と一致した摂餌量の減少が、投与期間中 140 mg/kg/日群雌雄に認められた。その結果、投与期間中、平均体重は対照群より雄で 8.4%及び雌で 6.1%減少した。雄の体重への影響は試験期間中継続して認められたが、雌の平均体重は PND 42 までに対照群と同等に回復した。そのほかには平均体重、体重増加又は摂餌量に DMF 投与に関連した変化は認められなかった。

DMF 投与に関連した F0 世代の眼科学的変化は認められなかった。

発達及び行動学的検査項目〔発達指標、詳細な観察（FOB）、驚愕反応、運動量、学習及び記憶／Biel 型水迷路〕に DMF 投与に関連した影響は認められなかった。本試験の神経行動学的検査で変

化が認められなかったことから、ラット出生前・出生後発生試験（2.6.6.6.5 項、試験番号 P00012-09-02）の水迷路試験結果は、体重減少からの二次的な影響又は水迷路試験結果のばらつきによるものであり、DMF 投与によるものではないことが裏付けられた。本幼若ラット試験の神経行動学的検査では先行試験より徹底的な評価が得られ、DMF 投与がラットに神経行動学的影響を及ぼさないことがさらに裏付けられた。

全 DMF 投与群で、交配、受精、交尾行動、受胎、妊娠期間、性周期、分娩過程及び精子形成（精子濃度、形態及び運動性）の生殖過程に影響は認められなかった（表 70）。全 DMF 投与群で受精、交尾行動及び受胎能に低値がみられ、雌ラットの交配時の週齢（約 21～22 週齢）での生殖老化に起因したことが示唆された。週齢に関連した雌生殖能の低下は、規則的な 4～5 日間の性周期が、典型的には正常な性周期を散発的に伴った性周期の延長がみられる異常な性周期に徐々に移行するときに起こる（Rubin, 2000）。性周期の延長の最もよくみられる特徴は、連続発情としても知られる膣垢の長期間の角化細胞像である（Rubin, 2000）。本試験では、非妊娠雌ラットの多くは多数の連続発情を伴った不規則な性周期を示した。

表 70　幼若ラットの生殖能

生殖能検査項目	投与量（mg/kg/日）					平均背景対照値 [a]（範囲）
	0	5	15	50	140	
雄交配指数（%）	100.0	84.2	95.0	73.7	73.7	96.8 (84.0～100.0)
雌交配指数（%）	100.0	89.5	100.0	73.7	89.5	98.2 (86.7～100.0)
雄授胎能指数（%）	68.4	73.7	80.0	68.4	68.4	91.4 (60.0～100.0)
雌受胎能指数（%）	68.4	73.7	85.0	68.4	73.7	93.3 (60.0～100.0)
雄交尾指数（%）	68.4	87.5	84.2	92.9	92.9	94.6 (70.0～100.0)
雌受胎指数（%）	68.4	82.4	85.0	92.9	82.4	95.0 (65.2～100.0)
性交前間隔（日）	2.7	2.7	2.9	2.4	4.9	2.9 (1.8～4.8)
性周期（日）	4.7	4.6	4.5	5.0	5.0	4.3 (3.2～5.8)
非妊娠雌例数	6	5	3	6	5	
不規則性周期例数（連続発情例数）	3 (1)	4 (3)	1 (0)	4 (1)	5 (2)	
非妊娠雄例数	6	5	4	6	6	
交配後非分娩雌例数	7	4	4	1	3	

Data source：[M4.2.3.5.4-2] P00012-14-02-Table S73,Table S74, Appendix 28-Table A83, Appendix 17
[a] 幼若ラット 2 試験の約 16 週齢以下の総合データ
対照群との有意差は認められなかった。

全 DMF 投与群で F1 出生児の発達、生存率、一般状態に影響は認められなかった。

DMF 投与に関連した臨床病理変化として、50 mg/kg/日以上の雌に血清クロールの減少及び 140 mg/kg/日群の雌雄に尿量の増加が認められた。これらの変化は、回復試験動物には認められず、当該動物に認められた腎毒性と関連性があると考えられた。血液学的検査及び血液凝固検査では DMF 投与に関連した変化は認められなかった。

DMF 投与に関連した剖検変化は前胃のみに認められた（表 71）。15 mg/kg/日以上の雄及び 140 mg/kg/日の雌に前胃の肥厚が認められた。50 mg/kg/日以上の雄及び 0、15、50 mg/kg/日の雌に前胃の暗赤色巣（急性炎症、びらん及び潰瘍の病理組織学的変化と関連）が認められた。これら

の変化は回復試験動物には認められなかった。

表 71 主試験剖検（PND 94）時の DMF 投与に関連した剖検変化

	雄					雌					関連する病理組織学的変化
群	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
投与量（mg/kg/day）	0	5	15	50	140	0	5	15	50	140	
動物数	15	15	15	15	15	10	10	10	10	10	
胃											
肥厚	0	0	1	3	8	0	0	0	0	7	扁平上皮過形成
暗赤色巣（前胃）	0	0	0	4	3	0	0	0	1	0	急性炎症[a]、びらん、潰瘍

Data source：[M4.2.3.5.4-2] P00012-14-02-Table S84, Table S87, Appendix 29
[a] 好中球主体

主試験剖検で、対照群に比べて 140 mg/kg/日の雄に骨塩量及び骨密度の有意な減少が椎骨・大腿骨全体、大腿骨の遠位・骨幹・近位領域に認められたが、これらの変化は雌には認められなかった。雄及び雌の骨領域及び大腿骨長に有意な変化は認められなかった。休薬後では、対照群と比較した有意な変化は認められなかった。

DMF 投与に関連した器官重量変化は腎臓にのみ認められた（表 72）。腎重量の増加（絶対重量及び脳重量比・体重比が、雄 50 mg/kg/日以上及び雌 15 mg/kg/日以上に認められたが、休薬により回復した。

表 72 主試験剖検（PND 94）時の DMF 投与に関連した器官重量変化

性別 （N=10/雌雄/群)	雄					雌				
投与量（mg/kg/日）	0	5	15	50	140	0	5	15	50	140
腎臓										
絶対重量（g）	3.87	3.93	3.93	**4.29**	**4.64** [b]	2.32	2.24	**2.56**	**2.65** [a]	**2.72** [b]
標準偏差	0.347	0.431	0.507	0.369	0.597	0.193	0.240	0.369	0.254	0.321
体重比（g/100 g）	0.787	0.810	0.817	**0.878**	**1.028** [b]	0.880	0.822	**0.948**	**0.924**	**1.054** [b]
標準偏差	0.085	0.073	0.108	0.079	0.121	0.041	0.114	0.141	0.099	0.110
脳重量比（g/100 g）	165.4	165.8	167.4	**181.5**	**197.7** [b]	111.2	105.4	**120.1**	**125.6**	**129.6** [a]
標準偏差	12.96	15.47	20.85	16.02	18.51	9.48	11.46	19.35	12.21	16.34

Data source：[M4.2.3.5.4-2] P00012-14-02-Table S92, Table S94
対照群との有意差を示した値又は DMF 投与による影響と判断された値を太字で示した。
[a] $p \leq 0.05$（Dunnett's-test による対照群との有意差）
[b] $p \leq 0.01$（Dunnett's-test による対照群との有意差）

PND 94 の主試験剖検における DMF 投与に関連した病理組織学的変化は、前胃及び腎臓（表 73）に認められた。全 DMF 投与群雌雄の前胃に扁平上皮過形成が認められた。140 mg/kg/日群雌雄各 1 例の前胃に扁平上皮癌が認められた。これは、15 mg/kg/日以上の雄及び 140 mg/kg/日の雌に剖検で認められた肥厚との関連性が認められた。50 mg/kg/日以上の雌雄の前胃に軽微～軽度のびらん、潰瘍及び急性炎症（好中球主体）が認められた。これらは暗赤色巣の剖検変化に関連して認められた。15 mg/kg/日以上の雄の腎尿細管上皮に硝子滴が認められ、140 mg/kg/日の雌 2 例に尿細管変性が認められた。これらの変化は、DMF 投与後の成熟ラットで認められた変化と類似していた。

表 73 主試験剖検（PND 94）時の DMF 投与に関連した病理組織学的変化

	雄					雌				
群番号	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
投与量（mg/kg/日）	0	5	15	50	140	0	5	15	50	140
評価動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
前胃 [a]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
扁平上皮過形成	0	6	7	10	10	0	6	5	10	10
軽微	-	6	2	0	0	-	4	3	0	0
軽度	-	0	5	1	0	-	2	2	1	0
中等度	-	0	0	9	1	-	0	0	9	3
重度	-	0	0	0	9	-	0	0	0	7
扁平上皮癌	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
例数	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1
潰瘍	0	0	0	2	1	0	0	0	1	0
軽微	-	-	-	0	1	-	-	-	1	-
軽度	-	-	-	2	0	-	-	-	0	-
びらん	0	0	0	5	3	0	0	0	1	2
軽微	-	-	-	4	2	-	-	-	1	2
軽度	-	-	-	1	1	-	-	-	0	0
急性炎症	0	0	0	7	9	0	0	0	4	6
軽微	-	-	-	5	6	-	-	-	3	5
軽度	-	-	-	2	3	-	-	-	1	1
腎臓 [a]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
硝子滴の増加	0	0	3	4	5	0	0	0	0	0
軽微	-	-	3	4	5	-	-	-	-	-
尿細管変性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
軽微	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
軽度	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1

Data source：[M4.2.3.5.4-2] P00012-14-02- Table S99, Table S101, Appendix 29
[a] 評価組織数

回復性試験剖検では、15 mg/kg/日で前胃に扁平上皮過形成の病理組織学的変化がより低い発現率・程度で認められたのみであった（表 74）。

表 74 回復性試験剖検時の DMF 投与に関与した病理組織学的変化

	雄					雌				
群番号	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
投与量（mg/kg/日）	0	5	15	50	140	0	5	15	50	140
評価動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
前胃 [a]	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
扁平上皮過形成	0	0	4	4	9	0	0	0	5	7
軽微	-	-	3	3	1	-	-	-	4	5
軽度	-	-	1	1	8	-	-	-	1	2

Data source：[M4.2.3.5.4-2] P00012-14-02- Table S100, Table S102
[a] 評価組織数

以上の結果から、雌雄で一般毒性に対する無毒性量は 5 mg/kg/日未満と判断された。幼若ラット毒性試験では成熟ラットと同様の胃及び腎臓への影響が認められた。幼若雌雄ラットの生殖、性成熟及び神経行動毒性に対する無毒性量は、全用量で影響が認められなかったことから最高用量

である 140 mg/kg/日と判断された。本試験で生殖に対する影響が認められなかったことは、雄幼若ラット試験（2.6.6.6.6.1 項、試験番号 P00012-12-02）で生殖に対する影響が認められなかったことと一致している。

2.6.6.7 局所刺激性試験

独立した DMF の局所刺激性試験は行わなかった。DMF の局所刺激性は、げっ歯類及び非げっ歯類 GLP 反復投与毒性試験における消化管の剖検及び病理組織学的検査により評価した。懸濁液として DMF を経口投与したラット及びマウスでは、前胃刺激が観察された。げっ歯類の前胃における変化は、ヒトには前胃に相当する器官がないため、ヒトでのリスクに関連するとは考えられない。すなわち、げっ歯類の前胃は食道と同じ種類の細胞で覆われており、境界縁が腺胃との境界となっている。ヒトには直接相当する組織はないが、非げっ歯類及びヒトの食道及び口腔の一部を覆っている細胞はラットの前胃の細胞と類似している。カニクイザル（2.6.6.3.4.1 項、試験番号 P00012-05-07；2.6.6.3.4.2 項、試験番号 P00012-05-08）の食道組織には DMF の影響は認められなかった。短期試験で DMF 懸濁液又はカプセル投与後のイヌに胃又は十二指腸の赤色変化が認められたが、イヌのより長期の 11 ヵ月間慢性毒性試験（経口カプセル、2.6.6.3.3.3 項、試験番号 P00012-05-05）及びサルの 12 ヵ月間慢性毒性試験（経口懸濁液、2.6.6.3.4.2 項、試験番号 P00012-05-08）では認められなかったことから、これらの変化は嘔吐に関連し、DMF 投与に関連しないと判断された。

被験物質の非常に高濃度の長期曝露（吸収、初回通過代謝及び生体内分布の前）では、比較的生理的な一過性の全身曝露では通常起こらない細胞・組織の反応が促進される可能性がある。DMF は速やかに代謝され、一次代謝物の MMF の半減期も短く、また、DMF 投与後に高濃度の DMF に直接長時間曝露される可能性がある組織・臓器はヒトに存在しないため、ヒトに消化管病変及び癌を発現する関連性及びリスクは低いと判断された。

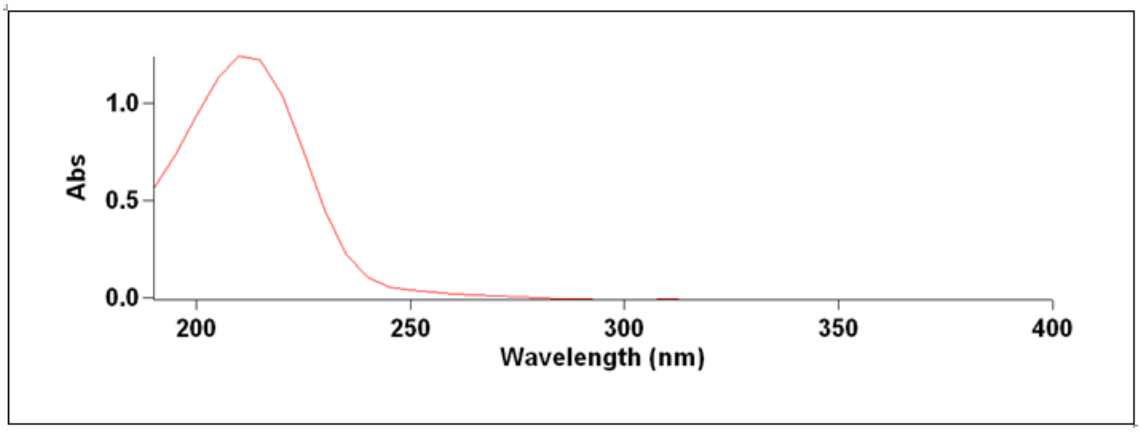
2.6.6.8 その他の毒性試験

ICH S8 ガイドラインに従い、反復投与毒性試験で血液学的検査、剖検及び病理組織学的検査（脾臓、胸腺及びリンパ節）により DMF の免疫調節作用を評価した。非臨床毒性試験の結果では、懸念となる可能性のある免疫調節作用を DMF が有することを示唆するデータは認められなかった。Magnusson-Kligman 法に従い、モルモットを用いて Fumaderm〔DMF 及びフマル酸モノメチル（カルシウム塩、マグネシウム塩、亜鉛塩）の混合物〕及び MMF の皮膚感作性試験を実施した。DMF は Fumaderm に含まれる成分であり、MMF は DMF の一次代謝物であるため、これらの試験から DMF の非臨床安全性情報を得ることができる。これらの試験では、Fumaderm 及び MMF とも、モルモットに皮膚感作性を有することが示された（2.6.6.8.6 項）。

DMF の光安全性試験は実施していない。DMF の組織内半減期は短く、ICH S10 ガイドラインに従い、組織内蓄積又は光毒性リスクを有する可能性は低い。分子構造及び化学的観点からは、DMF は光安全性の懸念を有さない。DMF は水に溶解すると、209.9 nm で単一の UV 吸収性を示すが（図

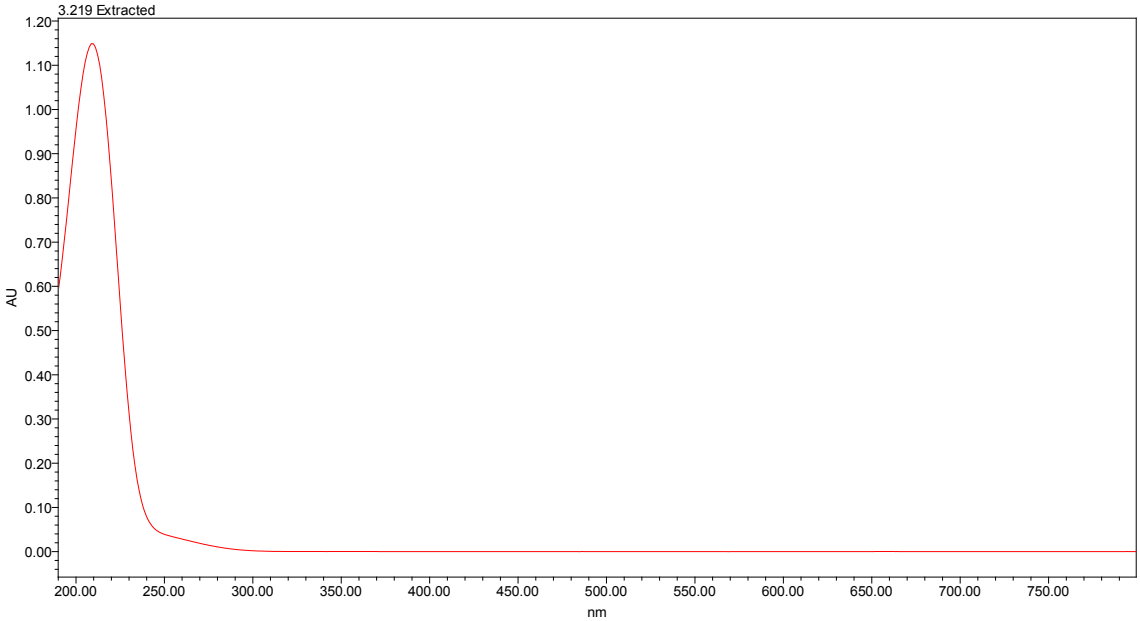
5)、この波長は光反応性の懸念となる波長（290 nm～700 nm）の範囲外である。主要代謝物である MMF は DMF に類似した UV･可視吸収スペクトルを示す(図 6)。さらに、分布試験([2.6.4.4.3.1]及び[2.6.5.6]項、試験番号 P00012-07-03）では、Long-Evans ラットの眼は DMF 曝露後に分布濃度が最高となる器官ではなかった。その他の多くの器官（脳、心臓、腎臓、肝臓、膵臓、唾液腺、脾臓、消化管等）は、眼及び有色皮膚と比較して、^{14}C 標識 DMF 濃度が高値であった。血漿中濃度との比較から、放射性標識 DMF は眼及び有色皮膚に蓄積しなかった。選択的メラニン結合性は認められなかった。

図 5　0.010 mg/mL DMF 水溶液の UV・可視吸収スペクトル



Data source：3.2.S.3.1-Figure 9

図 6　MMF の UV・可視吸収スペクトル



Data source：社内資料

光毒性の可能性について、非臨床試験結果から検討した。DMF の反復投与試験における眼の変化の要約を表 75 に示す。マウスがん原性試験で、網膜変性は DMF 投与群、特に高用量群雌に認め

られたが、対照群にも高発現率で認められた。その他のマウス（3 ヵ月間）、ラット（3 及び 6 ヵ月間）、イヌ（11 ヵ月間）、サル（12 ヵ月間）反復投与毒性試験及びラットがん原性試験の眼科学的検査及び病理組織学的検査結果では、眼の所見は陰性であった。

表 75 DMF 経口反復投与試験における眼科学的検査及び眼の病理組織学的検査結果の要約

試験番号	動物種	投与期間	眼科学的検査	眼の病理組織学的評価
P00012-04-10	マウス	3 ヵ月間	陰性	陰性
P00012-05-03	マウス	2 年間	評価せず [a]	高用量群の雌で発現率増加 [b]
P00012-04-01	ラット	3 ヵ月間	陰性	陰性
P00012-04-06	ラット	6 ヵ月間	陰性	陰性
P00012-04-11	ラット	2 年間	評価せず [a]	陰性
P00012-05-05	イヌ	11 ヵ月間	陰性	陰性
P00012-05-08	サル	12 ヵ月間	陰性	陰性

[a] がん原性試験では眼科学的検査を行わなかった。
[b] 網膜変性の発現率は投与によるものか、又は偶発的に眼疾患に罹患した CD-1 マウスが多かった可能性がある。

DMF は、ICH M3 (R2)及び S10 ガイドラインの光毒性リスクを有する基準に該当しないことから、光毒性試験は実施しなかった。マウスがん原性試験以外の試験では、DMF に、光アレルギー又は光毒性を示唆する皮膚又は眼の所見は認められなかった。

MMF は、エステラーゼ及び TCA 回路を介してすべての哺乳類に共通する内因性化合物に代謝されるため、ヒトにおける代謝物はすべて、実施した非臨床毒性試験で十分に検討されている。このため、代謝物の毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.8.1 毒性学的薬物相互作用試験

関節リウマチ治療薬としての DMF の開発を裏付けるため、ラット及びカニクイザルを用いて DMF とメトトレキサート（MTX）の併用による 3 ヵ月間併用投与毒性試験を実施した。この両試験結果から、DMF を、腎毒性及び肝毒性を有することが知られている他の薬剤（ここでは MTX）と併用しても、DMF 又は MTX の腎毒性又は肝毒性は増加しないという結果が得られた。

2.6.6.8.1.1 ラットを用いたメトトレキサートとの併用による 90 日間強制経口投与毒性試験：28 日間の回復期間を含む（試験番号 P00012-07-02）

記載箇所：[M4.2.3.2-10] P00012-07-02

本 GLP 試験により、Sprague Dawley ラットに 1 日 1 回（DMF）及び週 1 回（MTX）90 日間強制経口投与した後に 28 日間の休薬期間を設け、単独又は併用投与したときの DMF 及びメトトレキサート（MTX）の毒性及び TK を検討した。本試験の概要を表 76 に示す。MTX（0.5 mg）は、週 1 回強制経口投与した。第 4 群及び第 5 群は、DMF 投与直前に MTX を投与した。

表 76 試験番号 P00012-07-02 の試験デザイン

群番号	動物数				被験物質	投与量	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）
	主試験（回復性）		TK					
	雄	雌	雄	雌				
1	10 (5)	10 (5)	3	3	溶媒 [a]	-	-	-
2	10 (5)	10 (5)	9	9	DMF	100 mg/kg/日	10	10
3	10 (5)	10 (5)	9	9	MTX	0.5 mg/週	1.0	0.5
4	10 (5)	10 (5)	9	9	DMF MTX	25 mg/kg/日 0.5 mg/週	2.5 1.0	10 0.5
5	10 (5)	10 (5)	9	9	DMF MTX	100 mg/kg/日 0.5 mg/週	10 1.0	10 0.5

Data source ：[M.4.2.3.2-10] P00012-07-02-Appendix 1-12. EXPERIMENTAL DESIGN
[a] 0.8% (w/v) HPMC/RODI 水を 10 mL/kg で 1 日 1 回投与し、0.9%塩化ナトリウム/1 mol/L 水酸化ナトリウム液 0.5 mL/回を週 1 回投与した。

一般状態、体重、体重変化、摂餌量、眼科学的検査、臨床病理検査（血液学的検査、血液凝固検査、血液生化学的検査及び尿検査）、TK パラメーター、剖検、器官重量及び病理組織学的検査を行った。また、本試験では、黄体形成ホルモン（LH）及びテストステロンも評価した。

主試験及び TK 動物では、第 1 群（0 mg/kg/日）及び第 2 群（DMF 100 mg/kg/日）の雌各 1 例を除く全動物が計画剖検まで生存した。病理組織学的検査により中等度の肺の出血、うっ血及び食道壁の線維化が第 2 群の雌に認められ、誤投与による死亡であったことが示唆された。いずれの死亡例も、被験物質に関連した死亡ではないと判断された。

DMF 群、MTX 群又は併用群の雌雄に観察された平均体重、体重変化、摂餌量、眼科学的変化、血液学的検査、血液凝固、赤血球形態、血液生化学的検査、尿検査（肉眼的及び顕微鏡的）及び有害な一般状態の変化に毒性学的意義のある差異は認められなかった。

単独投与での DMF は、血漿中 MMF 濃度評価により、経口投与後速やかに吸収された（t_{max} は 0.25～0.5 時間）。MMF の平均消失半減期は 0.79～1.24 時間であった。MTX を 0.5 mg の用量で単独投与したときの平均 t_{max} は経口投与後 0.5～1 時間であった。投与 1 日目における MTX の消失半減期は約 0.9 時間であった。MTX の消失半減期は連続投与により延長する傾向がみられ、投与 43 日目及び 90 日目には約 2 時間であった。見かけの分布容積（Vd）は投与 1 日目に 1.3～2.0 L であり、その後増加傾向が認められ、投与 90 日目には 2.1～4.6 L であった。

投与量で正規化した曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は、DMF 単独群に比べ MTX＋DMF (25 mg/kg/日)併用群で低値を示したが、MTX＋DMF（100 mg/kg/日）併用群では、このような傾向は認められなかった。MTX の曝露量に明確な群間差が認められなかったことから、DMF の併用投与が MTX 曝露量に及ぼす影響は軽微であることが示唆された。

いずれの群でも、雌は雄に比べて MMF の曝露量が高値となる傾向が認められた。反復投与による MMF 曝露量の差は認められなかった。また、MTX の曝露量にも、雌で雄に比べて高値となる傾向が認められた。雌では、各群での MTX 連続投与により MTX 曝露量が増加する傾向が認められた。雄では、この傾向は明らかではなかった。

主試験剖検では、DMF（100 mg/kg/日）及び DMF（100 mg/kg/日）＋MTX（0.5 mg）併用群の雌雄で、被験物質に関連した腎臓の絶対及び相対重量の増加（最大 26.4%）が認められたが、これに関連した病理組織学的変化は認められず、回復性試験では腎重量は対照群と同等であった。

投与期間終了時に DMF（100 mg/kg/日）を投与した雄から採取した血清に、テストステロン及び LH の変化は認められなかった。ホルモンレベルは多様な因子の影響を受ける。本試験では、間細胞が影響を受けない試験条件下で試料を採取したため、ホルモン変化の評価に望ましくないと考えられるため、ラットに認められた間細胞変化のリスク評価に本試験結果を考慮しなかった。

前胃に認められた被験物質に関連した病理組織学的変化は、いずれの用量群でも主に軽微～重度の過形成及び角化亢進であった。同変化の発現率及び程度は、DMF を 100 mg/kg/日で投与された第 2 群及び第 5 群の雌雄で最も高かった。軽微～中等度の変性が、第 2 群及び第 5 群のみで認められた。回復性は投与 119 日目には明らかに認められ、観察された病理組織学的変化のほとんどの程度が減少した。MTX 投与は、胃の変化の発現率及び程度にほとんど影響を及ぼさなかった。病理組織学的検査で、膵腺房細胞のアポトーシスの増加が被験物質（DMF 又は MTX）を投与された雄に認められた。

結論として、各薬剤の TK を評価した結果、本試験デザインでは、併用投与における曝露量は、いずれの薬剤を単独投与した場合と比較しても大きな差がないことが裏付けられた。DMF は 100 mg/kg/日まで、MTX は 0.5 mg/動物/週の用量で、DMF 及び MTX を単独又は併用経口投与した結果、雌雄の前胃及び雄の膵臓に病理組織学的変化が認められた。被験物質に関連した死亡は認められなかった。これらの結果から、MTX 及び DMF を併用しても、DMF を単独投与した場合に観察される DMF に関連した変化のいずれも悪化又は軽減しないことが示唆された。また、いずれの用量で DMF を併用投与した場合にも、MTX に関連した毒性の発現率及び程度は増加しないことが示唆された。

2.6.6.8.1.2 カニクイザルを用いたメトトレキサートとの併用による BG00012 の 3 ヵ月間経口投与毒性試験：28 日間の回復期間を含む（試験番号 P00012-07-01）

記載箇所：[M4.2.3.2-11] P00012-07-01

本 GLP 試験では、カニクイザルに 90 日間、DMF（試験報告書では BG00012 と記載）を 1 日 1 回単独経口投与した場合の全身の毒性を MTX の週 1 回経口投与で併用した場合と比較すること、並びに 28 日間の休薬期間による被験物質の影響からの回復性を検討した。

試験経験のないカニクイザル 60 例（雄 30/雌 30）を 5 群（雌雄各 6 例/群）に割り付け、溶媒 1 及び 2、DMF（25 mg/kg/日）、MTX（0.5 mg/週）、DMF（5 mg/kg/日）＋MTX（0.5 mg/週）又は DMF（25 mg/kg/日）＋MTX（0.5 mg/週）を投与した。溶媒 1 及び DMF は、1 日 1 回 90 日間連日、経鼻胃管を用いて経口投与した。溶媒 2 及び MTX は、週 1 回 13 週間、経鼻胃管を用いて経口投与した。最終投与の 2 日後である投与 92 日目に 40 例の動物（雌雄各 4/群）を剖検した。残る 20 例

の動物（雌雄各 2/群）は、休薬し、約 28 日後の剖検まで試験を継続した。本試験の概要を表 77 に示す。

表 77 試験番号 P00012-07-01 の試験デザイン

群番号	動物数 雄：雌	被験物質	投与量	剖検動物数（雄：雌）	
				92 日目	120 日目
1	6：6	溶媒 1 及び 2[a]	0	4：4	2：2
2	6：6	DMF 単独	25 mg/kg	4：4	2：2
3	6：6	MTX 単独	0.5 mg	4：4	2：2
4	6：6	MTX + DMF	0.5 mg + 25 mg/kg	4：4	2：2
5	6：6	MTX + DMF	0.5 mg + 5 mg/kg	4：4	2：2

Data source ：[M.4.2.3.2-11] P00012-07-01- 7.2 Experimental Design Overview
[a] 溶媒 1：0.8%(w/v) HPMC/RODI 水を 10 mL/kg で 1 日 1 回投与、溶媒 2：0.9% 塩化ナトリウム/1 mol/L 水酸化ナトリウム液を 0.5 mL/回で週 1 回投与。

被験物質に関連した死亡例及び瀕死例はなく、被験物質に関連した一般状態の変化、体重変化、摂餌量、身体検査、心電図、眼科学的検査、血液凝固検査及び尿検査、剖検及び器官重量に変化は認められなかった。

被験物質に関連した血液生化学的変化は、25 mg/kg の DMF 単独又は MTX（0.5 mg）併用動物に認められた軽度の BUN の減少のみであった。BUN は投与 4 週目から 13 週目までに約 25%減少し、17 週目にも回復性試験動物の半数では減少したままであった。DMF、MTX、及びこれら 2 剤の併用のいずれでも、被験物質に関連した有害と考えられる血液学的変化は認められなかった。

DMF 単剤投与では、（DMF の一次代謝物である）MMF 血漿濃度評価により、経口投与後急速に吸収され（t_{max} の中央値は約 0.32 時間）、投与 1 日目の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は投与 43 及び 85 日目に比べて高値を示した。MMF の平均消失半減期は 0.42～0.78 時間であった。性差は認められなかった。MTX を 0.5 mg の用量で単独経口投与したときの t_{max} の中央値は 0.3～2.0 時間であった。MTX の曝露量は非常に少なく、変動が大きかった。MTX の平均消失半減期は 0.9～4.2 時間であり、見かけの分布容積（範囲：51～178.6 L）は体内総水分量よりも明らかに高値を示した。MTX についても、性差は認められなかった。

投与 1 日目、DMF を単独投与したとき、投与量で補正した MMF の曝露量 $AUC_{0\text{-}24h}$ は、DMF（5 mg/kg）＋MTX 併用時に比べ 50%高値を示したが、C_{max} には同様の傾向はみられなかった。連続投与後にこの差は減少した。DMF 単独群と DMF（25 mg/kg）＋MTX 併用群との間には、3 回のサンプリング日のいずれも MMF の C_{max} 又は $AUC_{0\text{-}24h}$ に大きな差は認められなかった。DMF（25 mg/kg）＋MTX 併用群でも、DMF 単独投与と同様に、MMF 投与 1 日目の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は、投与 43 及び 85 日目に比べて高値を示した。

ばらつきは大きかったが、MTX の C_{max} 又は $AUC_{0\text{-}24h}$ には明確な群間差が認められなかったことから、DMF 併用投与が MTX 曝露量に及ぼす影響はごくわずかであることが示された。また、連

続投与により、反復投与後も MTX の曝露量に変化は認められなかった。

DMF に関連した病理組織学的変化では、投与 92 日目で DMF（25 mg/kg）単独又は MTX 併用投与動物 16 例中 13 例に尿細管上皮の軽微な散在性単細胞壊死が認められた。4 週間の休薬期間終了時では、尿細管上皮の軽微な単細胞壊死は DMF（25 mg/kg）投与動物 1 例に認められたのみであったため、DMF に関連したこの変化はほとんどの動物で可逆性であったことが示唆された。MTX に関連した組織学的変化は認められなかった。

以上、DMF の 1 日 1 回単独経口投与及び MTX の 13 週間週 1 回経口投与との併用投与の忍容性は良好であった。DMF の曝露は、DMF を投与した全動物に確認された。DMF に関連した変化は可逆性であり、投与 4 週目から 13 週目に観察された BUN の軽度の減少及び投与 92 日目に観察された尿細管上皮の軽微な散在性単細胞壊死に限定された。DMF（25 mg/kg の用量で）及び MTX の併用は、DMF に関連した変化の程度に影響を及ぼさなかった。MTX に関連した変化は認められず、MTX の曝露量は低く、ばらつきが大きかった。

2.6.6.8.2 ラットにおける腎毒性バイオマーカー探索試験

DMF の非臨床試験では、最大臨床推奨用量（MRHD）に対する安全域が狭い用量でげっ歯類に腎腫瘍の発生等、複数の動物種で腎尿細管の変化が観察されたため、ラットを用いて、DMF の腎毒性の非侵襲性バイオマーカー候補を検討することを全体の目標とする探索試験を実施した。1 番目の非 GLP 14 日間パイロット試験の目的は、その後実施する試験の方法を確認するため、腎尿細管毒性のどの尿中バイオマーカーが既知の腎毒性物質であるゲンタマイシンと関連するか検討することであった。試験実施時点で、尿細管損傷のバイオマーカーとしてのバリデーションが検討されていたことから、尿中アルブミン、NAG、β2M 及び KIM-1 を試験に組み込んだ（Bonventre et al., 2010, Dierterle et al., 2010, Vaidya et al., 2010, Yu et al., 2010, Critical Path Institute, 2008 and 2010）。尿中アルブミンの測定によって急性尿細管変化を、尿中 β2M によって糸球体濾過能及び近位尿細管再吸収能を評価することができる。また、KIM-1 は、正常な腎臓に低レベルで発現している膜貫通タンパク質であり、虚血性又は毒性障害後に近位尿細管で発現が増加する。

2 番目の試験では、ラットに、腎障害を起こすことが知られている用量の DMF を 1 日 1 回 14 週間投与し、血液生化学的検査、並びに尿中バイオマーカーとしてアルブミン、β2M 及び KIM-1 をモニタリングした。病理組織学的検査に加え、KIM-1 の免疫組織化学染色により腎臓を評価した。初期段階に DMF に関連した腎臓の変化が発現すると予測されたことから、試験期間を 14 週間に設定した。この試験では、尿中アルブミンが、DMF によるラット腎障害の非侵襲性バイオマーカーとして確認された。3 番目の探索試験の目的は、腎障害を評価するための「リアルタイム」バイオマーカーとしてアルブミンを用いて腎障害の可逆性を評価し、さらに休薬後の障害からの回復性を評価することであった。残念ながら、この試験では、すべてのラット（対照群及び投与群）で慢性進行性腎症の進行が不十分であり、これに伴って観察された DMF に関連した組織学的変化は比較的軽度であったため、可逆性は評価できなかった。以上をまとめると、これらの試験により、尿中アルブミンの増加と DMF による初期腎障害との関連性が確認された。

表 78 に、これらの試験の用量、投与経路及び投与期間に関する情報を示した。

表 78 ラットを用いた腎毒性バイオマーカー試験

試験番号	タイトル	動物種及び系統（動物数、雄/雌）	投与量 (mg/kg) 投与方法	投与期間
PD08-03 2.6.6.8.2.1 項	CD ラットに DMF を 14 日間強制経口投与したときの腎毒性及び 14 日間の回復性の検討	ラット /Sprague Dawley Crl:CD (SD) （雄 10/群）	0, 83 TID 250 QD 強制経口投与	14 日間
P00012-08-01 2.6.6.8.2.2 項	BG00012：Sprague-Dawley ラットを用いた 14 週間経口投与腎毒性試験及び 4 週間の回復性試験	ラット /Sprague Dawley Crl:CD (SD) （雄 18/雌 18/群）	0, 50 BID, 100, 250 QD 強制経口投与	14 週間
P00012-09-01 2.6.6.8.2.3 項	BG00012：Sprague-Dawley ラットを用いた腎毒性発現時期及び可逆性を検討する探索的毒性試験	ラット /Sprague Dawley Crl:CD (SD) （雄 20/群）	0, 100 強制経口投与	75 日間

TID：1 日 3 回、BID：1 日 2 回、QD：1 日 1 回

2.6.6.8.2.1 Sprague Dawley ラットを用いて腎障害バイオマーカーを確認し、腎毒性の初期経時変化及び可逆性を検討する探索的毒性試験（試験番号 PD08-03）

記載箇所：参考[M4.2.3.7.7-1] PD08-03

本非 GLP 探索試験の目的は、1）ゲンタマイシンを陽性対照として腎障害バイオマーカーを確認すること、2）2 週間の投与期間及び 2 週間の回復期間における病理組織、細胞増殖の免疫組織化学的マーカー（Ki-67）、尿蛋白及び尿検査の評価により、DMF の短期投与が腎毒性を発現するかどうかを検討することであった。

偶然、本試験の実施時点で、Predictive Safety Testing Consortium（PSTC）Nepgrotoxicity Working Group が、FDA 及び EMEA に薬物毒性試験データ及び複数のバイオマーカーの性能の分析結果に関する文書を提出した。この分析結果で推奨されたバイオマーカーのうち、尿中アルブミン、β-N アセチルグルコサミニダーゼ（NAG）、β2 ミクログロブリン（β2M）及び KIM-1 の 4 種類を試験に組み込んだ。また、標準的な病理組織学的評価に加え、細胞増殖のマーカーである Ki-67 を評価するため腎臓の免疫組織化学染色も行った。

ラットを用い、250 mg/kg/日の DMF 又は溶媒を 1 日 3 回（第 1 群及び第 3 群）、若しくは 1 日 1 回（第 2 群及び第 4 群）14 日間経口投与した。また、他の 1 群には、腎毒性の陽性対照としてゲンタマイシン（GCN、50 mg/kg/日）を 1 日 1 回 14 日間投与した。本試験の概要を表 79 に示す。

表 79 試験番号 PD08-03 の試験デザイン

群番号	被験物質	投与量（mg/kg） 投与方法、投与回数	投与 15 日目の剖検	投与 29 日目の回復性試験の剖検
			雄動物数	雄動物数
1	0.8% HPMC	0、強制経口 TID	5	5
2	DMF	250、強制経口 QD	5	5
3	DMF	83、強制経口 TID	5	5
4	ゲンタマイシン	50、SC QD	5	-

Data source：[M4.2.3.7.7-1] PD08-03-STUDY ELEMENTS-Study Design
HPMC、TID：1 日 3 回、BID：1 日 2 回、QD：1 日 1 回、SC：皮下

死亡動物、瀕死動物及び一般状態の異常の有無を 1 日 2 回観察した。体重を 1 日 1 回測定した。尿量、尿比重並びに尿蛋白（NAG、β2M、KIM-1 及びアルブミン）測定用の尿を採取するため、週 1 回（投与 1 日目、8 日目、14 日目、21 日目及び 28 日目）一晩、代謝ケージに収容し、自由に摂餌・摂水させた。

BUN 及びクレアチニン測定用の血液は、各剖検時に心臓穿刺により採取した。投与 15 日目に 5 例/群を剖検し、14 日間の回復期間後の 29 日目に、DMF 群（第 1 群～第 3 群）の残る 5 例/群を剖検した。各剖検時に腎臓重量を測定し、病理組織学的検査及び細胞増殖マーカーKi-67 の免疫組織化学的分析用に 10%中性緩衝ホルマリン液で腎臓を固定した。

ゲンタマイシン 14 日間皮下投与後では、BUN、クレアチニン及び腎臓重量に有意な変化が認められた。また、測定した 4 種類の尿蛋白マーカーすべてが対照に比べて増加した。ゲンタマイシンを投与したラットの腎臓の病理組織学的検査では、主に皮質全体の近位尿細管、並びにこれより程度は低いが皮髄境界部に沿った直尿細管及び集合管に軽度～中等度の尿細管障害が広範に認められた。これに伴い、障害に応答した細胞増殖の増加に一致した Ki-67 陽性細胞数が溶媒対照群と比較して有意に増加した。

一方 DMF 14 日間投与後では、BUN、クレアチニン又は腎臓の絶対及び相対重量に有意な変化は認められなかった。DMF の初回投与後、尿量及び尿比重に急性変化が認められたが、投与 8 及び 14 日目には、このような変化は明確ではなかった。尿蛋白では、NAG 及び KIM-1 の一過性のわずかな増加が DMF（250 mg/kg）の初回投与後にのみ認められた。これらの増加が、一部、投与 1 日目に認められた尿量減少に起因するものか、尿細管機能に対する急性の影響によるものかは不明である。

DMF に特異的な組織学的変化として、近位尿細管上皮全体、主に皮質の外側 2/3 の領域に軽微～軽度の核肥大が多巣性に認められた。この変化は、しばしば核クロマチンの辺縁化及び核小体の不明瞭化を伴う 1 個以上の角状ないしブロック状の核を有する近位尿細管上皮細胞を特徴とした。DMF 投与動物では、ゲンタマイシン投与後には明らかであった腎尿細管の変性、壊死又はその他の尿細管障害の徴候は認められなかった。

さらに、DMF 14 日間投与後では、腎皮質又は尿細管の Ki-67 陽性染色に溶媒対照群からの有意な

増加は認められなかった。同時に、DMF 14 日間投与後では、病理組織学的検査及び尿蛋白の評価結果は腎毒性が認められなかったことと一致した。

結論として、DMF の動物への短期投与は、より長期の試験で観察された一連の腎変化は生じなかったが、本試験では、ゲンタマイシンによる腎毒性と BUN、クレアチニン及び尿蛋白（NAG、β2M、KIM-1 及びアルブミン）の関連性が確認され、これらのパラメーターは、その後実施するより長期間のラット DMF 試験におけるバイオマーカー候補となることが確認された。

2.6.6.8.2.2 Sprague Dawley ラットを用いた 14 週間経口投与腎毒性試験及び 4 週間回復性試験（試験番号 P00012-08-01）

記載箇所：[M4.2.3.2-12] P00012-08-01

本 GLP 試験の目的は、探索的パイロット試験（2.6.6.8.2.1 項、試験番号 PD08-03）で確認された腎毒性の尿中バイオマーカーであるアルブミン、KIM-1 及び β2M、並びに細胞増殖のマーカーである Ki-67 が DMF に関連したラットの腎臓変化と関連するかどうかを検討することであった。副次目的はその後の 4 週間の回復期間における変化の可逆性又は遅発性を検討することであった。

