KHK7580

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

協和発酵キリン株式会社

略号及び用語の定義一覧

略号

略号	略していない用語
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）
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）
BUN	Blood urea nitrogen（血中尿素窒素）
Ca	カルシウム
CaR	Calcium receptor（カルシウム受容体）
CK	Creatine kinase（クレアチンキナーゼ）
Cl	クロール
Cr	Creatinine（クレアチニン）
DMSO	Dimethyl sulfoxide（ジメチルスルホキシド）
α2-GLB	α2 globulin（α2 グロブリン）
β-GLB	β globulin（β グロブリン）
γ-GLB	γ globulin（γ グロブリン）
Glu	Glucose（グルコース）
Hb	Hemoglobin（ヘモグロビン）
Ht	Hematocrit（ヘマトクリット）
IC_{50}	50% inhibitory concentration（50%阻害濃度）
IP	無機リン
K	カリウム
LDH	Lactate dehydrogenase（乳酸脱水素酵素）
MC	Methylcellulose（メチルセルロース）
MCH	Mean corpuscular hemoglobin（平均赤血球ヘモグロビン量）
MCHC	Mean corpuscular hemoglobin concentration（平均赤血球ヘモグロビン濃度）
MCV	Mean corpuscular volume（平均赤血球容積）
8-MOP	8-Methoxypsoralen（8-メトキシソレラン）
MNU	N-Methyl-N-nitrosourea（N-メチル-N-ニトロソ尿素）
Na	ナトリウム
PIF	Photo Irritation Factor（光毒性係数）
PL	Phospholipid（リン脂質）
PT	Prothrombin time（プロトロンビン時間）
PTH	Parathyroid hormone（副甲状腺ホルモン）
T-Cho	Total cholesterol（総コレステロール）
TK	Toxicokinetics（トキシコキネティクス）
UV	Ultra-violet（紫外線）
UVA	Ultra-violet A（A 領域紫外線）
UVB	Ultra-violet B（B 領域紫外線）

用語の定義

用語	定義
AUC_{0-24}	投与後 24 時間までの濃度―時間曲線下面積
$AUC_{0-\tau}$	投与間隔時間 τ での濃度―時間曲線下面積
BLQ	定量下限未満
C_{max}	最高濃度
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
ICH	医薬品規制調和国際会議
OECD	経済協力開発機構
QTc	心拍数で補正した QT 間隔
S9 mix	肝臓ホモジネート 9000×g 上清分画に補酵素等を加えたもの

目次

略号及び用語の定義一覧 2
目次 4
2.6.6 毒性試験の概要文 7
2.6.6.1 まとめ 7
2.6.6.1.1 単回投与毒性試験 8
2.6.6.1.2 反復投与毒性試験 8
2.6.6.1.3 遺伝毒性試験 9
2.6.6.1.4 がん原性試験 9
2.6.6.1.5 生殖発生毒性試験 9
2.6.6.1.6 その他の毒性試験 10
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（TK 評価を含む） 11
2.6.6.3.1 ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：参考 4.2.3.2-1） 11
2.6.6.3.2 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（資料番号：4.2.3.2-2） 11
2.6.6.3.3 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：4.2.3.2-3） 13
2.6.6.3.4 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：4.2.3.2-4） 15
2.6.6.3.5 カニクイザルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：参考 4.2.3.2-5） 18
2.6.6.3.6 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（資料番号：4.2.3.2-6） 18
2.6.6.3.7 カニクイザルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：4.2.3.2-7） 21
2.6.6.3.8 カニクイザルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：4.2.3.2-8） 23
2.6.6.4 遺伝毒性試験 25
2.6.6.4.1 *In vitro* 試験 25
2.6.6.4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（資料番号：4.2.3.3.1-1） 25
2.6.6.4.1.2 哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験（資料番号：4.2.3.3.1-2） 25
2.6.6.4.2 *In vivo* 試験 26
2.6.6.4.2.1 ラットを用いた骨髄小核試験（資料番号：4.2.3.3.2-1） 26
2.6.6.5 がん原性試験（TK 評価を含む） 26
2.6.6.5.1 長期がん原性試験 26
2.6.6.5.1.1 ラットを用いたがん原性試験（資料番号：4.2.3.4.1-1） 26
2.6.6.5.2 短期又は中期がん原性試験 29
2.6.6.5.2.1 rasH2 マウスを用いたがん原性予備試験の用量設定試験（資料番号：参考 4.2.3.4.2-1） 29

2.6.6.5.2.2 rasH2 マウスを用いたがん原性試験の用量設定試験（資料番号：4.2.3.4.2-2） 30
2.6.6.5.2.3 rasH2 マウスを用いたがん原性試験（資料番号：4.2.3.4.2-3） 32
2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及び TK 評価を含む） 33
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 33
2.6.6.6.1.1 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（資料番号：4.2.3.5.1-1） 33
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 34
2.6.6.6.2.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験（資料番号：4.2.3.5.2-1） 34
2.6.6.6.2.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（資料番号：4.2.3.5.2-2） 34
2.6.6.6.2.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験（資料番号：4.2.3.5.2-3） 36
2.6.6.6.2.4 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（資料番号：4.2.3.5.2-4） 37
2.6.6.6.3 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 39
2.6.6.6.3.1 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（資料番号：4.2.3.5.3-1） 39
2.6.6.7 局所刺激性試験 40
2.6.6.8 その他の毒性試験 40
2.6.6.8.1 毒性発現の機序に関する試験 40
2.6.6.8.1.1 ラットを用いた Ca 補充試験（資料番号：参考 4.2.3.7.3-1） 40
2.6.6.8.1.2 眼房水中 KHK7580 濃度測定試験（資料番号：4.2.3.7.3-2、4.2.3.7.3-3） 42
2.6.6.8.2 その他の試験 42
2.6.6.8.2.1 光毒性試験 42
2.6.6.9 考察及び結論 43
2.6.6.9.1 単回投与毒性試験 44
2.6.6.9.2 反復投与毒性試験（がん原性試験も一部含む） 44
2.6.6.9.2.1 薬理作用に基づく直接的影響 46
2.6.6.9.2.2 薬理作用の二次的影響に基づく影響 47
2.6.6.9.2.3 ラット及びカニクイザルにおける心臓所見 47
2.6.6.9.2.4 カニクイザルにおける心拍数の変化 50
2.6.6.9.2.5 ラットにおける体重及び摂餌量への影響 50
2.6.6.9.2.6 ラットにおける肝臓及び胆管の所見 51
2.6.6.9.2.7 カニクイザルにおける腎臓所見 52
2.6.6.9.2.8 ラットにおける精巣及び精巣上体の所見 54
2.6.6.9.2.9 ラットにおける副腎皮質球状帯細胞肥大 54
2.6.6.9.2.10 ラットにおける十二指腸びらん 54
2.6.6.9.3 遺伝毒性試験 54
2.6.6.9.4 がん原性試験 54
2.6.6.9.5 生殖発生毒性試験 55
2.6.6.9.6 毒性発現の機序に関する試験：ラットにおける水晶体混濁発現機序に関する試験 56

2.6.6.9.7 その他の試験：光毒性試験 56
2.6.6.10 図表 56
2.6.6.11 参考文献 56

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

KHK7580 の毒性プロファイルを検討するために、反復投与毒性試験（ラット：最長 6 ヵ月間、カニクイザル：最長 9 ヵ月間）、遺伝毒性試験、がん原性試験（ラット：2 年間、rasH2 トランスジェニックマウス：6 ヵ月間）、生殖発生毒性試験（ラット、ウサギ）及びその他の毒性試験（カルシウム（Ca）補充試験、眼房水中 KHK7580 濃度測定試験及び光毒性試験）を実施した。投与頻度及び投与経路は、KHK7580 の用法にあわせて 1 日 1 回経口投与とした。主要な毒性試験は GLP に適合した試験であり、ICH ガイドラインに準拠して実施した。急性毒性は反復投与毒性試験から評価可能と判断したため、単回投与毒性試験を実施しなかった。また、臨床投与経路が経口であるため、局所刺激性試験を実施しなかった。実施した毒性試験の一覧を表 2.6.6.1-1に示す。

表2.6.6.1-1 毒性試験の一覧

試験の種類及び期間	投与方法	動物種/系統、細菌又は細胞	GLP
反復投与毒性試験			
2 週間	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	非適用
4 週間	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
13 週間	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
26 週間	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
2 週間	強制経口	カニクイザル	非適用
4 週間	強制経口	カニクイザル	適用
13 週間	強制経口	カニクイザル	適用
39 週間	強制経口	カニクイザル	適用
遺伝毒性試験			
復帰突然変異試験	*In vitro*	ネズミチフス菌及び大腸菌	適用
染色体異常試験	*In vitro*	チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞	適用
骨髄小核試験	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
がん原性試験			
104 週間	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
2 週間 (用量設定試験)	強制経口	マウス/Crlj:CD1(ICR)	非適用
4 週間 (用量設定試験)	強制経口	マウス/Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl (非遺伝子組換え同腹仔)	適用
26 週間	強制経口	マウス/Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl	適用
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	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
胚・胎児発生に関する試験 (用量設定試験)	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
胚・胎児発生に関する試験	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
胚・胎児発生に関する試験 (用量設定試験)	強制経口	ウサギ/Kbl:NZW	適用
胚・胎児発生に関する試験	強制経口	ウサギ/Kbl:NZW	適用
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	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用

表2.6.6.1-1 毒性試験の一覧（続き）

試験の種類及び期間	投与方法	動物種/系統、細菌又は細胞	GLP
その他の毒性試験			
毒性発現の機序に関する試験：Ca 補充試験	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	非適用
毒性発現の機序に関する試験：眼房水中 KHK7580 濃度測定試験	強制経口	ラット/Crl:CD(SD)	適用
毒性発現の機序に関する試験：眼房水中 KHK7580 濃度測定試験	強制経口	カニクイザル	適用
その他の試験：光毒性試験	*In vitro*	BALB/3T3 clone A31 細胞	適用
その他の試験：光毒性試験	強制経口	ラット/Crl:Long-Evans	適用

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験を実施していないが、ラット及びカニクイザルいずれも反復投与毒性試験の中で最高用量が最も高い 2 週間反復経口投与毒性試験で急性毒性を検討した。

ラット及びカニクイザルではいずれも初回投与では 10 mg/kg まで死亡例及び一般状態の変化は認められなかった。しかし、投与 2 日以降では、ラット及びカニクイザルにおいて 3 mg/kg 以上で筋攣縮等の症状、10 mg/kg で死亡例又は状態悪化による投与中止例が認められた。したがって、ラットにおける概略の致死量は 10 mg/kg と判断した。カニクイザルでは 10 mg/kg の初回投与後に死亡や一般状態の変化は認められなかったが、投与 4 日には不活発や腹臥位が認められた。

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

ラットを用いた 4、13 及び 26 週間反復経口投与毒性試験並びにカニクイザルを用いた 4、13 及び 39 週間反復経口投与毒性試験で亜急性又は慢性毒性を検討した。各試験における投与量と無毒性量を表 2.6.6.1.2-1に示す。なお、雌性ラットで 4 週間の反復投与による曝露増加が認められたため、以後の 13 及び 26 週間反復投与毒性試験では雌性ラットの投与量を減じて実施した。

表2.6.6.1.2-1 重要な反復投与毒性試験における投与量と無毒性量の一覧

動物種/系統	投与期間	投与量 (mg/kg/day)	無毒性量 (mg/kg/day)
ラット/Crl:CD(SD)	4 週間	0, 0.1, 0.3, 1.5, 6	<0.1
ラット/Crl:CD(SD)	13 週間	雄: 0, 0.3, 1.5, 6 雌: 0, 0.1, 0.6, 3	雄: <0.3 雌: 0.1
ラット/Crl:CD(SD)	26 週間	雄: 0, 0.3, 1.5, 6 雌: 0, 0.1, 0.6, 3	雄: <0.3 雌: <0.1
カニクイザル	4 週間	0, 0.1, 0.3, 1, 3	0.3
カニクイザル	13 週間	0, 0.3, 1, 3	雄: 0.3 雌: 1
カニクイザル	39 週間	0, 0.3, 1, 3	0.3

ラットを用いた反復投与毒性試験では、薬理作用に基づく影響として副甲状腺萎縮、血中副甲状腺ホルモン（PTH）及び Ca 濃度低下並びに血中無機リン（IP）濃度上昇が最低用量（雄：0.3 mg/kg/day、雌：0.1 mg/kg/day）から認められた。更に、二次的影響として血中 PTH 濃度低下による骨の所見（外環状層板過骨症、海綿骨肥厚等）、血中 Ca 濃度低下による筋攣縮、眼の所見（水晶体混濁、水晶体線維膨化等）及び歯の所見（切歯欠損等）並びに血中 IP 濃度上昇による血管等への鉱質沈着が認められ、特に水晶体混濁は雌雄ともに 0.1 mg/kg/day

の 4 週間反復投与で発現した。中用量（雄：1.5 mg/kg/day、雌：0.6 mg/kg/day）以上で発現した心臓所見、体重及び摂餌量の低値並びに胆管上皮細胞肥大についても薬理作用に起因する可能性が高いと考えた。なお、4 週間反復経口投与毒性試験における休薬試験の結果から、血中 PTH 及び Ca 濃度低下、血中 IP 濃度上昇、心臓所見、体重及び摂餌量の低値並びに胆管上皮細胞肥大の回復性は示唆されたが、水晶体混濁の回復性はなかった。

カニクイザルを用いた反復経口投与毒性試験では、薬理作用に基づく影響として血中 PTH 及び Ca 濃度低下が 0.3 mg/kg/day 以上、血中 IP 濃度上昇が 1 mg/kg/day 以上で認められた。更に、二次的影響として血中 Ca 濃度低下による QTc 延長及び血中 IP 濃度上昇による腎臓の鉱質沈着が認められ、特に QTc 延長は 1 mg/kg/day の 4 週間反復経口投与で発現した。鉱質沈着以外の腎臓所見として、間質浮腫が 3 mg/kg/day、集合管上皮細胞肥大が 1 mg/kg/day 以上で認められた。間質浮腫には鉱質沈着による二次的影響を、集合管上皮細胞肥大には薬理作用による影響を考えた。なお、4 週間反復経口投与毒性試験における休薬試験の結果から、血中 PTH 及び Ca 濃度低下、血中 IP 濃度上昇、QTc 延長並びに腎臓所見（鉱質沈着、間質浮腫及び集合管上皮細胞肥大）の回復性が示唆された。

以上より、最長の投与期間における無毒性量は、ラットにおいて雄 0.3 mg/kg/day 未満、雌 0.1 mg/kg/day 未満であり、カニクイザルにおいて雌雄ともに 0.3 mg/kg/day であった。しかし、いずれの所見も薬理作用に起因するため、過度の薬理作用に注意することにより、ヒトにおける安全性を担保しうると判断した。

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験及びラットを用いた骨髄小核試験で遺伝毒性を検討した。いずれの試験結果も陰性であったため、遺伝毒性を示さないと判断した。

2.6.6.1.4 がん原性試験

ラットを用いたがん原性試験及び rasH2 マウスを用いたがん原性試験でがん原性を検討した。いずれの試験結果も陰性であったため、がん原性を示さないと判断した。

2.6.6.1.5 生殖発生毒性試験

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験並びにラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験で生殖発生毒性を検討した。

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（雄：0.3、1.5 及び 6 mg/kg/day；雌：0.1、0.6 及び 3 mg/kg/day）では、体重及び摂餌量の低値が高用量投与群の雌雄に認められたため、親動物の一般毒性に対する無毒性量は雄 1.5 mg/kg/day 及び雌 0.6 mg/kg/day と判断した。また、発情回数の減少傾向、発情周期の延長傾向及び黄体数の減少が 3 mg/kg/day の雌に認められたため、親動物の生殖及び初期胚発生に対する無毒性量は雄 6 mg/kg/day 及び雌 0.6 mg/kg/day と判断した。

ラット（0.3、1 及び 3 mg/kg/day）及びウサギ（0.1、0.25 及び 0.6 mg/kg/day）を用いた胚・胎児発生に関する試験では、いずれも催奇形性は認められなかった。体重及び摂餌量の低値等がラットの 1 mg/kg/day 以上及びウサギの 0.6 mg/kg/day で認められたため、母動物の一般毒性に対する無毒性量は、ラット 0.3 mg/kg/day 及びウサギ 0.25 mg/kg/day と判断した。また、胎児

体重の低値がラットの 1 mg/kg/day 以上で認められたため、胚・胎児発生に対する無毒性量はラット 0.3 mg/kg/day、ウサギ 0.6 mg/kg/day と判断した。

ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（0.3、1 及び 3 mg/kg/day）では、体重及び摂餌量の低値が 1 mg/kg/day 以上で認められたため、母動物の一般毒性に対する無毒性量は、0.3 mg/kg/day と判断した。体重の低値、水晶体混濁及び行動発達検査の異常等が 0.3 mg/kg/day 以上の出生児に認められたため、出生児に対する無毒性量は 0.3 mg/kg/day 未満と判断した。その他の重大な所見として、死産児率の高値、生後 4 日における生存率の低値、感覚・反射検査の異常等が 1 mg/kg/day 以上の出生児に認められた。出生児に対するこれら影響は、母動物ではなく、胎児・出生児への直接的な影響であり、KHK7580 の高曝露による影響を想定した。

2.6.6.1.6 その他の毒性試験

水晶体皮質前部混濁は、ラットを用いた反復経口投与毒性試験では認められたものの、カニクイザルを用いた反復経口投与毒性試験では認められなかった。本所見の発現機序を明らかにすべく、ラットにおける水晶体混濁発現に対する血中 Ca 濃度の影響並びにラット及びカニクイザルにおける眼房水中 KHK7580 濃度を検討した。ラットへの KHK7580 の反復投与によって生じる血中 Ca 濃度低下をグルコン酸 Ca 液の静脈内持続投与で抑制すると、水晶体皮質前部混濁の発現も同時に抑制された。加えて、眼房水中 KHK7580 濃度は、ラット及びカニクイザルいずれにおいても検出され、全身曝露からの移行率についても大きな差異はなかった。したがって、ラットにおいて認められた水晶体皮質前部混濁は、血中 Ca 濃度低下による二次的影響であり、KHK7580 の直接的影響ではないと判断した。

光安全性評価として、BALB/3T3 clone A31 細胞を用いた光細胞毒性試験を実施したものの、非照射条件下で細胞毒性を示さず判定不能であった。そこで、雌性有色ラットを用いた光毒性試験（1、3 及び 6 mg/kg）を実施した。その結果、陰性であったため、光毒性を示さないと判断した。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験を実施していないが、ラット及びカニクイザルいずれも反復投与毒性試験の中で最高用量が最も高い 2 週間反復経口投与毒性試験で急性毒性を検討した。

ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.1；用量：0、0.3、1、3 及び 10 mg/kg）において、雌雄ともに投与 1 日に死亡及び一般状態観察の変化は認められなかった。しかし、投与 2 日以降に 3 及び 10 mg/kg 投与群の雌で筋攣縮及び脱毛が認められ、10 mg/kg 投与群の雌 1 例（サテライト群）は投与 2 日に筋攣縮を呈した後に死亡した。

カニクイザルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（2.6.6.3.5；用量：0、1、3 及び 10 mg/kg）において、雌雄ともに投与 1 日に死亡及び一般状態観察の変化は認められなかった。しかし、投与 2 日以降に 3 mg/kg 投与群の雌雄で筋攣縮又は手首の屈曲が認められ、10 mg/kg 投与群の雄 1 例は投与 3～4 日の一般状態が悪化し（筋攣縮及び手首の屈曲に加え、不活発及び腹臥位）、投与 5 日以降の投与が中止された。

以上のように、ラットにおける概略の致死量は 10 mg/kg と判断した。カニクイザルでは 10 mg/kg の初回投与後に死亡や一般状態の変化は認められなかったが、投与 4 日には不活発や腹臥位が認められた。

2.6.6.3 反復投与毒性試験（TK 評価を含む）

ラット及びカニクイザルを用いて亜急性又は慢性毒性を検討した。

2.6.6.3.1 ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：参考 4.2.3.2-1）

本試験はラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験の用量設定を目的として実施した。雌雄のラット（Crl:CD(SD)、6 週齢）を 5 群に振り分け（6 例／性／群）、媒体（0.5 w/v% メチルセルロース（MC）溶液）並びに KHK7580 の 0.3、1、3 及び 10 mg/kg を 1 日 1 回 2 週間反復経口投与した。また、KHK7580 投与群にサテライト群を設け、全身曝露（3 例／性／群）を評価した。

毒性試験群では死亡例は認められなかったが、サテライト群における 10 mg/kg 投与群の雌 1 例が投与 2 日に筋攣縮を呈した後、死亡した。KHK7580 の薬理作用に基づく血清中 Ca の低値及び IP の高値はすべての KHK7580 投与群の雌雄で認められた。更に、0.3 mg/kg 以上の投与群で血清中カリウム（K）の低値、1 mg/kg 以上の投与群で水晶体皮質前部の混濁及び血清中クロール（Cl）の低値、3 mg/kg 以上の投与群で筋攣縮、脱毛、体重の減少又は増加抑制、平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）及び網状赤血球数の高値、血清中アラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）及び総コレステロール（T-Cho）の高値並びに心臓の白血球浸潤及び心筋線維の変性／壊死、10 mg/kg 投与群で摂餌量の低値、平均赤血球容積（MCV）の低値、血漿中乳酸脱水素酵素（LDH）及びクレアチンキナーゼ（CK）の高値、血清中グルコース（Glu）及びナトリウム（Na）の高値並びに心臓重量、肝臓重量及び腎臓重量の低値が両性又は片性で認められた。

全身曝露は、雌雄ともに投与量の増加に伴った増加が認められ、投与 14 日における 10 mg/kg 投与群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 257 μg·h/mL、雌で 325 μg·h/mL であった。

以上より、本試験ではサテライト群における 10 mg/kg 投与群で死亡が認められたため、ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験の最高投与量には、雌雄ともに 6 mg/kg/day が適切と判断した。

2.6.6.3.2 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（資料番号：4.2.3.2-2）

雌雄のラット（Crl:CD(SD)、6 週齢）を 5 群に振り分け（12 例／性／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 0.1、0.3、1.5 及び 6 mg/kg を 1 日 1 回 4 週間反復経口投与し、KHK7580 の毒性を評価した。加えて、媒体及び 6 mg/kg 投与群には雌雄各 6 例を追加し、同様に 4 週間投与した後 4 週間の休薬期間を設けて回復性を検討した。本試験の最高投与量は、ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：参考 4.2.3.2-1）の結果に基づいて設定した。検査項目として、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、尿検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。また、各群にサテライト群を設け、全身曝露（8 例／性／群：初回及び最終投与日に各 4 例採血）並びに血清中 PTH 濃度及び Ca 濃度（8 例／性／群：投与期間には 4 例ずつ各時点交互に採血、休薬期間には 1 時点のみ 4 例採血）を評価した。

その結果、試験期間を通じて全群に死亡例は認められなかった。

0.1 mg/kg 以上の投与群では、雌雄で水晶体皮質前部の混濁（投与量の増加に伴った発現頻度の上昇及びグレードの悪化）並びに雌で血清中 Ca の低値及び血清中 IP の高値が認められた。

0.3 mg/kg 以上の投与群では、雌雄で尿中 Ca 排泄量の高値及び水晶体線維膨化、雄で血清中 Ca の低値が認められた。

1.5 mg/kg 以上の投与群では、雄で好中球数増加による白血球数の増加、血清中 IP の高値及び白血球浸潤を伴った心筋線維変性／壊死、雌で摂餌量の低値、血清中 ALT 及び CK の高値並びに胆管上皮細胞肥大が認められた。

6 mg/kg 投与群では、雌雄で投与 3 日以降の散発的な筋攣縮、体重の低値、尿比重の低値、尿量の高値及び十二指腸のびらん、雄で摂餌量の低値及び血清中 ALT の高値並びに雌で好中球数増加による白血球数の増加、白血球浸潤を伴った心筋線維変性／壊死及び心臓における鉱質沈着が認められた。

上記変化は、水晶体皮質前部の混濁を除き、4 週間の休薬で回復又は回復傾向を示した。

血清中 Ca の低値、血清中 IP の高値、尿比重の低値、尿量の高値及び尿中 Ca 排泄量の高値は KHK7580 の薬理作用に基づくため、毒性と判断しなかった。また、血液学的検査及び血液生化学的検査では有意な変化を示す上記以外の項目もあったが、毒性学的意義は低いと判断した。

トキシコキネティクス（TK）解析の結果を表 2.6.6.3.2-1に示す。血漿中 KHK7580 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雌雄ともに投与量の増加に伴った上昇及び増加が認められ、投与期間中すべての投与量で雌は雄よりも約 2～5 倍の全身曝露を示した。6 mg/kg 投与群の雌では投与 28 日は投与 1 日に比べ約 2 倍の全身曝露を示したが、その他の KHK7580 投与群では投与 1 日と投与 28 日は同程度であった。

表2.6.6.3.2-1 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/day)		0.1		0.3		1.5		6	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (μg/mL)[a]	投与 1 日	0.1218	0.1923	0.4003	0.5841	1.835	3.258	6.641	8.968
	投与 28 日	0.1025	0.2887	0.2714	0.8440	1.195	3.904	6.483	18.00
AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	投与 1 日	1.280	2.963	3.781	8.159	16.40	40.12	89.67	158.1
	投与 28 日	0.7535	3.743	2.283	11.02	11.64	54.70	75.40	267.6

a：4 例の平均値

血清中 PTH 濃度の結果を表 2.6.6.3.2-2に示す。血清中 PTH 濃度はすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 1～2 時間から低下し、0.1 及び 0.3 mg/kg 投与群の雌雄で投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。一方、1.5 及び 6 mg/kg 投与群の雌雄では、投与後 24 時間でも血清中 PTH 濃度低下からの回復傾向を示さない検査日もあった。なお、休薬期間終了時にはすべての KHK7580 投与群の雌雄で回復した。

表2.6.6.3.2-2 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験における血清中 PTH 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0		0.1		0.3		1.5		6	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		PTH (pg/mL)[a, b]									
投与 1 日	投与前	88.8	57.2	55.8	84.1	77.8	60.5	26.6	62.1	71.4	73.5
	投与後 1 時間	47.8	68.1	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	9.30	BLQ	BLQ
	投与後 2 時間	72.8	131	BLQ	31.1	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	29.6	64.2	31.5	62.3	75.4	78.2	BLQ	BLQ	10.8	BLQ
投与 28 日	投与後 1 時間	149	83.2	38.9	12.6	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 2 時間	92.1	86.7	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	176	90.4	181	138	306	136	111	BLQ	20.8	BLQ
投与 31 日 (休薬 3 日)		376	118	309	110	521	226	454	112	408	10.1
投与 56 日 (休薬 28 日)		201	99.3	182	173	246	211	163	145	1245	156

a： 各時点 4 例の平均値
b：BLQ（<34 1 pg/mL）は 0 として算出した。

血清中 Ca 濃度の結果を表 2.6.6.3.2-3に示す。血清中 Ca 濃度はすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 1～2 時間から低下し、投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。なお、休薬 7 日にはすべての KHK7580 投与群の雌雄で血清中 Ca 濃度低下からの回復を示した。

表2.6.6.3.2-3 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験における血清中 Ca 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0		0.1		0.3		1.5		6	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		Ca (mg/dL)[a]									
投与 1 日	投与前	11.20	11.70	11.50	11.35	11.48	11.53	11.58	11.33	11.38	11.30
	投与後 1 時間	11.75	11.43	11.43	10.53	10.25	9.83	8.95	8.88	8.73	8.83
	投与後 2 時間	11.20	11.33	10.80	10.15	10.33	9.28	9.10	8.45	8.05	7.70
	投与後 4 時間	11.70	11.20	10.38	10.10	10.23	9.05	8.65	8.45	7.90	7.78
	投与後 8 時間	10.85	11.33	9.98	9.73	9.33	9.20	8.33	7.80	7.95	7.25
	投与後 24 時間	11.13	11.38	11.10	11.20	10.98	10.23	10.40	9.48	9.48	7.60
投与 28 日	投与後 1 時間	10.55	11.08	9.68	9.60	9.30	8.30	7.88	7.40	7.08	6.15
	投与後 2 時間	11.08	11.50	10.20	9.58	9.53	8.48	8.18	7.20	6.75	6.23
	投与後 4 時間	10.73	11.00	10.60	9.78	9.60	8.40	8.65	7.63	7.35	6.00
	投与後 8 時間	10.88	11.25	10.08	9.63	9.55	8.75	8.48	6.98	6.58	6.13
	投与後 24 時間	10.43	10.90	10.43	10.00	9.80	9.15	9.38	8.03	7.95	6.50
投与 31 日 (休薬 3 日)		10.58	11.05	10.63	11.25	10.73	10.38	10.28	10.20	9.93	7.95
投与 35 日 (休薬 7 日)		10.30	11.45	10.40	11.23	10.43	10.83	10.55	11.23	10.85	9.80
投与 56 日 (休薬 28 日)		10.60	11.30	10.83	10.93	10.85	10.98	10.65	11.18	10.85	10.53

a：各時点 4 例の平均値

以上より、本試験では水晶体皮質前部の混濁が 0.1 mg/kg 投与群の雌雄で認められたことから、無毒性量は雌雄ともに 0.1 mg/kg/day 未満と判断した。

2.6.6.3.3 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：4.2.3.2-3）

雌雄のラット（Crl:CD(SD)、6 週齢）を 4 群に振り分け（12 例／性／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 3 用量を 1 日 1 回 13 週間反復経口投与し、KHK7580 の毒性を評価した。KHK7580 の投与量は、雄では 0.3、1.5 及び 6 mg/kg、雌では 0.1、0.6 及び 3 mg/kg と

した。本試験の最高投与量は、ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（資料番号：4.2.3.2-2）の結果に基づいて設定した。検査項目として、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、尿検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。また、各群にサテライト群を設け、全身曝露（4 例／性／群）並びに血清中 PTH 濃度及び Ca 濃度（8 例／性／群：4 例ずつ各時点交互に採血）を評価した。

その結果、試験期間を通じて全群に死亡例は認められなかった。

低用量（雄：0.3 mg/kg、雌：0.1 mg/kg）以上の投与群では、雌雄で血清中 Ca の低値及び血清中 IP の高値、雄で水晶体皮質前部の混濁（投与量の増加に伴った発現頻度の上昇及びグレードの悪化）、尿中 Ca 排泄量の高値及び大腿骨の外環状層板過骨症が認められた。

中用量（雄：1.5 mg/kg、雌：0.6 mg/kg）以上の投与群では、雌雄で心筋変性、心臓における炎症性細胞浸潤及び水晶体線維の膨化、雄で心筋線維化、雌で水晶体皮質前部の混濁（投与量の増加に伴った発現頻度の上昇及びグレードの悪化）、尿中 Ca 排泄量の高値、胆管上皮細胞肥大及び大腿骨の外環状層板過骨症が認められた。

高用量（雄：6 mg/kg、雌：3 mg/kg）投与群では、雌雄で体重の低値、摂餌量の低値、尿比重の低値、尿量の高値及び腎盂鉱質沈着、雄で投与 3 日以降の散発的な筋攣縮、胆管上皮細胞肥大及び心内膜下出血、雌でリンパ球数の高値、好中球数の高値、単球数の高値、十二指腸のびらん及び副腎の皮質球状帯細胞肥大が認められた。

血清中 Ca の低値、血清中 IP の高値、尿比重の低値、尿量の高値及び尿中 Ca 排泄量の高値は KHK7580 の薬理作用に基づくため、毒性と判断しなかった。また、血液学的検査、血液生化学的検査及び器官重量測定では有意な変化を示す上記以外の項目もあったが、毒性学的意義は低いと判断した。

TK 解析の結果を表 2.6.6.3.3-1に示す。血漿中 KHK7580 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雌雄ともに投与量の増加に伴った上昇及び増加が認められた。雄では投与 91 日は投与 1 日に比べ 0.3～0.8 倍の全身曝露を示したが、雌では 2～3 倍の全身曝露を示した。

表2.6.6.3.3-1　ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/day)		低用量		中用量		高用量	
		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (μg/mL)[a]	投与 1 日	0.3814	0.1503	1.858	0.9852	6.628	4.364
	投与 91 日	0.2962	0.3138	0.9954	1.900	4.580	11.13
AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	投与 1 日	3.848	2.144	20.07	12.55	80.11	67.19
	投与 91 日	1.509	5.095	6.817	28.15	43.72	192.5

a：4 例の平均値

血清中 PTH 濃度の結果を表 2.6.6.3.3-2に示す。血清中 PTH 濃度はすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 2 時間から低下し、低及び中用量投与群の雌雄で投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。一方、高用量投与群の雌雄では、投与後 24 時間でも血清中 PTH 濃度低下からの回復傾向を示さない検査日もあった。

表2.6.6.3.3-2 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験における血清中 PTH 濃度

投与量 (mg/kg/day)		媒体		低用量		中用量		高用量	
		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		PTH (pg/mL)[a, b]							
投与 1 日	投与前	93.4	63.3	95.7	82.9	96.0	71.3	68.9	62.0
	投与後 2 時間	122	115	8.63	27.7	8.68	8.73	8.93	19.8
	投与後 24 時間	93.0	89.2	47.5	89.9	45.8	36.8	8.63	18.2
投与 28 日	投与後 2 時間	270	87.2	BLQ	23.5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	292	115	203	139	113	35.6	9.15	8.73
投与 91 日	投与後 2 時間	326	95.6	BLQ	37.1	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	216	95.6	155	85.4	134	58.0	63.0	BLQ

a：各時点 4 例の平均値
b：BLQ（< 34.1 pg/mL）は 0 として算出した。

血清中 Ca 濃度の結果を表 2.6.6.3.3-3に示す。血清中 Ca 濃度がすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 2 時間から低下し、投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。

表2.6.6.3.3-3 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験における血清中 Ca 濃度

投与量 (mg/kg/day)		媒体		低用量		中用量		高用量	
		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		Ca (mg/dL)[a]							
投与 1 日	投与前	10.95	11.75	11.18	11.65	11.50	12.00	11.20	11.90
	投与後 2 時間	10.95	11.18	10.03	10.45	8.65	9.25	7.70	8.18
	投与後 4 時間	10.83	11.28	9.55	10.50	9.08	8.93	7.85	8.13
	投与後 8 時間	10.85	11.08	9.28	10.15	7.95	8.45	7.05	7.33
	投与後 24 時間	11.35	11.25	10.88	10.80	10.13	10.00	8.78	9.00
投与 28 日	投与後 2 時間	11.10	11.08	9.55	9.60	8.20	8.20	7.10	6.73
	投与後 4 時間	10.95	11.15	10.03	9.98	8.65	7.93	7.05	6.73
	投与後 8 時間	11.05	10.55	9.60	9.63	8.45	7.78	6.68	6.23
	投与後 24 時間	10.45	10.50	10.23	9.98	9.50	8.63	8.08	7.45
投与 91 日	投与後 2 時間	10.85	10.88	9.28	9.53	7.98	7.75	6.90	6.30
	投与後 4 時間	11.00	11.08	9.88	9.60	8.55	7.60	6.98	6.60
	投与後 8 時間	10.78	10.80	9.70	9.50	8.40	7.90	7.10	5.88
	投与後 24 時間	10.60	10.98	10.30	9.88	9.63	8.48	8.00	6.98

a：各時点 4 例の平均値

以上より、本試験では眼科学的検査及び病理組織学的検査の結果から、無毒性量は雄では 0.3 mg/kg/day 未満、雌では 0.1 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.3.4 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：4.2.3.2-4）

雌雄のラット（Crl:CD(SD)、6 週齢）を 4 群に振り分け（12 例／性／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 3 用量を 1 日 1 回 26 週間反復経口投与し、KHK7580 の毒性を評価した。KHK7580 の投与量は、雄では 0.3、1.5 及び 6 mg/kg、雌では 0.1、0.6 及び 3 mg/kg とした。本試験の最高投与量は、ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：4.2.3.2-3）の結果に基づいて設定した。検査項目として、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、尿検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。また、各群にサテライト群を設け、全身曝露（5 例／性／群、予備

動物 1 例含む）並びに血清中 PTH 濃度及び Ca 濃度（9 例／性／群：4 例ずつ各時点交互に採血、予備動物 1 例含む）を評価した。

その結果、毒性評価群では被験物質の影響による死亡例は認められなかった。投与 91 日に 0.3 mg/kg 投与群の雄 1 例及び投与 165 日に媒体群の雄 1 例が死亡した。死亡した 0.3 mg/kg 投与群の雄 1 例では、一般状態観察、体重、摂餌量、剖検及び病理組織学的検査で異常が認められず、死因を特定できなかったが、低用量群の 1 例のみでの死亡であることから、被験物質投与との関連性は低いと判断した。また、死亡した媒体群の雄 1 例では、病理組織学的検査において骨髄性白血病が認められたため、死因は偶発的な骨髄性白血病と判断した。サテライト群では 6 mg/kg 投与群の雄で投与 28 及び 104 日に各 1 例が死亡した。当該動物は死亡前の一般状態観察に異常を示さず、病理組織学的検査においても肺水腫を除いて生存動物との違いは認められなかったため、死因及び被験物質の影響は不明であった。

低用量（雄：0.3 mg/kg、雌：0.1 mg/kg）以上の投与群では、雌雄で水晶体皮質前部の混濁、血清中 Ca の低値、血清中 IP の高値、尿中 Ca 排泄量の高値及び副甲状腺の萎縮、雄で肺の動脈壁限局性鉱質沈着、大腿骨の外環状層板過骨症並びに皮質及び海綿骨軟骨遺残、胸骨の海綿骨軟骨遺残並びに上顎切歯の象牙細管拡張及び象牙質石灰化不全が認められた。

中用量（雄：1.5 mg/kg、雌：0.6 mg/kg）以上の投与群では、雌雄で大腿骨の海綿骨肥厚、雄で心筋変性、心筋線維化、心臓における炎症性細胞浸潤、精巣上体の間質限局性鉱質沈着、水晶体線維膨化、上顎切歯のエナメル芽細胞層不整及び歯周組織炎症性細胞浸潤、雌で肝臓の胆管上皮細胞限局性肥大、腎盂鉱質沈着、大腿骨の皮質及び海綿骨軟骨遺残並びに胸骨の海綿骨肥厚及び海綿骨軟骨遺残が認められた。

高用量（雄：6 mg/kg、雌：3 mg/kg）投与群では、雌雄で投与 4 日以降の散発的な筋攣縮、上顎及び下顎の切歯欠損、体重の低値、摂餌量の低値、尿比重の低値、尿量の高値、副腎の皮質球状帯細胞肥大、上顎切歯のエナメル質石灰化不全、エナメル芽細胞単細胞壊死並びに歯髄壊死、雄で小葉中心性肝細胞肥大、腎盂鉱質沈着及び胸骨の海綿骨肥厚、雌でリンパ球数、好中球数及び単球数の高値を伴う白血球数の高値、尿中 IP 排泄量の高値、心筋変性、心筋線維化、心臓における炎症性細胞浸潤、肺の動脈壁限局性鉱質沈着、水晶体線維膨化、大腿骨の外環状層板過骨症、上顎切歯の象牙細管拡張、象牙質石灰化不全、エナメル芽細胞層不整並びにエナメル芽細胞限局性壊死が認められた。なお、剖検で下顎切歯欠損が認められた個体の雌雄では、下顎切歯に上顎切歯と同様の病理組織学的所見が認められた。

血清中 Ca の低値、血清中 IP の高値、尿比重の低値、尿量の高値、尿中 Ca 排泄量の高値及び尿中 IP 排泄量の高値は KHK7580 の薬理作用に基づくため、毒性と判断しなかった。また、血液学的検査、血液生化学的検査及び器官重量測定では有意な変化を示す上記以外の項目もあったが、毒性と判断しなかった。

TK 解析の結果を表 2.6.6.3.4-1に示す。血漿中 KHK7580 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雌雄ともに投与量の増加に伴った上昇及び増加が認められた。雌雄の全身曝露は投与 91 日で定常状態に達し、雄では投与 182 日は投与 1 日に比べ 0.3～0.7 倍を示したが、雌では 1.6～2.9 倍を示した。

表2.6.6.3.4-1 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/day)		低用量		中用量		高用量	
		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (μg/mL)[a]	投与 1 日	0.5165	0.1834	2.546	0.9583	9.584	4.878
	投与 91 日	0.2953	0.2921	1.092	1.679	5.840	9.820
	投与 182 日	0.2617	0.2919	1.191	1.789	7.100	10.17
AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	投与 1 日	5.891	2.219	30.31	12.79	123.7	63.83
	投与 91 日	1.633	4.409	7.366	25.32	63.54	161.9
	投与 182 日	1.730	4.960	10.07	30.44	62.01	188.2

a：4 例の平均値

血清中 PTH 濃度の結果を表 2.6.6.3.4-2に示す。血清中 PTH 濃度はすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 2 時間から低下し、低用量投与群の雌雄で投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。一方、中及び高用量投与群の雌雄では、投与後 24 時間でも血清中 PTH 濃度低下からの回復傾向を示さない検査日もあった。

表2.6.6.3.4-2 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験における血清中 PTH 濃度

投与量 (mg/kg/day)		媒体		低用量		中用量		高用量	
		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		PTH (pg/mL)[a, b]							
投与 1 日	投与前	41.7	61.9	53.6	124	41.8	80.8	75.3	64.5
	投与後 2 時間	82.8	101	BLQ	10.3	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	48.2	79.6	18.4	77.7	BLQ	8.70	BLQ	BLQ
投与 91 日	投与後 2 時間	296	77.3	BLQ	54.7	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	220	95.0	223	69.0	106	49.4	52.6	BLQ
投与 182 日	投与後 2 時間	282	84.8	BLQ	29.6	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	211	120	163	45.8	233	BLQ	101	BLQ

a：各時点 4 例の平均値
b：BLQ（< 34.1 pg/mL）は 0 として算出した。

血清中 Ca 濃度の結果を表 2.6.6.3.4-3に示す。血清中 Ca 濃度がすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 2 時間から低下し、投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。

表2.6.6.3.4-3 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験における血清中 Ca 濃度

投与量 (mg/kg/day)		媒体		低用量		中用量		高用量	
		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		Ca (mg/dL)[a]							
投与 1 日	投与前	10.98	10.73	11.00	10.93	10.90	10.78	10.63	10.63
	投与後 2 時間	10.78	10.85	9.63	10.23	8.35	9.28	7.58	7.88
	投与後 4 時間	10.83	10.75	9.43	10.05	8.30	8.58	7.25	7.78
	投与後 8 時間	10.43	10.78	8.78	9.90	7.58	8.63	7.13	6.95
	投与後 24 時間	10.93	10.98	10.48	10.78	9.25	9.80	7.78	8.50
投与 91 日	投与後 2 時間	10.68	11.43	9.30	9.63	7.75	7.95	7.00	6.15
	投与後 4 時間	10.95	11.55	10.05	10.05	8.43	8.00	7.15	6.20
	投与後 8 時間	11.30	11.48	10.05	9.68	8.58	8.03	7.63	6.00
	投与後 24 時間	10.45	11.18	9.98	10.50	9.20	8.98	8.28	6.73
投与 182 日	投与後 2 時間	11.00	11.55	9.30	9.83	7.68	8.03	6.98	6.28
	投与後 4 時間	11.10	11.50	9.75	10.50	8.20	8.23	7.45	6.45
	投与後 8 時間	11.30	11.70	9.88	9.95	8.43	8.10	7.13	6.03
	投与後 24 時間	10.85	11.50	10.28	11.05	9.13	9.18	8.13	6.58

a：各時点 4 例の平均値

以上より、本試験では眼科学的検査及び病理組織学的検査の結果から、無毒性量は雄では 0.3 mg/kg/day 未満、雌では 0.1 mg/kg/day 未満と判断した。

2.6.6.3.5 カニクイザルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：参考 4.2.3.2-5）

