インチュニブ錠 1mg, 同 3mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

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

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 4
2.6.6 毒性試験の概要文 5
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 10
2.6.6.3 反復投与毒性試験 (トキシコキネティクス評価を含む) 11
2.6.6.3.1 ラットにおける 5 又は 10 日間反復経口投与 MTD 試験 11
2.6.6.3.2 ラットにおける 4 週間混餌投与毒性試験 13
2.6.6.3.3 ラット反復投与毒性試験 13
2.6.6.3.3.1 ラットにおける 5 週間反復経口投与毒性試験 13
2.6.6.3.3.2 ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験 14
2.6.6.3.4 イヌ反復投与毒性試験の概要 15
2.6.6.3.4.1 イヌにおける 13 週間混餌投与毒性試験 15
2.6.6.3.4.2 イヌにおける 52 週間反復経口投与毒性試験 15
2.6.6.3.5 心臓弁膜症の検討試験 16
2.6.6.3.5.1 ラットにおけるセロトニン及びペルゴリドの心臓弁膜症誘発リスク評価 8 日間反復投与試験 16
2.6.6.3.5.2 ラットにおけるセロトニン及びペルゴリドの心臓弁膜症誘発リスク評価 94 日間反復投与試験 17
2.6.6.3.5.3 ラットにおけるフェンフルラミン/フェンテルミン併用の MTD 及び反復投与毒性試験 17
2.6.6.3.5.4 ラットにおけるフェンフルラミン/フェンテルミン併用及びグアンファシン塩酸塩の心臓弁膜症誘発リスク評価 94 日間反復投与試験 18
2.6.6.3.5.5 セロトニン，ペルゴリド，フェンフルラミン/フェンテルミン併用又はグアンファシン塩酸塩投与ラットにおける心臓弁膜の病理組織学的検査レビュー 19
2.6.6.4 遺伝毒性試験 20
2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 20
2.6.6.4.2 ヒトリンパ球培養細胞を用いる染色体異常試験 21
2.6.6.5 がん原性試験の概要 22
2.6.6.5.1 マウス 78 週間がん原性試験 22
2.6.6.5.2 ラット 102 週間がん原性試験 22
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 24
2.6.6.6.1 マウス受胎能に関する試験 24
2.6.6.6.2 マウス胚・胎児発生に関する試験 25
2.6.6.6.3 ウサギ胚・胎児発生に関する試験 26
2.6.6.6.4 マウス出生前及び出生後の発生に関する試験 26
2.6.6.6.5 海外で実施された生殖発生毒性試験の概要 27
2.6.6.6.6 新生児を用いた試験 28

2.6.6.6.6.1 新生児ラットにおける反復経口投与予備毒性試験 28
2.6.6.6.6.2 新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 28
2.6.6.6.6.3 新生児/幼若ラットにおける反復経口投与 (28 日休薬) 毒性試験 29
2.6.6.6.6.4 グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児ラットにおける反復経口投与予備毒性試験 31
2.6.6.6.6.5 グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 32
2.6.6.7 局所刺激性 35
2.6.6.8 その他の毒性試験 36
2.6.6.8.1 光毒性 36
2.6.6.8.2 抗原性試験の概要 36
2.6.6.8.3 不純物の毒性評価 36
2.6.6.8.3.1 ラットにおける 4 週間混餌投与毒性試験 36
2.6.6.8.4 色素の安全性 38
2.6.6.9 考察及び結論 40
2.6.6.10 図表 44
2.6.6.11 参考文献 45

2.6.6 略号及び用語定義一覧表

略号	略号内容
ADHD	注意欠陥／多動性障害 (attention-deficit/hyperactivity disorder)
ADI	許容 1 日摂取量 (acceptable daily intake)
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ (alanine aminotransferase)
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (aspartate aminotransferase)
AUC	血漿中濃度–時間曲線下面積 (area under the plasma concentration-time curve)
$AUC_{0\text{-}24\ hr}$	時間 0 から 24 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積 (area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 hours)
$AUC_{0\text{-}t}$	時間 0 から測定値を取得した最終時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積 (area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last measurable plasma concentration)
BID	1 日 2 回 (bis in die)
C_{max}	最高血漿中濃度 (maximum plasma concentration)
不純物A*	不純物A*
GLP	Good Laboratory Practice
$5\text{-}HT_{2B}$	セロトニン 2B [5-hydroxytryptamine 2B (serotonin 2B)]
JECFA	国際連合食糧農業機関/世界保健機関合同食品添加物専門家会議 (The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)
LD_{50}	50%致死量 (50% lethal dose)
MPH	メチルフェニデート (methylphenidate)
MTD	最大耐量 (maximum tolerated dose)
NOAEL	無毒性量 (no observed adverse effect level)
NOEL	無影響量 (no observed effect level)
PTWI	暫定耐容週間摂取量 (provisional tolerable weekly intake)
QD	1 日 1 回 (quaque die)
S9	9000 × *g* 上清 (9000 × gravity supernatant)

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

塩野義製薬は，Shire AG (以下，「Shire 社」とする) からグアンファシン塩酸塩 (Shire 社の開発コード：SPD503，公表論文では BS 100-141) の徐放錠 (以下，「本剤」とする) を導入し，小児 (6～17 歳) の注意欠如／多動症 (ADHD) の 1 日 1 回服用の治療薬として本邦において開発を進めている．本剤は，有効成分としてグアンファシン塩酸塩を含んでおり，1 mg 錠及び 3 mg 錠には，それぞれ 1 及び 3 mg のグアンファシン (グアンファシン塩酸塩としては，それぞれ 1.14 及び 3.42 mg) が含まれている．なお，2.6.6 項では，グアンファシン塩酸塩の投与量は，グアンファシン換算で表記した．

グアンファシン塩酸塩の即放性製剤は，青少年及び成人の高血圧治療薬 (エスタリック®) として本邦で過去に承認されており，グアンファシン塩酸塩の非臨床安全性はその際に適切に評価されている [1]．また，グアンファシンの非臨床安全性プロファイルを特徴づける多くの公表論文が参照できる．高血圧治療薬として承認された際の毒性試験に加え，Shire 社は，グアンファシン塩酸塩の小児集団への使用に際してのリスク評価として幼若ラット毒性試験を実施した．さらに，グアンファシンの弱いセロトニン 2B (5-HT_{2B}) 受容体アゴニスト活性の副次的薬理作用と関連する可能性のある心臓弁膜症誘発のリスクを評価する試験，並びに 3 種の不純物の毒性を評価する試験として *in vitro* 遺伝毒性試験及びラット 4 週間反復投与毒性試験を実施した．これらの追加実施試験を含む毒性試験の一覧を表 2.6.6.1-1 に示す．なお，最大耐量 (MTD) 試験，グアンファシン塩酸塩を投与しなかった心臓弁膜症誘発リスク評価関連試験，心臓弁膜症誘発リスク評価試験の病理検査レビュー及びメチルフェニデート (MPH) 併用を検討した幼若動物予備毒性試験以外の追加実施試験は，Good Laboratory Practice (GLP) 適用下で実施した．

表 2.6.6.1-1　毒性試験の一覧表

試験種	動物種，系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	試験番号	GLP 適用
単回投与毒性：　本申請に際して試験は実施せず，文献を引用						
マウス，ラット単回投与毒性	マウス，Jcl:ICR ラット，Jcl:SD	強制経口 静脈内 皮下 強制経口 静脈内 皮下	単回	3～300 10～76 10～600 100～1050 2～15 19～600	公表論文 [2]	非
反復投与毒性：　ラット 5 及び 26 週間試験は文献を引用，イヌ 13 及び 52 週間試験は「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」[1] に記載の試験を引用．						
ラット反復投与毒性 (MTD)	ラット，HsdHan™:WIST	強制経口	5 日間 10 日間	7.5 QD，7.5 BID 7.5 BID (1～4 日)/ 10 BID (5～10 日)	R3666M-SPD503	非
ラット反復投与毒性	ラット，Jcl:SD	強制経口	5 週間	0，0.3，1，3，10，30	公表論文 [2]	非
ラット反復投与毒性	ラット，Jcl:SD	強制経口	26 週間	0，0.1，0.3，1，3，10	公表論文 [3]	非

QD：1 日 1 回，BID：1 日 2 回．

(続く)

表 2.6.6.1-1　毒性試験の一覧表 (続き)

試験種	動物種，系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	試験番号	GLP 適用
反復投与毒性 (続き)						
イヌ反復投与毒性	イヌ，ビーグル	混餌	13 週間	0，1，3，5/10[a]	エスタリック [redacted] [1]	非
イヌ反復投与毒性	イヌ，ビーグル	強制経口	52 週間	0，0.3，1，3	エスタリック [redacted] [1]	非
心臓弁膜症誘発リスク評価[b]	ラット，Hsd:SD	皮下 腹腔内	8 日間 8 日間	0，S：75/60[c] P：0.5，2.0	R2315M-SPD503	非
心臓弁膜症誘発リスク評価[b]	ラット，Hsd:SD	皮下 腹腔内	94 日間 94 日間	0，S：75/60/20[d] P：0.5，1.75	R2890M-SPD503	非
F/Ph 併用 MTD 及び毒性[b]	ラット，Hsd:SD	混餌	7～11 日間[e]	0，F/Ph 併用[e]：5/2.5，30/15，40/20，60/30	R3255M-SPD503	非
心臓弁膜症誘発リスク評価	ラット，Hsd:SD	強制経口 混餌	94 日間 94 日間	0，F/Ph 併用：10/5，30/15[f] G：3，10	R3343M-SPD503	適
心臓弁膜の病理組織学的検査レビュー[g]	NA	NA	NA	NA	C3702M-SPD503	非
遺伝毒性：　不純物の遺伝毒性を評価する目的で，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩と不純物を含むグアンファシン塩酸塩を比較する試験として実施.						
復帰突然変異	ネズミチフス菌	*In vitro*	−	1.6～5000 µg/plate	V01018-SPD503	適
染色体異常	ヒトリンパ球	*In vitro*	−	10～275 µg/mL	V01019-SPD503	適
がん原性：　本申請に際して試験は実施せず，「エスタリック® 0.5 mg [redacted]」[1] を引用.						
マウスがん原性	マウス，OF_1	混餌	78 週間	0，1，3，9.9	エスタリック [redacted] [1]	非
ラットがん原性	ラット，OFA	混餌	102 週間	0，0.55，1.5，5.6	エスタリック [redacted] [1]	非
生殖発生毒性：　本申請に際して試験は実施せず，文献を引用.						
受胎能に関する試験	マウス，Jcl:ICR	強制経口	脚注参照[h]	0，0.5，1.0，2.0	公表論文 [8]	非
胚･胎児発生に関する試験	マウス，Jcl:ICR	強制経口	妊娠 6～15 日	0，0.5，1.0，2.0	公表論文 [9]	非
	マウス，Jcl:ICR	強制経口	妊娠 6～15 日	0，0.5，1.0，2.0	公表論文 [10]	非
	ウサギ，NZW	強制経口	妊娠 6～18 日	0，0.5，1.0，2.0	公表論文 [11]	非
出生前及び出生後の発生に関する試験	マウス，Jcl:ICR	強制経口	妊娠 15～哺育 20 日	0，0.5，1.0，2.0	公表論文 [12]	非
	マウス，Jcl:ICR	強制経口	妊娠 15～哺育 20 日	0，0.25，0.5，1.0	公表論文 [13]	非

S：セロトニン，P：ペルゴリド，F：フェンフルラミン，Ph：フェンテルミン，G：グアンファシン塩酸塩.
NA：該当なし.
a：最初の 7 日間 5 mg/kg/日，それ以降 10 mg/kg/日投与.
b：グアンファシン塩酸塩を投与しなかった試験.
c：セロトニンを投与 1～4 日目まで 75 mg/kg/日，投与 5～8 日目まで 60 mg/kg/日投与.
d：セロトニンを投与 1～3 日目まで 75 mg/kg/日，投与 4～8 日目まで 60 mg/kg/日，それ以降 20 mg/kg/日投与.
e：投与量を一定にしたフェーズでの合計投与日数又は投与量.
f：フェンフルラミン/フェンテルミン高用量併用投与群の 1 例の体重が 10.9%減少したため，この群のすべての動物について投与 3～7 日目は休薬した．該当動物の体重は休薬により回復したため，この群は投与 8 日目に投与を再開した.
g：心臓弁膜症誘発リスク評価試験 (試験番号 R2890M-SPD503 及び R3343M-SPD503) について実施.
h：雄；交配開始 10 週間前から交尾成立まで週 6 日，雌；交配開始 2 週間前から交配期間を経て妊娠 6 日まで週 7 日.

(続く)

表 2.6.6.1-1　毒性試験の一覧表 (続き)

試験種	動物種，系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	試験番号	GLP 適用
生殖発生毒性 (続き)						
海外で実施された試験	ラット，OFA 系 ウサギ，hare type	強制経口			エスタリック [redacted] [1]	非
幼若動物毒性						
幼若動物予備毒性	ラット，Crl:CD (SD) IGS BR	強制経口	42 日間 [a] (7～48 日齢)	0，0.5，1，3，5，10	R00697-SPD503-IIIA	適
幼若動物毒性	ラット，Crl:CD (SD) IGS BR	強制経口	53 日間 (7～59 日齢)	0，0.3，1，2 (雄)，3 (雌)	R00242-SPD503-IIIC	適
幼若動物毒性	ラット，Crl:CD (SD)	強制経口	主群：94 日間 (7～100 日齢) 回復性評価群： 91 日間 (7～97 日齢)	0，0.3，1，3	R3799M-SPD503	適
幼若動物予備毒性 (MPH 併用)	ラット，Crl:CD (SD) IGS BR	強制経口	15 日間 (7～21 日齢)	0 G：1 (雄)，1.5 (雌)，2，2.5 MPH：50，75，125 G/MPH 併用：1/50 (雄)，1.5/50 (雌)，2/75，2.5/125	R01525-SPD503	非
幼若動物毒性 (MPH 併用)	ラット，Crl:CD (SD) IGS BR	強制経口	53 日間 (7～59 日齢)	0 G：1 MPH：50 G/MPH 併用：0.3/16，1/50	R01587M-SPD503	適
その他の毒性試験： 不純物の遺伝毒性を評価する目的で実施した不純物を含まないグアンファシン塩酸塩と不純物を含むグアンファシン塩酸塩を比較する 2 種の遺伝毒性試験は，「遺伝毒性」欄に記載.						
抗原性試験	ウサギ，日本白色種；モルモット，Hartley；マウス，BALB/c；ラット，Slc:SD	−	−	−	エスタリック [redacted] [1]	非
不純物の反復投与毒性 [b]	ラット，Crl:OFA (SD)	混餌	4 週間	0，10	R01020-SPD503	適

投与量の下線は無毒性量 (NOAEL)．G：グアンファシン塩酸塩，MPH：メチルフェニデート．NA：該当なし．
a：5 及び 10 mg/kg/日投与群は 7 日目 (13 日齢) まで投与したが，その翌日，試験から除外した．
b：不純物を含まないグアンファシン塩酸塩と不純物を含むグアンファシン塩酸塩を比較した試験．

本薬の非臨床安全性評価のうち，「エスタリック® 0.5 mg [redacted]」[1] から引用した毒性試験を表 2.6.6.1-2 に示す.

表 2.6.6.1-2　エスタリックの[redacted]を引用した毒性試験

試験種	CTD 記載場所	試験名
反復投与毒性試験	2.6.6.3.3.1	ラットにおける 5 週間反復経口投与毒性試験
	2.6.6.3.3.2	ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験
	2.6.6.3.4.1	イヌにおける 13 週間混餌投与毒性試験
	2.6.6.3.4.2	イヌにおける 52 週間反復経口投与毒性試験
がん原性試験	2.6.6.5.1	マウス 78 週間がん原性試験
	2.6.6.5.2	ラット 102 週間がん原性試験
生殖発生毒性試験	2.6.6.6.1	マウス受胎能に関する試験
	2.6.6.6.2	マウス胚・胎児発生に関する試験
	2.6.6.6.3	ウサギ胚・胎児発生に関する試験
	2.6.6.6.4	マウス出生前及び出生後の発生に関する試験
	2.6.6.6.5	海外で実施された試験の概要 (6 試験)

「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」[1] から引用したこれらの試験では，致死量又は最大耐用量を基に用量設定されていることから，「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」[ICH-M3(R2)] (平成 22 年 2 月 19 日付け，薬食審査発 0219 第 4 号) に照らし合わせて，設定された用量は妥当であると考えられる．さらに，本薬の小児における臨床最大投与量 (0.12 mg/kg/日) 投与時の曝露量近傍 (又はそれを超える) と推察される曝露下で毒性が評価できており，得られた毒性所見に用量反応関係が認められたことから，いずれの試験も適切に非臨床安全性を評価できていると考えられる．また，本薬は 6 歳から 17 歳の小児患者を対象に 3 ヵ月を超えて長期間投与されるが，「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」で製造販売承認申請に推奨される投与期間に従った反復投与毒性試験を実施していることから，投与期間としても適切に非臨床安全性を評価できていると考えられる．以上のことから，「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」[1] から引用したこれらの毒性試験は，本薬の非臨床安全性評価資料として適切であると判断した．

グアンファシン塩酸塩を用いて実施された非臨床安全性試験のデータは，「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」 [1] に要約されている．過去に承認審査を経たエスタリック®の[redacted]に記載されているデータの詳細について，本概要文及び毒性試験の概要表にそのすべてを記載していないが，そこに含まれる情報は，グアンファシン塩酸塩の非臨床安全性プロファイルを評価するための適切な非臨床試験パッケージを計画するにあたって考慮されている．

グアンファシン塩酸塩投与によりラットで認められた毒性は，主として薬理作用の過剰発現によるものであり，体重増加量や摂餌量の抑制に加えて，いくつかの器官の重量減少，臨床病理パラメータの軽度な変動及び消化管への刺激性であった．いくつかのラット反復投与毒性試験で腎臓に病理組織学的変化が報告されているが，ヒトで腎毒性は報告されていない．ラット及びマウスにおいて，角膜混濁の発生率の投与量依存的増加が報告されているが，α アドレナリン受容体作動薬であるクロニジンを投与したラットでも同様の変化がみられていることから，この変化はグアンファシン塩酸塩の α アドレナリン受容体への作用に関連したものと考えられる．なお，角膜の混濁は，ヒトでグアンファシン塩酸塩処方による副作用として報告されてい

ない．イヌでは，薬理作用による一般症状とともに，体重，摂餌量の減少，血糖値の変動がみられ，52 週間反復投与毒性試験では，心電図検査において鋸歯状 T 波の頻度及び程度の増加と QT 間隔の延長が認められた．心血管系に及ぼす影響に関して覚醒イヌを用いて検討した安全性薬理試験では QT 間隔の延長は認められていないことから，イヌ反復投与毒性試験の心電図検査でみられた所見は，ヒトにおける心血管系への影響に関するリスクを示すものではないと考えられる．

グアンファシンの 5-HT_{2B}受容体へのアゴニスト活性に基づく心臓弁膜への影響についてラットを用いて検討を試みたが，設定した試験条件下ではラットにおける心臓弁膜症誘発リスクを確実に評価することはできなかった．

遺伝毒性試験やげっ歯類を用いたがん原性試験の結果から，グアンファシン塩酸塩に変異原性及びがん原性はないと考えられる．

マウス，ウサギ及びラットを用いて実施された生殖発生毒性試験では，マウスにおいて，母体毒性が認められる投与量で胎児に軽度な体重低値並びに外脳及び二分脊椎の奇形が認められたが，これらの奇形はマウスに特異的あるいは感受性が高いことにより発現した変化と考えられる．

中枢刺激薬である MPH との相互作用の評価を含めた幼若ラットを用いた毒性試験において，グアンファシン塩酸塩投与に起因する体重増加抑制 (その結果として軽度な発育遅延) 及び軽度な血液学的パラメータの変動が，グアンファシン塩酸塩の反復投与毒性試験と同様に認められた．眼科学的検査では毒性はみられず，器官重量，剖検又は病理組織学的検査では被験物質投与に起因した変化は認められなかった．グアンファシン塩酸塩投与による学習及び記憶への影響は認められなかった．また，MPH との毒性学的相互作用はみられなかった．

抗原性試験において，モルモットを用いた全身アナフィラキシー反応及びラットを用いた受身皮膚アナフィラキシー反応は陰性であった．

本剤中に含まれる 3 種の不純物 [不純物A*，不純物B*及び
不純物C*] をそれぞれ約　0.5%含むグアンファシン塩酸塩の影響と不純物を含まないグアンファシン塩酸塩の影響とを比較するため実施した2 種の*in vitro* 遺伝毒性試験及びラットにおける 4週間混餌投与毒性試験では，いずれにおいても不純物に起因すると考えられる毒性は認められなかった．

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.2 単回投与毒性試験

添付資料 4.3-001，4.3-105

本剤の申請に際して，単回投与毒性試験は実施していない．しかし，マウス及びラットにおける単回投与毒性試験の情報は，中島ら [2] によって報告されており，「エスタリック® 0.5 mg [redacted]」[1] に引用記載されている．この非 GLP 試験において，経口，静脈内及び皮下投与の 7 日間観察における 50%致死量 (LD_{50}) は，雄ラットでそれぞれ 610, 5.8 及び 230 mg/kg, 雌ラットでそれぞれ 210，6.1 及び 114 mg/kg，雄マウスでそれぞれ 16，25 及び 46 mg/kg，雌マウスでそれぞれ 50, 52 及び 55 mg/kg であった (表 2.6.6.2-1). 致死量近傍で最もよくみられる症状は，呼吸抑制，活動性低下，立毛，運動失調，眼球突出，散瞳及び角膜混濁であった (表 2.6.6.2-2).

表 2.6.6.2-1　グアンファシン塩酸塩のマウス及びラットにおける単回投与時の LD_{50}

動物種/系統	LD_{50} (mg/kg)					
	雄			雌		
	経口	静脈内	皮下	経口	静脈内	皮下
マウス/Jcl:ICR	16	25	46	50	52	55
ラット/Jcl:SD	610	5.8	230	210	6.1	114

表 2.6.6.2-2　単回投与毒性試験でみられた主な所見

動物種/系統性/数	投与経路：投与量 (mg/kg)	主な所見
マウス /Jcl:ICR 雌雄各 10	経口：3，5，10，30, 100, 300	【経口】死亡例：雄 ≥5 mg/kg，雌 ≥10 mg/kg，2～6 日に衰弱死 全投与群：呼吸抑制，自発運動減少，失調性歩行，眼球突出，散瞳，立毛，チアノーゼ ≥30 mg/kg：流涙，角膜混濁
	静脈内：10，15，22.5，34，51，63，76	【静脈内】死亡例：雄 ≥15 mg/kg，雌 ≥34 mg/kg，呼吸困難を伴い，投与後数分以内に死亡 全投与群：呼吸抑制，自発運動減少，失調性歩行，眼球突出，散瞳，立毛，チアノーゼ 中用量以上の投与群：血尿 大部分の投与群：角膜混濁
	皮下：10，19，38，75，150，300，600	【皮下】死亡例：雌雄 ≥19 mg/kg (150 mg/kg 以上の投与群の一部の動物：間代性痙攣及び呼吸困難を伴い，投与後 15～30 分以内に死亡．その他：2～7 日後に衰弱死) 全投与群：自発運動減少，失調性歩行，呼吸抑制，散瞳，眼球突出，流涙，角膜混濁
ラット /Jcl:SD 雌雄各 10	経口：100，160，255，410，655，820，1050	【経口】死亡例：雌雄 ≥160 mg/kg (225 mg/kg 投与群の雄を除く)，投与後 20 分～5 日までの間に死亡 全投与群：自発運動減少，呼吸抑制，立毛，流涎，散瞳，眼球突出．一部の例で角膜混濁，血液の混入した涙液鼻汁
	静脈内：2.0，4.5，6.8，10.0，15.0	【静脈内】死亡例：雌雄 ≥4.5 mg/kg，呼吸困難及び泡沫性の鼻出血を伴い投与後 2～5 分又は 4 日までの間に死亡 全投与群：自発運動減少，失調性歩行，呼吸抑制，眼球突出，散瞳，立毛 雄 ≥45 mg/kg，雌 ≥68 mg/kg：角膜混濁
	皮下：19，38，75，150，300，600	【皮下】死亡例：雄 ≥150 mg/kg，雌 ≥38 mg/kg (75 mg/kg 投与群を除く)，呼吸困難を伴い，投与後 25 分～翌日又は 4 日までの間に死亡 全投与群：自発運動減少，失調性歩行，立毛，反射運動亢進，呼吸不整，散瞳，眼球突出，血液の混入した涙液鼻汁，角膜混濁

2.6.6.3 反復投与毒性試験 (トキシコキネティクス評価を含む)

長期投与可能な高血圧治療薬としてのグアンファシン塩酸塩の承認時には，ラットにおける 26 週までの反復経口投与毒性試験，イヌにおける 52 週までの反復経口投与毒性試験並びにマウス及びラットにおけるがん原性試験を含む包括的な非臨床安全性評価が実施されていた (「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」[1])．しかしながら，これらの主要な試験ではグアンファシンの血漿中曝露評価が実施されていなかった．そこで，マウス及びラットにおけるがん原性試験並びにイヌにおける 52 週間反復経口投与毒性試験で用いた投与量でのグアンファシンの血漿中濃度を確認するために，マウス，ラット及びイヌにおける 14 日間反復経口投与トキシコキネティクス試験が実施された [2.6.4.8 項参照].

ラットを用いた追加試験として，MTD を求める 1 日 1 回 (QD) 又は 1 日 2 回 (BID) 投与による反復経口投与毒性試験 [2.6.6.3.1 項参照], 心臓弁膜症誘発リスクを評価するための 13 週までの反復経口投与試験 [2.6.6.3.5 項参照] 並びに製剤中に含まれる 3 種の不純物 [不純物 I (不純物A*)，不純物 II (不純物B*) 及び不純物III (不純物C*)] の毒性を評価するための 4 週間混餌投与毒性試験 [2.6.6.8.3.1 項参照] が実施された．また，参考文献 [2, 3] として，本邦で報告されているラットにおける 5 及び 26 週間反復経口投与毒性試験 [2.6.6.3.3 項参照] 並びに「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」[1] に記載されているイヌにおける 13 週間混餌投与毒性試験及び 52 週間反復経口投与毒性試験 [2.6.6.3.4 項] についても引用した．

2.6.6.3.1 ラットにおける 5 又は 10 日間反復経口投与 MTD 試験

参考資料 4.2.3.2-02
概要表 2.6.7.6

この試験は，ラットに QD 又は BID で，最長 10 日間反復強制経口投与したときの毒性とトキシコキネティクスプロファイルを確認するため実施した．

雄性 HsdHan™:WIST ラットにグアンファシン塩酸塩を 7.5 mg/kg の投与量で 5 日間反復 QD (7.5 mg/kg QD 投与群) 又は 8 時間間隔で BID (7.5 mg/kg BID 投与群) 投与する群と，7.5 mg/kg の投与量で 4 日間反復 BID 投与後に 10 mg/kg の投与量で 6 日間反復 BID 投与する群 (7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群) の合計 3 群 (1 群 10 例) を設定した．

7.5 mg/kg QD 投与群及び 7.5 mg/kg BID 投与群では投与 5 日目，7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群では 10 mg/kg BID 投与時にあたる投与 10 日目におけるグアンファシンの血漿中濃度を測定した．グアンファシンは速やかに吸収され，投与後 1 又は 9 時間 (2 回目投与後 1 時間) に最高血漿中濃度 (C_{max}) に達した．グアンファシンの半減期には投与量の増加による影響はみられなかった．C_{max} は投与量相関性を示さなかった．血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC) は 7.5 mg/kg QD 投与群と 7.5 mg/kg BID 投与群の間ではほぼ 1 日投与量に比例して増加したが，7.5 mg/kg BID 投与群と 7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群の間では投与量比以上に増大した．

試験期間中に死亡例は発生しなかった．

一般状態所見として，7.5 mg/kg QD 投与群においては，流涎及び口擦りがそれぞれ投与 2 及び 3 日目以降にみられた．これらの所見は，投与 2 又は 3 日目には低頻度であったが，投与 4 又は 5 日目までにはほとんどの動物でみられた．また，7.5 mg/kg BID 投与群及び 7.5 mg/kg

BID/10 mg/kg BID 投与群においては，口擦り，流涎，腹部膨満，活動性低下，呼吸困難，眼球突出，円背，嗜眠，立毛，虚脱，異常発声，口腔周囲褐色汚染，鼻出血，低体温，腹臥，色素涙，眼瞼下垂及び多飲 (暴飲) がみられた．初回投与後からみられ始めるこれらの所見は，両投与群とも発現率や発現時期/期間に大きなばらつきがみられた．投与期間を通じて毎日のようにみられる特定の所見はなかったが，投与後の症状は投与期間中に持続してみられた．また，円背，活動性低下などの所見は BID の 2 回目投与時に時折みられたが，一般的に投与後の症状は投与日の投与前には軽減していた．さらに，活動性低下及び腹部膨満は，BID 投与翌日の 1 回目投与前にも時折みられた．

7.5 mg/kg QD 投与群では，グアンファシン塩酸塩の影響により，5 日間にわたり体重増加が少なかった．7.5 mg/kg BID 投与群では，投与期間中 (投与 1～5 日目) に体重減少 (15.6 g) がみられた．7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群では，7.5 mg/kg BID 投与の期間 (投与 1～4 日目) に体重減少 (18.3 g) がみられた．その後，10 mg/kg BID 投与の期間 (投与 5～10 日目) には，グアンファシン塩酸塩投与に対して順応し，体重が増加した (10.2 g).