本試験では、Sprague-Dawley ラットの雌雄を用いた 4 群を設定した。各群の動物数は、主試験で雌雄各 10 例/群、回復性試験で雌雄各 5 例/群、及び TK サテライト試験で雌雄各 3 例/群であった。投与は、第 1 群及び第 2 群では 1 日 2 回（1 回目と 2 回目の投与間隔は 6～6.5 時間）、第 3 群及び第 4 群では 1 日 1 回、投与 1 日目から 98 日目まで強制経口投与した。第 1 群は 0.8% HPMC/RODI 水を投与した。第 2 群、第 3 群及び第 4 群には、被験物質として DMF を 1 日総投与量として 0 mg/kg（第 1 群）、100 mg/kg （第 2 群、第 3 群）及び 250 mg/kg（第 4 群）、1 回の投与量としてそれぞれ 50、100 及び 250 mg/kg で投与した。表 80 に概要を示すように、第 1 群及び第 2 群には 5 mL/kg を 1 日 2 回投与し、第 3 群及び第 4 群には 10 mL/kg を 1 日 1 回投与した。

表 80 試験番号 P00012-08-01 の試験デザイン

群番号	動物数						被験物質	投与量（mg/kg）	投与濃度（mg/mL）	投与容量（mL/kg）	投与方法	剖検日
	主試験		回復性試験		サテライト試験（TK）							
	雄	雌	雄	雌	雄	雌						
1	10	10	5	5	3	3	溶媒	0	0	5	BID 強制経口、投与 1～98 日目 [a]	主試験：投与 99 日目
2	10	10	5	5	3	3	DMF：	50	10	5		
3	10	10	5	5	3	3		100	10	10	QD 強制経口、投与 1～98 日目	回復性試験：投与 127 日目
4	10	10	5	5	3	3		250	25	10		

Data source：[M4.2.3.2-12] P00012-08-01-text-Table 2
[a] 1 回目投与 6～6.5 時間後に 2 回目投与を行った。
BID：1 日 2 回、QD：1 日 1 回

毒性評価は、一般状態、体重、摂餌量及び臨床病理（血液学的検査、血清生化学的検査、尿検査及び尿蛋白）により行った。試験計画書に規定した時点でサテライト動物から採血して血漿を分離し、DMF 濃度を分析した後、TK 解析を行った。投与 99 日目に、主試験動物（利用可能な最大動物数は雌雄各 10 例/群）を剖検して組織を採取し、腎臓重量を測定した。試験 127 日目に残る全動物（回復性試験動物、最大動物数は雌雄各 5 例/群）を安楽死させ、同様の手順で病理検査を行った。腎臓には病理組織学的及び免疫組織化学的評価を行った。

本試験では、250 mg/kg/回群の 4 例（雄 2 例及び雌 2 例）が死亡した。この 4 例中 3 例は、病理組織学的検査を行わなかったため、死因は特定することができなかった。残る 1 例の死亡は、DMF 投与に関連したものではなく、機械的外傷（ケージに前肢が挟まった）によるものと判断された。

250 及び 100 mg/kg/回（250 及び 100 mg/kg/日）群、並びに 50 mg/kg/回（100 mg/kg/日）群の雄では、それぞれ投与 42、56 及び 90 日目に尿蛋白及び白血球数の増加が認められた。尿蛋白及び白血球数の増加は試験 126 日目の回復期間終了時まで継続して認められた。

DMF の全群の雄に尿中アルブミンの有意な増加が認められたが、雌では対照群及び投与群間で有意差は認められなかった（図 7）。雄における尿中アルブミンの増加は、Ki-67 陽性染色の増加（表 81）及び病理組織学的変化（軽微～軽度の腎症及び軽微～軽度の尿細管再生、表 82）に一致して認められた。尿中アルブミンの有意な増加は、50 mg/kg/回群の雄では投与 70 日目から、100 及び 250 mg/kg/回群の雄では投与 42 日目までに認められた。尿中アルブミンはラットにおける CPN に対する高感度のマーカーであるため（Thudium et. al., 2001、Hard et al., 2009、Seely and Hard, 2008、Haschek et al., 2010）、おそらく慢性進行性腎症に起因して、対照群でも投与 70 日目を起点として、尿中アルブミンの増加が明らかに認められた。全 DMF 群の雄に認められた尿中アルブミンの有意な増加は、投与 126 日目の回復期間終了時まで継続した（図 7）。DMF を投与された雄における尿中アルブミンの増加は、DMF 投与期間終了時及び回復期間終了時に認められた血清アルブミンの減少と関連した。一部の雌では尿中アルブミンが増加する傾向にあったが、群全体では統計学的に有意ではなかった。雌におけるアルブミン変化の関連性が雄に比べて不明確であったことは、雌では雄よりも組織学的変化がさらに限られていたこと（尿細管の肥大のみ）に関連していると考えられた。

雄で認められた病理組織学的変化は、対照群と比較して統計学的に有意な KIM-1 の変化と一致しなかった。統計学的に有意な KIM-1 の増加（全体の ANOVA $p < 0.001$）は 100 mg/kg/回群の雌に認められた。対照群の雌と 50 mg/kg/回群の雌との間には、有意差は認められなかった。100 及び 250 mg/kg/回群の雌では、投与 14 日目から投与 84 日目（100 mg/kg）又は 70 日目（250 mg/kg）まで継続して有意差が認められた。KIM-1 は、投与 99 日目の主試験剖検時までにベースライン値（又はベースライン値未満）に復帰した。

尿中 β2M は、試料測定中の分析精度が不十分であったため、解析を行わなかった。

投与 99 日目における 100 mg/kg/日（1 日 2 回 50 mg/kg/回投与動物を含む）以上の雄及び 100 mg/kg/回以上の雌では、腎皮質及び髄質外帯に Ki-67 陽性染色の用量依存的な増加も認められ、100 mg/kg/

回以上の雄では有意差が認められた（表 81）。試験 127 日目でも 50 mg/kg/回（100 mg/kg/日）以上の雄のみに統計学的有意差のない Ki-67 陽性染色の増加が認められた。

腎毒性は、1 日の投与量が 100 mg/kg/日（1 日 2 回 50 mg/kg/回投与動物を含む、表 82）以上の雄に明らかであった。腎症（慢性進行性腎症）発現率の増加、及びこれに関連する分節性尿細管再生は、投与 99 日目における 50 mg/kg/回以上の雄でも認められた。これに一致して、50 mg/kg/回以上の用量で腎臓の絶対及び相対重量（体重比）に用量依存性の増加が認められ、50 mg/kg/回以上の雄及び 250 mg/kg/回群の雌では統計学的有意差が認められた（表 83）。試験 127 日目に腎臓の重量及び病理組織学的変化の可逆性は認められず、雄及び 50 mg/kg/回以上の雌雄に統計学的に有意な腎臓の絶対重量の増加が認められた。腎症及び尿細管分節性再生は、試験 127 日目でも複数の雄に認められた。

表 81　腎臓の Ki67 免疫組織化学染色

DMF 投与量（mg/kg）	Ki-67 陽性細胞/mm^2							
	主試験剖検				回復性試験剖検			
	雄		雌		雄		雌	
		%変化量		%変化量		%変化量		%変化量
0	30.33	-	30.11	-	30.94	-	33.44	-
50	42.53	40	26.31	-13	37.10	19	33.22	-1
100	47.09*	55	40.83	35	41.99	35	28.37	-16
250	59.02**	94	43.86	45	47.27	52	28.87	-14

Data source：[M4.2.3.2-12] P00012-08-01-Appendix 16-Table 2
Ki-67 染色後、腎切片を Aperio XT バーチャル顕微鏡を用いて観察した。腎皮質及び髄質外帯は Aperio Spectrum ソフトウエアを用いてマニュアルで輪郭を描き、Ki-67 陽性細胞の数及び面積を腎臓切片ごとに求めた。
*p = 0.01～0.05
*p ≤ 0.001

表 82　主試験剖検で認められた投与に関連した腎臓の病理組織学的変化の発現例数及び程度

性別	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）	0	50	100	250	0	50	100	250
評価動物数	10	10	10	10	10	10	10	9
腎臓								
近位尿細管核肥大	0	2	4	9	0	2	5	8
軽微	0	2	4	6	0	2	5	6
軽度	0	0	0	3	0	0	0	2
腎症	1	3	5	9	0	0	0	0
軽微	1	3	4	2	0	0	0	0
軽度	0	0	1	7	0	0	0	0
尿細管限局性再生	1	0	0	0	0	0	0	0
軽度	1	0	0	0	0	0	0	0
尿細管の分節性再生	1	8	7	10	0	0	0	0
軽微	1	5	2	2	0	0	0	0
軽度	0	3	5	8	0	0	0	0

Data source：[M4.2.3.2-12] P00012-08-01-Appendix 14-text-Table 5

表 83 主試験剖検における DMF 投与に関連した器官重量変化（投与 99 日目）

		雄				雌			
群番号		1	2	3	4	1	2	3	4
投与量（mg/kg/回）		0	50	100	250	0	50	100	250
評価動物数		10	10	10	10	10	10	10	9
腎臓									
絶対重量（g）	平均値	3.635	4.654*	4.635*	5.587*	2.016	2.183	2.210	2.574*
	標準偏差	0.473	0.609	0.718	0.780	0.217	0.269	0.278	0.290
器官重量/体重比									
	平均値	0.632	0.800*	0.790*	0.994*	0.643	0.719	0.723	0.896*
	標準偏差	0.066	0.068	0.072	0.113	0.077	0.067	0.075	0.108

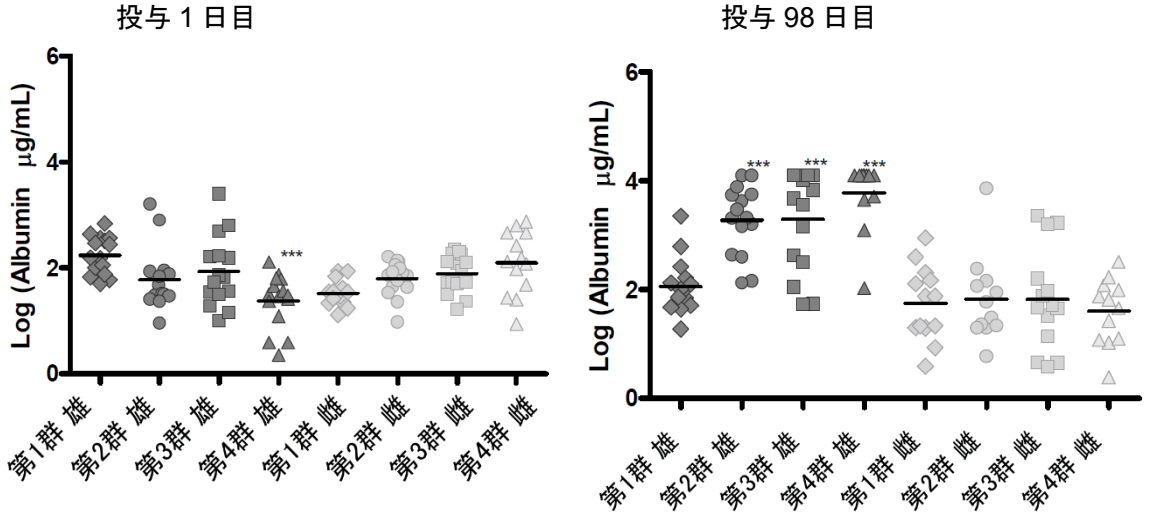
Data source：[M4.2.3.2-12] P00012-08-01-Appendix 14-text-Table 2
* $p \leq 0.05$（ANOVA with Dunnett's t-test による対照群との有意差）

腎近位尿細管上皮細胞における軽微～軽度の核肥大は、投与 99 日目で 50 mg/kg/回以上の雌雄に認められ、回復性試験剖検（投与 127 日目）時でも全 DMF 群の雌に認められた。雌では、主な組織学的病理変化として、50 mg/kg/回以上で腎近位尿細管上皮細胞の核肥大が認められた。この変化は、雄でも同等の発現率及び程度で認められた。雌では、腎臓変化は、Ki-67 陽性率の増加、尿蛋白（尿検査による）又は尿中アルブミン濃度の増加と関連して認められなかった。これらの増加は、投与期間終了時にベースライン値又はそれを下回る値に復帰した。雌では腎尿細管上皮細胞の核肥大が病理組織学的に認められたが再生像は認められなかったこと及びこの肥大は雄でも KIM-1 の増加を伴わずに認められたため、この増加と毒性の関連性は明確ではない。

DMF を投与した雄では、Ki-67 陽性率は、尿細管再生の発現率又は程度が高かった群（100 及び 250 mg/kg/日を 1 日 1 回投与した雄）で有意に増加し、尿中アルブミンの増加による尿蛋白の増加と関連したが、KIM-1 の変化とは関連しなかった。

結論として、本試験で観察された DMF に関連した腎毒性は、雄における分節性尿細管再生の発現率及び程度の用量依存的な増加、並びに慢性進行性腎症の悪化を特徴とした。これらの変化は、Ki-67 陽性率の増加、尿中総蛋白及び尿中アルブミンの増加と関連した。以上の試験結果より、尿中アルブミンは、ラットにおける DMF 腎障害の非侵襲性マーカーとして確認された。

図 7　尿中アルブミン



Data source：[M4.2.3.2-12] P00012-08-01-Appendix 13-Figure 2
尿中アルブミン（μg/mL）は対数軸で示し、平均値をバーで示した。* = p < 0.05、** = p < 0.01、*** p < 0.001（反復測定 ANOVA による有意差）。
第 1 群：溶媒対照、第 2 群：DMF 50 mg/kg BID、第 3 群：DMF 100 mg/kg/日、第 4 群：DMF 250 mg/kg/日

2.6.6.8.2.3　Sprague Dawley ラットを用いた DMF による腎毒性及びその可逆性の経時的検討：病理組織学的及び Ki-67 解析（試験番号 P0012-09-01）

記載箇所：参考[M4.2.3.7.7-2] P00012-09-01

本非 GLP 試験の目的は、Sprague- Dawley ラットにおける DMF の腎毒性及び休薬による回復の経過を検討することであった。本試験では、腎臓の病理組織学的検査、尿中アルブミン及び Ki-67 による腎臓の免疫組織化学染色を評価した。

本試験デザインの概要を表 84 に示す。雄は DMF の腎毒性に対する感受性が雌より高いことが示されているため、本試験では雄を用いた。100 mg/kg の DMF 又は溶媒〔0.8% (w/v) HPMC/RODI 水〕を 1 日 1 回 71 日間投与した。その後は回復性試験動物への投与を休薬した。75 日目に、主試験剖検動物に DMF 又は溶媒を最終投与し、被験物質の曝露量を確認するために DMF／溶媒投与 30 分後に採血した。残る溶媒対照動物及び DMF 投与動物は、43 日間の回復期間終了時（投与 114 日目）に剖検した。主試験及び回復性試験動物の腎臓に病理組織学的検査及び Ki-67 分析を行った。

表 84　試験番号 P00012-09-01 の試験デザイン

群番号	被験物質	投与方法	動物数 主試験	動物数 回復性試験	投与量 (mg/kg)	投与容量 (mL/kg)	投与濃度 (mg/mL)
1	溶媒	強制経口	雄 10	雄 10	0	10	0
2	DMF	強制経口	雄 10	雄 10	100	10	10

Data source：[M4.2.3.7.7-2] P00012-09-01-STUDY ELEMENTS-Study Design

投与75日目にDMF投与動物の尿細管で軽度の核肥大の発現率及び程度のわずかな増加を認めた。このわずかな変化は4例中3例で観察され、皮質の外側2/3の領域の近位尿細管に多巣性に認められた。変化が認められた近位尿細管上皮には、たまに大型の卵形ないし楕円形の核、まれに角状の核が認められ、しばしば核クロマチンの辺縁化及び核小体の不明瞭化が認められた。核肥大は、溶媒対照群の少数例及びDMF群の1例に低頻度で軽微に認められ、雄ラットにみられるバックグラウンドレベルであることが示唆された。DMF投与動物では、皮質尿細管上皮における軽度の硝子滴沈着の発現率及び程度にも類似した増加が認められた。尿中アルブミンは、一部の動物にわずかな増加が認められたのみであり、これはおそらく腎臓で観察された病理組織学的変化が軽度であったためであると考えられた。同様に、対照動物に比べて、DMF投与動物における腎臓のKi-67染色陽性面積率（%）の中央値の統計学的に有意ではないわずかな増加も認められた。

投与114日目（約6週間の回復期間終了時）では、軽微な核肥大がDMF投与群の4例中1例に認められ、溶媒対照群には認められなかった。この動物には、皮質尿細管に軽微な硝子滴沈着も認められた。腎臓のKi-67染色陽性面積率（%）の中央値は、DMF及び対照動物間で差は認められなかった。

結論として、雄ラットへの75日間DMF（100 mg/kg/日）経口投与は、近位尿細管上皮における軽度の核肥大の発現率をわずかに増加させた。皮質尿細管上皮における軽度の硝子滴沈着の発現率及び程度の類似した増加もDMF投与動物に認められた。この変化は、溶媒対照動物に比べてDMF投与動物における腎臓のKi-67染色陽性面積率（%）の中央値の統計学的に有意ではないわずかな増加を伴った。休薬した回復期間終了時（投与114日目）、軽微な核肥大がDMF投与群の4例中1例に観察され、この動物には皮質尿細管に軽微な硝子滴沈着も認められた。回復期間終了時の溶媒対照動物には、いずれの変化も認められなかった。回復期間終了時の腎臓のKi-67染色陽性面積率（%）の中央値は、DMF及び対照動物間で差は認められなかった。本試験では、DMFに関連した腎臓の組織学的変化は比較的軽度であり、すべてのラット（対照群及びDMF群）に慢性進行性腎症が発症したため、本試験の可逆性については十分に検討できなかった。

2.6.6.8.3 薬物乱用に関する非臨床試験

薬物乱用性は、精神活性作用を有する薬剤を非医療的に使用する作用をいう。FDAによるPMR（Approval Letter NDA 204063）に従って、DMF投与による薬物乱用の可能性を評価する3つの試験を実施した。このうち1試験はDMF及びMMFの包括的なin vitro受容体結合活性試験であった。本試験の詳細は[M2.6.2.4]に示す。他の2試験は、PMRに従ってラットで実施された自己投与試験及び薬物弁別試験である。試験デザインを表 85に示す。

表 85　ラットを用いた DMF の薬物乱用試験

試験番号	タイトル 試験の種類	動物種及び系統、 動物数、雄/雌	投与量（mg/kg） 投与方法	投与期間
P00012-13-07 2.6.6.8.3.1 項	フマル酸ジメチル：雄 Sprague Dawley ラットにおける自己投与試験	Sprague Dawley ラット 雄 56/群（表 86 参照）	0, 0.625, 1.25, 2.5 mg/kg/回 インフュージョン	[a]
P00012-14-01 2.6.6.8.3.2 項	フマル酸ジメチル：雄 Sprague Dawley ラットにおける薬物弁別試験	Sprague Dawley ラット 雄 32/群（表 89 参照）	25, 100, 250 mg/kg 経口	[a]

[a] 試験期間は、個々の動物の訓練及び試験セッションの完了によって異なった。

2.6.6.8.3.1　Sprague Dawley ラットを用いたフマル酸ジメチル（DMF）自己投与試験（試験番号 P00012-13-07）

記載箇所：[M4.2.3.7.4-1] P00012-13-07

自己投与試験は、向精神薬の報酬効果を評価する動物モデルを用いた手法である。基本的な手順は、薬物乱用傾向が既知の薬物を自己投与（インフュージョン）するためにレバーを押すようにラットを訓練した後、被験物質に置換して行う。被験物質の自己投与に対する確かな反応は依存性を有する可能性を示す。

本試験の目的は､雄ラットにおける自己投与が成立する薬物乱用傾向について DMF を評価することであった。対照薬物（コカイン）及び対照物質（生理食塩液）はラットにおける DMF の強化効果を評価するために用いた。他の毒性試験では MMF 曝露量に性差が認められなかったこと及び薬物乱用性に性差は予想されなかったため、雄ラットのみを用いた。試験デザインの概要を表 86 に示す。

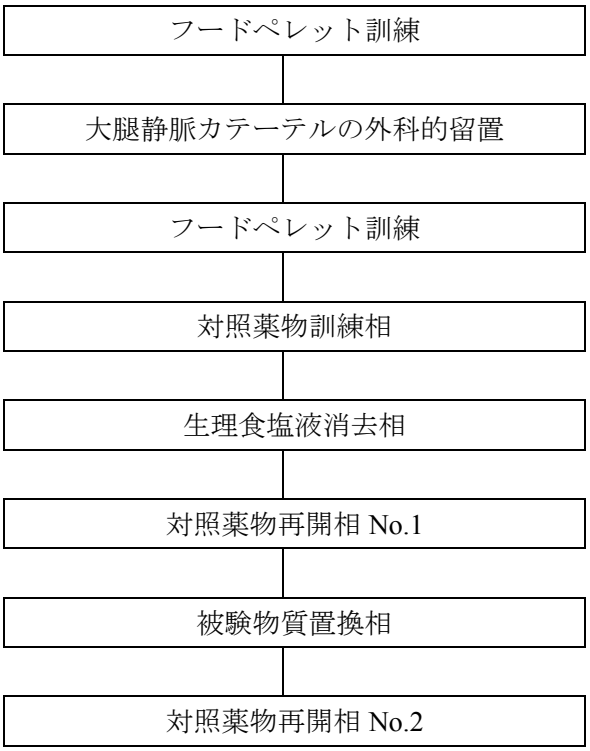
表 86　試験番号 P00012-13-07 の試験デザイン

群番号	動物数	被験物質	投与量 (mg/kg/投与)	投与濃度 (mg/mL)	投与容量 (ml/kg/投与)
1	56[a]	コカイン	0.32	0.386	0.83
2	56	生理食塩液	NA	NA	0.83
3	5	溶媒[b]	0	0	0.83
4	7	DMF	0.625	0.75	0.83
5	8	DMF	1.25	1.5	0.83
6	7	DMF	2.5	3	0.83

Data source：[M4.2.3.7.4-1] P00012-13-07-text-Table 3
[a] 試験に割り当てた最大 56 例が、再開及び消去トレーニングを含む対照薬物及び溶媒対照セッションを受けた。
[b] 20% β-シクロデキストリン（スルホブチルエーテル、ナトリウム塩）/脱イオン水
NA 該当せず

試験相の構成を図 8 に示す。

図 8　試験番号 P00012-13-07 の試験相構成



Data source：[M4.2.3.7.4-1] P00012-13-07-STUDY DESIGN

右レバーに作動性レバーを割り当てた標準的な 2 レバーオペラントチャンバーを用いてラットに訓練及び試験を行った。最初のトレーニングでは、正しいレバーを操作する強化としてラットにフードペレットを得られるようにした。フードペレット訓練を毎日（6 日/週）行った。ラットはフードペレット訓練開始前に一晩絶食させた。固定比（FR）の強化スケジュールで訓練した。各 FR レベルを完了した場合、報酬を得るために必要なレバー作動回数を順次増加させた（表 87）。

表 87　フードペレット及び対照薬物訓練の作動性レバー強化スケジュール

強化スケジュール	
FR 1	1 回の作動性レバー押しで 1 ペレット又は 1 回の生理食塩水、対照薬物又は溶媒を得る
FR 2	2 回の作動性レバー押しで 1 ペレット又は 1 回の生理食塩水、対照薬物又は溶媒を得る
FR 3	3 回の作動性レバー押しで 1 ペレット又は 1 回の生理食塩水、対照薬物又は溶媒を得る
FR 4	4 回の作動性レバー押しで 1 ペレット又は 1 回の生理食塩水、対照薬物又は溶媒を得る
FR 5	5 回の作動性レバー押しで 1 ペレット又は 1 回の生理食塩水、対照薬物又は溶媒を得る

Data source：[M4.2.3.7.4-1] P00012-13-07-In-life Procedures, Observations, and Measurements

各訓練及び試験セッションは約 1 時間であった。レバー作動と連動して、レバーを押すごとに視覚的及び聴覚的な合図を出した。報酬を得てからレバーが再び作動するまで 10 秒のタイムアウト

時間があった。

フードペレット訓練基準は、80 個以上のペレットを得ることとした。80 回以上のペレット獲得した動物は静脈カテーテル留置術を受けた。最低でも 1 日の術後回復中に 1 回のみの作動性レバーのフードペレット訓練を再び行った。

手術からの回復後、動物は対照薬物訓練を受けた。対照薬物として、強化作用と依存性があることが知られているコカインを使用した。レバーを作動させた自己投与報酬を 0.32 mg/kg コカインインフュージョンとした FR 増加スケジュールセッションで動物を試験した。動物は FR5 強化スケジュールで自己投与を完了した場合に対照薬物に十分に訓練されたものと判断された。

その後、自己投与回数が安定するまで（3 連続セッション、最大 10 セッションで ±50%以内のばらつき）、FR5 強化スケジュールで、生理食塩液で動物を試験した（生理食塩液消去相）。その後、自己投与回数が安定し（3 連続セッションで ±25%以内のばらつき）、前 3 回の生理食塩液消去相と比べて 75%以上増加するまで、FR5 強化スケジュールで、コカインで動物を試験した（0.32 mg/kg/回、対照薬物再開相 No.1）。

その後、自己投与回数が安定するまで（3 連続セッションで ±25%以内のばらつき）、FR5 強化スケジュールで 0、0.625、1.25 及び 2.5 mg/kg/回の DMF で試験した（被験物質又は被験物質溶媒置換相）。

その後、自己投与回数が安定するまで（3 連続セッションで ±25%以内のばらつき）、FR5 強化スケジュールで、コカインで動物を試験した（0.32 mg/kg/回、対照薬物再開相 No.2）。

結論として、5、7、8、7 例の雄ラットが訓練及び試験を完了し、0、0.625、1.25 及び 2.5 mg/kg/回群にそれぞれ割り当てられた。2.5 mg/kg/回までの DMF 投与を受けたラットは、生理食塩液消去相で生理食塩液を用いた各成績と比較して、自己投与回数に明らかな差を示さなかった（表 88）。DMF 置換による平均自己投与回数の変動は低く、一般状態の変化及び死亡例は認められなかった。したがって、DMF 溶媒のみ及びすべての DMF 投与量（0.625、1.25 及び 2.5 mg/kg/回）では、自己投与行動は維持されなかったと判断された（[M2.6.7.17D]参照）。

表 88 自己投与試験の投与回数

被験物質	投与量／回（mg/kg）	平均投与回数 [a]
コカイン	0.32	17.4～21.4[b]
生理食塩液	0	3.1～4.8[b]
DMF 溶媒	0	4.2
DMF	0.625	3.1
DMF	1.25	2.8
DMF	2.5	3.2

Data source：[M4.2.3.7.4-1] P00012-13-07-Table S7, Figure 5
[a] 平均投与回数は各相の最後の 3 セッションの評価を含む。

[b] 対照薬物再開相並びに DMF 溶媒及び DMF 群を含む範囲の投与回数。

2.6.6.8.3.2 フマル酸ジメチル：雄 Sprague Dawley ラットを用いた薬物弁別試験（試験番号 P00012-14-01）

記載箇所：[M4.2.3.7.4-2] P00012-14-01

薬物弁別試験は、動物モデルを用いて向精神薬の自覚効果を調べる方法である。基本的な手順として、投与される対照薬物（モルヒネ等）又は溶媒によって 2 つのレバーのうち 1 つを押すようにラットを訓練する。その後、ラットに被験物質を投与する。対照薬物と関連付けたレバーを押し、溶媒と関連付けたレバーを押さなかった場合、その被験物質は対照薬物に類似した内受容性を生じた可能性が示唆される。

本試験の目的は、Sprague Dawley ラットで 25、100 及び 250 mg/kg の経口用量（溶媒：0.8%HPMC）の DMF の薬物弁別性を検討することであった。他の毒性試験で MMF 曝露量に性差が認められなかったこと及び薬物乱用試験結果に性差は予測されないことから、雄のみを使用した。試験に割付けたラットにコカイン又は生理食塩液の腹腔内（IP）投与と左右レバーでフードペレットが得られることを関連付ける訓練を行った。32 例の動物を最初の試験に組入れた。試験デザインの概要を表 89 に示す。

表 89 試験番号 P00012-14-01 の試験デザイン

群番号	雄動物数	被験物質 [a]	投与経路	投与量（mg/kg）	投与濃度（mg/mL）	概算投与容量（mL/kg）
1	32	コカイン	腹腔内	10.0 (7.5)[b]	3.33	3.0
2	32	生理食塩液	腹腔内	0	0	3.0
3	32	0.8% HPMC	経口	0	0	5.0
4	21	アンフェタミン	腹腔内	0.025	0.0083	3.0
5	21	アンフェタミン	腹腔内	0.1	0.033	3.0
6	20	アンフェタミン	腹腔内	1.0	0.33	3.0
7	17	DMF	経口	25	5	5.0
8	15	DMF	経口	100	20	5.0
9	16	DMF	経口	250	50	5.0

Data source：[M4.2.3.7.4-2] P00012-14-01-text-Table 4
[a] 最大 32 例の雄動物を試験に組み込み、いくつかの対照物質及び溶媒対照セッションで無誤訓練、弁別試験訓練及び被験物質評価を実施した。
[b] 10 mg/kg で約 14 セッションを実施し試験期間内の対照薬物応答を最適化するために 7.5 mg/kg に投与量を下げた。

図 9 に示すように、試験は 5 相で構成された。

図 9 試験番号 P00012-14-01 の試験相構成



Data source：[M4.2.3.7.4-2] P00012-14-01-STUDY DESIGN

訓練及び薬物弁別試験中、固定比（FR）の強化スケジュールを用いた。各 FR レベルを完了した場合、報酬（フードペレット）を得るために必要なレバー作動回数を順次増加した（表 90）。

表 90 フードペレット及び対照薬物訓練作動性レバー押し強化スケジュール

強化スケジュール	
FR 1	1 回の作動性レバー押しで 1 ペレットを得る
FR 2	2 回の作動性レバー押しで 1 ペレットを得る
FR 4	4 回の作動性レバー押しで 1 ペレットを得る
FR 8	8 回の作動性レバー押しで 1 ペレットを得る
FR 12	12 回の作動性レバー押しで 1 ペレットを得る
FR 16	16 回の作動性レバー押しで 1 ペレットを得る
FR 20	20 回の作動性レバー押しで 1 ペレットを得る

Data source：[M4.2.3.7.4-2] P00012-14-01-text-Table 6

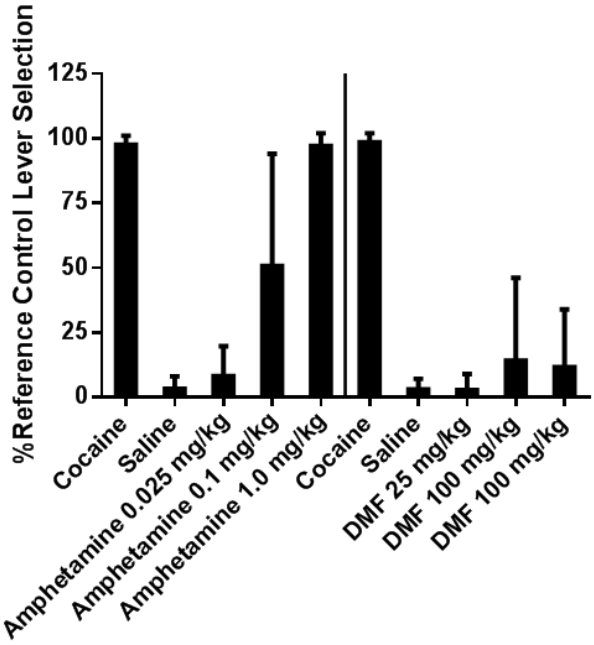
訓練及び薬物弁別試験セッションは標準的な 2 レバーオペラントチャンバーを用いて行った。レバー作動と連動して、レバーを押すごとに視覚的及び聴覚的な合図を出した。1 例当たりの各訓練セッションの長さは約 30 分であった。

第 1 相（フードペレット訓練）では、正しいレバーを作動する強化としてフードペレットを受けた。第 2 相（対照薬物）では、各訓練セッションの前 30 分にコカイン又は生理食塩液を腹腔内投与した。無誤訓練では、コカイン又は生理食塩液投与によって正しい一方のみのレバーを使用可能にした。各セッションの始めに、フードペレットを提示し、チャンバーライトをオンにし、視覚的（明かり）及び聴覚的（音）な合図を提示した。動物が訓練を完了したと判断された場合、第 3 相（対照薬物弁別試験）に移行した。コカイン又は生理食塩液を与えた後、両方のレバーを使用可能としたが、正しいレバー（コカイン又は生理食塩液）のみを FR 完了に加算した。第 4 相（陽性対照試験セッション）では、コカイン若しくは生理食塩液を受ける訓練セッション又は陽性対照として既知の向精神薬であるアンフェタミンを 0.025、0.1 及び 1.0 mg/kg で試験前 30 分

に腹腔内投与する試験セッションを日を変えて動物に受けさせた。アンフェタミン投与後、どちらのレバー（コカイン又は生理食塩液と関連付けたレバー）を押したかを記録した。第 5 相、DMF 試験セッションでは、コカイン若しくは生理食塩液を受ける訓練セッション又は DMF を 25、100、250 mg/kg で経口投与する試験セッションを日を変えて動物に受けさせた。試験セッション前 15 分に DMF を投与した。薬物弁別を評価するため、どちらのレバーを押したかを記録した。

薬物弁別訓練を受けた 32 例のうち 12 例が訓練を完了し、解析対象となった。予想通り、陽性対照であるアンフェタミンは対照薬物として用量依存性の増加を示した。DMF は、250 mg/kg まで、生理食塩液置換に近いレベルを示し、対照物質の置換に失敗した（図 10）。また、DMF 置換後、意義のある一般状態、体重及び摂餌量の変化は認められなかった。したがって、DMF は、250 mg/kg まで薬物弁別性を示さなかったと判断された。

図 10　最初の 20 回のレバー反応の薬物弁別試験結果の要約



Data source：[M4.2.3.7.4-2] P00012-14-01-Appendix 6-Summary Table

2.6.6.8.4　　代謝物の毒性試験

非臨床毒性試験に用いた被験物質の原薬ロットでは、2 つの代謝物レベルは低かった。MMF は 0.02～0.1%未満、FA は検出されないか又は 0.26%未満であった。したがって、これらの代謝物の安全性は非臨床試験で十分に確認された。

2.6.6.8.5　　不純物の毒性試験

非臨床安全性試験に用いた被験物質の原薬ロットでは、2 つの不純物、MMF（0.02～0.1%未満）及び FA（検出されないか又は 0.26%未満）はそれぞれ 0.3%以下及び 0.5%以下の規格以下であった。さらに、これら 2 つの不純物は、ラット及びヒトにおける in vivo の DMF の代謝物としても

確認されている（[M2.6.4.5.2]、[M2.7.2.2.3.1]参照）。したがって、これらの不純物の安全性は非臨床試験で十分に確認された。

2.6.6.8.6 Fumaderm で実施された試験

DMF（56%, w/w）及びフマル酸モノエチルを有効成分として含有する Fumaderm の非臨床安全性試験結果は、DMF の非臨床安全性についての補足的な情報となる。Fumaderm の原薬を用いて実施された非臨床試験の一覧を表 91 に示す。

表 91 Fumaderm の非臨床安全性試験（重要な試験）

タイトル	試験番号	CTD における記載箇所
安全性薬理試験		
マウスにおけるレセルピン誘発体温降下作用に対する Fumaderm（FD）原薬経口投与の影響の検討	5350/89	参考 [M4.2.1.3-1] [M2.6.2.5.1.1]
マウスにおける自発運動に対する Fumaderm（FD）原薬経口投与の影響の検討	5348/89	参考 [M4.2.1.3-2] [M2.6.2.5.1.2]
マウスにおける侵害刺激反応に対する Fumaderm（FD）原薬経口投与の影響の検討―ライジング試験	5356/89	参考 [M4.2.1.3-3] [M2.6.2.5.1.3]
マウスにおけるヘキソバルビタール麻酔作用に対する Fumaderm（FD）原薬経口投与の影響の検討	5351/89	参考 [M4.2.1.3-4] [M2.6.2.5.1.4]
麻酔ビーグル犬における心血管系パラメーター及び呼吸器系に対する Fumaderm（FD）原薬の十二指腸内投与の影響の検討	5354/89	参考 [M4.2.1.3-11]
反復投与毒性試験		
Sprague-Dawley ラットを用いた Fumaderm 原薬の 2 週間経口投与亜慢性毒性試験	5033/1/88	参考 [M4.2.3.2-13]
Sprague-Dawley ラットを用いた Fumaderm 原薬の 52 週間経口投与慢性毒性試験	7071/2/92	参考 [M4.2.3.2-14]
ビーグル犬を用いた Fumaderm 原薬の 52 週間経口投与慢性毒性試験	5035/2/89	参考 [M4.2.3.2-15]
遺伝毒性試験		
NMRI マウスを用いた Fumaderm 原薬投与における骨髄細胞小核試験	5409/89	参考 [M4.2.3.3.2-2]
Fumaderm 原薬の 52 週間経口投与慢性毒性試験終了時の Sprague-Dawley ラット脊髄細胞における染色体異常の発現率及び小核を有する多染性赤血球の発現率の評価	6500/90	参考 [M4.2.3.3.2-4]
生殖発生毒性試験		
Sprague-Dawley ラットにおける受胎能・生殖能及び第 2 世代への Fumaderm 原薬経口投与の影響に関する試験	5036/1/88	参考 [M4.2.3.5.1-3]
妊娠ウサギ及び胎児への Fumaderm 原薬経口投与の影響に関する試験	5038/1/88	参考 [M4.2.3.5.2-3]
妊娠ラット及び胎児への Fumaderm 原薬経口投与の影響に関する試験	5037/1/88	参考 [M4.2.3.5.2-4]
Sprague-Dawley ラットにおける出生前後及び出生後の発生に及ぼす Fumaderm 原薬経口投与の影響に関する試験：F0 世代の母動物への経口投与による出生児又は第 2 世代への影響	5039/1/88	参考 [M4.2.3.5.3-2]
局所刺激性試験		
Fumaderm 混合剤の Magnusson-Kligman 法によるモルモット皮膚感作性試験	6053/90	参考 [M4.2.3.6-1]
Fumaderm 原薬のウサギ結膜嚢点眼による急性眼刺激性試験	5384/89	参考 [M4.2.3.6-2]

Fumaderm®は、ドイツでは乾癬の治療薬として承認されている。この適応症を裏付けるために実施した Fumaderm の非臨床安全性試験には、ラット及びイヌを用いた最長 52 週間までの反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、及び標準的な組合せの生殖発生毒性試験が含まれる。げっ歯類を用いた 2 年間がん原性試験は実施されなかった。Fumaderm 試験でラット及びイヌに認められた変化は、DMF 試験で認められた変化と類似した。ラットでは、精巣、前胃及び腎臓が標的臓器として確認

された。Fumaderm を 65、195 及び 390 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回 52 週間投与後、精巣間細胞腺腫、前胃の乳頭腫及び癌、並びに慢性腎疾患（尿細管拡張、皮質の線維化並びに直尿細管及び糸球体への脂肪沈着）の発生率に用量依存的な増加が認められた。

イヌを用いた 28 日間反復投与毒性試験（2.6.6.3.3.2 項、試験番号 P00012-04-05）では、DMF 及び Fumaderm（いずれも 0.8% HPMC 懸濁液として投与）の経口投与後に観察された被験物質に関連した変化は削痩、嘔吐、皮膚の弛緩又は変色、流涎及び活動性低下で類似しており、持続的な嘔吐に関連した体重及び摂餌量の減少、リンパ組織の萎縮に関連した胸腺萎縮、胃のびらん、並びに栄養不良状態に起因する血行力学的変化を示した。

Fumaderm を用いたイヌにおける 52 週間毒性試験では、腎臓が標的臓器として確認された。この試験では、イヌに 30、60、及び 120 mg/kg/日の Fumaderm を 1 日 1 回投与（強制経口投与）した。腎臓における変化は、投与群における腎臓の軽微な混濁腫脹であった。Fumaderm の染色体異常誘発性は細胞毒性濃度でのみ観察され、遺伝毒性は認められなかった。DMF の試験結果に一致して、Fumaderm でも雌雄の受胎（授胎）能又は胎児の発生に対する有害な影響は認められず、催奇形性物質とは判断されなかった。以上、Fumaderm 原薬投与によって認められた変化は、DMF 投与試験で認められた変化と類似している。

2.6.6.9 考察及び結論

DMF の非臨床開発プログラムは広範にわたって実施されており、本薬の毒性を適切に特徴づけている。DMF は内因性化合物であるフマル酸に代謝され、フマル酸は細胞呼吸を行う全細胞に遍在する TCA 回路によってさらに代謝される。フマル酸の毒性については十分に知られている（European Commission, Report）。フマル酸及びその誘導体は、内因性の TCA 回路代謝産物であると同時に、食品添加物、医薬品添加物、農薬及び防カビ剤として承認されている化合物でもある。Fumaderm®は DMF（56 %、w/w）及びフマル酸モノエチル（カルシウム塩、マグネシウム塩及び亜鉛塩）を有効成分として含有し、現在、ドイツでは抗乾癬薬として販売されている。

DMF の評価は、急性毒性試験（単回投与）、亜慢性毒性試験（4～13 週間）、慢性毒性試験（6～12 ヵ月）、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、ラットを用いた腎バイオマーカー探索試験、幼若動物を用いた毒性試験及び薬物乱用に関する試験で行った。これらの試験の大部分では、HPMC 懸濁液で調製した DMF を経口投与した。臨床製剤（ゼラチンカプセルにマイクロ錠を充填）はイヌを用いた 1 日 2 回投与試験で評価した。DMF の標的臓器は、胃（マウス及びラット）、精巣（ラット及びイヌ）並びに腎臓（マウス、ラット、イヌ、カニクイザル）である。DMF の非臨床所見は Fumaderm で報告された所見と類似している。

前胃はラット及びマウスにおける DMF の標的臓器として確認された。ラットの反復投与毒性試験で過形成、角化亢進、炎症、潰瘍及び扁平上皮癌が観察されており、ラット及びマウスの 2 年間がん原性試験では前胃の腫瘍が認められている。

げっ歯類の前胃は、胃の近位 2/3 を占め、食道と連続している。また、前胃は微生物叢が定着した貯蔵器官であり、pH の変化にさらされている。このため、溶液又は懸濁液として経口投与された物質は、長い時間、前胃上皮に直接接触する。米国 National Toxicology Program の対照データベースによると、げっ歯類における前胃腫瘍の自然発生率はわずか約 0.1%であるが（Haseman et al., 1993）、前胃は 2 年間試験で腫瘍発生がよくみられる部位である。DMF は遺伝毒性を有さないことが示されていることから、ラットに認められた腫瘍発生作用は、組織学的に観察された炎症過程に続発したものと考えられる。

前胃の変化は限局性であり、懸濁液中の DMF との直接的な接触に起因すると考えられる。また、DMF が前胃の内側の上皮細胞において Nrf2 抗酸化応答経路を活性化させる可能性も考えられる。Nrf2 経路の恒常的な活性化を示す遺伝的改変マウス、及び Nrf2 経路を活性化させることが知られている生体異物を投与したげっ歯類で同様の前胃変化が観察されていることから（Wakabayashi et al., 2003）、げっ歯類のこの臓器は特有の感受性を有していると考えられる。しかし、発症機序にかかわらず、非げっ歯類又はヒトには、前胃に直接相当する器官がない。非げっ歯類及びヒトの食道及び口腔の一部の上皮細胞はラット前胃の上皮細胞に類似するが、非げっ歯類の食道には DMF に関連する変化は認められていない。

DMF は、胃粘膜への曝露をできる限り少なくするためゼラチンカプセルに腸溶性コーティングマイクロ錠を充填した腸溶性製剤であるため、ヒトでは、非臨床試験で使用した即放性製剤（懸濁

液）に比べて胃毒性が軽減されると予測される。臨床用カプセル製剤を用いたイヌの 11 ヵ月間投与試験では、胃の病理組織学的検査及び試験中に発現した嘔吐から示された胃への影響により、即放性製剤に比べて忍容性が高いことが示されている。

