2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6 毒性試験の概要文
2.6.7 毒性試験の概要表

2.6.6　毒性試験の概要文

目次

2.6.6.1 まとめ 3
2.6.6.2 単回投与毒性試験 5
2.6.6.3 反復投与毒性試験 10
2.6.6.4 遺伝毒性試験 13
2.6.6.5 がん原性試験 13
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 13
2.6.6.7 局所刺激性試験 19
2.6.6.8 その他の毒性試験 21
2.6.6.9 考察及び結論 22
2.6.6.10 図表 25
2.6.6.11 参考文献 25

図表目次

表 2.6.6.1 毒性試験プログラム 4
表 2.6.6.2 イヌにおける L-アスパラギナーゼ 5,000 U/kg/日の静脈内投与による嘔吐の発現頻度 11
表 2.6.6.3 ラット, ウサギ及びヒトにおける L-アスパラギナーゼ活性値の AUC (h*U/mL) 及び Cmax (U/mL) 18

略語・用語の定義一覧

略語・用語	省略していない表現又は定義	日本語名称
ALL	Acute lymphoblastic leukemia	急性リンパ性白血病
Er	*Erwinia*	エルウィニア
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
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
ICH	International Conference on Harmonization	日米EU医薬品規制調和国際会議
NZW	New Zealand White	ニュージーランドホワイト（ウサギの系統名）
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
SD	Sprague-Dawley	スプラーグドーリー（ラットの系統名）
U	Unit	単位

2.6.6.1 まとめ

クリサンタスパーゼは，*Erwinia chrysanthemi*（*Er chrysanthemi*）菌から生産されるL-アスパラギナーゼ（EC 3.5.1.1）である．クリサンタスパーゼの毒性評価の主要な試験として，単回投与毒性試験（マウス，ラット，ハムスター及びウサギ），反復投与毒性試験（ウサギ，イヌ及びサル），生殖発生毒性試験（ラット及びウサギ）及び局所刺激性試験（ウサギ）を実施した．またその他の毒性試験として，糖尿病誘発試験（ウサギ及びサル）及び発熱性物質試験（ウサギ）を実施した．

クリサンタスパーゼは米国，欧州及び本邦で急性リンパ性白血病（ALL）の治療薬として承認されている大腸菌由来L-アスパラギナーゼ（本邦での販売名：ロイナーゼ®注用5000及び同注用10000）に類似している．ロイナーゼ®注用5000及び同注用10000は臨床で優れた安全性成績が集積されており，安全性は十分明らかにされている．クリサンタスパーゼの米国での承認に際して米国食品医薬品局（FDA）は，[redacted]と結論した．主要な単回投与及び反復投与毒性試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）施行前の[redacted]年代及び[redacted]年代に実施された試験であるため，GLPに準拠していない．また，今回の製造販売承認申請のための医薬品[redacted]相談（平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日）において，外国で非GLP下で実施された1985年の英国での承認時の毒性試験データパッケージを用いた製造販売承認申請の充足性について，医薬品医療機器総合機構からは「[redacted]」との意見・助言を戴いた．

FDA より[redacted]を要求されたため，生殖発生毒性試験（4 試験）については，日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）及び経済協力開発機構（OECD）ガイドラインに従い GLP に準拠して実施した．局所刺激性試験（2 試験）についても，GLP に準拠した試験を実施したので，これらの毒性試験についても記載した．生殖発生毒性試験及び局所刺激性試験はいずれも，被験物質としてクリサンタスパーゼ（*Er chrysanthemi* 菌由来 L-アスパラギナーゼの凍結乾燥粉末製剤，Erwinase）を使用し，被験物質の名称はクリサンタスパーゼと記載した．

なお，前述したように主要な単回及び反復投与毒性試験については，GLP 施行前に実施された試験であり，また「医薬品毒性試験法ガイドライン」も存在しなかったことより，試験報告書に単回投与毒性試験では概略の致死量が，反復投与毒性試験では無毒性量が記載されていない．しかし，本製造販売承認申請では，試験報告書の結果より評価し，単回投与毒性試験では概略の致死量及び最大非致死量，反復投与毒性試験では無毒性量についても記載した．

毒性試験プログラムを表 2.6.6.1 に示した．

表 2.6.6.1　毒性試験プログラム

試験項目	動物種･系統	投与経路（期間）	試験番号（L-アスパラギナーゼ由来菌種）	GLP適合	記載箇所
単回投与毒性試験	CFLP マウス	腹腔内	11/71/D409 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.1.1
	CFLP マウス	腹腔内	4016/71/174 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.1.2
	CD マウス	腹腔内	031-665-6881 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.1.3
	CFY ラット	静脈内	12/71/D410 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.1.4
	CFY ラット	静脈内	4015/71/173 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.1.5
	Swiss ラット	静脈内	031-665-6881 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.1.3
	ラット（系統は不明）	静脈内	SSARL-DPH-72-05 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.1.6
	ハムスター（系統は不明）	腹腔内	SSARL-DPH-72-05 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.1.6
	NZW ウサギ	静脈内	13/71/D411 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.1.7
	NZW ウサギ	静脈内	4017/71/175 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.1.8
	NZW ウサギ	静脈内	031-665-6881 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.1.3
	ウサギ（系統は不明）	静脈内	SSARL-DPH-72-02 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.2.1
	ウサギ（系統は不明）	静脈内	SSARL-DPH-72-05 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.1.6
反復投与毒性試験	ウサギ（系統は不明）	静脈内（5 日間）	SSARL-DPH-72-02 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.2.1
	ビーグル犬	静脈内（28 日間）	HRC1969 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.2.2
	アカゲザル	静脈内（5 日間）	SSARL-DPH-69-00 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.2.3
	アカゲザル	静脈内（5 日間）	SSARL-DPH-71-2 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.2.4
	アカゲザル	静脈内（5 日間）	SSARL-DPH-71-1 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.2.5
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	SD ラット	筋肉内（雄：交配前 4 週～剖検前日，雌：交配前 2 週～妊娠 6 日）	11-4368 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	適合	4.2.3.5.1.1
胚・胎児発生に関する試験	SD ラット（用量設定試験）	筋肉内（妊娠 6 日～16 日）	11-4369 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.5.2.1

表 2.6.6.1　毒性試験プログラム（続き）

試験項目	動物種･系統	投与経路（期間）	試験番号（L-アスパラギナーゼ由来菌種）	GLP適合	記載箇所
胚・胎児発生に関する試験	SD ラット	筋肉内（妊娠 6 日～16 日）	11-4370 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	適合	4.2.3.5.2.2
	NZW ウサギ（用量設定試験）	筋肉内（妊娠 6 日～18 日）	11-4371 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.5.2.3
	NZW ウサギ	筋肉内（妊娠 6 日～18 日）	11-4372 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	適合	4.2.3.5.2. 4
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	SD ラット	筋肉内（妊娠 6 日～授乳 20 日）	11-4373 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	適合	4.2.3.5.3.1
局所刺激性試験	Kbl:JW ウサギ	筋肉内（単回，2 回）	OD12312 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	適合	4.2.3.6.1
	Kbl:JW ウサギ	筋肉内（単回）	OD13086 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	適合	4.2.3.6.2
その他の毒性試験 糖尿病誘発試験	ウサギ（系統は不明）	静脈内（単回）	SSARL-DPH-70-07 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.7.7.1
	アカゲザル	静脈内（5 日間）	SSARL-DPH-70-07 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.7.7.1
発熱性試験	ウサギ（系統は不明）	静脈内（単回）	HRC 97 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.7.7.2
	NZW ウサギ	静脈内（単回）	031-665-6881 (*Er chrysanthemi* NCPPB1066)	非適合	4.2.3.1.3

SD：Sprague-Dawley，NZW：New Zealand White，Kbl:JW：日本白色種

2.6.6.2　単回投与毒性試験

2.6.6.2.1　マウス

2.6.6.2.1.1　マウスの単回腹腔内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.1.1）

*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼのマウスを用いた単回腹腔内投与毒性試験を実施した（11/71/D409試験）．CFLP系マウス（雌雄各10例/群）に5%デキストロースを含む生理食塩液に溶解した*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの0，200,000，500,000及び1,000,000 U/kgを単回腹腔内投与し，投与後21日間観察した．

1,000,000 U/kgでは7例（雄：4，雌：3），500,000 U/kgでは2例（雄：2）が，投与後3から5日に死亡した．死亡前の一般状態として嗜眠がみられた．500,000及び1,000,000 U/kgでは投与後1週間に体重減少がみられたが，2週以降は対照群と同様の体重変化がみられた．200,000 U/kgでは体重の変化はみられなかった．死亡例では硬膜下出血が観察された．生存例では，剖検所見はみられなかった．

本試験における概略の致死量は 500,000 U/kg，最大非致死量は 200,000 U/kg と考えられた．

2.6.6.2.1.2　マウスの単回腹腔内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.1.2）

*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼのマウスを用いた単回腹腔内投与毒性試験を実施した（4016/71/174試験）．CFLP系マウス（雌雄各10例/群）に生理食塩液に溶解した*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの0，200,000，500,000及び1,000,000 U/kgを単回腹腔内投与し，投与後21日間観察した．早期の死亡例のうち各群最大3例について，肺，肝臓，膵臓，腎臓，副腎及び脳の病理組織学的検査を実施した．

1,000,000 U/kgでは6例（雄：2，雌：4），500,000 U/kgでは1例（雄：1）が，投与後2から7日に死亡した．死亡前の一般状態として排尿がみられた．対照群では1例（雄：1）が死亡した．500,000及び1,000,000 U/kgでは一過性の体重減少がみられたが，200,000 U/kgでは体重の変化はみられなかった．1,000,000 U/kgの死亡例のうち2例では硬膜下出血が観察され，数例で腸管の漿膜にうっ血及び胃の膨張も観察された．病理組織学的検査に被験物質投与による変化は観察されなかった．

本試験における概略の致死量は500,000 U/kg，最大非致死量は200,000 U/kgと考えられた．

2.6.6.2.1.3　マウスの単回腹腔内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.1.3）

本試験（031-665-6881試験）ではマウス，ラット及びウサギを用いた単回投与毒性試験を実施した．本項ではマウスを用いた試験についてのみ記載し，ラット及びウサギについてはそれぞれ，各動物種の項（2.6.6.2.2.3項，2.6.6.2.4.3項）に記載した．

CD系マウス（雌雄各10例/群）に*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの200,000，500,000及び1,000,000 U/kgを単回腹腔内投与し，投与後21日間観察した．

1,000,000 U/kgでは2例（雄：1，雌：1），500,000 U/kgでは2例（雌：2）が，投与後2から4日に死亡した．200,000 U/kg以上で雌雄ともに鎮静及び排尿，500,000 U/kg以上の雌では立毛，痙攣，横転（500,000 U/kgのみ）及び眼瞼下垂，1,000,000 U/kgでは雄で立毛及び眼瞼下垂，雌雄ともに下痢がみられた．体重の減少傾向がみられたが，明確な変化ではなかった．

本試験における概略の致死量は500,000 U/kg，最大非致死量は200,000 U/kgと考えられた．

2.6.6.2.2　ラット

2.6.6.2.2.1　ラットの単回静脈内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.1.4）

Erwinia 菌由来 L-アスパラギナーゼのラットを用いた単回静脈内投与毒性試験を実施した（12/71/D410 試験）．CFY 系ラット（雌雄各 5 例/群）に 5%デキストロースを含む生理食塩液に溶解した *Erwinia* 菌由来 L-アスパラギナーゼの 0，200,000，500,000 及び 1,000,000 U/kg を単回静脈内投与し，投与後 21 日間観察した．

1,000,000 U/kgでは10例全例，500,000 U/kgでは雄5例全例が，投与後21時間以内に死亡した．500,000 U/kgの雌及び200,000 U/kgでは雌雄ともに死亡例はみられなかった．死亡前に

振戦，歩行失調，及び筋肉の協調性の消失がみられた．200,000（雌雄）及び500,000 （雌）U/kgでは体重増加の抑制がみられたが，投与後3週では対照群と同程度であった．生存例では，剖検所見はみられなかった．

本試験における概略の致死量は 500,000 U/kg，最大非致死量は 200,000 U/kg と考えられた．

2.6.6.2.2.2 ラットの単回静脈内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.1.5）

*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼのラットを用いた単回静脈内投与毒性試験を実施した（4015/71/173試験）．CFY系ラット（雌雄各5例/群）に生理食塩液に溶解した*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの0, 200,000，500,000及び1,000,000 U/kgを単回静脈内投与し，投与後21日間観察した．早期に死亡した各群3例について，肺，肝臓，脾臓，膵臓，腎臓，副腎及び脳の病理組織学的検査を実施した．

500,000及び1,000,000 U/kgではともに10例全例，200,000 U/kgでは4例（雄：3，雌：1）が，投与後25から79時間に死亡した．死亡前に嗜眠，振戦，立毛，排尿及び不規則呼吸がみられた．200,000 U/kgでは軽度の脱毛がみられた．早期に死亡した例では硬膜下出血がみられた．死亡例の病理組織学的検査では腎尿細管の拡張及び脾臓のリンパ系細胞の枯渇がみられた．