摂餌量はグアンファシン塩酸塩投与全群で低値であった．BID 投与両群 (7.5 mg/kg BID 投与群及び 7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群) の摂餌量減少は，投与 1～4 あるいは 5 日目までで差はなかったが，QD 投与群の摂餌量減少よりも大きかった．しかしながら，7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群の摂餌量は，10 mg/kg BID 投与となった投与 5～10 日目には回復した．

剖検では，グアンファシン塩酸塩投与による影響はみられなかった．

病理組織学的検査では，膵臓，食道，胃，空腸 (腸間膜脂肪)，盲腸，結腸及び直腸にグアンファシン塩酸塩投与による影響がみられ，これらのうちいくつかの変化の発現率とその程度には投与量相関性が認められた．7.5 mg/kg BID 投与群の 2/10 例及び 7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群の 4/10 例の膵臓に動脈炎/動脈周囲炎がみられた．7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群の 3/10 例の食道に筋症/筋炎がみられた．7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群の 2/10 例の胃に動脈炎/動脈周囲炎がみられた．これに加えて，7.5 mg/kg BID 投与群の 2/10 例及び 7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群の 5/10 例に胃炎がみられ, その程度は 7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群の方が強かった．また，グアンファシン塩酸塩投与全群の一部の動物に粘膜下織への炎症性細胞浸潤が認められた．7.5 mg/kg QD 投与群の 6/10 例及び 7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群の 8/10 例の幽門部粘膜に組織球の集簇巣が認められたが, 7.5 mg/kg BID 投与群には認められなかった．7.5 mg/kg BID 投与群の 3/10 例及び 7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群の 2/10 例に前胃の過角化がみられた．胃炎は，腺胃の粘膜下織，ときに粘膜における急性炎症性細胞 (多形核白血球) 浸潤を特徴とし，水腫や胃小窩/胃底腺の過形成を伴うこともあった．幽門部粘膜の組織球集簇巣には，組織球の集簇や，時折，多核細胞もみられた．過角化は，前胃粘膜表層の角化層の肥厚を特徴としていた．7.5 mg/kg BID 投与群の 1 例の空腸で腸間膜脂肪組織に動脈炎/動脈周囲炎がみられた．

7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群では，粘膜/粘膜下織の炎症性細胞浸潤が，9/10 例の直腸，5/10 例の盲腸及び 1/10 例の結腸にみられた．この所見は，7.5 mg/kg QD 投与群では 1/10 例の直腸に，7.5 mg/kg BID 投与群では 3/10 例の直腸及び 1/10 例の盲腸にも認められ，粘膜固有層や粘膜下織の急性 (多形核白血球) 炎症性細胞浸潤を特徴とし，時折，水腫を伴っていた．グアン

ファシン塩酸塩投与によるその他の病理組織学的所見は認められなかった.

結論として，グアンファシン塩酸塩を 7.5 mg/kg の投与量で 5 日間反復 QD 又は BID 投与，又は 7.5 mg/kg の投与量で 4 日間反復 BID 投与後に 10 mg/kg の投与量で 6 日間反復 BID 投与した結果，全投与群において刺激性を示唆する消化管障害が認められた.

2.6.6.3.2 ラットにおける 4 週間混餌投与毒性試験

評価資料 4.2.3.7-01
概要表 2.6.7.17.1

不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩の毒性を比較するため，Crl:OFA (SD) ラットにそれらを 4 週間混餌投与し，2 週間の休薬を実施した．この試験の詳細は 2.6.6.8.3.1 項に記載している．要約すると，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩投与群の変化は，おおむね同様であり，摂餌量及び体重増加量の減少，血液学的検査，血液化学的検査及び尿検査のいくつかのパラメータの変動，器官重量の変動が認められた．心臓，脾臓，腸間膜リンパ節，顎下腺及び耳下腺に病理組織学的所見がみられたが, これらの変化は 2 週間の休薬により, 回復又は回復傾向を示した.

2.6.6.3.3 ラット反復投与毒性試験

グアンファシン塩酸塩のラットにおける 5 及び 26 週間反復経口投与毒性試験の 2 報の公表論文 [2, 3] をレビューした．これらの試験でみられた所見は，概してグアンファシンの薬理作用によるものであり,「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」[1] に記載されている所見に含まれている．以下にこれらの論文の概要を記載する.

2.6.6.3.3.1 ラットにおける 5 週間反復経口投与毒性試験

添付資料 4.3-001，4.3-105

グアンファシン塩酸塩を 0 (対照群：蒸留水投与)，0.3，1，3，10 及び 30 mg/kg/日の投与量で Jcl:SD ラット (雌雄各 12 例/群) に 1 日 1 回 (週 6 日) 5 週間反復強制経口投与した [1, 2].

30 mg/kg/日投与群の雌 2 例が投与 2 週目に死亡した．一般状態において，10 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 3 mg/kg/日以上の投与群の雌に呼吸抑制，自発運動減少，立毛，散瞳，眼球突出，流涎，反射運動亢進及び腹部弛緩等がみられ，30 mg/kg/日投与群の雌雄に角膜混濁が認められた．10 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 30 mg/kg/日投与群の雌で体重増加量と摂餌量の減少が認められた．尿検査において，1 mg/kg/日以上の投与群の雌雄に尿量減少が，1～10 mg/kg/日投与群の雄及び 1 mg/kg/日以上の投与群の雌に尿比重の高値が，3 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 3 mg/kg/日投与群の雌に pH 低下が，それぞれみられた．また，1～10 mg/kg/日投与群の雄及び 30 mg/kg/日投与群の雌にたん白の増加が，1 及び 3 mg/kg/日投与群の雄並びに 30 mg/kg/日投与群の雌にウロビリノーゲンの軽度増加が，それぞれみられた．血液学的検査において，10 mg/kg/日以上の投与群の雄にヘモグロビン濃度及び赤血球数の増加が，3 mg/kg/日以上の投与群の雌にヘマトクリット値，ヘモグロビン濃度及び赤血球数の増加が，それぞれみられ，10 mg/kg/日以上の投与群の雌に好中球比率の増加及びリンパ球減少がみられた．血液化学的検査におい

て，10 mg/kg/日投与群の雄にコレステロールの増加が，10 mg/kg/日投与群の雌にアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST) の上昇が，10 mg/kg/日以上の投与群の雄並びに 30 mg/kg/日投与群の雌に尿素窒素の増加が，10 mg/kg/日以上の投与群の雌に総たん白質の減少が，30 mg/kg/日投与群の雄にアルブミンの減少が，それぞれみられた．尿素窒素の増加は軽度であり，腎臓の病理組織所見と関連がないことから，腎機能障害を示唆するものではないと考えられる．剖検において，10 mg/kg/日以上の投与群の雌雄が削痩しており，小腸は軽度に低緊張性であった．グアンファシン塩酸塩全投与群の雄及び 3 mg/kg/日以上の投与群の雌で腎臓表面に直径最大 5 mm の黄色斑が散見された．器官重量において，10 mg/kg/日以上の投与群の雄に肺及び精巣の相対重量増加並びに脾臓，肝臓及び腎臓の絶対重量減少がみられた．また，30 mg/kg/日投与群の雄に脳及び副腎の相対重量増加並びに心臓の絶対重量減少がみられた．雌でみられた器官重量の変化は，いずれも正常範囲内であり，雄の器官重量減少は体重減少による二次的なものと考えられる．病理組織学的検査において，30 mg/kg/日投与群の雄 1 例に肝細胞の巣状壊死が，30 mg/kg/日投与群の雌 1 例の腎皮質に限局性の尿細管拡張，壊死及び尿細管上皮再生が，それぞれみられた．また，同群では，尿細管拡張と他群を含め軽度な間質の小円形細胞浸潤も認められた．さらに，30 mg/kg/日投与群の雌雄の角膜に好中球を含む炎症性細胞浸潤がみられたが，この変化は，一般状態でみられた角膜混濁に関連した変化と考えられる．30 mg/kg/日投与群の雄 1 例のみでみられた肝臓の巣状壊死及び雌 1 例のみでみられた腎皮質における限局性壊死は，それぞれグアンファシン塩酸塩投与による影響と考えられる．

グアンファシン塩酸塩投与に関連した主な所見は，グアンファシンの中枢及び末梢の薬理作用によるものであった．本試験での無影響量 (NOEL) は，雌で 1 mg/kg/日，雄で 3 mg/kg/日と考えられる．

2.6.6.3.3.2 ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験

添付資料 4.3-001，4.3-106

グアンファシン塩酸塩を 0 (対照群：蒸留水投与)，0.1，0.3，1，3 及び 10 mg/kg/日の投与量で Jcl:SD ラット (雌雄各 20 例/群) に 1 日 1 回 (週 6 日) 13 又は 26 週間反復強制経口投与した [1, 3]．各群雌雄各 5 例は 13 週投与終了時に解剖し，残りを 26 週まで投与し，10 例を投与期間終了時に解剖，残りの 5 例を 7 週間の回復試験に割り当てた．

3 mg/kg/日以上の投与群の雌雄に，投与後間もなく強制呼吸，軽度の立毛，眼球突出及び散瞳がみられ，その後，自発運動減少，軽度の鎮静などがみられた．その他，反射運動亢進が投与期間を通して散見された．10 mg/kg/日投与群の雌雄各 1 例に角膜混濁が認められた．3 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 10 mg/kg/日投与群の雌に体重増加抑制がみられたが，休薬により回復が認められた．血液学的検査において，10 mg/kg/日投与群の雄及び 3 mg/kg/日以上の投与群の雌にヘマトクリット値及びヘモグロビン濃度の増加がみられた．また，10 mg/kg/日投与群の雄に好中球比の上昇及びリンパ球比の低下がみられた．10 mg/kg/日投与群の雌におけるヘモグロビン濃度増加以外の変化は，休薬により回復傾向を示した．血液化学的検査において，3 mg/kg/日以上の投与群の雄と 10 mg/kg/日投与群の雌に尿素窒素の増加及び総たん白質の減少がみられたが，これらの変化は休薬により回復した．10 mg/kg/日投与群の雌雄に著しい削痩がみられ

た．また，剖検において，10 mg/kg/日投与群の雌雄各 1 例の右腎臓に部分的な黄白色化がみられた．さらに，3 mg/kg/日以上の投与群の雌雄の胃粘膜に血痕が散見された．3 mg/kg/日以上の投与群の雄に脳及び副腎の相対重量増加，10 mg/kg/日投与群の雄に精巣及び下垂体の相対重量増加がみられた．また，3 mg/kg/日以上の投与群の雄に心臓及び腎臓の絶対重量減少，10 mg/kg/日投与群の雄に肝臓と甲状腺の絶対重量減少がみられた．雄でみられた器官重量減少は，体重減少による二次的なものと考えられる．なお，雌でみられた器官重量の諸変化はいずれも正常範囲内であった．病理組織学的検査において，10 mg/kg/日投与群の雄 2 例及び雌 3 例の腎皮質で広範な凝固壊死巣が認められ，その周辺部には肉芽による分画層と尿細管上皮再生がみられた．また，10 mg/kg/日投与群の雌雄に尿細管拡張及び間質への小円形細胞の小集簇巣が他の群よりも多く認められた．回復試験で認められた変化は，10 mg/kg/日投与群の雄 1 例でみられた腎皮質の壊死を除き，休薬前と比べて軽度であることから，休薬による回復性が示唆された．

体重増加抑制，全身衰弱を含めて投与に関連した多くの変化は，グアンファシン塩酸塩の交感神経興奮様作用と関連するものであった．本試験での NOEL は雌雄ともに 1 mg/kg/日と考えられる．

2.6.6.3.4 イヌ反復投与毒性試験の概要

「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」[1] に記載されているグアンファシン塩酸塩のイヌにおける 13 週間混餌投与毒性試験及び 52 週間反復経口投与毒性試験をレビューした．以下にこれらの試験の概要を記載する．

2.6.6.3.4.1 イヌにおける 13 週間混餌投与毒性試験

添付資料 4.3-001

グアンファシン塩酸塩を 0 (対照群)，1，3 及び 5/10 mg/kg/日 (最初の 7 日間は 5 mg/kg/日，それ以降 10 mg/kg/日) の投与量でビーグルイヌ (雌雄各 2 例/群) に 13 週間混餌投与した [1].

全投与群に嗜眠，3 mg/kg/日以上の投与群に無関心及び流涎，5/10 mg/kg/日投与群に振戦，運動失調等の一般状態所見がみられた．3 mg/kg/日以上の投与群の雌に摂餌量の減少及び体重増加抑制がみられた．血液化学的検査において，3 mg/kg/日以上の投与群に血糖値の変動 (上昇又は低下) が認められ，その程度は高用量群でより大きかった．心電図検査で，5/10 mg/kg/日投与群に心拍数の減少が認められた．血液学的検査，尿検査では異常所見は認められなかった．病理組織学的検査において，5/10 mg/kg/日投与群に脾臓リンパ組織のごくわずかな萎縮，肝細胞に硝子滴様物質がみられた．

2.6.6.3.4.2 イヌにおける 52 週間反復経口投与毒性試験

添付資料 4.3-001

グアンファシン塩酸塩 (カプセル) を 0 (対照群)，0.3，1 及び 3 mg/kg/日の投与量でビーグルイヌ (雌雄各 4 例/群) に 52 週間反復強制経口投与した [1]．また，各群に回復試験群を設定し 52 週間反復投与後に 4 週間の休薬を実施した．

一般状態において，0.3 mg/kg/日投与群ではごくわずかな鎮静がみられたのみであったが，1

mg/kg/日以上の投与群では鎮静, 立毛, 平衡障害 (1 mg/kg/日投与群では初回投与後のみ), 流涎, 嘔吐 (投与 1 週目，その後消失又は減少) がみられた．3 mg/kg/日投与群に体重及び摂餌量の減少がみられた．血液学的検査において，1 mg/kg/日以上の投与群に赤血球数，ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の減少，1 mg/kg/日投与群に血小板数の増加 (52 週目) 及び 3 mg/kg/日投与群に好酸球比減少を伴った好中球比の軽度増加が認められた．血液化学的検査において，1 mg/kg/日投与群に血糖値の軽度あるいは一時的な低下，1 mg/kg/日以上の投与群にナトリウム及びカリウムの減少並びにアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT) の高値が認められた．尿検査では異常はみられなかった．剖検において，3 mg/kg/日投与群に脾臓の萎縮がみられた．病理組織学的検査では，3 mg/kg/日投与群で肝臓類洞に炎症性細胞が認められた．心電図検査において，0.3 mg/kg/日投与群に鋸歯状 T 波が散発的にみられ，1 mg/kg/日以上の投与群でその頻度及び程度の増加傾向又は増加が認められた．また，52 週後に 1 mg/kg/日以上の投与群で QT 間隔の延長が認められた．以上の所見はいずれも休薬期間中に回復又は回復傾向がみられた．本試験の無毒性量 (NOAEL) は 0.3 mg/kg/日と考えられる．

2.6.6.3.5 心臓弁膜症の検討試験

グアンファシン塩酸塩は弱い 5-HT_{2B} 受容体アゴニスト活性を有しているが，この受容体に対する結合親和性 (50%阻害濃度：350 nmol/L) は，薬効標的の α_{2A} アドレナリン受容体に対する結合親和性 (50%阻害濃度：< 3.0 nmol/L) より 100 倍以上低く [2.6.2.6 項参照]，臨床投与量において問題にはならないと考えられる．しかし，5-HT_{2B} 受容体アゴニスト活性は心臓弁膜症誘発に関連するリスクがあることから，ヒトでの心臓弁膜症原因物質を使用した心臓弁膜症誘発リスク評価のための動物モデルの開発を試み, グアンファシン塩酸塩 (投与量 : 3 及び 10 mg/kg/日) の影響を評価するための一連の試験を Shire 社が実施した．心臓弁膜の病理組織学的検査のため，弁膜を含む一定の心臓断面の標本を確実に作製し，最適な染色を施した．また，Shire 社が実施した試験の所見について毒性病理学専門家がレビューした．

2.6.6.3.5.1 ラットにおけるセロトニン及びペルゴリドの心臓弁膜症誘発リスク評価 8 日間反復投与試験

参考資料 4.2.3.2-03
概要表 2.6.7.6

この試験は，有用な心臓弁膜症のラットモデルの開発と，ラットにおいて心臓弁膜症を引き起こすことが報告されている 2 つの陽性対照物質，セロトニン [4] 及びペルゴリド [5] を用いた心臓弁膜症誘発リスクの評価手順を検証するために実施した．雄性 Hsd:SD ラットに 1 日 1 回，セロトニン (投与 1～4 日：75 mg/kg/日，投与 5～8 日：60 mg/kg/日，10 例) を反復皮下投与，又はペルゴリド (投与 1～8 日：0.5 又は 2.0 mg/kg/日，5 例/群) 又は媒体 (10%エタノール水溶液，10 例) を反復腹腔内投与した．

すべての動物を投与終了時に解剖し，心臓を縦断で切出し，パラフィン包埋して，大動脈弁，左房室弁及び右房室弁とともに心房及び心室壁の代表的な部分が含まれるように 5 μm の薄切切片を作製し，ヘマトキシリン・エオジン染色後、病理組織学的検査を実施した．また，各群

3 例の心臓の 5 μm 切片を作製し，グリコサミノグリカンのためにアルシアンブルー染色後，病理組織学的検査を実施した．

心臓弁膜の組織像にバリエーションがあったため，ヘマトキシリン・エオジン染色やアルシアンブルー染色によって，セロトニンあるいはペルゴリドを投与した動物に心臓弁膜症の明らかな所見は認められなかった．

2.6.6.3.5.2 ラットにおけるセロトニン及びペルゴリドの心臓弁膜症誘発リスク評価 94 日間反復投与試験

参考資料 4.2.3.2-04
概要表 2.6.7.6

この試験は，さらに有用な心臓弁膜症のラットモデルの開発と心臓弁膜症誘発リスクの評価手順を検証するために実施した．雄性 Hsd:SD ラットに 1 日 1 回，セロトニン (投与 1～3 日：75 mg/kg/日，投与 4～8 日：60 mg/kg/日，投与 9 日以降：20 mg/kg/日，10 例/群) を反復皮下投与，又はペルゴリド (0.5 又は 1.75 mg/kg/日，5 例/群) 又は媒体 (10%エタノール水溶液，10 例/群) を反復腹腔内投与し，それぞれ 14，28 及び 94 日間反復投与群を設定した．

動物を投与 14, 28 又は 94 日目に解剖し, 心臓組織標本を前述した方法 [2.6.6.3.5.1 項参照] で作製した．

投与 14 日目では，セロトニン又はペルゴリドのいずれかを投与した動物で，明らかな弁の肥厚は認められなかった．投与 28 日目では，セロトニン投与群の 2 例及びペルゴリド 1.75 mg/kg/日投与群の 1 例で，ごく軽度な弁の肥厚がみられた．弁の肥厚は，切片上で弁尖部の明らかな肥厚として認められ，好塩基球の増加，わずかな炎症性細胞浸潤及び/又は 1 ヵ所の有糸分裂像も伴っていた．投与 94 日目では，セロトニン投与群の 3 例及びペルゴリド 0.5 又は 1.75 mg/kg/日投与群の各 1 例で，ごく軽度な弁の肥厚がみられた．しかしながら，心臓弁膜の組織像にバリエーションがあったため，これらの変化は投与の結果とみなすことができなかった．

2.6.6.3.5.3 ラットにおけるフェンフルラミン/フェンテルミン併用の MTD 及び反復投与毒性試験

参考資料 4.2.3.2-05
概要表 2.6.7.6

この試験は，フェンフルラミン及びフェンテルミンを雄性 Hsd:SD ラット (3 例/群) に併用投与したときの MTD を求めるとともに，より長期の反復併用投与時の投与量を設定するために実施した．試験は 2 つのフェーズから構成された．MTD を求めるフェーズでは，短期投与による予備的な毒性と曝露を確認する試験をフェンフルラミン/フェンテルミンの併用による強制経口投与で実施した．投与群としては，3 日間連続投与量漸増群 (投与 1，2 及び 3 日目に，それぞれ 30/15, 60/30 及び 80/40 mg/kg 投与), 60/30 mg/kg/日を 7 日間連続投与する群, 80/40 mg/kg/日を 6 日間連続投与する群並びに 120/60 mg/kg/日 (60/30 mg/kg BID/日) を 2 日間連続投与する群を設けた．投与量を一定にしたフェーズでは，MTD を求めるフェーズの終了後 7 日目から，フェンフルラミン/フェンテルミン併用の混餌による反復経口投与試験を開始した．投与群としては, 対照群 (通常飼料を 15 日間連続投与), 30/15 mg/kg/日を 3 日間連続投与後に休薬期間 (通

常飼料を 3 日間連続投与) を挟んで 30/15 mg/kg/日を 3 日間連続投与後に更なる休薬期間 (通常飼料を 3 日間連続投与) を挟んで 30/15 mg/kg/日を 2 日間連続投与する群，40/20 mg/kg/日を 3 日間連続投与後に休薬期間 (通常飼料を 3 日間連続投与) を挟んで 5/2.5 mg/kg/日を 8 日間連続投与する群，60/30 mg/kg/日を 3 日間連続投与後に休薬期間 (通常飼料を 3 日間連続投与) を挟んで 60/30 mg/kg/日を 3 日間連続投与後に更なる休薬期間 (通常飼料を 3 日間連続投与) を挟んで 60/30 mg/kg/日を 2 日間連続投与する群並びに 5/2.5 mg/kg/日を 7 日間連続投与する群を設けた.

MTD を求めるフェーズ中，3 日間連続投与量漸増群では，雄性ラットはフェンフルラミン/フェンテルミン併用強制経口投与に概してよく耐容し，死亡例も発生しなかった．しかしながら，その他の群では，結果的に有害な臨床症状 (運動失調，異常発声，伏臥位) により早期中止例が発生し，耐容しなかった.

投与量を一定にしたフェーズでは，フェンフルラミン/フェンテルミン併用混餌投与により，全投与群で体重が減少し，摂餌量減少を伴っていた．上述した定期的な休薬期間を設けることにより，体重増加及び摂餌量増加がみられたことから，これらの変化は回復性があることが示された．40/20 mg/kg/日を 3 日間連続投与した動物に，3 日間休薬期間を挟んで，より低い投与量である 5/2.5 mg/kg/日を 8 日間連続投与したところ，8～10 日目に体重減少を示す例がみられたが，その後，増加した．しかしながら，群としては，体重増加量及び摂餌量の減少が，8～14 日目に認められた．5/2.5 mg/kg/日の連続 7 日間投与には耐容した.

2.6.6.3.5.4 ラットにおけるフェンフルラミン/フェンテルミン併用及びグアンファシン塩酸塩の心臓弁膜症誘発リスク評価 94 日間反復投与試験

評価資料 4.2.3.2-01
概要表 2.6.7.7.1

この試験では，ラットでの心臓弁膜症に対するフェンフルラミン/フェンテルミン併用投与の影響を評価するとともに，同じモデルを用いたグアンファシン塩酸塩投与の影響と比較した．フェンフルラミン/フェンテルミン併用投与は，ヒトで心臓弁膜症を引き起こすことが報告されている [6, 7]. 雄性 Hsd:SD ラット (10 例/群) に 1 日 1 回 94 日間，媒体 (水) 又はフェンフルラミン/フェンテルミン (投与量:10/5 及び 30/15 mg/kg/日) を強制経口投与又はグアンファシン塩酸塩 (投与量 : 3 及び 10 mg/kg/日) を混餌投与した．なお，フェンフルラミン/フェンテルミン高用量併用投与群の 1 例の体重が 10.9%減少したため，この群のすべての動物について投与 3～7 日目は休薬した．該当動物の体重は休薬により回復したため，この群は投与 8 日目に投与を再開した. 動物を投与 94 日目に解剖し, 心臓組織標本を前述した方法 [2.6.6.3.5.1 項参照] で作製した.