精巣はラット及びイヌにおける DMF の標的臓器であり、イヌでは精細管上皮の可逆性の変性、ラットの 2 年間がん原性試験では精細管上皮の変性、間細胞過形成及び腺腫が認められている。DMF の精巣への影響は、ラットの 3 ヵ月間又は 6 ヵ月間投与試験、カニクイザルの慢性試験、又はマウスの 2 年間がん原性試験では認められていない。雄授胎能試験では、DMF を投与したすべての雄に軽微から軽度の多巣性間細胞過形成が観察されたが、受胎能に対する影響は認められなかった。げっ歯類は、ヒト及び他の動物種と比べて間細胞腫を発生しやすい。このげっ歯類固有の感受性は、ラットのライディヒ細胞における黄体形成ホルモン（LH）受容体の過多、及び視床下部-下垂体-性腺軸における負のフィードバックによる LH の産生過剰によって、LH 刺激の小さな変化に対する感受性が高まる機序を介したものである。さらに、精巣の変化は特に雄生殖器系への影響に焦点を合わせた雄のみの幼若動物毒性試験では認められなかった。イヌでは、精巣への影響は、特に高用量投与群で、DMF に関連した意義のある体重減少により、明らかにならなかった。

精巣への影響は、カニクイザルでは認められなかった。試験開始時に全動物が性成熟に完全に達していなかったと考えられるが、1 年間の投与期間後に精巣に変化がみられなかったことは、毒性学的に意義がある。また、マウスのがん原性評価でも、精巣への影響は認められなかった。

多数の環境要因、食物及び医薬品がラットのアンドロゲンシグナリングを低下させ、間細胞の増殖性病変を発生させることが認められているが、ヒトは、ラットと比べて、LH 活性の変動に対する感受性が低いと考えられる（Cook et al., 1999）。ヒトの男性におけるすべての腫瘍の 1%が精巣の腫瘍であり、そのうち、ライディヒ細胞種（LCT）は発生が非常にまれで、男性の精巣腫瘍全体のわずか 1～3%を占めているに過ぎないが（Prentice and Meikle, 1995）、ラットの LCT の発生率は、F344 系ラットにおけるほぼ 100%から Sprague Dawley（SD）ラットにおける 4.2%の範囲にある（Nolte et al., 2011）。SD ラットは、DMF の毒性試験及びがん原性試験に使用した系統である。げっ歯類に特異的な精巣の変化に対するラットの感受性、雄授胎能に対する影響が認められないこと、イヌ試験で観察された体重減少及び他の反復投与ラット毒性試験で認められた投与への関連性の無い間細胞過形成を考慮すると、精巣の変化は、ヒトでのリスクが低いと考えられた。

腎臓は、複数の動物種における DMF 毒性の標的臓器である。動物種及び投与期間により広範な変化が観察され、尿細管上皮の再生が全動物種に共通して認められた。腎臓の変化は、反復投与試験では、休薬後に可逆的な傾向を示した。しかし、カニクイザルでは、12 ヵ月間投与後、MRHD での曝露量の約 6 倍の曝露量（AUC）を示した高用量群の雄 6 例中 2 例に尿細管上皮の線維化が観察され、1 例では BUN 及びクレアチニンの変化と関連した。探索的毒性試験で確認された時間及び用量依存性のない尿細管上皮の変性は、他の試験では観察されなかった。

げっ歯類の 2 年間がん原性試験では、腎腫瘍発生率の増加が認められた。遺伝毒性試験では、DMF 及び MMF はともに陰性であった。Pathology Working Group（PWG）は、これら試験の腎腫瘍発現

率について、独立した専門家の見解を提供した。DMF 投与は、ラットの反復投与毒性試験並びにラット及びマウスのがん原性試験で、げっ歯類に特異的な加齢性腎症を用量依存性に悪化させた、と評価された。慢性進行性腎症（CPN）は、よく知られた自然発生性、加齢性の疾患であり、一般的に毒性試験に用いられる Sprague-Dawley ラット（DMF 試験に使用した系統）（Seely and Hard, 2008, Hard, 2009）及びその他の系統のラットに多発する。これらの系統の雄はより発症しやすく、DMF の試験結果もこれに一致している。CPN はラットに頻発する原因不明の単一の腎疾患であり、寿命への影響及び他の影響によって発現する尿細管毒性と組織学的に類似することの両面から、亜慢性試験及びがん原性試験の解釈を困難にし得る。この疾患の後期では、尿細管腫瘍発生率の増加も伴う。

CPN の悪化によってラットに腎腫瘍発生を促進する化合物は、ヒトでのリスクには関連しないと考えられる（Hard, 2009, Hard and Khan, 2004）。マウスもまた、加齢性腎症を発症しやすく、がん原性試験で、DMF がこの腎症の重症度を悪化させることが示された。マウスはラットほど加齢性腎症に対する感受性が高くはないと考えられ、また、マウスの加齢性腎症を増悪させる生体異物はラットより少ないが、DMF の試験では、マウス（特に雄）で用量依存性の腎症の重症度の変化と腎腫瘍発生率間に関連性が認められた。この結果は、マウスにおける腎臓腫瘍発生過程がラットに類似している可能性があることを示している。腎臓の変化は、反復投与試験の全動物種に観察されたが、げっ歯類のがん原性試験では、DMF に関連した尿細管への影響の有無にかかわらず、加齢性腎症の悪化が腎障害発現の重要な原因であった可能性がある。ヒトでは、腎臓にこれに類似する加齢性腎症はみられないことから（Hard, 2009）、腎腫瘍はヒトでの懸念は限定的であると考えられる。

マウスの 2 年間がん原性試験では、網膜変性に用量依存性の増加が認められた。網膜変性は、CD-1 マウスではよくみられる背景病変であるが（Serfilippi et al., 2004）、発現率に投与に関連した増加が認められた。ラット、イヌ又はカニクイザルでは網膜の変化は観察されず、眼科学的検査での変化は認められなかったため、この網膜の変化は種特異的であると考えられた。

尿細管の変化は、複数の動物種で狭い安全域で認められたため、DMF による腎障害を簡便にモニタリングできるかどうかを検討することは重要であった。この目的で、腎毒性の非侵襲性バイオマーカー候補を見つけるために、ラットで探索試験を実施した。この試験の実施時、尿中 NAG、β2M、KIM-1 及びアルブミンが腎障害のバイオマーカーとして評価されていたことから、これらを試験に組み込んだ。この探索試験により、ラットモデルにおける DMF 腎障害マーカーとして尿中アルブミンが確認された。尿中アルブミンは、DMF に関連した腎臓の変化が軽度の時点で、腎臓の Ki-67 染色によって確認された細胞増殖の増加と関連したため、ラットにおける DMF による腎損傷の高感度のバイオマーカーとして確認された。これらの結果に基づき、第 III 相試験では、より幅広い尿中バイオマーカーを腎障害マーカーとして採用したが、DMF に関連した腎臓への影響は認められなかった。したがって、げっ歯類に特異的な腎症のげっ歯類の腫瘍発生に対する影響及び DMF 投与 MS 患者に、DMF に関連した尿細管への影響が認められなかったことを考慮すると、ヒトでのリスクに対するげっ歯類の腎臓腫瘍発現の意義は低いと考えられる。

ラットで観察された DMF に関連した肝臓の変化は、毒性学的に意義のある変化ではなく、げっ歯類に特異的な変化であると判断された。この変化は、長期投与後に雌ラットに観察され、軽微であり、休薬により可逆性を示すか（胆管過形成）又は発現率が低下した（肝細胞の壊死）。また、DMF に関連した肝臓の変化は他の動物種では観察されていない。肝臓への影響については、被験者では肝機能をモニタリングすることにより対応している。

DMF は、ラット及びウサギでは受胎能への影響が認められなかったことから、発生毒性を有するとは考えられない。DMF 投与により、母動物の体重減少、ウサギにおける流産発生率の増加、胎児の低体重、胎児の四肢骨の骨化遅延（変異）並びに雄における包皮分離の遅延が認められた。しかし、ウサギにおける流産率の増加、ラットにおける胎児の体重減少、ラットにおける骨化遅延及び性成熟遅延は、経口投与液の忍容性不良に起因した母動物の体重減少によるものである。

幼若動物毒性試験では、胃への局所刺激による体重減少が認められた。高用量の DMF では、動物の体重減少による二次的な影響の可能性のある包皮分離の遅延が認められた。前胃及び腎臓の変化は成熟動物で認められた変化に類似していた。最高用量の雄の体重への影響による発育遅延以外、生殖、性成熟及び神経行動学的毒性は認められなかった。

雄ラットの薬物乱用に関する試験（自己投与試験及び薬物弁別試験）では、DMF は、自己投与行動を維持せず、また、薬物弁別作用を有さないことが示された。DMF では薬物乱用のリスクは低いと判断された。

以上、DMF の非臨床安全性試験は BG00012 の製造販売承認申請を十分に裏付けるものである。前胃、精巣、腎臓及び肝臓が標的臓器として確認された。DMF に関連した変化に対する安全域は狭いが、肝臓、前胃、精巣、及び腎腫瘍については種特異性を考慮すると、ヒトでのリスク評価における意義が低いと考えられ、また、腎臓への影響については、腎尿細管障害のモニタリングを行うこと並びに臨床・市販後に重篤な腎毒性は認められていないことによって担保される。

2.6.6.10 参考文献

Ames BN, Durston WE, Yamasaki E, et al. Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. Proc Natl Acad Sci U S A. 1973; 70(8): 2281-2285. [M4.3-4]

Ames BN, McCann J, Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. Mutat Res 1975; 31(6): 347-364. [M4.3-5]

Bonventre JV, Vaidya VS, Schmouder R, et al. Next-generation biomarkers for detecting kidney toxicity. Nat Biotechnol 2010; 28 (5): 436-440. [M4.3-8]

Chang B, Hawes NL, Hurd RE, et al. Retinal degeneration mutants in the mouse. Vision Res 2002; 42(4): 517-525. [M4.3-13]

Chang B, Mandal MN, Chavali VR, et al. Age-related retinal degeneration (arrd2) in a novel mouse model due to a nonsense mutation in the Mdm1 gene. Hum Mol Genet 2008; 17(24): 3929-41. [M4.3-14]

Clegg ED, Cook J.C, Chapin RE, et al. Leydig cell hyperplasia and adenoma formation: mechanisms and relevance to humans. Reprod Toxicol 1997; 11(1): 107-121. [M4.3-18]

Cook JC, Klinefelter GR, Hardisty JF, et al. Rodent Leydig cell tumorigenesis: a review of the physiology, pathology, mechanisms, and relevance to humans. Crit Rev Toxicol 1999; 29(2): 169-261. [M4.3-20]

Critical Path Institute (2008 and 2010). Conclusions of the EMA, FDA and PMDA biomarker qualification and reviews. http://c-path.org/programs/pstc/pstc-tools/ [M4.3-21]

Dierterle F, Sistare F, Goodsaid F, et al. Renal biomarker qualification submission: A dialog between the FDA-EMEA and Predictive Safety Testing Consortium. Nat Biotechnol 2010; 28(5): 455-462. [M4.3-23]

European Commission, Report of the Scientific Committee on Animal nutrition on the safety of fumaric acid. (adopted on 22 January 2003) [M4.3-26]

Faridy EE. Pressure-volume characteristics of lungs of rats during pregnancy and postpartum. Respir Physiol 1981; 43: 43-58 [M4.3－109].
Galloway SM. Cytotoxicity and chromosome aberrations in vitro: experience in industry and the case of for an upper limit on toxicity in the aberration assay. Environ Mol Mutagen 2000; 35(3): 191-201. [M4.3-29]

Hard GC, Johnson KJ, Cohen SM. A comparison of rat chronic progressive nephropathy with human renal

disease-implications for human risk assessment. Crit Rev Toxicol 2009; 39(4): 332-346. [M4.3-35]

Hard GC, Kahn KN. A contemporary overview of chronic progressive nephropathy in the laboratory rat, and its significance in human risk assessment. Toxicol Pathol. 2004; 32(2): 171-180. [M4.3-36]

Haschek WM, Rousseaux CG, and Wallig MA. Kidney and lower urinary tract. In Fundamentals of Toxicologic Pathology. 2nd ed. London: Academic Press. 2010: 261-318. [M4.3-37]

Haseman JK, Lockhart AM. Correlations between chemically related site-specific carcinogenic effects in long-term studies in rats and mice. Environ Health Perspect 1993; 101(1): 50-54. [M4.3-38]

Hilliard CA, Armstrong MJ, Bradt CI, et al. Chromosome aberrations in vitro related to cytotoxicity of nonmutagenic chemicals and metabolic poisons. Environmental and Molecular Mutagenesis 1998; 31(4): 316-326. [M4.3-40]

Hubert MF, Gerin G, Durand-Cavagna G. Spontaneous ophthalmic lesions in young Swiss mice. Lab Anim Sci 1999; 49(3): 232-240. [M4.3-42]

Kirkland DJ, Müller L. Interpretation of the biological relevance of genotoxicity test results: the importance of thresholds. Mutat Res 2000; 464(1): 137-147. [M4.3-51]

Maron DM, Ames BN. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutat Res 1983; 113(3-4): 173-215. [M4.3-67]

Nolte T, Rittinghausen S, Kellner R, et al. RITA--Registry of industrial toxicology animal data: the application of historical control data for Leydig cell tumors in rats. Exp Toxicol Pathol 2011; 63(7-8): 645-656. [M4.3-72]

Prentice DE, Meikle AW. A review of drug-induced Leydig cell hyperplasia and neoplasia in the rat and some comparisons with man. Hum Exp Toxicol 1995; 14(7): 562-572. [M4.3-77]

Rubin BS. Hypothalmic alterations and reproductive aging in female rats: evidence of altered luteinizing hormone-releasing hormone neuronal function. Biology of Reproduction 2000; 63 (4): 968-976. [M4.3-108]

Seely JC, Hard GC. Chronic progressive nephropathy (CPN) in the rat: review of pathology and relationship to renal tumorigenesis. J Toxicol Pathol 2008; 21(4): 199-205. [M4.3-82]

Serfilippi LM, Pallman DR, Gruebbel MM, et al. Assessment of retinal degeneration in outbred albino mice. Comp Med 2004; 54(1): 69-76. [M4.3-84]

Shams PN, Plant GT. Optic neuritis: a review. Int MS J 2009; 16(3): 82-89. [M4.3-85]

Silver J, Sela SB, Naveh-Many T. Regulation of parathyroid cell proliferation. Curr Opin Nephrol Hypertens 1997; 6(4): 321-326. [M4.3-86]

Thudium D, Adams D, Sellers T, et al. Urinary albumin as a sensitive marker for nephropathy in aged male rats. Presented at the American Society for Veterinary Clinical Pathology Scientific Session II, December 2001. [M4.3-94]

Vaidya VS, Ozer JS, Dieterle F, et al. Kidney injury molecule-1 outperforms traditional biomarkers of kidney injury in preclinical biomarker qualification studies. Nat Biotechnol. 2010 May; 28(5): 478-485. [M4.3-98]

Wakabayashi N, Itoh K, Wakabayashi J, et al. Keap1-null mutation leads to postnatal lethality due to constitutive Nrf2 activation. Nat Genet 2003; 35(3): 238-245. [M4.3-102]

Yu Y, Jin H, Holder D, et al. Urinary biomarkers trefoil factor 3 and albumin enable early detection of kidney tubular injury. Nat Biotechnol. 2010 May; 28(5): 470-477. [M4.3-107]

テクフィデラカプセル 120mg
テクフィデラカプセル 240mg

第 2 部（モジュール 2）: CTD の概要（サマリー）

2.6.7　毒性試験概要表

バイオジェン・ジャパン株式会社

目次

頁
2.6.7.1. 毒性試験：一覧 4
2.6.7.2. トキシコキネティクス試験：一覧 10
2.6.7.3. トキシコキネティクス試験プロファイル 11
2.6.7.4. 毒性試験に用いた原薬 40
2.6.7.5. 単回投与毒性試験 45
2.6.7.6. 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験） 47
2.6.7.7. 反復投与毒性試験 49
2.6.7.7A 反復投与毒性試験 49
2.6.7.7B 反復投与毒性試験 54
2.6.7.7C 反復投与毒性試験 58
2.6.7.7D 反復投与毒性試験 62
2.6.7.7E 反復投与毒性試験 66
2.6.7.8. 遺伝毒性試験 in vitro 69
2.6.7.8A 遺伝毒性試験 in vitro 69
2.6.7.8B 遺伝毒性試験 in vitro 71
2.6.7.8C 遺伝毒性試験 in vitro 74
2.6.7.8D 遺伝毒性試験 in vitro 76
2.6.7.8E 遺伝毒性試験 in vitro 78
2.6.7.8F 遺伝毒性試験 in vitro 84
2.6.7.9. 遺伝毒性試験 in vivo 86
2.6.7.10. がん原性試験 87
2.6.7.10A がん原性試験 87
2.6.7.10B がん原性試験 92
2.6.7.11. 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 98
2.6.7.12. 生殖発生毒性試験 99
2.6.7.12A 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 99
2.6.7.12B 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 103
2.6.7.13. 生殖発生毒性試験 105
2.6.7.13A 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験 105
2.6.7.13B 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験 107
2.6.7.14. 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 109
2.6.7.15. 幼若動物を用いた試験 113
2.6.7.15A 幼若動物を用いた試験 113
2.6.7.15B 幼若動物を用いた試験 115
2.6.7.16. 局所刺激性試験 121
2.6.7.17. その他の毒性試験 122

2.6.7.17A その他の毒性試験：毒性学的薬物相互作用試験 122
2.6.7.17B その他の毒性試験：毒性学的薬物相互作用試験 125
2.6.7.17C その他の毒性試験：腎毒性バイオマーカー探索試験 127
2.6.7.17D その他の毒性試験：薬物乱用に関する非臨床試験 130
2.6.7.17E その他の毒性試験：薬物乱用に関する非臨床試験 131

2.6.7.1. 毒性試験：一覧

被験物質：フマル酸ジメチル

試験の種類	動物種及び系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	GLP 適用	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
単回投与毒性試験								
	マウス NMRI/ HAN Bö (SPF)（雄3/雌3/群）	強制経口（胃管）	単回投与	316, 681, 1000, 1210, 1470	適	[redacted]	PD05-27	参考 [M4.2.3.1-1]
	マウス NMRI/ HAN Bö (SPF)（雄3/雌3/群）	腹腔内	単回投与	316, 464, 681, 825, 1000, 1470	適	[redacted]	PD05-24	参考 [M4.2.3.1-2]
	ラット Sprague Dawley/ Tif:RAI f (SPF) /Crl:CD (SD) IGS BR（雄3/雌3/群）	強制経口（胃管）	単回投与	681, 1470, 2150, 2610 (雌のみ), 3160, 4640 (雄のみ), 6810 (雄のみ)	適	[redacted]	PD05-25	参考 [M4.2.3.1-3]
	ラット Sprague Dawley/ Tif:RAI f (SPF) /Crl:CD (SD) IGS BR（雄3/雌3/群）	腹腔内	単回投与	316, 681, 825 (雌のみ), 1000, 1470 (雄のみ)	適	[redacted]	PD05-26	参考 [M4.2.3.1-4]
反復投与毒性試験								
	マウス/ C57BL/6（雄 6/雌 6/群）	強制経口	28 日間	0, 50, 100, 250, 400	適	[redacted]	P00012-04-02	[M4.2.3.2-1]
	マウス/ CD-1 [Crl:CD-1®(ICR)Br]（毒性：雄20/雌20/群）（回復：雄5/雌5/群）（TK：雄15/雌15/群）	強制経口	13 週間	0, 50, 200, 400	適	[redacted]	P00012-04-10	[M4.2.3.2-2]
	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD)IGS BR（毒性 : 雄 10/雌 10/群）（回復 : 雄 5/雌 5/群）（TK：雄 3/雌 3/群）	強制経口	90 日間	0, 50, 100, 250（回復性評価を含む）, 500	適	[redacted]	P00012-04-01	[M4.2.3.2-3]
	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（毒性 : 雄15/雌15/群）（回復：雄5/雌5/群）	強制経口	26 週間	0, 25, 100, 200	適	[redacted]	P00012-04-06	[M4.2.3.2-4]
	イヌ ビーグル（雄 2/雌 2/群）	経口（カプセル）	3 週間	25, 50, 75, 100, 125	非適用	[redacted]	P00012-05-04	参考 [M4.2.3.2-5]

2.6.7.1 毒性試験：一覧

（続き）　被験物質：フマル酸ジメチル

試験の種類	動物種及び系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	GLP 適用	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
	イヌ ビーグル（毒性：雄4/雌4/群）（回復：雄3/雌3/群）	強制経口	28 日間	DMF：0, 50, 100, 250 Fumaderm：180/60[1]	適	[redacted]	P00012-04-05	[M4.2.3.2-6]
	イヌ ビーグル（毒性：雄4/雌4/群）（回復：雄2/雌2/群）	カプセル	11 ヵ月間	0, 5, 25, 75/50[1]	適	[redacted]	P00012-05-05	[M4.2.3.2-7]
	サル カニクイザル（雌4/群）	強制経口	2 週間	0, 5, 25, 75/100/125[2]	非適用	[redacted]	P00012-05-07	参考 [M4.2.3.2-8]
	サル カニクイザル（毒性：雄4/雌4/群）（回復：雄2/雌2/群）	経鼻胃管	52 週間	0, 5, 25, 75	適	[redacted]	P00012-05-08	[M4.2.3.2-9]
遺伝毒性試験								
	Salmonella typhimurium strains; TA 1535, TA 1537, TA 1538, TA 98, TA 100	In vitro 代謝活性化なし/あり	-	初回試験（Assay #1）/確認試験（Assay #2）： -S9: 3.16, 10, 31.6 100, 316, 1000, 3160 µg/plate +S9: 3.16, 10, 31.6 100, 316, 1000, 3160, 10000 µg/plate	適	[redacted]	5403/89	[M4.2.3.3.1-1]
[3]	*Salmonella* (TA98, TA100, TA1535, TA1537), *E. coli* strain (WP2*uvrA*)	In vitro 代謝活性化なし/あり	-	初回試験（Assay #1）： ±S9: 1.6, 5, 16, 50, 160, 500, 1600, 5000 µg/plate 確認試験（Assay #2）： ±S9: 50, 160, 500, 1600, 3330, 5000 µg/plate	適	[redacted]	P00012-08-02	[M4.2.3.3.1-2]

2.6.7.1 毒性試験：一覧

（続き）　被験物質：フマル酸ジメチル

試験の種類	動物種及び系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	GLP適用	実施施設	試験番号	CTDにおける記載箇所
	チャイニーズハムスター肺細胞（CHO細胞）(V79)	In vitro 代謝活性化なし/あり	-	初回試験（Assay #1）： -S9: 0.3, 1, 3, 10, 30 µg/mL +S9: 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/mL 確認試験（Assay #2）： -S9: 0.3, 1, 3, 10, 30 µg/mL +S9: 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/mL	適	[redacted]	5405/89	[M4.2.3.3.1-3]
	培養ヒト末梢血リンパ球	In vitro 代謝活性化なし/あり	-	初回試験（Assay #1）： -S9: 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25 µg/mL +S9: 12.5, 25, 50, 100 µg/mL 確認試験（Assay #2）： -S9: 3.13, 6.25, 12.5, 25.0 µg/mL +S9: 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 150 µg/mL	非適用[4]	[redacted]	5407/89	参考 [M4.2.3.3.1-4]
	培養ヒト末梢血リンパ球	In vitro 代謝活性化なし/あり	-	初回試験（Assay #1）： ±S9: 20.8, 29.7, 42.4, 60.5 µg/mL 確認試験（Assay #2）： -S9: 0.938, 1.88, 3.75, 7.5 µg/mL +S9: 30, 40, 50, 60 µg/mL	適	[redacted]	P00012-04-16	[M4.2.3.3.1-5]
[3]	培養ヒト末梢血リンパ球	In vitro 代謝活性化なし/あり	3 時間 22 時間	初回試験（Assay #1）： -S9: 0.153, 312, 446 µg/mL +S9: 74.9, 153, 218 µg/mL 確認試験（Assay #2）： -S9: 20.2, 28.8, 41.0 µg/mL +S9: 100, 156, 245 µg/mL	適	[redacted]	P00012-08-03	[M4.2.3.3.1-6]

2.6.7.1 毒性試験：一覧

（続き）　被験物質：フマル酸ジメチル

試験の種類	動物種及び系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	GLP 適用	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
	ラット Sprague Dawley/Crl:CD(SD)IGS BR（雄6/群）	強制経口	単回投与	0, 250, 500, 1000	適	[redacted]	P00012-04-04	[M4.2.3.3.2-1]
がん原性試験								
	マウス CD-1 [Crl:CD-1®(ICR)Br] （毒性：雄75/雌75/群）（TK：対照群；雄12/雌12、投与群；雄30/雌30/群）	強制経口	2 年間	0, 25, 75, 200, 600/400[5]	適	[redacted]	P00012-05-03	[M4.2.3.4.1-1]
	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（毒性：雄75/雌75/群）（TK：雄15/雌15）	強制経口	2 年間	0, 25, 50, 100, 150	適	[redacted]	P00012-04-11	[M4.2.3.4.1-2]
生殖発生毒性試験								
Segment I 授胎能試験	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（雄25/投与群、雌非投与25/群）	強制経口	70 日間+同居飼育	0, 75, 250, 375	適	[redacted]	P00012-04-03	[M4.2.3.5.1-1]
Segment I 受胎能試験	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（雌25/投与群、雄非投与25/群）	強制経口	DG 7 まで 21 日間の同居飼育期間	0, 25, 100, 250	適	[redacted]	P00012-10-01	[M4.2.3.5.1-2]
Segment II 胚・胎児発生試験	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（毒性：雌25/群）（TK：雌3/対照群、雌6/投与群）	強制経口	DG7～DG17	0, 25, 100, 250	適	[redacted]	P00012-06-02	[M4.2.3.5.2-1]

2.6.7.1 毒性試験：一覧

（続き）　被験物質：フマル酸ジメチル

試験の種類	動物種及び系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	GLP 適用	実施施設	試験番号	CTD における記載箇所
Segment II 胚・胎児発生試験	ウサギ New Zealand White (NZW)（毒性：雌20/群）（TK：雌3/群）	強制経口	DG7～DG19	0, 25, 75, 150	適	[redacted]	P00012-06-01	[M4.2.3.5.2-2]
Segment III 出生前・出生後発生試験	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（毒性：雌25/群）	強制経口	DG7～DL20 又は DG24	0, 25, 100, 250	適	[redacted]	P00012-09-02	[M4.2.3.5.3-1]
幼若動物を用いた試験（雄のみ）	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（毒性：雄30/群）（TK：雄27/群）	強制経口	PND28～92（62 日間）	0, 50, 140, 375 QD	適	[redacted]	P00012-12-02	[M4.2.3.5.4-1]
幼若動物を用いた試験	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（毒性：雄15/雌15/群）（回復：雄20/雌20/群）	強制経口	PND28～93	0, 5, 15, 50, 140 QD	適	[redacted]	P00012-14-02	[M4.2.3.5.4-2]
その他の毒性試験								
薬物毒性学的薬物相互作用	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（毒性：雄10/雌10/群）（回復：雄5/雌5/群）（TK：雄3/雌2/対照群、雄9/雌9投与群）	強制経口	90 日間	0, 100 DMF, 0.5 メトトレキサート, 25 DMF + 0.5 メトトレキサート, 100 DMF+ 0.5 メトトレキサート	適	[redacted]	P00012-07-02	[M4.2.3.2-10]
薬物毒性学的薬物相互作用	サル カニクイザル（雄6/雌6/群）	経鼻胃管	90 日間	0, 25 DMF, 0.5 メトトレキサート, 25 DMF + 0.5 メトトレキサート, 5 DMF + 0.5 メトトレキサート	適	[redacted]	P00012-07-01	[M4.2.3.2-11]

2.6.7.1 毒性試験：一覧

（続き）　被験物質：フマル酸ジメチル

試験の種類	動物種及び系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	GLP適用	実施施設	試験番号	CTDにおける記載箇所
探索的試験	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（毒性：雄5/群）（回復：雄5/群）	強制経口	14日間	0, 83 TID, 250 QD, 陽性対照：50 gentamicin (QD SC)	非適用	Biogen Inc	PD08-03	参考 [M4.2.3.7.7-1]
探索的試験	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（毒性：雄10/雌10/群）（回復：雄5/雌5/群）（サテライト：雄3/雌3/群）	強制経口	14週間	0, 50 BID, 100 QD, 250 QD	適	[redacted]	P00012-08-01	[M4.2.3.2-12]
探索的試験	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（毒性：雄10/群）（回復：雄10/群）	強制経口	75日間	0, 100 QD	非適用	[redacted]	P00012-09-01	参考 [M4.2.3.7.7-2]
薬物乱用試験—自己投与	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（雄5～8/群）	静脈内投与	NA	0, 0.625, 1.25, 2.5/投与	適	[redacted]	P00012-13-07	[M4.2.3.7.4-1]
薬物乱用試験—薬物弁別	ラット Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR（雄15～17/群）	強制経口	NA	25, 100, 250	適	[redacted]	P00012-14-01	[M4.2.3.7.4-2]

[1] 投与量を減少した。
[2] 1～8日目は75 mg/kg/日で投与し、9日目は休薬し、10日目は100 mg/kg/日及び11日目～15日目は125 mg/kg/日で投与した。
[3] 試験はDMFの活性代謝物であるMMFを用いて実施した。
[4] 1989年試験実施時はGLP適用試験であったが、現在の規制要件に遵守していなかったため、再試験を行った（試験番号P00012-04-16）。
[5] 死亡例が過度であったため、投与5日目に600 mg/kg/日の投与を中断し、投与9日目に400 mg/kg/日で投与を再開した。
[redacted] = [redacted]、[redacted] = [redacted]
TK：トキシコキネティクス、DG：妊娠日齢、DL：授乳日齢、TID：1日3回、BID：1日2回、QD：1日1回、SC：皮下に、NA：該当せず、PND：出生後日数、DMF：フマル酸ジメチル、MMF：フマル酸モノメチル

2.6.7.2. トキシコキネティクス試験：一覧

トキシコキネティクス試験の一覧表　　被験物質：フマル酸ジメチル

試験の種類	試験系	投与方法	用量 (mg/kg)	GLP 適用	試験番号	CTD における 記載箇所
28 日間用量設定試験	マウス/C57BL/6	強制経口	0, 50, 100, 250, 400	適	P00012-04-02	M4.2.3.2-1
13 週間用量設定試験	マウス/CD-1	強制経口	0, 50, 200, 400	適	P00012-04-10	M4.2.3.2-2
2 年間がん原性試験	マウス/CD-1	強制経口	0, 25, 75, 200, 600/400	適	P00012-05-03	M4.2.3.4.1-1
3 か月間反復投与毒性試験	ラット/SD	強制経口	0, 50, 100, 250, 500	適	P00012-04-01	M4.2.3.2-3
6 か月間反復投与毒性試験	ラット/SD	強制経口	0, 25, 100, 200	適	P00012-04-06	M4.2.3.2-4
2 年間がん原性試験	ラット/SD	強制経口	0, 25, 50, 100, 150	適	P00012-04-11	M4.2.3.4.1-2
生殖発生毒性試験	ラット/SD	強制経口	0, 25, 100, 250	適	P00012-06-02	M4.2.3.5.2-1
90 日間メトトレキサート併用による薬物毒性学的薬物相互作用試験	ラット/SD	強制経口	DMF – 0, 25, 100 メトトレキサート – 0.5	適	P00012-07-02	M4.2.3.2-10
幼若動物毒性試験（雄のみ）	ラット/SD（雄）	強制経口	0, 50, 140, 375	適	P00012-12-02	M4.2.3.5.4-1
幼若動物毒性試験	ラット/SD	強制経口	0, 5, 15, 50, 140	適	P00012-14-02	M4.2.3.5.4-2
生殖発生毒性試験	ウサギ/ NZW	胃管	0, 25, 75, 150	適	P00012-06-01	M4.2.3.5.2-2
28 日間用量設定試験	ビーグル犬	強制経口	0, 50, 100, 250	適	P00012-04-05	M4.2.3.2-6
3 週間用量漸増/忍容性試験	ビーグル犬	カプセル	25, 50, 75, 100, 2x37.5, 2x50, 2x62.5	非適用	P00012-05-04	参考 M4.2.3.2-5
11 ヵ月反復投与毒性試験	ビーグル犬	カプセル	BID - 0, 5, 25, 75/50	適	P00012-05-05	M4.2.3.2-7
14 日間用量設定試験	カニクイザル	経鼻胃管	0, 5, 25, 75/100/125	非適用	P00012-05-07	参考 M4.2.3.2-8
1 年間反復投与毒性試験	カニクイザル	経鼻胃管	0, 5, 25, 75	適	P00012-05-08	M4.2.3.2-9
90 日間メトトレキサート併用による薬物毒性学的薬物相互作用試験	カニクイザル	強制経口	DMF – 0, 5, 25 メトトレキサート – 0.5	適	P00012-07-01	M4.2.3.2-11

DMF：フマル酸ジメチル、BID：1 日 2 回

2.6.7.3. トキシコキネティクス試験プロファイル

トキシコキネティクス成績の一覧 被験物質：フマル酸ジメチル

単回又は初回投与後 AUC (mg·h/L)-1

1 日投与量	マウス				ラット			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
25 mg/kg	2.90	3.40	P00012-05-03	2 年間	2.60	2.70	P00012-04-06	6 ヵ月間
25 mg/kg					3.20	3.30	P00012-04-11	2 年間
25 mg/kg					3.88 [a]	3.20 [a]	P00012-07-02	90 日間
50 mg/kg	12.2	12.2	P00012-04-02	28 日間	4.62	4.72	P00012-04-01	3 ヵ月間
50 mg/kg					7.50	8.60	P00012-04-11	2 年間
50 mg/kg					9.78		P00012-12-02	9 週間
75 mg/kg	12.7	10.4	P00012-05-03	2 年間				
100 mg/kg	24.6	28.8	P00012-04-02	28 日間	12.3 [b]	14.0 [b]	P00012-04-01	3 ヵ月間
100 mg/kg					11.0	14.0	P00012-04-06	6 ヵ月間
100 mg/kg					20.1	22.1	P00012-04-11	2 年間
100 mg/kg					17.8	19.4	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					15.4 [a]	23.2 [a]	P00012-07-02	90 日間
140 mg/kg					30.5		P00012-12-02	9 週間
150 mg/kg					33.0	33.7	P00012-04-11	2 年間
200 mg/kg					22.0	26.0	P00012-04-06	6 ヵ月間
200 mg/kg	32.7	42.4	P00012-05-03	2 年間				
250 mg/kg	78.1	88.6	P00012-04-02	28 日間	21.6 [b]	37.6 [b]	P00012-04-01	3 ヵ月間
375 mg/kg					77.3		P00012-12-02	9 週間
400 mg/kg	115	125	P00012-04-02	28 日間				
500 mg/kg					31.5	53.7	P00012-04-01	3 ヵ月間
600 mg/kg	105	112	P00012-05-03	2 年間				

AUC_{last}
[a] メトトレキサート併用投与、[b] 平均値

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

単回又は初回投与後 AUC (mg·h/L)-2

1 日投与量	ウサギ				イヌ			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
5 mg/kg					8.54	9.84	P00012-05-05	11 ヵ月間
25 mg/kg					40.3	49.1	P00012-05-05	11 ヵ月間
50 mg/kg					31.5	17.4	P00012-04-05	28 日間
75 mg/kg					74.6	91.1	P00012-05-05	11 ヵ月間
100 mg/kg					46.7	87.6	P00012-04-05	28 日間
250 mg/kg					96.9	92.0	P00012-04-05	28 日間

AUC_{last}、平均値

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

単回又は初回投与後 AUC (mg·h/L)-3

1 日投与量	サル				ヒト			
	雄	雌	試験番号	試験期間	男性	女性	試験番号	試験期間
120 mg					1.17		IKP/ID33	単回投与
240 mg					2.35		IKP/ID33	単回投与
240 mg					3.02	3.83	109HV101	単回投与
240 mg					3.27	4.81	C-1903	単回投与
240 mg					3.17 [b,]	4.14 [b]	C-1903	単回投与
240 mg					2.71		FAG201PK02/02	単回投与
240 mg					2 82 [b]		FAG201PK02/02	単回投与
240 mg					4.91 [f], 4.22 [g] , 5.57 [h]		109HV108	1 日間 BID [d]
5 mg/kg		1.85	P00012-05-07	14 日間				
5 mg/kg	2.82	2.83	P00012-05-08	1 年間				
5 mg/kg	2.42 [a]	2.22 [a]	P00012-07-01	90 日間				
360 mg					3.62		IKP/ID33	単回投与
360 mg					4.50	5.61	109HV101	単回投与
480 mg					6.82	8.85	109MS101	1 日間 BID [c]
480 mg					8.24 [f], 9.29 [g], 10.63 [h]		109HV108	1 日間 BID [d]
720 mg					10.9	13.4	109MS101	1 日間 TID [e]
25 mg/kg		14.0	P00012-05-07	14 日間				
25 mg/kg	14.4	11.6	P00012-05-08	1 年間				
25 mg/kg	18.9	16.9	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg	18.3 [a]	14.5 [a]	P00012-07-01	90 日間				
75 mg/kg		46.0	P00012-05-07	14 日間				
75 mg/kg	40.7	39.5	P00012-05-08	1 年間				

$AUC_{0\text{-}t}$、平均値
[a] –メトトレキサート併用投与
[b] –食事と共に投与
[c] – 8 am及び6 pmに240 mg、1日投与量で480 mgを投与
[d] –投与0時間及び投与10時間に120 mg又は240 mg、1日投与量でそれぞれ240 mg又は480 mgを食事と共に投与
[e] – 8 am、12 am 及び 6 pm に 240 mg、1 日投与量で 720 mg を投与
[f] –日本人、[g]–白人及び [h] –中国人健康成人、BID：1 日 2 回、TID：1 日 3 回

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での AUC (mg·h/L)-1

1 日投与量（mg/kg）	マウス				ラット			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
5 mg/kg					0.67 [m]	0.97 [m]	P00012-14-02	9 週間
15 mg/kg					2.35 [m]	3.12 [m]	P00012-14-02	9 週間
25 mg/kg	2.60 [c]	3.60 [c]	P00012-05-03	2 年間	2.40 [d]	4.10 [d]	P00012-04-06	6 ヵ月間
25 mg/kg	3.00 [d]	2.60 [d]	P00012-05-03	2 年間	1.80 [c]	3.10 [c]	P00012-04-11	2 年間
25 mg/kg					4.00 [d]	7.40 [d]	P00012-04-11	2 年間
25 mg/kg						4.23 [g]	P00012-06-02	3 週間
25 mg/kg						4.78 [h]	P00012-06-02	3 週間
25 mg/kg					2.66 [i, k]	3.22 [i, k]	P00012-07-02	90 日間
25 mg/kg					3.05 [j, k]	3.95 [j, k]	P00012-07-02	90 日間
50 mg/kg	10.5 [a]	10.4 [a]	P00012-04-02	28 日間	5.64 [e, n]	4.91 [e, n]	P00012-04-01	3 ヵ月間
50 mg/kg	5.60 [b]	5.85 [b]	P00012-04-10	13 週間	6.22 [f, n]	8.06 [f, n]	P00012-04-01	3 ヵ月間
50 mg/kg	6.00 [c]	5.98 [c]	P00012-04-10	13 週間	5.19 [c, n]	7.13 [c, n]	P00012-04-01	3 ヵ月間
50 mg/kg					4.30 [c]	7.50 [c]	P00012-04-11	2 年間
50 mg/kg					8.70 [d]	16.6 [d]	P00012-04-11	2 年間
50 mg/kg					7.85 [l]		P00012-12-02	9 週間
50 mg/kg					9.02 [m]	11.9 [m]	P00012-14-02	9 週間
75 mg/kg	9.80 [c]	10.8 [c]	P00012-05-03	2 年間				
75 mg/kg	N.E. [d]	N.E. [d]	P00012-05-03	2 年間				
100 mg/kg	30.5 [a]	29.0 [a]	P00012-04-02	28 日間	7.50 [e, n]	8.55 [e, n]	P00012-04-01	3 ヵ月間
100 mg/kg					7.56 [f, n]	16.8 [f, n]	P00012-04-01	3 ヵ月間
100 mg/kg					9.74 [c, n]	13.8 [c, n]	P00012-04-01	3 ヵ月間
100 mg/kg					10.0 [d]	24.0 [d]	P00012-04-06	6 ヵ月間
100 mg/kg					7.50 [c]	14.7 [c]	P00012-04-11	2 年間
100 mg/kg					11.9 [d]	22.9 [d]	P00012-04-11	2 年間
100 mg/kg						28.7 [g]	P00012-06-02	3 週間
100 mg/kg						29.9 [h]	P00012-06-02	3 週間
100 mg/kg					17.6 [i]	20.9 [i]	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					14.3 [j]	18.0 [j]	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					13.2 [i, k]	23.5 [i, k]	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					11.5 [j, k]	19.7 [j, k]	P00012-07-02	90 日間
140 mg/kg					23.3 [l]		P00012-12-02	9 週間

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での AUC (mg·h/L)-2

1 日投与量（mg/kg）	マウス				ラット			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
140 mg/kg					24.1 [m]	38.3 [m]	P00012-14-02	9 週間
150 mg/kg					19.1[c]	23.1[c]	P00012-04-11	2 年間
150 mg/kg					30.8 [d]	37.6 [d]	P00012-04-11	2 年間
200 mg/kg	30.3 [b]	31.3 [b]	P00012-04-10	13 週間	30.0 [d]	36.0 [d]	P00012-04-06	6 ヵ月間
200 mg/kg	30.7 [c]	32.3 [c]	P00012-04-10	13 週間				
200 mg/kg	35.3 [c]	37.0 [c]	P00012-05-03	2 年間				
200 mg/kg	31.4 [d]	33.6 [d]	P00012-05-03	2 年間				
250 mg/kg	101 [a]	86.4 [a]	P00012-04-02	28 日間	10.2 [e, n]	20.6 [e, n]	P00012-04-01	3 ヵ月間
250 mg/kg					18.9 [f, n]	28.9 [f, n]	P00012-04-01	3 ヵ月間
250 mg/kg					16.9 [c, n]	29.0 [c, n]	P00012-04-01	3 ヵ月間
250 mg/kg						69.0 [g]	P00012-06-02	3 週間
250 mg/kg						86.0 [h]	P00012-06-02	3 週間
375 mg/kg					111 [l]		P00012-12-02	9 週間
400 mg/kg	128 [a]	139 [a]	P00012-04-02	28 日間				
400 mg/kg	69.8 [b]	70.7 [b]	P00012-04-10	13 週間				
400 mg/kg	65.7 [c]	102 [c]	P00012-04-10	13 週間				
400 mg/kg	107 [c]	99.7 [c]	P00012-05-03	2 年間				
400 mg/kg	110 [d]	91.8 [d]	P00012-05-03	2 年間				

AUC_{last}、N.E.：未評価
[a] –投与 27 日目
[b] –投与 45 日目
[c] –投与 90 日目
[d] –投与 180 又は 181 日目
[e] –投与 29 又は 30 日目
[f] –投与 57 日目
[g] –投与 7 日目
[h] –投与 17 日目
[i] –投与 43 日目
[j] –投与 85 日目
[k] –メトトレキサート併用投与
[l] –投与 63 日目
[m] –投与 66 日目
[n] – 平均値

