フェインジェクト静注 500 mg

第２部　CTDの概要

2.4　非臨床試験に関する概括評価

ゼリア新薬工業株式会社

目次

用語及び略語一覧 3
2.4 非臨床に関する概括評価 5
2.4.1 非臨床試験概略 5
2.4.2 薬理試験 8
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 8
2.4.2.2 副次的薬理試験 9
2.4.2.3 安全性薬理試験 10
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験 11
2.4.3 薬物動態試験 12
2.4.4 毒性試験 18
2.4.4.1 単回投与毒性試験 18
2.4.4.2 反復投与毒性試験 19
2.4.4.3 遺伝毒性試験 27
2.4.4.4 がん原性試験 28
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 30
2.4.4.6 局所刺激性試験 35
2.4.4.7 その他の毒性試験 36
2.4.4.8 不純物 37
2.4.5 総括及び結論 41
2.4.6 参考文献一覧 45

表

表 2.4.2.1-1. 効力を裏付ける試験 8
表 2.4.2.3-1. 安全性薬理試験一覧 10
表 2.4.3-1. 薬物動態試験の一覧表 12
表 2.4.3-2. 薬物動態パラメータ 13
表 2.4.3-3. 非経口鉄製剤を鉄欠乏性貧血ラットに投与したときの組織分布 15
表 2.4.4.1-1. 単回投与毒性試験一覧 18
表 2.4.4.2-1. 反復投与毒性試験一覧 20
表 2.4.4.2-2. ラット及びイヌにおける週 1 回の持続注入による 13 週間毒性試験の主要所見 21
表 2.4.4.2-3. イヌ 13 週間毒性試験終了時の組織中及び血漿中の平均鉄濃度 (1 回/週静脈内持続注入、試験番号：VFR 041/993362) 23

表 2.4.4.2-4. 反復投与毒性試験における平均肝臓中鉄濃度（雄動物、13週間又は26週間、1週間に1回の持続注入又は1週間に3回の静脈内急速注入）..... 24
表 2.4.4.3-1. 遺伝毒性試験一覧..... 27
表 2.4.4.5-1. 生殖発生毒性試験一覧..... 30
表 2.4.4.5-2. 19[redacted]年[redacted]月～20[redacted]年[redacted]月の間に[redacted]で行われた胚・胎児毒性試験の対照群のウサギ胎児における趾骨未骨化の発生率についての背景データ（77）..... 31
表 2.4.4.8-1. カルボキシマルトース第二鉄製剤の残留金属曝露..... 40
表 2.4.5-1. 反復投与毒性試験において肝臓中鉄濃度によって評価した時のカルボキシマルトース第二鉄の安全域..... 42

用語及び略語一覧

ADE – 吸収、分布、排泄
ALP – アルカリホスファターゼ
ALT – アラニンアミノ基転移酵素
API - 原薬
APTT – 活性化部分トロンボプラスチン時間
AST – アスパラギン酸アミノ基転移酵素
AUC – 薬物濃度時間曲線下面積
BSA - ウシ血清アルブミン
CHMP/CPMP - 欧州医薬品委員会
CMC – 化学、製造及び管理
CNS – 中枢神経系
CTD – コモン·テクニカル·ドキュメント
ECG – 心電図
EPO – エリスロポエチン
FDA - 米国食品医薬品局
GLP – 医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GRAS – 米国食品医薬品局合格証
hERG - ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
ICH – 医薬品規制調和国際会議
ICR マウス - Institute of Cancer Research マウス
Ig – 免疫グロブリン
IM – 筋肉内
IV – 静脈内
LD50 – 半数致死量
NCE – 新規化合物
MCH - 平均赤血球血色素量
MCV - 平均赤血球容積
ND – 未確定
NMRI マウス - Naval Medical Research Institute マウス
NOAEL – 無毒性量
NZW – ニュージーランドホワイト
PCA – 受動的皮膚アナフィラキシー
PDE – 許容量
RES – 細網内皮系
rhEPO – 遺伝子組換えヒトエリスロポエチン