心臓相対重量の軽度な減少が，フェンフルラミン/フェンテルミン両併用投与群及びグアンファシン塩酸塩両投与群でみられたが，投与に起因する変化ではないと考えられる．ごく軽度な弁の肥厚がフェンフルラミン/フェンテルミン高用量併用投与群及びグアンファシン塩酸塩低用量投与群の各 1 例にみられたが，それら以外の例では被験物質投与に起因した心臓の弁の変化はなかったことから，被験物質投与群各 1 例にのみ認められたこれらの最も軽度なグレー

ドの弁の肥厚は，正常変動の範囲内の変化と判断した．

2.6.6.3.5.5 セロトニン，ペルゴリド，フェンフルラミン/フェンテルミン併用又はグアンファシン塩酸塩投与ラットにおける心臓弁膜の病理組織学的検査レビュー

参考資料 4.2.3.2-06

グアンファシン塩酸塩及び既知のヒト弁膜症原因物質を用いたラット心臓弁膜症誘発リスク評価試験の所見について毒性病理専門家によるレビューを実施した．

Shire 社が実施した 2 つの試験 [2.6.6.3.5.2 及び 2.6.6.3.5.4 項参照] のラット心臓のヘマトキシリン・エオジン染色標本すべてについて，病理検査担当者のオリジナル所見や報告書の情報なしに盲検で組織評価を実施し，その後，非盲検で，病理検査担当者の報告書と所見をレビューした．選別したスライドについて，コラーゲンを検出するためのワンギーソン染色及び細胞増殖活性をみるための Ki67 の免疫染色を実施して検査した．

これらのラット試験の病理専門家レビューにより，セロトニン，ペルゴリド，フェンフルラミン/フェンテルミン併用又はグアンファシン投与群の僧房弁及び動脈弁の組織像は，いずれも対照群と差がないことが示された．

2.6.6.4 遺伝毒性試験

不純物の遺伝毒性を評価する目的で，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩と不純物を含むグアンファシン塩酸塩を比較検討するための遺伝毒性試験を実施した．その結果，細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒトリンパ球培養細胞を用いる染色体異常試験において，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩はともに遺伝毒性を示さなかった．これらの試験結果を以下に記載する．

2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

評価資料 4.2.3.3-01
概要表 2.6.7.8.1

不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩の突然変異誘発性を評価するため，ヒスチジン要求性の 5 種のネズミチフス菌 (TA98，TA100，TA1535，TA1537 及び TA102) を用い，アロクロール 1254 で誘導したラット肝 9000 × *g* 上清 (S9) 画分による代謝活性化系の有無の条件下で，細菌を用いる復帰突然変異試験を 2 回に分けて実施した．

試験 1 では，代謝活性化系の有無に関わらずすべての菌株について，陰性 (溶媒) 対照群及び陽性対照群に加えて，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩ともに，公比 5 で 1.6～5000 μg/プレートの 6 用量を用いて，プレート法にて実施した．その結果，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩ともに，代謝活性化系の有無に関わらず，最高用量 (5000 μg/プレート) で TA102 の生育阻害が観察された．

試験 2 では，代謝活性化系の有無に関わらずすべての菌株について，陰性 (溶媒) 対照群及び陽性対照群に加えて，5000 μg/プレートの用量まで実施した．より狭い用量間隔で変異原活性を評価するために，試験用量は TA102 では公比 2.5 で 20.48～5000 μg/プレートの 7 用量，その他の菌株は公比 2.5 で 51.2～5000 μg/プレートの 6 用量をそれぞれ設定した．さらに，代謝活性化条件においてはプレインキュベーション法による評価も実施した．その結果，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩ともに，代謝活性化条件では最高用量側の 2 又は 3 用量，非代謝活性化条件ではほとんどの菌株の最高用量 (5000 μg/プレート) で生育阻害が認められた．

いずれの試験においても，陰性対照群の復帰変異コロニー数の平均値は許容範囲内であり，陽性対照群の復帰変異コロニー数の平均値は有意に増加した．

代謝活性化の有無に関わらず，いずれの試験菌株も復帰変異コロニー数に統計学的有意差，用量相関性，及び再現性のある増加は認められなかったことから，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩に変異原性はないと考えられた．

以上のように，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩は，ヒスチジン要求性のネズミチフス菌の 5 菌株 (TA98，TA100，TA1535，TA1537，及び TA102) を用いた本試験条件下で突然変異を誘発しなかった．

2.6.6.4.2 ヒトリンパ球培養細胞を用いる染色体異常試験

評価資料 4.2.3.3-02
概要表 2.6.7.8.2

不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩の *in vitro* 染色体異常試験を，男性 3 名の提供者のプールした血液から調製した 2 系列でのヒトリンパ球培養細胞を用いて 2 回に分けて実施した．アロクロール 1254 で誘導したラット肝 S9 画分による代謝活性化系の有無の条件ともに，陰性 (溶媒) 対照群及び陽性対照群に加えて，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩ともに，被験物質処理時の最高用量は 400 µg/mL に設定した．

試験 1 では，非代謝活性化及び代謝活性化条件で 3 時間処理後 17 時間回復させる処理を実施した．染色体標本の観察用量は分裂指数の評価を基に設定した．染色体異常は 3 又は 4 用量を分析した．

不純物を含まないグアンファシン塩酸塩の標本観察のための最高用量は，非代謝活性化及び代謝活性化条件で，それぞれ 275 及び 225 µg/mL を選択し，その時の分裂抑制 (分裂指数の減少) は，それぞれ約 66%及び約 59%であった．不純物を含むグアンファシン塩酸塩の標本観察のための最高用量は，非代謝活性化及び代謝活性化条件ともに 225 µg/mL を選択し，その時の分裂抑制はそれぞれ約 51%及び約 60%であった．

試験 2 では，非代謝活性化条件では 20 時間連続処理を実施した．また，代謝活性化条件では，3 時間処理後 17 時間回復させる処理を実施した．染色体異常は 3 又は 4 用量を分析した．

不純物を含まないグアンファシン塩酸塩の標本観察のための最高用量は，非代謝活性化及び代謝活性化条件で，それぞれ 40 及び 240 µg/mL を選択し，その時の分裂抑制は，それぞれ約 51%及び約 46%であった．不純物を含むグアンファシン塩酸塩の標本観察のための最高用量は，非代謝活性化及び代謝活性化条件で，それぞれ 30 及び 220 µg/mL を選択し，その時の分裂抑制は，それぞれ約 54%及び約 56%であった．

陰性 (溶媒) 対照群の染色体構造異常細胞の割合は，背景データの範囲内であった．陽性対照群として，非代謝活性化条件及び代謝活性化条件で，それぞれ 4-ニトロキノリン 1-オキシド及びシクロホスファミドを用い，両試験とも細胞は処理開始から 20 時間後に回収した．いずれの化合物も染色体構造異常細胞の割合を有意に増加させた．

非代謝活性化及び代謝活性条件での不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩の処理による染色体構造異常細胞の出現頻度は，同時に評価した陰性対照群と同程度であった．異常細胞数 (ギャップを除く) はすべての処理条件で，陰性対照の背景データの範囲内であった．

正常範囲をわずかに超える程度の低頻度かつ散発的な数的異常頻度の増加が，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩の処理の代謝活性化条件で認められた．しかしながら，これらの増加率は小さく，試験間での再現性は明確ではなかったことから，数的異常の増加については，生物学的意義は低いと考えられる．不純物を含むグアンファシン塩酸塩の処理による数的異常頻度は，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩と比較して同程度であった．

以上のように，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩は，代謝活性系の有無に関わらず，細胞毒性を基に用量設定したヒトリンパ球培養細胞を用いる染色体異常試験で染色体構造の異常を誘発しなかった．

2.6.6.5 がん原性試験の概要

本剤の申請に際してがん原性試験は実施していない．

グアンファシン塩酸塩塩徐放製剤の海外における2009年上市以来の約100万人年の利用可能な市販後臨床データの解析では，発がんリスクは認められていない．加えて，長期使用する高血圧治療薬として開発された際に実施された混餌投与によるマウス78週間及びラット102週間がん原性試験では，それぞれ10及び5 mg/kg/日まで投与されたが，がん原性は認められなかった [1]．また，グアンファシン塩酸塩は遺伝毒性試験において，変異原性リスクは認められていない [2.6.6.4 項参照]．これらの確立された安全性プロファイルより，げっ歯類を用いた生涯投与試験を再度実施することは倫理上の観点からも適切ではないと考え，新たにがん原性を評価する試験は実施しなかった．

以下に，「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」[1] に記載されているマウス78週間及びラット102週間がん原性試験の概要を示す．

2.6.6.5.1 マウス78週間がん原性試験

添付資料 4.3-001

グアンファシン塩酸塩を0 (対照)，1，3及び9.9 mg/kg/日の投与量で OF_1 系マウス (雌雄各50例/群) に78週間混餌投与した [1]．

投与期間中の一般状態観察において，3 mg/kg/日以上の投与群の雌雄に立毛，下痢及び自傷徴候増加，雄に生殖器の湿潤，9.9 mg/kg/日投与群に角膜混濁の増加がみられた．全投与群で投与量依存的に体重増加の抑制が認められた．血液学的検査において，雄で投与量依存的にリンパ球減少による白血球数の減少が認められた．病理組織学的検査において，腫瘍の発生頻度及び腫瘍の発生時期に関して対照群と差はなく，また腫瘍の型も変わらなかったことより，マウスにおける本薬のがん原性はないと考えられる．

2.6.6.5.2 ラット102週間がん原性試験

添付資料 4.3-001

グアンファシン塩酸塩を0 (対照)，0.55，1.5及び5.6 mg/kg/日の投与量でOFA系ラット (雌雄各50例/群) に102週間混餌投与した [1]．

投与期間中の一般状態観察において，1.5 mg/kg/日以上の投与群の雌に一過性の運動興奮，全投与群に角膜混濁がみられた．1.5 mg/kg/日投与群の雌及び5.6 mg/kg/日投与群の雌雄で死亡率の低下が認められた．5.6 mg/kg/日投与群に摂餌量及び体重の軽度減少が認められた．血液学的検査において，投与期間前半に5.6 mg/kg/日投与群でヘモグロビン量の軽度減少及びヘマトクリット値の軽度低下がみられた．血液化学的検査において，1.5 mg/kg/日投与群に低血糖及び尿素窒素の散発的な高値傾向 (投与26週), 5.6 mg/kg/日投与群に尿素窒素の軽度高値 (投与初期),

総たん白質の低値傾向及びコレステロール減少 (投与 26 週以降) がみられた. 尿検査において, 1.5 mg/kg/日投与群の雄に陽イオン排泄の散発的減少, 5.6 mg/kg/日投与群に陽イオン排泄の減少がみられた．病理組織学的検査において，5.6 mg/kg/日投与群の雌に非腫瘍性病変として腸拡張及び腸壁肥厚，同群の雄生存例に腫瘍性病変として膵臓ラ氏島腺腫の発生増加が認められた．

本試験における NOAEL は 0.55 mg/kg/日と考えられた．腫瘍発生の頻度及び時期は対照群と差はなく，5.6 mg/kg/日投与群雄の膵臓ラ氏島腺腫の発生増加は，この群の生存率が特に高かったためと考えられ，ラットにおける本薬のがん原性はないと考えられる．

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

高血圧治療薬としてのグアンファシン塩酸塩の承認時には，マウス，ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験により包括的な生殖発生毒性評価が実施された (「エスタリック® 0.5 mg [redacted]」[1]). これらの生殖発生毒性試験には，本概要に記載したマウスを用いた受胎能に関する試験，マウス及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験並びにマウスを用いた出生前及び出生後の発生に関する試験とともに，ラットを用いて海外で実施された一連の生殖発生毒性試験として，受胎能に関する試験，胚・胎児発生に関する試験並びに出生前及び出生後の発生に関する試験が含まれている.

本概要では，上述の本邦の研究グループによって論文発表されたグアンファシン塩酸塩におけるマウス及びウサギを用いた非 GLP 試験 6 報 [8, 9 , 10, 11, 12, 13] 並びに，海外で実施されたラット及びウサギを用いた非 GLP 試験 (「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」[1]) について概略を示す.

小児 (6～17 歳) 期における ADHD の治療を目的としたグアンファシン塩酸塩の使用に際してのリスク評価として，一連の幼若動物毒性試験を GLP 適用下で実施した．また，グアンファシン塩酸塩と中枢刺激薬である MPH を併用投与した際の幼若動物毒性評価も実施した.

2.6.6.6.1 マウス受胎能に関する試験

添付資料 4.3-001，4.3-107

本試験に先立ち実施された Jcl:ICR マウスにおけるグアンファシン塩酸塩の単回経口投与毒性試験 [投与量 : 3.75，15，60，240 及び 960 mg/kg，雌 10 例/群] 及び 14 又は 21 日間反復経口投与毒性試験 [投与量 : 0.5，1.0，2.0 及び 4.0 mg/kg/日，雄 3～5 例/群に 21 日間投与，雌 10 例/群に 14 日間投与] の結果を基に，グアンファシン塩酸塩の投与量は，0.5，1.0 及び 2.0 mg/kg/日に設定された [1, 8].

Jcl:ICR マウス (雌雄各 22 例/群，投与開始時 : 雄 6 週齢，雌 10 週齢) にグアンファシン塩酸塩を 0 (対照群 : 滅菌水道水投与)，0.5，1.0 及び 2.0 mg/kg/日の投与量で，雄については交配開始前 10 週間から交尾成立まで週 6 日，雌については交配開始前 2 週間から交配期間を経て妊娠 6 日まで週 7 日，1 日 1 回反復経口投与した．同居は，対照群並びに 0.5 及び 1.0 mg/kg/日投与群では，同群の雌と雄を 1 : 1 で，2.0 mg/kg/日投与群では，雄 1 例に対し，同群の雌 1 例と無処置雌 1 例を 1 : 2 で組みあわせて，それぞれ実施した．交尾が成立した雄については，雌の妊娠の可能性が推測される時期まで飼育した後に剖検した. 雌は妊娠 18 日に帝王切開し, 黄体数, 着床数，胚・胎児の生存性，胎児体重並びに生存胎児の外表及び骨格の形態を評価した.

親動物ではいずれの群でも死亡例は認められず, 一般状態に顕著な変化は認められなかった. 体重では，1.0 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 2.0 mg/kg/日投与群の雌で対照群と比べて低値であった．雌雄の剖検所見，交尾能及び受胎能にグアンファシン塩酸塩投与の影響は認められなかった．また，黄体数，着床数，胎生期死亡数，生存胎児数並びに生存胎児の外表及び骨格の形態にもグアンファシン塩酸塩投与の影響は認められなかった．グアンファシン塩酸塩全投与群において，胎児の体重，頚椎体骨化数及び尾椎骨数の低値が認められた.

以上の結果から, 胎児の軽度な発育抑制を除いて, 親動物及び胚･胎児の NOAEL は 2.0 mg/kg/

日と判断された.

2.6.6.6.2 マウス胚・胎児発生に関する試験

添付資料 4.3-001，4.3-108 及び 4.3-111

マウス胚・胎児発生に関する試験については，2 つの報告がある [1, 9, 10]．いずれの試験についても，グアンファシン塩酸塩の投与量は，2.6.6.6.1 項の成績を基に，0.5，1.0 及び 2.0 mg/kg/日に設定された.

1 つ目の試験 [1, 9] では，Jcl:ICR 雌性マウス (31～34 例/群) にグアンファシン塩酸塩を 0 (対照群：滅菌水道水投与)，0.5，1.0 及び 2.0 mg/kg/日の投与量で妊娠 6 日から 15 日まで 1 日 1 回反復経口投与し，妊娠 18 日に帝王切開する群 (妊娠末期解剖群) 及び自然分娩させる群 (生後観察群) に配分した．妊娠末期解剖群は，黄体数，着床数，胚・胎児生存性，胎児体重並びに生存胎児の外表及び骨格の形態を評価した．生後観察群の母動物は分娩及び哺育状態を観察し，離乳時に剖検した．出生児は一般状態，生存性，発育及び性成熟を検査するとともに，性成熟後に雌雄を交配させ，雌は自然分娩させた後 1 週間哺育状態を観察した.

妊娠末期解剖群では，黄体数，着床数，生存胎児数及び胚・胎児の死亡数にグアンファシン塩酸塩投与の影響は認められなかったが，1.0 mg/kg/日以上の投与群で胎児体重の軽度な低値が認められた．胎児の外表検査において，1.0 mg/kg/日投与群で外脳が 3 例，二分脊椎が 2 例，2.0 mg/kg/日投与群で二分脊椎が 1 例認められた．骨格検査では，外表異常が認められた胎児を除いてグアンファシン塩酸塩投与による影響は認められなかったが，グアンファシン塩酸塩全投与群で投与量依存的な頚椎体骨化数及び尾椎骨数の低値が認められた．生後観察群では，母動物の哺育行動，剖検所見並びに次世代の児の生存性，発育，一般状態，交尾能及び受胎能にグアンファシン塩酸塩投与の影響は認められなかった.

2 つ目の試験 [1, 10] では，Jcl:ICR 雌性マウス (12～13 例/群) にグアンファシン塩酸塩を 0 (対照群：滅菌水道水投与)，0.5，1.0 及び 2.0 mg/kg/日の投与量で妊娠 6 日から 15 日まで 1 日 1 回反復経口投与し，妊娠 18 日に帝王切開する群 (妊娠末期解剖群) 及び自然分娩させる群 (生後観察群) に配分した．妊娠末期解剖群は，黄体数，着床数，胚・胎児生存性，子宮内発育並びに生存胎児の外表及び内臓の形態を評価した．生後観察群の母動物は分娩及び哺育状態を観察し，離乳時に剖検した．出生児は生存性，発育，反射機能，聴覚機能及び学習行動を検査した.

母動物に死亡は発生せず，一般状態にも異常は認められなかった．母動物の体重において，妊娠期間中では 1.0 mg/kg/日以上の投与群で増加抑制の傾向が強く，哺育期間中では 2.0 mg/kg/日投与群で増加抑制の傾向が認められた．また，投与初期に 2.0 mg/kg/日投与群で摂水及び摂餌抑制傾向が認められた．黄体数及び着床数にグアンファシン塩酸塩投与の影響は認められなかったが，1.0 mg/kg/日以上の投与群で胚・胎児死亡率の高値及び胎児体重の低値が認められた．生存胎児の外表及び内臓検査では，1.0 mg/kg/日投与群で外脳が 1 例，2.0 mg/kg/日投与群で外脳が 1 例，心房中隔欠損が 1 例，心房中隔欠損，動脈の狭窄及び内臓逆位等を伴う複合異常が 1 例，並びに腎臓の異常が 1 例認められた．生後観察群では，次世代の児の生存性，発育，反射機能，聴覚機能及び学習行動にグアンファシン塩酸塩投与の影響は認められなかった.

以上の 2 報の結果から，母動物，胚・胎児の発生及び次世代の発育に関する NOAEL はいずれも 0.5 mg/kg/日と判断された.

2.6.6.6.3 ウサギ胚・胎児発生に関する試験

添付資料 4.3-001，4.3-110

本試験に先立ち実施された非妊娠の雌性 NZW ウサギにおけるグアンファシン塩酸塩の単回経口投与毒性試験 [投与量：5，10，20 及び 30 mg/kg，2 例/群] 及び 14 日間反復経口投与毒性試験 [投与量：0.5，1.5 及び 4.5 mg/kg/日，3 例/群] の結果を基に，グアンファシン塩酸塩の投与量は，0.5，1.0 及び 2.0 mg/kg/日に設定された [1, 11].

NZW ウサギ (11～14 例/群) にグアンファシン塩酸塩を 0 (対照群 : 滅菌水道水投与)，0.5，1.0 及び 2.0 mg/kg/日の投与量で妊娠 6 日～18 日まで 1 日 1 回反復経口投与した．母動物は，妊娠 28 日に帝王切開し，黄体数，着床数，胚・胎児の生存性，胎児体重及び胎盤重量を評価した．また，生存胎児は，外表検査を実施し，主要な臓器の肉眼検査を実施後，骨格の形態を評価した.

試験期間中に，対照群の 1 例及び 2.0 mg/kg/日投与群の 2 例が死亡した．また，0.5 mg/kg/日投与群の 1 例に流産が認められたが，1.0 及び 2.0 mg/kg/日投与群において流産が認められていないことから，グアンファシン塩酸塩投与の影響ではないと判断した. 母動物の体重において，1.0 mg/kg/日以上の投与群で増加抑制が認められたが，投与終了後はいずれの群も回復した．胚・胎児の生存性，子宮内発育，外表・骨格の形態にグアンファシン塩酸塩投与の影響は認められなかった.

以上の結果から，母動物に関する NOAEL は 0.5 mg/kg/日と，胚・胎児の発生毒性に関する NOAEL は 2.0 mg/kg/日と，それぞれ判断された.

2.6.6.6.4 マウス出生前及び出生後の発生に関する試験

添付資料 4.3-001，4.3-109，4.3-112

マウス出生前及び出生後の発生に関する試験については，2 つの報告がある [1, 12, 13]．1 つ目の試験では，グアンファシン塩酸塩の投与量は，2.6.6.6.1 項の成績を基に，0.5，1.0 及び 2.0 mg/kg/日に設定された [1, 12]．2 つ目の試験では，グアンファシン塩酸塩の投与量は，1 つ目の試験成績を基に，0.25，0.5 及び 1.0 mg/kg/日に設定された [1, 13].

1 つ目の試験 [1, 12] では，Jcl:ICR 雌性マウス (21～22 例/群) にグアンファシンを 0 (対照群 : 滅菌水道水投与)，0.5，1.0 及び 2.0 mg/kg/日の投与量で妊娠 15 日から哺育 20 日まで 1 日 1 回反復経口投与した. 母動物は自然分娩させ，分娩及び哺育状態を観察し，離乳時に剖検した．出生児は生存性，発育及び生殖能を評価した.

母動物の妊娠期間，哺育行動及び授乳行動にグアンファシン塩酸塩投与の影響は認められなかった．出生時の産児数にグアンファシン塩酸塩投与の影響は認められなかったが，出生時及び哺育初期の死亡児数がグアンファシン塩酸塩全投与群で投与量依存的に増加した．また，出生時及び離乳時の児体重がグアンファシン塩酸塩全投与群で投与量依存的に低値を示した．離乳後の児の生殖機能，F2 世代の児の生存性及び発育にグアンファシン塩酸塩投与の影響は認め

られなかった.

2 つ目の試験 [1, 13] では，Jcl:ICR 雌性マウス (11～13 例/群) にグアンファシン塩酸塩を 0 (対照群 : 滅菌水道水投与)，0.25，0.5 及び 1.0 mg/kg/日の投与量で妊娠 15 日から哺育 20 日まで 1 日 1 回反復経口投与した．母動物は自然分娩させ，分娩及び哺育状態を観察し，離乳時に剖検した．出生児は生存性，発育分化，反射機能及び行動機能を評価した.

母動物の一般状態，体重，妊娠期間及び授乳行動にグアンファシン塩酸塩投与の影響は認められなかった．出生時の産児数，出生時及び離乳時の児体重，発育分化，反射機能，聴覚検査及び行動検査にグアンファシン塩酸塩投与の影響は認められなかった．出生時の死亡児数にグアンファシン塩酸塩投与の影響は認められなかったが，1.0 mg/kg/日投与群において，哺育初期に死亡児数の増加傾向が認められた.

以上の 2 報の結果から, 次世代の発育及び行動に関する NOAEL は 0.5 mg/kg/日と判断された.

2.6.6.6.5 海外で実施された生殖発生毒性試験の概要

添付資料 4.3-001

ラット妊娠前及び妊娠初期投与試験 (被験物質投与雄と非投与雌における試験) では, グアンファシン塩酸塩を 0，8 及び 16 mg/kg/日の投与量で RAC 系雄性ラットに交配前 74 日間反復経口投与した結果, 妊娠率, 母動物及び児の出生前, 出生後の所見は各群とも正常範囲内であり, 児に奇形は認められなかった.

ラット妊娠前及び妊娠初期投与試験 (被験物質投与雌と非投与雄における試験) では, グアンファシン塩酸塩を 0，8 及び 16 mg/kg/日の投与量で RAC 系雌性ラットに交配前 12 日間反復経口投与した結果，妊娠率，胎児数，胎児体重及び児の出生前，出生後の発育は各群とも正常であり，胎児及び出生児に奇形は認められなかった.

ラットにおける器官形成期投与試験では，グアンファシン塩酸塩を 0，1，3 及び 10 mg/kg/日の投与量で OFA 系雌性ラットに交尾後 6 日目から 15 日目まで反復経口投与した結果，いずれの投与量でも胚致死及び催奇形作用は認められなかった.

ウサギにおける器官形成期投与試験では，グアンファシン塩酸塩を 0，0.5，1 及び 5 mg/kg/日の投与量で hare type 雌性ウサギに交尾後 6 日目から 18 日目まで反復経口投与した結果, いずれの投与量でも被験物質特異的な胚毒性及び催奇形作用は認められなかった.

ラットにおける周産期及び授乳期投与試験では, グアンファシン塩酸塩を 0, 2, 4 及び 8 mg/kg/日の投与量で RAC 系雌性ラットに交尾後 15 日目から分娩後 21 日目まで反復経口投与した結果, 母動物に対して毒性がみられた投与量 (8 mg/kg/日) において胎児数の減少と出生児生存率の低下が認められたが，母動物に対して毒性のない投与量 (2 及び 4 mg/kg/日) では，出生前，出生後の児の生育に異常は認められなかった.

ラットにおける周産期及び授乳期投与試験における次世代の繁殖試験では，グアンファシン塩酸塩を 0，2 及び 4 mg/kg/日の投与量で RAC 系雌性ラットに交尾後 15 日目から分娩後 21 日目まで反復経口投与した. この雌ラットから出生した成長児のさらに次世代について, 妊娠率, 胎児数，胎児体重及び胎児の発育に変化は認められなかった.

2.6.6.6.6 新生児を用いた試験

2.6.6.6.6.1 新生児ラットにおける反復経口投与予備毒性試験

参考資料 4.2.3.5-04
概要表 2.6.7.15.1

Crl:CD (SD) IGS BR ラット (雌雄各 10 例/群) にグアンファシン塩酸塩を 0 (対照群 : 逆浸透膜処理脱イオン水投与), 0.5, 1, 3, 5, 及び 10 mg/kg/日の投与量で 7 日齢から 48 日齢まで 1 日 1 回反復強制経口投与した. ただし, 5 及び 10 mg/kg/日投与群では, 一般状態と体重減少の程度から, 14 日齢以降の投与を中止した.

48 日齢までの投与を完了した 0.5, 1, 及び 3 mg/kg/日投与群では, グアンファシン塩酸塩投与による投与量依存性の毒性症状, 両性に共通の血液学的又は血液化学的変化, 剖検所見, 並びに病理組織学的所見は認められなかった. 3 mg/kg/日投与群の雄では体重増加量の減少が最も大きく (10%), 最終体重の低値に伴う 0.5, 1 及び 3 mg/kg/日投与群の雄における腎臓, 肝臓及び精巣の絶対重量の低値並びに 3 mg/kg/日投与群の雌における卵巣の絶対重量の低値がみられたが, 1 mg/kg/日までの投与群の雄及び 3 mg/kg/日までの投与群の雌は耐容したと考えられる. 本試験における無毒性量は, 雄で 0.5 mg/kg/日, 雌で 1 mg/kg/日と判断した. このことから, 主試験の投与量は 0.3, 1, 2 (雄) 及び 3 (雌) mg/kg/日に設定された.

2.6.6.6.6.2 新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.5-01
概要表 2.6.7.15.2

Crl:CD (SD) IGS BR ラット [主群 : 雌雄各 18 例/群, トキシコキネティクス評価群 : 雌雄各 18 例/群 (対照群を除く)] にグアンファシン塩酸塩を 0 (対照群 : 水投与), 0.3, 1, 2 (雄) 及び 3 (雌) mg/kg/日の投与量で 7 日齢から 59 日齢まで 1 日 1 回反復強制経口投与した. 評価項目は, トキシコキネティクス (14 及び 53 日齢), 一般状態, 一般的な発達, 神経行動発達 (驚愕反応, 縮瞳, 視覚性置き直し反応, 学習及び記憶活動, 神経筋機能), 性成熟, 血液学的検査, 血液化学的検査, 眼科学的検査, 器官重量及び病理組織学的検査であった.

グアンファシン塩酸塩の全身曝露は, おおむね雌雄に差はなく, 14～53 日齢の間で減少した.

2 又は 3 mg/kg/日までを投与した雌雄の新生児/幼若ラットは, 十分に耐容した. グアンファシン塩酸塩投与による死亡及び一般状態への毒性影響はなかった. 1 及び 2 mg/kg/日投与群の雄並びに 1 及び 3 mg/kg/日投与群の雌では, 投与 4 又は 5 週目以降の投与後に時折流涎がみられた. これらの投与群では, 有意な体重増加抑制が 7～11 日齢にかけて認められた. この影響は一過性であり, 11 日齢から解剖した 60 日齢にかけて, 2 mg/kg/日投与群の雄及び 3 mg/kg/日投与群の雌の体重は, 対照群と比較して低値を示したが, これらの動物の成長曲線に影響はみられなかった.