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での AUC (mg·h/L)-3

1 日投与量（mg/kg）	ウサギ				イヌ			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
5 mg/kg					5.81 [e]	5.70 [e]	P00012-05-05	11 ヵ月間
5 mg/kg					5.68 [f]	6.97 [f]	P00012-05-05	11 ヵ月間
25 mg/kg		13.8 [a]	P00012-06-01	3 週間	21.0 [e]	22.4 [e]	P00012-05-05	11 ヵ月間
25 mg/kg		11.0 [b]	P00012-06-01	3 週間	24.0 [f]	27.3 [f]	P00012-05-05	11 ヵ月間
50 mg/kg					62.9 [c]	51.9 [c]	P00012-04-05	28 日間
50 mg/kg					65.6 [d]	54.1 [d]	P00012-04-05	28 日間
50 mg/kg					42.3 [e]	35.0 [e]	P00012-05-05	11 ヵ月間
50 mg/kg					52.0 [f]	44.8 [f]	P00012-05-05	11 ヵ月間
75 mg/kg		58.4 [a]	P00012-06-01	3 週間				
75 mg/kg		54.6 [b]	P00012-06-01	3 週間				
100 mg/kg					68.6 [c]	109 [c]	P00012-04-05	28 日間
100 mg/kg					129 [d]	140 [d]	P00012-04-05	28 日間
150 mg/kg		106 [a]	P00012-06-01	3 週間				
150 mg/kg		126 [b]	P00012-06-01	3 週間				

AUC_{last}、平均値
[a] –投与7日目
[b] –投与19日目
[c] –投与 14 日目
[d]–投与28日目
[e] –投与182日目
[f] –投与 330 日目

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での AUC (mg·h/L)-4

1 日投与量（mg/kg）	サル				ヒト			
	雄	雌	試験番号	試験期間	男性	女性	試験番号	試験期間
5 mg/kg		2.06 [a]	P00012-05-07	14 日間				
5 mg/kg	1.99 [b]	2.23 [b]	P00012-05-08	1 年間				
5 mg/kg	2.05 [c]	2.51 [c]	P00012-05-08	1 年間				
5 mg/kg	2.32 [d]	2.73 [d]	P00012-05-08	1 年間				
5 mg/kg	2.06 [e, g]	2.05 [e, g]	P00012-07-01	90 日間				
5 mg/kg	2.01 [f, g]	1.84 [f, g]	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg		12.2 [a]	P00012-05-07	14 日間				
25 mg/kg	12.7 [b]	12.9 [b]	P00012-05-08	1 年間				
25 mg/kg	14.6 [c]	15.3 [c]	P00012-05-08	1 年間				
25 mg/kg	12.2 [d]	15.6 [d]	P00012-05-08	1 年間				
25 mg/kg	11.6 [e]	11.3 [e]	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg	9.60 [f]	9.23 [f]	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg	14.0 [e, g]	11.4 [e, g]	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg	10.4 [f, g]	9.88 [f, g]	P00012-07-01	90 日間				
75 mg/kg		50.7 [a]	P00012-05-07	14 日間				
75 mg/kg	58.4 [b]	50.4 [b]	P00012-05-08	1 年間				
75 mg/kg	49.6 [c]	53.2 [c]	P00012-05-08	1 年間				
75 mg/kg	47.4 [d]	43.6 [d]	P00012-05-08	1 年間				

AUC_{last}、平均値
[a] –投与8日目
[b] –投与 4 週目
[c] –投与26週目
[d] –投与52週目
[e] –投与43日目
[f] –投与85日目
[g] –メトトレキサート併用投与

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

単回又は初回投与後の C_{max} (mg/L)-1

1 日投与量（mg/kg）	マウス				ラット			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
25 mg/kg	9.4	12.7	P00012-05-03	2 年間	3.20	3.70	P00012-04-06	6 ヵ月間
25 mg/kg					4.50	5.50	P00012-04-11	2 年間
25 mg/kg					2.93 [a]	2.78 [a]	P00012-07-02	90 日間
50 mg/kg	24.9	26.4	P00012-04-02	28 日間	10.5	9.30	P00012-04-01	3 ヵ月間
50 mg/kg					9.20	10.0	P00012-04-11	2 年間
50 mg/kg					11.9		P00012-12-02	9 週間
75 mg/kg	33.4	28.9	P00012-05-03	2 年間				
100 mg/kg	45.3	50.6	P00012-04-02	28 日間	26.3	27.4	P00012-04-01	3 ヵ月間
100 mg/kg					10.0	16.0	P00012-04-06	6 ヵ月間
100 mg/kg					20.1	21.4	P00012-04-11	2 年間
100 mg/kg					15.9	18.3	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					17.2 [a]	20.0 [a]	P00012-07-02	90 日間
140 mg/kg					30.3		P00012-12-02	9 週間
150 mg/kg					29.3	31.0	P00012-04-11	2 年間
200 mg/kg					26.0	34.0	P00012-04-06	6 ヵ月間
200 mg/kg	61.2	89.7	P00012-05-03	2 年間				
250 mg/kg	111	137	P00012-04-02	28 日間	38.0	58.0	P00012-04-01	3 ヵ月間
375 mg/kg					74.2		P00012-12-02	9 週間
400 mg/kg	174	208	P00012-04-02	28 日間				
400 mg/kg			P00012-04-10	13 週間				
500 mg/kg					56.8	96.1	P00012-04-01	3 ヵ月間
600 mg/kg	197	156	P00012-05-03	2 年間				

[a]–メトトレキサート併用投与

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

単回又は初回投与後の C_{max} (mg/L)-2

1 日投与量（mg/kg）	ウサギ				イヌ			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
5 mg/kg					2.61	2.89	P00012-05-05	11 ヵ月間
25 mg/kg					11.2	11.4	P00012-05-05	11 ヵ月間
50 mg/kg					17.1	11.3	P00012-04-05	28 日間
75 mg/kg					22.9	24.9	P00012-05-05	11 ヵ月間
100 mg/kg					25.3	46.6	P00012-04-05	28 日間
250 mg/kg					58.9	58.0	P00012-04-05	28 日間

平均値

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

単回又は初回投与後の C_{max} (mg/L)-3

1 日投与量（mg/kg）	サル				ヒト			
	雄	雌	試験番号	試験期間	男性	女性	試験番号	試験期間
120 mg					0.56		IKP/ID33	単回投与
240 mg					1.40		IKP/ID33	単回投与
240 mg					1.81	2.67	109HV101	単回投与
240 mg					2.01	2.61	C-1903	単回投与
240 mg					1.41 [b]	1.51 [b]	C-1903	単回投与
240 mg					1.84		FAG201PK02/02	単回投与
240 mg					1.82 [b]		FAG201PK02/02	単回投与
240 mg					1.35 [f], 1.24 [g], 1.65 [h]		109HV108	1 日間 BID [d]
5 mg/kg		2.14	P00012-05-07	14 日間				
5 mg/kg	2.03	1.65	P00012-05-08	1 年間				
5 mg/kg	3.39 [a]	3.30 [a]	P00012-07-01	90 日間				
360 mg					1.82		IKP/ID33	単回投与
360 mg					2.31	3.35	109HV101	単回投与
480 mg					1.25	2.15	109MS101	1 日間 BID [c]
480 mg					2.37 [f], 2.39 [g], 3.23 [h]		109HV108	1 日間 BID [d]
720 mg					1.74	2.91	109MS101	1 日間 TID [e]
25 mg/kg		12.4	P00012-05-07	14 日間				
25 mg/kg	9.89	7.03	P00012-05-08	1 年間				
25 mg/kg	23.2	18.8	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg	19.2 [a]	17.6 [a]	P00012-07-01	90 日間				
75 mg/kg		32.2	P00012-05-07	14 日間				
75 mg/kg	30.3	27.8	P00012-05-08	1 年間				

[a]–メトトレキサート併用投与
[b]–食事と共に投与
[c]– 8 am及び6 pmに240 mg、1日投与量で480 mgを投与
[d]–投与0時間及び投与10時間に120 mg又は240 mg、1日投与量でそれぞれ240 mg又は480 mgを食事と共に投与
[e]– 1 日投与量 720 mg を 8 am、12 am 及び 6 pm に 240 mg 投与した。 [f]–日本人、[g]–白人及び [h]–中国人健康成人
BID：1 日 2 回、TID：1 日 3 回

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での C_{max} (mg/L)-1

1 日投与量（mg/kg）	マウス				ラット			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
5 mg/kg					0.95 [m]	1.70 [m]	P00012-14-02	9 週間
15 mg/kg					2.94 [m]	4.36 [m]	P00012-14-02	9 週間
25 mg/kg	11.2 [c]	14.0 [c]	P00012-05-03	2 年間	3.60 [d]	7.00 [d]	P00012-04-06	6 ヵ月間
25 mg/kg	8.80 [d]	9.50 [d]	P00012-05-03	2 年間	3.10 [c]	5.60 [c]	P00012-04-11	2 年間
25 mg/kg					3.30 [d]	11.3 [d]	P00012-04-11	2 年間
25 mg/kg						4.61 [g]	P00012-06-02	3 週間
25 mg/kg						5.04 [h]	P00012-06-02	3 週間
25 mg/kg					2.67 [i, k]	4.00 [i, k]	P00012-07-02	90 日間
25 mg/kg					3.66 [j, k]	3.11 [j, k]	P00012-07-02	90 日間
50 mg/kg	22.7 [a]	27.8 [a]	P00012-04-02	28 日間	12.8 [e]	9.60 [e]	P00012-04-01	3 ヵ月間
50 mg/kg	16.9 [b]	17.4 [b]	P00012-04-10	13 週間	12.8 [f]	18.3 [f]	P00012-04-01	3 ヵ月間
50 mg/kg	16.0 [c]	18.6 [c]	P00012-04-10	13 週間	10.6 [c]	13.7 [c]	P00012-04-01	3 ヵ月間
50 mg/kg					3.40 [c]	8.30 [c]	P00012-04-11	2 年間
50 mg/kg					8.20 [d]	18.2 [d]	P00012-04-11	2 年間
50 mg/kg					6.19 [l]		P00012-12-02	9 週間
50 mg/kg					8.21 [m]	13.5 [m]	P00012-14-02	9 週間
75 mg/kg	36.4 [c]	37.1 [c]	P00012-05-03	2 年間				
100 mg/kg	55.7 [a]	64.3 [a]	P00012-04-02	28 日間	14.9 [e]	14.0 [e]	P00012-04-01	3 ヵ月間
100 mg/kg					14.5 [f]	28.8 [f]	P00012-04-01	3 ヵ月間
100 mg/kg					20.2 [c]	25.6 [c]	P00012-04-01	3 ヵ月間
100 mg/kg					12.0 [d]	41.0 [d]	P00012-04-06	6 ヵ月間
100 mg/kg					7.30 [c]	11.2 [c]	P00012-04-11	2 年間
100 mg/kg					10.6 [d]	24.2 [d]	P00012-04-11	2 年間
100 mg/kg						21.2 [g]	P00012-06-02	3 週間
100 mg/kg						27.8 [h]	P00012-06-02	3 週間
100 mg/kg					20.7 [i]	18.2 [i]	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					14.2 [j]	19.2 [j]	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					8.47 [i, k]	16.4 [i, k]	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					21.4 [j, k]	18.5 [j, k]	P00012-07-02	90 日間
140 mg/kg					21.2 [l]		P00012-12-02	9 週間
140 mg/kg					23.9 [m]	34.6 [m]	P00012-14-02	9 週間

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での C_{max} (mg/L)-2

1 日投与量（mg/kg）	マウス				ラット			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
150 mg/kg					25.6 [c]	17.5 [c]	P00012-04-11	2 年間
150 mg/kg					51.2 [d]	37.8 [d]	P00012-04-11	2 年間
200 mg/kg	56.5 [b]	52.1 [b]	P00012-04-10	13 週間	56.0 [d]	48.0 [d]	P00012-04-06	6 ヵ月間
200 mg/kg	74.2 [c]	72.0 [c]	P00012-04-10	13 週間				
200 mg/kg	90.7 [c]	82.6 [c]	P00012-05-03	2 年間				
200 mg/kg	63.4 [d]	76.1 [d]	P00012-05-03	2 年間				
250 mg/kg	160 [a]	158 [a]	P00012-04-02	28 日間	18.8 [e]	40.3 [e]	P00012-04-01	3 ヵ月間
250 mg/kg					36.6 [f]	56.6 [f]	P00012-04-01	3 ヵ月間
250 mg/kg					32.1 [c]	53.3 [c]	P00012-04-01	3 ヵ月間
250 mg/kg						40.7 [g]	P00012-06-02	3 週間
250 mg/kg						63.1 [h]	P00012-06-02	3 週間
375 mg/kg					104 [l]		P00012-12-02	9 週間
400 mg/kg	207 [a]	196 [a]	P00012-04-02	28 日間				
400 mg/kg	98.8 [b]	94.8 [b]	P00012-04-10	13 週間				
400 mg/kg	104 [c]	177 [c]	P00012-04-10	13 週間				
400 mg/kg	183 [c]	159 [c]	P00012-05-03	2 年間				
400 mg/kg	212 [d]	197 [d]	P00012-05-03	2 年間				

[a] –投与 27 日目
[b] –投与 45 日目
[c] –投与90日目
[d] –投与180又は181日目
[e] –投与29日目
[f] –投与57日目
[g] –投与 7 日目
[h] –投与 17 日目
[i] –投与 43 日目
[j] –投与 85 日目
[k] –メトトレキサート併用投与
[l] –投与63日目
[m] –投与66日目

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での C_{max} (mg/L)-3

1 日投与量（mg/kg）	ウサギ				イヌ			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
5 mg/kg					2.41 [e]	2.25 [e]	P00012-05-05	11 ヵ月間
5 mg/kg					2.07 [f]	1.69 [f]	P00012-05-05	11 ヵ月間
25 mg/kg		17.0 [a]	P00012-06-01	3 週間	8.61 [e]	8.03 [e]	P00012-05-05	11 ヵ月間
25 mg/kg		16.7 [b]	P00012-06-01	3 週間	11.0 [f]	9.11 [f]	P00012-05-05	11 ヵ月間
50 mg/kg					33.0 [c]	25.4 [c]	P00012-04-05	28 日間
50 mg/kg					35.3 [d]	28.4 [d]	P00012-04-05	28 日間
50 mg/kg					12.4 [e]	13.6 [e]	P00012-05-05	11 ヵ月間
50 mg/kg					9.66 [f]	14.5 [f]	P00012-05-05	11 ヵ月間
75 mg/kg		56.5 [a]	P00012-06-01	3 週間				
75 mg/kg		51.4 [b]	P00012-06-01	3 週間				
100 mg/kg					42.1 [c]	53.2 [c]	P00012-04-05	28 日間
100 mg/kg					51.5 [d]	54.0 [d]	P00012-04-05	28 日間
150 mg/kg		87.4 [a]	P00012-06-01	3 週間				
150 mg/kg		106 [b]	P00012-06-01	3 週間				

平均値
[a] –投与7日目
[b] –投与19日目
[c] –投与14日目
[d] –投与 28 日目
[e] –投与 182 日目
[f] –投与 330 日目

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での C_{max} (mg/L)-4

1 日投与量（mg/kg）	サル				ヒト			
	雄	雌	試験番号	試験期間	男性	女性	試験番号	試験期間
5 mg/kg		1.99 [a]	P00012-05-07	14 日間				
5 mg/kg	1.88 [b]	1.83 [b]	P00012-05-08	1 年間				
5 mg/kg	1.99 [c]	2.46 [c]	P00012-05-08	1 年間				
5 mg/kg	2.03 [d]	2.06 [d]	P00012-05-08	1 年間				
5 mg/kg	2.31 [e, g]	2.41 [e, g]	P00012-07-01	90 日間				
5 mg/kg	2.42 [f, g]	2.11 [f, g]	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg		11.9 [a]	P00012-05-07	14 日間				
25 mg/kg	11.0 [b]	9.71 [b]	P00012-05-08	1 年間				
25 mg/kg	10.9 [c]	11.6 [c]	P00012-05-08	1 年間				
25 mg/kg	8.82 [d]	11.8 [d]	P00012-05-08	1 年間				
25 mg/kg	10.3 [e]	10.1 [e]	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg	10.6 [f]	8.45 [f]	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg	12.9 [e, g]	10.5 [e, g]	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg	8.83 [f, g]	9.53 [f, g]	P00012-07-01	90 日間				
75 mg/kg		28.3 [a]	P00012-05-07	14 日間				
75 mg/kg	32.0 [b]	27.0 [b]	P00012-05-08	1 年間				
75 mg/kg	29.0 [c]	35.2 [c]	P00012-05-08	1 年間				
75 mg/kg	23.9 [d]	31.5 [d]	P00012-05-08	1 年間				

[a] –投与8日目
[b] –投与4週目
[c] –投与 26 週目
[d] –投与52週目
[e] –投与43日目
[f] –投与85日目
[g] –メトトレキサート併用投与

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

単回又は初回投与後の t_{max} (h)-1

1 日投与量（mg/kg）	マウス				ラット			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
25 mg/kg	0.17 [b]	0.08 [b]	P00012-05-03	2 年間	0.25 [b]	0.25 [b]	P00012-04-06	6 ヵ月間
25 mg/kg					0.25 [b]	0.25 [b]	P00012-04-11	2 年間
25 mg/kg					0.50 [a, b]	0.25 [a, b]	P00012-07-02	90 日間
50 mg/kg	0.17 [b]	0.17 [b]	P00012-04-02	28 日間	0.25	0.25	P00012-04-01	3 ヵ月間
50 mg/kg					0.25 [b]	0.25 [b]	P00012-04-11	2 年間
50 mg/kg					0.25 [b]		P00012-12-02	9 週間
75 mg/kg	0.17 [b]	0.17 [b]	P00012-05-03	2 年間				
100 mg/kg	0.17 [b]	0.17 [b]	P00012-04-02	28 日間	0.25	0.25	P00012-04-01	3 ヵ月間
100 mg/kg					0.50 [b]	0.50 [b]	P00012-04-06	6 ヵ月間
100 mg/kg					0.50 [b]	0.25 [b]	P00012-04-11	2 年間
100 mg/kg					0.25 [b]	0.50 [b]	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					0.25 [a, b]	0.25 [a, b]	P00012-07-02	90 日間
140 mg/kg					0.50 [b]		P00012-12-02	9 週間
150 mg/kg					0.50 [b]	0.25 [b]	P00012-04-11	2 年間
200 mg/kg					0.25 [b]	0.25 [b]	P00012-04-06	6 ヵ月間
200 mg/kg	0.33 [b]	0.33 [b]	P00012-05-03	2 年間				
250 mg/kg	0.17 [b]	0.17 [b]	P00012-04-02	28 日間	0.25	0.50	P00012-04-01	3 ヵ月間
375 mg/kg					0.50 [b]		P00012-12-02	9 週間
400 mg/kg	0.17 [b]	0.17 [b]	P00012-04-02	28 日間				
500 mg/kg					0.50	0.75	P00012-04-01	3 ヵ月間
600 mg/kg	0.17 [b]	0.33 [b]	P00012-05-03	2 年間				

中央値
[a] –メトトレキサート併用投与
[b] –平均値

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

単回又は初回投与後の t_{max} (h)-2

1 日投与量（mg/kg）	ウサギ				イヌ			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
5 mg/kg					5.0	1.0	P00012-05-05	11 ヵ月間
25 mg/kg					2.0	3.5	P00012-05-05	11 ヵ月間
50 mg/kg					0.5	0.5	P00012-04-05	28 日間
75 mg/kg					2.0	3.5	P00012-05-05	11 ヵ月間
100 mg/kg					0.5	0.6	P00012-04-05	28 日間
250 mg/kg					0.8	0.5	P00012-04-05	28 日間

中央値

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

単回又は初回投与後の t_{max} (h)-3

1 日投与量	サル				ヒト			
（mg/kg）	雄	雌	試験番号	試験期間	男性	女性	試験番号	試験期間
120 mg					4.75 [b]		IKP/ID33	単回投与
240 mg					4.25 [b]		IKP/ID33	単回投与
240 mg					2.50	2.00	109HV101	単回投与
240 mg					1.50	2.25	C-1903	単回投与
240 mg					5.50 [b]	5.02 [b]	C-1903	単回投与
240 mg					2.25		FAG201PK02/02	単回投与
240 mg					4.50 [b]		FAG201PK02/02	単回投与
240 mg					4.00 [f], 4.50 [g], 3.93 [h]		109HV108	1 日間 BID [d]
5 mg/kg		0.50	P00012-05-07	14 日間				
5 mg/kg	0.50	0.50	P00012-05-08	1 年間				
5 mg/kg	0.25 [a]	0.25 [a]	P00012-07-01	90 日間				
360 mg					4.75 [b]		IKP/ID33	単回投与
360 mg					2.50	2.00	109HV101	単回投与
480 mg					6.00	5.00	109MS101	1 日間 BID [c]
480 mg					5.00 [f, g], 3.93 [h]		109HV108	1 日間 BID [d]
720 mg					8.00	7.50	109MS101	1 日間 TID [e]
25 mg/kg		0.25	P00012-05-07	14 日間				
25 mg/kg	0.50	0.50	P00012-05-08	1 年間				
25 mg/kg	0.38	0.25	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg	0.38 [a]	0.25 [a]	P00012-07-01	90 日間				
75 mg/kg		0.25	P00012-05-07	14 日間				
75 mg/kg	0.50	0.50	P00012-05-08	1 年間				

中央値
[a]–メトトレキサート併用投与
[b]–食事と共に投与
[c]– 8 am及び6 pmに240 mg、1日投与量で480 mgを投与
[d]–投与0時間及び投与10時間に120 mg又は240 mg、1日投与量でそれぞれ240 mg又は480 mgを食事と共に投与
[e]– 8 am、12 am 及び 6 pm に 240 mg、1 日投与量で 720 mg を投与
[f]–日本人、[g]–白人及び[h]–中国人健康成人
BID：1 日 2 回、TID：1 日 3 回

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での t_{max} (h)-1

1 日投与量（mg/kg）	マウス				ラット			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
5 mg/kg					0.25 [n]	0.25 [n]	P00012-14-02	9 週間
15 mg/kg					0.25 [n]	0.25 [n]	P00012-14-02	9 週間
25 mg/kg	0.08 [c, l]	0.08 [c, l]	P00012-05-03	2 年間	0.25 [d, l]	0.25 [d, l]	P00012-04-06	6 ヵ月間
25 mg/kg	0.17 [d, l]	0.08 [d, l]	P00012-05-03	2 年間	0.25 [c, l]	0.25 [c, l]	P00012-04-11	2 年間
25 mg/kg					0.25 [d, l]	0.25 [d, l]	P00012-04-11	2 年間
25 mg/kg						0.25 [g, l]	P00012-06-02	3 週間
25 mg/kg						0.25 [h, l]	P00012-06-02	3 週間
25 mg/kg					0.25 [i, k, l]	0.25 [i, k, l]	P00012-07-02	90 日間
25 mg/kg					0.25 [j, k, l]	0.25 [j, k, l]	P00012-07-02	90 日間
50 mg/kg	0.17 [a, l]	0.17 [a, l]	P00012-04-02	28 日間	0.25 [e]	0.25 [e]	P00012-04-01	3 ヵ月間
50 mg/kg	0.17 [b]	0.17 [b]	P00012-04-10	13 週間	0.25 [f]	0.25 [f]	P00012-04-01	3 ヵ月間
50 mg/kg	0.17 [c]	0.17 [c]	P00012-04-10	13 週間	0.25 [c]	0.25 [c]	P00012-04-01	3 ヵ月間
50 mg/kg					0.25 [c, l]	0.50 [c, l]	P00012-04-11	2 年間
50 mg/kg					0.25 [d, l]	0.25 [d, l]	P00012-04-11	2 年間
50 mg/kg					0.50 [l, m]		P00012-12-02	9 週間
50 mg/kg					0.25 [n]	0.25 [n]	P00012-14-02	9 週間
75 mg/kg	0.08 [c, l]	0.17 [c, l]	P00012-05-03	2 年間				
100 mg/kg	0.17 [a, l]	0.17 [a, l]	P00012-04-02	28 日間	0.50 [e]	0.50 [e]	P00012-04-01	3 ヵ月間
100 mg/kg					0.62 [f]	0.50 [f]	P00012-04-01	3 ヵ月間
100 mg/kg					0.25 [c]	0.75 [c]	P00012-04-01	3 ヵ月間
100 mg/kg					0.25 [d, l]	0.25 [d, l]	P00012-04-06	6 ヵ月間
100 mg/kg					0.50 [c, l]	0.25 [c, l]	P00012-04-11	2 年間
100 mg/kg					0.50 [d, l]	0.50 [d, l]	P00012-04-11	2 年間
100 mg/kg						0.50 [g, l]	P00012-06-02	3 週間
100 mg/kg						0.25 [h, l]	P00012-06-02	3 週間
100 mg/kg					0.25 [i, l]	0.25 [i, l]	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					0.25 [j, l]	0.50 [j, l]	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					1.00 [i, k, l]	0.25 [i, k, l]	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					0.25 [j, k, l]	0.25 [j, k, l]	P00012-07-02	90 日間
140 mg/kg					0.25 [l, m]		P00012-12-02	9 週間
140 mg/kg					0.25 [n]	0.50 [n]	P00012-14-02	9 週間

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での t_{max} (h)-2

1 日投与量（mg/kg）	マウス				ラット			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
150 mg/kg					0.25 [c, l]	0.50 [c, l]	P00012-04-11	2 年間
150 mg/kg					0.25 [d, l]	0.25 [d, l]	P00012-04-11	2 年間
200 mg/kg	0.17 [b]	0.17 [b]	P00012-04-10	13 週間	0.25 [d, l]	0.25 [d, l]	P00012-04-06	6 ヵ月
200 mg/kg	0.17 [c]	0.17 [c]	P00012-04-10	13 週間				
200 mg/kg	0.08 [c, l]	0.08 [c, l]	P00012-05-03	2 年間				
200 mg/kg	0.08 [d, l]	0.17 [d, l]	P00012-05-03	2 年間				
250 mg/kg	0.17 [a, l]	0.17 [a, l]	P00012-04-02	28 日間	0.75 [e]	0.75 [e]	P00012-04-01	3 ヵ月間
250 mg/kg					0.25 [f]	0.75 [f]	P00012-04-01	3 ヵ月間
250 mg/kg					0.25 [c]	0.25 [c]	P00012-04-01	3 ヵ月間
250 mg/kg						0.50 [g, l]	P00012-06-02	3 週間
250 mg/kg						0.50 [h, l]	P00012-06-02	3 週間
375 mg/kg					0.50 [l, m]		P00012-12-02	9 週間
400 mg/kg	0.17 [a, l]	0.17 [a, l]	P00012-04-02	28 日間				
400 mg/kg	0.17 [b]	0.17 [b]	P00012-04-10	13 週間				
400 mg/kg	0.17 [c]	0.17 [c]	P00012-04-10	13 週間				
400 mg/kg	0.17 [c, l]	0.17 [c, l]	P00012-05-03	2 年間				
400 mg/kg	0.08 [d, l]	0.08 [d, l]	P00012-05-03	2 年間				

中央値
[a] –投与27日目
[b] –投与45日目
[c] –投与90日目
[d] –投与180又は181日目
[e] –投与29日目
[f] –投与57日目
[g] –投与7日目
[h] –投与17日目
[i] –投与43日目
[j] –投与85日目
[k] –メトトレキサート併用投与
[l] –平均値
[m] –投与63日目
[n] –投与66日目

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での t_{max} (h)-3

1 日投与量（mg/kg）	ウサギ				イヌ			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
5 mg/kg					1.0 [e]	1.0 [e]	P00012-05-05	11 ヵ月間
5 mg/kg					3.0 [f]	1.5 [f]	P00012-05-05	11 ヵ月間
25 mg/kg		0.3 [a]	P00012-06-01	3 週間	3.0 [e]	3.3 [e]	P00012-05-05	11 ヵ月間
25 mg/kg		0.3 [b]	P00012-06-01	3 週間	1.5 [f]	3.0 [f]	P00012-05-05	11 ヵ月間
50 mg/kg					0.8 [c]	1.0 [c]	P00012-04-05	28 日間
50 mg/kg					0.8 [d]	0.8 [d]	P00012-04-05	28 日間
50 mg/kg					1.5 [e]	1.5 [e]	P00012-05-05	11 ヵ月間
50 mg/kg					2.0 [f]	1.0 [f]	P00012-05-05	11 ヵ月間
75 mg/kg		0.5 [a]	P00012-06-01	3 週間				
75 mg/kg		0.3 [b]	P00012-06-01	3 週間				
100 mg/kg					0.5 [c]	0.8 [c]	P00012-04-05	28 日間
100 mg/kg					1.0 [d]	1.0 [d]	P00012-04-05	28 日間
150 mg/kg		0.3 [a]	P00012-06-01	3 週間				
150 mg/kg		0.3 [b]	P00012-06-01	3 週間				

中央値
[a] –投与7日目
[b] –投与19日目
[c] –投与14日目
[d] –投与28日目
[e] –投与182日目
[f] –投与330日目

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での t_{max} (h)-4

1日投与量（mg/kg）	サル				ヒト			
	雄	雌	試験番号	試験期間	男性	女性	試験番号	試験期間
5 mg/kg		0.38 [a]	P00012-05-07	14日間				
5 mg/kg	0.25 [b]	0.34 [b]	P00012-05-08	1年間				
5 mg/kg	0.34 [c]	0.25 [c]	P00012-05-08	1年間				
5 mg/kg	0.25 [d]	0.25 [d]	P00012-05-08	1年間				
5 mg/kg	0.25 [e, g]	0.25 [e, g]	P00012-07-01	90日間				
5 mg/kg	0.25 [f, g]	0.25 [f, g]	P00012-07-01	90日間				
25 mg/kg		0.38 [a]	P00012-05-07	14日間				
25 mg/kg	0.50 [b]	0.50 [b]	P00012-05-08	1年間				
25 mg/kg	0.50 [c]	0.50 [c]	P00012-05-08	1年間				
25 mg/kg	0.41 [d]	0.50 [d]	P00012-05-08	1年間				
25 mg/kg	0.25 [e]	0.25 [e]	P00012-07-01	90日間				
25 mg/kg	0.25 [f]	0.25 [f]	P00012-07-01	90日間				
25 mg/kg	0.38 [e, g]	0.38 [e, g]	P00012-07-01	90日間				
25 mg/kg	0.38 [f, g]	0.25 [f, g]	P00012-07-01	90日間				
75 mg/kg		1.00 [a]	P00012-05-07	14日間				
75 mg/kg	0.85 [b]	0.63 [b]	P00012-05-08	1年間				
75 mg/kg	0.75 [c]	0.75 [c]	P00012-05-08	1年間				
75 mg/kg	0.88 [d]	0.50 [d]	P00012-05-08	1年間				

中央値
[a] –投与8日目
[b] –投与4週目
[c] –投与26週目
[d] –投与 52 週目
[e] –投与43日目
[f] –投与85日目
[g] –メトトレキサート併用投与

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

単回又は初回投与後の $t_{1/2}$ (h)-1

1 日投与量（mg/kg）	マウス				ラット			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
25 mg	0.25	0.15	P00012-05-03	2 年間	0.68	0.40	P00012-04-06	6 ヵ月
25 mg					0.52	0.87	P00012-04-11	2 年間
25 mg					0.87 [a]	0.54 [a]	P00012-07-02	90 日間
50 mg	0.26	0.19	P00012-04-02	28 日間	0.78	0.52	P00012-04-11	2 年間
75 mg	0.25	0.17	P00012-05-03	2 年間				
100 mg/kg	0.35	0.31	P00012-04-02	28 日間	0.70	0.50	P00012-04-06	6 ヵ月
100 mg/kg					0.70	0.58	P00012-04-11	2 年間
100 mg/kg					0.74	0.79	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					0.66 [a]	0.68 [a]	P00012-07-02	90 日間
150 mg					0.87	1.03	P00012-04-11	2 年間
200 mg/kg					0.82	0.43	P00012-04-06	6 ヵ月
200 mg/kg	0.40	0.33	P00012-05-03	2 年間				
250 mg/kg	0.37	0.35	P00012-04-02	28 日間				
400 mg/kg	0.49	0.38	P00012-04-02	28 日間				
600 mg/kg	0.52	NR	P00012-05-03	2 年間				

平均値
[a]–メトトレキサート併用投与
NR：未報告

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

単回又は初回投与後の $t_{1/2}$ (h)-2

1 日投与量（mg/kg）	ウサギ				イヌ			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
50 mg/kg					0.7	0.7	P00012-04-05	28 日間
100 mg/kg					0.9	0.7	P00012-04-05	28 日間
250 mg/kg					0.7	0.8	P00012-04-05	28 日間

平均値

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

単回又は初回投与後の $t_{1/2}$ (h)-3

1 日投与量（mg/kg）	サル				ヒト			
	雄	雌	試験番号	試験期間	男性	女性	試験番号	試験期間
240 mg					0.58	0.56	109HV101	単回投与
240 mg					0.56	0.56	C-1903	単回投与
240 mg					1.06 [b]	1.53 [b]	C-1903	単回投与
240 mg					0.71		FAG201PK02/02	単回投与
240 mg					0.46 [b]		FAG201PK02/02	単回投与
240 mg					0.86 [f], 0.93 [g], 0.60 [h]		109HV108	1 日間 BID [d]
5 mg/kg		0.60	P00012-05-07	14 日間				
5 mg/kg		1.17	P00012-05-08	1 年間				
5 mg/kg	0.38 [a]	0.37[a]	P00012-07-01	90 日間				
360 mg					0.63	0.63	109HV101	単回投与
480 mg					1.16	1.39	109MS101	1 日間 BID [c]
480 mg					0.66 [f], 0.81 [g], 0.59 [h]		109HV108	1 日間 BID [d]
720 mg					1.14	1.64	109MS101	1 日間 TID [e]
25 mg/kg		1.20	P00012-05-07	14 日間				
25 mg/kg	0.92	0.84	P00012-05-08	1 年間				
25 mg/kg	0.42	0.46	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg	0.59 [a]	0.67 [a]	P00012-07-01	90 日間				
75 mg/kg		1.60	P00012-05-07	14 日間				
75 mg/kg	0.73	0.74	P00012-05-08	1 年間				

平均値
[a]–メトトレキサート併用投与
[b]–食事と共に投与
[c]– 8 am及び6 pmに240 mg、1日投与量で480 mgを投与
[d]–投与0時間及び投与10時間に120 mg又は240 mg、1日投与量でそれぞれ240 mg又は480 mgを食事と共に投与
[e]– 8 am、12 am 及び 6 pm に 240 mg、1 日投与量で 720 mg を投与
[f]–日本人、[g]–白人及び [h]–中国人健康成人
BID：1 日 2 回、TID：1 日 3 回

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での $t_{1/2}$ (h)-1

1 日投与量（mg/kg）	マウス				ラット			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
5 mg/kg					0.36[j]	0.28[j]	P00012-14-02	9 週間
15 mg/kg					0.52[j]	0.45[j]	P00012-14-02	9 週間
25 mg/kg	0.13 [c]	0.22 [c]	P00012-05-03	2 年間	0.85 [d]	0.80 [d]	P00012-04-06	6 ヵ月間
25 mg/kg	0.13 [d]	0.20 [d]	P00012-05-03	2 年間	0.78 [c]	0.43 [c]	P00012-04-11	2 年間
25 mg/kg					0.78 [d]	0.57 [d]	P00012-04-11	2 年間
25 mg/kg						0.40 [e]	P00012-06-02	3 週間
25 mg/kg						0.50 [f]	P00012-06-02	3 週間
25 mg/kg					0.80 [g, i]	0.55 [g, i]	P00012-07-02	90 日間
25 mg/kg					0.81 [h, i]	1.43 [h, i]	P00012-07-02	90 日間
50 mg/kg	0.16 [a]	0.16 [a]	P00012-04-02	28 日間	0.90 [c]	0.48 [c]	P00012-04-11	2 年間
50 mg/kg	0.18 [b]	0.21 [b]	P00012-04-10	13 週間	0.82 [d]	0.47 [d]	P00012-04-11	2 年間
50 mg/kg	0.22 [c]	0.20 [c]	P00012-04-10	13 週間	0.69[j]	0.41[j]	P00012-14-02	9 週間
75 mg/kg	0.32 [c]	0.22 [c]	P00012-05-03	2 年間				
100 mg/kg	0.27 [a]	0.19 [a]	P00012-04-02	28 日間	0.67 [d]	0.83 [d]	P00012-04-06	6 ヵ月間
100 mg/kg					0.88 [c]	0.68 [c]	P00012-04-11	2 年間
100 mg/kg					0.93 [d]	0.78 [d]	P00012-04-11	2 年間
100 mg/kg						0.80 [e]	P00012-06-02	3 週間
100 mg/kg						0.60 [f]	P00012-06-02	3 週間
100 mg/kg					0.79 [g]	0.89 [g]	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					0.75 [h]	1.24 [h]	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					1.31 [g, i]	0.92 [g, i]	P00012-07-02	90 日間
100 mg/kg					0.69 [h, i]	0.99 [h, i]	P00012-07-02	90 日間
140 mg/kg					1.05[j]	0.92[j]	P00012-14-02	9 週間
150 mg/kg					0.88 [c]	0.62 [c]	P00012-04-11	2 年間
150 mg/kg					0.87 [d]	0.92 [d]	P00012-04-11	2 年間
200 mg/kg	0.19 [b]	0.19 [b]	P00012-04-10	13 週間	0.95 [d]	1.00 [d]	P00012-04-06	6 ヵ月間
200 mg/kg	0.27 [c]	0.20 [c]	P00012-04-10	13 週間				
200 mg/kg	0.33 [c]	0.37 [c]	P00012-05-03	2 年間				
200 mg/kg	0.38 [d]	0.28 [d]	P00012-05-03	2 年間				
250 mg/kg	0.49 [a]	0.49 [a]	P00012-04-02	28 日間		1.50 [e]	P00012-06-02	3 週間

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での $t_{1/2}$ (h)-2

1 日投与量（mg/kg）	マウス				ラット			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
250 mg/kg						0.80 [f]	P00012-06-02	3 週間
400 mg/kg	0.58 [a]	0.51 [a]	P00012-04-02	28 日間				
400 mg/kg	0.31 [b]	0.36 [b]	P00012-04-10	13 週間				
400 mg/kg	0.26 [c]	0.29 [c]	P00012-04-10	13 週間				
400 mg/kg	0.42 [c]	0.52 [c]	P00012-05-03	2 年間				
400 mg/kg	0.28 [d]	0.52 [d]	P00012-05-03	2 年間				

平均値
[a] –投与27日目に測定
[b] –投与45日目に測定
[c] –投与90日目に測定
[d] –投与180又は181日目に測定
[e] –投与7日目に測定
[f] –投与17日目に測定
[g] –投与43日目に測定
[h] –投与85日目に測定
[i] –メトトレキサート併用投与
[j] –投与 66 日目に測定

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での $t_{1/2}$ (h)-3

1 日投与量（mg/kg）	ウサギ				イヌ			
	雄	雌	試験番号	試験期間	雄	雌	試験番号	試験期間
25 mg/kg		0.4 [a]	P00012-06-01	3 週間				
25 mg/kg		0.5 [b]	P00012-06-01	3 週間				
50 mg/kg					0.7 [c]	0.7 [c]	P00012-04-05	28 日間
50 mg/kg					0.6 [d]	0.6 [d]	P00012-04-05	28 日間
75 mg/kg		0.6 [a]	P00012-06-01	3 週間				
75 mg/kg		0.6 [b]	P00012-06-01	3 週間				
100 mg/kg					0.7 [c]	0.8 [c]	P00012-04-05	28 日間
100 mg/kg					0.7 [d]	1.1 [d]	P00012-04-05	28 日間
150 mg/kg		0.8 [a]	P00012-06-01	3 週間				
150 mg/kg		0.9 [b]	P00012-06-01	3 週間				

平均値
[a] –投与7日目に測定
[b] –投与19日目に測定
[c] –投与14日目に測定
[d] –投与28日目に測定

トキシコキネティクス成績の一覧（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

定常状態での $t_{1/2}$ (h)-4

1 日投与量（mg/kg）	サル				ヒト			
	雄	雌	試験番号	試験期間	男性	女性	試験番号	試験期間
5 mg/kg		0.60 [a]	P00012-05-07	14 日間				
5 mg/kg	0.46 [b]	0.58 [b]	P00012-05-08	1 年間				
5 mg/kg	0.52 [c]	0.53 [c]	P00012-05-08	1 年間				
5 mg/kg	0.60 [d]	0.73 [d]	P00012-05-08	1 年間				
5 mg/kg	0.51 [e, g]	0.43 [e, g]	P00012-07-01	90 日間				
5 mg/kg	0.37 [f, g]	0.39 [f, g]	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg		0.70 [a]	P00012-05-07	14 日間				
25 mg/kg	0.42 [b]	0.58 [b]	P00012-05-08	1 年間				
25 mg/kg	0.80 [c]	0.62 [c]	P00012-05-08	1 年間				
25 mg/kg	0.89 [d]	0.88 [d]	P00012-05-08	1 年間				
25 mg/kg	0.66 [e]	0.60 [e]	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg	0.62 [f]	0.78 [f]	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg	0.66 [e, g]	0.57 [e, g]	P00012-07-01	90 日間				
25 mg/kg	0.68 [f, g]	0.71 [f, g]	P00012-07-01	90 日間				
75 mg/kg		0.90 [a]	P00012-05-07	14 日間				
75 mg/kg	0.90 [b]	0.87 [b]	P00012-05-08	1 年間				
75 mg/kg	0.81 [c]	0.84 [c]	P00012-05-08	1 年間				
75 mg/kg	1.04 [d]	0.91 [d]	P00012-05-08	1 年間				

平均値
[a] –投与8日目に測定
[b] –投与4週目に測定
[c] –投与26週目に測定
[d] –投与52週目に測定
[e] –投与43日目に測定
[f] –投与85日目に測定
[g] –メトトレキサート併用投与

トキシコキネティクス成績の一覧 Data source：
マウス：[M4.2.3.4.1-1] P00012-05-03-Appendix 20-Table 4、[M4.2.3.2-1] P00012-04-02-AMENDMENT 1-Table 3、[M4.2.3.2-2] P00012-04-10-Appendix R-Table 2
ラット：[M4.2.3.2-4] P00012-04-06-APPENDIX S-Table 3、[M4.2.3.4.1-2] P00012-04-11-Appendix 19-Table 4、[M4.2.3.2-10] P00012-07-02-Appendix 20-Table 2, Table 3、[M4.2.3.2-3] P00012-04-01-Appendix 14-Table 2, Table 3, Table 4, Table 5, Table 6, Table 7, Table 8, Table 9、[M4.2.3.5.2-1] P00012-06-02-APPENDIX G-Table 3、[M4.2.3.5.4-1]P00012-12-02-Appendix 15-Table 2、[M4.2.3.5.4-2] P00012-14-02-Appendix 9-Table 5

ウサギ：[M4.2.3.5.2-2] P00012-06-01-APPENDIX G-Table 2
イヌ：[M4.2.3.2-7] P00012-05-05-Appendix 22-Table 2、[M4.2.3.2-6] P00012-04-05-APPENDIX 15-Table 2, Table 3, Table 4
サル：[M4.2.3.2-8] P00012-05-07-Appendix D-Table 2、[M4.2.3.2-9] P00012-05-08-Appendix F-Table 2A, Table 2B, Table 2C、[M4.2.3.2-11] P00012-07-01-Appendix 8-Table 2
ヒト：[M5.3.4.1-1] IKP/ID33、[M5.3.3.1-4] 109HV101-Table 11-2、[M5.3.3.4-1] C-1903-Table 14.2-9、[M5.3.3.4-2] FAG-201-FG-PK-02/02-14.2-3 Pharmacokinetics Paraneters-Descriptive Statistics、[M5.3.3.2-1] 109MS101-Table 14-11、[M5.3.3.3-1] 109HV108-Table 5