本試験における概略の致死量は200,000 U/kg，最大非致死量は200,000 U/kg未満と考えられた．

2.6.6.2.2.3 ラットの単回静脈内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.1.3）

本試験（031-665-6881試験）ではマウス，ラット及びウサギを用いた単回投与毒性試験を実施した．本項ではラットを用いた試験についてのみ記載し，マウス及びウサギについてはそれぞれ，各動物種の項（2.6.6.2.1.3項，2.6.6.2.4.3項）に記載した．

Swiss系ラット（雌雄各4～5例/群）に*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの200,000, 500,000及び1,000,000 U/kgを単回静脈内投与し，投与後21日間観察した．

1,000,000 U/kgでは9例全例（雄：4，雌：5），500,000 U/kgでは3例（雄：1，雌：2，雄1例は身体的変形による苦痛のため，投与後12日に試験より除外）及び200,000 U/kgでは2例（雌：2）が死亡した．死亡前に200,000 U/kg以上では鎮静，横転，異常分泌，眼瞼下垂，下痢及び排尿がみられた．500,000 U/kg以上では立毛がみられた．

本試験における概略の致死量は200,000 U/kg，最大非致死量は200,000 U/kg未満と考えられた．

2.6.6.2.2.4　ラットの単回静脈内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.1.6）

本試験（SSARL-DPH-72-05試験）ではラット，ハムスター及びウサギを用いた単回投与毒性試験を実施した．本項ではラットを用いた試験についてのみ記載し，ハムスター及びウサギについてはそれぞれ，各動物種の項（2.6.6.2.3.1項，2.6.6.2.4.5項）に記載した．

ラット（系統は不明，雄3例/群）に生理食塩液に溶解した*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの0（マンニトール添加生理食塩液）及び5,000 U/kgを単回静脈内投与し，投与後2日間観察した．

死亡例及び体重の変化はみられなかった．血漿中カルシウム及びリンに変化はみられなかった．甲状腺及び副甲状腺の病理組織学的検査で変化はみられなかった．

本試験における概略の致死量は5,000 U/kgを超える量，最大非致死量は5,000 U/kgと考えられた．

2.6.6.2.3　ハムスター

2.6.6.2.3.1　ハムスターの単回腹腔内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.1.6）

本試験（SSARL-DPH-72-05試験）ではラット，ハムスター及びウサギを用いた単回投与毒性試験を実施した．本項ではハムスターを用いた試験についてのみ記載し，ラット及びウサギについてはそれぞれ，各動物種の項（2.6.6.2.2.4項，2.6.6.2.4.5項）に記載した．

ハムスター（系統は不明，雄3例/群）に生理食塩液に溶解した*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの0（マンニトール添加生理食塩液）及び5,000 U/kgを単回腹腔内投与し，投与後2日間観察した．

死亡例及び体重の変化はみられなかった．血漿中カルシウム及びリン濃度に変化はみられなかった．甲状腺の病理組織学的検査で変化はみられなかった．5,000 U/kg群では副甲状腺に好酸性細胞の軽度の増加（2例）がみられたが，血漿中カルシウム及びリン濃度に変化はみられなかったことより毒性学的意義はないと考えられた．

本試験における概略の致死量は5,000 U/kgを超える量，最大非致死量は5,000 U/kgと考えられた．

2.6.6.2.4　ウサギ

2.6.6.2.4.1　ウサギの単回静脈内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.1.7）

*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼのウサギを用いた単回静脈内投与毒性試験を実施した（13/71/D411試験）．New Zealand White系ウサギ（雌雄各3例/群）に5%デキストロースを含む生理食塩液に溶解した*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの0，5,000，10,000及び20,000 U/kgを単回静脈内投与し，投与後21日間観察した．

10,000及び20,000 U/kgでは，ともに5例（雄：2例，雌：3例），5,000 U/kgでは4例（雄：2

例，雌：2例）が投与後18日までに死亡した．死亡前に食欲不振及び歩行失調がみられた．5,000 U/kg以上で体重増加抑制がみられたが，5,000 U/kgでは投与後2週以降は対照群と同様の変化がみられた．剖検では，死亡例で，肺のうっ血及び腎臓の淡色がみられ，死亡した2例（投与量は不明）では硬膜下出血がみられたが，生存例では異常はみられなかった．

本試験における概略の致死量は5,000 U/kg，最大非致死量は5,000 U/kg未満と考えられた．

2.6.6.2.4.2　ウサギの単回静脈内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.1.8）

*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼのウサギを用いた単回静脈内投与毒性試験を実施した（4017/71/175試験）．NZW系ウサギ（雌雄各3例/群）に生理食塩液に溶解した*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの 0，2,000，5,000及び10,000 U/kgを単回静脈内投与し，投与後21日間観察した．死亡例の各群1～3例の肺，肝臓，脾臓，腎臓，副腎及び脳について，病理組織学的検査を実施した．

0 U/kgでは1例（雌：1），2,000 U/kgでは2例（雄：2），5,000 U/kgでは4例（雄：3，雌：1），10,000 U/kgでは5例（雄：2，雌：3）が死亡した．死亡前に食欲不振，歩行失調及び体重減少がみられ，投与後4から21日に死亡した．2,000 U/kg以上で体重減少がみられた．剖検では10,000 U/kgの死亡例2例で硬膜下出血がみられた．病理組織学的検査では2,000 U/kg以上で腎尿細管の拡張がみられた．

本試験における概略の致死量は2,000 U/kg，最大非致死量は2,000 U/kg未満と考えられた．

2.6.6.2.4.3　ウサギの単回静脈内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.1.3）

本試験（031-665-6881試験）ではマウス，ラット及びウサギを用いた単回投与毒性試験を実施した．本項ではウサギを用いた試験についてのみ記載し，マウス及びラットについてはそれぞれ，各動物種の項（2.6.6.2.1.3項，2.6.6.2.2.3項）に前述した．ウサギを用いた単回投与毒性試験において実施した発熱性物質試験については，2.6.6.8.7.2.2項に記載した．

NZW系ウサギ（雌雄各6例/群）に*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの4,000，8,000及び12,000 U/kgを単回静脈内投与し，投与後21日間観察した．

4,000 U/kgでは3例（雄：1，雌：2），8,000 U/kgでは7例（雄：4，雌：3），12,000 U/kgでは8例（雄：4，雌：4）が投与後2から12日に死亡した．4,000 U/kg以上で下痢がみられた．

本試験における概略の致死量は4,000 U/kg，最大非致死量は4,000 U/kg未満と考えられた．

2.6.6.2.4.4　ウサギの単回静脈内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.2.1）

本試験（SSARL-DPH-72-02試験）ではウサギを用いた単回及び5日間反復静脈内毒性試験を実施した．本項では単回投与毒性試験についてのみ記載し，反復投与毒性試験については反復投与毒性試験の項（2.6.6.3.1項）に記載した．

NZW系ウサギ（雌雄各2～3例/群）に生理食塩液に溶解した*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの1,000，2,000及び5,000 U/kgを単回静脈内投与し，投与後35日間観察した．

2,000 U/kgでは2例（雄：1/2例，雌：1/3例），5,000 U/kgでは5例（雄：2/2例，雌：3/3例）が投与後1から2日に死亡した．1,000及び2,000 U/kgでは肝細胞の空胞化，2,000 U/kgでは血糖値の増加がみられた．5,000 U/kgでは体重減少，筋力低下，歩行失調，呼吸困難，振戦及び痙攣がみられた他，血中カルシウムの減少，リンの増加及び副甲状腺の好酸性細胞の増加がみられた．

本試験における概略の致死量は2,000 U/kg，最大非致死量は1,000 U/kgと考えられた．

2.6.6.2.4.5　ウサギの単回静脈内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.1.6）

本試験（SSARL-DPH-72-05試験）ではラット，ハムスター及びウサギを用いた単回投与毒性試験を実施した．本項ではウサギを用いた試験についてのみ記載し，ラット及びハムスターについてはそれぞれ，各動物種の項（2.6.6.2.2.4項，2.6.6.2.3.1項）に記載した．

ウサギ（系統は不明，雄2例，雌1例/群）に生理食塩液に溶解した*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの0（マンニトール生理食塩液）及び5,000 U/kgを単回静脈内投与し，投与後2日間観察した．

死亡例はなく，体重に変化はみられなかった．血漿中カルシウム及びリン濃度に変化はみられなかった．甲状腺の病理組織学的検査で変化はみられなかった．5,000 U/kgでは副甲状腺に軽度の好酸性細胞の増加（1/2例）がみられたが，血漿中カルシウム及びリン濃度に変化はみられなかったことより毒性学的意義はないと考えられた．

本試験における概略の致死量は5,000 U/kgを超える量，最大非致死量は5,000 U/kgと考えられた．

2.6.6.3　反復投与毒性試験

2.6.6.3.1　ウサギの 5 日間反復静脈内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.2.1）

本試験（SSARL-DPH-72-02試験）ではウサギを用いた単回及び5日間反復静脈内投与毒性試験を実施した．本項では反復投与毒性試験についてのみ記載し，単回投与毒性試験については単回投与毒性試験の項（2.6.6.2.4.4項）に記載した．

ウサギ（系統は不明，雄3例，雌2例/群）に生理食塩液に溶解した*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの1,000 U/kg/日を1日1回5日間反復静脈内投与し，投与終了後さらに30日間観察した．本試験では対照群は設定しなかった．観察項目として，一般状態，体重，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検及び病理組織学的検査を実施した．

投与12日（最終投与後7日）に，1,000 U/kg/日の1例に著しい体重減少（-34.6%）がみられ，その動物は安楽死させた．この動物の剖検前の検査では血糖，血中アラニンアミノトランスフェラーゼ及び血中尿素窒素の増加，並びに尿糖等がみられ，病理組織学的検査で

は肝臓に軽微な変化（肝細胞空胞化）が観察された．生存例では，投与期間終了後に血糖の増加及び尿糖がみられた以外に異常はみられなかった．

本試験における無毒性量は1,000 U/kg/日未満と考えられた．

2.6.6.3.2　イヌの 28 日間反復静脈内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.2.2）

*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼのイヌを用いた28日間反復静脈内投与毒性試験を実施した（HRC 1969試験）．ビーグル犬（雌雄各2例）にL-アスパラギナーゼの5,000 U/kg/日を1日1回28日間反復静脈内投与した．本試験では対照群は設定しなかった．観察項目として，一般状態，体重，摂餌量，剖検及び病理組織学的検査（病理組織学的検査は雌雄各1例）を実施した．血液学的検査，血液生化学的検査，心電図検査及び尿検査は実施しなかった．

死亡例はみられなかった．投与1週では，嘔吐（投与後15～60分）が頻繁に観察されたが，投与2週以降は嘔吐の発現頻度は減少した（表2.6.6.）．嘔吐がみられた例では投与後3時間に鎮静がみられた．投与1週では，摂餌量の減少及び体重の減少がみられた．投与期間終了時に削痩，被毛の乾燥がみられた．病理組織学的検査では変化はみられなかった．

本試験における無毒性量は5,000 U/kg/日未満と考えられた．

表 2.6.6.2　イヌにおける L-アスパラギナーゼ 5,000 U/kg/日の静脈内投与による嘔吐の発現頻度

	嘔吐の発現頻度（嘔吐が認められた日数／観察した日数）				
個体番号	53M	54F	55M	56F	合計
投与1週	7/7	3/7	6/7	7/7	23/28
投与2週	0/7	1/7	3/7	2/7	6/28
投与3週	1/7	2/7	0/7	3/7	6/28
投与4週	0/7	0/7	1/7	2/7	3/28
合計	8/28	6/28	10/28	14/28	38/112

M：雄，F：雌

2.6.6.3.3　サルの 5 日間反復静脈内投与毒性試験

（添付資料：4.2.3.2.3）

*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼのサルを用いた5日間反復静脈内投与毒性試験を実施した（SSARL-DPH-69-00試験）．アカゲザル（雄2例）に*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの1,000 U/kg/日を1日1回5日間反復静脈内投与し，最終投与後4日及び14日に各1例ずつ剖検した．対照群（雌1例）には生理食塩液を同様に投与し，最終投与後4日に剖検した．観察項目として，一般状態，体重，直腸温，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，器官重量測定，剖検及び病理組織学的検査を実施した．

病理組織学的検査を含むいずれの検査項目においても被験物質投与に関連した変化はみ

られなかった.

本試験における無毒性量は1,000 U/kg/日と考えられた.

2.6.6.3.4 サルの 5 日間反復静脈内投与毒性試験

(添付資料：4.2.3.2.4)

*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼのサルを用いた5日間反復静脈内投与毒性試験を実施した（SSARL-DPH-71-2試験）. アカゲザル（雄1例）に*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの1,000 U/kg/日を1日1回5日間反復静脈内投与し，最終投与後4日に剖検した. 本試験では対照群は設定しなかった. 観察項目として，一般状態，体重，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，器官重量測定，剖検及び病理組織学的検査を実施した.

投与3日に一過性の摂餌量の減少及びそれに伴った体重減少（-4.5%）がみられた. 摂餌量及び体重の減少は投与5日には回復した. 血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査及び器官重量には，被験物質投与に関連した変化はみられなかった. 病理組織学的検査では肝小葉中間帯に脂質を伴った軽度の細胞質空胞化がみられた.

