サノフィ株式会社

スピラマイシン錠 150 万単位「サノフィ」

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.6 毒性試験の概要文

Total number of pages: 46

目　　次

略号と用語の定義 6

1　まとめ 7

1.1　単回投与毒性試験 8

1.2　反復投与毒性試験 9

1.3　遺伝毒性試験 10

1.4　がん原性試験 10

1.5　生殖発生毒性試験 11

1.6　光毒性 12

2　単回投与毒性試験 13

2.1　マウス単回静脈内投与試験 13

2.2　ラット単回経口投与試験 13

2.3　ラット単回静脈内投与試験 14

2.4　イヌ単回経口投与試験 14

2.5　イヌ単回静脈内投与試験 15

3　反復投与毒性試験 16

3.1　ラット 1 年間混餌投与試験 16

3.2　ラット 28 日間静脈内投与試験 17

3.3　イヌ 8 週間経口投与試験 19

3.4 イヌ 28 週間経口投与試験 20

3.5 イヌ 2 年間混餌投与試験 21

3.6 イヌ 1 ヵ月間静脈内投与試験 23

3.7 サル 5 日間静脈内投与試験 24

4 遺伝毒性試験 26

4.1 *In vitro* 試験 26

4.1.1 細菌を用いる復帰変異試験 26

4.1.2 チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いる前進突然変異試験 26

4.1.3 チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いる染色体異常試験 27

4.2 *In vitro* 試験 27

4.2.1 マウス小核試験 27

5 がん原性試験 29

5.1 マウスがん原性試験 29

5.2 ラットがん原性試験 29

6 生殖発生毒性試験 31

6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 31

6.2 胚・胎児発生に関する試験 31

6.2.1 マウス胚・胎児発生に関する経口投与試験 31

6.2.2 ラット胚・胎児発生に関する混餌投与試験 32

6.2.3 ラット胚・胎児発生に関する経口投与試験 32

6.2.4 ラット胚・胎児発生に関する静脈内投与用量設定試験 33

6.2.5 ラット胚・胎児発生に関する静脈内投与試験 34

6.2.6 ウサギ胚・胎児発生に関する経口投与試験 34

6.2.7 ウサギ胚・胎児発生に関する静脈内与用量設定試験 36

6.2.8 ウサギ胚・胎児発生に関する静脈内投与試験 36

6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験 37

7 局所刺激性試験 38

8 その他の毒性試験 39

8.1 光安全性 39

8.2 代謝物の安全性評価 39

9 考察及び結論 40

10 図表 45

参 考 文 献 46

表　目　次

表 1 - スピラマイシン毒性試験一覧表 8

表 2 - 反復経口投与毒性試験における推定曝露量とヒト曝露量との比較 [a] 41

略号と用語の定義

略号	定義
ALP	Alkaline phosphatase：アルカリホスファターゼ
ALT (GPT)	Alanine aminotransferase (Glutamic pyruvic transaminase)：アラニンアミノトランスフェラーゼ（グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ）
AST (GOT)	Aspartate aminotransferase (Glutamic oxaloacetic transaminase)：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ）
b.i.d	bis in die：1 日 2 回
BUN	Blood urea nitrogen：尿素窒素（血中尿素窒素）
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HPRT	Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase：ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ
IU	International Unit：国際単位
LD_{50}	Lethal dose 50%：50%致死量
LDH	Lactate dehydrogenase：乳酸脱水素酵素
SD	Sprague-Dawley：ラット系統名

1　まとめ

スピラマイシンの毒性試験については、経口投与用のスピラマイシン（脂溶性スピラマイシン）及び静脈内投与用の化合物であるスピラマイシンアジピン酸塩を用いて、単回及び反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験が経口あるいは静脈内投与で実施されている。なお、本剤の毒性試験は、静脈内投与毒性試験の一部を除き GLP 導入前に実施されたものである。これらの試験は、公表文献と特に指定しない限り、サノフィ社（前の社名は Rhône Poulenc）で実施された。なお、文献あるいは試験報告書において用いたスピラマイシンの単位が重量表記あるいは力価表記のみの場合は原文通りの記載としたが、1g は約 3MIU に相当すると推定される。

表 1 – スピラマイシン毒性試験一覧表

試験の種類及び期間	投与経路	試験系	GLP適用	Module
単回投与毒性試験				
単回	経口	ラット、イヌ	非適	4.2.3.1.2
単回	静脈内	マウス、ラット、イヌ	非適	4.2.3.1.1、4.2.3.1.3、4.2.3.1.4
反復投与毒性試験				
5 日間	静脈内	サル	非適	4.2.3.2.7
28 日間	静脈内	ラット	適	4.2.3.2.2
4 週間	静脈内	イヌ	非適	4.2.3.2.6
8 週間	経口	イヌ	非適	4.2.3.2.3
28 週間	経口	イヌ	非適	4.2.3.2.4
1 年間	経口	ラット	非適	4.2.3.2.1
2 年間	経口	イヌ	非適	4.2.3.2.5
遺伝毒性試験				
復帰突然変異	*In vitro*	ネズミチフス菌	非適	4.2.3.3.1.1
前進突然変異	*In vitro*	チャイニーズハムスター卵巣細胞	非適	4.2.3.3.1.2
染色体異常	*In vitro*	チャイニーズハムスター卵巣細胞	非適	4.2.3.3.1.3
小核	静脈内	マウス	非適	4.2.3.3.2.1
がん原性				
2 年間	経口	ラット	非適	4.2.3.4.1.1
生殖発生毒性				
胚・胎児発生	経口	マウス、ラット、ウサギ	非適	4.2.3.5.2.1、4.2.3.5.2.2 4.2.3.5.2.3、4.2.3.5.2.6
胚・胎児発生（用量設定）	静脈内	ラット、ウサギ	非適	4.2.3.5.2.4、4.2.3.5.2.7
胚・胎児発生	静脈内	ラット、ウサギ	適	4.2.3.5.2.5、4.2.3.5.2.8

1.1 単回投与毒性試験

経口投与でのラットの概略の致死量は 8000 mg/kg（LD_{50} : 9400 mg/kg）、イヌでは 6000 mg/kg（LD_{50} : 5200 mg/kg）であった。ラットでは下痢及び体液減少を伴う急性胃腸炎が認められ、粘膜下織の固有層の血管拡張及び上皮の剥離、また、肝細胞や肝類洞、腎尿細管に限局性の壊死等が認められた。イヌでも胃に急性のうっ血がみられ重量増加を伴っていた。また、胃小窩を覆う円柱上皮の剥離を伴う

胃の固有層及び粘膜下層の急性うっ血、肝小葉中心領域に急性の空胞変性及び腎尿細管に壊死等がみられた。

静脈内投与ではマウス及びラットとも投与終了後 30 分間以内に死亡が発生した。マウスの概略の致死量は 185 mg/kg 及び LD_{50} は 220 mg/kg（0.80 MIU/kg に相当）であった。ラットの LD_{50} は投与速度が 1 mL/min の場合は 330 mg/kg（1.21 MIU/kg に相当）、0.2 mL/min の場合は 350 mg/kg（1.28 MIU/kg に相当）、また、概略の致死量はいずれも 255 mg/kg であり投与速度による差はみられなかった。ラット死亡例の剖検では肺と肝臓にうっ血がみられた。イヌではヒスタミン様症状（紅斑、耳の浮腫、顔面浮腫）がみられた。死亡例の剖検では肝臓、腎臓及び肺にうっ血が認められ、概略の致死量は 2 MIU/kg/日、LD_{50} は 2 MIU/kg/日超であった。

1.2 反復投与毒性試験

ラットの 1 年間混餌投与試験では、720 mg/kg/日群の雌で体重増加量の減少、雌雄で諸器官の相対重量の増加が認められたが、重篤な慢性毒性の発現は認められなかった。無毒性量は 240 mg/kg/日と考えられた。

ラットの 28 日間静脈内投与試験（投与期間を 32 日間に延長）では 0.36 MIU/kg/日以上で流涎及び振戦がみられたが試験の進行と共に回復傾向が認められた。0.54 MIU/kg/日群の雄では、軽度の摂餌量及び体重増加量の減少がみられたが、休薬により回復した。薬物投与群で好中球減少を伴う総白血球減少、尿素の減少は本薬の抗菌作用による健康状態の改善を反映したもの、電解質濃度のごく軽度の減少は腸内細菌叢に対する本薬の抗菌作用により生じたものと考えられた。脾臓にみられた泡沫状マクロファージは、本薬の蓄積を示唆するものと考えられた。0.54 MIU/kg/日群でみられた所見は軽度であり、多くの場合は休薬により回復した。無毒性量は 0.36 MIU/kg/日と判断された。

イヌの 8 週間経口投与試験では、500 mg/kg/日群の全例で中毒症状がみられ 10 例中 8 例が死亡した。中毒症状として、食欲不振、嘔吐あるいは下痢等がみられ、死亡前に体重及び摂餌量減少、貧血及び脂肪減少、並びに尿中にアルブミン、胆汁色素の出現が認められた。肝細胞、肝類洞及び腎尿細管の壊死性変化を伴う肝臓、腎臓、脾臓、副腎の腫大及び浮腫、脾臓では髄外造血がみられ、精巣では精子形成が抑制された。骨格筋、心筋、胸腺、甲状腺、膵臓及び眼の脈絡膜層にも毒性所見がみられ、体脂肪減少を伴っていた。

イヌの 28 週間経口投与試験では、240 mg/kg/日で胃腸刺激及び体重減少、ヘモグロビン及びヘマトクリットの軽度の減少がみられた。120 mg/kg/日以上で AST、ALT 及び BUN の増加が認められ、胃に刺激性、肝臓及び腎臓に退行性変化が観察された。無毒性量は 60 mg/kg/日と考えられた。

イヌの 2 年間混餌投与試験では、投与期間を通して全例が生存し、一般状態は概ね良好であった。4000 ppm 以上で網膜の脈絡膜タペタム（輝板）に種々の程度の欠損による着色斑が認められた。また、5000 ppm 以上では舌に青味がかった斑点が観察された。5000 ppm 以上では遠近調節の不全及び光感受性の不全が観察されたが、全例とも視力が確認された。また、諸器官の相対重量が増加し、心臓の僧帽弁又は三尖弁組織の肥厚が観察された。本薬の全投与群で諸組織の実質細胞及び組織球に空胞化がみられたが、3000 ppm 群では軽微であった。また、5000 ppm 以上では網膜の空胞化及び萎縮がみられたが休薬により回復した。無毒性量は 3000 ppm と判断された。

イヌの 4 週間静脈内投与試験では、0.24 MIU/kg/日での忍容性は良好でありヒスタミン様症状（紅斑、耳の浮腫、顔面浮腫）が若干生じるのみであった。0.36 MIU/kg/日での忍容性も比較的良好であったが、脾臓及び腎臓に細胞レベルで形態的変化がみられ、本薬の薬理作用とヒスタミン様症状に関連したものであると考えられた。0.54 MIU/kg/日では、脾臓の絶対及び相対重量増加、並びに傍糸球体装置細胞の肥大を伴う脾臓マクロファージの明らかな肥大に加えトランスアミナーゼの軽度な増加がみられた。この投与群では静脈の局所的忍容性は良好であったが、ヒスタミン様症状の頻度は明らかに増加した。無毒性量は 0.24 MIU/kg/日と考えられた。

サルの 5 日間静脈内投与試験では、スピラマイシン投与中に流涎が規則的にみられ、筋緊張低下、嘔気発作及び呼吸困難が観察されたが、ヒスタミン様反応は認められなかった。投与 4 日に 0.54 MIU/kg/日群の雄 1 例が死亡したが、同用量を用いた 2 回目の試験で死亡は認めらなかった。薬物投与と死亡の関連性は不明で、事故（闘争）の可能性が示唆された。また、0.54 MIU/kg/日では、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの軽度な減少がみられたが、病理組織学的検査では、スピラマイシン投与に関連する異常は認められなかった。無毒性量は 0.24 MIU/kg/日未満と考えられた。

1.3　遺伝毒性試験

細菌を用いる復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いる前進突然変異試験及び染色体異常試験、並びにマウス小核試験が実施されたが、スピラマイシンに遺伝毒性は認められなかった。

1.4　がん原性試験

ラットの 2 年間混餌投与がん原性試験では、乳腺、下垂体、甲状腺及び副腎に良性又は悪性腫瘍が認められたが、対照群及び投与群との各腫瘍発生の比較では薬物投与との関連性は認められなかった。また、非腫瘍性病変及び特に雌性生殖器の病変にも薬物投与の明らかな影響は認められなかった。

以上、スピラマイシンを最高 400 mg/kg/日まで投与しても投薬に関連したがん原性はみられなかった。

1.5　生殖発生毒性試験

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施しなかった。スピラマイシンのラット、イヌ、サルにおける反復投与毒性試験において、雌性生殖器への影響はみられなかった。スピラマイシンアジピン酸を約 77 日投与した雌雄ラットを交配、分娩させ、出生時及び離乳時の観察並びに剖検を行ったラット胚・胎児発生に関する混餌投与試験において、いずれの生殖発生関連パラメータに本薬に関連した異常は認められなかった。

妊娠マウスにスピラマイシンを妊娠 5～15 日に経口投与した。400 mg/kg/日では軽度な体重減少がみられたが、胚毒性はなく、子宮内の胎児成長や出生後の発達にも影響は認められなかった。100 mg/kg/日以上で生存児数の減少はなく周産期の死亡率も低かった。出生児の体重増加量及び生後の平均体重に変化はなく、催奇形性も認められなかった。母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量は 200 mg/kg/日、母動物の生殖に及ぼす影響及び次世代動物の発生に関する無毒性量は 400 mg/kg/日と考えられた。

アルビノラットに 0.7%スピラマイシンを含む飼料を混餌投与した。約 77 日間混餌投与した後、雌雄ラットを交配及び分娩させ、出生時及び離乳時の観察並びに剖検を行ったがいずれも異常は認められず、催奇形性も認められなかった。

妊娠ラットにスピラマイシンを妊娠 5～15 日に経口投与した。200 mg/kg/日以上の平均体重は対照群より軽度減少したが、投与前の妊娠 0 日から認められるものであった。胚毒性、催奇形性及び子宮内の胎児成長には影響は認められなかった。母動物の一般毒性学的影響及び生殖に及ぼす影響に関する無毒性量並びに次世代動物の発生に関する無毒性量はいずれも 400 mg/kg/日と考えられた。

妊娠ラットにスピラマイシンを妊娠 6～15 日に静脈内投与した。0.54 MIU/kg/日群で振戦及び運動失調、流涎がみられたが死亡はなく、胎児の生存、成長及び形態発達に影響は認められなかった。母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量 0.36 MIU/kg/日、母動物の生殖に及ぼす影響及び次世代動物の発生に関する無毒性量は 0.54 MIU/kg/日と考えられた。

妊娠ウサギにスピラマイシンを妊娠 6～16 日に経口投与した。200 mg/kg/日以上に摂餌量、摂水量、さらに 400 mg/kg/日では体重増加量の減少がみられ、剖検では盲腸の拡張及び重量増加がみられた。また、これらの投与群では流産又は全吸収胚が発生し胎児毒性がみられた。400 mg/kg/日では発育不全の胎児の割合は高く、生存胎児の平均体重は減少したが、骨化が軽度遅延した発育不全胎児を除けば胎児の骨化は正常で催奇形性はみられなかった。母動物の一般毒性学的影響及び生殖に及ぼす影響に関する無毒性量は 100 mg/kg/日、次世代動物の発生に関する無毒性量は 200 mg/kg/日と考えられた。

妊娠ウサギにスピラマイシンを妊娠 6～19 日に静脈内投与した。0.54 MIU/kg/日群の 2 例が死亡又は瀕死状態のため切迫安楽殺されたが、剖検では薬物投与に関連する異常は認められなかった。本薬投

与の全群で流涎、瞬目回数及び呼吸数の増加及び不随意咀嚼が観察されたが、母体の妊娠の維持及びその成績、胎児の形態、発育及び生存に異常は認められなかった。母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量は 0.18 MIU/kg 未満、母動物の生殖に及ぼす影響及び次世代動物の発生に関する無毒性量は 0.54 MIU/kg/日と考えられた。

スピラマイシンの出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験は実施されていないが、マウス胚・胎児発生に関する経口投与試験では、胎児の器官形成期にスピラマイシンを投与後、自然分娩させた出生児の 1 ヵ月間観察では生後の発達（生存率、体重）に異常はみられていない。

1.6　光毒性

本薬は 290～700 nm で光吸収を示さないことから、光毒性の懸念はないと考えられた。

2　単回投与毒性試験

マウス、ラット及びイヌを用いて経口あるいは静脈内投与による単回投与毒性試験を実施した。

2.1　マウス単回静脈内投与試験

[Module 4.2.3.1.1]

OF_1 マウス（1 群雌雄各 5 例）にスピラマイシンアジピン酸塩の 0（対照）、100、135、185、255、345 mg/kg を単回静脈内投与した。スピラマイシンアジピン酸塩は生理食塩液に溶解し、体重当たり 50 mL/kg の容量を 1 mL/min の速度で投与した。対照群には媒体のみを同様に投与した。一般状態は毎日観察、体重は毎週測定し、14 日間の観察終了後に剖検した。

死亡は投与終了後 30 分間以内にみられ、概略の致死量は 185 mg/kg、LD_{50} は 220 mg/kg（0.80 MIU/kg に相当）であった。死亡例の剖検では異常は認められなかった。一般状態観察では、100 mg/kg に運動性低下及び攻撃的傾向がみられた。135 及び 185 mg/kg に運動性亢進、運動失調、振戦、呼吸困難及び攻撃的傾向が認められ、185 mg/kg 群の雌では跳躍及び流涎もみられた。255 及び 345 mg/kg では、より低い用量群でみられた症状に加え流涙も認められた。これらの症状はいずれも投与後 l～2 時間には完全に消失した。生存例の体重増加は正常であり、剖検でも異常は認められなかった。

2.2　ラット単回経口投与試験

[Module 4.2.3.1.2]

雄アルビノラット（各 16、10、2、2、8、8、8、8 例）にスピラマイシンの 0（対照）、1000、2000、4000、6000、8000、9000、10000 mg/kg を単回経口投与した。スピラマイシンの投与溶液は媒体（1%トラガカント水溶液）を用い 50%懸濁液とした。対照群には媒体のみを投与した。一般状態観察、体重、摂餌量、摂水量、糞便及び尿の排出量、直腸温は 14 日間毎日測定し、観察終了後に剖検、器官重量及びその水分含量を測定し、病理組織学的検査を実施した。

2000 mg/kg 以上では食欲不振、下痢及び元気消失がみられた。10 例（24 時間以内に 3 例、24～48 時間に 6 例、7 日後に 1 例）が死亡した。死亡 6 時間前に、結膜、耳介及び下肢の蒼白、衰弱、呼吸速度の低下がみられ、直腸温は対照群に比べ有意に低下した。また、1 例では呼吸停止 2 分後に心不全が観察された。概略の致死量は 8000 mg/kg、LD_{50} は 9400 mg/kg と推定された。

6000 mg/kg 以上では投与後に体重減少がみられたが、6000～9000 mg/kg では 1 週後、10000 mg/kg では 2 週後に体重増加の回復傾向が認められた。体重減少は摂餌量や摂水量の減少、排糞（固形）減少／下痢と関連していた。回復のみられた 3 例の剖検では異常はなく、器官重量及び水分含量にも変化はみられなかった。死亡例の平均体重は 10.7%減少し、消化管は急性炎症を起こし暗黄色の液体を

含み拡張した。胃には未吸収のスピラマイシンが認められ、ガス貯留が胃に加え盲腸や結腸にみられる例もあった。器官重量では、小腸、盲腸及び結腸重量の減少がみられた。また、屍体及び多くの器官（肝臓を除く）の水分含量減少がみられた。これらのことからスピラマイシンの致死量では下痢及び体液減少を伴う急性胃腸炎の発生が示唆された。病理組織学的検査では、消化管固有層の毛細血管及び粘膜下組織の血管の著しい拡張、特に小腸、盲腸及び結腸では表層上皮の顕著な剥離が観察された。盲腸固有層には円形細胞の浸潤がみられ、肝細胞や肝類洞、腎曲尿細管（多くは遠位）に限局性の壊死が認められた。

2.3　ラット単回静脈内投与試験

[Module 4.2.3.1.3]

CD ラット（1 群雌雄各 5 例）にスピラマイシンアジピン酸塩の 0（対照）、135、185、255、345、475 mg/kg を単回静脈内投与した。スピラマイシンアジピン酸塩は生理食塩液に溶解し体重当たり 5 mL/kg の容量とした。毒性作用の出現に対する投与速度の影響を検討するために、各用量とも 1 及び 0.2 mL/min の 2 種類の速度で投与した。対照群には媒体のみを 1 mL/min の速度で同様に投与した。一般状態観察は毎日、体重は毎週測定し、14 日間の観察終了後に剖検を実施した。

死亡が投与終了後 30 分間以内にみられた。投与速度が 1 mL/min の場合の概略の致死量は 255 mg/kg、LD_{50} は 330 mg/kg（1.21 MIU/kg に相当）、0.2 mL/min の場合は各 255 mg/kg 及び 350 mg/kg（1.28 MIU/kg に相当）であり、投与速度の違いによる有意な差はみられなかった。死亡例の剖検では肺と肝臓にうっ血がみられたが、投与速度に起因する差はなかった。全ての薬物投与群の雌雄で運動失調、頭の上下運動、咀嚼及び流涎が、時に流涙及び呼吸困難を伴って観察された。さらに、運動性低下、振戦及び急な跳躍が時々みられた。症状の種類及び発現頻度には投与速度に起因すると考えられる差はみられなかった。また、これらの症状はいずれも投与後 1 時間に消失した。生存例の体重増加は正常であり、剖検でも異常は認められなかった。

2.4　イヌ単回経口投与試験

[Module 4.2.3.1.2]

雌雑種犬（各 8、4、3、2、3、2 例）にスピラマイシンの 0（対照）、1000、3000、4000、6000、9000 mg/kg を単回経口投与した。スピラマイシンの投与溶液は媒体（1%トラガカント水溶液）を用い 50%懸濁液とした。対照群には媒体のみを投与した。一般状態観察、体重、摂餌量、摂水量を測定し、観察終了後に剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。