本試験はカニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験の用量設定を目的として実施した。雌雄のカニクイザル（2～3 歳齢）を 4 群に振り分け（2 例／性／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 1、3 及び 10 mg/kg を 1 日 1 回 2 週間反復経口投与した。更に、KHK7580 投与群の全身曝露、全群の血清中 Ca 濃度及び IP 濃度を評価した。

死亡例は認められなかったが、3 mg/kg 投与群の雌雄で筋攣縮又は手首の屈曲が認められた。更に、10 mg/kg 投与群の雄 1 例で筋攣縮、手首の屈曲、不活発及び腹臥位が認められ、投与 5 日以降の投与を中止した。KHK7580 の薬理作用に基づく血清中 Ca 濃度の低下及び IP 濃度の上昇がすべての KHK7580 投与群の雌雄で認められた。更に、1 mg/kg 以上の投与群で QTc 延長、10 mg/kg 投与群で腎臓重量の高値、腎臓の乳頭部鉱質沈着及び尿細管拡張が両性又は片性で認められた。

全身曝露は、雌雄ともに投与量の増加に伴った増加が認められ、投与 14 日における 10 mg/kg 投与群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 13.4 μg·h/mL、雌で 14.9 μg·h/mL であった。

以上より、本試験では 3 mg/kg 投与群で筋攣縮又は手首の屈曲が認められ、更に 10 mg/kg 投与群で筋攣縮、手首の屈曲、不活発及び腹臥位が認められたため、カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験の最高投与量には、雌雄ともに 3 mg/kg/day が適切と判断した。

2.6.6.3.6 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（資料番号：4.2.3.2-6）

雌雄のカニクイザル（4～5 歳齢）を 5 群に振り分け（4 例／性／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 0.1、0.3、1 及び 3 mg/kg を 1 日 1 回 4 週間反復経口投与し、

KHK7580 の毒性を評価した。加えて、媒体群及び 3 mg/kg 投与群には雌雄各 2 例を追加し、同様に 4 週間投与した後 4 週間の休薬期間を設けて回復性を検討した。本試験の最高投与量は、カニクイザルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：参考 4.2.3.2-5）の結果に基づいて設定した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、心電図検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。更に、全群の全身曝露、血清中 PTH 濃度及び Ca 濃度を評価した。

その結果、試験期間を通じて全群に死亡例は認められなかった。

1 mg/kg 以上の投与群では、雌雄で QTc 延長、血清中 Ca の低値及び血清中 IP の高値、雄で尿中 IP 排泄量の高値、白血球浸潤を伴った心筋線維変性／壊死及び腎臓の集合管上皮細胞肥大が認められた。

3 mg/kg 投与群では、雄で腎臓の間質浮腫及び乳頭部鉱質沈着、雌で尿中 IP 排泄量の高値が認められた。

上記変化は、すべて 4 週間の休薬で回復した。

血清中 Ca の低値、血清中 IP の高値及び尿中 IP 排泄量の高値は KHK7580 の薬理作用に基づくため、毒性と判断しなかった。また、血液学的検査及び血液生化学的検査では有意な変化を示す上記以外の項目もあったが、毒性学的意義は低いと判断した。

TK 解析の結果を表 2.6.6.3.6-1に示す。血漿中 KHK7580 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雌雄ともに投与量の増加に伴った上昇及び増加が認められ、明確な雌雄差はなかった。3 mg/kg 投与群の雌では投与 28 日は投与 1 日に比べ約 0.5 倍の C_{max} 及び AUC_{0-24} を示したが、その他の KHK7580 投与群では投与 1 日と投与 28 日は同程度であった。

表2.6.6.3.6-1　カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/day)		0.1		0.3		1		3	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (μg/mL)[a]	投与 1 日	0.03326	0.06260	0.1882	0.1982	0.6925	0.7650	1.979	3.323
	投与 28 日	0.05139	0.04510	0.1609	0.1658	0.8095	0.6016	1.951	1.449
AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	投与 1 日	0.1329	0.2189	0.5711	0.7524	2.922	2.581	8.548	13.48
	投与 28 日	0.1525	0.1410	0.4938	0.6211	3.396	2.225	7.001	6.016

a：4/6 例の平均値

血清中 PTH 濃度の結果を表 2.6.6.3.6-2に示す。血清中 PTH 濃度はすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 1 時間から低下し、投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。なお、休薬期間終了時には 3 mg/kg 投与群の雌雄で血清中 PTH 濃度低下からの回復を示した。

表2.6.6.3.6-2 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験における血清中 PTH 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0		0.1		0.3		1		3	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		PTH (pg/mL)[a, b]									
投与 15/12 日前		244	103	225	102	167	162	154	114	294	80.4
投与 1 日	投与後 1 時間	115	85.1	95.7	19.4**	12.9*	6.46**	11.7*	3.13**	17.0**	6.39**
	投与後 2 時間	72.9	76.3	107	45.1	14.8	7.13**	8.44	1.40**	6.89	2.81**
	投与後 24 時間	120	61.8	161	94.6	92.7	71.0	111	72.5	114	26.7
投与 28 日	投与後 1 時間	134	75.2	95.0	14.8**	15.2	6.80**	58.9	6.87**	64.8	7.08**
	投与後 2 時間	164	94.8	182	98.7	92.1	20.7*	13.2*	16.8*	10.6*	8.20**
	投与後 24 時間	92.7	88.4	195	100	110	141	146	123	190	82.4
投与 53 日 (休薬 25 日)		134	110	NA	NA	NA	NA	NA	NA	163	130

NA：適応外
*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)
a：各時点 4/6 例の平均値、ただし投与 53 日は 2 例
b：BLQ（<4.83 pg/mL）は 0 として算出した。

血清中 Ca 濃度の結果を表 2.6.6.3.6-3に示す。血清中 Ca 濃度がすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 1～2 時間から低下し、投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。なお、休薬 14 日には 3 mg/kg 投与群の雌雄で血清中 Ca 濃度低下からの回復を示した。

表2.6.6.3.6-3 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験における血清中 Ca 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0		0.1		0.3		1		3	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		Ca (mg/dL)[a]									
投与 15/12 日前		10.40	9.95	10.20	10.30	10.50	10.18	10.05	10.40	9.75	10.08
投与 1 日	投与後 1 時間	10.50	9.73	10.40	10.20	10.08	9.80	9.80	9.80	9.58*	9.42
	投与後 2 時間	10.53	9.98	10.03	9.88	9.38*	9.15	8.93**	8.98*	8.45**	8.57**
	投与後 4 時間	10.28	9.75	10.03	9.78	9.33*	8.90*	8.00**	8.28**	7.70**	7.60**
	投与後 8 時間	11.32	10.53	11.25	10.53	10.10*	10.20	9.83**	9.58*	9.43**	8.62**
	投与後 24 時間	10.22	9.82	10.50	10.10	10.05	9.70	9.20**	8.90	8.50**	8.10**
投与 14 日	投与後 2 時間	10.47	10.07	9.70	9.60	9.10**	8.43**	7.55**	7.70**	6.72**	6.48**
	投与後 4 時間	10.87	10.37	10.88	10.43	9.68*	9.55	8.25**	8.53**	7.50**	6.65**
	投与後 8 時間	10.92	11.02	10.80	10.90	10.23	10.40	9.00**	9.40**	8.27**	7.82**
	投与後 24 時間	10.12	10.15	10.08	10.23	9.60	10.25	8.60**	8.63	7.97**	7.43**
投与 28 日	投与後 1 時間	10.05	9.92	10.05	10.03	9.40	8.93	8.20**	8.40*	7.57**	7.12**
	投与後 2 時間	9.80	9.72	9.50	9.50	9.03	8.25*	7.45**	7.68**	6.87**	6.43**
	投与後 4 時間	10.78	9.97	10.80	9.95	9.45*	8.68*	7.55**	7.38**	7.05**	6.00**
	投与後 8 時間	10.88	10.57	10.90	10.85	9.73**	9.93	8.55**	8.98**	7.83**	7.08**
	投与後 24 時間	10.05	9.82	10.13	10.10	9.65	9.15	8.43**	8.30*	7.48**	7.22**
投与 42 日 (休薬 14 日)		10.85	10.15	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9.75	10.00
投与 53 日 (休薬 25 日)		11.25	9.60	NA	NA	NA	NA	NA	NA	10.00	9.90

NA：適応外
*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)
a：各時点 4/6 例の平均値、ただし投与 42 及び 53 日は 2 例

以上より、本試験では心電図検査及び病理組織学的検査の結果から、無毒性量は雌雄ともに 0.3 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.3.7 カニクイザルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：4.2.3.2-7）

雌雄のカニクイザル（3～5 歳齢）を 4 群に振り分け（4 例／性／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 0.3、1 及び 3 mg/kg を 1 日 1 回 13 週間反復経口投与し、KHK7580 の毒性を評価した。本試験の最高投与量は、カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（資料番号：4.2.3.2-6）の結果に基づいて設定した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、心電図検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。更に、全群の全身曝露、血清中 PTH 濃度及び Ca 濃度を評価した。

その結果、試験期間を通じて全群に死亡例は認められなかった。

1 mg/kg 以上の投与群では、雌雄で血清中 Ca の低値及び血清中 IP の高値、雄で QTc 延長及び腎臓の集合管上皮細胞肥大、雌で尿中 IP 排泄量の高値が認められた。

3 mg/kg 投与群では、雄で心拍数の減少、心室性期外収縮、尿中 IP 排泄量の高値、心外膜下の炎症性細胞浸潤及び線維化（心拍数の減少及び心室性期外収縮を示した個体）、雌で心拍数の増加、QTc 延長及び腎臓の集合管上皮細胞肥大が認められた。

血清中 Ca の低値、血清中 IP の高値及び尿中 IP 排泄量の高値は KHK7580 の薬理作用に基づくため、毒性と判断しなかった。また、血液学的検査及び血液生化学的検査では有意な変化を示す上記以外の項目もあったが、毒性と判断しなかった。

TK 解析の結果を表 2.6.6.3.7-1に示す。血漿中 KHK7580 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雌雄ともに投与量の増加に伴った上昇及び増加が認められた。投与 1 日に比べ投与 91 日における AUC_{0-24} はすべての KHK7580 投与群の雌雄で低く、特に 0.3 mg/kg 投与群の雄で顕著だった。

表2.6.6.3.7-1 カニクイザルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/day)		0.3		1		3	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (μg/mL)[a]	投与 1 日	0.1273	0.08768	0.5350	0.5162	1.486	1.880
	投与 91 日	0.01057	0.06580	0.1858	0.1410	0.5897	0.9501
AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	投与 1 日	0.6089	0.3193	1.975	1.880	5.063	7.642
	投与 91 日	0.04010	0.2002	0.6168	0.7121	2.279	4.532

a：4 例の平均値

血清中 PTH 濃度の結果を表 2.6.6.3.7-2に示す。血清中 PTH 濃度はすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 1 時間から低下し、投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。

表2.6.6.3.7-2 カニクイザルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験における血清中 PTH 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0		0.3		1		3	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		PTH (pg/mL)[a, b]							
投与 6/5 日前		147	55.8	132	164	105	183*	191	56.1
投与 1 日	投与後 1 時間	81.6	30.4	10.1	24.1	5.01	15.9	14.5	1.74
	投与後 2 時間	65.7	20.0	18.4	18.9	3.17	9.30	33.7	2.58
	投与後 24 時間	92.6	40.4	101	83.6	60.0	97.5*	89.1	12.4
投与 28 日	投与後 1 時間	29.6	16.1	14.6	15.2	4.08*	6.27	11.0	1.90
	投与後 2 時間	37.8	11.9	50.1	57.9	11.1	20.3	12.7	2.75
	投与後 24 時間	68.6	29.8	128	88.8	77.0	197*	95.2	38.6
投与 56 日	投与後 1 時間	18.9	15.9	4.79	18.3	BLQ*	8.84	5.33	BLQ
	投与後 2 時間	20.4	23.1	31.8	99.8	4.20*	12.9	6.96	BLQ
	投与後 24 時間	52.1	26.3	76.5	102*	90.5	219*	104	59.4
投与 91 日	投与後 1 時間	26.9	26.5	11.5	23.4	8.20*	16.4	14.0	7.12
	投与後 2 時間	31.7	30.5	40.6	81.2	20.2	29.5	17.1	14.0
	投与後 24 時間	74.5	67.8	196	121	140	214*	140	73.0

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)
a：各時点 4 例の平均値
b：BLQ（<4.83 pg/mL）は 0 として算出した。

血清中 Ca 濃度の結果を表 2.6.6.3.7-3に示す。血清中 Ca 濃度がすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 1～2 時間から低下し、投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。ただし、投与 1 日における 3 mg/kg 投与群の雄だけは、血清中 Ca 濃度低下からの回復傾向を示さなかった。

表2.6.6.3.7-3 カニクイザルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験における血清中 Ca 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0		0.3		1		3	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		Ca (mg/dL)[a]							
投与 6/5 日前		10.13	10.50	11.08	10.68	10.15	10.00	10.03	10.20
投与 1 日	投与後 1 時間	10.25	10.08	10.53	10.05	9.85	9.70	9.58	9.33*
	投与後 2 時間	10.08	9.95	9.68	9.40*	8.78**	8.78**	8.70**	8.45**
	投与後 24 時間	9.90	9.98	10.48	9.85	9.15	9.03	8.45*	8.73*
投与 28 日	投与後 1 時間	10.55	10.78	9.80	9.95	8.40**	8.80**	7.35**	7.25**
	投与後 2 時間	10.78	10.68	9.50*	9.55*	8.20**	8.40**	6.78**	6.85**
	投与後 24 時間	9.88	10.50	9.78	9.68	8.45**	8.68**	6.88**	7.58**
投与 56 日	投与後 1 時間	10.70	10.60	9.70	9.55	8.80**	8.70**	7.33**	6.95**
	投与後 2 時間	10.63	10.55	9.55*	9.15**	8.40**	8.15**	7.28**	6.50**
	投与後 24 時間	10.05	10.50	10.20	9.65	8.50*	8.75**	7.48**	7.28**
投与 91 日	投与後 1 時間	10.20	10.68	9.60	9.65	8.15**	8.48**	7.08**	6.48**
	投与後 2 時間	10.30	10.55	9.25	9.35*	7.85**	7.90**	6.83**	5.98**
	投与後 24 時間	10.60	10.23	10.13	9.95	8.08**	8.35**	7.05**	6.98**

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)
a：各時点 4 例の平均値

以上より、本試験では心電図検査及び病理組織学的検査の結果から、無毒性量は雄では 0.3 mg/kg/day、雌では 1 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.3.8 カニクイザルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：4.2.3.2-8）

雌雄のカニクイザル（4～5 歳齢）を 4 群に振り分け（4 例／性／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 0.3、1 及び 3 mg/kg を 1 日 1 回 39 週間反復経口投与し、KHK7580 の毒性を評価した。本試験の最高投与量は、カニクイザルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：4.2.3.2-7）の結果に基づいて設定した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、心電図検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。更に、全群の全身曝露、血清中 PTH 濃度及び Ca 濃度を評価した。

その結果、試験期間を通じて全群に死亡例は認められなかった。

0.3 mg/kg 以上の投与群では、雌雄で血清中 Ca の低値が認められた。

1 mg/kg 以上の投与群では、雌雄で QTc 延長、血清中 IP の高値及び尿中 IP 排泄量の高値が認められた。

3 mg/kg 投与群では、雌雄で腎臓重量の高値並びに腎臓の集合管上皮細胞肥大、髄質間質鉱質沈着及び髄質間質炎症性細胞浸潤、雄で心拍数の増加、雌で腎臓の髄質間質浮腫及び腎盂鉱質沈着が認められた。

血清中 Ca の低値、血清中 IP の高値及び尿中 IP 排泄量の高値は KHK7580 の薬理作用に基づくため、毒性と判断しなかった。また、血液学的検査及び血液生化学的検査では有意な変化を示す上記以外の項目もあったが、毒性学的意義は低いと判断した。

TK 解析の結果を表 2.6.6.3.8-1に示す。血漿中 KHK7580 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雌雄ともに投与量の増加に伴った上昇及び増加が認められた。0.3 及び 1 mg/kg 投与群では雄に比べ雌の C_{max} 及び AUC_{0-24} は低かったが、3 mg/kg 投与群では明確な雌雄差はなかった。各 KHK7580 投与群における投与 1、89/90、180/181 及び 273 日の AUC_{0-24} は同程度であった。

表2.6.6.3.8-1 カニクイザルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/day)		0.3		1		3	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (μg/mL)[a]	投与 1 日	0.2878	0.09360	1.108	0.3865	2.325	2.611
	投与 89/90 日	0.1953	0.1074	0.7407	0.4178	1.559	3.014
	投与 180/181 日	0.1896	0.09714	0.6497	0.4044	1.146	1.582
	投与 273 日	0.2337	0.03870	0.9999	0.3254	2.088	1.952
AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	投与 1 日	1.081	0.2894	3.989	1.532	8.245	7.702
	投与 89/90 日	0.7785	0.2442	2.456	1.437	5.324	8.935
	投与 180/181 日	0.9383	0.2867	2.845	1.339	3.786	5.022
	投与 273 日	0.9067	0.1632	4.172	0.9805	6.451	7.245

a：4 例の平均値

血清中 PTH 濃度の結果を表 2.6.6.3.8-2に示す。血清中 PTH 濃度はすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 1 又は 2 時間から低下し、投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。

表2.6.6.3.8-2 カニクイザルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験における血清中 PTH 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0		0.3		1		3	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		PTH (pg/mL)[a, b]							
投与 8/10 日前		103	176	147	236	114	208	168	199
投与 1 日	投与後 1 時間	70.9	49.9	7.85**	30.6	4.16**	27.3	7.35**	3.51
	投与後 2 時間	67.6	45.8	6.75*	34.7	3.28*	9.46	4.29*	3.35
	投与後 24 時間	69.2	87.2	94.3	123	80.7	76.6	79.0	48.1
投与 89/90 日	投与後 1 時間	46.1	60.8	52.6	30.5	32.4	10.4	17.9	4.49
	投与後 2 時間	45.1	65.2	11.8	48.8	9.37*	14.9	7.76*	5.51
	投与後 24 時間	59.1	139	110	245	125	139	138	101
投与 180/181 日	投与後 1 時間	33.6	64.9	26.5	11.4**	14.4	7.99**	10.8	9.96**
	投与後 2 時間	62.9	53.9	9.10**	57.6	7.60**	5.93	7.63**	3.45
	投与後 24 時間	48.4	99.9	87.0	121	113	108	118	73.5
投与 273 日	投与後 1 時間	51.7	107	65.0	15.1**	28.7	18.1**	21.7	7.48**
	投与後 2 時間	51.4	99.9	29.6	75.1	7.77	13.6*	9.84	8.06*
	投与後 24 時間	60.4	89.5	122	145	128	118	194*	86.6

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)
a：各時点 4 例の平均値
b：BLQ（<4.83 pg/mL）は 0 として算出した。

血清中 Ca 濃度の結果を表 2.6.6.3.8-3に示す。血清中 Ca 濃度がすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 1～2 時間から低下した。投与 1 日では、すべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 24 時間に血清中 Ca 濃度低下からの回復傾向を示さなかった。投与 89/90 日以降では、投与 89/90 及び 180/181 日における 0.3 mg/kg 投与群の雄を除くすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 24 時間に血清中 Ca 濃度低下からの回復傾向を示した。

表2.6.6.3.8-3 カニクイザルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験における血清中 Ca 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0		0.3		1		3	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		Ca (mg/dL)[a]							
投与 8/10 日前		10.60	10.50	10.40	10.38	10.95	10.45	10.20	10.10
投与 1 日	投与後 1 時間	10.20	10.23	10.30	10.20	9.90	10.08	9.38	8.85*
	投与後 2 時間	10.35	10.18	9.70	9.63	9.10	9.28*	8.33**	7.98**
	投与後 24 時間	9.88	9.83	9.58	9.65	9.20	8.93*	8.43**	7.78**
投与 89/90 日	投与後 1 時間	10.75	10.05	9.43**	9.38	8.18**	8.28**	7.18**	6.88**
	投与後 2 時間	10.70	10.25	9.03**	8.98**	7.48**	7.68**	6.50**	6.48**
	投与後 24 時間	10.23	9.78	9.00*	9.55	8.15**	8.50	7.08**	7.03**
投与 180/181 日	投与後 1 時間	10.98	10.10	9.35**	9.40	8.50**	8.63**	7.38**	6.73**
	投与後 2 時間	10.63	10.25	9.05**	9.00**	7.70**	7.90**	6.50**	6.40**
	投与後 24 時間	10.68	10.20	9.00**	9.80	8.35**	8.70**	7.58**	7.10**
投与 273 日	投与後 1 時間	10.50	9.95	8.70**	9.78	8.18**	8.45**	6.83**	6.55**
	投与後 2 時間	10.63	10.00	8.48**	9.08**	7.55**	7.75**	6.13**	6.05**
	投与後 24 時間	10.50	10.05	8.95**	9.65	8.30**	8.70**	6.95**	6.78**

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)
a：各時点 4 例の平均値

以上より、本試験では心電図検査の結果から、無毒性量は雌雄ともに 0.3 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験及びラットを用いた骨髄小核試験で遺伝毒性を検討した。

2.6.6.4.1 *In vitro* 試験

2.6.6.4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（資料番号：4.2.3.3.1-1）

ネズミチフス菌（TA100、TA1535、TA98 及び TA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*）を用いて、代謝活性化（ラット肝 S9 mix）の存在下及び非存在下で KHK7580 の復帰突然変異試験を実施した。なお、当該試験はプレインキュベーション法で検討した。

用量設定試験では、KHK7580 の処理濃度を最高濃度 5000 µg/plate から公比 4 で除した計 7 濃度（1.22～5000 µg/plate）とした。ラット肝 S9 mix 非存在下において、WP2*uvrA* では 5000 µg/plate 並びに TA100、TA1535、TA98 及び TA1537 では 1250 µg/plate 以上で菌の生育阻害が認められた。ラット肝 S9 mix 存在下において、いずれの菌株も 1250 µg/plate 以上で菌の生育阻害が認められた。以上の結果より、本試験における KHK7580 の処理濃度をラット肝 S9 mix 非存在下では WP2*uvrA* で 78.1～5000 µg/plate、TA98 で 39.1～2500 µg/plate 並びに TA100、TA1535 及び TA1537 で 19.5～1250 µg/plate（いずれも公比 2 で除した計 7 濃度）とし、ラット肝 S9 mix 存在下ではすべての菌株で 19.5～1250 µg/plate（公比 2 で除した計 7 濃度）とした。

本試験の結果、KHK7580 はいずれの条件においても媒体と比して復帰変異コロニー数の 2 倍以上の増加を示さなかった。ラット肝 S9 mix 非存在下において WP2*uvrA* では 2500 µg/plate 以上並びに TA100、TA1535、TA98 及び TA1537 では 1250 µg/plate 以上で、ラット肝 S9 mix 存在下において WP2*uvrA* 及び TA98 では 1250 µg/plate 並びに TA100、TA1535 及び TA1537 では 625 µg/plate 以上で菌の生育阻害が認められた。

以上より、KHK7580 は細菌に遺伝子突然変異を誘発しないと判断した。

2.6.6.4.1.2 哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験（資料番号：4.2.3.3.1-2）

チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞 CHL/IU 株を用いて、代謝活性化（ラット肝 S9 mix）の存在下及び非存在下で KHK7580 の *in vitro* 染色体異常試験を実施した。なお、当該試験は短時間処理（ラット肝 S9 mix の存在下及び非存在下で 6 時間）及び連続処理（ラット肝 S9 mix の非存在下で 24 時間）で検討した。

用量設定試験では、KHK7580 の処理濃度を最高濃度 2000 µg/mL から公比 1.5 で除した計 8 濃度（117～2000 µg/mL）とした。50%の細胞増殖抑制を示す KHK7580 濃度は、ラット肝 S9 mix 非存在下 6 及び 24 時間処理で 348.0 及び 152.1 µg/mL 並びにラット肝 S9 mix 存在下 6 時間処理で 340.4 µg/mL と算出された。以上の結果より、本試験における KHK7580 の処理濃度をラット肝 S9 mix 非存在下 6 及び 24 時間処理では 200～400 及び 12.5～300 µg/mL 並びにラット肝 S9 mix 存在下 6 時間処理では 150～400 µg/mL とした。

本試験における細胞分裂中期の染色体異常解析には、ジメチルスルホキシド（DMSO）処理を 100%とした細胞増殖指標又は相対的分裂指標が約 50%を示す濃度として、ラット肝 S9 mix 非存在下 6 時間処理では 260～340 µg/mL、ラット肝 S9 mix 非存在下 24 時間処理では 50～150 µg/mL、S9 mix 存在下 6 時間処理では 250～350 µg/mL を用いた（いずれも 3 濃度）。その

結果、KHK7580 はいずれの条件においても媒体と比して染色体の構造的及び数的異常細胞の出現率に影響を及ぼさなかった。

以上より、KHK7580 は哺乳類培養細胞に染色体異常を誘発しないと判断した。

2.6.6.4.2 *In vivo* 試験

2.6.6.4.2.1 ラットを用いた骨髄小核試験（資料番号：4.2.3.3.2-1）

雄性ラット（Crl:CD(SD)、8 週齢）を 5 群に振り分け（6 例／群、ただし KHK7580 の 100 mg/kg 投与群だけは 8 例に投与し、6 例のみ評価）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）、KHK7580 の 10、30 及び 100 mg/kg 並びに陽性対照物質シクロホスファミド一水和物の 20 mg/kg を 1 日 1 回 2 日間反復経口投与し、染色体異常誘発性を評価した。最終投与後 24 時間で大腿骨から骨髄を採取し、骨髄塗沫標本を観察した。また、KHK7580 の 100 mg/kg 投与群にサテライト群を設け、全身曝露（4 例／群）を評価した。

その結果、試験期間を通じて死亡動物は認められなかった。一般状態観察では脱毛及び自発運動量の低下が 100 mg/kg 投与群で認められ、体重の低値がすべての KHK7580 投与群で認められた。骨髄塗沫標本の観察では、すべての KHK7580 投与群で小核を有する幼若赤血球比率の変化は認められなかった。一方、シクロホスファミド一水和物投与群では小核を有する幼若赤血球比率が増加した。TK 解析の結果、最終投与日における KHK7580 の 100 mg/kg 投与群の血漿中 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は各々113.6 µg/mL 及び 1347 µg·h/mL を示し、良好な全身曝露を示した。

以上より、KHK7580 はラットの骨髄細胞に染色体異常を誘発しないと判断した。

2.6.6.5 がん原性試験（TK 評価を含む）

ラット及び rasH2 マウスを用いたがん原性試験でがん原性を検討した。

2.6.6.5.1 長期がん原性試験

2.6.6.5.1.1 ラットを用いたがん原性試験（資料番号：4.2.3.4.1-1）

雌雄のラット（Crl:CD(SD)、6 週齢）を 5 群に振り分け（65 例／性／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 3 用量を 1 日 1 回 104 週間反復経口投与し、KHK7580 のがん原性を評価した。KHK7580 の投与量は、雄では 0.3、1.5 及び 6 mg/kg、雌では 0.1、0.6 及び 3 mg/kg とし、媒体投与群は 2 群設定した。本試験の最高投与量は、ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：4.2.3.2-3）の結果に基づいて設定した。検査項目として、生存率、一般状態観察（触診含む）、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査（Ca 及び IP のみ）、剖検及び病理組織学的検査を実施した。また、サテライト群を設けて、全群の全身曝露並びに血清中 Ca 濃度及び IP 濃度（4 例／性／群）を投与 52 週まで評価した。なお、3 mg/kg 投与群の雌で予想以上の体重増加抑制及び切歯欠損が認められたため、投与 47 週から投与量を 2 mg/kg/day に減じた。

生存率の低値が 6 mg/kg 投与群の雄で認められた。一方、雌ではいずれの投与量においても生存率に有意な差はなかった。主な死因は、媒体投与群を含む全群の雌雄において下垂体腫瘍であった。その他、すべての KHK7580 投与群の雄で原因不明の死亡、6 mg/kg 投与群の雄で心筋症による死亡が増加した。切歯欠損並びに体重及び摂餌量の低値（雌雄）、筋攣縮（雄のみ）が高用量投与群で認められ、体重及び摂餌量の低値（雄のみ）については中用量投与群で

も認められた。加えて、血清中 Ca の低値及び血清中 IP の高値はすべての KHK7580 投与群の雌雄で認められた。

腫瘍性変化及びその関連所見の発生状況を表 2.6.6.5.1.1-1に示す。媒体投与群との 2 群間比較において子宮内膜間質肉腫及び乳腺癌の発現頻度が 3/2 mg/kg 投与群の雌で有意に増加した。一方で、両腫瘍とも傾向検定では有意な差はなく、子宮内膜間質肉腫については発現頻度そのものが低いこと、乳腺癌については乳腺腫瘍全体（腺癌、腺腫又は線維腺腫を有する個体）及び過形成の発生頻度に影響がないことから、両腫瘍の発現頻度増加は被験物質投与の影響ではないと判断した。

表2.6.6.5.1.1-1 ラットを用いたがん原性試験における腫瘍性変化及びその関連所見

投与量 (mg/kg)		媒体		低用量		中用量		高用量	
		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3/2[a]
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価動物数		130	130	65	65	65	65	65	65
子宮	内膜間質肉腫[b]	NA	0	NA	1	NA	1	NA	3
	発現率	NA	0%	NA	1.5%	NA	1.5%	NA	4.6%
	p 値[c, d]	NA	0.0254	NA	0.1648	NA	0.1921	NA	0.0310
乳腺	腺癌[b]	1	35	0	25	0	23	0	33
	発現率	0.8%	26.9%	0%	38.5%	0%	35.4%	0%	50.8%
	p 値[c, e]	−	0.0082	−	0.0246	−	0.0800	−	0.0049
	腺腫[b]	1	17	0	13	0	10	1	7
	発現率	0.8%	13.1%	0%	20.0%	0%	15.4%	1.5%	10.8%
	線維腺腫[b]	0	48	1	25	2	22	2	20
	発現率	0%	36.9%	1.5%	38.5%	3.1%	33.8%	3.1%	30.8%
	腺癌/腺腫/線維腺腫[b, f]	2	88	1	50	2	41	3	45
	発現率	1.5%	67.7%	1.5%	76.9%	3.1%	63.1%	4.6%	69.2%
	過形成[b]	0	6	0	0	0	4	0	0
	発現率	0%	4.6%	0%	0%	0%	6.2%	0%	0%

−：陽性基準に満たず NA：適応外
a：投与 47 週から投与量を 2 mg/kg に減じた。
b：所見動物数
c：媒体投与群には傾向検定、KHK7580 投与群には媒体投与群との 2 群間比較を記載した。
d：稀にしか認められない腫瘍のため、傾向検定で 0.025 以下、媒体投与群との 2 群間比較で 0.05 以下を陽性基準とした。
e：通常よく認められる腫瘍のため、傾向検定で 0.005 以下、媒体投与群との 2 群間比較で 0.01 以下を陽性基準とした。
f：腺癌、腺腫又は線維腺腫を有する動物の総数

非腫瘍性変化として、剖検において精巣の軟化及び精巣上体の結節が 1.5 mg/kg 以上の投与群、精巣の小型が 6 mg/kg 投与群で認められ、病理組織学的検査における精細管の萎縮又は精巣上体の精子肉芽腫に対応していた。病理組織学的検査において、その他以下の所見に発現率の高値又は所見グレードの悪化が認められた。低用量（雄：0.3 mg/kg）以上の投与群では、雄で各種動脈の鉱質沈着が認められた。中用量（雄：1.5 mg/kg、雌：0.6 mg/kg）以上の投与群では、雌雄で甲状腺のびまん性 C 細胞過形成及び副甲状腺の萎縮、雄で精巣上体の鉱質沈着、精巣及び精巣上体の精子うっ滞、雌で各種動脈の鉱質沈着、心筋症、腎臓の鉱質沈着／尿路上皮過形成並びに大腿骨及び胸骨の海綿骨増殖が認められた。高用量（雄：6 mg/kg、雌：3 mg/kg）投与群では、雄で前胃及び腺胃筋層の鉱質沈着、心筋症並びに腎臓の鉱質沈着／尿路上皮過形成、精巣の精細管萎縮、精巣上体の精子肉芽腫、雌で眼球の白内障及び網膜萎縮が認められた。これらの所見は、薬理作用による直接的影響又は二次的影響に基づくと判断した。

TK 解析の結果を表 2.6.6.5.1.1-2に示す。C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雌雄ともに投与量の増加に伴った上昇及び増加が認められた。投与 182 及び 364 日の全身曝露は、投与 1 日に比べ、雄では

減少し、雌では増加した。投与 364 日の全身曝露は、投与 182 日に比べ、雌雄ともに同程度又は減少した。

表2.6.6.5.1.1-2 ラットを用いたがん原性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/day)		低用量		中用量		高用量	
		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3/2[a]
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (μg/mL)[b]	投与 1 日	0.3713	0.1561	1.839	1.132	6.777	4.885
	投与 182 日	0.1727	0.3153	1.054	2.015	3.402	9.061
	投与 364 日	0.2147	0.2674	0.7356	1.616	2.615	6.000
AUC_{0-24} (μg·h/mL)[b]	投与 1 日	4.491	2.195	22.72	13.06	81.61	65.93
	投与 182 日	1.390	4.857	7.083	30.82	30.98	163.1
	投与 364 日	1.545	4.343	4.645	24.01	19.93	108.6

a：投与 47 週から投与量を 2 mg/kg に減じた。
b：4 例の平均値

血清中 Ca 濃度の結果を表 2.6.6.5.1.1-3に示す。投与 1、182 及び 364 日における血清中 Ca 濃度はすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 2 及び 8 時間に低下し、投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。

表2.6.6.5.1.1-3 ラットを用いたがん原性試験における血清中 Ca 濃度

投与量 (mg/kg/day)		媒体		低用量		中用量		高用量	
		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3/2[a]
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		Ca (mg/dL)[b]							
投与 1 日	投与前	10.98	11.50	10.93	11.58	11.10	11.50	11.43	11.48
	投与後 2 時間	10.95	11.08	9.75	10.20	8.13	9.38	7.83	8.25
	投与後 8 時間	10.50	10.83	9.10	9.60	7.85	8.60	7.13	7.68
	投与後 24 時間	11.25	11.18	10.60	11.23	9.70	10.10	8.28	9.35
投与 182 日	投与後 2 時間	10.65	11.10	9.38	10.03	7.60	7.85	7.00	5.83
	投与後 8 時間	10.88	11.15	9.93	10.18	8.13	8.15	7.03	5.98
	投与後 24 時間	10.88	11.10	10.15	10.80	9.40	8.88	8.30	6.15
投与 364 日	投与後 2 時間	10.43	11.08	8.85	10.00	7.33	8.53	6.98	7.30
	投与後 8 時間	10.35	11.23	9.05	10.00	7.83	8.68	6.80	7.40
	投与後 24 時間	10.55	11.20	9.58	10.55	8.90	9.65	8.00	8.08

a：投与 47 週から投与量を 2 mg/kg に減じた。
b：各時点 4 例の平均値

血清中 IP 濃度の結果を表 2.6.6.5.1.1-4に示す。投与 1、182 及び 364 日における中用量以上の投与群の雌雄では、血清中 IP 濃度は投与後 8 及び 24 時間で上昇した。加えて、投与後 182 及び 364 日における高用量投与群の雌雄では血清中 IP 濃度が投与後 2 時間でも上昇した。

表2.6.6.5.1.1-4　ラットを用いたがん原性試験における血清中 IP 濃度

投与量 (mg/kg/day)		媒体		低用量		中用量		高用量	
		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3/2[a]
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		IP (mg/dL)[b]							
投与 1 日	投与前	9.03	8.43	8.83	9.00	9.13	8.58	9.23	9.00
	投与後 2 時間	10.08	9.63	9.38	9.95	8.68	9.05	8.35	8.53
	投与後 8 時間	11.15	11.20	11.95	10.98	13.28	12.00	14.00	12.28
	投与後 24 時間	9.13	9.08	9.68	9.15	12.13	10.63	13.20	12.88
投与 182 日	投与後 2 時間	5.53	5.65	5.98	6.35	7.13	7.45	9.18	11.18
	投与後 8 時間	7.48	6.75	7.95	8.53	10.48	11.50	12.53	14.85
	投与後 24 時間	6.13	5.88	6.18	6.40	7.90	8.40	10.23	12.25
投与 364 日	投与後 2 時間	5.65	5.45	6.08	6.20	7.53	6.45	9.48	10.43
	投与後 8 時間	6.13	6.75	7.60	6.98	10.05	9.18	11.60	11.53
	投与後 24 時間	5.60	5.18	5.95	5.90	9.33	7.40	9.53	10.48

a：投与 47 週から投与量を 2 mg/kg に減じた。
b：各時点 4 例の平均値

以上より、ラットを用いたがん原性試験では、がん原性は認められなかった。

2.6.6.5.2　短期又は中期がん原性試験

2.6.6.5.2.1　rasH2 マウスを用いたがん原性予備試験の用量設定試験（資料番号：参考 4.2.3.4.2-1）

本試験は rasH2 マウスの非遺伝子組換え同腹仔を用いたがん原性予備試験の用量設定を目的として実施した。雌雄のマウス（Crlj:CD1(ICR)、6 週齢）を 4 群に振り分け（6 例／性／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 10、30 及び 100 mg/kg を 1 日 1 回 2 週間反復経口投与した。また、サテライト群を設けて、KHK7580 投与群の全身曝露（3 例／性／群／時点）並びに全群の血漿中 Ca 濃度及び IP 濃度（3 例／性／群／時点）を評価した。

試験期間を通じて死亡例は認められなかった。KHK7580 の薬理作用に基づく血漿中 Ca の低値及び血漿中 IP の高値が 10 又は 30 mg/kg から認められた。更に、30 mg/kg 以上の投与群で血漿中 Cl の低値、副甲状腺の明主細胞増加、100 mg/kg 投与群で血漿中 K の低値、血漿中のアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、ALT 及び血中尿素窒素（BUN）の高値、肝臓重量及び脾臓重量の高値並びに心筋の鉱質沈着が両性又は片性で認められた。

全身曝露は雌雄ともに投与量の増加に伴って増加し、投与 14 日における 100 mg/kg 投与群の $AUC_{0\text{-}24}$ は雄で 725.7 μg·h/mL、雌で 708.2 μg·h/mL であった。また、血漿中 Ca 濃度及び IP 濃度も雌雄ともに投与量の増加に伴って低下及び上昇し、投与 14 日の 100 mg/kg 投与群における血漿中 Ca 濃度の最低値及び血漿中 IP 濃度の最高値は、それぞれ雄で 5.5 及び 13.1 mg/dL、雌で 5.5 及び 15.4 mg/dL であった（媒体投与群：雄、9.6 及び 5.2 mg/dL；雌、9.5 及び 6.5 mg/dL）。

以上より、本試験では KHK7580 投与による影響はいずれも軽微であったため、rasH2 マウスの非遺伝子組換え同腹仔を用いたがん原性予備試験の最高投与量には、雌雄ともに 100 mg/kg/day が適切と判断した。

2.6.6.5.2.2 rasH2 マウスを用いたがん原性試験の用量設定試験（資料番号：4.2.3.4.2-2）

本試験は rasH2 マウスを用いたがん原性試験の用量設定を目的として実施した。雌雄のマウス（Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl マウスの非遺伝子組換え同腹仔、8 週齢）を 4 群に振り分け（10 例／性／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 10、30 及び 100 mg/kg を 1 日 1 回 4 週間反復経口投与した。本試験の最高投与量は、rasH2 マウスを用いたがん原性予備試験の用量設定試験（資料番号：参考 4.2.3.4.2-1）の結果に基づいて設定した。検査項目として、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、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。また、サテライト群を設けて、全群の全身曝露並びに血漿中 Ca 濃度及び IP 濃度（3 例／性／群／時点）を評価した。

試験期間を通じて全群に死亡例は認められなかった。筋攣縮及び体重減少（一過性含む）が 30 及び 100 mg/kg で認められ、体重増加抑制が 100 mg/kg 投与群の雌雄で認められた。特に、100 mg/kg 投与群の雌における体重増加抑制は顕著であった。KHK7580 の薬理作用に基づく Ca 濃度の低値及び IP 濃度の高値がすべての KHK7580 投与群の雌雄で認められた。更に、10 mg/kg 以上の投与群で、MCV 及び平均赤血球ヘモグロビン量（MCH）の低値、血漿中の K 及び Cl の低値、血漿中 Na の高値、腎臓の尿細管再生、30 mg/kg 以上の投与群で摂餌量の低値、赤血球数及びヘモグロビン（Hb）の高値、血漿中 BUN の低値、血漿中の AST、ALT 及び CK の高値、骨髄の脂肪浸潤、卵巣及び子宮の萎縮、膣の粘液細胞化、100 mg/kg 投与群でヘマトクリット（Ht）、MCHC、血小板数及び好中球数の高値、血漿中のクレアチニン（Cr）及び LDH の高値、脾臓重量の低値、肝臓重量の高値、胸腺及び子宮の小型並びに副腎の X 帯退縮及び膣の萎縮が両性又は片性で認められた。

TK 解析の結果を表 2.6.6.5.2.2-1に示す。C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雌雄ともに投与量の増加に伴った上昇及び増加が認められ、明確な雌雄差はなかった。投与 1 日と投与 27 日の AUC_{0-24} はすべての KHK7580 投与群の雌雄で同程度であった。

表2.6.6.5.2.2-1 rasH2 マウスを用いたがん原性試験の用量設定試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/day)		10		30		100	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (μg/mL)[a]	投与 1 日	7.979	9.703	20.71	23.86	51.48	64.43
	投与 27 日	7.094	7.177	21.54	21.64	56.52	65.32
AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	投与 1 日	35.10	37.10	149.1	166.4	586.2	469.5
	投与 27 日	33.46	37.39	135.7	220.0	517.9	671.2

a：3 例の平均値

血漿中 Ca 濃度の結果を表 2.6.6.5.2.2-2に示す。血漿中 Ca 濃度がすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 0.5 時間から低下し、投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。

表2.6.6.5.2.2-2 rasH2 マウスを用いたがん原性試験の用量設定試験における血漿中 Ca 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0		10		30		100	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		Ca (mg/dL)[a]							
投与 1 日	投与後 0.5 時間	NT	NT	7.7	7.7	7.6	7.7	7.8	7.7
	投与後 1 時間	NT	NT	6.8	6.6	6.9	7.1	6.9	6.9
	投与後 2 時間	NT	NT	6.3	6.5	6.2	6.3	6.3	6.3
	投与後 4 時間	NT	NT	5.7	6.0	5.3	5.6	5.2	5.4
	投与後 8 時間	NT	NT	6.7	6.5	5.3	5.1	5.0	5.0
	投与後 24 時間	8.9	8.9	8.1	7.4	6.9	6.9	5.8	6.0
投与 27 日	投与前	NT	NT	7.2	5.7	6.1	5.1	5.4	4.6
	投与後 0.5 時間	NT	NT	6.3	5.4	5.1	4.4	4.5	4.3
	投与後 1 時間	NT	NT	6.0	5.0	5.1	4.5	4.7	4.3
	投与後 2 時間	NT	NT	5.4	5.1	4.8	4.4	4.6	4.2
	投与後 4 時間	NT	NT	5.1	4.7	4.5	4.3	4.3	4.3
	投与後 8 時間	NT	NT	5.6	5.1	5.0	4.3	4.6	4.4
	投与後 24 時間	8.5	8.5	7.3	6.0	6.2	5.1	5.8	4.7

NT：検査せず
a：各時点 3 例の平均値

血漿中 IP 濃度の結果を表 2.6.6.5.2.2-3に示す。血漿中 IP 濃度がすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 0.5～1 時間から上昇し、投与後 24 時間に回復又は回復傾向を示した。