本試験における無毒性量は1,000 U/kg/日未満と考えられた.

2.6.6.3.5 サルの 5 日間反復静脈内投与毒性試験

(添付資料：4.2.3.2.5)

*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼのサルを用いた5日間反復静脈内投与毒性試験を実施した（SSARL-DPH-71-1試験）. アカゲザルに*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの0（雄2例），1,000（雌3例），2,000（雌1例）及び10,000（雄1例）U/kg/日を1日1回5日間反復静脈内投与した. さらに，アカゲザル（雄2例，雌1例）に大腸菌由来L-アスパラギナーゼの1,000 U/kg/日を1日1回5日間反復静脈内投与した. 観察項目として，一般状態，体重，血液学的検査，血液生化学的検査及び尿検査を投与5日に実施し，投与9日（最終投与後4日）に剖検し，器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した. 投与0日（投与開始前），投与2及び5日にブドウ糖負荷試験を実施した. さらに肝臓中物質（L-アスパラギン酸，L-アスパラギン，L-グルタミン，アデノシン三リン酸，総脂質，コレステロール，トリグリセリド及びリン脂質）に対する作用を評価した.

死亡例はみられなかった. 試験期間中の頻回採血により，軽度の貧血がみられた. 体重，血液生化学的検査及び尿検査においては，被験物質投与に関連した変化はみられなかった. 全投与群で肝細胞空胞化がみられたが，*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの10,000 U/kg/日群の雄及び大腸菌由来L-アスパラギナーゼの1,000 U/kg/日群で最も顕著であった. *Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの10,000 U/kg/日群で一過性の白血球の減少がみられた. 肝臓中物質に対する影響はみられなかった. 特に，肝臓中アスパラギン濃度に影響はみられなかった. 血中アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ，アラニンアミノトランスフェラーゼ及びビリルビンに対する影響はみられなかったので，肝細胞空胞化の毒性学的な意義は明確ではなかった.

10,000 U/kg/日で肝細胞空胞化がみられたことより，本試験における無毒性量は2,000 U/kg/日と考えられた．

2.6.6.4　遺伝毒性試験

クリサンタスパーゼはバイオ医薬品であり，ICH ガイドライン（S6）を参考にして，遺伝毒性試験は実施しなかった．従来の医薬品について通常実施されてきた遺伝毒性試験の範囲と種類は，バイオ医薬品に対しては適切なものではなく必要とされない．

2.6.6.5　がん原性試験

クリサンタスパーゼはバイオ医薬品であり，ICH ガイドライン（S6）を参考にして，がん原性試験は実施しなかった．従来の医薬品について通常実施されてきたがん原性試験の範囲と種類は，バイオ医薬品に対しては適切なものではなく必要とされない．

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験における投与方法及び投与経路は，クリサンタスパーゼの今回申請する臨床用法・用量案が「他の抗悪性腫瘍剤との併用において，通常，1 日 1 回 体表面積 1 m^2 あたり 25,000 U を週 3 回，筋肉内投与する．」ことに準じて，1 日おきに 1 日 1 回筋肉内投与とした．

2.6.6.6.1　ラットの筋肉内投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

（添付資料：4.2.3.5.1.1）

クリサンタスパーゼのラットを用いた筋肉内投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験を実施した（11-4368 試験）．SD 系ラット（雌雄各 22 例/群）にクリサンタスパーゼの 0（生理食塩液），500，1,000 及び 2,000 U/kg/日を 1 日おきに 1 日 1 回，筋肉内投与した．投与容量は全群 0.5 mL/kg とした．雄は交配前 4 週間，交配期間及び剖検前日（交配期間後 25 日）まで投与し，安楽死させ，剖検した．雌は交配前 2 週間，交配期間及び妊娠 6 日まで投与し，妊娠 14 日に安楽死させ，帝王切開により黄体及び着床部位を計数し，剖検した． 評価パラメータは，生死，一般状態，体重，摂餌量，交尾行動，受胎能，器官重量，剖検（雌雄），精子検査及び病理組織学的検査（精巣及び精巣上体）とした．トキシコキネティクスのため，投与 1 及び 71 日（投与最終日）に雌はサテライト群（対照群：3 例/群，投薬群 2～4 群：9 例/群）より，雄は試験群より採血した．また，被験物質に対する中和抗体測定のために，投与開始前及び剖検時（投与 72 日）に雌はサテライト群より，雄は試験群より採血した．

2,000 U/kg/日まで雌雄ともに忍容性は良好であった．一般状態，体重，交尾行動及び受胎能又は性周期，並びに剖検所見に被験物質投与に関連した変化はみられなかった．雄では 1,000 U/kg/日以上で精巣重量及び精巣上体重量の有意な増加，並びに精巣内精子数の有意な減少がみられたが，受胎能に影響はなく，精子運動性及び精子形態に影響はみられな

かった．さらに精巣及び精巣上体の病理組織学的検査で変化はみられなかった．帝王切開においても黄体数，着床数及び生存胚数に影響はみられなかった．

トキシコキネティクスでは，投与 1 日で全体的に投与量に応じた又はそれより大きい全身曝露（L-アスパラギナーゼ活性値の $AUC_{0\text{-}12h}$ 及び C_{max}）の増加がみられた．投与 71 日では 500 及び 1,000 U/kg/日で数例に，2,000 U/kg/日で雌全例，雄 7/12 例に曝露が確認された．全身曝露は全体的に投与 71 日では投与 1 日に比べ低く，また，雌雄差の可能性が示唆された．投与 72 日では被験物質に対する中和抗体の存在が確認され，投与 71 日でみられた全身曝露の低下と一致していた．

結論として，雌雄ともに一般毒性及び受胎能に対する無毒性量はいずれも 2,000 U/kg/日と考えられた．

2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1　ラットの筋肉内投与による胚・胎児発生に関する用量設定試験

（添付資料：4.2.3.5.2.1）

クリサンタスパーゼのラットにおける筋肉内投与による胚・胎児発生に関する試験のための用量設定試験を実施した（11-4369 試験）．SD 系妊娠ラット（8 例/群）にクリサンタスパーゼの 0（生理食塩液），100，300 及び 1,000 U/kg/日を 1 日おきに 1 日 1 回，妊娠 6 から 16 日まで筋肉内投与した．投与量は全群 0.5 mL/kg とした．試験期間中の評価パラメータは，生死，一般状態，体重及び摂餌量とした．全例を妊娠 20 日に剖検し，黄体及び着床を計数し，子宮重量，胎児重量（生存胎児のみ），性別及び外表異常を検査した．胎盤を検査し，重量を測定した．トキシコキネティクスのためのサテライト群（対照群：3 例/群，投薬群 2～4 群：9 例/群）も同様に投与し，妊娠 6 及び 16 日に採血した．

母動物の一般毒性及び生殖能，胚・胎児発生に対するいずれの検査においても，クリサンタスパーゼの1,000 U/kg/日まで，被験物質投与に関連した毒性はみられなかった．

トキシコキネティクスでは，1,000 U/kg/日の妊娠6日における血清中濃度（L-アスパラギナーゼ活性値のC_{max}）を除いて，全体的に血清中濃度は低く，血清中濃度が測定できたのは100及び300 U/kg/日では数例のみであった．

結論として，クリサンタスパーゼの 1,000 U/kg/日までの投与では，母動物及び胚・胎児発生に対する毒性はみられなかった．

2.6.6.6.2.2　ラットの筋肉内投与による胚・胎児発生に関する試験

（添付資料：4.2.3.5.2.2）

クリサンタスパーゼのラットにおける筋肉内投与による胚・胎児発生に関する試験を実施した（11-4370 試験）． SD 系妊娠ラット（21～22 例/群）にクリサンタスパーゼの 0（生理食塩液），500，1,000 及び 2,000 U/kg/日を 1 日おきに 1 日 1 回，妊娠 6 から 16 日まで筋肉内投与した．投与量は全群 0.5 mL/kg とした．試験期間中の評価パラメータは，生死，一般状態，体重及び摂餌量とした．全例を妊娠 20 日に剖検し，黄体及び着床を計数し，子

宮重量，胎児重量（生存胎児のみ），性別，外表異常，内臓異常，骨格異常検査及び骨化状態を検査した．胎盤を検査し，重量を測定した．トキシコキネティクスのためのサテライト群（対照群：3 例/群，投薬群 2～4 群：9 例/群）も同様に投与し，妊娠 6 及び 16 日に採血し，さらに被験物質に対する中和抗体測定のために投与開始前及び剖検時（妊娠 20 日）に採血した．サテライト群は全例，最終採血後，妊娠状態を確認した．

母動物では死亡はなく，一般状態及び剖検所見に変化はみられなかった．2,000 U/kg/日では妊娠6から18日に被験物質投与に関連した体重，体重増加量及び摂餌量の減少がみられた．黄体数，着床数及び子宮重量に被験物質投与による影響はみられなかった．胎児では胎児重量，性別，外表観察，骨格観察及び骨化状態に影響はみられなかったが，2,000 U/kg/日で胸腺の頸部残留の軽度の増加がみられた．

トキシコキネティクスでは，妊娠6日では全体的に投与量に応じた全身曝露（L-アスパラギナーゼ活性値の$AUC_{0\text{-}12h}$及びC_{max}）の増加がみられたが，妊娠16日では1,000及び2,000 U/kg/日の数例のみで全身曝露が確認された．妊娠20日には被験物質に対する中和抗体の存在が確認され，妊娠16日でみられた全身曝露の低下と一致していた．

結論として，母動物の一般毒性に対する無毒性量は体重，体重増加量及び摂餌量の減少がみられたことより1,000 U/kg/日，生殖能に対する無毒性量は2,000 U/kg/日，胚・胎児発生に対する無毒性量は2,000 U/kg/日で胸腺の頸部残留の軽度の増加がみられたことより1,000 U/kg/日と考えられた．

2.6.6.6.2.3　ウサギの筋肉内投与による胚・胎児発生関する用量設定試験

（添付資料：4.2.3.5.2.3）

クリサンタスパーゼのウサギにおける筋肉内投与による胚・胎児発生に関する試験のための用量設定試験を実施した（11-4371 試験）． NZW 系妊娠ウサギ（6～8 例/群）にクリサンタスパーゼの 0（生理食塩液），25，50 及び 100 U/kg/日を 1 日おきに 1 日 1 回，妊娠 6 から 18 日まで筋肉内投与した．投与容量は全群 0.1 mL/kg とした．100 U/kg/日では妊娠 11 日に著しい摂餌量及び体重の減少がみられたため，妊娠 12 日に全例，安楽殺した．その他の全生存例は妊娠 29 日に安楽死させ，帝王切開後，剖検した．試験期間中の評価パラメータは，生死，一般状態，体重及び摂餌量とした．剖検後全生存例について，黄体及び着床を計数し，子宮重量，胎児重量（生存胎児のみ）及び外表異常を検査した．胎盤を検査し，重量を測定した．サテライト動物（3 例/群）も同様に投与し，妊娠 6 及び 18 日にトキシコキネティクスのための採血を実施した．

母動物では，100 U/kg/日で体重，体重増加量及び摂餌量の著しい減少並びに糞便量の減少，50 U/kg/日で体重，体重増加量及び摂餌量の軽度な減少がみられた．25 U/kg/日以上で着床前死亡率の増加及び生存胎児数の減少がみられ，25 及び 50 U/kg/日で，子宮重量及び 1 腹あたりの胎児重量の減少等がみられ，50 U/kg/日では吸収胚数及び着床後死亡率の増加がみられた．

トキシコキネティクスでは，25 U/kg/日の妊娠18日の2例を除き，妊娠6及び18日で全身曝

露（L-アスパラギナーゼ活性値の$AUC_{0\text{-}48h}$及びC_{max}）が確認された．妊娠6日では投与量に応じた全身曝露の増加がみられたが，妊娠18日では，投与量に応じた全身曝露の増加はみられなかった．100 U/kg/日では早期に安楽殺したため，妊娠18日のデータは得られなかった．

結論として，用量設定試験における母動物の最大耐量は 50 U/kg/日と考えられ，重要な試験における高投与量は 50 U/kg/日未満，低投与量は 25 U/kg/日未満と考えられた．

2.6.6.6.2.4　ウサギの筋肉内投与による胚・胎児発生に関する試験

（添付資料：4.2.3.5.2.4）

クリサンタスパーゼのウサギにおける筋肉内投与による胚・胎児発生に関する試験を実施した（11-4372 試験）．NZW 系妊娠ウサギ（18～21 例/群）にクリサンタスパーゼの 0（生理食塩液），10，25 及び 40 U/kg/日を 1 日おきに 1 日 1 回，妊娠 6 から 18 日まで筋肉内投与した．投与量は全群 0.1 mL/kg とした．全動物を妊娠 29 日に安楽死させ，帝王切開後，剖検した．試験期間中の評価パラメータは，生死，一般状態，体重及び摂餌量とした．剖検後全生存例について，黄体及び着床を計数し，子宮重量，胎児重量（生存胎児のみ），性別，外表異常，内臓異常，骨格異常検査及び骨化状態を検査した．胎盤を検査し，重量を測定した．サテライト動物（3 例/群）も同様に投与し，トキシコキネティクスのための採血は妊娠 6 及び 18 日，被験物質に対する中和抗体測定のための採血は投与開始前及び剖検時（妊娠 29 日）に実施した．