2 及び 7～8 週齢での眼科学的検査において, 毒性所見は認められなかった. 2 mg/kg/日投与群の雄及び 3 mg/kg/日投与群の雌の性成熟及び行動発達に有意な遅延が認められ, これらは対照群と比較して体のサイズがわずかに小さいこと又は身体発達がわずかに遅いことと一致していると考えられる. 認められたこれらの有意な変動は, 亀頭包皮分離及び膣開口の遅延, 雌雄

でのロータロッド試験の最高保持時間の延長並びに雌での自発運動量の増加であった．Morris 水迷路試験による学習及び記憶の評価では，被験物質投与による影響は認められなかった．

60 日齢の血液学的及び血液化学的検査において，2 mg/kg/日投与群の雄で血小板数の低値，3 mg/kg/日投与群の雌でヘマトクリット値，ヘモグロビン濃度及び赤血球数の低値並びにクレアチニンの低値，カリウム及びアルブミン/グロブリン比の高値が認められた．これらの変化は，中用量群 (1 mg/kg/日) でも散見されたが，統計学的な有意差はなく，また，両性に一致して現れないことや剖検，器官重量及び全身の器官組織の病理組織学的検査において，関連する影響は認められていないことから，毒性学的意義に乏しい変化と考えられる．

剖検及び器官重量において，60 日齢では各種器官組織にはグアンファシン塩酸塩投与に起因した毒性所見は認められなかった. 病理組織学的検査においては, 0 (対照群), 0.3, 1 及び 3 mg/kg/日投与群の雌で肺炎が，それぞれ 1/12，1/1，3/3 及び 8/12 例 (0.3 及び 1 mg/kg/日投与群は肉眼的に肺に所見が認められた個体のみ病理組織学的検査を実施した) に認められた．なお，肺炎がみられた個体のうち，0.3 及び 1 mg/kg/日投与群の全例並びに 3 mg/kg/日投与群の 6/8 例が投与期間中に流涎 (唾液分泌の亢進) を示していることから, グアンファシン塩酸塩投与群における肺炎は，自然発生性の変化又は唾液分泌の亢進とその唾液の誤嚥による変化のいずれか，もしくは両方と考えられる．

本試験結果から新生児/幼若ラットにおけるグアンファシン塩酸塩の NOAEL は 1 mg/kg/日と判断された．この投与量でのグアンファシン投与に起因した変化は，投与後の流涎，初期の軽度な体重増加量減少であった．53 日齢 (投与 47 日目) の 1 mg/kg/日投与群の雄及び雌におけるグアンファシンの全身曝露量 [時間 0 から 24 時間までの血漿中濃度−時間曲線下面積 ($AUC_{0\text{-}24hr}$)] は，それぞれ 19.00 及び 21.35 ng·hr/mL であり，国内小児 ADHD 患者 (6～17 歳) における最大投与量 (0.12 mg/kg) での推定最大 AUC 値 272.6 ng·hr/mL [2.7.2.3.3.1 項参照] よりも低かった．

2.6.6.6.6.3 新生児/幼若ラットにおける反復経口投与 (28 日休薬) 毒性試験

評価資料 4.2.3.5-02
概要表 2.6.7.15.3

Crl:CD (SD) ラット [主群:雌雄各 12 例/群, 回復性評価群:雌雄各 6 例/群 (対照群及び 3 mg/kg/日投与群), トキシコキネティクス評価群:雌雄各 20 例/群 (対照群は雌雄各 8 例)] にグアンファシン塩酸塩を 0 (対照群 : 水投与)，0.3，1 及び 3 mg/kg/日の投与量で 7 日齢から 100 日齢 (主群) 又は 97 日齢 (回復性評価群) まで 1 日 1 回反復強制経口投与した．また，7 日齢から 97 日齢まで 1 日 1 回反復強制経口投与した回復性評価群では 28 日間の休薬期間による回復性の評価を実施し，トキシコキネティクス評価も実施した．試験期間中は一般状態観察，体重及び摂餌量を記録した．眼科学的検査を 28 及び 97 日齢に，通常の一般状態観察と区別するために規定した詳細な一般状態観察を 92 及び 99 日齢に，それぞれ実施した．一般状態は，通常，投与前，投与直後及び投与後約 30 分に観察したが，92 日齢のときには投与後約 30 分ごとに，99 日齢のときには投与後約 1 時間ごとにも実施した．休薬期間開始以降にグアンファシン塩酸塩投与による一般状態への影響はみられなかったため，投与後の詳細な一般状態観察はこれ以降実施しな

かった．投与期間及び休薬期間終了時に，選択された器官組織の重量測定と剖検を実施した．心臓については弁膜症の徴候を評価した．

グアンファシンの曝露は 13 及び 96 日齢においてすべての投与量で検出された．C_{max} 及び時間 0 から測定値を取得した最終時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC_{0-t}) の雌雄差は，0.3 及び 1 mg/kg/日投与群では，ほとんどなかったが，3 mg/kg/日投与群では，13 及び 96 日齢ともに雄より雌の方が高かった．C_{max} 及び AUC_{0-t} は，雌雄ともに投与量に応じておおむね投与量比以上の増大を示した．7 日から 96 日齢までの反復投与の結果，いずれの性においてもグアンファシンの蓄積性はなかった．

3 mg/kg/日投与群の雌の少数例では，10～16 日齢 (投与 4～10 日目) にかけて時折脱水がみられ，胃内の母乳は少量であった．3 mg/kg/日投与群の雌の数例でみられた過剰な流涎 (投与前及び投与後) 及び投与期間後半に単発的にみられた異常発声を除けば，すべての動物は正常な状態を維持し，80 日齢まで特記すべき変化はみられなかった．

80 日齢以降，3 mg/kg/日投与群に，投与後の不動立位状態，活動性低下及びふらつき/異常歩行といった異常行動が認められた．その他，注視，緩徐呼吸/呼吸困難又は円背についても，残りの投与期間に散見された．1 及び 3 mg/kg/日投与群の雌では，投与時や動物の取り扱い時に，興奮，緊張，異常発声が時折認められ，3 mg/kg/日投与群の雌では投与時の攻撃性が 1 回みられた．3 mg/kg/日投与群の雌雄では，82 日齢以降に，1 mg/kg/日投与群 (主に雌) では 87 日齢以降に，排尿回数の増加が散発的に認められた．観察時間を規定した 92 及び 99 日齢の一般状態観察においても，これらと同様の症状がみられた．各個体の所見は断続的にみられたが，おおむね所見は投与後 30 分以降に発現し，投与後 5.5 時間まで持続して認められた．1 mg/kg/日投与群の 92 日齢にみられた同様の所見は，3 mg/kg/日投与群と比較して発現例数が少なく，発現時間も短く，投与後 2 時間まで持続して認められた．1 及び 3 mg/kg/日投与群では，99 日齢に投与前 (3 mg/kg/日投与群雌のみ)，投与直後又は投与 2 時間後 (1 mg/kg/日投与群雌のみ) に活動性亢進を示す例がみられ，3 mg/kg/日投与群の雄 2 例については闘争行動及び攻撃性の増加を伴っていた．この所見については，投与 30 分後にはいずれの性についても認められなかった．むしろ，各個体において活動性低下/不活発，又は注視が認められ，ときに半眼あるいは円背を伴っていた．これらの所見は，通常，投与後 30 分から投与後 5 時間の間にみられた．

休薬開始時又はそれ以降において，グアンファシン塩酸塩投与と関連したと考えられる異常行動や一般症状は認められなかった．

体重増加抑制が，3 mg/kg/日投与群の雌雄 (雄；−19%，雌；−7%) 及び 1 mg/kg/日投与群の雄 (−9%) に認められた．この変化は，雄では投与期間を通じて一貫してみられたが，雌では 28 日齢以降は対照群との差はみられなかった．この体重増加抑制に加えて，3 mg/kg/日投与群の雄では離乳 (21 日齢) 以降に，1 mg/kg/日投与群の雄では投与期間後期に，摂餌量の軽度な減少も認められた．3 mg/kg/日投与の雌では，摂餌量はおおむね対照群と同程度であった．休薬期間中の摂餌量には影響はなく，休薬期間終了時において雌雄の体重は対照群と比較して低値のままであったが，3 mg/kg/日投与群の体重増加量は対照群と比較して高値を示した ．

28 及び 97 日齢の眼科学的検査において，グアンファシン塩酸塩投与による変化はなく，器官重量及び剖検においても，グアンファシン塩酸塩投与による変化はみられなかった．病理組

織学的検査では，ごく軽度又は軽度な膵臓腺房の変性/線維化が，0，0.3，1 及び 3 mg/kg/日投与群の雄で，それぞれ 1/12，3/12，4/12 及び 6/12 例，雌で，それぞれ 0/12，3/12，4/12 及び 1/12 例認められ，雄において投与量に依存した発現例数の増加傾向がみられた．28 日間回復試験群においても同質の変化が認められたが，0 及び 3 mg/kg/日投与群の雄における発現例数は，それぞれ 3/6 及び 4/6 例であり，差は認められなかった．回復試験群の 0 及び 3 mg/kg/日投与群の病変の質，強さ及び発現頻度に差がみられなかったことから，当該所見は自然発生性病変であることが示唆される．また，雄の当該所見の発現例数が増加傾向を示した機序として，グアンファシン塩酸塩経口投与により発育成長期の摂餌と体重増加抑制が影響し，内分泌系を介して膵外分泌腺細胞の機能低下を引き起こし，二次的に軽度の退行性変化の発現頻度が増加した可能性も考えられるが，認められた所見は自然発生性病変と同質の軽度な変化であり，毒性学的意義は乏しいと判断した．

心臓弁膜症の評価においても，グアンファシン塩酸塩投与による影響はなかった．

以上のように，グアンファシン塩酸塩を 3 mg/kg/日の投与量でラットに 7 日齢から少なくとも 97 日齢まで反復強制経口投与すると，体重増加抑制，異常行動，頻回排尿及び軽度な摂餌量減少が認められた．同様の変化は，1 mg/kg/日投与群にもみられたが，比較的軽度であり，発現した期間もおおむね投与量依存的であった．3 mg/kg/日投与群の 99 日齢において，投与前及び投与直後に活動性亢進並びに闘争行動及び攻撃性の増加がみられたが，これらの所見は投与後 30 分までにはみられなくなっていた．96 日齢の TK 評価から推測されるグアンファシンの最高血漿中濃度到達時間 (投与後 1 時間) とこれらの所見の発現時間には関連がなく，96 日齢に比べて C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t}$ が高値であった 13 日齢では，活動性亢進並びに闘争行動及び攻撃性が発現していないことから，これら所見の発現は血漿中濃度に依存したものではなかった．また，その他の投与時の一般症状として，奇声，投与困難 (抵抗)，興奮及び緊張が認められており，休薬開始時にはこれらを含む異常行動はすべて消失していたことからも，活動性亢進並びに闘争行動及び攻撃性の増加は，グアンファシン塩酸塩投与による毒性所見ではなく，投与に対する忌避反応であると考えられる．28 日間の休薬により体重増加量は回復したが，最終体重は対照群より低値のままであった．

3 mg/kg/日投与群の眼科学的あるいは病理組織学的検査では，眼球や心臓の弁に変化はみられなかった．体重増加量や異常行動所見によりグアンファシン塩酸塩の NOAEL は雌雄ともに 0.3 mg/kg/日と判断した．96 日齢 (投与 90 日目) の 0.3 mg/kg/日投与群の雄及び雌におけるグアンファシンの全身曝露量 ($AUC_{0\text{-}t}$) は，それぞれ 4.70 及び 5.55 ng·hr/mL であり，上述した国内小児 ADHD 患者における最大投与量 (0.12 mg/kg) の推定最大 AUC 値 272.6 ng·hr/mL よりも低かった．

2.6.6.6.6.4 グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児ラットにおける反復経口投与予備毒性試験

参考資料 4.2.3.5-05
概要表 2.6.7.15.1

Crl:CD (SD) IGS BR ラット (主群；雌雄各 6 例/群，回復性評価群；雌雄各 4 例/群) にグアン

ファシン塩酸塩を 1 (雄), 1.5 (雌), 2 又は 2.5 mg/kg/日の投与量で, MPH を 50, 75 又は 125 mg/kg/日の投与量で，7 日齢から 21 日齢まで 1 日 1 回反復単独又は併用強制経口投与 [グアンファシン/MPH 併用：1/50 (雄)，1.5/50 (雌)，2/75 又は 2.5/125 mg/kg/日] した．各同腹内で雌雄各 1 例を各群に割り付け，同様に割り付けられた対照群には，媒体である水を投与した．試験期間中は，一般状態及び体重を記録し，7 日間の休薬期間も引き続き評価した．トキシコキネティクス評価は主群の 21 日齢のサンプルを用いて実施した．児については，21 あるいは 28 日齢で剖検して肉眼的検査を行った．

グアンファシン塩酸塩は 2.5 mg/kg/日までの投与量を, MPH は 125 mg/kg/日までの投与量を，単独あるいは併用投与したが，新生児ラットの雌雄は十分に耐容した．死亡例が発生したが，一般状態観察で変化なく, 投与量との関係もなく, 生存例の剖検では所見はなかったことから，いずれも被験物質投与に起因したものではないと判断した．

グアンファシンの血漿中曝露量は，単独あるいは MPH との併用投与のどちらでも，雄では投与量 1～2.5 mg/kg/日の範囲，雌では投与量 1.5～2.5 mg/kg/日の範囲で投与量相関があった．しかしながら，MPH との併用投与時のグアンファシンの血漿中曝露量は，単独投与時より高値を示した．

グアンファシン塩酸塩単独，MPH 単独及びそれらの併用投与により，15 日間の投与期間中に平均体重増加量の減少がみられ，おおむね 3 つの試験間で投与量との関係があり，対照群との程度の差についても投与量増加に伴って大きくなった．3 つの試験において，いずれも併用投与群の体重増加量の減少が最も大きく，グアンファシン塩酸塩/MPH 併用 2/75 mg/kg/日投与群の 7～8 日齢及び 2.5/125 mg/kg/日投与群の 7～9 日齢では平均体重の減少を伴っていた．これらの群では，7～21 日齢の間の平均体重増加量は，それぞれ対照群と比較して 57 (雄)/58% (雌) 及び 39% (雌雄) であった．グアンファシン塩酸塩単独投与群及び MPH 単独投与群においても，程度は軽いものの明らかな体重増加抑制がみられた．剖検の結果，被験物質投与に起因する所見は認められなかった．

体重への影響から，主試験のグアンファシン塩酸塩/MPH 併用投与群の高用量は，1/50 mg/kg/日を超えるべきではないと結論した．

2.6.6.6.6.5 グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.5-03
概要表 2.6.7.15.4

本試験の投与量は，予備試験 [2.6.6.6.6.4 項参照] の結果に基づき，グアンファシン塩酸塩/MPH 低及び高用量併用投与群として，それぞれ 0.3/16 及び 1/50 mg/kg/日に，グアンファシン及び MPH 単独投与群として，それぞれ 1 及び 50 mg/kg/日に，設定した．Crl:CD (SD) IGS BR ラット (主群：雌雄各 12 例/群，回復性/生殖機能評価群：雌雄各 20 例/群，トキシコキネティクス評価群：雌雄各 18 例) にグアンファシン塩酸塩を 1 mg/kg/日の投与量で，MPH を 50 mg/kg/日の投与量で，グアンファシン塩酸塩/MPH を 0.3/16 及び 1/50 mg/kg/日の投与量で 7 日齢から 59 日齢まで 1 日 1 回反復単独又は併用強制経口投与した．対照群には，媒体である水を投与し

た．各同腹児を各投与群に割振り，かつ少なくとも雌雄各 1 例を主群に，雌雄各 2 例を回復性/生殖機能評価群に，雌雄各 2 例までをトキシコキネティクス評価群に，それぞれ割り付けた．主群では，一般状態，体重，摂餌量，神経行動学的反応，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査及び器官重量への影響を評価した．これらの動物は約 7 週間反復投与後の 60 日齢で剖検し，肉眼及び病理組織学的検査を実施した．回復性/生殖機能評価群では，一般状態，体重及び摂餌量への影響を評価した．性成熟の過程をモニターし，ホルモン (プロラクチン，テストステロン，プロゲステロン及びエストラジオール) レベルを性成熟の完了日に測定した．神経行動学的反応は，休薬期間中に評価し，性周期，交尾行動及び受胎能を休薬後 3 週以降に検査した．これに加えて，雌全例での血液学的検査及び雌雄全例での測定項目を限定した血液化学的検査を実施した．雌は，交尾後 14 日に生殖機能評価のために剖検し，雌の剖検がすべて終了した後に雄を剖検し，器官重量，肉眼及び病理組織学的検査を実施した．トキシコキネティクス評価は，13 及び 53 日齢で実施した．

MPH と併用投与時のグアンファシンの全身曝露量については，0.3～1 mg/kg/日の投与量範囲で，13 日齢では投与量相関があったが，53 日齢では投与量比をやや上回る増大がみられた．また，グアンファシン塩酸塩 1 mg/kg/日投与時の全身曝露量は，単独投与時よりも MPH (50 mg/kg/日) 併用投与時の方が，より高値を示した．一方，グアンファシン塩酸塩と併用投与時の MPH の全身曝露量は，16～50 mg/kg/日の投与量範囲で，13 日齢では投与量比以下で増大したが，53 日齢では投与量比以上で増大した．また，MPH 50 mg/kg/日投与時の全身曝露量は，単独投与時及びグアンファシン塩酸塩 (1 mg/kg/日) 併用投与時のいずれも同様の値を示した．53 日齢の雌におけるグアンファシンの全身曝露量が雄よりも高いことを除いて，両化合物ともに全身曝露量に性差はなかった．グアンファシン及び MPH の全身曝露量は，53 日齢の方が 13 日齢よりも低値を示した．なお，13 日齢の対照群については，被験物質が検出されないことを確認した．

グアンファシン塩酸塩は 1 mg/kg/日までの投与量を，MPH は 50 mg/kg/日までの投与量を，単独又は併用で反復経口投与したが，新生児/幼若ラットの雌雄は十分に耐容した．被験物質投与による死亡例の発生はなく，被験物質投与による影響と考えられる一般状態所見もなかった．被験物質の薬理作用による一般状態所見は，離乳後 (母動物による活動を抑制させる影響がなくなった後) に明らかになった．これらの薬理作用による症状は，活動性亢進及び常同行動 (動揺歩行，穴掘り行動，頭部旋回行動，パドリング及び過剰な嗅行動) であった．これらの症状の発現頻度は，高用量併用投与群で高く，続いて MPH 50 mg/kg/日投与群，低用量併用投与群の順であり，このことから，過剰な薬理作用による症状の発現頻度，程度及び持続時間は，MPH の影響によることが示唆された．

グアンファシン塩酸塩又は MPH の単独又は併用投与により，対照群と比較して平均体重増加量の減少が投与開始から認められ，高用量併用投与群での影響が最も大きかった．雄では，投与期間を通じて平均体重増加量の減少が明らかで，7～59 日齢間の高用量併用投与群，低用量併用投与群，MPH 50 mg/kg/日投与群及びグアンファシン塩酸塩 1 mg/kg/日投与群の平均体重増加量は，それぞれ対照群と比較して 0.84，0.96，0.93 及び 0.94 倍であった．高用量併用投与群の雌では，平均体重の減少 (0.1 g) が投与初期にみられ，投与期間中の平均体重増加量は対照群と比較して低いままであった (7～59 日齢間で対照群と比較して 0.87 倍)．他の投与群の雌は，

投与初期に平均体重増加量の減少がみられたが，投与期間終了までの平均体重増加量は対照群と同じであった．休薬期間では，被験物質投与群の雌雄，特に高用量併用投与群の雌雄と MPH 50 mg/kg/日投与群の雄の平均体重増加量は対照群と比較してやや高値を示した．同居時 (休薬期間の少なくとも 4 週後) に予定解剖の雌雄の平均体重増加量は対照群と同じであったが，高用量併用投与群の雌雄については，投薬期間中の体重への影響の結果，平均体重は対照群のレベルには達しなかった．

高用量併用投与群及びグアンファシン塩酸塩 1 mg/kg/日投与群の雄は，離乳以降の投与期間 (21～59 日齢) を通じて，平均摂餌量は対照群と比較して低く，高用量併用投与群の大部分は統計学的有意差を示した. また, 高用量併用投与群の雌は 21～41 日齢及び 49～55 日齢において，平均摂餌量は対照群と比較して統計学的に有意な低値を示した. 低用量併用投与群及び MPH 50 mg/kg/日投与群の雌雄，グアンファシン塩酸塩 1 mg/kg/日投与群の雌には，被験物質投与による摂餌量への影響はなかった．休薬期間中の雌雄の平均摂餌量には，グアンファシン塩酸塩及び MPH の投与による影響はないと考えられた．

14～98 日齢間の尺骨成長速度，あるいは回復性/生殖機能評価期間での性成熟の到達日 (雌の膣開口及び雄の包皮分離時の日齢や体重による評価) において，被験物質投与による明らかな影響はみられなかった．性成熟到達時の雌雄のホルモンレベルにおいても，被験物質投与による影響は認められなかった．

投与あるいは休薬期間中の雌雄の自発運動量, 協調運動あるいは学習及び記憶の評価 (Morris 水迷路試験の投与 4 日目の所要時間の改善，エラー回数及び試行失敗回数を投与 1 日目の結果と比較) において，被験物質投与による明らかな影響はみられなかった．

投与最終週の主群の眼科学的検査においても，被験物質投与による変化はみられなかった．

投与最終週の血液学的検査において，統計学的に有意な変化として，MPH 50 mg/kg/日投与群の雌に赤血球数の低値及び平均赤血球ヘモグロビン量の高値が，高用量併用投与群の雌にリンパ球，好酸球及び好塩基球数の高値 (結果的には白血球数の高値) が，それぞれみられた．休薬期間 3 週目には，これらのパラメータは対照群と比較して差はなく，完全に回復していた．全投与群の雄の血液学的検査のパラメータについて，被験物質投与による影響はなかった．

投与最終週の血液化学的検査において，高用量併用投与群及び MPH 50 mg/kg/日投与群の雌雄に被験物質投与の影響が多くみられた．これらの変化は，クレアチニン及びアルブミンの低値，グルコースの高値，アルブミン/グロブリン比の低値，総たん白質の低値，尿素の低値，カリウムの高値，ナトリウムの低値及びカルシウムの低値であった．休薬期間 3 週目には，高用量併用群の雄のクレアチニン及び総たん白質，高用量併用群の雌のアルブミン/グロブリン比，高用量併用群の雌雄のアルブミン，高用量併用投与群及び MPH 50 mg/kg/日投与群の雄のグルコース並びに両併用投与群及び MPH 50 mg/kg/日投与群の雄のカリウムを除いて，これらのパラメータは対照群と比較して差はなく，完全な回復性を示した．

性周期サイクル，同居から交尾成立までの日数，交尾能，受胎能並びに同腹児データ (妊娠 14 日目の黄体数，着床数，総吸収数，生存胚数，着床前及び着床後死亡率) において，被験物質投与による影響は認められなかった．

予定解剖例の主群及び回復性/生殖機能評価群の絶対又は相対器官重量，剖検及び病理組織学

的検査においても，被験物質投与による影響はなかった.

以上の結果から，単独投与又は併用投与におけるグアンファシン塩酸塩 1 mg/kg/日又は MPH 50 mg/kg/日が，本試験における NOAEL と判断した．高用量併用投与群で体重増加量及び摂餌量の減少が最も大きかったのは，MPH 投与による薬理作用増強の結果によるものと考えられる．トキシコキネティクス評価の結果から，グアンファシン 1 mg/kg/日を MPH 50 mg/kg/日と併用投与した場合，グアンファシン塩酸塩 1 mg/kg/日の単独投与よりも高い全身曝露量に到達することが示された．グアンファシン塩酸塩及び MPH の高用量併用投与は，長期投与による毒性影響はないと考えられ，受胎能あるいは胚の生存性に毒性影響はなかった.

2.6.6.7 局所刺激性

本剤の申請に際して，局所刺激性を評価するための特別な試験は実施していない．ラットにおける 10 日間までの反復強制経口投与において消化管への刺激性がみられているが [2.6.6.3.1 項参照]，より長期間，より低い投与量での反復投与毒性試験ではグアンファシン塩酸塩の経口投与による耐容性は良好であった.

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 光毒性

グアンファシン塩酸塩は 290～700 nm の紫外領域の吸収波長を有していないことが示されていること [モジュール 3.2.S.3.1 参照] 及びメラニン含有組織への選択的な分布が認められないこと [1] から，光毒性ポテンシャルはないと考えられ，光毒性試験は実施しなかった.

2.6.6.8.2 抗原性試験の概要

添付資料 4.3-001

抗原性の有無について，日本白色種雌性ウサギ，Hartley 系雌性モルモット，BALB/c 雌性マウス及び Slc:SD 雄性ラットを用いて検討した.

免疫抗原はグアンファシン塩酸塩を精製水に溶解したもの，グアンファシンとヒト血清アルブミンの混合液及びグアンファシンとヒト血清アルブミンの conjugate 液の 3 種類とした.

グアンファシン単独及びグアンファシン・ヒト血清アルブミン混合液でウサギを免疫して得た感作血清を用いて，受身皮膚アナフィラキシー反応による免疫グロブリン G アイソタイプの抗体産生について評価した結果，グアンファシン塩酸塩に特異的な抗体の産生は認められなかった.

また，上記と同じ感作血清を用いて，モルモットによる受動性全身アナフィラキシー反応試験を実施した結果，反応は陰性であった.

2.6.6.8.3 不純物の毒性評価

グアンファシン塩酸塩中に存在する可能性がある不純物の毒性評価のために，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩と不純物 I (不純物A*)，II (不純物B*) 及び III (不純物C*) をそれぞれ約 0.5%スパイクしたグアンファシン塩酸塩の比較検討を目的として，2 種の遺伝毒性試験 (細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒトリンパ球培養細胞を用いる染色体異常試験) 並びにラットにおける 4 週間反復混餌投与毒性試験を実施した．その結果，いずれの試験においても不純物に起因すると考えられる毒性は認められなかった．このうち，遺伝毒性試験の結果は 2.6.6.4 項に記載した．以下にラットにおける 4 週間反復混餌投与毒性試験の結果を示す.

2.6.6.8.3.1 ラットにおける 4 週間混餌投与毒性試験

評価資料 4.2.3.7-01
概要表 2.6.7.17.1

不純物を含まないグアンファシン塩酸塩と不純物を含むグアンファシン塩酸塩の反復投与毒性を比較するため，ラットにおける 4 週間反復混餌投与及び 2 週間休薬による回復性試験を実施した．不純物を含まないグアンファシン塩酸塩又は不純物を含むグアンファシン塩酸塩を 10 mg/kg/日の投与量で Crl:OFA (SD) ラット (雌雄各 10 例/群) に 4 週間反復混餌投与し，対照群 (雌雄各 10 例) には基礎飼料を与えた．また，回復性評価群 (雌雄各 6 例/群) は，4 週間反復投与後に 2 週間の休薬を実施した．試験期間中の一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査，血液学的検査，血液化学的検査，尿検査，器官重量，剖検及び病理組織学的検査並びにトキシコキ

*新薬承認情報提供時に置き換え

ネティクスを実施した.

不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩の毒性は，毒性学的意義に乏しいわずかな違いを除き，基本的に同様であると考えられる．両者に共通の所見として，雌雄で体重増加量，摂餌量及び摂餌効率の減少がみられ，一般状態において，雌雄で口吻部黒染が認められた．血液学的検査において，雌雄で総白血球数，白血球分類数及び血小板数の高値，雌でプロトロンビン時間の延長がみられた．血液化学的検査において，雌雄で AST の高値並びにクレアチニン，グルコース及び総たん白質の低値，雄で尿素及びカリウムの高値並びにトリグリセリドの低値，雌でリンの低値がみられた．尿検査において，雌雄で尿比重，尿中ナトリウム，カリウム及び塩素の高値並びに尿の色調の淡い黄色から中等度の黄色への変化，雄で尿量，尿 pH 及び尿中たん白の低値，雌で尿中たん白の高値がみられた．剖検時に削痩が高頻度に認められ，雌雄で心臓及び肝臓の重量，雄で前立腺及び精嚢の重量，雌で副腎，卵巣，下垂体及び甲状腺の重量がそれぞれ低値であった．また，雄で腺房細胞の肥大を反映していると考えられる顎下腺の相対重量の高値，雌で腺房細胞の萎縮を反映していると考えられる顎下腺の相対重量の低値がみられた．病理組織学的検査において，雄で心臓の多巣性又は限局性の炎症性細胞浸潤，脾臓の髄外造血の減少及びヘモジデリン沈着の増加，腸間膜リンパ節の洞組織球の増加，顎下腺の腺房細胞肥大，並びに雌で顎下腺及び耳下腺の腺房細胞萎縮が認められた．不純物を含まないグアンファシン塩酸塩を投与した動物と比較して，不純物を含むグアンファシン塩酸塩を投与した動物では，雌雄における脾臓のヘモジデリン沈着及び雌における耳下腺腺房細胞の萎縮への影響がやや強かったが，これらの違いは毒性学的に重要でないと考えられる．なお，顎下腺及び耳下腺に腺房細胞の肥大及び萎縮が認められたのは，グアンファシンの薬理作用による唾液分泌亢進に伴い腺房細胞の肥大と萎縮が繰り返され，それらの変化の進行状態の差により，同時期に採取された組織においても異なる病理組織像が観察されたことによると考えられる．したがって，顎下腺の腺房細胞における肥大及び萎縮，並びに耳下腺における腺房細胞の萎縮については，グアンファシン塩酸塩投与による唾液腺分泌機能亢進への一時的な適応反応であり，増殖性もしくは変性性病変ではないことから，毒性学的意義はないと判断した．その他の病理組織学的所見は，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩及び不純物を含むグアンファシン塩酸塩に基本的な違いはないと考えられる．2 週間の休薬期間により，主群の心臓及び脾臓に認められた変化は十分な回復性を，腸間膜リンパ節，顎下腺，及び耳下腺に認められた変化はある程度回復性を示した.

不純物を含まないグアンファシン塩酸塩を投与した雄においてアラニンアミノトランスフェラーゼの高値及びナトリウムの低値が，不純物を含むグアンファシン塩酸塩を投与した雄において網状赤血球の有意な高値がみられたが，これらはごく軽度で単発性の変化であり，毒性学的意義がないと考えられる.

以上の結果から，ラットに不純物を含まないグアンファシン塩酸塩又は不純物を含むグアンファシン塩酸塩を 10 mg/kg/日の投与量で 4 週間混餌投与した後の毒性は，毒性学的意義に乏しいわずかな違いを除き，基本的に同様であると結論できる.

2.6.6.8.4 色素の安全性

添付資料 4.3-133，4.3-134，4.3-135

本剤の 3 mg 錠の着色剤である[redacted]中には[redacted]%の青色 2 号アルミニウムレーキが含まれており [2.3.P.2.1.2 項参照], 着色剤を医薬品に使用する際に微量とみなされる範囲 (0.1%以下) を超えている．また，青色 2 号アルミニウムレーキは，青色 2 号と水酸化アルミニウムとのレーキである．そこで，本項では青色 2 号及び水酸化アルミニウムの安全性について考察する．

本剤の 3 mg 錠には[redacted] mg の青色 2 号アルミニウムレーキが含まれており [2.3.P.1 項参照], 青色 2 号は最大[redacted]%，水酸化アルミニウムは最大[redacted]%含まれていることから，3 mg 錠における青色 2 号及び水酸化アルミニウムの含有量は，それぞれ最大[redacted]及び[redacted] mg となる [2.3.P.2.1.2 項参照].