表2.6.6.5.2.2-3 rasH2 マウスを用いたがん原性試験の用量設定試験における血漿中 IP 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0		10		30		100	
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		IP (mg/dL)[a]							
投与 1 日	投与後 0.5 時間	NT	NT	5.1	5.7	4.5	5.1	5.0	5.0
	投与後 1 時間	NT	NT	5.9	7.3	5.1	6.5	5.9	6.7
	投与後 2 時間	NT	NT	8.1	8.1	7.7	9.6	7.6	8.9
	投与後 4 時間	NT	NT	12.1	11.9	13.5	13.7	13.2	14.8
	投与後 8 時間	NT	NT	8.1	7.6	11.7	14.9	12.1	15.2
	投与後 24 時間	4.7	5.4	6.6	7.2	8.1	8.8	10.2	10.9
投与 27 日	投与前	NT	NT	5.8	9.1	8.1	11.3	10.4	12.1
	投与後 0.5 時間	NT	NT	6.3	9.7	8.1	13.5	10.4	15.1
	投与後 1 時間	NT	NT	5.6	10.8	7.7	13.2	11.3	13.9
	投与後 2 時間	NT	NT	7.3	11.1	9.7	14.1	11.3	13.7
	投与後 4 時間	NT	NT	9.0	12.8	12.3	13.1	10.6	13.6
	投与後 8 時間	NT	NT	8.2	11.5	9.4	13.1	10.3	13.1
	投与後 24 時間	4.3	4.7	5.9	8.6	7.4	11.7	9.1	12.3

NT：検査せず
a：各時点 3 例の平均値

以上より、本試験では体重増加抑制が 100 mg/kg 投与群の雌雄で認められ、特に雌で顕著であったため、rasH2 マウスを用いたがん原性試験の最高投与量には、雄では 100 mg/kg/day 以下、雌では 100 mg/kg/day 未満が適切と判断した。

2.6.6.5.2.3 rasH2 マウスを用いたがん原性試験（資料番号：4.2.3.4.2-3）

雌雄のマウス（Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl マウス、8 週齢）を 4 群に振り分け（25 例／性／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 3 用量を 1 日 1 回 26 週間反復経口投与し、KHK7580 のがん原性を評価した。KHK7580 の投与量は、雄では 3、10 及び 30 mg/kg、雌では 2、6 及び 20 mg/kg とした。また、陽性対照群（15 例／性）を設定し、N-メチル-N-ニトロソ尿素（MNU、媒体：クエン酸緩衝液）の 75 mg/kg を投与 1 日に単回腹腔内投与した。本試験の最高投与量は、rasH2 マウスを用いたがん原性試験の用量設定試験（資料番号：4.2.3.4.2-2）の結果に基づいて設定した。検査項目として、生存率、一般状態観察（触診含む）、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査（Ca 及び IP のみ）、剖検及び病理組織学的検査を実施した。また、サテライト群を設けて、陽性対照群を除く全群の全身曝露並びに血漿中 Ca 濃度及び IP 濃度（3 例／性／群／時点）を評価した。なお、サテライト群には非遺伝子組換え同腹仔（Jic:CB6F1-nonTg rasH2@Jcl マウス）を用いた。

生存率に対する被験物質の影響は認められなかった。血液生化学的検査では、Ca の低値及び IP の高値が低用量群の雄を除くすべての KHK7580 投与群で認められ、高用量投与群では溶媒投与群に比べ、血漿中 Ca 濃度は雄で 27%、雌で 38%低く、血漿中 IP 濃度は雄で 58%、雌で 65%高かった。更に、高用量群では雌雄で筋攣縮及び体重増加抑制による体重の低値（最終体重：雌雄ともに溶媒投与群の 91%）、雌で摂餌量の低値が認められた。以上の所見から、本試験における最高用量は適切であると判断した。

MNU 投与群（陽性対照群）では、雄 10／15 例及び雌 9／15 例で悪性リンパ腫、雌雄全例で前胃における乳頭腫又は扁平上皮細胞癌が認められた。両腫瘍とも高い発生率であったため、本試験に用いた動物の発がん感受性は十分高いと判断した。

腫瘍性変化として、触診、血液学的検査、剖検及び病理組織学的検査では、腫瘍の発生頻度に対する被験物質の影響は認められなかった。

非腫瘍性変化として、前胃の扁平上皮細胞過形成が認められ、剖検時の結節及び隆起巣に関連していた。その他、副腎、骨髄、眼、心臓、腎臓及び生殖器官で病理組織学的所見が認められたが、大部分がラットを用いた反復投与毒性試験及び rasH2 マウスを用いたがん原性試験の用量設定試験で認められた所見と同様であり、低 Ca 血症及び高 IP 血症の影響又は状態悪化による二次性変化と判断した。

TK 解析の結果を表 2.6.6.5.2.3-1に示す。C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雌雄ともに投与量の増加に伴った上昇及び増加が認められ、投与 1 日と投与 181 日の C_{max} 及び AUC_{0-24} は 30 mg/kg 投与群の雄を除くすべての KHK7580 投与群の雌雄でわずかな増加が認められた。30 mg/kg 投与群の雄では、投与 1 日と投与 181 日の C_{max} 及び AUC_{0-24} は同程度であった。

表2.6.6.5.2.3-1 rasH2 マウスを用いたがん原性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/day)		低用量		中用量		高用量	
		3	2	10	6	30	20
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌
C_{max} (μg/mL)[a]	投与 1 日	1.466	1.135	5.460	3.413	15.23	11.00
	投与 181 日	2.858	2.218	9.791	6.031	24.54	26.75
AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	投与 1 日	5.902	4.672	25.25	14.13	109.4	58.35
	投与 181 日	12.04	10.11	47.31	32.74	147.2	131.7

a：3 例の平均値

血漿中 Ca 濃度の結果を表 2.6.6.5.2.3-2に示す。血漿中 Ca 濃度がすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 4 時間で最も低くなり、投与後 24 時間で回復又は回復傾向を示した。

表2.6.6.5.2.3-2 rasH2 マウスを用いたがん原性試験における血漿中 Ca 濃度

投与量 (mg/kg/day)		媒体		低用量		中用量		高用量	
		0		3	2	10	6	30	20
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		Ca (mg/dL)[a]							
投与 1 日	投与後 4 時間	NT	NT	6.5	6.9	5.5	6.6	5.1	5.7
	投与後 8 時間	NT	NT	7.1	7.1	6.4	6.7	5.2	5.8
	投与後 24 時間	8.7	8.7	8.5	8.6	7.7	7.4	6.5	6.3
投与 181 日	投与後 4 時間	NT	NT	5.9	5.5	4.9	4.9	4.3	4.0
	投与後 8 時間	NT	NT	6.8	6.3	5.7	5.1	4.9	4.3
	投与後 24 時間	8.5	8.4	8.1	7.1	6.7	5.9	5.4	5.0

NT：検査せず
a：各時点 3 例の平均値

血漿中 IP 濃度の結果を表 2.6.6.5.2.3-3に示す。血漿中 IP 濃度がすべての KHK7580 投与群の雌雄で投与後 4 又は 8 時間で最も高くなり、投与後 24 時間で回復又は回復傾向を示した。

表2.6.6.5.2.3-3 rasH2 マウスを用いたがん原性試験における血漿中 IP 濃度

投与量 (mg/kg/day)		媒体		低用量		中用量		高用量	
		0		3	2	10	6	30	20
性		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
		IP (mg/dL)[a]							
投与 1 日	投与後 4 時間	NT	NT	9.0	7.9	11.3	9.0	14.1	12.5
	投与後 8 時間	NT	NT	6.1	6.5	6.9	7.7	10.7	8.5
	投与後 24 時間	4.8	6.6	5.5	6.6	5.9	6.7	8.4	9.3
投与 181 日	投与後 4 時間	NT	NT	8.7	11.9	11.1	10.8	12.1	13.3
	投与後 8 時間	NT	NT	6.5	9.2	8.5	12.0	10.1	12.8
	投与後 24 時間	4.2	4.9	5.1	7.5	6.4	8.7	8.3	10.0

NT：検査せず
a：各時点 3 例の平均値

以上より、rasH2 マウスを用いたがん原性試験では、がん原性は認められなかった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及び TK 評価を含む）

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験並びにラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験で生殖発生毒性を検討した。

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（資料番号：4.2.3.5.1-1）

雌雄のラット（Crl:CD(SD)、10 週齢）を 4 群に振り分け（20 例／性／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 3 用量を 1 日 1 回反復経口投与し、受胎能及び着床までの初期胚発生に及ぼす影響を検討した。KHK7580 の用量は、雄では 0.3、1.5 及び 6 mg/kg、雌では 0.1、0.6 及び 3 mg/kg とした。本試験の最高投与量は、ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒

性試験（資料番号：参考 4.2.3.2-1）並びにラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（資料番号：4.2.3.2-2）の結果に基づいて設定した。投与期間について、雄は交配 2 週間前から交配期間を通して剖検前日まで、雌は交配 2 週間前から妊娠 7 日までとした。交配は投与 15 日に開始し、最長 2 週間実施した。雌の交尾確認日を妊娠 0 日とし、妊娠 13 日に帝王切開を実施した。雄は、帝王切開時の検査終了後（投与 43 日）に剖検を実施した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、剖検、性周期検査（発情回数、発情周期）、生殖能力検査（交尾所要日数、交尾数、授／受胎数）及び帝王切開時検査（黄体数、着床数、着床前／後胚損失率、生存胚数）を実施した。

その結果、試験期間を通じて全群で死亡動物は認められなかった。

雄では、6 mg/kg 投与群で体重の低値（体重減少を含む）及び摂餌量の低値が認められた。

雌では、3 mg/kg 投与群で体重の低値（体重減少を含む）、摂餌量の低値、発情回数の減少傾向、発情周期の延長傾向、黄体数、着床数及び生存胚数の減少が認められた。発情回数の減少傾向、発情周期の延長傾向及び黄体数の減少は、体重及び摂餌量の低値に基づく二次的な影響と判断した。また、着床数及び生存胚数の減少は、着床前後の胚損失率に変化がなかったため、黄体数の減少に基づく影響と判断した。

以上より、無毒性量は、親動物の一般毒性に対して雄では 1.5 mg/kg/day 及び雌では 0.6 mg/kg/day、親動物の生殖及び初期胚の発生に及ぼす影響に対して雄では 6 mg/kg/day 及び雌では 0.6 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験（資料番号：4.2.3.5.2-1）

妊娠ラット（Crl:CD(SD)、11～12 週齢）を 4 群に振り分け（6 又は 7 例／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 0.3、1.5 及び 6 mg/kg を 1 日 1 回反復経口投与し、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量を検討した。本試験の最高投与量は、ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験（資料番号：参考 4.2.3.2-1）の結果に基づいて設定した。投与期間は妊娠 6～17 日（12 日間：胎児器官形成期）とし、妊娠 20 日に帝王切開を実施した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、剖検及び子宮・卵巣の観察（黄体数、着床数、着床前／後胚死亡率、生存胎児数、胎児性比、胎児重量、胎盤重量及び胎児外表検査）を実施した。

その結果、母動物では、試験期間を通じて全群で死亡は認められず、1.5 mg/kg 以上の投与群で体重減少又は体重増加抑制及び摂餌量の低値、6 mg/kg 投与群で脱毛及び筋攣縮が認められた。胎児でも体重の低値傾向が 1.5 mg/kg 以上の投与群で認められた。

以上より、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験における最高用量は、母動物の一般毒性及び胚・胎児発生への明確な毒性が予想される 3 mg/kg/day が適切と考えられた。

2.6.6.6.2.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（資料番号：4.2.3.5.2-2）

妊娠ラット（Crl:CD(SD)、11～12 週齢）を 4 群に振り分け（20 例／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 0.3、1 及び 3 mg/kg を 1 日 1 回反復経口投与し、胚・胎児発生に及ぼす影響を検討した。本試験の最高投与量は、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験（資料番号：4.2.3.5.2-1）の結果に基づいて設定した。投与期間は、妊娠 6～17

日の期間（12 日間：胎児器官形成期）とし、妊娠 20 日に帝王切開を実施した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、剖検及び子宮・卵巣の観察（黄体数、着床数、着床後胚死亡率、生存胎児数、胎児性比、胎児重量、胎盤重量、胎児外表検査、胎児内臓検査及び胎児骨格検査）を実施した。また、各群にサテライト群を設け、全身曝露（4 例／群、予備動物 1 例含む）並びに血漿中 Ca 濃度及び IP 濃度（4 例／群、予備動物 1 例含む）を評価した。

その結果、母動物では、試験期間を通じて全群で死亡は認められず、1 mg/kg 以上の投与群で体重減少又は体重増加抑制及び摂餌量の低値が認められた。

胎児では、体重の低値が 1 mg/kg 以上の投与群で認められ、内臓変異（肺の変色）及び骨格変異（14 短小過剰肋骨及び胸骨分節二分骨化の発生頻度増加並びに中足骨骨化数の低値）が 3 mg/kg 投与群で認められたが、催奇形性を示唆する異常の増加は認められなかった。

TK 解析の結果を表 2.6.6.6.2.2-1に示す。血漿中 KHK7580 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、投与量の増加に伴った上昇及び増加が認められ、妊娠 6 及び 17 日の C_{max} 及び AUC_{0-24} はすべての KHK7580 投与群で同程度であった。

表2.6.6.6.2.2-1 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/day)		0.3	1	3
C_{max} (μg/mL)[a]	妊娠 6 日	0.5804	2.180	5.755
	妊娠 17 日	0.5273	1.916	6.710
AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	妊娠 6 日	7.521	28.19	89.21
	妊娠 17 日	7.037	30.34	105.9

a：3 例の平均値

血漿中 Ca 濃度の結果を表 2.6.6.6.2.2-2に示す。血漿中 Ca 濃度がすべての KHK7580 投与群で投与後 2 時間から低下し、投与後 24 時間に回復傾向を示した。

表2.6.6.6.2.2-2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験における血漿中 Ca 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
		Ca (mg/dL)[a]			
妊娠 6 日	投与前	11.0	10.8	11.1	11.0
	投与後 2 時間	11.0	9.3	8.6	7.9
	投与後 8 時間	10.8	9.3	8.5	7.7
	投与後 24 時間	11.0	9.8	9.4	8.3
妊娠 17 日	投与前	11.3	9.8	9.6	8.1
	投与後 2 時間	11.1	8.8	8.2	7.3
	投与後 8 時間	11.0	8.6	8.1	7.0
	投与後 24 時間	10.8	9.4	9.3	8.0

a：各時点 3 例の平均値

血漿中 IP 濃度の結果を表 2.6.6.6.2.2-3に示す。血漿中 IP 濃度がすべての KHK7580 投与群で投与後 8 時間から上昇し、投与後 24 時間に回復傾向を示した。

表2.6.6.6.2.2-3 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験における血漿中 IP 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
		IP (mg/dL)[a]			
妊娠 6 日	投与前	6.3	6.7	7.1	6.5
	投与後 2 時間	7.4	6.7	6.6	5.7
	投与後 8 時間	7.8	10.2	10.8	11.0
	投与後 24 時間	7.1	8.2	9.6	9.4
妊娠 17 日	投与前	7.0	8.8	9.8	10.9
	投与後 2 時間	7.5	9.1	9.6	11.5
	投与後 8 時間	7.5	10.4	11.0	12.9
	投与後 24 時間	6.8	9.0	10.4	11.8

a：各時点 3 例の平均値

以上より、無毒性量は母動物及び胚・胎児発生に関していずれも 0.3 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.6.2.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験（資料番号：4.2.3.5.2-3）

妊娠ウサギ（Kbl:NZW、17～18 週齢）を 4 群に振り分け（4 又は 5 例／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 0.1、0.3 及び 1 mg/kg を 1 日 1 回反復経口投与し、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量を検討した。投与期間は、妊娠 6～18 日の期間（13 日間：胎児器官形成期）とし、妊娠 28 日に帝王切開を実施した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、剖検及び子宮・卵巣の観察（黄体数、着床数、着床後胚死亡率、生存胎児数、胎児性比、胎児重量、胎盤重量及び胎児外表検査）を実施した。また、全群の全身曝露（3 例／群）並びに血漿中 Ca 濃度及び IP 濃度（1 又は 2 例／群）を評価した。

その結果、母動物では、試験期間を通じて全群で死亡は認められず、1 mg/kg 投与群で糞量の減少、体重減少又は体重増加抑制及び摂餌量の低値が認められた。同様の変化は、程度が弱いながらも 0.3 mg/kg 投与群でも認められた。胎児では KHK7580 投与の影響は認められなかった。

TK 解析の結果を表 2.6.6.6.2.3-1に示す。血漿中 KHK7580 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、投与量の増加に伴った上昇及び増加が認められ、妊娠 6 及び 18 日の C_{max} 及び AUC_{0-24} はすべての KHK7580 投与群で同程度であった。

表2.6.6.6.2.3-1 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/day)		0.1	0.3	1
C_{max} (μg/mL)[a]	妊娠 6 日	0.08111	0.3036	0.9680
	妊娠 18 日	0.08757	0.3363	1.129
AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	妊娠 6 日	0.9521	3.352	13.91
	妊娠 18 日	1.121	4.072	16.77

a：3 例の平均値

血漿中 Ca 濃度の結果を表 2.6.6.6.2.3-2に示す。媒体投与群に比べ、すべての KHK7580 投与群で血漿中 Ca 濃度の低値が認められた。

表2.6.6.6.2.3-2 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験における血漿中 Ca 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0	0.1	0.3	1
		Ca (mg/dL)[a]			
妊娠 6 日	投与後 1 時間	14.1	11.8	11.8	11.3
	投与後 2 時間	13.8	11.9	10.9	10.2
	投与後 4 時間	13.6	12.1	11.0	10.1
	投与後 8 時間	13.8	12.4	10.7	9.7
	投与後 24 時間	13.1	12.9	11.7	10.4
妊娠 18 日	投与前	13.3	13.0	11.8	9.6
	投与後 1 時間	12.9	11.5	10.5	9.0
	投与後 2 時間	13.1	11.2	9.9	8.5
	投与後 4 時間	13.2	11.0	9.7	8.4
	投与後 8 時間	13.4	11.6	9.8	8.3
	投与後 24 時間	13.2	11.7	11.5	9.8

a：0 及び 0.1 mg/kg 投与群の各時点：1 例の値、0.3 及び 1 mg/kg 投与群の各時点：2 例の平均値

血漿中 IP 濃度の結果を表 2.6.6.6.2.3-3に示す。妊娠 18 日では、媒体投与群に比べ、0.3 mg/kg 以上の投与群で血漿中 IP 濃度の高値が認められた。

表2.6.6.6.2.3-3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験における血漿中 IP 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0	0.1	0.3	1
		IP (mg/dL)[a]			
妊娠 6 日	投与後 1 時間	4.3	3.9	4.6	3.4
	投与後 2 時間	4.0	4.0	4.2	2.9
	投与後 4 時間	4.5	3.9	4.7	3.8
	投与後 8 時間	4.7	4.6	5.3	4.7
	投与後 24 時間	4.0	4.2	5.0	4.5
妊娠 18 日	投与前	4.2	4.4	6.1	6.5
	投与後 1 時間	4.1	4.1	5.6	6.8
	投与後 2 時間	3.9	4.0	5.6	6.4
	投与後 4 時間	4.2	4.2	5.8	6.1
	投与後 8 時間	3.4	4.4	5.0	6.6
	投与後 24 時間	4.1	4.1	6.2	6.2

a：0 及び 0.1 mg/kg 投与群の各時点：1 例の値、0.3 及び 1 mg/kg 投与群の各時点：2 例の平均値

以上より、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験における最高用量は、母動物への過度な摂餌抑制を起こさず、かつ明確な一般毒性学的影響が予想される 0.6 mg/kg/day が適切と判断した。

2.6.6.6.2.4 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（資料番号：4.2.3.5.2-4）

妊娠ウサギ（Kbl:NZW、17～19 週齢）を 4 群に振り分け（19 又は 21 例／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 0.1、0.25 及び 0.6 mg/kg を 1 日 1 回反復経口投与し、胚・胎児発生に及ぼす影響を検討した。本試験の最高投与量は、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験（資料番号：4.2.3.5.2-3）の結果に基づいて設定した。投与期間は、妊娠 6～18 日の期間（13 日間：胎児器官形成期）とし、妊娠 28 日に帝王切開を実施した。検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、剖検及び子宮・卵巣の観察（黄体数、

着床数、着床後胚死亡率、生存胎児数、胎児性比、胎児重量、胎盤重量、胎児外表検査、胎児内臓検査及び胎児骨格検査）を実施した。また、全群の全身曝露（3 例／群）並びに血漿中 Ca 濃度及び IP 濃度（3 例／群）を評価した。

その結果、母動物では、試験期間を通じて全群で死亡は認められず、0.6 mg/kg 投与群で糞量の減少、体重増加抑制及び摂餌量の低値が認められた。胎児では、いずれの検査項目においても KHK7580 投与の影響は認められなかった。

TK 解析の結果を表 2.6.6.6.2.4-1に示す。血漿中 KHK7580 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、投与量の増加に伴った上昇及び増加が認められ、妊娠 6 及び 18 日の C_{max} 及び AUC_{0-24} はすべての KHK7580 投与群で同程度であった。

表2.6.6.6.2.4-1　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg/day)		0.1	0.25	0.6
C_{max} (μg/mL)[a]	妊娠 6 日	0.1152	0.2062	0.5085
	妊娠 18 日	0.08897	0.3028	0.6817
AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	妊娠 6 日	1.227	2.747	7.135
	妊娠 18 日	0.9113	2.996	8.334

a：3 例の平均値

血漿中 Ca 濃度の結果を表 2.6.6.6.2.4-2に示す。血漿中 Ca 濃度がすべての KHK7580 投与群で投与後 2 時間から低下し、投与後 24 時間に回復傾向を示した。

表2.6.6.6.2.4-2　ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験における血漿中 Ca 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0	0.1	0.25	0.6
		Ca (mg/dL)[a]			
妊娠 6 日	投与前	13.5	13.7	13.9	13.4
	投与後 2 時間	13.2	12.2	11.9	11.5
	投与後 8 時間	13.1	12.6	11.9	10.4
	投与後 24 時間	13.0	12.6	12.5	10.8
妊娠 18 日	投与前	13.5	12.6	12.5	10.5
	投与後 2 時間	12.9	11.8	10.7	9.7
	投与後 8 時間	13.4	12.1	10.7	9.7
	投与後 24 時間	13.1	12.6	12.1	10.0

a：各時点 3 例の平均値

血漿中 IP 濃度の結果を表 2.6.6.6.2.4-3に示す。妊娠 6 日では、血漿中 IP 濃度がすべての KHK7580 投与群で投与後 8 時間から上昇し、投与後 24 時間に回復傾向を示した。妊娠 18 日では、投与前から媒体投与群に比べ KHK7580 投与群で血漿中 IP 濃度の高値が認められたが、投与後に変化は認められなかった。

表2.6.6.6.2.4-3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験における血漿中 IP 濃度

投与量 (mg/kg/day)		0	0.1	0.25	0.6
		IP (mg/dL)[a]			
妊娠 6 日	投与前	4.3	4.2	4.3	4.3
	投与後 2 時間	4.2	4.3	4.0	4.4
	投与後 8 時間	4.1	4.9	5.6	5.7
	投与後 24 時間	3.5	4.3	4.9	4.8
妊娠 18 日	投与前	4.4	4.7	5.8	6.9
	投与後 2 時間	4.0	4.9	5.5	6.8
	投与後 8 時間	3.8	5.1	6.0	6.9
	投与後 24 時間	3.8	4.6	5.5	6.5

a：各時点 3 例の平均値

以上より、無毒性量は母動物に関して 0.25 mg/kg/day、胚・胎児発生に関して 0.6 mg/kg/day と判断した。

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.6.6.3.1 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（資料番号：4.2.3.5.3-1）

妊娠ラット（Crl:CD(SD)、11～12 週齢）を 4 群に振り分け（19 又は 20 例／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 0.3、1 及び 3 mg/kg を 1 日 1 回反復経口投与し、出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に及ぼす影響を検討した。本試験の最高投与量は、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（資料番号：4.2.3.5.2-2）の結果に基づいて設定した。投与期間は、妊娠 6 日から哺育 20 日までの期間とした。母動物はすべて分娩させ、哺育 21 日まで哺育させた後に剖検を実施した。出生児は生後 4 及び 21 日に匹数調整を実施し、最終検査後に剖検（帝王切開含む）を実施した。母動物の検査項目として、一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、分娩状態観察及び剖検を実施し、出生児の検査項目として、一般状態観察、体重測定、血漿中 Ca 濃度測定、眼科学的検査、身体発達（耳介展開、切歯萌出、眼瞼開裂、膣開口、陰茎亀頭包皮分離）、感覚・反射検査（正向反射、自由落下反射、瞳孔反射、Preyer 反射、痛覚反射）、行動発達検査（オープンフィールド検査、複式水 T 迷路検査）、生殖機能検査（授／受胎能検査：交尾所要日数、交尾率、授／受胎率、帝王切開時検査：黄体数、着床数、着床前／後胚死亡率、生存胚数）、脳重量測定及び剖検を実施した。

その結果、母動物では試験期間を通じて死亡動物は認められず、一般状態観察及び哺育状況に異常は認められなかった。1 mg/kg 以上の投与群では、全児死産を含む全児死亡、妊娠期間における体重増加抑制、哺育期間前半における体重の低値並びに妊娠期間及び哺育期間における摂餌量の低値が認められた。3 mg/kg 投与群では、妊娠期間における体重の低値、妊娠期間の延長、出産率の低値及び子宮内受胎産物（哺育 1 日で全児死亡した 3 mg/kg 投与群の 2/6 例）が認められた。

離乳前の児では、性比、外表検査、身体発達（耳介展開、切歯萌出及び眼瞼開裂）、Preyer 反射及び痛覚反射に異常は認められなかった。1 mg/kg 以上の投与群では、死産児率の高値、生後 4 日における生存率の低値、体重の低値（雌雄）、眼球混濁（雌雄、一般状態観察又は剖検）、正向反射反応時間の延長（雄）並びに自由落下反射及び瞳孔反射の消失（雌雄）が認められた。3 mg/kg 投与群では、出生率の低値、生後 21 日における生存率の低値及び正向反射反

応時間の延長（雌）が認められた。生後 4 日における血漿中 Ca 濃度の低値が 1 mg/kg 投与群の雌雄で認められ（0.3 及び 3 mg/kg 投与群では未実施）、本測定に資した児を対象とする剖検では 1 mg/kg 投与群の雄で肺暗赤色巣、腹水、腎盂及び尿管拡張並びに腸癒着が認められた。

離乳後の児では、死亡動物は認められず、複式水 T 迷路検査、生殖機能検査及び脳重量に異常は認められなかった。0.3 mg/kg 以上の投与群では、体重の低値（雄）、水晶体混濁（雌雄）、陰茎亀頭包皮分離の遅延、オープンフィールド検査における総行動距離及び立ち上がり回数の高値（雄）が認められた。1 mg/kg 以上の投与群では、体重の低値（雌）、眼球混濁（雌雄、一般状態観察及び剖検）、虹彩の瞳孔膜遺残（雌雄）並びにオープンフィールド検査における総行動距離及び立ち上がり回数の高値（雌）が認められた。3 mg/kg 投与群では、切歯破損（雌、一般状態観察）及び膣開口の遅延が認められた。

以上より、無毒性量は母動物に関して 0.3 mg/kg/day、胚・胎児及び出生児の発生に関して 0.3 mg/kg/day 未満と判断した。

2.6.6.7 局所刺激性試験

局所刺激性試験は実施しなかった。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 毒性発現の機序に関する試験

2.6.6.8.1.1 ラットを用いた Ca 補充試験（資料番号：参考 4.2.3.7.3-1）

ラットを用いた反復投与毒性試験で認められた水晶体皮質前部の混濁と血中 Ca 濃度の関連性を検討するために、雄性ラットを用いて水晶体混濁発現に対するグルコン酸 Ca 投与の影響を検討した。

カテーテル留置手術を施し、後大静脈に生理食塩液を 0.4 mL/h で持続投与した雄性ラット（Crl:CD(SD)、8 週齢）を 4 群に振り分けた。群構成を表 2.6.6.8.1.1-1に示す。媒体（0.5 w/v% MC 溶液）並びに KHK7580 の 6 及び 10 mg/kg を強制経口で 1 日 1 回 1 週間反復投与した。併せて、初回経口投与後 1 時間から生理食塩液及びグルコン酸 Ca 液を静脈内へ 24 時間持続的に 1 週間投与した。検査項目として、全群全例に対して一般状態観察、体重測定、眼科学的検査、剖検及び病理組織学的検査、全群の一部に対して血漿中 Ca 濃度測定並びに KHK7580 投与群の一部に対して血漿中 KHK7580 濃度測定を実施した。

表2.6.6.8.1.1-1 群構成

群	KHK7580	グルコン酸 Ca	動物数		
	投与量 (mg/kg/day)	投与量 (mg/kg/h)	総数 [a]	血漿中 Ca 濃度測定	TK 解析
1	0[b]	0[c]	4	4	0
2	6	0[c]	12	8	4
3	10	0[c]	12	8	4
4	10	150	11	7	4

a：全群全例に対して一般状態観察、体重測定、眼科学的検査、剖検及び病理組織学的検査（眼球のみ）を実施した。
b：媒体（0.5 w/v% MC 溶液）
c：媒体（生理食塩液）

4 群の 1 例が投与 6 日の KHK7580 投与後 4～8 時間で死亡した。当該動物では、体重減少が投与 3 日並びに一般状態観察で腹部膨満が投与 6 日の KHK7580 投与前及び投与直後に認めら

れた。更に、剖検では腹水貯留及び腹腔内諸器官の癒着が認められたため、グルコン酸 Ca の静脈内持続投与の過誤が死因であると判断した。

一般状態観察において、手術した大腿部に結節が 2 及び 4 群で各 1 例、自発運動量の低下が 4 群 1 例で認められた。投与 1 日に比べ、投与 3 日に体重が KHK7580 投与群で減少し、試験期間における体重の変化は各 KHK7580 投与群間で同程度であった。

眼科学的検査及び眼球の病理組織学的検査成績を表 2.6.6.8.1.1-2に示す。眼科学的検査では、水晶体皮質前部の混濁について発現頻度の増加及び所見グレードの悪化が 2 及び 3 群で投与量の増加に伴って認められた。また、2 及び 3 群に比べ、4 群では発現頻度が少なく、所見グレードも軽かった。眼球の病理組織学的検査では、水晶体線維の膨化が 3 群でのみ認められた。

表2.6.6.8.1.1-2 眼科学的検査及び眼球の病理組織学的検査成績

群		1		2		3		4	
投与量	KHK7580 (mg/kg/day)	0		6		10		10	
	グルコン酸 Ca (mg/kg/h)	0		0		0		150	
眼科学的検査 [a]									
検査日		−1	8	−1	8	−1	8	−1	8
動物数		4	4	12	12	12	12	11	10[b]
水晶体皮質前部	微粒混濁	2	2	2	5	2	0	5	4
	散在性混濁	0	0	0	3	0	5	0	1
	び慢性混濁	0	0	0	4	0	7	0	0
病理組織学的検査									
動物数		4		12		12		10[b]	
水晶体線維膨化		0		0		5		0	

数値：例数
a：両眼に異なるグレードの所見があった場合には、高いグレードの所見をカウントした。
b：投与 6 日に 1 例死亡したため、10 例

TK 解析の結果を表 2.6.6.8.1.1-3に示す。最終投与日における 4 群の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、3 群よりも低値であったが、2 群と同程度であった。

表2.6.6.8.1.1-3 最終投与日における TK パラメータ

群	2	3	4
KHK7580 (mg/kg/day)	6	10	10
グルコン酸 Ca (mg/kg/h)	0	0	150
C_{max} (μg/mL)[a]	15.9	24.5	10.0
AUC_{0-24} (μg·h/mL)[a]	157	365	131

a：4 例の平均値

血漿中 Ca 濃度を表 2.6.6.8.1.1-4に示す。血漿中 Ca 濃度は 1 群に比べ 2 及び 3 群で低下した。一方、4 群では 1 群に近い値を示した。これはグルコン酸 Ca の静脈内持続投与によって血漿中 Ca 濃度の低下が 4 群で抑制されたためと考えられた。

表2.6.6.8.1.1-4　最終投与日における血漿中 Ca 濃度

群		1	2	3	4
KHK7580 (mg/kg/day)		0	6	10	10
グルコン酸 Ca (mg/kg/h)		0	0	0	150
動物数		4	8	8	6[a]
Ca 濃度 (mg/dL)	投与後 8 時間	10.58	6.63	5.91	9.78
	投与後 24 時間	11.03	7.08	6.66	12.17

a：投与 6 日に 1 例死亡したため、6 例

以上より、血漿中 Ca 濃度低下抑制で水晶体皮質前部の混濁が抑制されたため、ラットへの KHK7580 の反復投与で発現する水晶体皮質前部の混濁所見は、血中 Ca 濃度低下による二次的影響と判断した。

2.6.6.8.1.2　眼房水中 KHK7580 濃度測定試験（資料番号：4.2.3.7.3-2、4.2.3.7.3-3）

反復投与毒性試験において水晶体混濁はラットで認められたが、カニクイザルでは認められなかった。水晶体への KHK7580 の曝露を確認する目的で、ラット及びカニクイザルへの KHK7580 の 7 日間反復経口投与後における眼房水中 KHK7580 濃度を測定した。

雄性ラット（Crl:CD(SD)、6 週齢）9 例に KHK7580 の 6 mg/kg（媒体：0.5 w/v% MC 溶液）を 1 日 1 回 7 日間反復経口投与し、最終投与前に眼科学的検査並びに最終投与後 2 時間に採血及び眼房水採取を実施した。

投与期間を通じて死亡動物は認められず、一般状態観察においても KHK7580 投与による影響は認められなかった。体重の減少が投与 3 日に認められ、眼科学的検査における水晶体微粒混濁（7/9 例）及び血清中 Ca 濃度の低値（6.83 mg/dL）が認められた。眼房水中及び血漿中 KHK7580 濃度はそれぞれ 0.196 µg/mL 及び 7.244 µg/mL であり、全身曝露からの移行率は約 2.7%と算出された。

雄性カニクイザル（5 歳齢）3 例に KHK7580 の 6 mg/kg（媒体：0.5 w/v% MC 溶液）を 1 日 1 回 7 日間反復経口投与し、最終投与前に眼科学的検査並びに最終投与後 2 時間に採血及び眼房水採取を実施した。

投与期間を通じて死亡は認められなかったが、一般状態観察において摂餌の低下、不活発、痙攣及び筋攣縮が 1 例で認められた。当該動物については、投与 6 日に眼科学的検査を実施し、KHK7580 投与後 2 時間に採血及び眼房水採取を実施した後、安楽死させた。体重及び眼科学的検査では KHK7580 投与による影響は認められなかったが、血清中 Ca 濃度の低値（4.8～5.6 mg/dL）が認められた。眼房水中及び血漿中 KHK7580 濃度（最低値～最高値）はそれぞれ 0.01393～0.05194 µg/mL 及び 1.190～4.028 µg/mL であり、各個体における全身曝露からの移行率は 1.2～1.5%と算出された。

以上より、ラットのみに水晶体混濁が認められたが、ラット及びサルともに眼房水中に KHK7580 を検出し、全身曝露からの移行率に大きな差異は認められなかった。

2.6.6.8.2　その他の試験

2.6.6.8.2.1　光毒性試験

In vitro 光細胞毒性試験及び有色ラットを用いた光毒性試験で光毒性を検討した。

2.6.6.8.2.1.1 *In vitro* 光細胞毒性試験（資料番号：4.2.3.7.7-1）

OECD ガイドライン 432「OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS, *In Vitro* 3T3 NRU phototoxicity test (Adopted on 13 April 2004)」を参考として、BALB/3T3 clone A31 細胞（マウス胎児由来線維芽細胞）を用いて、光細胞毒性試験を実施した。

BALB/3T3 clone A31 細胞に KHK7580 を 60 分間前処理した後、非照射及び照射条件下で 50 分間処理した。光源には波長 335 nm で透過率が 50%となる H1 フィルターを装着したソーラーシミュレータを用いて、H1 フィルターから約 36 cm の位置で上面からの放射照度が 2.4～2.6 mW/cm^2（A 領域紫外線（UVA））となる位置から照射した（積算照射量 7.2～7.8 J/cm^2）。

用量設定試験では、KHK7580 の処理濃度として析出が認められる最高濃度 500 µg/mL から公比 5 で除した計 8 濃度（0.0064～500 µg/mL）を設定した。非照射条件下ではいずれの濃度でも細胞毒性を示さなかったが、照射条件下では細胞毒性を示し、その 50%阻害濃度（IC_{50}）値は 62 µg/mL であった。以上の結果より、本試験における KHK7580 の処理濃度を最高濃度 500 µg/mL から公比 2 で除した計 8 濃度（3.9～500 µg/mL）とした。

本試験の結果、非照射条件下ではいずれの濃度でも細胞毒性を示さなかったが、照射条件下では細胞毒性を示し、その IC_{50} 値は 130 µg/mL であった。非照射条件下の IC_{50} 値が算出不能であったため、光毒性係数（PIF）を算出できず、代替として以下の計算式で PIF 下限を算出したところ、3.8 であった。

PIF 下限＝非照射条件下で検討した最高濃度／照射条件下での IC_{50} 値

PIF 下限が 5 未満のため、光毒性の有無は判定不能と判断した。

2.6.6.8.2.1.2 有色ラットを用いた光毒性試験（資料番号：4.2.3.7.7-2）

雌性有色ラット（Crl:Long-Evans、10 週齢）を 6 群に振り分け（5 例／群、陽性対照物質のみ 3 例／群）、媒体（0.5 w/v% MC 溶液）、KHK7580 の 1、3、6 mg/kg 並びに陽性対照物質 8-メトキシソラレン（8-MOP）の 50 mg/kg を単回経口投与し、KHK7580 の光毒性を評価した。なお、KHK7580 の 6 mg/kg 投与群については 2 群設け、一方を紫外線（UV）非照射とした。

ケタミン/キシラジン混合麻酔下において、眼球と皮膚への UV 照射強度が同等になるように頭部の位置を調整した。照射光源には中緯度地方の夏期の太陽光を模倣したキセノンランプを使用し、B 領域紫外線（UVB）を減弱させるためにフィルターを装着した。UV 曝露量が最小紅斑量の 1/2 になるように 30 分間以上照射した。投与から UV 照射までの間隔は、媒体投与群及び KHK7580 投与群で 2.5 時間及び 8-MOP 投与群で 1 時間とした。

その結果、試験期間を通じて死亡動物は認められず、一般状態観察においても KHK7580 投与による影響は認められなかった。体重の減少が KHK7580 の 6 mg/kg 投与群で投与後 2 日まで認められた。皮膚反応の評価では、明色域及び暗色域における有害な皮膚反応はすべての KHK7580 投与群で認められず、また眼科学的検査及び眼球の病理組織学的検査においても KHK7580 投与による影響は認められなかった。一方、8-MOP 投与群では明色域及び暗色域における有害な皮膚反応及び眼所見が認められた。

以上より、KHK7580 はラットの皮膚及び眼に光毒性を誘発しないと判断した。

2.6.6.9 考察及び結論

反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験並びにその他の毒性試験として毒性発現機序に関する試験（Ca 補充試験、眼房水中 KHK7580 濃度測定試験）及びそ

の他の試験（光毒性試験）を実施し、非臨床における KHK7580 の安全性を検討した。以下に各試験の考察及び結論を記載する。

2.6.6.9.1 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験を実施していないが、ラット及びカニクイザルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験において、いずれも 10 mg/kg 投与群で死亡例又は状態悪化による投与中止が認められた。したがって、ラットにおける概略の致死量は 10 mg/kg と判断した。カニクイザルでは 10 mg/kg の初回投与後に死亡や一般状態の変化は認められなかったが、投与 4 日には不活発や腹臥位が認められた。

2.6.6.9.2 反復投与毒性試験（がん原性試験も一部含む）

ラット及びカニクイザルへの KHK7580 の反復投与で認められた主な所見並びに予定臨床最大用量 12 mg を 14 日間反復投与した時の推定非結合型 $AUC_{0-\tau}$（230 ng·h/mL）（5.3.3.5-1）に対する曝露比を表 2.6.6.9.2-1に示す。

表2.6.6.9.2-1 ラット及びカニクイザルへの KHK7580 の反復投与で認められた主な所見と曝露比

動物種/系統	投与期間	投与量[a] (mg/kg/day)		血中 Ca 及び IP 濃度の変動並びに毒性所見[b]		曝露比[c]	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
ラット/Crl:CD(SD)	4 週	≥0.1	≥0.1	水晶体皮質前部混濁	*血中 Ca 濃度低値*、*血中 IP 濃度高値* 水晶体皮質前部混濁	0.14	0.68
		≥0.3	≥0.3	*血中 Ca 濃度低値* 水晶体線維膨化	水晶体線維膨化	0.42	2.0
		≥1.5	≥1.5	心筋線維変性/壊死、*血中 IP 濃度高値*	摂餌量低値、胆管上皮細胞肥大	2.1	10
		6	6	筋攣縮、摂餌量低値、体重低値、十二指腸びらん	筋攣縮、体重低値、心筋線維変性/壊死、心臓鉱質沈着、十二指腸びらん	14	49
ラット/Crl:CD(SD)	13 週	≥0.3	**≥0.1**	*血中 Ca 濃度低値*、*血中 IP 濃度高値* 水晶体皮質前部混濁、外環状層板過骨症	*血中 Ca 濃度低値*、*血中 IP 濃度高値*	0.28	0.93
		≥1.5	≥0.6	心筋変性、心筋線維化、水晶体線維膨化	水晶体皮質前部混濁、心筋変性、水晶体線維膨化、胆管上皮細胞肥大、外環状層板過骨症	1.2	5.1
		6	3	体重低値、摂餌量低値、筋攣縮、心内膜下出血、胆管上皮細胞肥大、腎盂鉱質沈着	体重低値、摂餌量低値、腎盂鉱質沈着、十二指腸びらん、副腎皮質球状帯細胞肥大	8.0	35

a：下線の付いた太文字は GLP 適用反復投与毒性試験の無毒性量を示す。
b：斜体字は薬理作用であり、毒性所見とは見なさず
c：血液透析施行中の二次性副甲状腺機能亢進症患者に予定臨床最大用量 12 mg を 14 日間反復投与した時の推定非結合型 $AUC_{0-\tau}$（230 ng·h/mL）（5.3.3.5-1）に対する反復投与時の非結合型 AUC_{0-24} の比率を示した。