スピラマイシン投与後 15～30 分に 1000 mg/kg 群の 1 例を除く全例に嘔吐がみられた。いずれの投与群でも死亡はみられず、吐物の乾燥重量からほとんどのスピラマイシンが吐き出されたものと推定された。クロルプロマジン塩酸塩 25 mg/kg の筋肉内投与ではスピラマイシン誘発の嘔吐を予防するこ

とはできなかったが、ペントバルビタールナトリウム塩の 25 mg/kg 又は軽度の麻酔に十分な量を腹腔内投与することにより嘔吐反射を抑制して、胃内にスピラマイシンを貯留させた。その結果、6000 mg/kg 以上では全例が死亡したが、4000 mg/kg 以下では全例が生存した。概略の致死量は 6000 mg/kg、LD_{50} は 5200 mg/kg と推定された。一般状態はラットと同様な所見が観察された。無麻酔下では嘔吐が発現した。剖検では胃に急性のうっ血がみられ、胃はガス、液体や未吸収のスピラマイシンで拡張し、内容物を含む胃重量は増加した。小腸も著しく拡張、黄色液体で充満し、内容物を含む全重量は増加した。一方、結腸内はほぼ空でその重量（黄色液体も含む）は減少した。消化管組織の水分含量は減少した。胃小窩を覆う円柱上皮の剥離を伴う胃固有層及び粘膜下層に急性うっ血がみられた。肝臓では主に小葉中心領域の急性の空胞変性、腎臓では腎尿細管の壊死がみられた。

2.5　イヌ単回静脈内投与試験

[Module 4.2.3.1.4]

ビーグル（1 群雌雄各 2 例）にスピラマイシンアジピン酸塩の 0（対照）、0.5、0.75、1 MIU/kg を 5 時間間隔で 2 回、静脈内投与した（0、1、1.5、2 MIU/kg/日に相当）。被験物質は生理食塩液に溶解（0.15 MIU/mL）し、投与速度は 2 mL/min とした。対照群には媒体を高用量群と同様に投与した。症状を毎日観察し摂餌量を測定し、体重は毎週測定し、血液学的検査、血液生化学的検査は投与 1、7、13 日に実施し、14 日間の観察期間終了後に剖検を行った。

2 MIU/kg/日群の雌 1 例が 1 回目の投与中に顔面浮腫及び振戦を呈し死亡し、剖検では肝臓、腎臓（広汎な出血を伴う）及び肺（肺気腫を伴う）に強いうっ血が認められた。投与中に本薬全投与群の全例で、ヒスタミン様症状（紅斑、耳の浮腫、顔面浮腫）、流涎及び振戦が認められ、鳴き声を発した。投与終了時に 1 MIU/kg/日群の雌 1 例以外の全例が側臥位となり、正常な全身状態に回復するまでに 1 時間以上を要した。2 MIU/kg/日群の雌では体重増加はみられなかったが、他の投与群では増加を示した。摂餌量及び血液学的検査には異常はみられなかった。投与後 1 日に AST 及び ALT の増加が 2 MIU/kg/日群の全例、1.5 MIU/kg/日群の雌 2 例と雄 1 例、1 MIU/kg/日群の雌 1 例にみられた。ALP あるいは LDH の増加も各群の 1～2 例に認められた。投与後 7 日では ALT の増加が各投与群の 1～2 例にみられた。生存例の剖検では異常は認められなかった。本試験における概略の致死量は 2 MIU/kg/日、LD_{50} は 2 MIU/kg/日超であった。

3　反復投与毒性試験

ラットを用いた 1 年間混餌投与試験及び 28 日間静脈内投与試験、イヌを用いた 8 及び 28 週間経口投与毒性試験、2 年間混餌投与試験並びにサルを用いた 5 日間静脈内投与試験を実施して、反復投与毒性を検討した。

3.1　ラット 1 年間混餌投与試験

[Module 4.2.3.2.1]

ラット（1 群雌雄各 20 例）に、飼料のみ（対照）又はスピラマイシンアジピン酸塩の 800、2400、7200 ppm の混餌を 52 週間摂取させた。これらの用量はそれぞれスピラマイシンアジピン酸塩の 0、約 80、240、720 mg/kg/日に相当する。血液学的検査は投与 19、26、41、52 週に、剖検は投与 53 週に実施した。摂餌量及び体重を週 1 回測定した。血液学的検査は、対照群及び高用量群の雌雄各 5 例については投与 4、9、13 週に実施し、その他の動物は定期的に実施した。投与 14 週に各群雌雄各 5 例を安楽殺し剖検・器官重量測定の後、対照群及び高用量群について病理組織学的検査を実施した。試験終了時には残りの全ての動物を安楽殺し剖検・器官重量測定の後、対照群及び高用量群の各 5 例について病理組織学的検査を実施した。また、低及び中用量群の雌雄各 5 例から採取した肝臓についても、病理組織学的検査を実施した。

投与期間中、80 mg/kg/日群の雄 1 例が投与 17 週に、720 mg/kg/日群の雄 2 例が各 24 及び 49 週に死亡した。240 mg/kg/日群の雄 1 例は投与 44 週に瀕死状態となったため安楽殺した。この例の剖検では、頸部に中等度の大きさの腫瘍がみられたが、薬物投与との関連性は明らかではなかった。

投与終了時に 720 mg/kg/日群の雌の体重は対照群の約 89%であった。他の全ての投与群の体重は、対照群と同程度であった。

血液学的検査では本薬投与に関連した一貫性のある変化は認められなかった。試験進行と共にヘモグロビン及びヘマトクリットの低下傾向がみられたが、対照群にも同様に認められた。

剖検では本薬との関連性を示唆する異常所見はみられなかった。

器官重量では 720 mg/kg/日群の雌雄で肝臓、腎臓及び副腎の相対重量のごく軽度な増加が認められた。また、この群の雌では脾臓、心臓、甲状腺及び卵巣の相対重量が増加した。本薬全投与群の雄で前立腺の相対重量の増加が認められ、その程度は 720 mg/kg/日群でやや強いものであった。

病理組織学的検査では、腎臓及び肝臓に軽度の組織学的変化が観察された。720 mg/kg/日では腎臓に慢性炎症及び腎症の特徴を示す所見がみられたが、これらの変化は対照群でも観察された。本薬全投与群で、対照群に比して肝臓の肝細胞のグリコーゲン枯渇、軽度な慢性炎症性変化が認められた。

720 mg/kg/日群の雌で体重増加抑制が認められたが、他の所見は各群とも毒性学的な意義は低いことから、薬物投与との関連性が明らかではない死亡や安楽殺例を除けば、本試験における無毒性量は240 mg/kg/日と考えられた。

3.2　ラット 28 日間静脈内投与試験

[Module 4.2.3.2.2]

CD（SD）ラット（1 群雌雄各 15 例）にスピラマイシンアジピン酸塩（濃度 : 0.06 MIU/mL）の 0（対照）、1.5、3.0、4.5 mL/kg を 32 日間（28 日間の予定を延長）静脈内投与（投与速度 : 1 mL/min）した。投与は約 6 時間間隔で 1 日 2 回（b.i.d）、0.09、0.18、0.27 MIU/kg（各々0.18、0.36、0.54 MIU/kg/日に相当）とした。対照群には、4.5 mL/kg の生理食塩液を同様に投与した。投与終了後に各群雌雄 5 例を 15 日間の回復性試験に供した。一般状態及び摂水状態は毎日観察、体重は週 2 回測定、摂餌量及び摂餌効率は週毎に算出した。眼科学的検査は投与開始前及び終了後に全例について実施した。血液学的検査及び血液生化学的検査は投与後 6 及び 27 日並びに回復 14 日に、尿検査は投与 4 週に各群 10 例について実施した。投与終了後及び回復期間終了後に全例の剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を行った。

投与期間中に対照群の雌 1 例（投与 1 日）及び 0.18 MIU/kg/日群の雄 1 例（投与 7 日）が死亡した。0.18 MIU/kg/日群の死亡は採血中に発生し、剖検では肺及び胸腺にうっ血がみられたが、病理組織学的検査では薬物投与と関係する所見は認められなかった。一般状態の変化としては、流涎及び振戦が 0.36 MIU/kg/日以上にみられた。流涎は 0.54 MIU/kg/日群の大多数で投与 1 週にみられたが、投与の進行に伴いその発現頻度は低下した。0.36 MIU/kg/日で認められた流涎は程度の弱いものであった。振戦は、0.54 MIU/kg/日群では投与期間を通じて全例にみられ、0.36 MIU/kg/日群では投与 1 週に低頻度であるが雌雄にみられ、投与 2 週では雄のみに観察された。投与部位には変化は認められなかった。

軽度の摂餌量減少が 0.54 MIU/kg/日群の雄にみられたが、休薬後の摂餌量は対照群と同様であった。体重増加量の低下が雄の 0.18 及び 0.54 MIU/kg/日群にみられたが、0.36 MIU/kg/日群の雄では認められなかったことから、0.18 MIU/kg/日の変化は薬物投与に関連したものではないと考えられた。回復期間中には対照群との間に差はみられなかった。投与群の摂餌効率には一貫した変化は認められなかった。

眼科学的検査では、薬物投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査では、好中球減少を伴う総白血球減少が投与 6 日に本薬全投与群の雄及び 0.54 MIU/kg/日群の雌、投与 27 日には本薬全投与群の雌雄にみられた。回復期間中も本薬全投与群の雄及び 0.36 MIU/kg/日群の雌で同様の変化が認められた。投与期間中にヘマトクリット、ヘモグロビン及び赤

血球の減少が薬物投与群の雄にみられたが、それらに一貫した変化は認められず、正常範囲内の変化であった。

血液生化学検査では、投与期間中に ALT の減少が 0.54 MIU/kg/日群の雌でみられたが、雄では明らかではなく、雌の変化は回復期間中には認められなかった。軽度の尿素の減少が投与 6 日に 0.54 MIU/kg/日群の雌、投与 27 日に 0.36 MIU/kg/日以上の雌雄でみられたが、回復期間中には 0.54 MIU/kg/日群の雄、0.18 及び 0.36 MU/kg/日群の雌で散見されたのみであった。投与 27 日に非絶食下の雌ラットでグルコースの増加がみられたため、投与 32 日に絶食下で再検査をしたところ、対照群と差は認められなかった。電解質濃度の減少（特に雌におけるクロール）が 0.54 MIU/kg/日群でみられたが、回復期間中には明らかではなかった。

尿検査では薬物投与に関連した明らかな変化はみられなかった。

器官重量では、0.54 MIU/kg/日群の雄で肝臓の相対重量が増加し、回復期間終了時には絶対及び相対重量とも増加した。同群の雄にみられた胸腺の絶対重量の減少は回復期間終了時には認められなかった。

剖検では、スピラマイシン投与に起因した変化はみられなかった。

病理組織学的検査では、脾臓の泡末状マクロファージが 0.54 MIU/kg/日群の全例、0.36 MIU/kg/日群の雄 3 例及び雌 7 例、0.18 MIU/kg/日群の雌 1 例にみられたが、回復期間終了時には認められなかった。脾臓にみられた泡沫状マクロファージは、被験物質の高い組織移行性によるものと考えられる。スピラマイシンのマクロファージへの高い移行性は他のマクロライドと同様に良く知られている[Module 2.6.4.4.3 項]。なお、肺では、気管支周囲のリンパ球増殖、血管周囲リンパ球及び多核白血球浸潤と炎症がみられたが、これらは投与時に毛／皮膚が血管内に混入されたこととの関連が示唆された。投与部位の外傷に関連すると思われる皮下織の炎症（特に雌）もみられたが、対照群と 0.54 MIU/kg/日群とでほぼ同様の発現頻度であった。その他、CD ラットに共通して認められる一般的な炎症及び変性性変化（肝グリコーゲンを伴う蒼白化及び急性心筋炎も含む）が数例にみられたが、当該研究施設で日常的に認められる所見と発現頻度であった。

0.54 MIU/kg/日投与で観察された変化はいずれも軽度であり、そのほとんどが可逆的であった。本試験における無毒性量は 0.36 MIU/kg/日と判断された。

3.3　イヌ 8 週間経口投与試験

[Module 4.2.3.2.3]

雑種犬（1 群雌雄各 3 及び 7 例）にスピラマイシンの 0（対照）及び 500 mg/kg/日を 1 日 1 回、8 週間、カプセルを用い反復経口投与した。対照群にはカプセルのみを同様に投与した。一般状態は毎日観察、体重及び摂餌量は毎週測定して摂餌効率を求めた。血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査は隔週に実施した。投与終了後に剖検及び器官重量を測定し、病理組織学的検査を行った。

本薬投与により死亡が投与 19 日（2 例）、27 日、29 日、30 日、33 日、41 日、46 日に各 1 例にみられ、投与 56 日の剖検時には残りの生存例（2 例）は衰弱状態を呈した。試験期間中、食欲不振、流涎、嘔吐、下痢、易刺激性及び不機嫌がみられた。これらに加えて、死亡の 1～2 週間前には無気力、蒼白及び乾燥性鼻炎がみられた。3 例には視力障害がみられ、眼科学的検査で眼底の色素消失が観察された。死亡 1～2 日前には、衰弱、暗緑色便、便失禁及び部分的硬直がみられた。

本薬投与群では 1～2 週後に摂餌量減少を伴う体重減少がみられ、死亡数日前には摂餌はみられなかった。本薬投与群では投与期間中に貧血の程度が強くなった。体脂肪減少がみられ、血中のリン脂質、遊離及びエステル型コレステロール、総コレステロールの減少により、総脂肪酸及び総脂肪が低下した。スピラマイシン投与による脂肪減少は、肝実質性疾患での変化と類似している (1)。尿検査では、死亡前 2 週にアルブミン及び胆汁色素が認められた。

剖検時、胃腸管腔はほぼ空であり、小腸には黄緑色の液体、結腸には緑黒色の液体がみられた。脾臓の腫大、蒼白化及び軟化、膵臓及び肝臓の蒼白化及び縮小、副腎腫大及び腎臓蒼白化、横隔膜及び腹直筋の蒼白化、精巣萎縮がみられた。

器官重量では心臓、結腸（内容物を含む）、大網及び精巣の相対重量が減少、脾臓、肝臓、副腎及び腎臓の相対重量が増加した。水分含量は結腸及び精巣で減少、胸腺、腹直筋、脾臓、大網、肝臓、副腎、腎臓及び横隔膜で増加した。

病理組織学的検査では以下の所見が得られた。消化管刺激作用を示唆する症状がみられたが、組織学的に胃又は腸管には損傷はほとんど又は全くみられなかった。横隔膜と腹直筋の両骨格筋の横紋がかなり減少し A 帯は不明瞭であった。心筋の A 帯も若干不明瞭であったが、介在板は明確であり正常であった。大網の脂肪摂取細胞のサイズが減少した。胸腺の網状塊は、ほとんど結合組織によって置き換えられ、所々に胸腺細胞及び少数のハッサル小体を含んでいた。また対照群の数例にも胸腺萎縮がみられ、残存した結合組織はより脂肪化していた。甲状腺濾胞はコロイドで充満し、濾胞上皮細胞は小さく扁平化し活性低下を示唆していた。膵臓では、腺房細胞のチモーゲン顆粒がほぼ完全に消失した。副腎皮質の球状帯及び索状帯の細胞は、若干肥大化し過形成を示した。3 例にみられた眼底色素欠失は、眼の脈絡膜層中での色素顆粒数の減少に起因していた。精子形成の抑制がみられた。精巣

のいくつかの小葉では精子細胞及びまれに精子がみられた。他の小葉では、精母細胞は巨細胞を形成し精子は認めらなかった。一方、多くの小葉の精細管では精原細胞も消失しセルトリ細胞のみが留まっていた。卵巣では、原始卵胞は認められたが、グラーフ卵胞や黄体は認められなかった。脾臓の脾柱の平滑筋は淡染性を示した。白脾髄の細網細胞及びマクロファージは腫脹し、細胞質の染色性は弱かった。数例の白脾髄ではリンパ球数が減少し、脾臓動脈分岐の近接域に限局して認められた。赤脾髄のビルロート索は腫脹し、肥大し淡明な細網細胞及び多数の空胞を有するマクロファージを含んでいた。莢動脈（Schweigger-Seidel 鞘動脈）壁は薄く、脾洞では赤血球数の減少がみられた。脾静脈の血液には多数の赤芽球及び骨髄球が含まれていた。肝臓にはかなりの障害がみられた。肝類洞に沿った細胞は腫脹し、しばしば類洞を閉塞した。小葉中心静脈に血球はほとんどみられず、クッパー細胞を押しのけるように大型マクロファージを含んでいた。肝細胞は腫脹した類洞内皮細胞によって圧迫され、多数の球形の空胞を含んでいた。その像はイヌに脂肪食を摂取させた際にみられるものと類似していた。小葉間肝動脈、胆管及びリンパ管は正常であった。門脈の小葉分枝の多くは拡張していた。ほとんどの例で著しい腎障害がみられた。糸球体、ボーマン嚢、近位曲尿細管及びヘンレ係蹄の下行脚は腫脹し、染色性は弱かった。腎臓の多くの部位で、ヘンレ係蹄の上行脚及び遠位曲尿細管の空胞変性及び壊死性変化がみられた。

本試験における無毒性量は 500 mg/kg/日未満と考えられた。

3.4　イヌ 28 週間経口投与試験

[Module 4.2.3.2.4]

ビーグル（1 群雌雄各 3 例）に、スピラマイシンアジピン酸塩の 0（対照）、60、120、240 mg/kg/日を週 6 日間で 28 週間、カプセルを用いて反復経口投与した。240 mg/kg/日群では午前及び午後の 2 回に分けて分割投与した。対照群には、コーンスターチのみを入れたカプセルを投与した。体重は毎週測定し、一般状態は毎日、給餌及び投与時に観察した。投与 13 週に各群雌雄 1 例を剖検した。各群とも雌雄 2 例はさらに 15 週間投与を続けた。血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査は、投与 4、8、13、20、27 週に実施した。投与 28 週に全生存例を安楽殺した後、剖検、器官重量測定後に病理組織学的検査を実施した。

240 mg/kg/日群の雌 1 例が乳腺膿瘍の除去手術後 6 週に死亡した。240 mg/kg/日群の少数例に活動性低下が、同群の数例に中等度量の粘液便が投与開始数日にみられた。これらの 1 又は 2 例は投与初日の夜間に嘔吐したが、他には一貫性のある特記すべき毒性徴候はなかった。

投与 13 週の剖検前に体重減少が対照群の 1 例（約 2 kg）、240 mg/kg/日群の 2 例（1～2 kg）にみられ、他の 2 例では軽度の減少、その他の 2 例では体重増加量の増加あるいは体重維持がみられた。他の群では体重増加量の増加あるいは体重維持を示した。

本薬に関連したと考えられる血液学的変化としては、ヘモグロビン及びヘマトクリットの軽度減少が 240 mg/kg/日群では雌 1 例を除く全例でみられた。また、白血球数の 50%減少が 240 mg/kg/日群の雄 1 例にみられた。尿検査では対照群との間に差はみられなかった。血液生化学的検査では、対照群と比較して明らかな変化はみられなかったが、240 mg/kg/日における AST 及び ALT の平均値がいずれも投与 4 週から軽度増加した。ALT が 120 mg/kg/日群の雄 1 例で投与 26 週に高値を示した。同群の雌 1 例も同時期に AST が高値を示した。BUN は 120 及び 240 mg/kg/日で投与 13、19 及び 26 週に対照群に比べ軽度増加した。

剖検では、一貫性のある所見として甲状腺及び腎臓の蒼白、膀胱及び腎臓に数個の砂状の結石が認められた。器官重量では 120 mg/kg/日で脾臓の相対重量が高値を示した。

病理組織学的検査では、120 及び 240 mg/kg/日で胃の刺激性、肝臓及び腎臓の明確な退行性変化がみられたが、60 mg/kg/日では対照群と差がなかった。

120 mg/kg/日では胃の刺激性、肝臓及び腎臓の退行性変化などが認められたことから、本試験における無毒性量は 60 mg/kg/日と考えられた。

3.5　イヌ 2 年間混餌投与試験

[Module 4.2.3.2.5]

イヌ（1 群雌雄各 4 例）にスピラマイシンとアジピン酸の混合物（各 87.7%：12.3%）を 106 週間混餌投与した。被験物質の混餌中のスピラマイシン濃度は 0（対照）、3000、4000、5000、6000 ppm とし 摂取させた。なお対照群には餌のみを与えた。体重は週 1 回測定し、一般状態及び眼検査は隔週毎に観察した。血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査は投与 26、52/53、78、104 週、血圧及び心拍数の測定並びに心電図検査は投与 56、78、104 週、眼科学的検査は投与 28、43、82、105 週、眼底撮影は投与 54 週に実施した。神経学的検査は投与 95 週に行った。試験終了時に動物を安楽殺し、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した。なお、6000 ppm 群には雌雄各 1 例を追加し、45 日間混餌投与した後、14 週間休薬させた。追加の 2 例は休薬後も眼の観察を行い、眼底撮影を投与後 14 及び 45 日及び休薬後 14 週に行った後、安楽殺し眼の病理組織学的検査を実施した。

試験期間中に死亡は認められず、一般状態も良好であった。

対照群の 1 例（0.4 kg 減少）を除く全例の体重増加量は増加、あるいは体重維持がみられた。

血液学的検査値は全例とも正常範囲内にあり、用量相関性や経時的な推移には一定の傾向は認められなかった。血液生化学的検査及び尿検査に異常はみられなかった。血圧及び心拍数は正常範囲内であった。なお、心電図測定は実施したが波形の解析は行わなかった。