青色 2 号については，多くの非臨床安全性情報が報告されており，これらに基づき欧州食品安全機関や国際連合食糧農業機関/世界保健機関合同食品添加物専門家会議 (JECFA) において，食品添加物として評価され, 青色2号の許容1日摂取量 (ADI) は5 mg/kgと判断されている [16, 17]．一方，体重 50 kg 未満の小児における本剤の最大投与量は 0.12 mg/kg/日又は 5 mg/日のいずれか少ない量であり，体重 50 kg 以上の小児では 6 mg/日であることから，それぞれの区分で 3 mg 錠を服用する可能性がある小児の最も少ない体重と最も多い 3 mg 錠数の組み合わせは，体重 25 kg の小児が 3 mg 錠を 1 錠服用する場合と体重 50 kg の小児が 3 mg 錠を 2 錠服用する場合となる．したがって，青色 2 号の 1 日摂取量は，表 2.6.6.8-1 に示すように，いずれの場合も[redacted] mg/kg となり，JECFA の ADI に比べて極めて低い．

水酸化アルミニウムについても 3 mg 錠を 2 錠服用した際の摂取量は，[redacted] mg/日となり，本邦での医薬品における水酸化アルミニウムの使用前例である 480 mg/日 [モジュール 3.2.P.2.1 項参照] よりはるかに少ない量である．また，上記と同様に算出した水酸化アルミニウムの 1 日摂取量は，表 2.6.6.8-1 に示すように，アルミニウム換算でいずれの場合も[redacted] mg/kg となり，JECFA によるアルミニウム含有食品添加物の暫定耐容週間摂取量 (PTWI) である 2 mg/kg [18] から算出した耐容 1 日摂取量である 0.28 mg/kg に比べて十分に低い．

表 2.6.6.8-1　本剤の 3 mg 錠を体重 25 kg の小児が 1 錠服用する場合と体重 50 kg の小児が 2 錠服用する場合の青色 2 号及び水酸化アルミニウムの 1 日摂取量並びに ADI 又は耐容 1 日摂取量との比

本剤の 3 mg 錠	青色 2 号アルミニウムレーキの最大含有量	青色 2 号アルミニウムレーキ中の青色 2 号及び水酸化アルミニウムの最大含有量			1 日摂取量 (mg/kg)	ADI 又は耐容 1 日摂取量 (mg/kg)	ADI 又は耐容 1 日摂取量との比 [a]
本剤の 3 mg 錠を体重 25 kg の小児が 1 錠服用する場合							
1 錠	[redacted] mg	青色 2 号	[redacted]%	[redacted] mg	[redacted]	5 [b]	×[redacted]
		水酸化アルミニウム [a]	[redacted]%	[redacted] mg	[redacted]	0.28 [c]	×[redacted]
本剤の 3 mg 錠を体重 50 kg の小児が 2 錠服用する場合							
2 錠	[redacted] mg	青色 2 号	[redacted]%	[redacted] mg	[redacted]	5 [b]	×[redacted]
		水酸化アルミニウム [a]	[redacted]%	[redacted] mg	[redacted]	0.28 [c]	×[redacted]

a：含有量及び 1 日摂取量は，分子量に基づくアルミニウム換算量.
b：JECFA (1974) [16] による青色 2 号の ADI.
c：JECFA (2011) [18] によるアルミニウム含有食品添加物の PTWI (2 mg/kg) を耐容 1 日摂取量に換算.

以上のように，本剤の 3 及び 6 mg 投与時に，それぞれ[redacted] mg/日及び[redacted] mg ([redacted] mg × 2) / 日の青色 2 号アルミニウムレーキが摂取されることになるが，摂取される青色 2 号及び水酸化アルミニウムの 1 日摂取量は，それぞれの ADI や耐容 1 日摂取量に対して十分な安全域があることから，安全性上の問題はないと考えられる．なお，本剤は既に海外で使用実績 (4 mg 錠を 1 日 1 回 1 錠服用, 青色 2 号アルミニウムレーキの 1 日摂取量は[redacted] mg [表 2.3.P.2.2-4 参照]) があり，本色素に起因すると考えられる有害事象は報告されていない.

2.6.6.9 考察及び結論

グアンファシン塩酸塩は，徐放製剤として，2009 年の上市以来海外において臨床使用されており，約 100 万人年の市販後臨床データ解析から，その安全性プロファイルは十分に確認されている. 本邦でも青少年及び成人の高血圧治療薬として過去に承認され販売されていた実績がある. 高血圧治療薬としての最初の開発においては，ラットにおける 26 週までの反復投与毒性試験 (10 mg/kg/日までの投与量) 及びイヌにおける 52 週までの反復投与毒性試験 (3 mg/kg/日までの投与量) に加え，げっ歯類におけるがん原性試験，マウス，ウサギ及びラットにおける生殖発生毒性試験，並びにモルモット及びラットを用いた抗原性試験が実施された. これらの非臨床試験は 1983 年 4 月の GLP 運用開始以前に実施されており (「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」[1])，いくつかの試験では，現在要求されている試験基準に適合していないが，上述したように，過去には本邦で高血圧治療薬として，最近では米国で ADHD 治療薬として，広く臨床経験があることを踏まえ，現在の基準での再試験は不要と判断した. 一方，ADHD 治療薬としての開発に必要な試験として，ラットを用いた 5-HT_{2B} 活性に関するグアンファシン塩酸塩の副次的薬理学的評価及び心臓弁膜症に関連したリスク評価試験, 短期反復投与試験及び小児集団への適用に際してのリスク評価としての幼若動物毒性試験を追加した. 加えて，製剤中に含まれる不純物評価のために *in vitro* 遺伝毒性試験とともに 4 週間反復投与毒性試験も実施した.

グアンファシン塩酸塩のラットへの反復経口投与により，自発運動減少，呼吸抑制，立毛，散瞳，眼球突出及び反射運動亢進等の一般状態変化，体重増加量及び摂餌量の減少並びに臨床病理パラメータの軽度な変動が，各試験におおむね共通して認められた [1, 2, 3]. 一般状態に認められた所見の多くは，類似の α アドレナリン受容体作動薬であるクロニジンでも認められており [19]，グアンファシンの α アドレナリン受容体を介する交感神経系刺激による薬理作用が強く発現した結果と考えられる. 血液化学的検査で認められた総たん白質及びアルブミンの減少は，摂餌量及び体重減少に伴う二次的な影響と考えられる. 血液学的検査において赤血球系パラメータの増加が認められたが，ラットにおける 5 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：0.3，1，3，10 及び 30 mg/kg/日) [1, 2] では血液の粘稠もみられていることから，血液濃縮の影響によるものと考えられる. 腎臓の病理組織学的変化がラットにおける 5 週間及び 26 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：0.1，0.3，1，3 及び 10 mg/kg/日) [1, 2, 3] の高用量群の少数例で認められているが，臨床では腎毒性の報告はない. ラット及びマウスにおいて，投与量の増加にしたがって角膜混濁の発生率の増加が認められたが，クロニジンでも同様の変化がみられており [19]，この変化はグアンファシンの α アドレナリン受容体への作用により眼球が突出し，角膜の乾燥や機械的刺激が加わったことに起因する二次的変化と考えられる. なお，角膜の混濁は，ヒトでグアンファシン塩酸塩処方による副作用として報告されていない. ラットにおける 5 日間 (1 日投与量 : 7.5 mg/kg QD 及び 7.5 mg/kg BID) 又は 10 日間 (1 日投与量 : 7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID) 反復経口投与毒性試験において，消化管粘膜の病理組織学的変化が認められ，刺激性が示唆されたが，同様の所見は他のより長期の試験では認められなかった.

長期投与時の安全性を評価するげっ歯類における毒性試験として実施された上記のラット 26 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：0.1，0.3，1，3 及び 10 mg/kg/日) [1, 3] では，グアンファシンの血漿中曝露評価を行っていない. 最高用量である 10 mg/kg を投与した際の雄及び雌の推

定 $AUC_{0\text{-}24hr}$ [ラットにおけるトキシコキネティクス試験での 5 mg/kg/日投与時の定常状態の AUC [2.6.7.3 項参照] を 2 倍した値] は，それぞれ 68 及び 150 ng·hr/mL であり，国内小児 ADHD 患者 (6～17 歳) における最大投与量 (0.12 mg/kg) での推定最大 AUC 値 272.6 ng·hr/mL [2.7.2.3.3.1 項参照] を下回っていた．しかしながら，10 mg/kg/日投与群で中毒症状，体重増加抑制 (雄 36%，雌 15%) や腎皮質の壊死等の所見が認められていることから，ラットにおいては臨床最大曝露量を上回る条件下でのさらなる反復投与毒性試験の実施は困難と判断した．一方，マウスを用いた 78 週間投与がん原性試験 (投与量：1，3 及び 10 mg/kg/日) [1] における推定曝露量は表 2.6.6.9-1 に示すように，低用量では臨床最大曝露量を下回っていたが，中用量は臨床最大曝露量をやや上回っていたと推察され，1 mg/kg/日以上の投与群で投与量依存的に体重増加抑制が，3 mg/kg/日以上の投与群で中毒症状もみられている．したがって，マウスにおける長期投与時の安全性は，臨床最大曝露量を上回る試験条件下で評価されていると考えられる．

表 2.6.6.9-1　マウスがん原性試験の推定曝露マージン

試験種	投与量 (mg/kg/日)	C_{max} (ng/mL)		AUC (ng·hr/mL)		小児 (6～17 歳) に 0.12 mg/kg 投与した時の推定曝露マージン [a]			
						C_{max}		AUC	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
マウス 78 週 [b]	1	8.28	8.90	147.7	135.1	0.6	0.7	0.5	0.5
	3	17.0	21.8	304.8	435.3	1.3	1.7	1.1	1.6
	10	NC	NC	NC	NC	NA	NA	NA	NA

NC：計算せず.　NA：該当データなし.
a：国内小児 ADHD 患者 (6～17 歳) における最大投与量 (0.12 mg/kg/日) での推定 C_{max} 値 (12.9 ng/mL) 及び推定最大 AUC 値 (272.6 ng·hr/mL) [2.7.2.3.3.1 項参照] を用いて算出した.
b：マウスにおけるトキシコキネティクス試験からの推定曝露量.

グアンファシン塩酸塩のイヌへの 13 週間混餌投与及び 52 週間反復経口投与により，グアンファシンの薬理学的作用に関連すると考えられる鎮静，嗜眠，流涎，立毛及び運動失調等の一般状態所見，摂餌量の減少並びに体重増加抑制又は体重減少，血液化学的検査における血糖値の変動等が認められた．52 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：0.3，1 及び 3 mg/kg/日) [1] では，1 mg/kg/日以上の投与群で血液学的検査において赤血球系パラメータの減少，血液化学的検査において ALT の高値及びナトリウム，カリウムの減少がみられたが，病理組織学的検査では関連する異常所見は認められず，いずれの変動も休薬期間中に回復又は回復傾向を示した．心電図検査において，1 mg/kg/日以上の投与群に鋸歯状 T 波及び QT 間隔の延長が認められたが，心血管系に及ぼす影響に関して覚醒イヌを用いて検討した安全性薬理試験 [2.6.2.4.1.2 項参照] では，国内小児 ADHD 患者の推定血漿中 C_{max} 値である 12.9 ng/mL の 2.8 倍を示した投与条件下 (1.5 mg/kg 投与) において QT 間隔の延長は認められていない．したがって，上記のイヌ反復投与毒性試験の心電図検査でみられた所見は，ヒトにおける心血管系への影響に関するリスクを示すものではないと考えられる．

グアンファシンの $5\text{-}HT_{2B}$ 受容体へのアゴニスト作用に基づく心臓弁膜への影響についてラットを用いて検討したが，設定した試験条件下ではラットにおける心臓弁膜症誘発リスクを確実に評価することはできなかった．

遺伝毒性試験及びげっ歯類のがん原性試験 (「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」[1]) の結果は，いずれも陰性であったことから，グアンファシン塩酸塩の変異原性及びがん原性はないと判断される．

生殖発生毒性試験は，6 報の公表論文 [8, 9, 10, 11, 12, 13] 及び海外で実施された試験 (「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」[1]) があり，公表論文では，マウスにおいて，受胎能及び初期胚発生，胚・胎児発生並びに出生前及び出生後の発生に関する評価，ウサギにおいて，胚・胎児発生に関する評価が実施されている．マウスにおける受胎能及び初期胚発生試験では，0.5 mg/kg/日以上の投与群で胎児の軽度な発育抑制が認められたが，親動物の受胎能，胚・胎児の生存性及び胎児の催奇形性は認められなかった．マウスの胚・胎児発生試験では，母体毒性が認められた 1.0 mg/kg/日以上の投与群で胎児に外脳，二分脊椎等の異常及び 0.5 mg/kg/日以上の投与群で胎児の軽度な発育抑制が認められたが，ウサギにおける胚・胎児発生試験では，胚・胎児にグアンファシン塩酸塩投与による影響は認められなかった．マウスにおける出生前及び出生後の発生に関する試験では，0.5 mg/kg/日以上の投与群で出生児の生存性の低下及び発育抑制が認められた．以上の結果から，マウスにおける次世代の発生，発育及び催奇形性に関する NOAEL は 0.25～0.5 mg/kg/日近傍，ウサギにおける胚・胎児の発生，発育及び催奇形性に関する NOAEL は 2 mg/kg/日と考えられる．マウスにおける胚・胎児発生に関する試験で認められた胎児の奇形及び発育抑制は，母体毒性が認められる投与量でみられている．「エスタリック® 0.5 mg[redacted]」[1] や種々の報告 [14, 15] にあるように，マウスの母体が低栄養状態であった場合，外脳症や脊椎の奇形を含む種々の奇形の発現が増加することが知られており，マウスは他の種に比べてこれら奇形発現の感受性が特に高いことが知られている [14]．したがって，グアンファシン塩酸塩によるマウスにおける奇形の発現には母体の摂餌量低下及び体重増加抑制とそれらに起因する低栄養が主な原因となっていると考えられる．また，上述したように，ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験では，マウスで認められたような奇形や発育抑制は認められなかったこと，ラットでもグアンファシン塩酸塩の催奇形性は認められていないことが報告されており [1]，マウスで認められた奇形は種特異的あるいは感受性が高いことにより発現した変化と考えられる．一方，生殖発生毒性試験では，グアンファシンのトキシコキネティクスデータが存在しないため，ヒトとの曝露データの比較は困難である．しかしながら，混餌投与で実施されたグアンファシンのトキシコキネティクスデータより，マウスにおいて母体毒性及び胚・胎児毒性が認められた投与量 (1.0 mg/kg/日) における曝露量 ($AUC_{0\text{-}24hr}$) は 135.1 ng·hr/mL [2.6.7.3 項参照] と推定され，上述した臨床最大曝露量を下回っていたと推察される．また，ラットにおいて [^{14}C]-グアンファシン塩酸塩由来の放射能は胎盤を通過する [2.6.4.4.2 項参照] ことが判明している．以上のことから，マウスで認められた奇形はヒトへの外挿性が乏しいと考えられるが，臨床最大曝露量を下回っていたと考えられる投与量で認められていることを考慮して，グアンファシン塩酸塩は妊婦及び妊娠している可能性のある女性には，治療上の有益性が危険性を上回ると判断される場合にのみ投与すべきと判断した．また，ラットにおいて，[^{14}C]-グアンファシン塩酸塩由来の放射能は乳汁中に移行する [2.6.4.4.3 項参照] こと，マウスにおける出生前及び出生後の試験では，臨床最大曝露量を下回っていたと考えられる低用量で出生児の生存性の低下及び発育抑制が認められていることを考慮すると，授乳中の婦人に対して，本剤の投与期間中は授乳を避けるか，やむを得ず

授乳をする場合は投与を中止するべきであると判断した.

小児 (6～17 歳) の投与年齢をカバーする幼若動物毒性試験として，7 日齢のラットを用いて 59 日齢まで投与する試験 [投与量：0.3，1，2 (雄) 及び 3 mg/kg/日 (雌)] 及び 97 又は 100 日齢まで投与する試験 (投与量:0.3, 1 及び 3 mg/kg/日) を実施した. 59 日齢まで投与する試験では，投与初期の軽度な体重増加抑制や高用量群での血液学及び血液化学的パラメータの変動, 性成熟の遅延及び活動性の亢進がみられたが, 眼科学的検査及び病理組織学的検査では毒性所見は認められなかった．97 又は 100 日齢まで投与する試験では，主に高用量投与により体重増加抑制，投与後期に活動性低下，歩行異常，攻撃性増加等の行動異常がみられたが，眼科学的検査，心臓弁膜症の評価，病理組織学的検査では異常は認められなかった．休薬時に行動異常及び体重増加抑制はみられず，回復性は良好であった．いずれの試験でも，幼若動物に特有の毒性所見はみられなかった．中枢刺激薬である MPH との相互作用の評価を含めた幼若ラットの毒性試験において，グアンファシン塩酸塩投与に起因する体重増加抑制 (その結果として軽度な発育遅延) 及び軽度な血液学的検査のパラメータの変動が反復投与毒性試験の所見とおおむね共通して認められた．眼科学的検査において毒性はみられず，被験物質投与に起因した器官重量，肉眼又は病理組織学的変化も認められなかった．グアンファシン塩酸塩に関連する学習及び記憶，生殖機能への影響はなかった．また，MPH との毒性学的相互作用はみられなかった.

抗原性試験において，モルモットを用いた全身アナフィラキシー反応及びラットを用いた受身皮膚アナフィラキシー反応は陰性であった.

なお，製剤中に含まれる 3 種の不純物 (不純物A*，不純物B*及び不純物C*) をそれぞれ約 0.5%含むグアンファシン塩酸塩の影響と不純物を含まないグアンファシン塩酸塩の影響を比較するため実施した 2 種の *in vitro* 遺伝毒性試験及びラットにおける 4 週間反復混餌投与毒性試験では，いずれにおいても不純物に起因すると考えられる毒性は認められなかった.

以上のように，グアンファシン塩酸塩の非臨床安全性試験及び長年にわたる臨床での使用経験より，小児 (6～17 歳) の ADHD 治療薬としてのグアンファシン塩酸塩の安全性は十分に評価されているものと考えられる.

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.6.10 図表

図表は，本文中の適切な場所に記載した.

2.6.6.11 参考文献

1. エスタリック® 0.5 mg [redacted]. [redacted], [redacted] 1984.
2. 中島敏夫, 北川行夫, 石川 浩, 他. BS 100-141 の急性および亜急性毒性試験. 基礎と臨床 1980; 14 (14): 4511-29.
3. 中島敏夫，北川行夫，石川 浩，他．BS 100-141 のラットにおける慢性毒性試験．基礎と臨床 1980; 14 (14): 4531-50.
4. Elangbam CS, Job LE, Zadrozny LM, et al. 5-Hydroxytryptamine (5HT)-induced valvulopathy: Compositional valvular alterations are associated with $5HT_{2B}$ receptor and 5HT transporter transcript changes in Sprague-Dawley rats. Exp Toxicologic Pathol 2008; 60: 253-62.
5. Droogmans S, Franken PR, Garbar C, et al. In vivo model of drug-induced valvular heart disease in rats: pergolide-induced valvular heart disease demonstrated with echocardiography and correlation with pathology. Eur Heart J 2007; 28: 2156-62.
6. Connolly HM, Crary JL, McGoon MD, et al. Valvular heart disease associated with fenfluramine-phentermine. N Engl J Med 1977; 337: 581-8.
7. Elangbam CS. Drug-induced valvulopathy: An update. Toxicol Pathol 2010; 38: 837-48.
8. 江崎孝三郎，平山三船．BS 100-141 の経口投与がマウスの生殖に及ぼす影響．I．妊娠前および妊娠初期投与試験．実中研・前臨床 1979; 5 (2): 107-15.
9. 江崎孝三郎，平山三船．BS 100-141 の経口投与がマウスの生殖に及ぼす影響．II．器官形成期投与試験．実中研・前臨床 1979; 5 (2): 117-23.
10. 江崎孝三郎，大塩恵子，山口和子．BS 100-141 の経口投与がマウスの生殖に及ぼす影響．IV．胎仔の器官形成期投与試験における胎仔の内臓および次世代の行動観察．実中研・前臨床研究報 1980; 6 (2): 105-16.
11. 江崎孝三郎，中山太郎．BS 100-141 の経口投与がウサギの胎仔に及ぼす影響．実中研・前臨床 1979; 5 (2): 129-36.
12. 江崎孝三郎，平山三船．BS 100-141 の経口投与がマウスの生殖に及ぼす影響．III．周産期および授乳期投与試験．実中研・前臨床 1979; 5 (2): 125-8.
13. 江崎孝三郎，大塩恵子，山口和子．BS 100-141 の経口投与がマウスの生殖に及ぼす影響．V．周産期および授乳期投与試験における次世代の行動観察．実中研・前臨床研究報 1980; 6 (2): 117-22.
14. Hurley LS. Nutritional Deficiencies and Excesses. In: Wilson JG, Fraser FC, editors. Handbook of Teratology, 1st ed. New York: Plenum Press; 1977. p. 261-308.
15. Smithberg M, Runner MN. Teratogenic effects of hypoglycemic treatments in inbred strains of mice. Am J Anat 1963; 113: 479-89.
16. Evaluation of certain food additives. In: Eighteenth report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives; 1974. p.1-40.
17. Scientific opinion on the re-evaluation of Indigo Carmine (E 132) as a food additive. EFSA Journal 2014; 12 (7): 3768-818.
18. Tolerable or acceptable daily intakes, other toxicological information and information on specifications.

In: Summary report of the seventy-fourth meeting of JECFA; 2011. p.3-16.

19. 上山真史，小林一郎，丸尾浩樹，他．クロニジンおよび塩酸クロニジンのラットにおける 13 週間反復皮下投与毒性試験ならびに 4 週間回復性試験．基礎と臨床 1992; 26 (13): 4843-75.

インチュニブ錠 1mg, 同 3mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.7 毒性試験概要表

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 3
2.6.7 毒性試験概要表 4
2.6.7.1 毒性試験： 一覧表 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス： トキシコキネティクス試験の一覧表 6
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 7
2.6.7.4 毒性試験： 被験物質 (バッチ毎) 一覧 9
2.6.7.5 単回投与毒性試験 10
2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験 11
2.6.7.7 反復投与毒性試験： 重要な試験 14
2.6.7.7.1 ラットにおけるフェンフルラミン/フェンテルミン併用及びグアンファシン塩酸塩の心臓弁膜症誘発リスク評価 94 日間反復投与試験 14
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 16
2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 [不純物の毒性評価を含む] 16
2.6.7.8.2 ヒトリンパ球培養細胞を用いる染色体異常試験 [不純物の毒性評価を含む] 20
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 22
2.6.7.10 がん原性試験 22
2.6.7.11 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験 23
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 23
2.6.7.13 生殖発生毒性試験： 胚・胎児発生に関する試験 23
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 23
2.6.7.15 新生児を用いた試験 24
2.6.7.15.1 新生児を用いた試験 (予備試験) 24
2.6.7.15.2 新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 25
2.6.7.15.3 新生児/幼若ラットにおける反復経口投与 (28 日間休薬) 毒性試験 27
2.6.7.15.4 グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 30
2.6.7.16 局所刺激性試験 34
2.6.7.17 その他の毒性試験 35
2.6.7.17.1 不純物の毒性評価：ラットにおける 4 週間混餌投与毒性試験 35

2.6.7 略号及び用語定義一覧表

略号	略号内容
AUC	血漿中濃度–時間曲線下面積 (area under the plasma concentration-time curve)
$AUC_{0\text{-}24\ (48,\ 12)\ hr}$	時間 0 から 24 (48, 12) 時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積 [area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 (48, 12) hours]
$AUC_{0\text{-}t}$	時間 0 から測定値を取得した最終時間までの血漿中濃度–時間曲線下面積 (area under the plasma concentration-time curve from time 0 to the time of the last measurable plasma concentration)
BID	1 日 2 回 (bis in die)
C_{max}	最高血漿中濃度 (maximum plasma concentration)
GLP	Good Laboratory Practice
MTD	最大耐量 (maximum tolerated dose)
QD	1 日 1 回 (quaque die)
S9	9000 *g* 上清 (9000 × gravity supernatant)

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　毒性試験：　一覧表

被験物質：グアンファシン塩酸塩

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/日)[a]	GLP[b] 適用	実施施設	試験番号[c]	試験報告書添付場所
反復投与毒性試験								
最大耐量 (MTD) 試験	ラット/ HsdHan™:WIST	強制経口	5 日間 (低・中用量群), 10 日間 (高用量群)	低用量：7.5 1 日 1 回 (QD), 中用量:7.5 1 日 2 回 (BID), 高用量：7.5 BID/ 10 BID[d]	非	[redacted] UK	R3666M-SPD503 (8242873)	4.2.3.2-02
セロトニン及びペルゴリドの心臓弁膜症誘発リスク評価試験[e]	ラット/Hsd:SD	皮下 腹腔内	8 日間 8 日間	S：75/60[f] P：0.5，2.0	非	[redacted] UK	R2315M-SPD503 (8218575)	4.2.3.2-03
	ラット/Hsd:SD	皮下 腹腔内	94 日間 94 日間	S：75/60/20[g] P：0.5，1.75	非	[redacted] UK	R2890M-SPD503 (8225937)	4.2.3.2-04
フェンフルラミン/フェンテルミン併用の MTD 及び反復投与毒性試験[e]	ラット/Hsd:SD	混餌	7～11 日間[h]	Fe/Ph : 5/2.5, 30/15, 40/20, 60/30	適	[redacted] UK	R3255M-SPD503 (8233516)	4.2.3.2-05
フェンフルラミン/フェンテルミン併用及びグアンファシン塩酸塩の心臓弁膜症誘発リスク評価試験	ラット/Hsd:SD	強制経口 混餌	94 日間 94 日間	Fe/Ph：10/5，30/15[i] G：3, 10	適	[redacted] UK	R3343M-SPD503 (8237098)	4.2.3.2-01
心臓弁膜の病理組織学的検査レビュー	−	−	−	−	非	[redacted]	C3702M-SPD503	4.2.3.2-06

S：セロトニン．　P：ペルゴリド．　Fe：フェンフルラミン．　Ph：フェンテルミン．　G：グアンファシン塩酸塩．
a：グアンファシン塩酸塩の投与量は，グアンファシン換算．特に記載のない場合，投与量の単位は mg/kg/日．
b：Good Laboratory Practice (GLP).
c：( ) 内は試験委託先の試験番号．
d：7.5 mg/kg の投与量で 4 日間反復 BID 投与後，10 mg/kg の投与量で 6 日間反復 BID 投与．
e：これらの試験では，グアンファシン塩酸塩は投与されていない．
f：投与 1～4 日目まで 75 mg/kg/日を，投与 5～8 日目まで 60 mg/kg/日を，反復投与．
g：投与 1～3 日目まで 75 mg/kg/日を，投与 4～8 日目まで 60 mg/kg 日を，投与 9 日目以降 20 mg/kg/日を，反復投与．
h：投与量を一定にしたフェーズでの各投薬群の合計投与日数．
i：高用量群の 1 例の体重が 10.9%減少したため，この群の全例について投与 3～7 日目は休薬．該当動物の体重は休薬により回復したため，この群は 8 日目に投与を再開．

(続く)

2.6.7.1 毒性試験： 一覧表 (続き)

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/日) [a]	GLP 適用	実施施設	試験番号 [b]	試験報告書添付場所
遺伝毒性試験								
復帰突然変異試験 [不純物の毒性評価を含む] [d]	ネズミチフス菌	*In vitro*	NA	1.6~5000 µg/プレート	適	[redacted] UK	V01018-SPD503 (2082/24)	4.2.3.3-01
染色体異常試験 [不純物の毒性評価を含む] [d]	ヒトリンパ球	*In vitro*	NA	10~275 µg/mL	適	[redacted] UK	V01019-SPD503 (2082/25)	4.2.3.3-02
生殖発生毒性試験								
新生児ラット反復投与予備毒性試験	ラット/ Crl:CD (SD) IGS BR	強制経口	42 日間 (7～48 日齢) [c]	0.5，1，3，5，10	適	[redacted]	R00697-SPD503-IIIA (3619-001)	4.2.3.5-04
新生児/幼若ラット反復投与毒性試験	ラット/Crl:CD (SD) IGS BR	強制経口	53 日間 (7～59 日齢)	0.3，1，2 (雄)，3 (雌)	適	[redacted] UK	R00242-SPD503-IIIC ([redacted] 066/022319)	4.2.3.5-01
新生児/幼若ラット反復投与 (28 日間休薬) 毒性試験	ラット/Crl:CD (SD)	強制経口	91 又は 94 日間 (7～97 又は 100 日齢)	0.3，1，3	適	[redacted] UK	R3799M-SPD503 (SPD0358)	4.2.3.5-02
グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児ラット反復投与予備毒性試験	ラット/Crl:CD (SD) IGS BR	強制経口	15 日間 (7～21 日齢)	G：1 (雄)，1.5 (雌)，2，2.5 MPH：50，75，125 G/MPH：1/50 (雄)， 1.5/50 (雌)，2/75，2.5/125	非	[redacted] UK	R01525-SPD503 ([redacted] 0160)	4.2.3.5-05
グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児/幼若ラット反復投与毒性試験	ラット/Crl:CD (SD) IGS BR	強制経口	53 日間 (7～59 日齢)	G：1 G/MPH：0.3/16，1/50 MPH：50	適	[redacted] UK	R01587M-SPD503 ([redacted] 0174)	4.2.3.5-03
その他の毒性試験								
不純物の毒性評価：反復投与毒性試験 [d]	ラット/Crl:OFA (SD)	混餌	4 週間	10	適	[redacted] UK	R01020-SPD503 ([redacted] 0129/062160)	4.2.3.7-01

G：グアンファシン塩酸塩． MPH：メチルフェニデート． NA：該当データなし．
a：グアンファシン塩酸塩の投与量は，グアンファシン換算．特に記載のない場合，投与量の単位は mg/kg/日． b：( ) 内は試験委託先の試験番号．
c：5 及び 10 mg/kg/日投与群は，体重増加量減少が大きかったため，7 日間投与 (7～13 日齢) で試験終了．
d：不純物を含むグアンファシン塩酸塩と不純物を含まないグアンファシン塩酸塩を比較するために実施．

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

被験物質：グアンファシン塩酸塩

試験の種類	動物種及び系統	投与方法	投与量 (mg/kg/日)	GLP 適用	試験番号 [a]	試験報告書 添付場所
マウスにおけるトキシコキネティクス試験	マウス/Crl:OF-1	混餌	1，3，10	適	M00832-SPD503 (178503)	4.2.2.7-01
ラットにおけるトキシコキネティクス試験	ラット/Crl:OFA	混餌	0.5，1.5，5	適	R00831-SPD503 (178482)	4.2.2.7-02
イヌにおけるトキシコキネティクス試験	イヌ/ビーグル	強制経口 (カプセル)	0.3，1，3	適	D00833-SPD503 (178498)	4.2.2.7-03
新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験	ラット/Crl:CD (SD) IGS BR	強制経口	0.3，1，2 (雄)，3 (雌)	適	R00242-SPD503-IIIC ([redacted] 066/022319)	4.2.3.5-01
新生児/幼若ラットにおける反復経口投与 (28 日休薬) 毒性試験	ラット/Crl:CD (SD)	強制経口	0.3，1，3	適	R3799M-SPD503 (SPD0358)	4.2.3.5-02
グアンファシン及びメチルフェニデートの新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験	ラット/Crl:CD (SD) IGS BR	強制経口	G：1, G/MPH：0.3/16，1/50	適	R01587M-SPD503 ([redacted]0174)	4.2.3.5-03

G：グアンファシン塩酸塩. MPH：メチルフェニデート.
a：( ) 内は試験委託先の試験番号.

