ゾフルーザ錠 10mg，同 20mg

第 2 部 (モジュール 2) : CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6 毒性試験の概要文

塩野義製薬株式会社

目次

略号及び用語定義一覧表 3
2.6.6 毒性試験の概要文 5
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 10
2.6.6.3 反復投与毒性試験 10
2.6.6.3.1 ラット 2 週間反復経口投与毒性試験 10
2.6.6.3.2 ラット 4 週間反復経口投与毒性試験 13
2.6.6.3.3 サル 2 週間反復経口投与毒性試験 15
2.6.6.3.4 サル 2 週間反復経口投与毒性試験 (追加) 16
2.6.6.3.5 サル 4 週間反復経口投与毒性試験 17
2.6.6.4 遺伝毒性試験 20
2.6.6.4.1 S-033188 の細菌を用いる復帰突然変異試験 20
2.6.6.4.2 S-033447 の細菌を用いる復帰突然変異試験 20
2.6.6.4.3 S-033188 のほ乳類の培養細胞を用いる小核試験 21
2.6.6.4.4 S-033447 のほ乳類の培養細胞を用いる小核試験 21
2.6.6.4.5 げっ歯類を用いる小核試験 21
2.6.6.5 がん原性試験 22
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 23
2.6.6.6.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 23
2.6.6.6.2 ラット胚・胎児発生に関する試験 23
2.6.6.6.3 ウサギ胚・胎児発生に関する試験 25
2.6.6.6.4 ラット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 26
2.6.6.6.5 新生児を用いた試験 27
2.6.6.6.5.1 幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験 27
2.6.6.7 局所刺激性試験 30
2.6.6.8 その他の毒性試験 31
2.6.6.8.1 ラットにおける PT 及び APTT 延長へのビタミン K の影響 31
2.6.6.8.2 S-033188 のヘアレスマウスにおける経口及び腹腔内投与皮膚光毒性試験 32
2.6.6.9 考察及び結論 33
2.6.6.9.1 肝・胆道系への影響について 36
2.6.6.9.2 過量投与時の急性有害事象発生リスクについて 36
2.6.6.9.3 生殖発生毒性試験 37
2.6.6.9.4 小児への投与について 38
2.6.6.9.5 皮膚光毒性試験 38
2.6.6.9.6 結論 38
2.6.6.10 図表 39
2.6.6.11 参考文献 39

略号及び用語定義一覧表

略号	英語	日本語
A/G ratio	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
AMY	amylase	アミラーゼ
APTT	activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
$AUC_{0\text{-}inf}$	area under the concentration-time curve from time 0 to infinity	時間0から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24hr}$	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to 24 hours post-dose	時間0から投与後24時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BLQ	below the lower limit of quantification	定量下限未満
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
D.Bil	direct bilirubin	直接ビリルビン
F0	parent generation	親世代
F1	first filial generation	子世代
F2	second filial generation	孫世代
Fbg	fibrinogen	フィブリノゲン
G	gestation day	妊娠日
GGT	gamma-glutamyl transferase	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
GLDH	glutamate dehydrogenase	グルタミン酸脱水素酵素
GLP	Good Laboratory Practice	
LAP	leucyl aminopeptidase	ロイシンアミノペプチターゼ
MC	methylcellulose aqueous solution	メチルセルロース水溶液
PLT	platelet count	血小板数
PT	prothrombin time	プロトロンビン時間
RDW	red blood cell volume distribution width	赤血球容積分布幅
S9 mix	metabolic activation system	代謝活性化系
T3/T4	triiodothyronine/thyroxine	甲状腺ホルモン（トリヨードサイロニン/サイロキシン）
TBA	total bile acid	総胆汁酸
TBG	thyroxine binding globulin	サイロキシン結合グロブリン
T.Bil	total bilirubin	総ビリルビン

TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
T_{max}	time to maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
T.Cho	total cholesterol	総コレステロール濃度
T.Pro	total protein	総タンパク質
UGT	uridine diphospho-glucuronosyl transferase	ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

S-033188 の安全性評価に関し，下表に示すラット及びサルを用いた反復投与毒性試験，遺伝毒性試験，ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験 (幼若ラットを用いた反復経口投与毒性試験を含む), PT 及び APTT 延長へのビタミン K の影響並びに皮膚光毒性試験を重要な試験として実施した．特に明記しない限り，試験は Good Laboratory Practice (GLP) 適用下で実施した．なお，*in vivo* 毒性試験におけるトキシコキネティクス (TK) では，S-033188 及びその活性体である S-033447 の血漿中濃度を測定した．また，*in vitro* 遺伝毒性試験は，S-033188 と S-033447 の両方について実施した．がん原性試験並びに局所刺激性試験は実施しなかった．

ヒトマスバランス試験において，血漿中 S-033447 グルクロナイドは，血漿中総曝露に相当する血漿中放射能の 16.4%が検出された (2.7.2.2.1.2 項参照). 以下に示す毒性試験において血漿中 S-033447 グルクロナイドは測定していない．しかしながら，2.6.4.9.1 項で述べたように，サルの反復経口投与毒性試験における S-033447 の血漿中曝露とサル血漿中代謝物検索で得られた血漿中 S-033447 グルクロナイドの存在比率から算出した推定の S-033447 グルクロナイドの血漿中曝露は，申請用法用量におけるヒトでの S-033447 グルクロナイドの血漿中曝露と同等かそれ以上であると考えられ，サルでは十分な量の S-033447 グルクロナイドが血漿中に生成し，全身曝露される投与条件で反復投与毒性試験が実施されたと考えられる．さらに，「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンスに関する質疑応答集 (Q&A)」 [1] に「多くのグルクロナイドは，化学的転移を起こす例 (例えば，反応性アシルグルクロナイド) を除いて，懸念がない」と記述されており，毒性の懸念が低い代謝物であると考えられる．以上のことから，S-033447 グルクロナイドの安全性は十分に評価されていると判断し，S-033447 グルクロナイド単体の毒性評価は実施しなかった．なお，上述したヒトマスバランス試験において，ヒトに特異的な代謝物は認められなかった．

表 2.6.6.1-1　S-033188 の重要な毒性試験一覧

試験の種類及び期間	動物種等	投与 (処置) 経路	GLP 適用
反復投与毒性試験			
2 週間	ラット，サル	経口	適
2 週間 (追加)	サル	経口	適
4 週間	ラット，サル	経口	適
肝臓の電子顕微鏡検査	サル	経口	非適 [a]
遺伝毒性試験			
細菌を用いる復帰突然変異試験	ネズミチフス菌，大腸菌	*In vitro*	適
ほ乳類培養細胞を用いる小核試験	ヒトリンパ球由来培養細胞	*In vitro*	適
げっ歯類を用いる小核試験	ラット	経口	適
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	ラット	経口	適
胚及び胎児発生に関する試験	ラット，ウサギ	経口	適
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	ラット	経口	適
新生児を用いた試験			
40 日間反復投与毒性試験	幼若ラット (投与開始時 10 日齢)	経口	適
その他の毒性試験			
PT 及び APTT 延長へのビタミン K の影響	ラット	経口	適
皮膚光毒性試験	マウス	経口及び腹腔内	適

略号：APTT，活性化部分トロンボプラスチン時間；PT，プロトロンビン時間.

a: 信頼性基準適用下で実施した

単回投与毒性試験

S-033188 について急性毒性を評価するための独立した単回投与毒性試験を実施していない．ラット及びサル 2 週間反復経口投与毒性試験並びにサル心血管系に関する安全性薬理試験における S-033188 の高用量投与時の成績を基に，S-033188 の急性毒性を考察した．

ラット 2 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：20，200 及び 2000 mg/kg/日) 及びサル 2 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：20，60 及び 200 mg/kg/日) において，死亡例及び切迫殺例は発生せず，初回投与時に急性毒性の発生を示唆する一般状態変化は認められなかった．雄性サルを用いた心血管系試験 (投与量：200 及び 400 mg/kg，単回経口投与) において，200 mg/kg 以上を単回経口投与した際の一般状態変化として，軟便・下痢又は嘔気・嘔吐が観察されたが，死亡例及び切迫殺例は発生しなかった．以上のことから，単回投与における概略の致死量は各試験の最高用量 (ラット，2000 mg/kg；サル，400 mg/kg) を超えると判断した．

反復投与毒性試験

ラット 2 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：20, 200 及び 2000 mg/kg/日) では，200 mg/kg/日以上の投与群にプロトロンビン時間 (PT) 及び活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) の

延長がみられたが，食餌中に含まれるビタミン K 不足を原因とするラットで起こりやすい変化であると考えられる．20 mg/kg/日以上の投与群で肝重量の増加及び肝細胞肥大，甲状腺濾胞上皮細胞の過形成，甲状腺のコロイド減少又は下垂体の好塩基性細胞の肥大が認められたが，これらの変化は肝臓の総チトクローム P450 (CYP) 含量の増加を伴う CYP2B，CYP3A 及びウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素 (UGT) 活性の上昇と関連して起こったラットに特異的な甲状腺ホルモン (T3/T4) のクリアランスの増加に伴う代償性の変化であると考えられる．各種検査において S-033188 投与に起因する変化が認められたが，いずれも程度が軽度であり病理組織学的検査において関連組織に変性や壊死がなどが認められないこと，さらに，ヒトへの外挿性に乏しいことから，いずれも毒性学的意義のない変化と考えられ，本試験条件下での無毒性量は，雌雄ともに 2000 mg/kg/日と判断した．

ラット 4 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：20，200 及び 2000 mg/kg/日) では，2 週間反復経口投与毒性試験で認められた変化と類似の変化が認められたが，投与期間を延長したことによる変化の程度の増悪及び頻度の増加は認められなかった．したがって，ラット 2 週間反復経口投与毒性試験と同様に，いずれも毒性学的意義のない変化と考え，本試験条件下での無毒性量は，雌雄ともに 2000 mg/kg/日と判断した．

サル 2 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：20，60 及び 200 mg/kg/日) では，S-033188 投与各群でアラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)，グルタミン酸脱水素酵素 (GLDH)，ロイシンアミノペプチターゼ (LAP)，γ-グルタミルトランスフェラーゼ (GGT) 活性等の肝・胆道系への影響を示唆する血液化学パラメータの上昇が認められた．病理組織学的検査において肝臓及び胆のうに S-033188 投与に起因する変化は認められなかったものの，上記の血液化学パラメータ値の上昇を示した個体の発生頻度が高く，また上昇の程度が大きかったことから，無毒性量は雌雄ともに 20 mg/kg/日未満と判断した．

上述の試験で無毒性量が求められなかったことから，より低用量で追加試験 (投与量：3 及び 10 mg/kg/日) を実施した．血液化学的検査において，10 mg/kg 投与群で雌雄全例に S-033188 投与の影響は認められなかった．3 mg/kg/日投与群の 6 例 (雌雄各 3 例) 中雌 1 例にのみ肝・胆道系への影響を示唆する血液化学パラメータ値の上昇が認められたが，用量依存性がなく，1 例のみの変化であることから，毒性学的意義は乏しいと判断した．前述のサル 2 週間反復経口投与毒性試験の結果と合わせて，無毒性量は雌雄ともに 10 mg/kg/日と判断した．

サル 4 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：1，10 及び 100 mg/kg/日) では，血液化学的検査において，100 mg/kg 投与群でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)，ALT，GLDH，LAP 又は GGT 活性の上昇がみられた．これらの変化は休薬 1 週目から回復傾向を示し，4 週間の休薬期間終了時には回復した．無毒性量は雌雄ともに 10 mg/kg/日と判断した．肝・胆道系への影響を詳細に検討するため，サル 4 週間反復経口投与毒性試験の肝臓試料を用いて，電子顕微鏡検査を信頼性基準適用下で実施した．その結果，いずれの投与群においても肝細胞の微細構造に異常所見は認められなかった．

遺伝毒性試験

S-033188 及び S-033447 の細菌を用いる復帰突然変異試験，S-033188 及び S-033447 のほ乳類

の培養細胞を用いる小核試験並びにS-033188のげっ歯類を用いる小核試験のいずれにおいても，遺伝毒性は認められなかった．

生殖発生毒性試験

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（投与量：20，200及び1000 mg/kg/日）では，雌雄親動物のいずれの検査項目にも毒性変化は認められず，胚発生に関する検査項目についてもS-033188投与に起因する変化は認められなかった．無毒性量は，雌雄親動物並びに初期胚に関して，いずれも1000 mg/kg/日と判断した．

ラット胚及び胎児発生に関する試験（投与量：20, 200及び1000 mg/kg/日）では，200 mg/kg/日以上の投与群で母動物に摂餌量の減少を伴う体重増加抑制が認められたが，これらの変化は軽度で投与初期のみに認められた変化であることから毒性ではないと判断した．胚・胎児の生存性及び子宮内発育並びに外表，内臓，及び骨格の形態において，S-033188投与に起因する変化は認められなかった．無毒性量は，母動物並びに胚・胎児に関して，いずれも1000 mg/kg/日と判断した．