眼科学的検査では、網膜の変化が4000 ppm以上で投与28週及びそれ以降の各検査日に認められた。3000 ppm 及び対照群では観察されなかった。網膜の変化は、脈絡膜タペタムの種々の程度の欠損による着色斑であった。この網膜の変化について検討するため 6000 ppm 群に追加した 2 例においても、投与 15 日までに明らかな異常を呈し、投与 45 日までに本試験の投与群と同程度の変化を示した。タペタムの変化が発現した後、これら 2 例の餌を通常食に戻してその変化の可逆性を検討したところ、休薬 14 週には網膜の変化は消失した。また、投与 95 週に全例について踏み直り反応及び瞳孔反射試験を実施し、視力が確認された。スピラマイシン 500 mg/kg/日をイヌに 8 週間投与した試験（3.3項）において眼底の色素脱失が認められているが、これらの例では本試験の所見とは対照的に視力障害が認められている。毎週あるいは隔週間隔の身体診察では以下の 2 所見がみられた。その他の一般状態（例えば、強膜充血、口腔粘膜乾燥、軽度皮膚刺激、扁桃腫脹など）は不規則に変動した。例外としては、（a）5000 及び 6000 ppm 群の例では、遠近調節の不全及び光感受性の不全が何回もみられた。また（b）約 65 週目の初期に、5000 及び 6000 ppm 群のほとんどの例の舌上に青味がかった斑点がみられた。

剖検では、5000 及び 6000 ppm で心臓に僧帽弁又は三尖弁の肥厚が観察された。

器官重量では絶対及び相対重量とも変化がみられたが、各群の数例の絶対重量の増加は偶発的変化と考えられた。5000 ppm 群の心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎及び膵臓の相対重量は対照群と比較して増加した。他に差もみられたが、用量相関性は明らかではなかった。

病理組織学的検査では、全ての薬物投与群の肝臓、脾臓、腎臓、前立腺、膵臓、リンパ節、胃、胆嚢、総胆管、副腎及び小腸の実質細胞及び組織球に空胞化が認められた。これらの変化は 6000 ppm で最も明らかであったが、4000 及び 5000 ppm での変化はより軽度となり、3000 ppm 群では軽微であった。さらに、心臓の小動脈壁の肥厚及びより大きな動脈の内側細胞の空胞化が 5000 及び 6000 ppm 群の数例にみられた。これらの変化は 3000 又は 4000 ppm 群のごく少数例にもみられた。5000 ppm 群の 1 例及び 6000 ppm 群の 4 例の眼網膜の空胞化及び萎縮性変化がみられた。6000 ppm 群の追加 2 例の眼では、肉眼的には著しい変化がみられ、その後に消失したが、病理組織学的検査結果は正常範囲内であった。

なお、Boyd 等は、これらイヌの眼底色素沈着の欠失は、組織学的には脈絡膜層中の色素顆粒数の減少によるものであると考察（3.3項）している。これらの試験では主成分のスピラマイシンを使用しているので、本試験において被験物質中に混合されているアジピン酸が眼に影響を及ぼしたものとは考えられない。

4000 ppm 以上の投与で脈絡膜タペタムの着色斑、肝臓、腎臓等の組織の変性所見がみられたため、本試験における無毒性量は 3000 ppm と考えられた。

3.6　イヌ 1 ヵ月間静脈内投与試験

[Module 4.2.3.2.6]

ビーグル（1 群雌雄各 3 例）にスピラマイシンアジピン酸塩の 0（対照）、0.12、0.18、0.27 MIU/kg を 6 時間間隔で 1 日 2 回、4 週間静脈内投与（各々0、0.24、0.36、0.54 MIU/kg/日に相当）した。被験物質は生理食塩液に溶解し 0.03 MIU/mL とし、投与速度は 2 mL/min とした。対照群には媒体を高用量群と同様に投与した。投与用量は、静脈内投与での臨床予定量（0.03 MIU/kg を 1 日 4 回）及び先に実施されたイヌの毒性試験の結果を参考に設定した。一般状態観察及び摂餌量測定は毎日、体重及び直腸温は各週測定、摂餌量は週毎に算出した。眼科学的検査及び心電図検査は投与開始前及び投与 4 週に全例について実施した。血液学的検査、血液生化学的検査は及び尿検査は投与前、投与 1 及び 2 週後、並びに 4 週目に全例について実施した。投与終了後、全例の剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査、骨髄検査（対照群及び高用量群のみ）を行った。なお、投与 0、14、28 日の投与後に各例の血液を採取し、スピラマイシンの血漿中濃度を測定した。

試験期間中に死亡は認められなかった。観察された主な症状は、ヒスタミン様症状（耳介の紅斑、水泡及び浮腫、顔面浮腫）、流涎などであり、その他、興奮（散発的）、嘔吐（非常にまれ）などが本薬全投与群にみられた。これらの発現頻度は 1 日の 1 回目投与と 2 回目の投与で同程度であり、用量に応じた明らかな差はみられなかった。耳介紅斑は本薬投与群の全例で定期的にみられ、耳介浮腫及び顔面浮腫の発現頻度はそれより低かったが、0.54 MIU/kg/日での頻度は高かった。流涎は 0.24 MIU/kg/日では散発的、0.36 MIU/kg/日以上では定期的に観察された。

体重、体重増加率、摂餌量及び直腸温は対照群と同等であり、心電図、眼科学的検査、血液学的検査、骨髄検査及び尿検査、剖検でも異常は認められなかった。

血液生化学的検査では、ALT が 0.36 MIU/kg/日群の雌 1 例で投与 2 週から軽度に増加し、ALT 及び AST が 0.54 MIU/kg/日群の雌では 1 週から、雄では 2 週から軽度に増加した。

器官重量では、脾臓の相対重量が 0.36 MIU/kg/日で軽度に増加（雌：+20%、雄：+19%）し、0.54 MIU/kg/日では絶対及び相対重量とも著しく増加し、雄の相対重量（+42%）よりも雌（+73%）の方が明らかであった。0.24 MIU/kg/日では変化はみられなかった。

病理組織学的検査では、脾臓のマルピギー小体の周辺領域に分散または局在したマクロファージ（おそらくは組織球細胞）の肥大がみられ、赤脾髄には細動脈周囲リンパ球細胞鞘細胞（Schweigger-Seidel 鞘）の肥大が 0.36 及び 0.54 MIU/kg/日群の各 4/6 例及び 5/6 例にみられた。また、0.54 MIU/kg/日群の全例では腎臓の傍糸球体装置細胞又は糸球体のメサンギウム細胞が軽度に肥大し、0.36 MIU/kg/日群の 5 例では傍糸球体装置細胞の軽度な肥大が認められた。

投与部位の静脈周辺の変化（線維性又はフィブリンによる小さな血栓又は変質域）は軽度であり、投与の頻度、回数及び期間を考慮すると本薬の静脈局所の忍容性は非常に良好であった。

本薬投与後のスピラマイシンの血漿中スピラマイシン濃度は用量依存的に増加し、反復投与により若干増加する傾向がみられたが、ばらつきが大きかった。明らかな性差は認められなかった。[Module 2.6.4.3.3 項]。

0.24 MIU/kg/日ではヒスタミン様症状が若干生じたが忍容性は良好であった。0.36 MIU/kg/日では、恐らく薬理作用とヒスタミン様症状に関連したものと考えられる所見が脾臓及び腎臓にみられた。0.54 MIU/kg/日では、脾臓の絶対及び相対重量増加及び傍糸球体細胞の肥大を伴う脾臓マクロファージの顕著な肥大に加え、トランスアミナーゼの僅かな増加がみられた。この用量では静脈における局所忍容性は非常に良好であったが、ヒスタミン様症状の頻度は明確に増加した。これらのことから、本試験における無毒性量は 0.24 MIU/kg/日と考えられた。

3.7　サル 5 日間静脈内投与試験

[Module 4.2.3.2.7]

カニクイザル（1 群雌雄各 1～2 例）にスピラマイシンアジピン酸塩の 0（対照）、0.12、0.18、0.27 MIU/kg を 5 時間間隔で 1 日 2 回、5 日間静脈内投与（各々0、0.24、0.36、0.54 MIU/kg/日に相当）した。被験物質は生理食塩液に溶解し 0.03 MIU/mL とし、投与速度は 2 mL/min とした。対照群には媒体を高用量群と同様に投与した。投与用量は、静脈内投与での臨床予定量（0.03 MIU/kg を 1 日 4 回）及びサルを用いて実施した予備試験の結果を参考に設定した。なお、本試験では 0.54 MIU/kg/日群の 1 例が死亡したため、同用量をサル（雌雄 2 例）に 5 日間静脈内投与し 2 回目の試験を実施した。一般状態観察及び摂餌量測定は毎日、体重は投与前、投与 0 及び 5 日に測定、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査は投与前、投与 5 日に全例について実施した。投与終了後、全例の剖検、器官重量、病理組織学的検査を行った。

初回の試験では、投与 4 日に 0.54 MIU/kg/日群の雄 1 例が、2 回目の投与中に流涎のみを呈し突然死した。病理学的検査では、肺及び腎臓にうっ血及び出血がみられたが、闘争による事故死の可能性もあり、スピラマイシン投与との関連は明らかでなかった。2 回目の試験では死亡は認められなかった。本薬投与群の全例で投与中に規則的に流涎がみられたが、ヒスタミン様反応はみられなかった。0.54 MIU/kg/日群の数例では、主に投与 1 日に筋緊張低下、嘔気発作、投与 2 日に短時間の呼吸困難がみられ、2 回目の試験では呼吸困難にともなう短時間の腹臥位が観察された。0.24 MIU/kg/日群の雄では嘔気発作もみられた。

体重に変化はみられなかった。摂餌量は、0.36 MIU/kg/日群の 2 例を除き各群の全例で対照群より減少したが、2 回目の試験では異常はなかった。

血液学的検査では、投与終了後に 0.54 MIU/kg/日で赤血球数、ヘマトクリット及びヘモグロビンの軽度な減少がみられた。血液生化学的検査及び尿検査では異常はみられなかった。

対照群を含む各投与群で肺のうっ血又は癒着、精巣の重量減少及び異常（精子形成停止）がみられた。

0.24 MIU/kg/日においても流涎や嘔気発作がみられたことから、本試験における無毒性量は 0.24 MIU/kg/日未満と考えられ、0.54 MIU/kg/日群では筋緊張低下及び嘔気発作も観察されたが、ヒスタミン様反応は認められなかった。これらのことから、本試験における無毒性量は 0.24 MIU/kg/日未満と考えられた。

4 遺伝毒性試験

In vitro 試験として細菌を用いる復帰変異試験、チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いる前進突然変異試験及び染色体異常試験、並びに *in vivo* 試験としてマウスの小核試験を実施し遺伝毒性を検討した。

4.1 *In vitro* 試験

4.1.1 細菌を用いる復帰変異試験

[Module 4.2.3.3.1.1]

ネズミチフス菌（TA1535、TA1537、TA98、TA100）を用いて、スピラマイシンの突然変異誘発性を検討した。試験はスポットテスト及びインコーポレートテストにより行った。スピラマイシンは滅菌蒸留水にて調製し各試験に用いた。スポットテストでは上記 4 種のネズミチフス菌を用いて、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、スピラマイシンの 100 µg/spot の用量で実施した。インコーポレートテストでも上記 4 種のネズミチフス菌を用い、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、いずれもスピラマイシンの 2、10、50、250 µg /plate の濃度で実施した。

スポットテストの結果では、代謝活性化系の存在下及び非存在下にかかわらず、いずれの菌株においてもスピラマイシンの復帰突然変異作用は認められなかった。スポット周囲にはスピラマイシンによる明らかな菌株の生育阻害がみられた。インコーポレートテストでは代謝活性化系の存在下及び非存在下にかかわらず、4 菌株の各濃度での復帰変異コロニー数は対照群との間に明らかな差はなかった。250 µg/plate ではネズミチフス菌の生育が一部阻害された。

ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験（スポットテスト及びインコーポレートテスト）において、スピラマイシンに突然変異誘発性は認められなかった。

4.1.2 チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いる前進突然変異試験

[Module 4.2.3.3.1.2]

CHO-K1 細胞（チャイニーズハムスター卵巣由来細胞）を用いて、スピラマイシンアジピン酸塩による HPRT（ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ）遺伝子座の前進突然変異を評価した。試験は 2 回実施した。

1 回目の試験では代謝活性化系の存在下及び非存在下で、スピラマイシンの 313、625、1250、2500、5000、10000、20000、40000 IU/mL の濃度で実施した。その結果、いずれの条件下でも、それぞれ

10000 IU/mL 及び 20000 IU/mL の濃度で明らかな細胞毒性作用を示したが、スピラマイシンによる突然変異細胞の出現頻度の増加はみられなかった。

また、2 回目の試験は、非代謝活性化の条件下ではスピラマイシンの 5000、7500、10000、15000、20000 IU/mL の濃度で、代謝活性化では 2500、5000、7500、10000、15000 IU/mL の濃度で実施した。その結果、1 回目の試験と同様に細胞毒性作用を示したが、2 回目の試験においても突然変異細胞の出現頻度の増加はみられなかったため、CHO-K1 細胞を用いたスピラマイシンの HPRT 遺伝子座への前進突然変異誘発作用はないと判断された。

4.1.3 チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いる染色体異常試験

[Module 4.2.3.3.1.3]

CHO-K1 細胞を用いてスピラマイシンアジピン酸塩の染色体異常試験を実施した。予備試験の結果では、代謝活性化系の非存在下で、スピラマイシンの 600 及び 9600 IU/mL で細胞生存率がそれぞれ 102 及び 40%を示し、約 70%の細胞生存率が得られる最大濃度は 5800 IU/mL と判定された。また、代謝活性化系の存在下では 600 IU/mL で細胞生存率は 68%を示したが、試験を実施した濃度では 100%の細胞生存率を求めることはできなかった。

このため本試験は、代謝活性化系の非存在下ではスピラマイシンの 600、3200、5800 IU/mL の濃度で、また代謝活性化系の存在下では 150、300、600 IU/mL の濃度で実施した。その結果、代謝活性化系の存在下及び非存在下にかかわらず、CHO-K1 細胞株を用いたスピラマイシンの染色体異常誘発作用は認められなかった。

4.2 *In vitro* 試験

4.2.1 マウス小核試験

[Module 4.2.3.3.2.1]

CD1 マウス（1 群雌雄各 5 例）にスピラマイシンアジピン酸塩の 0.21、0.42、0.63 MIU/kg を 1 又は 2 回（24 時間間隔）、静脈内投与した。被験物質は生理食塩液に溶解し、体重当たり 50 mL/kg の容量を 1 mL/min の速度で投与した。陰性対照群には媒体を同様に投与した。陽性対照群にはシクロフォスファミドの 80 mg/kg（25 mL/kg）を 1 又は 2 回（24 時間間隔）、腹腔内投与した。1 回投与では 24 時間後、2 回投与では最初の投与から 48 時間後に雌雄各 5 例を安楽殺して骨髄塗抹標本を作製し多染性赤血球を検査した。なお本試験の投与量は、OF1 マウスの静脈内単回投与試験で求められた LD_{50}（0.8 MIU/kg）の約 25、50、75%に相当する用量とした。

0.63 MIU/kg 群の静脈内投与後 24 時間において、小核を有する多染性赤芽球の統計学的に有意な増加が観察されたが、自施設の突然変異誘発能の判定基準（小核を有する多染性赤血球の割合が 3%未

満の場合は陰性）に従い、生物学的に有意でないと判定された。同群では骨髄細胞毒性が認められた。陽性対照のシクロフォスファミドでは染色体異常誘発作用及び骨髄細胞毒性が認められた。

マウスの小核試験において、スピラマイシンアジピン酸塩に染色体異常誘発性は認められなかった。

5　がん原性試験

5.1　マウスがん原性試験

スピラマイシンには遺伝毒性が認められていないこと、反復投与毒性試験において、不可逆性病変、前腫瘍性病変等のがん原性が懸念される所見がみられていないこと、また、ラットがん原性試験において腫瘍性病変の増加が認められていないこと、さらに本薬の臨床適用が妊婦への投与に限定されていることから、ラットに加えてマウスにおけるがん原性試験の成績は必要ないものと判断し、マウスがん原性試験は実施しなかった。

5.2　ラットがん原性試験

[Module 4.2.3.4.1.1]

OFA 系（Sprague-Dawley 由来）ラット（1 群雌雄各 50 例）に、飼料のみ（対照）又はスピラマイシンの 1500、3000、6000 ppm の混餌を 23 ヵ月間摂取させた。これらの用量はそれぞれスピラマイシンの 0（対照）、平均で約 92、200、400 mg/kg/日に相当する。一般状態の観察は、投与 6 ヵ月までは週 1 回、それ以降は週 3 回とし、体重は週 1 回測定した。平均摂餌量は、15 週までは週 1 回、それ以降は月 2 回ケージごとに測定した。血液学的検査、血清生化学的検査及び尿検査は投与 3、5、12、18、24 ヵ月後に対照群及び 400 mg/kg 群の各雌雄 10 例を用いて実施した。また、投与 6 ヵ月後には血清タンパク分画、投与終了時には骨髄検査も実施した。試験期間中の死亡及び途中安楽殺の全例について剖検を実施し、投与 24 ヵ月後には全生存動物を安楽殺し剖検及び器官重量の測定を行った。また剖検で腫瘍並びに腫瘍病変を示唆した器官、雌全例の生殖器官及び投与終了後の各群雌雄各 10 例について病理組織学的検査を実施した。

投与期間中の一般状態において各群とも異常はみられなかった。また、偶発的な死亡（400 mg/kg の雌 1 例）を除き投与 6 ヵ月間は薬物投与に起因する死亡はなかった。11 ヵ月後の累積死亡率は対照群、92、200、400 mg/kg/日群で各 12、16、0、5%であったが、23 ヵ月後（途中安楽殺例も含む）では各 64、56、68、77%となり、自然死亡率が上昇したため 23 ヵ月後に投与を中止した。試験期間中に死亡又は安楽殺した例の剖検において最も高い発現頻度を示した所見は、腎病変（肥大、表面顆粒状及び嚢腫）であり、対照群では雄で 24%及び雌で 2%、92 mg/kg 群では各 12 及び 4%、200 mg/kg 群では各 38 及び 6%、並びに 400 mg/kg 群では各 36 及び 30%に認められた。投与期間中、92 及び 200 mg/kg 群の平均体重は対照群とほぼ同様であったが、400 mg/kg 群では投与 98 週目に対照群に比べ雄で-14.3%、雌で-13.5%となり統計学的にも有意な減少を示した。血液学的検査、血清生化学的検査及び尿検査では一貫した変化や異常はみられなかった。また、血清タンパク分画及び骨髄検査でも異常はみられなかった。

投与終了後の器官重量では統計学的に有意な変化が散見されたが、用量依存性が認められず薬物投与によるものとは判断できなかった。剖検では主に OFA 系ラットに特有な加齢性変化（下垂体腫瘍、甲状腺腫、副腎腺腫、上皮小体肥大、腎臓変化、精巣発育不全、リンパ節過形成、乳腺腫瘍）がみられた。病理組織学的検査では、主に乳腺、下垂体、甲状腺及び副腎に良性又は悪性腫瘍が認められたが、対照群及び投与群との各腫瘍発生の比較では薬物投与との関連性は認められなかった。また、非腫瘍病変及び特に雌性生殖器の病変にも薬物投与の明らかな影響は認められなかった。

ラットの 2 年間がん原性試験において、スピラマイシンを最高 400 mg/kg/日まで投与しても投薬に関連したがん原性はみられなかった。

6　生殖発生毒性試験

6.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

スピラマイシンのラット、イヌ（死亡がみられた 8 週間経口投与試験を除く）、サルにおける反復投与毒性試験において雌性生殖器への影響はみられていない。また、後述6.2.2項「ラット胚・胎児発生に関する混餌投与試験」において、スピラマイシンアジピン酸を約 77 日投与した雌雄ラットを交配、分娩させ、出生時及び離乳時の観察並びに剖検を行った。その結果、親動物に体重低下を生じる用量において、いずれの生殖発生関連パラメータにも本薬に関連した異常は認められていない。

さらに、本申請におけるスピラマイシンの投与はトキソプラズマ感染症の妊婦に限定されていることから、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施しなかった。

6.2　胚・胎児発生に関する試験

マウス、ラット及びウサギを用いて経口（あるいは混餌）及び静脈内投与により胚及び胎児発生に関する試験を実施し検討した。

6.2.1　マウス胚・胎児発生に関する経口投与試験

[Module 4.2.3.5.2.1]

妊娠 CD-1 マウス（1 群 17～23 例）にスピラマイシンの 0（対照）、100、200、400 mg/kg/日を妊娠 5～15 日（交尾確認日：妊娠 1 日）に経口投与した。スピラマイシンは 10%アラビアゴム液に懸濁させ、投与容量が 25 mL/kg となるように調製した。対照群には蒸留水を同様に投与した。体重及び摂餌量を定期的に測定し、分娩時に出生児の観察を行い児数及び体重を記録した。出生児はその後、生後 30 日まで母動物と同居させ、一般状態観察及び体重測定をした後、外表、内臓及び骨格の各観察を行った。

各投与群とも死亡はみられなかった。400 mg/kg/日群では投与期間中の摂餌量の減少傾向及び妊娠率の低下傾向がみられたが、統計学的には有意ではなかった。なお、同群の平均体重は妊娠 15 及び 19 日に軽度であるが有意な減少を示した。他の 2 用量群は対照群と同様であった。

出生児数は対照群との間で有意な差はなく胚毒性は認められなかった。また、出生児体重は対照群と差がなく子宮内の胎児成長に影響はみられなかった。

出生後の発達にも影響は認められなかった。生後 1 ヵ月生存児数は対照群と同等で、哺育期間中の死亡率も低かった。また、出生児の体重増加量は対照群と同等で、特に生後 1 ヵ月の平均体重は対照

群とほぼ同等であった。催奇形性も認められなかった。400 mg/kg/日群の出生児の 1 例で精巣に片側性の萎縮が認められたが、新生児及び生後 1 ヵ月の出生児の形態観察では奇形は認められなかった。

400 mg/kg/日で母動物の体重増加抑制が認められたことから、母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量は 200 mg/kg/日、母動物の生殖に及ぼす影響及び次世代動物の発生に関する無毒性量は 400 mg/kg/日と考えられた。

6.2.2 ラット胚・胎児発生に関する混餌投与試験

[Module 4.2.3.5.2.2]