表2.6.6.9.2-1 ラット及びカニクイザルへの KHK7580 の反復投与で認められた主な所見と曝露比（続き）

動物種/系統	投与期間	投与量 (mg/kg/day)		血中 Ca 及び IP 濃度の変動並びに毒性所見 [b]		曝露比 [c]	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
ラット/Crl:CD(SD)	26 週	≥0.3	≥0.1	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値* 水晶体皮質前部混濁、副甲状腺萎縮、肺動脈壁限局性鉱質沈着、外環状層板過骨症、切歯所見	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値* 水晶体皮質前部混濁、副甲状腺萎縮	0.32	0.91
		≥1.5	≥0.6	水晶体線維膨化、心筋変性、心筋線維化、海綿骨肥厚、精巣上体間質限局性鉱質沈着	海綿骨肥厚、胆管上皮細胞限局性肥大、腎盂鉱質沈着	1.8	5.6
		6	3	筋攣縮、切歯欠損、体重低値、摂餌量低値、副腎皮質球状帯細胞肥大、小葉中心性肝細胞肥大、腎盂鉱質沈着	筋攣縮、切歯欠損、体重低値、摂餌量低値、心筋変性、心筋線維化、肺動脈壁限局性鉱質沈着、水晶体線維膨化、副腎皮質球状帯細胞肥大、外環状層板過骨症、切歯所見	11	34
ラット/Crl:CD(SD)	104 週 [d]	≥0.3	≥0.1	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値* 各種動脈鉱質沈着	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値*	0.28	0.79
		≥1.5	≥0.6	体重低値、摂餌量低値、甲状腺びまん性 C 細胞過形成、副甲状腺萎縮、精子うっ滞、精巣上体鉱質沈着	各種動脈鉱質沈着、甲状腺びまん性 C 細胞過形成、副甲状腺萎縮、心筋症、腎臓鉱質沈着/尿路上皮過形成、海綿骨増殖	0.85	4.4
		6	3/2[e]	生存率低値、筋攣縮、切歯欠損、心筋症、胃筋層鉱質沈着、腎臓鉱質沈着/尿路上皮過形成、精巣上体精子肉芽腫、精巣精細管萎縮	体重低値、摂餌量低値、切歯欠損、白内障、網膜萎縮	3.6	20

b：斜体字は薬理作用であり、毒性所見とは見なさず
c：血液透析施行中の二次性副甲状腺機能亢進症患者に予定臨床最大用量 12 mg を 14 日間反復投与した時の推定非結合型 $AUC_{0-\tau}$（230 ng·h/mL）（5.3.3.5-1）に対する反復投与時の非結合型 AUC_{0-24} の比率を示した。
d：がん原性試験
e：投与 47 週から投与量を 3 mg/kg/day から 2 mg/kg/day へ減量した。

表2.6.6.9.2-1 ラット及びカニクイザルへの KHK7580 の反復投与で認められた主な所見と曝露比（続き）

動物種/系統	投与期間	投与量[a] (mg/kg/day)		血中 Ca 及び IP 濃度の変動並びに毒性所見[b]		曝露比[c]	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
カニクイザル	4 週	**≥0.3**	**≥0.3**	−	−	0.082	0.10
		≥1	≥1	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値* QTc 延長、心筋線維変性/壊死、腎臓集合管上皮細胞肥大	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値* QTc 延長	0.56	0.37
		3	3	腎臓間質浮腫、腎臓乳頭部鉱質沈着	−	1.2	0.99
カニクイザル	13 週	**≥0.3**	≥0.3	−	−	0.0066	0.033
		≥1	**≥1**	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値* QTc 延長、腎臓集合管上皮細胞肥大	*血中 Ca 濃度低値、血中 IP 濃度高値*	0.10	0.12
		3	3	心拍数減少、心室性期外収縮、心外膜下炎症性細胞浸潤及び線維化	心拍数増加、QTc 延長、腎臓集合管上皮細胞肥大	0.38	0.75
カニクイザル	39 週	**≥0.3**	**≥0.3**	*血中 Ca 濃度低値*	*血中 Ca 濃度低値*	0.15	0.027
		≥1	≥1	*血中 IP 濃度高値* QTc 延長	*血中 IP 濃度高値* QTc 延長	0.69	0.16
		3	3	心拍数増加、腎重量高値、腎臓集合管上皮細胞肥大、腎臓髄質間質鉱質沈着	腎重量高値、腎臓集合管上皮細胞肥大、腎臓髄質間質鉱質沈着、腎盂鉱質沈着、腎臓髄質間質浮腫	1.1	1.2

−：異常なし
a：下線の付いた太文字は GLP 適用反復投与毒性試験の無毒性量を示す。
b：斜体字は薬理作用であり、毒性所見とは見なさず
c：血液透析施行中の二次性副甲状腺機能亢進症患者に予定臨床最大用量 12 mg を 14 日間反復投与した時の推定非結合型 $AUC_{0\text{-}\tau}$（230 ng·h/mL）（5.3.3.5-1）に対する反復投与時の非結合型 $AUC_{0\text{-}24}$ の比率を示した。

ラット及びカニクイザルにおける所見は、いずれも薬理作用に基づく直接的又は二次的影響に起因すると判断した。したがって、過度の薬理作用に注意することにより、ヒトにおける KHK7580 の安全性を担保しうると判断した。以下に各所見の考察を記す。

2.6.6.9.2.1 薬理作用に基づく直接的影響

ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験において副甲状腺萎縮、ラットを用いたがん原性試験において副甲状腺萎縮及び甲状腺びまん性 C 細胞過形成が認められた。副甲状腺細胞におけるカルシウム受容体（CaR）活性化は、PTH 分泌を抑制すると同時に、同細胞の増殖を抑制する[1,2]。また、甲状腺 C 細胞においても CaR は発現しており、その活性化によってカルシトニン分泌を促進し、びまん性過形成を示しうる[3,4]。したがって、ラットで認められた副甲状腺萎縮及び甲状腺びまん性 C 細胞過形成は、副甲状腺細胞及び甲状腺 C 細胞の CaR 活性化そのものに起因すると判断した。

2.6.6.9.2.2 薬理作用の二次的影響に基づく影響

ラット及びカニクイザルにおいて、CaR 活性化に基づく血中 PTH 濃度低下に加えて、血中 PTH 濃度低下に基づくと考えうる Ca 濃度低下及び血中 IP 濃度上昇が認められた。CaR 活性化による二次的影響である血中 PTH 及び Ca 濃度低下並びに血中 IP 濃度上昇に起因すると判断した所見、その判断根拠及び類薬であるシナカルセト塩酸塩の非臨床毒性試験結果を表 2.6.6.9.2.2-1に示す。

表2.6.6.9.2.2-1 薬理作用に基づく二次的影響と考えうる所見

所見	動物	類薬 [a]	判断根拠
血中 PTH 濃度低下			
骨の所見 外環状層板過骨症、海綿骨肥厚等	ラット	+	PTH 欠損マウスにおける類似所見[5)]
血中 Ca 濃度低下			
筋攣縮	ラット	+	低 Ca 血症によるテタニー及び痙攣等の神経・筋症状の発現[6,7)]
QTc 延長	カニクイザル	+	血中 Ca 濃度低下による QTc 延長[7-11)]
眼の所見 水晶体皮質混濁、水晶体線維膨化、白内障等	ラット	+	Ca 補充による KHK7580 誘発水晶体混濁の発現抑制 (資料番号: 参考 4.2.3.7.3-1) 低 Ca 血症による早期の白内障発現[7)] CaR 活性化変異マウスにおける発現[12)]
歯の所見 切歯欠損等	ラット	+	低 Ca 血症による類似所見[13-15)]
血中 IP 濃度上昇			
鉱質沈着 循環器系、腎臓等	ラット	+	高 IP 血症による血管石灰化[16-19)]
	カニクイザル	−	CaR 活性化変異マウスにおける類似所見[12)]

a：シナカルセト塩酸塩の非臨床毒性試験で認められた所見を+、認められなかった所見を−と記載した。

血中 IP 濃度上昇は、腎臓におけるリンの再吸収亢進に起因するため、高度に腎機能が低下した透析患者では KHK7580 投与による平均血中 IP 濃度上昇は認められていない（2.7.3.3.2.6）。したがって、KHK7580 の対象とする透析患者では、血中 IP 濃度上昇に起因する鉱質沈着の毒性学的意義は低いと判断した。その他、血中 PTH 及び Ca 濃度低下に起因する所見においても、過度の薬理作用に注意することにより、ヒトにおける KHK7580 の安全性を担保しうると判断した。

2.6.6.9.2.3 ラット及びカニクイザルにおける心臓所見

ラットを用いた反復経口投与毒性試験及びがん原性試験並びにカニクイザルを用いた反復経口投与毒性試験において心臓所見が認められた。まず、ラットにおける心臓の病理組織学的検査結果並びにがん原性試験における心筋症を死因とする死亡及び瀕死動物を表 2.6.6.9.2.3-1、表 2.6.6.9.2.3-2に示す。

表2.6.6.9.2.3-1 ラットにおける心臓の病理組織学的検査結果

性 : 投与量 (mg/kg/day)	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 1.5	雌 : 1.5	雄 : 6	雌 : 6
4 週間反復経口投与毒性試験						
心筋線維変性/壊死 [a]	0/12	0/12	2/12	0/12	4/12	5/12
グレード 1[b]	0	0	2	0	4	5
白血球浸潤 [a]	1/12	0/12	2/12	1/12[c]	6/12	8/12
グレード 1[b]	1	0	2	1	6	8
鉱質沈着 [a]	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	1/12
グレード 1[b]	0	0	0	0	0	1
性 : 投与量 (mg/kg/day)	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 1.5	雌 : 0.6	雄 : 6	雌 : 3[d]
13 週間反復経口投与毒性試験						
心筋変性 [a]	0/12	1/12	2/12	2/12	8/12	5/12
グレード 1[b]	0	0	2	2	7	4
グレード 2[b]	0	1	0	0	1	1
心筋線維化 [a]	0/12	0/12	1/12	0/12	5/12	0/12
グレード 1[b]	0	0	1	0	5	0
心内膜下出血 [a]	0/12	0/12	0/12	0/12	1/12	0/12
グレード 1[b]	0	0	0	0	1	0
炎症性細胞浸潤 [a]	2/12	1/12	5/12	3/12	9/12	6/12
グレード 1[b]	2	1	5	3	6	6
グレード 2[b]	0	0	0	0	3	0
26 週間反復経口投与毒性試験						
心筋変性 [a]	2/11	1/12	6/12	0/12	7/12	7/12
グレード 1[b]	2	1	6	0	7	7
心筋線維化 [a]	3/11	1/12	6/12	0/12	5/12	4/12
グレード 1[b]	2	1	6	0	2	4
グレード 2[b]	1	0	0	0	3	0
炎症性細胞浸潤 [a]	5/11	0/12	8/12	1/12[c]	8/12	7/12
グレード 1[b]	4	0	5	1	6	7
グレード 2[b]	1	0	3	0	2	0
104 週間反復経口投与によるがん原性試験						
心筋症 [a]	118/130	83/130	64/65[c]	57/65	61/65	62/65
グレード 1[b]	68	53	32	34	12	23
グレード 2[b]	44	26	25	23	24	32
グレード 3[b]	5	4	7	0	25	7
グレード 4[b]	1	0	0	0	0	0
血管壁鉱質沈着 [a]	1/130	4/130	0/65	0/65	9/65	1/65[c]
グレード 1[b]	0	2	0	0	4	0
グレード 2[b]	1	1	0	0	4	1
グレード 3[b]	0	1	0	0	1	0
冠血管鉱質沈着 [a]	1/130	2/130	16/65	19/65	33/65	19/65
グレード 1[b]	0	1	9	14	5	12
グレード 2[b]	0	0	7	5	20	5
グレード 3[b]	1	1	0	0	8	2

グレード : 4 週間反復経口投与毒性試験は 3 段階評価、その他試験は 4 段階評価
a : 所見動物数／評価動物数
b : 所見動物数
c : 被験物質の影響とは判断せず
d : がん原性試験においてのみ、投与 47 週に 3 mg/kg/day から 2 mg/kg/day へ減量した。

表2.6.6.9.2.3-2 ラットを用いたがん原性試験における心筋症を死因とする死亡及び瀕死動物

性：投与量 (mg/kg/day)	雄：0	雌：0	雄：1.5	雌：0.6	雄：6	雌：3/2[a]
死亡及び瀕死動物[b]：心筋症	7/129	0/130	1/64	0/65	15/65	0/65

a：投与 47 週に 3 mg/kg/day から 2 mg/kg/day へ減量した。
b：所見動物数／評価動物数（事故死動物を除く）

ラットでは、いずれの反復投与毒性試験でも変性、線維化等の心臓所見が認められた。変性、線維化等の心臓所見は、26 週間までの反復投与では投与期間の延長に伴った明確な発現頻度上昇及びグレード悪化を示さなかったものの、がん原性試験における心筋症の発現頻度上昇及びグレード悪化に関与しうると考えた。特に、がん原性試験における高用量群の雄において、心筋症を死因とする死亡頻度が高かった。

PTH は心肥大を惹起し、心血管系疾患の進展に関与することが知られる一方、心筋保護作用も知られている。すなわち、麻酔下動物における冠血流増加及び冠血管抵抗減少[20,21]、心筋梗塞モデルマウスにおける心機能改善及び梗塞サイズ減少[22]並びに急性虚血性左心室不全モデル犬における心機能改善、冠血流増加及び梗塞サイズ減少[23]が報告されている。したがって、ラットの心臓所見は、慢性的な血中 PTH 濃度低下によって心筋障害を受けやすい状態であったためと考えた。なお、がん原性試験において心筋症を死因とする死亡頻度が高用量群の雄のみで高い理由として、1）雄性ラットは一般に心筋症を呈しやすいため[24]、心筋症のグレードがより悪化したこと、2）冠血管鉱質沈着が発現頻度及びグレードともに高く、心筋虚血に陥りやすい状態であったことを想定した。

次に、カニクイザルにおける心臓の病理組織学的検査結果を表 2.6.6.9.2.3-3に示す。

表2.6.6.9.2.3-3 カニクイザルにおける心臓の病理組織学的検査結果

性：投与量 (mg/kg/day)	雄：0	雌：0	雄：1	雌：1	雄：3	雌：3
4 週間反復経口投与毒性試験						
心筋線維変性/壊死[a]	0/6	0/6	1/4	0/4	1/6	0/6
グレード 1[b]	0	0	1	0	1	0
白血球浸潤[a]	0/6	0/6	1/4	0/4	1/6	0/6
グレード 1[b]	0	0	1	0	1	0
13 週間反復経口投与毒性試験						
心外膜下炎症性細胞浸潤[a]	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4
グレード 1[b]	0	0	0	0	1	0
心外膜下線維化[a]	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4
グレード 1[b]	0	0	0	0	1	0
39 週間反復経口投与毒性試験	−	−	−	−	−	−

−：異常なし
グレード：4 週間反復経口投与毒性試験は 3 段階評価、その他試験は 4 段階評価
a：所見動物数／評価動物数
b：所見動物数

カニクイザルでは、4 週間及び 13 週間反復経口投与毒性試験で変性、線維化等の所見が認められたが、より長期の試験である 39 週間反復経口投与毒性試験では認められなかった。したがって、カニクイザルで認められた心臓所見は、KHK7580 投与による影響ではないと判断した。

以上により、薬理作用に基づくと考えられる心臓所見は、ラットで認められたが、カニクイザルでは認められなかった。加えて、臨床試験において心筋障害マーカーの変化はほとんど認

められなかった（7580-001 試験；5.3.3.1-1、7580-002 試験；5.3.3.1-2、7580-009 試験；5.3.3.4-1）。したがって、ラットにおける心臓所見についてヒトへの外挿性は低いと判断した。

2.6.6.9.2.4 カニクイザルにおける心拍数の変化

カニクイザルを用いた反復経口投与毒性試験において、心拍数の増加又は減少を示す個体が認められた。その詳細を表 2.6.6.9.2.4-1に示す。

表2.6.6.9.2.4-1 心拍数への影響が認められたカニクイザル

試験	個体番号: 性	投与量 (mg/kg/day)	測定日/測定時点	心拍数への影響
13 週間反復投与毒性試験	10404: 雄	3	投与 25 日/20 時間	減少 (58 beat/min)
	50402: 雌	3	投与 25 日/20 時間	増加 (170 beat/min)
39 週間反復投与毒性試験	10402: 雄	3	投与 267 日/20 時間	増加 (173 beat/min)
	10403: 雄	3	投与 183 日/20 時間	増加 (184 beat/min)

心拍数の増加を示す個体はいずれも 1 時点のみの変化であり、他の測定日及び同日の他時点では影響がなかった。加えて、同程度高い心拍数を示すカニクイザルが同一試験における媒体投与群又は KHK7580 投与群の投与前に認められた（表 2.6.6.9.2.4-2）。以上の 2 点からカニクイザルを用いた反復投与毒性試験において散発的に認められた心拍数の増加は KHK7580 投与による影響ではないと考えた。

表2.6.6.9.2.4-2 媒体投与群又は KHK7580 投与開始前の高い心拍数を示すカニクイザル

試験	個体番号: 性	投与量 (mg/kg/day)	測定日/測定時点	心拍数
13 週間反復投与毒性試験	10102: 雄	0	投与 16 日前/投与前	174 beat/min
			投与 16 日前/4 時間	163 beat/min
	50403: 雌	3	投与 15 日前/投与前	168 beat/min
39 週間反復投与毒性試験	10104: 雄	0	投与 183 日/4 時間	175 beat/min
	10201: 雄	0.3	投与 17 日前/4 時間	190 beat/min
	10304: 雄	1	投与 17 日前/投与前	181 beat/min
	50104: 雌	0	投与 21 日前/投与前	233 beat/min
			投与 93 日/投与前	185 beat/min
	50202: 雌	0.3	投与 21 日前/投与前	168 beat/min
			投与 21 日前/4 時間	168 beat/min

心拍数の減少を示す個体（個体番号：10404）は、投与 25 日から心室性期外収縮を示し、病理組織学的検査において心外膜下の炎症性細胞浸潤及び線維化が認められた。したがって、心拍数の減少は偶発的に生じた心臓所見に起因すると考えた。

以上より、カニクイザルを用いた反復経口投与毒性試験における心拍数の増加又は減少は、KHK7580 投与による影響ではないと判断した。

2.6.6.9.2.5 ラットにおける体重及び摂餌量への影響

ラットを用いた反復経口投与毒性試験において、体重及び摂餌量の低値が認められた。同所見は、活性化変異ヒト CaR を過剰発現させた遺伝子改変マウス[25)]及びシナカルセト塩酸塩を経口投与したラット（シナカルセト塩酸塩の反復投与毒性試験等）でも認められることから、詳細な作用機序は不明であるものの、CaR 活性化が関与すると考えた。一方で、CaR 活性化変異

遺伝子を有する患者の情報[26-28]には本所見に関連した報告はない。したがって、ヒトへの外挿性は低いと判断した。

2.6.6.9.2.6 ラットにおける肝臓及び胆管の所見

ラットを用いた反復経口投与毒性試験において、小葉中心性肝細胞肥大及び胆管上皮細胞肥大が認められた。その詳細を表 2.6.6.9.2.6-1に示す。

表2.6.6.9.2.6-1 ラットにおける肝臓及び胆管の病理組織学的検査結果

4 週間反復経口投与毒性試験						
性 : 投与量 (mg/kg/day)	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 1.5	雌 : 1.5	雄 : 6	雌 : 6
胆管上皮細胞肥大 [a]	0/12	0/12	NT	1/12	0/12	2/12
グレード 1[b]	0	0	NT	1	0	2
13 週間反復経口投与毒性試験						
性 : 投与量 (mg/kg/day)	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 1.5	雌 : 0.6	雄 : 6	雌 : 3
胆管上皮細胞肥大 [a]	0/12	0/12	0/12	6/12	4/12	10/12
グレード 1[b]	0	0	0	6	4	7
グレード 2[b]	0	0	0	0	0	3
26 週間反復経口投与毒性試験						
性 : 投与量 (mg/kg/day)	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 1.5	雌 : 0.6	雄 : 6	雌 : 3
小葉中心性肝細胞肥大 [a]	0/11	0/12	0/12	0/12	4/12	0/12
グレード 1[b]	0	0	0	0	4	0
胆管上皮細胞肥大 [a]	0/11	0/12	0/12	7/12	0/12	10/12
グレード 1[b]	0	0	0	7	0	8
グレード 2[b]	0	0	0	0	0	2
104 週間反復経口投与によるがん原性試験						
性 : 投与量 (mg/kg/day)	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 1.5	雌 : 0.6	雄 : 6	雌 : 3/2[c]
肝臓 (胆管含む)	−	−	−	−	−	−

−：異常なし　　NT：検査せず
グレード：4 週間反復経口投与毒性試験は 3 段階評価、その他試験は 4 段階評価
a：所見動物数／評価動物数
b：所見動物数
c：投与 47 週に 3 mg/kg/day から 2 mg/kg/day へ減量した。

小葉中心性肝細胞肥大は 26 週間反復経口投与毒性試験のみで認められ、より長期のがん原性試験では認められなかったため、毒性学的意義は低いと判断した。胆管上皮細胞肥大についても、反復投与期間が 4 週間から 13 週間へ長期になったことで発現頻度上昇は認められたものの、それ以降に発現頻度上昇及びグレード悪化はなく、より長期のがん原性試験では認められなかった。したがって、胆管上皮細胞肥大の毒性学的意義は低いと判断した。なお、ラットの肝細胞における CaR の活性化は、胆汁流量を増やすとの報告があるため[29]、CaR 活性化による胆汁流量増加に基づく二次的影響によって胆管上皮細胞肥大が生じた可能性を考えた。

2.6.6.9.2.7 カニクイザルにおける腎臓所見

カニクイザルを用いた反復経口投与毒性試験において、集合管上皮細胞肥大、髄質間質浮腫等の腎臓所見が認められた。各個体における腎臓の病理組織学的検査結果を表 2.6.6.9.2.7-1に示し、病理組織学的検査で腎臓の所見を有する個体及び群平均の腎臓重量を表 2.6.6.9.2.7-2に示す。

表2.6.6.9.2.7-1 各個体における腎臓の病理組織学的検査結果

試験	投与量 (mg/kg/day)	個体番号: 性	病理組織学的検査	
			所見	グレード[a]
4 週間反復投与毒性試験	1	10401: 雄	集合管上皮細胞肥大	1
	3	10501: 雄	集合管上皮細胞肥大 間質浮腫 乳頭部鉱質沈着	1 1 1
	3	10503: 雄	集合管上皮細胞肥大	1
13 週間反復投与毒性試験	1	10302: 雄	集合管上皮細胞肥大	1
	3	10401: 雄	集合管上皮細胞肥大	1
	3	10403: 雄	集合管上皮細胞肥大	1
	3	50402: 雌	集合管上皮細胞肥大	1
39 週間反復投与毒性試験	3	10401: 雄	集合管上皮細胞肥大 髄質間質炎症性細胞浸潤 髄質間質鉱質沈着	1 1 2
	3	10402: 雄	集合管上皮細胞肥大	1
	3	50401: 雌	集合管上皮細胞肥大 髄質間質浮腫 腎盂鉱質沈着	1 1 2
	3	50403: 雌	集合管上皮細胞肥大 髄質間質炎症性細胞浸潤 髄質間質浮腫 髄質間質鉱質沈着 腎盂鉱質沈着	1 1 1 2 1

a：4 週間反復経口投与毒性試験は 3 段階評価、その他試験は 4 段階評価

表2.6.6.9.2.7-2 各個体及び群平均の腎臓重量結果

試験	投与量 (mg/kg/day)	群平均/個体番号: 性	腎臓重量	
			絶対重量 (g)	相対重量 (BW%)
4 週間反復投与毒性試験	0	群平均: 雄	14.405	0.3493
	1	群平均: 雄	13.965	0.3640
	3	群平均: 雄	12.728	0.3350
	1	10401: 雄	13.26	0.349
	3	10501: 雄	14.53	0.415
	3	10503: 雄	11.43	0.293
13 週間反復投与毒性試験	0	群平均: 雄	14.708	0.3674
	0	群平均: 雌	11.248	0.3650
	1	群平均: 雄	15.198	0.3715
	3	群平均: 雄	14.863	0.3766
	3	群平均: 雌	11.940	0.4206
	1	10302: 雄	14.40	0.343
	3	10401: 雄	18.65	0.444
	3	10403: 雄	17.26	0.401
	3	50402: 雌	9.94	0.414
39 週間反復投与毒性試験	0	群平均: 雄	14.920	0.3524
	0	群平均: 雌	12.058	0.3488
	3	群平均: 雄	18.818**	0.4107
	3	群平均: 雌	15.733	0.4733
	3	10401: 雄	19.24	0.418
	3	10402: 雄	20.48	0.476
	3	50401: 雌	19.75	0.581
	3	50403: 雌	19.80	0.535

**: p<0.01 (Dunnett's test)

間質浮腫や間質炎症性細胞浸潤が認められた個体では、同時に鉱質沈着も認められており、鉱質沈着による二次的影響によってこれらの所見が生じた可能性を考えた。また、39 週間反復経口投与毒性試験で認められた間質浮腫や鉱質沈着を示す個体の大部分では腎臓重量が高値であったため、これら所見が腎臓重量高値に関連しうると考えた。2.6.6.9.2.2で記載したとおり、腎臓の鉱質沈着は高度に腎機能が低下した透析患者では生じ得ない血中 IP 濃度上昇に起因すると考えたため、カニクイザルにおける間質浮腫、間質炎症性細胞浸潤及び腎臓重量高値の毒性学的意義は低いと判断した。

一方、集合管上皮細胞肥大については、鉱質沈着又は腎臓重量との関連性は認められなかった。集合管上皮細胞肥大は、いずれの反復投与毒性試験でも認められたものの、投与期間延長による発現頻度上昇及びグレード悪化はなかった。集合管における CaR の発現は、シナカルセト塩酸塩の副次的薬理試験及び論文情報[30]ではカニクイザルを含めた幅広い動物種で認められている。また、集合管における CaR の機能についても、プロトン分泌亢進及び水再吸収抑制の報告があり[31,32]、腎結石に対する内在的な防御機構との見方も存在する[31,33]。したがって、カニクイザルにおける集合管上皮細胞肥大は、CaR の活性化そのものに起因する可能性を考えた。しかしながら、尿量、尿中 Ca、Na 及び K 排泄量、尿 pH への影響は認められなかったため、集合管上皮細胞肥大の毒性学的意義は低いと判断した。

2.6.6.9.2.8 ラットにおける精巣及び精巣上体の所見

ラットを用いたがん原性試験において、精細管の萎縮、精子うっ滞及び精巣上体における精子肉芽腫が認められた。ビタミン D 欠乏ラットは、精巣における退行性変化、不完全な精子形成を示すとの報告がある[34]。また、ヒトにおいても血中活性化ビタミン D と精子運動性に正の相関を示すとの報告がある[35]。非臨床試験では血中活性型ビタミン D 濃度を測定していないものの、公知情報を踏まえれば[36,37]、血中活性型ビタミン D 濃度低下を想定しうる。したがって、精細管の萎縮及び精子うっ滞は、KHK7580 による薬理作用の二次的影響と想定される血中ビタミン D 濃度の低下に起因すると考えた。なお、精巣上体における精子肉芽腫は精子うっ滞に関連した変化であると考えた。ただし、ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験では精細管萎縮、精子うっ滞及び精子肉芽腫は認められていないことから、ラットを用いたがん原性試験で認められたこれらの所見は、顕著な PTH の低値が生涯にわたり長期間持続したことにより発現した可能性が考えられた。

本薬は PTH が高値を示す患者に対して使用され、PTH が管理目標値に維持されるように定期的に PTH を測定しながら使用する旨を、注意喚起する予定のため、臨床使用時では顕著な PTH の低値が長期間持続する可能性は低く、精巣及び精巣上体への影響が発現する可能性も低いと考えた。

2.6.6.9.2.9 ラットにおける副腎皮質球状帯細胞肥大

ラットを用いた 13 及び 26 週間反復経口投与毒性試験において、副腎皮質球状帯細胞肥大が認められた。しかし、より長期のがん原性試験では認められなかったため、毒性学的意義は低いと判断した。

2.6.6.9.2.10 ラットにおける十二指腸びらん

ラットを用いた 4 及び 13 週間反復経口投与毒性試験において、十二指腸びらんが認められた。しかし、より長期の 26 週間反復経口投与毒性試験及びがん原性試験では認められなかったため、毒性学的意義は低いと判断した。

2.6.6.9.3 遺伝毒性試験

細菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験及びラットを用いた骨髄小核試験において、いずれも陰性であったため、遺伝毒性を示さないと判断した。

2.6.6.9.4 がん原性試験

ラット及び rasH2 マウスを用いたがん原性試験において、いずれも陰性であったため、がん原性を示さないと判断した。二次性副甲状腺機能亢進症患者に予定臨床最大用量 12 mg を 14 日間反復投与したときの推定非結合型 $AUC_{0-\tau}$（230 ng·h/mL）に対する、ラットを用いたがん原性試験において被験物質投与による腫瘍発生が認められなかった最高用量（当該試験における最高用量である雄 6 mg/kg、雌 3/2 mg/kg）での投与 364 日における非結合型 AUC_{0-24}（雄 837 ng·h/mL、雌 4560 ng·h/mL）の比（ラット/ヒト）は、雄で 3.6 倍、雌で 19.8 倍であった。また、マウスを用いたがん原性試験において被験物質投与による腫瘍発生が認められなかった最高用量（当該試験における最高用量である雄 30 mg/kg、雌 20 mg/kg）での投与 181 日における非結合型 AUC_{0-24}（雄 15300 ng·h/mL、雌 13700 ng·h/mL）の比（マウス/ヒト）は、雄で 66.5 倍、雌で 59.6 倍であった。

2.6.6.9.5 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験における主な所見及び予定臨床最大用量 12 mg を 14 日間反復投与した時の推定非結合型 $AUC_{0-\tau}$（230 ng·h/mL）（5.3.3.5-1）に対する曝露比を表 2.6.6.9.5-1に示す。

表2.6.6.9.5-1 生殖発生毒性試験結果一覧

動物種/系統	評価対象	無毒性量 (mg/kg/day)	毒性所見	曝露比 [a]
受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験				
ラット/Crl:CD(SD)	親動物 (雄/雌)	1.5/0.6	雄 6 mg/kg、雌 3 mg/kg: 体重低値、摂餌量低値	2.1[b]/5.1[c]
	親動物生殖及び初期胚発生(雄/雌)	6/0.6	雌 3 mg/kg: 発情回数減少傾向、発情周期延長傾向、黄体数減少	14[b]/5.1[c]
胚・胎児発生に関する試験				
ラット/Crl:CD(SD)	母動物	0.3	≥1 mg/kg: 体重低値、摂餌量低値	1.3
	胚・胎児発生	0.3	≥1 mg/kg: 体重低値 3 mg/kg: 内臓変異、骨格変異	1.3
ウサギ/Kbl:NZW	母動物	0.25	0.6 mg/kg: 糞量減少、体重低値、摂餌量低値	0.49
	胚・胎児発生	0.6	−	1.4
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験				
ラット/Crl:CD(SD)	母動物	0.3	≥1 mg/kg: 体重低値、摂餌量低値 3 mg/kg: 妊娠期間延長、出産率低値、子宮内受胎産物	1.3[d]
	出生児	<0.3	≥0.3 mg/kg: 体重低値、水晶体混濁、陰茎亀頭包皮分離遅延、総行動距離及び立ち上がり回数の高値 (オープンフィールド検査) ≥1 mg/kg: 死産児率高値、生後 4 日の生存率低値、眼球混濁、虹彩瞳孔膜遺残、正向反射反応時間延長、自由落下反射消失、瞳孔反射消失 3 mg/kg: 出生率低値、生後 21 日の生存率低値、切歯破損、膣開口遅延	<1.3[d]

−：異常なし
a：血液透析施行中の二次性副甲状腺機能亢進症患者に予定臨床最大用量 12 mg を 14 日間反復投与した時の推定非結合型 $AUC_{0-\tau}$（230 ng·h/mL）（5.3.3.5-1）に対する反復投与時の非結合型 AUC_{0-24} の比率を示した。
b：ラットを用いた 4 週間反復経口投与試験（資料番号：4.2.3.2-2）における投与 28 日の非結合型 AUC_{0-24} を用いた。
c：ラットを用いた 13 週間反復経口投与試験（資料番号：4.2.3.2-3）における投与 91 日の非結合型 AUC_{0-24} を用いた。
d：ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（資料番号：4.2.3.5.2.-2）における妊娠 17 日（1 日 1 回、12 日間投与後）の非結合型 AUC_{0-24} を用いた。

KHK7580 投与による影響は、いずれの生殖発生毒性試験でも認められた。特に、ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では児の出生、生存及び発達に影響が認められ、死産児率は、媒体群 0.5%に比べ、1 mg/kg 投与群で 8.9%、3 mg/kg 投与群で 37.5%を示し、生後 4 日における生存率は、媒体群 96.0%に比べ、1 mg/kg 投与群で 66.9%、3 mg/kg 投与群で 9.0%を示した。また、雌雄ともに体重の低値、感覚・反射検査及び行動発達検査の一部異常並びに性成熟の遅延が認められ、雄の方がより低用量から認められる傾向にあった。

KHK7580 投与による出生児への影響は、胎盤、哺育等に異常が認められなかったため、母動物よりも胎児・出生児への直接的な影響を想定した。出生児の眼科学的検査では水晶体核部の混濁がすべての KHK7580 投与群で認められた。水晶体の発生及び発達を踏まえ、胎児の低 Ca 血症を推察した。また、生後 4 日における 1 mg/kg 投与群の出生児でも血漿中 Ca 濃度の低

値を示した。分娩直後の出生児では、母体からの Ca 供給が臍帯切断で停止し、血中 Ca 濃度の低下が知られている[38,39]。この血中 Ca 濃度低下に伴って血中 PTH 濃度が上昇し、出生児の血中 Ca 濃度を是正する[38,39]。仮に、胎児への KHK7580 曝露が高ければ、胎児における低 Ca 血症に加え、分娩後に出生児の PTH 分泌が促されず、更なる重篤な低 Ca 血症を惹起して死亡に至りうると想定した。本考察を裏付ける結果として、1）母体からの Ca 供給がある胚・胎児発生に関する試験では胎児の生存に影響がないこと、2）生理的に最も血中 Ca 濃度が低くなる生後 0～1 日に出生児死亡が集中することが挙げられる。更に、活性化変異ヒト CaR を過剰発現させた遺伝子改変マウスでは、胎生致死並びに出生率、生存率及び体重の低値を示す[25]。したがって、KHK7580 投与による出生児への影響は、胎児への高曝露による過剰な CaR の活性化に起因すると考えた。なお、出生児の発達への影響は胎児期及び新生児期の重篤な低 Ca 血症に起因する可能性が高いと想定したものの、判断するには根拠不十分であった。

以上より、KHK7580 は次世代の発生に大きな影響を与えるため、妊娠している可能性のある女性及び妊婦に対する使用は禁忌とすべきと判断した。また、乳汁への移行性も認められるため、授乳期の女性に対しては本剤投与中の授乳は避けるべきと考えた。

2.6.6.9.6 毒性発現の機序に関する試験：ラットにおける水晶体混濁発現機序に関する試験

KHK7580 を 7 日間反復経口投与したラットは、血中 Ca 濃度低下及び水晶体皮質前部混濁を示したが、グルコン酸 Ca 液の静脈内持続投与によって血中 Ca 濃度低下を抑制すると、水晶体皮質前部混濁の発現も同時に抑制された。加えて、眼房水中 KHK7580 濃度は、ラット及びカニクイザルいずれにおいても検出され、全身曝露からの移行率についても大きな差異はなかった。したがって、ラットにおける水晶体混濁は、血中 Ca 濃度低下による二次的影響であり、KHK7580 の直接的影響ではないと判断した。

2.6.6.9.7 その他の試験：光毒性試験

KHK7580 は、*in vitro* 光細胞毒性試験では非照射条件下で細胞毒性がなく判定不能であったが、有色ラットを用いた光毒性試験では、明色域及び暗色域における有害な皮膚反応並びに眼科学的検査及び眼球の病理組織学的検査において KHK7580 投与による影響は認められなかった。したがって、光毒性を示さないと判断した。

2.6.6.10 図表

図表は本文中の適切な箇所に記載した。

2.6.6.11 参考文献

1. Brown EM, MacLeod RJ. Extracellular calcium sensing and extracellular calcium signaling. Physiol Rev. 2001;81:239-97.
2. Chen RA, Goodman WG. Role of the calcium-sensing receptor in parathyroid gland physiology. Am J Physiol Renal Physiol. 2004;286:F1005-11.
3. Brown EM. Role of the calcium-sensing receptor in extracellular calcium homeostasis. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2013;27:333-43.
4. Rosol TJ. On-target effects of GLP-1 receptor agonists on thyroid C-cells in rats and mice. Toxicol Pathol. 2013;41:303-9.

5. Miao D, He B, Lanske B, Bai XY, Tong XK, Hendy GN, et al. Skeletal abnormalities in *Pth*-null mice are influenced by dietary calcium. Endocrinology. 2004;145:2046-53.
6. 板倉智敏, 後藤直彰. 第 2 章退行性病変. In: 動物病理学総論. 初版. 東京: 文永堂出版株式会社; 1994. p. 3-44.
7. Shoback D. Clinical practice: hypoparathyroidism. N Engl J Med. 2008;359:391-403.
8. Davis TM, Singh B, Choo KE, Ibrahim J, Spencer JL, St John A. Dynamic assessment of the electrocardiographic QT interval during citrate infusion in healthy volunteers. Br Heart J. 1995;73:523-6.
9. Fukuda T, Toyoshima S, Nakashima Y, Koshitani O, Kawaguchi Y, Momii A. Tolerable infusion rate of citrate based on clinical signs and the electrocardiogram in conscious dogs. Clin Nutr. 2006;25:984-93.
10. Zhang Y, Post WS, Dalal D, Bansal S, Blasco-Colmenares E, Jan De Beur S, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D, calcium, phosphorus, and electrocardiographic QT interval duration: findings from NHANES III and ARIC. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96:1873-82.
11. Newman DB, Fidahussein SS, Kashiwagi DT, Kennel KA, Kashani KB, Wang Z, et al. Reversible cardiac dysfunction associated with hypocalcemia: a systematic review and meta-analysis of individual patient data. Heart Fail Rev. 2014;19:199-205.
12. Hough TA, Bogani D, Cheeseman MT, Favor J, Nesbit MA, Thakker RV, et al. Activating calcium-sensing receptor mutation in the mouse is associated with cataracts and ectopic calcification. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101:13566-71.
13. Furuta T, Shimizu Y, Takahashi I, Mitani H. Formation and mineralization of murine molar roots with hypocalcaemia induced by a low-calcium diet and the changes after returning to a normal diet. Arch Oral Biol. 1999;44:629-39.
14. Nanci A, Mocetti P, Sakamoto Y, Kunikata M, Lozupone E, Bonucci E. Morphological and immunocytochemical analyses on the effects of diet-induced hypocalcemia on enamel maturation in the rat incisor. J Histochem Cytochem. 2000;48:1043-57.
15. Yamaguti PM, Arana-Chavez VE, Acevedo AC. Changes in amelogenesis in the rat incisor following short-term hypocalcaemia. Arch Oral Biol. 2005;50:185-8.
16. Rocha-Singh KJ, Zeller T, Jaff MR. Peripheral arterial calcification: prevalence, mechanism, detection, and clinical implications. Catheter Cardiovasc Interv. 2014;83:E212-20.
17. Kendrick J, Chonchol M. The role of phosphorus in the development and progression of vascular calcification. Am J Kidney Dis. 2011;58: 826-34.
18. Giachelli CM. The emerging role of phosphate in vascular calcification. Kidney Int. 2009;75:890-7.
19. 飯島勝矢. リンと循環器疾患. Clin Calcium. 2012;22:1505-13.
20. Jansen J, Gres P, Umschlag C, Heinzel FR, Degenhardt H, Schluter KD, et al. Parathyroid hormone-related peptide improves contractile function of stunned myocardium in rats and pigs. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2003;284:H49-55.
21. Fazekas R, Soos P, Kekesi V, Fazekas L, Juhasz-Nagy A. The coronary effects of parathyroid hormone. Horm Res. 2004;61:234-41.

22. Zaruba MM, Huber BC, Brunner S, Deindl E, David R, Fischer R, et al. Parathyroid hormone treatment after myocardial infarction promotes cardiac repair by enhanced neovascularization and cell survival. Cardiovasc Res. 2008;77:722-31.
23. Feola M, Gonzalez H, Canizaro PC. Vasoactive parathyroid hormone in the treatment of acute ischemic left ventricular failure and the prevention of cardiogenic shock. Circ Shock. 1985;17:163-77.
24. 岡宮英明, 花田貴宣, 福島昭治, 萩原昭裕. 各論 7 章循環器. In: 日本毒性病理学会. 毒性病理組織学. 第一版. 名古屋: 有限会社アイペック; 2000. p. 223-45.
25. Dong B, Endo I, Ohnishi Y, Kondo T, Hasegawa T, Amizuka N, et al. Calcilytic ameliorates abnormalities of mutant calcium-sensing receptor (CaSR) knock-in mice mimicking autosomal dominant hypocalcemia (ADH). J Bone Miner Res. 2015;30:1980-93.
26. Pearce SH, Williamson C, Kifor O, Bai M, Coulthard MG, Davies M, et al. A familial syndrome of hypocalcemia with hypercalciuria due to mutations in the calcium-sensing receptor. N Engl J Med. 1996;335:1115-22.
27. Hannan FM, Thakker RV. Calcium-sensing receptor (CaSR) mutations and disorders of calcium, electrolyte and water metabolism. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2013;27:359-71.
28. Hannan FM, Babinsky VN, Thakker RV. Disorders of the calcium-sensing receptor and partner proteins: insights into the molecular basis of calcium homeostasis. J Mol Endocrinol. 2016;57:R127-42.
29. Canaff L, Petit JL, Kisiel M, Watson PH, Gascon-Barre M, Hendy GN. Extracellular calcium-sensing receptor is expressed in rat hepatocytes: coupling to intracellular calcium mobilization and stimulation of bile flow. J Biol Chem. 2001;276:4070-9.
30. Graca JAZ, Schepelmann M, Brennan SC, Reens J, Chang W, Yan P, et al. Comparative expression of the extracellular calcium-sensing receptor in the mouse, rat, and human kidney. Am J Physiol Renal Physiol. 2016;310:F518-33.
31. Rainone F, Arcidiacono T, Terranegra A, Aloia A, Dogliotti E, Mingione A, et al. Calcium sensing receptor and renal mineral ion transport. J Endocrinol Invest. 2011;34(Suppl 7):8-12.
32. Vezzoli G, Terranegra A, Rainone F, Arcidiacono T, Cozzolino M, Aloia A, et al. Calcium-sensing receptor and calcium kidney stones. J Transl Med. 2011;9:201.
33. Procino G, Mastrofrancesco L, Tamma G, Lasorsa DR, Ranieri M, Stringini G, et al. Calcium-sensing receptor and aquaporin 2 interplay in hypercalciuria-associated renal concentrating defect in humans. An in vivo and in vitro study. PLoS One. 2012;7:e33145.
34. Lerchbaum E, Obermayer-Pietsch B. Vitamin D and fertility: a systematic review. Eur J Endocrinol. 2012;166:765-78.
35. Blomberg Jensen M, Bjerrum PJ, Jessen TE, Nielsen JE, Joensen UN, Olesen IA, et al. Vitamin D is positively associated with sperm motility and increases intracellular calcium in human spermatozoa. Hum Reprod. 2011;26:1307-17.
36. Tejwani V, Qian Q. Calcium regulation and bone mineral metabolism in elderly patients with chronic kidney disease. Nutrients. 2013;5:1913-36.
37. Blau JE, Collins MT. The PTH-Vitamin D-FGF23 axis. Rev Endocr Metab Disord. 2015;16:165-74.

38. Kovacs CS. Bone development and mineral homeostasis in the fetus and neonate: roles of the calciotropic and phosphotropic hormones. Physiol Rev. 2014;94:1143-218.
39. Kovacs CS. Calcium, phosphorus, and bone metabolism in the fetus and newborn. Early Hum Dev. 2015;91:623-8.