2.6.7.4. 毒性試験に用いた原薬

被験物質：フマル酸ジメチル

ロット番号	純度（%）	個別規格設定不純物（%）			試験番号	試験の種類
		フマル酸モノメチル（MMF）[a]	フマル酸	個別規格を設定しない不純物		
申請規格：	98～102	≤0.3	≤0.5	≤0.10	-	-
3197722[b]	該当データなし	該当データなし	該当データなし	該当データなし	PD05-27	単回投与毒性試験、マウス経口
3197722[b]	該当データなし	該当データなし	該当データなし	該当データなし	PD05-24	単回投与毒性試験、マウス腹腔内
3197722[b]	該当データなし	該当データなし	該当データなし	該当データなし	PD05-25	単回投与毒性試験、ラット経口
3197722[b]	該当データなし	該当データなし	該当データなし	該当データなし	PD05-26	単回投与毒性試験、ラット腹腔内
24297[c]	Spec: 114～126 mg/カプセル 121.2 mg/カプセル	Spec: ≤2.5 mg/カプセル 0.0 mg/カプセル	Spec: ≤2.5 mg/カプセル 0.0 mg/カプセル	NA	P00012-05-04	3 週間用量設定試験、イヌ
F1177170	99.6	< 0.1	< 0.1	< 0.1	P00012-04-05	4 週間毒性試験、イヌ
1102643 33004999	99.8	0.03	ND	ND	P00012-05-07	14 日間用量設定試験、カニクイザル
F1177170	99.6	< 0.1	< 0.1	< 0.1	P00012-04-02	28 日間用量設定試験、マウス/C57BL/6
1102642 33004998	100.2	0.02	ND	ND	P00012-04-10	13 週間用量設定試験、マウス/ CD-1
F1177170	99.6	< 0.1	< 0.1	< 0.1	P00012-04-01	3 ヵ月間毒性試験、ラット
1253634	100.3	0.04	ND	ND	P00012-07-02	90 日間薬物相互作用試験―メトトレキサート、ラット
1253634	100.3	0.04	ND	ND	P00012-07-01	90 日間薬物相互作用試験―メトトレキサート、カニクイザル
1253636	99.3	0.03	ND	ND	P00012-08-01	14 週間腎毒性試験、ラット
F1177170 1102642 33004998	99.6 100.2	< 0.1 0.02	< 0.1 ND	< 0.1 ND	P00012-04-06	6 ヵ月間毒性試験、ラット
25700[c]	Spec: 114.0～126.0 mg/カプセル 118.0 mg/カプセル	Spec: < 1.0 mg/カプセル 0.0 mg/カプセル	Spec: < 1.0 mg/カプセル 0.0 mg/カプセル	NA	P00012-05-05	11 ヵ月間毒性試験、イヌ
1102643 33004999	99.8	0.03	ND	ND	P00012-05-08	1 年間毒性試験、カニクイザル
8660686	100.6	NR	0.26	NR	5403/89	遺伝毒性試験―in vitro 変異原性試験

使用した原薬ロット（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

ロット番号	純度（%）	個別規格設定不純物（%）			試験番号	試験の種類
		フマル酸モノメチル（MMF）[a]	フマル酸	個別規格を設定しない不純物		
申請規格：	98～102	≤ 0.3	≤ 0.5	≤ 0.10	-	-
8660686	100.6	NR	0.26	NR	5407/89	遺伝毒性試験—染色体異常試験、ヒトリンパ球
8660686	100.6	NR	0.26	NR	5405/89	遺伝毒性試験—遺伝子突然変異試験、In vitro V79 細胞アッセイ
1102643 33004999	99.8	0.03	ND	ND	P00012-04-16	遺伝毒性試験—染色体異常試験、ヒトリンパ球
F1177170	99.6	< 0.1	< 0.1	< 0.1	P00012-04-04	遺伝毒性試験—小核試験、ラット
1102642 33004998 1102643 33004999	100.2 99.8	0.02 0.03	ND ND	ND ND	P00012-05-03	2 年間がん原性試験、マウス
1102642 33004998 1102643 33004999	100.2 99.8	0.02 0.03	ND ND	ND ND	P00012-04-11	2 年間がん原性試験、ラット
F1177170	99.6	< 0.1	< 0.1	< 0.1	P00012-04-03	受胎能試験、ラット雄
1427169	100.2	0.02	ND	ND	P00012-10-01	受胎能試験、ラット雌
1102642 33004998	100.2	0.02	ND	ND	P00012-06-02	胚・胎児発生試験、ラット
1102642 33004998 1102643 33004999	100.2 99.8	0.02 0.03	ND ND	ND ND	P00012-06-01	胚・胎児発生試験、ウサギ
1427169	100.2	0.02	ND	ND	P00012-09-02	出生前及び出生後の発生試験、ラット
1253634	100.3	0.04	ND	ND	PD08-03	探索的試験—腎毒性、ラット
1424853	100.0	0.02	ND	ND	P00012-09-01	探索的試験—腎毒性、ラット
F1177170	99.6	< 0.1	< 0.1	< 0.1	PD03-19	安全性薬理試験—心血管系、イヌ
F1177170	99.6	< 0.1	< 0.1	< 0.1	PD03-17	安全性薬理試験—心血管系：hERG 電流への影響、哺乳動物細胞

使用した原薬ロット（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

ロット番号	純度（%）	個別規格設定不純物（%）			試験番号	試験の種類
		フマル酸モノメチル（MMF）[a]	フマル酸	個別規格を設定しない不純物		
申請規格：	98～102	≤0.3	≤0.5	≤0.10	申請規格：	98～102
F1177170	99.6	< 0.1	< 0.1	< 0.1	PD03-18	安全性薬理試験—心血管系：心筋活動電位への影響、イヌ心臓プルキンエ線維
BCBG6322V BCBG6320V BCBG6386V	99.7 100.3 100.5	< 0.05 < 0.05 < 0.05	< 0.09 < 0.09 < 0.09	ND ND ND	P00012-12-02	幼若動物毒性試験—雄ラット
BCBL8248V	99.2	< 0.05	< 0.09	ND	P00012-14-02	幼若動物毒性試験—ラット
11P1339	100.9	< 0.03	0	0	P00012-13-07	自己投与試験—ラット
BCBL8248V	99.2	0.05	< 0.09	ND	P00012-14-01	薬物弁別試験—ラット

[a] 英語別名：methyl hydrogen fumarate
[b] 試験は 1986 年に実施され被験物質に関する情報は残っていない。
[c] 本試験の被験物質はカプセル剤
ND：検出されず、NA：該当せず、NR：未報告、hERG：ヒト遅延整流性カリウムチャンネル遺伝子

使用した原薬ロット（続き）　　被験物質：フマル酸モノメチル（MMF）

ロット番号	純度（%）	不純物（%）			試験番号	試験の種類
		フマル酸	フマル酸ジメチル（DMF）	マレイン酸モノメチル及びマレイン酸ジメチル		
申請規格[a]：	-	-	-	-		
75798MJ	97.5	NR	NR	NR	P00012-08-02	In vitro 変異原性試験
75798MJ	97.5	NR	NR	NR	P00012-08-03	In vitro 染色体異常試験、ヒトリンパ球
EF386206	100.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	PD-03-21	安全性薬理試験—心血管系：hERG 電流への影響、哺乳動物細胞
EF386206	100.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	PD-03-22	安全性薬理試験—心血管系：心筋活動電位への影響、イヌ心臓プルキンエ線維

[a] これらの試験は MMF で実施され、原薬 DMF で実施されたものではないため、申請規格は設定されていない。
NR：未報告、hERG：ヒト遅延整流性カリウムチャンネル遺伝子

使用した原薬ロット（続き）　　被験物質：Fumaderm

ロット番号	純度（%）	不純物（%）			試験番号	試験の種類
	DMF	Ca/Mg/Zn MEF	Ca MEF	フマル酸		
申請規格[a]：	-	-	-	-		
905412	55.5	43.1	39.8	0.98	5350/89	安全性薬理試験—体温、マウス
905412	55.5	43.1	39.8	0.98	5348/89	安全性薬理試験—自発運動量、マウス
905412	55.5	43.1	39.8	0.98	5356/89	安全性薬理試験—侵害刺激反応（ライジングテスト）、マウス
905412	55.5	43.1	39.8	0.98	5351/89	安全性薬理試験—麻酔作用、マウス

[a] これらの試験は Fumaderm 原薬で実施され、原薬 DMF で実施されたものではないため、申請規格は設定されていない。
DMF：フマル酸ジメチル、MEF：フマル酸モノエチル

2.6.7.5. 単回投与毒性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

動物種/系統	投与方法 (溶媒/ 投与形態)	投与量 (mg/kg)	性別及び 動物数/群	最大非 致死量 (mg/kg)	概略の致死量 [a] (mg/kg)	特記すべき所見	試験番号
マウス/NMRI/ HAN Bö (SPF)	強制経口 (0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水性ゲル)	316, 681, 1000, 1210, 1470	雄 3/雌 3/群	1000	投与後24時間/14日間； 雄：1200 雌：1340	681 mg/kg 以上で、運動低下、運動失調、呼吸困難、チアノーゼ、及び筋緊張低下等の変化が認められた。死亡動物の剖検では、部分的に蒼白な肝臓及び腎臓、腎臓表面の顆粒状、出血巣又は赤色化を伴う胃壁の菲薄化、腸内に血性内容物が認められた。1470 mg/kg 群では、胃に軽微のうっ血が認められた（病理組織学的検査）。	参考 PD05-27
マウス/NMRI/ HAN Bö (SPF)	腹腔内　(0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水性ゲル)	316, 464, 681, 825, 1000, 1470	雄 3/雌 3/群	681	投与後24時間； 雄及び雌：1210 投与後14日間； 雄：920 雌：990	464 mg/kg 以上で、運動失調及び呼吸低下等の変化が認められた。 681 mg/kg 群で運動低下及び呼吸困難、825 mg/kg 群で筋緊張低下、振戦、及び強直間代性痙攣、 1000 mg/kg 群で間代性痙攣及び眼瞼下垂、1470 mg/kg 群では側臥位及び強直性痙攣が観察された。死亡動物の剖検では、肝臓及び腎臓の蒼白、腎臓表面の顆粒状、消化管内にガス充満（1 例）が認められた。生存動物には病理変化は認められなかった。	参考 PD05-24

単回投与毒性試験（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル

動物種/系統	投与方法 (溶媒/ 投与形態)	投与量 (mg/kg)	性別及び 動物数/群	最大非 致死量 (mg/kg)	概略の致死量 [a] (mg/kg)	特記すべき所見	試験番号
ラット/Sprague Dawley/ Tif:RAI f (SPF) /Crl:CD (SD) IGS BR	強制経口 (0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水性ゲル)	681, 1470, 2150, 2610(雌のみ), 3160, 4640(雄のみ), 6810(雄のみ)	雄 3/雌 3/群	2150	投与後24時間; 雄：4750 雌：2630 投与後14日間； 雄：3220 雌：2630	2610 mg/kg以上で運動失調、筋緊張低下、呼吸数減少及び運動低下が認められた。1470 mg/kg及び2150 mg/kg群でそれぞれ摂餌量の減少及び体重増加量の減少が認められた。死亡動物の剖検では、胃粘膜の赤色化を認めた。 3160 mg/kg以上で胃に、出血性びらん、前胃粘膜のうっ血、粘膜内出血及び浮腫を伴う上皮剥離を含む病理変化が認められた。 6810 mg/kg群では前胃に軽微なうっ血も観察された。生存動物は、投与後24時間以内に回復し、病理変化は認められなかった。	参考 PD05-25
ラット/Sprague Dawley/ Tif:RAI f (SPF) /Crl:CD (SD) IGS BR	腹腔内　(0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水性ゲル)	316, 681, 825, (雌のみ), 1000, 1470(雄のみ)	雄 3/雌 3/群	681	投与後24時間； 雄：910 雌：820 投与後14日間； 雄：910 雌：910	681 mg/kg以上で運動失調、筋緊張低下、運動低下及び呼吸数減少等の変化が認められた。825 mg/kg群で呼吸困難、1000 mg/kg群で振戦及び立毛、1470 mg/kg群で腹臥位が観察された。死亡動物の剖検では、部分的に蒼白な腎臓及び胃の出血性びらん（1例）が認められた。生存動物には、病理変化は認められなかった。	参考 PD05-26

[a] LD_{50}

2.6.7.6. 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）

被験物質：フマル酸ジメチル/Fumaderm

動物種/系統	投与方法/(溶媒/投与形態)	投与期間	投与量(mg/kg)	性別及び動物数/群	無毒性量(mg/kg)	特記すべき所見	試験番号
マウス/C57BL/6 マウス/P53N5-W[a]	強制経口（0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース/RODI 水）	28 日間	主試験：0, 50, 100, 250, 400	主試験:雄6/雌 6 トキシコキネティクス試験：雄 27/雌 27	雌：100 雄：特定されていない。	剖検所見：250 mg/kg/日以上で胃重量の増加、胃の肥厚及び境界縁の顕著な隆起 病理組織学的検査：250 mg/kg/日以上で前胃粘膜扁平上皮に過形成及び角化亢進、50 mg/kg/日以上で精巣／精巣上体に精子肉芽腫	P00012-04-02
マウス/CD-1 [Crl:CD-1®(ICR)Br]	強制経口	13 週間	0, 50, 200, 400	主試験:雄20/雌20/回復性試験：雄5/雌5 トキシコキネティクス試験：雄15/雌15	特定されていない。	被験物質に関連した早期死亡なし。 器官重量：200 mg/kg/日以上で胃及び腎重量（絶体重量）の増加 剖検所見： 200 mg/kg/日以上で胃に病巣、上皮の肥厚 病理組織学的検査：脾臓：髄外造血 胃（前胃）：200 mg/kg/日以上で軽微～中等度の角化亢進及び角化嚢胞、角質層に軽微～軽度の微小膿瘍、軽微～軽度の扁平上皮過形成、軽微～中等度の慢性活動性炎症、軽微～軽度の亜急性炎症、限局性異物（漿膜及び粘膜下組織）、胃と肝臓・脾臓・横隔膜の軽度の漿膜癒着並びに軽微な限局性潰瘍、50 mg/kg/日で、軽微な角化亢進及び軽微な亜急性炎症	P00012-04-10

重要な試験以外の試験（続き）　　被験物質：フマル酸ジメチル/Fumaderm

動物種/系統	投与方法/(溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg)	性別及び動物数/群	無毒性量 (mg/kg)	特記すべき所見	試験番号
ビーグル犬	カプセル	3 週間	各投与量を単回又は 1 日 2 回に分割して漸増投与 投与 1 日目；25 (QD) 投与 2 日目；50 (QD) 投与 3 日目；75 (QD) 投与 4 日目；100 (QD) 投与 8 日目；75 (BID) 投与 9 日目；100 (BID) 投与 10 日目;125 (BID) 投与 11~17 日目；100 (BID) 投与 18 日目；75 (BID)	雄 2/雌 2	特定されていない。	被験物質に関連した死亡なし 一般状態：50 mg/kg以上の用量で、1群当たり2例以上のイヌに嘔吐及び 脱水 体重：雄及び雌における体重の平均減少率は、50 mg/kg/日以上でそれぞれ11.8%及び19.2%。 剖検所見：胃及び十二指腸内にマイクロタブレット残存、雄1例で結腸に黄色の粘液性物質と糞便物質の混合物、雄1例及び雌1例で十二指腸の褪色及び粘膜表面の赤色化、雌2例で胸腺萎縮（正常動物に比べ50%～70%萎縮）、雌1例で胆嚢の異常内容物及び病巣	参考 P00012-05-04
カニクイザル	強制経口	2 週間	第1群；0、 第2群；5、 第3群；25、 第4群[b]； 投与 1～8 日目；75 投与 9 日目；休薬 投与 10 日目；100 投与 11～15 日目；125	雌4	判断されていない。	一般状態：100～125 mg/kg群で摂餌量減少及び嘔吐 体重：100～125 mg/kgで体重減少 血液生化学検査：125 mg/kg群の2例でアルブミンの軽微な減少	参考 P00012-05-07

[a]第1～5群（0、50、100、250及び400 mg/kg/日）はC57BL/6を用い、第6群（250 mg/kg/日）はP53N5-W miceを用いた。
[b]動物は8日間（投与1～8日目）1日1回75 mg/kg/日を投与され、その後1日間休薬し、投与10日目に100 mg/kg、投与11～15日目に125 mg/kgを投与された。
QD：1日1回、BID：1日2回

2.6.7.7. 反復投与毒性試験

2.6.7.7A　　反復投与毒性試験

試験レポート：ラットを用いた BG00012 の 3 ヵ月間強制経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

動物種/系統：　ラット/Sprague Dawley/Crl:CD (SD) IGS BR
試験開始日齢：　雄：52～59 日、雌：57～63 日
初回投与年月日：　[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
投与期間：　90 日間
休薬期間：　29 日間
投与方法：　強制経口
溶媒/投与形態：0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）/懸濁液
試験番号：　P00012-04-01
CTD における記載箇所：　[M4.2.3.2-3]
GLP 適用：　適

特記事項：　なし
無毒性量：　50 mg/kg/日未満

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		100		250[b]		500[c]		50	
動物数 主試験/トキシコキネティクス	雄 15/0	雌 15/0	雄 10/3	雌 10/3	雄 15/3	雌 15/3	雄 15/3	雌 15/3	雄 10/3	雌 10/3
トキシコキネティクス（MMF）	[a]	[a]	-	-	-	-	-	-	-	-
1 日目										
AUC_{last} (μg·h/mL)	-	-	12.25	13.97	21.57	37.58	31.45	53.65	4.62	4.72
C_{max} (μg/mL)	-	-	26.3	27.4	38.0	57.97	56.83	96.07	10.5	9.3
29 日目										
AUC_{last} (μg·h/mL)	-	-	7.50	8.55	10.21	20.61	[a]	[a]	5.64	4.91
C_{max} (μg/mL)	-	-	14.9	14.0	18.8	40.33	[a]	[a]	12.8	9.6
57 日目										
AUC_{last} (μg·h/mL)	-	-	7.56	16.78	18.85	28.94	-	-	6.22	8.06
C_{max} (μg/mL)	-	-	14.5	28.8	36.6	56.6	-	-	12.8	18.3
90 日目										
AUC_{last} (μg·h/mL)	-	-	9.74	13.75	16.87	29.03	-	-	5.19	7.13
C_{max} (μg/mL)	-	-	20.2	25.6	32.1	53.3	-	-	10.6	13.7

[a] 実施せず.
[b] 投与製剤濃度の調整ミスのため、投与 3～4 週目は過少量 200 mg/kg を投与
[c] 忍容性不良のため投与 7 日目に投与を中止。体重増加の抑制・摂餌量の減少が認められた。

2.6.7.7A 反復投与毒性試験

試験レポート：ラットを用いた BG00012 の 3 ヵ月間強制経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		100		250		500		50	
動物数 主試験/トキシコキネティクス	雄 15/0	雌 15/0	雄 10/3	雌 10/3	雄 15/3	雌 15/3	雄 15/3	雌 15/3	雄 10/3	雌 10/3
特記すべき所見：										
死亡又は切迫屠殺動物数	-	-	1[b]	-	1[c]	-	-	-	1[d]	-
体重(%[f])										
90 日目（主試験）	588.23 g	319.09 g	98	102	87*	92*	[a]	[a]	526.72[e]	312.29[e]
118 日目（回復性試験）	632.08 g	331.14 g	-	-	84*	95*	-	-	-	-
摂餌量(%[f])										
84～90 日目 (g/動物/日)（主試験）	35.0	24.7	104	107	101	97	-	-	33.3[e]	25.3[e]
112～118 日目 (g/動物/日)（回復性試験）	38.6	31.3	-	-	95	90	-	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態：発現動物数（発現例数）										
流涎	-	1	10	10	15	15	11	5	-	-
前肢の乾燥赤色物質	13	14	9	10	15	15	5	6	9	7
口周囲の赤色物質	-	2	9	2	13	9	-	-	1	-
被毛湿潤	-	-	6	2	12	8	-	-	3	-

* = $p < 0.05$
[a]. 実施せず
[b]. 投与 30 日目に誤投与のため安楽死
[c]. 投与 50 日目に死亡状態で発見―死因不明
[d]. 投与 16 日目に死亡状態で発見―死因不明
[e]. 比較対照群を追加しなかったため、投与群の実測値を示す。
[f]. 投与群は対照群との差（%）を示した。

2.6.7.7A　反復投与毒性試験

試験レポート：ラットを用いた BG00012 の 3 ヵ月間強制経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		100		250		500 [a]		50	
動物数 主試験/トキシコキネティクス	雄 15/0	雌 15/0	雄 10/3	雌 10/3	雄 15/3	雌 15/3	雄 15/3	雌 15/3	雄 10/3	雌 10/3
血液学的検査（主試験/回復性試験）										
血液凝固検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量 [b]										
胃										
投与 91 日目（主試験）	2.42 g	1.51 g	175 *	161 *	209 *	199 *	88 [c]	139 [d]	2.78 g [e]	1.94 g [e]
投与 119 日目（回復性試験）	2.27 g	1.61 g	-	-	115	121 *	91 [f]	98 [g]	-	-
腎臓										
投与 91 日目（主試験）	3.71 g	1.92 g	119 *	122 *	141 *	124 *	52 [c]	85 [d]	3.70 g [e]	2.14 g [e]
投与 119 日目（回復性試験）	3.91 g	2.20 g	-	-	101	95	71 [f]	85 [g]	-	-
肝臓										
投与 91 日目（主試験）	14.71 g	7.87 g	114	120	123	121 *	65 [c*]	106 [d*]	13.96 g [e]	8.25 g [e]
投与 119 日目（回復性試験）	15.10 g	7.82 g	-	-	98	110	83 [f]	105 [g]	-	-
剖検所見（主試験）										
胃（前胃）										
肥厚	0/0	0/0	8	10	10	10	5	-	9	2
病巣	0/0	0/0	5	6	6	6	7	9	4	1

* 有意差あり　$p < 0.05$

a. 投与 7 日目に忍容性不良のため投与を中止。体重増加の抑制・摂餌量の減少が認められた。

b. 対照群は平均値。投与群は対照群に対する比率（%）。有意差は（比率でなく）実測値より求めた。

c. 投与 9 日目

d. 投与 8 日目

e. 比較対照群を追加しなかったため、投与群の実測値を示す。

f. 投与 37 日目

g. 投与 36 日目

2.6.7.7A　反復投与毒性試験

試験レポート：ラットを用いた BG00012 の 3 ヵ月間強制経口投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（続き）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		100		250		500		50	
動物数	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験/トキシコキネティクス	15/0	15/0	10/3	10/3	15/3	15/3	15/3	15/3	10/3	10/3
病理組織学的検査（主試験）										
評価動物数	10	10	9	10	10	10	5	5	9	10
胃（腺胃）										
壊死性胃炎	-	-	-	-	-	-	5[a]	3[a]	-	-
角化亢進	-	-	-	1[b]	-	-	-	-	-	-
胃（前胃）										
扁平上皮過形成	-	-	9	10	10	10	4	3	8	10
壊死性胃炎	-	-	-	-	-	-	5	5	-	-
角化亢進	-	-	9	10	10	10	-	3	9	10
扁平上皮癌	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-
膵臓										
腺房細胞アポトーシス	1	2	6	-	9	8	-	2	8	5
腺房細胞空胞	1	4	2	6	2	8	-	4	5	8
胸腺										
萎縮	-	1	-	-	2	-	4	5	4	4
腎臓										
尿細管上皮好塩基性変化	-	-	1	-	9	-	-	-	1	-
リンパ節										
リンパ節過形成	-	-	-	-	4	3	-	-	-	-
病理組織学的検査（回復性試験）										
評価動物数	5	5	-	-	4	5	5	5	-	-
胃（前胃）										
扁平上皮過形成	-	-	-	-	4	5	5	5	-	-
慢性炎症	4	-	-	-	3	2	5	5	-	-
膵臓										
腺房細胞アポトーシス	4	1	-	-	4	5	5	3	-	-
腺房細胞空胞	4	5	-	-	2	3	5	4	-	-
腎臓										
鉱質沈着	-	1	-	-	-	1	-	4	-	-

[a] 壊死の多くは前胃粘膜に限局したが、前胃と腺胃の境界縁にもしばしば認められた。
[b] 角化亢進は境界縁の前胃部分に認められた
Data source：M4.2.3.2-3 P00012-04-01-Appendix 14-Table 2, Appendix 14-Table 3, Appendix 14-Table 4, Appendix 14-Table 5, Appendix 14-Table 6, Appendix

14-Table 7, Appendix 14-Table 8, text-Table 2, text-Table 3, text-Table 4, Appendix 6, Appendix 8, Appendix 9, Appendix 10, Appendix 11, Appendix 12-Summary Tables, Appendix 12-Individual Animal Data

2.6.7.7B　　反復投与毒性試験

試験レポート：CD®IGS ラットを用いたフマル酸ジメチルの 6 ヵ月間反復強制経口投与毒性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

動物種/系統：　ラット/Sprague Dawley/Tif:RAI f (SPF)/Crl:CD(SD)IGS BR
投与期間：　6 ヵ月間
試験番号：　P00012-04-06
試験開始週齢：　8 週齢
休薬期間：　1 ヵ月間
CTD における記載箇所：　[M4.2.3.2-4]
初回投与年月日：　[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
投与方法：　強制経口
特記事項：　一次活性代謝物であるフマル酸モノメチル（MMF）のトキシコキネティクス試験を実施した。
溶媒/投与形態：0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）/RODI 水
GLP 適用：　適
無毒性量 (mg/kg)：　25 mg/kg/日未満

投与量 (mg/kg/日)	0		25		100		200	
動物数 [a]	雄：28	雌：28	雄：28	雌：28	雄：27 [c]	雌：28	雄：28	雌：27 [c]
トキシコキネティクス（MMF）：								
0（投与 1）日目：　AUC_{last} (µg·h/mL)	-	-	2.6	2.7	11	14	22	26
C_{max} (µg/mL)	-	-	3.2	3.7	10	16	26	34
t_{max} (h) [#]	-	-	0.25	0.25	0.50	0.50	0.25	0.25
$t_{1/2}$ (h)	-	-	0.68	0.40	0.70	0.50	0.82	0.43
181 日目：　AUC_{last} (µg·h/mL)	-	-	2.4	4.1	10	24	30	36
C_{max} (µg/mL)	-	-	3.6	7.0	12	41	56	48
t_{max} (h) [#]	-	-	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
$t_{1/2}$ (h)	-	-	0.85	0.80	0.67	0.83	0.95	1.00
特記すべき所見：								
死亡又は切迫屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
体重（%） [b]	655 g	331 g	-0.9	-3.6	-1.7	+0.6	-8.5*	-3.3
摂餌量（%） [d]	729 g	525 g	0	-7.8	-1.1	-1.5	-0.6	-7.2
一般状態：発現動物数（発現例数）								
流涎 - 投与前	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	10 (13)	5 (10)
流涎 - 投与前後	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	11 (63)	4 (7)	15 (137)	15 (131)
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7B　反復投与毒性試験

試験レポート：　CD®IGS ラットを用いたフマル酸ジメチルの 6 ヵ月間反復強制経口投与毒性試験（続き）

投与量 (mg/kg/日)	0		25		100		200	
動物数 [a]	雄：28	雌：28	雄：28	雌：28	雄：27[c]	雌：28	雄：28	雌：27[c]
器官重量（%） [b]								
腎臓[(k)]	4.18 g	2.25 g	+12.0	+1.8	+49.8**	+19.1*	+62.0**	+30.7**
肝臓[(t)]	16.01 g	8.61 g	+8.1	-2.9	+25.0*	+15.6*	+25.7**	+19.6**
胃[(k)]	2.71 g	1.86 g	+15.9	+2.2	+78.6**	+52.7**	+120.7**	+1151**
剖検所見								
腎臓：腫大	0	0	1	0	7	0	12	1
胃：隆起した上皮過形成	0	0	1	0	14	14	15	15
腹部リンパ節：腫大	0	0	0	0	0	0	3	2
腸管膜リンパ節：腫大	0	0	0	0	0	0	1	0
膵臓リンパ節：腫大	0	0	0	0	0	0	1	0
病理組織学的検査[$]								
腎臓：								
腎症	7+ 1++	7+	9+ 1++	6+	5+ 8++ 1+++	7+ 1++	5+ 5++ 5+++	8 1++
尿細管拡張	4+	4+	7+ 1++	3+	7+ 5++	4+	6+ 6++	3+
尿細管上皮硝子滴	0	0	4+	0	6+ 1++	3+	7+ 3++	3+ 1++
ボーマン嚢壁側上皮細胞肥大	1+	0	7+	0	6+	1+	3+ 7++	0
尿細管上皮細胞肥大	0	0	2+	1+	11+	12+	13+	15+
尿細管上皮分節性再生	1+	0	11+ 1++	0	6+ 7++	2+	9+ 6++	1+
前胃：								
角化亢進	0	0	8+	9+	8++ 6+++	3+ 12++	6++ 9+++	1+ 7++ 7+++
扁平上皮過形成	0	0	9+	5+	1+ 10++ 3+++	8+ 7++	10++ 5+++	15++

2.6.7.7B　反復投与毒性試験

試験レポート：CD®IGS ラットを用いたフマル酸ジメチルの 6 ヵ月間反復強制経口投与毒性試験（続き）

投与量 (mg/kg/日)	0		25		100		200	
動物数 [a]	雄：28	雌：28	雄：28	雌：28	雄：27[c]	雌：28	雄：28	雌：27[c]
亜急性炎症	0	0	3+	0	8+ 1++	8+ 2++	8+ 3++	9+
扁平上皮癌	0	0	0	0	0	0	1	0
良性扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	1	0	0	0
腺胃：								
亜急性炎症	2+	0	0	3+	7+ 1++	6+ 1++	10+ 2++	4+ 2++
肝臓：								
限局性/多巣性壊死	0	0	0	0	1+	4+	1+	5+
胆管過形成	0	0	0	1+	0	3+	1+	8+
リンパ節：								
膵/腹部リンパ節過形成	0	0	0	0	0	0	1+ 2++	2++
形質細胞増加症	0	0	0	0	0	0	1+ 3++	2++
その他の検査								
回復性試験：評価動物数	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：4
器官重量（%）[b]								
腎臓[(t)]	4.31 g	2.35 g	-0.9	-3.0	+29.5**	+8.5	+34.1**	+15.7
病理組織学的検査								
腎臓：								
腎症	5+	1+	5+	1+	2+ 3++	2+	4++ 1+++	2+ 1++
尿細管拡張	1+	0	2+	0	5+	0	2+ 3++	2+
尿細管上皮硝子滴	1+	0	0	0	2+	0	4+	1++
ボーマン嚢壁側上皮細胞肥大	1+	0	3+	0	5+	0	3+ 1++	0
尿細管上皮細胞肥大	2+	0	1+	2+	5+	5+	5+	4+
尿細管上皮分節性再生	1+	0	3+	0	3+ 1++	0	2+ 3++	1+
前胃：								
角化亢進	0	0	0	0	2+	1+	3+	0

2.6.7.7B　反復投与毒性試験

試験レポート：CD®IGF ラットを用いた 6 ヵ月間反復強制経口投与毒性試験（続き）

投与量 (mg/kg/日)	0		25		100		200	
動物数 [a]	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：5	雄：5	雌：4
扁平上皮過形成	0	0	1+	0	5+	1+	4+	3+
角化嚢胞	0	0	0	0	0	0	2	2
肝臓：								
限局性/多巣性壊死	0	0	0	0	0	1+	0	1+
胆嚢過形成	0	1+	0	0	0	0	0	1+

Data source: M4.2.3.2-4 P00012-04-06-APPENDIX S-Table 3, text-Table 1, text-Table 2, text-Table 4, text-Table 5, text-Table 6, text-Table 7, text-Table 9, text-Table 8, Appendix P-SECTION II

[#] 平均値

- 投与に関連した特記すべき所見なし。

[a] 主試験； n = 雄15：雌15/群、回復性試験； n = 雄5：雌5/群、 トキシコキネティクス (TK) サテライト試験； n = 雄8：雌8/群

[b] 投与最終日（投与181日目）における対照群は平均値を示す。投与群は対照群に対する比率（%）を示す。

[c] 第3群の1例が投与91日目に死亡した状態で発見され、回復性試験第4群の雌1例が投与197日目に死亡状態で発見されたが、どちらの死亡も被験物質の投与に関連しないものと判断された。

[d] 投与1日目から181日目までの平均摂餌量の合計

[$] + 軽微、　++ 軽度、　+++ 中等度

k = Kruskal-Wallis/Dunn’s test、t = Tukey/Kramer test：　* $p < 0.05$、** $p < 0.01$

2.6.7.7C 反復投与毒性試験

試験レポート：ビーグル犬を用いた BG00012 及び高用量 Fumaderm®の 4 週間強制経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験

被験物質：フマル酸ジメチル、Fumaderm

動物種/系統： イヌ/ビーグル
試験開始月齢： 5 ヵ月以上
初回投与年月日： [redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日

投与期間： 4 週間
休薬期間： 2 週間
投与方法： 強制経口
溶媒/投与形態：0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）/懸濁液

試験番号： P00012-04-05
CTD における記載箇所： [M4.2.3.2-6]
GLP 適用： 適

特記事項： なし
無毒性量： 確定されなかった

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		50		100		250		180/60 [a]	
動物数（回復性試験）	雄：4 (3)	雌：4 (3)	雄：4 (3)	雌：4 (3)	雄：4 (3)	雌：4 (3)	雄：4 (3)	雌：4 (3)	雄：4 (3)	雌：4 (3)
トキシコキネティクス（MMF） [b]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1 日目										
AUC_{last} (μg·h/mL)	-		24.5		67.2		94.6		40.0 (180)	
C_{max} (μg/mL)	-		14.2		35.9		58.4		18.9 (180)	
14 日目										
AUC_{last} (μg·h/mL)	-		57.6		89.5		-		26.9 (60)	
C_{max} (μg/mL)	-		29.2		47.7		-		12.4 (60)	
21, 28 日目										
AUC_{last} (μg·h/mL)	-		60.1 [c]		137 [d]		-		29.1 (60) [c]	
C_{max} (μg/mL)	-		31.9 [c]		52.8 [d]		-		14.0 (60) [c]	

[a]. Fumaderm は、投与 13 日目（雄）及び 12 日目（雌）に 180 mg/kg/日から 60 mg/kg/日に投与量を減量した。
[b]. 蓄積及び性差はいずれの時点でも認められなかった。
[c] 投与 28 日目
[d] 投与 21 日目

2.6.7.7C　反復投与毒性試験

試験レポート：ビーグル犬を用いた BG00012 及び高用量 Fumaderm®の 4 週間強制経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（続き）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		50		100		250		180/60 [a]	
動物数（回復性試験）	雄：4 (3)	雌：4 (3)	雄：4 (3)	雌：4 (3)	雄：4 (3)	雌：4 (3)	雄：4 (3)	雌：4 (3)	雄：4 (3)	雌：4 (3)
特記すべき所見：										
死亡又は切迫屠殺動物数	-	-	-	-	-	1[b]	4[c]/3[d]	4[c]/3[d]	-	-
体重 (%)(kg)（主試験）[e]	8.53	6.86	-16.9	-16.0	-30.1*	-32.9**	-20.3	-8.6	-22.2*	-18.4
体重 (%)(kg)（回復性試験）[e]	8.57	6.73	-15.6	-12.3	-12.1	-6.4	-	-	-4.3	-3.9
摂餌量 (%)[f](kg/動物/日)（主試験）										
1～8 日目	0.320	0.242	-40.9	-42.6	-35.6	-71.9**	-66.6**	-65.7**	-57.2**	-43.0
8～15 日目	0.314	0.271	-55.4*	-14.8	-70.7**	-78.6*	[g]	-24.0	-55.1*	-54.6
一般状態 [h]：発現動物数										
嘔吐	-	-	7	7	7	7	7	7	7	7
食欲不振	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-
血液学的検査 [i]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液凝固検査 [i]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学的検査 [i]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量 [i]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査 [i]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査 [i]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血圧 [i]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査 [i]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量（主試験）	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[a] Fumaderm の投与量は投与 13 日目（雄）及び投与 12 日目（雌）に 180 mg/kg/日から 60 mg/kg/日に減量された。
[b] 投与 29 日目に死亡状態で発見
[c] 投与 13～15 日目に剖検
[d] 14 日間の回復性試験後、29 日目に剖検
[e] 投与又は回復期間終了時。対照群は平均値。投与群は対照群との差（%）
[f] 回復試験期間中の摂餌量は測定されなかった。対照群は平均値。投与群は対照群に対する比率（%）
[g] 摂餌量は測定せず
[h] 一般状態の変化はすべて、嘔吐及びそれによる栄養不良に関連し、被験物質に関連しなかったと判断された。
i 嘔吐及びそれによる栄養不良に関連せず、被験物質に関連する変化は認められなかった。
* = $p < 0.05$、** = $p < 0.01$

2.6.7.7C　反復投与毒性試験

試験レポート：ビーグル犬を用いた BG00012 及び高用量 Fumaderm®の 4 週間強制経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（続き）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		50		100		250		180/60 [a]	
動物数（回復性試験）	雄：4 (3)	雌：4 (3)	雄：4 (3)	雌：4 (3)	雄：4 (3)	雌：4 (3)	雄：4 (3)	雌：4 (3)	雄：4 (3)	雌：4 (3)
器官重量（回復性試験）										
脾臓 (g)	83.425	-	48.136**	-	39.180**	-	46.417**	-	49.450*	-
胸腺 (g)	12.744	-	8.348	-	3.379**	-	4.794*	-	6.011*	-
剖検所見（中間）										
胸腺；　小型	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-
胃； 赤色巣	-	-	-	-	-	-	2	1	-	-
剖検所見（主試験）										
胸腺；　小型	-	-	-	-	3	1	1	-	1	-
小型、暗色	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
胃； 赤色巣	-	-	1	-	-	1	1	-	-	-
剖検所見（回復性試験）										
胸腺；　小型、暗色	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
病理組織学的検査（中間）										
評価動物数	-	-	-	-	-	-	4	4	-	-
胸腺；　リンパ組織萎縮	-	-	-	-	-	-	4	4	-	-
骨髄・胸骨； 細胞数の減少	-	-	-	-	-	-	3	2	-	-
骨髄・大腿骨； 細胞数の減少	-	-	-	-	-	-	3	2	-	-
腎臓；　空胞変性	-	-	-	-	-	-	3	4	-	-
胃； 出血 単核球 びらん	-	-	-	-	-	-	 3 3 3	 1 4 0	-	-

[a] Fumaderm の投与量は投与 13 日目（雄）及び投与 12 日目（雌）に 180 mg/kg/日から 60 mg/kg/日に減量された。
* = $p < 0.05$、** = $p < 0.01$

2.6.7.7C　反復投与毒性試験

試験レポート：ビーグル犬を用いた BG00012 及び高用量 Fumaderm®の 4 週間強制経口投与毒性試験及び 14 日間回復性試験（続き）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		50		100		250		180/60 [a]	
病理組織学的検査（主試験）										
評価動物数	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：4	雌：3	雄：3	雌：3	雄：4	雌：4
胸腺										
リンパ組織萎縮	0	0	0	1	4	2	3	0	2	2
骨髄・胸骨；										
細胞数の減少	0	0	0	0	3	1	0	0	1	1
骨髄・大腿骨；										
細胞数の減少	0	0	0	0	1	1	0	0	1	2
腎臓；										
空胞変性	1	3	2	4	4	3	2	3	3	4
胃；										
出血	2	2	0	0	0	0	1	0	0	0
単核球	4	0	0	1	0	1	1	3	3	1
病理組織学的検査（回復性試験）										
評価動物数	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	-	-	雄：3	雌：3
胸腺	0	0	0	0	0	2	-	-	0	0
リンパ組織萎縮										
骨髄・胸骨；	0	0	0	0	1	1	-	-	2	0
細胞数の減少										
骨髄・大腿骨；	0	0	0	0	1	1	-	-	2	0
細胞数の減少										
腎臓；	0	3	0	3	1	2	-	-	1	3
空胞変性										
胃；										
出血	1	0	0	1	0	0	-	-	0	0
単核球	3	0	0	0	1	0	-	-	0	1

[a] Fumaderm の投与量は投与 13 日目（雄）及び投与 12 日目（雌）に 180 mg/kg/日から 60 mg/kg/日に減量された。

Data source：M4.2.3.2-6- P00012-04-05-Appendix 15-Amendment 1-Table 2, Appendix 15- Amendment 1-Table 3, Appendix 15- Amendment 1-Table 4, Appendix 15-Amendment 1-Table 5, Appendix 15- Amendment 1-Table 6, text-Table 1, text-Table 2, text-Table 3, Appendix 4, text-Table 5, Appendix 8, Appendix 9, Appendix 11, Appendix 12, Appendix 13, Appendix 14, Appendix 10, text-Table 7, Appendix 2, Appendix 3-Table 3

2.6.7.7D 反復投与毒性試験

試験レポート：ビーグル犬を用いた11ヵ月間経口（カプセル製剤）投与毒性試験及び1ヵ月間回復性試験

被験物質：フマル酸ジメチルカプセル

動物種/系統： イヌ/ビーグル
試験開始月齢： 約 7 ヵ月
初回投与年月日： [redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
特記事項: 高用量は 75 mg/kg を 50 mg/kg に減量した。トキシコキネティクスは一次活性代謝物であるフマル酸モノメチルを解析
無毒性量 (mg/kg/日)： 5

投与期間： 11 ヵ月間
休薬期間： 1 ヵ月間
投与方法： 経口
溶媒/投与形態：カプセル

試験番号： P00012-05-05
CTD における記載箇所： [M4.2.3.2-7]
GLP 適用： 適

投与量 (mg/kg, BID)	0		5		25		75/50[a]	
動物数（回復性試験）	雄：4 (2)	雌：4 (2)	雄：4 (2)	雌：4 (2)	雄：4 (2)	雌：4 (2)	雄：4 (2)	雌：4 (2)
トキシコキネティクス（MMF）：								
投与 1 日目： $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg·h /mL)	-	-	8.5	9.8	40.3	49.1	74.6[b]	91.1[b]
C_{max} (µg/mL)	-	-	2.6	2.9	11.2	11.4	22.9	24.9
t_{max} (h)[#]	-	-	5.0	1.0	2.0	3.5	2.0	3.5
投与 182 日目： $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg·h /mL)	-	-	5.8	5.7	21.0	22.4	42.3	35.0
C_{max} (µg/mL)	-	-	2.4	2.3	8.6	8.0	12.4	13.6
t_{max} (h)[#]	-	-	1.0	1.0	3.0	3.3	1.5	1.5
投与 330 日目： $AUC_{0\text{-}24h}$ (µg·h /mL)	-	-	5.7	7.0	24.0	27.3	52.0	44.8
C_{max} (µg/mL)	-	-	2.1	1.7	11.0	9.1	9.7	14.5
t_{max} (h)[#]	-	-	3.0	1.5	1.5	3.0	2.0	1.0
特記すべき所見：								
死亡又は切迫屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
体重[@,c]（%）	11310 g	9509 g	-7.5	-2.4	-8.2	-10.1	-19,4[**]	-8.3
摂餌量[@,d]（%）	327 g/日	220 g/日	-16.7[*]	14.2	-7.3	7.1	-62.4[**]	-53.2[**]
一般状態：発現動物数（発現数）								
軟便	6 (63)	2 (2)	4 (23)	5 (19)	6 (62)	5 (10)	6 (236)	6 (138)
粘液便	6 (73)	4 (11)	5 (19)	6 (32)	6 (151)	4 (30)	5 (108)	5 (75)
ケージ内の粘液物質	6 (9)	2 (4)	3 (5)	5 (10)	5 (88)	2 (8)	5 (35)	5 (27)
無便	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	1 (1)	5 (21)	2 (2)
便量減少	0 (0)	2 (3)	0 (0)	2 (2)	0 (0)	2 (4)	4 (16)	4 (6)