S9 - ホモジネート 9,000 × g 上清

SD ラット - Sprague-Dawley ラット

SPC - 製品概要

TIBC - 総鉄結合能

TK - トキシコキネティクス

TPN - 中心静脈栄養法

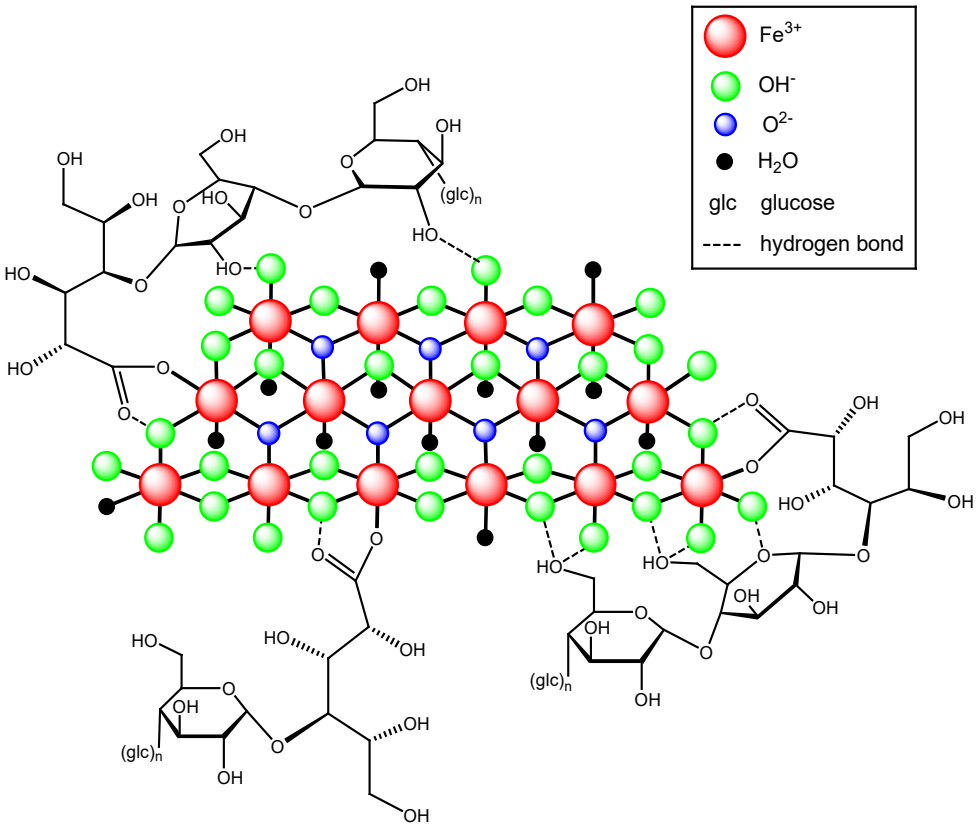
2.4　非臨床に関する概括評価

2.4.1　非臨床試験概略

カルボキシマルトース第二鉄（以下、本薬）は水和された酸化第二鉄とリガンドとしてポリ[D-グルコピラノシル(1→4)]-D-グルコン酸から成る複合体で、次の実験式で示され、約150,000Daの相対分子量を有する。

$Fe_w ([C_6H_{10}O_5]_a C_6H_{11}O_7)_x (OH)_y O_z \cdot nH_2O$

複合体の推定分子構造を以下に示した。



本品は、約[redacted]%の水和された酸化第二鉄に相当する約[redacted]%の鉄、約[redacted]%のリガンド、[redacted]%未満の塩化ナトリウム及び[redacted]%未満の水を含む。

フェインジェクト静注500 mg（以下、本剤）は注射用水中に鉄として5 w/v %濃度の本薬を含む等張化滅菌溶液であり、鉄欠乏性貧血の治療における静脈内投与を目的としている。患者ごとに必要な総投与鉄量は、血中ヘモグロビンレベル及び体重により計算される。静脈内経路によるヒトでの推奨用量は、鉄500 mg/週である。

本薬は、その分解速度及び物理的化学的特性により、鉄を体内の貯蔵場所に効率的に供給することから、非経口投与において最適な鉄錯体であると考えられている。これに関しては、ソ

