アメナリーフ錠200 mg

第2部（モジュール2）
CTDの概要（サマリー）

2.6.6　毒性試験の概要文

マルホ株式会社

略号一覧

略号	略していない表現又は説明
ASP2151	一般名：Amenamevir、アメナメビル 別名：YM15L
ASP2151固体分散体	ASP2151及びhydroxypropylmethylcellulose 2910をそれぞれ1:3の割合で含む物質
AS1955888	ASP2151のヒト主代謝物
＊物質A (＊物質A)	ASP2151の主要分解生成物
5% HPMC溶液	hydroxypropylmethylcellulose 2910をリン酸二水素カリウム及び水酸化ナトリウムより調製した日本薬局方崩壊試験法第2液に溶解して5 w/v%としたもの（5%hydroxypropylmethylcellulose 2910日本薬局方崩壊試験法第2液溶液）
ALP	Alkaline Phosphatase：アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	Aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ATP	Adenosine triphosphate：アデノシン三リン酸
AUC	area under the concentration-time curve：濃度時間曲線下面積
AUC_{24h}	Area under the plasma concentration time curve：投与後0から24時間の血漿中濃度時間曲線下面積
AUC_{inf}	Area under the concentration-time curve from time zero to infinity：投与後0 時間から無限時間までの血漿中濃度時間曲線下面積
BALB/3T3細胞	マウス胎児由来線維芽細胞
C_{max}	maximal plasma concentration：最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450 ：チトクロムP450
DNA	deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
GLDH	Glutamate dehydrogenase：グルタミン酸脱水素酵素
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
γ-GTP	γ-glutamyl trans peptitase：γ-グルタミルトランスペプチダーゼ
HepG2細胞	ヒト肝がん由来細胞株
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirement for Registration on Pharmaceuticals for Human Use：日米EU 医薬品規制調和国際会議
NZW	New Zealand White：ニュージーランド白色種
TK	Toxicokinetics：トキシコキネティクス

目次

頁

2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 8
2.6.6.3 反復投与毒性試験 8
2.6.6.4 遺伝毒性試験 13
2.6.6.5 がん原性試験 14
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 15
2.6.6.7 新生児を用いた試験 18
2.6.6.8 局所刺激性試験 18
2.6.6.9 その他の毒性試験 18
2.6.6.10 考察及び結論 21
2.6.6.11 図表 24
2.6.6.12 参考文献一覧 24

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

毒性試験の概要を表 2.6.6-1に示した。実施した試験は、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、光安全性試験及び劣化品の毒性試験に加えて、イヌの反復投与毒性試験で認められた肝臓の変化ついて精査した試験（肝毒性に関する検討）である。

これらの試験の試験系・試験デザインは、医薬品毒性試験法ガイドラインやICHガイドライン等各種毒性試験法ガイドラインに準じて実施し、主要な試験はGLP適合下で行った。

経口投与による毒性試験では、ASP2151の全身暴露を増大させるためにASP2151固体分散体を被験物質とし、投与液の媒体には5%HPMC溶液を用いた。ASP2151固体分散体投与液の調製可能な最高濃度はASP2151として25 mg/mLであった。なお、本項では投与量はASP2151に換算した値を表記した。

表 2.6.6-1 毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	被験物質	GLP適合
単回投与毒性試験	経口	マウス及びイヌ	固体分散体	適
反復投与毒性試験				
1週間（予備）	経口	マウス	固体分散体	適
	経口	イヌ	固体分散体	不適
4週間	経口	マウス及びイヌ	固体分散体	適
13週間	経口	マウス及びイヌ	固体分散体	適
26週間	経口	マウス	固体分散体	適
52週間	経口	イヌ	固体分散体	適
遺伝毒性試験				
復帰突然変異	*In vitro*	ネズミチフス菌及び大腸菌	原薬	適
染色体異常	*In vitro*	ヒトリンパ球	原薬	適
骨髄小核	経口	マウス	固体分散体	適
がん原性試験				
93週間	経口	マウス	固体分散体	適
2週間（予備）	経口	ラット	固体分散体	不適
13週間（予備）	経口	ラット	固体分散体	適
104週間	経口	ラット	固体分散体	適
生殖発生毒性試験				
受胎能及び初期胚発生	経口	マウス	固体分散体	適
胚・胎児発生	経口	マウス及びウサギ	固体分散体	適
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能	経口	マウス	固体分散体	適

表 2.6.6-1 毒性試験プログラム （続き）

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	被験物質	GLP適合
その他の毒性試験				
光安全性試験	*In vitro*	BALB/3T3細胞	原薬	適
不純物の毒性試験				
復帰突然変異	*In vitro*	ネズミチフス菌及び大腸菌	1.23%の ＊物質Aを含む原薬	適
染色体異常	*In vitro*	ヒトリンパ球	1.23%の ＊物質Aを含む原薬	適
4週間反復投与	経口	イヌ	2.51%の ＊物質Aを含む固体分散体	適
肝毒性に関する検討				
細胞毒性	*In vitro*	HepG2細胞	原薬	不適
4週間反復投与	経口	イヌ	固体分散体	適

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

マウス及びイヌを用いて単回経口投与毒性試験を実施した。投与量は、マウスは500 mg/kg、イヌは375及び750 mg/kgとした。マウス及びイヌともに死亡は認められず、いずれの検査項目においてもASP2151投与の影響は認められなかった。概略の致死量は、マウスでは500 mg/kg、イヌでは750 mg/kgを上回ると判断した。

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

2.6.6.1.2.1 マウス反復経口投与毒性試験

マウスを用いて1週間反復投与予備試験（投与量：100、250及び500 mg/kg、TKサテライト群は3、30、100、250及び500 mg/kg）、4週間反復投与試験（投与量：15、60、250及び500 mg/kg）、13及び26週間反復投与試験（投与量：15、60及び250 mg/kg）を実施した。

1、4及び26週間試験では、それぞれ500、250及び60 mg/kg以上で肝臓重量の増加が共通してみられた。ただし、肝臓の病理組織学的検査において変化は観察されなかったため、毒性学的意義は低いと判断した。13週間試験ではいずれの投与群においてもASP2151投与の影響はみられなかった。無毒性量は、4週間試験は雌雄ともに500 mg/kg、13及び26週間試験は雌雄ともに250 mg/kgと判断した。

2.6.6.1.2.2 イヌ反復経口投与毒性試験

イヌを用いて、1週間反復投与予備試験（投与量：10、30及び100 mg/kg）、4及び13週間反復投与試験（投与量：3、10、30及び250 mg/kg）、52週間反復投与試験（投与量：3、10、30及び60 mg/kg）を実施した。その結果、4、13及び52週間試験において共通した毒性所見が肝臓に認められた。

4週間試験では、30 mg/kg以上で肝由来ALPの増加及び肝臓重量の増加、250 mg/kgでALT及びASTの増加がみられたほか、病理組織学的検査で小葉中心性の肝細胞肥大及び単細胞壊死が観察された。これらの所見は休薬により回復した。4週間試験の無毒性量は雌雄ともに10 mg/kgと判断した。

＊新薬承認情報提供時に置換えた

13週間試験では250 mg/kg群の雄1例が死亡し、雌1例が瀕死となり途中解剖となった。また、これとは別に雌1例が瀕死状態であったため投与を中止した。本試験における主な毒性所見は肝臓パラメーターの変化であった。すなわち、ALP、AST及びALTの漸増と肝臓重量の増加、更に、病理組織学的検査では小葉中心性の肝細胞肥大並びに肝細胞の変性及び壊死が認められた。追加実施した肝臓の電子顕微鏡検査では、肝薬物代謝酵素誘導時に特徴的である小葉中心帯におけるグリコーゲン顆粒の増加及び滑面小胞体の増生が観察された。これらの変化は休薬期間中に回復又は回復傾向を示した。13週間試験の無毒性量は雄で30 mg/kg及び雌で10 mg/kgと判断した。

52週間試験で認められた特徴的な所見は、肝由来ALP及びALTの増加、肝臓重量の増加、並びに病理組織学的検査において観察された小葉中心性の肝細胞肥大及び滑面小胞体の増生であった。52週間反復投与試験の無毒性量は雌雄ともに3 mg/kgと判断した。

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

細菌を用いる復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験及びマウス*in vivo*骨髄小核試験を実施した。その結果、いずれの試験においても結果は陰性であった。したがって、ASP2151が生体内で遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられた。

2.6.6.1.4 がん原性試験

マウス及びラットを用いて、それぞれ93及び104週間の経口投与によるがん原性試験を実施した。その結果、マウス及びラットのいずれにおいてもASP2151投与による腫瘍発現頻度の増加はなく、ASP2151のがん原性は陰性と判断した。

2.6.6.1.5 生殖発生毒性試験

マウスを用いて受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、及び出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験を、マウス及びウサギを用いて胚・胎児発生への影響に関する試験を実施した。

マウスの受胎能及び着床までの初期胚発生、胚・胎児発生、及び出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能においてASP2151投与の影響は認められなかった。マウスにおける無毒性量は、親動物（雌雄）の生殖能、初期胚発生、胚・胎児発生及び出生児のいずれに対しても500 mg/kgと判断した。

ウサギの胚・胎児発生への影響に関する試験では、250 mg/kg群の母動物で体重増加抑制及び摂餌量の減少、並びに栄養不良に起因すると考えられる早産及び流産がみられた。ウサギにおける無毒性量は、母動物の生殖能に対しては100 mg/kg、胚・胎児発生に対しては250 mg/kgと判断した。

2.6.6.1.6 その他の毒性試験

2.6.6.1.6.1 光安全性試験

ASP2151は光安全性の評価対象となり得る波長領域である290～700 nm範囲内に光吸収を示すことから、光毒性の有無を検討するためBALB/3T3細胞を用いた*in vitro*光毒性試験を実施した。その結果、ASP2151の光毒性は陰性であった。

2.6.6.1.6.2 不純物の毒性試験

本剤において、ICHガイドラインQ3B 「製剤中の不純物に関するガイドライン」の安全性の確

認が必要な閾値を超える分解生成物 ＊物質A が検出された。このことから、 ＊物質A の安全性を確認するため、 ＊物質A を1.23%含有するASP2151劣化品を用いて細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒトリンパ球を用いる染色体異常試験を、 ＊物質A を2.51%含有するASP2151劣化品を用いてイヌを用いた4週間反復経口投与毒性試験を実施した。

細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒトリンパ球を用いる染色体異常試験は陰性であった。また、イヌを用いた4週間反復投与試験（投与量 : 5及び10 mg/kg）では、ASP2151劣化品投与による影響は認められず、その無毒性量は10 mg/kgと判断した。

2.6.6.1.6.3 肝毒性に関する検討

イヌ反復経口投与毒性試験で認められた肝臓の変化を精査する目的で、HepG2細胞を用いた細胞毒性試験及びイヌを用いた4週間反復経口投与による肝毒性に関する検討を実施した。イヌ4週間試験では、通常の毒性試験の血液生化学的検査項目に加え、肝胆道系の障害を反映する項目である胆汁酸、乳酸、γ-GTP及びGLDHを測定したほか、電子顕微鏡検査及び肝CYP活性測定を実施した。

HepG2細胞を用いた細胞毒性試験の結果、イヌの代謝活性化系存在下又は非存在下のいずれにおいてもASP2151のHepG2細胞に対する細胞毒性ポテンシャルは低く、また、ASP2151の肝毒性発現機序にミトコンドリアが関与する可能性は低いと考えられた。

イヌを用いた4週間反復経口投与による肝毒性に関する検討（投与量 : 3、10、60及び250 mg/kg）では、3 mg/kg以上で肝CYP含量の増加がみられ、ASP2151は肝薬物代謝酵素の誘導作用を有することが確認された。また、60 mg/kg以上でALPの増加及び肝重量の増加、250 mg/kgで滑面小胞体の増生を伴う小葉中心性の肝細胞肥大が認められ、これらは肝薬物代謝酵素の誘導に付随した変化と考えられた。一方で、250 mg/kgでみられたALT及びGLDHの増加は、ASP2151の肝毒性による変化であると判断した。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 マウス単回経口投与毒性試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.1-1〕（評価資料）

(1) 試験方法

7週齢のICRマウス（雌雄）にASP2151の500 mg/kgを単回経口投与した。投与後14日まで一般状態観察及び体重測定を行い、投与後14日目に剖検した。また、血中ASP2151濃度測定（投与後0.5、1、2、4、8及び24時間）を実施した。

(2) 試験結果

いずれの検査項目においてもASP2151投与による影響は認められず、概略の致死量は500 mg/kgを上回ると判断した。

また、血中ASP2151濃度に明らかな雌雄差はなかった。

2.6.6.2.2 イヌ単回経口投与毒性試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.1-2〕（評価資料）

(1) 試験方法

9～10カ月齢のビーグル犬（雌雄）にASP2151の375及び750 mg/kgを単回経口投与した。投与後14日まで一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査及び血液生化学的検査を行い、投与後14日に剖検し、肝臓の器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。また、血中ASP2151濃度測定（対照群及び高用量群：投与後1、2、3、4、5、7、9、24、72及び168時間、低用量群：投与後1、2、4、5、6、24、72及び168時間）を実施した。

(2) 試験結果

いずれの検査項目においてもASP2151投与による影響は認められず、概略の致死量は750 mg/kgを上回ると判断した。

血中ASP2151濃度に明らかな雌雄差はなく、750 mg/kg群は投与量比より低い増加を示した。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 マウス反復投与毒性試験

2.6.6.3.1.1 マウス1週間反復経口投与予備試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.2-1〕（参考資料）

(1) 試験方法

7週齢のICRマウス（雌雄）にASP2151の100、250及び500 mg/kg（TKサテライト群は3、30、100、250及び500 mg/kg）を1日1回、1週間、経口投与した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検及び器官重量測定とした。また、血中ASP2151濃度測定（初回投与後0.5、1、2、4、8及び24時間）を実施した。

(2) 試験結果

500 mg/kg群の雌に脾臓重量（体重比）及び肝臓重量（体重比）のごく軽度の増加がみられた。そのほかの検査項目ではASP2151投与の影響は認められなかった。

血中ASP2151濃度に雌雄差はなく、250 mg/kgまでは投与量に比例して増加し、500 mg/kg群は投与量比より低い増加を示した。

以上より、マウス4週間反復経口投与毒性試験の最高用量は500 mg/kgとすることが妥当と判断した。

2.6.6.3.1.2 マウス4週間反復経口投与毒性試験及び4週間回復性試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.2-2〕（評価資料）

(1) 試験方法

7週齢のICRマウス（雌雄）にASP2151の15、60、250及び500 mg/kgを1日1回、4週間、経口投与した。更に、投与後4週間の休薬期間を設け、回復性について検討した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、眼科学的検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、骨髄検査、器官重量測定及び病理組織学的検査とした。また、血中ASP2151濃度測定（投与1及び28日）を実施した。

(2) 試験結果

250 mg/kg群の雄及び500 mg/kg群の雌雄に肝臓重量（体重比）の増加がみられた。そのほかの検査ではASP2151に起因すると考えられる変化はなく、肝臓重量の増加は毒性学的意義の低い変化であると判断した。回復性試験群では、いずれの検査項目においてもASP2151投与の影響は認められなかった。

C_{max}（投与1及び28日）及びAUC（投与28日）は60 mg/kg以下の群では投与量に比例して増加したが、250 mg/kg以上の群では投与量比より低い増加を示した。AUC（投与1日）はほぼ投与量に比例して増加した。また、250 mg/kg以上の群では反復投与によりC_{max}及びAUCが低下する傾向がみられ、高用量のASP2151を反復投与することにより肝薬物代謝酵素が誘導される可能性が考えられた。

以上より、無毒性量は雌雄ともに500 mg/kgと判断した。

2.6.6.3.1.3 マウス13週間反復経口投与毒性試験及び4週間回復性試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.2-3〕（評価資料）

(1) 試験方法

5～6週齢のICRマウス（雌雄）にASP2151の15、60及び250 mg/kgを1日1回、13週間、経口投与した。更に、投与後4週間の休薬期間を設け、回復性について検討した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査とした。また、血中ASP2151濃度測定（投与後1、43及び91日）を実施した。

(2) 試験結果

投与及び休薬期間中を通して、いずれの検査項目においてもASP2151投与の影響は認められなかった。

血中ASP2151濃度に雌雄差はなかった。C_{max}及びAUCはほぼ投与量に比例して増加した。

以上より、無毒性量は雌雄ともに250 mg/kgと判断した。

2.6.6.3.1.4 マウス26週間反復経口投与毒性試験及び13週間回復性試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.2-4〕（評価資料）

(1) 試験方法

7週齢のICRマウス（雌雄）にASP2151の15、60及び250 mg/kgを1日1回、26週間、経口投与した。更に、投与後13週間の休薬期間を設け、回復性について検討した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、聴覚検査、眼科学的検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査とした。また、血中ASP2151濃度測

定（投与1、91及び182日）を実施した。

(2) 試験結果

60 mg/kg以上の群の雄にアルブミン比及びアルブミン/グロブリン比の減少、雌雄に肝臓重量（絶対値あるいは体重比）の増加、250 mg/kg群の雌雄に血中尿素窒素の増加及び雄にβ-グロブリン比の増加がみられた。これらの変化はいずれもごく軽微であり、また、病理組織学的検査において変化は観察されなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。回復性試験群では、いずれの検査項目においてもASP2151投与の影響は認められなかった。

血中ASP2151濃度に雌雄差はなく、C_{max}及びAUCは投与量に伴い増加したが、それぞれのC_{max}及びAUCは反復投与により減少する傾向がみられた。

以上より、無毒性量は雌雄ともに250 mg/kgと判断した。

2.6.6.3.2 イヌ反復投与毒性試験

2.6.6.3.2.1 イヌ1週間反復経口投与予備試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.2-5〕（参考資料）

(1) 試験方法

18～27カ月齢のビーグル犬（雌雄）にASP2151の10、30及び100 mg/kgを1日1回、1週間、経口投与した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、心拍数測定、心電図検査、糞潜血検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査とした。また、血中ASP2151濃度測定（投与1及び7日）を実施した。

(2) 試験結果

100 mg/kg群の雄1例にごく軽度の肝臓重量（絶対値及び体重比）増加がみられた。この個体では、病理組織学的検査において肝臓に類洞うっ血及び肝細胞質内血漿性封入体が観察された。肝臓以外の器官にうっ血は認められず、また、肝臓もしくは循環器系の異常を示唆する所見はなかった。そのほかの検査項目では、ASP2151投与の影響は認められなかった。

C_{max}及びAUCは投与量に伴い増加し、雌の方が雄よりも高い傾向を示した。また、100 mg/kg群雌のC_{max}及びAUCは反復投与により減少した。

2.6.6.3.2.2 イヌ4週間反復経口投与毒性試験及び4週間回復性試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.2-6〕（評価資料）

(1) 試験方法

8カ月齢のビーグル犬（雌雄）にASP2151の3、10、30及び250 mg/kgを1日1回、4週間、経口投与した。更に、投与後4週間の休薬期間を設け、回復性について検討した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、眼科学的検査、聴覚検査、心電図検査、心拍数測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、骨髄検査、器官重量測定及び病理組織学的検査とした。また、血中ASP2151濃度測定（投与1及び28日）を実施した。

(2) 試験結果

30 mg/kg以上の群の雌雄にALPの増加、雄で肝臓重量の増加（絶対値及び体重比）がみられた。250 mg/kg群の雌雄には小葉中心性の肝細胞肥大が認められたほか、このうち雌1例にはALT及びASTの増加及び肝細胞の単細胞壊死が認められた。ALPの増加は投与8日からみられ、投与15及び25日とその変化の程度及び例数が漸増し、休薬後2週間までに回復した。250 mg/kg群の雌のALPを解析した結果、投与開始前と比較して肝由来アイソザイムの割合が増加していたが、病理組織

学的検査ではALP増加を示唆する肝胆道系の変化は観察されなかった。そのほか、250 mg/kg群の雌雄で被験物質様の白色物を含む軟便が認められたが、体重及び摂餌量に変化はなく、病理組織学的検査においても消化管粘膜に変化は観察されなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。これらの変化は休薬後に回復した。

血中ASP2151濃度に雌雄差はなく、C_{max}及びAUC（投与1及び28日）は投与量比より低い割合で増加した。また、30 mg/kg以上のC_{max}及びAUCは反復投与により減少した。

イヌでは、肝薬物代謝酵素の誘導時にALPの増加及び肝細胞肥大が認められるとの報告がある[1),2)]。本試験ではALPの増加と肝臓重量の増加を示した用量（30 mg/kg以上）が一致していたこと、反復投与によりC_{max}及びAUCが減少したことから、ALPの増加、肝臓重量の増加及び小葉中心性の肝細胞肥大は肝薬物代謝酵素の誘導と関連した変化であると推察された。

以上より、無毒性量は雌雄ともに10 mg/kgと判断した。

2.6.6.3.2.3 イヌ13週間反復経口投与毒性試験及び4週間回復性試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.2-7〕（評価資料）
15L-TX-[redacted]〔4.2.3.2-8〕（評価資料）