ウサギ胚・胎児発生に関する試験（投与量：30，100及び1000 mg/kg/日）では，1000 mg/kg/日投与群の2例に流産が認められた．1000 mg/kg/日投与群で，母動物への投与初期に摂餌量の減少を伴う体重増加抑制が認められた．胚･胎児には，催奇形性は認められなかったが，1000 mg/kg/日投与群で頚部過剰肋骨発現率の増加が認められた．無毒性量は，母動物並びに胚・胎児に関して，いずれも100 mg/kg/日と判断した．

ラット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（投与量：20，200及び1000 mg/kg/日）では，母動物及び児のいずれの検査項目についてもS-033188投与に起因する変化は認められなかった．無毒性量は，母動物並びに次世代の発生に関して，いずれも1000 mg/kg/日と判断した．

幼若ラット反復経口投与毒性試験（投与開始：10日齢，投与量：20，200及び1000 mg/kg/日，投与期間：40日間）では，1000 mg/kg/日投与群の雌雄で11及び12日齢（投与2及び3日目）のみに腹部膨満が認められたが，一過性の変化であり剖検時に腹部に異常は認められなかったことから毒性ではないと判断した．50日齢（最終投与日翌日）の血液学的検査において，200 mg/kg/日以上の群の雌雄にS-033188投与に起因する変化として血小板数（PLT）の増加又はAPTTの延長が認められた．これらの変化は軽度であること，並びに一般状態及び病理組織学的検査結果に血液凝固に関連する変化がないことから毒性ではないと判断した．病理組織学的検査において200 mg/kg/日以上の群の雌雄において甲状腺濾胞上皮細胞の肥大が見られたが，軽微な変化であり，ラット反復経口投与毒性試験で述べたように，これらの変化は肝臓のCYP含量の増加を伴うCYP2B，CYP3A及びUGT活性の上昇と関連して起こったラットに特異的な代償性の変化であると考えられることから，毒性ではないと判断した．無毒性量は1000 mg/kg/日と判断した．

その他の毒性試験

ラット2週間反復経口投与毒性試験において認められたPT及びAPTTの延長は，S-033188

投与により何らかの原因でビタミンKが不足したことによると考えられるが，当該試験は高圧蒸気滅菌によりビタミンK含量が減少した食餌の摂取，かつ剖検前絶食によりビタミンKの摂取量が低下した条件で実施していることから，通常よりもPT及びAPTTの延長の程度が大きくなったと推測された．そこで，ビタミンK_1併用投与並びに剖検前の給餌の有無によるPT及びAPTTの延長に対する影響を調べた．その結果，剖検前の摂餌によりPT及びAPTTの延長は軽減され，ビタミンK_1の併用投与により，PT及びAPTTの延長は回復した．したがって，S-033188投与によるPT及びAPTTの延長はビタミンK不足に起因しており，ビタミンK摂取量が減少した条件下でより顕著になる変化であることが確認された．

ヘアレスマウス皮膚光毒性試験（1000 mg/kg単回経口投与又は10，30及び100 mg/kg単回腹腔内投与）においてS-033188投与による光毒性は認められなかった．

2.6.6.2 単回投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-01，4.2.3.2-03，4.2.1.3-06
概要表 2.6.7.7.1，2.6.7.7.3，2.6.3.4.2

S-033188 の急性毒性を評価するための独立した単回投与毒性試験は実施していないが，以下の試験により，S-033188 の急性毒性を考察した．

ラットに関しては，後述するように，2 週間反復経口投与毒性試験において，S-033188 を雌雄 Sprague-Dawley 系ラットに技術的投与限界量である 2000 mg/kg/日まで投与した結果，死亡例及び状態悪化に伴う切迫殺例は 2 週間の投与期間を通して発生せず，急性毒性症状の発生を示唆する一般状態の変化も認められなかった．以上の結果，ラットの概略の致死量は 2000 mg/kg を超えると判断した．

サルに関しては，後述するように，2 週間反復経口投与毒性試験において，S-033188 を雌雄のカニクイザルに 200 mg/kg/日までの用量で投与した結果，死亡例及び切迫殺例は発生せず，初回投与時に急性毒性症状を示唆する一般状態変化は認められなかった．また，心血管系に関する試験 (2.6.2.4.2.3 項参照) において，雄のカニクイザルに 200 及び 400 mg/kg を単回経口投与した際の一般状態変化として，400 mg/kg で軟便・下痢及び嘔吐，200 mg/kg で下痢が観察された．以上の結果，サルの概略の致死量は，雌は 200 mg/kg，雄は 400 mg/kg をいずれも超えると判断した．

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ラット 2 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-01
参考資料 4.2.3.2-06
概要表 2.6.7.6，2.6.7.7.1

(1) 用量設定根拠

本試験に先立って実施したラットにおける探索的な毒性試験 (投与量：200，600 及び 2000 mg/kg/日，投与期間：2 週間) では，PT 及び APTT の延長，GGT 活性の上昇，肝臓重量の増加並びに肝細胞のごく軽度の脂肪化が 200 mg/kg/日以上の投与群の雄又は雌で認められ，甲状腺濾胞上皮細胞の過形成が 600 mg/kg/日以上の投与群の雌でみられた．これらの所見は毒性学的意義のない変化又はラット特異的な変化と考えられる．また，体重及び摂餌量に影響は認められず，2 週間の投与に良好に耐容した (参考資料 4.2.3.2-06).

以上の結果から，毒性試験における技術的投与限界量である 2000 mg/kg/日を最高用量に設定した．また，2000 mg/kg/日投与群の S-033447 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ が 200 mg/kg/日投与群の 2 倍程度で，用量比以下の増加を示したため，投与量の間隔を大きく取り 200 及び 20 mg/kg/日を，それぞれ中及び低用量とした．

(2) 試験方法及び成績

各群雌雄各 10 例の Sprague-Dawley 系ラットに 0 (対照群)，20，200 又は 2000 mg/kg/日の用量の S-033188 を 1 日 1 回 2 週間反復経口投与し，その毒性を評価した．対照群には媒体 [0.5%メ

チルセルロース水溶液 (MC)] を S-033188 投与群と同様の条件で投与した．対照群及び 2000 mg/kg/日投与群では，別のラット (各群雌雄各 5 例) に投与期間終了後に 2 週間の休薬期間を設け，毒性変化の回復性を検討した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，尿検査，血液学的検査，血液化学的検査，器官重量測定，肉眼検査並びに病理組織学的検査を行った．また，TK 評価のため，別のラット (各群雌雄各 4 例) に毒性評価群と同じ条件で S-033188 を投与し，投与 1, 7 及び 14 日目の投与前 (投与 1 日目を除く) 並びに投与後 1, 2, 4, 8 及び 24 時間に採取した血漿試料を用い，血漿中 S-033188 及び S-033447 濃度を測定した．

試験期間中に死亡例及び切迫殺例は発生しなかった．未吸収の被験物質と考えられる白色便が 200 mg/kg/日以上の投与群で散見された．初回投与の投与翌日のみに摂餌量の低下が認められたが，体重への影響はなかった．尿検査において，ケトン体陽性を示した動物数の増加が 200 mg/kg/日以上の投与群の雄で，比重及びタンパク陽性を示した動物数の増加が 2000 mg/kg/日投与群の雌で認められたが，血液化学的検査及び病理組織学的検査において関連する変化は認められなかった．眼科学的検査では S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．

血液学的検査において，赤血球系パラメータ値 (赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値) の減少が 2000 mg/kg/日投与群の雄又は雌に認められたが，変化は軽度 (対照群と比して最大 5%程度) であり，網状赤血球数にも変化は認められなかった．200 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で対照群と比して 1.3～2.4 倍程度の PT の延長及び 1.2～1.6 倍程度の APTT の延長が認められ，延長の程度には用量相関性が認められた．本試験で使用された餌は，高圧蒸気滅菌を行っており，ビタミン K 含量が滅菌前の餌より少なくなっている．さらに解剖は絶食下で行われるため，ビタミン K が不足した状態であると推測される．そこで，後述するように，血液凝固系に対する影響がビタミン K 不足に起因していることを検証するため，S-033188 とビタミン K_1 を併用投与し，剖検前日に絶食あるいは非絶食した際の影響を検討した．その結果，S-033188 とビタミン K_1 併用投与群では PT 及び APTT の延長は認められず，非絶食条件下では絶食条件下よりも PT 及び APTT の延長が軽減された．以上のことから，ラットにおける PT 及び APTT の延長はビタミン K 不足に起因すると考えられ，通常の食事で十分な量のビタミン K を摂取しているヒトでは起こりにくく，外挿性の低い変化であると判断した．

血液学的検査及び血液化学的検査において，20 mg/kg/日以上の投与群の雄又は雌で炎症に関連するパラメータ値の軽度な変動 [フィブリノゲン (Fbg), 総タンパク質 (T.Pro) 及び PLT の増加，アルブミン/グロブリン比 (A/G ratio) 及びアルブミンの減少] が認められたが，病理組織学的検査を実施したいずれの組織/器官においても炎症性変化は認められなかった．200 mg/kg/日以上の投与群の雌でアミラーゼ (AMY) 活性の軽度な上昇が認められたが，病理組織学的検査で膵臓等の関連する組織に障害は認められなかった．20 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で総ビリルビン (T.Bil) の軽度な減少が認められた．ビリルビンは主としてヘモグロビンの代謝産物であり，ビリルビンの増加は溶血あるいは胆汁への排出障害を示唆するが，今回認められた変化は増加ではなく減少方向の変化であることから，毒性学的意義のある変化ではないと考える．

肝重量増加，肝細胞肥大，甲状腺濾胞上皮細胞の過形成及び下垂体の好塩基性細胞の肥大が 200 mg/kg/日以上の投与群の雄又は雌で，甲状腺のコロイド減少が 20 mg/kg/日以上の雌雄で用

量依存的に認められた．ラット肝薬物代謝酵素に対する誘導作用を調べる試験 (2.6.4.5.2.1 項参照) で，肝臓の総チトクローム P450 (CYP) 含量の増加を伴う CYP2B，CYP3A 及びウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素 (UGT) 活性の上昇も確認されており，肝臓，甲状腺及び下垂体に認められたこれら一連の変化は相互に関連していると考えられた．甲状腺ホルモン (T3/T4) はヒトでは，脂溶性が非常に高く，ヒト及びサルの血中では 99%以上がサイロキシン結合グロブリン (TBG) 等の甲状腺ホルモン結合タンパク質に結合し，末梢組織への移動に寄与するとともに排泄を遅らせるが，ラットにおいては，T3/T4 に高い結合力を示す TBG が存在せず，TBG に比べ結合力が弱いトランスサイレチンとアルブミンが主要な結合タンパク質であるため，血中の T3/T4 の半減期が非常に短い．そのため，ラットでは T3/T4 のクリアランスを増加させる薬物の影響を受けてホルモン欠乏状態を招きやすく，それに伴い甲状腺及び下垂体の代償性の形態変化が起きることが報告されている [2]．本試験においても，S-033188 が何らかの機序で T3/T4 クリアランスを増大させ，甲状腺及び下垂体の代償性の形態変化をもたらしたと考えられる．UGT 活性の上昇が T3/T4 クリアランス増大の原因なのか，あるいは別の要因により血漿中の遊離 T3/T4 が増加した結果代償的に酵素誘導したのかは不明であるが，いずれにしても動物で T3/T4 クリアランスが増大している証拠と考えられる．なお，後述するように，このような変化はヒトと同様に TBG を持つサルにおける S-033188 の 2 週間及び 4 週間反復経口投与毒性試験では認められなかったことから，ラットの甲状腺及び下垂体の変化はラットに特異的な変化であると考えられ，ヒトへの外挿性は低いと判断した．また，肝臓の変化として，肝細胞肥大と ALT 活性の上昇等が認められたが，この変化は薬物代謝酵素誘導に伴って起こる適応性変化の延長として認められることが報告されており [3]，毒性ではないと判断した．

軽度の肝細胞の脂肪化が 20 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で散見されたが，本変化は対照群に認められた脂肪化と同質であり，変性，壊死などの退行性変化並びに炎症性細胞浸潤及び胆管増生を伴わなかったことから，毒性ではないと判断した．

以上のように，各種検査において S-033188 投与に起因する変化が認められたが，いずれも程度が軽度であり，病理組織学的検査を実施したいずれの組織/器官においても退行性変化並びに炎症性変化等の障害を示唆する変化は認められていない，あるいはヒトへの外挿性に乏しいことから，毒性学的意義のない変化と考えられ，本試験条件下での無毒性量は，雌雄ともに 2000 mg/kg/日と判断した．

血漿中 S-033188 濃度は，全測定時点で定量下限未満 (BLQ) (< 0.00500 μg/mL) であった．

S-033447 の TK パラメータを表 2.6.6.3-1 に示す．S-033447 の最高血漿中濃度 (C_{max}) 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は，用量の増加に伴い，用量比以下で増大した．これら TK パラメータに明らかな雌雄差は認められなかった．投与 7 日目では，C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ が投与 1 日目の 1/2～1/3 程度に低下したが，投与 14 日目では投与 7 日目と同程度であった．C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ が低下した要因としては，S-033447 のグルクロン酸抱合や酸化的代謝 (2.6.4.5.2.1 項参照) に関与する UGT 酵素及び CYP 酵素活性が，この試験で得られた肝臓のミクロソーム中で上昇していることから (2.6.4.5.2.3 項参照)，S-033447 の代謝に関与する酵素が反復投与により誘導され，S-033447 の代謝が亢進したためと推測される．

表 2.6.6.3-1　S-033188 のラット 2 週間反復経口投与時の S-033447 の TK パラメータ

TK parameters of S-033447		Dose of S-033188 (mg/kg/day)					
		20		200		2000	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
C_{max} (μg/mL)	Day 1	0.254	0.156	0.621	0.744	0.713	1.19
	Day 7	0.163	0.121	0.224	0.248	0.340	0.515
	Day 14	0.162	0.144	0.243	0.291	0.274	0.497
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	Day 1	1.40	1.03	5.68	6.48	7.99	15.2
	Day 7	0.868	0.640	1.77	2.14	3.54	5.06
	Day 14	0.872	0.853	2.00	3.40	3.34	5.47

Mean value (n = 4).