KHK7580

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.7　毒性試験概要表

協和発酵キリン株式会社

目次

目次 2
2.6.7 毒性試験概要表 3
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 3
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試験成績の一覧 8
2.6.7.4 毒性試験：使用ロット 14
2.6.7.5 単回投与毒性試験 15
2.6.7.6 反復投与毒性試験–重要な試験以外の試験 16
2.6.7.7 反復投与毒性試験 18
2.6.7.7.1 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験 18
2.6.7.7.2 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験 24
2.6.7.7.3 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験 29
2.6.7.7.4 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験 36
2.6.7.7.5 カニクイザルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験 42
2.6.7.7.6 カニクイザルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験 47
2.6.7.8 遺伝毒性試験：*In Vitro* 52
2.6.7.8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験 52
2.6.7.8.2 哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験 55
2.6.7.9 遺伝毒性試験：*In Vivo* 56
2.6.7.9.1 ラットを用いた骨髄小核試験 56
2.6.7.10 がん原性試験 - 重要な試験以外の試験 57
2.6.7.11 がん原性試験 59
2.6.7.11.1 ラットを用いたがん原性試験 59
2.6.7.11.2 rasH2 マウスを用いたがん原性試験 64
2.6.7.12 生殖発生毒性試験 –重要な試験以外の試験 68
2.6.7.13 生殖発生毒性試験 69
2.6.7.13.1 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 69
2.6.7.13.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験 71
2.6.7.13.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験 75
2.6.7.13.4 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 79
2.6.7.14 局所刺激性試験 86
2.6.7.15 その他の毒性試験 87

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

被験物質: KHK7580								
試験の種類	動物種/系統、性	投与方法	投与期間 (休薬期間)	投与量 (mg/kg/day)[a]	GLP	実施施設	試験番号	資料番号
反復投与毒性試験								
2 週間反復投与毒性試験	ラット /Crl:CD(SD)、雌雄	強制経口	2 週間	0, 0.3, 1, 3, 10	非適	[redacted]	[redacted]220	参考 4.2.3.2-1
4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間休薬試験	ラット /Crl:CD(SD)、雌雄	強制経口	4 週間 (4 週間)	0, 0.1, 0.3, 1.5, 6	適	[redacted] b	[redacted]949	4.2.3.2-2
13 週間反復投与毒性試験	ラット /Crl:CD(SD)、雌雄	強制経口	13 週間	雄: 0, 0.3, 1.5, 6 雌: 0, 0.1, 0.6, 3	適	[redacted] b	[redacted]163	4.2.3.2-3
26 週間反復投与毒性試験	ラット /Crl:CD(SD)、雌雄	強制経口	26 週間	雄: 0, 0.3, 1.5, 6 雌: 0, 0.1, 0.6, 3	適	[redacted]	[redacted]153	4.2.3.2-4
2 週間反復投与毒性試験	カニクイザル、雌雄	強制経口	2 週間	0, 1, 3, 10	非適	[redacted] b	[redacted]391	参考 4.2.3.2-5
4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間休薬試験	カニクイザル、雌雄	強制経口	4 週間 (4 週間)	0, 0.1, 0.3, 1, 3	適	[redacted] b	[redacted]973	4.2.3.2-6
13 週間反復投与毒性試験	カニクイザル、雌雄	強制経口	13 週間	0, 0.3[c], 1[d], 3	適	[redacted] b	[redacted]228	4.2.3.2-7
39 週間反復投与毒性試験	カニクイザル、雌雄	強制経口	39 週間	0, 0.3, 1, 3	適	[redacted]	[redacted]163	4.2.3.2-8

a：下線は GLP 適用反復投与毒性試験の無毒性量を示す。なお、下線がない GLP 適用反復投与毒性試験は最低用量未満の無毒性量を示す。
b：[redacted]
c：雄の無毒性量
d：雌の無毒性量

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質: KHK7580								
試験の種類	動物種/系統、性	投与方法	投与期間 (休薬期間)	投与量 (mg/kg/day)	GLP	実施施設	試験番号	資料番号
遺伝毒性試験								
復帰突然変異試験	ネズミチフス菌及び大腸菌	*In vitro*	NA	19.5, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate	適	[redacted] b	[redacted]964	4.2.3.3.1-1
染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞	*In vitro*	NA	50, 100, 150, 250, 260, 300, 340, 350 µg/mL	適	[redacted] b	[redacted]965	4.2.3.3.1-2
骨髄小核試験	ラット /Crl:CD(SD)、雄	強制経口	2 日間	0, 10, 30, 100	適	[redacted] b	[redacted]967	4.2.3.3.2-1
がん原性試験								
がん原性試験	ラット /Crl:CD(SD)、雌雄	強制経口	104 週間	雄: 0, 0.3, 1.5, 6 雌: 0, 0.1, 0.6, 3/2[e]	適	[redacted]	[redacted]920	4.2.3.4.1-1
がん原性予備試験の用量設定試験	マウス /Crlj:CD1(ICR)、雌雄	強制経口	2 週間	0, 10, 30, 100	非適	[redacted]	[redacted]678	参考 4.2.3.4.2-1
がん原性試験の用量設定試験	マウス/Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl (非遺伝子組換え同腹仔)、雌雄	強制経口	4 週間	0, 10, 30, 100	適	[redacted]	[redacted]559	4.2.3.4.2-2
がん原性試験	マウス/Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl、雌雄	強制経口	26 週間	雄: 0, 3, 10, 30 雌: 0, 2, 6, 20	適	[redacted]	[redacted]851	4.2.3.4.2-3

NA：適応外
b：[redacted]
e：投与 47 週に 3 mg/kg/day から 2 mg/kg/day へ減量した。

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質: KHK7580								
試験の種類	動物種/系統、性	投与方法	投与期間 (休薬期間)	投与量 (mg/kg/day)	GLP	実施施設	試験番号	資料番号
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 /Crl:CD(SD)、雌雄	強制経口	雄: 交配 2 週間前～剖検前日 雌: 交配 2 週間前～妊娠 7 日	雄: 0, 0.3, 1.5, 6 雌: 0, 0.1, 0.6, 3	適	[redacted]	[redacted]702	4.2.3.5.1-1
胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験	ラット /Crl:CD(SD)、雌	強制経口	妊娠 6–17 日	0, 0.3, 1.5, 6	適	[redacted]	[redacted]095	4.2.3.5.2.-1
胚・胎児発生に関する試験	ラット /Crl:CD(SD)、雌	強制経口	妊娠 6–17 日	0, 0.3, 1, 3	適	[redacted]	[redacted]119	4.2.3.5.2.-2
胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験	ウサギ/Kbl:NZW、雌	強制経口	妊娠 6–18 日	0, 0.1, 0.3, 1	適	[redacted]	[redacted]094	4.2.3.5.2.-3
胚・胎児発生に関する試験	ウサギ/Kbl:NZW、雌	強制経口	妊娠 6–18 日	0, 0.1, 0.25, 0.6	適	[redacted]	[redacted]120	4.2.3.5.2.-4
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	ラット /Crl:CD(SD)、雌	強制経口	妊娠 6 日～哺育 20 日	0, 0.3, 1, 3	適	[redacted]	[redacted]172	4.2.3.5.3-1

2.6.7.1 毒性試験：一覧表（続き）

被験物質: KHK7580								
試験の種類	動物種/系統、性	投与方法	投与期間 (休薬期間)	投与量 (mg/kg/day)	GLP	実施施設	試験番号	資料番号
その他の毒性試験								
毒性発現の機序に関する試験: Ca 補充試験	ラット /Crl:CD(SD)[f]、雄	強制経口	7 日間	0[g], 6[g], 10[g], 10[h]	非適	[redacted]	[redacted]099	参考 4.2.3.7.3-1
毒性発現の機序に関する試験: 眼房水中 KHK7580 濃度測定試験	ラット /Crl:CD(SD)、雄	強制経口	7 日間	6	適	[redacted] b	[redacted]891	4.2.3.7.3-2
毒性発現の機序に関する試験: 眼房水中 KHK7580 濃度測定試験	カニクイザル、雄	強制経口	7 日間	6	適	[redacted] b	[redacted]892	4.2.3.7.3-3
その他の試験: 光毒性試験	BALB/3T3 clone A31 細胞	*In vitro*	NA	3.9, 7.8, 16, 31, 63, 130, 250, 500 µg/mL	適	[redacted]	[redacted]001	4.2.3.7.7-1
その他の試験: 光毒性試験	ラット/Crl: Long-Evans、雌	強制経口	単回	0, 1, 3, 6	適	[redacted]	[redacted]690	4.2.3.7.7-2

NA：適応外
b：[redacted]
f：後大静脈カテーテル留置
g：生理食塩液の持続静脈内投与（2.35 mL/kg/h、初回投与後 1 時間～最終投与後 24 時間）
h：63.8 mg/mL グルコン酸 Ca 液の持続静脈内投与（2.35 mL/kg/h、初回投与後 1 時間～最終投与後 24 時間）

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質: KHK7580						
試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与量 (mg/kg/day)	GLP	試験番号	資料番号
反復投与毒性試験						
4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間休薬試験	ラット/Crl:CD(SD)	強制経口	0, 0.1, 0.3, 1.5, 6	適	[redacted]949	4.2.3.2-2
13 週間反復投与毒性試験	ラット/Crl:CD(SD)	強制経口	雄: 0, 0.3, 1.5, 6 雌: 0, 0.1, 0.6, 3	適	[redacted]163	4.2.3.2-3
26 週間反復投与毒性試験	ラット/Crl:CD(SD)	強制経口	雄: 0, 0.3, 1.5, 6 雌: 0, 0.1, 0.6, 3	適	[redacted]153	4.2.3.2-4
4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間休薬試験	カニクイザル	強制経口	0, 0.1, 0.3, 1, 3	適	[redacted]973	4.2.3.2-6
13 週間反復投与毒性試験	カニクイザル	強制経口	0, 0.3, 1, 3	適	[redacted]228	4.2.3.2-7
39 週間反復投与毒性試験	カニクイザル	強制経口	0, 0.3, 1, 3	適	[redacted]163	4.2.3.2-8
遺伝毒性試験						
骨髄小核試験	ラット/Crl:CD(SD)	強制経口	0, 10, 30, 100	適	[redacted]967	4.2.3.3.2-1
がん原性試験						
がん原性試験	ラット/Crl:CD(SD)	強制経口	雄: 0, 0.3, 1.5, 6 雌: 0, 0.1, 0.6, 3/2[a]	適	[redacted]920	4.2.3.4.1-1
がん原性試験の用量設定試験	マウス/Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl (非遺伝子組換え同腹仔)	強制経口	0, 10, 30, 100	適	[redacted]559	4.2.3.4.2-2
がん原性試験	マウス/Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl	強制経口	雄: 0, 3, 10, 30 雌: 0, 2, 6, 20	適	[redacted]851	4.2.3.4.2-3
生殖発生毒性試験						
胚・胎児発生に関する試験	ラット/Crl:CD(SD)	強制経口	0, 0.3, 1, 3	適	[redacted]119	4.2.3.5.2.-2
胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験	ウサギ/Kbl:NZW	強制経口	0, 0.1, 0.3, 1	適	[redacted]094	4.2.3.5.2.-3
胚・胎児発生に関する試験	ウサギ/Kbl:NZW	強制経口	0, 0.1, 0.25, 0.6	適	[redacted]120	4.2.3.5.2.-4

a：投与 47 週に 3 mg/kg から 2 mg/kg へ減量した。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

被験物質: KHK7580

投与量 (mg/kg/day)	AUC_{0-24} (μg·h/mL)										測定日	試験番号
	マウス		ラット		カニクイザル		妊娠ラット	妊娠ウサギ	ヒト[a]			
	雄	雌	雄	雌	雄	雌			健康成人	透析患者		
0.1			0.7535	3.743							Day 28	[redacted]949
0.1				5.095							Day 91	[redacted]163
0.1				4.960							Day 182	[redacted]153
0.1					0.1525	0.1410					Day 28	[redacted]973
0.1								1.121			GD 18	[redacted]094
0.1								0.9113			GD 18	[redacted]120
0.1				4.343							Day 364	[redacted]920
0.2									10.8		Day 8	7580-002
0.2										12.8[b]	Day 14	7580-PPK-01
0.25								2.996			GD 18	[redacted]120
0.3			2.283	11.02							Day 28	[redacted]949
0.3			1.509								Day 91	[redacted]163
0.3			1.730								Day 182	[redacted]153
0.3			1.545								Day 364	[redacted]920
0.3					0.4938	0.6211					Day 28	[redacted]973
0.3					0.04010	0.2002					Day 91	[redacted]228
0.3					0.9067	0.1632					Day 273	[redacted]163
0.3							7.037				GD 17	[redacted]119
0.3								4.072			GD 18	[redacted]094
0.6				28.15							Day 91	[redacted]163
0.6				30.44							Day 182	[redacted]153
0.6				24.01							Day 364	[redacted]920
0.6								8.334			GD 18	[redacted]120

GD：Gestation day（妊娠日数）
a：体重 60 kg 換算で投与量を算出した。
b：推定 $AUC_{0-\tau}$値

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

被験物質: KHK7580

投与量 (mg/kg/day)	AUC_{0-24} (μg·h/mL)										測定日	試験番号
	マウス		ラット		カニクイザル		妊娠ラット	妊娠ウサギ	ヒト[a]			
	雄	雌	雄	雌	雄	雌			健康成人	透析患者		
1					3.396	2.225					Day 28	[redacted]973
1					0.6168	0.7121					Day 91	[redacted]228
1					4.172	0.9805					Day 273	[redacted]163
1							30.34				GD 17	[redacted]119
1								16.773			GD 18	[redacted]094
1.5			11.64	54.70							Day 28	[redacted]949
1.5			6.817								Day 91	[redacted]163
1.5			10.07								Day 182	[redacted]153
1.5			4.645								Day 364	[redacted]920
2		10.11									Day 181	[redacted]851
3/2[d]				108.6							Day 364	[redacted]920
3	12.04										Day 181	[redacted]851
3				192.5							Day 91	[redacted]163
3				188.2							Day 182	[redacted]153
3					7.001	6.016					Day 28	[redacted]973
3					2.279	4.532					Day 91	[redacted]228
3					6.451	7.245					Day 273	[redacted]163
3							105.9				GD 17	[redacted]119
6		32.74									Day 181	[redacted]851
6			75.40	267.6							Day 28	[redacted]949
6			43.72								Day 91	[redacted]163
6			62.01								Day 182	[redacted]153
6			19.93								Day 364	[redacted]920

GD：Gestation day（妊娠日数）
a：体重 60 kg 換算で投与量を算出した。
d：投与 47 週に 3 mg/kg から 2 mg/kg へ減量した。

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

被験物質: KHK7580

投与量 (mg/kg/day)	$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·h/mL)											
	マウス		ラット		カニクイザル		妊娠ラット	妊娠ウサギ	ヒト[a]		測定日	試験番号
	雄	雌	雄	雌	雄	雌			健康成人	透析患者		
10	33.46	37.39									Day 27	[redacted]559
10	47.31										Day 181	[redacted]851
20		131.7									Day 181	[redacted]851
30	135.7	220.0									Day 27	[redacted]559
30	147.2										Day 181	[redacted]851
100	517.9	671.2									Day 27	[redacted]559
100			1347								Day 2	[redacted]967

a：体重 60 kg 換算で投与量を算出した。

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

被験物質: KHK7580

投与量 (mg/kg/day)	C_{max} (μg/mL)										測定日	試験番号
	マウス		ラット		カニクイザル		妊娠ラット	妊娠ウサギ	ヒト[a]			
	雄	雌	雄	雌	雄	雌			健康成人	透析患者		
0.1			0.1025	0.2887							Day 28	[redacted]949
0.1				0.3138							Day 91	[redacted]163
0.1				0.2919							Day 182	[redacted]153
0.1					0.05139	0.04510					Day 28	[redacted]973
0.1								0.08757			GD 18	[redacted]094
0.1								0.08897			GD 18	[redacted]120
0.1				0.2674							Day 364	[redacted]920
0.2									1.05		Day 8	7580-002
0.2										0.843[b]	Day 14	7580-PPK-01
0.25								0.3028			GD 18	[redacted]120
0.3			0.2714	0.8440							Day 28	[redacted]949
0.3			0.2962								Day 91	[redacted]163
0.3			0.2617								Day 182	[redacted]153
0.3			0.2147								Day 364	[redacted]920
0.3					0.1609	0.1658					Day 28	[redacted]973
0.3					0.01057	0.06580					Day 91	[redacted]228
0.3					0.2337	0.03870					Day 273	[redacted]163
0.3							0.5273				GD 17	[redacted]119
0.3								0.3363			GD 18	[redacted]094
0.6				1.900							Day 91	[redacted]163
0.6				1.789							Day 182	[redacted]153
0.6				1.616							Day 364	[redacted]920
0.6								0.6817			GD 18	[redacted]120

GD：Gestation day（妊娠日数）
a：体重 60 kg 換算で投与量を算出した。
b：推定 C_{max} 値

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

被験物質: KHK7580

投与量 (mg/kg/day)	C_{max} (μg/mL)											
	マウス		ラット		カニクイザル		妊娠ラット	妊娠ウサギ	ヒト[a]		測定日	試験番号
	雄	雌	雄	雌	雄	雌			健康成人	透析患者		
1					0.8095	0.6016					Day 28	[redacted]973
1					0.1858	0.1410					Day 91	[redacted]228
1					0.9999	0.3254					Day 273	[redacted]163
1							1.916				GD 17	[redacted]119
1								1.129			GD 18	[redacted]094
1.5			1.195	3.904							Day 28	[redacted]949
1.5			0.9954								Day 91	[redacted]163
1.5			1.191								Day 182	[redacted]153
1.5			0.7356								Day 364	[redacted]920
2		2.218									Day 181	[redacted]851
3/2[d]				6.000							Day 364	[redacted]920
3	2.858										Day 181	[redacted]851
3				11.13							Day 91	[redacted]163
3				10.17							Day 182	[redacted]153
3					1.951	1.449					Day 28	[redacted]973
3					0.5897	0.9501					Day 91	[redacted]228
3					2.088	1.952					Day 273	[redacted]163
3							6.710				GD 17	[redacted]119
6		6.031									Day 181	[redacted]851
6			6.483	18.00							Day 28	[redacted]949
6			4.580								Day 91	[redacted]163
6			7.100								Day 182	[redacted]153
6			2.615								Day 364	[redacted]920

GD：Gestation day（妊娠日数）
a：体重 60 kg 換算で投与量を算出した。
d：投与 47 週に 3 mg/kg から 2 mg/kg へ減量した。

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

被験物質: KHK7580

投与量 (mg/kg/day)	C_{max} (μg/mL)											
	マウス		ラット		カニクイザル		妊娠ラット	妊娠ウサギ	ヒト[a]		測定日	試験番号
	雄	雌	雄	雌	雄	雌			健康成人	透析患者		
10	7.094	7.177									Day 27	[redacted]559
10	9.791										Day 181	[redacted]851
20		26.75									Day 181	[redacted]851
30	21.54	21.64									Day 27	[redacted]559
30	24.54										Day 181	[redacted]851
100	56.52	65.32									Day 27	[redacted]559
100			113.6								Day 2	[redacted]967

a：体重 60 kg 換算で投与量を算出した。

2.6.7.4 毒性試験：使用ロット

被験物質: KHK7580					
バッチ番号	純度 (%)	規格設定された不純物 (%)		試験番号	試験の種類
		最大類縁物質量 (%)	総量 (%)		
申請規格:	[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted]		
[redacted]	[redacted]	NT	NT	[redacted]220	ラットを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験
				[redacted]391	カニクイザルを用いた 2 週間反復経口投与毒性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]949	ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験
				[redacted]163	ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験
				[redacted]153	ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験
				[redacted]973	カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験
				[redacted]228	カニクイザルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験
				[redacted]163	カニクイザルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験
				[redacted]964	復帰突然変異試験
				[redacted]965	染色体異常試験
				[redacted]967	骨髄小核試験
				[redacted]920	ラットを用いたがん原性試験
				[redacted]678	rasH2 マウスを用いたがん原性予備試験の用量設定試験
				[redacted]559	rasH2 マウスを用いたがん原性試験の用量設定試験
				[redacted]851	rasH2 マウスを用いたがん原性試験
				[redacted]702	ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験
				[redacted]095	ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験
				[redacted]119	ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験
				[redacted]094	ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験の用量設定試験
				[redacted]120	ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験
				[redacted]172	ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験
				[redacted]099	毒性発現の機序に関する試験: ラットを用いた Ca 補充試験
				[redacted]891	毒性発現の機序に関する試験: ラット眼房水中 KHK7580 濃度測定試験
				[redacted]892	毒性発現の機序に関する試験: カニクイザル眼房水中 KHK7580 濃度測定試験
				[redacted]001	その他の試験: *In vitro* 光細胞毒性試験
				[redacted]690	その他の試験: 有色ラットを用いた光毒性試験

NT：測定せず

2.6.7.5 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施しなかった。

2.6.7.6 反復投与毒性試験–重要な試験以外の試験

<table>
<tr><td colspan="7">被験物質: KHK7580</td></tr>
<tr><td>動物種/系統</td><td>投与方法
(溶媒/投与形態)</td><td>投与期間</td><td>投与量
(mg/kg/day)</td><td>性及び動物数/群</td><td>特記すべき所見</td><td>試験番号/
資料番号</td></tr>
<tr><td>ラット
/Crl:CD(SD)</td><td>強制経口
(0.5 w/v% MC
溶液/懸濁)</td><td>14 日間</td><td>0, 0.3, 1, 3,
10</td><td>毒性試験群: 全群雌雄 6 例

TK 用サテライト群: KHK7580 投与群雌雄 6 例 [a]</td><td>ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験の用量設定試験として実施し、以下の所見が両性又は片性で認められた。
≥0.3 mg/kg/day
血清中 Ca 及び K の低値、血清中 IP の高値
≥1 mg/kg/day
水晶体皮質前部混濁、血清中 Cl の低値
≥3 mg/kg/day
筋攣縮、脱毛、体重の減少又は増加抑制、MCHC 及び網状赤血球数の高値、血清中 ALT 及び T-Cho の高値、心臓の白血球浸潤、心筋線維の変性／壊死
10 mg/kg/day
死亡 (投与 2 日にサテライト群雌 1 例、死亡前に筋攣縮あり)、摂餌量の低値、MCV の低値、血漿中 LDH 及び CK の高値、血清中 Glu 及び Na の高値、心臓重量、肝臓重量及び腎臓重量の低値
最終投与日における TK 解析の結果を下表に示す。全身曝露は、投与量の増加に伴って増加した。
<table>
<tr><td colspan="2">投与量 (mg/kg/day)</td><td>0.3</td><td>1</td><td>3</td><td>10</td></tr>
<tr><td>C_{max} (μg/mL)</td><td>雄</td><td>0.855</td><td>1.56</td><td>4.01</td><td>19.2</td></tr>
<tr><td></td><td>雌</td><td>0.673</td><td>2.43</td><td>6.19</td><td>21.5</td></tr>
<tr><td>AUC_{0-24} (μg·h/mL)</td><td>雄</td><td>8.45</td><td>12.0</td><td>43.3</td><td>257</td></tr>
<tr><td></td><td>雌</td><td>7.86</td><td>28.9</td><td>89.0</td><td>325</td></tr>
</table>
以上より、ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験の最高用量は 6 mg/kg/day が適切と判断した。</td><td>[redacted]220/
参考
4.2.3.2-1</td></tr>
</table>

a : 投与 1 日に 3 例、投与 14 日に 3 例を使用した。

2.6.7.6 反復投与毒性試験–重要な試験以外の試験（続き）

被験物質: KHK7580

<table>
<tr><th>動物種/系統</th><th>投与方法
(溶媒/投与形態)</th><th>投与期間</th><th>投与量
(mg/kg/day)</th><th>性及び動物数/群</th><th>特記すべき所見</th><th>試験番号/
資料番号</th></tr>
<tr><td>カニクイザル</td><td>強制経口
(0.5 w/v% MC
溶液/懸濁)</td><td>14 日間</td><td>0, 1, 3, 10</td><td>全群雌雄 2 例</td><td>カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験の用量設定試験として実施し、以下の所見が両性又は片性で認められた。
≥1 mg/kg/day
QTc 延長、血清中 Ca の低値、血清中 IP の高値
3 mg/kg/day
筋攣縮又は手首屈曲
10 mg/kg/day
筋攣縮、手首屈曲、不活発及び腹臥位 (当該動物は投与 5 日以降の投与中止)、 腎臓重量の高値、腎乳頭部鉱質沈着、尿細管拡張
最終投与日における TK 解析の結果を下表に示す。全身曝露は、投与量の増加に伴って増加した。
<table>
<tr><th>投与量 (mg/kg/day)</th><th></th><th>1</th><th>3</th><th>10</th></tr>
<tr><td>C_{max} (μg/mL)</td><td>雄</td><td>0.329</td><td>1.56</td><td>2.30[b]</td></tr>
<tr><td></td><td>雌</td><td>0.330</td><td>1.68</td><td>3.77</td></tr>
<tr><td>AUC_{0-24} (μg·h/mL)</td><td>雄</td><td>1.18</td><td>5.38</td><td>13.4[b]</td></tr>
<tr><td></td><td>雌</td><td>0.794</td><td>3.95</td><td>14.9</td></tr>
</table>
以上より、カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験の最高用量は 3 mg/kg/day が適切と判断した。</td><td>[redacted]391/
参考
4.2.3.2-5</td></tr>
</table>

b：投与 5 日に 1 例への投与を中止したため、1 例のみ。

2.6.7.7 反復投与毒性試験

2.6.7.7.1 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験

報告書の題名: A 4-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats Followed by a 4-Week Recovery Period										被験物質: KHK7580	
動物種/系統: ラット/Crl:CD(SD)				投与期間: 4 週間						試験番号: [redacted]949	
試験開始週齢: 6 週齢				休薬期間: 4 週間						記載箇所: 2.6.6.3.2	
初回投与年月日: 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日 (雄)、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日 (雌)				溶媒/投与形態: 0.5 w/v% MC 溶液/懸濁						資料番号: 4.2.3.2-2	
GLP 適用: 適用				投与方法: 強制経口投与 (5 mL/kg)							
特記事項: なし											
無毒性量: 0.1 mg/kg/day 未満											
投与量 (mg/kg/day)		0		0.1		0.3		1.5		6	
動物数	毒性評価群 (休薬試験群含む)	雄 : 18	雌 : 18	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 18	雌 : 18
	TK 用サテライト群 [a]	雄 : 8	雌 : 8	雄 : 8	雌 : 8	雄 : 8	雌 : 8	雄 : 8	雌 : 8	雄 : 8	雌 : 8
	Ca 及び PTH 測定用サテライト群 [b]	雄 : 8	雌 : 8	雄 : 8	雌 : 8	雄 : 8	雌 : 8	雄 : 8	雌 : 8	雄 : 8	雌 : 8
TK (N = 4)											
C_{max} (μg/mL)	投与 1 日	NC	NC	0.1218	0.1923	0.4003	0.5841	1.835	3.258	6.641	8.968
	投与 28 日	NC	NC	0.1025	0.2887	0.2714	0.8440	1.195	3.904	6.483	18.00
AUC_{0-24} (μg·h/mL)	投与 1 日	NC	NC	1.280	2.963	3.781	8.159	16.40	40.12	89.67	158.1
	投与 28 日	NC	NC	0.7535	3.743	2.283	11.02	11.64	54.70	75.40	267.6

数値：平均値　　NC：算出不能
a：投与 1 日に 4 例、投与 28 日に 4 例を使用した。
b：4 例ずつ各時点交互に採血した。

2.6.7.7.1 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（続き）

報告書の題名: A 4-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats Followed by a 4-Week Recovery Period								被験物質: KHK7580			
投与量 (mg/kg/day)		0		0.1		0.3		1.5		6	
動物数 Ca 及び PTH 測定用サテライト群[b]		雄 : 8	雌 : 8	雄 : 8	雌 : 8	雄 : 8	雌 : 8	雄 : 8	雌 : 8	雄 : 8	雌 : 8
血清中 PTH 濃度 (pg/mL, N = 4)[c]											
投与 1 日	投与前	88.8	57.2	55.8	84.1	77.8	60.5	26.6	62.1	71.4	73.5
	投与後 1 時間	47.8	68.1	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	9.30	BLQ	BLQ
	投与後 2 時間	72.8	131	BLQ	31.1	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	29.6	64.2	31.5	62.3	75.4	78.2	BLQ	BLQ	10.8	BLQ
投与 28 日	投与後 1 時間	149	83.2	38.9	12.6	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 2 時間	92.1	86.7	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	176	90.4	181	138	306	136	111	BLQ	20.8	BLQ
投与 31 日 (休薬 3 日)		376	118	309	110	521	226	454	112	408	10.1
投与 56 日 (休薬 28 日)		201	99.3	182	173	246	211	163	145	1245	156
血清中 Ca 濃度 (mg/dL, N = 4)											
投与 1 日	投与前	11.20	11.70	11.50	11.35	11.48	11.53	11.58	11.33	11.38	11.30
	投与後 1 時間	11.75	11.43	11.43	10.53	10.25	9.83	8.95	8.88	8.73	8.83
	投与後 2 時間	11.20	11.33	10.80	10.15	10.33	9.28	9.10	8.45	8.05	7.70
	投与後 4 時間	11.70	11.20	10.38	10.10	10.23	9.05	8.65	8.45	7.90	7.78
	投与後 8 時間	10.85	11.33	9.98	9.73	9.33	9.20	8.33	7.80	7.95	7.25
	投与後 24 時間	11.13	11.38	11.10	11.20	10.98	10.23	10.40	9.48	9.48	7.60
投与 28 日	投与後 1 時間	10.55	11.08	9.68	9.60	9.30	8.30	7.88	7.40	7.08	6.15
	投与後 2 時間	11.08	11.50	10.20	9.58	9.53	8.48	8.18	7.20	6.75	6.23
	投与後 4 時間	10.73	11.00	10.60	9.78	9.60	8.40	8.65	7.63	7.35	6.00
	投与後 8 時間	10.88	11.25	10.08	9.63	9.55	8.75	8.48	6.98	6.58	6.13
	投与後 24 時間	10.43	10.90	10.43	10.00	9.80	9.15	9.38	8.03	7.95	6.50
投与 31 日 (休薬 3 日)		10.58	11.05	10.63	11.25	10.73	10.38	10.28	10.20	9.93	7.95
投与 35 日 (休薬 7 日)		10.30	11.45	10.40	11.23	10.43	10.83	10.55	11.23	10.85	9.80
投与 56 日 (休薬 28 日)		10.60	11.30	10.83	10.93	10.85	10.98	10.65	11.18	10.85	10.53

数値：平均値
b：4 例ずつ各時点交互に採血した。
c：BLQ (<34 1 pg/mL）は 0 として算出した。

2.6.7.7.1 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（続き）

報告書の題名: A 4-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats Followed by a 4-Week Recovery Period										被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)			0		0.1		0.3		1.5		6	
動物数　毒性評価群 (休薬試験群含む)			雄 : 18	雌 : 18	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 18	雌 : 18
特記すべき所見												
死亡及び瀕死動物数			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
体重 (g)	投与 1 日		233.1	167.8	235.4	168.8	232.9	168.4	233.3	165.1	234.1	167.5
	投与 4 日		253.2	179.6	254.4	176.9	255.6	178.6	250.2	169.8	235.1**	156.8**
	投与 28 日		396.8	248.3	390.0	243.8	395.0	246.6	402.3	232.8	379.7	220.0**
摂餌量 (g/animal/day)	投与 1-8 日		28.83	20.37	28.45	19.68	28.63	20.28	27.13	17.12**	22.61**	14.70**
	投与 8-15 日		30.11	21.34	28.90	20.58	29.70	21.18	28.62	20.11	27.31*	19.69
	投与 15-22 日		30.86	21.94	29.56	21.72	29.91	22.38	30.84	21.15	30.08	20.12*
一般状態観察 [d]												
筋攣縮			0/18	0/18	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	11/18	13/18
眼科学的検査 [d]												
水晶体皮質前部	投与 8/9 日前	微粒混濁	0/18	0/18	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/18	0/18
		び慢性混濁	0/18	0/18	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/18	0/18
	投与 7 日	微粒混濁	0/18	0/18	0/12	0/12	0/12	0/12	3/12	3/12	17/18	17/18
	投与 14 日	微粒混濁	0/18	0/18	0/12	0/12	2/12	3/12	8/12	10/12	18/18	18/18
	投与 21 日	微粒混濁	0/18	0/18	0/12	0/12	6/12	6/12	12/12	12/12	16/18	14/18
		び慢性混濁	0/18	0/18	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	2/18	4/18
	投与 27 日	微粒混濁	0/18	0/18	3/12	2/12	7/12	7/12	12/12	12/12	15/18	12/18
		び慢性混濁	0/18	0/18	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	3/18	6/18

数値：平均値又は例数
*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)
d：所見動物数／評価動物数

2.6.7.7.1 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（続き）

報告書の題名: A 4-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats Followed by a 4-Week Recovery Period							被験物質: KHK7580			
投与量 (mg/kg/day)	0		0.1		0.3		1.5		6	
動物数　毒性評価群 (休薬試験群含む)	雄 : 18	雌 : 18	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 18	雌 : 18
血液学的検査 (全群各 12 例、投与 29 日)										
網状赤血球比率 (%)	3.718	3.255	4.014	3.616	3.952	3.253	4.639**	3.689	5.560**	4.074*
網状赤血球数 ($\times10^9$/L)	305.24	262.08	333.40	289.96	323.15	259.97	377.45**	290.53	450.75**	326.78*
PT (sec)	−	8.18	−	8.33	−	8.26	−	8.36	−	8.74**
APTT (sec)	−	14.04	−	15.02	−	15.47**	−	15.34**	−	15.30**
白血球数 ($\times10^3$/μL)	8.884	7.735	8.790	6.708	8.071	6.459	10.923	9.385	11.673*	10.478**
好中球比率 (%)	11.57	9.91	13.58	12.43	11.51	12.10	14.69	11.28	19.03**	14.28
好中球数 ($\times10^3$/μL)	0.990	0.768	1.188	0.821	0.935	0.739	1.637	1.027	2.243**	1.438**
び慢性好塩基性赤血球の増加 [d]	0/12	1/12	0/12	3/12	0/12	0/12	2/12	0/12	5/12	3/12
血液生化学的検査 (全群各 12 例、投与 29 日)										
ALT (U/L)	26.8	17.7	23.8	17.8	24.3	24.5	29.0	28.5**	35.8**	32.8**
ALP (U/L)	−	278.8	−	273.5	−	283.1	−	293.3	−	364.3**
CK (U/L)	292.3	171.8	399.9	168.9	278.6	181.0	344.5	231.4*	387.3	263.3**
BUN (mg/dL)	10.79	13.91	12.09	14.71	11.71	16.14	12.52*	18.46**	14.53**	16.67*
Cr (mg/dL)	0.20	0.26	0.22	0.28	0.20	0.28	0.23	0.31*	0.24*	0.30
T-Cho (mg/dL)	62.8	78.0	62.2	76.0	66.3	78.9	73.0	78.0	85.8**	95.3*
PL (mg/dL)	102.3	−	98.7	−	107.9	−	111.8	−	126.8**	−
Ca (mg/dL)	10.07	10.07	9.82	9.07**	9.58**	8.12**	7.94**	6.34**	6.46**	5.24**
IP (mg/dL)	8.95	8.36	9.44	9.93**	9.63	10.98**	12.64**	14.72**	15.85**	16.82**
Na (mmol/L)	146.5	145.1	147.2	145.7	147.1	146.3	147.5	147.0**	148.3**	148.5**
K (mmol/L)	4.38	−	4.35	−	4.33	−	4.35	−	4.04*	−
Cl (mmol/L)	104.2	106.6	104.5	105.8	103.9	104.8*	101.8**	103.0**	99.9**	100.5**
尿検査 (全群各 6 例、投与 23 日)										
尿比重	1.0670	1.0557	1.0543	1.0552	1.0475	1.0493	1.0508	1.0440	1.0395*	1.0353**
尿量 (mL)	7.77	8.80	10.23	7.83	19.27	8.80	11.20	9.80	16.17	13.67*
Ca 排泄量 (mg)	1.062	1.675	1.580	1.777	2.107	2.595	3.823**	4.700*	8.213**	8.732**

数値：平均値　　−：被験物質投与による影響なし

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)

d：所見動物数／評価動物数

2.6.7.7.1 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（続き）

報告書の題名: A 4-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats Followed by a 4-Week Recovery Period								被験物質: KHK7580			
投与量 (mg/kg/day)		0		0.1		0.3		1.5		6	
動物数　毒性評価群 (休薬試験群含む)		雄 : 18	雌 : 18	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 18	雌 : 18
器官重量		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
剖検所見		−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
病理組織学的検査[d]											
眼	水晶体線維膨化	0/12	0/12	0/12	0/12	1/12	1/12	2/12	3/12	5/12	9/12
心臓	心筋線維変性／壊死	0/12	0/12	NT	NT	0/12	0/12	2/12	0/12	4/12	5/12
	白血球浸潤	1/12	0/12	NT	NT	0/12	0/12	2/12	1/12[e]	6/12	8/12
	鉱質沈着	0/12	0/12	NT	NT	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	1/12
肝臓	胆管上皮細胞肥大	0/12	0/12	0/1[f]	NT	NT	0/12	NT	1/12	0/12	2/12
十二指腸	びらん	0/12	0/12	NT	NT	NT	NT	0/12	0/12	1/12	3/12

数値：例数　　−：被験物質投与による影響なし　　NT：検査せず

d : 所見動物数／評価動物数

e : 試験施設内の背景データ変動範囲内のため、被験物質の影響とは判断しなかった。

f : 剖検異常動物

2.6.7.7.1 ラットを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（続き）

報告書の題名: A 4-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats Followed by a 4-Week Recovery Period			被験物質: KHK7580							
投与量 (mg/kg/day)	0		0.1		0.3		1.5		6	
動物数　休薬試験群	雄 : 6	雌 : 6	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 6	雌 : 6
休薬試験										
死亡及び瀕死動物数	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	0
体重 (g)　休薬 1 日	405.3	250.5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	382.5	219.3$
休薬 28 日	494.5	291.2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	463.0	265.5$
摂餌量 (g/animal/day)	−	−	NA	NA	NA	NA	NA	NA	−	−
一般状態観察	−	−	NA	NA	NA	NA	NA	NA	−	−
眼科学的検査 [d]										
水晶体皮質前部　休薬 26/28 日　微粒混濁	0/6	0/6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4/6	6/6
び慢性混濁	0/6	0/6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2/6	0/6
血液学的検査 (休薬 29 日)										
網状赤血球比率 (%)	3.500	−	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.903$	−
網状赤血球数 ($\times 10^9$/L)	296.52	−	NA	NA	NA	NA	NA	NA	249.43$	−
血液生化学的検査 (休薬 29 日)										
Ca (mg/dL)	−	9.97	NA	NA	NA	NA	NA	NA	−	9.05$$
IP (mg/dL)	7.15	6.62	NA	NA	NA	NA	NA	NA	8.27$$	8.20$$
Na (mmol/L)	144.7	−	NA	NA	NA	NA	NA	NA	145.8$	−
尿検査 (休薬 23 日)	−	−	NA	NA	NA	NA	NA	NA	−	−
器官重量	−	−	NA	NA	NA	NA	NA	NA	−	−
剖検所見	−	−	NA	NA	NA	NA	NA	NA	−	−
病理組織学的検査	−	−	NA	NA	NA	NA	NA	NA	−	−

数値：平均値又は例数　　−：被験物質投与による影響なし　　NA：適応外

$: p<0.05, $$: p<0.01 (Student t-test or Aspin-Welch t-test).

d：所見動物数／評価動物数

2.6.7.7.2 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名: A 13-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats						被験物質: KHK7580		
動物種/系統: ラット/Crl:CD(SD)		投与期間: 13 週間				試験番号: [redacted]163		
試験開始週齢: 6 週齢						記載箇所: 2.6.6.3.3		
初回投与年月日: 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日 (雄)、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日 (雌)		溶媒/投与形態: 0.5 w/v% MC 溶液/懸濁				資料番号: 4.2.3.2-3		
GLP 適用: 適用		投与方法: 強制経口投与 (5 mL/kg)						
特記事項: なし								
無毒性量: 雄 0.3 mg/kg/day 未満、雌 0.1 mg/kg/day								
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数	毒性評価群	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12
	TK 用サテライト群	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4
	Ca 及び PTH 測定用サテライト群 [a]	雄 : 8	雌: 8	雄 : 8	雌: 8	雄 : 8	雌: 8	雄 : 8	雌: 8
TK (N = 4)									
C_{max} (μg/mL)	投与 1 日	NC	NC	0.3814	0.1503	1.858	0.9852	6.628	4.364
	投与 91 日	NC	NC	0.2962	0.3138	0.9954	1.900	4.580	11.13
$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·h/mL)	投与 1 日	NC	NC	3.848	2.144	20.07	12.55	80.11	67.19
	投与 91 日	NC	NC	1.509	5.095	6.817	28.15	43.72	192.5

数値：平均値　　NC：算出不能
a：4 例ずつ各時点交互に採血した。

2.6.7.7.2 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 13-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats							被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数 Ca 及び PTH 測定用サテライト群 [a]		雄 : 8	雌: 8	雄 : 8	雌: 8	雄 : 8	雌: 8	雄 : 8	雌: 8
血清中 PTH 濃度 (pg/mL, N = 4)[b]									
投与 1 日	投与前	93.4	63.3	95.7	82.9	96.0	71.3	68.9	62.0
	投与後 2 時間	122	115	8.63	27.7	8.68	8.73	8.93	19.8
	投与後 24 時間	93.0	89.2	47.5	89.9	45.8	36.8	8.63	18.2
投与 28 日	投与後 2 時間	270	87.2	BLQ	23.5	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	292	115	203	139	113	35.6	9.15	8.73
投与 91 日	投与後 2 時間	326	95.6	BLQ	37.1	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	216	95.6	155	85.4	134	58.0	63.0	BLQ
血清中 Ca 濃度 (mg/dL, N = 4)									
投与 1 日	投与前	10.95	11.75	11.18	11.65	11.50	12.00	11.20	11.90
	投与後 2 時間	10.95	11.18	10.03	10.45	8.65	9.25	7.70	8.18
	投与後 4 時間	10.83	11.28	9.55	10.50	9.08	8.93	7.85	8.13
	投与後 8 時間	10.85	11.08	9.28	10.15	7.95	8.45	7.05	7.33
	投与後 24 時間	11.35	11.25	10.88	10.80	10.13	10.00	8.78	9.00
投与 28 日	投与後 2 時間	11.10	11.08	9.55	9.60	8.20	8.20	7.10	6.73
	投与後 4 時間	10.95	11.15	10.03	9.98	8.65	7.93	7.05	6.73
	投与後 8 時間	11.05	10.55	9.60	9.63	8.45	7.78	6.68	6.23
	投与後 24 時間	10.45	10.50	10.23	9.98	9.50	8.63	8.08	7.45
投与 91 日	投与後 2 時間	10.85	10.88	9.28	9.53	7.98	7.75	6.90	6.30
	投与後 4 時間	11.00	11.08	9.88	9.60	8.55	7.60	6.98	6.60
	投与後 8 時間	10.78	10.80	9.70	9.50	8.40	7.90	7.10	5.88
	投与後 24 時間	10.60	10.98	10.30	9.88	9.63	8.48	8.00	6.98

数値：平均値
a：4 例ずつ各時点交互に採血した。
b：BLQ（<34.1 pg/mL）は 0 として算出した。

2.6.7.7.2 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 13-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats							被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)			0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数　毒性評価群			雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12
特記すべき所見										
死亡及び瀕死動物数			0	0	0	0	0	0	0	0
体重 (g)	投与 1 日		219.03	177.88	219.08	179.03	222.08	179.13	220.77	178.07
	投与 4 日		240.05	185.41	241.11	190.57	240.68	188.66	221.57**	178.52
	投与 91 日		574.58	341.73	597.86	348.04	591.78	357.88	538.97	318.87
摂餌量 (g/animal/day)	投与 1-8 日		26.44	19.87	27.54	20.01	26.69	19.64	21.59**	16.36**
一般状態観察 [c]										
筋攣縮			0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	7/12	0/12
眼科学的検査 [c]										
水晶体皮質前部	投与 6/8 日前	微粒混濁	0/12	0/12	0/12	2/12	0/12	0/12	0/12	0/12
		び慢性混濁	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12
	投与 22/24 日	微粒混濁	2/12	1/12	7/12	3/12[d]	9/12	9/12	10/12	12/12
		び慢性混濁	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	2/12	0/12
	投与 85/87 日	微粒混濁	2/12	2/12	9/12	3/12[d]	9/12	11/12	8/12	7/12
		び慢性混濁	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	4/12	5/12