(1) 試験方法

8カ月齢のビーグル犬（雌雄）にASP2151の3、10、30及び250 mg/kgを1日1回、13週間、経口投与した。更に、投与後4週間の休薬期間を設け、回復性について検討した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、眼科学的検査、聴覚検査、心電図検査、心拍数測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、骨髄検査、器官重量測定及び病理組織学的検査とした。また、血中ASP2151濃度測定（投与1、40及び91日）及び尿中ASP2151濃度測定（投与1、7及び13週）を実施した。更に、肝臓及び腎臓については、電子顕微鏡検査（対照群及び250 mg/kg群の投与13週計画解剖例）も実施した。

(2) 試験結果

250 mg/kg群の雄1例が投与22日に死亡し、雌1例が投与29日に瀕死状態を示したため途中解剖した。さらに1例の雌に死亡例及び瀕死例と同様の一般状態変化が観察されたため、投与44日以降の投与を中止した。生前検査及び剖検、病理組織学的検査の結果から、死亡及び瀕死の原因はASP2151投与に起因した肝臓の傷害と推察された。

死亡した雄には、投与8日より摂餌量の減少、投与14日より体重の減少、投与20日ないしは21日から自発運動の低下、濃黄色尿、黒色粘性便（糞潜血陽性）、結膜及び口腔粘膜の黄色化、眼脂、鼻出血、嘔吐及び肛門周囲の被毛の汚れがみられ、投与22日に側臥位の状態で死亡が確認された。瀕死解剖した雌には、投与17日より摂餌量の減少、投与21日より体重減少、投与28日より自発運動の低下、濃黄色尿、黒色粘性便（糞潜血陽性）、結膜及び口腔粘膜の黄色化がみられ、それに続いて瀕死状態を呈したため、投与29日に解剖した。

これら死亡例及び瀕死例では、AST、ALT、ALP、血中総ビリルビン及び血中尿素窒素の増加がみられ、剖検時には皮下組織及び諸臓器の黄色化、肝臓重量の増加が認められた。病理組織学的検査においては、肝細胞の変性及び単細胞壊死、胆汁栓（毛細胆管）、クッパー細胞の色素沈着が観察された。更に、瀕死例では黄疸が原因と思われる尿中ビリルビンの陽性反応、小葉中心性の肝細胞肥大、肝細胞核分裂像、髄外造血亢進及び胆管上皮細胞肥大が認められた。また、死亡あるいは瀕死例の所見として、腎臓及び脾臓重量の増加、胆汁消失、腎臓における近位尿細管上皮細胞の空胞化、限局性出血及び色素円柱、脾臓における髄外造血亢進、うっ血、濾胞委縮、萎動

脈壁肥大及び骨髄の成熟細胞比率の減少が観察された。そのほか、死亡あるいは瀕死例には一般状態悪化に伴う二次的変化あるいは死戦期の変化と考えられるプロトロンビン時間あるいは活性化部分トロンボプラスチン時間の延長、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの増加、血小板数の減少、白血球百分率、糖、脂質、総タンパク及び電解質の変動、副腎、膵臓及び甲状腺重量の増加、胸腺重量の減少、副腎、消化管、リンパ系組織、精巣、精巣上体、肺、心臓及び腺組織の萎縮性変化、出血性変化、炎症性変化あるいは壊死性変化などが認められた。

投与を中止した250 mg/kg群の雌1例は、投与19日より摂餌量の減少、投与21日より体重の減少を示し、投与34日からALT及びALPの増加、投与40日からASTの増加がみられた。更に、投与43日から自発運動の低下、投与44日に体重及び摂餌量の著しい減少、結膜及び口粘膜の黄色化がみられ、死亡例及び瀕死例と良く似た症状を呈したため、投与44日に投与を中止し、その後6週間休薬して経過観察した。投与44日の臨床検査では、AST、ALT、ALP及び血中総ビリルビンの増加、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの減少、白血球百分率の変動、総コレステロールの減少がみられた。上記一連の一般状態及び臨床検査値の変化は休薬することですべて回復した。休薬6週後の剖検、器官重量及び病理組織学的検査においても、特記すべき所見はなかった。

上述の3例以外の変化として、30 mg/kg群の雌1例で小葉中心性の肝細胞肥大、250 mg/kg群の雌雄でALPの増加、肝臓重量（絶対値又は体重比）の増加、小葉中心性の肝細胞肥大が認められ、250 mg/kg群の肝臓の電子顕微鏡検査では小葉中心帯のグリコーゲン顆粒の増加及び滑面小胞体の増生を示した。これらはいずれも肝薬物代謝酵素誘導に関連した変化と推察された。また、250 mg/kg群の雌雄で被験物質様のものを含む白色便が観察されたほか、250 mg/kg群の雌1例で副腎の体重比重量の増加がみられたが、病理組織学的検査において消化管や副腎に関連のある変化は認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。これらの変化は休薬期間中に回復又は回復傾向を示した。

血中ASP2151濃度に雌雄差はなかった。C_{max}及びAUCは、30 mg/kgまでは投与量に比例して増加し、250 mg/kgでは投与量比より低い割合で増加した。更に、250 mg/kg群のC_{max}及びAUCは投与1日に比べ投与40日で低く、投与91日では投与40日とほぼ同じ値を示した。

尿中ASP2151排泄率（群平均）は、30 mg/kgまでは3.7～8.3%、250 mg/kgでは1%以下であった。

以上より、無毒性量は雄で30 mg/kg及び雌で10 mg/kgと判断した。

2.6.6.3.2.4 イヌ52週間反復経口投与毒性試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.2-9〕（評価資料）

(1) 試験方法

8カ月齢のビーグル犬（雌雄）にASP2151の3、10、30及び60 mg/kgを1日1回、52週間、経口投与した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、眼科学的検査、聴覚検査、心電図検査、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査とした。また、血中ASP2151濃度測定（投与1、28、182及び364日）を実施した。更に、肝臓及び腎臓については電子顕微鏡検査（対照群及び60 mg/kg群）も実施した。

(2) 試験結果

10 mg/kg群の雌及び30 mg/kg以上の群の雌雄にALP（肝由来ALPアイソザイム）の増加、60 mg/kg群の雄にALTの増加、30 mg/kg群の雄及び60 mg/kg群の雌に肝臓の大型化、60 mg/kg群の雌雄に肝臓重量（絶対値及び体重比）の増加がみられた。病理組織学的検査では、10 mg/kg以上の群の雌雄で小葉中心性の肝細胞肥大、30 mg/kg以上の群の雄に甲状腺の濾胞上皮細胞の肥大、60 mg/kg

群の雌雄に肝細胞における滑面小胞体の増生が認められた。これらはいずれも肝薬物代謝酵素誘導に関連した変化と推察された。いずれの用量においても肝細胞の変性あるいは壊死は観察されなかった。

上記以外の変化では、10 mg/kg群の雌及び30 mg/kg以上の群の雌雄に血小板数の増加がみられた。血小板数は試験実施施設における同系統の背景データをやや上回る値であった。病理組織学的検査では造血器に変化は認められず、増加の詳細は不明であった。また、30 mg/kg以上の群の雄及び60 mg/kg群の雌で膵臓重量（絶対値及び体重比）の増加がみられたが、病理組織学的検査を含むすべての検査項目において、これらの変化と関連性のある所見は認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。また、10 mg/kg群の雌及び30 mg/kg以上の群の雌雄の副腎に色素含有泡沫状マクロファージが認められた。この色素を同定するため特殊染色を実施した（対照群の雌雄、10 mg/kg群の雌及び60 mg/kg群の雌雄）ところ、対照群はいずれも陰性、10 mg/kg群の雌はPAS反応のみ陽性、60 mg/kg群の雌雄はPAS反応及びシュモール反応陽性、ベルリンブルー反応陰性であった。これらの結果から、色素は消耗性色素である可能性が示唆された。しかし、ASP2151投与との関連性は不明であり、ほかの検査項目においてもASP2151投与の影響を疑う変化は認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。

血中ASP2151濃度に雌雄差はなかった。C_{max}及びAUCは、30 mg/kgまではほぼ投与量に比例して増加し、60 mg/kgでは投与量比より低い増加を示した。また、C_{max}及びAUCは反復投与により変動しなかった。

以上より、無毒性量は雌雄ともに3 mg/kgと判断した。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

細菌を用いる復帰突然変異試験、ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験及びマウスを用いる骨髄小核試験によりASP2151の遺伝毒性を検討した。

2.6.6.4.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.3.1-1〕（評価資料）

(1) 試験方法

ネズミチフス菌（TA100、TA1535、TA98、TA1537）及び大腸菌WP2*uvrA*/pKM101を用いて、ASP2151の遺伝子突然変異誘発性を検討した。

(2) 試験結果

用量設定試験及び本試験において、各菌株とも代謝活性化の有無にかかわらず、ASP2151は復帰突然変異コロニー数の増加を示さなかった。

2.6.6.4.2 ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.3.1-2〕（評価資料）

(1) 試験方法

ヒトリンパ球を用いてASP2151の染色体異常誘発性を検討した。

(2) 試験結果

代謝活性化の有無にかかわらずASP2151に染色体異常誘発性は認められなかった。

2.6.6.4.3 マウスを用いる骨髄小核試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.3.2-1〕（評価資料）

(1) 試験方法

7週齢のICRマウス（雄）にASP2151の125、250及び500 mg/kgを1日1回、2日間連続経口投与した。最終投与24時間後に、大腿骨から骨髄細胞を回収して、*in vivo*における小核赤血球誘発性を検討した。

(2) 試験結果

ASP2151投与の各群において小核を有する多染性赤血球出現頻度の増加は認められず、小核の誘発は観察されなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 マウス104週間反復経口投与がん原性試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.4.1-1〕（評価資料）

(1) 試験方法

6週齢のICRマウス（雌雄）にASP2151の60、125及び250 mg/kgを1日1回、93週間、経口投与し、がん原性を評価した。検査項目は、一般状態観察、触診、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、剖検及び病理組織学的検査とした。また、血中ASP2151濃度測定（投与1日、13及び52週）を実施した。

(2) 試験結果

104週間投与する計画であったが、投与93週で対照群を含むすべての群で生存率が35～45%となったため投与を終了し、全生存例を剖検した。生存率、腫瘍性病変及び非腫瘍性病変の発現頻度、並びにすべての検査項目においてASP2151投与による影響は認められなかった。

血中ASP2151濃度に雌雄差はなかった。C_{max}及びAUCは投与量に伴い増加する傾向がみられた。また、反復投与により、C_{max}は変動せず、AUCは変動しない又は減少する傾向が認められた。

以上より、ASP2151はICRマウスに対してがん原性を有さないものと判断した。

2.6.6.5.2 ラット2週間反復経口投与毒性試験（がん原性予備試験）

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.4.1-2〕（参考資料）

(1) 試験方法

6週齢のF344ラット（雌雄）にASP2151の15、60、250及び500 mg/kgを1日1回、2週間、経口投与した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査とした。また、血中ASP2151濃度測定（投与1及び14日）を実施した。

(2) 試験結果

250 mg/kg以上の群で雌の肝臓重量（体重比）の増加、500 mg/kg群の雌で肝臓の絶対値重量の増加がみられた。病理組織学的検査では、肝臓に変化は観察されなかった。肝臓重量の増加は肝薬物代謝酵素の誘導に関連して起きたものと推察された。

血中ASP2151のC_{max}及びAUCは、雄に比べて雌で高値となる傾向がみられた。C_{max}及びAUCは、250 mg/kgまではほぼ投与量に比例して増加し、500 mg/kgでは投与量比より低い増加であった。また、反復投与によりC_{max}及びAUCは、雄は500 mg/kgまで、雌は250 mg/kgまで増加或いは変動しなかったが、500 mg/kgの雌では減少した。

以上より、無毒性量は雌雄ともに500 mg/kgと判断した。

2.6.6.5.3 ラット13週間反復経口投与毒性試験（がん原性予備試験）

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.4.1-3〕（評価資料）

(1) 試験方法

5～6週齢のF344ラット（雌雄）にASP2151の60、125及び250 mg/kgを1日1回、13週間、経口投与した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査とした。また、血中及び尿中ASP2151濃度測定（投与1、44及び91日）を実施した。

(2) 試験結果

60 mg/kg以上の群の雌で肝臓重量（絶対値及び体重比）及び腎臓重量（絶対値）の増加がみられたが、いずれも軽微な変化であった。また、125 mg/kg以上の群で雌雄の蓄尿中に結晶様の物質が認められた。以上の変化は、病理組織学的検査でいずれの臓器にも異常が認められなかったことから、毒性学的意義は低いと考えられた。

血中ASP2151のC_{max}及びAUCは、雄に比べて雌で高値となる傾向がみられた。C_{max}及びAUCは、125 mg/kgまではほぼ投与量に比例して増加し、250 mg/kgの雌のみ投与量比より低い増加であった。また、反復投与によりC_{max}及びAUCは増加あるいは変動しなかった。

尿中ASP2151排泄量は非常に低い値であった。雌雄差はなく、用量に伴い投与量比より低い増加を示した。

以上より、無毒性量は雌雄ともに250 mg/kgと判断した。

2.6.6.5.4 ラット104週間反復経口投与がん原性試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.4.1-4〕（評価資料）

(1) 試験方法

5～6週齢のF344ラット（雌雄）にASP2151の60、125及び250 mg/kgを1日1回、104週間、経口投与し、がん原性を評価した。検査項目は、一般状態観察、触診、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、剖検及び病理組織学的検査とした。また、血中ASP2151濃度測定（投与1日、26及び52週）を実施した。

(2) 試験結果

生存率、腫瘍性病変及び非腫瘍性病変の発現頻度、並びにすべての検査項目においてASP2151投与による影響は認められなかった。

C_{max}及びAUCは用量に伴い増加し、雌の方が雄よりも高い傾向を示した。また、反復投与により、60 mg/kg のC$_{max}$及びAUCは増加傾向を示し、125及び250 mg/kgのC$_{max}$及びAUCは変動しなかった。

以上より、ASP2151はF344ラットに対してがん原性を有さないものと判断した。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 マウスを用いる経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（雄）

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.5.1-1〕（評価資料）

(1) 試験方法

10週齢のICRマウス（雄）にASP2151の15、60及び250 mg/kgを交配開始前2週間、交配期間中及

び剖検前日まで1日1回反復経口投与した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定及び剖検に加え、受胎能及び初期胚発生に及ぼす影響を検討した。

(2) 試験結果

いずれの検査項目においてもASP2151投与の影響は認められなかった。

以上より、親動物（雄）の一般毒性及び生殖能、並びに初期胚発生に対する無毒性量はいずれも250 mg/kgと判断した。

2.6.6.6.2 マウスを用いる経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（雌）

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.5.1-2〕（評価資料）

(1) 試験方法

9週齢のICRマウス（雌）にASP2151の15、60及び250 mg/kgを、交配開始前2週間、交配期間中及び妊娠5日まで1日1回反復経口投与した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定及び剖検に加え、受胎能及び初期胚発生に及ぼす影響を検討した。

(2) 試験結果

いずれの検査項目においてもASP2151投与の影響は認められなかった。

以上より、親動物（雌）の一般毒性及び生殖能、並びに初期胚発生に対する無毒性量はいずれも250 mg/kgと判断した。

2.6.6.6.3 マウスを用いる経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（高用量）

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.5.1-3〕（評価資料）

(1) 試験方法

9～10週齢のICRマウス（雌雄）にASP2151の500 mg/kgを、雄は交配開始前2週間、交配期間中及び剖検前日まで、雌は交配開始前2週間、交配期間中及び妊娠5日まで1日1回反復経口投与した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、血中ASP2151濃度測定（投与1及び15日）及び剖検に加え、受胎能及び初期胚発生に及ぼす影響を検討した。

(2) 試験結果

いずれの検査項目においてもASP2151投与の影響は認められなかった。

血中ASP2151濃度に雌雄差はなかった。また、C_{max}及びAUCは共に反復投与により減少する傾向を示した。

以上より、親動物（雌雄）の一般毒性及び生殖能、並びに初期胚発生に対する無毒性量はいずれも500 mg/kgと判断した。

2.6.6.6.4 マウスを用いる経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（予備及び本試験）

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.5.2-1〕（参考資料）
15L-TX-[redacted]〔4.2.3.5.2-2〕（評価資料）

(1) 試験方法

ICRマウス（妊娠）を用いた予備試験の結果、ASP2151の500 mg/kgまで投与可能であると判断した。

本試験では、9～11週齢で交配したICRマウス（雌）にASP2151の15、60、250及び500 mg/kgを妊娠5日から妊娠15日まで1日1回反復経口投与した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定及び血中ASP2151濃度測定（妊娠5及び15日）のほか、妊娠17日に母動物を帝王切開して剖

検を行い、胚・胎児発生への影響について検討した。

(2) 試験結果

母動物及び胚・胎児ともに、いずれの検査項目においてもASP2151投与の影響は認められなかった。

妊娠動物のC_{max}及びAUCは、60 mg/kgまではほぼ投与量に比例して増加したが、250 及び500mg/kgでは投与量比より低い増加を示した。また、妊娠15日のC_{max}及びAUCは、妊娠5日のC_{max}及びAUCに比べ低い値を示した。

以上より、母動物の一般毒性及び生殖能、並びに胚・胎児発生に対する無毒性量はともに500 mg/kgと判断した。

2.6.6.6.5 ウサギを用いる経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（予備及び本試験）

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.5.2-3〕（参考資料）
15L-TX-[redacted]〔4.2.3.5.2-4〕（参考資料）
15L-TX-[redacted]〔4.2.3.5.2-5〕（評価資料）

(1) 試験方法

NZWウサギ（非妊娠及び妊娠）を用いた予備試験の結果、非妊娠及び妊娠ウサギのいずれにおいても最大耐量はASP2151の250 mg/kgと判断した。

本試験では、16～18週齢で交配したNZWウサギ（雌）にASP2151の30、100及び250 mg/kgを妊娠6日から妊娠18日まで1日1回反復経口投与した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定及び血中ASP2151濃度測定（妊娠6及び18日）のほか、妊娠28日に母動物を帝王切開して剖検を行い、胚・胎児発生への影響について検討した。

(2) 試験結果

250 mg/kg群の母動物1例が妊娠19日に死亡した。死因は特定できなかったが、死亡前の一般状態、体重及び摂餌量に変化はなく、剖検においてもASP2151投与との関連性を疑う所見は観察されなかった。また、母動物では250 mg/kg群に体重増加抑制及び摂餌量の減少がみられたほか、栄養不良に起因すると考えられる早産及び流産が各1例ずつ認められた。黄体数及び着床数にはASP2151投与の影響は認めらなかった。また、胚及び胎児においてASP2151投与の影響は認められなかった。250 mg/kg群の胎児に仙椎及び尾側椎骨の骨化進行度の高値がみられたが、試験実施施設の背景値の範囲内であったことから、ASP2151投与に関連しない偶発的な変化であると考えられた。

妊娠動物における100及び250 mg/kgのC_{max}及びAUCは、投与量比より低い増加を示した。また、反復投与によりC_{max}及びAUCはほぼ変動しなかった。

以上より、母動物の一般毒性及び生殖能に対する無毒性量は100 mg/kg、胚・胎児発生に対する無毒性量は250 mg/kgと判断した。

2.6.6.6.6 マウスを用いる経口投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.5.3-1〕（評価資料）

(1) 試験方法

9～10週齢で交配したICRマウス（雌）にASP2151の60、250及び500 mg/kgを、妊娠6日から哺育

20日ないし22日まで1日1回反復経口投与した。

検査項目は、母動物は一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、妊娠及び分娩状態観察、血中ASP2151濃度測定（哺育21日）とし、哺育21日に剖検を実施した。また、F1出生児は、一般状態観察、体重測定、生存性、性比、生後発育、行動、性成熟、生殖行動及び受胎能検査を実施し、雌は妊娠18日に帝王切開を実施した。

(2) 試験結果

500 mg/kg群の母動物1例に早産傾向（妊娠17日に分娩）が認められ、その二次的な影響と考えられる出生児の衰弱が観察された。また、同じ母動物において哺育行動の低下がみられ、授乳2日までに全出生児が死亡した。500 mg/kg群の別の母動物1例には、出生児の喰殺が観察され、授乳5日までに全出生児が死亡した。その結果、500 mg/kg群の出生児（F1）の出生4日後生存率は有意な低値を示した。これら500 mg/kg群の母動物に認められた早産又は喰殺に起因する胎児死亡は、それぞれ1例のみの所見であることから、ASP2151投与とは関連性のない偶発的な所見であると判断した。そのほかの出生前及び出生後の発生、母動物の機能において、ASP2151投与の影響は認められなかった。

母動物の哺育21日におけるC_{max}及びAUCは、ほぼ投与量に比例して増加した。

以上より、母動物の一般毒性及び出生児に対する無毒性量はともに500 mg/kgと判断した。

2.6.6.7 新生児を用いた試験

該当試験なし。

2.6.6.8 局所刺激性試験

本剤の臨床適用経路は経口投与であることから、局所刺激性については評価しなかった。

2.6.6.9 その他の毒性試験

2.6.6.9.1 光安全性試験

2.6.6.9.1.1 Balb/3T3細胞を用いる*in vitro*光毒性試験

報告書番号 TE[redacted]124〔4.2.3.7.7-1〕（評価資料）

(1) 試験方法

ASP2151を長波長紫外線照射又は非照射の両条件下でBALB/3T3細胞に曝露し、光毒性の有無について検討した。

(2) 試験結果

長波長紫外線照射又は非照射の両条件下とも、析出の認められない最高用量である130 μg/mLで細胞毒性はみられず、ASP2151の光毒性は陰性と判定した。

2.6.6.9.2 不純物の毒性試験

2.6.6.9.2.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.7.6-1〕（評価資料）

(1) 試験方法

ネズミチフス菌（TA98、TA100、TA1535、TA1537）及び大腸菌WP2*uvrA*を用いて、ASP2151劣化品（ ＊物質A を1.23%含有）の遺伝子突然変異誘発性を検討した。