2.6.6.3.2 ラット 4 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-02
概要表 2.6.7.7.2

(1) 用量設定根拠

前述したラット 2 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：20，200 及び 2000 mg/kg/日) の結果に基づき，技術的投与限界量である 2000 mg/kg/日を最高用量に設定した．また，用量反応関係を確認するため，200 及び 20 mg/kg/日を，それぞれ中及び低用量とした．

(2) 試験方法及び成績

各群雌雄各 10 例の Sprague-Dawley 系ラットに 0 (対照群)，20，200 又は 2000 mg/kg/日の用量の S-033188 を 1 日 1 回 4 週間反復経口投与し，その毒性を評価した．対照群には媒体 (0.5% MC) を S-033188 投与群と同様の条件で投与した．対照群及び 2000 mg/kg/日投与群では，別のラット (各群雌雄各 5 例) に投与期間終了後に 4 週間の休薬期間を設け，毒性変化の回復性を検討した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，尿検査，血液学的検査，血液化学的検査，器官重量測定，肉眼検査並びに病理組織学的検査を行った．また，TK 評価のため，別のラット (各群雌雄各 4 例) に毒性評価群と同じ条件で S-033188 を投与し，投与 1，14 及び 28 日目の投与前 (投与 1 日目を除く) 並びに投与後 1，2，4，8 及び 24 時間に採取した血漿試料を用い，血漿中 S-033188 及び S-033447 の濃度を測定した．

試験期間中に死亡例及び切迫殺例は発生しなかった．一般状態観察で，未吸収の被験物質と考えられる白色便が 2000 mg/kg/日投与群で散見された．投与 1～4 日及び 12～16 日に摂餌量の低値，また投与 16～20 日に摂餌量の高値が 2000 mg/kg/日投与群で認められたが，推移に一貫性がない変化で，体重への影響も認められなかった．眼科学的検査及び尿検査では S-033188 投与に起因する変化はみられなかった．

200 mg/kg/日以上の投与群の雄又は雌で対照群と比して 1.2～1.8 倍程度の PT の延長及び 1.2～1.4 倍程度の APTT の延長が認められたが，ラット 2 週間反復経口投与毒性試験で述べたように，ビタミン K が不足しやすいラットでの変化であり，ヒトへの外挿性は低いと判断した．

血液学的検査及び血液化学的検査において，200 mg/kg/日以上の投与群の雄又は雌で炎症に関連するパラメータ値の変動 (Fbg，T.Pro 及び PLT の増加，A/G ratio の減少) が認められたが，

炎症の発生を示唆する組織変化は認められなかった．また，200 mg/kg/日以上の投与群の雌で AMY 活性の軽度な上昇が認められたが，病理組織学的検査で膵臓等の関連する組織に障害は認められなかった．20 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で T.Bil の軽度な減少が認められたが，ラット 2 週間反復経口投与毒性試験で述べたように，毒性学的意義のある変化ではないと考えられる．肝重量増加，甲状腺濾胞上皮細胞の過形成，甲状腺のコロイド減少，下垂体の好塩基性細胞の肥大が 200 mg/kg/日以上の投与群の雄又は雌で，肝細胞肥大が 2000 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた．ラット 2 週間反復経口投与毒性試験で述べたように，肝臓で認められた変化は CYP2B, CYP3A 及び UGT 活性の上昇と関連して起こった代償性の変化であり，甲状腺及び下垂体の変化はラットで発生しやすい変化であることから，ヒトへの外挿性は低いと判断した．軽度の肝細胞の脂肪化が 20 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で認められたが，本変化は対照群に認められた脂肪化と同質であり，肝細胞の変性，壊死などの退行性変化を伴わないものであった．2000 mg/kg/日投与群の雌で総コレステロール (T.Cho) の増加が認められたが，上述のように S-033188 が何らかの機序で T3/T4 クリアランスを増大させた結果，血漿中 T3/T4 濃度が減少し，コレステロールの代謝が抑制されたことに起因するものであると考えられる．

上述した血液学的検査及び血液化学的検査並びに病理組織学的検査の変化の頻度及び程度は，いずれもラット 2 週間反復投与毒性試験と同程度であり，反復投与期間の延長による増悪は認められなかった．各種検査において S-033188 投与に起因する変化が認められたが，いずれも程度が軽度であり病理組織学的検査を実施したいずれの組織/器官においても退行性変化並びに炎症性変化等の障害を示唆する変化は認められない，あるいはヒトへの外挿性に乏しいことから，毒性学的意義のない変化と考えられ，本試験条件下での無毒性量は，雌雄ともに 2000 mg/kg/日と判断した．

血漿中 S-033188 濃度は，ほとんどの測定時点で BLQ (< 0.00500 µg/mL) であった．

S-033447 の TK パラメータを表 2.6.6.3-2 に示す．S-033447 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は，用量の増加に伴い，用量比以下で増大した．これら TK パラメータに明らかな雌雄差は認められなかった．投与 14 日目では，C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ が投与 1 日目の 1/2～1/3 程度に低下したが，投与 28 日目では投与 14 日目と同程度であった．この C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ が低下した要因としては，前述の通り，S-033447 の代謝に関与する酵素 (2.6.4.5.2.1 項参照) が，反復投与により誘導され，S-033447 の代謝が亢進したためと推測される (2.6.4.5.2.3 項参照).

表 2.6.6.3-2　S-033188 のラット 4 週間反復経口投与時の S-033447 の TK パラメータ

TK parameters of S-033447		Dose of S-033188 (mg/kg/day)					
		20		200		2000	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
C_{max} (µg/mL)	Day 1	0.240	0.189	0.713	0.730	1.03	1.24
	Day 14	0.137	0.0848	0.195	0.229	0.307	0.305
	Day 28	0.124	0.123	0.198	0.204	0.275	0.460
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (µg·hr/mL)	Day 1	1.34	0.990	5.90	6.18	11.1	17.3
	Day 14	0.807	0.576	1.74	1.83	3.75	3.30
	Day 28	0.817	0.722	1.66	1.72	3.40	4.76

Mean value (n = 4).

2.6.6.3.3 サル 2 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-03
参考資料 4.2.3.2-07
概要表 2.6.7.6，2.6.7.7.3

(1) 用量設定根拠

本試験に先立って実施したサルにおける探索的な毒性試験(投与量：6，20，60 及び 200 mg/kg/日，投与期間：2 週間) では，200 mg/kg/日投与群において，肝機能障害や胆汁うっ滞を示唆する病理組織学的所見は認められなかったものの，AST，ALT，GLDH，LAP 及び GGT 活性等の肝・胆道系関連の血液化学パラメータ値の上昇が認められた (参考資料 4.2.3.2-07).

以上の結果から，肝・胆道系への毒性発現を確認できると考えられる 200 mg/kg/日を高用量に設定した．また，用量反応関係を確認するため，60 及び 20 mg/kg/日を，それぞれ中及び低用量とした.

(2) 試験方法及び成績

各群雌雄各 3 例のカニクイザルに 0 (対照群)，20，60 又は 200 mg/kg/日の用量の S-033188 を 1 日 1 回 2 週間反復経口投与し，その毒性を評価した．対照群には媒体 (0.5% MC) を S-033188 投与群と同様の条件で投与した．対照群と 200 mg/kg/日投与群では，別のサル (各群雌雄各 2 例) に投与期間終了後の 2 週間の休薬期間を設け，毒性変化の回復性を検討した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，尿検査，血液学的検査，血液化学的検査，器官重量測定，肉眼検査並びに病理組織学的検査を行った．また，投与 1，7 及び 14 日目の投与前 (投与 1 日目を除く) 並びに投与後 1，2，4，6，8 及び 24 時間に採取した血漿試料を用い，血漿中 S-033188 及び S-033447 の濃度を測定し，TK を評価した.

試験期間を通じて死亡例及び切迫殺例は発生しなかった．200 mg/kg/日投与群の雄 5 例中 4 例，雌 5 例中 3 例で投与 4～14 日の間に嘔吐が散見された.

投与 7 及び 14 日目の血液化学的検査において，20 mg/kg/日投与群の雌雄各 3 例中 1 例で，投与前値と比して 1.5～10 倍程度の ALT，GLDH，LAP 又は GGT 活性の上昇がみられ，これらの変化に投与 7 日目と 14 日目の測定時点で大きな差はなかった．20 mg/kg/日投与群の別の雌 3 例中 1 例では投与 7 日目のみで投与前値と比して 5 倍程度の GLDH 活性の上昇がみられた．また，60 mg/kg/日以上の投与群では，雌雄ともに AST，ALT，LAP，GGT，GLDH 活性又は総胆汁酸 (TBA) の 2～40 倍程度の上昇がみられた. 200 mg/kg/日投与群では雌雄のほぼ全例に AST，ALT，LAP，GGT 又は GLDH 活性の上昇が認められたことに加え一部の個体ではアルカリホスファターゼ (ALP) 活性の上昇及び T.Bil，直接ビリルビン (D.Bil)，リン脂質，T.Cho，トリグリセリド又は TBA の増加を示す例も認められた．これらの変化について，投与 7 日目と 14 日目の測定時点で変動のみられた項目や程度に大きな差はなく，7 日から 14 日への投与期間の延長による増悪はなかった．また，休薬 1 週目より回復あるいは回復傾向を示し，休薬期間終了時には雌雄の LAP 及び雌の ALP，GGT 及び D.Bil は回復傾向を示し，それ以外の検査項目はいずれも回復した．これらの変化は，肝細胞の壊死や変性等の組織変化及び胆汁うっ滞を示唆すると考えられるが，病理組織学的検査において，S-033188 を投与したいずれの個体においても肝

臓及び胆のうに変化は認められなかった.

その他，体重，摂餌量，眼科学的検査，心電図検査，尿検査，血液学的検査，器官重量，肉眼的検査及び病理組織学的検査において，S-033188 投与に起因する変化は認められなかった.

以上のように，20 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で血液化学的検査において肝機能障害及び胆汁うっ滞を示唆する変動が認められたことから，本試験条件下での無毒性量は，雌雄ともに 20 mg/kg/日未満と判断した.

血漿中 S-033188 濃度は，ほとんどの測定時点で BLQ (< 0.00500 μg/mL) であった.

S-033447 の TK パラメータを表 2.6.6.3-3 に示す．S-033447 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は，用量の増加に伴い，ほぼ用量比以下で増大した．これらの TK パラメータに明らかな雌雄差は認められなかった. 投与 7 及び 14 日目の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は投与 1 日目の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ に比べ，おおむね 1.5～2 倍程度に増大したが，いずれの用量でも投与 14 日目の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は投与 7 日目と同程度であった．反復投与後の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ の増加は，反復投与による積み重なりが影響しており，7 から 14 日で定常状態に達したと考えられる.

表 2.6.6.3-3　S-033188 のサル 2 週間反復経口投与時の S-033447 TK パラメータ

TK parameters of S-033447		Dose of S-033188 (mg/kg/day)					
		20		60		200	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
C_{max} (μg/mL)	Day 1	0.440	0.444	0.659	0.484	0.820	1.34
	Day 7	0.656	0.525	1.14	0.487	1.27	1.62
	Day 14	0.559	0.563	1.37	0.736	1.29	2.12
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	Day 1	6.73	6.57	10.4	8.00	13.4	21.4
	Day 7	9.74	8.07	14.5	7.99	19.3	27.1
	Day 14	9.46	7.79	19.8	10.5	22.4	37.2

Mean value [n = 3 (20 and 60 mg/kg/day) or 5 (200 mg/kg/day)].

2.6.6.3.4 サル 2 週間反復経口投与毒性試験 (追加)

評価資料 4.2.3.2-04
概要表 2.6.7.7.4

(1) 用量設定根拠

前述したサル 2 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：20，60 及び 200 mg/kg/日) の血液化学的検査において，全用量で ALT，GLDH，LAP 及び GGT 活性といった肝・胆道系パラメータ値の上昇が認められたことから，さらに低用量での肝・胆道系パラメータ値への影響を確認し，無毒性量を得るため，3 及び 10 mg/kg/日の用量で追加試験を実施した.