ルビトール鉄/クエン酸錯体のような低分子複合体よりはるかに効率的で毒性が低く、また、スクロース鉄及びグルコン酸鉄の場合での用量制限につながる高い pH 及び浸透圧の制限がない。スクロース鉄は使用する際、製剤の pH 及び浸透圧によって注入速度に制限があり、いずれの場合も、投与量に応じて 3.5 時間以上の注入を実施する必要がある。鉄の輸送効率及び複合体の安定性の点で、本薬はおそらくデキストラン鉄（1,5）と同等であるが、臨床的及び外来的使用において抗体形成又は過敏症のリスクが大きく軽減されている。主要な多核性の鉄(III)-炭水化物複合体の特性は、Annex I に詳細を示した。

本薬は、鉄補充療法の目的に特化した医薬品で、鉄欠乏症（すなわち赤血球及びヘモグロビンへの取り込み）の改善のための体内の鉄貯蔵及び輸送タンパク質（フェリチン及びトランスフェリン）に利用可能な鉄輸送能以外に明らかな薬理活性を示していない。このため、臨床集団が鉄欠乏症の患者であることから、正常な動物から得られた安全性データは、限定的とみなされなければならない。本薬の分解物（鉄(III)-水酸化物、マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオース及びグルコース）は内在性分子であるか、スクロース鉄又はグルコン酸鉄/スクロース製剤のように、他の非経口医薬製剤で広く使用されているものである。リガンドの分解物は、主に GRAS （Generally Recognized as Safe）として一般の食品としての安全性が認められた糖である。

これら特性を考慮し、本薬について、以下の様な安全性に関する重要な問題に焦点を当てた非臨床試験を実施することが妥当であると考えられた。

- 本薬は鉄欠乏を改善するために、利用可能な鉄を標的組織（すなわち、赤血球）に輸送する効率的な手段であるか。
- 本薬中の鉄の体内動態及び組織分布は、他の鉄-炭水化物複合体の挙動から予測されるものと同様であるか。
- 本薬の炭水化物成分は、特有の毒性を引き起こすか、また、この成分の代謝を予測できるか。
- 本薬の動物の全身性の毒性プロファイルは、鉄過剰や他の鉄(III)炭水化物複合体と比較してどの程度のものか、また、本薬と関連する特有の毒性があるか。
- 本薬は注射/投与部位で十分な忍容性を示すか、また、感作性又は抗デキストラン抗体との交差反応性があるか。

本薬で実施した非臨床試験は、薬力学的に活性な従来の新規薬物ほどの範囲ではないが、本薬としては適応症に関連する重要な課題に対応しており、十分であると考えられる。

要約すると、本剤に関する主要な非臨床試験として、げっ歯類における単回投与毒性試験、げっ歯類及び非げっ歯類における反復投与毒性試験、*in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験、並びにラット及びウサギにおける生殖発生毒性試験を実施しており、ほぼ全てについて ICH ガイドライン（4）に準拠して実施した。

本薬が鉄欠乏食を給餌した動物の赤血球に鉄を輸送するのに有効な物質であることを実証するため、ラットで行われた体内動態試験の一環として効力を裏付ける試験（有効性）のデ

ータを示した。また、中枢神経系、心血管系、呼吸器系及び腎-泌尿器系を対象とする安全性薬理試験を実施した。

放射性同位体鉄で標識化した本薬を用い、ラット及びイヌにおける静脈内及び筋肉内投与による包括的な薬物動態試験を実施した。本剤に関する主要な非臨床安全性試験は全て GLP 基準に準拠して実施した。これらの試験には、製造方法及び不純物プロファイル (表 2.6.7.2) の点で市販用と同等な本薬を使用した。以上のことから、採用した非臨床試験は、本薬の性質及び目的とする用途に対し、適切かつ妥当であると結論付けた。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

経口及び非経口鉄剤は長年、鉄欠乏の治療に使用されてきた。鉄欠乏は、ヒトに最もよく見られる栄養障害であり、このうちのいくらかは食事からの鉄摂取の不足（例：発展途上国における子供）又は鉄利用及び体外への鉄消失の増加（例:妊娠中、月経中又は授乳中の女性）のため特に危険に晒されている。硫酸第一鉄のような経口鉄剤又はポリマルトース鉄のような毒性の低い鉄-炭水化物複合体は、一般的に多くの鉄欠乏患者の治療に適している。しかし、鉄貯蔵の急速な補充を必要とする状況（エリスロポエチン治療中も含む）では、安全で効果的な非経口鉄剤が求められる。