2.6.7.7D　反復投与毒性試験

試験レポート：ビーグル犬を用いた 11 ヵ月間経口（カプセル製剤）投与毒性試験及び 1 ヵ月間回復性試験（続き）

投与量 (mg/kg, BID)	0		5		25		75/50[a]	
動物数（回復性試験）	雄：4 (2)	雌：4 (2)	雄：4 (2)	雌：4 (2)	雄：4 (2)	雌：4 (2)	雄：4 (2)	雌：4 (2)
嘔吐	4 (11)	2 (3)	5 (10)	4 (6)	4 (9)	3 (10)	6 (12)	5 (17)
眼漏	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (7)	0 (0)	0 (0)	2 (13)	3 (7)
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血圧	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学的検査 [e,@]								
クレアチニン（mg/dL）	0.79	0.76	2.5	-5.3	-17.7*	-22.4**	-21.5*	-34.2**
BUN (mg/dL)	20	15	-10.0	-6.7	-30.0**	-13.3	-55**	-53.3**
尿検査 [e,@]								
尿量（mL）	37.0	21.8	-18.9	102.3	-40.9	155.2	573.0	574.7
比重 [e]	1.061	1.056	0.1	-0.1	0.0	-1.7	-3.3	-2.8*
器官重量 [e,@]								
腎臓	52.2 g	40.9 g	11.3	2.1	40.7	13.0	45.6*	53.6**
副腎	1.4	1.2	-16.3	15.2	-4.5	1.6	15.9	12.1
精巣上体	4.0	-	-15.6	-	-15.7	-	-35.0*	-
精巣	16.6	-	-23.2	-	-9.7	-	-27.3	-
剖検所見								
副腎、腫大	0	-	0	-	0	-	2	-
腎臓、腫大	0	-	0	-	1	-	2	-
病理組織学的検査[$]								
腎臓：								
尿細管上皮肥大	0	0	1+ 1++	0	2+ 1++	0	2+ 2++	0
皮質尿細管拡張	0	0	1+	1+	 1++	0	3+ 1++	3+
尿細管上皮再生	0	0	0	0	 1++	0	1+ 1++	0
皮質実質委縮	0	1+	1+	0	 1++	1+	1+ 2++	4+
腎乳頭混合細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	1+++	1++
腎乳頭状尿路上皮過形成	0	0	1+	0	2+	1+ 2++	2+ 2++	1+ 3++

2.6.7.7D　反復投与毒性試験

試験レポート：ビーグル犬を用いた 11 ヵ月間経口（カプセル製剤）投与毒性試験及び 1 ヵ月間の回復性試験（続き）

投与量 (mg/kg, BID)	0		5		25		75/50[a]	
動物数（回復性試験）	雄：4 (2)	雌：4 (2)	雄：4 (2)	雌：4 (2)	雄：4 (2)	雌：4 (2)	雄：4 (2)	雌：4 (2)
副腎：								
索状帯肥大	0	0	0	0	1+ 1+++	2+	1++	2+
精巣：								
上皮変性	1+	NA	0	NA	1++	NA	2++ 1+++	NA
多核巨細胞	0	NA	0	NA	0	NA	2+	NA
精巣上体：								
精液過少症	0	NA	0	NA	0	NA	3+++	NA
その他の検査								
回復性試験：評価動物数	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2	雄：2	雌：2
病理組織学的検査[$]								
腎臓：								
尿細管上皮肥大	0	0	2+	0	0	0	1++	0
皮質尿細管拡張	0	0	0	0	1+	0	1+	0
皮質実質委縮	1+	0	1+	0	2++	0	1+	0
腎乳頭混合細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	1+
腎乳頭状尿路上皮過形成	0	0	0	0	1+ 1++	1+	1+	1++
精巣：								
上皮変性	0	NA	0	NA	1+	NA	0	NA
多核巨細胞	0	NA	0	NA	0	NA	2+	NA

Data source: M4.2.3.2-7 P00012-05-05-Appendix 22-Table 2, text-Table 1, text-Table 3, text-Table 5, Appendix 10, Appendix 11, text-Table 6, text-Table 7, text-Table 8, text-Table 9, text-Table 10, text-Table 11, text-Table 12, Appendix 20-Table 3, Appendix 20-Table 4

[#] 中央値

-特記すべき所見なし。

[a] 投与7日目の初めに第4群動物に有害な変化の徴候が認められたため、4例の75 mg/kg/日の用量を50 mg/kg/日に減量した。

[b] 投与1日目は75 mg/kgを投与した。

[c] 投与最終日（投与329日目）で対照群は平均g数、投与群は対照群に対する比率（%）を示した。有意差は（比率でなく）実測値より求めた。
ANOVA/DUNNETT-TEST [**] = P < 0.01

[d] 投与最終日（投与47週目）で対照群は平均g数、投与群は対照群に対する比率（%）を示した。有意差は（比率でなく）実測値より求めた。
ANOVA/DUNNETT-TEST KRUSKAL-WALLIS/DUNN'S [*] = P < 0.05、 [**] = P < 0.01

[e] 投与最終日（投与332/333日目）に、対照群は平均g数、投与群は対照群に対する比率（%）を示した。有意差は（比率でなく）実測値より求めた。

ANOVA/DUNNETT-TEST * = P < 0.05、** = P < 0.01
@ パラメーターはすべて1ヵ月間の休薬後対照群と比較した。
$ + 軽微、　++ 軽度、　+++ 中等度 BID：1 日 2 回、NA：該当せず（実施せず）

2.6.7.7E 反復投与毒性試験

試験レポート：カニクイザルを用いたフマル酸ジメチル懸濁液の経鼻胃管投与による1年間慢性毒性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

動物種/系統:	サル/カニクイザル	投与期間:	52 週間	試験番号：	P00012-05-08
試験開始年齢：	雄：2.3～4.8 歳、雌：2.3～6.0 歳	休薬期間:	4 週間	CTD における記載箇所:	[M4.2.3.2-9]
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	投与方法:	経鼻胃管		
特記事項:	トキシコキネティクスは、一次活性代謝物である MMF を解析した。	溶媒 / 投与形態：	0.8%HPMC/RODI 水	GLP 適用:	適
無毒性量 (mg/kg/日)：	5				

投与量 (mg/kg)	0		5		25		75	
動物数（回復性試験）	雄：4 (2)	雌：4 (2)	雄：4 [a](2)	雌：4 (2)	雄：4 (2)	雌：5 [b](1)	雄：4 (2)	雌：4 (2)
トキシコキネティクス（MMF）：								
投与 1 日目： $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	-	-	2.82	2.83	14.43	11.6	40.71	39.46
C_{max} (μg/mL)	-	-	2.03	1.65	9.89	7.03	30.33	27.78
t_{max} (h) [#]	-	-	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
$t_{1/2}$ (h)	-	-	-	1.17	0.92	0.84	0.73	0.74
投与 4 週間目： $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	-	-	1.99	2.23	12.74	12.9	58.41	50.39
C_{max} (μg/mL)	-	-	1.88	1.83	10.98	9.71	31.95	26.97
t_{max} (h) [#]	-	-	0.25	0.34	0.50	0.50	0.85	0.63
$t_{1/2}$ (h)	-	-	0.46	0.58	0.42	0.58	0.90	0.87
投与 26 週間目： $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	-	-	2.05	2.51	14.57	15.26	49.63	53.21
C_{max} (μg/mL)	-	-	1.99	2.46	10.92	11.62	29.00	35.22
t_{max} (h) [#]	-	-	0.34	0.25	0.50	0.50	0.75	0.75
$t_{1/2}$ (h)	-	-	0.52	0.53	0.80	0.62	0.81	0.84
投与 52 週間目： $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	-	-	2.32	2.73	12.21	15.58	47.42	43.63
C_{max} (μg/mL)	-	-	2.03	2.06	8.82	11.79	23.92	31.47
t_{max} (h) [#]	-	-	0.25	0.25	0.41	0.50	0.88	0.50
$t_{1/2}$ (h)	-	-	0.60	0.73	0.89	0.88	1.04	0.91
特記すべき所見：								
死亡又は切迫屠殺動物数	-	-	-[a]	-	-	-	-	-

2.6.7.7E　反復投与毒性試験

試験レポート：カニクイザルを用いたフマル酸ジメチル懸濁液の経鼻胃管投与による 1 年間慢性毒性試験（続き）

投与量 (mg/kg)	0		5		25		75	
動物数（回復性試験）	雄：4 (2)	雌：4 (2)	雄：4 [a](2)	雌：4 (2)	雄：4 (2)	雌：5 [b](1)	雄：4 (2)	雌：4 (2)
体重 [c]（%）	3.5 kg	3.3 kg	22.9	0	-9	-9.1	-11.4	-15.15
一般状態：質的変化								
摂餌量の減少	0	2	1	1	4	4	5	6
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学的検査								
BUN(mg/dL)	23.7	21.2	1.3	2.8	-29	-29*	-19.8	-46.7*
クレアチニン(mg/dL)	0.7	0.72	20	6.9	-21.4	-12.5	-10	-19.4
血清リン(mg/dL)	5.85	5.68	9.1	-21.7	1.7	-17.3	-21.4	-27.3
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量 [c](%)								
腎臓	14.99 g	12.79 g	4.7	13.0	6.9	25.2	7.1	92.0*
剖検所見								
腎臓：								
変色—蒼白	0	0	0	0	1++	0	4++	2++
大型化	0	0	0	0	0	0	0	4
水分含量	0	0	0	0	0	0	0	2
病理組織学的検査								
腎臓：								
尿細管上皮限局性/多巣性単細胞壊死	0	0	0	0	1+	2+	3+	4++
尿細管上皮再生	0	0	0	0	0	2+	1+ 1++ 1+++	1+ 3+++
その他の検査								
回復性試験：評価動物数	2	2	2	2	2	1	2	2
病理組織学的検査								
腎臓：								
変色—蒼白	0	0	0	0	0	0	1	1

2.6.7.7E　反復投与毒性試験

試験レポート：カニクイザルを用いたフマル酸ジメチル懸濁液の経鼻胃管投与による 1 年間慢性毒性試験（続き）

投与量 (mg/kg)	0		5		25		75	
動物数（回復性試験）	雄：4 (2)	雌：4 (2)	雄：4 [a](2)	雌：4 (2)	雄：4 (2)	雌：5 [b](1)	雄：4 (2)	雌：4 (2)
尿細管上皮限局性/多巣性単細胞壊死	0	0	0	0	0	1+	1+	0
尿細管上皮再生	0	0	0	0	0	1+	2++	1+ 1++
間質の多巣性/びまん性線維化	0	0	0	0	0	0	1++ 1+++	0
皮質尿細管の限局性/多巣性びまん性萎縮	1+	0	1+	0	0	0	1++ 1+++	1+

Data source: M4.2.3.2-9 P00012-05-08-Appendix F-Table 2A, Appendix F-Table 2B, Appendix F-Table 2C, text-Table 8, text-Table 3, Appendix C, text-Table 5, text-Table 4, text-Table 7, Appendix I-Table 4, Appendix I- Table 2, Appendix I-Table 6, Appendix I-Table 3, Appendix I-Table 7

[#] 中央値

-特記すべき所見なし。

[a] 5 mg/kg群の雄1例が、投与197日目に誤投与により死亡した。

[b] 回復性試験の雌1例は、誤って主剖検時（53週目）に剖検された。

[c] 投与期間の最終日に対照群は平均g数、投与群は対照群に対する比率（%）を示した。

[$] ＋ 軽微、　 ++ 軽度、　 +++ 中等度

*投与期間の最終日（52週目）に、統計学的有意差は実測値より求めた。ANOVA/Dunnett’s and Dunn’s $P \leq 0.05$

BID：1 日 2 回

2.6.7.8. 遺伝毒性試験 in vitro

2.6.7.8A 遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：フマル酸ジメチル（DMF）のネズミチフス菌/ミクロソームを用いたAmes変異原性試験（確認試験を含む）

被験物質：フマル酸ジメチル（DMF）

試験の種類：	細菌を用いる復帰突然変異試験	独立して実施した試験数：	2	試験番号：	5403/89
菌体：	*S. Typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538	使用プレート数：	3/用量	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.3.1-1]
代謝活性化系：	Aroclor™1254 で誘導したラット肝ポストミトコンドリア S9 画分	細胞数：	約 10^8/プレート		
溶媒：	被験物質: ジメチルホルムアミド	陽性対照：	水、DMSO、エタノール	GLP 適用：	適
処理：	処理 48 時間後に評価			処理年月：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
細胞毒性：	> 1000 µg/プレート（-S9）、> 10,000 µg/プレート（+S9）				
遺伝毒性：	なし				

Assay #1							
代謝活性化	被験物質	用量段階 (µg/plate)	復帰変異コロニー数/プレート 平均（標準偏差）				
			TA1535	TA1537	TA1538	TA98	TA100
代謝活性化なし	溶媒	100 µl/plate	4.0 (1.7)	4.7 (1.5)	23.7 (8.0)	32.3 (10.1)	120.0 (3.5)
	フマル酸ジメチル	3.16	11.7 (8.3)	6.0 (2.0)	22.3 (5.9)	38.0 (7.9)	112.7 (12.1)
		10	8.3 (2.1)	5.0 (2.0)	22.0 (7.5)	30.7 (7.6)	109.0 (7.8)
		31.6	7.7 (1.5)	6.3 (1.5)	25.0 (5.3)	33.3 (2.5)	122.7 (12.9)
		100	9.0 (1.0)	6.3 (1.5)	19.3 (3.1)	37.7 (4.5)	122.3 (1.2)
		316	7.7 (0.6)	7.7 (0.6)	27.7 (6.0)	34.0 (8.2)	106.0 (5.3)
		1000	4.0 (1.0)	5.7 (1.5)	23.3 (4.0)	23.0 (5.3)	70.0 (4.0)
		3160	0.0 (0.0)	7.0 (3.6)	1.3 (1.5)	2.7 (1.2)	14.3 (4.6)
	sodium azide	10	4132.7 (952.7)	-	-	-	1765.7 (118.4)
	9-aminoacridine	50	-	879.7 (122.2)	-	-	-
	2-nitro-9H-fluorene	10	-	-	1634.7 (152.1)	2099.3 (247.6)	-
代謝活性化あり	溶媒	-	11.0 (6.1)	8.0 (2.6)	33.7 (3.5)	36.7 (8.6)	110.3 (11.4)
	フマル酸ジメチル	3.16	8.3 (6.7)	8.3 (1.5)	31.0 (4.0)	38.3 (5.7)	104.7 (6.0)
		10	8.0 (1.7)	8.7 (3.2)	39.0 (3.6)	45.3 (6.8)	107.0 (9.5)
		31.6	10.0 (6.1)	11.0 (3.6)	31.3 (7.4)	40.3 (2.5)	113.7 (8.1)
		100	8.3 (5.7)	9.0 (3.6)	31.0 (3.0)	42.7 (4.0)	104.0 (7.9)

2.6.7.8A　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：フマル酸ジメチル（DMF）の Ames Salmonella/ミクロソームを用いた変異原性試験（確認試験を含む）（続き）

Assay #1（続き）							
代謝活性化	被験物質	用量段階 (µg/plate)	復帰変異コロニー数/プレート　平均（標準偏差）				
			TA1535	TA1537	TA1538	TA98	TA100
		316	8.7 (2.1)	12.0 (2.0)	31.7 (2.5)	34.7 (7.4)	103.3 (11.8)
		1000	12.7 (5.1)	4.3 (2.3)	34.7 (5.9)	39.7 (5.0)	96.3 (6.4)
		3160	11.3 (0.6)	6.7 (3.8)	35.0 (7.0)	44.3 (0.6)	82.3 (10.1)
	2-aminoanthracene	2	302.3 (56.4)	190.0 (19.7)	426.3 (114.9)	1137.0 (275.0)	1110.0 (147.8)
Assay #2							
代謝活性化	被験物質	用量段階 (µg/plate)	復帰変異コロニー数/プレート　平均（標準偏差）				
			TA1535	TA1537	TA1538	TA98	TA100
代謝活性化なし	溶媒	100 µl/plate	8.7 (4.7)	4.7 (1.2)	22.0 (3.6)	21.0 (5.6)	80.0 (4.4)
	フマル酸ジメチル	10	8.3 (2.1)	3.3 (0.6)	22.7 (5.8)	28.0 (6.1)	122.0 (11.5)
		31.6	9.3 (2.1)	6.0 (2.0)	22.3 (8.1)	23.7 (4.0)	104.7 (7.6)
		100	7.0 (4.6)	3.3 (1.5)	23.0 (4.4)	20.7 (6.7)	90.0 (14.8)
		316	7.0 (1.0)	3.7 (2.3)	20.7 (4.0)	14.3 (0.6)	64.0 (4.6)
		1000	2.0 (1.0)	6.7 (2.3)	15.3 (1.2)	14.3 (5.1)	61.0 (5.2)
		3160	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.7 (0.6)	0.3 (0.6)	2.7 (1.5)
		10000	0.3 (0.6)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)	0.0 (0.0)
	sodium azide	10	1995.3 (25.1)	-	-	-	1267.3 (57.4)
	9-aminoacridine	50	-	946.0 (58.8)	-	-	-
	2-nitro-9H-fluorene	10	-	-	1251.7 (73.7)	1279.3 (238.4)	-
代謝活性化あり	溶媒	100 µl/plate	8.7 (2.1)	9.7 (2.1)	40.0 (6.6)	45.0 (8.5)	134.0 (6.6)
	フマル酸ジメチル	10	10.3 (3.8)	6.3 (2.5)	41.0 (5.6)	48.0 (5.3)	129.3 (15.6)
		31.6	6.7 (2.3)	8.3 (1.2)	37.0 (5.3)	53.7 (4.9)	142.0 (13.9)
		100	16.0 (1.7)	10.3 (2.5)	36.0 (3.5)	48.0 (7.8)	140.7 (11.1)
		316	13.7 (1.2)	7.0 (3.0)	45.7 (4.7)	45.0 (7.9)	137.0 (13.0)
		1000	13.7 (4.0)	9.3 (3.2)	33.3 (5.5)	42.7 (7.4)	124.3 (10.1)
		3160	6.3 (1.2)	5.7 (0.6)	28.3 (5.0)	34.3 (3.8)	134.0 (2.0)
		10000	5.3 (3.2)	7.0 (1.7)	34.0 (7.2)	33.0 (8.2)	111.3 (7.0)
	2-aminoanthracene	2	261.3 (17.9)	226.7 (3.8)	453.7 (49.9)	1254.7 (313.0)	1044.3 (148.7)
Data source: M4.2.3.3.1-1 5403/89-Table 2 DMSO：ジメチルスルホキシド							

2.6.7.8B　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：細菌を用いた復帰突然変異試験及び確認試験

被験物質：フマル酸モノメチル（MMF）

試験の種類：	細菌を用いる復帰突然変異試験	独立して実施した試験数：	2	試験番号：	P00012-08-02
菌体：	*Salmonella typhimurium* 及び *Escherichia coli*	使用プレート数：	2/用量	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.3.1-2]
代謝活性化系：	Aroclor™1254 で誘導したラット肝ポストミトコンドリア S9 画分	細胞数：	約 10^8/プレート		
溶媒：	被験物質：　DMSO	陽性対照：	アジ化ナトリウム；H_2O その他；DMSO	GLP 適用：	適
処理：	処理 52 ± 4 時間後に評価			処理年月：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
細胞毒性：	復帰突然変異体の発生頻度の低下又はバックグラウンドローンの薄層化				
遺伝毒性：	なし				

Assay #1							
代謝活性化	被験物質	用量段階 (µg/plate)	復帰変異コロニー数（平均 ± 標準偏差）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	DMSO	50 µl/plate	13 ± 1	100 ± 3	19 ± 4	5 ± 1	13 ± 0
	フマル酸モノメチル	1.60	11 ± 1	80 ± 6	23 ± 4	9 ± 5	17 ± 1
		5.00	14 ± 2	90 ± 6	26 ± 3	6 ± 2	15 ± 1
		16.0	12 ± 3	89 ± 8	23 ± 4	3 ± 0	15 ± 2
		50.0	15 ± 5	96 ± 5	14 ± 3	3 ± 0	13 ± 0
		160	16 ± 6	102 ± 0	17 ± 7	4 ± 0	12 ± 7
		500	14 ± 2	109 ± 13	15 ± 4	4 ± 1	15 ± 1
		1600	10 ± 6	88 ± 6	15 ± 4	5 ± 1 R	15 ± 6
		5000	0 ± 0 R	34 ± 9 R	4 ± 1 R	2 ± 2 R	13 ± 3 R
	2-nitrofluorene	1.0	287 ± 18	-	-	-	-
	sodium azide	2.0	-	947 ± 49	733 ± 27	-	-
	ICR-191	2.0	-	-	-	199 ± 21	-
	4-nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	227 ± 54
代謝活性化あり	DMSO	50 µl/plate	18 ± 2	119 ± 11	14 ± 4	10 ± 2	19 ± 6
	フマル酸モノメチル	1.60	21 ± 1	91 ± 4	14 ± 2	8 ± 4	17 ± 1
		5.00	21 ± 5	105 ± 30	8 ± 6	9 ± 1	19 ± 6

2.6.7.8B　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：細菌を用いた復帰突然変異試験及び確認試験（続き）

Assay #1（続き）							
代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	復帰変異コロニー数（平均値 ± 標準偏差）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
		16.0	24 ± 16	106 ± 3	11 ± 0	6 ± 0	18 ± 6
		50.0	22 ± 1	114 ± 6	12 ± 4	6 ± 1	20 ± 1
		160	17 ± 3	101 ± 16	15 ± 1	10 ± 4	15 ± 3
		500	26 ± 4	103 ± 4	12 ± 1	8 ± 1	17 ± 5
		1600	17 ± 4	100 ± 9	10 ± 7	7 ± 2	16 ± 1
		5000	24 ± 0 [R]	70 ± 1 [R]	11 ± 2 [R]	2 ± 1 [R]	11 ± 3 [R]
	benzo[a]pyrene	2.5	330 ± 101	-	-	-	-
	2-aminoanthracene	2.5	-	953 ± 57	231 ± 49 [N]	89 ± 3	-
	2-aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	595 ± 16
Assay #2							
代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	復帰変異コロニー数（平均値 ± 標準偏差）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	DMSO	50 μl/plate	16 ± 2	91 ± 5	15 ± 5	7 ± 2	15 ± 5
	フマル酸モノメチル	50.0	11 ± 2	88 ± 17	13 ± 4	4 ± 3	9 ± 2
		160	10 ± 1	81 ± 2	13 ± 5	9 ± 2	14 ± 3
		500	14 ± 4	83 ± 6	12 ± 2	7 ± 3	16 ± 2
		1600	12 ± 1	73 ± 10	12 ± 3	8 ± 1	17 ± 10
		3330	6 ± 3 [R]	60 ± 10 [R]	6 ± 3 [R]	4 ± 1 [R]	10 ± 1 [R]
		5000	3 ± 2 [R]	42 ± 1 [R]	7 ± 2 [R]	1 ± 1 [R]	12 ± 1 [R]
	2-nitrofluorene	1.0	186 ± 12	-	-	-	-
	sodium azide	2.0	-	993 ± 78	689 ± 54	-	-
	ICR-191	2.0	-	-	-	110 ± 8	-
	4-nitroquinoline-N-oxide	1.0	-	-	-	-	123 ± 34
代謝活性化あり	DMSO	50 μl/plate	27 ± 4	104 ± 5	13 ± 3	8 ± 3	17 ± 4
	フマル酸モノメチル	50.0	23 ± 2	100 ± 11	11 ± 3	8 ± 1	20 ± 1
		160	22 ± 4	115 ± 5	9 ± 2	6 ± 3	15 ± 4
		500	20 ± 5	102 ± 10	10 ± 3	8 ± 2	12 ± 3
		1600	22 ± 1	78 ± 8	11 ± 1	7 ± 2	11 ± 2

2.6.7.8B　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：細菌を用いた復帰突然変異試験及び確認試験（続き）

Assay #2（続き）							
代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	復帰変異コロニー数（平均値 ± 標準偏差）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
		3330	20 ± 4	74 ± 8	5 ± 3	6 ± 3	13 ± 2
		5000	15 ± 4	64 ± 5	5 ± 2	6 ± 2	11 ± 1
	benzo[a]pyrene	2.5	337 ± 112	-	-	-	-
	2-aminoanthracene	2.5	-	993 ± 9	145 ± 17	91 ± 7	-
	2-aminoanthracene	25.0	-	-	-	-	504 ± 74

Data source: M4.2.3.3.1-2 P00012-08-02-Table 2, Table 1, Table 4, Table 3
DMSO：ジメチルスルホキシド
陽性判定（溶媒対照群に対する増加比）：TA98, TA1001及び WP2*uvrA* ；2倍以上、TA1535 及び TA1537；3倍以上
[R] バックグラウンドローンの薄層化

2.6.7.8C　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：チャイニーズハムスター由来V79細胞を用いたフマル酸ジメチルのin vitro 変異原性試験

被験物質：フマル酸ジメチル（DMF）

試験の種類：	染色体異常試験	独立して実施した試験数：	2	試験番号：	5405/89
細胞種：	チャイニーズハムスター由来 V79 細胞	使用プレート数：	3/用量	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.3.1-3]
代謝活性化系：	Aroclor™1254 で誘導したラット肝ポストミトコンドリア S9 画分	分析細胞数/培養：	1500,000 細胞/150 mm シャーレ		
溶媒：	被験物質：　DMSO	陽性対照：	DMSO	GLP 適用：	適
処理：	S9 非添加で 24 時間、S9 添加で 2 時間			処理年月：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
細胞毒性：	S9 非添加で 5 µg/mL 以上、S9 添加で 1000 µg/mL 以上				
遺伝毒性：	なし				

Assay #1												
代謝活性化	被験物質	濃度又は用量 (µg/mL)	溶媒—DMSO (µg/plate)	平板効率		6-チオグアニン抵抗性コロニー数(c)					6-チオグアニン抵抗性生存細胞数 x 10^6 (d)	突然変異細胞数 x 10^6 (e)
				PE_1 (a)	PE_2 (b)							
代謝活性化なし	フマル酸ジメチル	0	300	0.82	0.84	6	11	14	13	10	4.20	12.9
		0.3	300	1.07	0.73	3	4	6	0	3	3.65	4.4
		1	300	0.69	0.86	8	4	5	1	8	4.30	6.1
		3	300	0.89	0.77	9	12	13	10	13	3.85	14.8
		10	300	0.00	*	*	*	*	*	*	*	*
		30	300	0.00	*	*	*	*	*	*	*	*
	EMS	600	100	0.40	0.39	539	589	523	570	428	1.95	1358.5
		700	100	0.31	0.45	520	579	589	608	606	2.25	1289.8
代謝活性化あり	フマル酸ジメチル	0	180	0.98	0.82	5	4	6	4	5	4.10	5.9
		312.5	180	0.67	0.75	4	10	8	15	10	3.75	12.5
		625	180	0.95	0.86	10	11	12	12	9	4.30	12.6
		1250	180	0.40	0.66	6	8	10	4	6	3.30	10.3
		2500	180	0.09	0.78	8	8	16	11	9	3.90	13.3
		5000	180	0.00	*	*	*	*	*	*	*	*
	DMBA	20	180	0.99	0.59	259	232	270	248	*	2.95	427.6
		30	180	0.82	0.73	345	348	384	335	328	3.65	476.7

2.6.7.8C　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：チャイニーズハムスター由来 V79 細胞を用いたフマル酸ジメチルの in vitro 変異原性試験（続き）

Assay #2												
代謝活性化	被験物質	濃度又は用量 (µg/mL)	溶媒—DMSO (µg/plate)	平板効率		6-チオグアニン抵抗性コロニー数 (c)					6-チオグアニン抵抗性生存細胞数 x 10^6 (d)	突然変異細胞数 x 10^6 (e)
				PE_1 (a)	PE_2 (b)							
代謝活性化なし	フマル酸ジメチル	0	300	0.82	1.03	8	7	2	12	5	5.20	6.5
		0.3	300	0.73	0.91	14	12	6	17	12	4.55	13.4
		1	300	0.89	1.08	13	7	6	8	18	5.40	9.6
		3	300	0.96	0.92	15	17	13	12	13	4.60	15.2
		10	300	0.00	0.72	10	13	10	8	16	3.55	16.1
		30	300	0.00	*	*	*	*	*	*	*	*
	EMS	600	100	0.55	0.45	352	337	332	331	345	2.25	754.2
		700	100	0.31	0.25	222	322	313	346	357	1.25	1248.0
代謝活性化あり	フマル酸ジメチル	0	180	0.74	0.84	7	6	9	11	8	4.20	9.8
		312.5	180	0.93	0.90	24	10	9	15	16	4.50	16.4
		625	180	0.72	0.75	10	9	8	12	6	3.75	12.0
		1250	180	0.33	1.00	8	11	10	8	14	5.00	10.2
		2500	180	0.36	0.64	12	7	13	7	8	3.20	14.7
		5000	180	0.02	*	*	*	*	*	*	*	*
	DMBA	20	180	0.58	0.76	495	520	429	428	462	3.80	614.2
		30	180	0.45	0.64	430	465	393	408	459	3.20	673.4

Data source: M4.2.3.3.1-3 5405/89-Table 2, Table 4, Table 3, Table 5
* 100%の細胞毒性を示し最初の細胞処理を完遂できなかった。
(a) 被験物質曝露終了時の平板効率（3プレートの平均値）
(b) 選択時間における平板効率（3プレートの平均値）
(c) 1プレート当たりのコロニー数を示す。150 mmシャーレ当たり10^6個の細胞を含むシャーレ5枚のインキュベート由来。
(d) 6-チオグアニン添加プレート数 x プレートに播種した細胞 (= 10^6) x 平板効率(PE_2)
(e) 6-チオグアニン抵抗性細胞数の合計{(各cの和)/ (d)}
DMSO：ジメチルスルホキシド、EMS：エチルメタンスルホン酸、DMBA：7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセン

2.6.7.8D　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：培養ヒト末梢血リンパ球を用いたフマル酸ジメチルのin vitro染色体異常誘発性試験

被験物質：フマル酸ジメチル（DMF）

試験の種類：	染色体異常試験	独立して実施した試験数：	2	試験番号：	5407/89
系統：	初代培養ヒトリンパ球	使用プレート数：	2/用量	CTD における記載箇所：	参考[M4.2.3.3.1-4]
代謝活性化系：	Aroclor™1254 で誘導したラット肝ポストミトコンドリア S9 画分	分析細胞数/培養：	1000 細胞		
溶媒：	被験物質: DMSO	陽性対照：	注射用水	GLP 適用：	非適用 [a]
処理：	S9 非添加で 24 時間、S9 添加で 2 時間の処理時間 S9 添加又は非添加で採取時間は 24 時間			処理年月：	[redacted]年[redacted]月[redacted]日
細胞毒性：	S9 非添加で 12.5 µg/mL 以上、S9 添加で 150 µg/mL 以上				
遺伝毒性：	S9 非添加の高用量細胞毒性濃度において染色体異常発現率の増加				

Assay #1								
代謝活性化	被験物質	濃度 (µg/ml)	分裂指数#	観察細胞数	gap を有する細胞頻度 (%)	染色体異常細胞頻度(%) (+g)	染色体異常細胞頻度(%) (-g)	有意差 chi²-test (染色体異常細胞頻度)
代謝活性化なし	フマル酸ジメチル	0	1.00	100	4.0	5.0	1.0	-
		1.56	1.33	100	3.0	5.0	2.0	n.s.
		3.13	0.75	100	3.0	6.0	3.0	n.s.
		6.25	0.67	100	5.0	8.0	3.0	n.s.
		12.5	0.29	100	12.0	27.0	21.0	s.
		25.0	0.33	100	分裂中期細胞 100 個のうち 99 個			s.
	Mitomycin C	0.1	0.50	100	20.0	31.0	18.0	s.
代謝活性化あり	フマル酸ジメチル	0	1.00	100	3.0	4.0	1.0	-
		12.5	1.23	100	3.0	3.0	0.0	n.s.
		25.0	1.08	100	3.0	3.0	0.0	n.s.
		50.0	1.23	100	5.0	5.0	0.0	n.s.
		100.0	0.69	100	5.0	7.0	2.0	n.s.
	Cyclophosphamide	10.0	1.69	100	9.0	25.0	18.0	s.

2.6.7.8D　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：ヒト末梢血リンパ球を用いたフマル酸ジメチルの in vitro 染色体異常誘発性試験（続き）

Assay #2								
代謝活性化	被験物質	濃度 (μg/ml)	分裂指数[#]	観察細胞数	gap を有する細胞頻度 (%)	染色体異常細胞頻度 (%) (+g)	染色体異常細胞頻度(%) (-g)	有意差 chi²-test (染色体異常細胞頻度)
代謝活性化なし	フマル酸ジメチル	0	1.00	100	4.0	4.0	0.0	-
		3.13	0.85	100	1.0	2.0	1.0	n.s.
		6.25	1.00	100	1.0	3.0	2.0	n.s.
		12.5	0.31	69[##]	4.4	11.6	7.3	s.
		25.0	0.23	4[##]	-	-	-	-
	Mitomycin C	0.1	0.62	100	21.0	36.0	21.0	s.
代謝活性化あり	フマル酸ジメチル	0	1.00	100	4.0	4.0	0.0	-
		6.25	0.91	100	9.0	12.0	3.0	n.s.
		12.5	1.25	100	8.0	9.0	1.0	n.s.
		25.0	1.00	100	5.0	6.0	1.0	n.s.
		50.0	0.83	100	4.0	6.0	2.0	n.s.
		100.0	0.17	100	2.0	4.0	2.0	n.s.
		150.0	0.25	23[##]	8.7	13.0	4.3	n.s.
	Cyclophosphamide	10.0	0.83	100	12.0	28.0	22.0	s.

Data source: M4.2.3.3.1-4 5407/89-Table 2C, Table 4C, Table 3C, Table 5C
n.s. ：有意差なし　$p > 0.05$
s. ：有意差あり　$p \leq 0.05$
[#] 溶媒対照 ＝1.00
[##] フマル酸ジメチルの細胞毒性のため十分な分裂中期細胞がなかったため分析できなかった。
[a] 1989 年に実施されたが、試験条件が現行のガイドライン要件に合致しないと判断されたため、再試験を行った（試験番号 P00012-04-16）。
DMSO：ジメチルスルホキシド

2.6.7.8E　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

被験物質：フマル酸ジメチル（DMF）

試験の種類：	染色体異常試験	独立して実施した試験数：	2	試験番号：	P00012-04-16
系統：	初代培養ヒト末梢血リンパ球	使用プレート数：	2/用量	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.3.1-5]
代謝活性化系：	Aroclor™誘導ラット肝 S9 画分	分析細胞数/培養：	分裂指数；1000 細胞 染色体異常；50～200 細胞 %倍数体/核内倍加；200 分裂中期細胞		
溶媒：	被験物質：DMSO	陽性対照：	滅菌脱イオン水	GLP 適用：	適
処理：	Assay #1；S9 添加又は非添加で 3 時間 Assay #2；S9 添加で 3 時間、非添加で 22 時間			処理年月：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
細胞毒性：	Assay #1；分裂指数の減少；S9 添加又は非添加で、> 29.7 µg/mL DMF Assay #2；分裂指数の減少；S9 添加又は非添加で、すべての DMF 添加濃度				
遺伝毒性：	Assay #1 S9 非添加で染色体異常陽性				

Assay #1																
代謝活性化	群	濃度又は用量	Aberrant cells（スコア）		有糸分裂指数減少 (%) [a]	Pp＋Er Cells（スコア）	Pp cells (数)	Er cells（数）	判定 (+/-) [b]	染色体の構造異常を有する細胞						判定 (+/-)[d]
										ギャップ	単純切断	chte	chre	mab	合計 [c]	
															g-	g+	
代謝活性化なし	陰性対照–RPMI 1640	NA	A	100		100	0	0		1	1	3			4	5	
			B	100		100	0	0				1	2		3	3	
			合計	200		200				1	1	4	2		7	8	
			平均値	%	-		0.0	0.0		0.5	0.5	2.0	1.0		3.5	4.0	
	溶媒–DMSO	10.0 µL/mL	A	100		100	0	0		2			1		1	3	
			B	100		100	0	0		1					0	1	
			合計	200		200				3			1		1	4	
			平均値	%	0		0.0	0.0		1.5			0.5		0.5	2.0	

2.6.7.8E　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常誘発性試験（続き）

Assay #1（続き）																	
代謝活性化	群	濃度又は用量	Aberrant cells（スコア）		有糸分裂指数減少 (%)[a]	Pp＋Er Cells（スコア）	Pp cells (数)	Er cells（数）	判定 (+/-)[b]	染色体の構造異常を有する細胞							判定 (+/-)[d]
										ギャップ	単純切断	chte	chre	mab	合計 [c]		
															g-	g+	
代謝活性化なし	陽性対照–MMC	1.00 µg/mL	A	25		100	0	0		1	7	3			9	9	
			B	25		100	0	0		2	5	3	1		8	10	
			合計	50		200				3	12	6	1		17	19	
			平均値	%	-		0.0	0.0	-	6.0	24.0	12.0	2.0		34.0	38.0	+
	フマル酸ジメチル	20.8 µg/mL	A	100		100	0	0		3					0	3	
			B	100		100	0	0		1	1				1	2	
			合計	200		200				4	1				1	5	
			平均値	%	-		0.0	0.0	-	2.0	0.5				0.5	2.5	-
		29.7 µg/mL	A	100		100	0	0		1	5				5	6	
			B	100		100	0	0		1	2	2			4	5	
			合計	200		200				2	7	2			9	11	
			平均値	%	1		0.0	0.0	-	1.0	3.5	1.0			4.5	5.5	-
		42.4 µg/mL	A	25		100	0	0			8	1			8	8	
			B	100		100	0	0		5	15	1		3	19	23	
			合計	125		200				5	23	2		3	27	31	
			平均値	%	41		0.0	0.0	-	4.0	18.4	1.6		2.4	22.4	25.6	+
		60.5 µg/mL	A	25		100	0	0			7			8	15	15	
			B	25		100	0	0		1	9	2		3	13	13	
			合計	50		200				1	16	2		11	28	28	
			平均値	%	56		0.0	0.0	-	2.0	32.0	4.0		22.0	56.0	56.0	+
代謝活性化あり	陰性対照–RPMI 1640	NA	A	100		100	0	0		2	2				2	4	
			B	100		100	0	0		2			2		2	4	
			合計	200		200				4	2		2		4	8	
			平均値	%	-		0.0	0.0		2.0	1.0		1.0		2.0	4.0	

2.6.7.8E　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常誘発性試験（続き）

Assay #1（続き）																	
代謝活性化	群	濃度又は用量	Aberrant cells（スコア）		有糸分裂指数減少 (%)[a]	Pp＋Er Cells（スコア）	Pp cells (数)	Er cells（数）	判定 (+/-)[b]	染色体の構造異常を有する細胞							判定 (+/-)[d]
										ギャップ	単純切断	chte	chre	mab	合計 [c]		
															g-	g+	
代謝活性化あり	溶媒– DMSO	10.0 µL/mL	A	100		100	0	0							0	0	
			B	100		100	0	0		1					0	1	
			合計	200		200				1					0	1	
			平均値	%	0		0.0	0.0		0.5					0.0	0.5	
	陽性対照 – CP	25.0 µg/mL	A	50		100	0	0			15	4			19	19	
			B	50		100	0	0		1	14	3			17	18	
			合計	100		200				1	29	7			36	37	
			平均値	%	-		0.0	0.0	-	1.0	29.0	7.0			36.0	37.0	+
	フマル酸ジメチル	20.8 µg/mL	A	100		100	1	0		2					0	2	
			B	100		100	0	0		1	1				1	2	
			合計	200		200				3	1				1	4	
			平均値	%	5		0.5	0.0	-	1.5	0.5				0.5	2.0	-
		29.7 µg/mL	A	100		100	0	0		1					0	1	
			B	100		100	0	0							0	0	
			合計	200		200				1					0	1	
			平均値	%	12		0.0	0.0	-	0.5					0.0	0.5	-
		42.4 µg/mL	A	100		100	0	0		1					0	1	
			B	100		100	0	0		2					0	2	
			合計	200		200				3					0	3	
			平均値	%	48		0.0	0.0	-	1.5					0.0	1.5	-
		60.5 µg/mL	A	100		100	0	0		3	1				1	4	
			B	100		100	0	0		1					0	1	
			合計	200		200				4	1				1	5	
			平均値	%	56		0.0	0.0	-	2.0	0.5				0.5	2.5	-

2.6.7.8E　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常誘発性試験（続き）

Assay #2																	
代謝活性化	群	濃度又は用量	Aberrant cells（スコア）		有糸分裂指数減少 (%)[a]	Pp＋Er Cells（スコア）	Pp cells (数)	Er cells（数）	判定 (+/-)[b]	染色体の構造異常を有する細胞							判定 (+/-)[d]
										ギャップ	単純切断	chte	chre	mab	合計 [c]		
															g-	g+	
代謝活性化なし	陰性対照–RPMI 1640	NA	A	100		100	0	0		4					0	4	
			B	100		100	0	0		1					0	1	
			合計	200		200				5					0	5	
			平均値	%	-		0.0	0.0		2.5					0.0	2.5	
	溶媒–DMSO	10.0 µL/mL	A	100		100	0	0		1					0	1	
			B	100		100	0	0			1				1	1	
			合計	200		200				1	1				1	2	
			平均値	%	0		0.0	0.0		0.5	0.5				0.5	1.0	
	陽性対照–MMC	0.300 µg/mL	A	50		100	0	0		5	21	5			25	29	
			B	50		100	0	0		3	17	3			19	21	
			合計	100		200				8	38	8			44	50	
			平均値	%	-		0.0	0.0	-	8.0	38.0	8.0			44.0	50.0	+
	フマル酸ジメチル	0.938 µg/mL	A	100		100	0	0		1	2				2	3	
			B	100		100	0	0		2	2				2	4	
			合計	200		200				3	4				4	7	
			平均値	%	21		0.0	0.0	-	1.5	2.0				2.0	3.5	-
		1.88 µg/mL	A	100		100	0	0		2					0	2	
			B	100		100	0	0		1					0	1	
			合計	200		200				3					0	3	
			平均値	%	25		0.0	0.0	-	1.5					0.0	1.5	-
		3.75 µg/mL	A	100		100	0	0		2					0	2	
			B	100		100	0	0		1					0	1	
			合計	200		200				3					0	3	
			平均値	%	39		0.0	0.0	-	1.5					0.0	1.5	-