アルビノラット（1 群雌雄 20 例）にスピラマイシンアジピン酸塩の 0.7%を含む飼料を混餌投与（投与用量は約 500 mg/kg/日に相当）した。対照群には飼料のみを与えた。隔週毎に体重を測定し、雌雄とも約 100 日齢、混餌投与約 77 日に交配させた。交配期間は 10 日間とし、分娩時に、出生日、生存及び死亡出生児数並びに出生児の平均体重を記録し、出生児の身体検査及び母動物の一般状態観察を行った。離乳時には、離乳日、生存児数、同腹児当たりの重量及び出生児の身体検査の後、安楽殺し剖検した。2 回目の交配を、初回交配により得られた同腹児を安楽殺した後に行い、初回とは異なる雌雄ラットを交配させた。出産時及び離乳時に同様の観察及び検査を行った。

親動物の体重は対照群の 94%を示した。2 回目の交配を含め、いずれの検査においても薬物投与群と対照群の間に差はみられなかった。なお、2 回目の交配では、出生児の死亡率が対照群より上昇したが、恐らく偶発的であり、3 例の母動物に 3～5 例の死亡出生児がみられたためと考えられる。その他、出生児に異常は認められなかった。

スピラマイシンアジピン酸塩を約 77 日投与した雌雄ラットを交配、分娩させ、出生時及び離乳時の観察並びに剖検を行ったが、いずれの検査項目においても本薬投与群に異常は認められず、対照群とも差は認められなかった。また、催奇形性作用も認められなかった。

6.2.3 ラット胚・胎児発生に関する経口投与試験

[Module 4.2.3.5.2.3]

妊娠 CD ラット（1 群 17～19 例）にスピラマイシンの 0（対照）、100、200、400 mg/kg/日を妊娠 5～15 日（交尾確認日：妊娠 0 日）に経口投与した。スピラマイシンの投与容量が 5 mL/kg となるように 10%アラビアゴム液に懸濁させた。対照群には媒体のみを同様に投与した。母動物の体重を測定し、妊娠 20 日に安楽殺後、生殖器を観察し、着床数、吸収胚数、生存及び死亡胎児数を記録した。生存胎児の体重測定、外表観察、性比を求めた後に剖検し、各腹の生存胎児の 1/3 は眼、脳、胸腔及び腹腔内の諸臓器を観察した。最後に全ての生存児の骨格観察を行った。

各投与群とも死亡はみられなかった。200 mg/kg 以上の平均体重は妊娠 15 日に対照群より減少し、妊娠 20 日には 100 及び 200 mg/kg/日群でも軽度減少したが、400 mg/kg/日群での減少はごく軽度であった。なお、既に妊娠 0 日には 200 mg/kg 以上の平均体重は対照群に比べ減少がみられていた。投与群の妊娠率及び平均着床数は対照群とほぼ同等であった。100 m/kg/日群の吸収胚率は対照群より有意に高かったが、この種の正常範囲内（8%以下）であった。また、1 腹当たりの生存児数も対照群とほぼ同等で、胚毒性は認められなかった。

また、生存胎児の平均体重は対照群とほぼ同等で、骨化進行度も正常で子宮内の胎児成長に影響はみられなかった。催奇形性も認められなかった。投与群及び対照群とも明らかな奇形は認められず、骨格異常を有する胎児の発生率は対照とほぼ同等であった。

400 mg/kg/日投与によっても母動物及び胎児への影響は認められなかったことから、母動物の一般毒性学的影響及び生殖に及ぼす影響に関する無毒性量並びに次世代動物の発生に関する無毒性量はいずれも 400 mg/kg/日と考えられた。

6.2.4　ラット胚・胎児発生に関する静脈内投与用量設定試験

[Module 4.2.3.5.2.4]

妊娠 CD ラット（1 群 6 例）にスピラマイシン（濃度：0.06 MIU/mL）の 0（対照）、0.09、0.18、0.27 MIU/kg を妊娠 6～15 日（交尾確認日：妊娠 1 日）に 1 日 2 回、静脈内投与（各々0、0.18、0.36、0.54 MIU/kg/日に相当）した。対照群には媒体の生理食塩液を高用量群と同様に投与した。試験期間中、母動物の一般状態は毎日観察し、体重及び摂餌量は定期的に測定した。妊娠 21 日に母動物を安楽殺した後、子宮内を観察し、黄体数、着床数、吸収胚数（早期及び後期）、生存及び死亡胎児数、胎児体重及び性比、胎盤重量、胎盤及び胎児の外表観察を行った。各腹の約 2/3 の胎児の頸部、胸腔及び腹腔の内臓観察を実施した。

一般状態では、ほぼ全投与期間中に 0.54 MIU/kg/日群で投与後に流涎がみられ、最初の 2～3 日は投与直後に軽度の振戦を伴っていた。他には、一貫性のある所見はなく、死亡も認められなかった。本薬各群で体重増加量が軽度増加したが、これは対照群の体重が減少したためと考えられた。摂餌量に対照群との差はなく、母動物の剖検では薬物投与に関連した異常はみられなかった。妊娠 21 日の同腹児パラメータには対照群との差はなかった。剖検時の胎児観察では薬物投与に関連した一定の傾向はみられなかった。

以上の結果から、胚・胎児発生に関する本試験ではスピラマイシンの 0.54 MIU/kg/日あるいはそれ以上の用量を用いることが適切と考えられた。

6.2.5　ラット胚・胎児発生に関する静脈内投与試験

[Module 4.2.3.5.2.5]

妊娠 CD ラット（1 群各 20 例）にスピラマイシンの 0（対照）、0.09、0.18、0.27 MIU/kg を妊娠 6～15 日（交尾確認日：妊娠 1 日）に 1 日 2 回、静脈内投与（各々0、0.18、0.36、0.54 MIU/kg/日に相当）した。被験物質は生理食塩液に溶解し（0.06 MIU/mL）、投与速度は 1 mL/min とした。対照群には媒体を高用量群と同様に投与した。投与用量は、先に実施した用量設定試験の結果に基づいて設定した。試験期間中、母動物の一般状態観察は毎日観察し、体重及び摂餌量は定期的に測定した。妊娠 21 日に母動物を安楽殺した後、子宮内を観察し、黄体数、着床数、吸収胚数（早期及び後期）、生存及び死亡胎児数を記録した。胎児観察では、胎児体重及び性比、胎盤重量、胎盤及び胎児の外表観察を行った。各腹の約 2/3 の胎児の頸部、胸腔及び腹腔の内臓観察をした後、骨格観察を実施した。残り約 1/3 の胎児は内部器官を連続切片法にて観察した。

一般状態では、ほぼ全投与期間中に 0.54 MIU/kg/日群で投与直後に短時間（5 分間以内）の振戦及び運動失調がみられ、投与後に時折流涎がみられた。他には一貫性のある所見はなく、死亡も認められなかった。本薬投与群の体重増加量及び摂餌量に対照群との差はなく、母動物の剖検では薬物投与に関連した異常はなかった。妊娠 21 日の黄体数、着床数、生存胎児数、吸収胚数、着床前及び着床後死亡率には薬物投与の影響は認められなかった。0.36 MIU/kg/日群の胎児及び胎盤の重量が対照群に比し有意に減少したが、当該施設におけるこの種の背景データ内であり、薬物投与に関連した変化とは考えられなかった。胎児観察では、各投与群で骨格異常が少数例にみられたが、それらの多くは、所見及び発生頻度とも当該施設におけるこの種の背景データ内であり、薬物投与に関連した一定の傾向はみられなかった。

0.54 MIU/kg/日投与で母動物に振戦、運動失調、流涎が認められたことから、母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量は 0.36 MIU/kg/日、母動物の生殖に及ぼす影響及び次世代動物の発生に関する無毒性量は 0.54 MIU/kg/日と考えられた。

6.2.6　ウサギ胚・胎児発生に関する経口投与試験

[Module 4.2.3.5.2.6]

妊娠 Fauve de Bourgogne ウサギ（1 群 12～18 例）にスピラマイシンの 0（対照）、100、200、400 mg/kg/日を妊娠 6～16 日（交尾確認日：妊娠 0 日）に経口投与した。最高用量では被験物質の投与量が多いため、半量はカプセルで、残り半量は 10%アラビアゴム液に懸濁させて経口投与した。対照群は最高用量と同様な投与方法とした。母動物は妊娠 28 日に安楽殺し生殖器を観察した。生存児は重量測定、外表、内臓及び骨格の各観察を行った。

いずれの群にも死亡はみられなかった。摂餌量及び摂水量の減少が 200 mg/kg/日以上の数例に認められた。本薬投与群の体重は安楽殺日まで対照群に比し統計学的に有意な低値は示さなかったが、投与期間中（妊娠 6～16 日）、対照群は約 200 g 増加したのに対し、100 mg/kg/日では約 150 g、200 mg/kg/日では約 100 g の増加であり、400 mg/kg/日では増加が認められなかった。

妊娠 28 日（投与後 12 日）の剖検では、本薬投与群に盲腸の拡張がみられた。数例の盲腸重量を測定したところ、妊娠 25 日に流産した 400 mg/kg/日群の 1 例では約 370 g であったのに対し、対照群では約 120 g であった。Fauve de Bourgogne 妊娠ウサギで実施したスピラマイシンの連続 4 日間の反復投与による短期試験で妊娠 12 日に投与を中止し安楽殺（10 例/群）した結果、盲腸の平均重量は明らかに増加し用量相関がみられた。盲腸拡張はスピラマイシン投与により腸内細菌叢に変化が誘発されたためであり、妊娠期間中の 200 mg/kg/日以上の経口投与では忍容性が認められなかった。また、200 mg/kg/日以上で流産又は全吸収胚を示す例がみられ、これらの例は剖検予定日まで妊娠維持ができなかった。100 mg/kg/日群及び対照群では妊娠は継続した。これらの所見は他の抗生物質の知見とも一致する。実際、ほとんどの抗生物質、特にスピラマイシンのようなグラム陽性菌に対して活性を示すものは、ウサギの消化管に変化を誘発し結果的に流産や胚毒性が生じる。この動物種ではこれら抗生物質の催奇形性試験の実施は困難であることが良く知られている (2), (3), (4)。明らかな盲腸拡張は、離乳後まもない無菌ウサギにも生じ、交配や繁殖させることは非常に困難であることも報告されている (5)。

スピラマイシン投与群の平均着床痕数は、対照群に比して有意な減少はみられなかった。100 mg/kg/日群では胎児毒性はみられなかった。また、剖検予定日まで全例とも妊娠は継続し、吸収率の減少傾向及び平均生存胎児数の増加傾向がみられた。200 及び 400 mg/kg/日群では胎児毒性がみられた。流産あるいは全吸収胚のため、剖検予定日まで妊娠を継続できなかった割合は各々22 及び 33%であり、400 mg/kg/日群の 4 例では妊娠後期に流産（妊娠 22～28 日）が生じ、その割合は対照群より高かった。これらの 2 用量群では吸収胚率が対照群より有意に高かったが、同腹当たりの平均生存胎児数は対照群とほぼ同等であることから、この増加率は主に流産及び全吸収胚によるものと考えられた。

100 及び 200 mg/kg/日では子宮内の胎児の成長に影響はみられなかった。これらの投与群では、発育不全の胎児（20 g 未満）の発生率及び生存胎児の平均体重に対照群と差はみられなかった。胎児の骨化進行度は両群とも正常であった。400 mg/kg/日では子宮内の胎児成長への阻害作用がみられた。すなわち、発育不全の胎児の割合が対照群より有意に高く、生存胎児の平均体重が対照群より有意に低値であった。しかし、骨化が軽度遅延した未熟児を除けば胎児の骨化は正常であった。また、催奇形性はみられなかった。400 mg/kg/日群では軽微な右心室拡張が 1 例にみられたが、200 mg/kg/日以下では奇形を有する胎児の割合は対照群とほぼ同程度であった。

400 mg/kg/日投与によっても催奇形性は認められなかったが、200 mg/kg/日投与により母動物で流産や吸収胚数の増加が認められたことから、母動物の一般毒性学的影響及び生殖に及ぼす影響に関する無毒性量は 100 mg/kg/日、次世代動物の発生に関する無毒性量は 200 mg/kg/日と考えられた。

6.2.7　ウサギ胚・胎児発生に関する静脈内与用量設定試験

[Module 4.2.3.5.2.7]

妊娠ニュージーランド白色種ウサギ（1 群 4 例）にスピラマイシンアジピン酸塩の 0（対照）、0.09、0.18、0.27 MIU/kg を妊娠 6～19 日（交尾確認日：妊娠 0 日）に 1 日 2 回、静脈内投与（各々0、0.18、0.36、0.54 MIU/kg/日に相当）した。被験物質は生理食塩液に溶解し（0.06 MIU/mL）し、対照群には媒体を高用量群と同様に投与した。試験期間中、母動物の一般状態観察及び体重測定は毎日実施し、摂餌量は定期的に測定した。妊娠 29 日に母動物の安楽殺後に子宮内を観察し、黄体数、着床数、吸収胚数（早期及び後期）、生存及び死亡胎児数を測定した。胎盤重量、胎児の体重測定及び性別検査、胎盤及び胎児の外形観察を行った。生存胎児の頸部、胸腔及び腹腔内の内臓観察を実施した。

試験期間中、一般状態には変化はなく死亡もみられなかった。本薬全投与群で投与中及び投与直後に流涎、瞬目回数増加、不随意咀嚼、呼吸促迫及び眼分泌物が用量に相関して観察された。母動物の体重増加量及び摂餌量には薬物投与による明らかな傾向は認められなかった。

妊娠 29 日の母動物の剖検では本薬に関連した異常はみられなかった。着床数、生存胎児数、着床前及び着床後死亡率、胎児体重及び胎盤重量にも本薬による影響はみられなかった。妊娠 29 日の同腹児パラメータでは 0.54 MIU/kg/日群の平均胎児重量が軽度減少したが、主に 1 例の影響によるもので、薬物投与に関連したものではなかった。胎児観察では 0.54 MIU/kg/日群で小型の胎児の発生頻度の増加がみられたが、1 腹でのみにみられたもので薬物による影響とは考えられなかった。

以上の結果から、胚及び胎児発生に関する本試験ではスピラマイシンの 0.54 MIU/kg/日あるいはそれ以上の用量を用いることが適切と考えられた。

6.2.8　ウサギ胚・胎児発生に関する静脈内投与試験

[Module 4.2.3.5.2.8]

妊娠ニュージーランド白色種ウサギ（1 群 14～16 例）にスピラマイシンアジピン酸塩の 0（対照）、0.09、0.18、0.27 MIU/kg を妊娠 6～19 日（交尾確認日：妊娠 0 日）に 1 日 2 回、静脈内投与（各々0.18、0.36、0.54 MIU/kg/日に相当）した。被験物質は生理食塩液に溶解（0.06 MIU/mL）し、対照群には媒体を高用量群と同様に投与した。投与用量は、先に実施した用量設定試験の結果に基づいて設定した。試験期間中、母動物の一般状態観察及び体重測定は毎日実施し、摂餌量は定期的に測定した。妊娠 29 日に母動物の安楽殺後に子宮内を観察し、黄体数、着床数、吸収胚数（早期及び後期）、生存及び死

亡胎児数を測定した。胎盤重量、胎児の体重測定及び性別検査、胎盤及び胎児の外形観察を行った。生存胎児の頸部、胸腔及び腹腔内の内臓観察並びに骨格観察を実施した。

試験期間中、対照群の 4 例及び 0.54 MIU/kg/日群の 2 例が死亡又は瀕死状態のため切迫安楽殺されたが、剖検では薬物投与に関連する異常は認められなかった。薬物投与に関連する変化として、本薬全投与群で投与中及び投与直後に流涎、瞬目回数増加、呼吸促迫及び不随意咀嚼が観察された。母動物の体重増加量は対照群と同等ないし増加し、摂餌量には薬物投与による変化は認められなかった。

妊娠 29 日の母動物の剖検では本薬に関連性した異常はみられなかった。着床数、生存胎児数、着床前及び着床後死亡率、胎児体重及び胎盤重量にも本薬による影響はみられなかった。妊娠 29 日の胎児観察や骨格観察では少数例に所見がみられたが、その所見と発生頻度のほとんどは当該施設のこの種の背景データに認められるものであった。

0.18 MIU/kg/日投与により母動物で流涎、瞬目回数増加、呼吸促迫及び不随意咀嚼が認められたことから、母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量は 0.18 MIU/kg/日未満、母動物の生殖に及ぼす影響及び次世代動物の発生に関する無毒性量は 0.54 MIU/kg/日と考えられた。

6.3　出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験

マウス胚・胎児発生に関する経口投与試験[6.2.1項]では、器官形成期投与による胎児への影響のみでなく、分娩及び哺育期間中の出生児への影響についても検討し、スピラマイシンによる影響がないことを確認している。一方、本薬のヒトにおける投与は出産までが原則であることから、乳汁中への移行によるスピラマイシンの影響が生じる懸念は低いと考えられる。スピラマイシンの周産期投与による分娩や出生時への影響についての検討は実施していないが、臨床使用実績等の安全性情報に基づく限り、この点について大きな懸念があるとは考え難い。したがって、新たに出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験を実施して安全性の評価を行う必要はないものと考える。

7　局所刺激性試験

スピラマイシンの予定臨床適用経路は経口投与であることから、当該試験は実施していない。

8　その他の毒性試験

8.1　光安全性

[添付資料 3.2.S-8]

本薬は 231 nm 付近に弱い吸光係数の吸収極大を示したが、それ以外は 700 nm まで吸収は認められていない。従って、直接的光毒性を引き起こすほどの光反応性がないと考えられることから、非臨床光毒性試験は実施していない。

8.2　代謝物の安全性評価

ICH M3(R2)ガイドラインでは、「ヒトでみられた代謝物を非臨床試験で特徴づける必要があるのは、その代謝物の臨床での曝露量が、投与薬物に関連する総ての物質の曝露量の 10%を超え、かつ、ヒトにおける曝露量が毒性試験での最大曝露量よりも明らかに高い場合のみである。」とされている。現在までのところ、スピラマイシンの代謝物に関してはヒト及びラットで以下の情報が得られているため、代謝物の毒性試験は実施していない。

ヒトでは、スピラマイシンを経口投与後の尿中代謝物を薄層クロマトグラフィーで分析したとき、未変化体以外のスポットとしてミカロース残基が加水分解を受けて生成したネオスピラマイシンが検出されたが、スピラマイシンを静脈内投与後 24 時間までの血漿中濃度を測定したとき、HPLC 法によるスピラマイシン I 濃度と微生物学的分析法による値が良く一致したことから、この時間範囲で抗菌活性を有する代謝物はほとんど生じていないと考えられた[Module 2.7.2.2.2.2.3 項]。さらに、ヒトにスピラマイシンを経口投与したときネオスピラマイシンの血漿中濃度は未変化体と比較して極めて低かった（AUC_{last} でスピラマイ シンの約 1/14）ため[Module 2.7.2.2.3.1 項]、ヒトで代謝物のネオスピラマイシンが総曝露量の 10%を超える可能性は低いと考えられる。また、スピラマイシンの誘導体であるビテスピラマイシンをラットに経口投与し、その代謝経路を検討した試験において、スピラマイシンはミカロース基の加水分解によりネオスピラマイシンとなり、その他、アルデヒド基の還元又はシステイン抱合、ラクトン環の加水分解を受けることが示されている[Module 2.6.4.9.3 項]。このため、スピラマイシンのラット経口投与毒性試験ではヒトでみられた主代謝物のネオスピラマイシンを含み評価されていると考えられる。以上のように、主代謝物のネオスピラマイシンは、ヒトでは低濃度で検出され、毒性試験でも評価されている。また、市販薬のアセチルスピラマイシンの代謝物としても報告されている。

9　考察及び結論

海外では、各種感染症の治療にスピラマイシンの経口投与あるいは静脈内投与が適用されている。毒性試験については、経口投与あるいは静脈内投与による単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験、*in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験が、脂溶性スピラマイシンあるいはスピラマイシンアジピン酸塩を用いて実施された。なお、予定臨床経路である経口投与での毒性試験は GLP の導入前である 19[redacted] 年代から 19[redacted] 年代に実施されたものであり、また静脈内投与試験も一部を除き GLP 導入前に実施されたものである。

単回投与試験では、スピラマイシンの経口投与による概略の致死量はラットでは 8000 mg/kg、イヌでは 6000 mg/kg であった。ラットでは下痢及び体液減少を伴う急性胃腸炎等、またイヌでも胃に急性のうっ血等の消化管障害が認められた。静脈内投与ではマウス及びラットとも投与終了後 30 分間以内に死亡が発生し、マウスの概略の致死量は 185 mg/kg、ラットでは 255 mg/kg であった。イヌではヒスタミン様症状がみられ、概略の致死量は 2 MIU/kg/日であった。

反復投与試験では、ラット、イヌあるいはサルを用いて経口及び静脈内投与により評価した。経口投与試験においてトキシコキネティックス試験は実施されていないため、薬物動態試験でのラット及びイヌにスピラマイシンを単回経口投与した際の曝露量[Module 2.6.4.9.1 項]を基に、経口投与反復毒性試験における推定曝露量を求め、ヒトに対する曝露比を算出し表 2にまとめた。

ラットの 1 年間混餌投与試験では、720 mg/kg/日群の雌で体重増加量の減少、雌雄で諸器官の相対重量の増加が認められたが、重篤な慢性毒性の発現は認められず、無毒性量は 240 mg/kg/日と考えられた。240 mg/kg/日を投与したときの推定全身曝露量（$AUC_{0\text{-}6hr}$）は、日本人健康被験者に臨床推奨最大用量 9 MIU/日（1 回 3 MIU を 1 日 3 回）を経口投与した場合に換算したときのヒトの推定 1 日臨床曝露量（AUC）の 0.3 倍に相当すると推定された。

イヌの 28 週間経口投与試験では、240 mg/kg/日群で胃腸刺激及び体重減少、ヘモグロビン及びヘマトクリットの軽度の減少がみられた。120 mg/kg/日以上で ALT、AST 及び BUN の増加が認められ、胃の刺激性、肝臓及び腎臓の退行性変化が観察された。無毒性量は 60 mg/kg/日と考えられ、その推定全身曝露量である $AUC_{0\text{-}24hr}$ 及び C_{max} はヒトの 1 日臨床曝露量の 1.2 及び 4.4 倍に相当すると推定された。