非経口経路による鉄塩はヒドロキシルフリーラジカルの形成のため非常に有毒であり、このフリーラジカルは鉄塩中の第一鉄が組織中で輸送又は貯蔵タンパク質への結合により生体利用可能な鉄となるために必要な第二鉄へと変換される際に生じる。このため、非経口鉄剤は主に鉄-炭水化物複合体の形で使用されてきた。これらは通常、デキストラン、デキストリン又はスクロースのような糖と結合した鉄（III）-水酸化物から構成される。デキストラン鉄は長年にわたって非経口鉄剤としておおよそ最も広く使用されてきたが、感作された患者では反復投与後の過敏症の危険性と関連付けられている（1）。スクロース鉄又はスクロース中のグルコン酸鉄のようなその他の鉄複合体は、非経口治療におけるデキストラン鉄の使用に対して安全で効果的な代替手段であると認められている（2、3、10）。

カルボキシマルトース第二鉄の薬理学的効果を検証するために、以下の試験を行った。

表 2.4.2.1-1. 効力を裏付ける試験

試験番号	種	被験物質	用量／経路
SR-1075/E01 （表 2.6.3.2）	OFA ラット、鉄欠乏食	^{59}Fe 放射性標識カルボキシマルトース第二鉄	鉄 10 mg／静脈内
VFR061/043161 （表 2.6.3.2）	SD ラット、鉄欠乏食	^{59}Fe 放射性標識カルボキシマルトース第二鉄	鉄 5 mg／静脈内及び筋肉内

試験番号 SR-1075/E01（表 2.6.3.2）は、Vifor（International）Inc.で実施し、鉄欠乏食給餌ラットに ^{59}Fe 放射性標識カルボキシマルトース第二鉄（鉄 10 mg/ラット、鉄 約 35 mg/kg 体重）が単回静脈内投与され、投与後 14 及び 28 日にそれぞれ静脈内投与した鉄の 76%及び 87%が赤血球中に取り込まれた（試験番号 SR-1075/E01、表 2.6.3.2）。血清クリアランスは迅速で、血清中には投与後 6 時間で投与した鉄の約 6%のみが、24 時間では 1%以下が存在していた。投与後 14 日では、投与された鉄の 11%が肝臓に、2%が脾臓に、1%が腎臓に認められた。投与後 28 日では、投与された鉄の 7%が肝臓に、1%が脾臓に、1%が腎臓に認められた。したがって、本試験においてこれらの器官内に鉄過剰の形跡は認められなかった。注意すべきは、上

記で述べた保持比がカルボキシマルトース第二鉄投与後に動物の尾に残存する量（投与後 14 又は 28 日に約 35～40%）を補正した後に算出されたことである。このことは、投与技術の難度のため、投与量の大部分がこれらの動物の尾静脈外に投与されたことを示している。これがひとつの理由となり、^{59}Fe 放射性標識カルボキシマルトース第二鉄を用いた追加の組織分布試験を引き続き下記のように実施し、第 2.4.3 項 薬物動態試験ではさらに詳細に記載している。

試験番号 VFR061/043161（表 2.6.3.2 及び 2.6.5.3-2）は、^{59}Fe 放射性標識カルボキシマルトース第二鉄を用いて薬物動態試験の一環として実施した（第 2.4.3 項）。鉄欠乏食給餌ラット（正常ヘモグロビン値以下）において静脈内投与量の鉄 5 mg（カルボキシマルトース第二鉄として）の 91%（雄）及び 67%（雌）が投与後 28 日以内に赤血球中へ取り込まれ、この残りの大部分が肝臓に取り込まれた。これは、スクロース鉄（Venofer）において鉄 10 mg を鉄欠乏ラットに静脈内投与し、投与後 21 日でこのうち 91%が赤血球中へ取り込まれたことと同等であると考えられる（5）。鉄欠乏食を用いたこの試験では、方法論的な難度によりラットに顕著な貧血を生じさせることができなかった。しかし、この問題があるにもかかわらず、赤血球への取り込みのデータは、鉄欠乏状態で標的組織（赤血球）及び貯蔵器官（例：肝臓）へ鉄を輸送させるための静脈内投与したカルボキシマルトース第二鉄複合体の効率性を示している。ラットに筋肉内経路で等量のカルボキシマルトース第二鉄を投与した後、投与後 28 日に投与量の 27%（雄）及び 34%（雌）が赤血球中へ取り込まれ、約 24～30%が投与部位に残存していた。