母動物では死亡はなく，一般状態及び剖検所見に変化はみられなかった．40 U/kg/日では投与期間中，被験物質投与に関連した体重の減少及び摂餌量の減少がみられ，25 及び 40 U/kg/日では妊娠 6 から 20 日までの体重増加抑制がみられたが，投与期間終了後は体重の増加がみられ，妊娠 29 日では対照群との差はみられなかった．さらに，10 U/kg/日以上で吸収胚数及び着床後死亡数の増加及び生存胎児数の減少がみられた．胎児では，10 U/kg/日以上で妊娠子宮重量及び 1 腹あたりの胎児重量の減少，内臓異常（鎖骨下動脈の過剰起始，副肺葉の欠損）及び骨化遅延がみられ，40 U/kg/日では脾臓の小型化及び腎欠損がみられた．

トキシコキネティクスでは，妊娠 6 及び 18 日ともに全体的に投与量に応じた全身曝露（L-アスパラギナーゼ活性値の $AUC_{0\text{-}48h}$ 及び C_{max}）の増加がみられ，妊娠 18 日では妊娠 6 日と比較して低かった．妊娠 29 日に被験物質に対する中和抗体の存在が確認され，妊娠 18 日における全身曝露の低下と一致していた．

結論として，母動物の一般毒性に対する無毒性量は，25 U/kg/日以上で体重増加抑制がみられたことより 10 U/kg/日，母動物の生殖能に対する無毒性量は 10 U/kg/日以上で吸収胚数及び着床後死亡数の増加，並びに生存胎児数の減少がみられたことより，10 U/kg/日未満と考えられた．胚・胎児発生に対する無毒性量は，10 U/kg/日以上で妊娠子宮重量及び 1 腹あたりの胎児重量の減少，並びに胎児の内臓異常及び骨化遅延がみられたため，10 U/kg/日未満であった．

2.6.6.6.3　ラットの筋肉内投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

（添付資料：4.2.3.5.3.1）

クリサンタスパーゼのラットを用いた筋肉内投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を実施した（11-4373 試験）．SD 系妊娠ラット（21～22 例/群）にクリサンタスパーゼの 0（生理食塩液），600，1,200 及び 2,400 U/kg/日を 1 日おきに 1 日 1 回筋肉内投与した．投与容量は全群 0.5 mL/kg とした．妊娠 6 日から授乳 20 日まで投与し，授乳 21 日に安楽死させ，剖検した．評価パラメータは，母動物では，生死，一般状態，体重，摂餌量，同腹児データ及び剖検所見とした．離乳時に，1 腹につき雌雄各 1 例の出生児を無作為に選抜し，生存率，一般状態，体重，離乳後の摂餌量，離乳前の機能発達（正向反射，空中正向反射，瞳孔反射，聴覚性驚愕反応），離乳後の機能発達（オープンフィールド観察，自発運動，学習・記憶試験），性成熟，受胎能，剖検及び器官重量について評価した．

母動物では，妊娠期間及び授乳期間ともに，2,400 U/kg/日まで忍容性は良好で，一般状態，体重及び摂餌量に影響はみられなかった．出生前及び出生後では，2,400 U/kg/日まで妊娠，分娩及び授乳に関する検査並びに F_1 出生児の死亡率に影響はみられなかった．F_1 出生児では雌雄ともに生存率，一般状態，体重，摂餌量（離乳後），機能発達，性成熟，交尾行動，受胎能，剖検及び器官重量に影響はみられなかった．

結論として，母動物及び F_1 出生児に対する無毒性量はいずれも 2,400 U/kg/日と考えられた．

2.6.6.6.4　生殖発生毒性試験におけるトキシコキネティクス

各生殖発生毒性試験における L-アスパラギナーゼ活性値の AUC, C_{max} と OP-01-001 試験における L-アスパラギナーゼ活性値の AUC，C_{max} 並びに，臨床使用時（OP-01-001 試験）における L-アスパラギナーゼ活性値の AUC 及び C_{max} に対する比を表 2.6.6.3 にまとめた．

表 2.6.6.3　ラット，ウサギ及びヒトにおける L-アスパラギナーゼ活性値の AUC（h*U/mL）及び Cmax（U/mL）

投与量 (U/kg)	ラット（Fertility） 11-4368 試験				ラット（EFD） 11-4369 試験		ラット（EFD） 11-4370 試験		ウサギ（EFD） 11-4371 試験		ウサギ（EFD） 11-4372 試験		ヒト OP-01-001 試験			
	Male		Female		Female		Female		Female		Female		Male, Female			
	$AUC_{0\text{-}12h}$	C_{max}	$AUC_{0\text{-}12h}$	C_{max}	$AUC_{0\text{-}48h}$	C_{max}	$AUC_{0\text{-}12h}$	C_{max}	$AUC_{0\text{-}48h}$	C_{max}	$AUC_{0\text{-}48h}$	C_{max}	$AUC_{0\text{-}12h}$	$AUC_{0\text{-}24h}$	$AUC_{0\text{-}48h}$	C_{max}
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2.09 (0.03)	0.0568 (0.02)	—	—	—	—
25	—	—	—	—	—	—	—	—	4.20 (0.06)	0.113 (0.04)	5.14 (0.07)	0.136 (0.04)	—	—	—	—
40	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6.02 (0.08)	0.181 (0.06)	—	—	—	—
50	—	—	—	—	—	—	—	—	9.23 (0.12)	0.255 (0.08)	—	—	—	—	—	—
100	—	—	—	—	0.0192 (0.0003)	0.0383 (0.01)	—	—	15.5 (0.20)	0.441 (0.14)	—	—	—	—	—	—
300	—	—	—	—	0.942 (0.01)	0.268 (0.09)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
500	1.71 (0.07)	0.306 (0.10)	2.96 (0.12)	0.627 (0.20)	—	—	2.44 (0.10)	0.514 (0.17)	—	—	—	—	—	—	—	—
839*1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	25.4	50.7	76.3	3.10
1,000	4.88 (0.19)	0.749 (0.24)	6.57 (0.26)	1.65 (0.53)	4.17 (0.05)	0.618 (0.20)	6.38 (0.25)	1.49 (0.48)	—	—	—	—	—	—	—	—
2,000	13.1 (0.52)	1.63 (0.53)	14.1 (0.56)	3.24 (1.05)	—	—	12.7 (0.50)	1.64 (0.53)	—	—	—	—	—	—	—	—

EFD：Embryo-fetal development

－：Not Examined

（ ）：ヒトに対する比：11-4368 試験及び 11-4370 試験：ラット $AUC_{0\text{-}12h}$ / ヒト $AUC_{0\text{-}12h}$ 若しくは ラット C_{max} / ヒト C_{max}

：11-4369 試験，11-4371 試験及び 11-4372 試験：ラット又はウサギ $AUC_{0\text{-}48h}$ / ヒト $AUC_{0\text{-}48h}$ 若しくは ラット又はウサギ C_{max} / ヒト C_{max}

＊1：25,000 U/m²（臨床投与量）×1.023 m²（23 例の平均体表面積）÷ 30.47 kg（23 例の平均体重）＝ 839 U/kg

2.6.6.7 局所刺激性試験

2.6.6.7.1 ウサギの局所刺激性試験

（添付資料：4.2.3.6.1）

Kbl:JW 系ウサギ（雄 6 例/群）を用いて，クリサンタスパーゼの筋肉内投与による局所刺激性試験を実施した（OD12312 試験）．クリサンタスパーゼの 0.5 mL/site（生理食塩液にて 10,000 U/mL 溶液；1,799～2,058 U/kg）を右大腿部外側広筋に，単回及び 1 日 1 回 2 日間投与し，反対側の大腿部外側広筋に媒体対照として生理食塩液の同容量を投与した．陽性対照として，0.106 vol%酢酸の 1 日 1 回 2 日間投与群を設定した．投与後，剖検日まで投与部位の外観的観察を含め一般状態観察を行い，単回投与群では投与後 2 日，2 日間投与群では 2 回目投与後 1 日に剖検し，すべての投与部位を摘出し，病理組織学的検査に供した．死亡又は瀕死例では，速やかに剖検し，投与部位の観察及び病理組織学的検査を行った．

その結果，単回投与群において投与後 1 又は 2 日に 6 例中 5 例が，2 日間投与群では 2 回目投与後 1 日までに 6 例中 3 例が，不規則呼吸，横臥位，流涎，間代性痙攣，脱力，後肢伸展，運動性の低下を示し，死亡又は瀕死状態となった．これらの動物では剖検で，主に肺の暗赤色化又は暗赤色巣の散在，気管又は気管支に泡沫液貯留，心臓に暗赤色巣が認められ，その他，胸腺，大動脈，胃体部粘膜及び精巣上体に暗赤色巣の散在，胸腔に血性胸水の貯留，淡黄色心嚢液の貯留が認められた．

剖検所見（投与部位）：

単回投与群においては，被験物質及び生理食塩液投与部位ともに，6 例中 2 例でごく軽度な赤色変化が認められた．

2 日間投与群においては，被験物質投与部位で，6 例全例にごく軽度又は軽度な赤色変化，1 例にごく軽度な白色変化がみられ，生理食塩液投与部位で，5 例においてごく軽度又は軽度な赤色変化がみられた．0.106 vol%酢酸投与部位では，6 例全例にごく軽度から中等度の赤色変化，5 例にごく軽度から中等度の褐色変化及び 1 例でごく軽度な白色変化がみられた．

病理組織学的所見（投与部位）：

単回投与群においては，被験物質及び生理食塩液投与部位ともに 3 例でごく軽度な細胞浸潤並びにごく軽度又は軽度な変性及び壊死が，2 例でごく軽度又は軽度な出血が認められ，被験物質及び生理食塩液投与部位の刺激性変化は同程度であった．

2 日間投与群においては，被験物質投与部位では，全例でごく軽度又は軽度な出血，細胞浸潤，変性及び壊死が認められ，生理食塩液投与部位では，6 例中 5 例でごく軽度又は軽度な出血，4 例でごく軽度又は軽度な細胞浸潤，変性及び壊死が認められた．0.106 vol%酢酸投与部位では，全例にごく軽度な出血，軽度又は中等度の細胞浸潤，中等度の変性及び壊死が認められた．

以上の結果より，被験物質の筋肉内投与による刺激性は，単回投与では生理食塩液と同等であり，2 日間投与では，生理食塩液よりもわずかに強く，0.106 vol%酢酸よりも弱いことが示唆された．

2.6.6.7.2　ウサギの局所刺激性試験

（添付資料：4.2.3.6.2）

先に実施したクリサンタスパーゼの 0.5 mL/site（生理食塩液にて 10,000 U/mL 溶液；1,799～2,058 U/kg）投与（OD12312 試験）では，単回投与後 6 例中 5 例が投与後 2 日までに死亡又は瀕死状態となったため，投与量を減量し，投与回数も 1 回として，単回筋肉内投与による刺激性試験を追加実施した（OD13086 試験）．

Kbl:JW 系ウサギ（雄 6 例/群）を用いて，クリサンタスパーゼの筋肉内投与による局所刺激性試験を実施した．クリサンタスパーゼの 0.2 mL/site（生理食塩液にて 10,000 U/mL 溶液：637～690 U/kg）を右大腿部外側広筋に，反対側の大腿部外側広筋に媒体対照として同容量の生理食塩液を投与した．陽性対照として，同容量の 0.106 vol%酢酸を単回投与した．投与後，剖検日まで投与部位の外観的観察を含め一般状態の観察を行い，各群の半数例（3 例）をそれぞれ投与後 2 日及び 7 日に剖検し，すべての投与部位を摘出し，病理組織学的検査に供した．死亡例は，発見後速やかに剖検し，投与部位の観察及び病理組織学的検査を行った．

その結果，被験物質投与後 2 日（投与後約 42 時間）に 6 例中 5 例の死亡がみられた．これらの死亡例 5 例の剖検では，口及び鼻の周辺の被毛の汚れ，肺の暗赤色化及び胸腺の暗赤色巣の散在，気管又は気管支の泡沫液の貯留などが認められた．生存例 1 例の一般状態で，投与後 2 日に運動性の低下，体重増加抑制がみられたが，投与後 5 日以降には異常は認められなかった．0.106 vol%酢酸の投与部位では 1 例（投与後 7 日剖検動物）で投与後 1 及び 2 日に投与部位周辺の皮膚の暗紫色化が認められた．

剖検所見（投与部位）：

被験物質投与部位では，投与後 2 日に死亡した 5 例中 2 例で軽度な赤色変化がみられ，投与後 7 日では生存例 1 例でごく軽度な白色変化が認められた．生理食塩液及び 0.106 vol%酢酸投与部位には投与後 2 及び 7 日ともに剖検時に剖検所見は認められなかった．

病理組織学的検査（投与部位）：

被験物質投与部位では，投与後 2 日の死亡例 5 例全例でごく軽度な細胞浸潤，ごく軽度又は軽度な変性及び壊死，3 例でごく軽度又は軽度な出血が認められた．投与後 7 日では生存例 1 例で，軽度な細胞浸潤，鉱質沈着及び再生が認められた．生理食塩液投与部位では，投与後 2 日に，5 例中 2 例でごく軽度な細胞浸潤，ごく軽度又は軽度な変性及び壊死，1 例でごく軽度な出血が認められたが，投与後 7 日では生存例 1 例で，組織変化は認められなかった．0.106 vol%酢酸投与部位では，投与後 2 日に，3 例全例でごく軽度な出血，軽度な細胞浸潤，変性及び壊死が認められたが，投与後 7 日では 3 例中 2 例でごく軽度な再生が認められた．

以上の結果，クリサンタスパーゼの筋肉内投与では，投与後 2 日では 0.106 vol%酢酸よりもやや弱いか同程度の刺激性変化がみられ，投与後 7 日では，組織修復像が認められたことから，クリサンタスパーゼの 10,000 U/mL 溶液はウサギの筋肉に対して軽度な一次刺激性を有するが，可逆的な変化であることが示された．

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　抗原性試験

実施していない.