(2) 試験方法及び成績

各群雌雄各 3 例のカニクイザルに 0 (対照群)，3 又は 10 mg/kg/日の用量の S-033188 を 2 週間反復経口投与し，一般状態観察，体重測定，摂餌量測定及び血液化学的検査を実施した．対照群には媒体 (0.5% MC) を S-033188 投与群と同様の条件で投与した．また，投与 1，7 及び 14

日目の投与前 (投与 1 日目を除く) 並びに投与後 1，2，4，6，8 及び 24 時間に採取した血漿試料を用い，血漿中 S-033188 及び S-033447 の濃度を測定し，TK を評価した．

試験期間を通じて死亡及び切迫殺例は発生しなかった．一般状態，体重及び摂餌量に，S-033188 投与に起因する変化はみられなかった．

投与 7 及び 14 日目の血液化学的検査において，10 mg/kg/日投与群で雌雄全例に変化は認められなかった．一方，3 mg/kg/日投与群 6 例 (雌雄各 3 例) 中雌 1 例でのみ投与前値と比して AST，ALT 及び GLDH 活性の 2～30 倍程度の上昇がみられた．先の試験で 20 mg/kg/日以上の投与量で同様の変化が認められていることから，S-033188 投与による影響を完全には否定できないが，1 例に認められた用量依存性のない変化であることから，毒性学的意義は乏しいと判断した．

以上の結果及び前述のサル 2 週間反復経口投与毒性試験 (2.6.6.3.3 項参照) の結果から，サルにおける 2 週間反復経口投与時の無毒性量は，雌雄ともに 10 mg/kg/日と判断した．

血漿中 S-033188 濃度は，全測定時点で BLQ (< 0.00500 μg/mL)であった．

S-033447 の TK パラメータを表 2.6.6.3-4 に示す．S-033447 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は，用量の増加に伴い，用量比以下で増大した．これらの TK パラメータに明らかな雌雄差は認められなかった．投与 7 及び 14 日目では，おおむね投与 1 日目に比べ増大したが，投与 14 日目では投与 7 日目と同程度の曝露であった．投与 7 及び 14 日目の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は投与 1 日目の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ に比べ，おおむね 1～1.5 倍程度に増大したが，いずれの用量でも投与 14 日目の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は投与 7 日目と同程度であった．反復投与後の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ の増加は，反復投与による積み重なりが影響しており，7 から 14 日では定常状態に達したと考えられる．

表 2.6.6.3-4　S-033188 のサル 2 週間反復経口投与時の S-033447 TK パラメータ (追加)

TK parameters of S-033447		Dose of S-033188 (mg/kg/day)			
		3		10	
		Male	Female	Male	Female
C_{max} (μg/mL)	Day 1	0.102	0.113	0.199	0.220
	Day 7	0.143	0.153	0.281	0.293
	Day 14	0.129	0.148	0.314	0.368
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	Day 1	1.28	1.43	3.24	3.31
	Day 7	1.57	2.21	4.44	4.24
	Day 14	1.56	1.89	4.53	4.28

Mean value (n = 3).

2.6.6.3.5 サル 4 週間反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.2-05
参考資料 4.2.3.2-08

概要表 2.6.7.6，2.6.7.7.5

(1) 用量設定根拠

前述したサル 2 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：20，60 及び 200 mg/kg/日) 及びサル 2 週間反復経口投与毒性試験 (追加) (投与量：3 及び 10 mg/kg/日) の結果に基づき，4 週間反復経

口投与毒性試験では，反復投与期間が延長することによる毒性所見への影響を考慮し，100 mg/kg/日を最高用量に設定した．また，無毒性量及び用量反応関係を確認するために 10 及び 1 mg/kg/日を，それぞれ中及び低用量に設定した．

(2) 試験方法及び成績

各群雌雄各 3 例のカニクイザルに 0 (対照群)，1，10 又は 100 mg/kg/日の用量の S-033188 を 4 週間反復経口投与し，その毒性を評価した．対照群には媒体 (0.5% MC) を S-033188 投与群と同様の条件で投与した．対照群と 100 mg/kg/日投与群では，別のサル (各群雌雄各 2 例) に投与期間終了後の 4 週間の休薬期間を設け，毒性変化の回復性を検討した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，尿検査，血液学的検査，血液化学的検査，器官重量測定，肉眼検査並びに病理組織学的検査を行った．また，投与 1，14 及び 28 日目の投与前 (投与 1 日目を除く) 並びに投与後 1，2，4，6，8 及び 24 時間に採取した血漿試料を用い，血漿中 S-033188 及び S-033447 の濃度を測定し，TK を評価した．

試験期間を通じて死亡例及び切迫殺例は発生しなかった．投与 7，14，21 及び 27 日目の血液化学的検査において，100 mg/kg/日投与群の雄全例及び雌 5 例中 3 例で AST，ALT，GLDH，LAP 又は GGT 活性の上昇がみられた．これらの変化は休薬 1 週目より回復傾向を示し，休薬期間終了時には回復した．10 mg/kg/日投与群の雄 3 例中 1 例の投与 21 日目で ALT 及び GLDH 活性の上昇が認められたが，1 例の 1 時点のみに見られた一過性の変化であることから毒性ではないと判断した．

一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，尿検査，血液学的検査，器官重量，肉眼検査及び病理組織学的検査において，S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．

以上のように，100 mg/kg/日投与群の雌雄で血液化学的検査において肝機能障害及び胆汁うっ滞を示唆する変動が認められたことから，本試験条件下での無毒性量は，雌雄ともに 10 mg/kg/日と判断した．

血漿中 S-033188 濃度は，全測定時点で BLQ (< 0.00500 μg/mL) であった．

S-033447 の TK パラメータを表 2.6.6.3-5 に示す．S-033447 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は，用量の増加に伴い，用量比以下で増大した．これらの TK パラメータに明らかな雌雄差は認められなかった．投与 14 及び 28 日目では，投与 1 日目と同程度または増加傾向を示したが，投与 28 日目では投与 14 日目と同程度の曝露であったことから，反復投与期間の延長による C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ の変動は認められなかった．また，4 週間反復経口投与した際の血漿中 S-033447 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ と用量との関係性は，前述したサル 2 週間反復経口投与した際のそれと類似していることから，再現性が認められた．

表 2.6.6.3-5　S-033188 のサル 4 週間反復経口投与時の S-033447 TK パラメータ

TK parameters of S-033447		Dose of S-033188 (mg/kg/day)					
		1		10		100	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
C_{max} (μg/mL)	Day 1	0.0507	0.0523	0.236	0.189	0.496	0.449
	Day 14	0.0667	0.0694	0.277	0.285	0.876	0.627
	Day 28	0.0515	0.0527	0.242	0.229	0.714	0.642
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	Day 1	0.555	0.589	3.43	2.66	8.96	7.68
	Day 14	0.632	0.740	4.14	3.69	14.8	10.2
	Day 28	0.527	0.456	3.05	3.14	11.6	9.06

Mean value [n = 3 (1 and 10 mg/kg/day) or 5 (100 mg/kg/day)]

(3) サル 4 週間反復経口投与毒性試験における肝臓の電子顕微鏡検査

肝・胆道系組織への影響の有無をより詳細に検討するため，サル 4 週間反復経口投与毒性試験で作製された肝臓の電子顕微鏡検査用樹脂包埋試料を用いて，電子顕微鏡検査を実施した．本試験は上述のサル 4 週間反復経口投与毒性試験とは別試験として信頼性基準適用下で実施した．

投与期間終了時解剖例の対照群及び 100 mg/kg/日投与群の雌雄各 3 例の肝臓について，小葉中心帯及び小葉辺縁帯を含む超薄切片を作製し，透過型電子顕微鏡にて観察した．

その結果，いずれの例の肝臓においても肝細胞の微細構造に異常所見は認められなかった．

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 S-033188 の細菌を用いる復帰突然変異試験

評価資料 4.2.3.3-01
概要表 2.6.7.8.1

S-033188 の復帰突然変異誘発性を評価するため，ネズミチフス菌 (TA98，TA100，TA1535 及び TA1537) 並びに大腸菌 (WP2*uvrA*) の 5 菌株を用い，代謝活性化系 (S9 mix：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 Sprague-Dawley 系ラットより摘出調製した肝臓ホモジネートの 9000*g* 上清) の非存在及び存在下の条件でプレート法により試験を実施した．陰性対照としてジメチルスルホキシド (DMSO，100 µL/プレート) を用いた．

用量設定試験の結果を基に，生育阻害の現れる用量を本試験の最高用量に設定し，生育阻害の無い場合は 5000 µg/プレートを最高用量に設定した．S9 mix 非存在下では 156～5000 µg/プレート，S9 mix 存在下の TA98 では 9.77～313 µg/プレート並びに TA100，TA1535，TA1537 及び WP2*uvrA* では 2.44～78.1 µg/プレートの用量で試験を実施した．

全ての菌株において，S9 mix の有無に関わらず，いずれの処理用量でも S-033188 群の復帰突然変異コロニー数は陰性対照群の 2 倍以内であり，S-033188 による復帰突然変異は誘発されなかった．また，再現性も確認された．

以上の結果より，S-033188 の細菌を用いる復帰突然変異試験は陰性と判断した．

2.6.6.4.2 S-033447 の細菌を用いる復帰突然変異試験

評価資料 4.2.3.3-02
概要表 2.6.7.8.2

S-033447 の復帰突然変異誘発性を S-033188 と同様に評価した．

用量設定試験の結果を基に，生育阻害の現れる用量を本試験の最高用量に設定した．S9 mix 非存在下の TA100，TA1535 及び TA1537 では 0.61～19.5 µg/プレート，S9 mix 非存在下の TA98 及び WP2*uvrA* では 2.44～78.1 µg/プレート，S9 mix 存在下の TA1535 及び TA1537 では 0.61～19.5 µg/プレート，TA100 及び WP2*uvrA* では 2.44～78.1 µg/プレート並びに TA98 では 9.77～313 µg/プレートの用量で試験を実施した．

2 回目試験の S9 mix 存在下の WP2*uvrA* において，最高用量 (78.1 µg/プレート) でのみ陰性対照群の約 2.5 倍の復帰突然変異コロニー数を示し，1 回目試験の再現性が得られなかったため，S9 mix 存在下の WP2*uvrA* について同じ試験条件下で確認試験を実施した．その結果，いずれの処理用量でも陰性対照群の 2 倍以内であり S-033447 による復帰突然変異は誘発されず，1 回目試験と再現性のある結果が得られた．また，その他の全ての菌株においても，S9 mix の有無に関わらず，いずれの処理用量でも復帰突然変異コロニー数は陰性対照群の 2 倍以内であり S-033447 による復帰突然変異は誘発されなかった．また，再現性も確認された．

以上の結果より，S-033447 の細菌を用いる復帰突然変異試験は陰性と判断した．

2.6.6.4.3 S-033188 のほ乳類の培養細胞を用いる小核試験

評価資料 4.2.3.3-03
概要表 2.6.7.8.3

S-033188 の *in vitro* における染色体異常誘発性を評価するため，ヒトリンパ芽球由来 TK6 培養細胞を用いて，サイトカラシン B 法による *in vitro* 小核試験を，S9 mix 非存在及び存在下での 3 時間処理 (処理後 24 時間再培養) 及び S9 mix 非存在下での 24 時間連続処理条件で実施した．陰性対照として DMSO (最終濃度 1%) を用いた．用量設定試験の結果を基に，細胞増殖抑制率が 50%付近を示す用量を最高用量に設定した．

S9 mix 非存在下の 3 時間処理 (S-033188 を 43.2，72.0 又は 120 μg/mL)，S9 mix 存在下の 3 時間処理 (S-033188 を 25.9，43.2 又は 72.0 μg/mL)，並びに S9 mix 非存在下の 24 時間連続処理 (S-033188 を 2.02，5.62 又は 15.6 μg/mL) において，いずれの S-033188 曝露群でも小核を有する細胞の出現頻度に陰性対照群と有意差はなく，上昇は認められなかった．

以上の結果から，S-033188 の TK6 培養細胞を用いる小核試験は陰性と判断した．

2.6.6.4.4 S-033447 のほ乳類の培養細胞を用いる小核試験

評価資料 4.2.3.3-04
概要表 2.6.7.8.4

S-033447 の染色体異常誘発性を S-033188 と同様に評価した．

S9 mix 非存在下の 3 時間処理 (S-033447 を 50.0，80.0 又は 160 μg/mL)，S9 mix 存在下の 3 時間処理 (S-033447 を 50.0，80.0 又は 160 μg/mL) 並びに S9 mix 非存在下の 24 時間連続処理 (S-033447 を 1.56，3.13 又は 6.25 μg/mL) において，いずれの S-033188 曝露群においても小核を有する細胞の出現頻度に陰性対照群と有意差はなく，上昇は認められなかった．

以上の結果から，S-033447 の TK6 培養細胞を用いる小核試験は陰性と判断した．

2.6.6.4.5 げっ歯類を用いる小核試験

評価資料 4.2.3.3-05
概要表 2.6.7.9.1

S-033188 の *in vivo* における染色体異常誘発性を評価するため，Sprague-Dawley 系ラットを用いて小核試験を実施した．500，1000 又は 2000 mg/kg/日の用量の S-033188 を各群 5 例の雄ラットに 1 日 1 回 2 日間経口投与した．陰性対照群として，媒体である 0.5% MC を同様に投与した．

いずれの S-033188 投与群においても，死亡及び切迫殺例の発生並びに一般状態変化はなかったことから，全ての投与群について最終投与後 24 時間に骨髄塗抹標本を作製した．標本観察の結果，いずれの S-033188 投与群においても，多染性赤血球中の小核を有する細胞の出現頻度に，陰性対照群と比較して有意な増加は認められなかった．また，全赤血球中の多染性赤血球比は，いずれの S-033188 投与群においても陰性対照群と有意差はなく，骨髄細胞の増殖抑制は認められなかった．

以上の結果から，S-033188 のラット小核試験は陰性と判断した．

2.6.6.5 がん原性試験

S-033188 は臨床での使用が 1 回投与であること，S-033188 及び S-033447 の遺伝毒性試験の結果が全て陰性であったこと並びに特定組織への蓄積性及び残留性が認められなかったことから(2.6.4.4.2.1 項参照)，S-033188 及び S-033447 ががん原性を有する可能性は極めて低いと考え，がん原性試験は実施しなかった.