2.6.7.8E　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常誘発性試験（続き）

Assay #2（続き）																	
代謝活性化	群	濃度又は用量	Aberrant cells（スコア）		有糸分裂指数減少 (%)[a]	Pp＋Er Cells（スコア）	Pp cells (数)	Er cells（数）	判定 (+/-)[b]	染色体の構造異常を有する細胞							判定 (+/-)[d]
										ギャップ	単純切断	chte	chre	mab	合計 [c]		
															g-	g+	
代謝活性化なし	フマル酸ジメチル	7.50 µg/mL	A	100		100	0	0		1	3				3	4	
			B	100		100	0	0			2				2	2	
			合計	200		200				1	5				5	6	
			平均値	%	58		0.0	0.0	-	0.5	2.5				2.5	3.0	-
代謝活性化あり	陰性対照– RPMI 1640	NA	A	100		100	0	0							0	0	
			B	100		100	0	0		1					0	1	
			合計	200		200				1					0	1	
			平均値	%	-		0.0	0.0		0.5					0.0	0.5	
	溶媒– DMSO	10.0 µL/mL	A	100		100	0	0							0	0	
			B	100		100	0	0		2					0	2	
			合計	200		200				2					0	2	
			平均値	%	0		0.0	0.0		1.0					0.0	1.0	
	陽性対照 – CP	25.0 µg/mL	A	50		100	0	0		3	23	1			24	26	
			B	50		100	0	0		1	18	1			18	19	
			合計	100		200				4	41	2			42	45	
			平均値	%	-		0.0	0.0	-	4.0	41.0	2.0			42.0	45.0	+
	フマル酸ジメチル	30.0 µg/mL	A	100		100	0	0		1	1				1	2	
			B	100		100	0	0			1				1	1	
			合計	200		200				1	2				2	3	
			平均値	%	-		0.0	0.0	-	0.5	1.0				1.0	1.5	-
		40.0 µg/mL	A	100		100	0	0			4				4	4	
			B	100		100	0	0		3	2				2	5	
			合計	200		200				3	6				6	9	
			平均値	%	25		0.0	0.0	-	1.5	3.0				3.0	4.5	-

2.6.7.8E　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常誘発性試験（続き）

Assay #2（続き）																	
代謝活性化	群	濃度又は用量レベル	Aberrant cells（スコア）		有糸分裂指数減少 (%)[a]	Pp＋Er Cells（スコア）	Pp cells (数)	Er cells（数）	判定 (+/-)[b]	染色体の構造異常を有する細胞							判定 (+/-)[d]
										ギャップ	単純切断	chte	chre	mab	合計[c]		
															g-	g+	
代謝活性化あり	フマル酸ジメチル	50.0 µg/mL	A	100		100	0	0		7	4				4	10	
			B	100		100	0	0		6	2				2	7	
			合計	200		200				13	6				6	17	
			平均値	%	37		0.0	0.0	-	6.5	3.0				3.0	8.5	-
		60.0 µg/mL	A	87		100	0	0		1	4				4	5	
			B	113		81	0	0		4					0	4	
			合計	200		181				5	4				4	9	
			平均値	%	54		0.0	0.0	-	2.5	2.0				2.0	4.5	-

Data source: M4.2.3.3.1-5 P00012-04-16-Table 2, Table 4, Table 6, Table 8
[a] 溶媒対照に対する%分裂指数の減少
[b] 溶媒対照に対して有意に%倍数体及び%核内倍加の増加が認められた（$p \leq 0.01$）
[c] –g：染色体異常を有する細胞の数又は%、 +g：染色体異常を有する細胞の数又は%＋ギャップを有する細胞の数又は%
[d] 溶媒対照に対して–g：染色体異常を有する細胞の数又は%の有意な増加が認められた（$p \leq 0.01$）。
DMSO：ジメチルスルホキシド、chte：染色分体交換、chre：染色体交換、mab：4異常を超える多重異常、pp：倍数体、er：核内倍加、
RPMI 1640：培地、MMC：マイトマイシンC、CP：シクロホスファミド、NA：該当せず

2.6.7.8F　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

被験物質：フマル酸モノメチル（MMF）

試験の種類：	染色体異常試験	独立して実施した試験数：	3	試験番号：	P00012-08-03
系統：	初代培養ヒトリンパ球	使用プレート数：	2/用量	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.3.1-6]
代謝活性化系：	Aroclor™で誘導したラット肝 S9 画分	分析細胞数/培養：	100（染色体異常が 25%を超える場合は 25 以上）		
溶媒：	被験物質：　DMSO	陽性対照：	水	GLP 適用：	適
処理：	S9 添加又は非添加で 3 時間のパルス処理及び 19 時間の回復時間			処理年月：	[redacted]年[redacted]月[redacted]日
細胞毒性：	分裂指数の用量依存的な減少				
遺伝毒性：	S9 非添加でのみ% Aberrant Cells に有意な増加				

Assay #1								
代謝活性化	被験物質	濃度 (μg/ml)	分析細胞数	有糸分裂抑制 [a] Mean %	Aberrant Cells		倍数体 Mean %	核内倍加 Mean %
					Mean %-g	Mean %+g		
代謝活性化なし 3 時間処理	溶媒-DMSO	10.0 μL/mL	200	0	0.5	5.0	1.0	0.0
	フマル酸モノメチル	153	200	0	1.0	4.0	0.0	0.0
		312	200	39	6.0*	12.0	2.0	0.0
		446	200	56	8.5*	15.0	5.0	1.5
	Mitomycin C	1.00	75	-	37.3*	45.3	0.0	0.0
代謝活性化あり 3 時間処理	溶媒-DMSO	10.0 μL/mL	200	0	0.5	2.0	0.0	0.0
	フマル酸モノメチル	74.9	200	0	0.0	1.5	0.0	0.0
		153	200	42	0.0	2.0	0.0	0.0
		218	200	59	4.0	6.5	3.0	0.0
	Cyclophosphamide	25.0	100	-	44.0*	49.0	0.0	0.0

2.6.7.8F　遺伝毒性試験 in vitro

試験レポート：培養ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）

Assay #2								
代謝活性化	被験物質	濃度 (μg/ml)	分析細胞数	有糸分裂抑制 [a] Mean %	Aberrant Cells		倍数体 Mean %	核内倍加 Mean %
					Mean %-g	Mean %+g		
代謝活性化なし 22 時間処理	溶媒-DMSO	10.0 μL/mL	200	0	0.0	1.0	0.0	0.0
	フマル酸モノメチル	20.2	200	7	1.5	5.0	0.0	0.0
		28.8	200	32	3.0	9.0	0.0	0.0
		41.0	200	54	4.0*	11.5	0.0	0.0
	Mitomycin C	0.300	100	-	46.0*	58.0	0.0	0.0
代謝活性化あり 3 時間処理	溶媒-DMSO	10.0 μL/mL	200	0	0.0	0.5	0.0	0.0
	フマル酸モノメチル	100	200	2	0.0	2.0	0.5	0.0
		156	200	44	0.5	3.5	0.0	0.0
		245	200	56	6.0*	11.0	2.5	0.5
	Cyclophosphamide	25.0	100	-	46.0*	61.0	0.5	0.0

Data source: M4.2.3.3.1-6 P00012-08-03-Table 1, Table 3, Table 7, Table 9, Table 11, Table 12
-g：ギャップを有する細胞%を除いた染色体異常を有する細胞%、+g：染色体異常を有する細胞%＋ギャップを有する細胞%
* 溶媒対照に対して–g（染色体異常を有する細胞）の有意な増加が認められた（$p \leq 0.01$）。
[a] 有糸分裂抑制=[1-(被験物質の分裂指数の平均/溶媒対照の分裂指数の平均)] x 100
DMSO：ジメチルスルホキシド

2.6.7.9. 遺伝毒性試験 in vivo

試験レポート：フマル酸ジメチルのin vivoラット小核試験

被験物質：フマル酸ジメチル

試験の種類：	小核試験	処理計画：	単回投与	試験番号：	P00012-04-04
動物種/系統：	ラット/Sprague Dawley/Crl:CD(SD)IGS BR	計測時間：	投与 24 及び 48 時間後	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.3.2-1]
試験開始週齢：	8 週齢	投与方法：	強制経口		
評価した細胞：	骨髄	溶媒/投与形態：	0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）	GLP 適用：	適
分析細胞数/動物	2000 PCEs（多染性赤血球）以上			処理年月：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
特記事項：	なし				

毒性/細胞毒性：　投与 48 時間後、1000 mg/kg の投与量で細胞毒性
遺伝毒性：　なし
曝露証明：　本試験ではトキシコキネティクス試験を実施しなかったが、高用量 1000 mg/kg 投与で対照群と比較して PCE：NCE 比に有意な減少が認められ、小核試験の高用量として適切であることが示された。

被験物質	投与量 (mg/kg)	動物数（雄）	曝露時間	MNPCE の平均%/2000 PCEs/動物 ± 標準誤差.	PCE : NCE 比の平均 ± 標準誤差..
溶媒対照（HPMC）	0	6	24 時間	0.04 ± 0.02	0.87 ± 0.06
		6	48 時間	0.02 ± 0.01	1.06 ± 0.04
陽性対照（Cyclophosphamide）	60	6	24 時間	2.96 ± 0.49*	0.82 ± 0.04
フマル酸ジメチル	250	6	24 時間	0.09 ± 0.02	0.82 ± 0.05
	500	6	24 時間	0.04 ± 0.02	0.97 ± 0.09
	1000	6	24 時間	0.04 ± 0.02	0.83 ± 0.06
		6	48 時間	0.06 ± 0.02	0.84 ± 0.04**

Data source: M4.2.3.3.2-1 P00012-04-04-Table 3
*溶媒対照に対して有意に増加、$p \leq 0.01$
**溶媒対照に対して有意に減少、 $p \leq 0.05$
PCE：多染色性赤血球、MNPCE：小核を有する多染色性赤血球、NCE：正染色性赤血球

2.6.7.10.　がん原性試験

2.6.7.10A　がん原性試験

試験レポート：マウスを用いたBG00012の2年間強制経口投与がん原性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

動物種/系統：	マウス/ CD-1 [Crl:CD-1®(ICR)Br]	投与期間：	104 週間	試験番号：	P00012-05-03
試験開始週齢：	8 週齢	投与方法：	強制経口	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.4.1-1]
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	溶媒/投与形態：	0.8%HPMC[a]/RODI 水	GLP 適用：	適
対照群の処理：	溶媒				

高用量選択の根拠：　マウスを用いた 13 週間反復強制経口投与毒性試験（P00012-04-10）の成績； 600 mg/kg/日投与における死亡例の発現、MTD 200 mg/kg 及び FDA 推奨用量 600 mg/kg より設定した。4 投与量+対照群

特記事項：　被験物質投与 4 用量；600 mg/kg/日は死亡例発現のため投与 9 日目に 400 mg/kg/日に減量した。トキシコキネティクスは一次活性代謝物であるフマル酸モノメチル（MMF）を解析

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）		25		75		200		600/400 [b]	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
トキシコキネティクス（MMF）[c]										
AUC_{last} (μg·h/mL)	-	-	3.0	2.6	9.8[d]	10.8[d]	31.4	33.6	110	91.8
動物数										
投与開始時の動物数（トキシコキネティクス）	75 (12)	75 (12)	75 (30)	75 (30)	75 (30)	75 (30)	75 (30)	75 (30)	75 (30)	75 (30)
死亡又は瀕死による屠殺	51	42	40	48	49	47	56	51	65	65
最終剖検例数	24	33	35	27	26	28	19	24	10	10
生存率（%）	32.0	44.0	46.7	36.0	34.7	37.3	25.3	32.0	13.3	13.3
体重（%）[e]	39.7 g	32.8 g	-0.8	-0.5	+0.3	-0.1	+1.1	+0.2	+2.9	+7.0
摂餌量（%）[f]	6.6 g/日	6.5 g/日	+1.5	-3.1	-1.5	0	+1.5	-1.5	+9.1*	+7.7*
腫瘍性病変が認められた動物数：										
被験物質に関連した腫瘍病変										
腎臓：尿細管腺腫	1	0	2	0	0	0	5	2	3	4
腎臓：尿細管癌	0	0	0	0	2	0	4	0	3	1

2.6.7.10A　がん原性試験

試験レポート：マウスを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）		25		75		200		600/400 [(b)]	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
胃：扁平上皮癌	0	0	1	1	0	1	2	5	6	12
胃：線維肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
胃：平滑筋肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3
胃：扁平上皮乳頭腫	0	1	1	0	3	3	12	6	14	16
被験物質に関連しない腫瘍病変										
副腎：被膜下細胞腺腫	1	3	1	1	0	2	0	0	0	0
副腎：被膜下細胞癌	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
副腎：皮質腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
副腎：皮質肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
骨：大腿骨骨腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
骨：混合型骨腫	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1
脳：悪性髄膜腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
精巣上体：間質細胞腺腫	0	NA	1	NA	1	NA	0	NA	0	NA
精巣上体：シュワン細胞腫	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
ハーダー腺：腺腫	9	3	8	3	6	3	8	4	2	0
ハーダー腺：癌	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
ハーダー腺：腺癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
血液リンパ網状系：組織球性肉腫	4	3	2	3	0	1	1	4	1	0
血液リンパ網状系：リンパ芽球性リンパ腫	0	0	1	3	0	2	0	3	0	1
血液リンパ網状系：リンパ球性リンパ腫	0	5	1	1	0	3	0	0	1	2
血液リンパ網状系：形質細胞性リンパ腫	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0
血液リンパ網状系：多形性リンパ腫	3	12	2	10	3	13	2	12	2	7
血液リンパ網状系：顆粒球性白血病	0	1	1	0	0	0	0	0	1	2
腸：盲腸平滑筋腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
腸：結腸腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

2.6.7.10A　がん原性試験

試験レポート：マウスを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）		25		75		200		600/400[(b)]	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
腸：十二指腸腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
腎臓：血管腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
腎臓：間葉性腫瘍	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
肝臓：胆管細胞腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
肝臓：肝細胞腺腫	3	2	5	0	3	1	1	0	1	0
肝臓：肝細胞癌	9	0	6	3	3	0	3	0	2	1
肝臓：血管腫	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0
肝臓：血管肉腫	6	2	2	0	3	1	1	2	0	1
肺：細気管支－肺胞上皮腺腫	14	12	15	14	8	9	11	20	8	10
肺：細気管支－肺胞腺上皮癌	6	6	6	8	5	6	11	6	5	1
肺：中皮腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
リンパ節：縦隔多形性リンパ腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
リンパ節：腸間膜血管腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
リンパ節：腸間膜血管肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
リンパ節：腸間膜組織球肉腫（原発性）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
乳腺：腺癌	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
乳腺：腺腫	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
乳腺：腺表皮癌	0	2	0	2	0	2	0	0	0	0
卵巣：間質腺癌	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
卵巣：嚢胞状腺腫	NA	2	NA	1	NA	2	NA	1	NA	1
卵巣：顆粒膜細胞腺腫	NA	2	NA	1	NA	1	NA	1	NA	0
卵巣：血管腫	NA	1	NA	1	NA	1	NA	1	NA	0
卵巣：黄体腫	NA	1	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
卵巣：平滑筋肉腫	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
膵臓：島細胞腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
膵臓：腺房細胞癌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
下垂体：前葉腺腫	0	3	0	5	0	3	0	5	0	0
精嚢：腺癌	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
皮膚：基底細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

2.6.7.10A　がん原性試験

試験レポート：マウスを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）		25		75		200		600/400[(b)]	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
皮膚：線維腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
皮膚：線維肉腫	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0
皮膚：扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
皮膚：シュワン細胞腫	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
皮膚：血管肉腫	3	0	1	0	0	0	1	0	1	0
皮膚：角化棘細胞腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
皮膚：毛嚢上皮腫	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
骨髄：腰部髄膜肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
脾臓：血管肉腫	2	1	2	0	1	1	0	1	1	2
胃：腺胃粘膜腺癌	1	0	2	0	1	0	1	2	0	0
胃：腺胃粘膜腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
胃：肥満細胞腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
精巣：間細胞線腫	1	NA	3	NA	2	NA	1	NA	0	NA
精巣：精巣網嚢胞状腺腫	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
舌：扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
膀胱：平滑筋肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
子宮：腺癌	NA	1	NA	0	NA	2	NA	0	NA	0
子宮：子宮内膜間質ポリープ	NA	6	NA	9	NA	14	NA	11	NA	8
子宮：子宮内膜間質肉腫	NA	6	NA	3	NA	2	NA	1	NA	1
子宮：線維腫	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
子宮：血管腫	NA	2	NA	2	NA	0	NA	1	NA	0
子宮：血管肉腫	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
子宮：原発性組織球肉腫	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
子宮：平滑筋腫	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
子宮：平滑筋肉腫	NA	1	NA	1	NA	2	NA	0	NA	0
膣：子宮内膜間質細胞ポリープ	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
膣：子宮内膜間質細胞肉腫	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
膣：平滑筋腫	NA	1	NA	1	NA	0	NA	1	NA	0
腹腔：血管肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

2.6.7.10A　がん原性試験

試験レポート：マウスを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）		25		75		200		600/400[(b)]	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
腹腔：中皮腫	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
腹腔：シュワン細胞腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
胸腔：線維肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
尾：線維肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
被験物質に関連した特記すべき所見：										
病理組織学的検査—非腫瘍性病変										
眼：網膜変性	7	4	0	4	2	2	9	11	12	23
腎臓：腎症[(g)]	68	69	69	70	72	72	72	69	58	66
腎臓：尿細管過形成	1	0	7	7	16	8	40	13	15	13
胃：前胃びらん	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1
胃：前胃過形成	2	0	12	33	49	56	68	70	60	58
胃：前胃扁平上皮嚢胞	0	1	0	0	0	1	1	1	0	5
胃：前胃角化亢進	6	5	15	39	64	63	70	75	64	62
胃：前胃無腺胃炎症	0	0	1	0	1	0	0	0	32	33
胃：腺胃及び前胃壊死	0	0	0	0	0	0	0	0	14	14
胃：腺胃及び前胃潰瘍形成	0	0	0	0	1	0	1	4	14	9

Data source: M4.2.3.4.1-1 P00012-05-03-Appendix 20-Table 4, text-Table 2, text-Table 3, text-Table 5, Appendix 14-Table 1
[(a)] 0.8%ヒドロキシプロピルメチルセルロース
[(b)] 過度に死亡がみられたため、投与 5 日目に 600 mg/kg/日の投与を中断し、投与 9 日目に 400 mg/kg/日で投与を再開した。
[(c)] 75 mg/kg/日群以外は投与180日目に測定した。
[(d)] 投与90日目に測定した。
[(e)] 投与第25週目に測定。対照群は平均値を示す。投与群は対照群に対する比率を示す。
[(f)] 投与第25～26週目に測定。対照群は平均値を示す。投与群は対照群に対する比率（%）を示す。
[(g)] 平均重症度が増加した例数。
[*] $p < 0.05$ (Kruskal-Wallis/Dunnett's)
MTD：最大耐量、NA： 該当せず

2.6.7.10B　　がん原性試験

試験レポート：ラットを用いたBG00012の2年間強制経口投与がん原性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

動物種/系統：	ラット/Sprague Dawley /Crl:CD(SD)IGS BR	投与期間：	104 週間[a]	試験番号：	P00012-04-11
試験開始週齢：	6 週齢	投与方法：	強制経口	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.4.1-2]
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	溶媒/投与形態：	0.8% HPMC[b]/RODI 水	GLP 適用：	適
対照群の処理：	溶媒				
高用量選択の根拠：	150 mg/kg/日で有意な死亡例発現は認められないが、体重減少と毒性変化が認められた。				

特記事項：　　4 投与用量。トキシコキネティクス試験は一次活性代謝物である MMF について実施した。

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）		25		50		100		150	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
トキシコキネティクス（MMF）[c]										
AUC_{last} (μg·h/mL)	BLQ	BLQ	4.0	7.4	8.7	16.6	11.9	22.9	30.8	37.6
動物数										
投与開始時の動物数:がん原性試験（トキシコキネティクス試験）	75 (15)	75 (15)	75 (15)	75 (15)	75 (15)	75 (15)	75 (15)	75 (15)	75 (15)	75 (15)
死亡又は瀕死による屠殺	52	50	54	47	61	55	65	53	65	52
最終剖検例数	23	25	20[c]	28	13[c]	20	10	22	10	23
生存率（%）	30.7	33.3	26.7	37.3	17.3*	26.7	13.3*	29.3	13.3*	30.7
体重（%）[d]	623 g	328 g	-2.5	-0.6	-1.2	+1.4	-0.2	+1.8	-6.9**	-3.4
摂餌量（%）[d]	26 g/日	20 g/日	+3.8	0	+3.8	-5	+7.7*	+0	-0	-5
腫瘍性病変が認められた動物数：										
被験物質に関連した腫瘍性病変（発現例数）										
腎臓：尿細管腺腫	0	0	0	0	1	0	1	0	0	2
腎臓：尿細管癌	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
上皮小体：腺腫[f]	0	0	0	0	1	0	0	0	3	0
胃：前胃扁平上皮乳頭腫[h]	0	0	22	11	24	21	46	31	49	24
胃：前胃扁平上皮癌[h]	0	0	5	1	18	4	51	30	58	48
精巣：間細胞癌[h]	3	NA	3	NA	2	NA	9	NA	19	NA

2.6.7.10B　がん原性試験

試験レポート：ラットを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）		25		50		100		150	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
被験物質に関連しない腫瘍性病変（発現例数）										
副腎：皮質腺腫	2	2	1	1	0	1	0	1	0	0
副腎：皮質癌	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
副腎：髄質良性褐色細胞腫	15	2	6	3	14	2	4	1	6	2
副腎：髄質悪性褐色細胞腫	2	0	2	0	0	1	0	0	1	0
骨髄：大腿骨顆粒球性白血病	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0
脳：小脳悪性髄膜腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
脳：小脳悪性星状膠細胞腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
脳：大脳悪性星状膠細胞腫	1	1	1	2	2	1	0	0	0	2
脳：大脳良性顆粒細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
腹腔：血管腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
腹腔：血管肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
腹腔：脂肪腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
腹腔：組織球肉腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2
腹腔：線維腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
口腔：扁平上皮癌	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0
口腔：扁平上皮乳頭腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
胸腔：血管肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
子宮頸部：扁平上皮癌	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
陰核腺：扁平上皮癌	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
陰核腺：癌	NA	0	NA	1	NA	1	NA	0	NA	2
陰核腺：扁平上皮乳頭腫	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
十二指腸：平滑筋腫	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
耳：扁平上皮乳頭腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
耳：外耳道扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
耳：耳介神経線維腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
頭：口唇扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
頭：鼻甲介腺癌	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
頭：鼻甲介扁平上皮癌	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
頭：扁平上皮癌	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1

2.6.7.10B　がん原性試験

試験レポート：ラットを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）		25		50		100		150	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
頭：扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
回腸：リンパ球性リンパ腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
空腸：平滑筋腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
空腸：多形性リンパ腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
腎臓：血管肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
腎臓：脂肪肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
腎臓：腎盂移行上皮腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
腎臓：肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
肝臓：胆管細胞腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
肝臓：肝細胞腺腫	0	0	2	2	1	0	0	0	0	0
肝臓：肝細胞癌	2	0	6	0	4	0	0	0	0	1
肝臓：組織球肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
肺：気管支ー肺胞上皮腺腫	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
リンパ節：下顎多形性リンパ腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
リンパ節:下顎リンパ球性リンパ腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
リンパ節：縦隔組織球性肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
リンパ節：腎臓多形性リンパ腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
乳腺：腺腫	0	12	0	7	0	11	0	8	0	10
乳腺：線維腺腫	0	35	0	32	1	34	0	33	0	26
乳腺：癌	0	17	0	22	1	17	0	12	0	23
乳腺：癌肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
卵巣：セルトリ細胞腺腫	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
卵巣：莢膜細胞腫	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
卵巣：血管腫	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
膵臓：腺房細胞腺腫	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
膵臓：島細胞腺腫	4	2	7	3	4	4	1	1	2	2
膵臓：島細胞癌	1	3	4	5	2	0	1	2	0	1
下垂体：前葉腺腫	34	53	24	49	14	54	13	39	7	36
下垂体：前葉癌	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10B　がん原性試験

試験レポート：ラットを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）		25		50		100		150	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
下垂体：中間葉腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
包皮腺：腺腫	1	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
包皮腺：癌	0	NA	2	NA	1	NA	0	NA	0	NA
包皮腺：扁平上皮癌	1	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
前立腺：腺腫	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
前立腺：腺癌	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
直腸：平滑筋肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
直腸：腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
唾液腺：下顎腺癌	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
皮膚：基底細胞腫	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
皮膚：基底細胞癌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
皮膚：線維腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
皮膚：血管腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
皮膚：血管肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
皮膚：組織球肉腫	0	2	0	3	0	0	0	1	0	2
皮膚：角化棘細胞腫	8	0	8	1	9	1	7	1	9	0
皮膚：扁平上皮乳頭腫	3	1	3	2	0	2	1	0	2	1
皮膚：皮脂腺細胞腺腫	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
皮膚：扁平上皮癌	0	0	1	0	1	1	2	0	1	0
皮膚：皮下組織線維腫	5	1	4	0	0	0	1	1	0	0
皮膚：皮下組織線維肉腫	0	1	1	0	0	1	0	1	2	0
皮膚：皮下組織血管周皮腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
皮膚：皮下組織組織球肉腫	1	2	0	3	0	0	1	1	0	2
皮膚：皮下組織脂肪腫	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
皮膚：皮下組織良性シュワン細胞腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
皮膚：皮下組織悪性シュワン細胞腫	0	0	1	0	2	1	0	0	0	0
骨髄：頸部星状膠細胞腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
脾臓：顆粒球性白血病	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
脾臓：血管腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
脾臓：リンパ球性リンパ腫	1	0	1	1	1	0	1	0	0	0

2.6.7.10B　がん原性試験

試験レポート：ラットを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）		25		50		100		150	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
胃：平滑筋腫	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0
胃：前胃癌	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
胃：腺胃腺腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
尾：血管腫	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
胸腺：良性胸腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
胸腺：リンパ球性リンパ腫	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0
甲状腺：C細胞腺腫	8	9	12	6	10	4	3	6	1	2
甲状腺：C細胞癌	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0
甲状腺：濾胞上皮細胞腺腫	3	0	4	0	2	0	5	0	3	0
甲状腺：濾胞上皮腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
甲状腺：組織球肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
組織非特異的：組織球肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
舌：脂肪肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
膀胱：腺癌	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
膀胱：移行上皮癌	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
膀胱：移行上皮乳頭腫	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
子宮：腺腫	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
子宮：血管腫	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
膣：扁平上皮癌	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1
膣：子宮内膜間質細胞肉腫	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
膣：悪性シュワン細胞腫	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
ジンバル腺：癌	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0
被験物質に関連した特記すべき所見：										
病理組織学的検査—非腫瘍性病変										
腎臓：慢性進行性腎症[e]	68 (2.04)	49 (0.95)	75 (2.71)	55 (1.32)	75 (3.16)	68 (1.84)	75 (3.52)	69 (2.44)	75 (3.53)	73 (3.24)
腎臓：尿細管過形成[e]	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (0.11)	0 (0.0)	5 (0.13)	4 (0.11)	15 (0.44)	4 (0.05)	11 (0.35)	9 (0.21)
上皮小体：過形成[f]	9	0	16	4	32	5	42	11	48	22
胃：前胃扁平上皮過形成	3	7	71	73	75	74	75	75	75	75
精巣：間細胞過形成	0	NA	2	NA	2	NA	6	NA	10	NA
精巣：精上皮細胞委縮/変性	8	NA	8	NA	6	NA	20	NA	15	NA

10B　がん原性試験

試験レポート：ラットを用いた BG00012 の 2 年間強制経口投与がん原性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）		25		50		100		150	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
臨床病理[g]										
赤血球　減少（%）	-	7.24 x 10^6/CMM	-	-7.6	-	-9.7	NA	-10.4	NA	-15.1*
平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）　減少（%）	-	37.5 g/dL	-	-1.4	-	-1.9	NA	-2.0	NA	-3.1**
平均赤血球容積（MCV）　増加（%）	-	53.8 fL	-	+3.5	-	+4.4	NA	+4.8	NA	+8.8**
網状赤血球　増加（%）	-	169.96 K/μL	-	+27.5	-	+42.4	NA	+38.7	NA	+49.3**
白血球　増加（%）	-	9.69 x 10^3/CMM	-	-13.9	-	-14.1	NA	+7.3	NA	+44.5**
単球　増加（%）	-	0.58 x 10^3/CMM	-	-11.6	-	-16.3	NA	+7.8	NA	+62.1*
分葉核好中球	-	4.63 x 10^3/CMM	-	-21.0	-	-21.9	NA	+18.6	NA	+71.5**

Data source: M4.2.3.4.1-2 P00012-04-11-Appendix 19-Table 4, Appendix 14-Table 5.1.1, text-Table 3, text-Table 5, Appendix 13-Section 1, Appendix 13-Section 2, text-Table 6, Final Report Amendment No.2

* $p < 0.05$ Kruskal-Wallis/Dunn's

** $p < 0.01$ Kruskal-Wallis/Dunn's

[a] 過度の死亡例のため、投与80週目に第5群の雄及び投与82週目に第4群の雄は投与を中止した。第5群雄は投与86週目、第4群雄は投与88週目で終了した。

[b] HPMC：ヒドロキシプロピルメチルセルロース（粘度：3,500～5,600 cps）

[c] 投与180日目

[d] 投与25週目：対照群は平均値を示した。投与群は対照群に対する比率（%）を示した。

[e] 発現率（程度スコアの平均）

[f] 重度の慢性進行性腎症（CPN）及び腎不全に続発すると考えられる。

[g] 投与105週目：対照群は平均値を示した。投与群は対照群に対する比率（%）を示した。

[h] ヒトでのリスク評価には関連しないと考えれらる。

- 特に変化なし

BLQ：定量下限未満、CMM：立法ミリメートル、fL：フェムトリットル；10^{-15} L、K：1000、NA：　該当せず

2.6.7.11.　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

重要な試験以外の試験

動物種/ 系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg)	動物数/群	特記すべき所見	試験番号
生殖発生毒性試験では重要な試験以外の試験は実施しなかった。						

2.6.7.12.　生殖発生毒性試験

2.6.7.12A　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

試験レポート：ラットにおける雄授胎能及び一般生殖能に関するBG00012強制経口投与毒性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

試験計画 ICH 4.1.1 準拠:	適	投与期間：	雄: 同居飼育前から 14 日間の同居期間の剖検前日までの 1 日 1 回 70 日間 雌：非投与	試験番号：	P00012-04-03
動物種/系統：	ラット /Crl:CD®(SD)IGS BR VAF/Plus®	交尾成立日：	DG 0	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.5.1-1]
試験開始日齢：	62 日齢	帝王切開日：	DG 13		
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	投与方法：	強制経口	GLP 適用：	適
特記事項：	なし	溶媒/投与形態：	0.8% HPMC/RODI 水		
無毒性量：雄：	75 mg/kg/日未満				
無毒性量：雄授胎能：	375 mg/kg/日				

投与量 (mg/kg)	0（対照）	75	250	375
雄				
評価動物数	25	25	25	25
死亡及び瀕死屠殺動物数	1[a]	0	0	1[a]
一般状態（発現数/発現動物数）				
流涎	0	14/5	230/19**	539/25**
口周囲の赤色の汚れ	0	11/9	107/18**	110/22**
脱水	1/1	0	5/1	111/6**
右耳介：腫脹	0	0	0	71/3**
雄				
剖検：				
胃：腺胃領域　肥厚又は赤色びらん 1 病変	0	25**	25**	24**
膵臓リンパ節：肥大	0	2	25**	24**
体重（%[b]）（最終体重）	577.6 g	-2.6	-10.4**	-17.7**
摂餌量（絶対、%[b]）（DS1～DS91）	30.2 g	-5.0**	-11.6**	-18.9**
器官重量（絶対、%[b, c]）				
左精巣上体尾部	0.3748 g	-0.2	-6.4	-8.6*

2.6.7.12A　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

試験レポート：ラットにおける雄授胎能及び一般生殖能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験（続き）

雄投与量 (mg/kg)	0（対照）	75	250	375
左精巣	1.8463 g	+3	+1.7	+7.6**
右精巣上体	0.7893 g	-0.1	-5.8*	-5.0*
右精巣	1.8275 g	+3.2	+2.9	+10.3**
腎臓（両側）	3.83 g	+18.0**	+37.6**	+30.3**
胃	2.30 g	+60.4**	+117.8**	+120.4**
膵臓	1.71 g	+14.0**	+5.3	+8.2
雄				
精子評価：				
輸精管精子の運動性：				
運動精子数	-	-	-	-
%運動精子	-	-	-	-
静止精子数（非運動性精子数）	-	-	-	-
合計数 [d]	31.58	39.56	47.56	61.25*
精巣上体尾精子数：				
精子数 [e]	-	-	-	-
精子密度 [f]	-	-	-	-
同居日数 [g]	-	-	-	-
交尾動物数〔例数（%）〕	-	-	-	-
受胎率 [h]	-	-	-	-
雄				
病理組織学的検査の例数	25	25	25	25
精巣：				
間細胞　多巣性過形成	0	1	9	9
腎臓：				
皮質尿細管　拡張	4	18	25	24
尿細管上皮　多巣性分節再生	1	8	21	22
皮質尿細管　多巣性硝子滴	7	17	20	12
腎症	18	22	22	22
皮質尿細管上皮　核／細胞肥大	0	2	25	24

2.6.7.12A　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

試験レポート：ラットにおける雄授胎能及び一般生殖能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験（続き）

雄投与量 (mg/kg)	0（対照）	75	250	375
胃（腺胃）:				
粘膜　びらん	0	0	1	8
腺　過形成	0	0	8	20
表層/小窩上皮　過形成	0	0	4	22
多細胞性炎症	0	0	7	21
潰瘍	0	0	1	2
胃（前胃）:				
扁平上皮癌	0	1	5	5
扁平上皮　異型を伴う限局性過形成	0	0	0	1
粘膜　びまん性過形成/角化亢進	0	25	25	25
多細胞性炎症	0	7	21	25
表在性扁平上皮/角質層　微小膿瘍/壊死/空胞変性	0	3	16	15
扁平上皮乳頭腫	0	0	0	1
潰瘍	0	1	4	11
雌（非投与）				
評価動物数	25	25	25	25
死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-
剖検	-	-	-	-
交配前体重（%[b]）（DS 14）	-	-	-	-
交配前体重変化（%[b]）（DS1～ DS14）	-	-	-	-
妊娠時体重（%[b]）（DS 13）	-	-	-	-
妊娠時体重変化（%[b]）（DS0～DS13）	-	-	-	-
妊娠時摂餌量（%[b]）（DG0～DG13）	-	-	-	-
妊娠動物数	-	-	-	-
平均黄体数	-	-	-	-
平均着床数	-	-	-	-
平均着床前胚死亡率（%）	-	-	-	-
平均生存胚数	-	-	-	-
平均吸収胚数	-	-	-	-

2.6.7.12A　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

試験レポート：ラットにおける雄授胎能及び一般生殖能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験（続き）

雄投与量 (mg/kg)	0（対照）	75	250	375
性周期：				
性周期/14 日間	-	-	-	-
連続 6 日以上の発情休止期を示したラット	-	-	-	-
連続 6 日以上の発情期を示したラット	-	-	-	-
雌（非投与）				
同居飼育日数[i]	-	-	-	-
交尾動物数〔例数（%）〕	-	-	-	-
受胎率[j]	-	-	-	-
交尾動物数[i]〔例数（%）〕	-	-	-	-
1～7 日目	-	-	-	-
8～14 日目	-	-	-	-

Data source: M4.2.3.5.1-1 P00012-04-03-text-Table B1, text-Table B7, text-Table B2, text Table B4, text-Table B8, text-Table B10, text-Table B6, Appendix H-Table 1, text-Table C1, text-Table C2, text-Table C3, text-Table C4, text-Table C7, text-Table C6

[*] $p < 0.05$

[**] $p < 0.01$

[a] 被験物質の投与に関連しない鼻先の損傷により切迫屠殺した。

[b] 対照群は平均値を示した。投与群は対照群との比率（%）を示した。統計学的有意差は実測値より求めた（対照群に対する比率ではない）。

[c] 相対器官重量の有意な変化（体重比）は、250及び375 mg/kg/日群の左精巣上体並びに375 mg/kg/日群の精嚢（水分の有無にかかわらず）に認められた。

[d] 運動精子及び静止精子の合計。5視野で200個以上の精子を検査又は20視野を検査した。

[e] 精子数は精子密度より求めた。10視野を検査した。

[f] 精子密度は、画像領域（34.3 x 10^{-6} mL）容量で精子数を除し、2（希釈係数）をかけ、10^{-6}をかけて精子濃度を求めた。計測した精子濃度値（小数点1位に丸めた）に50（容量）を乗じ、左精巣上体尾の重量で除して精子密度を求めた。

[g] 交配日が確認できたラット及び交配しなかったラットに限定

[h] 妊娠数/交配ラット数

[i] 交配日が確認できたラットに限定

[j] 妊娠数/交配ラット数

HPMC：ヒドロキシプロピルメチルセルロース、 DS：投与開始後日数、DG ：妊娠日齢（推定）

-- 特記すべき所見なし

2.6.7.12B　　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

試験レポート：ラットにおける雌受胎能及び一般生殖能に関するBG00012強制経口投与毒性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

試験計画 ICH 4.1.1 準拠：	適	投与期間：	同居 15 日前から妊娠 7 日目まで（最長 21 日間）	試験番号：	P00012-10-01
動物種/系統：	ラット/Sprague Dawley/Crl:CD(SD)IGS BR	交尾成立日：	DG 0	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.5.1-2]
試験開始日齢：	約 66 日齢	帝王切開日：	DG 13		
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	投与方法：	強制経口	GLP 適用：	適
特記事項：	なし	溶媒/投与形態：0.8%HPMC/RODI 水			
無毒性量： F_0 雌：	100 mg/kg/日				

投与量 (mg/kg)	0 (対照)	25	100	250
雌				
評価動物数	25	25	25	25
死亡及び瀕死屠殺動物数	1[a]	0	0	2[a]
一般状態　発現動物数（発現数）				
流涎	0 (0)	0 (0)	3 (7)	23 (169)**
脱水	0 (0)	0 (0)	0 (0)	15 (210)**
口周囲の赤色物質	0 (0)	0 (0)	0 (0)	8 (12)**
有色性分泌物	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (11)**
被毛粗剛	2 (6)	0 (0)	4 (19)	12 (127)**
グルーミングしていない被毛	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (12)**
剖検　発現動物数（発現数）				
胃：噴門部　粘膜表面　白色隆起巣	0	0	1	11**
胃：胃壁　肥厚	0	0	0	9**
交配前体重（%）[b]	261.5 g	-1.2	-0.2	-5.7**
妊娠時体重（%）[b, c]	291.4 g	-1.0	+0.3	-5.2**
交配前摂餌量（%）[b]	19.4 g/日	-2.6	-4.6	-27.8**
妊娠時摂餌量（%）[b]	-	-	-	-

2.6.7.12B　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

試験レポート：ラットにおける雌受胎能及び一般生殖能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験（続き）

投与量 (mg/kg)	0 (対照)	25	100	250
平均性周期/14 日間	3.3	3.2	3.2	2.5**
平均交配所要日数	-	-	-	-
精子が確認された雌動物数	-	-	-	-
妊娠動物数	-	-	-	-
流産あるいは全胚吸収の認められた母体数	-	-	-	-
平均黄体数	-	-	-	-
平均着床数	-	-	-	-
平均着床前死亡率（%）	-	-	-	-
平均生存胚数	-	-	-	-
平均吸収胚数	-	-	-	-
死亡胚数	-	-	-	-
平均着床後死亡率（%）	-	-	-	-

Data source: M4.2.3.5.1-2 P00012-10-01-text-Table 1, text-Table 13, text-Table 11, text-Table 2, text-Table 4, text-Table 6, text-Table 8, text-Table 10, text-Table 12

[a] 被験物質の投与に関連しない挿管時の事故による

[b] 対照群は平均値を示した。投与群は対照群との差（%）を示した。統計学的有意差は実測値より求めた（対照群に対する差の%ではない）。

[c] 投与期間終了の妊娠7日目

--：投与に関連した所見なし

** $p \leq 0.01$（対照群に対する有意差）

DG ：妊娠日齢（推定）

2.6.7.13. 生殖発生毒性試験

2.6.7.13A 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験

試験レポート：ラットにおける発生に関するフマル酸ジメチル（DMF）強制経口投与毒性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

試験計画 ICH 4.1.3 準拠：適。　投与期間：DG 7～DG 17　試験番号：P00012-06-02
交尾成立日：DG 0
動物種/系統：ラット/Sprague Dawley/Crl:CD(SD)IGS BR　帝王切開日：DG 21　CTD における記載箇所：[M4.2.3.5.2-1]
試験開始日齢：62 日齢　投与方法：強制経口
初回投与年月日：[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日　溶媒/投与形態：0.8% HPMC　GLP 適用：適
特記事項：トキシコキネティクス試験は一次活性代謝物である MMF について実施した。
無毒性量：
F_0 雌：25 mg/kg/日
F_1 胎児：100 mg/kg/日

1 日用量 (mg/kg)	0（対照）	25	100	250
評価動物数	28[a]	31[a]	31[a]	31[a]
母動物：				
トキシコキネティクス、MMF：AUC_{last}[b]（μg·h/mL）	-	4.8	29.9	85.9
妊娠動物数	24	25	24	25
死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
流産あるいは全胚吸収の認められた母体数	0	0	0	0
一般状態				
軽度の流涎	0 (0)	0 (0)	2 (3)	9 (14)**
剖検所見	-	-	-	-
体重増加（%）[c, d]	89.1 g	-1.8	-17.3**	-62.3**
摂餌量（%）[d]	27.1 g/日	+1.1	-9.2**	-34.3**
平均黄体数	-	-	-	-
平均着床数	-	-	-	-
平均着床前死亡率（%）	-	-	-	-
胚・胎児：				
評価母動物数	24	25	24	25
平均生存胎児数/腹	14.1	14	14	13.6
平均吸収胚数/腹	-	-	-	-

2.6.7.13A　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験

試験レポート：ラットにおける発生に関するフマル酸ジメチル（DMF）強制経口投与毒性試験（続き）

1 日用量 (mg/kg)	0（対照）	25	100	250
死亡胎児を有した母動物数	-	-	-	-
平均着床後死亡率 %	-	-	-	-
母体当たり平均胎児体重 (g; %)[d]	5.45	+1.7	+0.9	-8.3**
胎児の性比	-	-	-	-
胎児検査				
変異（%）[e]	16.7	12.0	4.2	40.0**
外表異常	-	-	-	-
内臓異常	-	-	-	-
骨格異常・変異：骨化				
後肢中足骨（胎児当たりの骨化数/母体動物の平均値）[f]	4.87	4.85	4.83	4.43**
後肢指骨（胎児当たりの骨化数/母体動物の平均値）[f]	6.32	6.46	6.36	5.57*
胎児の異変（一腹当たり）	-	-	-	-

Data source: M4.2.3.5.2-1 P00012-06-02-APPENDIX G-Table 3, APPENDIX B-Table 2, APPENDIX B -Table 1, APPENDIX B-Table 3, APPENDIX B -Table 4, APPENDIX B-Table 6, APPENDIX B-Table 19, APPENDIX B-Table 8, APPENDIX B-Table 9, APPENDIX B-Table 12

[a] 主試験：25例/群、トキシコキネティクス試験：3例/第1群、6例/第2～4群

[b] 最終投与後AUCは、25 mg/kg群：$AUC_{0\text{-}3h}$、100及び250 mg/kg群：$AUC_{0\text{-}6h}$を求めた。