2.6.6.8.2　免疫毒性試験

実施していない.

2.6.6.8.3　毒性発現の機序に関する試験

実施していない.

2.6.6.8.4　依存性試験

実施していない.

2.6.6.8.5　代謝物の毒性試験

実施していない.

2.6.6.8.6　不純物の毒性試験

実施していない.

2.6.6.8.7　その他の試験

2.6.6.8.7.1　サル及びウサギの糖尿病誘発作用

（添付資料：4.2.3.7.7.1）

アカゲザル（雌 1 例）に *Erwinia* 菌由来 L-アスパラギナーゼの 2,000 U/kg/日を 5 日間静脈内投与し，ウサギ（系統及び性別は不明，1 例）には 10,000 U/kg を単回静脈内投与した（SSARL-DPH-70-07 試験）．サルではブドウ糖負荷試験を投与前（-1 日）及び投与 5 日に実施した．血漿中グルコース及びインスリン濃度に有意な影響はみられなかった．ウサギでは投与後 10 日まで血液生化学的検査を実施した結果，血漿中グルコース及びインスリン濃度に影響はみられなかった．

結論として，これらの試験系では *Erwinia* 菌由来 L-アスパラギナーゼ投与による糖尿病誘発作用はみられなかった．

2.6.6.8.7.2　発熱性物質試験

2.6.6.8.7.2.1　ウサギの発熱性物質試験

（添付資料：4.2.3.7.7.2）

Erwinia 菌由来 L-アスパラギナーゼの発熱性についてウサギを用いて検討した（HRC 97 試験）．ウサギ（3 例/群，系統及び性別は不明）に *Erwinia* 菌由来 L-アスパラギナーゼの 2,000 U/kg を，単回静脈内投与した．投与後 3 時間にわたり体温を測定した．

Erwinia 菌由来 L-アスパラギナーゼには発熱性はみられなかった．試験後 2 例に死亡がみられた．

2.6.6.8.7.2.2　ウサギの発熱性物質試験

（添付資料：4.2.3.1.3）

Erwinia 菌由来 L-アスパラギナーゼの発熱性についてウサギを用いて検討した（031-665-6881 試験）．New Zealand White 系ウサギ（雌 3 例/群）に *Erwinia* 菌由来 L-アスパラギナーゼの 2,000 U/kg を単回静脈内投与した．投与後 3 時間にわたり体温を測定した．

Erwinia 菌由来 L-アスパラギナーゼ投与による発熱性はみられなかった．

2.6.6.9　考察及び結論

*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼに関する毒性試験はGLP施行前に実施されており，これらの試験は現行の基準には十分適合していない．これらの試験には媒体対照群を含まない試験も含まれており，1群あたりの使用動物数は現在要求される動物数より少なかった．これらのほとんどの試験では，血漿中薬物濃度をモニターしていない．これらの試験の結果は動物種間及び動物種内で一貫性がみられ，L-アスパラギナーゼの短期毒性を特徴付けることは可能であると判断された．

実施された試験では*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの急性毒性は弱いことが示されている．げっ歯類における単回投与（急性）毒性試験では，最大非致死量は200,000又は200,000 U/kgを下回る用量であり，概略の致死量は200,000 U/kgと考えられた．ウサギにおける単回投与毒性試験4試験では，ウサギはL-アスパラギナーゼに対する忍容性は低かった．最大非致死量は1,000 U/kg，概略の致死量は2,000 U/kgであった．死亡原因は明確ではなかった．硬膜下出血が死亡例で観察されたが，この所見は試験を通して一貫した所見ではなかった．筋力低下及び歩行失調はげっ歯類及びウサギともに死亡例でみられた．

L-アスパラギナーゼの反復投与毒性試験として，非げっ歯類（ウサギ，イヌ及びサル）における5試験を実施した．これらの試験のうち3試験では投与量が1用量であったため，用量相関性は確認できなかった．これらの試験における唯一の死亡例は，1,000 U/kg/日を5日間投与したウサギの5例中1例において，投与12日（最終投与後7日）に著しい体重減少（-34.6%）がみられ，安楽殺した1例であった．5,000 U/kg/日を28日間投与したイヌ（雌雄各2例）では，死亡例はみられなかった．投与1週では嘔吐が頻繁にみられたが，投与回数の増加に伴い発現頻度は減少した．サルでは*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼ10,000 U/kg/日の5日間投与で嘔吐はみられず，肝臓に軽度の変化（肝細胞空胞化）がみられた．しかし，肝酵素に変化はみられなかったことより，肝障害を示唆するものではないものと考えられた．サル試験における無毒性量は2,000 U/kg/日と考えられた．

クリサンタスパーゼの生殖発生毒性試験として，ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験，ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験及びラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する4試験をGLPに準拠して実施した．

ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験ではクリサンタスパーゼの500，1,000及び2,000 U/kg/日を1日おきに1日1回，雄では交配前4週間，交配期間及び剖検前日まで，雌では交配前2週間，交配期間及び妊娠6日まで投与した．その結果，クリサンタスパーゼは2,000 U/kg/日まで忍容性は良好であった．雌では交配，受胎能等に影響はみられず，雄では1,000 U/kg/日以上で精巣重量・精巣上体重量の有意な増加並びに精巣内精子数の有意な減少がみられたが，受胎能に影響はなく，精子運動性及び精子形態及び病理組織学的検査に変化はみられなかった．したがって，雌雄ともに親動物及び受胎能に対する無毒性量はいずれも2,000 U/kg/日と考えられた．

ラットにおける胚・胎児発生に関する試験では，クリサンタスパーゼの500，1,000及び2,000 U/kg/日を1日おきに1日1回，妊娠6日から妊娠16日まで筋肉内投与した．その結果，母動物では2,000 U/kg/日で体重，体重増加量及び摂餌量の減少がみられたことより母動物の一般毒性に対する無毒性量は1,000 U/kg/日，生殖能に対する無毒性量は2,000 U/kg/日であった．胎児観察では，2,000 U/kg/日で胸腺の頸部残留の軽度の増加がみられたことより，胚・胎児発生に対する無毒性量は1,000 U/kg/日であった．

ウサギにおける胚･胎児発生に関する試験では，クリサンタスパーゼの10, 25及び40 U/kg/日を1日おきに1日1回，妊娠6日から妊娠18日まで筋肉内投与した．その結果，母動物では25 U/kg/日以上で体重増加抑制がみられ，10 U/kg/日以上で吸収胚数及び着床後死亡数の増加並びに生存胎児数の減少がみられたことより，無毒性量は母動物の一般毒性に対しては10 U/kg/日，母動物の生殖能に対しては10 U/kg/日未満であった．胚・胎児に対する無毒性量は，10 U/kg/日以上で妊娠子宮重量及び一腹あたりの胎児体重の減少，さらに胎児の内臓異常及び胎児の骨化遅延がみられたことより，10 U/kg/日未満であった．

全身曝露はラット及びウサギともに投与量に応じた増加がみられたが，反復投与により被験物質に対する中和抗体が検出され，全身曝露の低下又は測定できた動物数の減少がみられた．

ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では，クリサンタスパーゼの 600，1,200 及び 2,400 U/kg/日を 1 日おきに 1 日 1 回，妊娠 6 日から授乳 20 日まで筋肉内投与した．その結果，母動物及び出生児ともにいずれの検査項目においてもクリサンタスパーゼ投与による影響はみられなかったことより，母動物及び出生児に対する無毒性量はいずれも 2,400 U/kg/日と考えられた．

以上，生殖発生毒性試験では，ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では雌雄ともに 2,000 U/kg/日まで一般毒性及び受胎能に影響はみられず，出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験においても，2,400 U/kg/日まで母動物及び出生児に対する影響はみられなかった．ラットの胚・胎児発生に関する試験では胎児観察において，2,000 U/kg/日で胸腺の頸部残留の軽度の増加がみられた．ウサギの胚・胎児発生に関する試験では，25 U/kg/日以上で母動物の体重増加抑制がみられ，10 U/kg/日以上で吸収胚数及び着床後死亡数の増加，生存胎児数の減少，妊娠子宮重量及び 1 腹あたりの胎児重量の減少，胎児の内臓異常及び骨化遅延がみられた．ウサギでは他の動物種に比べ，原因は明確ではないが単回及び反復投与毒性試験において毒性が強くみられ，生殖発生毒性試験においても母動物及び胎児に影響がみられた．

局所刺激性試験では，生理食塩液及び 0.106 vol%酢酸を対照として，ウサギにクリサンタスパーゼの 0.5 mL/site（1,799～2,058 U/kg）を単回及び 1 日 1 回 2 日間筋肉内投与したところ，単回投与により投与後 2 日までに 6 例中 5 例，2 日間投与では 2 回目投与後 1 日までに 6 例中 3 例で死亡又は瀕死状態がみられた．投与量を減量（0.2 mL/site；637～690 U/kg）し，単回筋肉内投与した結果，投与後 2 日に 6 例中 5 例の死亡がみられた．これらの 2 試験における死亡例及び生存例からクリサンタスパーゼの局所刺激性を総合的に評価した結果，本薬の筋肉内投与における局所刺激性は，生理食塩液よりやや強く，0.106 vol%酢酸と同程度の刺激性がみられたが，病理組織学的検査で組織修復像がみられたことより，可逆的な変化であることが示された．

その他の試験では，*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼをウサギでは10,000 U/kg，サルでは2,000 U/kgで投与したが糖尿病誘発作用はみられなかった．ウサギでは*Erwinia*菌由来L-アスパラギナーゼの2,000 U/kgの投与では発熱性はみられなかった．

安全域について：

クリサンタスパーゼの今回申請する臨床用法・用量案は 25,000 U/m^2 を週 3 回の筋肉内投与である．小児患者の体重を約 20 kg と想定した場合には，U/kg で表記された用量は U/m^2 を 25 で除した値で算出できることになり（FDA 2005）[1]，その時の用量は 1,000 U/kg となる．安全域を算出できる GLP に準拠した反復投与毒性試験は実施されていないため，安全域を正確に算出することはできないが，実施された毒性試験から安全域の算出を試みた．げっ歯類を用いた反復投与毒性試験のデータは得られていない．非げっ歯類（アカゲザル）における 5 日間反復静脈内投与毒性試験（SSARL-DPH-71-1 試験）における無毒性量は 2,000 U/kg/日と考えられ，サルを用いた反復投与毒性試験における無毒性量（2,000 U/kg/日）と提案している臨床用量（1,000 U/kg）から算出した場合，安全域は 2 倍である．

これまで実施された非臨床安全性試験は現在要求されているガイドライン及びGLPに準拠した試験に比べると，動物数や投与群数等において厳密ではないが，臨床での長年にわたる優れた安全性の使用成績と併せると現在の非臨床試験はクリサンタスパーゼの安全性を裏付けるためには十分であると結論される.

2.6.6.10 図表

表は本文中に含めた.