(2) 試験結果

用量設定試験及び本試験において各菌株とも代謝活性化の有無にかかわらず、ASP2151劣化品（ ＊物質A を1.23%含有）処理による復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

2.6.6.9.2.2 ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.7.6-2〕（評価資料）

(1) 試験方法

ヒトリンパ球を用いて、ASP2151劣化品（ ＊物質A を1.23%含有）の染色体異常誘発性を検討した。

(2) 試験結果

ASP2151劣化品（ ＊物質A を1.23%含有）による染色体異常誘発性は認められなかった。

2.6.6.9.2.3 イヌを用いる4週間反復経口投与毒性試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.7.6-3〕（評価資料）

(1) 試験方法

8～11カ月齢のビーグル犬（雌雄）にASP2151劣化品（ ＊物質A を2.51%含有）を5及び10 mg/kgの用量で1日1回、4週間、経口投与した際の毒性について検討した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、飲水量測定、眼科学的検査、聴覚検査、心電図検査、心拍数測定、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、骨髄検査、器官重量測定及び病理組織学的検査とした。また、血中ASP2151濃度測定（投与1、14及び28日）を実施した。

(2) 試験結果

ASP2151劣化品（ ＊物質A を2.51%含有）の投与による影響は認められず、その無毒性量は10 mg/kgと判断した。

2.6.6.9.3 肝毒性に関する検討

イヌの反復投与毒性試験で認められた肝臓の変化を精査する目的で、下記の*in vitro*及び*in vivo*試験を実施した。

*In vitro*試験：ASP2151の細胞毒性ポテンシャル及びミドコンドリア毒性の関与を検討するために、HepG2細胞を用いた細胞毒性試験を実施した。すなわち、一般的に使用されるグルコース培養液及びミトコンドリア毒性の検出に有用とされているガラクトース培養液を用い、両培養条件下でHepG2細胞にASP2151を曝露した際の細胞毒性を比較した。

*In vivo*試験：イヌにASP2151を4週間反復経口投与し、肝臓の検査を重点的に行った。

2.6.6.9.3.1 HepG2細胞における細胞毒性試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.7.7-2〕（参考資料）
15L-TX-[redacted]〔4.2.3.7.7-3〕（参考資料）
15L-TX-[redacted]〔4.2.3.7.7-4〕（参考資料）

(1) 試験方法

グルコース又はガラクトースの培養液で培養したHepG2細胞にASP2151を1.37-1000 μmol/Lの濃度で24時間、3日間又は7日間曝露した際の細胞毒性を調べた。なお、細胞毒性の指標として、ATP

量（生存細胞数及びミトコンドリア機能を反映）及びDNA量（生存細胞数を反映）を測定した。

(2) 試験結果

析出が認められなかった最高濃度（111 µmol/L）において、曝露期間に依存した細胞毒性の増強が認められた（細胞生存率は、24時間：100-109%、3日間：78-103%、7日間：38.5-63.5%）。同様の傾向は111 µmol/L以上の濃度でも認められた。すべての曝露期間についてATP量及びDNA量から算出された細胞生存率は、グルコース培養液とガラクトース培養液とで差はなかった。曝露濃度と期間を考慮するとASP2151の細胞毒性ポテンシャルは低く、また、細胞毒性にミトコンドリア毒性が関与する可能性は低いと考えられた。

2.6.6.9.3.2 HepG2細胞におけるイヌ代謝活性化系を用いた細胞毒性試験

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.7.7-5〕（参考資料）

(1) 試験方法

イヌの代謝物が細胞毒性に関与している可能性を考慮して、イヌのS9mix（代謝活性化系）を加えた反応系で検討した。ガラクトースの培養液で培養したHepG2細胞にイヌS9mixの存在下又は非存在下でASP2151の1.37-1000 µmol/Lを6時間及び24時間曝露した際の細胞毒性を調べた。なお、細胞毒性の指標としてATP量及びDNA量を測定した。

(2) 試験結果

イヌのS9mix非存在下での細胞生存率は、6時間曝露のとき99%、24時間曝露のとき89-97%であった。一方、S9mix存在下での細胞生存率は、6時間曝露のとき95-124%、24時間曝露のとき83-108%であった。いずれの条件下においてもATP量及びDNA量に差はなかった。以上より、イヌ代謝物の細胞毒性ポテンシャルは低いものと考えられた。

2.6.6.9.3.3 イヌ4週間反復経口投与による肝毒性に関する検討（血漿中代謝物濃度の測定を含む）

報告書番号 15L-TX-[redacted]〔4.2.3.7.7-6〕（評価資料）

(1) 試験方法

9カ月齢のビーグル犬（雌雄）にASP2151の3、10、60及び250 mg/kgを1日1回、4週間、経口投与し、肝臓への影響を検討した。検査項目は、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、尿検査、血液生化学的検査、剖検、肝臓重量測定、病理組織学的検査、電子顕微鏡検査（肝臓）、肝ミクロソームのCYP活性測定（タンパク質含量、CYP含量及びテストステロン6β-ヒドロキシラーゼ活性）とした。血液生化学的検査では、通常の項目に加え肝胆道系の障害を反映するパラメーターである胆汁酸、乳酸、γ-GTP及びGLDHの測定を、投与前2及び1週間、投与後3、6、9、12、15、18、21、24及び27日に実施した。また、血中ASP2151及びAS1955888濃度測定（投与1、14及び28日）を実施した。

(2) 試験結果

血液生化学的検査では60 mg/kg以上の群の雌雄にALPの増加、250 mg/kg群の雌雄にALTの増加及び250 mg/kgの雄にGLDHの増加がみられた。これら肝酵素増加の開始時点は、ALP及びALTは投与6日、GLDHは投与18日であった。また、60 mg/kg以上の雌に肝臓の大型化、60 mg/kg以上の雌及び250 mg/kgの雌雄に肝臓重量の増加がみられ、病理組織学的検査では250 mg/kgの雌雄に小葉中心性の肝細胞肥大及び滑面小胞体の増生が観察された。更に、肝CYP活性測定では、3 mg/kg以上の群の雌雄にタンパク質含量の増加、CYP含量の増加及びテストステロン6β-ヒドロキシラーゼ活性の上昇がみられたことから、肝臓の変化はASP2151の肝薬物代謝酵素の誘導に付随した変化

と考えられた。一方で、250 mg/kgでみられたALT及びGLDHの増加は、ASP2151の肝毒性による変化であると判断した。

血中ASP2151濃度及びAS1955888濃度ともに雌雄差はなかった。ASP2151のC_{max}及びAUCは、ほぼ投与量に比例して増加したが、250 mg/kgでは投与量比より低い増加であった。また、ASP2151のC_{max}及びAUCは、反復投与により60 mg/kgまでは変動しなかったが、250 mg/kgでは低値となる傾向を示した。AS1955888のC_{max}及びAUCは、ほぼ投与量に比例して増加したが、雄の250 mg/kgでは投与量比より低い増加又は減少傾向を示した。また、AS1955888のC_{max}及びAUCは反復投与により変動しなかった。AS1955888のAUCはASP2151のAUCの5%以下であった。

2.6.6.10 考察及び結論

反復投与毒性試験の結果から、本薬の毒性学的標的臓器は肝臓であると考えられた。その所見は、げっ歯類を用いた反復投与試験では肝臓重量の増加に限られていたが、イヌを用いた反復投与試験では血液生化学的検査、器官重量及び病理組織検査において肝パラメーターの変化・異常が共通して認められた。このことから、ヒトに対するリスク評価はイヌの毒性試験成績のうちイヌの肝毒性に焦点をあて実施することが適切であると考えた。

［イヌの肝臓所見について］
イヌの反復投与毒性試験で認められた肝臓の所見を表 2.6.6-2にまとめた。

表 2.6.6-2 イヌの反復経口投与毒性試験で認められた肝臓の所見

投与期間	ASP2151 投与量 (mg/kg)	肝臓の所見	
		雄	雌
1 週間	3	-	-
	10	-	-
	100	↑肝重量（絶対値及び体重比） 類洞うっ血、肝細胞質内における血漿性封入体	-
4 週間	3	-	-
	10	-	-
	30	↑ALP ↑肝重量（絶対値及び体重比）	↑ALP
	250	↑ALP ↑肝重量（絶対値及び体重比） 小葉中心性肝細胞肥大	↑ALP、↑ALT、↑AST 小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞の単細胞壊死
13 週間	3	-	-
	10	-	-
	30	-	小葉中心性肝細胞肥大
	250	【途中死亡例】 ↑ALP、↑ALT、↑AST、↑総ビリルビン ↑肝重量（絶対値及び体重比） 肝細胞の単細胞壊死及び変性、胆汁栓、クッパー細胞の色素沈着 【計画解剖例】 ↑ALP ↑肝重量（絶対値及び体重比） 小葉中心性肝細胞肥大、肝小葉中心帯の滑面小胞体の増生、グリコーゲン顆粒の増加 休薬後：小葉中心性肝細胞肥大	【瀕死解剖例】 ↑ALP、↑ALT、↑AST、↑総ビリルビン ↑肝重量（体重比） 小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞の単細胞壊死及び変性、胆汁栓、クッパー細胞の色素沈着、肝細胞核分裂像、髄外造血亢進、小葉胆管上皮細胞肥大 【投与中止例】 ↑ALP、↑ALT、↑AST、↑総ビリルビン 休薬後は異常なし 【計画解剖例】 ↑ALP ↑肝重量（体重比） 小葉中心性肝細胞肥大、肝小葉中心帯の滑面小胞体の増生、グリコーゲン顆粒の増加
52 週間	3	-	-
	10	小葉中心性肝細胞肥大	↑ALP 小葉中心性肝細胞肥大
	30	↑ALP ↑肝重量（絶対値） 肝臓の大型化 小葉中心性肝細胞肥大	↑ALP 小葉中心性肝細胞肥大
	60	↑ALP、↑ALT ↑肝重量（絶対値及び体重比） 小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞における滑面小胞体の増生	↑ALP ↑肝重量（絶対値及び体重比） 肝臓の大型化 小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞における滑面小胞体の増生

-: 所見なし、　下線：一部の個体に認められた

表 2.6.6-2 イヌの反復経口投与毒性試験で認められた肝臓の所見 （続き）

投与期間	ASP2151 投与量 (mg/kg)	肝臓の所見	
		雄	雌
4 週間（肝毒性に関する検討）	3	肝ミクロソーム： ↑タンパク質含量、↑CYP 含量、↑テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性	肝ミクロソーム： ↑タンパク質含量
	10	肝ミクロソーム：↑タンパク質含量、↑CYP 含量、↑テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性	肝ミクロソーム： ↑CYP 含量、↑テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性
	60	↑ALP 肝ミクロソーム： ↑タンパク質含量、↑CYP 含量、↑テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性	↑ALP ↑肝重量（絶対値） 肝臓の大型化 肝ミクロソーム： ↑タンパク質含量、↑CYP 含量、↑テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性
	250	↑ALP、↑ALT、↑GLDH ↑肝重量（絶対値及び体重比） 小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞における滑面小胞体の増生 肝ミクロソーム： ↑タンパク質含量、↑CYP 含量、↑テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性	↑ALP、↑ALT ↑肝重量（絶対値及び体重比） 肝臓の大型化 小葉中心性肝細胞肥大、肝細胞における滑面小胞体の増生 肝ミクロソーム： ↑タンパク質含量、↑CYP 含量、↑テストステロン 6β-ヒドロキシラーゼ活性

-: 所見なし、 下線：一部の個体に認められた

［ASP2151による肝毒性の発現機序について］

イヌの反復投与試験で肝臓に認められた共通の所見は、肝酵素の増加、肝臓重量の増加及び小葉中心性の肝細胞肥大であった。肝CYP活性測定及び電子顕微鏡検査の結果から、これらの毒性所見が本薬による肝薬物代謝酵素誘導に起因していることが示唆された。

肝薬物代謝酵素の誘導に基づく肝臓の変化は、生体の恒常性を維持するための適応性反応であり、毒性学的な意義は低いと考えられている。すなわち、イヌの反復投与試験におけるALP増加や肝臓重量の増加、小葉中心性肝細胞肥大、滑面小胞体の増生、肝ミクロソームのCYP含量の増加がこれに相当する。一方で、肝薬物代謝酵素誘導を介する生体の恒常性維持機能には限界があり、限界を越えた場合には恒常性が破たんし、肝細胞の変性や壊死、増殖などの肝毒性を引き起こすとされている[3)]。このことがイヌの反復投与試験におけるAST、ALT及びGLDHの増加、肝細胞の変性及び単細胞壊死などの肝細胞傷害性を示唆する所見につながったと考えられた。なお、いずれの所見も投薬を中止することにより回復する可逆性の変化であった。

以上より、イヌで起きたASP2151の肝毒性の発現機序として、次のことが考えられた。

ASP2151を投与すると、肝薬物代謝酵素誘導を介する適応性変化としてALPの増加及び小葉中心性の肝細胞肥大が起こる。投与量が高用量である場合は、それらに続いて肝細胞にごく軽度の傷害が起き、ALT、AST及びGLDHが増加する。肝細胞傷害は肝胆道系酵素の漸増とともに進展するが、投薬を中止することにより回復する可逆性の変化である。

［ヒトに対するリスクアセスメントについて］

ヒトの肝臓に対するリスクアセスメントについて、イヌ反復投与試験の無毒性量における曝露

量とヒト臨床試験における曝露量とを比較することにより考察した。なお、本剤の用法・用量は、1日1回400 mg、7日間投与である。このことから、イヌについてはGLP適合の反復投与試験として最もヒトの投与期間に近く、かつ肝臓への影響を精査した試験である4週間反復経口投与による肝毒性に関する検討（試験番号：15L-TX-[redacted]）を選択した。その試験において肝細胞傷害（ALT及びGLDH増加）がみられた用量は250 mg/kgであり、60 mg/kgでは肝臓重量の増加などの肝薬物酵素誘導を介した適応性変化による所見に限られていたことから、無毒性量は60 mg/kgと判断し、その曝露量を採用した。一方、ヒトは、日本人健康成人における400 mg単回投与時（試験番号：M522101-J22）、並びに日本人健康高齢男性における600 mg反復投与時（試験番号：15L-CL-[redacted]）の曝露量を採用した。

表 2.6.6-3にヒトとイヌの曝露量の比較を示した。イヌの無毒性量の曝露量は、日本人健康成人に臨床用量（400 mg）を単回投与した場合の曝露量と比較して10倍以上、日本人健康高齢男性に600 mgを反復投与した場合の曝露量と比較して8倍以上であった。

表 2.6.6-3 イヌとヒトの曝露量の比較

試験	用量 （肝臓の変化）	投与日	AUC (ng･hr/mL)	イヌ AUC vs ヒト AUC §		
				日本人 400 mg単回	日本人（高齢男性） 600 mg反復	
			群平均値	AUC比	Day1 AUC比	Day7 AUC比
イヌ （15L-TX-[redacted]）	60 mg/kg、M+F (肝薬物酵素誘導を介する適応性変化)	1	326024	16.2	11.4	NA
		14	192414	NA	NA	8.2
	250 mg/kg、M+F (↑ALT、↑GLDH)	1	460059	22.8	16.1	NA
		14	327931	NA	NA	13.9
日本人 （M522101-J22）	400 mg、M+F (肝臓及び肝機能に関する有害事象なし)	1	20140	NA	NA	NA
日本人 （15L-CL-003）	600mg、M（高齢者） (肝臓及び肝機能に関する有害事象なし)	1	28491	NA	NA	NA
		7	23566	NA	NA	NA

M+F: 雌雄又は男女合算、 ↑: 増加、 NA: Not applicable

§: 曝露量比=（イヌにおける群平均AUC_{24h}値）／（ヒトにおける群平均AUC_{inf}又はAUC_{24h}値）

以上より、イヌに比してヒトでは安全域が8倍以上存在すること、本剤のヒトにおける投与期間は7日間であり、通常繰り返し間歇的に投与されることは想定されないことに加え、イヌで認められた肝臓の変化は休薬により回復したことを考慮すると、本剤の臨床使用によりヒトで重篤な肝毒性が発現する可能性は低いものと考えられた。

2.6.6.11 図表

毒性試験の概要文中に図表を含めた。

2.6.6.12 参考文献一覧

1) Hoshiya T, Watanabe D, Ishii T, Yamaguchi Y, Matsuoka T, Saito H, et al. Comparison of pathologic

features in experimental hyperphosphatasemic conditions in beagle dogs treated with α-naphtylisothiocyanate and phenobarbital. J. Toxicol. Pathol. 2002; 15: 49-59.
2) Leeling JL, Hartnagel RE, Bare JJ, Fonseca EH, Kraus PJ. Influence of a benzoquinolizinyl derivative on serium and hepatic alkaline phosphatase activity in the dog and rat. Toxicology. 1975; 4:223-229.
3) 吉田緑, 梅村隆志, 小島弘幸, 井上薫, 高橋美和, 浦丸直人 他. 化学物質のリスク評価における肝肥大の取扱いの基本的考え方. 食品衛生学雑誌 2015; 56(2): 42-48.

アメナリーフ錠200 mg

第2部（モジュール2）
CTDの概要（サマリー）

2.6.7　毒性試験概要表

マルホ株式会社

略号一覧

略号	略していない表現又は説明
ASP2151	一般名：Amenamevir、アメナメビル 別名：YM15L
ASP2151固体分散体	ASP2151及びhydroxypropylmethylcellulose 2910をそれぞれ1:3の割合で含む物質
AS1955888	ASP2151のヒト主代謝物
＊物質A (＊物質A)	ASP2151の主要分解生成物
5% HPMC溶液	hydroxypropylmethylcellulose 2910をリン酸二水素カリウム及び水酸化ナトリウムより調製した日本薬局方崩壊試験法第2液に溶解して5 w/v%としたもの（5%hydroxypropylmethylcellulose 2910日本薬局方崩壊試験法第2液溶液）
A/G	albumin-globulin ratio：アルブミン－グロブリン（比）
ALP	Alkaline Phosphatase：アルカリホスファターゼ
ALT	Alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	Aspartate aminotransferase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the concentration- time curve：濃度時間曲線下面積
BALB/3T3細胞	マウス胎児由来線維芽細胞
C_{max}	maximal plasma concentration：最高血漿中濃度
CYP	Cytochrome P450 ：チトクロムP450
DNA	deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
GLDH	Glutamate dehydrogenase：血清グルタミン酸脱水素酵素
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HepG2細胞	ヒト肝がん由来細胞株
NOAEL	No observed adverse effect level：無毒性量
NZW	New Zealand White：ニュージーランド白色種

＊新薬承認情報提供時に置換えた

目次

頁

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 7
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス成績の一覧 8
2.6.7.4 毒性試験：被験物質使用ロットの一覧 10
2.6.7.5 単回投与毒性試験 13
2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験） 14
2.6.7.7 反復投与毒性試験 15
2.6.7.8 *In vitro*遺伝毒性試験 33
2.6.7.9 *In vivo*遺伝毒性試験 38
2.6.7.10 がん原性試験 39
2.6.7.11 生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験） 48
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 49
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 56
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 64
2.6.7.15 新生児を用いた試験 69
2.6.7.16 局所刺激性試験 70
2.6.7.17 その他の毒性試験 71

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

PAGE 1 OF 3 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

試験種類	試験系	投与方法 {a}	投与期間	投与量（mg/kg） {b}	GLP適用	実施施設 {c}	試験番号	CTDにおける記載箇所
単回投与毒性試験	ICRマウス	経口	単回	0、500	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.1-1（評価）
	ビーグル犬	経口	単回	0、375、750	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.1-2（評価）
反復投与毒性試験	ICRマウス	経口	1週間	0、100、250、500	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-1（参考）
	ICRマウス	経口	4週間	0、15、60、250、500	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-2（評価）
	ICRマウス	経口	13週間	0、15、60、250	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-3（評価）
	ICRマウス	経口	26週間	0、15、60、250	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-4（評価）
	ビーグル犬	経口（注射用水）	1週間	0、10、30、100	不適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-5（参考）
	ビーグル犬	経口	4週間	0、3、10、30、250	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-6（評価）
	ビーグル犬	経口	13週間	0、3、10 (雌)、30 (雄)、250	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-7（評価）
							15L-TX-[redacted] {d}	4.2.3.2-8（評価）
	ビーグル犬	経口	52週間	0、3、10、30、60	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-9（評価）
遺伝毒性試験								
復帰突然変異	ネズミチフス菌、大腸菌	*In vitro*	—	2.44-5000 µg/plate	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.3.1-1（評価）
染色体異常	ヒトリンパ球	*In vitro*	—	50-500 µg/mL	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.3.1-2（評価）
骨髄小核	ICRマウス	経口	2日間	0、125、250、500	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.3.2-1（評価）
がん原性試験	F344ラット	経口	2週間	0、15、60、250、500	不適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.4.1-2（参考）
	ICRマウス	経口	93週間	0、60、125、250	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.4.1-1（評価）
	F344ラット	経口	13週間	0、60、125、250	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.4.1-3（評価）
	F344ラット	経口	104週間	0、60、125、250	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.4.1-4（評価）