鉄が十分に保持されている正常動物におけるカルボキシマルトース第二鉄製剤の薬力学（すなわち、赤血球への鉄の取り込み）は、試験番号 VFR059/033758 及び VFR060/033441 のラット及びイヌでも検証されており、この概要は薬物動態の項（第 2.4.3 項）に記載されている。

これら動物のデータを支持するように、6 名の貧血患者に投与した後に鉄の動態を検討するために ^{52}Fe 及び ^{59}Fe で標識されたカルボキシマルトース第二鉄を用いた陽電子放出断層撮影法で得られたヒトのデータがある（6）。この試験は投与後 24 日には、投与された標識鉄の 61～99%が鉄欠乏性貧血患者の赤血球中に取り込まれたことを示した。

2.4.2.2 副次的薬理試験

カルボキシマルトース第二鉄の副次的薬理作用を評価した非臨床試験は実施していない。制御された速度で生体に利用可能な鉄を鉄結合タンパク質へ遊離するように設計された鉄-炭水化物複合体である本薬の特性を考慮すると、本複合体やこの分解産物（マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオース及びグルコース、第 2.4.3 項を参照）の副次的薬理作用としては、中間代謝を経由するこれらの分解産物の正常な過程から予想される作用以外に、体内での交差反応や非標的部位での作用は予想しえない。臨床的に関連する用量では、カルボキシマルトース第二鉄から細網内皮系外の細胞又は鉄貯蔵及び結合タンパク質以外の標的への鉄の結合が生じる可能性は極めて低い。

本薬の免疫学的活性を評価するため、カルボキシマルトース第二鉄のデキストラン抗体に対する交差反応の可能性は動物試験で評価され、第 2.4.4.7 項で考察されている。カルボキシマルトース第二鉄の副次的薬理作用は、鉄過剰状態の発生に関連する可能性があり、これは様々な反復投与毒性試験で検討されている（ 第 2.4.4.2 項 ）。鉄過剰の影響はよく認識されており、ヒトや動物において十分に検討されている（ 45、72 ）。これに基づき、カルボキシマルトース第二鉄の副次的薬理作用を評価する追加の非臨床試験はこの種の薬剤にとって必要ないと考えられる。

2.4.2.3 安全性薬理試験

以下の試験を実施した。

表 2.4.2.3-1. 安全性薬理試験一覧

試験番号	動物種/試験系	投与量（ 又は濃度 ）/投与経路
VFR 0126 （ 表 2.6.3.3 ）	hERG チャネル発現 HEK293 細胞 /hERG カリウムチャネルに対する作用	鉄 0.04、0.38、0.99、3.10%（ m/V ）/*in vitro*
VFR 066/042584 （ 表 2.6.3.3 ）	イヌ（ ビーグル ） /心血管系（ テレメトリー法 ）	鉄 30、90 mg/kg /静脈内
VFR 067/042728 （ 表 2.6.3.3 ）	ラット（ Wistar ） /Irwin 法試験（ 体温及び自発活動量の評価を含む ）	鉄 30、90 mg/kg /静脈内
VFR 068/042764 （ 表 2.6.3.3 ）	ラット（ Wistar ） /呼吸器系（ 覚醒ラットを用いたプレチスモグラフ法)	鉄 30、90 mg/kg /静脈内
VFR 069/042797 （ 表 2.6.3.3 ）	ラット（ Wistar ） /腎·泌尿器系	鉄 30、90 mg/kg /静脈内
VFR 0086/053340 （ 表 2.6.3.3 ）	ラット（ Wistar ） /腎· 泌尿器系（ 再試験 ）	鉄 30、90 mg/kg /静脈内

hERG カリウムチャネル発現細胞を用いて、カルボキシマルトース第二鉄の hERG カリウム電流に及ぼす影響を検討した結果、濃度依存的な hERG カリウム電流の抑制作用は認められなかった。