2.6.6.11 参考文献

1. FDA (2005) Guidance for Industry, Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers.

2.6.7　毒性試験概要表

目次

2.6.7.1 毒性試験：一覧表 2
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 9
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 10
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 12
2.6.7.5 単回投与毒性試験 13
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 17
2.6.7.7 反復投与毒性試験: 重要な試験 18
2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験 18
2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験 18
2.6.7.10 がん原性試験 18
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 19
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 20
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 24
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 32
2.6.7.15 新生児を用いた試験 37
2.6.7.16 局所刺激性試験 38
2.6.7.17 その他の毒性試験 39

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a]	GLP	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity	Mouse/Charles River C.D. Rat/Charles River, Albino, Swiss Rabbit/New Zealand White	Intraperitoneal Intravenous	Single Dose	200,000, 500,000 and 1,000,000 U/kg (mice IP and rats IV) 4,000, 8,000 and 12,000 U/kg (rabbits)	No	[redacted], England	031-665-6881	4.2.3.1.3
Single-Dose Toxicity	Rat, Rabbit, Hamster /strains not specified	Intravenous Intraperitoneal	Single Dose	5,000 U/kg IV (rats and rabbits) 5,000 U/kg IP (hamster)	No	[redacted], USA	SSARL-DPH-72-05	4.2.3.1.6
Single-Dose Toxicity	Mouse/CFLP	Intraperitoneal	Single Dose	200,000, 500,000 and 1,000,00 U/kg	No	[redacted], England	11/71/D409	4.2.3.1.1

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a]	GLP	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity	Mouse/CFLP	Intraperitoneal	Single Dose	200,000, 500,000 and 1,000,000 U/kg	No	[redacted], England	4016/71/174	4.2.3.1.2
Single-Dose Toxicity	Rat/CFY	Intravenous	Single Dose	200,000, 500,000 and 1,000,000 U/kg	No	[redacted], England	12/71/D410	4.2.3.1.4

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a]	GLP	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity	Rat/CFY	Intravenous	Single Dose	200,000, 500,000 and 1,000,000 U/kg	No	[redacted], England	4015/71/173	4.2.3.1.5
Single-Dose Toxicity	Rabbit/New Zealand White	Intravenous	Single Dose	5,000, 10,000, and 20,000 U/kg	No	[redacted], England	13/71/D411	4.2.3.1.7

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a]	GLP	Testing Facility	Study Number	Location
Single-Dose Toxicity	Rabbit/New Zealand White	Intravenous	Single Dose	2,000, 5,000, and 10,000 U/kg	No	[redacted], England	4017/71/175	4.2.3.1.8
Repeat-Dose Toxicity (Non-Pivotal)	Rabbit/strains not specified	Intravenous	One Day, Five Days	1,000, 2,000, and 5,000 U/kg (one day) 1,000 U/kg/day (five days)	No	[redacted], USA	SSARL-DPH-72-02	4.2.3.2.1
Repeat-Dose Toxicity (Non-Pivotal)	Dog/Beagle	Intravenous	Four Weeks	5,000 U/kg/day	No	[redacted], England	HRC 1969	4.2.3.2.2
Repeat-Dose Toxicity (Non-Pivotal)	Monkey/Rhesus	Intravenous	Five Days	0 and 1,000 U/kg/day	No	[redacted], USA	SSARL-DPH-69-00	4.2.3.2.4

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a]	GLP	Testing Facility	Study Number	Location
Repeat-Dose Toxicity (Non-Pivotal)	Monkey/Rhesus	Intravenous	Five Days	1,000 U/kg/day	No	[redacted], USA	SSARL-DPH-71-2	4.2.3.2.4
Repeat-Dose Toxicity (Non-Pivotal)	Monkey/Rhesus	Intravenous	Five Days	1,000, 2,000, and 10,000 U/kg/day (*Er carotovora* L-asparaginase) 1,000 U/kg/day (*E. coli* L-asparaginase)	No	[redacted], USA	SSARL-DPH-71-1	4.2.3.2.5
Reproductive and Developmental Toxicity	Rat/ Sprague-Dawley	Intramuscular	M: 4 Weeks prior to mating, through terminal sacrifice F: 2 Weeks prior to mating, through GD 6	0, 500, 1,000, and 2,000 U/kg/day	Yes	[redacted], USA	11-4368	4.2.3.5.1.1
Reproductive and Developmental Toxicity	Rat/ Sprague-Dawley	Intramuscular	GD 6 - 16	0, 100, 300, and 1,000 U/kg/day	No	[redacted], USA	11-4369	4.2.3.5.2.1

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a]	GLP	Testing Facility	Study Number	Location
Reproductive and Developmental Toxicity	Rat/ Sprague-Dawley	Intramuscular	GD 6 - 16	0, 500, 1,000, and 2,000 U/kg/day	Yes	[redacted], USA	11-4370	4.2.3.5.2.2
Reproductive and Developmental Toxicity	Rabbit/New Zealand White	Intramuscular	GD 6 - 18	0, 25,50, and 100 U/kg/day	No	[redacted], USA	11-4371	4.2.3.5.2.3
Reproductive and Developmental Toxicity	Rabbit/New Zealand White	Intramuscular	GD 6 - 18	0, 10, 25, and 40 U/kg/day	Yes	[redacted], USA	11-4372	4.2.3.5.2.4
Reproductive and Developmental Toxicity	Rat/ Sprague-Dawley	Intramuscular	GD 6 - LD 20	0, 600, 1,200, and 2,400 U/kg/day	Yes	[redacted], USA	11-4373	4.2.3.5.3.1
Local Tolerance	Rabbit/Kbl:JW	Intramuscular	One Day, Two Days	0.5 mL/site (1,799 - 2,058 U/kg)	Yes	[redacted], Japan	OD12312	4.2.3.6.1
Local Tolerance	Rabbit/Kbl:JW	Intramuscular	One Day	0.2 mL/site (637 - 690 U/kg)	Yes	[redacted], Japan	OD13086	4.2.3.6.2

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses [a]	GLP	Testing Facility	Study Number	Location
Other Toxicity Studies (diabetic actions)	Monkey/Rhesus Rabbit	Intravenous	Five Days, One Day	2,000 U/kg/day 10,000 U/kg	No	, USA	SSARL-DPH-70-07	4.2.3.7.7.1
Other Toxicity Studies (pyrogenicity)	Rabbit/strains not specified	Intravenous	Single Dose	2,000 U/kg	No	England	HRC 97	4.2.3.7.7.2
Other Toxicity Studies (pyrogenicity)	Rabbit/New Zealand White	Intravenous	Single Dose	2,000 U/kg	No	England	031-665-6881	4.2.3.1.3

BW: body weight, GD: Gestation day, U: Unit, LD: Lactation day

a: Once daily (Reproductive and Developmental Toxicity: once every other day)

For Repeat-Dose Toxicity, the NOAEL (No Observed Adverse-Effect Level) is underlined.

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses [a] (U/kg/day)	GLP compliance	Study Number	Location
Fertility and Early Embryonic Development	Rat	Intramuscular	0, 500, 1,000, 2,000	Yes	11-4368	4.2.3.5.1.1
Embryo-Fetal Development (preliminary)	Rat	Intramuscular	0, 100, 300, 1,000	No	11-4369	4.2.3.5.2.1
Embryo-Fetal Development	Rat	Intramuscular	0, 500, 1,000, 2,000	Yes	11-4370	4.2.3.5.2.2
Embryo-Fetal Development (preliminary)	Rabbit	Intramuscular	0, 25, 50, 100	No	11-4371	4.2.3.5.2.3
Embryo-Fetal Development	Rabbit	Intramuscular	0, 10, 25, 40	Yes	11-4372	4.2.3.5.2.4

a: Once every other day

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

Test Article: *Erwinia* asparaginase

AUC (mU•h/mL)

Daily Dose [a] (U/kg)	Rat (Fertility: 11-4368)		Rat (EFD: 11-4369)	Rat (EFD: 11-4370)	Rabbit (EFD: 11-4371)	Rabbit (EFD: 11-4372)	Human
	Male	Female	Female	Female	Female	Female	
10	-		-	-	-	2090	
25	-	-	-	-	4200	5140	
40	-	-	-	-	-	6020	
50	-	-	-	-	9230	-	
100	-	-	19.2	-	15500	-	
300	-	-	942	-	-	-	
500	1710	2960	-	2440	-	-	
1,000	4880	6570	4170	6380	-	-	
2,000	13100	14100	-	12700	-	-	

a: Reproductive and Developmental Toxicity: once every other day

-: Not Examined

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

C_{max} (mU/mL)

Daily Dose (U/kg)	Rat (Fertility: 11-4368)		Rat (EFD: 11-4369)	Rat (EFD: 11-4370)	Rabbit (EFD: 11-4371)	Rabbit (EFD: 11-4372)	Human
	Male	Female	Female	Female	Female	Female	
10	-	-	-	-	-	56.8	
25	-	-	-	-	113	136	
40	-	-	-	-	-	181	
50	-	-	-	-	255	-	
100	-	-	38.3	-	441	-	
300	-	-	268	-	-	-	
500	306	627	-	514	-	-	
1,000	749	1650	618	1490	-	-	
2,000	1630	3240	-	1640	-	-	

EFD: Embryo-fetal development.

a: Reproductive and Developmental Toxicity: once every other day

-: Not Examined

Rat (11-4368, 11-4370): $AUC_{0\text{-}12h}$, Rat (11-4369, 11-4371) : $AUC_{0\text{-}48h}$, Rabbit: $AUC_{0\text{-}48h}$.

AUC and C_{max} values are shown on GD 6 in all EFD studies, and on Day 1 (the first day of dosing for males and females) in Fertility study, and those of after repeated dosing are not shown here due to the limited number of data (see the sections 2.6.7.12 and 2.6.7.13 on each study).

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Batch No.	Purity (%)	Specified Impurities				Study No.	Type of Study
[redacted]	100					11-4368	Fertility and Early Embryonic Development Study in Rats
[redacted]	100					11-4368	Fertility and Early Embryonic Development Study in Rats
[redacted]	100					11-4370	Embryo-Fetal Development Study in Rats
[redacted]	100					11-4369	Preliminary Embryo-Fetal Development Study in Rats
[redacted]	100					11-4371	Preliminary Embryo-Fetal Development Study in Rabbits
[redacted]	9700 U/mL					11-4372	Embryo-Fetal Development Study in Rabbits
[redacted]	100					11-4373	Pre- and Postnatal Development Study in Rats
[redacted]	※					OD12312	Local Tolerance Study in Rabbits
[redacted]	※					OD13086	Local Tolerance Study in Rabbits
[redacted]	※					031-665-6881	Study on Acute Toxicity and Pyrogenicity
[redacted]	※					11/71/D409	Acute Intraperitoneal Toxicity Study in Mice
[redacted]	※					12/71/D410	Acute Intravenous Toxicity Study in Rats
[redacted]	※					13/71/D411	Acute Intravenous Toxicity Study in Rabbits
[redacted]	※					4016/71/174	Acute Intraperitoneal Toxicity Study in Mice
[redacted]	※					4015/71/173	Acute Intravenous Toxicity Study in Rats
[redacted]	※					HRC97	Pyrogenicity Study in Rabbits
[redacted]	※					031-665-6881	Study on Acute Toxicity and Pyrogenicity
[redacted]	※					4017/71/175	Acute Intravenous Toxicity Study in Rabbits
[redacted]	※					SSARL-DPH-72-05	Acute Toxicity Study in rabbits, Rats and Hamsters
[redacted]	※					SSARL-DPH-72-02	Acute and 5-day Intravenous Toxicity Study in Rabbits
[redacted]	※					SSARL-DPH-69-00	5-day Intravenous Toxicity Study in Monkeys
[redacted]	※					HRC1969	4-week Intravenous Toxicity Study in Dogs
[redacted]	※					SSARL-DPH-71-1	5-day Intravenous Toxicity Study in Monkeys
[redacted]	※					SSARL-DPH-71-2	5-day Intravenous Toxicity Study in Monkeys
[redacted]	※					SSARL-DPH-70-07	Study on Diabetogenic Action in a Monkey and a Rabbit

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (U/kg)	Gender and No. /Group	Observed Maximum Nonlethal Dose	Approximate Lethal Dose	Noteworthy Findings	Study Number
Mouse/CFLP	Intraperitoneal (5% Dextrose in Saline)	0, 200,000, 500,000, 1,000,000	10/sex/dose	200,000 U/kg	500,000 U/kg	200,000 U/kg- 0/20 deaths 500,000 U/kg- 2/20 deaths 1,000,000 U/kg- 7/20 deaths Clinical signs: ≥500,000 U/kg: lethargy	11/71/D409
Mouse/CFLP	Intraperitoneal (Saline)	0, 200,000, 500,000, 1,000,000	10/sex/dose	200,000 U/kg	500,000 U/kg	0 U/kg- 1/20 deaths 200,000 U/kg- 0/20 deaths 500,000 U/kg- 1/20 deaths 1,000,000 U/kg- 6/20 deaths Clinical signs: ≥500,000 U/kg: dUresis	4016/71/174
Mouse/Charles River C.D.	Intraperitoneal (Not Listed)	200,000, 500,000, 1,000,000	10/sex/dose	200,000 U/kg	500,000 U/kg	200,000 U/kg- 0/20 deaths 500,000 U/kg- 2/20 deaths 1,000,000 U/kg- 2/20 deaths Clinical signs: ≥200,000 U/kg: sedation, micturition ≥500,000 U/kg: piloerection, convulsions, rolling (500,000 only), ptosis 1,000,000 U/kg: diarrhea	031-665-6881
Rat/CFY	Intravenous (5% Dextrose in Saline)	0, 200,000, 500,000, 1,000,000	5/sex/dose	200,000 U/kg	500,000 U/kg	200,000 U/kg- 0/10 deaths 500,000 U/kg- 5/10 deaths (all males) 1,000,000 U/kg- 10/10 deaths Clinical signs: ≥500,000 U/kg: tremors, ataxia, loss of muscular coordination	12/71/D410