イヌの 2 年間混餌投与試験では、4000 ppm 以上の網膜では脈絡膜タペタム（輝板）の種々の程度の欠損による着色斑が認められた。また、5000 ppm 以上では舌に青味がかった斑点が観察された。5000 ppm 以上では遠近調節の不全及び光感受性の不全が観察されたが、全例とも視力が確認された。

また、諸器官の相対重量が増加し、心臓の僧帽弁又は三尖弁の組織の肥厚が観察された。本薬の投与全群で諸組織の実質細胞及び組織球に空胞化がみられたが 3000 ppm 群では軽微であった。また、5000 ppm 以上では網膜の空胞化及び萎縮がみられたが休薬により回復した。無毒性量は 3000 ppm と判断され、その推定全身暴露量である $AUC_{0\text{-}24hr}$ は、ヒトの 1 日臨床曝露量の 2.9 倍に相当すると推定された。

表 2 - 反復経口投与毒性試験における推定曝露量とヒト曝露量との比較[a]

動物種／投与期間	用量（mg/kg/日）	無毒性量における推定曝露量[b]		ヒトの曝露量に対する曝露比[c]	
		AUC (ng•hr/mL)	C_{max} (ng/mL)	AUC 比	C_{max} 比
ラット／1 年間混餌[d]	無毒性量：240	17112	-	0.3	-
イヌ／28 週間[e]	無毒性量：60	61395	11550	1.2	4.4
イヌ／2 年間混[f]	最小毒性量：150	153488	-	2.9	-

a 2.6.4 薬物動態の表 14 を基に各毒性試験の曝露量を算出
b ラットの曝露量は $AUC_{0\text{-}6hr}$、イヌは $AUC_{0\text{-}24hr}$、ヒトは AUC
c 日本人女性被験者に臨床推奨最大用量として 3 MIU（スピラマイシン I の含有量として 645.3 mg に相当し、平均体重 52.94 kg で換算した場合 12.19 mg/kg に相当）を 1 日 3 回投与した 9 MIU の AUC（1 回投与の臨床曝露量；AUC を 3 倍して算出）は 52200 ng•hr/mL、C_{max} は 2640 ng/mL と推定された。
d Module 4.2.3.2.1 [3.1 項]
e Module 4.2.3.2.4 [3.4 項]
f Module 4.2.3.2.5 [3.5 項]

ラットの 28 日間静脈内投与試験では 0.36 MIU/kg/日以上で流涎及び振戦がみられたが試験の進行と共に回復傾向が認められた。0.54 MIU/kg/日群の雄では、軽度の摂餌量及び体重増加量の減少がみられたが、休薬により回復した。薬物投与群で好中球減少を伴う総白血球減少、尿素の減少は本薬の抗菌作用による健康状態の改善を反映したもの、電解質濃度のごく軽度の減少は腸内細菌叢に対する本薬の抗菌作用により生じたものと考えられた。脾臓にみられた泡沫状マクロファージは、本薬の高い移行性によるものと考えられた。0.54 MIU/kg/日群でみられた所見は軽度であり、多くの場合は休薬により回復がみられた。無毒性量は 0.36 MIU/kg/日と判断された。

イヌの 4 週間静脈内投与試験では、0.24 MIU/kg/日群での忍容性は良好でありヒスタミン様症状が若干生じるのみであった。0.36 MIU/kg/日群での忍容性も比較的良好であったが、脾臓及び腎臓に細胞レベルで形態的変化がみられ、本薬の薬理作用とヒスタミン様症状に関連したものであると考えられた。0.54 MIU/kg/日群では、脾臓の絶対及び相対重量増加及び傍糸球体細胞の肥大を伴う脾臓マクロファージの明らかな肥大に加えトランスアミナーゼの軽度な増加がみられた。この投与群では静脈の局所的忍容性は非常に良好であったが、ヒスタミン様反応の頻度は明らかに増加した。無毒性量は 0.24 MIU/kg/日と考えられた。

サルの 5 日間静脈内投与試験では、スピラマイシン投与中に流涎が規則的にみられ、筋緊張低下、呼吸困難及び嘔気発作も観察されたが、ヒスタミン様反応は認められなかった。投与 4 日に 0.54 MIU/kg/日群の雄 1 例が死亡したが、同用量を用いた 2 回目の試験で死亡は認めらなかった。薬物投与と死亡の関連性は不明で、事故（闘争）の可能性が示唆された。無毒性量は 0.24 MIU/kg/日未満と考えられた。

細菌を用いる復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いる前進突然変異試験及び染色体異常試験、並びにマウス小核試験が実施されたが、スピラマイシンに遺伝毒性は認められなかった。また、ラットの 2 年間混餌投与がん原性試験では、スピラマイシンを最高 400 mg/kg/日まで投与しても投薬に関連したがん原性はみられなかった。

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は、本申請におけるスピラマイシンの投与はトキソプラズマ感染症の妊婦に限定されていることから実施していない。なお、本薬のラット、イヌ（死亡がみられた 8 週間経口投与試験を除く）、サルにおける反復投与毒性試験において、雌性生殖器への影響はみられておらず、また、スピラマイシンアジピン酸を約 77 日投与した雌雄ラットを交配、分娩させ、出生時及び離乳時の観察並びに剖検を行ったラット胚・胎児発生に関する混餌投与試験において、いずれの生殖発生関連パラメータに本薬に関連した異常は認められていない。

胚・胎児に関する試験では、マウス、ラット又はウサギを用いて経口あるいは静脈内投与により評価した。マウスにスピラマイシンを妊娠 5～15 日に経口投与した試験では、400 mg/kg/日群では軽度な体重減少を示したが、胚毒性はなく、子宮内の胎児成長や出生後の発達にも影響は認められなかった。100 mg/kg/日以上で出生児の生存及び体重に変化はなく、催奇形性も認められなかった。母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量は 200 mg/kg/日、母動物の生殖に及ぼす影響及び次世代動物の発生に関する無毒性量は 400 mg/kg/日と考えられた。

妊娠ラットにスピラマイシンを妊娠 5～15 日に経口投与した試験では、高用量の 400 mg/kg/日群で母動物、胚毒性、催奇形性及び子宮内の胎児成長には影響は認められなかった。母動物の一般毒性学的影響及び生殖に及ぼす影響に関する無毒性量並びに次世代動物の発生に関する無毒性量はいずれも 400 mg/kg/日と考えられた。

妊娠ウサギにスピラマイシンを妊娠 6～16 日に経口投与した。200 mg/kg/日以上に摂餌量及び摂水量、さらに 400 mg/kg/日群では体重増加量の減少がみられ、剖検では盲腸の拡張及び重量増加がみられた。また、これらの投与群では流産又は全吸収胚が発生し胎児毒性がみられた。400 mg/kg/日群では発育不全の胎児の割合は高く、生存胎児の平均体重は減少したが、骨化が軽度遅延した発育不全胎児を除けば胎児の骨化は正常で催奇形性はみられなかった。母動物の一般毒性学的影響及び生殖に及

ぼす影響に関する無毒性量は 100 mg/kg/日、次世代動物の発生に関する無毒性量は 200 mg/kg/日と考えられた。

妊娠ラットにスピラマイシンを妊娠 6～15 日に静脈内投与した。0.54 MIU/kg/日群で振戦及び運動失調、流涎がみられたが死亡はなく、胎児の生存、成長及び形態発達に影響は認められなかった。母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量 0.36 MIU/kg/日、母動物の生殖に及ぼす影響及び次世代動物の発生に関する無毒性量は 0.54 MIU/kg/日と考えられた。

妊娠ウサギにスピラマイシンを妊娠 6～19 日に静脈内投与した。0.54 MIU/kg/日群の 2 例が死亡又は瀕死状態のため切迫安楽殺されたが、剖検では薬物投与に関連する異常は認められなかった。本薬投与の全群で流涎、瞬目回数及び呼吸数の増加及び不随意咀嚼が観察されたが、母体の妊娠の維持及びその成績、胎児の形態、発育及び生存に異常は認められなかった。母動物の一般毒性学的影響に関する無毒性量は 0.18 MIU/kg 未満、母動物の生殖に及ぼす影響及び次世代動物の発生に関する無毒性量は 0.54 MIU/kg/日と考えられた。

以上、スピラマイシンの毒性プロファイルを検討した。単回及び反復投与試験では、ラット及びイヌを用いた経口投与では、共通して主に消化管への影響がみられた。ラット反復投与試験の無毒性量における推定曝露量とヒト 1 日臨床曝露量を基に算出した安全域（ラット $AUC_{0\text{-}6hr}$/ヒト $AUC_{0\text{-}24hr}$）については、ラットでは 24 時間までの血漿中濃度が検出されず 6 時間までの曝露量算出であったため、無毒性量 240 mg/kg/日で 0.3 倍、軽度な体重抑制がみられる最小毒性量 720 mg/kg/日では 1.0 倍であったが、イヌでの無毒性量 60~150 mg/kg/日での安全域（イヌ $AUC_{0\text{-}24hr}$/ヒト $AUC_{0\text{-}24hr}$）は 1.2～2.9 倍を示し、C_{max} での比較では 4.4 倍を示した。また、イヌでは 400 mg/kg/日で網膜には脈絡膜タペタム欠損による異常がみられたが、ヒトには脈絡膜タペタムは存在しないため臨床的な意義はないと考えられた。静脈内投与では本薬の薬理作用及びヒスタミン様症状に関連した変化がイヌにみられたが、サルの静脈内投与及び各種動物の経口投与試験では同様な変化は認められなかったため、今回の申請適用経路の経口投与では臨床上問題となる毒性とは考えられなかった。

妊娠マウス及びラットの胚・胎児に関する試験では、経口投与（最高用量 400 mg/kg/日）及び静脈内投与（最高用量 0.54 MIU/kg/日）とも胚毒性及び催奇形性は認められなかった。妊娠ウサギでは 200 mg/kg/日[ヒト 1 日臨床推奨最大用量（9 MIU/日を 3000 mg/日に、また妊婦体重を 58.5 kg と仮定した場合、51.3 mg/kg/日）の約 4 倍に相当]を経口投与した際に胚毒性がみられたが、グラム陽性菌に対して活性を示す抗生物質では、ウサギの消化管に変化を誘発し結果的に流産や胚毒性が生じることが良く知られている。また、ウサギ静脈内投与（最高用量 0.54 MIU/kg/日）では認められなかったため、この胚毒性は動物種及び投与経路に特異的と考えられた。

なお、スピラマイシンの出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験は実施されていないが、マウス胚・胎児発生に関する経口投与試験では、胎児の器官形成期にスピラマイシンを投与後、自然分娩させた出生児の 1 ヵ月間観察では生後の発達（生存率、体重）に異常はみられていない。また､本薬の出生前及び出生後の発生への影響について､海外での製造販売後の有害事象に関する情報、文献報告等を確認した結果、母体、胎児又は出生児に対する本薬の安全性に問題があることを示唆する情報は認められなかった。しかし本薬には乳汁中への移行が知られているため、授乳期間中の使用については添付文書の使用上の注意（案）に適切に反映する予定である。また、妊婦への投与は出産までが原則であることから、乳汁中への移行によるスピラマイシンの影響が生じる懸念は低いと考えられた。

本薬の *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験並びにラットがん原性試験の結果から、ヒトでの発がんリスクは極めて低いと考えられた。スピラマイシンの光毒性については、本薬は 290～700 nm で光吸収を示さず、光毒性の懸念はないと考えられた。以上、これら経口及び静脈内投与による各種毒性試験の結果、並びに海外での豊富な臨床使用実績及び安全性情報が得られていることから、本薬は期待される臨床推奨用量において 妊婦患者に対して臨床適用が可能と考えられた。

10　図表

本文中に掲載した。

参 考 文 献

1. Boyd EM, Connell WF. Lipopenia associated with cholesterol estersturz in parenchymatous hepatic disease. Arch. Int. Med. 1938;61:755-61.
2. Brown DM, Harper KH, Palmer AK, Tesh SA. Effect of antibiotics upon pregnancy in the rabbit. Tox Appl Pharmac. 1968;12:295.
3. Gray JE, Lewis C. Enigma of antibiotic-induced diarrhea in the laboratory rabbits. Tox appl Pharmac. 1966;8:342.
4. Madissoo H, Johnston CD, Scott WJ, Holme I, Pindell MH. Toxicologic and teratologic studies on antibiotics in rabbits. Tox appl Pharmac. 1967;10:379.
5. Luckey TD. Germfree life and gnotobiology. New York and London: Academic Press; 1963; 280-82.

サノフィ株式会社

スピラマイシン錠 150 万単位「サノフィ」

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.6.7 毒性試験概要表

Total number of pages: 56

目　　次

略号と用語の定義 **4**

1　毒性試験一覧表 **5**

2　トキシコキネティクス試験の一覧表 **8**

3　トキシコキネティクス試験成績の一覧 **9**

4　毒性試験使用ロット **10**

5　単回投与毒性試験 **12**

6　反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験 **15**

7　反復投与毒性試験 **17**

8　*In Vitro* 遺伝毒性試験 **30**

9　*In Vivo* 遺伝毒性試験 **37**

10　がん原性試験 **39**

11　生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験 **42**

12　生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 **43**

13　生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験 **44**

14　生殖発生毒性試験－出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 **56**

15　新生児を用いた試験 **56**

16　局所刺激性試験 **56**

17　その他の毒性試験 **56**

表　目　次

表 2.6.7.1 - 毒性試験一覧表 5
表 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一覧 8
表 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 9
表 2.6.7.4 -毒性試験使用ロット 10
表 2.6.7.5 -単回投与毒性試験 12
表 2.6.7.6 -反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 15
表 2.6.7.7.1 - 反復投与毒性試験：ラット 1 年間経口投与毒性試験 17
表 2.6.7.7.2 -反復投与毒性試験：ラット 28 日間静脈内投与毒性試験 19
表 2.6.7.7.3 −反復投与毒性試験：イヌ 28 週間経口投与毒性試験 23
表 2.6.7.7.4 −反復投与毒性試験：イヌ 2 年間経口投与毒性試験 25
表 2.6.7.7.5 - 反復投与毒性試験：イヌ 1 ヵ月間静脈内投与毒性試験 28
表 2.6.7.8.1 - *In vitro* 遺伝毒性試験：ネズミチフス菌を用いる復帰突然変異試験 30
表 2.6.7.8.2 - *In vitro* 遺伝毒性試験：CHO 細胞を用いる前進突然変異試験 32
表 2.6.7.8.3 - *In vitro* 遺伝毒性試験：CHO 細胞を用いる卵細胞染色体異常試験 35
表 2.6.7.9 - *In vivo* 遺伝毒性試験：マウスを用いる小核試験 37
表 2.6.7.10.1 – ラット 2 年間経口投与がん原性試験 39
表 2.6.7.11 -生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 42
表 2.6.7.13.1 -生殖発生毒性試験：マウスの胚･胎児発生に関する試験 44
表 2.6.7.13.2 −生殖発生毒性試験：ラットの胚･胎児発生に関する試験（混餌投与） 46
表 2.6.7.13.3 −生殖発生毒性試験：ラットの胚･胎児発生に関する試験（経口投与） 48
表 2.6.7.13.4 −生殖発生毒性試験：ラットの胚･胎児発生に関する試験（静脈内投与） 50
表 2.6.7.13.5 −生殖発生毒性試験：ウサギの胚･胎児発生に関する試験（経口投与） 52
表 2.6.7.13.6 −生殖発生毒性試験：ウサギの胚･胎児発生に関する試験（静脈内投与） 54

略号と用語の定義

略号	定義
ALP	Alkaline phosphatase（アルカリホスファターゼ）
ALT (GPT)	Alanine aminotransferase (Glutamic pyruvic transaminase)（アラニンアミノトランスフェラーゼ [グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ]）
AST (GOT)	Aspartate aminotransferase (Glutamic oxaloacetic transaminase)（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ [グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ]）
b.i.d.	Bis in die（1 日 2 回）
BUN	Blood urea nitrogen（尿素窒素 [血中尿素窒素]）
CHO	Chinese hamster ovary（チャイニーズハムスターの卵巣）
GLP	Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準）
LD_{50}	Lethal dose 50%（50%致死量）
LDH	Lactate dehydrogenase（乳酸脱水素酵素）
NZW	New Zealand White（ニュージーランドホワイト種）
SD	Sprague-Dawley（ラット系統名）

1　毒性試験一覧表

表 2.6.7.1 – 毒性試験一覧表

被験物質：スピラマイシン

試験の種類	動物種／系統	投与方法 [a]	投与期間	投与量(mg/kg) [b, c]	GLP 適用	試験実施施設	報告書番号	資料番号
単回投与毒性	マウス／OF1	静脈内	単回	100～345	非適	RHONE-POULENC SANTE Vitry フランス	ST/C.R.V./Tox. No. 22 206	4.2.3.1.1
	ラット／不明	経口	単回	1000～10000	非適	不明	文献	4.2.3.1.2
	ラット／CD(SD)	静脈内	単回	135～475	非適	RHONE-POULENC SANTE Vitry フランス	ST/C.R.V./Tox. No. 22 192	4.2.3.1.3
	イヌ／雑種	経口	単回	1000～9000	非適	不明	文献	4.2.3.1.2
	イヌ／ビーグル	静脈内	単回	0, 1, 1.5, 2 MIU/kg（5 時間間隔で b.i.d.）	非適	RHONE-POULENC SANTE Vitry フランス	ST/C.R.V./Tox. No. 22 318	4.2.3.1.4
反復投与毒性	ラット／不明	経口（混餌）	52 週間	0, 80, 240, 720	非適	不明	不明	4.2.3.2.1
	ラット／CD	静脈内	32 日間（28 日間の予定を延長）	0.18, 0.36, 0.54 MIU/kg/日（6 時間間隔で b.i.d.）	適	[redacted] 英国	[redacted]RH0041/605	4.2.3.2.2
	イヌ／雑種	経口	8 週間	0, 500	非適	[redacted] カナダ	文献	4.2.3.2.3
	イヌ／ビーグル	経口	28 週間	0, 60, 120, 240	非適	不明	不明	4.2.3.2.4
	イヌ／ビーグル	経口（混餌）	104 週間	0, 3000, 4000, 5000, 6000 ppm	非適	[redacted] カナダ	不明	4.2.3.2.5

試験の種類	動物種／系統	投与方法 [a]	投与期間	投与量(mg/kg) [b, c]	GLP 適用	試験実施施設	報告書番号	資料番号
反復投与毒性（続き）	イヌ／ビーグル	静脈内	28～30 日間	0, 0.24, 0.36, 0.54 MIU/kg/日（6 時間間隔で b.i.d.）	非適	RHONE-POULENC SANTE Vitry フランス	ST/C.R.V./Tox. No. 22 319	4.2.3.2.6
	サル／カニクイ	静脈内	5 日間	0, 0.24, 0.36, 0.54 MIU/kg/日（5 時間間隔で b.i.d.）	非適	RHONE-POULENC SANTE Vitry フランス	ST/C.R.V./Tox. No. 22 322	4.2.3.2.7
遺伝毒性 復帰突然変異	ネズミチフス菌	*In vitro*	–	2～250 µg/plate	非適	不明	R.P./R.D./C.N.G report No. 19,190	4.2.3.3.1.1
前進突然変異	CHO 細胞	*In vitro*	–	313～40000 IU/mL	非適	RHONE-POULENC SANTE Vitry フランス	ST/C.R.V./Tox. No. 27	4.2.3.3.1.2
卵巣細胞 染色体異常	CHO 細胞	*In vitro*	–	－S9: 600～5800 IU/mL ＋S9: 150～600 IU/mL	非適	RHONE-POULENC SANTE Vitry フランス	ST/C.R.V./Tox. No. 59	4.2.3.3.1.3
In vivo 小核	マウス／CD1	静脈内	2 日間	0, 0.21, 0.42, 0.63	非適	RHONE-POULENC SANTE Vitry フランス	ST/C.R.V./Tox. No. 22 436	4.2.3.3.2.1
がん原性	ラット／OFA	経口（混餌）	24 カ月間	0, 1500, 3000, 6000 ppm	非適	[redacted] フランス	IC.DREB.R 750209	4.2.3.4.1.1
生殖発生毒性 胚･胎児発生	マウス／CD-1	経口	妊娠 5～15 日	0, 100, 200, 400	非適	不明	R.P. - D.S.Ph. report No. 15,109	4.2.3.5.2.1
	ラット／不明	経口（混餌）	77 日間	0.7%	非適	[redacted] 米国	不明	4.2.3.5.2.2
	ラット／CD	経口	妊娠 5～15 日	0, 100, 200, 400	非適	不明	R.P. - D.S.Ph. report No. 15,131	4.2.3.5.2.3
	ラット／CD	静脈内	妊娠 6～15 日	0, 0.18, 0.36, 0.54 MIU/kg/日（b.i.d.）	非適	[redacted] 英国	[redacted]RH0042/623	4.2.3.5.2.4
	ラット／CD	静脈内	妊娠 6～15 日	0, 0.18, 0.36, 0.54 MIU/kg/日（b.i.d.）	適	[redacted] 英国	[redacted]RH0043/075	4.2.3.5.2.5

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

試験の種類	動物種／系統	投与方法 [a]	投与期間	投与量(mg/kg) [b, c]	GLP 適用	試験実施施設	報告書番号	資料番号
生殖発生毒性 胚･胎児発生 （続き）	ウサギ／ Fauve de Bourgogne	経口	妊娠 6～16 日	0, 100, 200, 400	非適	不明	R.P. - D.S.Ph. report No. 15,684	4.2.3.5.2.6
	ウサギ／NZW	静脈内	妊娠 6～19 日	0, 0.18, 0.36, 0.54 MIU/kg/日（b.i.d.）	非適	[redacted]英国	[redacted]RHS005/447	4.2.3.5.2.7
	ウサギ／NZW	静脈内	妊娠 6～19 日	0, 0（追加）, 0.18, 0.36, 0.54 MIU/kg/日（b.i.d.）	適	[redacted]英国	[redacted]RHS006/747	4.2.3.5.2.8

a 経口投与は、特に断りのない場合は強制経口投与を示す。

b 特に断りのない限り、反復投与毒性試験については、無毒性量に下線を引いた。

c 特に記載がない場合は mg/kg 又は mg/kg/日を示す。

2　トキシコキネティクス試験の一覧表

表 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一覧

被験物質：スピラマイシン

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与量（MIU/kg/日）	GLP 適用	実施施設	報告書番号	資料番号
反復投与毒性							
1ヵ月間投与	イヌ／ビーグル	静脈内	0, 0.24, 0.36, 0.54	非適	RHONE-POULENC SANTE Vitry　フランス	ST/C.R.V./Tox. No. 22 319	4.2.3.2.6