{a}：経口投与の試験では、ASP2151固体分散体を使用した。また、別途括弧内に記したものを除き、経口の投与液の媒体には5% HPMC溶液を用いた。

{b}：特に記載のない場合、投与量の下線は無毒性量（NOAEL）を示す。{c}：試験当時と当資料作成時点で試験施設名称が異なる場合は、試験当時名称を記載する。

{d}：15L-TX-024で得られた肝臓及び腎臓について電子顕微鏡検査を実施した。

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

PAGE 2 OF 3 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

試験種類	試験系	投与方法 {a}	投与期間	投与量（mg/kg） {b}	GLP適用	実施施設 {c}	試験番号	CTDにおける記載箇所
生殖発生毒性試験 受胎能・初期胚発生	ICRマウス	経口	雄：交配2週間前から剖検前日 雌：投与なし	0、15、60、250	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.1-1（評価）
	ICRマウス	経口	雄：投与なし 雌：交配2週間前から妊娠5日	0、15、60、250	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.1-2（評価）
	ICRマウス	経口	雄：交配2週間前から剖検前日 雌：交配2週間前から妊娠5日	0、500	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.1-3（評価）
生殖発生毒性試験 胚・胎児発生	ICRマウス	経口	妊娠5日から妊娠15日	0、100、250、500	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.2-1（参考）
	NZWウサギ（非妊娠）	経口	単回及び5日間	10、30、100、250	不適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.2-3（参考）
	NZWウサギ	経口	妊娠6日から妊娠18日	0、30、100、250	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.2-4（参考）
	ICRマウス	経口	妊娠5日から妊娠15日	0、15、60、250、500	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.2-2（評価）
	NZWウサギ	経口	妊娠6日から妊娠18日	0、30、100 (F_0)、250 (F_1)	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.2-5（評価）
生殖発生毒性試験 出生前・出生後の発生	ICR マウス	経口	妊娠 6 日から哺育 20 ないし 22 日	0、60、250、500	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.3-1（評価）

{a}：経口投与の試験では、ASP2151固体分散体を使用した。また、別途括弧内に記したものを除き、経口の投与液の媒体には5% HPMC溶液を用いた。

{b}：特に記載のない場合、投与量の下線は無毒性量（NOAEL）を示す。{c}：試験当時と当資料作成時点で試験施設名称が異なる場合は、試験当時名称を記載する。

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

PAGE 3 OF 3 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

試験種類	試験系	投与方法 {a}	投与期間	投与量（mg/kg） {b}	GLP適用	実施施設 {c}	試験番号	CTDにおける記載箇所
その他の毒性試験								
光安全性試験 光毒性	BALB/3T3 細胞	*In vitro*	—	7.8-1000 µg/mL	適	[redacted]	TE[redacted]124	4.2.3.7.7-1（評価）
不純物の毒性試験 復帰突然変異	ネズミチフス菌、大腸菌	*In vitro*	—	157 – 5000 µg/plate （1.23%分解生成物含有）	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.7.6-1（評価）
染色体異常	ヒトリンパ球	*In vitro*	—	100 – 750 µg/mL （1.23%分解生成物含有）	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.7.6-2（評価）
反復投与毒性	ビーグル犬	経口（0.5%メチルセルロース）	4 週間	0、5、10 （2.51% 分解生成物含有）	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.7.6-3（評価）
肝毒性に関する検討 細胞毒性	HepG2 細胞	*In vitro* （ATP 測定）	24 時間	1.37-1000 µmol/L	不適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.7.7-2（参考）
	HepG2 細胞	*In vitro* （ATP 及び DNA 測定）	24、72 時間	1.37-1000 µmol/L	不適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.7.7-3（参考）
	HepG2 細胞	*In vitro* （ATP 及び DNA 測定）	168 時間	1.37-1000 µmol/L	不適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.7.7-4（参考）
	HepG2 細胞	*In vitro* (イヌ S9mix 使用)	6、24 時間	1.37-1000 µmol/L	不適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.7.7-5（参考）
反復投与毒性	ビーグル犬	経口	4週間	0、3、10、60、250	適	[redacted]	15L-TX-[redacted]	4.2.3.7.7-6（評価）

{a}：経口投与の試験では、ASP2151固体分散体を使用した。また、別途括弧内に記したものを除き、経口の投与液の媒体には5% HPMC溶液を用いた。

{b}：特に記載のない場合、投与量の下線は無毒性量（NOAEL）を示す。{c}：試験当時と当資料作成時点で試験施設名称が異なる場合は、試験当時名称を記載する。

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

PAGE 1 OF 1 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

試験の種類	試験系	投与方法	投与量（mg/kg）	GLP適用	試験番号	CTDにおける記載箇所
単回投与毒性試験	ICRマウス	経口	500	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.1-1（評価）
単回投与毒性試験	ビーグル犬	経口	375、750	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.1-2（評価）
1週間反復投与毒性試験	ICRマウス	経口	3、30、100、250、500	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-1（参考）
4週間反復投与毒性試験	ICRマウス	経口	15、60、250、500	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-2（評価）
13週間反復投与毒性試験	ICRマウス	経口	15、60、250	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-3（評価）
26週間反復投与毒性試験	ICRマウス	経口	15、60、250	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-4（評価）
1週間反復投与毒性試験	ビーグル犬	経口	10、30、100	不適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-5（参考）
4週間反復投与毒性試験	ビーグル犬	経口	3、10、30、250	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-6（評価）
13週間反復投与毒性試験	ビーグル犬	経口	3、10、30、250	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-7（評価）
52週間反復投与毒性試験	ビーグル犬	経口	3、10、30、60	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.2-9（評価）
2週間反復投与がん原性予備試験	F344ラット	経口	15、60、250、500	不適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.4.1-2（参考）
マウスがん原性試験	ICRマウス	経口	60、125、250	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.4.1-1（評価）
13週間反復投与がん原性予備試験	F344ラット	経口	60、125、250	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.4.1-3（評価）
ラットがん原性試験	F344ラット	経口	60、125、250	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.4.1-4（評価）
受胎能・初期胚発生（追加試験）	ICRマウス	経口	500	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.1-3（評価）
胚・胎児の発生に関する試験	ICRマウス	経口	15、60、250、500	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.2-2（評価）
胚・胎児の発生に関する予備試験	NZWウサギ（非妊娠）	経口	10、30、100、250	不適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.2-3（評価）
胚・胎児の発生に関する試験	NZWウサギ	経口	30、100、250	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.2-5（評価）
出生前及び出生後の発生に関する試験	ICRマウス	経口	60、250、500	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.5.3-1（評価）
4週間反復投与毒性試験（不純物の毒性試験）	ビーグル犬	経口	5、10	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.7.6-3（評価）
4週間反復投与毒性試験（肝毒性の検討）	ビーグル犬	経口	3、10、60、250	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.7.7-6（評価）

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス成績の一覧

2.6.7.3A 経口投与による定常状態でのAUC_{0-24}

定常状態でのAUC_{0-24}（ng･h/mL） 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	マウス		ラット		イヌ		ウサギ
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
3					16413.5{k}, 17646.3{l}, 17365{m}, 19488.86{o}	17630.1{k}, 16803.8{l}, 19084{m}, 17543.29{o}	
5					25795{n}	26557{n}	
10					58801.8{k}, 61890.8{l},55922{m}, 49287{n}, 55779.56{o}	59043.6{k}, 61357.5{l},62752{m}, 41784{n}, 56499.85{o}	
15	8290{a}, 13068.5{b}, 6361.7{c}	7773{a}, 13468.3{b}, 7909.7{c}, 3686.4{f}	3118.0{h}	17548.7{h}			
30					116869.2{k}, 140336.8{l},178803{m}	113669.4{k}, 134774.3{l},165038{m}	64903.2{p}
60	23234{a}, 51912.8{b}, 20745.4{c}, 31688.1{d}	31419{a}, 53636.3{b}, 37639.6{c}, 42121.4{d}, 15799.2{f}, 20814{g}	17794.3{h}, 23858.7{i}, 44507.7{j}	64131.4{h}, 106260.8{i}, 122636.7{j}	306823{m}, 272977.22{o}	202907{m}, 244706.45{o}	
100							179574.5{p}
125	70877.7{d}	67512.3{d}	44581.2{i}, 49780.5{j}	140266.3{i}, 160128.3{j}			
250	79162{a}, 131898.8{b}, 81105.5{c}, 111979.5{d}	81828{a},118690.3{b}, 109741.3{c}, 121434.1{d}, 52558.9{f}, 91442{g}	51517.2{h}, 89149.4{i}, 71320.5{j}	113373.4{h}, 202374.7{i}, 210110.7{j}	195571.3{k},309498.6{l}, 329163.64{o}	187703.9{k}, 248919.4{l}, 343078.54{o}	213757.6{p}
500	104687{a}, 180327.0{e}	117954{a}, 137818.9{e}, 121620.1{f}, 202037{g}	89837.1{h}	148567.7{h}			

a：マウス4週間、b：マウス13週間、c：マウス26週間、d：マウスがん原性、e：マウス受胎能・初期胚発生（追加試験）、f：マウス胚・胎児発生、g：マウス出生前及び出生後の発生、h：ラット2週間（がん原性予備）、i：ラット13週間（がん原性予備）、j：ラットがん原性、k：イヌ4週間、l：イヌ13週間、m：イヌ52週間、n：イヌ4週間（不純物）、o：イヌ4週間（肝毒性）、p：ウサギ胚・胎児発生

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

2.6.7.3B 経口投与による定常状態でのC_{max}

定常状態でのC_{max}（ng/mL） 被験物質：アメナメビル

投与量	マウス		ラット		イヌ		ウサギ
（mg/kg/日）	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
3					1252.0{k}, 1304.7{l} 1251{m}, 1493.24{o}	1234.1{k}, 1302.7{l} 1455{m}, 1277.44{o}	
5					1989{n}	2001{n}	
10					4011.6{k}, 4559.0{l}, 3948{m}, 3709{n}, 4217.93{o}	4457.6{k}, 4649.7{l},4639{m}, 3275{n}, 4070.62{o}	
15	2503{a}, 4206.0{b}, 2603.1{c}	2399{a}, 4634.0{b}, 3427.9{c}, 951.6{f}	1192.9{h}	2800.3{h}			
30					9213.9{k}, 10650.3{l},12672{m}	8311.5{k}, 9861.7{l},11866{m}	8995.5{p}
60	8197{a}, 15777.0{b}, 6147.0{c}, 11165.5{d}	10813{a}, 17208.0{b}, 13584.6{c}, 15656.0{d} , 4355.8{f}, 9620{g}	6239.5{h}, 7583.6{i}, 11464.1{j}	8956.8{h}, 9198.6{i}, 20037.0{j}	20989{m}, 20219.77{o}	15280{m}, 17765.19{o}	
100							24480.9{p}
125	22386.5{d}	29669.5{d}	12447.5{i}, 11777.9{j}	17994.6{i}, 24491.3{j}			
250	24498{a}, 38631.0{b}, 33903.6{c}, 35342.3{d}	17651{a}, 44634.0{b}, 47634.2{c}, 41879.0{d}, 11633.8{f}, 27345{g}	12462.4{h}, 19052.1{i}, 14731.0{j}	16526.1{h}, 27546.6{i}, 31518.4{j}	12316.2{k}, 20689.8{l}, 23313.98{o}	12215.7{k}, 16718.0{l} 23772.29{o}	25379.4{p}
500	32124{a}, 43039.5{e}	22871{a}, 31183.2{e}, 17771.0{f}, 42141{g}	18290.5{h}	19928.6{h}			

a：マウス4週間、b：マウス13週間、c：マウス26週間、d：マウスがん原性、e：マウス受胎能・初期胚発生（追加試験）、f：マウス胚・胎児発生、g：マウス出生前及び出生後の発生、h：ラット2週間（がん原性予備）、i：ラット13週間（がん原性予備）、j：ラットがん原性、k：イヌ4週間、l：イヌ13週間、m：イヌ52週間、n：イヌ4週間（不純物）、o：イヌ4週間（肝毒性）、p：ウサギ胚・胎児発生

2.6.7.4 毒性試験：被験物質使用ロットの一覧

原薬ロットの一覧

被験物質：アメナメビル

ASP2151 ロット番号	Assay (%)	類縁物質（%）		分解生成物（%）	試験番号	試験種類
		Total	Individual	＊物質A (＊物質A)		
申請規格：	[redacted]～[redacted]% （脱水、脱溶媒物換算）	[redacted]%以下	[redacted]%以下	[redacted]%以下	—	—
K02	100.6	0.28	≤0.20	NA	15L-TX-[redacted] 15L-TX-[redacted]	復帰突然変異試験 染色体異常試験
12Y04	100.6	0.06 {a}	ND	0.06	TE[redacted]124	光毒性試験
K21510608	99.6	NA	NA	NA	15L-TX-[redacted] 15L-TX-[redacted] 15L-TX-[redacted] 15L-TX-[redacted]	HepG2を用いた細胞毒性試験 HepG2を用いた細胞毒性試験（3日処理） HepG2を用いた細胞毒性試験（7日処理） HepG2の代謝活性化系を用いた細胞毒性試験

NA：該当なし、ND：検出されず、{a}：分解生成物を含む

固体分散体ロットの一覧

被験物質：アメナメビル

ASP2151 固体分散体 ロット番号	Assay (%)	類縁物質（%）		分解生成物（%）	試験番号	試験種類
		Total	Individual	＊物質A (＊物質A)		
744-1-3	99.83	NA	NA	NA	15L-TX-[redacted]	イヌ1週間反復経口投与毒性予備試験
15L01	98.8	0.28	≤0.20	NA	15L-TX-[redacted] 15L-TX-[redacted] 15L-TX-[redacted] 15L-TX-[redacted] 15L-TX-[redacted]	マウス単回経口投与毒性試験 マウス1週間反復経口投与毒性予備試験 マウス骨髄小核試験 非妊娠ウサギ単回及び反復経口投与毒性予備試験 ウサギ経口投与による胚・胎児発生予備試験

NA：該当なし

＊新薬承認情報提供時に置換えた

2.6.7.4 毒性試験：被験物質使用ロットの一覧（続き）

固体分散体ロットの一覧（続き）　　被験物質：アメナメビル

ASP2151 固体分散体 ロット番号	Assay (%)	類縁物質（%）		分解生成物（%）	試験番号	試験種類
		Total	Individual	＊物質A (＊物質A)		
15L02	98.3	0.28	≤0.20	NA	15L-TX-[redacted]	マウス4週間反復経口投与毒性試験
					15L-TX-[redacted]	イヌ4週間反復経口投与毒性試験
					15L-TX-[redacted]	マウス経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生試験（雄）
					15L-TX-[redacted]	マウス経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生試験（雌）
					15L-TX-[redacted]	マウス経口投与による胚・胎児発生予備試験
					15L-TX-[redacted]	マウス経口投与による胚・胎児発生試験
					15L-TX-[redacted]	ウサギ経口投与による胚・胎児発生試験
GLP-215101	96.9	0.15	≤0.08	NA	15L-TX-[redacted]	イヌ単回経口投与毒性試験
					15L-TX-[redacted]	マウス経口投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能試験
GLP-15L03	97.8	0.15	≤0.07	0.09	15L-TX-[redacted]	ラットがん原性予備試験：2週間反復投与経口投与
GLP-15L04	96.5	0.22	≤0.06	0.07	15L-TX-[redacted]	ラットがん原性予備試験：13週間反復経口投与
					15L-TX-[redacted]	マウス13週間反復経口投与毒性試験
					15L-TX-[redacted]	イヌ13週間反復経口投与毒性試験
GLP-15L08	98.3	0.17	≤0.14	0.16	15L-TX-[redacted]	マウス26週間反復経口投与毒性試験
					15L-TX-[redacted]	イヌ52週間反復経口投与毒性試験
GLP-15L09	98.0	0.16	≤0.13	0.15	15L-TX-[redacted]	イヌ52週間反復経口投与毒性試験
					15L-TX-[redacted]	マウス経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生試験（追加試験）
GLP-15L10	96.4	0.32	≤0.09	0.10	15L-TX-[redacted]	マウス経口投与によるがん原性試験
					15L-TX-[redacted]	ラット経口投与によるがん原性試験
GLP-15L11	97.6	0.16	≤0.11	0.12	15L-TX-[redacted]	マウス経口投与によるがん原性試験
					15L-TX-[redacted]	ラット経口投与によるがん原性試験
					15L-TX-[redacted]	イヌ4週間反復投与毒性試験（肝毒性の検討）
GLP-15L12	97.7	0.29	≤0.24	0.29	15L-TX-[redacted]	マウス経口投与によるがん原性試験
					15L-TX-[redacted]	ラット経口投与によるがん原性試験

NA：該当なし

＊新薬承認情報提供時に置換えた

2.6.7.4 毒性試験：被験物質使用ロットの一覧（続き）

原薬ロットの一覧　　被験物質：分解生成物を含有するアメナメビル

ASP2151 ロット番号	Assay (%)	類縁物質（%）		分解生成物（%）	試験番号	試験種類
		Total	Individual	＊物質A (＊物質A)		
申請規格：	[redacted]～[redacted]% （脱水、脱溶媒物換算）	[redacted]%以下	[redacted]%以下	[redacted]%以下	—	—
GLP-15L07	98.3	1.20	≤1.06	1.23	15L-TX-[redacted] 15L-TX-[redacted]	復帰突然変異試験 染色体異常試験

固体分散体ロットの一覧　　被験物質：分解生成物を含有するアメナメビル

ASP2151 固体分散体 ロット番号	Assay (%)	類縁物質（%）		分解生成物（%）	試験番号	試験種類
		Total	Individual	＊物質A (＊物質A)		
GLP-15L06	96.4	2.31	≤2.15	2.51	15L-TX-[redacted]	イヌ4週間反復経口投与毒性試験

＊新薬承認情報提供時に置換えた

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：アメナメビル

動物種/系統	投与方法（媒体・投与形態）	投与量（mg/kg）	性別及び動物数/群	最大非致死量（mg/kg）	概略の致死量（mg/kg）	特記すべき所見	GLP適用	試験番号	CTDにおける記載箇所
ICRマウス	経口（5% HPMC溶液・懸濁液†）	0、500	6M、6F	≥500	>500	死亡なし。 C_{max} (ng/mL): 53792(M) / 40401(F) $AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL): 384898(M) / 310408(F)	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.1-1
ビーグル犬	経口（5% HPMC溶液・懸濁液†）	0、375、750	1M、1F	≥750	>750	死亡なし。 375 mg/kg： C_{max} (ng/mL): 30457.2(M) /42290.7(F) $AUC_{0\text{-}168}$ (ng·hr/mL): 955123.2(M) /1369428.7(F) 750 mg/kg： C_{max} (ng/mL): 54671.8(M) /54271.6(F) $AUC_{0\text{-}168}$ (ng·hr/mL): 1726705.6(M) /2173773.2(F)	適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.1-2

†：固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

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：アメナメビル

<table>
<tr><th>動物種/
系統</th><th>投与経路、投与期間
（媒体・投与形態）</th><th>投与量
（mg/kg/日）</th><th>一群の
動物数</th><th>特記すべき所見</th><th>GLP
適用</th><th>試験番号</th><th>CTDにおける
記載箇所</th></tr>
<tr><td rowspan="2">ICRマウス</td><td>経口、1週間
（5% HPMC溶液・懸濁液†）</td><td>3$、30$、100、
250、500</td><td>5M、5F</td><td>500 mg/kg群の雌で脾臓及び肝臓の体重比重量の増加がみられた。</td><td rowspan="2">適</td><td rowspan="2">15L-TX-[redacted]</td><td rowspan="2">4.2.3.2-1</td></tr>
<tr><td colspan="4">トキシコキネティクス（M/F）Day 1
<table>
<tr><td>投与量（mg/kg）</td><td colspan="2">3</td><td colspan="2">30</td><td colspan="2">100</td><td colspan="2">250</td><td colspan="2">500</td></tr>
<tr><td>$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)</td><td>1374.1</td><td>1005.8</td><td>18050.0</td><td>13996.4</td><td>86808.6</td><td>64312.4</td><td>189105.6</td><td>121651.8</td><td>251999.9</td><td>224082.8</td></tr>
<tr><td>C_{max}（ng/mL）</td><td>535.2</td><td>377.6</td><td>6464.1</td><td>4555.0</td><td>19658.9</td><td>17556.7</td><td>38584.7</td><td>27282.4</td><td>44524.7</td><td>31829.4</td></tr>
</table></td></tr>
<tr><td>ビーグル犬</td><td>経口、1週間
（注射用水・懸濁液†）</td><td>10、30、100</td><td>1M、1F</td><td>100 mg/kg群の雄で肝臓の絶対値及び体重比重量の増加、類洞鬱血及び肝細胞質内血漿性封入体がみられた。</td><td>不適</td><td>15L-TX-[redacted]</td><td>4.2.3.2-5</td></tr>
</table>