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (U/kg)	Gender and No. /Group	Observed Maximum Nonlethal Dose	Approximate Lethal Dose	Noteworthy Findings	Study Number
Rat/CFY	Intravenous (Saline)	0, 200,000, 500,000, 1,000,000	5/sex/dose	NA	200,000 U/kg	200,000 U/kg- 4/10 deaths 500,000 U/kg- 10/10 deaths 1,000,000 U/kg- 10/10 deaths Clinical signs: ≥200,000 U/kg: lethargy, tremors, piloerection, dUresis, irregular breathing	4015/71/173
Rat/Charles River, Albino, Swiss	Intravenous (Not Listed)	200,000, 500,000, 1,000,000	4-5 M/dose, 4-5 F/dose	NA	200,000 U/kg	200,000 U/kg- 2/10 deaths 500,000 U/kg- 3/9 deaths 1,000,000 U/kg- 9/9 deaths Clinical signs: ≥200,000 U/kg: sedation, rolling, abnormal secretion, ptosis, diarrhea ≥500,000 U/kg: piloerection	031-665-6881
Rat/strain not specified	Intravenous (Mannitol Saline)	0, 5,000	3 M/dose	5,000 U/kg	NA	5,000 U/kg- No deaths, no effects on body weight, plasma calcUm or phosphorous up to 48 hours post dose; no effects on thyroid or parathyroid histology Clinical signs: No abnormality	SSARL-DPH-72-05
Hamster/strain not specified	Intraperitoneal (Mannitol Saline)	0, 5,000	3 M/dose	5,000 U/kg	NA	No abnormality	SSARL-DPH-72-05

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (U/kg)	Gender and No. /Group	Observed Maximum Nonlethal Dose	Approximate Lethal Dose	Noteworthy Findings	Study Number
Rabbit/New Zealand White	Intravenous (5% Dextrose in Saline)	0, 5,000, 10,000, 20,000	3/sex/dose	NA	5,000 U/kg	5,000 U/kg- 4/6 deaths 10,000 U/kg- 5/6 deaths 20,000 U/kg- 5/6 deaths Clinical signs: ≥5,000 U/kg: loss of appetite, ataxia	13/71/D411
Rabbit/New Zealand White	Intravenous (Saline)	0, 2,000, 5,000, 10,000	3/sex/dose	NA	2,000 U/kg	0 U/kg- 1/6 deaths 2,000 U/kg- 2/6 deaths 5,000 U/kg- 4/6 deaths 10,000 U/kg- 5/6 deaths Clinical signs: ≥5,000 U/kg: loss of appetite, ataxia	4017/71/175
Rabbit/New Zealand White	Intravenous (Not Listed)	4,000, 8,000, 12,000	6/sex/dose	NA	4,000 U/kg	4,000 U/kg- 3/12 deaths 8,000 U/kg- 7/12 deaths 12,000 U/kg- 8/12 deaths Clinical signs: ≥4,000 U/kg: diarrhea	031-665-6881
Rabbit/New Zealand White	Intravenous (Saline)	1,000, 2,000, 5,000	5 (2-3 M/2-3 F)/dose	1,000 U/kg	2,000 U/kg	1,000 U/kg- 0/5 deaths 2,000 U/kg- 2/5 deaths 5,000 U/kg- 5/5 deaths Clinical signs: 5,000 U/kg: muscle weakness, ataxia, dyspnea, tremor, convulsions	SSARL-DPH-72-02

2.6.7.5 単回投与毒性試験

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Doses (U/kg)	Gender and No. /Group	Observed Maximum Nonlethal Dose	Approximate Lethal Dose	Noteworthy Findings	Study Number
Rabbit/strain not specified	Intravenous (Mannitol Saline)	0, 5,000	2 M, 1 F /dose	5,000 U/kg	>5,000 U/kg	No abnormality	SSARL-DPH-72-05

M: male, F: female.
NA: Not Applicable

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (U/kg/day)	Gender and No. /Group	NOAEL [a] (U/kg/day)	Noteworthy Findings	Study Number
Rabbit/ strain not specified	Intravenous (Saline)	Five Days	1,000	3M/2F	<1,000	One rabbit was sacrificed on Day 12 (7 days post dose).	SSARL-DPH-72-02
Dog/Beagle	Intravenous (Ampule)	Four Weeks	5,000	2M/2F	<5,000	Emesis was observed primarily during the first week of the study. Dry coat and thin were observed at the end of dosing period. Decreased body weight and food consumption.	HRC 1969
Monkey/ Rhesus	Intravenous (Saline)	Five Days	0, 1,000	1F (0) 2M (1,000)	1,000	No effects on any toxicological parameters including histopathology.	SSARL-DPH-69-00
Monkey/ Rhesus	Intravenous (Ampule)	Five Days	1,000	1M	<1,000	Transient decreased food consumption and body weight. Slight cytoplasmic vacuolization and very slight fat in liver.	SSARL-DPH-71-2
Monkey/ Rhesus	Intravenous (Saline)	Five Days	0, 1,000, 2,000, 10,000	2M (0) 3F (1,000) 1F (2,000) 1F (10,000)	2,000	Intracytoplasmic vacuolations in liver were observed at 10,000 U/kg/day	SSARL-DPH-71-1

a: NOAELs were evaluated based on the results of the study, because the NOAELs were not mentioned in the study reports.

2.6.7.7 反復投与毒性試験: 重要な試験

実施していない.

2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験

該当する表はない.

2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験

該当する表はない.

2.6.7.10 がん原性試験

該当する表はない.

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation)	Dosing Period	Doses (U/kg/day)	No./Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rat/ Sprague-Dawley	Intramuscular, once every other day (saline)	GD 6 - 16	0, 100, 300, 1,000	8 Pregnant Females TK group: 9 Pregnant Females for treated group, 3 for control group	No maternal or fetal test article-related effects up to 1,000 U/kg/day. TK: The systemic exposure on GD 16 was approximately comparable to or less than that on GD 6. Overall, the selected doses were likely too low to achieve adequate quantifiable serum concentrations to assess the toxicokinetic parameters.	11-4369
Rabbit/ New Zealand White	Intramuscular, once every other day (saline)	GD 6 - 18	0, 25, 50, 100	8 Pregnant Females TK group: 3 Pregnant Females	100 U/kg/day: All females were euthanized on GD 12, due to severe maternal toxicity, including decreased body weight, body weight change, food consumption and fecal volume. 50 U/kg/day: Slight decreased body weight, body weight change and food consumption. Increased number of resorptions and percent post-implantation loss. ≥25 U/kg/day: Increased percent pre-implantation loss, slight decreased number of live fetuses. Decreased gravid uterine weight, and total litter weight (except 100 U/kg/day). TK: Systemically exposed on GD 6 (linear) and 18 (non-linear). Following repeated administration, AUC and C_{max} on GD 18 were generally less (25 U/kg/day) than or comparable (50 U/kg/day) to those values on GD 6.	11-4371

GD: Gestation Day, TK: Toxicokinetics

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

2.6.7.12A ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Report Title: Erwinaze: An Intramuscular Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Rats Test Article: *Erwinia* asparaginase

Design similar to ICH 4.1.1:	Yes	Duration of Dosing:	Male: 4 weeks prior to mating, through terminal sacrifice	Study No.:	11-4368
Species/Strain:	Rat/ Sprague-Dawley		Female: 2 weeks prior to mating, through GD 6	Location in CTD:	4.2.3.5.1.1
Initial Age:	Male: Approximately 11 weeks Female: Approximately 9 weeks	Day of C-Section:	GD 14	GLP Compliance:	Yes
Day of Mating:	GD 0	Method of Administration:	Intramuscular (once every other day)		
Date of First Dose:	Male: [redacted] 20[redacted] Female: [redacted] 20[redacted]	Vehicle/Formulation:	Saline		
Special Features:	None	Dosing Volume:	0.5 mL/kg		
NOAEL: Systemic for Males and Females : 2,000 U/kg/day, Fertility for Males and Females: 2,000 U/kg/day					

2.6.7.12A ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Daily Dose (U/kg/day)		0	500	1,000	2,000
Males	Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}12h}$ (mU•h/mL)				
	Day 1	NC	1710	4880	13100
	Day 71	NC	0.00[a]	2420	3650
	C_{max} (mU/mL)				
	Day 1	NC	306	749	1630
	Day 71	NC	0.00[a]	410	416
	Immunogenicity (anti-Erwinaze antibody at Day 72) (No. of positive/No. of animals examined)	0/3	9/9	9/9	9/9
	Main toxicity Study:				
	No. of Males entered on study	22	22	22	22
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Body Weight	-	-	-	-
	Food Consumption	-	-	-	-
	Mating and Fertility[#]	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Organ Weight				
	Testis (g): R	1.76	1.89	1.97*	1.83*
	Testis (g): L	1.75	1.90	1.97*	1.92*
	Epididymis (g): L	0.71	0.77	0.79*	0.76*

2.6.7.12A ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Daily Dose (U/kg/day)		0	500	1,000	2,000
Males	Sperm Analysis (No. of animals examined)[#]	20	22	22	20
	Sperm Motility	-	-	-	-
	Testis Sperm Count (millions/g): R[#]	80.3	70.6	67.9*	67.8*
	Sperm Morphology	-	-	-	-
	Histopathology (No. of animals examined)[#]	22	22	22	22
	Testis: L	-	-	-	-
	Epididymis: L	-	-	-	-
Females	Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}12h}$ (mU•h/mL)				
	Day 1	NC	2960	6570	14100
	Day 71	NC	753	2820	20400
	C_{max} (mU/mL)				
	Day 1	NC	627	1650	3240
	Day 71	NC	222	767	2580
	Immunogenicity (anti-Erwinaze antibody on Day 72) (No. of positive/No. of animals examined)	0/3	7/7	8/8	4/4
	Main Toxicity Study:				
	No. of Females entered on study	22	22	22	22
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	1[b]	1[c]	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Body Weight	-	-	-	-
	Food Consumption	-	-	-	-
	Estrous Cycles	-	-	-	-

2.6.7.12A ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Daily Dose (U/kg/day)		0	500	1,000	2,000
Females	No. of Mated female	22	21	21	22
	No. of Non pregnant	1	2	0	0
	No. of Pregnant Female (%Fertility)	21 (95.5)	19 (90.5)	21 (100)	22 (100)
	Caesarean Section Data:				
	Mean No. Corpora Lutea	15.1	14.5	15.6	15.4
	Mean No. Implantation	13.5	13.4	14.4	14.1
	Mean No. Resorptions	1.1	1.1	1.0	1.0
	Mean No. Live Fetuses	12.4	12.3	13.4	13.1
	Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
	Mean % Pre-implantation Loss	10.4	7.9	7.9	8.7
	Mean % Post-implantation Loss	7.9	7.9	7.4	6.8
	Organ Weight: Ovaries	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-

-: No noteworthy findings, GD: Gestation Day, L: left, R: right, NC: Not Calculated, *: $p<0.05$.

#: No test article-related changes because of no effect on fertility, sperm motility or morphology and no test article-related microscopic findings in the testis and epididymis.

a: All concentration values were below the lower limit of quantification.

b: One female in the 500 U/kg/day dose group (Animal No. 2575) was euthanized on humane grounds, with prior clinical observations of irregular gait, which was confirmed to be a fractured tibia.

c: One female in the 1,000 U/kg/day dose group (Animal No. 3627) was euthanized on humane grounds due to an open sore on the tail.

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13A ラットの胚・胎児発生に関する試験

Report Title: Erwinaze: Embryo-Fetal Toxicity Study via Intramuscular Injection in Rats Test Article: *Erwinia* asparaginase

Design similar to ICH 4.1.3:	Yes	Duration of Dosing:	GD 6 to 16	Study No.:	11-4370
Species/Strain:	Rat/ Sprague-Dawley			Location in CTD:	4.2.3.5.2.2
Initial Age (GD 1-3) :	Approximately10 to12 weeks	Day of C-Section:	GD 20	GLP Compliance:	Yes
Day of Mating:	[redacted] 20[redacted]	Method of Administration:	Intramuscular (once every other day)		
Date of First Dose:	[redacted] 20[redacted]	Vehicle/Formulation:	Saline		
Special Features:	None	Dosing Volume:	0.5 mL/kg		
NOAEL: Maternal Systemic: 1,000 U/kg		Maternal Reproductive: 2,000 U/kg		Fetal: 1,000 U/kg	

Daily Dose (U/kg/day)		0	500[a]	1,000	2,000
Dams	Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}12h}$ (mU•h/mL)				
	GD 6	NC	2440	6380	12700
	GD 16	NC	0.00[a]	499	4970
	C_{max} (mU/mL)				
	GD 6	NC	514	1490	1640
	GD 16	NC	0.00[a]	109	857
	Immunogenicity (anti Erwinaze antibodies at GD 20) (No. of positive/No. of animals examined)	0/3	9/9	9/9	8/9

2.6.7.13A ラットの胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Daily Dose (U/kg/day)		0	500	1,000	2,000
Dams	Main Toxicity Study:				
	No. of Female entered on study (mated)	22	22	22	22
	No. of Pregnant	22	22	22	21
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Body Weight (g, %[b])				
	GD 6	269.7	261.2 (-3.2)	264.2 (-2.0)	261.6* (-3.0)
	GD 18	360.3	349.8 (-2.9)	353.3 (-1.9)	333.7*** (-7.4)
	Body Weight Change (g, %[b])				
	GD 6-18	90.7	88.6 (-2.3)	89.1 (-1.8)	72.0*** (-20.6)
	Food Consumption				
	GD 6-18	24.9	24.7	25.4	23.4*
	Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.13A ラットの胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Daily Dose (U/kg/day)		0	500	1,000	2,000
Litters	Caesarean Section Data:				
	No. Litters Evaluated	22	22	22	21
	No. of Non pregnant	0	0	0	1
	No. of Pregnant	22	22	22	21
	Mean No. Corpora Lutea	14.8	13.7	14.3	13.6
	Mean No. Implantations	13.4	13.1	13.0	12.2
	Mean No. Resorptions	0.7	0.5	0.9	0.4
	No. Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
	No. Live Fetuses	12.7	12.6	12.1	11.8
	Fetal Sex Ratios (% males)	54.3	52.4	40.5	52.9
	Mean % Pre-implantation Loss	8.7	3.7	9.3	10.2
	Mean % Post-implantation Loss	6.4	4.0	6.5	3.3
	Uterine Weight (g)	79.27	79.24	76.71	73.09
	Placental Weight (g)	0.5	0.5	0.5	0.5** [c]
	Mean Fetal Body Weight (g)	3.9	4.0	4.0	3.9

2.6.7.13A ラットの胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Daily Dose (U/kg/day)		0	500	1,000	2,000
Fetuses	No. Fetuses Examined	279	277	266	248
	Fetal External Observations	-	-	-	-
	No. Fetuses Examined	140	137	131	123
	Fetal Visceral Observations (Fetuses/Litters)				
	Thymus, partially undescended	3/2	4/4	3/3	10/7
	No. Fetuses Examined	138	140	135	126
	Fetal Skeletal Observations	-	-	-	-

- :No noteworthy findings, GD: Gestation Day, NC: Not Calculated, *: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$.

a: All concentration values were below the lower limit of quantification.

b: For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significant is based on actual data (not on the percent differences).

c: Change of placental weight in 2,000 U/kg/day group was not considered to be treatment-related due to the same Mean and standard deviation values in control group (Final Report, page 61).