3　トキシコキネティクス試験成績の一覧

表 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：スピラマイシン

C_{max} ほか

投与量(MIU/kg/日)	イヌ			ヒト
	C_{max}（IU/mL）			C_{max}（IU/mL）
	雄 [a]	雌 [a]	雄＋雌 [b]	女性
0.057 (12.19 mg/kg) [c]				12.3 (2640 ng/mL)
0.24	67.2	78.6	79.9	
0.36	81.1	72.6	104.9	
0.54	83.0	108.2	115.8	

a　イヌ 1 ヵ月間静脈内投与毒性試験（ST/C.R.V./Tox. No. 22 319）における投与 28 日の 2 回目投与後の成績

b　イヌ 1 ヵ月間静脈内投与毒性試験（ST/C.R.V./Tox. No. 22 319）における投与 28 日の投与 2 回分の平均値

c　用量：3 MIU (スピラマイシン I の含有量として 645.3 mg)/body、平均体重：52.94 kg より体重あたりの用量に換算した値

4　毒性試験使用ロット

表 2.6.7.4 -毒性試験使用ロット

被験物質：スピラマイシン

ロット番号	純度（%）	規格設定された不純物	報告書番号	試験の種類
規格値	[redacted]	[redacted]	該当せず	該当せず
[redacted]	[redacted]	[redacted]	不明	イヌ 104 週間混餌投与毒性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	不明	ラットの胚･胎児発生に関する混餌投与試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	ST/C.R.V./Tox. No. 22 206	マウス単回静脈内投与毒性試験
			ST/C.R.V./Tox. No. 22 192	ラット単回静脈内投与毒性試験
			[redacted]RH0041/605	ラット 28 日間静脈内投与毒性試験
			[redacted]RH0042/623	ラットの胚･胎児発生に関する静脈内投与試験
			[redacted]RH0043/075	ラットの胚･胎児発生に関する静脈内投与試験
			ST/C.R.V./Tox. No. 22 318	イヌ単回静脈内投与毒性試験
			ST/C.R.V./Tox. No. 22 319	イヌ 28 日間静脈内投与毒性試験
			ST/C.R.V./Tox. No. 22 322	サル 5 日間静脈内投与毒性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]RHS005/447	ウサギの胚･胎児発生に関する静脈内投与試験
			[redacted]RHS006/747	ウサギの胚･胎児発生に関する静脈内投与試験
			ST/C.R.V./Tox. No. 27	CHO 細胞を用いる前進突然変異試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	ST/C.R.V./Tox. No. 59	CHO 細胞を用いる卵細胞染色体異常試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	R.P./R.D./C.N.G report No. 19,190	ネズミチフス菌を用いる復帰突然変異試験

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

ロット番号	純度（%）	規格設定された不純物	報告書番号	試験の種類
[redacted]	[redacted]	[redacted]	IC.DREB.R 750209	ラット 2 年間経口投与がん原性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	ST/C.R.V./Tox. No. 22 436	マウス小核試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	不明	ラット及びイヌの単回経口投与毒性試験
			不明	ラット 52 週間混餌投与毒性試験
			不明	イヌ 8 週間経口投与毒性試験
			不明	イヌ 28 週間経口投与毒性試験
[redacted]	[redacted]	[redacted]	R.P. - D.S.Ph. report No. 15,109	マウスの胚･胎児発生に関する経口投与試験
			R.P. - D.S.Ph. report No. 15,131	ラットの胚･胎児発生に関する経口投与試験
			R.P. - D.S.Ph. report No. 15,684	ウサギの胚･胎児発生に関する経口投与試験

5　単回投与毒性試験

表 2.6.7.5 -単回投与毒性試験

被験物質：スピラマイシン

動物種／系統	投与方法（媒体／投与形態）	投与量 (mg/kg)	性別及び動物数／群	概略の致死量(mg/kg)	LD_{50} 値 (mg/kg)	特記すべき所見	報告書番号
マウス／OF1	静脈内 （生理食塩液／溶液）	0, 100, 135, 185, 255, 345	雄 5, 雌 5	185	220	一般状態： 100 mg/kg：運動性低下、攻撃的傾向 ≥135 mg/kg：運動性亢進、運動失調、振戦、呼吸困難、攻撃的傾向 ≥185 mg/kg：跳躍、流涎、死亡例発生 255 及び 345 mg/kg：流涙 体重：異常所見なし 剖検：異常所見なし	ST/C.R.V./Tox. No. 22 206

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

動物種／系統	投与方法（媒体／投与形態）	投与量 (mg/kg)	性別及び動物数／群	概略の致死量(mg/kg)	LD_{50} 値 (mg/kg)	特記すべき所見	報告書番号
ラット／不明	経口 （1%トラガカント水溶液／懸濁液）	0, 1000, 2000, 4000, 6000, 8000, 9000, 10000	雄 16 (0 mg/kg), 10 (1000 mg/kg), 8 (6000, 8000, 9000, 10000 mg/kg), 2 (2000, 4000 mg/kg)	雄：8000	雄：9400	一般状態： ≥2000 mg/kg：食欲不振、下痢、元気消失 ≥6000 mg/kg：体重、摂餌量及び摂水量の減少、固形便の排泄減少 ≥8000 mg/kg：結膜、耳介及び四肢の蒼白、衰弱、呼吸遅延、直腸温低下、心不全、死亡発生 剖検： 胃･腸管内の炎症・暗黄色液状物貯留を伴う拡張、胃内の未吸収被験物質、胃･盲腸･結腸のガス貯留、小腸･盲腸･結腸重量の減少 病理組織学的検査： 消化管における固有層の毛細管及び粘膜下織の血管拡張、小腸･盲腸･結腸の表層上皮の剥離，盲腸固有層の円形細胞浸潤、肝臓の肝細胞及び類洞の壊死、腎臓の曲尿細管の壊死	文献
ラット／CD(SD)	静脈内 （生理食塩液／溶液） 各用量とも 1 及び 0.2 mL/min の 2 種類の速度で投与	0, 135, 185, 255, 345, 475,	雄 5, 雌 5 で 2 通りの投与速度で実施	投与速度 1 mL/min: 255 投与速度 0.2 mL/min: 255	投与速度 1 mL/min: 330 投与速度 0.2 mL/min: 350	一般状態： ほぼすべての用量：運動失調、頭の上下運動、咀嚼、流涎、流涙、呼吸困難、運動性低下、振戦、急な跳躍、暗色尿 ≥255 mg/kg：死亡発生 体重： 異常所見なし 剖検： 生存例：異常所見なし 死亡例：肺と肝臓のうっ血性所見	ST/C.R.V./Tox. No. 22 192

動物種／系統	投与方法（媒体／投与形態）	投与量 (mg/kg)	性別及び動物数／群	概略の致死量(mg/kg)	LD_{50} 値 (mg/kg)	特記すべき所見	報告書番号
イヌ／雑種	経口 （1%トラガカント水溶液／懸濁液）	1000, 3000, 4000, 6000, 9000	雌 4 (1000 mg/kg), 3 (3000, 6000 mg/kg), 2 (4000, 9000 mg/kg),	雌: 6000	雌: 5200	一般状態： ラット（経口投与時）と同様、嘔吐（単独投与時） 死亡発生：≥6000 mg/kg（嘔吐防止のためのペントバルビタール併用時） >9000 mg/kg（単独投与時） 剖検： 胃の急性うっ血、ガス･液体･未吸収被験物質による拡張、小腸の拡張･黄色液体の貯留･重量増加、消化管組織の水分含量減少 病理組織学的検査： 胃の円柱上皮の剥離を伴う胃の固有層･粘膜下のうっ血、肝小葉中心性の空胞変性、腎尿細管の壊死	文献
イヌ／ビーグル	静脈内 （生理食塩液／溶液）	0, 1, 1.5, 2 MIU/kg （5 時間間隔で b.i.d.）	雄 2, 雌 2	2 MIU/kg	>2 MIU/kg	一般状態： ≥1 MIU/kg：ヒスタミン様症状（紅斑、耳の浮腫、顔面浮腫）、流涎、振戦、発声、側臥位 2 MIU/kg：死亡発生 体重、摂餌量、血液学的検査：異常所見なし 血液生化学的検査： ≥1 MIU/kg：AST、ALT、ALP 及び LDH の増加 剖検： 生存例：異常所見なし 死亡例：肺･肝臓･腎臓のうっ血性所見	ST/C.R.V./Tox. No. 22 318

6　反復投与毒性試験 - 重要な試験以外の試験

表 2.6.7.6 -反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：スピラマイシン

動物種／系統	投与方法 （媒体／投与形態）	投与期間	投与量 (mg/kg/日)	性別及び 動物数／群	無毒性量 (mg/kg/日)	特記すべき所見	報告書番号
イヌ／雑種	経口 （なし／カプセル充填）	8 週間	0, 500	雄 7, 雌 3	500 mg/kg/日 未満	500 mg/kg/日： 一般状態： 死亡発生、食欲不振、嘔吐、下痢、易刺激性、不機嫌、無気力、蒼白、視力障害、乾燥性鼻炎、死亡前の衰弱･部分的硬直･暗緑色便･脱糞 体重及び摂餌量の減少 臨床病理検査： 貧血、脂質低下、アルブミン尿、尿中胆汁色素 病理学的検査： 肝細胞･類洞･腎尿細管の壊死を伴う肝臓と腎臓の腫大･浮腫、脾臓と副腎の肥大･浮腫、精子形成抑制を伴う精巣の重量･水分量の減少、骨格筋･心筋･胸腺･甲状腺･膵臓･眼球脈絡膜の病変、眼球色素の消失、眼球脈絡膜顆粒層色素細胞の減少、肝臓類洞内皮細胞腫脹、脾臓腺房細胞チモーゲン顆粒消失、腎臓糸球体､ボーマン嚢及び近位尿細管上皮細胞腫脹、遠位尿細管壊死、副腎球状帯及び索状帯の過形成､精巣精母細胞巨細胞形成及び精原細胞消失	文献

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

動物種／系統	投与方法 （媒体／投与形態）	投与期間	投与量 (mg/kg/日)	性別及び 動物数／群	無毒性量 (mg/kg/日)	特記すべき所見	報告書番号
サル／カニクイ	静脈内 （生理食塩液／溶液）	5 日間	0, 0.24, 0.36, 0.54 MIU/kg/日 （5 時間間隔で b.i.d.） （0, 0.54 MIU/kg/日については実験を 2 回実施）	雄 2, 雌 2 （対照群：雄 1, 雌 1）	0.24 MIU/kg/日未満	0.24 MIU/kg/日以上: 一般状態： 流涎、嘔気発作 0.54 MIU/kg/日: 一般状態： 筋緊張低下、呼吸困難、死亡発生（事故死の可能性否定できず） 血液学的検査： 貧血 体重、摂餌量、血液生化学的検査、尿検査、剖検、器官重量、病理学組織的検査：異常所見なし	ST/C.R.V./Tox. No. 22 322

7　反復投与毒性試験

表 2.6.7.7.1 - 反復投与毒性試験：ラット 1 年間経口投与毒性試験

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：Chronic oral toxicity of I.C. 5902 for the rat		
動物種／系統：ラット／不明	投与期間：52 週間	報告書番号：不明
投与開始週齢：不明	回復期間：なし	資料番号：4.2.3.2.1
初回投与：不明	投与方法：経口	GLP 適用：非適用
特記事項：報告書には無毒性量の記載がないため新規に設定した。	媒体／投与形態：飼料／混餌	
無毒性量：240 mg/kg/日		

投与量（mg/kg/日）	**0（対照）**		**80**		**240**		**720**	
動物数	雄：20	雌：20	雄：20	雌：20	雄：20	雌：20	雄：20	雌：20
死亡又は安楽殺動物数	0	0	1 (投与 17 週)	0	1 (投与 44 週)	0	2 (投与 24、 49 週)	0
一般状態	―	―	―	―	―	―	―	―
体重（%[a]）：投与 52 週	655 g	392 g	-0.8	-4.8	+0.8	-0.8	+1.5	-11.5
摂餌量	―	―	―	―	―	―	―	―
血液学的検査	―	―	―	―	―	―	―	―

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

投与量（mg/kg/日）		0（対照）		80		240		720	
動物数		雄：20	雌：20	雄：20	雌：20	雄：20	雌：20	雄：20	雌：20
器官重量（%[a]）									
心臓	相対重量（体重比）	204 mg%	235 mg%	+1.0	+7.2	+2.5	-2.1	±0.0	+13.2
肝臓	相対重量（体重比）	2.94 g%	2.88 g%	-8.8	-1.7	-6.5	+3.5	+2.0	+9.0
腎臓	相対重量（体重比）	595 mg%	599 mg%	+2.9	+3.3	-2.9	+7.5	+6.7	+22.0
脾臓	相対重量（体重比）	130 mg%	139 mg%	+3.8	+6.5	+3.8	+7.9	-1.5	+10.8
前立腺／卵巣	相対重量（体重比）	45 mg%	13.6 mg%	+22.2	+19.3	+20.0	+50.8	+31.1	+28.2
副腎	相対重量（体重比）	6.72 mg%	17.2 mg%	+13.2	+4.1	+10.9	-0.6	+21.0	+10.5
甲状腺	相対重量（体重比）	3.52 mg%	4.64 mg%	+4.3	+5.6	+12.8	+4.7	-3.4	+20.5
剖検		ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー
病理組織学的検査									
肝臓：グリコーゲン枯渇	（グレード 2）	4/5	3/5	5/5	4/5	2/6	2/5	4/5	3/5
	（グレード 3）	0/5	0/5	0/5	0/5	1/6	2/5	0/5	2/5
肝臓：慢性炎症性変化		1/5	0/5	1/5	1/5	1/6	1/5	2/5	1/5

ー：特記すべき所見なし

a 対照群については群平均値、スピラマイシン投与群については対照群からの増減（%）を示した。

表 2.6.7.7.2 -反復投与毒性試験：ラット 28 日間静脈内投与毒性試験

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：Spiramycin: 28-day toxicity and 15-day reversibility study in intravenous administration to CD rats		
動物種／系統：ラット／CD	投与期間：32 日間（28 日間の予定を延長）	報告書番号：[redacted]RH0041/605
投与開始週齢：7～9 週齢	回復期間：15 日間	資料番号：4.2.3.2.2
初回投与：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日	投与方法：静脈内	GLP 適用：適用
特記事項：なし	媒体／投与形態：生理食塩液／溶液	
無毒性量：0.36 MIU/kg/日		

投与量（MIU/kg/日：6 時間間隔で b.i.d.）	**0（対照）**		**0.18**		**0.36**		**0.54**	
動物数（回復性試験用動物）	雄：10（5）	雌：10（5）	雄：10（5）	雌：10（5）	雄：10（5）	雌：10（5）	雄：10（5）	雌：10（5）
死亡数	0	1[a]	1[a]	0	0	0	0	0
一般状態								
流涎	−	−	+	−	+	+	+	+
振戦	−	−	−	−	+	+	+	+
体重（%[b]）：32 日間投与後	379 g	233 g	-5.3	+6.4	-4.0	+5.6	-7.9	+3.9
体重増加量（%[b]）：32 日間投与期間中	127 g	30 g	-14.2*	+30.0	-7.9	+26.7	-20.5**	+16.7
摂餌効率（%[b]）：投与 1～4 週	5.4	12.7	+3.7	-16.5	+1.9	-8.7	+13.0	-14.2
眼科学的検査	−	−	NE	NE	NE	NE	−	−
血液学的検査								
6 日間投与後								
ヘマトクリット（%）	41	46	43	46	44*	45	43	46
ヘモグロビン（g/dL）	14.3	15.6	14.6	15.8	15.1**	15.5	14.8	15.6
白血球数（$10^3/\mu L$）	14.2	11.7	12.1*	11.8	11.4**	10.9	12.9	10.3

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

投与量（MIU/kg/日：6 時間間隔で b.i.d.）	**0（対照）**		**0.18**		**0.36**		**0.54**	
動物数（回復性試験用動物）	雄：10（5）	雌：10（5）	雄：10（5）	雌：10（5）	雄：10（5）	雌：10（5）	雄：10（5）	雌：10（5）
好中球数（$10^3/\mu L$）	2.7	1.3	1.4**	1.1	1.1**	0.9	1.1**	0.7*
27 日間投与後								
ヘマトクリット（%）	46	46	47*	47	47*	47	48**	46
赤血球数（$10^6/\mu L$）	7.12	7.12	7.40 *	7.23	7.29	7.24	7.35 *	7.02
平均赤血球ヘモグロビン濃度（%）	34	33	33**	33	34	33*	33*	33
白血球数（$10^3/\mu L$）	13.8	8.9	9.8**	8.9	11.6	8.1	10.9*	8.0
好中球数（$10^3/\mu L$）	2.9	1.1	0.9***	0.7*	1.5**	0.7*	1.0**	0.6**
血液生化学的検査								
6 日間投与後								
ALT（IU/L）	21	30	25*	26*	26*	27	25	25**
AST（IU/L）	68	70	76**	69	76**	76	77**	69
尿素（mg/dL）	39	40	41	38	38	39	38	31***
クレアチニン（mg/dL）	0.7	0.7	0.7	0.6*	0.7	0.7	0.7	0.6*
グルコース（mg/dL）	158	154	156	140*	154	137*	149	142
総コレステロール（mg/dL）	64	74	67	66	64	64*	64	61**
総タンパク質（g/dL）	6.3	6.8	6.4	6.6	6.4	6.5*	6.2	6.6
α1 グロブリン（g/dL）	1.0	1.1	1.2**	1.1	1.2*	1.0	1.1	1.1
α2 グロブリン（g/dL）	0.3	0.4	0.4**	0.4	0.4***	0.5	0.3	0.4
ナトリウム（mEq/L）	143	145	143	143***	143	144	144***	144**
クロール（mEq/L）	98	102	97	100	96	99	96*	98*

投与量（MIU/kg/日：6 時間間隔で b.i.d.）		**0（対照）**		**0.18**		**0.36**		**0.54**	
動物数（回復性試験用動物）		雄：10（5）	雌：10（5）	雄：10（5）	雌：10（5）	雄：10（5）	雌：10（5）	雄：10（5）	雌：10（5）
27 日間投与後									
ALT（IU/L）		27	32	29	30	27	26*	25	25*
尿素（mg/dL）		40	41	41	39	37	38*	35**	36**
クレアチニン（mg/dL）		0.7	0.7	0.8	0.8	0.7	0.7	0.7*	0.7
グルコース（mg/dL）		156	139	147	154*	158	150	161	168***
アルブミン（g/dL）		3.4	3.3	3.3	3.9***	3.9**	3.3	3.2	3.6*
α1 グロブリン（g/dL）		1.1	1.1	1.2	0.9	0.9**	1.1	1.2	0.9
α2 グロブリン（g/dL）		0.5	0.4	0.5	0.4	0.4*	0.5	0.5	0.4
βグロブリン（g/dL）		1.6	1.7	1.5	1.2***	1.5	1.5	1.6	1.4*
γグロブリン（g/dL）		0.3	0.3	0.2	0.2	0.2*	0.3	0.2	0.3
A/G 比		1.0	1.0	1.0	1.4***	1.4***	1.0	0.9	1.2
ナトリウム（mEq/L）		146	145	146	146**	146	146**	146	144
クロール（mEq/L）		100	100	100	104***	98**	102*	99	98**
尿検査		–	–	–	–	–	–	–	–
器官重量（%[b]）：32 日間投与後									
脳	絶対重量	2.02 g	1.90 g	-5.0*	-1.1	-3.0	+1.1	-2.0	-3.7
	相対重量（体重比）	528 mg%	803 mg%	+1.5	-8.5**	+0.6	-5.4*	+7.2*	-5.7*
胸腺	絶対重量	0.52 g	0.34 g	-19.2	+0.0	-13.5	+14.7	-25.0*	+2.9
肝臓	相対重量（体重比）	3.93 g%	3.93 g%	+3.3	-1.8	+9.4	+2.5	13.0**	+2.8
下垂体	相対重量（体重比）	23 mg%	48 mg%	±0.0	-12.5	+21.7	+10.4	39.1**	+8.3
剖検		–	–	–	–	–	–	–	–

投与量（MIU/kg/日：6 時間間隔で b.i.d.）		**0（対照）**		**0.18**		**0.36**		**0.54**	
動物数（回復性試験用動物）		雄：10（5）	雌：10（5）	雄：10（5）	雌：10（5）	雄：10（5）	雌：10（5）	雄：10（5）	雌：10（5）
病理組織学的検査：32 日間投与後									
脾臓：泡沫状マクロファージ		0/10	0/9	0/9	1/10	3/10	7/10	10/10	10/10
回復性の評価：15 日間休薬後									
一般状態		ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー
体重		ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー
摂餌量		ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー
眼科学的検査		ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー
血液学的検査									
好中球数（$10^3/\mu L$）		2.6	1.3	1.1**	0.9	1.4*	0.4**	1.2**	1.2
リンパ球数（$10^3/\mu L$）		9.2	5.3	9.9	7.5*	9.0	5.9	9.1	7.2*
血液生化学的検査									
ALT（IU/L）		32	30	27	29	26	28	24*	31
尿素（mg/dL）		46	60	45	54*	45	53*	41	57
尿検査		ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー
器官重量（%[b]）									
副腎	絶対重量	66 mg	73 mg	-16.7	12.3	6.1	11.0	-6.1	28.8**
肝臓	絶対重量	15.4 g	10.3 g	11.7	1.9	7.8	6.8	18.8*	2.9
	相対重量（体重比）	3.68 g%	3.85 g%	12.5	-1.0	7.1	2.1	21.7**	-1.6
剖検		ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー
病理組織学的検査		ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー	ー