ビーグル犬を用いたテレメトリー法による試験では、本剤の心血管系（ QT 間隔及び心電図形態を含む ）に対する作用は認められなかった。ラットを用いた Irwin 法試験では、本剤は行動、自発活動量又は体温に影響を及ぼさなかった。ラットを用いた呼吸器系に関する試験では、本剤の呼吸数、1 回換気量及び分時換気量に対する作用は認められなかった。なお、陽性対照薬の硫酸モルヒネはいずれのパラメータも低下させた。

ラットを用いた腎機能に関する試験（ 表 2.6.3.3、VFR 069/042797 ）では、雌の鉄 90 mg/kg 投与群で比重増加を伴った尿量及び電解質排泄の一過性の低下が認められたが、投与後 5~24

時間での影響は認められなかった。これらの変化は雄性ラット及び雌の鉄 30 mg/kg 投与群では認められず、陽性対照薬のフルセミド (フロセミド) は尿量及び電解質排泄を増加させた。なお、本検討では尿サンプルの血液汚染の影響が考えられたため、再試験 (表 2.6.3.3、VFR 0086/053340) を実施した。再試験では初回検討で認められた所見がおおむね認められ、雌雄の鉄 90 mg/kg 投与群において投与後 5 時間までの期間で尿量及び電解質排泄が減少し、雌性に比べて雄性での程度が大きかった。しかし、血中尿素及びクレアチニン値に変動が認められなかったため、本剤は腎機能に顕著な影響を及ぼさないと考えられた。

安全性薬理試験ガイドライン (ICH S7A ガイドライン、7) に準拠したコアバッテリー試験として、本剤の中枢神経系、心血管系及び呼吸系に対する作用を検討した。また、本剤の腎機能に対する作用についても検討した。これらの試験において、予期せぬ一般薬理作用は認められなかったことから、追加検討は不要と考えられた。心室再分極遅延の潜在的可能性の評価 (8) に関する検討は、鉄と糖質の複合体である本剤については意義があるとは判断しなかった。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用に関する非臨床試験は実施していない。カルボキシマルトース第二鉄は、臨床的にエリスロポエチンによる造血亢進のために十分な利用可能な鉄を供給するためにヒトエリスロポエチン組換えタンパク質と併用して投与される可能性がある。これは、スクロース鉄やグルコン酸鉄のような他の非経口鉄剤とともに以前から利用されている協働的な薬力学的薬物相互作用であることは明らかであり (2) 、この相互作用は十分に認識されている。

経口によって使用される鉄塩の薬力学的な薬剤及び食物との相互作用はいくつか報告されている (9) が、これらはすべて吸収過程における相互作用に関わっており、非経口鉄剤とは関連しない。すべての非経口鉄剤と同様に、併用投与時では経口鉄剤の吸収が減少する。

この考察やカルボキシマルトース第二鉄の特性及び作用機序に基づくと、薬力学的薬物相互作用に関する非臨床試験を実施する必要がないと考えられる。

2.4.3 薬物動態試験

本薬の組織分布及び鉄利用について、鉄欠乏性貧血ラットを用いた薬力学試験 (試験番号 : SR-1075/E01) 及び[^{59}Fe]カルボキシマルトース第二鉄を用いた 5 つの薬物動態試験を実施した。また、*in vitro* 分解試験及びヒト胎盤を用いた *in vitro* 潅流試験を実施した。Malek らの試験、SR-1077/E01 及び SR-1099-01/E02 以外は GLP 基準で実施した。