2.6.7.13B ウサギの胚・胎児発生に関する試験

Report Title: Erwinaze: Embryofetal Toxicity and Toxicokinetic Study via Intramuscular Injection in Rabbits Test Article: *Erwinia* asparaginase

Design similar to ICH 4.1.3:	Yes	Duration of Dosing:	GD 6 to 18	Study No.:	11-4372
Species/Strain:	Rabbit/ New Zealand White			Location in CTD:	4.2.3.5.2.4
Initial Age (GD 1-2):	Approximately 5 to 6 months	Day of C-Section:	GD 29	GLP Compliance:	Yes
Day of Mating:	[redacted]20[redacted]	Method of Administration:	Intramuscular (once every other day)		
Date of First Dose:	[redacted]20[redacted]	Vehicle/Formulation:	Saline		
Special Features:	None	Dosing Volume:	0.1 mL/kg		
NOAEL: Maternal Systemic: 10 U/kg/day, Maternal reproductive: < 10 U/kg/day, Fetal: < 10 U/kg/day					

Daily Dose (U/kg/day)		0	10	25	40
Dams	Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}48h}$ (mU•h/mL)				
	GD 6	NC	2090	5140	6020
	GD 18	NC	482	1100	3560
	C_{max} (mU/mL)				
	GD 6	NC	56.8	136	181
	GD 18	NC	42.4	83.1	124
	Immunogenicity (anti Erwinaze antibodies at GD 29) (No. of positive/No. of animals examined)	0/3	3/3	3/3	2/3

2.6.7.13B ウサギの胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Daily Dose (U/kg/day)		0	10	25	40
Dams	Main Toxicity Study:				
	No. of Female entered on study (mated)	22	22	22	22
	No. of Pregnant	21	19	18	20
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Body Weight (g, %[b])				
	GD18	4037.5	4126.5 (2.2)	4030.7 (-0.2)	3771.6* (-6.6)
	Body Weight Change (g, %[b])				
	GD 6-20	220.0	202.8 (-7.8)	164.4 (-25.3)	-44.3***(-120.1)
	Food Consumption (g)				
	GD 6-20	149.4	154.6	142.7	98.3***
	Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.13B ウサギの胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Daily Dose (U/kg/day)		0	10	25	40
Litters	No. Females mated	22	22	22	22
	No. of Non pregnant	1	3	4	2
	No. of Pregnant	21	19	18	20
	Caesarean Section Data:				
	No. Litters Evaluated	21	19	18	20
	Mean No. Corpora Lutea	10.9	10.8	10.6	10.9
	Mean No. Implantations	9.7	9.5	9.1	8.8
	Mean No. Resorptions (vs control)	0.3	0.8 (2.7-fold)	1.3 (4.3-fold)	1.4 (4.7-fold)
	No. Dead Fetuses	0.0	0.0	0.0	0.0
	No. Live Fetuses (% vs control)	9.4	8.6 (-8.5%)	7.8* (-17%)	7.7* (-18%)
	Fetal Sex Ratios (% males)	54.9	43.5	46.9	38.7
	Mean % Pre-implantation Loss	11.6	12.4	13.9	22.8
	Mean % Post-implantation Loss (vs control)	2.6	8.3* (3.2-fold)	12.3 (4.7-fold)	15.6** (6.0-fold)
	Uterine Weight (g)	547.3	504.8	450.7*	432.9**
	Litter Weight (g)	361.6	319.1	286.4	275.7
	Mean Fetal Body Weight (g)	39.1	37.9	37.4	36.0
	Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.13B ウサギの胚・胎児発生に関する試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Daily Dose (U/kg/day)		0	10	25	40
Fetuses	No. Fetuses Examined	198	164	141	147
	Fetal External Observations	-	-	-	-
	Fetal Visceral Observations (Fetuses/Litters)				
	Absent Kidneys	-	-	1/1	8/6
	Small Spleen	-	-	-	4/3
	Absent Accessory Lung Lobe	7/6	28/12	22/10	43/15
	Additional Subclavian Artery	-	4/3	3/3	4/3
	Fetal Skeletal Observations (Fetuses/Litters)				
	Cervical vertebral centrum: hemicentric	0/0	3/3	5/5	16/7
	incompletely ossified	6/4	34/10	18/9	9/8
	2nd phalanx bilateral forelimb: incompletey ossified	4/3	6/5	4/2	14/6
	unossified	17/8	41/12	34/13	61/16
	Metacarpal bilateral forelimb: unossified	14/7	18/6	28/6	39/14
	Sternebral centers: bipartite ossified	3/3	0/0	5/4	8/5
	Sternebral centers: incompletely ossified	3/3	5/4	11/6	12/8

-: No noteworthy findings, GD: Gestation Day, NC: Not Calculated, *: $p<0.05$, **: $p<0.01$, ***: $p<0.001$

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

2.6.7.14A ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

Report Title: Erwinaze: Pre- and Postnatal Development Study in Rats via Intramuscular Injection

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Design similar to ICH 4.1.2:	Yes	Duration of Dosing:	GD 6 to LD 20	Study No.:	11-4373
Species/Strain	Rat/ Sprague-Dawley	Dosing Volume:	0.5 mL/kg	Location in CTD:	4.2.3.5.3.1
Initial Age of Dosing:	Approximately 11 to 13 weeks	Method of Administration:	Intramuscular (once every other day)	GLP Compliance:	Yes
Day of Mating:	GD 0	Vehicle/Formulation:	Saline		
Date of First Dose:	[redacted] and [redacted] [redacted] 20[redacted]	Litters Culled/Not Culled:	Culled on PND 4 (up to 5/sex/litter)		
Special Features:	None				
NOAEL: Maternal and F_1 (pre-/post-natal development): 2,400 U/kg/day					

2.6.7.14A ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Daily Dose (U/kg/day)		0	600	1,200	2,400
F_0 Females	No. of Females entered on study (mated)	22	22	22	22
	No. of Pregnant	21	22	22	22
	No. Non pregnant	1	0	0	0
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	1	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Gestation Body Weight	-	-	-	-
	Lactation Body Weight	-	-	-	-
	Gestation Food Consumption	-	-	-	-
	Lactation Food Consumption	-	-	-	-
	Mean Duration of Gestation	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-

2.6.7.14A ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Daily Dose (U/kg/day)		0	600	1,200	2,400
F_1 Litters: Pre-weaning	No. Litters Evaluated	21	22	22	22
	Mean No. Pups/Litter	12.6	13.5	12.6	13.1
	Mean No. Liveborn pups/Litter	12.4	13.5	12.5	13.1
	Postnatal Survived to PND 4	-	-	-	-
	Postnatal Survived to Weaning	-	-	-	-
	Pup Body Weight	-	-	-	-
	Pup Sex ratios	-	-	-	-
	Pup Clinical Observations	-	-	-	-
	Functional Test				
	Mid-Air Righting (Age at acquisition)[a]	16.3	16.4	16.8**	16.7**
	Surface Righting, Auditory, Visual Function	-	-	-	-

2.6.7.14A ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Daily Dose (U/kg/day)		0	600	1,200	2,400
F_1 Males: Post-weaning	No. Evaluated Post-weaning	21	21	22	22
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Body Weight	-	-	-	-
	Food Consumption	-	-	-	-
	Open Field Evaluations	-	-	-	-
	Locomotor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory	-	-	-	-
	Preputial Separation	-	-	-	-
	Mean No. Days Prior to Mating	-	-	-	-
	No. of Males that Mated	20	21	21	22
	No. of Fertile Males	18	20	20	21
	Necropsy Observations /Organ Weight	-	-	-	-

2.6.7.14A ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Daily Dose (U/kg/day)		0	600	1,200	2,400
F_1 Females: Post-weaning	No. Evaluated Post-weaning	21	21	22	22
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Premating Body Weight	-	-	-	-
	Gestation Body Weight	-	-	-	-
	Premating Food Consumption	-	-	-	-
	Gestation Food Consumption	-	-	-	-
	Open Field Evaluations	-	-	-	-
	Locomotor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory	-	-	-	-
	Vaginal Patency	-	-	-	-
	Estrous Evaluations	-	-	-	-
	Females Paired with Males	21	21	22	22
	Mean No. Days Prior to Mating	-	-	-	-
	No. of Pregnant Females	18	20	20	21
	Mean No. Corpora Lutea	17.8	17.2	17.0	16.7
	Mean No. Implantations	16.9	16.0	16.0	15.8
	Mean % Pre-implantation Loss	4.8	6.4	5.4	4.9
	Necropsy Observations /Organ Weight	-	-	-	-

-: No noteworthy findings, GD: Gestation Day, PND: Postnatal Day, LD: Lactation Day, **: $p<0.01$.
Organ weight: Male (Testes, Epididymides, Prostate, Seminal Vesicles with Coagulating Gland), Female (Ovaries, Uterus with Cervix, Vagina)
a: These statistically significant findings were considered non-adverse due to the minimal changes in magnitude and within the control ranges.

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当する表はない.

2.6.7.16 局所刺激性試験

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses/volume (U/kg) / (mL/site)	Gender and No. /Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rabbit/ Kbl:JW	Intramuscular (Saline)	One Day, Two Days	0.5 mL/site (1,799 - 2,058 U/kg)	6M	Single injection: Five rabbits died or were moribund sacrificed within 2 days post-dosing. Irregular respiration, salivation, clonic convulsions, lateral position,weakness, extension of the hindlimbs and decrese in movement were ovserved prior to death. At the injection site very slight or slight hemorrage, cell infiltration, degeneration and necrosis were observed histopathologically, and these changes and the degree were same as those of saline control injection site. Two injections: Three rabbits died or were moribund sacrificed within 1 day post-dosing. Clinical signs prior to death were similar to those of single injection. At the injection site histopathological findings, including hemorrage, cell infiltration, degeneration and necrosis, were similar to those of the saline control. The degree of changes was slightly severe than those of single injection site and saline control, however, weaker than those of positive control of 0.106% acetic acid.	OD12312
Rabbit/ Kbl:JW	Intramuscular (Saline)	One Day	0.2 mL/site (637 - 690 U/kg)	6M	Five rabbits in test article treated group were found dead 2 days (about 42 hours) after dosing. At the injection site in these dead animals, very slight to slight hemorrage, cell infiltration, degeneration and necrosis were observed histopathologically. These changes and the degree were similar to those of saline control. In one survived rabbit on day 7, slight cell infiltration, mineralization, regeneration were observed in the test article injection site. No changes were observed in saline injection site, and very slight regeneeration was observed in the 0.106% acetic acid injection site.	OD13086

M: male.

2.6.7.17 その他の毒性試験

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Species/ Strain	Method of Administ-ration	Duration of dosing	Doses (U/kg/day)	Gender and No. /Group	Noteworthy Findings	Study Number
Monkey/ Rhesus, Rabbit/ strain not specified	Intravenous (Saline)	Five days (monkey) One day (rabbit)	2,000 U/kg/day (monkey) 10,000 U/kg (rabbit)	1F (monkey) 1 (gender not stated, rabbit)	Neither species of animal showed indications that the enzyme was diabetogenic.	SSARL-DPH-70-07

F: female.

2.6.7.17 その他の毒性試験（続き）

Test Article: *Erwinia* asparaginase

Species/ Strain	Method of Administ-ration	Duration of dosing	Doses (U/kg/day)	Gender and No. /Group	Noteworthy Findings	Study Number
Rabbit/ strain not specified	Intravenous (5% Dextrose Solution)	Single Dose	2,000 U/kg	3 (Gender not stated)	Asparaginase was non-pyrogenic in the test with 2,000 U/kg.	HRC 97
Rabbit/New Zealand White	Intravenous (Saline)	Single Dose	2,000 U/kg	3 females	Asparaginase was non-pyrogenic in the test with 2,000 U/kg.	031-665-6881