†：固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁、$：トキシコキネティクス評価（単回）のみ実施。

2.6.7.7 反復投与毒性試験

2.6.7.7A マウス4週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名：A 4-Week Repeated Oral Dose Toxicity Study of YM15L in Mice Followed by a 4-Week Recovery Study　　被験物質：アメナメビル

動物種/系統：ICRマウス　　投与期間：4週間　　試験番号：15L-TX-[redacted]

投与開始齢：7週齢　　休薬期間：4週間　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.2-2

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]、[redacted]日　　投与方法：経口投与　　GLP適用：適

特記事項：なし　　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

無毒性量：500 mg/kg

PAGE 1 OF 2 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）	0		15		60		250		500	
動物数	M: 12+6	F: 12+6	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12+6	F: 12+6	M: 12+6	F: 12+6
トキシコキネティクス										
$AUC_{0\text{-}24}$（ng･h/mL）										
Day1	NA	NA	7759	6703	35702	20939	172580	136157	241552	217013
Day28	NA	NA	8290	7773	23234	31419	79162	81828	104687	117954
C_{max}（ng/mL）										
Day1	NA	NA	2403	2482	11147	7980	30050	28228	49224	46771
Day28	NA	NA	2503	2399	8197	10813	24498	17651	32124	22871
特記すべき所見										
死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
体重	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
飲水量	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
一般状態	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

2.6.7.7A マウス4週間反復経口投与毒性試験（続き）

PAGE 2 OF 2 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		15		60		250		500	
動物数	M: 12+6	F: 12+6	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12+6	F: 12+6	M: 12+6	F: 12+6
血液凝固検査（サテライト5例の評価）	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
血漿蛋白分画（サテライト5例の評価）	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
血液生化学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
骨髄検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量										
肝臓 （g/100 g体重）	4.3328	3.8353	4.3218	3.9626	4.4501	4.1711	4.7029*	4.2068	4.7509*	4.3222*
剖検所見	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
回復性の評価：										
動物数	6	6	0	0	0	0	6	6	6	6
特記すべき所見	—	—	NA	NA	NA	NA	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし、*p<0.05 (Dunnett’s test)

2.6.7.7B マウス13週間経口反復投与毒性試験

報告書の題名：13-Week Oral Gavage Toxicity and Toxicokinetic Study with ASP2151 Solid Dispersion in Mice with a 4-Week Recovery Period　被験物質：アメナメビル

動物種/系統：ICRマウス　投与期間：13週間　試験番号：15L-TX-[redacted]

投与開始齢：5から6週齢　休薬期間：4週間　CTDにおける記載箇所：4.2.3.2-3

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日　投与方法：経口投与　GLP適用：適

特記事項：なし　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

無毒性量：250 mg/kg

PAGE 1 OF 2 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）	0		15		60		250	
動物数	M: 12+6	F: 12+6	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12+6	F: 12+6
トキシコキネティクス								
AUC_{0-24}（ng･h/mL）								
Day1	NA	NA	12193.3	11078.3	44918.5	44279.5	127966.3	131731.5
Day43	NA	NA	19376.3	13590.5	60686.0	44495.5	131914.3	128548.5
Day91	NA	NA	13068.5	13468.3	51912.8	53636.3	131898.8	118690.3
C_{max}（ng/mL）								
Day1	NA	NA	4743.0	5025.0	14504.0	18328.0	48581.0	44363.0
Day43	NA	NA	6087.0	4493.0	19180.0	14627.0	31943.0	37614.0
Day91	NA	NA	4206.0	4634.0	15777.0	17208.0	38631.0	44634.0
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数	1{a}	2{a}	1{a}	2{a}	0	0	0	0
体重	—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量	—	—	—	—	—	—	—	—
一般状態	—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

{a}：投与第10日に0 mg/kg群及び15 mg/kg群の雌雄で死亡が認められたが、いずれも投与過誤によるものと判断した。

2.6.7.7B　マウス13週間経口反復投与毒性試験（続き）

PAGE 2 OF 2 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		15		60		250	
動物数	M: 12+6	F: 12+6	M: 12	F: 12	M: 12	F: 12	M: 12+6	F: 12+6
血液学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
血液生化学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量	—	—	—	—	—	—	—	—
剖検所見	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
回復性の評価：								
動物数	5	5	0	0	0	0	6	6
特記すべき所見	—	—	NA	NA	NA	NA	—	—

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

2.6.7.7C マウス26週間経口反復投与毒性試験

報告書の題名：A 26-Week Repeated Oral Dose Toxicity Study of ASP2151 in Mice Followed by a 13-Week Recovery Study　被験物質：アメナメビル

動物種/系統：ICRマウス　投与期間：26週間　試験番号：15L-TX-[redacted]

投与開始齢：7週齢　休薬期間：13週間　CTDにおける記載箇所：4.2.3.2-4

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]、[redacted]日（雄）　投与方法：経口投与　GLP適用：適

[redacted]年[redacted]月[redacted]、[redacted]日（雌）

特記事項：なし　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

無毒性量：250 mg/kg

PAGE 1 OF 2 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）	0		15		60		250	
動物数	M: 17+11	F: 17+11	M: 17	F: 17	M: 17	F: 17	M: 17+11	F: 17+11
トキシコキネティクス								
AUC_{0-24}（ng･h/mL）								
Day1	NA	NA	9341.5	5170.7	50580.7	30302.0	201904.4	181246.4
Day91	NA	NA	7109.5	9312.2	35503.4	26898.1	107072.3	109428.8
Day182	NA	NA	6361.7	7909.7	20745.4	37639.6	81105.5	109741.3
C_{max}（ng/mL）								
Day1	NA	NA	3729.7	2365.0	18639.3	12766.7	46775.4	45440.7
Day91	NA	NA	2219.7	3382.6	11125.6	9113.4	35731.6	33433.6
Day182	NA	NA	2603.1	3427.9	6147.0	13584.6	33903.6	47634.2
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
体重	—	—	—	—	—	—	—	—
飲水量	—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

2.6.7.7C　マウス26週間経口反復投与毒性試験（続き）

PAGE 2 OF 2 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		15		60		250	
動物数	M: 17+11	F: 17+11	M: 17	F: 17	M: 17	F: 17	M: 17+11	F: 17+11
一般状態	—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
聴覚検査	—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査	—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査（n=12）	—	—	—	—	—	—	—	—
血液生化学的検査（n=12）								
尿素窒素	24.75	21.36	26.91	22.98	29.12	23.89	30.77*	27.44**
血液凝固検査（n=5）	—	—	—	—	—	—	—	—
血漿蛋白分画（n=5）								
アルブミン（%）	67.58	67.96	67.32	68.78	63.68*	68.44	63.32*	68.46
β-グロブリン（%）	16.90	17.28	17.14	16.70	19.96	16.86	20.76*	16.88
A/G比	2.088	2.122	2.070	2.228	1.764*	2.174	1.740*	2.176
器官重量								
肝臓　（g）	1.4038	1.1478	1.4648	1.1844	1.5402**	1.2478	1.5980**	1.3083**
（g/100 g体重）	3.9832	4.0769	4.0360	4.1762	4.1536	4.3233*	4.4414**	4.5991**
剖検所見	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
回復性の評価：								
動物数	11	11	0	0	0	0	11	11
特記すべき所見	—	—	NA	NA	NA	NA	—	—

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

* P<0.05、** P<0.01

2.6.7.7D イヌ4週間経口反復投与毒性試験

報告書の題名：A 4-week repeated dose oral oral toxicity study of YM15L in beagle dogs with a 4-week recovery period　被験物質：アメナメビル

動物種/系統：ビーグル犬　投与期間：4週間　試験番号：15L-TX-[redacted]

投与開始齢：8カ月齢　休薬期間：4週間　CTDにおける記載箇所：4.2.3.2-6

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日　投与方法：経口投与　GLP適用：適

特記事項：なし　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

無毒性量：10 mg/kg

PAGE 1 OF 3 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）	0		3		10		30		250	
動物数	M: 3+2	F: 3+2	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
トキシコキネティクス										
AUC_{0-24}（ng･h/mL）										
Day1	NA	NA	14894.2	15258.1	54990.3	55584.7	164949.7	156623.1	268415.8	272938.1
Day28	NA	NA	16413.5	17630.1	58801.8	59043.6	116869.2	113669.4	195571.3	187703.9
C_{max}（ng/mL）										
Day1	NA	NA	1176.3	1196.9	3781.2	4154.4	11354.0	11289.2	16173.5	17552.5
Day28	NA	NA	1252.0	1234.1	4011.6	4457.6	9213.9	8311.5	12316.2	12215.7
特記すべき所見										
死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
体重	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
飲水量	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
一般状態（所見例数）										
軟便	1	0	0	0	0	1	2	0	5	5
白色物を含む便	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

2.6.7.7D イヌ4週間経口反復投与毒性試験（続き）

PAGE 2 OF 3 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		3		10		30		250	
動物数	M: 3+2	F: 3+2	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
心電図検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
心拍数	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
聴覚検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
血液生化学的検査										
ALT (IU/L)										
Week-2	33	32	40	30	36	45	40	38	37	39
Week-1	35	31	40	31	32	37	35	35	38	34
Day8	29	29	36	32	33	37	38	38	35	37
Day15	36	34	43	31	38	42	46	45	42	51
Day25	57	41	42	31	36	46	43	46	41	250
AST (IU/L)										
Week-2	30	26	23	22	28	28	25	26	25	30
Week-1	26	26	25	23	26	25	23	28	28	27
Day8	27	29	23	23	26	25	24	29	25	29
Day15	26	28	24	23	26	26	25	29	26	30
Day25	27	27	22	22	24	24	24	27	24	38
ALP (IU/L)										
Week-2	241	223	239	222	252	246	258	199	224	237
Week-1	217	206	229	196	236	209	242	188	217	211
Day8	229	200	211	182	233	209	263	226	280	291
Day15	208	176	207	194	209	207	265	244	328*	405**
Day25	196	173	183	166	211	183	269	289	421**	569**

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし、下線部：被験物質投与による影響が認められた個体あり、*p<0.05、**p<0.01（Dunnett's test）

2.6.7.7D イヌ4週間経口反復投与毒性試験（続き）

PAGE 3 OF 3 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		3		10		30		250	
動物数	M: 3+2	F: 3+2	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3+2	F: 3+2	M: 3+2	F: 3+2
肝ALP (%)										
Week-2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	56.4（N=2）
Day25	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	92.6（N=2）
尿検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
骨髄検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量										
肝臓 (g)	235.8	215.6	251.5	205.0	256.0	223.4	300.4*	224.3	296.0*	263.1
(g/100 g体重)	2.54	2.64	2.87	2.67	2.80	3.00	3.19*	2.88	3.06*	3.16
剖検所見	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査（所見例数）										
肝臓										
小葉中心性の肝細胞肥大（軽微、明瞭な顆粒及び弱好酸性の細胞質を有する）	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1
肝細胞の単細胞壊死（軽微）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
回復性の評価：										
動物数	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2
特記すべき所見	—	—	NA	NA	NA	NA	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし、下線部：被験物質投与による影響が認められた個体あり、*p<0.05、**p<0.01（Dunnett's test）

2.6.7.7E イヌ13週間経口反復投与毒性試験

報告書の題名：A 13-week repeated dose oral toxicity study of ASP2151 solid dispersion in beagle dogs with a 4-week recovery period　被験物質：アメナメビル

動物種/系統：ビーグル犬　投与期間：13週間　試験番号：15L-TX-[redacted]

投与開始齢：8カ月齢　休薬期間：4週間　CTDにおける記載箇所：4.2.3.2-7, 4.2.3.2-8

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日　投与方法：経口投与　GLP適用：適

特記事項：なし　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

無毒性量：30 mg/kg（雄）、10 mg/kg（雌）

PAGE 1 OF 5 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）		0		3		10		30		250	
動物数		M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3+3	F: 3+3
トキシコキネティクス											
血漿中											
AUC_{0-24}（ng･h/mL）	Day1	0	0	14245.5	14600.3 (N=2)	57243.2	53108.9	146681.7	159800.1	591369.1	569277.5
	Day40	0	0	17416.2	17193.3	56780.7	59797.0	131388.4	134650.1	285845.7	270274.9
	Day91	0	0	17646.3	16803.8	61890.8	61357.5	140336.8	134774.3	309498.6	248919.4
C_{max}（ng/mL）	Day1	0	0	1172.7	1114.5 (N=2)	4291.0	3559.7	10551.3	10821.0	34019.5	34924.2
	Day40	0	0	1380.3	1303.0	4043.0	4326.0	9443.0	9491.7	18616.4	18966.4
	Day91	0	0	1304.7	1302.7	4559.0	4649.7	10650.3	9861.7	20689.8	16718.0
尿中排泄量（μg、対投与量比）											
	Week1	0	0	1538.208 (5.7%)	1121.600 (4.5%)	5802.379 (6.2%)	5665.938 (6.6%)	13305.577 (4.8%)	13675.531 (5.3%)	23979.161 (1.0%)	20567.439 (1.0%)
	Week7	0	0	1808.942 (6.3%)	1690.147 (6.3%)	5623.116 (6.0%)	5090.495 (5.5%)	10905.586 (3.7%)	12856.643 (4.8%)	18620.438 (0.8%)	17374.735 (0.8%)
	Week13	0	0	2444.756 (8.3%)	1733.145 (6.3%)	4304.369 (4.4%)	6552.454 (6.9%)	12315.350 (4.2%)	13545.498 (5.0%)	17554.292 (0.7%)	17265.555 (0.8%)

2.6.7.7E　イヌ13週間経口反復投与毒性試験（続き）

PAGE 2 OF 5 PAGE TABLES　被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）		0		3		10		30		250	
動物数		M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3+3	F: 3+3
特記すべき所見 {#1}											
死亡及び屠殺動物数		0	0	0	0	0	0	0	0	1{a}	1{b}
投与中止動物数		0	0	0	0	0	0	0	0	0	1{c}
体重		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
飲水量		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
一般状態（所見例数）											
被験物質様のものを含む便		0	0	0	0	0	0	0	0	5	4
心電図検査		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
心拍数		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
聴覚検査		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
血液生化学的検査											
ALP (IU/L)	Week-1	251	200	187	183	228	139	191	180	191	170
	Week5	250	181	193	182	352	179	251	228	609**	629**
	Week6	247	172	176	173	287	161	231	205	537**	635**
	Week9	256	147	166	171	282	187	228	340	600**	416
	Week11	230	132	183	167	284	161	224	219	636**	477**
	Week13	213	144	171	156	312	169	270	221	707**	476**

—：特記すべき所見なし、{a}：Day 22に死亡、{b}：Day 29に瀕死のため屠殺、{c}：状態悪化のためDay 43で投与を終了し症状の回復性を確認、下線部：変化傾向あり、*p<0.05、**p<0.01（Dunnett's test）、{#1}：死亡、屠殺動物及び投与中止動物で認められた変化については最後に記載。

2.6.7.7E イヌ13週間経口反復投与毒性試験（続き）

PAGE 3 OF 5 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		3		10		30		250	
動物数	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3+3	F: 3+3
尿検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
骨髄検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
投与終了時剖検例数	3	3	3	3	3	3	3	3	2	2
器官重量										
肝臓 (g)	259.3	264.9	290.9	264.6	287.1	243.0	311.1	254.3	346.5	292.8
(g/100 g体重)	2.63	2.79	2.93	2.91	2.95	2.68	3.16	2.89	3.35	3.30
副腎 (mg)	1154	1033	1070	1076	1138	1204	1045	1064	1196	1215
(mg/100 g体重)	11.67	10.94	10.74	11.86	11.76	13.58	10.62	12.18	11.55	13.91
剖検所見	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査（所見例数）										
肝臓										
小葉中心性の肝細胞肥大										
(軽微)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
(軽度)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
電子顕微鏡検査 {#1}										
評価例数	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2
肝臓										
小葉中心帯のグリコーゲン顆粒の増加（軽度）	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	2
小葉中心帯の滑面小胞体の増生（軽微）	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	2

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし、下線部：変化傾向あり、{#1}：肝及び腎臓の電子顕微鏡検査のみ別試験（15L-TX-042）で実施した。

2.6.7.7E　イヌ13週間経口反復投与毒性試験（続き）

PAGE 4 OF 5 PAGE TABLES　　被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		3		10		30		250	
動物数	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3+3	F: 3+3
回復性の評価：										
動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2
病理組織学的検査（所見例数）										
肝臓										
小葉中心性の肝細胞肥大（軽微）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

＜死亡例（Day22に側臥位で発見時死亡）で認められた変化＞

一般状態：濃黄色尿、結膜／口粘膜黄色化、自発運動の低下、黒色粘性便（糞潜血陽性）、嘔吐、鼻出血、眼脂、肛門周囲被毛汚れ

体重・摂餌量（Week1→Week3）：体重減少（9.3→8.2 kg）、摂餌量減少（283→37 g/day）

臨床検査（Pre→Day21）：AST（22→420 IU/L）、ALT（35→359 IU/L）、ALP（151→8071 IU/L）、血中総ビリルビン（0.1→12.3 mg/dL）、血中尿素窒素（12→26 mg/dL）

剖検：皮下組織及び諸臓器の黄色化、腎臓腫大

臓器重量：肝臓重量（絶対値及び体重比）の増加、腎臓重量（絶対値及び体重比）の増加、脾臓重量（絶対値及び体重比）の増加

病理組織学的検査：肝臓における肝細胞の変性（軽度）／単細胞壊死（軽度）／胆汁栓（毛細胆管）（軽微）／クッパー細胞の色素沈着（軽微）、腎臓における近位尿細管上皮細胞の空胞化（軽度）／限局性出血（軽度）／色素円柱（軽度）、脾臓における髄外造血（軽度）／うっ血（中等度）、骨髄成熟細胞比率の減少（軽微）

一般状態悪化による二次的／死戦期変化：

血小板減少、プロトロンビン時間／活性化部分トロンボプラスチン時間延長、リンパ球比減少、好中球比増加、中性脂肪増加、総コレステロール／グルコース／アルブミン／クロライド／ナトリウム／カリウム減少、肺／十二指腸の暗赤色点、副腎重量（絶対値及び体重比）の増加、甲状腺重量（体重比）の増加、副腎皮質好酸性変化、副腎洞内単核細胞浸潤、食道／十二指腸／回腸／空腸／結腸／盲腸／直腸の粘膜萎縮あるいは出血、回腸パイエル板萎縮、食道腺萎縮、精上皮細胞変性、精巣上体管腔上皮細胞壊死、心臓における限局性出血、肺における限局性出血／気管支炎症／肺胞への細胞浸潤、涙腺／耳下腺／舌下腺／顎下腺の腺房萎縮、胸腺萎縮

2.6.7.7E　イヌ13週間経口反復投与毒性試験（続き）

PAGE 5 OF 5 PAGE TABLES　被験物質：アメナメビル

＜瀕死解剖例（Day29に屠殺）で認められた変化＞

一般状態：自発運動の低下、濃黄色尿、結膜／口粘膜黄色化、黒色粘性便（糞潜血陽性）

体重・摂餌量（Week1→Week4）：体重減少（8.4→6.9 kg）、摂餌量減少（297→31 g/day）

臨床検査（Pre→Day22→Day29）：尿中ビリルビン（+）、AST（21→405→241 IU/L）、ALT（19→1386→625 IU/L）、ALP（139→2993→5396 IU/L）、血中総ビリルビン（0.1→1.2→5.5 mg/dL）、血中尿素窒素（11→8→30 mg/dL）

剖検：皮下組織及び諸臓器の黄色化、胆汁消失

臓器重量：肝臓重量（体重比）の増加、腎臓重量（絶対値及び体重比）の増加、脾臓重量（絶対値及び体重比）の増加

病理組織学的検査：肝臓における肝細胞の変性（中等度）／単細胞壊死（中等度）／核分裂増加（軽度）／小葉中心性肥大（軽度）／胆汁栓（毛細胆管）（軽微）／胆管上皮細胞肥大（軽微）／クッパー細胞の色素沈着（軽度）／髄外造血（軽度）、腎臓における近位尿細管上皮細胞の空胞化（軽度）、脾臓における髄外造血（軽度）／濾胞萎縮（軽微）／莢動脈壁肥大（軽度）、骨髄成熟細胞比率の減少（軽微）

一般状態悪化による二次的／死戦期変化：

赤血球／ヘモグロビン／ヘマトクリット増加、血小板減少、プロトロンビン時間、好中球比減少、リンパ球比増加、無機リン増加、総コレステロール／中性脂肪／グルコース／総タンパク／アルブミン／クロライド／ナトリウム／カルシウム減少、十二指腸及び結腸暗赤色、直腸暗赤色点、胃浮腫様変化、副腎／膵臓重量（絶対値及び体重比）の増加、胸腺重量の減少、副腎皮質肥大、食道腺萎縮、胃粘膜下水腫、結腸出血、回腸パイエル板萎縮、直腸潰瘍、耳下腺腺房萎縮、リンパ節濾胞萎縮及び膿瘍、胸腺萎縮

＜投与中止例（Day43で投与中止）で認められた変化＞

一般状態：自発運動の低下、濃黄色尿、結膜／口粘膜黄色化、無排便

体重・摂餌量（Week2→Day44→Recovery week4）：体重減少（8.1→6.6→7.9 kg）、摂餌量減少（244→164→259 g/day）

臨床検査（Pre→Day44→Recovery week4）：AST（25→278→27 IU/L）、ALT（26→501→38 IU/L）、ALP（153→4430→233 IU/L）、血中総ビリルビン（0.1→2.6→0.1 mg/dL）、