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

評価資料 4.2.3.5-01
概要表 2.6.7.12.1

(1) 用量設定根拠

前述したラット 2 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：20，200 及び 2000 mg/kg/日) の結果に基づき，最高用量として，生殖発生毒性試験法ガイドライン (ICH S5R2) [4] に記載された 1 日限界用量である 1000 mg/kg/日を設定した．また，用量反応関係を確認するため，200 及び 20 mg/kg/日を，それぞれ中及び低用量とした．

(2) 試験方法及び成績

S-033188 を 0 (対照群), 20, 200 又は 1000 mg/kg/日の用量で, 各群雌雄各 20 例の Sprague-Dawley 系ラットに 1 日 1 回反復経口投与を実施した．雄には交配の約 4 週間前から，最大 2 週間の交配期間を経て剖検の前日 (14 週齢) までの計 50 日間投与した．雌には交配 2 週間前から，交配期間を経て妊娠 7 日までの計 22～35 日間投与し，妊娠 13 日目に帝王切開した．対照群には媒体 (0.5% MC) を S-033188 投与群と同様の条件で投与した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，性周期観察，肉眼検査，生殖器官重量測定，精子検査，交尾能，受胎能並びに胚の生存性の評価を実施した．

試験期間中に S-033188 投与に起因する死亡例及び切迫殺例は発生しなかった．1000 mg/kg/日投与群の雌雄動物で未吸収の被験物質と考えられる白色便が認められた．200 mg/kg/日以上の投与群の雌動物で投与初期に摂餌量の減少が認められたが，軽度かつ一過性であったため，毒性ではないと判断した．雄動物の体重，摂餌量，肉眼所見，生殖器官重量及び精巣中の精子数並びに雌動物の体重，肉眼所見，生殖器官重量及び性周期に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．また，交尾率，受胎率，交配所要日数，黄体数，着床数，生存胚数及び着床前・着床後死亡率に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．

以上の結果から，本試験条件下における雌雄親動物及び初期胚発生に関する無毒性量はいずれも 1000 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.6.2 ラット胚・胎児発生に関する試験

評価資料 4.2.3.5-02
概要表 2.6.7.13.1

(1) 用量設定根拠

前述したラット 2 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：20，200 及び 2000 mg/kg/日) の結果に基づき，最高用量として，生殖発生毒性試験法ガイドライン (ICH S5R2) [4] に記載された 1 日限界用量である 1000 mg/kg/日を設定した．また，用量反応関係を確認するため，200 及び 20 mg/kg/日を，それぞれ中及び低用量に設定した．

(2) 試験方法及び成績

S-033188 を 0 (対照群)，20，200 又は 1000 mg/kg/日の用量で，各群 20 例の Sprague-Dawley 系妊娠ラットに，胚・胎児の着床から硬口蓋閉鎖までの期間 (妊娠 6 日から妊娠 17 日)，1 日 1 回反復経口投与を実施し，妊娠 21 日に帝王切開した．対照群には媒体 (0.5% MC) を S-033188 投与群と同様の条件で投与した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，肉眼検査，胚・胎児の生存性及び子宮内発育並びに胎児の外表，内臓及び骨格の形態評価を実施した．また，TK 評価のため，別の妊娠ラット (各群 4 又は 5 例) に毒性評価群と同じ条件で S-033188 を投与し，妊娠 6 日及び 17 日の投与前 (妊娠 6 日を除く) 並びに投与後 1，2，4，8 及び 24 時間に採取した血漿試料を用い，血漿中 S-033188 及び S-033447 濃度を測定した．

投与開始から剖検日まで，試験期間を通じて死亡例及び切迫殺例は発生しなかった．1000 mg/kg/日投与群で未吸収の被験物質と考えられる白色便が認められた．200 mg/kg/日以上の投与群で投与初期に摂餌量の減少を伴う軽度な体重増加抑制が認められたが，一過性であり体重実測値に有意な変化は認められなかったことから，毒性ではないと判断した．妊娠の維持及び肉眼所見並びに黄体数，着床数及び着床前死亡率に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．

胚・胎児では，生存胎児数，着床後死亡率，性比，胎児体重及び胎盤重量において S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．生存胎児の外表，胎盤，内臓及び骨格の形態並びに骨化進行度に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．

以上の結果から，本試験条件下での無毒性量は，母動物の一般及び生殖毒性並びに胚・胎児の発生毒性いずれも 1000 mg/kg/日と判断した．

母動物の血漿中 S-033188 濃度は，全測定時点で BLQ (< 0.00500 μg/mL) であった．

母動物の S-033447 の TK パラメータを表 2.6.6.6-1 に示す．妊娠 6 日の 20 から 1000 mg/kg/日投与群間並びに妊娠 17 日の 20 及び 200 mg/kg/日投与群間の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は，用量の増加に伴い，用量比以下で増大した．妊娠 17 日の 1000 mg/kg/日投与群の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は，200 mg/kg/日群と同程度であった．1000 mg/kg/日投与群の妊娠 17 日の曝露は，妊娠 6 日の 1/2 程度に低下したが，20 及び 200 mg/kg/日投与群では，反復投与による影響は認められなかった．1000 mg/kg/日投与群で C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ が低下した原因としては，ラット 2 週間反復経口投与毒性試験で述べたように，肝臓における CYP2B，CYP3A 及び UGT の誘導による S-033447 の代謝亢進であると推察される．

表 2.6.6.6-1　妊娠 6 日から妊娠 17 日の母動物ラットに S-033188 を反復経口投与したときの S-033447 の TK パラメータ

TK parameters of S-033447		Dose of S-033188 (mg/kg/day)		
		20	200	1000
C_{max} (μg/mL)	G6	0.214	0.739	1.25
	G17	0.324	0.622	0.621
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	G6	1.26	6.49	15.3
	G17	1.88	6.18	7.17

G: Gestation Day

Mean value [n = 4 (20 and 1000 mg/kg/day) or 5 (200 mg/kg/day)]

2.6.6.6.3 ウサギ胚・胎児発生に関する試験

評価資料 4.2.3.5-03
参考資料 4.2.3.5-06，4.2.3.5-07
概要表 2.6.7.11，2.6.7.13.2

(1) 用量設定根拠

非妊娠ウサギにおける 2 週間反復経口投与毒性試験 (投与量：100，300 及び 1000 mg/kg/日．参考資料 4.2.3.5-06) の結果に基づき実施した妊娠ウサギにおける用量設定試験 (投与量：100，300 及び 1000 mg/kg/日) では，母動物に死亡及び流産は発生せず，一般状態観察でも毒性所見はみられなかった (参考資料 4.2.3.5-07)．300 mg/kg/日以上の投与群において摂餌量及び体重増加量の低値が認められた．胚・胎児において，外表，内臓及び骨格の異常は認められなかったが，300 mg/kg/日以上の投与群で着床後死亡率の上昇傾向，1000 mg/kg/日投与群で頚部過剰肋骨発現率の高値がみられた．

以上の結果から，最高用量として，生殖発生毒性ガイドライン (ICH S5R2) [4] に記載された 1 日限界用量である 1000 mg/kg/日を設定した．また，用量反応関係を確認するため，100 及び 30 mg/kg/日を，それぞれ中及び低用量に設定した．

(2) 試験方法及び成績

S-033188 を 0 (対照群)，30，100 又は 1000 mg/kg/日の用量で，各群 18 から 20 例のニュージーランド白色種妊娠ウサギに，胚・胎児の着床から硬口蓋閉鎖までの期間 (妊娠 7 日から妊娠 19 日)，1 日 1 回反復経口投与を実施し，妊娠 28 日に帝王切開した．対照群には媒体 (0.5% MC) を S-033188 投与群と同様の条件で投与した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，肉眼検査，胚・胎児の生存性並びに子宮内発育の評価，胎児の外表，内臓及び骨格の形態評価を実施した．また，各群 4 又は 5 例の妊娠ウサギから妊娠 7 日及び 19 日の投与前 (妊娠 7 日を除く) 並びに投与後 1，2，4，6，8 及び 24 時間に採取した血漿試料を用い，血漿中 S-033188 及び S-033447 濃度を測定した．

試験期間中に死亡及び切迫殺例は発生しなかった．妊娠 25 日又は 26 日に 1000 mg/kg/日投与群の 19 例中 2 例及び対照群の 20 例中 1 例で流産が認められた．この 1000 mg/kg/日投与群の 2 例ではいずれも顕著な摂餌抑制を伴う体重減少が認められた．妊娠ウサギでは，顕著な摂餌抑制により流産及び早産が認められることが報告されていることから [5]，本試験で認められた流産は S-033188 投与による摂餌抑制に伴う二次的な影響であると考える．1000 mg/kg/日投与群で未吸収の被験物質と考えられる灰茶色便が認められた．1000 mg/kg/日投与群で投与初期に摂餌量の減少を伴う体重増加抑制が認められた．30 及び 100 mg/kg/日投与群では一般状態，体重及び摂餌量に投与の影響は認められなかった．また，いずれの群においても，母動物の剖検所見，黄体数，着床数及び着床率に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．

生存胎児数，胚・胎児死亡数，着床後死亡率，胎児体重，胎盤重量，性比並びに外表，胎盤及び内臓の形態に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．骨格検査では，骨格異常及び骨化進行度に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．骨格変異所見として，1000 mg/kg/日投与群の頚部短小過剰肋骨発現率 (33.70%) が対照群 (0%) 及び背景データ (0%

～2.73%) と比べて高値を示した．また，1000 mg/kg/日投与群で胸腰部完全過剰肋骨の発現率 (11.42%) が対照群 (51.86%) 及び背景データ (26.83%～73.06%) と比べて低値であったが，変異所見の発生頻度が低下することに対する毒性学的意義は低いと判断した．30 及び 100 mg/kg/日投与群では骨格変異所見の発現率に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．

以上のように，本試験において催奇形性は認められなかったが，1000 mg/kg/日投与群で母動物に流産並びに摂餌量の低値を伴う体重増加抑制が認められ，また胎児で頚部過剰肋骨の増加が認められたことから，本試験条件下での無毒性量は，母動物及び胚・胎児の発生毒性に関していずれも 100 mg/kg/日と判断した．

母動物の血漿中 S-033188 の濃度は，全測定時点で BLQ (< 0.00500 μg/mL) であった．

母動物の S-033447 の TK パラメータを表 2.6.6.6-2 に示す．妊娠 7 及び 19 日の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は，用量の増加に伴い，用量比以下で増大した．妊娠 19 日の曝露は妊娠 7 日に比べて同程度又は減少傾向を示した．

表 2.6.6.6-2　妊娠 7 日から妊娠 19 日の妊娠ウサギに反復経口投与したときの S-033447 TK パラメータ

TK parameters of S-033447		Dose of S-033188 (mg/kg/day)		
		30	100	1000
		Female	Female	Female
C_{max} (μg/mL)	G7	0.586	1.24	1.83
	G19	0.485	0.883	1.35
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	G7	6.29	14.4	35.6
	G19	4.60	9.26	20.9

Mean value [n = 5 (30 and 1000 mg/kg/day) or 4 (100 mg/kg/day)]

2.6.6.6.4 ラット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

評価資料 4.2.3.5-04
概要表 2.6.7.14.1

(1) 用量設定根拠

前述したラット胚・胎児発生に関する試験 (投与量：20，200 及び 1000 mg/kg/日) の結果に基づき，最高用量として，生殖発生毒性ガイドラインに記載された 1 日限界用量である 1000 mg/kg/日を設定した (ICH S5R2) [4]．また，用量反応関係を確認するため，200 及び 20 mg/kg/日を，それぞれ中及び低用量に設定した．

(2) 試験方法及び成績

S-033188 を 0 (対照群)，20，200 又は 1000 mg/kg/日の用量で，各群 20 又は 22 例の Sprague-Dawley 系妊娠ラットに，妊娠 6 日から分娩を経て哺育 20 日まで，1 日 1 回反復経口投与を実施した．対照群には媒体 (0.5% MC) を S-033188 投与群と同様の条件で投与した．母動物 (F0, 親世代) の一般状態観察, 体重測定, 摂餌量測定及び肉眼検査を実施した. 出生児 (F1,