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

被験物質：グアンファシン塩酸塩

定常状態での血漿中濃度–時間曲線下面積 (AUC, ng·hr/mL)

1 日投与量	マウス		ラット		イヌ		ヒト
(mg/kg)	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
2	−	−	−	−	−	−	70.0[a], 48.2[b], 49.3[c]
4	−	−	−	−	−	−	162.1[a], 116.7[b], 105.5[c]
7	−	−	−	−	−	−	213.8[d]
0.3	−	−	7.72[e], 2.01[f]	7.63[e], 1.31[f]	18.57[g]	38.21[g]	−
0.5	−	−	NC[h]	NC[h]	−	−	−
1	147.7[i]	135.1[i]	37.76[e], 19.00[f]	46.43[e], 21.35[f]	106.5[g]	107.6[g]	−
1.5	−	−	NC[h]	23.6[h,j]	−	−	−
2	−	−	84.63[e], 22.06[f]	−	−	−	−
3	304.8[i]	435.3[i]	−	165.75[e], 56.07[f]	1245[g]	378[g]	−
5	−	−	33.9[h,k]	75.2[h]	−	−	−

ヒトの投与量は mg (mg/kg ではない). −：実施せず. NC：計算せず (定量限界未満).

a：海外の児童 (6～12 歳) のデータ [SPD503-107，2.7.2.2.3.3 項参照].

b：海外の青少年 (13～17 歳) のデータ [SPD503-107，2.7.2.2.3.3 項参照].

c：日本人成人 (20～55 歳) のデータ [1209A3111，2.7.2.2.2.1 項参照].

d：海外の青少年 (13～17 歳，体重 50～70 kg) のデータ [SPD503-113，2.7.2.2.3.4 項参照].

e：新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 [4.2.3.5-01] での 14 日齢 (投与 8 日目) の時間 0 から投与後 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積値 ($AUC_{0\text{-}24hr}$).

f：新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 [4.2.3.5-01] での 53 日齢 (投与 47 日目) の $AUC_{0\text{-}24hr}$.

g：イヌにおけるトキシコキネティクス試験 [添付資料 4.2.2.7-03] での $AUC_{0\text{-}48hr}$.

h：ラットにおけるトキシコキネティクス試験 [4.2.2.7-02] での $AUC_{0\text{-}24hr}$.

i：マウスにおけるトキシコキネティクス試験 [4.2.2.7-01] での $AUC_{0\text{-}24hr}$.

j：n = 2.

k：n = 1.

(続く)

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)

被験物質：グアンファシン塩酸塩

定常状態での最高血漿中濃度 (C_{max}, ng/mL)

1 日投与量	マウス		ラット		イヌ		ヒト
(mg/kg)	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
2	−	−	−	−	−	−	4.39[a], 2.86[b], 2.92[c]
4	−	−	−	−	−	−	10.15[a], 7.01[b], 6.50[c]
7	−	−	−	−	−	−	13.9[d]
0.3	−	−	2.76[e], 1.09[f]	1.77[e], 1.31[f]	5.56[g]	9.69[g]	−
0.5	−	−	NC[h]	NC[h]	−	−	−
1	8.28[i]	8.90[i]	7.84[e], 4.55[f]	6.35[e], 4.80[f]	22.9[g]	23.3[g]	−
1.5	−	−	NC[h]	2.36[h]	−	−	−
2	−	−	20.79[e], 6.88[f]	−	−	−	−
3	17.0[i]	21.8[i]	−	32.52[e], 22.73[f]	256[g]	46.4[g]	−
5	−	−	1.99[h]	5.47[h]	−	−	−

ヒトの投与量は mg (mg/kg ではない). −：実施せず. NC：計算せず (定量限界未満).

a：海外の児童 (6～12 歳) のデータ [SPD503-107，2.7.2.2.3.3 項参照].

b：海外の青少年 (13～17 歳) のデータ [SPD503-107，2.7.2.2.3.3 項参照].

c：日本人成人 (20～55 歳) のデータ [1209A3111，2.7.2.2.2.1 項参照].

d：海外の青少年 (13～17 歳，体重 50～70 kg) のデータ [SPD503-113，2.7.2.2.3.4 項参照].

e：新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 [4.2.3.5-01] での 14 日齢 (投与 8 日目) の C_{max}.

f：新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 [4.2.3.5-01] での 53 日齢 (投与 47 日目) の C_{max}.

g：イヌにおけるトキシコキネティクス試験 [4.2.2.7-03] での C_{max}.

h：ラットにおけるトキシコキネティクス試験 [4.2.2.7-02] での C_{max}.

i：マウスにおけるトキシコキネティクス試験 [4.2.2.7-01] での C_{max}.

2.6.7.4 毒性試験： 被験物質 (バッチ毎) 一覧

被験物質：グアンファシン塩酸塩

バッチ番号	含量規格 (%) (HPLC)	規格設定された不純物 (含有%)			試験番号 [a]	試験の種類
		I (HPLC)	II (HPLC)	III (TLC)		
原薬の申請規格：	98～102	≤0.15	≤0.15	≤0.15		
GFO 0029	98.6	ND	ND	ND	R3666M-SPD503 (8242873) R3343M-SPD503 (8237098)	ラットにおける5又は10日間反復経口投与MTD試験 [4.2.3.2-02] ラットにおけるフェンフルラミン/フェンテルミン併用及びグアンファシン塩酸塩の心臓弁膜症誘発リスク評価94日間反復投与試験 [4.2.3.2-01]
GFO 8005	100.1	ND	ND	ND	R00697-SPD503-IIIA (3619-001)	新生児ラットにおける反復経口投与予備毒性試験 [4.2.3.5-04]
GFO 8002	100.8	0.28	0.03	ND	R00242-SPD503-IIIC ([redacted] 066/022319)	新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 [4.2.3.5-01]
0000006054	99.9	ND	ND	ND	R3799M-SPD503 (SPD0358	新生児/幼若ラットにおける反復経口投与 (28 日休薬) 毒性試験 [4.2.3.5-02]
GFO 7003	100.2～100.9	ND	0.3	ND	R01525-SPD503 ([redacted]0160) R01587M-SPD503 ([redacted]0174)	グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児ラットにおける反復経口投与予備毒性試験 [4.2.3.5-05] グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 [4.2.3.5-03]
GFO 5004/A	100.2	ND	0.04	ND	V01018-SPD503 (2082/24) [b] V01019-SPD503 (2082/25) [b] R01020-SPD503 ([redacted] 0129/062160) [b]	細菌を用いる復帰突然変異試験 (不純物の毒性評価を含む) [4.2.3.3-01] ヒトリンパ球培養細胞を用いる染色体異常試験 (不純物の毒性評価を含む) [4.2.3.3-02] 不純物の毒性評価：ラットにおける4週間反復混餌投与毒性試験 [4.2.3.7-01]
05MF291/B (バッチ番号：NGFO 5001 に不純物をスパイクして調製)	98.5	0.52	0.53	0.4	V01018-SPD503 (2082/24) [b] V01019-SPD503 (2082/25) [b] R01020-SPD503 ([redacted] 0129/062160) [b]	細菌を用いる復帰突然変異試験 (不純物の毒性評価を含む) [4.2.3.3-01] ヒトリンパ球培養細胞を用いる染色体異常試験 (不純物の毒性評価を含む) [4.2.3.3-02] 不純物の毒性評価：ラットにおける4週間反復混餌投与毒性試験 [4.2.3.7-01]

HPLC：高速液体クロマトグラフィ. TLC：薄層クロマトグラフィ. ND：検出されず.
不純物I：不純物A*. 不純物II：不純物B*. 不純物III：不純物C*.
a：( ) 内は試験委託先の試験番号.
b：不純物を含むグアンファシン塩酸塩 (バッチ番号：05MF291B) と不純物を含まないグアンファシン塩酸塩 (バッチ番号：GFO 5004/A) を比較した試験.

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 単回投与毒性試験

該当する試験なし.

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：グアンファシン塩酸塩

<table>
<tr><th>動物種/
系統</th><th>投与方法
(溶媒
/投与形態)</th><th>投与期間</th><th>投与量
(mg/kg/日)[a]</th><th>性別及び
動物数/群</th><th>無毒性量
(mg/kg/日)</th><th>特記すべき所見</th><th>試験番号[b]</th><th>試験報告書
添付場所</th></tr>
<tr><td>ラット
/HsdHan™:
WIST</td><td>強制経口
(水/溶液)</td><td>5 日間
(7.5 QD,
7.5 BID),
10 日間
(7.5 BID/
10 BID)</td><td>7.5 QD,
7.5 BID,
7.5 BID/
10 BID[d]</td><td>M/10</td><td><7.5 QD</td><td>7.5 QD：体重増加抑制，胃幽門部粘膜の組織球集簇
≥7.5 QD：口擦り，流涎，胃粘膜下織及び直腸粘膜/粘膜下織の炎症性細胞浸潤
7.5 BID：体重減少 (投与 1～5 日目，15.6 g)，空腸腸間膜脂肪組織の動脈炎/動脈周囲炎
≥7.5 BID：腹部膨満，活動性低下，呼吸困難，眼球突出，円背，嗜眠，立毛，虚脱，異常発声，口腔周囲褐色汚染，鼻出血，低体温，腹臥，色素涙，眼瞼下垂，多飲 (暴飲)，膵臓の動脈炎/動脈周囲炎，胃炎，前胃の過角化，盲腸粘膜/粘膜下織の炎症性細胞浸潤
7.5 BID/10 BID：体重減少 (投与 1～4 日目，18.3 g)，胃幽門部粘膜の組織球集簇，食道の筋症/筋炎，胃の動脈炎/動脈周囲炎，結腸粘膜/粘膜下織の炎症性細胞浸潤
トキシコキネティクス成績[e]
<table>
<tr><th></th><th>C_{max} (ng/mL)</th><th>時間 0 から測定値を取得した最終時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積 (AUC_{0-t}, ng·hr/mL)</th></tr>
<tr><td>7.5 QD</td><td>162</td><td>344</td></tr>
<tr><td>7.5 BID</td><td>114</td><td>599</td></tr>
<tr><td>7.5 BID/10 BID</td><td>666</td><td>3500</td></tr>
</table>
</td><td>R3666M-
SPD503
(8242873)[c]</td><td>4.2.3.2-02</td></tr>
</table>

a：グアンファシン換算投与量

b：( ) 内は試験委託先の試験番号.

c：ラットにおける 5 又は 10 日間反復経口投与 MTD 試験.

d：7.5 mg/kg の用量で 4 日間反復 BID 投与後，10 mg/kg の用量で 6 日間反復 BID 投与.

e：7.5 mg/kg QD 投与群は，投与 5 日目の投与後 1，2，4，8 及び 24 時間に全例より採血．7.5 mg/kg BID 投与群は，投与 5 日目の 1 回目投与後 1，2，4，8，9，10，12，16 及び 24 時間に全例より採血 (投与後 8 時間は 2 回目の投与前に採血)．7.5 mg/kg BID/10 mg/kg BID 投与群は，投与 10 日目の 1 回目投与後 1，2，4，8，9，10，12，16 及び 24 時間に全例より採血 (投与後 8 時間は 2 回目の投与前に採血).

(続く)

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験 (続き)

被験物質：セロトニン，ペルゴリド

動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg/日)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	試験番号[a]	試験報告書添付場所
ラット /Hsd:SD	対照 (10%エタノール水溶液)：腹腔内 セロトニン：皮下 (生理食塩液/溶液) ペルゴリド：腹腔内 (10%エタノール水溶液/溶液)	8 日間	セロトニン：75/60[b] ペルゴリド：0.5，2.0	M/10 (対照，セロトニン)，M/5 (ペルゴリド)	セロトニン： 早期死亡例なし. 投与後に運動失調，蒼白，多飲，呼吸異常，嗜眠，立毛，四肢の赤色調汚染，半眼，常同行動，四肢/頭部の腫脹等の症状 (以上の症状は投与後 5 分～1 時間で発現し，投与後 2 時間まで持続)，体重増加抑制 (−81%[c])，摂餌量減少 (−34%[c]) ペルゴリド： 2.0 mg/kg/日投与群の 1 例を状態悪化により切迫殺 (投与 3 日目) 両群で投与後に活動性低下 (投与 1 日目から 2 日目)，活動性亢進，立毛，半眼，常同行動等の症状 (以上の症状は投与後 10～30 分で発現し，投与後 4 時間まで持続)，体重増加抑制 (−40%[c])，摂餌量減少 (−19%[c]) 心臓の病理組織学的検査において，いずれの群にも明らかな心臓弁膜症の所見は認められなかった.	R2315M-SPD503 (8218575)[d]	4.2.3.2-03
ラット /Hsd:SD	対照 (10%エタノール水溶液)：腹腔内 セロトニン：皮下 (生理食塩液/溶液) ペルゴリド：腹腔内 (10%エタノール水溶液/溶液)	14，28 又は 94 日間	セロトニン：75/60/20[e] ペルゴリド：0.5，1.75	M/10 (対照，セロトニン)，M/5 (ペルゴリド)	セロトニン： 1 例を状態悪化により切迫殺 (投与 84 日目) 投与後に運動失調，嗜眠，活動性低下，陰嚢の退色，眼周囲汚染，半眼，四肢の紫/赤色調，四肢の腫脹，脱水等の症状，体重増加抑制，摂餌量減少 ペルゴリド： 1.75 mg/kg/日投与群の 1 例を状態悪化により切迫殺 (投与 14 日目) 投与後に活動性亢進，探索行動，半眼等の症状，体重増加抑制，摂餌量減少 心臓の病理組織学的検査において，投与 28 日目ではセロトニン投与群の 2 例及びペルゴリド 1.75 mg/日投与群の 1 例で，投与 94 日目ではセロトニン投与群の 3 例及びペルゴリド 0.5 又は 1.75 mg/kg/日投与群の各 1 例で，ごく軽度な弁の肥厚がみられた.	R2890M-SPD503 (8225937)[f]	4.2.3.2-04

a：( ) 内は試験委託先の試験番号. b：投与 1～4 日目まで 75 mg/kg/日を，投与 5～8 日目まで 60 mg/kg/日を，反復投与. c：対照群との差.
d：ラットにおけるセロトニン及びペルゴリドの心臓弁膜症誘発リスク評価 8 日間反復投与試験.
e：投与 1～3 日目まで 75 mg/kg/日を，投与 4～8 日目まで 60 mg/kg/日を，投与 9 日目以降 20 mg/kg/日を，反復投与.
f：ラットにおけるセロトニン及びペルゴリドの心臓弁膜症誘発リスク評価 94 日間反復投与試験.

(続く)

2.6.7.6 反復投与毒性試験： 重要な試験以外の試験 (続き)

被験物質：フェンフルラミン，フェンテルミン

動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg/日)	性別及び動物数/群	特記すべき所見	試験番号[a]	試験報告書添付場所
ラット /Hsd:SD	MTD を求めるフェーズ：強制経口 (水/溶液)	2〜7 日間[b]	フェンフルラミン/フェンテルミン併用 1 群[d]：30/15, 60/30，80/40 2 群[e]：120/60 (60/30 BID) 3 群[f]：80/40 4 群[g]：60/30	M/3	死亡例なし. 1 群：口吻部の赤色/褐色汚染，流涎，活動性低下，体重増加抑制，摂餌量減少 2 群：1 回目投与後に，流涎，口吻部の赤色/褐色汚染，色素涙．2 回目投与後に，1 回目投与後所見に加えて四肢の赤色調，振戦，間欠的な痙攣 3 群：2 群と同様の投与後所見．その他，パドリング，筋攣縮，活動性低下，痙攣 4 群：2 群及び 3 群と同様の所見．その他，はいずり姿勢，運動失調，頭部を持ち上げた歩行，異常発声	R3255M-SPD503 (8233516)[c]	4.2.3.2-05
	投与量を一定にしたフェーズ：混餌 (通常飼料/被験物質混合飼料)	7〜11 日間[h]	フェンフルラミン/フェンテルミン併用 対照群 2 群[i]：30/15 3 群[j]：40/20, 5/2.5 4 群[k]：60/30 5 群[l]：5/2.5	M/3	死亡例なし. 3 群：流涙 (1 例)，4 群で鼻部の汚染 (1 例)，色素涙 (2 例) 各群：主に投与期間に体重及び摂餌量減少 実投与量は設定投与量を著明に下回った. 心臓重量が軽度に減少 (2，3 及び 4 群の絶対重量がそれぞれ −22%, −17%及び −17%，相対重量がそれぞれ −8%，−8%及び −12%) 心臓の肉眼検査において，フェンフルラミン/フェンテルミン投与の影響を示唆する特記すべき所見は認められなかった.		

a：( ) 内は試験委託先の試験番号.
b：MTD を求めるフェーズでの各群の投与日数.
c：ラットにおけるフェンフルラミン/フェンテルミン併用の MTD 及び反復投与毒性試験.
d：3 日間連続用量漸増 (投与 1，2 及び 3 日目に，それぞれ 30/15，60/30 及び 80/40 mg/kg 投与).
e：120/60 mg/kg/日 [60/30 mg/kg BID (約 6.5 時間の間隔)/日] を 2 日間連続投与.
f：80/40 mg/kg/日を 6 日間連続投与.　　g：60/30 mg/kg/日を 7 日間連続投与.
h：投与量を一定にしたフェーズでの各投薬群の合計投与日数 (対照群は 15 日間).
i：30/15 mg/kg/日を 3 日間連続投与，通常飼料を 3 日間連続投与，30/15 mg/kg/日を 3 日間連続投与，通常飼料を 3 日間連続投与，30/15 mg/kg/日を 2 日間連続投与.
j：40/20 mg/kg/日を 3 日間連続投与，通常飼料を 3 日間連続投与，5/2.5 mg/kg/日を 8 日間連続投与.
k：60/30 mg/kg/日を 3 日間連続投与，通常飼料を 3 日間連続投与，60/30 mg/kg/日を 3 日間連続投与，通常飼料を 3 日間連続投与，60/30 mg/kg/日を 2 日間連続投与.
l：5/2.5 mg/kg/日を 7 日間連続投与 (トキシコキネティクスのみ).

2.6.7.7 反復投与毒性試験： 重要な試験

2.6.7.7.1 ラットにおけるフェンフルラミン/フェンテルミン併用及びグアンファシン塩酸塩の心臓弁膜症誘発リスク評価 94 日間反復投与試験

報告書の題名：SPD503: Repeat-Dose Toxicity: Study to Investigate Cardiac Valvulopathy Induced by up to 94 Days Administration of Fenfluramine/Phentermine and Guanfacine in the Rat

被験物質：グアンファシン塩酸塩，フェンフルラミン，フェンテルミン

動物種/系統：ラット/Hsd:SD
試験開始週齢：6 週齢
初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日

投与期間：94 日間
休薬期間：設定なし
投与方法：強制経口又は混餌[a]
溶媒/投与形態：水/水溶液 (強制経口)，通常飼料/被験物質混合飼料 (混餌)

試験番号：R3343M-SPD503
試験委託先の試験番号：8237098
試験報告書添付場所：4.2.3.2-01
GLP 適用：適

特記事項：トキシコキネティクス測定のため，各投薬群に雄 9 例を追加し，投与 4 日目 (フェンフルラミン/フェンテルミン併用 30/15 mg/kg/日投与群は投与 10 日目) 及び 94 日目に採血後，試験から除外した．
フェンフルラミン/フェンテルミン併用 30/15 mg/kg/日投与群の 1 例の体重が 10.9%減少したため，この群のすべての動物について投与 3～7 日目は休薬した．該当動物の体重は休薬により回復したため，この群は投与 8 日目に投与を再開した．

無毒性量：求めず

		対照	フェンフルラミン/フェンテルミン併用投与		グアンファシン塩酸塩投与	
投与量 (mg/kg/日)[b]		0	10/5	30/15	3	10
動物数		M：10	M：10	M：10	M：10	M：10
トキシコキネティクス[c]		実施せず				
C_{max} (ng/mL)	投与 4 日目又は 10 日目[d]	NA	272/421	1120/1250	2.21	7.36
	投与 94 日目	NA	392/519	1150/1670	3.32	10.7
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·hr/mL)	投与 4 日目又は 10 日目[d]	NA	2850/5200	11900/15600	45.2	133
	投与 94 日目	NA	3800/5600	14400/22900	70.8	213
特記すべき所見						
死亡及び屠殺動物数		0	0	0	0	0

NA：該当データなし．
a：対照群及びフェンフルラミン/フェンテルミン併用投与群は強制経口投与，グアンファシン塩酸塩投与群は混餌投与．
b：グアンファシン塩酸塩の投与量は，グアンファシン換算．
c：平均値 (各群：n=3)．フェンフルラミン/フェンテルミン併用投与群 (強制経口投与) は，投与前並びに投与後 1，2，4，6 及び 24 時間に各 3 例より採血．グアンファシン塩酸塩投与群 (混餌投与) は，16:00 から翌日の 12:00 まで 4 時間おき (計 6 時点) に各 3 例より採血．
d：フェンフルラミン/フェンテルミン併用 30/15 mg/kg/日投与群は投与 10 日目．その他の群は投与 4 日目．

(続く)

2.6.7.7.1 ラットにおけるフェンフルラミン/フェンテルミン併用及びグアンファシン塩酸塩の心臓弁膜症誘発リスク評価 94 日間反復投与試験 (続き)

試験番号：R3343M-SPD503

		対照	フェンフルラミン/フェンテルミン併用投与		グアンファシン塩酸塩投与	
投与量 (mg/kg/日)[a]		0	10/5	30/15	10/5	30/15
動物数		M：10	M：10	M：10	M：10	M：10
体重増加量 (%)[b]	投与 1～3 日目	6.9 g	−204.3***	−292.8***	−40.6*	−66.7***
	投与 1～92 日目	229.8 g	−20.4***	−32.9***	−13.9	−19.4**
摂餌量 (%)[b]	投与 1～13 週目	151.5 g	−15.4	−19.3	−12.1	−13.5
一般状態		フェンフルラミン/フェンテルミン併用投与群において，投与後に薬理作用の延長と考えられる種々の所見が認められた：流涎，半眼，口腔周囲の赤/褐色汚染，立毛，口擦り．流涎及び半眼は投与 1 週目，口腔周囲の赤/褐色汚染は投与 2 週目，立毛及び口擦りは投与 3 週後に現れ，口擦りはその後投与終了時まで散発的に認められた．投与 14 週目には，フェンフルラミン/フェンテルミン併用 10/5 mg/kg/日投与群の 2 例及び 30/15 mg/kg/日投与群の 4 例が円背を示した．また，背部/頭部/鼻の汚染及び色素涙が両群で低頻度に認められた． グアンファシン投与群には投与に起因する臨床症状は認められなかった．			
器官重量 (%)		−	−	−	−	−
剖検所見		−	−	−	−	−
病理組織学的検査[c]						
検査数		10	10	10	10	10
心臓： 炎症性細胞浸潤 (ごく軽度)		2	1	1	3	1
心筋症 (ごく軽度)		0	0	0	1	0
弁の肥厚 (ごく軽度)		0	0	1	1	0

－：特記すべき所見なし．
* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001 (Dunnett の多重比較検定 : 対照群とフェンフルラミン/フェンテルミン併用投与各群，対照群とグアンファシン塩酸塩投与各群の比較).
a：グアンファシン塩酸塩の投与量は，グアンファシン換算．
b：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値に基づく．
c：発現例数．

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 [不純物の毒性評価を含む]

報告書の題名：SPD503 (Pure) and SPD503 (Impure): Reverse Mutation in Five Histidine-Requiring Strains of *Salmonella typhimurium*

被験物質：不純物を含まないグアンファシン塩酸塩，不純物を含むグアンファシン塩酸塩

試験の種類：細菌を用いる復帰突然変異試験
菌株：ネズミチフス菌 (TA98，TA100，TA1535，TA1537，TA102)
代謝活性化系：アロクロール 1254 で誘導したラット肝 9000 *g* 上清 (S9)
溶媒：　　被験物質：水　　陽性対照：ジメチルスルホキシド又は水
細胞毒性：いくつかの菌株において，最高用量側の 1，2 又は 3 用量で観察

独立して実施した試験数：2
プレート数：3 (陰性対照群は 5)
分析細胞数/培養：2×10^8
遺伝毒性：なし

試験番号[a]：V01018-SPD503 (2082/24)
試験報告書添付場所：4.2.3.3-01
GLP 適用：適
処理年月：20[redacted] 年[redacted] ～[redacted] 月
処理：プレート法及びプレインキュベーション法

代謝活性化	被験物質	用量[a] (μg/プレート)	試験 1：復帰変異コロニー数 (平均値 ± 標準偏差)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
代謝活性化系なし	陰性対照 (水)	200 μL/プレート	21 ± 4	121 ± 9	13 ± 3	19 ± 5	335 ± 23
	不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	1.6	23 ± 6	111 ± 12	15 ± 5	20 ± 3	323 ± 24
		8	37 ± 8	124 ± 3	12 ± 6	16 ± 1	323 ± 37
		40	22 ± 3	113 ± 8	14 ± 4	19 ± 4	315 ± 5
		200	29 ± 5	125± 11	17 ± 4	19 ± 2	326 ± 20
		1000	30 ± 7	124 ± 4	15 ± 7	31 ± 9	236 ± 6
		5000	12 ± 3	142 ± 8	8 ± 1	18 ± 5	0 ± 0[b, c]
	2-ニトロフルオレン	5	971 ± 109	NT	NT	NT	NT
	アジ化ナトリウム	2	NT	962 ± 42	768 ± 58	NT	NT
	9-アミノアクリジン	50	NT	NT	NT	177 ± 24	NT
	マイトマイシン C	0.2	NT	NT	NT	NT	625 ± 41
代謝活性化系あり	陰性対照 (水)	200 μL/プレート	38 ± 4	145 ± 13	15 ± 6	29 ± 6	287 ± 20
	不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	1.6	36 ± 8	139 ± 6	16 ± 6	22 ± 1	282 ± 30
		8	29 ± 5	140 ± 8	23 ± 3	21 ± 3	278 ± 11
		40	32 ± 6	152 ± 10	19 ± 5	29 ± 7	273 ± 30
		200	37 ± 2	147 ± 10	17 ± 7	22 ± 2	251 ± 19
		1000	39 ± 9	155 ± 5	17 ± 2	30 ± 5	223 ± 10
		5000	27 ± 4	141 ± 5	15 ± 1	14 ± 5	0 ± 0[b, c]
	ベンゾピレン	10	431 ± 13	NT	NT	NT	NT
	2-アミノアントラセン	5	NT	1596 ± 78	281 ± 30	173 ± 12	NT
	2-アミノアントラセン	20	NT	NT	NT	NT	1346 ± 80

NT：処理せず.
a：グアンファシン塩酸塩の用量は，グアンファシン換算.　　b：背景細菌叢なし.　　c：マニュアルカウント.