ー：特記すべき所見なし、＋：該当所見あり　*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001：対照群との有意差（体重，血液生化学的検査：Student's *t*-検定，器官重量：Dunnett の検定）

a　被験物質投与との関連性を示唆する所見なし

b　対照群については群平均値、スピラマイシン投与群については対照群からの増減（%）を示した。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）。

表 2.6.7.7.3 –反復投与毒性試験：イヌ 28 週間経口投与毒性試験

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：イヌ 28 週間経口投与毒性試験		
動物種／系統：イヌ／ビーグル	投与期間：28 週間	報告書番号：不明
投与開始月齢：不明	回復期間：なし	資料番号：4.2.3.2.4
初回投与年月日：不明	投与方法：経口（6 日／週）	GLP 適用：非適用
特記事項：報告書には無毒性量の記載がないため新規に設定した。	媒体／投与形態：なし／カプセル充填	
無毒性量：60 mg/kg/日		

投与量（mg/kg/日：午前と午後で b.i.d.）	**0（対照）**		**60**		**120**		**240**	
動物数	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
死亡動物数	0	0	0	0	0	0	0	1[a]
一般状態								
活動性低下	−		−		−		＋	
粘液便	−		−		−		＋	
嘔吐	−		−		−		＋	
体重	減少（雌 1 例）		−		−		減少（雄 2 例）	
血液学的検査								
ヘモグロビン・ヘマトクリット	−		−		−		減少	
白血球数	−		−		−		減少（雄 1 例）	
血液生化学的検査								
ALT (GPT)	−		−		増加（雄 1 例）		増加	
AST (GOT)	−		−		増加（雌 1 例）		増加	
BUN	−		−		軽度増加		軽度増加	
尿検査	−		−		−		−	

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

投与量（mg/kg/日：午前と午後で b.i.d.）	**0（対照）**		**60**		**120**		**240**	
動物数	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
器官重量								
脾臓　　相対重量（体重比）	−		−		増加		−	
剖検								
甲状腺：蒼白化	−		＋		＋		＋	
腎臓：蒼白化	−		＋		＋		＋	
膀胱／腎臓：砂状結石	−		＋		＋		＋	
病理組織学的検査								
胃: 粘膜下のうっ血／粘膜浮腫	−		−		＋		＋	
肝臓: クッパー細胞増加（膨化／色素沈着を伴う）、広範な色素沈着、不規則な肝細胞構造、色素含有マクロファージ	−		−		＋		＋	
腎臓：糸球体の線維化/萎縮/変性/硝子体化、集合管拡張（硝子様／アルブミン様物質を含有／非含有）、皮質-髄質の線維化（マクロファージ浸潤巣を伴う又は伴わない）、糸球体係蹄内皮細胞の腫脹／空胞化、基底膜肥厚を伴うボーマン嚢の拡張、ネフロン上部の線維化／拡張（硝子体含有／非含有）、皮質嚢胞、皮質マクロファージ浸潤、ネフロン上部の拡張及び皮質嚢胞	−		−		＋		＋	

－：特記すべき所見なし、＋：該当所見あり

a　乳腺膿瘍摘出後 6 週に死亡

表 2.6.7.7.4 −反復投与毒性試験：イヌ 2 年間経口投与毒性試験

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：Spiramycin - adipic acid safety evaluation by a two-year chronic feeding study in the dog		
動物種／系統：イヌ／ビーグル	投与期間：104 週間（一部 45 日間）	報告書番号：不明
投与開始月齢：不明	回復期間：14 週間（45 日間投与例）	資料番号：4.2.3.2.5
初回投与：不明	投与方法：経口	GLP 適用：非適用
特記事項：報告書には無毒性量の記載がないため新規に設定した。	媒体／投与形態：飼料／混餌	
無毒性量：3000 ppm		

投与量（ppm）	**0（対照）**		**3000**		**4000**		**5000**		**6000**	
動物数（回復性試験用動物）	雄：4（0）	雌：4（0）	雄：4（0）	雌：4（0）	雄：4（0）	雌：4（0）	雄：4（0）	雌：4（0）	雄：4（1[a]）	雌：4（1[a]）
死亡	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態										
舌上の青状斑点	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+
体重	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
血液学的検査	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
血液生化学的検査	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
尿検査	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
血圧・心拍数測定	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
心電図検査	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
眼科学的検査										
脈絡膜タペタムの着色斑	−	−	−	−	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4
遠近調節及び光感受性の不全	−	−	−	−	−	−	+	+	+	+

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

投与量（ppm）		0（対照）		3000		4000		5000		6000	
動物数（回復性試験用動物）		雄：4（0）	雌：4（0）	雄：4（0）	雌：4（0）	雄：4（0）	雌：4（0）	雄：4（0）	雌：4（0）	雄：4（1[a]）	雌：4（1[a]）
器官重量（%[b]）											
心臓	絶対重量	84.83 g	80.23 g	+7.7	-7.6	+7.9	-9.7	-6.2	-10.9	+1.7	-3.0
	相対重量（体重比）	857 mg%	748 mg%	-0.9	+12.7	+6.1	+6.4	+5.7	+17.5	+9.5	+26.7
肝臓	絶対重量	321.8 g	299.0 g	-4.8	+2.5	-10.7	+13.0	+16.3	+12.7	+26.1	+8.4
	相対重量（体重比）	3.27 g%	2.85 g%	-13.5	+23.2	-12.8	+34.7	+33.6	+45.6	+33.9	+37.5
腎臓	絶対重量	57.00 g	45.78 g	-3.9	-0.1	-11.3	-5.1	+1.0	-2.4	+16.8	+5.9
	相対重量（体重比）	575 mg%	429 mg%	-10.1	+21.9	-12.5	+12.1	+15.3	+28.4	+25.2	+38.0
脾臓	絶対重量	36.28 g	30.48 g	+39.0	+99.4	+117.6	+70.5	+165.0	+149.1	+90.2	+155.5
	相対重量（体重比）	373 mg%	286 mg%	+24.4	+144.8	+110.7	+108.7	+198.7	+224.1	+100.0	+237.1
副腎	絶対重量	1.133 g	1.438 g	+11.0	+5.4	+10.3	+17.9	+20.3	+28.3	+40.3	+42.1
	相対重量（体重比）	11 mg%	14 mg%	+9.1	+21.4	+18.2	+42.9	+45.5	+64.3	+54.5	+78.6
膵臓	絶対重量	21.00 g	25.54 g	+41.2	+25.3	+40.2	+4.2	+40.6	+0.2	+71.0	+17.0
	相対重量（体重比）	212 mg%	245 mg%	+32.1	+51.0	+38.2	+17.6	+60.8	+30.6	+84.0	+49.4
剖検											
心臓：僧帽弁又は三尖弁の肥厚		0/4	0/4	0/4	1/4	0/4	1/4	0/4	1/4	1/4	2/4
病理組織学的検査											
肝臓：肝細胞及びマクロファージの空胞化		0/4	0/4	1/4	0/4	4/4	0/4	4/4	3/4	4/4	4/4
脾臓：マクロファージの空胞化		0/4	0/4	1/4	2/4	2/4	0/4	1/4	1/4	4/4	4/4
腎臓：糸球体係蹄の空胞化		0/4	0/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4	3/4	3/4
前立腺：腺上皮の空胞化		0/4	NA	0/4	NA	0/4	NA	1/4	NA	4/4	NA
膵臓：腺房細胞の空胞化		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	1/4	1/4	1/4	0/4
リンパ節：マクロファージの空胞化		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	4/4	4/4

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

投与量（ppm）	0（対照）		3000		4000		5000		6000	
動物数（回復性試験用動物）	雄：4（0）	雌：4（0）	雄：4（0）	雌：4（0）	雄：4（0）	雌：4（0）	雄：4（0）	雌：4（0）	雄：4（1[a]）	雌：4（1[a]）
胃：粘膜細胞の空胞化	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4
胆嚢：筋層又は粘膜固有層の空胞化	0/4	0/4	1/4	1/4	1/4	1/4	0/4	0/4	4/4	4/4
胆管：筋層の空胞化	0/3	0/3	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4	3/4
副腎：顆粒層の空胞化	0/4	0/4	0/4	0/4	2/4	1/4	4/4	4/4	3/4	4/4
小腸：筋層の空胞化	1/4	0/4	3/4	3/4	4/4	3/4	4/4	3/4	2/4	4/4
心臓：大動脈中膜の空胞化	0/4	0/4	0/4	1/4	2/4	0/4	4/4	4/4	4/4	4/4
小動脈壁の肥厚	1/4	0/4	0/4	2/4	0/4	2/4	3/4	3/4	3/4	3/4
眼：網膜の萎縮及び／又は空胞化	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	1/4	1/4
回復性の評価：14 週間休薬後										
一般状態	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	ー	ー
体重	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	ー	ー
血液学的検査	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	ー	ー
血液生化学的検査	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	ー	ー
尿検査	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	ー	ー
血圧･心拍数測定	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	ー	ー
心電図検査	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	ー	ー
眼科学的検査	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	ー	ー
器官重量	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	ー	ー
剖検	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	ー	ー
病理組織学的検査	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	ー	ー

ー：特記すべき所見なし、＋：該当所見あり、NE: 検査せず

a 投与 70 週から雌雄各 1 匹を追加し、その 45 日後に薬物非含有の基礎資料に切り替え、14 週間の回復性試験に供した。

b 対照群については群平均値、スピラマイシン投与群については対照群からの増減（%）を示した。

表 2.6.7.7.5 – 反復投与毒性試験：イヌ 1 ヵ月間静脈内投与毒性試験

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：TOXICITE PAR ADMINISTRATION REITEREE (cien)		
動物種／系統：イヌ／ビーグル	投与期間：28～30 日間	報告書番号：ST/C.R.V./Tox. No. 22 319
投与開始月齢：6～8 カ月齢	回復期間：なし	資料番号：4.2.3.2.6
初回投与：19[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	投与方法：静脈内投与	GLP 適用：非適用
特記事項：報告書には無毒性量の記載がないため新規に設定した。	媒体／投与形態：生理食塩液／溶液	
無毒性量：0.24 MIU/kg/日		

投与量（MIU/kg/日：6 時間間隔で b.i.d.）	**0（対照）**		**0.24**		**0.36**		**0.54**	
動物数	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
血漿中スピラマイシン濃度（IU/mL）								
投与 0 日、1 回目投与終了後	NE	NE	45.5	29.4	76.8	88.6	93.2	79.4
2 回目投与終了後	NE	NE	45.5	16.7	61.7	45.2	82.2	90.4
投与 14 日、1 回目投与終了後	NE	NE	50.6	62.1	75.1	75.1	87.6	131.4
2 回目投与終了後	NE	NE	56.6	65.0	73.2	92.4	65.2	79.9
投与 28 日、1 回目投与終了後	NE	NE	68.4	105.3	88.7	177.2	125.2	146.7
2 回目投与終了後	NE	NE	67.2	78.6	81.1	72.6	83.0	108.2
死亡又は安楽殺動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態								
紅斑	–	–	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
浮腫	–	–	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
流涎	–	–	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
興奮	–	–	2/3	3/3	3/3	2/3	2/3	2/3
嘔吐	–	–	1/3	2/3	2/3	–	1/3	1/3

投与量（MIU/kg/日：6 時間間隔で b.i.d.）		0（対照）		0.24		0.36		0.54	
動物数		雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3
体重		—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—
直腸温		—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
心電図検査		—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
骨髄検査		—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
血液生化学的検査									
ALT		—	—	—	—	—	増加（1 例）	増加	増加
AST		—	—	—	—	—	—	増加	増加
尿検査		—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量（%[a]）									
脾臓	絶対重量	73 g	77 g	+11.0	-16.9	+17.8	+16.9	+46.6	+64.9
	相対重量（体重比）	0.63 g%	0.75 g%	+7.9	-17.3	+19.0	+20.0	+42.9	+73.3
剖検		—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査									
脾臓：マルピギー小体周辺領域マクロファージ及び Schweigger-Seidel 鞘の肥大		0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	2/3	3/3	2/3
腎臓：糸球体係蹄、メサンギウム細胞及び／又は傍糸球体装置の細胞肥大及び淡明化		0/3	0/3	0/3	0/3	2/3	3/3	3/3	3/3
投与部位の局所刺激性		—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、NE：検査せず

a 対照群については群平均値、スピラマイシン投与群については対照群からの増減（%）を示した。

8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

表 2.6.7.8.1 - *In vitro* 遺伝毒性試験：ネズミチフス菌を用いる復帰突然変異試験

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：Spiramycin (5,337 R.P.) - Mutagenicity study on Salmonella typhimurium		
試験の種類：細菌を用いる復帰突然変異	独立して実施した試験数：2	報告書番号：R.P./R.D./C.N.G report No. 19,190
菌株：ネズミチフス菌	プレート数：3（陽性対照は 1）	資料番号：4.2.3.3.1.1
代謝活性化系：Aroclor 誘導ラット肝 S9	分析細胞数／培養：-	GLP 適用：非適用
溶媒（被験物質）：滅菌蒸留水	溶媒（陽性対照）：滅菌蒸留水、ジメチルスルホキシド、エタノール、p-ジオキサン又はアセトン	処理年月日：不明（19[redacted]年）
処理：プレート法 48 時間		
細胞毒性： 100 µg/spot 250 µg/plate（TA1535 -S9 を除く）		
遺伝毒性：なし		

スポットテスト

代謝活性化	被験物質	添加量（µg/spot）	復帰突然変異原性			
			TA1535	TA1537	TA98	TA100
－S9	スピラマイシン	100	－*	－*	－*	－*
	陽性対照		＋＋	＋＋	＋	＋
＋S9	スピラマイシン	100	－*	－*	－*	－*
	陽性対照				＋＋	

－S9 での陽性対照: βプロピオラクトン 200 µg/spot（TA1535, TA100）、9-アミノアクリジン 10 µg/spot（TA1537）、2-アミノフルオレン 10 µg/spot（TA98）

＋S9 での陽性対照: 9-アミノアクリジン 10 µg/spot（TA98）

－：復帰突然変異原性陰性、＋：復帰突然変異原性陽性

*：スポット周囲の生育阻害あり

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン
インコーポレートテスト

代謝活性化	被験物質	添加量（μg/spot）	復帰変異コロニー数（変異率）			
			TA1535	TA1537	TA98	TA100
－S9	陰性対照	0	10.3	7.3	23.3	86
	スピラマイシン	2	8 (0.78)	8 (1.1)	20 (0.86)	73.3 (0.85)
		10	7.3 (0.71)	6.6 (0.9)	23.6 (1.01)	62.6 (0.73)
		50	7.6 (0.74)	3.6 (0.49)	20 (0.86)	*
		250	3 (0.29)	*	*	*
	陽性対照		224 (21.7)	480 (65.7)	316 (13.5)	1312 (15.2)
＋S9	陰性対照	0	11.6	8	33.6	101.6
	スピラマイシン	2	12.3 (1.06)	8 (1)	39.6 (1.18)	110.3 (1.09)
		10	7.6 (0.66)	8 (1)	32.6 (0.97)	95.6 (0.94)
		50	11 (0.95)	4.6 (0.58)	24.3 (0.72)	*
		250	*	*	*	*
	陽性対照				324 (9.6)	

－S9 での陽性対照: βプロピオラクトン 50 μg/plate（TA1535）、ヒカントン 50 μg/plate（TA1537）、ニリダゾール 0.05 μg/plate（TA98, TA100）
＋S9 での陽性対照: 臭化エチジウム 60 μg/plate（TA98）
変異率 =（被験物質処置による変異コロニー数）／（陰性対照での変異コロニー数）
* : 生育阻害あり

表 2.6.7.8.2 - *In vitro* 遺伝毒性試験：CHO 細胞を用いる前進突然変異試験

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：SPIRAMYCINE INJECTABLE (5337 R.P., ADIPATE) TEST DU CHO/BPRT		
試験の種類：哺乳類細胞における遺伝子突然変異	独立して実施した試験数：2	報告書番号：ST/C.R.V./Tox. No. 27
菌株：CHO-K1 細胞	プレート数：2（クローニング効果計数用）	資料番号：4.2.3.3.1.2
代謝活性化系：Aroclor 誘導ラット肝 S9	5（変異クローン計数用）	GLP 適用：非適用
溶媒（被験物質，陽性対照）：なし（培地に直接添加）	分析細胞数／培養プレート：-	処理年月日：19[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
処理：5 時間		
細胞毒性：>10000 IU/mL		
遺伝毒性：なし		

第 1 の試験

代謝活性化	被験物質	濃度（IU/mL）	細胞の相対生存率（%）	クローニング効率（%）	突然変異誘細胞の発生頻度（x10^6）
－S9	陰性対照	0	100	99	10
	スピラマイシン	313	110		
		625	95		
		1250	104	101	9
		2500	94	96	9
		5000	95	96	11
		10000	78	92	8
		20000	29	58	5
		40000	0		
	陽性対照: エチルメタンスルホネート	600 µg/mL	46	43	245

代謝活性化	被験物質	濃度（IU/mL）	細胞の相対生存率（%）	クローニング効率（%）	突然変異誘細胞の発生頻度（x10^6）
＋S9	陰性対照	0	**100**	88	13
	スピラマイシン	313	**101**		
		625	**102**	87	12
		1250	**95**	85	11
		2500	**75**	89	7
		5000	**31**	86	8
		10000	**20**	54	9
		20000	**14**		
		40000			
	陽性対照: ベンゾ[a]ピレン	5 µg/mL	**102**	85	61

第 2 の試験

代謝活性化	被験物質	濃度（IU/mL）	細胞の相対生存率（%）	クローニング効率（%）	突然変異誘細胞の発生頻度（x10^6）
－S9	陰性対照:	0	100	99	10
	スピラマイシン	5000	94	94	7
		7500	90	99	9
		10000	87	97	9
		15000	75	85	9
		20000	48	81	7
	陽性対照: エチルメタンスルホネート	600 µg/mL	37	42	290
＋S9	陰性対照	0	100	88	13
	スピラマイシン	2500	98	84	12
		5000	94	100	13
		7500	57	101	8
		10000	23	98	4
		15000	12		
	陽性対照: ベンゾ[a]ピレン	5 µg/mL	104	92	62

表 2.6.7.8.3 – *In vitro* 遺伝毒性試験：CHO 細胞を用いる卵細胞染色体異常試験

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：5 337 R.P., adipate - Spiramycine injectable - Test d'aberrations chromosomiques sur cellules ovariennes de hamster de Chine (CHO)		
試験の種類：哺乳類細胞における染色体異常	独立して実施した試験数：1（－S9，＋S9，各 1 試験）	報告書番号：ST/C.R.V./Tox. No. 59
細胞：CHO-K1 細胞	プレート数：2	資料番号：4.2.3.3.1.3
代謝活性化系：Aroclor 誘導ラット肝 S9	分析細胞数／培養プレート：25	GLP 適用：非適用
溶媒：細胞培養液		処理開始年月日：19[redacted] 年 [redacted] 月
処理：18 時間又は 42 時間		
細胞毒性：> 9600 IU/mL（－S9），> 600 IU/mL（＋S9）		
遺伝毒性：なし		

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

代謝活性化	処理時間	被験物質	濃度（IU/mL）	細胞１個あたりの異常数	異常を示す細胞の割合(%)	複数の異常を示す細胞の割合(%)
－S9	18 時間	陰性対照	0	0.12	10	2
		スピラマイシン	600	> 0.12	12	1
			3200	> 0.09	9	1
			5800	> 0.18	15	2
		陽性対照		> 0.67	45**	18
	42 時間	陰性対照	0	0.06	6	0
		スピラマイシン	600	0.16	16	0
			3200	0.10	10	0
			5800	0.17	15	2
		陽性対照		> 1.01	68**	31
＋S9	18 時間	陰性対照	0	0.18	13	3
		スピラマイシン	150	0.25	21	4
			300	> 0.29	24	4
			600	0.30	21	6
		陽性対照		> 1.50	91**	83
	42 時間	陰性対照	0	> 0.16	12	3
		スピラマイシン	150	> 0.13	12	2
			300	> 0.16	13	3
			600	> 0.22	21	4
		陽性対照		> 1.36	81**	71

－S9 での陽性対照: メタンスルホン酸メチル 40 µg/mL
＋S9 での陽性対照: シクロホスファミド 100 µg/mL
**p<0.01：陰性対照群との有意差（Kastenbaum と Bowman の検定法）

9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

表 2.6.7.9 - *In vivo* 遺伝毒性試験：マウスを用いる小核試験

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：SPECIA 617 (5 337 R.P., adipate) - Test du micronoyau chez la souris par voie intraveineuse		
試験の種類：骨髄細胞における小核誘発能 動物種／系統：マウス／CD1 投与開始週齢：約 8 週齢 投与開始日：19[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日 溶媒／投与形態：生理食塩液／溶液 毒性／細胞毒性：なし（0.63 MIU での静脈内投与後 24 時間に統計学的に有意な細胞毒性が認められたが、生物学的には意義がないと判定した） 遺伝毒性：なし 曝露証明：なし	投与期間：1 又は 2 日間 投与方法：静脈内（シクロホスファミドは腹腔内） 評価した細胞：多染性赤血球 分析細胞数／動物：1000 以上	報告書番号：ST/C.R.V./Tox. No. 22 436 EVF/BJ 資料番号：4.2.3.3.2.1 GLP 適用：非適用

被験物質	投与量（MIU/kg）	最初の投与から標本採取までの時間	動物数（雄／雌）	小核を有する多染性赤血球数 [a]	細胞毒性 [b]
溶媒	0（対照）	24 時間	5/5	4 (0.4[c])	1.29
		48 時間	5/5	9 (0.9)	1.09
スピラマイシン	0.21	24 時間	5/5	6 (0.6)	1.47
		48 時間	5/5	12 (1.2)	1.79
	0.42	24 時間	5/5	12 (1.2)	1.38
		48 時間	5/5	9 (0.9)	1.42
	0.63	24 時間	5/5	18** (1.8)	0.97*
		48 時間	5/5	12 (1.2)	1.14
陽性対照（シクロホスファミド）	80 mg/kg	24 時間	5/5	374** (37.4)	0.79**
		48 時間	5/5	601** (60.1)	0.28***