表 2.4.3-1. 薬物動態試験の一覧表

試験番号	動物種 / 試験内容	投与量 / 投与経路
VFR 060/033441 (表 2.6.5.2-1、表 2.6.5.3-1、表 2.6.5.5-1)	SD ラット / 吸収、分布、排泄	鉄 5 mg 相当 / 静脈内及び筋肉内投与
VFR 061/043161 (表 2.6.5.2-2、表 2.6.5.3-2、表 2.6.5.5-2)	鉄欠乏性貧血 SD ラット / 吸収、分布、排泄	鉄 5 mg 相当 / 静脈内及び筋肉内投与
VFR 059/033758 (表 2.6.5.2-3、表 2.6.5.3-3、表 2.6.5.5-3)	ビーグル犬 / 吸収、分布、排泄	鉄 50 mg 相当 / 静脈内及び筋肉内投与
VFR 062/033271 (表 2.6.5.7-1)	SD ラット / 胎盤透過性及び乳汁移行	鉄 5 mg 相当 / 妊娠 12 日目及び出産後 7 日目に静脈内投与
Malek, A. (Ref. 74) (表 2.6.5.7-3)	ヒト胎盤 / 胎盤透過性	鉄として約 0.6 mg/mL (11 mmol/L)
SR-1077/E01 (表 2.6.5.7-2)	SD ラット / 乳汁移行	鉄 10 mg 相当 / 出産後静脈内投与
SR-1099-01/E02 (表 2.6.5.4)	α-アミラーゼ及びラット肝 S9 画分によるカルボキシマルトース第二鉄のリガンド部分の分解物	鉄 0.33 mg/mL (*in vitro*)

表 2.4.3-1 の上段 3 試験では、[^{59}Fe]カルボキシマルトース第二鉄の静脈内及び筋肉内投与後 28 日までの血漿及び全血中放射能の体内動態及び組織分布を検討した。正常ラット、鉄欠乏性貧血ラット及びイヌで得られた吸収、分布及び排泄に関する主な知見は以下のとおりであった。

- 静脈内投与後、血漿中放射能の消失は速やかであり、イヌでは投与後 6 時間、正常及び鉄欠乏性貧血ラットでは投与後約 16 時間までに血漿中放射能は微量か定量限界未満となった。血漿消失半減期はイヌで 3.1 時間、鉄欠乏性貧血ラットで 2.7 ~ 2.8 時間であった。

- 全血中放射能はラット及びイヌで静脈内投与後約 24 時間まで血漿中と同様に減少したが、投与後 48 時間以降は血球に取り込まれるため増加し、投与後 3～4 週間にピークを示した。
- 静脈内投与後 7 日間は鉄欠乏性貧血ラットで投与量の 27%、イヌで投与量の 67%の放射能が肝臓に取り込まれ、その後、肝臓中放射能が減少し、血球中放射能が増加した。
- ラット及びイヌで肝臓以外に共通して顕著な取り込みが見られた臓器は、脾臓及び腸間膜リンパ節のみであった。
- 鉄欠乏性貧血ラットで投与量の 0.5～0.6%の放射能が糞中に検出された以外は、投与後の尿及び糞中に放射能は排泄されなかった。
- 筋肉内投与後、正常ラットで投与量の 50%以上、鉄欠乏性貧血ラットで投与量の約 30%が投与部位及び周辺組織に投与後 28 日間残留したが、筋肉内投与後の放射能の体内動態は静脈内投与後と類似していた。

薬物動態試験で得た主要なパラメータを以下の表 2.4.3-2 に示した。

表 2.4.3-2.　薬物動態パラメータ

動物種 / 投与経路		投与後 28 日間の回収率 (% of dose)				$AUC_{0\text{-}672h}$ (μg eq.·h/g)	F [2)] (%)
		血球	肝臓	脾臓	投与部位 [1)]	血球	
正常ラット							
IV	雄	75	20	1.6	-	135840	-
	雌	55	29	3.5	-	127057	-
IM	雄	12.3	4.9	0.4	59	33011	24 (59)
	雌	10.5	8.4	1.1	55	34100	27 (60)
鉄欠乏性貧血ラット							
IV	雄	91	9.5	1.0	-	215200	-
	雌	67	19.2	1.6	-	197600	-
IM	雄	27	1.7	0.3	29	65850	31 (44)
	雌	34	3.6	0.6	35	80390	41 (63)
イヌ							
IV	雄	39	25	18	-	8981	-
IM	雄	28	34	7.4	7.6	6097	68 (73)

IV 静脈内投与、IM 筋肉内投与

1) 周辺組織から回収された放射能を含む。

2) 静脈内投与後 28 日間の血球中放射能の AUC に基づいた筋肉内投与時の相対的生物学的利用率。括弧内は投与部位に放射能が残留しないと仮定した場合の補正値。