子世代) の生存性評価，外表検査，一般状態観察，体重測定及び性比，離乳後 F1 動物の体重測定，摂餌量測定，生後発育検査，反射・感覚機能検査，行動検査 (オープンフィールド検査)，学習機能検査 (水迷路検査)，性成熟観察，性周期観察，交尾能及び受胎能検査，肉眼検査，並びに F1 母動物の妊娠 15 日における着床数及び F2 (孫世代) 胚の生存性の評価を実施した．

試験期間中に F0 母動物の死亡例及び切迫殺例は発生しなかった．F0 母動物の一般状態，体重，摂餌量，妊娠期間，出産率及び肉眼所見に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．

F1 出生児の生存性，外表検査，一般状態，体重及び性比に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．離乳後 F1 動物の一般状態，体重及び摂餌量に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．生後発育検査，反射・感覚機能検査，自発運動性の指標であるオープンフィールド検査，学習及び記憶能力の指標である水迷路検査，性成熟観察，性周期観察，交尾能及び受胎能検査並びに肉眼検査の成績に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．また，F1 母動物の着床数及び F2 胚の生存性に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．

16～20 日齢の F1 動物の一般状態観察で，200 mg/kg/日投与群の雌雄各 1 例及び 1000 mg/kg/日投与群の雄 1 例及び雌 3 例に眼球の腫大及び暗赤色化 (いずれの動物も片側) が認められ，離乳後の同 F1 動物 (離乳時剖検を実施した 1000 mg/kg/日投与群の雌 1 例を除く) には，これらの所見に加え，眼球の混濁，膨隆又は粗造が散見された．眼への影響を精査するため，21～24 日齢及び 71～74 日齢に 1 回ずつ，各群雌雄各 19～22 例の離乳児を対象に眼科的検査を実施し，さらに，眼球に所見が認められた児を対象に，眼球の病理組織学的検査を実施した．所見が認められた眼球の眼科的検査では前眼房出血，角膜混濁又は虹彩からの出血などの所見が認められ，病理組織学的検査では虹彩からの出血，眼球内の血液貯留，水晶体の空胞化及び壊死，角膜と虹彩の癒着又は水晶体-虹彩の癒着，などの所見が認められた．眼球に所見が認められなかった児については，上記の所見はいずれも認められなかった．以上のように，一部の F1 動物において前眼房出血が起因と考えられる一般症状及び病理所見が認められた．しかしながら，発生頻度は低く (200 mg/kg/日投与群の 1.1%，1000 mg/kg/日投与群の 2.4%)，眼科学的検査において上記所見が認められた F1 児以外の児に出血性の変化は一切認められなかった．さらに，後述する幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験では，10 日齢以降の幼若ラットに S-033188 を 40 日間反復経口投与しており，母動物に S-033188 を投与する本試験よりも高い F1 動物への S-033188 及び S-033447 の曝露が予想されるが，眼球の出血及び異常所見は認められなかったことから，S-033188 投与に起因する変化ではないと判断した．

以上の結果から，本試験条件下における母動物並びに次世代の発生に関する無毒性量はいずれも 1000 mg/kg/日と判断した．

2.6.6.6.5 新生児を用いた試験

2.6.6.6.5.1 幼若ラットにおける反復経口投与毒性試験

評価資料 4.2.3.5-05
参考資料 4.2.3.5-08

概要表 2.6.7.15.1，2.6.7.15.2.1

(1) 用量設定根拠

幼若ラットにおける用量設定試験 (投与開始:10 日齢, 投与量:100, 300 及び 1000 mg/kg/日, 投与期間：3 週間) [参考資料 4.2.3.5-08] では，死亡例及び切迫殺例は発生せず，1000 mg/kg/日投与群の雌雄で 10～13 日齢 (投与 1～4 日目) の体重増加量が対照群と比して軽度な低値を示し，11 又は 12 日齢 (投与 2 又は 3 日目) 以降に腹部膨満が認められたが，いずれの変化も 16 日齢 (投与 7 日目) までに消失した. 主な所見として 100 mg/kg/日以上の用量で肝臓及び脾臓重量の高値，肝臓における軽度な髄外造血及び肝細胞の有糸分裂像の増加又は軽度な肝細胞肥大が散見された．血漿中 S-033188 の曝露は 10 日齢 (初回投与時) のみで認められ，20 及び 30 日齢 (投与 11 及び 21 日目) では検出されなかった.

以上の結果から，最高用量として，軽度な毒性発現が予測される 1000 mg/kg/日を設定した．また，また，1000 mg/kg/日投与群の S-033447 の $AUC_{0\text{-}24hr}$ が 100 mg/kg/日投与群の 2～3 倍程度で，用量比以下の増加を示したため，投与量の間隔を大きく取り，200 及び 20 mg/kg/日を，それぞれ中及び低用量に設定した.

(2) 試験方法及び成績

S-033188 を 0 (対照群), 20, 200 又は 1000 mg/kg/日の用量で, 各群雌雄各 12 例の Sprague-Dawley 系ラットに 10～49 日齢の 40 日間反復経口投与を実施し, 幼若ラットにおける毒性を評価した．対照群には媒体 (0.5% MC) を S-033188 投与群と同様の条件で投与した．別のラット (各群雌雄各 10 例) に投与期間終了後に 4 週間の休薬期間を設け，毒性変化の回復性を検討した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，尺骨長測定，神経行動学的評価 (自発運動性検査，pre-pusle inhibition 検査及びモリス水迷路検査)，性成熟観察，血液学的検査，血液化学的検査，器官重量測定，肉眼検査並びに病理組織学的検査を行った．また，TK 評価のため，別のラットに毒性評価群と同じ条件で媒体又は S-033188 を投与し，投与 1 日目 (10 日齢)，21 日目 (30 日齢) 及び 40 日目 (49 日齢) の投与前 (投与 1 日目を除く) 並びに投与後 1，2，4，8 及び 24 時間に採取した血漿試料を用い，血漿中 S-033188 及び S-033447 濃度を測定した．投与 1 日目 (10 日齢) では雌雄各 3 例を各採血時点に供試し，投与 21 日目 (30 日齢) 及び 40 日目 (49 日齢) では雌雄各 3 例から 2 時点分の血漿試料を採取した.

試験期間中に死亡例及び切迫殺例は発生しなかった．一般状態観察で，腹部膨満が 1000 mg/kg/日投与群の雌雄で 11 及び 12 日齢 (投与 2 及び 3 日目) のみに認められた．この変化は一過性であり，剖検時に腹部に異常は認められなかった．雄の 12～24 日齢 (投与 3~15 日目)，及び雌の 13~16 日齢 (投与 4~7 日目) に体重及び体重増加量の低下が 1000 mg/kg/日投与群の雌雄で認められた (体重の対照群比，雄：−9～−5%，雌：−7～−6%) が一過性の軽度な変化であった．200 及び 1000 mg/kg/日投与群の雌のそれぞれ 21 及び 31 日齢以降の体重がわずかに増加した (対照群比，200 mg/kg/日投与群：+6～+9%，1000 mg/kg/日投与群：+3～+7%)．全投与群の雌のみにおいて，24 日齢以降の投与期間中の摂餌量がわずかに増加した (対照群比，20 mg/kg/日投与群:+1～+9%, 200 mg/kg/日投与群:+6～+9%, 1000 mg/kg/日投与群:+6～+11%). 成長の指標である尺骨長，性成熟，自発運動性並びに学習及び記憶能力の指標である pre-pulse

inhibition 検査及びモリス水迷路検査の成績に，S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．

投与終了時の血液学的検査において，200 mg/kg/日以上の投与群の雌又は雄に赤血球容積分布幅 (RDW) の増加，及び APTT の延長が，1000 mg/kg/日投与群の雌に PLT の増加が認められた．また，血液化学的検査において，1000 mg/kg/日投与群の雄に A/G ratio の低値が認められた．これらは対照群と比していずれも約±20%以内の軽度な変化であり，一般状態及び病理組織学的検査結果に関連する所見は認められなかった．

剖検時の肉眼検査において S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．病理組織学的検査において 200 mg/kg/日以上の投与群の雌雄に甲状腺の濾胞細胞の肥大が認められ，1000 mg/kg/日投与群の雄ではそれに関連すると考えられる甲状腺重量 (上皮小体を含む) の増加が認められたが，前述したラット 2 週間及び 4 週間反復経口投与毒性試験で認められた変化と同質であり，甲状腺ホルモンの代謝亢進に伴う代償性変化と考えられる．

以上のように，いくつかの検査において S-033188 投与に起因する変化が認められたが，その程度が軽い又は一般状態，剖検あるいは病理組織学的検査結果に関連する所見がないことから，いずれも毒性とはみなさず，本試験条件下での無毒性量は雄雌ともに 1000 mg/kg/日と判断した．

S-033118 及び S-033447 の TK パラメータを表 2.6.6.6-3 に示す．

10 日齢 (投与 1 日目) における S-033188 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は，用量の増加に伴い，おおむね用量比以上に増大した．これらの TK パラメータは，血漿中 S-033447 の曝露に比べて著しく小さい値を示した．30 及び 49 日齢 (それぞれ投与 21 及び 40 日目) の血漿中 S-033188 濃度はほとんどの測定時点で BLQ (< 0.00500 µg/mL) であった．

S-033447 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は用量の増加とともに増大したが，その程度は用量比より小さかった．これらの TK パラメータに明らかな雌雄差は認められなかった．10 日齢における S-033447 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は 30 及び 49 日齢に比べて著しく大きい値を示した．30 日齢と 49 日齢は同程度の曝露を示し，前述したラット 2 週間反復経口投与毒性試験並びにラット 4 週間反復経口投与毒性試験の反復投与後の曝露とも同程度であった．30 日齢以降の S-033447 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ の著しい低下は，幼若ラットの単回経口投与及び単回静脈内投与試験において 10 日齢の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は 30 日齢のそれに比べて著しく大きい値を示したことから (2.6.4.3.2.1 項及び 2.6.4.3.2.2 項参照)，ラットの発育に伴う S-033447 の経口吸収性，消失能及び分布容積の変化が原因であると考えられる．

表 2.6.6.6-3 幼若ラットの S-033188 投与時における S-033188 及び S-033447 の TK パラメータ

TK Parameters of S-033188		Dose of S-033188 (mg/kg/day)					
		20		200		1000	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
C_{max} (μg/mL)	Day 10 of age	0.00774	0.00983	0.0284	0.0756	0.999	5.40
	Day 30 of age	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]
	Day 49 of age	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	Day 10 of age	N.C.[b]	N.C.[b]	0.154	0.450	2.08	5.65
	Day 30 of age	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]
	Day 49 of age	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]	N.C.[a]

N.C.: Not calculated
Mean values for C_{max} and $AUC_{0\text{-}24hr}$ were calculated using the mean plasma concentrations at each sampling point (n = 3).
a: Mean plasma concentrations were not available at any sampling time
b: Mean plasma concentration were available at fewer than three sampling times

TK Parameters of S-033447		Dose of S-033188 (mg/kg/day)					
		20		200		1000	
		Male	Female	Male	Female	Male	Female
C_{max} (μg/mL)	Day 10 of age	2.14	2.29	7.02	7.09	8.24	9.69
	Day 30 of age	0.218	0.194	0.295	0.300	0.331	0.512
	Day 49 of age	0.109	0.104	0.295	0.382	0.248	0.282
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)	Day 10 of age	26.1	27.8	87.1	103	133	147
	Day 30 of age	1.23	0.844	2.42	2.74	3.59	5.98
	Day 49 of age	0.667	0.554	2.57	2.76	2.95	3.05

Mean values for C_{max} and $AUC_{0\text{-}24hr}$ were calculated using the mean plasma concentrations at each sampling point (n = 3).

2.6.6.7 局所刺激性試験

該当する試験なし.