*p<0.05、**p<0.01、***p<0.001：陰性対照群との有意差（小核を有する多染性赤血球数：Kastenbaum と Bowman の検定法，細胞毒性：分散分析及びその後の投与群の対照群との比較）

a 10000 細胞あたりの出現数

b マウス 1 匹当たり正染性赤血球 200 個の計数及びそれに対応する多染性赤血球数

c 平均値

10　がん原性試験

表 2.6.7.10.1 - ラット 2 年間経口投与がん原性試験

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：ESSAI CANCEROGENE DE 24 MOIS PAR VOIE ORALE, CHEZ LE RAT DU PRODUIT RP 5337 (SPI RAMYCINE)

動物種／系統：ラット／OFA
投与開始日齢：不明
初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日
特記事項：なし
がん原性／腫瘍原性：なし

投与期間：24 ヵ月間（23 ヵ月間で試験を中止）
回復期間：なし
投与方法：経口
媒体／投与形態：飼料／混餌

報告書番号：IC.DREB.R 750209
資料番号：4.2.3.4.1.1
GLP 適用：非適用

投与量（ppm）	**0（対照）**		**1500**		**3000**		**6000**	
（mg/kg/日）	0（対照）		92		200		400	
動物数	雄：50	雌：50	雄：50	雌：50	雄：50	雌：50	雄：50	雌：50
死亡又は安楽殺動物数	34	31 *a*	37 *a*	30	35	33	41	37 *a*
生存率（%）	32	38	26	40	30	34	18	26
一般状態	–	–	–	–	–	–	–	–
体重	–	–	–	–	–	–	–	–
摂餌量	–	–	–	–	–	–	–	–
血液学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–
血液生化学的検査	–	–	–	–	–	–	–	–
尿検査	–	–	–	–	–	–	–	–

投与量（ppm）		0（対照）		1500		3000		6000	
（mg/kg/日）		0（対照）		92		200		400	
動物数		雄：50	雌：50	雄：50	雌：50	雄：50	雌：50	雄：50	雌：50
器官重量		―	―	―	―	―	―	―	―
病理組織学的検査									
腫瘍性病変	検査動物数	30	32	19	26	31	27	21	23
乳腺	線維腺腫，腺腫	2	18	0	17	0	11	0	11
	腺癌，癌腫	0	2	0	0	0	0	0	1
腸管	膠様癌	0	0	1	0	0	0	0	0
肺	癌腫	0	0	0	0	1	0	0	1
皮膚	上皮腫	0	1	0	0	0	1	0	1
唾液腺	腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0
	癌腫	1	0	0	0	0	1	0	0
膵臓内分泌	腺腫	0	0	0	0	0	1	0	2
精巣	腺腫	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
脾臓	リンパ性細網内皮症	0	1	0	0	0	0	0	0
リンパ節	リンパ腫	1	0	0	0	0	0	0	0
甲状腺	腺癌	5	3	4	2	4	4	3	3
	癌腫	0	2	0	0	0	0	0	0
副甲状腺	腺癌	3	0	3	0	0	0	3	0
副腎皮質	腺癌	10	1	1	0	5	1	6	2
	癌腫	0	1	4	0	0	0	1	0
下垂体	腺腫	5	2	1	2	8	1	6	1
	癌腫	2	0	0	1	1	0	0	0
前立腺	腺腫	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA

投与量（ppm）		0（対照）		1500		3000		6000	
（mg/kg/日）		0（対照）		92		200		400	
動物数		雄：50	雌：50	雄：50	雌：50	雄：50	雌：50	雄：50	雌：50
卵巣	卵胞膜細胞腫	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
	セルトリ細胞腺腫	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
	卵巣癌	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
子宮	子宮癌	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
線維腫		0	0	0	0	1	1	0	0
線維肉腫		0	0	0	0	0	0	1	0
組織球肉腫		1	0	0	0	1	0	0	0
悪性間葉腫		1	0	0	0	1	0	0	0
癌肉腫		0	1	0	1	0	0	0	0
良性脂肪腫		0	1	0	0	0	0	0	0
総腫瘍数		31	33	16	23	22	24	21	22
総悪性腫瘍数		5	4	1	1	4	0	2	3
1 つ又は複数の腫瘍を有する動物数		23	27	12	19	19	21	17	16
非腫瘍性病変		0	34	0	29	0	34	0	35
卵巣	検査動物数	NA	34	NA	29	NA	34	NA	35
通常の炎症性変化又はジストロフィー変化		NA	0	NA	1	NA	1	NA	1
子宮	検査動物数	NA	34	NA	29	NA	34	NA	35
通常の炎症性変化又はジストロフィー変化		NA	2	NA	3	NA	8	NA	12

ー：特記すべき所見なし、NA：該当なし

a 偶発死亡例（評価対象から削除）1 例を含む

11　生殖発生毒性試験 - 重要な試験以外の試験

表 2.6.7.11 -生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：スピラマイシン

動物種／系統	投与方法 （溶媒/投与形態）	投与期間	投与量	動物数／群	特記すべき所見	報告書番号
ラット／CD	静脈内 （生理食塩液／溶液）	妊娠 6～15 日	0.18, 0.36, 0.54 MIU/kg/日 （b.i.d.）	妊娠雌 6	0.54 MIU/kg/日：流涎、振戦 0.54 MIU/kg/日においても体重、摂餌量、帝王切開成績、胎児検査には異常なし	[redacted]RH0042/623
ウサギ／New Zealand White	静脈内 （生理食塩液／溶液）	妊娠 6～19 日	0.18, 0.36, 0.54 MIU/kg/日 （b.i.d.）	妊娠雌 4	≥0.18 MIU/kg/日：流涎、瞬目回数増加、呼吸促迫、不随意咀嚼、眼分泌物 0.54 MIU/kg/日においても体重、摂餌量、帝王切開成績、胎児検査には異常なし	[redacted]RHS005/447

12　生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

該当する成績なし

13　生殖発生毒性試験－胚･胎児発生に関する試験

表 2.6.7.13.1 -生殖発生毒性試験：マウスの胚･胎児発生に関する試験

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：Spiramycin (5,337 R.P.) - Teratogenicity study in mice		
動物種／系統：マウス／CD-1（雌）	投与期間：妊娠 5～15 日	報告書番号：R.P.‐D.S.Ph. report No. 15,109
試験開始時週齢：不明（体重：24～31 g）	投与方法：経口	資料番号：4.2.3.5.2.1
投与開始日：不明	媒体／投与形態：10%アラビアゴム溶液／懸濁液	GLP 適用：非適用
特記事項：報告書には無毒性量の記載がないため新規に設定した。		
無毒性量：		
F0 一般毒性；200 mg/kg/日		
F0 生殖能；400 mg/kg/日		
次世代動物；400 mg/kg/日		

投与量（mg/kg/日）	**0（対照）**	**100**	**200**	**400**
F0 母動物の成績				
交尾動物数	29	22	27	32
妊娠動物数	23 (79%)	17 (77%)	17 (63%)	19 (59%)
死亡又は安楽殺動物数	0	0	0	0
生児分娩母動物数	23	17	17	19
一般状態	―	―	―	―
体重（%[a]）：妊娠 15 日	39.6 g	-1.3	-1.3	-5. 1*
妊娠 19 日	53.5 g	-5.6	-2.1	-6.9*

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

投与量（mg/kg/日）	0（対照）	100	200	400
摂餌量	ー	NE	NE	ー
F1 出生児の成績				
出生時の生存児数	11.4	10.0	11.4	10.9
生後 30 日以内の死亡児：喰殺あり	12 (4.5%)	4 (2.3%)	8 (4.1%)	8 (3.8%)
喰殺なし	76 (29.0%)	27 (15.7%)	36 (18.5%)	46 (22.2%)
生後 30 日まで出生時が生存した腹数	20	16	16	16
生後 30 日の生存児数	8.7	8.7	9.4	9.6
生後 30 日の性比（雄／雌）	86/88	82/59	81/69	81/72
奇形児	0	0	0	1 (0.6%)
出生児体重（g）：出生時	1.6	1.5	1.6	1.6
生後 30 日	16.3	15.6	14.4	16.3

ー：特記すべき所見なし、NE：検査せず

*p<0.05、**p<0.01：対照群との有意差（体重：Student's *t* 検定、吸収胚数：χ^2 検定）

a 対照群については群平均値、スピラマイシン投与群については対照群からの増減（%）を示した。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）。

表 2.6.7.13.2 –生殖発生毒性試験：ラットの胚･胎児発生に関する試験（混餌投与）

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：I.C. 5902 Evaluation of teratogenic potential in the rat

動物種／系統：アルビノラット
試験開始時週齢：約 4 週齢
投与開始日：19[redacted] 年
特記事項：
- 1 回目の交配／離乳後、異なるペアで 2 回目の交配を実施した。
- 投与量（mg/kg/日）は推定値

無毒性量：判定せず

投与期間：
雌、雄：交配前 77 日～2 回目の離乳
交配期間：10 日間
投与方法：経口
媒体／投与形態：飼料／混餌　0.7%

報告書番号：不明
資料番号：4.2.3.5.2.2
GLP 適用：非適用

交配	1 回目		2 回目	
投与量（mg/kg/日）	0（対照）	約 500	0（対照）	約 500
F0 雄動物の成績				
交尾動物数	20	20	20	20
死亡又は安楽殺動物数	0	0	0	0
体重（試験終了時、g）			560	518
F0 母動物の成績				
交尾動物数	20	20	20	20
妊娠動物数	19 (95%)	18 (90%)	19 (95%)	18 (90%)
死亡又は安楽殺動物数	0	0	0	0
体重（試験終了時、g）			299	282
F1 出生児の成績				
平均生存児数：出生時	12.2	10.6	13.0	11.4
死産数	6	4	17	5

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

交配	1回目		2回目	
投与量（mg/kg/日）	0（対照）	約 500	0（対照）	約 500
平均出生児体重（g）：出生時	5.89	5.61	5.69	5.67
平均生存児数：離乳時	10.5	10.3	10.8	11.2
離乳時生存率（%）	86.2	97.9	83.4	98.0
死亡数	32	4	41	5
平均出生児体重（g）：離乳時	40.2	41.2	34.8	37.7
奇形	ー	ー	ー	ー

ー：特記すべき所見なし

表 2.6.7.13.3 –生殖発生毒性試験：ラットの胚･胎児発生に関する試験（経口投与）

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：Spiramycin (5,337 R.P.) - Teratogenicity study in female rats

動物種／系統：ラット／CD	投与期間：妊娠 5～15 日（交尾確認日を妊娠 0 日）	報告書番号：R.P. - D.S.Ph. report No. 15,131
試験開始時週齢：不明（体重：240～360 g）	帝王切開：妊娠 20 日	資料番号：4.2.3.5.2.3
投与開始日：不明	投与方法：経口	GLP 適用：非適用
特記事項：報告書には無毒性量の記載がないため新規に設定した。	媒体／投与形態：10%アラビアゴム溶液／懸濁液	

無毒性量：

F0 一般毒性；400 mg/kg/日（雌）

F0 生殖能；400 mg/kg/日（雌）

次世代動物；400 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）	0（対照）	100	200	400
F0 母動物の成績				
交尾動物数	20	20	20	20
妊娠動物数	17 (85%)	19 (95%)	19 (95%)	17 (85%)
死亡又は安楽殺動物数	0	0	0	0
生児分娩母動物数	23	17	17	19
一般状態	–	–	–	–
体重（%[a]）：妊娠 15 日	353.5 g	-3.1	-5.3**	-3.6*
妊娠 20 日	425.0 g	-5.2*	-6.1**	-3.2
剖検	–	–	–	–
着床数	13.5	12.1	12.6	12.7
吸収胚数	6 (2.6%)	18 (7.8%)*	13 (5.3%)	9 (4.2%)
死産児数	0	0	0	0

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

投与量（mg/kg/日）	0（対照）	100	200	400
F1 胎児の成績				
生存胎児数	13.2	11.2	12.1	12.2
胎児体重（g）	3.5	3.7	3.6	3.7
性比（雄／雌）	103/121	108/107	109/121	101/106
重篤な外表奇形を有する胎児数	ー	ー	ー	ー
内臓異常を有する胎児数	ー	ー	ー	ー
骨化遅延のみを有する胎児数	1 (0.44%)	0	3 (1.30%)	1 (0.48%)
骨格奇形を有する胎児数	1 (0.44%)	1 (0.45%)	0	2 (0.96%)

ー：特記すべき所見なし
*p<0.05、**p<0.01：対照群との有意差（体重：Student's *t* 検定、吸収胚数：χ^2 検定）
a 対照群については群平均値、スピラマイシン投与群については対照群からの増減（%）を示した。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）。

表 2.6.7.13.4 –生殖発生毒性試験：ラットの胚･胎児発生に関する試験（静脈内投与）

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：5 337 R.P.: Teratology study in the rat

動物種／系統：ラット／CD
試験開始時週齢：不明（体重：201～246 g）
投与開始日：不明
特記事項：報告書には無毒性量の記載がないため新規に設定した。
無毒性量：
F0 一般毒性；0.36 MIU/kg/日（雌）
F0 生殖能；0.54 MIU/kg/日（雌）
次世代動物；0.54 MIU/kg/日

投与期間：妊娠 6～15 日（交尾確認日を妊娠 1 日）
帝王切開：妊娠 21 日
投与方法：静脈内
媒体／投与形態：生理食塩液／溶液

報告書番号：[redacted]RH0043/075
資料番号：4.2.3.5.2.5
GLP 適用：適用

投与量（MIU/kg/日：b.i.d.）	0（対照）	0.18	0.36	0.54
F0 母動物の成績				
妊娠動物数	20	20	20	20
死亡又は安楽殺動物数	0	0	0	0
一般状態				
振戦	–	–	–	+
運動失調	–	–	–	+
流涎	–	–	–	+
体重（%[a]）：妊娠 21 日	361 g	+1.9	+1.1	+2.2
体重増加量（%[a]）：妊娠 6-21 日	111 g	+9.0*	+3.6	+9.0*
摂餌量	–	–	–	–
剖検	–	–	–	–
黄体数	16.0	16.1	16.4	16.3

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

投与量（MIU/kg/日：b.i.d.）	**0（対照）**	**0.18**	**0.36**	**0.54**
着床数	14.4	14.8	14.7	14.5
吸収胚数：早期／後期（合計）	0.8/0.3 (1.1)	0.8/0.2 (1.0)	0.9/0.2 (1.0)	0.3/0.4 (0.7)
胚死亡率（%）：着床前/着床後	10.3/7.6	8.7/6.4	10.6/6.8	11.0/4.5
F1 胎児の成績				
生存胎児数：雄/雌（合計）	7.2/6.1 (13.3)	7.3/6.7 (13.8)	6.8/6.9 (13.7)	7.1/6.8 (13.9)
胎児体重（g）	3.26	3.22	3.14*	3.22
胎盤重量（g）	0.51	0.49	0.48*	0.48
外表検査	ー	ー	ー	ー
内臓検査（約 2/3：頸部･胸腔・腹腔，約 1/3：Wilson 法）	ー	ー	ー	ー
骨格検査	ー	ー	ー	ー

ー：特記すべき所見なし、＋：該当所見あり

*p<0.05：対照群との有意差（体重：Student's *t* 検定、胎児体重、胎盤重量：ネスト分散分析及び重み付き *t* 検定）

a 対照群については群平均値、スピラマイシン投与群については対照群からの増減（%）を示した。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）。

表 2.6.7.13.5 –生殖発生毒性試験：ウサギの胚･胎児発生に関する試験（経口投与）

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：Spiramycin (5,337 R.P.) - Teratogenicity study of oral spiramycin in rabbits		
動物種／系統：ウサギ／Fauve de Bourgogne	投与期間：妊娠 6～16 日（交尾確認日を妊娠 0 日）	報告書番号：R.P. - D.S.Ph. report No. 15,684
試験開始時週齢：不明（体重：2.9～3.8 kg）	帝王切開：妊娠 28 日	資料番号：4.2.3.5.2.6
投与開始日：不明	投与方法：経口	GLP 適用：非適用
特記事項：報告書には無毒性量の記載がないため新規に設定した。	媒体／投与形態： 半量: なし／カプセル充填	
無毒性量：	半量: 10%アラビアゴム溶液／懸濁	
F0 一般毒性；100 mg/kg/日（雌）		
F0 生殖能；100 mg/kg/日（雌）		
次世代動物；200 mg/kg/日		

投与量（mg/kg/日）	**0（対照）**	**100**	**200**	**400**
F0 母動物の成績				
交尾動物数	20	20	20	20
妊娠動物数	18 (90%)	18 (90%)	18 (90%)	18 (90%)
死亡又は安楽殺動物数	0	0	0	0
流産動物数	0	0	4 (22%)	6 (33%)*
一般状態	–	–	–	–
体重（%[a]）：妊娠 16 日	3.66 kg	-2.2	-1.6	-6.6
妊娠 28 日	3.85 kg	+1.8	+2.1	-5.2
摂餌量	–	–	数例で減少	数例で減少
摂水量	–	–	数例で減少	数例で減少
剖検	–	盲腸の拡張	盲腸の拡張	盲腸の拡張

投与量（mg/kg/日）	0（対照）	100	200	400
着床数	10.2	10.2	9.6	9.2
吸収胚数	26 (14.2%)	16 (8.6%)	65 (37.5%)**	66 (40.0%)**
死産児数	0	0	0	1 (1.0%)
F1 胎児の成績				
評価母動物数	18	18	14	12
生存胎児数	8.7	9.3	7.7	8.2
胎児体重（g）	32.9	31.5	32.4	26.8**
性比（雄／雌）	81/76	90/78	51/57	37/61
未熟児数	0	5 (2.9%)	4 (3.7%)	18 (18.3%)**
骨化進行度	ー	ー	ー	ー*b*
軽度な異常を有する胎児数	1 (0.6%)	3 (2%)	2 (2%)	1 (1%)
奇形児数	3 (1.9%)	5 (2.9%)	3 (2.7%)	0

ー：特記すべき所見なし

*p<0.05、**p<0.01：対照群との有意差（流産動物数、吸収胚数、未熟児数：χ^2検定、胎児体重：Student's *t* 検定）

a 対照群については群平均値、スピラマイシン投与群については対照群からの増減（%）を示した。

b 最も発育の遅れた胎児では軽度な骨化遅延が認められた。

表 2.6.7.13.6 –生殖発生毒性試験：ウサギの胚･胎児発生に関する試験（静脈内投与）

被験物質：スピラマイシン

報告書の題名：5 337 R.P. Adipate: Effects of intravenous injection upon pregnancy in the rabbit

動物種／系統：ウサギ／New Zealand White
試験開始時週齢：21 週齢以上（体重：3.50～4.60 kg）
投与開始日：不明
特記事項：報告書には無毒性量の記載がないため新規に設定した。
無毒性量：
F0 一般毒性；0.18 MIU/kg/日未満（雌）
F0 生殖能；0.54 MIU/kg/日（雌）
次世代動物；0.54 MIU/kg/日

投与期間：妊娠 6～19 日（交尾確認日を妊娠 0 日）
帝王切開：妊娠 29 日
投与方法：静脈内
媒体／投与形態：生理食塩液／溶液

報告書番号：[redacted]RHS006/747
資料番号：4.2.3.5.2.8
GLP 適用：適用

投与量（MIU/kg/日：b.i.d.）	0（対照）	0.18	0.36	0.54	0（対照：追加）
F0 母動物の成績					
交尾動物数	15	14	14	14	16
死亡又は安楽殺動物数	4 a	0	0	2a	0
流産動物数	1	0	0	0	0
全胚死亡動物数	0	1	1	0	0
妊娠動物数	15	14	14	14	16
開腹時に生存児を有した妊娠動物数	10	13	13	12	16
一般状態（%）					
流涎	0.3	6.1	68.4	70.4	NE
瞬目回数増加	0	1.3	62.0	81.6	NE
呼吸促迫	13.9	45.2	62.5	62.7	NE
不随意咀嚼	0.3	84.4	82.9	81.6	NE

2.6.7 毒性試験概要表
XRP5337 - スピラマイシン

投与量（MIU/kg/日：b.i.d.）	**0（対照）**	**0.18**	**0.36**	**0.54**	**0（対照：追加）**
体重(%[a]): 妊娠 20 日	4.08 kg	+0.7	+1.0	+0.7	4.37 kg
妊娠 28 日	4.24 kg	+2.1	+1.7	+2.1	4.47 kg
摂餌量	―	―	―	―	―
剖検	―	―	―	―	―
黄体数	12.5	11.2	10.1	11.3	11.1
着床数	9.3	8.6	9.2	9.8	9.6
吸収胚数：早期／後期（合計）	0.1/0.8 (0.9)	0.9/0.2 (1.1)	0.3/0.3 (0.6)	0.3/0.8 (1.1)	0.1/0.4 (0.6)
胚死亡率（%）：着床前／着床後	25.6/9.7	23.6/12.5	8.4/6.7	12.6/11.0	13.6/5.9
F1 胎児の成績					
生存胎児数：雄／雌（合計）	5.1/3.3 (8.4)	4. 4/3.7 (8.1)	4.4/4.3 (8.6)	4.1/4.7 (8.8)	4.3/4.8 (9.0)
胎児体重（g）	42.3	42.0	40.7	41.4	42.0
胎盤重量（g）	5.5	5.9	5.6	5.8	5.6
性比（雄／雌）	51/33	57/48	56/56	49/56	NE
外表検査	―	―	―	―	―
内臓検査	―	―	―	―	―
骨格検査	―	―	―	―	―

ー：特記すべき所見なし、NE：検査せず

a 対照群については群平均値、スピラマイシン投与群については対照群からの増減（%）を示した。

14　生殖発生毒性試験－出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

該当する成績なし

15　新生児を用いた試験

該当する成績なし

16　局所刺激性試験

経口投与製剤につき局所刺激性試験は実施していないことから、該当する成績なし

17　その他の毒性試験

該当する成績なし