一般状態悪化による二次的変化：赤血球／ヘモグロビン／ヘマトクリット減少、好中球比増加、リンパ球比減少、総コレステロール減少

休薬4週　：一般状態及び臨床検査の変化はすべて回復した

休薬6週　：剖検／臓器重量／病理組織学的検査では特記すべき所見なし

2.6.7.7F イヌ52週間経口反復投与毒性試験

報告書の題名：A 52-week repeated dose oral toxicity study of ASP2151 solid dispersion in beagle dogs　被験物質：アメナメビル

動物種/系統：ビーグル犬　投与期間：52週間　試験番号：15L-TX-[redacted]

投与開始齢：8カ月齢　休薬期間：なし　CTDにおける記載箇所：4.2.3.2-9

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日　投与方法：経口投与　GLP適用：適

特記事項：なし　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

無毒性量：3 mg/kg

PAGE 1 OF 4 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）	0		3		10		30		60	
動物数	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
トキシコキネティクス										
AUC_{0-24}（ng･h/mL）										
Day1	0	0	15050	14620	52826	56320	155432	151411	207631	182869
Day28	0	0	16178	16247	65399	55902	147689	162097	282857	227607
Day182	0	0	18706	17312	69384	69814	169599	164688	248461	229514
Day364	0	0	17365	19084	55922	62752	178803	165038	306823	202907
C_{max}（ng/mL）										
Day1	0	0	1165	1265	3853	4053	10627	10183	13458	12857
Day28	0	0	1278	1384	5026	4662	10870	12557	20691	17541
Day182	0	0	1342	1313	4886	5082	12240	12371	16719	16860
Day364	0	0	1251	1455	3948	4639	12672	11866	20989	15280
特記すべき所見										
死亡及び屠殺動物数	0	1{a}	0	0	0	0	0	0	0	0
体重	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし

{a}：Week 32 (Day 223) に1例が死亡した。病理組織学的検査の結果、皮膚で毛包虫症が認められた。

2.6.7.7F イヌ52週間経口反復投与毒性試験（続き）

PAGE 2 OF 4 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		3		10		30		60	
動物数	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
摂餌量	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
飲水量	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
一般状態	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
心電図検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
聴覚検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査										
血小板数（10^4/μL）										
Day-5	27.6	29.5	27.5	30.1	26.1	28.0	28.4	31.0	32.6	33.7
Day90	31.3	30.1	28.4	34.3	33.8	33.7	40.9	40.2	52.0**	47.9*
Day176	34.4	37.7	31.4	36.0	36.4	37.0	40.2	45.9	49.0*	49.5
Day267	36.1	32.5（N=3）	32.3	42.6	36.8	39.5	41.4	44.3	52.9*	53.6
Day360	34.1	35.8（N=3）	32.1	39.3	35.6	43.5	40.7	47.2	54.6**	49.0
血液生化学的検査										
ALT（IU/L）										
Day-5	34	27	34	26	30	29	31	30	38 (57) {a}	27
Day22	38	30	35	29	32	32	33	35	80 (216) {a}	35
Day90	44	32	34	26	31	31	34	36	67 (139) {a}	42
Day176	49	31	34	26	33	31	36	35	62 (118) {a}	44
Day267	48	30（N=3）	36	27	35	32	36	35	58 (99) {a}	44
Day360	63	28（N=3）	38	28	34	30	38	35	79 (179) {a}	50

—：特記すべき所見なし、下線部：変化傾向あり、* P<0.05、** P<0.01（Dunnett's test）

{a}：雄1例でのみ顕著な変化が認められたため、この1例の値を（ ）中に示した。

2.6.7.7F イヌ52週間経口反復投与毒性試験（続き）

PAGE 3 OF 4 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		3		10		30		60	
動物数	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
ALP（IU/L）										
Day-5	232	228	250	231	219	230	223	256	214	217
Day22	210	222	226	229	245	253	396	467	419*	378
Day90	170	161	220	178	222	274	528*	602**	621**	405*
Day176	183	168	179	135	192	234	308	452*	803**	370
Day267	128	164（N=3）	135	119	194	232	278*	418	622**	343
Day360	137	170（N=3）	133	162	194	301	343*	422	805**	399
肝ALP（%）{a}										
Day360	85.0 – 95.0（N=4）	89.8 – 95.5（N=3）	NA	NA	NA	96.9（N=1）	97.3（N=1）	97.7（N=1）	97.2 – 98.3（N=4）	96.0 – 98.1（N=2）
尿検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量										
肝臓 (g)	271.1	234.2（N=3）	271.2	236.5	295.6	231.8	316.6	236.6	311.4	299.1
(g/100 g体重)	2.50	2.59（N=3）	2.62	2.48	2.69	2.58	2.89	2.67	3.07	3.32
膵臓 (g)	20.8	21.3（N=3）	23.1	21.0	22.4	20.3	26.9*	19.7	25.2	25.6
(g/100 g体重)	0.19	0.24（N=3）	0.22	0.22	0.21	0.23	0.25*	0.22	0.25	0.29

—：特記すべき所見なし、下線部：変化傾向あり、NA：該当なし、{a}：有意差検定実施せず、* P<0.05、** P<0.01（Dunnett's test）

2.6.7.7F イヌ52週間経口反復投与毒性試験（続き）

PAGE 4 OF 4 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		3		10		30		60	
動物数	M: 4	F: 3	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
剖検所見										
肝臓：大型	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2
病理組織学的検査										
肝臓										
小葉中心性の肝細胞肥大										
（軽微）	0	0	0	0	2	2	1	2	2	1
（軽度）	0	0	0	0	1	0	3	0	2	3
肝細胞における滑面小胞体の増生（電子顕微鏡検査）	0（N=2）	0（N=2）	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4	4
副腎										
色素含有泡沫状マクロファージ	0	0	0	0	0	2	1	4	4	4
特殊染色										
（PAS反応陽性）	0（N=1）	0（N=1）	NA	NA	NA	1（N=1）	NA	NA	1（N=1）	1（N=1）
（シュモール反応陽性）	0（N=1）	0（N=1）	NA	NA	NA	0（N=1）	NA	NA	1（N=1）	1（N=1）
（ベルリンブルー反応陽性）	0（N=1）	0（N=1）	NA	NA	NA	0（N=1）	NA	NA	0（N=1）	0（N=1）
甲状腺										
甲状腺の濾胞上皮細胞の肥大	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

2.6.7.8 *In vitro*遺伝毒性試験

2.6.7.8A *In vitro*遺伝毒性試験：復帰突然変異試験

報告書の題名：Bacterial Reverse Mutation Study of YM15L　　被験物質：アメナメビル

試験の種類：細菌を用いる復帰突然変異試験　　独立して実施した試験数：2　　試験番号：15L-TX-[redacted]

菌株：*Salmonella typhimurium* 及び*Escherichia coli*　　プレート数：3　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.3.1-1

代謝活性化系：フェノバルビタール及び5,6-ベンゾフラボンで誘導したラット肝S9　　分析細胞数/培養：－　　GLP適用：適

被験物質の媒体：ジメチルスルホキシド（DMSO）　　処理年月：[redacted]年[redacted]月[redacted]日、[redacted]年[redacted]月[redacted]日

処理：プレインキュベーション法

細胞毒性（生育阻害の濃度）：S9非存在下、TA100及びTA1535では≥313 μg/plate、TA98及びTA1537では≥156 μg/plate、S9存在下、TA1537では5000 μg/plate

遺伝毒性：なし

PAGE 1 OF 3 PAGE TABLES

代謝活性化	被験物質	濃度（μg/プレート）	用量設定試験				
			復帰突然変異コロニー数/プレート（平均値）				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*/pKM101	TA98	TA1537
代謝活性化	DMSO	0	100	10	75	16	16
なし	アメナメビル	1.5	95	9	79	17	16
		5	99	10	76	15	12
		15	104	10	83	17	18
		50	108	9	78	18	15
		150	105	10	81	15 (b)	10 (b)
		500 (a)	84 (b)	8 (b)	77	18 (b)	13 (b)
		1500 (a)	77 (b)	4 (b)	74	13 (b)	11 (b)
		5000 (a)	75 (b)	8 (b)	61	10 (b)	9 (b)
	AF-2	0.005	NA	NA	953 #	NA	NA
		0.01	597 #	NA	NA	NA	NA
		0.1	NA	NA	NA	661 #	NA
	NaN_3	0.5	NA	519 #	NA	NA	NA
	9-AA	80	NA	NA	NA	NA	174 #

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN_3：アジ化ナトリウム、9-AA：9-アミノアクリジン塩酸塩

(a)：析出が認められた、(b)：生育阻害、#：対照群の2倍以上の値、NA：該当なし

2.6.7.8A *In vitro*遺伝毒性試験：復帰突然変異試験（続き）

PAGE 2 OF 3 PAGE TABLES

代謝活性化	被験物質	濃度（μg/プレート）	用量設定試験				
			復帰突然変異コロニー数/プレート（平均値）				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*/pKM101	TA98	TA1537
代謝活性化	DMSO	0	102	11	93	25	19
あり	アメナメビル	1.5	109	12	101	28	16
		5	116	11	97	23	19
		15	112	10	91	21	16
		50	105	15	93	24	20
		150	110	11	91	27	17
		500	105	15	89	26	21
		1500	107	9	101	24	19
		5000 (a)	100	9	83	22	11 (b)
	2-AA	0.5	NA	NA	NA	351 #	NA
		1	1143 #	NA	NA	NA	NA
		2	NA	191 #	631 #	NA	178 #

2-AA：2-アミノアントラセン

(a)：析出が認められた、(b)：生育阻害、#：対照群の2倍以上の値、NA：該当なし

2.6.7.8A *In vitro*遺伝毒性試験：復帰突然変異試験（続き）

PAGE 3 OF 3 PAGE TABLES

代謝活性化	被験物質	濃度（μg/プレート）	本試験				
			復帰突然変異コロニー数/プレート（平均値）				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*/pKM101	TA98	TA1537
代謝活性化なし	DMSO	0	100	11	84	18	15
	アメナメビル	2.44	NA	NA	NA	21	12
		4.88	NA	NA	NA	20	17
		9.77	105	10	74	20	16
		19.5	101	9	79	18	16
		39.1	101	11	82	23	16
		78.1	98	10	81	19	16
		156	102	9	76	19 (b)	17 (b)
		313	107 (b)	8 (b)	79	21 (b)	13 (b)
		625 (a)	84 (b)	5 (b)	82	NA	NA
		1250 (a)	95 (b)	6 (b)	74	NA	NA
	AF-2	0.005	NA	NA	957 #	NA	NA
		0.01	601 #	NA	NA	NA	NA
		0.1	NA	NA	NA	624 #	NA
	NaN_3	0.5	NA	423 #	NA	NA	NA
	9-AA	80	NA	NA	NA	NA	179 #
代謝活性化あり	DMSO	0	101	10	104	28	16
	アメナメビル	78.1	NA	NA	NA	NA	15
		156	97	9	108	27	13
		313	107	10	104	23	18
		625	96	11	96	30	17
		1250	101	9	106	25	15
		2500	95	10	109	29	17
		5000 (a)	92	8	90	23	14(b)
	2-AA	0.5	NA	NA	NA	323 #	NA
		1	1309 #	NA	NA	NA	NA
		2	NA	188 #	790 #	NA	159 #

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN_3：アジ化ナトリウム、9-AA：9-アミノアクリジン塩酸塩、2-AA：2-アミノアントラセン

(a)：析出が認められた、(b)：生育阻害、#：対照群の2倍以上の値、NA：該当なし

2.6.7.8B *In vitro*遺伝毒性試験：染色体異常試験

報告書の題名：Chromosomal Aberration Study of YM15L in Human Lymphocytes　被験物質：アメナメビル

試験の種類：ヒトリンパ球を用いる染色体異常試験　独立して実施した試験数：1　試験番号：15L-TX-[redacted]

系統：末梢血ヒトリンパ球　プレート数：2　CTDにおける記載箇所：4.2.3.3.1-2

代謝活性化系：フェノバルビタール及び5,6-ベンゾフラボンで誘導したラット肝S9　分析細胞数/培養：100　GLP適用：適

被験物質の媒体：ジメチルスルホキシド（DMSO）　処理年月：[redacted]年[redacted]月[redacted]日、[redacted]年[redacted]月[redacted]日、[redacted]年[redacted]月[redacted]日

処理：S9存在下または非存在下での3時間処理及びS9非存在下での24時間処理

細胞毒性：相対分裂指数は濃度に依存して減少した。

遺伝毒性：なし

PAGE 1 OF 2 PAGE TABLES

代謝活性化	被験物質	濃度（μg/mL）	処理-回復時間（hr）	細胞生存率（%） [a)]	異常細胞の出現率（%）	
					構造異常	数的異常
代謝活性化なし	DMSO	0	3 - 21	100.0	0.0	0.5
	アメナメビル	100	3 - 21	75.4	0.5	0.0
		200	3 - 21	92.1	0.0	0.0
		300	3 - 21	86.8	0.0	0.0
		400	3 - 21	66.7	0.5	0.5
		500	3 - 21	49.1	1.0	0.5
	MMC	1.2	3 - 21	NA	29.5*	0.0
		1.4	3 - 21	NA	31.0*	0.0

MMC：マイトマイシンC

a)：相対分裂指数、*：$p < 0.05$ (Fisher’s exact probability test)、NA：該当なし

2.6.7.8B *In vitro*遺伝毒性試験：染色体異常試験（続き）

PAGE 2 OF 2 PAGE TABLES

代謝活性化	被験物質	濃度 (μg/mL)	処理-回復時間 (hr)	細胞生存率 (%) [a)]	異常細胞の出現率（%）	
					構造異常	数的異常
代謝活性化 なし	DMSO	0	24 – 0	100.0	0.0	0.0
	アメナメビル	60	24 – 0	91.5	0.0	0.0
		80	24 – 0	73.2	0.0	0.5
		100	24 – 0	54.9	0.5	0.5
		120	24 – 0	49.3	0.0	0.0
	MMC	0.5	24 – 0	NA	17.0*	0.0
		0.7	24 – 0	NA	25.5*	0.0
代謝活性化 あり	DMSO	0	3 - 21	100.0	0.0	0.0
	アメナメビル	50	3 - 21	81.0	0.5	0.0
		100	3 - 21	90.5	0.0	0.0
		150	3 - 21	73.8	0.5	0.0
		200	3 - 21	73.8	0.5	0.0
		250	3 - 21	54.8	0.0	0.5
		300	3 - 21	33.3	0.0	0.5
	CP	6	3 - 21	NA	11.5*	0.5

MMC：マイトマイシンC、CP：シクロフォスファミド

a)：相対分裂指数、*：$p < 0.05$ (Fisher’s exact probability test)、NA：該当なし

2.6.7.9 *In vivo*遺伝毒性試験

2.6.7.9A *In vivo*遺伝毒性試験：マウス骨髄小核試験

報告書の題名：Micronucleus Test of YM15L in Mice　　被験物質：アメナメビル

試験方法：骨髄細胞の小核試験　　処理計画：2回投与　　試験番号：15L-TX-[redacted]

動物種/系統：ICRマウス　　計測時間：最終投与24時間後　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.3.2-1

投与開始齢：7週齢　　投与方法：経口投与　　GLP適用：適

評価した細胞：多染性赤血球　　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁　　初回投与日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日

分析細胞数/動物：2000（小核多染性赤血球）、1000（多染性赤血球）

特記事項：なし

毒性/細胞毒性：なし

遺伝毒性：なし

曝露証明：マウス単回経口投与毒性試験（15L-TX-001）により確認済みである。

被験物質	投与量 (mg/kg)	投与 回数	投与 経路	動物数	性別	多染性赤血球の割合 (%、Mean ±SD)	小核多染性赤血球出現頻度 (%、Mean ±SD)
媒体（陰性対照）	0	2	経口	5	雄	52.8 ± 0.8	0.20 ± 0.09
アメナメビル	125	2	経口	5	雄	48.5 ± 2.5*	0.18 ± 0.13
	250	2	経口	5	雄	49.0 ± 2.0*	0.12 ± 0.04
	500	2	経口	5	雄	49.7 ± 2.3	0.18 ± 0.09
シクロフォスファミド（陽性対照）	40	1	腹腔内	5	雄	46.1 ± 1.3#	3.30 ± 1.30$

*：$p<0.05$ (Dunnett's test)、#：$p<0.01$ (Student's t test)、

$：$p<0.01$ (Kastenbaum and Bowman Test)

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10A ラット2週間反復経口投与毒性試験（がん原性予備試験）

被験物質：アメナメビル

<table>
<tr><th>試験項目</th><th>動物/細胞</th><th>投与方法</th><th>投与量（mg/kg/日）</th><th>性別及び1群の動物数</th><th>特記すべき所見</th><th>GLP適用</th><th>試験番号</th><th>CTDにおける記載箇所</th></tr>
<tr><td rowspan="2">反復投与毒性</td><td rowspan="2">F344ラット</td><td>経口、2週間反復</td><td>0、15、60、250、500</td><td>10M、10F</td><td>250 mg/kg群以上の雌で肝臓重量（絶対値又は体重比）の高値がみられたが、明らかな毒性変化は500 mg/kgまで認められなかった。</td><td rowspan="2">不適</td><td rowspan="2">15L-TX-[redacted]</td><td rowspan="2">4.2.3.4.1-2</td></tr>
<tr><td colspan="5">トキシコキネティクス（M/F）
<table>
<tr><th>投与量（mg/kg）</th><th></th><th colspan="2">15</th><th colspan="2">60</th><th colspan="2">250</th><th colspan="2">500</th></tr>
<tr><td rowspan="2">$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)</td><td>Day1</td><td>1608.5</td><td>13368.9</td><td>9556.1</td><td>37597.9</td><td>45260.4</td><td>175996.8</td><td>82309.6</td><td>249617.4</td></tr>
<tr><td>Day14</td><td>3118.0</td><td>17548.7</td><td>17794.3</td><td>64131.4</td><td>51517.2</td><td>113373.4</td><td>89837.1</td><td>148567.7</td></tr>
<tr><td rowspan="2">C_{max}（ng/mL）</td><td>Day1</td><td>692.5</td><td>2386.7</td><td>5518.2</td><td>6112.0</td><td>13164.5</td><td>21888.3</td><td>18346.3</td><td>28667.6</td></tr>
<tr><td>Day14</td><td>1192.9</td><td>2800.3</td><td>6239.5</td><td>8956.8</td><td>12462.4</td><td>16526.1</td><td>18290.5</td><td>19928.6</td></tr>
</table></td></tr>
</table>

2.6.7.10B マウス104週間反復経口投与がん原性試験

報告書の題名：Twenty-four-month oral gavage carcinogenicity study of ASP2151 Solid Dispersion in mice　被験物質：アメナメビル

動物種/系統：ICRマウス　投与期間：93週間　試験番号：15L-TX-[redacted]

投与開始齢：6週齢　CTDにおける記載箇所：4.2.3.4.1-1

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日（雄）　投与方法：経口投与　GLP適用：適

[redacted]年[redacted]月[redacted]日（雌）

特記事項：なし　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

高用量の設定根拠：調製可能な最高濃度（25 mg/mL）と長期の試験で適切に投与を継続できる最大容量（10 mL/kg）に基づく。13週間の試験における無毒性量。

PAGE 1 OF 3 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）	0		60		125		250	
動物数	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60
トキシコキネティクス								
AUC_{0-24}（ng･h/mL）								
Day1	0	0	40389.7	39817.0	114568.2	85465.1	159294.5	225524.0
Week13	0	0	41664.5	44186.4	65664.6	67692.3	115053.5	124091.6
Week52	0	0	31688.1	42121.4	70877.7	67512.3	111979.5	121434.1
C_{max}（ng/mL）								
Day1	0	0	10074.5	13056.2	31426.9	21942.3	38541.8	49968.7
Week13	0	0	16613.5	12673.5	24202.9	24131.5	37435.7	43478.5
Week52	0	0	11165.5	15656.0	22386.5	29669.5	35342.3	41879.0
特記すべき所見								
死亡及び屠殺動物数								
Day1-Week26	2	1	1	1	3	1	0	1
Day1-Week52	7	8	4	4	6	5	3	9
Day1-Week78	25	19	23	21	23	25	27	21
Day1-Week94	37	33	35	37	38	39	39	37

2.6.7.10B　マウス104週間反復経口投与がん原性試験（続き）

PAGE 2 OF 3 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		60		125		250	
動物数	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60
最終剖検例数（Week94）	23	27	25	23	22	21	21	23
生存率（%）	38.3	45.0	41.7	38.3	36.7	35.0	35.0	38.3
体重（g）								
Day657	42.5	38.1	42.5	38.4	43.0	40.3	41.4	38.4
摂餌量	—	—	—	—	—	—	—	—
一般状態	—	—	—	—	—	—	—	—
触診	—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
剖検所見	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査								
発がんが認められた動物数								
ハーダー腺								
腺腫	1	1	1	2	4	4	1	2
腺癌	0	1	1	0	1	2	0	0
下垂体								
前葉腺腫	0	1	0	0	0	4	0	0
脾臓								
血管腫	0	2	0	1	1	0	0	0
血管肉腫	1	1	1	1	0	2	0	1