数値：平均値又は例数
**: p<0.01 (Dunnett's test)
c：所見動物数／評価動物数
d：2 例は投与前から認められていたことを踏まえると媒体群と同様の発生頻度であり、被験物質の影響とは判断しなかった。

2.6.7.7.2 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 13-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats						被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)	0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数　　毒性評価群	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12
血液学的検査 (投与 92 日)								
MCHC (g/dL)	35.46	35.55	35.48	35.60	35.61	35.85	35.96*	36.24**
網状赤血球比率 (%)	2.953	2.619	3.018	2.813	3.359	3.148*	3.675**	3.233**
網状赤血球数 ($\times10^9$/L)	265.91	211.02	266.26	230.83	297.52	254.39*	324.21**	264.27**
PT (sec)	−	8.30	−	8.15	−	8.16	−	7.90**
APTT (sec)	−	15.11	−	15.98	−	15.97	−	16.55**
白血球数 ($\times10^3$/μL)	8.918	5.181	10.218	5.744	10.691	6.413	11.366*	9.423**
リンパ球数 ($\times10^3$/μL)	−	4.383	−	4.806	−	5.174	−	7.430**
好中球数 ($\times10^3$/μL)	−	0.569	−	0.711	−	0.913	−	1.519**
単球比率 (%)	−	2.65	−	2.55	−	3.50	−	3.73*
単球数 ($\times10^3$/μL)	−	0.136	−	0.147	−	0.229*	−	0.348**
血液生化学的検査 (投与 92 日)								
CK (U/L)	169.2	100.9	192.5	107.6	202.5	118.7	270.1**	153.2*
BUN (mg/dL)	13.36	14.13	13.51	15.57	14.48	15.73	15.18*	16.56*
Cr (mg/dL)	−	0.33	−	0.32	−	0.34	−	0.39**
T-Cho (mg/dL)	63.1	−	71.0	−	76.8	−	79.5*	−
A/G	−	0.938	−	0.933	−	0.942	−	0.857**
α2-GLB (%)	−	8.32	−	7.58	−	7.78	−	9.47*
α2-GLB (g/dL)	−	0.59	−	0.55	−	0.58	−	0.67**
Ca (mg/dL)	10.02	10.03	9.49**	9.20**	8.59**	7.58**	6.57**	5.43**
IP (mg/dL)	7.73	6.48	8.66	8.25**	10.43**	11.08**	14.69**	14.60**
Na (mmol/L)	146.3	146.0	147.0	146.7	148.0**	147.3*	149.4**	148.9**
K (mmol/L)	4.41	4.03	4.41	4.10	4.20	3.98	4.13*	3.64*
Cl (mmol/L)	105.2	107.9	104.8	107.4	103.3**	104.8**	100.5**	102.1**

数値：平均値　　−：被験物質投与による影響なし

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ (Dunnett's test)

2.6.7.7.2 ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 13-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats							被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数　毒性評価群		雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12
尿検査 (全群各 6 例、投与 90 日)									
尿比重		1.0628	1.0590	1.0663	1.0565	1.0633	1.0588	1.0415**	1.0320*
尿量 (mL)		10.73	8.67	10.90	8.27	11.37	9.60	16.83	18.40*
Ca 排泄量 (mg)		1.400	1.880	2.210	2.230	3.523*	3.564	5.639**	7.910**
器官重量									
顎下腺	絶対重量 (g)	–	0.438	–	0.471	–	0.473	–	0.509**
	相対重量 (BW%)	–	0.135	–	0.144	–	0.141	–	0.171**
精嚢	絶対重量 (g)	2.590	NA	2.839	NA	2.823	NA	2.956**	NA
	相対重量 (BW%)	0.484	NA	0.507	NA	0.512	NA	0.590**	NA
剖検所見		–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査 [c]									
十二指腸	びらん	0/12	0/12	NT	NT	NT	0/12	0/12	2/12
肝臓	胆管上皮細胞肥大	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	6/12	4/12	10/12
心臓	心筋変性	0/12	1/12	1/12[e]	0/12	2/12	2/12	8/12	5/12
	心筋線維化	0/12	0/12	0/12	0/12	1/12	0/12	5/12	0/12
	心内膜下出血	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	1/12	0/12
	炎症性細胞浸潤	2/12	1/12	3/12[e]	0/12	5/12	3/12	9/12	6/12
腎臓	腎盂鉱質沈着	0/12	0/12	NT	NT	0/12	0/12	2/12	2/12
副腎	皮質球状帯細胞肥大	0/12	0/12	NT	NT	NT	0/12	0/12	3/12
眼球	水晶体線維膨化	0/12	0/12	0/12	0/12	2/12	3/12	6/12	7/12
大腿骨	外環状層板過骨症	0/12	0/12	3/12	0/12	9/12	3/12	11/12	8/12

数値：平均値又は例数　　–：被験物質投与による影響なし　　BW：体重　　NA：適応外　　NT：検査せず

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)

c：所見動物数／評価動物数

e：試験施設内の背景データ変動範囲内のため、被験物質の影響とは判断しなかった。

2.6.7.7.3 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名: A 26-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats							被験物質: KHK7580	
動物種/系統: ラット/Crl:CD(SD)			投与期間: 26 週間				試験番号: [redacted]153	
試験開始週齢: 6 週齢							記載箇所: 2.6.6.3.4	
初回投与年月日: 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日 (雄)、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日 (雌)			溶媒/投与形態: 0.5 w/v% MC 溶液/懸濁				資料番号: 4.2.3.2-4	
GLP 適用: 適用			投与方法: 強制経口投与 (5 mL/kg)					
特記事項: なし								
無毒性量: 雄 0.3 mg/kg/day 未満、雌 0.1 mg/kg/day 未満								
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数	毒性評価群	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12
	TK 用サテライト群 [a]	雄 : 5	雌 : 5	雄 : 5	雌 : 5	雄 : 5	雌 : 5	雄 : 5	雌 : 5
	Ca 及び PTH 測定用サテライト群 [a, b]	雄 : 9	雌 : 9	雄 : 9	雌 : 9	雄 : 9	雌 : 9	雄 : 9	雌 : 9
TK (N = 4)									
C_{max} (μg/mL)	投与 1 日	NC	NC	0.5165	0.1834	2.546	0.9583	9.584	4.878
	投与 91 日	NC	NC	0.2953	0.2921	1.092	1.679	5.840	9.820
	投与 182 日	NC	NC	0.2617	0.2919	1.191	1.789	7.100	10.17
$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·h/mL)	投与 1 日	NC	NC	5.891	2.219	30.31	12.79	123.7	63.83
	投与 91 日	NC	NC	1.633	4.409	7.366	25.32	63.54	161.9
	投与 182 日	NC	NC	1.730	4.960	10.07	30.44	62.01	188.2

数値：平均値　　NC：算出不能
a：予備動物 1 例を含む
b：4 例ずつ各時点交互に採血した。

2.6.7.7.3 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 26-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats							被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数 Ca 及び PTH 測定用サテライト群 [a, b]		雄 : 9	雌 : 9	雄 : 9	雌 : 9	雄 : 9	雌 : 9	雄 : 9	雌 : 9
血清中 PTH 濃度 (pg/mL, N = 4)[c]									
投与 1 日	投与前	41.7	61.9	53.6	124	41.8	80.8	75.3	64.5
	投与後 2 時間	82.8	101	BLQ	10.3	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	48.2	79.6	18.4	77.7	BLQ	8.70	BLQ	BLQ
投与 91 日	投与後 2 時間	296	77.3	BLQ	54.7	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	220	95.0	223	69.0	106	49.4	52.6	BLQ
投与 182 日	投与後 2 時間	282	84.8	BLQ	29.6	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	投与後 24 時間	211	120	163	45.8	233	BLQ	101	BLQ
血清中 Ca 濃度 (mg/dL, N = 4)									
投与 1 日	投与前	10.98	10.73	11.00	10.93	10.90	10.78	10.63	10.63
	投与後 2 時間	10.78	10.85	9.63	10.23	8.35	9.28	7.58	7.88
	投与後 4 時間	10.83	10.75	9.43	10.05	8.30	8.58	7.25	7.78
	投与後 8 時間	10.43	10.78	8.78	9.90	7.58	8.63	7.13	6.95
	投与後 24 時間	10.93	10.98	10.48	10.78	9.25	9.80	7.78	8.50
投与 91 日	投与後 2 時間	10.68	11.43	9.30	9.63	7.75	7.95	7.00	6.15
	投与後 4 時間	10.95	11.55	10.05	10.05	8.43	8.00	7.15	6.20
	投与後 8 時間	11.30	11.48	10.05	9.68	8.58	8.03	7.63	6.00
	投与後 24 時間	10.45	11.18	9.98	10.50	9.20	8.98	8.28	6.73
投与 182 日	投与後 2 時間	11.00	11.55	9.30	9.83	7.68	8.03	6.98	6.28
	投与後 4 時間	11.10	11.50	9.75	10.50	8.20	8.23	7.45	6.45
	投与後 8 時間	11.30	11.70	9.88	9.95	8.43	8.10	7.13	6.03
	投与後 24 時間	10.85	11.50	10.28	11.05	9.13	9.18	8.13	6.58

数値：平均値
a：予備動物 1 例を含む
b：4 例ずつ各時点交互に採血した。
c：BLQ（<34.1 pg/mL）は 0 として算出した。

2.6.7.7.3 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 26-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats							被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数　毒性評価群		雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12
特記すべき所見									
死亡及び瀕死動物数		1[d]	0	1[e]	0	0	0	0[f]	0
体重 (g)	投与 1 日	221.80	166.09	219.74	166.27	220.17	166.20	221.45	166.27
	投与 4 日	244.33	176.69	242.03	176.80	233.73	175.71	221.59**	170.54
	投与 120 日	664.50	349.36	684.05	338.42	618.13	369.38	613.93	323.01*
	投与 182 日	725.38	377.98	753.03	359.68	670.92	402.48	651.78	346.65*
摂餌量 (g/animal/day)	投与 1-8 日	29.18	20.43	29.33	20.25	26.47	19.40	23.99**	17.26**
	投与 120-127 日	−	23.37	−	21.60	−	23.18	−	20.71*
	投与 155-162 日	−	22.77	−	21.30	−	22.63	−	20.14*
	投与 162-169 日	−	23.09	−	20.86	−	22.63	−	20.49*
一般状態観察 [g]									
筋攣縮		0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	2/12	2/12
切歯欠損		0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	3/12	4/12
眼科学的検査 [g]									
水晶体皮質前部	投与 5/7 日前　微粒混濁	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12	0/12
	投与 86 日　微粒混濁	5/12	1/12	7/12	2/12[h]	10/12	11/12	12/12	12/12
	投与 177 日　微粒混濁	4/11	2/12	7/11	4/12	10/12	12/12	11/12	12/12

数値：平均値又は例数　　−：被験物質投与による影響なし

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)

d：死亡を投与 165 日に確認（動物番号：10106）。死因は骨髄性白血病と判断した。

e：死亡を投与 91 日に確認（動物番号：10208）。死因は不明であったが、用量依存性がないため、偶発性と判断した。

f：TK 用又は Ca 及び PTH 測定用サテライト群の雄 2 例の死亡を投与 28 及び 104 日に確認（動物番号：20405, 30401）。いずれも死因及び被験物質の影響は不明であった。

g：所見動物数／評価動物数

h：媒体投与群と同程度又は試験施設内の背景データ変動範囲内のため、被験物質の影響とは判断しなかった。

2.6.7.7.3 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 26-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats						被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)	0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数　　毒性評価群	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12
血液学的検査 (投与 183 日)								
Ht (%)	−	43.23	−	43.14	−	41.97	−	41.21*
MCV (fL)	−	53.86	−	53.67	−	52.82	−	51.93*
MCHC (g/dL)	−	35.38	−	35.52	−	36.08**	−	36.13**
網状赤血球比率 (%)	−	2.548	−	2.600	−	2.913	−	3.465**
網状赤血球数 ($\times10^9$/L)	−	204.47	−	208.85	−	231.62	−	272.01**
PT (sec)	−	8.56	−	8.47	−	8.38	−	7.94**
白血球数 ($\times10^3$/μL)	−	3.423	−	4.599	−	4.425	−	6.641**
リンパ球数 ($\times10^3$/μL)	−	2.548	−	3.495	−	3.278	−	4.630**
好中球数 ($\times10^3$/μL)	−	0.660	−	0.833	−	0.914	−	1.604**
単球数 ($\times10^3$/μL)	−	0.128	−	0.191	−	0.152	−	0.289**
血液生化学的検査 (投与 183 日)								
ALP (U/L)	−	83.6	−	89.9	−	89.7	−	127.4**
BUN (mg/dL)	13.11	13.78	12.99	14.23	14.03	14.57	15.52*	15.74*
A/G	−	0.973	−	0.918	−	0.982	−	0.831**
α2-GLB (%)	−	7.65	−	7.60	−	7.77	−	8.93*
α2-GLB (g/dL)	0.57	0.58	0.59	0.60	0.60	0.61	0.66*	0.69*
β-GLB (g/dL)	−	1.04	−	1.08	−	1.08	−	1.18*
γ-GLB (%)	5.71	6.78	6.25	6.91	6.10	6.22	7.44*	8.28*
γ-GLB (g/dL)	0.41	0.51	0.46	0.53	0.43	0.49	0.54*	0.64*
Ca (mg/dL)	10.31	10.29	9.46**	9.23**	8.43**	7.58**	7.00**	5.42**
IP (mg/dL)	6.75	5.53	7.56	6.96*	9.03**	9.15**	11.55**	12.51**
Na (mmol/L)	149.0	146.4	149.3	147.3	149.7	148.0**	150.9**	148.9**
K (mmol/L)	4.48	−	4.40	−	4.37	−	4.13**	−
Cl (mmol/L)	106.6	107.3	105.5	106.0	105.0*	104.8**	103.3**	100.8**

数値：平均値　　−：被験物質投与による影響なし

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)

2.6.7.7.3 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 26-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats						被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)	0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数　毒性評価群	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12
尿検査 (全群各 6 例、投与 179 日)								
尿比重	1.0627	1.0473	1.0538	1.0535	1.0575	1.0392	1.0400	1.0293*
尿量 (mL)	10.67	11.63	18.90	10.20	12.27	14.27	18.73	20.07*
Ca 排泄量 (mg)	0.773	3.259	2.620**	4.116	2.745**	5.037	3.959**	7.298**
IP 排泄量 (mg)	−	9.557	−	9.362	−	11.656	−	15.546
器官重量								
顎下腺　絶対重量 (g)	0.820	0.489	0.855	0.497	0.819	0.498	0.925*	0.606*
相対重量 (BW%)	0.120	0.138	0.120	0.148	0.130	0.133	0.153**	0.188**
精嚢　絶対重量 (g)	2.895	NA	3.063	NA	3.216	NA	3.288*	NA
相対重量 (BW%)	0.424	NA	0.436	NA	0.511*	NA	0.538**	NA
剖検所見 [g]								
歯　上顎切歯欠損	0/11	0/12	0/11	0/12	0/12	0/12	1/12	1/12
下顎切歯欠損	0/11	0/12	0/11	0/12	0/12	0/12	1/12	2/12
剖検所見 (死亡動物)[g]								
全器官　緑色変色	1/1	NA	0/1	NA	NA	NA	NA	NA
肝臓　大型	1/1	NA	0/1	NA	NA	NA	NA	NA
肺　浮腫	1/1	NA	0/1	NA	NA	NA	NA	NA
脾臓　大型	1/1	NA	0/1	NA	NA	NA	NA	NA

数値：平均値又は例数　　−：被験物質投与による影響なし　　BW：体重　　NA：適応外

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)

g：所見動物数／評価動物数

2.6.7.7.3 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 26-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats							被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数 毒性評価群		雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12
病理組織学的検査[g]									
肝臓	小葉中心性肝細胞肥大	0/11	0/12	0/2[i]	0/12	0/12	0/12	4/12	0/12
	胆管上皮細胞限局性肥大	0/11	0/12	0/2[i]	0/12	0/12	7/12	0/12	10/12
副甲状腺	萎縮	0/11	0/12	2/11	2/12	5/12	3/12	7/12	10/12
心臓	心筋変性	2/11	1/12	3/11[h]	NT	6/12	0/12	7/12	7/12
	心筋線維化	3/11	1/12	2/11[h]	NT	6/12	0/12	5/12	4/12
	炎症性細胞浸潤	5/11	0/12	3/11[h]	NT	8/12	1/12[h]	8/12	7/12
腎臓	腎盂鉱質沈着	0/11	1/12	NT	1/12[h]	0/12	2/12	4/12	6/12
肺	動脈壁限局性鉱質沈着	2/11	5/12	8/11	NT	9/12	5/12[h]	8/12	10/12
精巣上体	間質限局性鉱質沈着	1/11	NA	1/11[h]	NA	6/12	NA	9/12	NA
副腎	皮質球状帯細胞肥大	0/11	0/12	NT	NT	0/12	0/12	3/12	5/12
眼球	水晶体線維膨化	0/11	0/12	0/11	NT	1/12	0/12	3/12	7/12
大腿骨	外環状層板過骨症	0/11	0/12	1/11	0/12	3/12	0/12	5/12	5/12
	海綿骨肥厚	0/11	0/12	0/11	0/12	2/12	5/12	2/12	7/12
	皮質及び海綿骨軟骨遺残	0/11	0/12	1/11	0/12	2/12	5/12	5/12	5/12
胸骨	海綿骨肥厚	0/11	0/12	0/11	0/12	0/12	4/12	4/12	4/12
	海綿骨軟骨遺残	0/11	0/12	1/11	0/12	1/12	6/12	4/12	8/12

数値：例数 NA：適応外 NT：検査せず

g：所見動物数／評価動物数

h：媒体投与群と同程度又は試験施設内の背景データ変動範囲内のため、被験物質の影響とは判断しなかった。

i：剖検異常動物

2.6.7.7.3 ラットを用いた 26 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 26-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Rats						被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数 毒性評価群		雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12	雄 : 12	雌 : 12
病理組織学的検査 [g]									
上顎切歯	象牙細管拡張	0/11	0/12	2/11	NT	4/12	0/12	11/12	12/12
	象牙質石灰化不全	0/11	0/12	1/11	NT	1/12	0/12	10/12	9/12
	エナメル質石灰化不全	0/11	0/12	0/11	NT	0/12	0/12	1/12	1/12
	エナメル芽細胞層不整	0/11	0/12	0/11	NT	1/12	0/12	2/12	5/12
	エナメル芽細胞単細胞壊死	0/11	0/12	0/11	NT	0/12	0/12	3/12	3/12
	エナメル芽細胞限局性壊死	0/11	0/12	0/11	NT	0/12	0/12	0/12	1/12
	歯髄壊死	0/11	0/12	0/11	NT	0/12	0/12	1/12	1/12
	歯周組織炎症性細胞浸潤	0/11	0/12	0/11	NT	1/12	0/12	2/12	0/12
下顎切歯	象牙質石灰化不全	NT	NT	NT	NT	NT	NT	1/1[i]	2/2[i]
	エナメル質石灰化不全	NT	NT	NT	NT	NT	NT	0/1[i]	2/2[i]
	エナメル芽細胞層不整	NT	NT	NT	NT	NT	NT	0/1[i]	1/2[i]
	エナメル芽細胞単細胞壊死	NT	NT	NT	NT	NT	NT	1/1[i]	1/2[i]
	歯髄壊死	NT	NT	NT	NT	NT	NT	1/1[i]	1/2[i]
病理組織学的検査 (死亡動物)[g]									
骨髄	白血病	1/1	NA	0/1	NA	NA	NA	NA	NA

数値：例数 NA：適応外 NT：検査せず
g：所見動物数／評価動物数
i：剖検異常動物

2.6.7.7.4 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験

報告書の題名: A 4-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys Followed by a 4-Week Recovery Period											被験物質: KHK7580
動物種/系統: カニクイザル				投与期間: 4 週間							試験番号: [redacted]973
試験開始年齢: 4−5 歳				休薬期間: 4 週間							記載箇所: 2.6.6.3.6
初回投与年月日: 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日 (雄)、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日 (雌)				溶媒/投与形態: 0.5 w/v% MC 溶液/懸濁							資料番号: 4.2.3.2-6
GLP 適用: 適用				投与方法: 強制経口投与 (5 mL/kg)							
特記事項: なし											
無毒性量: 0.3 mg/kg/day											
投与量 (mg/kg/day)		0		0.1		0.3		1		3	
動物数 (休薬試験群含む)		雄 : 6	雌 : 6	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 6	雌 : 6
TK (N = 4/6)											
C_{max} (μg/mL)	投与 1 日	NC	NC	0.03326	0.06260	0.1882	0.1982	0.6925	0.7650	1.979	3.323
	投与 28 日	NC	NC	0.05139	0.04510	0.1609	0.1658	0.8095	0.6016	1.951	1.449
AUC_{0-24} (μg·h/mL)	投与 1 日	NC	NC	0.1329	0.2189	0.5711	0.7524	2.922	2.581	8.548	13.48
	投与 28 日	NC	NC	0.1525	0.1410	0.4938	0.6211	3.396	2.225	7.001	6.016

数値：平均値　　NC：算出不能

2.6.7.7.4 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（続き）

報告書の題名: A 4-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys Followed by a 4-Week Recovery Period								被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)	0		0.1		0.3		1		3	
動物数 (休薬試験群含む)	雄 : 6	雌 : 6	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 6	雌 : 6
血清中 PTH 濃度 (pg/mL, N = 4/6)[a]										
投与 15/12 日前	244	103	225	102	167	162	154	114	294	80.4
投与 1 日 投与後 1 時間	115	85.1	95.7	19.4**	12.9*	6.46**	11.7*	3.13**	17.0**	6.39**
投与後 2 時間	72.9	76.3	107	45.1	14.8	7.13**	8.44	1.40**	6.89	2.81**
投与後 24 時間	120	61.8	161	94.6	92.7	71.0	111	72.5	114	26.7
投与 28 日 投与後 1 時間	134	75.2	95.0	14.8**	15.2	6.80**	58.9	6.87**	64.8	7.08**
投与後 2 時間	164	94.8	182	98.7	92.1	20.7*	13.2*	16.8*	10.6*	8.20**
投与後 24 時間	92.7	88.4	195	100	110	141	146	123	190	82.4
投与 53 日 (休薬 25 日)[b]	134	110	NA	NA	NA	NA	NA	NA	163	130

数値：平均値　　NA：適応外

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)

a：BLQ（< 4.83 pg/mL）は 0 として算出した。

b：2 例/性/群

2.6.7.7.4 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（続き）

報告書の題名: A 4-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys Followed by a 4-Week Recovery Period										被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)		0		0.1		0.3		1		3	
動物数 (休薬試験群含む)		雄 : 6	雌 : 6	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 6	雌 : 6
血清中 Ca 濃度 (mg/dL, N = 4/6)											
投与 15/12 日前		10.40	9.95	10.20	10.30	10.50	10.18	10.05	10.40	9.75	10.08
投与 1 日	投与後 1 時間	10.50	9.73	10.40	10.20	10.08	9.80	9.80	9.80	9.58*	9.42
	投与後 2 時間	10.53	9.98	10.03	9.88	9.38*	9.15	8.93**	8.98*	8.45**	8.57**
	投与後 4 時間	10.28	9.75	10.03	9.78	9.33*	8.90*	8.00**	8.28**	7.70**	7.60**
	投与後 8 時間	11.32	10.53	11.25	10.53	10.10*	10.20	9.83**	9.58*	9.43**	8.62**
	投与後 24 時間	10.22	9.82	10.50	10.10	10.05	9.70	9.20**	8.90	8.50**	8.10**
投与 14 日	投与後 2 時間	10.47	10.07	9.70	9.60	9.10**	8.43**	7.55**	7.70**	6.72**	6.48**
	投与後 4 時間	10.87	10.37	10.88	10.43	9.68*	9.55	8.25**	8.53**	7.50**	6.65**
	投与後 8 時間	10.92	11.02	10.80	10.90	10.23	10.40	9.00**	9.40**	8.27**	7.82**
	投与後 24 時間	10.12	10.15	10.08	10.23	9.60	10.25	8.60**	8.63	7.97**	7.43**
投与 28 日	投与後 1 時間	10.05	9.92	10.05	10.03	9.40	8.93	8.20**	8.40*	7.57**	7.12**
	投与後 2 時間	9.80	9.72	9.50	9.50	9.03	8.25*	7.45**	7.68**	6.87**	6.43**
	投与後 4 時間	10.78	9.97	10.80	9.95	9.45*	8.68*	7.55**	7.38**	7.05**	6.00**
	投与後 8 時間	10.88	10.57	10.90	10.85	9.73**	9.93	8.55**	8.98**	7.83**	7.08**
	投与後 24 時間	10.05	9.82	10.13	10.10	9.65	9.15	8.43**	8.30*	7.48**	7.22**
投与 42 日 (休薬 14 日)[b]		10.85	10.15	NA	NA	NA	NA	NA	NA	9.75	10.00
投与 53 日 (休薬 25 日)[b]		11.25	9.60	NA	NA	NA	NA	NA	NA	10.00	9.90

数値：平均値　　NA：適応外
*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)
b：2 例/性/群

2.6.7.7.4 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（続き）

報告書の題名: A 4-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys Followed by a 4-Week Recovery Period							被験物質: KHK7580			
投与量 (mg/kg/day)	0		0.1		0.3		1		3	
動物数 (休薬試験群含む)	雄 : 6	雌 : 6	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 6	雌 : 6
特記すべき所見										
死亡及び瀕死動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
体重 (kg)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
摂餌量 (g/animal/day)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
一般状態観察	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
心電図検査 (投与 4 週)										
QTc 投与前 1 時間	348.0	359.0	360.8	370.3	350.5	352.0	392.3[c]	368.8[d]	381.7	407.3[*]
投与後 4 時間	336.3	348.5	362.8	360.5	349.5	352.0	378.3	368.8[e]	394.7[**]	401.7[**]
投与後 20 時間	346.0	359.8	375.5	374.0	359.5	368.5	390.3	365.3[e]	398.0[*]	416.5[**]
眼科学的検査 (投与 16 及び 29 日)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
血液学的検査 (投与 23 日)										
PT (sec)	9.80	9.25	9.53	9.60	9.80	9.28	10.78[*]	9.50	10.20	10.05[*]
血液生化学的検査 (投与 23 日)										
BUN (mg/dL)	–	21.88	–	18.30	–	16.73	–	15.48[*]	–	16.17[*]
Ca (mg/dL)	10.35	9.93	10.05	10.20	9.85	9.20	8.78[**]	8.45[*]	7.77[**]	7.23[**]
IP (mg/dL)	6.33	4.73	6.65	4.98	6.65	5.08	7.93[*]	6.05[*]	8.67[**]	6.90[**]
尿検査 (投与 22 日)										
IP 排泄量 (mg)	0.290	0.458	2.300	0.578	0.513	1.218	7.023	1.085	11.132[**]	2.025

数値：平均値又は例数　　－：被験物質投与による影響なし

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ (Dunnett's test)

c：動物番号：10401；投与開始 3～4 週前の最大値（391）に比して QTc 延長（456 at 1 hour before dosing on Week 4）

d：動物番号：50402；投与開始 3～4 週前の最大値（332）に比して QTc 延長（368 at 1 hour before dosing on Week 4）

e：動物番号：50403；投与開始 3～4 週前の最大値（367）に比して QTc 延長（394 and 401 at 4 and 20 hours after dosing on Week 4）

2.6.7.7.4 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（続き）

報告書の題名: A 4-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys Followed by a 4-Week Recovery Period											被験物質: KHK7580
投与量 (mg/kg/day)		0		0.1		0.3		1		3	
動物数		雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4
器官重量		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
剖検		–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査 [f]											
心臓	心筋線維変性/壊死	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4	1/4	0/4
	白血球浸潤	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4[g]	1/4	0/4	1/4	0/4
腎臓	集合管上皮細胞肥大	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4	2/4	0/4
	間質浮腫	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4
	乳頭部鉱質沈着	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4

数値：例数　　－：被験物質投与による影響なし

f : 所見動物数／評価動物数

g : 用量依存性がないため、被験物質の影響とは判断しなかった。

2.6.7.7.4 カニクイザルを用いた 4 週間反復経口投与毒性試験及び 4 週間休薬試験（続き）

報告書の題名: A 4-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys Followed by a 4-Week Recovery Period									被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)	0		0.1		0.3		1		3	
動物数	雄 : 2	雌 : 2	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 2	雌 : 2
休薬試験										
死亡及び瀕死動物数	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	0
体重 (kg)	–	–	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–	–
摂餌量 (g/animal/day)	–	–	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–	–
一般状態観察	–	–	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–	–
心電図 (休薬 4 週)	–	–	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–	–
眼科学的検査 (休薬 29 日)	–	–	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–	–
血液学的検査 (休薬 25 日)	–	–	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–	–
血液生化学的検査 (休薬 25 日)	–	–	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–	–
尿検査 (休薬 22/23 日)	–	–	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–	–
器官重量	–	–	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–	–
剖検所見	–	–	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–	–
病理組織学的検査	–	–	NA	NA	NA	NA	NA	NA	–	–

数値：例数　　–：被験物質投与による影響なし　　NA：適応外

2.6.7.7.5 カニクイザルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名: A 13-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys						被験物質: KHK7580		
動物種/系統: カニクイザル		投与期間: 13 週間				試験番号: [redacted]228		
試験開始年齢: 3−5 歳						記載箇所: 2.6.6.3.7		
初回投与年月日: 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日 (雄)、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日 (雌)		溶媒/投与形態: 0.5 w/v% MC 溶液/懸濁				資料番号: 4.2.3.2-7		
GLP 適用: 適用		投与方法: 強制経口投与 (5 mL/kg)						
特記事項: なし								
無毒性量: 雄 0.3 mg/kg/day、雌 1 mg/kg/day								
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3		1		3	
動物数		雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4
TK (N = 4)									
C_{max} (μg/mL)	投与 1 日	NC	NC	0.1273	0.08768	0.5350	0.5162	1.486	1.880
	投与 91 日	NC	NC	0.01057	0.06580	0.1858	0.1410	0.5897	0.9501
AUC_{0-24} (μg·h/mL)	投与 1 日	NC	NC	0.6089	0.3193	1.975	1.880	5.063	7.642
	投与 91 日	NC	NC	0.04010	0.2002	0.6168	0.7121	2.279	4.532

数値：平均値　　NC：算出不能

2.6.7.7.5 カニクイザルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 13-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys									被験物質: KHK7580
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3		1		3	
動物数		雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4
血清中 PTH 濃度 (pg/mL, N = 4)[a]									
投与 6/5 日前		147	55.8	132	164	105	183*	191	56.1
投与 1 日	投与後 1 時間	81.6	30.4	10.1	24.1	5.01	15.9	14.5	1.74
	投与後 2 時間	65.7	20.0	18.4	18.9	3.17	9.30	33.7	2.58
	投与後 24 時間	92.6	40.4	101	83.6	60.0	97.5*	89.1	12.4
投与 28 日	投与後 1 時間	29.6	16.1	14.6	15.2	4.08*	6.27	11.0	1.90
	投与後 2 時間	37.8	11.9	50.1	57.9	11.1	20.3	12.7	2.75
	投与後 24 時間	68.6	29.8	128	88.8	77.0	197**	95.2	38.6
投与 56 日	投与後 1 時間	18.9	15.9	4.79	18.3	BLQ*	8.84	5.33	BLQ
	投与後 2 時間	20.4	23.1	31.8	99.8	4.20*	12.9	6.96	BLQ
	投与後 24 時間	52.1	26.3	76.5	102*	90.5	219**	104	59.4
投与 91 日	投与後 1 時間	26.9	26.5	11.5	23.4	8.20*	16.4	14.0	7.12
	投与後 2 時間	31.7	30.5	40.6	81.2	20.2	29.5	17.1	14.0
	投与後 24 時間	74.5	67.8	196	121	140	214**	140	73.0

数値：平均値

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ (Dunnett's test)

a：BLQ（<4.83 pg/mL）は 0 として算出した。

2.6.7.7.5 カニクイザルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 13-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys							被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3		1		3	
動物数		雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4
血清中 Ca 濃度 (mg/dL, N = 4)									
投与 6/5 日前		10.13	10.50	11.08	10.68	10.15	10.00	10.03	10.20
投与 1 日	投与後 1 時間	10.25	10.08	10.53	10.05	9.85	9.70	9.58	9.33*
	投与後 2 時間	10.08	9.95	9.68	9.40*	8.78**	8.78**	8.70**	8.45**
	投与後 24 時間	9.90	9.98	10.48	9.85	9.15	9.03	8.45*	8.73*
投与 28 日	投与後 1 時間	10.55	10.78	9.80	9.95	8.40**	8.80**	7.35**	7.25**
	投与後 2 時間	10.78	10.68	9.50*	9.55*	8.20**	8.40**	6.78**	6.85**
	投与後 24 時間	9.88	10.50	9.78	9.68	8.45**	8.68**	6.88**	7.58**
投与 56 日	投与後 1 時間	10.70	10.60	9.70	9.55	8.80**	8.70**	7.33**	6.95**
	投与後 2 時間	10.63	10.55	9.55*	9.15**	8.40**	8.15**	7.28**	6.50**
	投与後 24 時間	10.05	10.50	10.20	9.65	8.50*	8.75**	7.48**	7.28**
投与 91 日	投与後 1 時間	10.20	10.68	9.60	9.65	8.15**	8.48**	7.08**	6.48**
	投与後 2 時間	10.30	10.55	9.25	9.35*	7.85**	7.90**	6.83**	5.98**
	投与後 24 時間	10.60	10.23	10.13	9.95	8.08**	8.35**	7.05**	6.98**

数値：平均値

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ (Dunnett's test)

2.6.7.7.5 カニクイザルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 13-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys							被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)			0		0.3		1		3	
動物数			雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4
特記すべき所見										
死亡及び瀕死動物数			0	0	0	0	0	0	0	0
体重			–	–	–	–	–	–	–	–
摂餌量 (g/day)	投与 24-25 日		–	–	–	100.0	–	100.0	–	88.8**
一般状態観察			–	–	–	–	–	–	–	–
心電図検査										
心拍数 (beat/min)	投与 25 日	投与前 1 時間	110.7	–	114.3	–	87.0	–	77.1*	–
		投与後 4 時間	108.1	–	121.2	–	104.4	–	82.8*	–
		投与後 20 時間	114.5	–	96.9	–	96.9	–	92.5[b]	–
QTc	投与 25 日	投与前 1 時間	349.8	354.8	345.5	325.3	350.5	376.0	377.5	391.5*
		投与後 4 時間	334.5	362.5	345.0	329.8	356.0	393.0	373.8*	411.8*
		投与後 20 時間	358.0	372.8	349.5	333.5	363.3	415.3	385.3	402.0
	投与 87/89 日	投与前 1 時間	347.3	–	338.8	–	356.3[c]	–	384.3	–
		投与後 4 時間	339.5	343.3	344.0	332.0	353.8	382.3	387.8**	408.0**
		投与後 20 時間	368.5	364.3	353.0	329.5	366.5[c]	410.3	400.5*	415.8
不整脈発生動物数[d]	投与 25 日	心室性期外収縮	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4[b]	0/4
	投与 87/89 日	心室性期外収縮	0/4	0/4	0/4	1/4[e]	0/4	0/4	1/4[b]	0/4
心拍数異常動物数[d]	投与 25 日	増加	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4
		減少	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4[b]	0/4
眼科学的検査			–	–	–	–	–	–	–	–

数値：平均値又は例数　　–：被験物質投与による影響なし

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)

b：動物番号：10404；投与開始 16 日前の 20 時間値（102 beat/min）に比して心拍数減少（58 beat/min at 20 hours after dosing on Day 25）

c：動物番号：10301；投与開始 16 日前の最大値（348）に比して QTc 延長（390 and 387 at before and 20 hours after dosing on Day 89）

d：所見動物数／評価動物数

e：用量依存性がないため、被験物質の影響とは判断しなかった。

2.6.7.7.5 カニクイザルを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 13-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys						被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)	0		0.3		1		3	
動物数	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4
血液学的検査 (投与 85 日)								
PT (sec)	–	8.83	–	8.95	–	9.18	–	9.98**
血液生化学的検査 (投与 85 日)								
BUN (mg/dL)	–	16.63	–	16.73	–	16.70	–	14.03
Ca (mg/dL)	10.05	10.10	10.23	9.75	8.60**	8.58*	7.13**	7.10**
IP (mg/dL)	4.83	5.08	6.30	5.85	7.75*	7.55**	9.28**	8.05**
尿検査 (投与 84/90 日)								
IP 排泄量 (mg)	0.214	0.945	0.322	1.963	0.944	7.518**	2.134**	6.903**
器官重量	–	–	–	–	–	–	–	–
剖検	–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査 [d]								
心臓 心外膜下炎症性細胞浸潤	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4[b]	0/4
心外膜下線維化	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4[b]	0/4
腎臓 集合管上皮細胞肥大	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	0/4	2/4	1/4

数値：平均値又は例数 –：被験物質投与による影響なし

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)

b：動物番号：10404；投与開始 16 日前の 20 時間値（102 beat/min）に比して心拍数減少（58 beat/min at 20 hours after dosing on Day 25）

d：所見動物数／評価動物数

2.6.7.7.6 カニクイザルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名: A 39-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys						被験物質: KHK7580			
動物種/系統: カニクイザル			投与期間: 39 週間			試験番号: [redacted]163			
試験開始年齢: 4–5 歳						記載箇所: 2.6.6.3.8			
初回投与年月日: 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日 (雄)、20[redacted]年[redacted]月[redacted]日 (雌)			溶媒/投与形態: 0.5 w/v% MC 溶液/懸濁			資料番号: 4.2.3.2-8			
GLP 適用: 適用			投与方法: 強制経口投与 (5 mL/kg)						
特記事項: なし									
無毒性量: 0.3 mg/kg/day									
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3		1		3	
動物数		雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4
TK (N = 4)									
C_{max} (μg/mL)	投与 1 日	NC	NC	0.2878	0.09360	1.108	0.3865	2.325	2.611
	投与 89/90 日	NC	NC	0.1953	0.1074	0.7407	0.4178	1.559	3.014
	投与 180/181 日	NC	NC	0.1896	0.09714	0.6497	0.4044	1.146	1.582
	投与 273 日	NC	NC	0.2337	0.03870	0.9999	0.3254	2.088	1.952
AUC_{0-24} (μg·h/mL)	投与 1 日	NC	NC	1.081	0.2894	3.989	1.532	8.245	7.702
	投与 89/90 日	NC	NC	0.7785	0.2442	2.456	1.437	5.324	8.935
	投与 180/181 日	NC	NC	0.9383	0.2867	2.845	1.339	3.786	5.022
	投与 273 日	NC	NC	0.9067	0.1632	4.172	0.9805	6.451	7.245

数値：平均値　　NC：算出不能

2.6.7.7.6 カニクイザルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 39-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys									被験物質: KHK7580
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3		1		3	
動物数		雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4
血清中 PTH 濃度 (pg/mL, N = 4)[a]									
投与 8/10 日前		103	176	147	236	114	208	168	199
投与 1 日	投与後 1 時間	70.9	49.9	7.85**	30.6	4.16**	27.3	7.35**	3.51
	投与後 2 時間	67.6	45.8	6.75*	34.7	3.28*	9.46	4.29*	3.35
	投与後 24 時間	69.2	87.2	94.3	123	80.7	76.6	79.0	48.1
投与 89/90 日	投与後 1 時間	46.1	60.8	52.6	30.5	32.4	10.4	17.9	4.49
	投与後 2 時間	45.1	65.2	11.8	48.8	9.37*	14.9	7.76*	5.51
	投与後 24 時間	59.1	139	110	245	125	139	138	101
投与 180/181 日	投与後 1 時間	33.6	64.9	26.5	11.4**	14.4	7.99**	10.8	9.96**
	投与後 2 時間	62.9	53.9	9.10**	57.6	7.60**	5.93	7.63**	3.45
	投与後 24 時間	48.4	99.9	87.0	121	113	108	118	73.5
投与 273 日	投与後 1 時間	51.7	107	65.0	15.1**	28.7	18.1**	21.7	7.48**
	投与後 2 時間	51.4	99.9	29.6	75.1	7.77	13.6*	9.84	8.06*
	投与後 24 時間	60.4	89.5	122	145	128	118	194*	86.6

数値：平均値

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ (Dunnett's test)

a：BLQ（<4.83 pg/mL）は 0 として算出した。

2.6.7.7.6 カニクイザルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 39-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys									被験物質: KHK7580
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3		1		3	
動物数		雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4
血清中 Ca 濃度 (mg/dL, N = 4)									
投与 8/10 日前		10.60	10.50	10.40	10.38	10.95	10.45	10.20	10.10
投与 1 日	投与後 1 時間	10.20	10.23	10.30	10.20	9.90	10.08	9.38	8.85*
	投与後 2 時間	10.35	10.18	9.70	9.63	9.10	9.28*	8.33**	7.98**
	投与後 24 時間	9.88	9.83	9.58	9.65	9.20	8.93*	8.43**	7.78**
投与 89/90 日	投与後 1 時間	10.75	10.05	9.43**	9.38	8.18**	8.28**	7.18**	6.88**
	投与後 2 時間	10.70	10.25	9.03**	8.98**	7.48**	7.68**	6.50**	6.48**
	投与後 24 時間	10.23	9.78	9.00*	9.55	8.15**	8.50	7.08**	7.03**
投与 180/181 日	投与後 1 時間	10.98	10.10	9.35**	9.40	8.50**	8.63**	7.38**	6.73**
	投与後 2 時間	10.63	10.25	9.05**	9.00**	7.70**	7.90**	6.50**	6.40**
	投与後 24 時間	10.68	10.20	9.00**	9.80	8.35**	8.70**	7.58**	7.10**
投与 273 日	投与後 1 時間	10.50	9.95	8.70**	9.78	8.18**	8.45**	6.83**	6.55**
	投与後 2 時間	10.63	10.00	8.48**	9.08**	7.55**	7.75**	6.13**	6.05**
	投与後 24 時間	10.50	10.05	8.95**	9.65	8.30**	8.70**	6.95**	6.78**

数値：平均値

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$ (Dunnett's test)

2.6.7.7.6 カニクイザルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 39-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys									被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)			0		0.3		1		3	
動物数			雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4
特記すべき所見										
死亡及び瀕死動物数			0	0	0	0	0	0	0	0
体重			−	−	−	−	−	−	−	−
摂餌量 (g/day)	投与 262-263 日		−	100.0	−	100.0	−	100.0	−	82.2**
一般状態観察			−	−	−	−	−	−	−	−
心電図検査										
心拍数	投与 183/184 日	投与後 20 時間	106.0	−	94.6	−	91.1	−	114.5[b]	−
(beat/min)	投与 267/271 日	投与後 20 時間	113.3	−	96.0	−	101.8	−	110.8[c]	−
QTc	投与 92/93 日	投与前 1 時間	−	347.3	−	355.8	−	366.3	−	386.3**
		投与後 4 時間	353.8	344.0	380.5	359.8	394.5	378.8	407.3*	400.3**
		投与後 20 時間	359.0	350.5	380.8	363.5	405.3[d]	387.5	404.5	400.5*
	投与 183/184 日	投与前 1 時間	−	341.8	−	343.5	−	380.5	−	394.8*
		投与後 4 時間	346.8	337.3	378.0	362.3	396.0	383.3*	406.3*	406.0**
		投与後 20 時間	358.0	−	385.8	−	408.5[d]	−	411.0	−
	投与 267/271 日	投与前 1 時間	−	345.3	−	356.3	−	368.3	−	386.3*
		投与後 4 時間	−	349.3	−	357.3	−	383.3	−	397.5*
		投与後 20 時間	−	354.5	−	364.3	−	388.0	−	401.5*
不整脈発	投与 17/21 日前	心室性期外収縮	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
生動物数[e]	投与 92/93 日	心室性期外収縮	1/4	0/4	1/4[f]	0/4	2/4[f]	0/4	0/4	1/4[f]
	投与 183/184 日	心室性期外収縮	1/4	0/4	1/4[f]	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
	投与 267/271 日	心室性期外収縮	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4[f]	0/4	1/4[b, f]	0/4
心拍数異	投与 183/184 日	増加	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4[b]	0/4
常動物数[e]	投与 267/271 日	増加	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4[c]	0/4