[c] 妊娠7日目～17日目の投与期間

[d] 対照群は平均値を示した。投与群は対照群との差（%）を示した。統計学的有意差は実測値より求めた（対照群に対する%ではない）。

[e] 特定の発生変異の増加は認められていないが、胎児の体重の減少（母動物の毒性発現の影響）に関連した発生の遅延の増加が認められた。

[f] 胎児体重の減少（母動物の毒性発現の影響）に関連した発生の遅延の増加

DG：妊娠日齢（推定）

2.6.7.13B　　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験

試験レポート：ウサギにおける発生に関するフマル酸ジメチル（DMF）経口（胃管）投与毒性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

試験計画 ICH 4.1.3 準拠：適
投与期間：　DG 7～DG 19
交尾成立日：　DG 0
帝王切開日：　DG 29
試験番号：　P00012-06-01
動物種/系統：　ウサギ/ Hra (NZW)SPF
CTD における記載箇所：　[M4.2.3.5.2-2]
試験開始月齢：　5 ヵ月齢
投与方法：　強制経口
初回投与年月日：　[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
溶媒/投与形態：　0.8% HPMC/RODI 水
GLP 適用：　適
特記事項：　トキシコキネティクス試験は一次活性代謝物である MMF について実施した。
無毒性量：
F_0 雌：　25 mg/kg/日
F_1 胎児：　150 mg/kg/日

1 日用量 (mg/kg)	0（対照）	25	75	150
評価動物数	20	23[a]	23[a]	23[a]
トキシコキネティクス、MMF：$AUC_{0\text{-}last}$ [b, c]（μg·h/mL）	-	11.0	54.6	126.3
妊娠動物数（主試験）	19	20	20	20
死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
流産あるいは全胚吸収の認められた母体数	0	0	0	4**
一般状態				
不十分な糞便量	1 (1)	3 (7)	3 (11)	15 (99)**
被毛粗剛	1 (2)	0 (0)	1 (2)	4 (28)
剖検所見	-	-	-	-
体重（%）[b, d]	3.51 kg	-0.9	-2.8	-11.9**
摂餌量（%）[d]	154.4 g/日	+0.3	-3.2	-14.0**
平均黄体数	-	-	-	-
平均着床数	-	-	-	-
平均着床前死亡率（%）	-	-	-	-
胎児：				
評価母動物数	19 [e]	20 [e]	20 [e]	16[e]
生存胎児数/腹	-	-	-	-
平均吸収胚数/腹	-	-	-	-

2.6.7.13B　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生への影響に関する試験

試験レポート：ウサギにおける発生に関するフマル酸ジメチル（DMF）経口（胃管）投与毒性試験（続き）

1 日用量 (mg/kg)	0（対照）	25	75	150
死亡胎児を有した母体数	-	-	-	-
平均着床後死亡率 %	-	-	-	-
平均胎児体重 (g)	-	-	-	-
胎児の性比	-	-	-	-
胎児検査	-	-	-	-
外表異常	-	-	-	-
内臓異常	-	-	-	-
骨格異常・変異	-	-	-	-
胎児の異変（一腹当たり）	-	-	-	-

Data source: M4.2.3.5.2-2 P00012-06-01-APPENDIX B-Table 8, APPENDIX B-Table 1, APPENDIX B-Table 4, APPENDIX B-Table 6, APPENDIX B-Table 8, APPENDIX B-Table 20, APPENDIX B-Table 21, APPENDIX B-Table 11, APPENDIX B-Table 12, APPENDIX B-Table13, APPENDIX B-Table 14

** 対照群の値と有意差（$p \leq 0.01$）

-：被験物質の投与に関連した所見なし

[a] 主試験：20例、トキシコキネティクス試験：3例

[b] 投与期間の終了妊娠19日目

[c] 2例：$AUC_{0\text{-}3h}$、1例：$AUC_{0\text{-}1\,h}$、残り（6例）：$AUC_{0\text{-}6h}$

[d] 対照群は平均値を示した。投与群は対照群との差（%）を示した。統計学的有意差は実測値より求めた（対照群に対する差の%ではない）。

[e] 妊娠動物数に投与に関連した変化なし

DG ：妊娠日齢（推定）

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

試験レポート：BG00012：ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに出生後の行動・機能に関するBG00012強制経口投与毒性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

試験計画 ICH 4.1.2 準拠：	適	投与期間：	DG 7～DL 20 分娩しなかった母動物については DG 7～DG 24	試験番号：	P00012-09-02
		交配日：	DG 0		
動物種/系統：	ラット/Sprague Dawley/Crl:CD(SD)IGS BR	投与方法：	強制経口	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.5.3-1]
試験開始日齢：	65 日齢	溶媒/投与形態：	0.8% HPMC		
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	出生児：	授乳期間中に処分した出生児はない	GLP 適用：	適
特記事項：	なし				
無毒性量：					
F_0 雌：	25 mg/kg/日				
F_1 雄：	100 mg/kg/日				
F_1 雌：	100 mg/kg/日				

1 日用量 (mg/kg)		0　(対照)	25	100	250
評価母動物数		25	25	25	25
F_0 雌					
	妊娠動物数	23	25	24	25
	死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0
	流産あるいは全胚吸収母体数	0	0	0	0
	一般状態　発現動物数（発現例数）	25 (372)	25 (372)	25 (376)	25 (379)
	わずかな流涎	0 (0)	0 (0)	2 (2)	20 (69)**
	軽度の脱水	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5 (21)**
	ラッセル音	0 (0)	0 (0)	0 (0)	6 (11)**
	剖検所見				
	胃：胃壁　肥厚		0	18**	16**
	胃：噴門部　粘膜表面　白色隆起巣		0	16**	24**
	胃：噴門部　粘膜表面　ピンク色の隆起領域		0	0	3**

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

試験レポート：BG00012：ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに出生後の行動・機能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験（続き）

1 日用量 (mg/kg)		0　(対照)	25	100	250
	妊娠時体重（%）[b, c]	389.9 g	-0.3	-2.1	-13.3**
	授乳時体重（%）[c, d]	330.4 g	+0.8	+2.8	-4.0*
	妊娠時摂餌量（%）[b, c]	24.7 g/日	-0.8	-2.4	-19.8**
	授乳時摂餌量（%）[c, d]	-	-	-	-
	平均妊娠期間（日数）	-	-	-	-
	異常分娩	-	-	-	-
F_1 出生児（離乳前）					
	評価母動物数	23	25	24	25
	平均着床数	-	-	-	-
	平均出生児数/腹	-	-	-	-
	平均生存出生児数/腹	-	-	-	-
	死亡出生児数/腹	-	-	-	-
	出生 4 日後生存率	-	-	-	-
	離乳時生存率	-	-	-	-
	全同腹児死亡の認められた母動物数	-	-	-	-
	出生児体重（%）[c] PND21	38.4 g	+1.6	-0.5	-14.6**
	出生児性比	-	-	-	-
	出生児一般状態：発現頻度（日数 x 出生児）/腹				
	接触時の冷感	5/3	2/1	12/5	75/13**
	出生児剖検	-	-	-	-
F_1 雄（離乳後）					
	離乳後評価母動物数	25	25	25	25
	死亡及び瀕死屠殺動物数	1[e]	0	2[e]	1[e]
	一般状態	-	-	-	-
	剖検所見	-	-	-	-
	体重（%）[c, f] PND120	492.8 g	-0.8	-3.6	-9.2**
	摂餌量（%）	27.0 g/日	0	-3.0	-9.6**
	包皮分離（日数）	47.1	47.1	47.9	49.7*

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

試験レポート：BG00012：ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに出生後の行動・機能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験（続き）

1 日用量 (mg/kg)		0　(対照)	25	100	250
	学習及び記憶	-	-	-	-
	水迷路潜時（秒）　1 回目	10.5	12.6	12.2	19.0**
	2 回目	7.0	8.6	9.8	12.9**
	平均交配所要日数	-	-	-	-
	交尾動物数	-	-	-	-
	受胎動物数	-	-	-	-
F_1 雌（離乳後）					
	離乳後評価動物数	25	25	25	25
	死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	2[e]	0
	一般状態	-	-	-	-
	剖検所見	-	-	-	-
	交配前体重（%）[c]	287.9 g	-1.6	-1.5	-8.6**
	妊娠時体重（%）[c]	-	-	-	-
	交配前摂餌量（%）[c, f]	19.4 g/日	-0.5	-1.5	-8.2**
	妊娠時餌量（%）[c]	-	-	-	-
	膣開口までの平均日齢（日数）	-	-	-	-
	学習及び記憶	-	-	-	-
	水迷路成績（平均試行数）　1 回目	8.8	9.2	10.9	10.1
	2 回目	5.5	6.4*[g]	7.4**[g]	7.6**[g]
	平均交配所要日数	-	-	-	-
	精子が確認された雌動物数	-	-	-	-
	妊娠動物数	-	-	-	-
	平均黄体数	-	-	-	-
	平均着床数	-	-	-	-
	平均着床前死亡率（%）	-	-	-	-

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

試験レポート：BG00012：ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに出生後の行動・機能に関する BG00012 強制経口投与毒性試験（続き）

F_2 胎児					
	平均生存胚数/腹	-	-	-	-
	平均吸収胚数/腹	-	-	-	-
	全胚吸収母体数	-	-	-	-
	死亡胚数/腹	-	-	-	-
	平均着床後死亡率（%）	-	-	-	-
1 日用量 (mg/kg)		0　(対照)	25	100	250
	胎児体重（g）	-	-	-	-
	胎児の性比（% 雄）	-	-	-	-
	胎児の異常（外表）	-	-	-	-

Data source: M4.2.3.5.3-1 P00012-09-02-text-Table A3, text-Table A1, text-Table A2, text-Table A5, text-Table A7, text-Table A9, text-Table A11, text-Table A12, text-Table A13, text-Table A14, text-Table A15, text-Table B1, text-Table B7, text-Table B2, text-Table B18, text-Table B19, text-Table B20, text-Table B21, text-Table B4, text-Table B5, text-Table B8, text-Table B9, text-Table B14, text-Table B16, text-Table B18, text-Table B19, text-Table B20, text-Table B21, text-Table B23, text-Table B24, text-Table B47, text-Table B25, FINAL REPORT AMENDMENT NO.1-text-Table1, FINAL REPORT AMENDMENT NO.1-text-Table 2

* $p < 0.05$

** $p < 0.01$

[a] 授乳14日目にMMF濃度を1回測定したため、AUCは算出していない。

[b] 妊娠20日目まで

[c] 対照群は平均値を示した。投与群は対照群との差（%）を示した。有意差は実測値より求めた（対照群に対する差の%ではない）。

[d] 授乳14日目まで

[e] 被験物質投与に関連した変化なし

[f] 22日齢―交配前

[g] 背景対照値、平均値（範囲）：1 回目：8.8（7～11.2）、2 回目：7.0 (5.4～9.3)

DG　：妊娠日齢（推定）、DL：授乳日齢、PND：分娩後日数

2.6.7.15.　幼若動物を用いた試験

2.6.7.15A　幼若動物を用いた試験

試験レポート：幼若雄ラット BG00012 経口投与毒性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

動物種/系統：	ラット/ Sprague Dawley Crl:CD(SD)IGS BR	投与期間：	PND 28～92	試験番号:	P00012-12-02
		性別:	雄	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.5.4-1]
試験開始日齢：	28 日齢	投与方法：	強制経口		
初回投与年月日：	[redacted]年[redacted]月[redacted]日	溶媒/投与形態：	0.8% HPMC	GLP 適用：	適

特記事項：　トキシコキネティクス試験は一次活性代謝物であるフマル酸モノメチル（MMF）について実施した。
無毒性量：雄：　50 mg/kg/日未満
無毒性量：雄授胎能：　375 mg/kg/日

1 日用量 (mg/kg)	0 （対照）	50	140	375
評価動物数(トキシコキネティクス)	30 (27)	30 (27)	30 (27)	30 (27)
トキシコキネティクス、MMF: AUC_{last} (μg·h/mL) PND 28	0	9.78	30.5	77.3
トキシコキネティクス、MMF: AUC_{last} (μg·h/mL) PND 90	0	7.85	23.3	111
特記すべき所見：				
死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	2[a]
一般状態 – 発現例数（例数）				
流涎（軽微、中等度、重度）	0(0)	4(2)	126(22) **	812(30)**
軽度の脱水（投与期間）	0(0)	40(4)	118(16) *	641(28)**
軽度の脱水（回復期間）	0(0)	19(3)	23(6)**	26(9)**
鼻の有色性分泌物	9(3)	4(4)	18(4)	68(21)**
口周囲の赤色物質	0(0)	1(1)	6(5)	14(11)**
被毛粗剛	0(0)	0(0)	3(3)	22(8)**
体重変化（%）(g, %)、PND 28～90（投与期間）	402.2	-9.47**	-11.5**	-28.6**
体重変化（%）(g, %)、PND 98～146（回復期間）	129.9	-4.9	-6.1	-16.6*
摂餌量（%）(g/動物/日, %)、PND 28～90	27.2	-6.6	-8.8*	-19.5**
包皮分離（PND）	44.1	44.3	45.5	47.3**

2.6.7.15A　幼若動物を用いた試験

試験レポート：幼若雄ラット BG00012 経口投与毒性試験（続き）

1 日用量 (mg/kg)	0 （対照）	50	140	375
血液生化学的検査				
クレアチニン、PND 91～92 (mg/dL, %)	0.28	-17.9*	-25.8*	-38.5*
クレアチニン、PND 147～148 (mg/dL, %)	0.29	-4.8	-3.1	-16.5*
アルカリホスファターゼ、PND 91～92 (IU/L, %)	106	-12.5	-4.1	-30.3*
尿素窒素、PND 91～92 (mg/dL, %)	12	-7.4	-9.4	-18.9*
尿検査				
透明淡黄色尿（例数）	3	1	5	13**
透明黄色尿（例数）	15	11	11	5**
尿比重	1.014	1.011	1.009*	1.005**
尿中白血球（顕微分析）（例数）	3	6	10**	12**
器官重量				
腎臓（両側）（g, %）	3.31	+2.42	+13.29**	+11.48*
剖検所見				
胃の噴門又は胃底部				
白色隆起巣（例数）	0	18**	20**	18**
壁肥厚（例数）	0	10**	9**	13**
リンパ節、膵臓、腫大（例数）	0	0	1	7**
腎臓、腫大 （例数）	0	0	0	4**

Data source：M4.2.3.5.4-1 P00012-12-02-text-Table 1, text-Table 2, text-Table 3, text-Table 4, text-Table 6, text-Table 7, text-Table 8, text-Table 9, Appendix 15-Table 2, Appendix 13, Appendix 16-Table 2
* 対照群に対して有意差あり ($p \leq 0.05$)
** 対照群に対して有意差あり ($p \leq 0.01$).
[a] 動物 1 例 は、PND 38 に死亡した。その他の動物は PND 90 に剖検した。死亡は投薬に関連しないと判断された。
PND：出生後日数

2.6.7.15B 幼若動物を用いた試験

試験レポート：幼若ラットにおけるフマル酸ジメチルの経口投与毒性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

試験計画 ICH 準拠：	非適用	投与期間：	PND 28～93	試験番号:	P00012-14-02
		投与方法:	**強制経口**	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.5.4-2]
動物種/系統：	ラット/ Sprague Dawley Crl:CD(SD)	溶媒/投与形態：	0.8% ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）/懸濁液		
試験開始日齢：	28 日齢				
初回投与年月日：	[redacted]年[redacted]月[redacted]日	出生児間引：	安楽死	GLP 適用：	適

特記事項：投与期間終了後（PND 28-93）、回復性試験動物を 25 週目に剖検した。

無毒性量：

一般毒性：	5 mg/kg/日未満
生殖能：	140 mg/kg/日
発育/神経行動学的評価：	140 mg/kg/日

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）	5	15	50	140
雄：					
トキシコキネティクス：PND 93					
AUC_{last} (µg·h/mL)	-	0.672	2.350	9.020	24.100
C_{max} (µg/mL)	-	0.946	2.940	8.210	23.900
t_{max} (h)	-	0.25	0.25	0.25	0.25
$t_{1/2}$ (h)	-	0.36	0.52	0.69	1.05
評価動物数	35	36	35	35	35
死亡及び瀕死屠殺動物数	1	1	0	0	1
一般状態　発現例数/評価動物数					
投与時					
投与前流涎	0/0	0/0	0/0	0/0	10/6
投与 30 分後					
口周囲の乾燥赤色物質	0/0	1/1	0/0	31/20	62/32
口周囲の湿潤透明物質	34/15	44/14	21/13	146/29	685/35
口周囲の湿潤赤色物質	0/0	5/5	5/5	27/14	106/28
流涎	0/0	1/1	1/1	2/2	40/24
口周囲の乾燥透明物質	0/0	1/1	0/0	13/11	28/20

-特記すべき変化なし

2.6.7.15B　幼若動物を用いた試験

試験レポート：幼若ラットにおけるフマル酸ジメチルの経口投与毒性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）	5	15	50	140
体重 g (%) [a] –PND 93	526	524 (-0.4)	521 (-1.0)	526 (0)	482** (-8.4)
摂餌量 g/糖物/日 (%)[a]-PND 28～93	27	27 (0.0)	27 (0.0)	27 (0.0)	25 ** (-7.4)
平均包皮分離日齢（日）	44.3	45.1	45.0	45.0	44.5
詳細な観察（FOB）	-	-	-	-	-
驚愕反応	-	-	-	-	-
運動量	-	-	-	-	-
学習及び記憶	-	-	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-
血液生化学的検査	-	-	-	-	-
尿検査 [a]					
PND 94					
尿量（mL）	15.7	19.0 (21.0)	13.7 (-12.7)	17.8 (13.4)	25.4 (61.8)
浸透圧（mOsm/kg）	669	591 (-11.7)	657 (-1.8)	553 (-17.3)	444 (-33.6)
回復期間（25 週目）	-	-	-	-	-
生殖能	-	-	-	-	-
精子形成	-	-	-	-	-
剖検所見					
PND 94					
前胃：暗赤色巣	-	-	+	+	+
前胃：胃壁　肥厚	-	-	-	+	+
回復期間（25 週目）	-	-	-	-	-
骨密度					
PND 94					
骨塩量 (g)					
腰椎	0.475	0.467	0.470	0.465	0.411*

-特記すべき変化なし、+　変化あり
* = $p < 0.05$（Dunnett's Test）
[a] 全群とも平均値。投与群はカッコ内に対照群との比率（%）を示す。有意差は実測値（比率でなく）より求めた。

2.6.7.15B　幼若動物を用いた試験

試験レポート：幼若ラットにおけるフマル酸ジメチルの経口投与毒性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）	5	15	50	140
大腿骨	0.514	0.520	0.504	0.513	0.469*
大腿骨遠位部	0.154	0.156	0.153	0.154	0.139*
大腿骨骨幹	0.224	0.227	0.216	0.221	0.204*
大腿骨近位部	0.138	0.140	0.136	0.140	0.128*
骨塩密度 (g/cm^2)					
腰椎	0.215	0.215	0.216	0.212	0.194*
大腿骨	0.205	0.208	0.207	0.209	0.193*
大腿骨遠位部	0.220	0.221	0.223	0.223	0.203*
大腿骨骨幹	0.196	0.200	0.197	0.200	0.187*
大腿骨近位部	0.206	0.208	0.208	0.209	0.192*
回復期間（25 週目）	-	-	-	-	-
器官重量 g (%) [a]					
PND 94					
腎臓（絶対重量；g）	3.87	3.93 (1.6)	3.93 (1.6)	4.29 (10.9)	4.64** (19.9)
回復期間（25 週目）	-	-	-	-	-
病理組織学的検査					
PND 94					
前胃					
扁平上皮過形成	-	+	+	+	+
扁平上皮癌	-	-	-	-	+
潰瘍	-	-	-	+	+
びらん	-	-	-	+	+
急性炎症	-	-	-	+	+
腎臓					
硝子滴増加	-	-	+	+	+
回復期間（25週目）					
前胃					
扁平上皮過形成	-	-	+	+	+

+　変化あり

* = $p < 0.05$、 ** = $p < 0.01$（Dunnett's Test）

[a] 全群とも平均値を示す。投与群はカッコ内に対照群に対する比率（%）を示す。有意差は実測値（比率でなく）より求めた。

2.6.7.15B　幼若動物を用いた試験

試験レポート：幼若ラットにおけるフマル酸ジメチルの経口投与毒性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）	5	15	50	140
雌：					
トキシコキネティクス：PND 93					
AUC_{last} (µg·h/mL)	-	0.968	3.120	11.900	38.300
C_{max} (µg/mL)	-	1.700	4.360	13.500	34.600
t_{max} (h)	-	0.25	0.25	0.25	0.5
$t_{1/2}$ (h)	-	0.28	0.45	0.41	0.92
評価動物数	35	35	35	35	35
死亡及び瀕死屠殺動物数	1	1	1	1	1
一般状態 - 発現例数/評価動物数					
投与時					
投与前の流涎	0/0	0/0	0/0	0/0	8/5
投与 30 分後					
口周囲の乾燥赤色物質	9/7	16/11	8/7	59/20	512/34
口周囲の湿潤透明物質	0/0	0/0	1/1	8/6	62/24
口周囲の湿潤赤色物質	0/0	0/0	0/0	0/0	15/8
流涎	0/0	0/0	1/1	4/2	73/25
口周囲の乾燥透明物質	0/0	0/0	0/0	4/4	17/13
体重 g (%) [a]-PND 93	293	294 (0.3)	295 (0.7)	299 (2.0)	286 (-2.4)
摂餌量 g/動物/日(%) [a]-PND 28～93	20	19 (-5.0)	19 (-5.0)	20 (0.0)	19* (-5.0)
平均膣開口日	34.6	35.4	34.1	35.4	35.8
詳細な観察（FOB）	-	-	-	-	-
驚愕反応	-	-	-	-	-
運動量	-	-	-	-	-
学習及び記憶	-	-	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-

-特記すべき変化なし
* = $p < 0.05$（Dunnett's Test）
[a] 全群とも平均値。投与群はカッコ内に対照群に対する比率（%）を示す。有意差は実測値（比率でなく）より求めた。

2.6.7.15B　幼若動物を用いた試験

試験レポート：幼若ラットにおけるフマル酸ジメチルの経口投与毒性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）	5	15	50	140
血液生化学的検査 [a]					
PND 94					
クロール	106	106 (0.0)	106 (0.0)	104* (-1.9)	104* (-1.9)
回復期間（25 週目）	-	-	-	-	-
尿検査 [b]					
PND 94					
尿量（mL）	5.4	6.6 (22.2)	7.6 (40.7)	9.0 (66.7)	13.7** (153.7)
浸透圧（mOsm/kg）	944	862 (-8.7)	712 (-24.6)	729 (-22.8)	635 (-32.7)
回復期間（25 週目）	-	-	-	-	-
生殖能	-	-	-	-	-
剖検所見					
PND 94					
前胃：胃壁肥厚	-	-	-	-	+
前胃：暗赤色巣	+	-	+	+	-
回復期間（25 週目）	-	-	-	-	-
骨密度	-	-	-	-	-
器官重量 g (%)[a]					
PND 94					
腎臓（絶対重量: g）	2.32	2.24 (-3.4)	2.56 (10.3)	2.65* (14.2)	2.72** (17.2)
回復期間（25 週目）	-	-	-	-	-
病理組織学的検査					
PND 94					
前胃					
扁平上皮過形成	-	+	+	+	+
扁平上皮癌	-	-	-	-	+
潰瘍	-	-	-	+	-

-特記すべき変化なし、+　変化あり
* = $p < 0.05$、 ** = $p < 0.01$（Dunnett's Test）
[a] 全群とも平均値を示す。投与群はカッコ内に対照群に対する比率（%）を示す。有意差は実測値（比率でなく）より求めた。

2.6.7.15B　幼若動物を用いた試験

試験レポート：幼若ラットフマル酸ジメチル経口投与毒性試験（続き）

1 日用量（mg/kg/日）	0（対照）	5	15	50	140
びらん	-	-	-	+	+
急性炎症	-	-	-	+	+
腎臓					
尿細管変性	-	-	-	-	+
回復期間（25 週目）					
前胃					
扁平上皮過形成	-	-	-	+	+
F1 出生児：					
評価出生児数	12	13	16	13	13
平均着床数	13.6	13.1	14.3	14.2	13.6
平均出生児数/腹	12.5	11.8	13.1	12.6	11.6
平均生存出生児数/腹	11.4	11.5	12.7	12.2	10.5
出生 4 日後生存率（%/腹）	84.8	90.1	92.1	88.3	85.7
出生児体重変化 g (PND 1～4)					
雄	2.9	3.3	3.2	2.9	3.3
雌	2.6	3.1	3.0	2.9	2.9
出生児性比 (% 雄/腹)	52.0	55.6	53.1	58.6	40.4
出生児一般状態	-	-	-	-	-
出生児剖検	-	-	-	-	-

-特記すべき変化なし、 +　変化あり

Data source: M4.2.3.5.4-1- P00012-14-02- Appendix 9-Table 5, text-Table 11, text-table 12, Table S7, Table S19, Table S31, Table S33～S44, Table S45, Table S46、Table S47, Table S48, Table S49, Table S50, Table S51～S56, Table S57～S59, Table S61～S64, Table S65, Table S67, Table S69, Table S71, Table S66, Table S70, text-Table 14, Table S77～S80, Table S84, Table S87, Table S88, text-Table 15, Appendix 15-Table 2, Appendix 15-Table 4, Appendix 15-Table 6, Appendix 15-Table 8, Appendix 15-Table 2, Appendix 15-Appendix 4, text-Table 17, text-Table 18, Table S11, Table S23, Table S32, Table S60, Table S68, Table S71, Table S72, Table S82, Table S85, Table S86, Table S89～S91, text-Table 16, Table S94, text-Table 7, Table 103, Table 104, Table 105, Table 107, Table 108

2.6.7.16.　局所刺激性試験

被験物質：フマル酸ジメチル

BG00012 の局所刺激性試験は実施していない。DMF の局所刺激性はげっ歯類及び非げっ歯類の GLP 反復投与毒性試験で胃・消化管の剖検及び病理組織学的検査によって検討された。DMF 懸濁液を経口投与したラット及びマウスで、前胃に刺激性変化が観察された。げっ歯類の前胃の変化は、ヒトには解剖学的に前胃に相当する部位がないことからヒトでのリスクに関連しないと考えられる。また、DMF 懸濁液を経口投与したイヌ及びカニクイザルで、食道組織に DMF の影響は認められなかった。

2.6.7.17.　その他の毒性試験

2.6.7.17A　その他の毒性試験：毒性学的薬物相互作用試験

試験レポート：ラットを用いたBG00012及びメトトレキサート90日間併用強制経口投与毒性試験及び28日間回復性試験

被験物質：フマル酸ジメチル、メトトレキサート

動物種/系統：　ラット/Sprague Dawley/Crl:CD(SD)IGS BR
試験開始週齢：　約 8 週齢
初回投与年月日：　[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日

投与期間：　90 日間
回復期間：　28 日間
投与方法：　強制経口

溶媒/投与形態：　フマル酸ジメチル（DMF）; 0.8% HPMC メトトレキサート（MTX）; 0.9%塩化ナトリウム/1 mol/L 水酸化ナトリウム

試験番号：　P00012-07-02

CTD における記載箇所：　[M4.2.3.2-10]

特記事項：　なし
無毒性量：　NA

GLP 適用：　適

1 日投与量 DMF (mg/kg) 週 1 回投与量 MTX (mg)	0 (対照)		100 DMF		0.5 MTX		25 DMF 0.5 MTX		100 DMF 0.5 MTX	
動物数 [a]	雄：18	雌：18	雄：24	雌：24	雄：24	雌：24	雄：24	雌：24	雄：24	雌：24
トキシコキネティクス：投与 85 日目										
DMF $AUC_{0\text{-}24h}$/投与量(μg·h/mL/mg/kg)	-	-	0.14	0.18	-	-	0.12	0.16	0.12	0.20
MTX $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	-	-	-	-	0.28	0.60	0.39	0.82	0.26	0.69
特記すべき所見：										
死亡及び瀕死屠殺動物数	0	1[b]	0	1[b]	0	0	0	0	0	0
体重（%）	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量（%）	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学的検査 [c]										
BUN（%） [d]	18 mg/dL	18 mg/dL	-19.4*	-31.6*	-16.7*	-11.5	-17.9	-18.3*	-24.9*	-19.2*
クレアチニン（%） [d]	0.47 mg/dL	0.53 mg/dL	-19.6*	-22.2*	-2.4	+4.5	-14.6*	-12.8	-25.4*	-16.5*

2.6.7.17A　その他の毒性試験：毒性学的薬物相互作用試験

試験レポート：ラットを用いた BG00012 及びメトトレキサート 90 日間併用強制経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（続き）

1 日投与量 DMF (mg/kg) 週 1 回投与量 MTX (mg)	0　(対照)		100 DMF		0.5 MTX		25 DMF 0.5 MTX		100 DMF 0.5 MTX	
動物数 [a]	雄：18	雌：18	雄：24	雌：24	雄：24	雌：24	雄：24	雌：24	雄：24	雌：24
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量（%） [d, e]										
腎臓	3.24 g	2.09 g	+15.3	+17.2*	-4.5	+7.1	+3.9	+8.2	+26.4*	+12.0*
剖検所見										
前胃										
上皮表面の隆起（粗面化、白色）	0	0	10	8	0	0	0	0	10	9
境界縁の隆起	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
赤色、暗赤色、紫色、褐色病巣	0	0	2	4	0	0	0	0	5	1
病理組織学的検査 [f]										
前胃										
過形成	1+	1+	8+++ 2++++	1++ 7+++ 1++++	1+	1+ 1++	10++	3+ 7++	10+++	2++ 7+++ 1++++
角化亢進	0	0	6+++ 4++++	2++ 7+++	0	1+	2+ 7++	4+ 3++	10+++	2++ 8+++
変性	0	0	1++	2++	0	0	0	0	1+ 1++	1+
膵臓										
アポトーシス、腺房細胞	0	0	4+ 1++	2+	2+ 1+++	1+	3+ 1++	4+	4+	2+
その他の検査										
黄体形成ホルモン	-		-		-		-		-	
テストステロン	-		-		-		-		-	
回復性試験										
剖検所見										
前胃										

2.6.7.17A　その他の毒性試験：薬物毒性学的薬物相互作用試験

試験レポート：ラットを用いた BG00012 及びメトトレキサート 90 日間併用強制経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（続き）

1 日投与量 DMF (mg/kg) 週 1 回投与量メトトレキサート(mg)	0　(対照)		100 DMF		0.5 MTX		25 DMF 0.5 MTX		100 DMF 0.5 MTX	
動物数 [a]	雄：18	雌：18	雄：24	雌：24	雄：24	雌：24	雄：24	雌：24	雄：24	雌：24
白色巣	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
境界縁上の結節	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
病理組織学的検査 [f]										
前胃										
過形成	1+	1+ 1++	2++ 2+++	1+ 1++	2+	0	1+ 3++ 1+++	4+ 1++	2+ 2++ 1+++	1+ 2++
角化亢進	0	1+	2++	1++	0	0	2+ 3++	2+	2+	2+
変性	0	0	0	0	0	0	1++	1+	0	0
膵臓										
アポトーシス、腺房細胞	1+	1+	3+	3+	0	0	0	1+	2+ 1++	1+

Data source: M4.2.3.2-10 P00012-07-02-Appendix 20-Table 2, Appendix 20-Table 3, text-Table 1, text-Table 2, text-Table 4, text-Table 5, text-Table 7, text-Table 8, text-Table 10, text-Table 9, Appendix 17- Table 1, Appendix 14-Figure 4.1-1, Appendix 14-Figure 4.2-2, Appendix 15

- 被験物質の投与に関連する所見なし

[a] 主試験；n = 10/性/群、回復性試験；n = 5/性/群、トキシコキネティクス試験第2～5群；n = 9/性/群、 トキシコキネティクス試験第1群； n = 3/性/群

[b] 第2群の雌1例の死亡は、被験物質によるものではなく、誤投与によるものと判断された。対照群の1例の死亡の原因については特定されなかった。

[c] 血液生化学的検査値の変化は毒性学的に意義のないものと判断された。

[d] 対照群は平均値を示した。投与群は対照群との差異（%）を示した。統計学的有意差は実測値より求めた（対照群に対する差の%ではない）。

[e] 対照群に対する絶対及び相対重量で示し、数字は絶対器官重量を用いた対照群との差を%で示す。

[f] + 軽微、++ 軽度、+++ 中等度、++++ 重度

[*] 対照群に対して有意差あり ($p \leq 0.05$)

NA：該当せず

2.6.7.17B　その他の毒性試験：毒性学的薬物相互作用試験

試験レポート：カニクイザルを用いたBG00012及びメトトレキサートの3ヵ月間併用経口投与毒性試験及び28日間回復性試験
被験物質：フマル酸ジメチル、メトトレキサート

動物種/系統：　カニクイザル(*Macaca fascicularis*)
試験開始年齢：　雄；2.1～3.1 歳
雌；2.2～3.0 歳
初回投与年月日：　[redacted] 年 [redacted]月 [redacted] 日

投与期間：　90 日間
回復期間：　28 日間
投与方法：　経鼻胃管
溶媒/投与形態：　フマル酸ジメチル（DMF）；0.8% HPMC
メトトレキサート（MTX）；0.9%塩化ナトリウム/22 mmoL/L 水酸化ナトリウム

試験番号　P00012-07-01
CTD における記載箇所：　[M4.2.3.2-11]

特記事項：　なし
無毒性量：　NA

GLP 適用：　適

1 日投与量 DMF (mg/kg) 週 1 回投与量 MTX (mg)	0　(対照)		25 DMF		0.5 MTX		25 DMF 0.5 MTX		5 DMF 0.5 MTX	
動物数（回復性試験）[a]	雄：6 (2)	雌：6 (2)	雄：6 (2)	雌：6 (2)	雄：6 (2)	雌：6 (2)	雄：6 (2)	雌：6 (2)	雄：6 (2)	雌：6 (2)
トキシコキネティクス：投与 85 日目										
DMF $AUC_{0\text{-}24h}$/投与量 (μg·h/mL/mg/kg)	0	0	0.384	0.369	-	-	0.416	0.395	0.402	0.367
MTX $AUC_{0\text{-}24h}$ (μg·h/mL)	0	0	-	-	0.012	0.0098	0.0046	0.0038	0.007	0.0059
特記すべき所見：										
死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
体重（%）	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量（%）	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学的検査										
BUN（%）[b]	24 mg/dL	22 mg/dL	-29.2	-9.1	+4.2	+18.2	-29.2	-27.3	0	+4.5
血液凝固検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.17B　その他の毒性試験：毒性学的薬物相互作用試験

試験レポート：カニクイザルを用いた BG00012 及びメトトレキサート 3 ヵ月間併用経口投与毒性試験及び 28 日間回復性試験（続き）

1 日投与量 DMF (mg/kg) 週 1 回投与量 MTX (mg)	0 (対照)		25 DMF		0.5 MTX		25 DMF 0.5 MTX		5 DMF 0.5 MTX	
動物数（回復性試験）[a]	雄：6 (2)	雌：6 (2)	雄：6 (2)	雌：6 (2)	雄：6 (2)	雌：6 (2)	雄：6 (2)	雌：6 (2)	雄：6 (2)	雌：6 (2)
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量（%）	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査 [c]										
腎臓										
尿細管上皮単細胞壊死	0	0	3+	4+	0	0	3+	3+	0	0
骨格筋										
大腿二頭筋変性	0	0	1+	1++	0	1+	0	2+	0	0
腸腰筋変性	0	0	0	1+	0	0	1+	0	0	1+
回復性試験										
血液生化学的検査 [c]										
BUN（mg/dL、%）[b]	24	26	-16.7	-21.2	+16.7	-5.8	0	-9.6	+12.5	-11.5
病理組織学的検査 [b]										
腎臓										
尿細管上皮単細胞壊死	0	0	0	0	1+	0	1+	0	0	0

Data source: M4.2.3.2-11 P00012-07-01-Appendix 8-Table 2, Appendix 8-Table 3, text-Table 1, text-Table 3, text-Table 2, text-Table 5, Appendix 5, text-Table 6, text-Table 8, text-Table 9, Appendix 9-Table 3, Appendix 9-Table 1, Appendix 9-Table 5, text-Table 13, Appendix 9-Table 6

--被験物質の投与に関連する所見なし

[a] 主試験；n = 4/性/群、回復性試験；n = 2/性/群

[b] 対照群は平均値を示した。投与群は対照群との差（%）を示した。統計学的有意差は実測値より求めた（対照群に対する差の%ではない）。

[c] + 軽微、++ 軽度

[d] 被験物質の投与に関連性は不明確

NA：該当ぜす

2.6.7.17C　　その他の毒性試験：腎毒性バイオマーカー探索試験

被験物質：フマル酸ジメチル

動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	試験番号	CTD における記載箇所
ラット /Sprague Dawley/ Crl:CD(SD)IGS BR	強制経口	主試験 14 日間＋回復性試験 14 日間	0, 83 (TID), 250 (QD) 50 ゲンタマイシン (QD 皮下)	主試験：雄 5/群 回復性試験：雄 5/群（ゲンタマイシンは 0）	体重：83 mg/kgを超える投与量で体重減少又は体重増加抑制が認められた。250 mg/kg/日の投与により一過性の体重増加抑制が認められた。 尿検査：投与1日目に尿量及び比重の変化が認められ、1回目の250 mg/kg/日の投与により一過性のNAG及びKIM-1の増加が認められた。 病理組織学的検査：主に腎皮質外側2/3の近位尿細管上皮に多巣性の軽微～軽度の核肥大が認められた。	PD08-03	参考 [M4.2.3.7.7-1]

2.6.7.17C　その他の毒性試験：腎毒性探索試験（続き）

動物種/系統	投与方法/(溶媒/投与形態)	投与期間	投与量(mg/kg)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	試験番号	CTDにおける記載箇所
ラット/Sprague Dawley/Crl:CD(SD)IGS BR	強制経口	主試験14週間＋回復性試験4週間	0, 50 BID, 100 (QD), 250 (QD)	主試験：10/性 回復性試験：5/性 サテライト試験：3/性	250 mg/kg/回群の4例（雄2例及び雌2例）が死亡した。 体重及び摂餌量：雌250 mg/kg/回投与で体重及び摂餌量の減少が認められた。 血液学的検査：雄250 mg/kg/回投与により投与99日目に赤血球、ヘモグロビン及びヘマトクリット値の可逆性の減少、並びに網状赤血球、血小板、好中球、白血球、単球及び大無染色細胞の増加が認められた。 剖検：100 mg/kg/日以上の投与で可逆性の前胃粘膜肥厚が認められた。 器官重量：雄100 mg/kg/日以上及び雌250 mg/kg/日で非可逆性の腎重量の増加が認められた。 Ki-67の染色：雄100 mg/kg/日（BID又はQD)投与で用量依存的な腎皮質及び腎髄質外帯に染色の増加が認められた。 尿蛋白マーカー： 尿中アルブミン:腎障害と関連した増加が認められた。 尿中β2M：試料測定中の分析精度が不十分であったため、解析は行わなかった。 尿中KIM-1： 雌に増加が認められた。 尿検査：雄100 mg/kg/日以上の投与で非可逆性の高濃度の尿中アルブミン及び白血球が認められた。 病理組織学的検査：雄50 mg/kg/回以上の投与で非可逆性の慢性進行性腎症（CPN）の高頻度の発生及び尿細管分節性の再生が認められた。50 mg/kg/回以上の投与で近位尿細管上皮細胞の核肥大が高頻度に観察された。	P00012-08-01	[M4.2.3.2-12]
ラット/Sprague Dawley/Crl:CD(SD)IGS BR	強制経口	主試験75日間＋回復性試験39日間	0, 100	主試験:雄10/群 回復性試験：雄10/群	尿：非可逆性の尿中アルブミン 病理組織学的検査：近位曲尿細管上皮細胞の核肥大及び皮質尿細管細胞に重度の硝子滴沈着が高頻度に認められた；CPN。	P00012-09-01	参考 [M4.2.3.7.7-2]

Data source: M4.2.3.7.7.7-1 PD08-03-　、M4.2.3.2-12 P00012-08-01-　、M4.2.3.7.7-2 P00012-09-01-

NAG：N-アセチルグルコサミニダーゼ、TID：1 日 3 回、QD：1 日 1 回、BID：1 日 2 回、CPN：慢性進行性腎症

2.6.7.17D　その他の毒性試験：薬物乱用に関する非臨床試験

試験レポート：Sprague Dawley雄ラットを用いたフマル酸ジメチル（DMF）自己投与試験

被験物質：フマル酸ジメチル

動物種/系統：	ラット/Sprague Dawley/Crl:CD(SD)IGS BR	投与方法：	静脈内投与	試験番号：	P00012-13-07
試験開始週齢：	20 週齢	溶媒/投与形態：	DMF ;20% β-シクロデキストリン	CTD における記載箇所：	[M4.2.3.7.4-1]
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日			GLP 適用：	適
特記事項：	なし				
無毒性量	NA				

投与量 DMF (mg/kg)	0 (対照)	0.625	1.25	2.5
動物数	雄：5	雄：7	雄：8	雄：7
死亡及び瀕死屠殺動物数 [a]	0	1[b]	0	0
一般状態	-	-	-	-
自己投与（投与回数）				
対照薬物トレーニング	20.7	19.1	21.2	19.1
生理食塩液消去	4.1	3.1	3.7	4.8
対照薬物再開 1	19.1**	17.4**	21.4**	18.6**
被験物質置換	4.2	3.1	2.8	3.2
対照薬物再開 2	20.0**	17.5**	19.2**	17.6**
評価例数	5	7	8	7
剖検	-	-	-	-

Data source: M4.2.3.7.4-1 P00012-13-07-Appendix 10-Summary Table
- 特記事項なし
** $p < 0.01$（Dunnett's testによる各生理食塩液消去相との有意差あり）
[a] 薬物再開相No.1で追加動物1例が死亡状態で発見されたが、この動物は被験物質投与群に割り当てられていなかった。
[b] 対照薬物再開相No.2で死亡した状態で発見された。

2.6.7.17E　その他の毒性試験：薬物乱用に関する非臨床試験

試験レポート：Sprague Dawley雄ラットを用いたフマル酸ジメチル（DMF）薬物弁別試験

被験物質：フマル酸ジメチル

動物種/系統：　ラット/ Crl:CD(SD)
試験開始週齢：　18 週齢
初回投与年月日：　[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
特記事項：　なし
無毒性量：　NA

投与方法：　強制経口投与
溶媒/投与形態：　0.8% HPMC

試験番号：　P00012-14-01
CTD における記載箇所：　[M4.2.3.7.4-2]
GLP 適用：　適

被験物質	RC	VC	TA/PC
死亡及び瀕死屠殺動物数	0	0	0
一般状態	-	-	-
薬物弁別（最初の20回のレバー反応率）（%）[a]			
アンフェタミン（PC-G4A）－0.025 mg/kg	96.3	1.7	8.3
アンフェタミン（PC-G5A）－0.1 mg/kg	97.9	3.8	50.8
アンフェタミン（PC-G6A）－1.0 mg/kg	98.3	4.6	97.1
DMF（TA-G7D）－25 mg/kg	97.9	1.3	2.9
DMF（TA-G8D）－100 mg/kg	98.3	2.9	14.2
DMF（TA-G9D）－250 mg/kg	99.6	5.4	11.7

Data source：M4.2.3.7.4-2 P00012-14-01-Appendix 7-Summary Table
- 特記事項なし
[a] 対照薬物のレバーで記録された最初の20回のレバー反応率%を示した。n = 12
RC：対照薬物（コカイン）、VC：溶媒対照（アンフェタミン：生理食塩液、DMF：0.8% HPMC）、TA：被験物質（DMF）、PC：陽性対照（アンフェタミン）