(続く)

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 [不純物の毒性評価を含む] (続き)

代謝活性化	被験物質	用量[b] (μg/プレート)	試験 1：復帰変異コロニー数 (平均値 ± 標準偏差)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
代謝活性化系なし	陰性対照 (水)	200 μL/プレート	23 ± 7	122 ± 10	13 ± 3	18 ± 4	323 ± 17
	不純物を含むグアンファシン塩酸塩	1.6	23 ± 2	124 ± 12	12 ± 6	27 ± 11	353 ± 12
		8	20 ± 6	122 ± 12	14 ± 3	25 ± 5	355 ± 9
		40	26 ± 9	128 ± 11	11 ± 3	25 ± 7	384 ± 76
		200	25 ± 5	137 ± 27	23 ± 9	27 ± 6	297 ± 28
		1000	24 ± 2	131 ± 4	15 ± 2	26 ± 9	218 ± 13
		5000	16 ± 7	97 ± 1	10 ± 7	23 ± 3	0 ± 0[c]
	2-ニトロフルオレン	5	867 ± 18	NT	NT	NT	NT
	アジ化ナトリウム	2	NT	954 ± 64	730 ± 1	NT	NT
	9-アミノアクリジン	50	NT	NT	NT	244 ± 42	NT
	マイトマイシン C	0.2	NT	NT	NT	NT	591 ± 47
代謝活性化系あり	陰性対照 (水)	200 μL/プレート	34 ± 4	128 ± 22	15 ± 4	27 ± 2	274 ± 18
	不純物を含むグアンファシン塩酸塩	1.6	25 ± 5	148 ± 16	18 ± 4	22 ± 3	278 ± 19
		8	44 ± 5	158 ± 13	12 ± 2	37 ± 8	268 ± 4
		40	39 ± 11	152 ± 14	14 ± 2	34 ± 8	284 ± 10
		200	51 ± 12	137 ± 24	16 ± 9	28 ± 5	268 ± 9
		1000	36 ± 4	143 ± 12	17 ± 2	28 ± 7	247 ± 26
		5000	32 ± 9	109 ± 9	11 ± 6	23 ± 10	0 ± 0[c]
	ベンゾピレン	10	440 ± 20	NT	NT	NT	NT
	2-アミノアントラセン	5	NT	1509 ± 139	284 ± 82	301 ± 118	NT
	2-アミノアントラセン	20	NT	NT	NT	NT	1654 ± 79

NT：処理せず.
a：( ) 内は試験委託先の試験番号.　　b：グアンファシン塩酸塩の用量は，グアンファシン換算.　　c：背景細菌叢の明らかな減少.

(続く)

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 [不純物の毒性評価を含む] (続き)

代謝活性化	被験物質	用量[a] (μg/プレート)	試験 2：復帰変異コロニー数 (平均値 ± 標準偏差)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
代謝活性化系なし	陰性対照 (水)	200 μL/プレート	24 ± 2	104 ± 8	21 ± 6	18 ± 3	352 ± 58
	不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	20.48	NT	NT	NT	NT	377 ± 12
		51.2	21 ± 5	86 ± 9	11 ± 2	14 ± 8	367 ± 27
		128	17 ± 1	78 ± 5	12 ± 4	16 ± 3	350 ± 49
		320	18 ± 5	89 ± 12	14 ± 4	13 ± 4	336 ± 21
		800	22 ± 3	83 ± 4	15 ± 3	21 ± 1	303 ± 5
		2000	21 ± 6	80 ± 6	17 ± 5	14 ± 2	232 ± 16
		5000	11 ± 1[b]	35 ± 7[b]	10 ± 4	12 ± 3[b]	–[c]
	2-ニトロフルオレン	5	975 ± 40	NT	NT	NT	NT
	アジ化ナトリウム	2	NT	1112 ± 101	849± 138	NT	NT
	9-アミノアクリジン	50	NT	NT	NT	156 ± 39	NT
	マイトマイシン C	0.2	NT	NT	NT	NT	796 ± 43
代謝活性化系あり	陰性対照 (水)	200 μL/プレート	33 ± 4	106 ± 10	19 ± 6	22 ± 4	290 ± 14
	不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	20.48	NT	NT	NT	NT	299 ± 18
		51.2	41 ± 6	106 ± 19	10 ± 4	17 ± 4	280 ± 3
		128	38 ± 5	103 ± 9	14 ± 4	16 ± 3	309 ± 9
		320	42 ± 3	107 ± 13	17 ± 2	18 ± 8	211 ± 8
		800	40 ± 4	100 ± 18	14 ± 8	9 ± 1	164 ± 25[b]
		2000	25 ± 4[b]	64 ± 3[b]	13 ± 4[b]	7 ± 1[b]	–[c]
		5000	11 ± 5[b, d, e]	15 ± 5[d, e, f]	6 ± 2[b, d, e]	2 ± 0[b, d, e]	–[c, d]
	ベンゾピレン	10	409 ± 54	NT	NT	NT	NT
	2-アミノアントラセン	5	NT	1957 ± 52	326 ± 14	124 ± 13	NT
	2-アミノアントラセン	20	NT	NT	NT	NT	1240 ± 77

NT：処理せず.
a：グアンファシン塩酸塩の用量は，グアンファシン換算. b：背景細菌叢のわずかな減少. c：毒性 (復帰コロニーなし). d：被験物質の沈殿を観察.
e：マニュアルカウント. f：背景細菌叢の明らかな減少.

(続く)

2.6.7.8.1　細菌を用いる復帰突然変異試験 [不純物の毒性評価を含む] (続き)

代謝活性化	被験物質	用量[a] (μg/プレート)	試験 2：復帰変異コロニー数 (平均値 ± 標準偏差)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	TA102
代謝活性化系なし	陰性対照 (水)	200 μL/プレート	23 ± 6	104 ± 7	15 ± 3	14 ± 4	347 ± 46
	不純物を含むグアンファシン塩酸塩	20.48	NT	NT	NT	NT	395 ± 62
		51.2	21 ± 7	91 ± 4	11 ± 3	19 ± 6	294 ± 36
		128	24 ± 7	106 ± 8	14 ± 3	23 ± 8	351 ± 98
		320	18 ± 2	92 ± 15	13 ± 4	15 ± 6	365 ± 9
		800	29 ± 7	103 ± 7	18 ± 5	19 ± 5	346 ± 22
		2000	23 ± 3	89 ± 9	15 ± 4	17 ± 0	271 ± 36
		5000	18 ± 1	36 ± 4[b]	13 ± 2	10 ± 3[b]	–[c]
	2-ニトロフルオレン	5	928 ± 36	NT	NT	NT	NT
	アジ化ナトリウム	2	NT	917 ± 35	716 ± 22	NT	NT
	9-アミノアクリジン	50	NT	NT	NT	171 ± 40	NT
	マイトマイシン C	0.2	NT	NT	NT	NT	651 ± 22
代謝活性化系あり	陰性対照 (水)	200 μL/プレート	36 ± 8	99 ± 10	17 ± 3	17 ± 5	320 ± 16
	不純物を含むグアンファシン塩酸塩	20.48	NT	NT	NT	NT	274 ± 17
		51.2	31 ± 3	112 ± 9	18 ± 4	19 ± 2	318 ± 11
		128	35 ± 18	106 ± 11	22 ± 2	22 ± 4	264 ± 32
		320	34 ± 7	116 ± 17	21 ± 2	21 ± 9	213 ± 18
		800	36 ± 11	104 ± 12	22 ± 7	13 ± 6	184 ± 8[b]
		2000	30 ± 1[b]	60 ± 15[b]	13 ± 6[b]	10 ± 6[b]	–[c]
		5000	16 ± 8[b, d]	14 ± 7[d, e, f]	5 ± 1[b, d, e]	3 ± 0[b, d, e]	–[c]
	ベンゾピレン	10	323 ± 12	NT	NT	NT	NT
	2-アミノアントラセン	5	NT	1596 ± 71	237 ± 55	213 ± 10	NT
	2-アミノアントラセン	20	NT	NT	NT	NT	936 ± 36

NT：処理せず.
a：グアンファシン塩酸塩の用量は，グアンファシン換算.　　b：背景細菌叢のわずかな減少.　　c：毒性 (復帰コロニーなし).　　d：被験物質の沈殿を観察.
e：マニュアルカウント.　　f：背景細菌叢の明らかな減少.

2.6.7.8.2 ヒトリンパ球培養細胞を用いる染色体異常試験 [不純物の毒性評価を含む]

報告書の題名：SPD503 (Pure) and SPD503 (Impure): Induction of Chromosome Aberrations in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes

被験物質：不純物を含まないグアンファシン塩酸塩，不純物を含むグアンファシン塩酸塩

試験の種類：培養細胞を用いる染色体異常試験　独立して実施した試験数：4　試験番号[a]：V01019-SPD503 (2082/25)
細胞：初代ヒトリンパ球　プレート数：2 (陰性対照群は 4)　試験報告書添付場所：4.2.3.3-02
代謝活性化系：アロクロール 1254 で誘導したラット肝 S9　分析細胞数/培養：100 (陽性対照群の一部の例を除く)　GLP 適用：適
溶媒：　被験物質：注射用水　陽性対照：ジメチルスルホキシド　処理年月：20[redacted] 年[redacted]～[redacted] 月
細胞毒性：なし　遺伝毒性：なし　処理：代謝活性化系なし又はありで 3 時間処理後 17 時間回復又は代謝活性化系なしで 20 時間連続処理

代謝活性化	被験物質	用量[b] (μg/mL)	細胞毒性[c] (陰性対照に対する%)	構造異常細胞[d] (平均%)	細胞あたりの異常数[d]	倍数性細胞総数[e] (平均%)
代謝活性化系なし 3 時間処理後 17 時間回復 試験 1	陰性対照 (水)	–	NA	0.5	0.005	0
	不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	150.0	11	0.5	0.005	1.5
		175.0	21	1.0	0.010	0.5
		250.0	38	2.0	0.020	2.0
		275.0	66	2.0	0.030	0.5
	4-ニトロキノリン 1-オキシド	5.00	NA	60.6***	1.182	0
代謝活性化系あり 3 時間処理後 17 時間回復 試験 1	陰性対照 (水)	–	NA	1.0	0.010	0
	不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	100.0	20	0.5	0.005	0.5
		175.0	35	1.5	0.020	0.5
		225.0	59	1.5	0.015	2.0
	シクロホスファミド	12.5	NA	51.3***	0.872	0
代謝活性化系なし 3 時間処理後 17 時間回復 試験 1	陰性対照 (水)	–	NA	0.5	0.005	0
	不純物を含むグアンファシン塩酸塩	175.0	10	0.5	0.005	1.0
		200.0	31	1.0	0.010	1.0
		225.0	51	1.0	0.010	2.0
	4-ニトロキノリン 1-オキシド	2.50	NA	16.6***	0.290	0
代謝活性化系あり 3 時間処理後 17 時間回復 試験 1	陰性対照 (水)	–	NA	1.2[c]	0.012	0.6
	不純物を含むグアンファシン塩酸塩	100.0	9	1.0	0.010	0.5
		200.0	33	1.0	0.010	1.5
		225.0	60	1.5	0.015	4.3
	シクロホスファミド	6.25	NA	52.9***	0.871	0

NA：該当データなし．　***：P<0.001 (Dunnett 検定).
a：( ) 内は試験委託先の試験番号．　b：グアンファシン塩酸塩の用量は，グアンファシン換算．　c：分裂指数を指標．　d：ギャップを除く．
e：倍数性細胞及び核内倍加細胞を含めた倍数性細胞総数の割合.

(続く)

2.6.7.8.2 ヒトリンパ球培養細胞を用いる染色体異常試験 [不純物の毒性評価を含む] (続き)

代謝活性化	被験物質	用量[a] (μg/mL)	細胞毒性[b] (陰性対照に対する%)	構造異常細胞[c] (平均%)	細胞あたりの異常数[c]	倍数性細胞総数[d] (平均%)
代謝活性化系なし 20 時間連続処理 試験 2	陰性対照 (水)	–	NA	0.5	0.005	1.0
	不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	10.00 20.00 30.00 40.00	1 15 47 51	0.5 0.0 0.0 0.0	0.005 0.000 0.000 0.000	0 0 1.0 0.5
	4-ニトロキノリン 1-オキシド	2.50	NA	45.5***	0.742	0
代謝活性化系あり 3 時間処理後 17 時間回復 試験 2	陰性対照 (水)	–	NA	0.0	0.000	0.5
	不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	150.0 175.0 220.0 240.0	0 21 48 46	1.0 0.5 1.0 1.5	0.010 0.005 0.010 0.015	1.5 0.5 2.0 1.5
	シクロホスファミド	12.5	NA	39.2***	0.608	0
代謝活性化系なし 20 時間連続処理 試験 2	陰性対照 (水)	–	NA	0.0	0.000	0
	不純物を含むグアンファシン塩酸塩	10.00 20.00 30.00	24 29 54	0.5 0.0 0.0	0.005 0.000 0.000	1.0 0 0.5
	4-ニトロキノリン 1-オキシド	2.50	NA	24.6***	0.349	0
代謝活性化系あり 3 時間処理後 17 時間回復 試験 2	陰性対照 (水)	–	NA	0.0	0.000	0
	不純物を含むグアンファシン塩酸塩	100.0 175.0 210.0 220.0	4 23 43 56	0.5 0.0 0.0 0.5	0.005 0.000 0.000 0.005	0.5 3.4 0.5 2.4
	シクロホスファミド	6.25	NA	18.5***	0.226	0
代謝活性化系なし 20 時間連続処理 試験 2	陰性対照 (水)	–	NA	0.5	0.005	1.0

NA：該当データなし. ***：P<0.001 (Dunnett 検定).
a：グアンファシン塩酸塩の用量は，グアンファシン換算. b：分裂指数を指標. c：ギャップを除く.
d：倍数性細胞及び核内倍加細胞を含めた倍数性細胞総数の割合.

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

該当する試験なし.

2.6.7.10 がん原性試験

該当する試験なし.

2.6.7.11 生殖発生毒性試験： 重要な試験以外の試験

該当する試験なし.

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

該当する試験なし.

2.6.7.13 生殖発生毒性試験： 胚・胎児発生に関する試験

該当する試験なし.

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

該当する試験なし.

2.6.7.15　新生児を用いた試験

2.6.7.15.1　新生児を用いた試験 (予備試験)

被験物質：グアンファシン塩酸塩，メチルフェニデート

動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg/日)[a]	一群の動物数	無毒性量 (mg/kg/日)	特記すべき所見	試験番号[b]	試験報告書添付場所
ラット /Crl:CD (SD) IGS BR	強制経口 (脱イオン水/水溶液)	42 日間 (7～48 日齢)[d]	0.5，1，3，5，10	M/10，F/10	M：0.5，F：1	1 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 3 mg/kg/日以上の投与群の雌で，体重増加量が有意に減少．5 及び 10 mg/kg/日投与群は，体重増加量減少が大きかったため，7 日目まで投与した後に屠殺し，以降の評価は実施せず．	R00697-SPD503-IIIA (3619-001)[c]	4.2.3.5-04
ラット /Crl:CD (SD) IGS BR	強制経口 (水/水溶液)	15 日間 (7～21 日齢)	G：1 (M)，1.5 (F)，2，2.5 MPH：50，75，125 G/MPH 併用：1/50 (M)，1.5/50 (F)，2/75，2.5/125	M/10[e]，F/10[e]	求めず	投与量に関連して体重増加量が減少し，その程度は併用投与群の方が大きかった．	R01525M-SPD503 ([redacted]0160)[f]	4.2.3.5-05

G：グアンファシン塩酸塩．　　MPH：メチルフェニデート．
a：グアンファシン塩酸塩の投与量は，グアンファシン換算．
b：( ) 内は試験委託先の試験番号．
c：新生児ラットにおける反復経口投与予備毒性試験．
d：5 及び 10 mg/kg/日投与群 (7 日間投与) は除く．
e：各群雌雄各 4 例は 7 日間の回復試験に使用．
f：グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児ラットにおける反復経口投与予備毒性試験．

2.6.7.15.2　新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験

報告書の題名：Guanfacine Hydrochloride Toxicity Study in the Neonatal/Juvenile Rat by Oral Gavage Administration　　被験物質：グアンファシン塩酸塩

動物種/系統：ラット/Crl:CD (SD) IGS BR
試験開始週齢：7 日齢
初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日

投与期間：53 日間 (7～59 日齢)
休薬期間：なし
投与方法：強制経口
溶媒/投与形態：水/水溶液

試験番号：R00242-SPD503-IIIC
試験委託先の試験番号：[redacted] 066/022319
試験報告書添付場所：4.2.3.5-01
GLP 適用：適

特記事項：なし
無毒性量：1 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)[a]		0 (対照)		0.3		1		2	3
動物数		M：18	F：18	M：18	F：18	M：18	F：18	M：18	F：19[b]
トキシコキネティクス[c]		実施せず	実施せず						
C_{max} (ng/mL)	14 日齢 (投与 8 日目)	NA	NA	2.76	1.77	7.84	6.35	20.79	32.52
	53 日齢 (投与 47 日目)	NA	NA	1.09	1.31	4.55	4.80	6.88	22.73
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)	14 日齢 (投与 8 日目)	NA	NA	7.72	7.63	37.76	46.43	84.63	165.75
	53 日齢 (投与 47 日目)	NA	NA	2.01	1.31	19.00	21.35	22.06	56.07
特記すべき所見									
死亡及び屠殺動物数		0	0	0	0	0	0	0	1[d]
体重増加量 (%)[e]	7～11 日齢間	11.1 g	10.6 g	97	95	85**	85**	69**	60**
	7～60 日齢間	324.2 g	208.2 g	99	99	95	96	92**	90**
一般状態									
流涎[f]		–	–	–	–	+	+	+	+

NA：該当データなし.　　－：特記すべき所見なし.　　+：所見あり.　　**：P<0.01 (Williams の検定).
a：グアンファシン換算投与量.
b：1 例 (動物番号：3213) が 8 日齢で投与過誤により切迫殺されたため，他の 1 例 (動物番号：3209) と置き換え，9 日齢から 59 日齢まで投与した.
c：平均値 (各群：n=3). 投与前並びに投与後 1，2，4，8 及び 12 時間に各 3 例より採血. 14 日齢はトキシコキネティクス用サテライト群の動物より採血. 53 日齢は主群の動物より採血.
d：8 日齢で投与過誤により切迫殺.
e：対照群は平均値を示す. 投与群は対照群に対する割合を%で示す. 統計学的有意差は実測値に基づく.
f：投与 3 又は 4 週目までは認められなかった.

(続く)

2.6.7.15.2　新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 (続き)

試験番号：R00242-SPD503-IIIC

投与量 (mg/kg/日)[a]	0 (対照)		0.3		1		2	3
動物数	M：18	F：18	M：18	F：18	M：18	F：18	M：18	F：19[b]
性成熟日齢								
亀頭包皮分離平均日齢	44.6	NA	44.6	NA	45.2	NA	45.9*	NA
膣開口平均日齢	NA	34.6	NA	35.1	NA	35.8	NA	36.8**
協調運動								
ロータロッド試験：最大保持時間 (秒)	150.0	212.6	152.4	221.0	153.7	226.0	172.6*	239.4*
自発運動量								
総ロービーム横切り回数	887.8	958.8	899.2	1069.7	852.2	1178.0	904.8	1216.1*
学習及び記憶								
Morris 水迷路試験	–	–	–	–	–	–	–	–
眼科学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–
血液学的検査　60 日齢								
血小板数 ($\times10^9$/L)	1307	1219	1298	1258	1233	1174	1206*	1276
ヘマトクリット値 (L/L)	0.430	0.417	0.434	0.409	0.432	0.408	0.427	0.394**
ヘモグロビン濃度 (g/dL)	14.9	14.9	14.9	14.7	14.9	14.5	14.8	14.2**
赤血球数 ($\times10^{12}$/L)	7.15	7.16	7.20	7.02	7.06	7.01	7.07	6.70**
血液化学的検査　60 日齢								
クレアチニン (μmol/L)	44	47	43	47	43	45	42	41**
カリウム (mmol/L)	3.9	3.6	4.0	3.7	4.1	3.8	4.0	4.0*
アルブミン/グロブリン比	1.24	1.29	1.25	1.34	1.24	1.31	1.28	1.36**
器官重量 (%)	–	–	–	–	–	–	–	–
剖検所見	–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査 c	–		–		–		–	
肺： 肺炎		1/12		1/1[d]		3/3[d]		8[e]/12

NA：該当データなし.　　－：特記すべき所見なし.
*：P<0.05，**：P<0.01 (Williams の検定).
a：グアンファシン換算投与量.
b：1 例 (動物番号：3213) が 8 日齢で投与過誤により切迫殺されたため，他の 1 例 (動物番号：3209) と置き換え，9 日齢から 59 日齢まで投与した.
c：(発現例数)/(検査数).
d：肺に肉眼所見が認められた個体のみ病理組織学的検査を実施した．いずれの例も投与期間中に一般状態観察で流涎を示した.
e：8 例中の 6 例が投与期間中に一般状態観察で流涎を示した.

2.6.7.15.3　新生児/幼若ラットにおける反復経口投与 (28 日間休薬) 毒性試験

報告書の題名：SPD503: Oral (Gavage) Juvenile Toxicity Study with SSP-1024A in the Rat with a 28 Day Treatment-Free Period　　被験物質：グアンファシン塩酸塩

動物種/系統：ラット/Crl:CD (SD)
試験開始週齢：7 日齢
初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日
投与方法：強制経口
特記事項： なし
無毒性量：0.3 mg/kg/日

投与期間：94 日間 (主群：7～100 日齢) 又は 91 日間 (回復性評価群：7～97 日齢)
休薬期間：28 日間
溶媒/投与形態：水/水溶液

試験番号：R3799M-SPD503
試験委託先の試験番号：SPD0358
試験報告書添付場所：4.2.3.5-02
GLP 適用：適

投与量 (mg/kg/日)[a]		0 (対照)		0.3		1		3	
動物数[b]		M：18	F：18	M：12	F：12	M：12	F：12	M：18	F：18
トキシコキネティクス[c]									
C_{max} (ng/mL)	13 日齢 (投与 7 日目)	ND	ND	3.48	3.19	21.2	15.3	64.8	107
	96 日齢 (投与 90 日目)	ND	ND	1.41	1.86	6.90	5.71	30.8	46.7
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·hr/mL)	13 日齢 (投与 7 日目)	ND	ND	9.81	11.1	63.1	54.2	261	358
	96 日齢 (投与 90 日目)	ND	ND	4.70	5.55	21.3	29.1	94.3	168
特記すべき所見									
死亡及び屠殺動物数		0	0	1[d]	0	0	0	0	0
体重増加量 (%)[e]	7～96 日齢間	512.14 g	266.95 g	–	–	−9*	–	−19***	–
	7～10 日齢間	6.48 g	6.43 g	–	–	–	–	−69***	−70***
	10～14 日齢間	9.81 g	9.38 g	–	–	−10*	–	−23***	−26**
	14～21 日齢間	21.56 g	21.83 g	–	–	–	–	−12**	−19***
	21～28 日齢間	40.63 g	34.95 g	–	–	−9*	−10*	−14***	−14**
	28～96 日齢間	433.68 g	194.36 g	–	–	−9*	–	−19***	–
	98～126 日齢間[f]	75.95 g	39.58 g	–	–	–	–	+5	+3

ND：検出されず.　　－：特記すべき所見なし.　　*：P<0.05，**：P<0.01，***：P<0.001 (Williams の検定).
a：グアンファシン換算投与量.
b：対照群及び 3 mg/kg/日投与群の雌雄各 6 例は回復性評価群.
c：平均値 (各群：n=3). 対照群は投与後 1 及び 24 時間に，投薬群は投与後 1，3，6，8，12 及び 24 時間に，それぞれ各 3 例より採血. 13 日齢はトキシコキネティクス用サテライト群の動物より採血，96 日齢は主群の動物より採血.
d：右後肢が腫脹により使用不能，歩行異常を示したため 97 日齢で屠殺.
e：対照群は平均値を示す. 投与群は対照群との差を%で示す. 統計学的有意差は実測値に基づく.
f：回復性評価群.

(続く)

2.6.7.15.3　新生児/幼若ラットにおける反復経口投与 (28 日間休薬) 毒性試験 (続き)

試験番号：R3799M-SPD503

投与量 (mg/kg/日)[a]		0 (対照)		0.3		1		3	
動物数[b]		M：18	F：18	M：12	F：12	M：12	F：12	M：18	F：18
摂餌量 (g/日)[c]	21～28 日齢間	–	11 g	–	–	–	−9*	–	−12*
	35～42 日齢間	25.3	–	–	–	–	–	−12*	–
	42～49 日齢間	30.0	–	–	–	−9*	–	−16**	–
	49～56 日齢間	33.0	–	–	–	−9*	–	−13*	–
一般状態[d]									
皮膚の脱水		–	–	–	–	–	0/1244	2/1790	13/1790
胃おける少量の母乳		–	–	–	–	–	–	0/1790	3/1790
過剰な流涎 (投与前)		–	–	–	–	2/1244	–	0/1790	134/1790
過剰な流涎 (投与後)		–	–	–	–	2/1244	–	0/1790	131/1790
一般状態[e]									
断続的に立位のまま動かない状態		–	–	–	–	–	–	21/95	21/95
ふらつき歩行		–	–	–	–	–	–	15/95	12/95
活動性低下		–	–	–	–	1/95	1/95	16/95	16/95
注視		–	–	–	–	1/95	1/95	9/95	10/95
立毛		–	–	–	–	–	–	8/95	10/95
呼吸困難，不規則又は緩徐呼吸		–	–	–	–	–	–	6/95	7/95
円背		–	–	–	–	–	1/95	2/95	3/95
伏臥位		–	–	–	–	1/95	1/95	1/95	1/95
体表温度低下		–	–	–	–	–	–	2/95	2/95
半眼		–	–	–	–	1/95	1/95	2/95	1/95
投与時の興奮，緊張及び異常発声		–	–	–	–	–	–	2/95	2/95
投与時の攻撃性		–	–	–	–	–	–	–	1/95
異常発声		–	–	–	1/95	–	2/95	1/95	4/95
排尿増加		–	–	–	–	2/95	5/95	7/95	7/95

－：特記すべき所見なし.　　*：P<0.05，**：P<0.01 (Williams の検定).

a：グアンファシン換算投与量.

b：対照群及び 3 mg/kg/日投与群の雌雄各 6 例は回復性評価群.

c：対照群は平均値を示す．投与群は対照群との差を%で示す．統計学的有意差は実測値に基づく.

d：(1 日当たり 1 動物で 1 回と数えた所見の総数)/(投与期間中の総観察回数).

e：(投与後に 1 例又はそれ以上の動物で所見が認められた日数)/(総観察日数).

(続く)

2.6.7.15.3 新生児/幼若ラットにおける反復経口投与 (28 日間休薬) 毒性試験 (続き)

試験番号：R3799M-SPD503

投与量 (mg/kg/日)[a]		0 (対照)		0.3		1		3	
動物数[b]		M：18	F：18	M：12	F：12	M：12	F：12	M：18	F：18
一般状態[c]									
活動性亢進		–	–	–	–	1[e] (4)	3[f] (4)	4[e] (4)	3[d], 4[e] (4)
闘争行動の増加		–	–	–	–	–	–	2[e] (4)	–
攻撃性の増加		–	–	–	–	–	–	2[e] (4)	–
眼科学的検査		–	–	–	–	–	–	–	–
心臓弁膜症の評価		–	–	–	–	–	–	–	–
器官重量		–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査[g]									
膵臓： 腺房，変性/線維化	投与期間終了時	1	0	3	3	4	4	6	1
	回復期間終了時	3	2	NA	NA	NA	NA	4	1

－：特記すべき所見なし． NA：該当データなし (評価せず).

a：グアンファシン換算投与量.

b：対照群及び 3 mg/kg/日投与群の雌雄各 6 例は回復性評価群.

c：99 日齢の一般状態観察でみられた異常行動所見．観察例数．( ) 内は所見の認められたケージ内の総動物数.

d：投与前．e：投与直後．f：投与 2 時間後.

c：発現例数.