数値：平均値又は例数　　−：被験物質投与による影響なし　　BW：体重

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)

b：動物番号：10403；投与開始 17 日前の 20 時間値（102 beat/min）に比して心拍数増加（184 beat/min at 20 hours after dosing on Day 183）

c：動物番号：10402；投与開始 17 日前の 20 時間値（100 beat/min）に比して心拍数増加（173 beat/min at 20 hours after dosing on Day 267）；腎臓重量（絶対重量：20.48 g、相対重量：0.476 BW%）

d：動物番号：10302；投与開始 17 日前の最大値（412）に比して QTc 延長（460 and 462 at 20 hours after dosing on Days 92 and 183）

e：所見動物数/評価動物数

f：用量依存性がないため、被験物質の影響とは判断しなかった。

2.6.7.7.6 カニクイザルを用いた 39 週間反復経口投与毒性試験（続き）

報告書の題名: A 39-Week Oral Repeated Dose Toxicity Study of MT-4580 in Cynomolgus Monkeys						被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)	0		0.3		1		3	
動物数	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4	雄 : 4	雌 : 4
眼科学的検査	−	−	−	−	−	−	−	−
血液学的検査 (投与 265/266 日)								
PT (sec)	−	8.65	−	9.05	−	9.20	−	9.55
血液生化学的検査 (投与 265/266 日)								
BUN (mg/dL)	−	18.25	−	17.18	−	13.60*	−	14.20
Ca (mg/dL)	10.75	10.23	9.00**	9.48	9.05**	8.43**	7.48**	6.75**
IP (mg/dL)	4.15	4.55	5.65	4.68	7.65**	6.20*	8.45**	7.20**
尿検査 (投与 264/275 日)								
IP 排泄量 (mg)	1.629	1.621	1.263	2.009	1.594	3.302	7.301	8.996
器官重量								
腎臓 絶対重量 (g)	14.920	12.058	16.000	12.550	15.428	13.505	18.818**	15.733[g, h]
腎臓 相対重量 (BW%)	0.3524	0.3488	0.3415	0.3476	0.3161	0.4248	0.4107	0.4733[g, h]
剖検	−	−	−	−	−	−	−	−
病理組織学的検査 [e]								
腎臓 集合管上皮細胞肥大	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4[c, i]	2/4[g, h]
腎臓 髄質間質鉱質沈着	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4[i]	1/4[h]
腎臓 髄質間質炎症性細胞浸潤	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4[i]	1/4[h]
腎臓 髄質間質浮腫	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4[g, h]
腎臓 腎盂鉱質沈着	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4[g, h]

数値：平均値又は例数　　−：被験物質投与による影響なし　　BW：体重

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)

c：動物番号：10402；投与開始 17 日前の 20 時間値（100 beat/min）に比して心拍数増加（173 beat/min at 20 hours after dosing on Day 267）；腎臓重量（絶対重量：20.48 g、相対重量：0.476 BW%）

e：所見動物数/評価動物数

g：動物番号：50401；腎臓重量（絶対重量：19.75 g、相対重量：0.581 BW%）

h：動物番号：50403；腎臓重量（絶対重量：19.80 g、相対重量：0.535 BW%）

i：動物番号：10401；腎臓重量（絶対重量：19.24 g、相対重量：0.418 BW%）

2.6.7.8 遺伝毒性試験：*In Vitro*

2.6.7.8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

報告書の題名: Bacterial Reverse Mutation Study of MT-4580		被験物質: KHK7580
試験の種類: 細菌を用いた復帰突然変異試験	独立して実施した試験数: 2	試験番号: [redacted]964
菌株: ネズミチフス菌/TA98、TA100、TA1535、TA1537 株; 大腸菌/WP2*uvrA* 株	プレート数: 3	記載箇所: 2.6.6.4.1.1
代謝活性化系: フェノバルビタール及び 5, 6-ベンゾフラボン誘導ラット S9 mix	被験物質の溶媒: DMSO	資料番号: 4.2.3.3.1-1
処理: プレインキュベーション法、前処理 20 分後に 48 時間処理	陽性対照物質の溶媒: DMSO 又は水	GLP 適用: 適用
特記事項: なし		
細胞毒性: 代謝活性化及び非代謝活性のすべての菌株において生育阻害が認められた。		
遺伝毒性: なし		

代謝活性化	被験物質	処理濃度 (μg/plate)	復帰突然変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
本試験 1							
なし	DMSO	0	127 ± 2	9 ± 1	37 ± 2	20 ± 2	12 ± 2
	KHK7580	19.5	124 ± 2	11 ± 2	NT	NT	11 ± 3
		39.1	116 ± 12	10 ± 3	NT	18 ± 3	11 ± 1
		78.1	136 ± 1	10 ± 1	37 ± 4	18 ± 3	12 ± 1
		156	123 ± 10	11 ± 1	37 ± 4	17 ± 2	10 ± 1
		313	117 ± 9	10 ± 1	36 ± 3	18 ± 2	12 ± 1
		625	119 ± 8	11 ± 1	36 ± 3	18 ± 1	12 ± 1
		1250	48 ± 8[a]	4 ± 2[a]	36 ± 3	9 ± 2[a]	9 ± 2[a]
		2500	NT	NT	17 ± 3[a]	0 ± 0[a]	NT
		5000[b]	NT	NT	0 ± 0[a]	NT	NT
	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド	0.01	686 ± 73	NT	233 ± 28	NT	NT
		0.1	NT	NT	NT	690 ± 40	NT
	アジ化ナトリウム	0.5	NT	527 ± 18	NT	NT	NT
	9-アミノアクリジン塩酸塩一水和物	80	NT	NT	NT	NT	342 ± 31

数値：平均値±標準偏差　　陽性対照物質：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、9-アミノアクリジン塩酸塩一水和物　　NT：試験せず

a：菌の生育阻害あり

b：沈殿

2.6.7.8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

報告書の題名: Bacterial Reverse Mutation Study of MT-4580							被験物質: KHK7580
代謝活性化	被験物質	処理濃度 (μg/plate)	復帰突然変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
本試験 1							
あり	DMSO	0	130 ± 5	11 ± 2	42 ± 4	24 ± 1	19 ± 2
	KHK7580	19.5	131 ± 11	12 ± 2	45 ± 2	25 ± 4	18 ± 2
		39.1	147 ± 5	11 ± 2	45 ± 1	24 ± 3	17 ± 3
		78.1	147 ± 6	10 ± 1	44 ± 1	28 ± 5	17 ± 1
		156	143 ± 10	12 ± 1	46 ± 2	28 ± 5	17 ± 2
		313	139 ± 5	10 ± 1	43 ± 2	23 ± 3	17 ± 1
		625	97 ± 6[a]	8 ± 1[a]	41 ± 2	24 ± 2	12 ± 3[a]
		1250	0 ± 0[a]	0 ± 0[a]	24 ± 1[a]	17 ± 4[a]	0 ± 0[a]
	2-アミノアントラセン	0.5	NT	NT	NT	246 ± 18	NT
		1	1160 ± 40	NT	NT	NT	NT
		2	NT	236 ± 19	NT	NT	199 ± 20
		10	NT	NT	1511 ± 116	NT	NT

数値：平均値±標準偏差　　陽性対照物質：2-アミノアントラセン　NT：試験せず
a：菌の生育阻害あり

2.6.7.8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（続き）

報告書の題名: Bacterial Reverse Mutation Study of MT-4580							被験物質: KHK7580
代謝活性化	被験物質	処理濃度 (μg/plate)	復帰突然変異コロニー数/プレート				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
本試験 2							
なし	DMSO	0	116 ± 9	9 ± 1	28 ± 5	18 ± 1	10 ± 1
	KHK7580	19.5	111 ± 1	9 ± 2	NT	NT	11 ± 1
		39.1	114 ± 10	9 ± 1	NT	17 ± 1	10 ± 2
		78.1	108 ± 2	9 ± 1	27 ± 4	17 ± 2	11 ± 1
		156	117 ± 8	10 ± 0	27 ± 4	18 ± 3	11 ± 2
		313	116 ± 6	10 ± 1	29 ± 3	16 ± 1	10 ± 2
		625	117 ± 9	10 ± 2	29 ± 6	17 ± 2	10 ± 1
		1250	55 ± 8[a]	5 ± 2[a]	28 ± 4	10 ± 2[a]	6 ± 1[a]
		2500	NT	NT	15 ± 4[a]	0 ± 0[a]	NT
		5000[b]	NT	NT	0 ± 0[a]	NT	NT
	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド	0.01	767 ± 43	NT	185 ± 22	NT	NT
		0.1	NT	NT	NT	660 ± 33	NT
	アジ化ナトリウム	0.5	NT	516 ± 21	NT	NT	NT
	9-アミノアクリジン塩酸塩一水和物	80	NT	NT	NT	NT	384 ± 28
あり	DMSO	0	119 ± 8	10 ± 1	32 ± 3	25 ± 2	17 ± 2
	KHK7580	19.5	117 ± 4	10 ± 2	34 ± 2	24 ± 3	18 ± 3
		39.1	120 ± 9	11 ± 2	35 ± 2	25 ± 3	18 ± 2
		78.1	139 ± 14	10 ± 1	33 ± 3	26 ± 3	19 ± 1
		156	128 ± 12	11 ± 1	34 ± 3	23 ± 2	16 ± 1
		313	126 ± 11	11 ± 1	32 ± 0	23 ± 3	17 ± 2
		625	101 ± 7[a]	10 ± 1[a]	34 ± 3	25 ± 3	13 ± 2[a]
		1250	0 ± 0[a]	0 ± 0[a]	21 ± 3[a]	14 ± 4[a]	0 ± 0[a]
	2-アミノアントラセン	0.5	NT	NT	NT	246 ± 19	NT
		1	1082 ± 21	NT	NT	NT	NT
		2	NT	239 ± 5	NT	NT	184 ± 9
		10	NT	NT	1239 ± 75	NT	NT

数値：平均値±標準偏差　　陽性対照物質：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、9-アミノアクリジン塩酸塩一水和物、2-アミノアントラセン　　NT：試験せず

a：菌の生育阻害あり

b：沈殿

2.6.7.8.2 哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験

報告書の題名: Chromosomal Aberration Study of MT-4580 in Cultured Mammalian Cells		被験物質: KHK7580
試験の種類: 哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験	独立して実施した試験数: 1	試験番号: [redacted]965
細胞株: CHL/IU 細胞 (チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞)	プレート数: 2	記載箇所: 2.6.6.4.1.2
代謝活性化系: フェノバルビタール及び 5, 6-ベンゾフラボン誘導ラット S9 mix	被験物質の溶媒: DMSO	資料番号: 4.2.3.3.1-2
分析細胞数/培養: 100	陽性対照物質の溶媒: 水、生理食塩液又は DMSO	GLP 適用: 適用
処理: S9 mix 存在下又は非存在下で 6 時間処理後 18 時間培養 (短時間処理法)及び S9 mix 非存在下で 24 時間連続処理 (連続処理法)		
特記事項: なし		
細胞毒性: 各処理条件の最高濃度において、細胞増殖率又は相対分裂指数が約 50%まで減少した。		
遺伝毒性: なし		

代謝活性化	被験物質	濃度 (μg/mL)	処理時間－回復時間 (h)	細胞増殖率 (%)	相対分裂指数 (%)	染色体異常 (%)[a]	
						構造異常	数的異常
なし	DMSO	0	6-18	100.0	100.0	0.5	0.0
	KHK7580	260		69.7	91.9	1.5	0.5
		300		62.5	94.2	0.0	0.0
		340		53.9	93.0	1.0	0.0
	マイトマイシン C	0.1		NT	NT	31.0*	0.0
あり	DMSO	0	6-18	100.0	100.0	0.5	0.0
	KHK7580	250		73.2	85.3	0.0	0.5
		300		63.4	73.1	0.5	0.5
		350		46.0	73.1	1.0	0.0
	ベンゾ[a]ピレン	10		NT	NT	17.0*	0.5
なし	DMSO	0	24-0	100.0	100.0	1.0	0.0
	KHK7580	50		84.6	76.2	2.0	0.5
		100		67.5	52.5	3.0	0.0
		150		59.8	48.5	2.0	0.0
	マイトマイシン C	0.05		NT	NT	31.5*	0.0

数値：平均値　　陽性対照物質：マイトマイシン C、ベンゾ[a]ピレン　　NT：試験せず

*: $p<0.05$ (Fisher's exact test)

a：有糸分裂中期の細胞 200 個中の染色体異常を示す細胞の割合

2.6.7.9 遺伝毒性試験：*In Vivo*

2.6.7.9.1 ラットを用いた骨髄小核試験

報告書の題名: Micronucleus Test of MT-4580 using Rats		被験物質: KHK7580
試験の種類: 骨髄細胞の染色体異常試験	処理計画: 2 回投与 (24 時間間隔)	試験番号: [redacted]967
動物種/系統: 雄性ラット/ Crl:CD(SD)	計測時間: 最終投与後 24 時間	記載箇所: 2.6.6.4.2.1
試験開始週齢: 8 週齢	溶媒/投与形態: 0.5 w/v% MC 溶液/懸濁	資料番号: 4.2.3.3.2-1
初回投与年月日: 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日	投与方法: 強制経口投与 (5 mL/kg)	GLP 適用: 適用
評価細胞: 幼若赤血球	陽性対照物質: シクロホスファミド一水和物	
分析細胞数/動物: 2000		
特記事項: なし		
毒性/細胞毒性: 自発運動低下及び脱毛が 100 mg/kg で認められた。		
遺伝毒性: なし		
曝露証明: 100 mg/kg 投与群[a]の TK 解析を実施し、最終投与後に良好な曝露 ($AUC_{0\text{-}24h}$: 1347 µg·h/mL, C_{max}: 113.6 µg/mL)を確認した。		

被験物質	投与量 (mg/kg/day)	動物数	%IMEs[b]	%MNIMEs[c]
媒体	0	6	58.1 ± 2.8	0.19 ± 0.07
KHK7580	10	6	56.2 ± 1.4	0.13 ± 0.09
	30	6	58.2 ± 2.3	0.15 ± 0.03
	100	6[d]	57.1 ± 1.2	0.13 ± 0.03
シクロホスファミド一水和物[e]	20	6	33.0 ± 3.6**	5.29 ± 1.33$$

数値：平均値±標準偏差
**: p<0.01 (Student's t-test) $$: p<0.01 (Kastenbaum & Bowman's method: compare the number of MNIME)
a：TK 用サテライト群：100 mg/kg, N=4
b：赤血球 1000 個あたりの幼若赤血球の割合
c：幼若赤血球 2000 個あたりの小核を有する幼若赤血球の割合
d：8 例に投与し、動物番号の昇順に 6 例を評価に使用した。
e：強制経口投与（10 mL/kg）、溶媒：注射用水、2 回投与（24 時間間隔）

2.6.7.10 がん原性試験 - 重要な試験以外の試験

被験物質: KHK7580

<table>
<tr><th>動物種/系統</th><th>投与方法
(溶媒/投与形態)</th><th>投与期間</th><th>投与量
(mg/kg/day)</th><th>性及び動物数/群</th><th>特記すべき所見</th><th>試験番号/資料番号</th></tr>
<tr><td>マウス
/Crlj:CD1(ICR)</td><td>強制経口
(0.5 w/v% MC 溶液/懸濁)</td><td>14 日間</td><td>0, 10, 30, 100</td><td>毒性試験群:
全群雌雄 6 例

サテライト群[a]: 媒体投与群雌雄 7 例[b]、KHK7580 投与群雌雄 41 例[c] (3 例/時点)</td><td>rasH2 マウスの非遺伝子組換え同腹仔を用いたがん原性予備試験の用量設定試験として実施し、以下の所見が両性又は片性で認められた。
≥10 mg/kg/day: 血漿中 Ca の低値
≥30 mg/kg/day: 血漿中 Cl の低値、血漿中 IP の高値、副甲状腺の明主細胞増加
100 mg/kg/day: 血漿中 K の低値、血漿中 AST、ALT 及び BUN の高値、肝臓重量及び脾臓重量の高値、心筋鉱質沈着
投与 14 日における TK 解析の結果を下表に示す。投与量の増加に伴って、全身曝露は増加した。
<table>
<tr><td>投与量 (mg/kg/day)</td><td></td><td>10</td><td>30</td><td>100</td></tr>
<tr><td>C_{max} (μg/mL)</td><td>雄/雌</td><td>6.670/6.242</td><td>22.07/17.24</td><td>60.87/64.39</td></tr>
<tr><td>AUC_{0-24} (μg·h/mL)</td><td>雄/雌</td><td>24.15/26.95</td><td>133 5/115.8</td><td>725.7/708.2</td></tr>
</table>
投与 14 日における血漿中 Ca 濃度及び IP 濃度の結果を下表に示す。投与量の増加に伴って、血漿中 Ca 濃度低下及び血漿中 IP 濃度上昇が認められた。
<table>
<tr><td>投与量 (mg/kg/day)</td><td></td><td>0</td><td>10</td><td>30</td><td>100</td></tr>
<tr><td colspan="6">血漿中 Ca 濃度 (mg/dL)</td></tr>
<tr><td>投与後 2 時間</td><td>雄/雌</td><td>NT/NT</td><td>6.8/6.5</td><td>6 3/6.2</td><td>5 9/5.5</td></tr>
<tr><td>投与後 4 時間</td><td>雄/雌</td><td>NT/NT</td><td>6.7/6.7</td><td>5.6/5.7</td><td>5 5/5.7</td></tr>
<tr><td>投与後 8 時間</td><td>雄/雌</td><td>NT/NT</td><td>7.5/7.1</td><td>6 3/5.7</td><td>5 9/5.5</td></tr>
<tr><td>投与後 24 時間</td><td>雄/雌</td><td>9.6/9.5</td><td>8.7/9.0</td><td>8.8/8.3</td><td>7.7/7.1</td></tr>
<tr><td colspan="6">血漿中 IP 濃度 (mg/dL)</td></tr>
<tr><td>投与後 2 時間</td><td>雄/雌</td><td>NT/NT</td><td>8.1/8 1</td><td>7.1/7.6</td><td>10.7/12.0</td></tr>
<tr><td>投与後 4 時間</td><td>雄/雌</td><td>NT/NT</td><td>9.5/8.0</td><td>9.6/10.7</td><td>13.1/12 5</td></tr>
<tr><td>投与後 8 時間</td><td>雄/雌</td><td>NT/NT</td><td>7.9/8 9</td><td>9.9/10.7</td><td>12.2/15.4</td></tr>
<tr><td>投与後 24 時間</td><td>雄/雌</td><td>5.2/6.5</td><td>7.5/6.7</td><td>8.5/10.8</td><td>10.8/13 9</td></tr>
</table>
KHK7580 投与による影響は軽微な変化であったため、rasH2 マウスの非遺伝子組換え同腹仔を用いたがん原性予備試験の最高投与量は、雌雄ともに 100 mg/kg/day が適切と判断した。</td><td>[redacted]678/
参考
4.2.3.4.2-1</td></tr>
</table>

NT：検査せず
a：TK：KHK7580 投与群、Ca 及び IP 測定：全群（ただし、媒体投与群は投与後 24 時間のみ）
b：予備動物 1 例を含む
c：予備動物 2 例を含む

2.6.7.10 がん原性試験 - 重要な試験以外の試験（続き）

被験物質: KHK7580

動物種/系統	投与方法(溶媒/投与形態)	投与期間	投与量(mg/kg/day)	性及び動物数/群	特記すべき所見	試験番号/資料番号
マウス/Jic:CB6F1-nonTg rasH2@Jcl SPF(非遺伝子組換え同腹仔)	強制経口(0.5 w/v% MC 溶液/懸濁)	28 日間	0, 10, 30, 100	毒性試験群: 全群雌雄 10 例 サテライト群[d]: 媒体投与群雌雄 13 例[b]、KHK7580 投与群雌雄 40 例[b] (3 例/時点)	rasH2 マウスを用いたがん原性試験の用量設定試験として実施し、以下の所見が両性又は片性で認められた。 ≥10 mg/kg/day: MCV 及び MCH の低値、血漿中 K、Cl 及び Ca の低値、血漿中 Na 及び IP の高値、腎臓の尿細管再生 ≥30 mg/kg/day: 筋攣縮、一過性の体重減少、摂餌量の低値、赤血球数及び Hb の高値、血漿中 BUN の低値、血漿中 AST、ALT 及び CK の高値、 腎臓重量の低値、骨髄の脂肪浸潤、卵巣及び子宮の萎縮、膣の粘液細胞化 100 mg/kg/day: 体重減少及び体重増加抑制（雌で顕著）、網状赤血球数の低値、Ht、MCHC、血小板数及び好中球数の高値、血漿中 LDH 及び Cr の高値、脾臓重量の低値、肝臓重量（相対重量のみ）の高値、胸腺及び子宮の小型、副腎の X 帯退縮及び膣の萎縮 投与 27 日における TK 解析の結果を下表に示す。投与量の増加に伴って、全身曝露は増加した。	[redacted]559/4.2.3.4.2-2

投与量 (mg/kg/day)		10	30	100
C_{max} (μg/mL)	雄/雌	7.094/7.177	21.54/21.64	56.52/65.32
AUC_{0-24} (μg·h/mL)	雄/雌	33.46/37 39	135.7/220.0	517.9/671.2

投与 27 日における血漿中 Ca 濃度及び IP 濃度の結果を下表に示す。投与量の増加に伴って、血漿中 Ca 濃度低下及び血漿中 IP 濃度上昇が認められた。

投与量 (mg/kg/day)		0	10	30	100
血漿中 Ca 濃度 (mg/dL)					
投与後 2 時間	雄/雌	NT/NT	5.4/5 1	4.8/4.4	4.6/4.2
投与後 4 時間	雄/雌	NT/NT	5.1/4.7	4.5/4 3	4.3/4.3
投与後 24 時間	雄/雌	8.5/8.5	7.3/6.0	6.2/5 1	5.8/4.7
血漿中 IP 濃度 (mg/dL)					
投与後 2 時間	雄/雌	NT/NT	7.3/11.1	9.7/14.1	11.3/13.7
投与後 4 時間	雄/雌	NT/NT	9.0/12.8	12.3/13.1	10.6/13.6
投与後 24 時間	雄/雌	4.3/4.7	5.9/8.6	7.4/11.7	9.1/12.3

体重増加抑制が 100 mg/kg 投与群の雌雄で認められ、特に雌で顕著であったため、rasH2 マウスを用いたがん原性試験の最高投与量は、雄で 100 mg/kg/day 以下、雌で 100 mg/kg/day 未満が適切と判断した。

NT：検査せず
b：予備動物 1 例を含む
d：TK：全群（ただし、媒体投与群は投与後 1 時間のみ）、Ca 及び IP 測定：全群（ただし、媒体投与群は投与後 24 時間のみ）

2.6.7.11 がん原性試験

2.6.7.11.1 ラットを用いたがん原性試験

報告書の題名: A 104-Week Oral Repeated Dose Carcinogenicity Study of MT-4580 in Rats								被験物質: KHK7580		
動物種/系統: ラット/Crl:CD(SD)			投与期間: 104 週間					試験番号: [redacted]920		
試験開始週齢: 6 週齢			投与方法: 強制経口投与 (5 mL/kg)					記載箇所: 2.6.6.5.1.1		
初回投与年月日: 20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日 (雄)、20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日 (雌)			溶媒/投与形態: 0.5 w/v% MC 溶液/懸濁					資料番号: 4.2.3.4.1-1		
対照群の処理: 溶媒投与								GLP 適用: 適用		
高用量の設定根拠: ラットを用いた 13 週間反復経口投与毒性試験 (資料番号: 4.2.3.2-3)の結果に基づく										
特記事項: 切歯欠損例が 3/2 mg/kg 投与群の雌で多発したため、投与 27 週より全群の飼料を固型飼料から粉末飼料に変更した。										
投与量 (mg/kg/day)		0 (対照 1)		0 (対照 2)		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3/2[a]
動物数 毒性評価群		雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65
TK 用サテライト群[b]		雄 : 6	雌 : 6	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 6	雌 : 6	雄 : 6	雌 : 6	雄 : 6	雌 : 6
Ca 及び IP 測定用サテライト群[b]		雄 : 6	雌 : 6	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 6	雌 : 6	雄 : 6	雌 : 6	雄 : 6	雌 : 6
TK (N = 4)											
C_{max} (μg/mL)	投与 1 日	NC	NC	NT	NT	0.3713	0.1561	1.839	1.132	6.777	4.885
	投与 182 日	NC	NC	NT	NT	0.1727	0.3153	1.054	2.015	3.402	9.061
	投与 364 日	NC	NC	NT	NT	0.2147	0.2674	0.7356	1.616	2.615	6.000
AUC_{0-24} (μg·h/mL)	投与 1 日	NC	NC	NT	NT	4.491	2.195	22.72	13.06	81.61	65.93
	投与 182 日	NC	NC	NT	NT	1.390	4.857	7.083	30.82	30.98	163.1
	投与 364 日	NC	NC	NT	NT	1.545	4.343	4.645	24.01	19.93	108.6

数値：平均値　　NC：算出不能　　NT：検査せず
a：過度な体重増加抑制及び多数の切歯欠損例（約 80%）が認められたため、投与 47 週に 3 mg/kg から 2 mg/kg へ減量した。
b：予備動物 2 例を含む。

2.6.7.11.1 ラットを用いたがん原性試験（続き）

報告書の題名: A 104-Week Oral Repeated Dose Carcinogenicity Study of MT-4580 in Rats								被験物質: KHK7580			
投与量 (mg/kg/day)		0 (対照 1)		0 (対照 2)		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3/2[a]
動物数　Ca 及び IP 測定用サテライト群[b]		雄 : 6	雌 : 6	雄 : 0	雌 : 0	雄 : 6	雌 : 6	雄 : 6	雌 : 6	雄 : 6	雌 : 6
血清中 Ca 濃度 (mg/dL, N = 4)											
投与 1 日	投与前	10.98	11.50	NT	NT	10.93	11.58	11.10	11.50	11.43	11.48
	投与後 2 時間	10.95	11.08	NT	NT	9.75	10.20	8.13	9.38	7.83	8.25
	投与後 8 時間	10.50	10.83	NT	NT	9.10	9.60	7.85	8.60	7.13	7.68
	投与後 24 時間	11.25	11.18	NT	NT	10.60	11.23	9.70	10.10	8.28	9.35
投与 182 日	投与後 2 時間	10.65	11.10	NT	NT	9.38	10.03	7.60	7.85	7.00	5.83
	投与後 8 時間	10.88	11.15	NT	NT	9.93	10.18	8.13	8.15	7.03	5.98
	投与後 24 時間	10.88	11.10	NT	NT	10.15	10.80	9.40	8.88	8.30	6.15
投与 364 日	投与後 2 時間	10.43	11.08	NT	NT	8.85	10.00	7.33	8.53	6.98	7.30
	投与後 8 時間	10.35	11.23	NT	NT	9.05	10.00	7.83	8.68	6.80	7.40
	投与後 24 時間	10.55	11.20	NT	NT	9.58	10.55	8.90	9.65	8.00	8.08
血清中 IP 濃度 (mg/dL, N = 4)											
投与 1 日	投与前	9.03	8.43	NT	NT	8.83	9.00	9.13	8.58	9.23	9.00
	投与後 2 時間	10.08	9.63	NT	NT	9.38	9.95	8.68	9.05	8.35	8.53
	投与後 8 時間	11.15	11.20	NT	NT	11.95	10.98	13.28	12.00	14.00	12.28
	投与後 24 時間	9.13	9.08	NT	NT	9.68	9.15	12.13	10.63	13.20	12.88
投与 182 日	投与後 2 時間	5.53	5.65	NT	NT	5.98	6.35	7.13	7.45	9.18	11.18
	投与後 8 時間	7.48	6.75	NT	NT	7.95	8.53	10.48	11.50	12.53	14.85
	投与後 24 時間	6.13	5.88	NT	NT	6.18	6.40	7.90	8.40	10.23	12.25
投与 364 日	投与後 2 時間	5.65	5.45	NT	NT	6.08	6.20	7.53	6.45	9.48	10.43
	投与後 8 時間	6.13	6.75	NT	NT	7.60	6.98	10.05	9.18	11.60	11.53
	投与後 24 時間	5.60	5.18	NT	NT	5.95	5.90	9.33	7.40	9.53	10.48

数値：平均値　　NT：検査せず

a：過度な体重増加抑制及び多数の切歯欠損例（約 80%）が認められたため、投与 47 週に 3 mg/kg から 2 mg/kg へ減量した。

b：予備動物 2 例を含む。

2.6.7.11.1 ラットを用いたがん原性試験（続き）

報告書の題名: A 104-Week Oral Repeated Dose Carcinogenicity Study of MT-4580 in Rats							被験物質: KHK7580			
投与量 (mg/kg/day)	0 (対照 1)		0 (対照 2)		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3/2[a]
動物数　毒性評価群	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65
特記すべき所見										
死亡及び瀕死動物数[c]	42	42	36	46	36	48	45	47	49	39
死因[d] 下垂体腫瘍	22	28	14	36	9	36	13	37	10	19
乳腺腫瘍	1	7	0	7	0	6	0	7	0	6
心筋症	2	0	5	0	1	0	1	0	15	0
原因不明	5	0	5	1	14	2	17	1	11	3
生存動物数	23	23	28	19	29	16	19	18	16	26
生存率 (%)[c, e]	35.4	35.4	43.8	29.2	44.6	25.0	29.7	27.7	24.6[#]	40.0
体重 (g)[e] 投与 1 日	208.91	164.64	209.21	165.74	208.91	165.95	208.32	165.02	209.58	164.95
投与 322 日	745.44	427.45	754.15	438.51	769.91	445.30	734.07	439.07	697.25[**]	381.55[**]
投与 364 日	769.25	447.08	779.89	460.98	793.07	464.84	757.50	458.54	720.53[**]	408.54[**]
投与 729/730 日	785.03	519.91	793.90	550.00	785.66	515.41	717.38	528.84	652.72[**]	477.10
摂餌量 (g/animal/day)[f] 投与 1-7 日	27.80	20.14	28.54	20.61	27.54	20.49	26.19[**]	19.97	19.76[**]	16.28[**]
投与 315-322 日	−	22.13	−	22.57	−	22.54	−	22.91	−	22.55
投与 357-364 日	27.85	22.40	29.07	22.66	29.17	22.49	29.53[g]	22.61	28.08	22.81
投与 721-728 日	30.15	25.11	28.10	24.61	30.55	27.13	31.82	25.88	31.68	25.89
一般状態観察[h]										
筋攣縮	0/65	0/65	0/65	0/65	0/65	0/65	0/65	0/65	1/65	0/65
切歯欠損	3/65	2/65	4/65	0/65	7/65	2/65	8/65	4/65	27/65	52/65

数値：平均値又は例数　　−：被験物質投与による影響なし

#: p<0.05 (Log-rank test)　　**: p<0.01 (Dunnett's test)

a：過度な体重増加抑制及び多数の切歯欠損例（約 80%）が認められたため、投与 47 週に 3 mg/kg から 2 mg/kg へ減量した。

c：事故死動物を除く

d：いずれかの性において 10 例以上を示す死因を記載した。

e：対照群 1 と対照群 2 に統計学的有意差がないため、対照群 1 と対照群 2 を合算した総対照群を統計学的解析の対照として使用した。

f：対照群 1 と対照群 2 を合算した総対照群を統計学的解析の対照として使用した。ただし、投与 357-364 日の雄で対照群 1 と対照群 2 に統計学的有意差があるため、投与 1 日から投与 364 日までの間、総対照群に加えて対照群 1 及び対照群 2 をそれぞれ統計学的解析の対照として使用した。

g：Dunnett's test により対照群 1 との間に有意差あり（p<0.05）。

h：所見動物数／評価動物数

2.6.7.11.1 ラットを用いたがん原性試験（続き）

報告書の題名: A 104-Week Oral Repeated Dose Carcinogenicity Study of MT-4580 in Rats							被験物質: KHK7580			
投与量 (mg/kg/day)	0 (対照 1)		0 (対照 2)		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3/2[a]
動物数　毒性評価群	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65
血液学的検査[e]	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
血液生化学的検査[e]										
Ca (mg/dL)	10.02	10.63	10.19	10.39	8.40**	9.18**	7.02**	7.73**	5.38**	6.66**
IP (mg/dL)	5.86	5.80	5.80	5.78	7.08**	6.66*	9.04**	9.27**	11.64**	11.10**
剖検所見[h]										
精巣　小型 (両側/片側)	9/65	NA	5/65	NA	9/65[i]	NA	6/65[i]	NA	15/65	NA
軟化 (両側/片側)	1/65	NA	1/65	NA	2/65[i]	NA	5/65	NA	6/65	NA
精巣上体　結節 (両側/片側)	0/65	NA	0/65	NA	0/65	NA	2/65	NA	10/65	NA
病理組織学的検査 (腫瘍性病変)[h]										
子宮　子宮内膜間質肉腫	NA	0/65	NA	0/65	NA	1/65	NA	1/65	NA	3/65[$ j] p=0.0310
乳腺　腺癌	1/65	15/65	0/65	20/65	0/65	25/65	0/65	23/65	0/65	33/65[† k] p=0.0049

数値：平均値又は例数　　－：被験物質投与による影響なし　　NA：適応外

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)　　$: p<0.05 (Pairwise comparison test, Peto's tests, rare tumor)　　†: p<0.01 (Pairwise comparison test, Peto's tests, common tumor)

a：過度な体重増加抑制及び多数の切歯欠損例（約 80%）が認められたため、投与 47 週に 3 mg/kg から 2 mg/kg へ減量した。

e：対照群 1 と対照群 2 に統計学的有意差がないため、対照群 1 と対照群 2 を合算した総対照群を統計学的解析の対照として使用した。

h：所見動物数／評価動物数

i：対照群と同程度の発生頻度、低い発生頻度又は老齢ラットで時折認められる自然発生的な所見であるため、被験物質の影響とは判断しなかった。

j：発生頻度が低く、傾向検定による有意差がないため（p=0.0254）、被験物質の影響とは判断しなかった。

k：乳腺腫瘍全体及び過形成の発生頻度に影響がなく、傾向検定による有意差がないため（p=0.0082）、被験物質の影響とは判断しなかった。

2.6.7.11.1 ラットを用いたがん原性試験（続き）

報告書の題名: A 104-Week Oral Repeated Dose Carcinogenicity Study of MT-4580 in Rats										被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)		0 (対照 1)		0 (対照 2)		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3/2[a]
動物数　毒性評価群		雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65	雄 : 65	雌 : 65
病理組織学的検査 (非腫瘍性病変)[h, l]											
副甲状腺	萎縮	0/64	0/65	0/65	0/65	4/65[i]	0/65	16/65	19/64	55/65	52/65
甲状腺	びまん性 C 細胞過形成	8/65	13/65	10/65	18/65	15/65[i]	28/65[i]	28/65	39/65	36/65	50/65
前胃	筋層鉱質沈着	0/65	0/65	0/64	0/65	0/65	0/65	0/65	0/65	17/65	1/65[i]
腺胃	筋層鉱質沈着	0/65	1/65	1/64	1/65	0/64	0/65	3/65[i]	0/65	31/65	0/65
肺	動脈壁鉱質沈着	47/65	30/65	46/65	31/65	51/65[i]	37/65[i]	60/65	43/65[i]	62/65	45/65
心臓	心筋症	57/65	36/65	61/65	47/65	58/65[i]	53/65[i]	64/65[i]	57/65	61/65	62/65
	動脈壁鉱質沈着	0/65	2/65	1/65	2/65	1/65[i]	0/65	0/65	0/65	9/65	1/65[i]
	冠血管鉱質沈着	0/65	1/65	1/65	1/65	5/65	3/65[i]	16/65	19/65	33/65	19/65
大動脈	鉱質沈着	0/65	1/65	1/65	2/65	7/65	5/65[i]	23/65	10/65	45/65	9/65
腸間膜動脈	動脈壁鉱質沈着	NT	1/2	0/1	1/2	7/7	NT	14/14	6/6	32/32	4/4
腎臓	動脈壁鉱質沈着	0/65	1/65	0/65	1/65	15/65	4/65[i]	38/65	24/65	59/65	22/65
	鉱質沈着/尿路上皮過形成	12/65	30/65	8/65	36/65	11/65[i]	36/65[i]	11/65[i]	51/65	35/65	54/65
精巣	精細管萎縮	10/65	NA	12/65	NA	12/65[i]	NA	14/65[i]	NA	26/65	NA
	限局性動脈壁鉱質沈着	4/65	NA	5/65	NA	14/65	NA	24/65	NA	40/65	NA
	精子うっ滞	2/65	NA	1/65	NA	2/65[i]	NA	8/65	NA	14/65	NA
精巣上体	鉱質沈着	0/65	NA	0/65	NA	3/65[i]	NA	26/65	NA	59/65	NA
	精子肉芽腫	0/65	NA	1/65	NA	0/65	NA	2/65[i]	NA	18/65	NA
	精子うっ滞	0/65	NA	1/65	NA	1/65[i]	NA	6/65	NA	20/65	NA
眼球	白内障	8/65	7/65	14/65	11/65	20/65[i]	11/65[i]	14/65[i]	18/65[i]	18/65[i]	33/65
	網膜萎縮	4/65	4/65	7/65	4/65	10/65[i]	3/65[i]	3/65[i]	17/65[i]	9/65[i]	25/65
大腿骨	海綿骨増殖	0/65	0/65	0/65	0/65	0/65	2/65[i]	0/65	9/65	0/65	29/65
胸骨	海綿骨増殖	0/65	0/65	0/65	0/65	0/65	1/65[i]	0/65	8/65	0/65	27/65

数値：例数　　NA：適応外　　NT：検査せず

a：過度な体重増加抑制及び多数の切歯欠損例（約 80%）が認められたため、投与 47 週に 3 mg/kg から 2 mg/kg へ減量した。

h：所見動物数／評価動物数

i：対照群と同程度の発生頻度、低い発生頻度又は老齢ラットで時折認められる自然発生的な所見であるため、被験物質の影響とは判断しなかった。

l：発生頻度の上昇又はグレードの悪化が認められた所見を記載した。

2.6.7.11.2 rasH2 マウスを用いたがん原性試験

報告書の題名: A Twenty-six-week Oral Gavage Carcinogenicity Study of MT-4580 in CB6F1-Tg rasH2 Mice						被験物質: KHK7580		
動物種/系統: マウス/Jic:CB6F1-Tg rasH2@Jcl		投与期間: 26 週間				試験番号: [redacted]851		
試験開始週齢: 8 週齢		投与方法: 強制経口投与 (10 mL/kg)				記載箇所: 2.6.6.5.2.3		
初回投与年月日: 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日		溶媒/投与形態: 0.5 w/v% MC 溶液/懸濁				資料番号: 4.2.3.4.2-3		
対照群の処理: 溶媒投与 (陰性対照群)、MNU 投与 (陽性対照群)		陽性対照物質: MNU (75 mg/kg、単回腹腔内投与)				GLP 適用: 適用		
高用量の設定根拠: rasH2 マウスを用いたがん原性試験の用量設定試験 (資料番号: 4.2.3.4.2-2)の結果に基づく								
特記事項: MNU 投与群で悪性リンパ腫 (雄 10/15 例、雌 9/15 例)及び前胃乳頭腫/扁平上皮癌 (雄 15/15 例、雌 15/15 例)が認められた。すなわち、本試験に用いた動物で発がん性に対する高い感受性を確認した。								
投与量 (mg/kg/day)	0		3	2	10	6	30	20
動物数 毒性評価群	雄 : 25	雌 : 25	雄 : 25	雌 : 25	雄 : 25	雌 : 25	雄 : 25	雌 : 25
TK 用並びに Ca 及び IP 測定用サテライト群 [a]	雄 : 11	雌 : 11	雄 : 30	雌 : 30	雄 : 30	雌 : 30	雄 : 30	雌 : 30
TK (N = 3)								
C_{max} (μg/mL) 投与 1 日	NC	NC	1.466	1.135	5.460	3.413	15.23	11.00
投与 86 日	NC	NC	2.072	1.504	8.063	3.612	18.52	14.72
投与 181 日	NC	NC	2.858	2.218	9.791	6.031	24.54	26.75
AUC_{0-24} (μg·h/mL) 投与 1 日	NC	NC	5.902	4.672	25.25	14.13	109.4	58.35
投与 86 日	NC	NC	8.603	9.462	34.70	24.18	102.3	85.43
投与 181 日	NC	NC	12.04	10.11	47.31	32.74	147.2	131.7

数値：平均値　　NC：算出不能

a：非遺伝子組換え同腹仔を使用し、予備動物として媒体投与群 2 例及び被験物質投与群 3 例を含む。各検査日において、媒体投与群 3 例及び被験物質投与群 9 例を使用し、被験物質投与群では 3 例ずつ各時点で順に採血した。

2.6.7.11.2 rasH2 マウスを用いたがん原性試験（続き）

報告書の題名: A Twenty-six-week Oral Gavage Carcinogenicity Study of MT-4580 in CB6F1-Tg rasH2 Mice							被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)		0		3	2	10	6	30	20
動物数	TK 用並びに Ca 及び IP 測定用サテライト群 [a]	雄 : 11	雌 : 11	雄 : 30	雌 : 30	雄 : 30	雌 : 30	雄 : 30	雌 : 30
血漿中 Ca 濃度 (mg/dL, N = 3)									
投与 1 日	投与後 4 時間	NT	NT	6.5	6.9	5.5	6.6	5.1	5.7
	投与後 8 時間	NT	NT	7.1	7.1	6.4	6.7	5.2	5.8
	投与後 24 時間	8.7	8.7	8.5	8.6	7.7	7.4	6.5	6.3
投与 86 日	投与後 4 時間	NT	NT	5.9	5.6	4.9	4.7	4.3	4.1
	投与後 8 時間	NT	NT	6.7	6.1	5.5	4.8	4.6	4.2
	投与後 24 時間	8.1	8.1	7.9	7.5	6.9	6.6	6.0	4.7
投与 181 日	投与後 4 時間	NT	NT	5.9	5.5	4.9	4.9	4.3	4.0
	投与後 8 時間	NT	NT	6.8	6.3	5.7	5.1	4.9	4.3
	投与後 24 時間	8.5	8.4	8.1	7.1	6.7	5.9	5.4	5.0
血漿中 IP 濃度 (mg/dL, N = 3)									
投与 1 日	投与後 4 時間	NT	NT	9.0	7.9	11.3	9.0	14.1	12.5
	投与後 8 時間	NT	NT	6.1	6.5	6.9	7.7	10.7	8.5
	投与後 24 時間	4.8	6.6	5.5	6.6	5.9	6.7	8.4	9.3
投与 86 日	投与後 4 時間	NT	NT	7.3	8.9	9.5	11.0	9.5	10.4
	投与後 8 時間	NT	NT	5.2	7.8	7.7	11.0	8.5	11.1
	投与後 24 時間	4.1	4.9	4.5	6.3	6.1	7.8	7.1	10.0
投与 181 日	投与後 4 時間	NT	NT	8.7	11.9	11.1	10.8	12.1	13.3
	投与後 8 時間	NT	NT	6.5	9.2	8.5	12.0	10.1	12.8
	投与後 24 時間	4.2	4.9	5.1	7.5	6.4	8.7	8.3	10.0