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 ラットにおけるPT及びAPTT延長へのビタミンKの影響

評価資料 4.2.3.7-01
参考資料 4.2.3.7-03
概要表 2.6.7.17.1

ラット2週間反復経口投与毒性試験において認められたPT及びAPTTの延長は，S-033188投与により何らかの原因で体内のビタミンK不足が起こったことによると考えられるが，高圧蒸気滅菌によりビタミンK含量が減少した食餌の摂取，かつ剖検前絶食によりビタミンK摂取量が減少したことにより体内のビタミンK量がさらに減少し，PT及びAPTTの延長の程度が大きくなったと推測された．そこで，ビタミンK_1併用投与並びに剖検前の給餌の有無によるPT及びAPTTの延長に対する影響を調べた．S-033188を雄性Sprague-Dawleyラットに2週間反復経口投与し，ビタミンK_1の併用投与，及び剖検前の絶食の有無による影響を検討した．上述したラット2週間反復経口投与毒性試験の結果並びに本試験に先立って実施したラットにおける探索的な予備試験 (参考資料 4.2.3.7-03) の結果に基づき，本試験の投与量を設定した．S-033188とビタミンK_1の併用投与群 (以後，S-033188経口投与量/ビタミンK_1皮下投与量で表記する) として，0/0 mg/kg/日群，2000/0 mg/kg/日群及び2000/0.3 mg/kg/日群を設定し，0/0 mg/kg/日群及び2000/0 mg/kg/日群には剖検前絶食群及び剖検前非絶食群を設定した (各群雄5例)．対照群には媒体 (0.5% MC) を同様に投与した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定及び血液学的検査を行った．また，TK評価のため，別のラット (各群3例) に毒性評価群と同じ条件で剖検前絶食下でS-033188及びビタミンK_1を投与した．

死亡例及び切迫殺例は発生しなかった．S-033188投与に起因する変化として，2000/0 mg/kg/日(剖検前絶食) 群及び2000/0 mg/kg/日 (剖検前非絶食) 群においてPT及びAPTTの延長が認められた．ただし，2000/0 mg/kg/日 (剖検前非絶食) 群におけるPT及びAPTTの延長は，2000/0 mg/kg/日 (剖検前絶食) 群に比べ軽微であった．一方，2000/0.3 mg/kg/日 (剖検前絶食) 群においては，PT及びAPTTの延長は認められなかった．したがって，S-033188投与によるPT及びAPTTの延長はビタミンK不足に起因しており，ビタミンK摂取量の減少した条件下でより顕著になる変化であることが確認された．

その他に，S-033188の2000 mg/kg/日投与群のほぼ全例において，投与期間中の未吸収の被験物質と考えられる散発的な白色便及び投与1～2日目に摂餌量減少が認められた．

TK評価の結果，血漿中S-033188濃度はほとんどの測定時点でBLQ (< 0.00500 μg/mL) であった．S-033447のC_{max}及び$AUC_{0\text{-}24hr}$に，ビタミンK_1併用による影響は認められなかった．投与14日目では，C_{max}及び$AUC_{0\text{-}24hr}$がいずれも投与1日目の1/3程度に低下しており，投与1及び14日目のC_{max}及び$AUC_{0\text{-}24hr}$は前述したラット2週間反復経口投与毒性試験のC_{max}及び$AUC_{0\text{-}24hr}$と同程度であった．

2.6.6.8.2 S-033188 のヘアレスマウスにおける経口及び腹腔内投与皮膚光毒性試験

評価資料 4.2.3.7-02
参考資料 4.2.3.7-04，4.2.3.7-05
概要表 2.6.7.17.2

マウス皮膚光毒性予備試験 (参考資料 4.2.3.7-04 及び 4.2.3.7-05) の結果に基づき，本試験の投与量及び紫外線 (UV) 照射時間を設定した．

S-033188 を雌性 Hos:HR-1 系マウスに 0 (媒体対照群) 又は 1000 mg/kg の用量で単回経口投与し，皮膚光毒性評価を実施した．また，S-033188 を全身曝露したときの皮膚光毒性を評価するため，10，30 及び 100 mg/kg の用量を単回腹腔内投与した．S-033188 投与群 (各群 15 例) については 10 例の UV 照射群 (10 J/cm^2，照射時間 1 時間 40 分) と，5 例の非照射群を設定した．媒体対照群 (UV 照射: 5 例，UV 非照射: 5 例) には媒体 (0.5% MC) を単回経口投与し，陽性対照群 (UV 照射: 5 例，UV 非照射: 5 例) には 8-メトキシソラレンを 8 mg/kg の用量で単回経口投与した．血漿中 S-033447 及び S-033188 濃度が最大になることが期待される経口投与後 1 時間及び腹腔内投与後 0.5 時間に UV 照射を開始した．皮膚の反応は UV 照射終了後 2，24 及び 48 時間に各群の UV 照射動物と非照射動物間で評価した．さらに，UV 照射開始時の血漿中 S-033188 及び S-033447 濃度を測定するために，別の雌性マウス (各群 4 例) に UV 非照射下において毒性評価群と同じ条件で S-033188 を投与した．採血は，予備試験の結果に基づき，T_{max} に行った (対照群及び経口投与群：投与後 1 時間，腹腔内投与群：投与後 0.5 時間)．

全ての投与群において，試験期間中に死亡例及び状態悪化による切迫殺例は発生せず，一般状態及び体重に S-033188 投与に起因する変化は認められなかった．また，全ての S-033188 投与群において，皮膚光毒性を示唆する皮膚反応は認められなかった．一方，陽性対照では，皮膚光毒性を示唆する皮膚反応が全例で認められ，試験条件の妥当性が確認された．

以上の結果から，本試験において S-033188 は光毒性を有さず，無毒性量は経口投与では 1000 mg/kg，腹腔内投与では 100 mg/kg と判断した．

本試験において，UV 照射開始時の血漿中 S-033188 及び S-033447 濃度が最も高い値を示したのは，それぞれ 100 mg/kg 腹腔内投与時 (0.250 μg/mL) 及び 1000 mg/kg 経口投与時 (1.29 μg/mL) であった (表 2.6.6.8-1)．

表 2.6.6.8-1　S-033188 を経口投与又は腹腔内投与した雌性ヘアレスマウスにおける UV 照射開始時の S-033188 及び S-033447 の血漿中濃度

	Dose of S-033188 (mg/kg)			
	Oral gavage	Intraperitoneal injection		
	1000	10	30	100
Plasma Concentration of S-033188 (μg/mL)	N.C.	0.0478	0.152	0.250
Plasma Concentration of S-033447 (μg/mL)	1.29	0.406	0.741	0.696

N.C.: Not calculated because of BLQ (< 0.00500 μg/mL)
Mean value (n = 4).

2.6.6.9 考察及び結論

S-033188 の安全性評価のために実施した毒性試験は (表 2.6.6.1-1 参照),「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」[6] に基づき,医薬品の製造販売承認申請に際して提出すべき安全性試験を網羅しており,かつ,S-033188 の申請用法である単回投与に必要な反復投与毒性試験の投与期間を充足していると判断した.また,*in vivo* 毒性試験の最高用量は,最大耐量又は各種毒性試験法ガイドラインに定められた限界量を設定しており,全ての試験において無毒性量を確認できた.なお,ラットでは反復投与による S-033447 の血漿中曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$) の低下が認められたが,技術的限界量である 2000 mg/kg/日を最高用量に設定することにより,申請用法用量における S-033447 の血漿中曝露量の約 2～3 倍を達成できた.また,ラットに比べて高い S-033447 の血漿中曝露量を獲得できたサル (サルに 200 mg/kg/日の反復投与後の S-033447 の血漿中曝露量はヒトでの申請用法用量におけるそれの約 17～22 倍) において S-033447 の高曝露下における毒性を検出できた.以上のことから,S-033188 の製造販売承認申請のために必要な非臨床における安全性評価が適切に実施されたと判断した.

ラット及びサル反復経口投与毒性試験並びに生殖発生毒性試験で認められた主な毒性所見及び無毒性量を表 2.6.6.9-1 及び表 2.6.6.9-3 に示す.また,各毒性試験における S-033447 の血漿中曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$) 並びに申請用法用量における S-033447 の血漿中曝露量との比を表 2.6.6.9-2 に示す.S-033188 の申請用法用量は,「体重 80 kg 未満の成人には 40 mg/日,また体重 80 kg 以上の成人には 80 mg/日」であるが,母集団薬物動態パラメータを用いて C_{max} 及び時間 0 から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 ($AUC_{0\text{-}inf}$) をベイジアン法により推定した結果,C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}inf}$ は体重 40～80 kg と 80 kg 以上の患者間で類似していた (2.7.2.3.3.1 項参照).そこで,以下の考察における曝露比の算出には,第 1 相単回投与試験で,ヒトに 40 mg/日の用量で投与したときの S-033447 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ [それぞれ 0.123 µg/mL 及び 1.71 µg·hr/mL (2.7.2.2.1.1 項参照)] を用いた.

S-033188 の安全性評価で認められた毒性所見のうち,ヒトの安全性に影響を及ぼす懸念がある最も重要な変化は,サル反復投与毒性試験で認められた肝・胆道系への影響を示唆する血漿中 AST,ALT,GLDH,LAP 及び GGT 活性等の上昇であった.生殖発生毒性評価では,催奇形性は認められなかったが,ウサギにおいて,母体毒性が認められる用量で胎児の骨格変異発現率の増加が認められた.遺伝毒性,皮膚光毒性は示さず,幼若ラットにおける毒性は認められなかった.

表 2.6.6.9-1　ラット及びサルの反復投与毒性試験における主な毒性所見

動物種	投与期間	投与経路	投与量[a] (mg/kg/日)	主な毒性所見
ラット	2 週間	経口	20，200，2000	毒性変化はなし
	4 週間	経口	20，200，2000	毒性変化はなし
サル	2 週間	経口	20，60，200	200 mg/kg/日：嘔吐，ALP 活性の上昇，T.Bil，D.Bil，T.Cho，トリグリセリド値及びリン脂質の増加 ≥60 mg/kg/日：AST 活性の顕著な上昇，TBA 値の増加 ≥20 mg/kg/日：ALT，GLDH，LAP 又は GGT 活性の顕著な上昇
	2 週間	経口	3，10	毒性変化はなし
	4 週間	経口	1，10，100	100 mg/kg/日：AST，ALT，GLDH，LAP 又は GGT 活性の顕著な上昇

a　下線は無毒性量を示す.

表 2.6.6.9-2　S-033188 の反復経口投与による S-033447 の血漿中曝露量及び臨床との曝露比

動物種 (投与期間)	投与量 (mg/kg/day)	性別	C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)		曝露比	
			投与開始日	投与最終日	投与開始日	投与最終日	C_{max}[a]	$AUC_{0\text{-}24hr}$[b]
ラット (2 週間)	20	雄	0.254	0.162	1.40	0.872	1.3	0.5
		雌	0.156	0.144	1.03	0.853	1.2	0.5
	200	雄	0.621	0.243	5.68	2.00	2.0	1.2
		雌	0.744	0.291	6.48	3.40	2.4	2.0
	2000 (無毒性量)	雄	0.713	0.274	7.99	3.34	2.2	2.0
		雌	1.19	0.497	15.2	5.47	4.0	3.2
ラット (4 週間)	20	雄	0.240	0.124	1.34	0.817	1.0	0.5
		雌	0.189	0.123	0.990	0.722	1.0	0.4
	200	雄	0.713	0.198	5.90	1.66	1.6	1.0
		雌	0.730	0.204	6.18	1.72	1.7	1.0
	2000 (無毒性量)	雄	1.03	0.275	11.1	3.40	2.2	2.0
		雌	1.24	0.460	17.3	4.76	3.7	2.8
サル (2 週間 [追加])	3	雄	0.102	0.129	1.28	1.56	1.0	0.9
		雌	0.113	0.148	1.43	1.89	1.2	1.1
	10 (無毒性量)	雄	0.199	0.314	3.24	4.53	2.6	2.6
		雌	0.220	0.368	3.31	4.28	3.0	2.5
サル (2 週間)	20	雄	0.440	0.559	6.73	9.46	4.5	5.5
		雌	0.444	0.563	6.57	7.79	4.6	4.6
	60	雄	0.659	1.37	10.4	19.8	11.1	11.6
		雌	0.484	0.736	8.00	10.5	6.0	6.1
	200	雄	0.820	1.29	13.4	22.4	10.5	13.1
		雌	1.34	2.12	21.4	37.2	17.2	21.8

動物種 (投与期間)	投与量 (mg/kg/day)	性別	C_{max} (μg/mL)		$AUC_{0\text{-}24hr}$ (μg·hr/mL)		曝露比	
			投与開始日	投与最終日	投与開始日	投与最終日	C_{max} [a]	$AUC_{0\text{-}24hr}$ [b]
サル (4 週間)	1	雄	0.0507	0.0515	0.555	0.527	0.4	0.3
		雌	0.0523	0.0527	0.589	0.456	0.4	0.3
	10 (無毒性量)	雄	0.236	0.242	3.43	3.05	2.0	1.8
		雌	0.189	0.229	2.66	3.14	1.9	1.8
	100	雄	0.496	0.714	8.96	11.6	5.8	6.8
		雌	0.449	0.642	7.68	9.06	5.2	5.3
妊娠ラット	20	雌	0.214	0.324	1.26	1.88	2.6	1.1
	200	雌	0.739	0.622	6.49	6.18	5.1	3.6
	1000	雌	1.25	0.621	15.3	7.17	5.0	4.2
妊娠ウサギ	30	雌	0.586	0.485	6.29	4.60	3.9	2.7
	100	雌	1.24	0.883	14.4	9.26	7.2	5.4
	1000	雌	1.83	1.35	35.6	20.9	11.0	12.2
幼若ラット	20	雄	2.14	0.109	26.1	0.667	0.9	0.4
		雌	2.29	0.104	27.8	0.554	0.8	0.3
	200	雄	7.02	0.295	87.1	2.57	2.4	1.5
		雌	7.09	0.382	103	2.76	3.1	1.6
	1000	雄	8.24	0.248	133	2.95	2.0	1.7
		雌	9.69	0.282	147	3.05	2.3	1.8
ヒト	40 mg/日	男女	0.123		1.71		−	−

a　申請用法用量 (40 mg/日) における C_{max} (0.123 μg/mL) (2.7.2.2.1.1 項参照) に対する各毒性試験における投与最終日の C_{max} の比.

b　申請用法用量 (40 mg/日) における $AUC_{0\text{-}24hr}$ (1.71 μg·hr/mL) (2.7.2.2.1.1 項参照) に対する各毒性試験における投与最終日の $AUC_{0\text{-}24hr}$ の比.