—：特記すべき所見なし

2.6.7.10B マウス104週間反復経口投与がん原性試験（続き）

PAGE 3 OF 3 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		60		125		250	
動物数	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60
肺 (気管を含む)								
細気管支肺胞腺腫	7	7	4	3	6	6	6	8
細気管支肺胞上皮癌	5	4	5	3	3	4	3	4
肝臓								
肝細胞腺腫	11	4	10	0	15	2	14	2
肝細胞癌	5	1	3	0	6	2	3	3
血管腫	3	4	3	1	1	2	2	0
血管肉腫	2	2	1	2	2	1	1	0
子宮								
平滑筋腫	NA	0	NA	1	NA	5	NA	0
平滑筋肉腫	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
子宮内膜間質ポリープ	NA	0	NA	3	NA	2	NA	2
血液リンパ細網系								
リンパ腫	6	4	6	6	4	4	6	11
白血病	0	0	4	1	0	2	1	1
肉腫	4	3	0	2	0	2	0	2
非腫瘍性病変	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

2.6.7.10C ラット13週間反復経口投与がん原性予備試験

報告書の題名：13-Week Oral Gavage Preliminary Carcinogenicity Study and Toxicokinetic Study with ASP2151 Solid Dispersion in Rats　被験物質：アメナメビル

動物種/系統：F344ラット　投与期間：13週間　試験番号：15L-TX-[redacted]

投与開始齢：5又は6週齢　CTDにおける記載箇所：4.2.3.4.1-3

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日　投与方法：経口投与　GLP適用：適

特記事項：なし　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

無毒性量：250 mg/kg

PAGE 1 OF 2 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）		0		60		125		250	
動物数		M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
トキシコキネティクス									
血漿中									
AUC_{0-24}（ng･h/mL）	Day1	0	0	11986.7	66115.0	45911.5	105913.1	86031.9	153899.2
	Day44	0	0	26150.2	83766.6	47251.7	121864.2	88446.9	137040.7
	Day91	0	0	23858.7	106260.8	44581.2	140266.3	89149.4	202374.7
C_{max}（ng/mL）	Day1	0	0	4624.4	10592.4	12577.3	15072.5	26004.8	17914.9
	Day44	0	0	7969.6	9782.3	13267.3	21212.8	18207.6	20235.4
	Day91	0	0	7583.6	9198.6	12447.5	17994.6	19052.1	27546.6
尿中排泄量（μg、0-4hr）		—	—	67.7	100.8	169.2	121.4	203.6	146.5
特記すべき所見									
死亡及び屠殺動物数		0	0	0	0	0	0	0	0
体重		—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—
一般状態		—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし

2.6.7.10C　ラット13週間反復経口投与がん原性予備試験（続き）

PAGE 2 OF 2 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		60		125		250	
動物数	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
血液学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
血液生化学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査（所見例数）								
未知の結晶	0	0	0	0	1	0	3	4
器官重量								
腎臓　（g）	1.8744	1.1904	1.7821	1.2652*	1.8451	1.2404	1.8540	1.2693*
肝臓　（g）	7.8015	4.6527	7.9053	5.0176	8.2566	5.0235	8.1268	5.3753*
（g/100 g体重）	2.7684	2.8075	2.8550	2.9772*	2.9052	3.0689*	2.8765	3.1604*
剖検所見	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし

*: $p<0.05$（Dunnett's test）

2.6.7.10D ラット104週間反復経口投与がん原性試験

報告書の題名：Twenty-four-month oral gavage carcinogenicity study of ASP2151 Solid Dispersion in rats　被験物質：アメナメビル

動物種/系統：F344ラット　投与期間：24カ月　試験番号：15L-TX-[redacted]

投与開始齢：5又は6週齢　CTDにおける記載箇所：4.2.3.4.1-4

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日（雄）　投与方法：経口投与　GLP適用：適

[redacted]年[redacted]月[redacted]日（雌）

特記事項：なし　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

高用量の設定根拠：調製可能な最高濃度（25 mg/mL）と長期の試験で適切に投与を継続できる最大容量（10 mL/kg）に基づく。13週間の予備試験における無毒性量。

PAGE 1 OF 3 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）	0（注射用水）		0（媒体）		60		125		250	
動物数	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55
トキシコキネティクス										
AUC_{0-24}（ng･h/mL）										
Day1	0	0	0	0	13093.5	77674.1	44937.4	164872.7	76834.9	270950.8
Week26	0	0	0	0	26585.7	99105.0	52639.8	135206.1	62990.6	188286.6
Week52	0	0	0	0	44507.7	122636.7	49780.5	160128.3	71320.5	210110.7
C_{max}（ng/mL）										
Day1	0	0	0	0	4374.7	12352.6	12706.7	18123.7	21043.5	30550.2
Week26	0	0	0	0	7975.1	15940.3	13742.1	21457.3	15409.3	26561.9
Week52	0	0	0	0	11464.1	20037.0	11777.9	24491.3	14731.0	31518.4
特記すべき所見										
死亡及び屠殺動物数										
Day1-Week26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Day1-Week52	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Day1-Week78	2	3	0	1	1	1	0	2	2	2
Day1-Week105	10	12	7	11	6	16	5	14	14	13

2.6.7.10D ラット104週間反復経口投与がん原性試験（続き）

PAGE 2 OF 3 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0（注射用水）		0（媒体）		60		125		250	
動物数	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55
最終剖検例数	45	43	48	44	49	39	50	41	41	42
生存率（%）	81.8	78.2	87.3¶	80.0	89.1	70.9	90.9	74.5	74.5	76.4
体重（g）										
Day728	389	264	393	264	384	263	388	264	392	259
摂餌量（g/day）	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
一般状態	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
触診	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
剖検所見	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査										
発がんが認められた動物数										
副腎										
良性褐色細胞腫	5	1	3	2	8	1	7	3	3	1
血液リンパ細網系 (全部位)										
顆粒性大リンパ白血病	6	16	9	8	5	11	9	9	14	7
乳腺										
線維腺腫	1	7	2	6	0	6	0	8	0	7

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

¶: P<0.05 (Statistically significant trend in treated groups from vehicle control group by Tarone test)

2.6.7.10D ラット104週間反復経口投与がん原性試験（続き）

PAGE 3 OF 3 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0（注射用水）		0（媒体）		60		125		250	
動物数	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55	M: 55	F: 55
下垂体										
前葉腺腫	15	15	11	23	6	19	9	21	13	15
甲状腺										
C細胞腺腫	16	14	14	14	19	14	12	15	16	12
C細胞癌	5	4	8	3	6	2	6	2	3	1
膵臓										
膵島腺腫	11	0	17	1	10	2	13	1	10	1
精巣										
ライディヒ細胞腫瘍	46	NA	51	NA	49	NA	52	NA	49	NA
子宮										
腺癌	NA	7	NA	12	NA	7	NA	9	NA	14
子宮内膜ポリープ	NA	19	NA	17	NA	13	NA	11	NA	11
皮膚/皮下組織										
線維腫	5	0	1	0	2	0	4	0	3	0
非腫瘍性病変	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

2.6.7.11 生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）

被験物質：アメナメビル

<table>
<tr><th>動物種/
系統</th><th>投与経路
（媒体・投与形態）</th><th>投与期間</th><th>投与量
（mg/kg/日）</th><th>一群の
動物数</th><th>特記すべき所見</th><th>GLP
適用</th><th>試験番号</th><th>CTDにおける
記載箇所</th></tr>
<tr><td>ICRマウス</td><td>経口
（5% HPMC溶液・懸濁液†）</td><td>妊娠5日から
妊娠15日</td><td>0、100、250、
500</td><td>10F</td><td>特記すべき所見はなし。
500 mg/kgが投与可能であると判断された。</td><td>適</td><td>15L-TX-[redacted]</td><td>4.2.3.5.2-1</td></tr>
<tr><td>NZWウサギ
（非妊娠）</td><td>経口
（5% HPMC溶液・懸濁液†）</td><td>単回及び
5日間反復</td><td>10、30、100、
250</td><td>3F</td><td>単回：なし
<table>
<tr><td>投与量（mg/kg）</td><td>10</td><td>30</td><td>100</td><td>250</td></tr>
<tr><td>$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·hr/mL)</td><td>19752.3</td><td>59889.2</td><td>233596.2</td><td>452257.2</td></tr>
<tr><td>C_{max}（ng/mL）</td><td>3862.2</td><td>11209.0</td><td>33149.5</td><td>64222.8</td></tr>
</table>
反復：
250 mg/kg群の1例で、摂餌量のわずかな減少及び胃粘膜の暗赤色変化が認められたことから、250 mg/kgが最大耐量と考えられた。</td><td>不適</td><td>15L-TX-[redacted]</td><td>4.2.3.5.2-3</td></tr>
<tr><td>NZWウサギ</td><td>経口
（5% HPMC溶液・懸濁液†）</td><td>妊娠6日から
妊娠18日</td><td>0、30、100、
250</td><td>4F-6F</td><td>250 mg/kg群では、投与後期に摂餌量のわずかな減少が認められた。
他に影響は認められず、最大耐量は250 mg/kgと考えられた。</td><td>適</td><td>15L-TX-[redacted]</td><td>4.2.3.5.2-4</td></tr>
</table>

†：固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

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

2.6.7.12A 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（雄投与）

報告書の題名：Effects of YM15L on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Mice via Oral Administration -Male Dosing Study-

被験物質：アメナメビル

試験計画ICH4.1.1に準拠：適

投与期間：雄：交配開始前2週間から剖検前日
雌：なし

動物種/系統：ICRマウス

投与開始齢：10週齢

交尾成立日：妊娠0日

試験番号：15L-TX-[redacted]

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日

帝王切開日：妊娠13日

CTDにおける記載箇所：4.2.3.5.1-1

特記事項：なし

投与方法：経口投与

GLP適用：適

無毒性量：F_0雄 - 250 mg/kg
F_1胚 - 250 mg/kg

媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

PAGE 1 OF 2 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）	0	15	60	250
雄				
評価動物数	20	20	20	20
死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0
一般状態	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—
体重	—	—	—	—
摂餌量	—	—	—	—
平均交配所要日数	2.0	2.7	2.5	2.1
交尾動物数	20	20	20	19
受胎動物数	17	18	17	18

—：特記すべき所見なし

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

PAGE 2 OF 2 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0	15	60	250
雌				
妊娠動物数	17	18	17	18
平均黄体数	15.5	15.7	15.8	16.4
平均着床数	13.5	14.3	14.7	15.5
平均着床前死亡率	13.5%	8.2%	6.7%	5.5%
平均生存胚数	12.9	13.6	13.9	14.7
吸収胚数	11	12	11	14
死亡胚数	0	1	2	0
平均着床後死亡率	4.6%	5.0%	5.6%	5.2%

2.6.7.12B 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（雌投与）

報告書の題名：Effects of YM15L on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Mice via Oral Administration -Female Dosing Study-　　被験物質：アメナメビル

試験計画ICH4.1.1に準拠：適　　投与期間：雄：なし
動物種/系統：ICRマウス　　雌：交配開始前2週間から妊娠5日
投与開始齢：9週齢　　交尾成立日：妊娠0日　　試験番号：15L-TX-[redacted]
初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日　　帝王切開日：妊娠13日　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.5.1-2
特記事項：なし　　投与方法：経口投与　　GLP適用：適
無毒性量：F_0雌 - 250 mg/kg　　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁
F_1胚 - 250 mg/kg

PAGE 1 OF 2 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）	0	15	60	250
雌				
評価動物数	20	20	20	20
死亡及び屠殺動物数	0	0	0	0
一般状態	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—
体重	—	—	—	—
摂餌量	—	—	—	—
平均性周期	2.5	2.4	2.7	2.1
平均交配所要日数	1.7	2.3	1.9	2.4

—：特記すべき所見なし

2.6.7.12B 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（雌投与）（続き）

PAGE 2 OF 2 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0	15	60	250
交尾動物数	20	20	20	20
妊娠動物数	17	16	16	16
平均黄体数	14.1	14.1	14.1	13.4
平均着床数	12.8	12.4	13.4	12.4
平均着床前死亡率	9.4%	13.3%	6.8%	8.0%
平均生存胚数	11.9	11.9	12.4	11.6
吸収胚数	12	7	15	13
死亡胚数	3	0	1	0
平均着床後死亡率	6.9%	3.4%	9.8%	7.6%

2.6.7.12C 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（高用量の追加試験）

報告書の題名：Additional Study for Effects of ASP2151 Solid Dispersion on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Mice via Oral Administration - Male and Female Dosing at a High Dose -

被験物質：アメナメビル

試験計画ICH4.1.1に準拠：適　　投与期間：雄：交配開始前2週間から剖検前日
動物種/系統：ICRマウス　　雌：交配開始前2週間から妊娠5日
投与開始齢：雄 - 10週齢　　交尾成立日：妊娠0日
雌 - 9週齢
試験番号：15L-TX-[redacted]
初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日　　帝王切開日：妊娠13日　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.5.1-3
特記事項：なし　　投与方法：経口投与　　GLP適用：適
無毒性量：F_0雌雄 - 500 mg/kg　　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁
F_1胚 - 500 mg/kg

PAGE 1 OF 3 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）		0	500
雄			
トキシコキネティクス			
AUC_{0-24}（ng･h/mL）	投与1日	NA	299839.8
	投与15日	NA	180327.0
C_{max}（ng/mL）	投与1日	NA	53592.8
	投与15日	NA	43039.5
評価動物数		20	20
死亡及び屠殺動物数		0	0
一般状態		—	—
剖検		—	—
体重		—	—
摂餌量		—	—
平均交配所要日数		2.1	2.3

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

2.6.7.12C 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（高用量の追加試験）（続き）

PAGE 2 OF 3 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）		0	500
交尾動物数		20	20
受胎動物数		19	17
雌			
トキシコキネティクス			
AUC_{0-24}（ng･h/mL）	投与1日	NA	227428.3
	投与15日	NA	137818.9
C_{max}（ng/mL）	投与1日	NA	54796.9
	投与15日	NA	31183.2
評価動物数		20	20
死亡及び屠殺動物数		0	0
一般状態		—	—
剖検		—	—
体重		—	—
摂餌量		—	—
平均性周期		2.2	2.2
平均交配所要日数		2.1	2.3

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

2.6.7.12C　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（高用量の追加試験）（続き）

PAGE 3 OF 3 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0	500
交尾動物数	20	20
妊娠動物数	19	17
平均黄体数	13.7	13.5
平均着床数	12.7	11.8
平均着床前死亡率	6.8%	12.9%
平均生存胚数	11.8	11.5
吸収胚数	17	4
死亡胚数	0	0
平均着床後死亡率	11.4%	3.4%

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13A マウス胚・胎児発生に関する試験

報告書の題名：Effects of YM15L on Embryo-Fetal Development in Mice via Oral Administration　　被験物質：アメナメビル

試験計画ICH4.1.3に準拠：適　　投与期間：雌：妊娠5日から妊娠15日

動物種/系統：ICRマウス

投与開始齢：9から11週齢　　交尾成立日：妊娠0日　　試験番号：15L-TX-[redacted]

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日　　帝王切開日：妊娠17日　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.5.2-2

特記事項：なし　　投与方法：経口投与　　GLP適用：適

無毒性量：F_0雌 - 500 mg/kg　　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

F_1胚 - 500 mg/kg

PAGE 1 OF 3 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）		0	15	60	250	500
母体/雌動物　トキシコキネティクス						
AUC_{0-24}（ng･h/mL）	妊娠5日	NA	6655.4	30278.7	123509.0	194086.0
	妊娠15日	NA	3686.4	15799.2	52558.9	121620.1
C_{max}（ng/mL）	妊娠5日	NA	1991.4	7866.4	20712.0	35206.4
	妊娠15日	NA	951.6	4355.8	11633.8	17771.0
妊娠動物数		21	21	20	20	21
死亡及び屠殺動物数		0	0	0	0	0
流産あるいは全胚吸収母体数		0	0	0	0	0
一般状態		—	—	—	—	—
剖検		—	—	—	—	—
体重		—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし

2.6.7.13A マウス胚・胎児発生に関する試験（続き）

PAGE 2 OF 3 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）		0	15	60	250	500
平均黄体数		15.6	16.0	15.2	15.1	16.0
平均着床数		14.4	14.2	13.7	14.5	14.6
平均着床前死亡率		7.3%	10.1%	9.7%	4.0%	8.8%
胎児 評価母体数		21	21	20	20	21
平均生存胎児数		13.4	13.5	12.4	13.4	13.9
平均着床後死亡率		7.7%	5.5%	11.8%	7.4%	5.0%
胎児の性比（雄/（雄+雌））		0.50	0.47	0.44	0.53	0.47
平均胎児体重（g）	雄	1.19	1.18	1.16（n=19）	1.14	1.18
	雌	1.13	1.12	1.12（n=19）	1.09	1.11
平均胎盤重量（g）	雄	0.112	0.113	0.117（n=19）	0.106	0.112
	雌	0.105	0.104	0.115（n=19）	0.101	0.104
胎児の異常：						
外表検査　観察胎児数		281	283	248	268	291
異常胎児数/率		1 / 0.3%	0	0	1 / 0.4%	3 / 1.3%
異常母体数/率		1 / 4.76%	0	0	1 / 5.00%	2 / 9.52%
頭蓋裂						
胎児数/率		0	0	0	0	2 / 0.8%
母体数/率		0	0	0	0	1 / 4.76%

2.6.7.13A マウス胚・胎児発生に関する試験（続き）

PAGE 3 OF 3 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0	15	60	250	500
口蓋裂					
胎児数/率	1 / 0.3%	0	0	1 / 0.4%	1 / 0.5%
母体数/率	1 / 4.76%	0	0	1 / 5.00%	1 / 4.76%
多指					
胎児数/率	0	0	0	0	2 / 0.8%
母体数/率	0	0	0	0	1 / 4.76%
出血性羊水					
胎児数/率	0	0	0	0	2 / 0.8%
母体数/率	0	0	0	0	1 / 4.76%
内臓検査　観察胎児数	134	NA	NA	125	138
異常胎児数/率	16 / 12.3%	NA	NA	13 / 10.6%	18 / 12.4%
異常母体数/率	11 / 52.38%	NA	NA	10 / 50.00%	10 / 47.62%
骨格検査　観察胎児数	146	NA	NA	142	150
異常胎児数/率	2 / 1.1%	NA	NA	3 / 2.0%	1 / 0.6%
異常母体数/率	2 / 9.52%	NA	NA	3 / 15.00%	1 / 4.76%
変異胎児数/率	83 / 58.1%	NA	NA	95 / 66.0%	86 / 57.5%
変異母体数/率	21 / 100.0%	NA	NA	19 / 95.00%	21 / 100%
骨化進行度	—	NA	NA	—	—

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

2.6.7.13B ウサギ胚・胎児発生に関する試験

報告書の題名：Study for effects on embryo-fetal development in rabbits treated orally with YMl5L　　被験物質：アメナメビル

試験計画ICH4.1.3に準拠：適　　投与期間：雌：妊娠6日から妊娠18日

動物種/系統：NZWウサギ

投与開始齢：16から18週齢　　交尾成立日：妊娠0日　　試験番号：15L-TX-[redacted]

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日　　帝王切開日：妊娠28日　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.5.2-5

特記事項：なし　　投与方法：経口投与　　GLP適用：適

無毒性量：F_0雌 - 100 mg/kg　　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

F_1胚 - 250 mg/kg

PAGE 1 OF 5 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）		0	30	100	250
母体/雌動物　トキシコキネティクス					
AUC_{0-24}（ng･h/mL）	妊娠6日	NA	72058.5	124975.6	261867.5
	妊娠18日	NA	64903.2	179574.5	213757.6
C_{max}（ng/mL）	妊娠6日	NA	10960.9	14766.0	29319.0
	妊娠18日	NA	8995.5	24480.9	25379.4
妊娠動物数		17	18	19	19
死亡及び屠殺動物数		0	1{a}	0	1{b}
流産あるいは全胚吸収母体数		1	1{a}	0	1
早産母体数		0	0	0	1
一般状態		—	—	—	—
剖検		—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

{a}：妊娠18日に死亡を確認。剖検の結果から投与過誤によるものと判断した。

{b}：妊娠19日に死亡を確認。死因は明らかでなかったが、生前検査及び剖検結果から被験物質投与との関連はないと判断した。

2.6.7.13B　ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き）

PAGE 2 OF 5 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）			0	30	100	250
	体重増加（kg）	妊娠6-19日	0.20	0.17	0.18	0.10*
		妊娠19-28日	0.13	0.17	0.21*	0.16
	摂餌量（g）	妊娠7-11日	160.9-165.5	154.3-161.8	150.4-158.2	138.3-145.4*
		妊娠14-16日	137.6-139.8	126.4-143.4	127.0-134.3	101.4-104.8*
		妊娠28日	116.6	135.5	140.5*	138.4
	平均黄体数		9.4	8.8	9.9	9.9
	平均着床数/率		8.4 / 89.3%	6.7 / 75.8%	7.6 / 76.4%	7.9 / 82.3%
胎児	評価母体数		16	15	19	15
	平均生存胎児数		8.3	6.2	7.2	7.5
	着床後死亡数/率		2 / 2.0%	8 / 11.5%	9 / 5.7%	6 / 5.7%
	再吸収または死亡胎児を伴った母体数		2	5	7	4
	平均胎児体重（g）	雄	33.84	37.99*	35.35	36.54
		雌	32.66	36.82*	34.88	35.43
	胎児の性比（雄/（雄+雌））		0.54	0.45	0.46	0.46
	胎児の異常：					
	外表検査　観察胎児数		133	93	136	113
	異常胎児数		0	0	0	0
	内臓異常					
	異常胎児数/率		4 / 2.4%	9 / 8.3%	8 / 6.7%	5 / 4.1%
	異常母体数/率		3 / 18.8%	5 / 33.3%	5 / 26.3%	3 / 20.0%