2.6.7.15.4　グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験

報告書の題名：Guanfacine (SPD503): Oral (Gavage) Developmental Toxicity Study of Guanfacine and/or Methylphenidate in the Neonatal/Juvenile Rat

被験物質：グアンファシン塩酸塩，メチルフェニデート

動物種/系統：ラット/Crl:CD (SD) IGS BR
試験開始週齢：7 日齢
初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日

投与期間：53 日間 (7～59 日齢)
休薬期間：約 42 日間
投与方法：強制経口
溶媒/投与形態：水/水溶液

試験番号：R01587M-SPD503
試験委託先の試験番号：[redacted]0174
試験報告書添付場所：4.2.3.5-03
GLP 適用：適

特記事項：帝王切開日は妊娠 14 日.
無毒性量：グアンファシン塩酸塩/メチルフェニデート併用 1/50 mg/kg/日

		対照		グアンファシン塩酸塩		グアンファシン塩酸塩/メチルフェニデート併用				メチルフェニデート	
投与量 (mg/kg/日)[a]		0		1		0.3/16		1/50		50	
動物数　一般毒性評価		M：12	F：12	M：12	F：12	M：12	F：12	M：12	F：12	M：12	F：12
回復性/生殖機能評価		M：20	F：20	M：20	F：20	M：20	F：20	M：20	F：20	M：20	F：20
トキシコキネティクス[b]											
C_{max} (ng/mL)											
13 日齢 (投与 7 日目)	G	ND	ND	15.992	17.665	11.422	13.144	31.186	35.441	NA	NA
	MPH	ND	ND	NA	NA	585.32	830.79	1015.33	1433.45	1209.86	1256.84
53 日齢 (投与 47 日目)	G	ND	ND	2.202	5.151	2.257	3.317	9.096	16.540	NA	NA
	MPH	ND	ND	NA	NA	82.14	107.65	351.91	519.88	513.29	449.44
$AUC_{0\text{-}12hr}$ (ng·hr/mL)											
13 日齢 (投与 7 日目)	G	ND	ND	68.94	73.53	73.07	69.30	266.10	234.96	NA	NA
	MPH	ND	ND	NA	NA	2525	2904	4362	4511	5615	5364
53 日齢 (投与 47 日目)	G	ND	ND	9.35	16.15	5.44	9.09	39.65	70.50	NA	NA
	MPH	ND	ND	NA	NA	159	331	1381	2047	1234	1870
特記すべき所見											
死亡及び屠殺動物数		1	0	0	1	0	0	1	0	1	0
一般状態		グアンファシン/メチルフェニデート併用 1/50 mg/kg/日投与群及びメチルフェニデート 50 mg/kg/日投与群：活動性亢進，ケージ床敷きの穴掘り行動，動揺歩行，パドリング，嗅行動，舌舐めずり，頭部回転，半眼. グアンファシン/メチルフェニデート併用 0.3/16 mg/kg/日投与群：上記と同様の所見が低頻度. グアンファシン 1 mg/kg/日投与群：低頻度で一過性の活動性亢進及び半眼.									

ND：検出されず.　　NA：該当データなし (測定せず).　　G：グアンファシン.　　MPH：メチルフェニデート.
a：グアンファシン塩酸塩の投与量は，グアンファシン換算.
b：平均値 (各群：n=3). 投与前並びに投与後 1，3，6，8 及び 12 時間に各 3 例より採血. 13 日齢はトキシコキネティクス用サテライト群の動物より採血，53 日齢は主群の動物より採血.

(続く)

2.6.7.15.4　グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 (続き)

試験番号：R01587M-SPD503

		対照		グアンファシン塩酸塩		グアンファシン塩酸塩/メチルフェニデート併用				メチルフェニデート	
投与量 (mg/kg/日)[a]		0		1		0.3/16		1/50		50	
動物数　一般毒性評価		M：12	F：12	M：12	F：12	M：12	F：12	M：12	F：12	M：12	F：12
回復性/生殖機能評価		M：20	F：20	M：20	F：20	M：20	F：20	M：20	F：20	M：20	F：20
体重増加量 (%)[b]	7～8 日齢間	2.1 g	2.1 g	71**	71**	67**	71**	5**	−5**	76*	76**
	7～21 日齢間	39 g	38 g	90**	89**	87**	89**	77**	76**	90**	92**
	7～59 日齢間	344 g	211 g	94**	97	96*	100	84**	87**	93**	98
	60～91 日齢間[c]	123 g	56 g	107	96	102	111	120**	129**	114*	109
	60～116 日齢間[c]	179 g	NA	104	NA	102	NA	112*	NA	113*	NA
	妊娠 0～14 日齢間	NA	63 g	NA	97	NA	100	NA	105	NA	100
尺骨成長速度 (%)[b]	14～98 日齢間	23.7 mm	19.1 mm	100	101	97	103	94*	101	100	103
摂餌量 (%)[b]	21～59 日齢間	915 g	668 g	92	94	96	100	90*	92*	96*	100
	60～87 日齢間[c]	896 g	602 g	99	99	101	106	103	101	103	102
亀頭包皮分離の平均日齢		45	NA	46	NA	44	NA	47*	NA	46	NA
膣開口の平均日齢		NA	33	NA	35*	NA	33	NA	34	NA	33
性成熟時のホルモンレベル		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
自発運動量											
総ハイビームスコア[b]	Day 44	474.9	551.3	363.8	531.3	299.6**	437.6	297.3**	403.3	242.3**	365.8*
	Day 76/77[c]	656.8	880.2	546.0	663.6	709.9	713.2	569.4	656.8	524.3	676.7
総ロービームスコア[b]	Day 44	1203.6	1108.5	1127.3	1190.1	1084.4	1096.3	993.7	932.0	852.3**	907.8
	Day 76/77[c]	1351.8	1188.5	1329.7	1159.3	1312.2	1074.2	1104.2	1148.6	1091.6*	1022.3
協調運動											
ロータロッド試験		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
学習及び記憶											
Morris 水迷路試験		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
眼科学的検査		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

NA：該当データなし (測定せず).　　－：特記すべき所見なし.　　*：P<0.05, **：P<0.01 (Williams の検定：対照群とグアンファシン塩酸塩投与群又はメチルフェニデート投与群の比較，対照群とグアンファシン塩酸塩/メチルフェニデート併用投与群の比較).

a：グアンファシン塩酸塩の投与量は，グアンファシン換算.

b：対照群は平均値を示す．投与群は対照群に対する割合を%で示す．統計学的有意差は実測値に基づく.

c：回復性/生殖機能評価群.

(続く)

2.6.7.15.4　グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 (続き)

試験番号：R01587M-SPD503

	対照		グアンファシン塩酸塩		グアンファシン塩酸塩/メチルフェニデート併用				メチルフェニデート	
投与量 (mg/kg/日)[a]	0		1		0.3/16		1/50		50	
動物数　一般毒性評価	M：12	F：12	M：12	F：12	M：12	F：12	M：12	F：12	M：12	F：12
回復性/生殖機能評価	M：20	F：20	M：20	F：20	M：20	F：20	M：20	F：20	M：20	F：20
血液学的検査　57 日齢										
赤血球数 ($\times 10^{12}$/L)	–	7.17	–	7.07	–	7.26	–	6.90	–	6.88*
平均ヘモグロビン濃度 (pg)	–	20.2	–	20.4	–	20.2	–	20.6	–	20.8*
白血球数 ($\times 10^{9}$/L)	–	9.49	–	11.17	–	10.43	–	13.20**	–	10.70
リンパ球数 ($\times 10^{9}$/L)	–	8.39	–	9.95	–	9.17	–	11.54*	–	9.55
好酸球数 ($\times 10^{9}$/L)	–	0.08	–	0.08	–	0.09	–	0.13**	–	0.09
好塩基球数 ($\times 10^{9}$/L)	–	0.02	–	0.03	–	0.02	–	0.04**	–	0.03
血液学的検査　80 日齢[b]										
赤血球数 ($\times 10^{12}$/L)	NA	7.87	NA	7.67	NA	7.78	NA	7.63	NA	7.67
平均ヘモグロビン濃度 (pg)	NA	19.1	NA	19.7	NA	19.6	NA	19.8	NA	19.7
白血球数 ($\times 10^{9}$/L)	NA	10.34	NA	10.87	NA	10.56	NA	8.89	NA	9.92
リンパ球数 ($\times 10^{9}$/L)	NA	8.83	NA	9.29	NA	9.04	NA	7.23	NA	8.40
好酸球数 ($\times 10^{9}$/L)	NA	0.10	NA	0.12	NA	0.13	NA	0.12	NA	0.10
好塩基球数 ($\times 10^{9}$/L)	NA	0.02	NA	0.03	NA	0.03	NA	0.02	NA	0.02
血液化学的検査　57 日齢										
尿素 (mmol/L)	4.38	4.92	4.49	5.07	4.25	4.57	3.77*	4.30	4.39	3.93** †
クレアチニン (mmol/L)	22	25	22	24	22	24	19*	21**	19*	20**
グルコース (mmol/L)	6.29	6.50	5.40*	6.40	5.98	7.13	7.78**	8.45**	7.12*	8.06 †
ナトリウム (mmol/L)	–	141	–	140*	–	141	–	140**	–	141
カリウム (mmol/L)	4.1	–	4.2	–	4.2	–	4.5**	–	4.5	–
カルシウム (mmol/L)	–	2.68	–	2.66	–	2.65	–	2.61*	–	2.63
総たん白質 (g/L)	63	63	62	62	62	62	60**	59**	62	60**
アルブミン (g/L)	30	32	30	31	30	31	29**	30**	29**	30**
アルブミン/グロブリン比	0.95	1.04	0.96	1.02	0.92	1.00	0.91	1.04	0.87**	1.02

－：特記すべき所見なし.　　NA：該当データなし (測定せず).　　*：P<0.05，**：P<0.01 (Williams の検定：対照群とグアンファシン塩酸塩投与群又はメチルフェニデート投与群の比較，対照群とグアンファシン塩酸塩/メチルフェニデート併用投与群の比較).　　†：P<0.05 (Student の *t* 検定：対照群とメチルフェニデート投与群の比較).

a：グアンファシン塩酸塩の投与量は，グアンファシン換算.

b：回復性/生殖機能評価群.

(続く)

2.6.7.15.4　グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 (続き)

試験番号：R01587M-SPD503

	対照		グアンファシン塩酸塩		グアンファシン塩酸塩/メチルフェニデート併用				メチルフェニデート	
投与量 (mg/kg/日)[a]	0		1		0.3/16		1/50		50	
動物数　一般毒性評価	M：12	F：12	M：12	F：12	M：12	F：12	M：12	F：12	M：12	F：12
回復性/生殖機能評価	M：20	F：20	M：20	F：20	M：20	F：20	M：20	F：20	M：20	F：20
血液化学的検査　80 日齢[b]										
尿素 (mmol/L)	6.24	5.27	6.27	5.70	5.73	6.05	6.01	5.62	5.89	6.00
クレアチニン (mmol/L)	26	27	25	26	25	28	22**	27	25	29
グルコース (mmol/L)	7.32	7.56	8.03	7.32	7.48	7.88	9.35**	8.10	8.50*	8.23
ナトリウム (mmol/L)	NA	1.42	NA	142	NA	141	NA	141	NA	141
カリウム (mmol/L)	4.2	NA	4.2	NA	4.4*	NA	4.4*	NA	4.5*	NA
カルシウム (mmol/L)	NA	2.63	NA	2.62	NA	2.63	NA	2.62	NA	2.64
総たん白質 (g/L)	69	67	67	68	67	67	64**	68	67	68
アルブミン (g/L)	31	34	31	35	30*	34	30*	36*	31	35
アルブミン/グロブリン比	0.84	1.03	0.83	1.07	0.81	1.06	0.90	1.12*	0.87	1.05
器官重量	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
剖検所見	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

NA：該当データなし (測定せず).　　－：特記すべき所見なし.　　*：P<0.05，**：P<0.01 (Williams の検定：対照群とメチルフェニデート投与群の比較，対照群とグアンファシン塩酸塩/メチルフェニデート併用投与群の比較).

a：グアンファシン塩酸塩の投与量は，グアンファシン換算.

b：回復性/生殖機能評価群.

(続く)

2.6.7.15.4　グアンファシン塩酸塩及びメチルフェニデートの新生児/幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 (続き)

試験番号：R01587M-SPD503

	対照		グアンファシン塩酸塩		グアンファシン塩酸塩/メチルフェニデート併用				メチルフェニデート	
投与量 (mg/kg/日)[a]	0		1		0.3/16		1/50		50	
動物数　一般毒性評価 回復性/生殖機能評価	M：12 M：20	F：12 F：20	M：12 M：20	F：12 F：20	M：12 M：20	F：12 F：20	M：12 M：20	F：12 F：20	M：12 M：20	F：12 F：20
生殖機能の評価[b]										
性周期	NA	–	NA	–	NA	–	NA	–	NA	–
交尾率 (%)	100	100	100	100	100	100	95	95	100	100
受胎率[c] (%)	100	100	100	100	95	95	95	95	100	100
受胎率[d] (%)	100	100	100	100	95	95	90	90	100	100
平均黄体数	NA	17.3	NA	16.9	NA	17.3	NA	17.2	NA	16.1
平均着床数	NA	16.3	NA	16.3	NA	16.6	NA	16.5	NA	15.3
平均着床前死亡率 (%)	NA	6.4	NA	4.7	NA	3.8	NA	5.4	NA	5.5
平均生存胎児数	NA	15.5	NA	15.6	NA	15.5	NA	15.4	NA	13.4*
平均胚吸収数	NA	0.8	NA	0.7	NA	1.1	NA	1.1	NA	2.0
平均着床後死亡率 (%)	NA	4.7	NA	4.4	NA	6.8	NA	7.0	NA	13.9**

NA：該当データなし (測定せず).　　－：特記すべき所見なし.　　*：P<0.05，**：P<0.01 (Williams の検定：対照群とメチルフェニデート投与群の比較).
a：グアンファシン塩酸塩の投与量は，グアンファシン換算.
b：回復性/生殖機能評価群について，少なくとも 4 週間の休薬後，同一処置群内の雌雄 (1 対 1) で交配し，生殖機能の評価を実施.
c：交尾した動物数に対する妊娠した動物数の割合.
d：同居させた動物数に対する妊娠した動物数の割合.

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当する試験なし.

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17.1　不純物の毒性評価：ラットにおける 4 週間混餌投与毒性試験

報告書の題名：SPD503 (Guanfacine Hydrochloride)　A Comparative Toxicity Study of Pure and Impure Material by Dietary Administration to OFA Rats for 4 Weeks Followed by a 2 Week Recovery Period

被験物質：不純物を含むグアンファシン塩酸塩，不純物を含まないグアンファシン塩酸塩

動物種/系統：ラット/Crl:OFA (SD)
試験開始週齢：7 週齢
初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日

投与期間：4 週間
休薬期間：2 週間
投与方法：混餌
溶媒/投与形態：通常飼料 [a]/被験物質混合飼料

試験番号：R01020-SPD503
試験委託先の試験番号：[redacted] 0129/062160
試験報告書添付場所：4.2.3.7-01
GLP 適用：適

特記事項：不純物を含むグアンファシン塩酸塩と不純物を含まないグアンファシン塩酸塩を比較した.
無毒性量：求めず

		対照		不純物を含むグアンファシン塩酸塩		不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	
投与量 (mg/kg/日) [b]		0		10		10	
動物数 [c]		M：16	F：16	M：16	F：16	M：16	F：16
トキシコキネティクス [d]		実施せず	実施せず				
血中濃度 (ng/mL)	投与 4 週目 夜半	NA	NA	9.13	16.0	12.6	9.78
特記すべき所見							
死亡及び屠殺動物数		0	0	0	0	0	0
体重増加量 (%) [e]	投与 0～4 週目	123.9 g	52.4 g	55 ††	59 ††	57 ††	56 ††
	回復 0～2 週目	13.2	0.6	180	1567 †	254 ††	667 †
摂餌量 (%) [e]	投与 1～4 週目	193 g	143 g	87	85	89	83
一般状態							
口吻部黒染 (発現例数)		0/16	0/16	15/16	5/16	12/16	7/16
眼科学的検査		–	–	–	–	–	–

NA：該当データなし (測定せず).　　－：特記すべき所見なし.
†：P<0.05, ††：P<0.01 (Student の *t* 検定：不純物を含むグアンファシン塩酸塩投与群及び不純物を含まないグアンファシン塩酸塩投与群の対照群との比較).
a：Rat and Mouse No.1 Maintenance Diet (Special Diet Services Ltd.).
b：グアンファシン換算投与量.
c：各群雌雄各 6 例は回復性評価群.
d：平均値 (各群：n=6). 夜半の 1 時点に各群の回復性評価群の 6 例より採血. 対照群を除く各群の試料について測定を実施.
e：対照群は平均値を示す. 投与群は対照群に対する割合を%で示す. 統計学的有意差は実測値に基づく.

(続く)

2.6.7.17.1　不純物の毒性評価：ラットにおける 4 週間混餌投与毒性試験 (続き)

試験番号：R01020-SPD503

		対照		不純物を含むグアンファシン塩酸塩		不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	
投与量 (mg/kg/日)[a]		0		10		10	
動物数[b]		M：16	F：16	M：16	F：16	M：16	F：16
血液学的検査[c]							
網状赤血球数 (%)	投与 4/5 週目	2.38	2.20	2.82 †† *	1.87	2.47	1.94
	回復 3 週目	2.37	NA	2.90 †	NA	3.24 ††	NA
総白血球数 ($\times 10^9$/L)	投与 4/5 週目	9.42	6.50	12.66 ††	7.15	12.90 ††	8.54 †
	回復 3 週目	6.11	5.16	9.52 †	6.66**	7.76	4.08
好中球数 ($\times 10^9$/L)	投与 4/5 週目	1.30	0.61	2.16 †† *	1.00	1.57	0.62
	回復 3 週目	0.89	0.54	2.02 ††	0.60	1.27	0.43
好酸球数 ($\times 10^9$/L)	投与 4/5 週目	0.11	0.09	0.16	0.15 ‡	0.14	0.13 ‡
単球数 ($\times 10^9$/L)	投与 4/5 週目	0.32	0.14	0.45	0.28	0.38	0.21 ‡
	回復 3 週目	0.20	0.14	0.41 †	0.14	0.25	0.11 ‡
リンパ球数 ($\times 10^9$/L)	投与 4/5 週目	7.66	5.61	9.73 †	5.66*	10.62 ††	7.49 †
	回復 3 週目	4.84	4.36	6.80	5.79**	6.04	3.44
好塩基球数 ($\times 10^9$/L)	投与 4/5 週目	0.05	0.03	0.11	0.03*	0.12 †	0.04 †
	回復 3 週目	0.05	0.03	0.11	0.03*	0.07	0.02
大型非染色球 ($\times 10^9$/L)	投与 4/5 週目	0.04	0.04	0.06 †	0.03*	0.07 †	0.05 †
	回復 3 週目	0.02	0.01	0.03	0.04 †† **	0.03	0.01
血小板数 ($\times 10^9$/L)	投与 4/5 週目	829	894	1045 †† *	1027	929	1013
PT (秒)	投与 4/5 週目	13.7	14.1	13.8	14.9 †	13.8	14.9 †
APTT (秒)	投与 4/5 週目	19.4	16.6	18.1	14.4 † **	17.3 †	16.8

PT：プロトロンビン時間.　　APTT：活性化部分トロンボプラスチン時間.　　ALT：アラニンアミノトランスフェラーゼ.　　NA：該当データなし (測定せず).
AST：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ.
†：P<0.05, ††：P<0.01；Student の *t* 検定 (不純物を含むグアンファシン塩酸塩投与群及び不純物を含まないグアンファシン塩酸塩投与群の対照群との比較).
*：P<0.05, **：P<0.01；Student の *t* 検定 (不純物を含むグアンファシン塩酸塩投与群の不純物を含まないグアンファシン塩酸塩投与群との比較).
‡：P<0.05；Wilcoxon の順位和検定 (不純物を含まないグアンファシン塩酸塩投与群の対照群との比較).
a：グアンファシン換算投与量.
b：各群雌雄各 6 例は回復性評価群.
c：投与 4 週目に回復性評価群の雄，投与 5 週目の解剖直前に主群の雌，回復 3 週目の解剖直前に回復性評価群の雌雄，それぞれ全例から採血.

(続く)

2.6.7.17.1 不純物の毒性評価：ラットにおける 4 週間混餌投与毒性試験 (続き)

試験番号：R01020-SPD503

		対照		不純物を含むグアンファシン塩酸塩		不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	
投与量 (mg/kg/日)[a]		0		10		10	
動物数[b]		M：16	F：16	M：16	F：16	M：16	F：16
血液化学的検査[c]							
ALT (U/L)	投与 4/5 週目	28	30	31	34	35††	33
	回復 3 週目	31	NA	25*	NA	32	NA
AST (U/L)	投与 4/5 週目	71	83	90††	93††	97††	91†
クレアチニン (μmol/L)	投与 4/5 週目	34	34	29††	28††*	27††	31
	回復 3 週目	38	45	34	38†	34†	39†
尿素 (mmol/L)	投与 4/5 週目	5.06	4.85	6.98††	5.00	6.77††	4.96
ナトリウム (mmol/L)	投与 4/5 週目	139	142	138	142*	137††	143
	回復 3 週目	142	NA	143†	NA	142	NA
カリウム (mmol/L)	投与 4/5 週目	5.3	4.2	6.3†	4.5†*	6.4†	4.1
	回復 3 週目	4.3	3.9	4.5	4.9†*	4.6	3.9
グルコース (mmol/L)	投与 4/5 週目	5.56	6.49	4.35‡‡	4.94††	4.06‡‡	5.18†
総たん白質 (g/L)	投与 4/5 週目	64	60	59††	57††	59††	56††
	回復 3 週目	66	65	64	62†	64	63
トリグリセリド (mmol/L)	投与 4/5 週目	0.77	0.40	0.51††	0.46	0.59†	0.42
リン酸 (mmol/L)	投与 4/5 週目	2.38	2.61	2.43	2.43	2.36	2.39†
	回復 3 週目	NA	2.02	NA	2.61††*	NA	2.25

NA：該当データなし (測定せず).
†：P<0.05, ††：P<0.01；Student の *t* 検定 (不純物を含むグアンファシン塩酸塩投与群及び不純物を含まないグアンファシン塩酸塩投与群の対照群との比較).
*：P<0.05；Student の *t* 検定 (不純物を含むグアンファシン塩酸塩投与群の不純物を含まないグアンファシン塩酸塩投与群との比較).
‡‡：P<0.01；Wilcoxon の順位和検定 (不純物を含むグアンファシン塩酸塩投与群及び不純物を含まないグアンファシン塩酸塩投与群の対照群との比較).
a：グアンファシン換算投与量.
b：各群雌雄各 6 例は回復性評価群.
c：投与 4 週目に回復性評価群の雄，投与 5 週目の解剖直前に主群の雌，回復 3 週目の解剖直前に回復性評価群の雌雄，それぞれ全例から採血.

(続く)

2.6.7.17.1 不純物の毒性評価：ラットにおける 4 週間混餌投与毒性試験 (続き)

試験番号：R01020-SPD503

		対照		不純物を含むグアンファシン塩酸塩		不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	
投与量 (mg/kg/日)[a]		0		10		10	
動物数[b]		M：16	F：16	M：16	F：16	M：16	F：16
尿検査[c]							
尿量 (mL)	投与 4 週目	5.3	4.4	1.3††	1.2††	1.4††	1.3††
	回復 2 週目	5.5	3.0	6.8	2.9**	6.7	5.6†
pH	投与 4 週目	7.2	6.4	6.7‡	6.2‡	6.3‡‡	5.9‡‡
	回復 2 週目	7.3	6.4	7.6*	6.4*	7.0	6.7†
尿比重 (g/L)	投与 4 週目	1038	1037	1060†† **	1065††	1078††	1059††
	回復 2 週目	1039	1048	1028††	1047*	1034	1031†
尿中カリウム (mmol/L)	投与 4 週目	210.2	176.1	314.2††	308.2†† *	326.2††	229.4
	回復 2 週目	201.4	223.4	107.4†† *	173.6	162.3	122.4
尿中塩素 (mmol/L)	投与 4 週目	97.4	107.4	221.3††	255.9†† *	194.8††	207.0††
尿中ナトリウム (mmol/L)	投与 4 週目	90.7	94.0	160.2††	152.4†	146.7††	124.7
尿たん白 (g/L)	投与 4 週目	0.80	0.02	0.54†	0.22‡‡	0.49††	0.33‡‡

NA：該当データなし (測定せず).
†：P<0.05, ††：P<0.01；Student の *t* 検定 (不純物を含むグアンファシン塩酸塩投与群及び不純物を含まないグアンファシン塩酸塩投与群の対照群との比較).
*：P<0.05, **：P<0.01；Student の *t* 検定 (不純物を含むグアンファシン塩酸塩投与群の不純物を含まないグアンファシン塩酸塩投与群との比較).
‡：P<0.05, ‡‡：P<0.01；Wilcoxon の順位和検定 (不純物を含むグアンファシン塩酸塩投与群及び不純物を含まないグアンファシン塩酸塩投与群の対照群との比較).
a：グアンファシン換算投与量.
b：各群雌雄各 6 例は回復性評価群.
c：投与 4 週目及び回復 2 週目に全例より一晩採尿.

(続く)

2.6.7.17.1　不純物の毒性評価：ラットにおける 4 週間混餌投与毒性試験 (続き)

試験番号：R01020-SPD503

		対照		不純物を含むグアンファシン塩酸塩		不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	
投与量 (mg/kg/日)[a]		0		10		10	
動物数[b]		M：16	F：16	M：16	F：16	M：16	F：16
器官重量 (絶対重量)[c]							
心臓	投与期間終了時	1.395 g	0.829 g	89[†]	91	91	91
肝臓	投与期間終了時	20.68 g	8.04 g	74	85	87	80
下垂体	投与期間終了時	0.010 g	0.012 g	90*	75[†]	110	75[†]
副腎	投与期間終了時	0.060 g	0.076 g	105	83[††]	110	80[††]
甲状腺 (副甲状腺を含む)	投与期間終了時	0.015 g	0.014 g	93	79[†]	147	79
前立腺	投与期間終了時	0.788 g	NA	86	NA	79[††]	NA
精嚢	投与期間終了時	1.182 g	NA	75[††]	NA	87	NA
卵巣	投与期間終了時	NA	0.089 g	NA	80	NA	76
器官重量 (相対重量)[c]							
心臓	回復期間終了時	1.325 g	0.823 g	104**	97	111[††]	96
肝臓	投与期間終了時	18.34 g	7.36 g	93*	96	102	94
唾液腺	投与期間終了時	0.592 g	0.426 g	123[†]	92	116	93
	回復期間終了時	0.644 g	0.439 g	105	107	113[†]	103
肺 (気管支を含む)	投与期間終了時	1.549 g	1.064 g	109*	94	99	96
	回復期間終了時	1.730 g	1.080 g	98*	101	116[†]	104
剖検所見		–	–	–	–	–	–

NA：該当データなし.　　－：特記すべき所見なし.
[†]：P<0.05, [††]：P<0.01；Student の *t* 検定 (不純物を含むグアンファシン塩酸塩投与群及び不純物を含まないグアンファシン塩酸塩投与群の対照群との比較).
*：P<0.05, **：P<0.01；Student の *t* 検定 (不純物を含むグアンファシン塩酸塩投与群の不純物を含まないグアンファシン塩酸塩投与群との比較).
a：グアンファシン換算投与量.
b：各群雌雄各 6 例は回復性評価群.
c：対照群は平均値を示す．数字は対照群に対する重量の割合を%で示す．統計学的有意差は実測値に基づく.

(続く)

2.6.7.17.1 不純物の毒性評価：ラットにおける 4 週間混餌投与毒性試験 (続き)

試験番号：R01020-SPD503

			対照		不純物を含むグアンファシン塩酸塩		不純物を含まないグアンファシン塩酸塩	
投与量 (mg/kg/日)[a]			0		10		10	
動物数[b]			M：16	F：16	M：16	F：16	M：16	F：16
病理組織学的検査[c]								
心臓：	炎症性細胞浸潤	投与期間終了時	2	1	5	2	5	0
		回復期間終了時	3	3	4	1	2	0
	心筋炎	投与期間終了時	0	0	0	0	1	0
		回復期間終了時	1	0	0	0	0	0
脾臓：	髄外造血	投与期間終了時	6	2	1	0	2	0
		回復期間終了時	4	1	6	3	6	3
	ヘモジデリン沈着	投与期間終了時	7	10	9	10	10	10
		回復期間終了時	6	6	6	6	6	6
腸間膜リンパ節：	洞の組織球症							
		投与期間終了時	9	9	10	9	10	10
		回復期間終了時	6	6	6	6	6	5
顎下腺：	腺房細胞の肥大	投与期間終了時	0	0	10	0	10	0
		回復期間終了時	0	0	2	0	3	0
	腺房細胞の萎縮	投与期間終了時	0	0	0	7	0	7
		回復期間終了時	0	0	0	0	0	0
	有糸分裂像を伴う腺房細胞の増加							
		投与期間終了時	0	0	0	3	0	5
		回復期間終了時	0	0	0	0	0	0
耳下腺：	腺房細胞の萎縮	投与期間終了時	0	0	0	9	0	7
		回復期間終了時	NA	0	NA	1	NA	0

NA：該当データなし (評価せず).
a：グアンファシン換算投与量.
b：各群雌雄各 6 例は回復試験用動物.
c：発現例数.