表 2.6.6.9-3　生殖発生毒性試験における主な毒性所見及び無毒性量

動物種	試験種	投与経路	投与量 (mg/kg/日)	主な毒性所見と無毒性量
ラット	受胎能及び着床までの初期胚発生	経口	20，200，1000	毒性変化はなし 無毒性量 雌雄親動物の毒性：1000 mg/kg/日 初期胚発生毒性：1000 mg/kg/日
	胚・胎児発生	経口	20，200，1000	毒性変化はなし 無毒性量 母動物の毒性：1000 mg/kg/日 胚・胎児発生毒性：1000 mg/kg/日
	出生前及び出生後の発生並びに母体の機能	経口	20，200，1000	毒性変化はなし 無毒性量 母動物の毒性：1000 mg/kg/日 F1 動物の毒性：1000 mg/kg/日
ウサギ	胚・胎児発生	経口	30，100，1000	母動物 1000 mg/kg/日：流産，摂餌量減少，体重増加抑制 胚・胎児 1000 mg/kg/日：頚部過剰肋骨発現率の高値 無毒性量 母動物の毒性：100 mg/kg/日 胚・胎児発生毒性：100 mg/kg/日

2.6.6.9.1 肝・胆道系への影響について

サル2週間及び4週間反復経口投与毒性試験では，20 mg/kg/日以上の投与により血漿中ALT，AST，GGT，GLDH及びLAP活性の顕著な上昇が，200 mg/kg/日を2週間反復経口投与時の一部の個体にALP，TBA，D.Bil，T.Bil，T.Cho及びTGの増加が認められ，肝・胆道系の障害が示唆された．投与期間の延長（2週間から4週間）によって，これら血液化学パラメータ値の変動幅が大きくなることはなく，変動が見られた項目は休薬により良好な回復性を示した．上述した所見はいずれも20 mg/kg/日以上の用量をサルに反復経口投与した際に認められており，10 mg/kg/日以下の用量では認められなかったことから，サル4週間反復経口投与毒性試験における無毒性量は10 mg/kg/日と判断した．表 2.6.6.9-2 に示すように，10 mg/kg/日におけるS-033447の血漿中曝露量（C_{max}及び$AUC_{0\text{-}24hr}$）は，申請用法用量（40 mg/日）におけるS-033447の血漿中曝露量のそれぞれ1.9倍及び1.8倍であった．サル2週間及び4週間反復経口投与毒性試験において，肝・胆道系の器官及び組織に病理組織学的な変化は認められなかった．そこで，サル4週間反復投与毒性試験の肝臓試料を用いた電顕検査により肝・胆道系への影響を精査したところ，肝細胞の微細構造に異常所見は認められなかった．サルのみにおいて上述した変化が認められた原因は不明であるが，ラット，サル及びヒトにおいて種特異的な代謝物は検出されていないことから，肝機能に影響を及ぼすような代謝物が生成した可能性は低いと考えられる（2.6.4.5.2.1項，2.6.4.5.2.2項及び2.7.2.2.1.2項参照）．サルにおける2週間及び4週間反復投与毒性試験において，動物は休薬後1週間から良好な回復傾向を示したこと，肝・胆道系への影響を示唆する血液化学パラメータ値の上昇は認められたものの，肝・胆道系の器官及び組織に病理組織学的な変化は認められず，肝細胞の微細構造に異常所見は認められなかったことから，仮にヒトにおいて何らかの原因で肝・胆道系への影響が誘発されたとしても，短期間で回復する可能性が高いことが予想される．国内で実施した第2相臨床試験並びに国内及び海外で実施した第3相臨床試験では，S-033188投与群とプラセボ投与群の間で肝機能障害関連有害事象の発現率に差が認められなかった（2.7.4.2.1.7 項参照）．以上の結果から，S-033188 投与によりヒトにおいて肝・胆道系に障害を及ぼすリスクは低いと考えている．

2.6.6.9.2 過量投与時の急性有害事象発生リスクについて

ラットでは2000 mg/kg/日までの反復経口投与で急性毒性症状を示唆する一般状態変化は認められなかった．サルの心血管系への影響に関する試験及びサル反復投与毒性試験では200 mg/kg以上の単回又は反復経口投与で軟便・下痢又は嘔吐が観察されたが，400 mg/kgまでの単回経口投与でも死亡及び切迫殺は発生しなかった．S-033188をラットに2000 mg/kgの用量で経口投与した際のS-033447のC_{max}及び$AUC_{0\text{-}24hr}$は，それぞれ0.713 μg/mL及び7.99 μg·hr/mLであった（表 2.6.6.9-2）．また，サルの心血管系への影響に関する試験で400 mg/kgの用量で単回経口投与した際のC_{max}及び$AUC_{0\text{-}24hr}$は，それぞれ1.64 μg/mL及び26.2 μg·hr/mLであり（評価資料 4.2.1.3-06），ヒトにおける申請用法用量との曝露比は，ラットでそれぞれ5.8倍及び4.7倍，サルでそれぞれ13.3倍及び15.3倍であった．サルへの単回経口投与で認められた所見は軽度であり，影響が認められた用量における曝露はヒトにおける申請用法用量でのS-033188の血

漿中曝露のばらつきを考慮しても約 13 倍以上の乖離があることから，ヒトにおいて誤って過量投与された場合でも，S-033188 投与に起因する重篤な急性有害事象が起きるリスクは低いと考えられる．軟便・下痢又は嘔吐等の消化器症状は，消化器に対する異物反応や刺激性によって発生することがあり，その場合，血漿中 S-033447 濃度に依存する変化ではなく，被験物質の投与量に依存する反応であると考えられる．申請用法用量における体重当たりの投与量は 0.8 mg/kg (ヒトの体重を 50 kg で換算) であるのに対し，サルにおいて消化器症状が認められたのは 200 mg/kg 以上の投与量であり，200 倍以上の十分な乖離が認められた．以上のことから，サルにおいて認められた消化器症状が投与量に依存した反応であったとしても，ヒトにおいて発現する可能性は低いと考えられる．

2.6.6.9.3 生殖発生毒性試験

ラット受胎能及び初期胚発生に関する試験において，雌雄の受胎能及び初期胚並びに胚・胎児に S-033188 投与による毒性は認められず，無毒性量は 1000 mg/kg/日と判断した．受胎能及び初期胚発生に関する試験における血漿中曝露量は測定していないが，胚・胎児発生に関する試験の 1000 mg/kg/日における S-033447 の血漿中曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$) は，申請用法用量 (40 mg/日) における S-033447 の血漿中曝露量のそれぞれ 5.0 倍及び 4.2 倍であった (表 2.6.6.9-2)．加えて，ラット 2 週間及び 4 週間反復経口投与毒性試験における雌雄生殖器の病理組織学的検査において異常所見は認められておらず，S-033188 及び S-033447 の遺伝毒性も陰性であった．したがって，S-033188 の投与により受胎能に悪影響を及ぼす可能性は低いと判断した．

ラット胚・胎児発生に関する試験において催奇形性は認められなかった．ウサギ胚・胎児発生に関する試験では，1000 mg/kg/日で頚部過剰肋骨発現率の高値が認められたが，この所見は隣接する頚椎骨の成長過程で吸収される軽微な変化で，ヒトにおいても胎児期に自然発症で認められ，成長とともに吸収され発現頻度が低下することが報告されていることから [7]，児の生命維持や成長に影響を及ぼさない軽微な変化であると判断した．ウサギ胚・胎児発生に関する試験の 100 mg/kg/日における S-033447 の血漿中曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$) は，申請用法用量 (40 mg/日) における S-033447 の血漿中曝露量のそれぞれ 7.2 倍及び 5.4 倍であった (表 2.6.6.9-2)．以上のように，ラット及びウサギの胚・胎児発生への影響を評価する試験では，S-033188 は催奇形性を示さず，ヒトにおける申請用法用量での S-033447 の血漿中曝露を超える安全域が確認された (4 倍以上)．

ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において，母動物並びに次世代の発生に S-033188 投与による毒性は認められず，無毒性量は 1000 mg/kg/日と判断した．出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験における血漿中曝露量は測定していないが，上述したようにラット胚・胎児発生に関する試験の 1000 mg/kg/日における S-033447 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は，申請用法用量 (40 mg/日) における S-033447 の血漿中曝露量のそれぞれ 5.0 倍及び 4.2 倍であり (表 2.6.6.9-2)，ヒトにおける申請用法用量での S-033447 の血漿中曝露量を超える条件での安全性が確認された．

以上のことから，S-033188 は申請用法用量で生殖発生毒性を示す可能性は低いと考えられる

が，ヒトにおいて妊娠中の投与に関する安全性は確立しておらず，ラットにおいて胎盤通過が認められていることから (2.6.4.4.2.2 項参照), 妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には治療上の有益性が危険を上回ると判断される場合にのみ投与するべきと考える．また，ラットにおいて乳汁中への移行が報告されているため (2.6.4.6.1.3 項参照), 授乳婦に投与する場合には授乳を避けるべきと考える．

2.6.6.9.4 小児への投与について

幼若ラットを用いた 40 日間反復経口投与毒性試験では, S-033188 投与による毒性は認められず，無毒性量は 1000 mg/kg/日と判断した．ラット 2 週間及び 4 週間反復経口投与毒性試験並びに幼若ラットを用いた 40 日間反復経口投与毒性試験において S-033188 投与による毒性は認められておらず，毒性試験の対象動物が幼若になることによる新たな毒性は認められなかった．ヒト成人に対する申請用法用量 (体重 80 kg 未満の成人には 40 mg/日，又は体重 80 kg 以上の成人には 80 mg/日) とヒト小児に対する申請用法用量 (5 kg 以上 10 kg 未満の小児には 5 mg/日，10 kg 以上 20 kg 未満の小児には 10 mg/日, 20 kg 以上 40 kg 未満の小児には 20 mg/日, 又は 40 kg 以上の小児には 40 mg/日) は体重あたりの投与量が成人及び小児いずれも 0.5～1.0 mg/kg の範囲内であった (2.7.3.4.2 項参照)．また，国内で実施したヒト成人における第 2 相臨床試験並びに国内及び海外で実施した第 3 相臨床試験では，S-033188 投与による重篤な副作用は発現しなかった (2.7.4.2.1.4 項参照). 以上のように，ヒト小児への体重あたりの投与量はヒト成人と同等であること，ヒト成人における重篤な副作用の発現は認められていないこと，並びに成獣ラット及び幼若ラットいずれにおいても毒性は認められなかったことから，ヒト小児において重篤な副作用発現のリスクは低いと考えられる．なお，国内で実施したヒト小児における第 3 相臨床試験では，S-033188 投与による重篤な副作用は発現しなかった (2.7.4.2.1.4 項参照).

2.6.6.9.5 皮膚光毒性試験

ヘアレスマウスを用いた皮膚光毒性試験において S-033188 投与による光毒性は認められなかった．1000 mg/kg の単回経口投与における UV 照射開始時の血漿中 S-033447 の曝露量は 1.29 μg/mL で，申請用法用量 (40 mg/日) における血漿中曝露量の 10.5 倍であり十分な安全域が確認された．したがって，S-033188 の活性体である S-033447 に光毒性のリスクはないと考えられる．また，100 mg/kg の単回腹腔内投与における UV 照射時の血漿中 S-033188 の曝露量は 0.250 μg/mL であった．S-033188 は活性体である S-033447 に速やかに代謝されるが，仮に体内に微量に残留したとしても十分な安全域が見込まれることから，光毒性リスクはないと考えられる．

2.6.6.9.6 結論

以上のように，ヒトで注意すべき S-033188 の安全性リスクとして肝・胆道系障害が考えられたが，形態学的変化を伴わないこと，休薬により速やかに回復することから，ヒト申請用法用量である 1 回投与ではこれら変化が発生するリスクは極めて低いと結論した．

2.6.6.10 図表

図表は本文中の適切な場所に記載した.

2.6.6.11 参考文献

1. 厚生労働省医薬食品局審査管理課.「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」に関する質疑応答集 (Q&A). 平成 24 年 8 月 16 日.
2. Capen CC. Toxic Responses of the endocrine system. In: Klaassen CD editor. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. Ed 7. McGraw–Hill, New York: Academic Press Inc.; 2008. p. 807-40.
3. Lake BG, Evans JG. Effect of pretreatment with some mixed-function oxidase enzyme inducers on the acute hepatotoxicity of coumarin in the rat. Food Chem Toxicol 1993; 31 (12): 963-70.
4. ICH Harmonised Tripartite Guideline S5 (R2). Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products & Toxicity to Male Fertility. 2005
5. Matsuzawa T, Nakata M, Goto I, Tsushima M. Dietary deprivation induces fetal loss and abortion in rabbits. Toxicology 1981; 22 (3): 255-9.
6. 厚生労働省医薬食品局審査管理課. 医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス. 平成 22 年 2 月 19 日.
7. Chernoff N, Rogers JM. Supernumerary ribs in developmental toxicity bioassays and in human populations: incidence and biological significance. J Toxicol Environ Health B Crit Rev 2004; 7 (6): 437-49.