* P<0.05（Dunnett’s test）

2.6.7.13B　ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き）

PAGE 3 OF 5 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0	30	100	250
肺の分葉異常				
胎児数/率	2 / 1.2%	6 / 4.8%	4 / 2.6%	1 / 1.0%
母体数/率	2 / 12.5%	2 / 13.3%	2 / 10.5%	1 / 6.7%
心室中隔欠損				
胎児数/率	1 / 0.6%	0	1 / 0.8%	0
母体数/率	1 / 6.3%	0	1 / 5.3%	0
右心室腔狭小				
胎児数/率	0	0	1 / 0.8%	0
母体数/率	0	0	1 / 5.3%	0
房室口遺残				
胎児数/率	0	0	1 / 0.8%	0
母体数/率	0	0	1 / 5.3%	0
右房室弁欠損				
胎児数/率	1 / 0.6%	2 / 1.9%	0	1 / 1.0%
母体数/率	1 / 6.3%	2 / 13.3%	0	1 / 6.7%
胆嚢欠損				
胎児数/率	0	1 / 1.7%	3 / 3.4%	3 / 2.2%
母体数/率	0	1 / 6.7%	2 / 10.5%	1 / 6.7%
内臓変異				
変異胎児数/率	53 / 42.5%	51 / 53.2%	64 / 49.7%	50 / 43.3%
変異母体数/率	16 / 100%	14 / 93.3%	19 / 100%	14 / 93.3%
胸腺頸部遺残				
胎児数/率	13 / 9.7%	10 / 9.0%	20 / 17.4%	10 / 8.9%
母体数/率	9 / 56.3%	5 / 33.3%	8 / 42.1%	4 / 26.7%

2.6.7.13B　ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き）

PAGE 4 OF 5 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0	30	100	250
右冠状動脈口過剰				
胎児数/率	43 / 34.9%	43 / 46.8%	51 / 39.6%	42 / 36.2%
母体数/率	15 / 93.8%	14 / 93.3%	18 / 94.7%	13 / 86.7%
大静脈後尿管（右側）				
胎児数/率	0	1 / 0.8%	3 / 3.7%	5 / 3.2%
母体数/率	0	1 / 6.7%	3 / 15.8%	3 / 20.0%
骨格異常				
異常胎児数/率	3 / 2.3%	NA	NA	1 / 0.8%
異常母体数/率	3 / 18.8%	NA	NA	1 / 6.7%
腰椎半椎				
胎児数/率	1 / 0.6%	NA	NA	0
母体数/率	1 / 6.3%	NA	NA	0
胸骨分節癒合				
胎児数/率	1 / 0.8%	NA	NA	1 / 0.8%
母体数/率	1 / 6.3%	NA	NA	1 / 6.7%
胸骨分節癒合及び胸骨分節非対称				
胎児数/率	1 / 0.9%	NA	NA	0
母体数/率	1 / 6.3%	NA	NA	0
骨格変異				
変異胎児数/率	4 / 3.4%	NA	NA	3 / 2.5%
変異母体数/率	4 / 25.0%	NA	NA	2 / 13.3%

NA：該当なし

2.6.7.13B　ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き）

PAGE 5 OF 5 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0	30	100	250
頚椎体未骨化				
胎児数/率	1 / 1.6%	NA	NA	0
母体数/率	1 / 6.3%	NA	NA	0
頚椎体不完全骨化				
胎児数/率	1 / 0.6%	NA	NA	1 / 0.6%
母体数/率	1 / 6.3%	NA	NA	1 / 6.7%
頸肋骨（左）				
胎児数/率	0	NA	NA	1 / 1.0%
母体数/率	0	NA	NA	1 / 6.7%
胸骨分節分離				
胎児数/率	2 / 1.3%	NA	NA	1 / 1.0%
母体数/率	2 / 12.5%	NA	NA	1 / 6.7%
13肋骨				
胎児数/率	94 / 72.7%	NA	NA	80 / 73.0%
母体数/率	16 / 100%	NA	NA	15 / 100%
骨化進行度				
仙椎及び尾側椎骨　　胎児率	19.28%	NA	NA	19.67%*

NA：該当なし

* P<0.05（Dunnett’s test）

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

報告書の題名：STUDY FOR EFFECT OF ASP2151 ON PRE-AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION IN MICE BY ORAL ADMINISTRATION

被験物質：アメナメビル

試験計画ICH4.1.2に準拠：適　　投与期間：妊娠6日から哺育20ないし22日

動物種/系統：ICRマウス

投与開始齢：9又は10週齢　　交尾成立日：妊娠0日　　試験番号：15L-TX-[redacted]

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]日　　投与方法：経口投与　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.5.3-1

特記事項：なし　　同腹児数の調整/非調整：なし　　GLP適用：適

無毒性量：F_0雌 - 500 mg/kg　　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

F_1雌雄 - 500 mg/kg

PAGE 1 OF 5 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）		0	60	250	500
F_0雌： トキシコキネティクス					
AUC_{0-24}（ng･h/mL）	哺育21日	—	20814	91442	202037
C_{max}（ng/mL）	哺育21日	—	9620	27345	42141
妊娠動物数		18	20	20	16
死亡及び屠殺動物数		0	0	0	1{a}
早産母体数		0	0	0	1
全出生児死亡母体数		0	0	0	2
一般状態		—	—	—	—
剖検		—	—	—	—
妊娠時体重		—	—	—	—
授乳時体重		—	—	—	—

—：特記すべき所見なし

{a}：妊娠18日に死亡を確認。剖検の結果から投与過誤によるものと判断した。

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（続き）

PAGE 2 OF 5 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）		0	60	250	500
妊娠時摂餌重（g/日）	妊娠6-18日	7.6	7.6	7.5	8.0
授乳時摂餌重（g/日）	哺育1-14日	16.5	16.0	17.2	17.1
平均妊娠期間（日数）		19.8	19.8	19.8	19.6
F_1出生児（離乳前）：					
評価母体数		18	20	20	15
平均着床数/腹		11.8	12.0	12.4	12.2
平均出生児数/腹		11.6	11.7	12.0	11.1
平均生存出生児数/腹		11.4	11.5	12.0	10.9
出生4日後生存率		99.0	99.1	97.1	87.1*
離乳時生存率		—	—	—	—
出生児性比（雄）		46.9%	49.5%	56.5%	55.5%
出生児体重		—	—	—	—
出生児一般状態		—	—	—	—
出生児剖検		—	—	—	—
発育分化・機能		—	—	—	—

—：特記すべき所見なし

* P<0.01（Fisher’s Exact test）

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（続き）

PAGE 3 OF 5 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）		0	60	250	500
F_1雄（離乳後）：					
離乳後評価動物数		24	23	24	24
死亡及び瀕死屠殺動物数		2	3	0	1
一般状態		—	—	—	—
剖検		—	—	—	—
体重		—	—	—	—
摂餌量（g/日）	離乳後22-71日	5.9	5.9	6.0	6.1
学習及び記憶		—	—	—	—
運動機能		—	—	—	—
性成熟		—	—	—	—
交配に供した動物数		21	22	23	23
平均交配所要日数		2.7	2.8	2.8	3.1
交尾動物数 / 率		20 / 95.2%	19 / 90.5%	22 / 95.6%	20 / 87.0%
受胎動物数/ 率		19 / 95.0%	17 / 89.5%	22 / 100.0%	19 / 95.0%

—：特記すべき所見なし

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（続き）

PAGE 4 OF 5 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0	60	250	500
F_1雌（離乳後）：				
離乳後評価動物数	24	24	24	24
死亡及び瀕死屠殺動物数	4	2	2	1
一般状態	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—
離乳後体重	—	—	—	—
哺育時体重	—	—	—	—
離乳後摂餌量	—	—	—	—
哺育時摂餌量	—	—	—	—
学習及び記憶	—	—	—	—
運動機能	—	—	—	—
性成熟	—	—	—	—
交配に供した動物数	21	22	22	24
平均交配所要日数	2.4	3.0	2.9	3.6
交尾動物数 / 率	21 / 100.0%	22 / 100.0%	22 / 100.0%	24 / 100.0%
妊娠動物数 / 率	20 / 95.2%	20 / 90.9%	22 / 100.0%	20 / 83.3%
平均黄体数	14.6	14.5	14.5	14.6
平均着床数	14.3	14.3	14.0	14.0
平均着床前死亡率	1.7	1.4	3.4	3.6

—：特記すべき所見なし

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（続き）

PAGE 5 OF 5 PAGE TABLES

被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）		0	60	250	500
F_2胎児：					
評価母体数		19	20	22	19
平均生存胚数		13.2	13.2	12.4	12.3
出生児性比（%雄）		58.4	56.8	56.7	57.8
平均胎児体重（g）	雄	—	—	—	—
	雌	—	—	—	—
平均胎盤重量（g）	雄	—	—	—	—
	雌	—	—	—	—
平均吸収胚数		1.1	1.2	1.5	1.6
早期吸収胚数		0.9	1.0	1.4	1.6
後期吸収胚数		0.2	0.2	0.1	0.0
平均着床後死亡率		7.8%	8.2%	11.3%	11.4%
胎児の異常		—	—	—	—

—：特記すべき所見なし

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当資料なし。

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当資料なし。

2.6.7.17 その他の毒性試験

2.6.7.17A 光安全性試験

被験物質：アメナメビル

試験項目	動物/細胞	投与方法及び投与量	性別及び1群の動物数	特記すべき所見	GLP適用	試験番号	CTDにおける記載箇所
光毒性	BALB/3T3細胞	光照射、非照射： 7.8-1000 µg/mL	NA	光照射・非照射の両条件下とも、析出の認められない最高用量130 µg/mLで細胞毒性はみられず、光毒性は陰性と判定した。	適	TE[redacted]124	4.2.3.7.7-1

NA：該当せず

2.6.7.17B 不純物の毒性試験

被験物質：分解生成物を含有するアメナメビル

<table>
<tr><th>試験項目</th><th>動物/細胞</th><th>投与方法</th><th>投与量</th><th>性別及び1群の動物数</th><th>特記すべき所見</th><th>GLP適用</th><th>試験番号</th><th>CTDにおける記載箇所</th></tr>
<tr><td>遺伝毒性
復帰突然変異</td><td>ネズミチフス菌、(TA98、TA100、TA1535、TA1537)
大腸菌(WP2uvrA)</td><td>プレインキュベーション法
（ ＊物質A を1.23%含有するアメナメビル）</td><td>非代謝活性化系及び代謝活性化系：
157-5000 µg/plate</td><td>NA</td><td>復帰突然変異誘発性は認められなかった。</td><td>適</td><td>15L-TX-[redacted]</td><td>4.2.3.7.6-1</td></tr>
<tr><td>遺伝毒性
染色体異常</td><td>ヒトリンパ球</td><td>3及び22時間処理（非代謝活性化系）及び3時間処理（代謝活性化系）
（ ＊物質A を1.23%含有するアメナメビル）</td><td>非代謝活性化系：
3時間：133- 750 µg/mL、
22時間：100-300 µg/mL
代謝活性化系：
100-700 µg/mL</td><td>NA</td><td>染色体異常誘発性は認められなかった。</td><td>適</td><td>15L-TX-[redacted]</td><td>4.2.3.7.6-2</td></tr>
<tr><td>反復投与毒性</td><td>ビーグル犬</td><td>経口†、4週間反復
（ ＊物質A を2.51%含有するアメナメビル）</td><td>0、5、10 mg/kg</td><td>3M、3F</td><td>特記すべき所見は認められず、無毒性量は10 mg/kgと考えられた。
トキシコキネティクス（M/F）
<table>
<tr><th colspan="2">投与量（mg/kg）</th><th colspan="2">5</th><th colspan="2">10</th></tr>
<tr><td rowspan="3">AUC_{0-24} (ng·h/mL)</td><td>Day1</td><td>22160</td><td>22487</td><td>40653</td><td>35227</td></tr>
<tr><td>Day14</td><td>23793</td><td>27634</td><td>48086</td><td>39694</td></tr>
<tr><td>Day28</td><td>25795</td><td>26557</td><td>49287</td><td>41784</td></tr>
<tr><td rowspan="3">C_{max}（ng/mL）</td><td>Day1</td><td>1608</td><td>1531</td><td>2772</td><td>2661</td></tr>
<tr><td>Day14</td><td>1745</td><td>2012</td><td>3582</td><td>3156</td></tr>
<tr><td>Day28</td><td>1989</td><td>2001</td><td>3709</td><td>3275</td></tr>
</table></td><td>適</td><td>15L-TX-[redacted]</td><td>4.2.3.7.6-3</td></tr>
</table>

NA：該当なし、†：固体分散体を0.5 w/v%メチルセルロース溶液に懸濁して投与

＊新薬承認情報提供時に置換えた

2.6.7.17C 肝毒性に関する検討（*in vitro*）

被験物質：アメナメビル

試験項目	動物/細胞	投与方法	投与量	性別及び1群の動物数	特記すべき所見	GLP適用	試験番号	CTDにおける記載箇所
細胞毒性	HepG2	細胞毒性のポテンシャル及びミトコンドリア毒性の有無を確認するため、グルコース培養液及びガラクトース培養液で培養した場合の細胞毒性を比較検討した。 細胞生存率の指標として、ATP量及びDNA量を測定した。	1.37-1000 µmol/L 24時間、3日間、7日間曝露	NA	すべての曝露期間で析出が認められなかった最高濃度(111 µM)で、曝露期間の延長に伴いHepG2細胞に対する細胞毒性の増強が認められた（細胞生存率は、24時間：100-109%、3日間：78-103%、7日間：38.5-63.5%）。しかし、両培養液間で細胞生存率に差は認められず、また、ATP量及びDNA量から算出された細胞生存率にも差は認められなかった。曝露濃度と期間を考慮すると細胞毒性ポテンシャルは低く、また、細胞毒性にミトコンドリア毒性が関与する可能性は低いと考えられた。	不適	15L-TX-[redacted] 15L-TX-[redacted] 15L-TX-[redacted]	4.2.3.7.7-2 4.2.3.7.7-3 4.2.3.7.7-4
細胞毒性	HepG2	イヌ代謝物の毒性の有無を確認するため、イヌS9mixを添加し、ガラクトース培養液での細胞毒性を検討した。 細胞生存率の指標として、ATP量及びDNA量を測定した。	1.37-1000 µmol/L イヌS9mix非存在下又は存在下 6時間又は24時間曝露	NA	析出が認められなかった最高濃度（333 µM）におけるイヌS9mix非存在下での細胞生存率は、6時間曝露のとき99%、24時間曝露のとき89-97%であった。イヌS9mix存在下での細胞生存率は、6時間曝露のとき95-124%、24時間曝露のとき83-108%であった。イヌの代謝物の細胞毒性ポテンシャルは低いものと考えられた。	不適	15L-TX-[redacted]	4.2.3.7.7-5

2.6.7.17D 肝毒性に関する検討（*in vivo*）

報告書の題名：Study for effects on the liver in beagle dogs orally treated with ASP2151 solid dispersion for 4 weeks　被験物質：アメナメビル

動物種/系統：ビーグル犬　投与期間：4週間　試験番号：15L-TX-[redacted]

投与開始齢：9カ月齢　CTDにおける記載箇所：4.2.3.7.7-6

初回投与年月日：[redacted]年[redacted]月[redacted]-[redacted]日　投与方法：経口投与　GLP適用：適

特記事項：代謝物の測定を含む　媒体/投与形態：5% HPMC溶液 / 固体分散体にした被験物質を媒体に懸濁

PAGE 1 OF 1 PAGE TABLES

投与量（mg/kg/日）		0		3		10		60		250	
動物数		M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5
未変化体のトキシコキネティクス											
AUC_{0-24}（ng･h/mL）	Day1	0	0	18147.05	16143.42	60452.68	60752.52	370032.23	282016.28	425317.65	494801.30
	Day14	0	0	20682.55	20693.10	53856.02	63507.81	131935.59	252891.99	293854.49	362007.55
	Day28	0	0	19488.86	17543.29	55779.56	56499.85	272977.22	244706.45	329163.64	343078.54
C_{max}（ng/mL）	Day1	0	0	1346.74	1207.92	4429.89	4371.40	22616.30	17920.79	27442.68	30358.48
	Day14	0	0	1463.14	1571.42	4021.52	4605.44	9649.70	16567.63	20413.01	26273.47
	Day28	0	0	1493.24	1277.44	4217.93	4070.62	20219.77	17765.19	23313.98	23772.29
代謝物（AS1955888）のトキシコキネティクス											
AUC_{0-24}（ng･h/mL）	Day1	0	0	17.46	25.50	312.10	454.86	6994.81	3399.72	4821.40	7002.25
	Day14	0	0	31.41	52.75	286.46	655.85	2407.79	3719.69	4090.78	7635.75
	Day28	0	0	32.88	29.19	318.06	581.96	7822.69	4041.35	5223.26	8417.96
C_{max}（ng/mL）	Day1	0	0	5.21	4.96	35.22	38.68	407.44	272.84	380.35	463.05
	Day14	0	0	5.97	10.82	31.86	61.13	244.17	335.04	531.52	709.33
	Day28	0	0	6.41	8.52	39.22	52.17	742.71	412.13	558.77	671.95

2.6.7.17D 肝毒性に関する検討（*in vivo*）（続き）

PAGE 2 OF 1 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）		0		3		10		60		250	
動物数		M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5
特記すべき所見											
死亡及び屠殺動物数		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
体重		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
一般状態（所見例数）		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
血液生化学的検査											
ALP（IU/L）	Week-1	249	177	NA	NA	NA	NA	183	250	188	210
	Day3	228	158	NA	NA	NA	NA	179	250	186	227
	Day6	219	155	NA	NA	NA	NA	191	280*	203	311**
	Day9	229	154	NA	NA	NA	NA	220	366*	243	419**
	Day27	211	161	NA	NA	NA	NA	418	590**	502*	919**
ALT（IU/L）	Week-1	32	30	NA	NA	NA	NA	28	31	28	35
	Day3	35	32	NA	NA	NA	NA	30	33	29	39
	Day6	58	32	NA	NA	NA	NA	31	33	30	39*
	Day9	47	32	NA	NA	NA	NA	32	34	32	41*
	Day27	36	34	NA	NA	NA	NA	32	38	80	43
GLDH（IU/L）	Week-1	5	5	NA	NA	NA	NA	4	6	5	5
	Day3	5	6	NA	NA	NA	NA	4	7	5	6
	Day6	8	6	NA	NA	NA	NA	5	7	4	5
	Day9	6	6	NA	NA	NA	NA	5	6	5	5
	Day18	5	6	NA	NA	NA	NA	5	7	6	5
	Day27	5	6	NA	NA	NA	NA	4	7	14	5
尿検査		—	—	NA	NA	NA	NA	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし

* P<0.05、** P<0.01（Dunnett's test）、下線部：被験物質投与による影響が認められた個体あり。

2.6.7.17D 肝毒性に関する検討（*in vivo*）（続き）

PAGE 3 OF 1 PAGE TABLES 被験物質：アメナメビル

投与量（mg/kg/日）	0		3		10		60		250	
動物数	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 3	F: 3	M: 5	F: 5
器官重量										
肝臓 (g)	273.8	257.4	282.6	224.0	269.4	238.6	271.4	275.9	319.5*	304.7*
(g/100 g体重)	2.95	3.18	3.07	2.76	2.90	3.00	3.04	3.30	3.53**	3.74*
剖検所見										
肝臓：大型	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
病理組織学的検査										
肝臓										
小葉中心性の肝細胞肥大（軽微）	0	0	0	0	0	0	0	0	4	1
肝細胞における滑面小胞体の増生（電子顕微鏡検査）										
評価動物数	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	2
軽度	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
肝CYP活性										
タンパク質含量（mg/g liver）	5.8	6.5	6.8	9.6 #	8.7 #	7.3	10.8 #	9.7 #	10.5 ##	8.6
CYP含量（nmol/mg protein）	0.383	0.403	0.407	0.356	0.484	0.582 ##	0.688 ##	0.718 ##	0.516 ##	0.641 ##
テストステロン6β-ヒドロキシラーゼ活性（nmol/mg protein /min）	0.437	0.515	0.590	0.398	0.757	1.18 ##	1.43$	1.38##	1.18 ##	1.47 $$

NA：該当なし

* P<0.05、** P<0.01（Dunnett's test）、#：p<0.05、##：p<0.01（Student's t test）、$：p<0.05、$$：p<0.01（Aspin-Welch's t test）

下線部：被験物質投与による影響が認められた個体あり。