数値：平均値　　NT：検査せず

a：非遺伝子組換え同腹仔を使用し、予備動物として媒体投与群 2 例及び被験物質投与群 3 例を含む。各検査日において、媒体投与群 3 例及び被験物質投与群 9 例を使用し、被験物質投与群では 3 例ずつ各時点で順に採血した。

2.6.7.11.2 rasH2 マウスを用いたがん原性試験（続き）

報告書の題名: A Twenty-six-week Oral Gavage Carcinogenicity Study of MT-4580 in CB6F1-Tg rasH2 Mice						被験物質: KHK7580			
投与量 (mg/kg/day)		0		3	2	10	6	30	20
動物数　　毒性評価群		雄 : 25	雌 : 25	雄 : 25	雌 : 25	雄 : 25	雌 : 25	雄 : 25	雌 : 25
特記すべき所見									
死亡及び瀕死動物数		0	0	2[b]	0	1[c]	3[d]	1[e]	3[f]
生存動物数		25	25	23	25	24	22	24	22
生存率 (%)		100.0	100.0	92.0	100.0	96.0	88.0	96.0	88.0
体重 (g)	投与 1 日	24.3	19.8	24.4	19.8	24.5	19.8	24.1	19.8
	投与 14 日	–	20.6	–	20.2	–	20.3	–	19.9*
	投与 84 日	26.6	–	26.6	–	26.8	–	25.6*	–
	投与 182 日	28.2	24.1	27.8	23.5	28.3	23.2	25.8**	22.0**
摂餌量 (g/animal/day)	投与 1 日	4.1	4.2	4.3	4.2	4.2	4.0	4.1	4.0
	投与 7 日	4.2	4.1	4.3	4.1	4.1	4.1	3.7**	3.7**
	投与 28 日	–	4.7	–	4.2**	–	4.2**	–	4.0**
	投与 182 日	–	4.1	–	3.8	–	3.8	–	3.5**
一般状態観察 [g]									
筋攣縮		0/25	0/25	0/25	0/25	0/25	0/25	11/25	6/25
血液学的検査 (投与 182 日)									
血小板数 ($\times 10^4/\mu L$)		–	102.2	–	107.6	–	106.7	–	108.8*
好中球数 ($\times 10^2/\mu L$)		4.4	4.3	4.9	6.0	5.6	6.9*	52.4	8.3**
血液生化学的検査 (投与 182 日)									
Ca (mg/dL)		9.1	9.2	8.7	8.3**	8.0**	7.2**	6.6**	5.7**
IP (mg/dL)		6.4	7.4	7.0	8.4*	8.2**	10.3**	10.1**	12.2**

数値：平均値又は例数　　－：被験物質投与による影響なし

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)

b：死因：不明 2 例（動物番号 3006 及び 3024、投与 176 及び 115 日）

c：死因：血管組織新生物 1 例（動物番号 5020、投与 117 日）

d：死因：血管組織新生物 2 例（動物番号 4105 及び 4125、投与 154 及び 163 日）、不明 1 例（動物番号 4104、投与 145 日）

e：死因：悪性リンパ腫 1 例（動物番号 7008、投与 53 日）

f：死因：不明 3 例（動物番号 6117、6120 及び 6121、投与 180、50 及び 171 日）

g：所見動物数／評価動物数

2.6.7.11.2 rasH2 マウスを用いたがん原性試験（続き）

報告書の題名: A Twenty-six-week Oral Gavage Carcinogenicity Study of MT-4580 in CB6F1-Tg rasH2 Mice							被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)		0		3	2	10	6	30	20
動物数 毒性評価群		雄 : 25	雌 : 25	雄 : 25	雌 : 25	雄 : 25	雌 : 25	雄 : 25	雌 : 25
剖検所見[g]									
前胃	結節	0/25	1/25	0/25	0/25	0/25	0/25	1/25	1/25
	隆起巣	0/25	0/25	1/25	1/25	2/25	4/25	3/25	6/25
病理組織学的検査 (腫瘍性病変)		–	–	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査 (非腫瘍性病変)[g]									
副腎	束状帯好酸球増加	0/25	0/25	0/25	0/25	0/25	0/25	12/25	0/25
大腿骨	骨髄脂肪浸潤	0/25	0/25	0/25	0/25	0/25	0/25	1/25	3/25
眼	水晶体変性	0/25	0/25	0/25	0/25	0/25	0/25	19/25	22/25
心臓	鉱質沈着	0/25	0/25	0/25	0/25	0/25	1/25	3/25	3/25
	亜急性炎症	0/25	0/25	0/25	0/25	0/25	1/25	2/25	5/25
腎臓	尿細管再生	0/25	0/25	0/25	0/25	0/25	2/25	9/25	20/25
	鉱質沈着	0/25	0/25	0/25	0/25	1/25	0/25	10/25	0/25
前胃	扁平上皮細胞過形成	0/25	0/25	0/25	1/25	1/25	2/25	3/25	7/25
精巣上体	動脈壁鉱質沈着	0/25	NA	0/25	NA	2/25	NA	5/25	NA
精巣	動脈壁鉱質沈着	0/25	NA	0/25	NA	6/25	NA	17/25	NA
卵巣	萎縮	NA	0/25	NA	0/25	NA	0/25	NA	10/25
子宮	萎縮	NA	1/25	NA	0/25	NA	4/25[h]	NA	10/25
膣	粘膜萎縮	NA	0/25	NA	0/25	NA	1/25[h]	NA	2/25

数値：例数 –：被験物質投与による影響なし NA：適応外

g：所見動物数／評価動物数

h：いずれも偶発的に死亡又は瀕死状態となった個体であったため、被験物質の影響とは判断しなかった。

2.6.7.12 生殖発生毒性試験 –重要な試験以外の試験

被験物質: KHK7580						
動物種/系統	投与方法 (溶媒/投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg/day)	動物数/群	特記すべき所見	試験番号/ 資料番号
ラット /Crl:CD(SD)	強制経口 (0.5 w/v% MC 溶液/懸濁)	妊娠 6−17 日	0, 0.3, 1.5, 6	全群雌 7 例 [a]	ラットを用いた胚･胎児発生に関する試験の用量設定試験として実施した (帝王切開: 妊娠 20 日)。 母動物に及ぼす影響 1.5 mg/kg/day: 体重増加抑制 ≥1.5 mg/kg/day: 摂餌量の低値 6 mg/kg/day: 体重減少、脱毛及び筋攣縮 胎児に及ぼす影響 ≥1.5 mg/kg/day: 体重の低値傾向 1.5 mg/kg 投与群で母動物の体重増加抑制及び摂餌量低値並びに胎児の体重低値が認められたため、ラットを用いた胚･胎児発生に関する試験の最高用量では、明らかな毒性が予想される 3 mg/kg/day が適切と判断した。	[redacted]095/ 4.2.3.5.2.-1
ウサギ /Kbl:NZW	強制経口 (0.5 w/v% MC 溶液/懸濁)	妊娠 6−18 日	0, 0.1, 0.3, 1	全群雌 6 例 [b]	ウサギを用いた胚･胎児発生に関する試験の用量設定試験として実施した (帝王切開: 妊娠 28 日)。 母動物に及ぼす影響 0.3 mg/kg/day: 体重増加抑制 ≥0.3 mg/kg/day: 摂餌量の低値及び糞量減少 1 mg/kg/day: 体重減少 胎児に及ぼす影響 生存、成長、外表異常及び胎盤に影響なし 投与量の増加に伴った全身曝露の増加、血漿中 Ca 濃度の低下及び血漿中 IP 濃度の上昇が認められた。 0.3 mg/kg 投与群で母動物の体重増加抑制、摂餌量低値及び糞量減少が認められたため、ウサギを用いた胚･胎児発生に関する試験の最高用量では、明らかな毒性が予想される 0.6 mg/kg/day が適切と判断した。	[redacted]094/ 4.2.3.5.2.-3

a：非妊娠：6 mg/kg 投与群 1 例
b：非妊娠：0 及び 0.1 mg/kg 投与群 2 例、0.3 及び 1 mg/kg 投与群 1 例

2.6.7.13 生殖発生毒性試験

2.6.7.13.1 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

報告書の題名: Study for Effects of MT-4580 on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation by Oral Administration in Rats		被験物質: KHK7580
試験計画: ICH 4.1.1 準拠		GLP 適用: 適用
動物種/系統: ラット/Crl:CD(SD)	投与期間: 交配 2 週間前から剖検前日(雄)、交配 2 週間前から妊娠 7 日(雌)	試験番号: [redacted]702
試験開始週齢: 10 週齢	交尾成立日: 妊娠 0 日	記載箇所: 2.6.6.6.1.1
初回投与年月日: 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日	帝王切開日: 妊娠 13 日	資料番号: 4.2.3.5.1-1
投与方法: 強制経口投与 (5 mL/kg)	溶媒/投与形態: 0.5 w/v% MC 溶液/懸濁	
特記事項: なし		
無毒性量: 親動物の一般毒性: 雄 1.5 mg/kg/day、雌 0.6 mg/kg/day; 親動物の生殖及び初期胚発生: 雄 6 mg/kg/day、雌 0.6 mg/kg/day		

投与量 (mg/kg/day)		0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数		雄 : 20	雌 : 20	雄 : 20	雌 : 20	雄 : 20	雌 : 20	雄 : 20	雌 : 20
死亡及び瀕死動物数		0	0	0	0	0	0	0	0
体重 (g)	投与 1 日	401.78	246.69	401.91	244.85	401.87	244.64	401.76	246.06
	投与 4 日	418.81	253.54	420.76	252.70	415.74	251.12	399.10*	236.27**
	投与 8 日	435.98	261.11	436.90	259.91	430.46	256.21	398.88**	241.29**
	投与 15 日	461.84	272.53	467.00	272.44	459.62	269.45	432.52**	254.77**
	妊娠 13 日	NA	347.38	NA	343.75	NA	344.10	NA	320.98**
	投与 43 日	540.67	NA	545.18	NA	544.11	NA	516.81	NA
摂餌量 (g)	投与 2 日	30.62	21.97	29.90	20.78	29.66	20.62$^{\#\ a}$	28.27	17.25$^{\#\#}$
	投与 4 日	29.35	21.29	29.13	20.12	28.69	19.07$^{*\ a}$	20.16$^{\#\#}$	12.94**
	投与 8 日	29.43	21.28	28.88	19.50$^{\#\ b}$	28.81	18.58$^{\#\#\ a}$	23.35	18.49$^{\#\#}$
	妊娠 7 日	NA	26.75	NA	26.67	NA	25.63	NA	23.52**
一般状態観察		−	−	−	−	−	−	−	−
剖検所見		−	−	−	−	−	−	−	−

数値：平均値又は例数　　−：被験物質投与による影響なし　　NA：適応外
*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)　　#: p<0.05, ##: p<0.01 (Steel's test)
a：わずかな減少で体重に影響していないため、毒性学的意義はないと判断した。
b：一過性変化のため、毒性学的意義はないと判断した。

2.6.7.13.1 ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き）

報告書の題名: Study for Effects of MT-4580 on Fertility and Early Embryonic Development to Implantation by Oral Administration in Rats						被験物質: KHK7580		
投与量 (mg/kg/day)	0		0.3	0.1	1.5	0.6	6	3
動物数	雄 : 20	雌 : 20	雄 : 20	雌 : 20	雄 : 20	雌 : 20	雄 : 20	雌 : 20
性周期検査								
発情回数	NA	3.750	NA	3.700	NA	3.550	NA	3.300
発情周期 (days)	NA	4.100	NA	4.025	NA	4.075	NA	4.254
生殖能力検査								
交尾所要日数	3.6	3.6	3.0	3.0	2.8	2.8	2.5	2.5
交尾数	20	20	20	20	20	20	20	20
授胎数	18	NA	20	NA	20	NA	20	NA
受胎数	NA	18	NA	20	NA	20	NA	20
帝王切開時検査								
黄体数	NA	15.72	NA	15.80	NA	15.60	NA	13.60**
着床数	NA	15.22	NA	14.55	NA	14.80	NA	12.75**
着床前胚損失率 (%)	NA	2.99	NA	7.04c	NA	4.98c	NA	6.01c
生存胚数	NA	14.72	NA	13.60	NA	13.95	NA	11.90**
着床後胚損失率 (%)	NA	3.13	NA	6.35c	NA	5.80$ c	NA	6.24c

数値：平均値又は例数　　NA：適応外

**: p<0.01 (Dunnett's test)　　$: p<0.05 (Wilcoxon's test)

c：試験施設内の背景データ変動範囲内のため、被験物質の影響とは判断しなかった。

2.6.7.13.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Embryo-Fetal Development in Rats					被験物質: KHK7580
試験計画: ICH 4.1.3 準拠					GLP 適用: 適用
動物種/系統: ラット/Crl:CD(SD)	投与期間: 妊娠 6−17 日				試験番号: [redacted]119
試験開始週齢: 11−12 週齢	交尾成立日: 妊娠 0 日				記載箇所: 2.6.6.6.2.2
初回投与年月日: 20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	帝王切開日: 妊娠 20 日				資料番号: 4.2.3.5.2.-2
投与方法: 強制経口投与 (5 mL/kg)	溶媒/投与形態: 0.5 w/v% MC 溶液/懸濁				
特記事項: なし					
無毒性量: 母動物及び胚・胎児 0.3 mg/kg/day					
投与量 (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
妊娠動物数	毒性評価群	20	20	20	20
	TK 用サテライト群 [a]	4	4	4	4
	Ca 及び IP 測定用サテライト群 [a]	4	4	4	4
TK (N = 3)					
C_{max} (μg/mL)	妊娠 6 日	NC	0.5804	2.180	5.755
	妊娠 17 日	NC	0.5273	1.916	6.710
AUC_{0-24} (μg·h/mL)	妊娠 6 日	NC	7.521	28.19	89.21
	妊娠 17 日	NC	7.037	30.34	105.9

数値：平均値　　NC：算出不能
a：予備動物 1 例を含む

2.6.7.13.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Embryo-Fetal Development in Rats				被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
妊娠動物数　Ca 及び IP 測定用サテライト群 [a]		4	4	4	4
血漿中 Ca 濃度 (mg/dL, N = 3)					
妊娠 6 日	投与前	11.0	10.8	11.1	11.0
	投与後 2 時間	11.0	9.3	8.6	7.9
	投与後 8 時間	10.8	9.3	8.5	7.7
	投与後 24 時間	11.0	9.8	9.4	8.3
妊娠 17 日	投与前	11.3	9.8	9.6	8.1
	投与後 2 時間	11.1	8.8	8.2	7.3
	投与後 8 時間	11.0	8.6	8.1	7.0
	投与後 24 時間	10.8	9.4	9.3	8.0
血漿中 IP 濃度 (mg/dL, N = 3)					
妊娠 6 日	投与前	6.3	6.7	7.1	6.5
	投与後 2 時間	7.4	6.7	6.6	5.7
	投与後 8 時間	7.8	10.2	10.8	11.0
	投与後 24 時間	7.1	8.2	9.6	9.4
妊娠 17 日	投与前	7.0	8.8	9.8	10.9
	投与後 2 時間	7.5	9.1	9.6	11.5
	投与後 8 時間	7.5	10.4	11.0	12.9
	投与後 24 時間	6.8	9.0	10.4	11.8

数値：平均値
a：予備動物 1 例を含む

2.6.7.13.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Embryo-Fetal Development in Rats					被験物質: KHK7580
投与量 (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
妊娠動物数　毒性評価群		20	20	20	20
死亡及び瀕死動物数		0	0	0	0
全胚死亡		0	0	0	1[b]
体重 (g)	妊娠 6 日	279	280	284	282
	妊娠 8 日	288	286	283	266**
	妊娠 10 日	301	296	287*	256**
	妊娠 12 日	312	308	296*	262**
	妊娠 18 日	373	369	355*	332**
	妊娠 20 日	409	405	394	370**
摂餌量 (g/animal/day)	妊娠 6−8 日	27	24	22**	15**
	妊娠 8−10 日	27	24	20**	12**
	妊娠 10−12 日	28	26	23**	16**
一般状態観察		−	−	−	−
剖検所見		−	−	−	−

数値：平均値又は例数　　−：被験物質投与による影響なし

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)

b：動物番号 4105

2.6.7.13.2 ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Embryo-Fetal Development in Rats			被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)	0	0.3	1	3
妊娠動物数　毒性評価群	20	20	20	20
黄体数	15.3	15.8	15.7	15.8[c]
着床数	14.7	15.3	15.2	15.4
着床後胚死亡率 (%)	4.4	2.0	6.5	9.8
生存胎児数	14.0	15.0	14.2	13.9
性比 (male/live fetuses)	0.49	0.59	0.50	0.47
胎児重量 (g: male/female)	4.20/3.99	4.13/3.93	3.94**/3.71**	3.72**/3.49**
胎盤重量 (g: male/female)	0.48/0.46	0.45/0.43	0.47/0.45	0.45/0.43
胎盤異常	–	–	–	–
外表検査	–	–	–	–
内臓検査				
異常: 発生率 (%)	1.6	0.6	1.7	0.8
変異: 発生率 (%)	8.8	6.9	7.9	12.5
局所的な肺の変色	0.0	0.0	0.0	5.9
骨格検査				
異常: 発生率 (%)	0.0	0.6	0.0	0.0
変異: 発生率 (%)	9.4	22.0	21.4	37.9##
14 短小過剰肋骨	8.8	22.0	15.2	30.9##
胸骨分節二分骨化	0.0	0.0	1.3	8.1##
骨化指標: 骨化数　胸骨分節	5.89	5.99*[d]	5.99*[d]	5.95
中足骨/右	4.96	4.93	4.90	4.73**
中足骨/左	4.95	4.93	4.92	4.79**

数値：平均値　　－：被験物質投与による影響なし

*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)　　##: p<0.01 (Steel's test)

c：黄体数が不明確だったため、動物番号 4105 のデータを除外した。

d：用量依存性がないため、被験物質の影響とは判断しなかった。

2.6.7.13.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Embryo-Fetal Development in Rabbits				被験物質: KHK7580	
試験計画: ICH 4.1.3 準拠				GLP 適用: 適用	
動物種/系統: ウサギ/Kbl:NZW	投与期間: 妊娠 6−18 日			試験番号: [redacted]120	
試験開始週齢: 17−19 週齢	交尾成立日: 妊娠 0 日			記載箇所: 2.6.6.6.2.4	
初回投与年月日: 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日	帝王切開日: 妊娠 28 日			資料番号: 4.2.3.5.2.-4	
投与方法: 強制経口投与 (5 mL/kg)	溶媒/投与形態: 0.5 w/v% MC 溶液/懸濁				
特記事項: なし					
無毒性量: 母動物 0.25 mg/kg/day、胚・胎児 0.6 mg/kg/day					
投与量 (mg/kg/day)		0	0.1	0.25	0.6
妊娠動物数		21	21	19	21
TK (N = 3)					
C_{max} (μg/mL)	妊娠 6 日	NC	0.1152	0.2062	0.5085
	妊娠 18 日	NC	0.08897	0.3028	0.6817
AUC_{0-24} (μg·h/mL)	妊娠 6 日	NC	1.227	2.747	7.135
	妊娠 18 日	NC	0.9113	2.996	8.334

数値：平均値　　NC：算出不能

2.6.7.13.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Embryo-Fetal Development in Rabbits				被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)		0	0.1	0.25	0.6
妊娠動物数		21	21	19	21
血漿中 Ca 濃度 (mg/dL, N = 3)					
妊娠 6 日	投与前	13.5	13.7	13.9	13.4
	投与後 2 時間	13.2	12.2	11.9	11.5
	投与後 8 時間	13.1	12.6	11.9	10.4
	投与後 24 時間	13.0	12.6	12.5	10.8
妊娠 18 日	投与前	13.5	12.6	12.5	10.5
	投与後 2 時間	12.9	11.8	10.7	9.7
	投与後 8 時間	13.4	12.1	10.7	9.7
	投与後 24 時間	13.1	12.6	12.1	10.0
血漿中 IP 濃度 (mg/dL, N = 3)					
妊娠 6 日	投与前	4.3	4.2	4.3	4.3
	投与後 2 時間	4.2	4.3	4.0	4.4
	投与後 8 時間	4.1	4.9	5.6	5.7
	投与後 24 時間	3.5	4.3	4.9	4.8
妊娠 18 日	投与前	4.4	4.7	5.8	6.9
	投与後 2 時間	4.0	4.9	5.5	6.8
	投与後 8 時間	3.8	5.1	6.0	6.9
	投与後 24 時間	3.8	4.6	5.5	6.5

数値：平均値

2.6.7.13.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Embryo-Fetal Development in Rabbits					被験物質: KHK7580
投与量 (mg/kg/day)		0	0.1	0.25	0.6
妊娠動物数		21	21	19	21
死亡及び瀕死動物数		0	0	0	0
流産		1	0	0	0
全胚死亡		2	0	0	0
体重 (kg)	妊娠 6 日	3.44	3.46	3.44	3.45
	妊娠 19 日	3.58	3.55	3.56	3.49
	妊娠 28 日	3.73	3.73	3.73	3.70
体重増加 (kg)	妊娠 6−19 日	0.14	0.10	0.12	0.03**
	妊娠 6−28 日	0.30	0.27	0.28	0.25
摂餌量 (g/animal)	妊娠 7 日	146	137	137	104**
	妊娠 8 日	155	141	116** a	80**
	妊娠 10 日	154	132* a	119** a	108**
	妊娠 14 日	133	99* a	95* a	76**
	妊娠 16 日	134	109	121	82**
	妊娠 18 日	133	131	133	111
	妊娠 22 日	136	138	141	156**
一般状態観察 b					
糞量減少		4/21	5/21a	6/19a	12/21
剖検所見		−	−	−	−

数値：平均値又は例数　　−：被験物質投与による影響なし
*: p<0.05, **: p<0.01 (Dunnett's test)
a：体重への影響がないため、毒性学的意義はないと判断した。
b：所見動物数／評価動物数

2.6.7.13.3 ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（続き）

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Embryo-Fetal Development in Rabbits			被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)	0	0.1	0.25	0.6
妊娠動物数	21	21	19	21
黄体数	9.3	10.7	9.1	9.7
着床数	7.9	9.2	7.9	8.7
着床後胚死亡率 (%)	19.4	6.4	2.9	6.3
生存胎児数	6.9	8.5	7.7	8.0
性比 (male/live fetuses)	0.39	0.52	0.42	0.49
胎児重量 (g: male/female)	34.69/34.99	34.55/33.47	36.93/35.79	35.69/35.46
胎盤重量 (g: male/female)	3.48/3.45	3.35/3.08	3.56/3.30	3.30/3.28
胎盤異常	−	−	−	−
外表検査				
異常: 発生率 (%)	0.0	0.5	0.0	0.0
内臓検査				
異常: 発生率 (%)	1.4	1.0	0.0	0.8
変異: 発生率 (%)	4.7	6.8	8.3	3.6
骨格検査				
異常: 発生率 (%)	3.3	NT	NT	1.6
変異: 発生率 (%)	29.2	NT	NT	32.1
骨化指標: 骨化数	−	NT	NT	−

数値：平均値　　−：被験物質投与による影響なし　　NT：検査せず

2.6.7.13.4 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Pre- and Postnatal Development including Maternal Function in Rats				被験物質: KHK7580	
試験計画: ICH 4.1.2 準拠				GLP 適用: 適用	
動物種/系統: ラット/Crl:CD(SD)	投与期間: 妊娠 6 日から哺育 20 日			試験番号: [redacted]172	
試験開始週齢: 11−12 週齢	交尾成立日: 妊娠 0 日			記載箇所: 2.6.6.6.3.1	
初回投与年月日: 20[redacted]年[redacted]月[redacted]日				資料番号: 4.2.3.5.3-1	
投与方法: 強制経口投与 (5 mL/kg)	溶媒/投与形態: 0.5 w/v% MC 溶液/懸濁				
特記事項: なし					
無毒性量: 母動物 0.3 mg/kg/day、胚・胎児及び出生児の発生 0.3 mg/kg/day 未満					
投与量 (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
F_0: 母動物					
妊娠動物数		20	19	20	19
死亡及び瀕死動物数		0	0	0	0
体重 (g)	妊娠 6 日	284	284	286	288
	妊娠 9 日	295	293	284	265**
	妊娠 20 日	405	399	385	360**
	哺育 0 日	318	314	286**	272** (16)
	哺育 4 日	329	326	302** (19)	294* (4)
	哺育 21 日	329	329	329 (19)	325 (3)
体重増加 (g)	妊娠 6−20 日	121	115	99*	72**
	哺育 0−21 日	12	15	41** (19)	28 (3)
摂餌量 (g/animal/day)	妊娠 4 日	22	22	22	23
	妊娠 7 日	22	20	17##	13##
	妊娠 20 日	26	25	21##	18##
	哺育 2 日	30	27	20** (19)	18** (6)
	哺育 4 日	42	41	34** (19)	28** (4)
	哺育 21 日	70	69	59* (19)	39** (3)

数値：平均値又は例数（括弧内はすべて例数）
*p<0.05, **p<0.01((Dunnett's test) ##p<0.01(Steel's test)

2.6.7.13.4 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Pre- and Postnatal Development including Maternal Function in Rats			被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)	0	0.3	1	3
F_0: 母動物				
妊娠動物数	20	19	20	19
一般状態観察	–	–	–	–
妊娠期間 (day)	21.9	21.9	22.1	22.5** (17)
出産率 (%)	100.0	100.0	100.0	84.2
全児死亡数	0	0	1[a]	14[b]
剖検所見　　子宮内受胎産物	0	0	0	2[c]

数値：平均値又は例数（括弧内はすべて例数）　–：被験物質投与による影響なし

*p<0.05, **p<0.01((Dunnett's test)

a：哺育 2 日：1 例

b：哺育 0 日（全児死産）：1 例、哺育 1 日：6 例、哺育 2 日：4 例、哺育 4 日：2 例、哺育 14 日：1 例

c：2 例とも哺育 1 日に全児死亡

2.6.7.13.4 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Pre- and Postnatal Development including Maternal Function in Rats				被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
F_1: 児－離乳前					
母動物数		20	19	20	16
着床数		14.3	14.4	14.5	14.7 (17^{d})
死産児率 (%)		0.5	3.7	$8.9^{\$\$}$	$37.5^{\$\$}$ (17^{d})
出生率 (%)		90.9	89.6	83.5	$56.9^{\$\$}$ (17^{d})
性比 (雄/出生児)		0.43	0.45	0.50	0.33
外表検査		−	−	−	−
出生児数	生後 0 日	13.3	12.9	11.8	8.9
	生後 4 日 (児数調整後)	7.7	7.8	6.7	4.5
生存率 (%)	生後 0−4 日	96.0	93.7	$66.9^{\$\$}$	$9.0^{\$\$}$
	生後 4−21 日	100.0	100.0	100.0 (19)	$75.0^{\$}$ (4)
体重 (g: 雄/雌)	生後 0 日	6.6 (19)/6.3	6.4/6.1	$6.1/5.7^{*}$	5.8^{**} (13)/5.3^{**}
	生後 4 日	10.2 (19)/9.8	9.8/9.1	9.2 (18)/8.7^{*} (18)	7.2^{**} (3)/7.1^{**} (4)
	生後 21 日	54.9 (19)/52.5	51.6/50.2	48.3^{**} (18)/ 45.8^{**} (18)	36.0^{e} (2)/ 32.9^{**} (3)
一般状態観察 [f]	眼球混濁 生後 17−21 日	−	−	6/127	2/14

数値：平均値又は例数（括弧内はすべて例数） −：被験物質投与による影響なし

*p<0.05, **p<0.01((Dunnett's test) $p<0.05, $$p<0.01(Wilcoxon's test)

d：全児死産 1 例を含む

e：例数が 3 例未満のため、有意差検定を実施せず

f：所見児数／検査児数

2.6.7.13.4 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Pre- and Postnatal Development including Maternal Function in Rats				被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)		0	0.3	1	3
F_1: 児－離乳前					
母動物数		20	19	20	16
血漿中 Ca 濃度(mg/dL, Min−Max: 雄/雌)[g]		11.2−11.4 (3)/10.0−11.4 (3)	NT/NT	6.2−7.8 (2)/ 7.2−8.0 (2)	NA/NA
身体発達					
耳介展開 (%)	生後 4 日	100.0	99.5	98.9 (19)	100.0 (4)
切歯萌出 (%)	生後 11/14 日	48.1/100.0	64.5††/100.0	60.8† (19) /100.0 (19)	59.4 (4) /100.0 (3)
眼瞼開裂 (%)	生後 14/17 日	57.5/100.0	50.9/100.0	55.9 (19)/100.0 (19)	95.8†† (3)/100.0 (3)
感覚・反射検査 (雄/雌)					
正向反射 (sec)	生後 10 日	1.5 (19)/2.3	2.0/2.3	3.8## (18)/2.9 (18)	10.7[h] (3)/9.5** (3)
自由落下反射 (%)	生後 21 日	100.0 (19)/100.0	100.0/100.0	97.2 (18)/97.2 (18)	75.0[e] (2)/100.0 (3)
瞳孔反射 (%)	生後 21 日	100.0 (19)/100.0	100.0/100.0	94.4 (18)/91.7 (18)	75.0[e] (2)/83.3 (3)
Preyer 反射 (%)	生後 21 日	−	−	−	−
疼痛反射 (%)	生後 21 日	−	−	−	−
剖検 (雄/雌)					
検査児数 (血漿中 Ca 濃度測定に資した動物)		3/3	NT/NT	7/3	NT/NT
肺暗赤色巣		0/0	NT/NT	1/0	NT/NT
腹水, 腎盂及び尿管拡張, 腸癒着		0/0	NT/NT	1/0	NT/NT
検査児数 (生後 21 日)		35/41	36/37	26/30	3/1
眼球混濁		0/0	0/0	1/1	0/0

数値：平均値、例数、最小値又は最大値（括弧内はすべて例数） −：被験物質投与による影響なし NA：適応外 NT：検査せず

*p<0.05, **p<0.01((Dunnett's test) ##p<0.01(Steel's test) †p<0.05, ††p<0.01(Fisher's exact test)

e：例数が 3 例未満のため、有意差検定を実施せず

g：生後 4 日の児数調整のために安楽死させる一部の児（1～3 例／腹）から採血した。

h：30 秒間以内に正向反射しなかった 2 腹各 1 例を除外して平均値を算出した。

2.6.7.13.4 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Pre- and Postnatal Development including Maternal Function in Rats							被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3		1		3	
F_1: 児－離乳後									
児総数 (雄/雌)		雄 : 38	雌 : 39	雄 : 38	雌 : 38	雄 : 36	雌 : 35	雄 : 4	雌 : 6
死亡及び瀕死動物数		0	0	0	0	0	0	0	0
体重[i] (g)	生後 28 日	98	89	90*	84	85**	79**	50[e]	49**
	生後 70 日	434	258	406*	249	401**	234**	347[e]	225*
一般状態観察	眼球混濁	0	0	0	0	2	2	1	1
	切歯破損	0	0	0	0	0	0	0	2
身体発達[i]									
膣開口 (%)	生後 35/42 日	NA/NA	75.0/100.0	NA/NA	68.4/100.0	NA/NA	69.4/100.0	NA/NA	33.3/83.3[j]
陰茎亀頭包皮分離 (%)	生後 42/49 日	81.6/100.0	NA/NA	31.6††/100.0	NA/NA	36.1††/100.0	NA/NA	0.0[e] /75.0[e, k]	NA/NA
眼科学的検査: 検査児数[l] (生後 3−4 週)		雄 : 20	雌 : 20	雄 : 20	雌 : 20	雄 : 20	雌 : 20	雄 : 4	雌 : 6
虹彩	瞳孔膜遺残	0	0	0	0	6	4	2	2
水晶体皮質前部	微粒混濁	1	2	7	5	6	2	0	0
	限局性混濁	0	0	0	1	13	17	4	6
水晶体核部	微粒混濁	5	3	5	3	0	0	0	0
	限局性混濁	0	2	15	17	19	15	0	3
	び慢性混濁	0	0	0	0	1	5	4	3

数値：平均値又は例数　　NA：適応外

*p<0.05, **p<0.01((Dunnett's test)　　††p<0.01(Fisher's exact test)

e：例数が 3 例未満のため、有意差検定を実施せず

i：腹単位で計算した（雄/雌の例数：19/20, 19/19, 18/18, and 2/3 at 0, 0.3, 1, and 3 mg/kg）。

j：膣開口が認められなかった 1 例は、生後 45 日に膣開口が認められた。

k：陰茎亀頭包皮分離が認められなかった 1 例は、生後 53 日に陰茎亀頭包皮分離が認められた。

l：雌雄各 2 児／10 腹／群、ただし高用量は全児を検査対象とした。

2.6.7.13.4 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Pre- and Postnatal Development including Maternal Function in Rats							被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)	0		0.3		1		3	
F_1: 児－離乳後								
行動発達検査に資する児数	雄 : 19	雌 : 19	雄 : 19	雌 : 19	雄 : 18	雌 : 17	雄 : 2	雌 : 3
オープンフィールド検査 (生後 5 週)								
潜時 (sec)	–	–	–	–	–	–	–	–
総行動距離 (cm)	936.9	1503.0	1420.6*	1645.5	1523.6**	2134.5**	2847.0e	3283.8**
立ち上がり回数	9.4	15.9	17.3**	20.4	20.9**	26.2**	14.5e	28.0*
身づくろい回数	–	–	–	–	–	–	–	–
糞の個数	–	–	–	–	–	–	–	–
複式水 T 迷路検査								
所要時間 (sec)	–	–	–	–	–	–	–	–
エラー回数	–	–	–	–	–	–	–	–
剖検 眼球混濁	0	0	0	0	1	2	0	1

数値：平均値又は例数 –：被験物質投与による影響なし

*p<0.05, **p<0.01((Dunnett's test)

e：例数が 3 例未満のため、有意差検定を実施せず

2.6.7.13.4 ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（続き）

報告書の題名: Study for Effects of the Oral Administration of MT-4580 on Pre- and Postnatal Development including Maternal Function in Rats								被験物質: KHK7580	
投与量 (mg/kg/day)		0		0.3		1		3	
F_1: 児－離乳後									
生殖機能検査に資する児数		雄 : 19	雌 : 20	雄 : 19	雌 : 19	雄 : 18	雌 : 18	雄 : 2	雌 : 3
オープンフィールド検査 (生後 11−12 週)									
潜時 (sec)		−	−	−	−	−	−	−	−
総行動距離 (cm)		1228.5	1715.9	1202.7	2015.3	1748.4**	2160.5*	1844.1[e]	2769.7**
立ち上がり回数		14.5	20.0	16.3	24.8	18.3	23.2	17.0[e]	27.7
身づくろい回数		−	−	−	−	−	−	−	−
糞の個数		−	−	−	−	−	−	−	−
生殖機能検査									
交尾所要時間 (days)		4.2	4.3	5.4	5.4	3.3	3.3	3.0[e]	7.5[e]
交尾率 (%)		89.5	90.0	89.5	89.5	94.4	94.4	50.0[e]	66.7
授胎率/受胎率 (%)		94.1	94.4	94.1	94.1	76.5	76.5	100.0[e]	100.0[e]
体重[m] (g)	妊娠 0 日	NA	292	NA	283	NA	263*	NA	278[e]
	妊娠 14 日	NA	365	NA	358	NA	336*	NA	340[e]
黄体数[m]		NA	16.9	NA	15.4	NA	14.5**[n]	NA	18.0[e]
着床数[m]		NA	16.3	NA	15.1	NA	13.9**[n]	NA	18.0[e]
着床前胚死亡率[m] (%)		NA	3.2	NA	1.9	NA	3.4	NA	0.0[e]
着床後胚死亡率[m] (%)		NA	8.8	NA	7.0	NA	4.9	NA	9.4[e]
生存胚数[m]		NA	14.8	NA	14.1	NA	13.2*[o]	NA	16.5[e]
剖検所見	眼球混濁	0	0	0	0	1	0	1	0
脳重量	絶対重量 (g)	2.14	1.95	2.13	1.97	2.15	1.92	2.02[e]	1.95
	相対重量[p] (g/100g BW)	0.39	0.67	0.42*	0.69	0.43**	0.72	0.48[e]	0.70

数値：平均値又は例数　　−：被験物質投与による影響なし　　BW：体重　　NA：適応外

*p<0.05, **p<0.01((Dunnett's test)

e：例数が 3 例未満のため、有意差検定を実施せず

m：妊娠動物のみ検査対象とした（例数：17, 16, 13, and 2 at 0, 0.3, 1, and 3 mg/kg）。

n：施設背景値内のため毒性学的意義はないと判断した。

o：媒体投与群の変動範囲内のため毒性学的意義はないと判断した。

p：雌の相対重量には妊娠 0 日の体重を使用した。

2.6.7.14 局所刺激性試験

局所刺激性試験は実施しなかった。

2.6.7.15 その他の毒性試験

<table>
<tr><th>動物種/系統</th><th>投与方法</th><th>投与期間</th><th>投与量 (mg/kg)</th><th>性及び動物数/群 [a]</th><th>特記すべき所見</th><th>試験番号/資料番号</th></tr>
<tr><td colspan="7">毒性発現の機序に関する試験: Ca 補充試験</td></tr>
<tr><td>ラット
/Crl:CD(SD)[b]</td><td>強制経口
(0.5 w/v% MC 溶液/懸濁)</td><td>7 日間</td><td>1 群: 0[c]
2 群: 6[c]
3 群: 10[c]
4 群: 10[d]</td><td>1 群: 雄 4 例
2 群: 雄 12 例
3 群: 雄 12 例
4 群: 雄 11 例 [e]</td><td>ラットで認められた水晶体混濁と血中 Ca 濃度の関連性を明らかにすべく、Ca 補充による水晶体混濁発現への影響を検討した。その結果、以下の所見が認められた。
眼科学的検査: 水晶体皮質前部混濁 (2 及び 3 群)
病理組織学的検査: 水晶体線維膨化 (3 群)
TK 解析 (最終投与)
<table>
<tr><td>群</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td></tr>
<tr><td>C_{max} (μg/mL)</td><td>15.9</td><td>24.5</td><td>10.0</td></tr>
<tr><td>$AUC_{0\text{-}24}$ (μg·h/mL)</td><td>157</td><td>365</td><td>131</td></tr>
</table>
血漿中 Ca 濃度 (mg/dL)
<table>
<tr><td>群</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td></tr>
<tr><td>最終投与 8 時間後</td><td>10.58</td><td>6.63</td><td>5.91</td><td>9.78</td></tr>
<tr><td>最終投与 24 時間後</td><td>11.03</td><td>7.08</td><td>6.66</td><td>12.17</td></tr>
</table>
グルコン酸 Ca 液の静脈内注入で水晶体混濁の発現が抑制されたため、ラットで認められた水晶体混濁は血中 Ca 濃度低下に基づくと判断した。</td><td>[redacted]099/
参考
4.2.3.7.3-1</td></tr>
</table>

a：血漿中 Ca 濃度測定：4、8、8 及び 7 例（1、2、3 及び 4 群）、TK 解析：0、4、4 及び 4 例（1、2、3 及び 4 群）、その他検査については各群全例検査対象
b：後大静脈カテーテル留置を施したラット
c：後大静脈カテーテルから生理食塩液を 2.35 mL/kg/h で初回経口投与後 1 時間から最終経口投与後 24 時間まで持続注入した。
d：後大静脈カテーテルから 63.8 mg/mL グルコン酸 Ca 液を 2.35 mL/kg/h で初回経口投与後 1 時間から最終経口投与後 24 時間まで持続注入した（グルコン酸 Ca の投与量：150 mg/kg/h）。
e：4 群では 1 例（動物番号 10407）が投与 6 日に 死亡したため（死因：グルコン酸 Ca 液持続投与過誤）、血漿中 Ca 濃度測定 6 例、TK 解析 4 例

2.6.7.15 その他の毒性試験（続き）

<table>
<tr><th>動物種/系統</th><th>投与方法</th><th>投与期間</th><th>投与量
(mg/kg)</th><th>性及び動物数/群</th><th>特記すべき所見</th><th>試験番号/
資料番号</th></tr>
<tr><td colspan="7">毒性発現の機序に関する試験: 眼房水中 KHK7580 濃度測定試験</td></tr>
<tr><td>ラット
/Crl:CD(SD)</td><td>強制経口
(0.5 w/v% MC 溶液/懸濁)</td><td>7 日間</td><td>6</td><td>雄 9 例</td><td>水晶体混濁の発現種差に対して、眼房水への被験物質の曝露差が関与しうるのか検討すべく、最終投与 2 時間後の血漿及び眼房水中濃度測定を実施した。結果を下表に示す。
<table>
<tr><td>血漿中濃度</td><td>7.244 µg/mL</td></tr>
<tr><td>眼房水中濃度</td><td>0.196 µg/mL</td></tr>
<tr><td>眼房水への移行率</td><td>2.7%</td></tr>
<tr><td>血清中 Ca 濃度</td><td>低値 (6.83 mg/dL)</td></tr>
<tr><td>眼科学的検査</td><td>水晶体微粒混濁: 7/9 例</td></tr>
</table>
加えて、試験期間中、体重減少が認められた。</td><td>[redacted]891/
4.2.3.7.3-2</td></tr>
<tr><td>カニクイザル</td><td>強制経口
(0.5 w/v% MC 溶液/懸濁)</td><td>7 日間 [f]</td><td>6</td><td>雄 3 例</td><td>水晶体混濁の発現種差に対して、眼房水への被験物質の曝露差が関与しうるのか検討すべく、最終投与 2 時間後の血漿及び眼房水中濃度測定を実施した。個別の結果を下表に示す。
<table>
<tr><td>血漿中濃度</td><td>1.190−4.028 µg/mL</td></tr>
<tr><td>眼房水中濃度</td><td>0.01393−0.05194 µg/mL</td></tr>
<tr><td>眼房水への移行率</td><td>1.2−1.5%</td></tr>
<tr><td>血清中 Ca 濃度</td><td>低値 (4.8−5.6 mg/dL)</td></tr>
<tr><td>眼科学的検査</td><td>所見なし</td></tr>
</table>
加えて、試験期間中、摂餌低下、不活発、痙攣及び筋攣縮(1 例のみ; 当該個体は投与 6 日に採血及び眼房水採取)が認められた。</td><td>[redacted]892/
4.2.3.7.3-3</td></tr>
</table>

f : 動物番号 10102 は状態悪化（摂餌低下、不活発、痙攣及び筋攣縮）のため、投与期間を 6 日間に短縮した。

2.6.7.15 その他の毒性試験（続き）

細胞	処理方法	処理濃度 (µg/mL)	例数	特記すべき所見	試験番号/資料番号
その他の試験: *In vitro* 光細胞毒性試験					
BALB/3T3 clone A31 細胞	被験物質 (溶媒: DMSO 1 vol%)を 60 分間処理した後、50 分間の光照射 (UVA 積算照射量 7.2−7.8 J/cm^2)又は非光照射を施し、約 24 時間後に細胞生存率を測定した。	0, 3.9, 7.8, 16, 31, 63, 130, 250, 500	4 ウェル/処理濃度	50%細胞増殖抑制濃度 非光照射条件下: >500 µg/mL 光照射条件下: 130 µg/mL 光毒性: 判定不能	[redacted]001/ 4.2.3.7.7-1

2.6.7.15 その他の毒性試験（続き）

動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	性及び動物数 /群	特記すべき所見	試験番号/ 資料番号
その他の試験: 有色ラットを用いた光毒性試験						
ラット/Crl: Long-Evans	強制経口 (0.5 w/v% MC 溶液/懸濁)	単回	0[g], 1[g], 3[g], 6[g], 6[h]	全群雌 5 例	光毒性に関する無毒性量: 6 mg/kg 試験期間中、体重減少が 6 mg/kg 投与群で認められた。	[redacted]690/ 4.2.3.7.7-2

g : UV 照射：中緯度地方における夏期の太陽光を模倣したキセノンランプに UVB を減弱させるフィルターを装着して使用し、最小紅斑を惹起する UV 曝露の 1/2 量を照射した。
h : UV 非照射