以上のデータは、本薬が標的組織（血球）及び貯蔵組織（肝臓及び脾臓）に鉄を効率的に輸送する複合体であることを示している。血球への鉄の取り込みは正常ラットより鉄欠乏性貧血ラットで高く、貯蔵組織（肝臓及び脾臓）への貯蔵は正常ラットより鉄欠乏性貧血ラットで低かった。本薬をラットへ筋肉内投与した 28 日後でも、投与量の大部分は投与部位及び周辺組織に貯留していた。ラットに本薬を筋肉内投与後、投与量の 30 ～ 40%が回収されなかった。この理由として、回収されなかった放射能は投与部位の放射能を排出するリンパ節のようなコンパートメントに分布したが、当該試験ではそのコンパートメントを測定しなかったためと考えられた。イヌに本薬を筋肉内投与したとき、放射能は効率的に血球に取り込まれ、血球中放射能の相対的生物学的利用率は 70%であった。以上の結果より、本薬はヒトの鉄補給の目的で筋肉内投与が可能であることが示唆された。

以上の実験動物データをヒトに放射性標識したデキストラン鉄を筋肉内投与したときのデータと比較した。Will（70）により実施された試験では、放射性標識したデキストラン鉄を健常者及び鉄欠乏性貧血患者に筋肉内投与したとき、投与後 28 日において投与量の約 25%が投与部位に貯留していた。Karlefors 及び Norden (71) により、デキストラン鉄をヒトに投与後 1 ヶ月において投与量の 20 ～ 65%が投与部位に貯留したことが示された。以上より、本薬をラットに筋肉内投与したときの吸収性はデキストラン鉄をヒトに投与したときと類似しており、本薬をイヌに筋肉内投与したときの吸収性はデキストラン鉄をヒトに投与したときよりも高いことが示唆された。

本薬の体内動態を他の非経口鉄製剤と比較することは重要と考えられた。そこで、本薬及び 4 種の非経口鉄製剤を鉄欠乏性貧血ラットに静脈内投与したときの組織分布率を表 2.4.3-3 に示した（5）。

表 2.4.3-3.　非経口鉄製剤を鉄欠乏性貧血ラットに投与したときの組織分布

組織	静脈内投与後 14 日における組織分布率 (% of dose)					
	スクロース鉄 [1] (Venofer)	ポリマルトース鉄 [1]	デキストラン鉄 [1), 2)]	デキストラン鉄 [1), 3)] (BP/USP)	カルボキシマルトース第二鉄 [4]	カルボキシマルトース第二鉄 [5]
血液	80.2	84.6	65.1	63.6	82.6	79
肝臓	5.1	8.5	4.8	2.7	10.8	16.8
腎臓	0.8	0.9	0.7	0.4	1.0	1.0
脾臓	1.2	1.2	3.5	3.9	1.7	2.0
糞	2.2	3.0	3.1	3.4	2.5	ND
尿	1.5	0	0	0.2	0.7	ND
血漿半減期 (h)	1.2	1.2	5.0	5.3	1.5	2.7

ND：測定せず。

1) 試験番号 SR-1005/E01 より引用した。

2) 5% w/v 鉄、6% w/v デキストランに調製した。

3) 5% w/v 鉄、20% w/v デキストランに米国及び英国の薬局方の調製方法に従って調製した。

4) 試験番号 SR-1075/E01 より引用した。

5) 試験番号 VFR 061/043161 より引用した。

以上の比較データより、本薬の鉄欠乏性貧血ラットにおける血球への取り込みや貯蔵組織への分布は他剤と同様であった。本薬の静脈内投与後の血漿クリアランスは、スクロース鉄 (Venofer) やポリマルトース鉄での報告と同様であった (血漿半減期はイヌで約 3.1 時間、ラットで約 2.7～2.8 時間であった) 。

本薬の静脈内投与後の胎盤透過性は、妊娠ラットを用いて VFR 062/033271 (表 2.6.5.7-1) で検討された。非妊娠ラットと同様に、[^{59}Fe]カルボキシマルトース第二鉄を妊娠 12 日のラットに静脈内投与したとき、投与後 30 分から 6 時間にかけて、血漿中放射能濃度は 285.4 µg eq./g から 55.45 µg eq./g へ低下し、速やかに消失した。放射能は投与後 24 時間から 168 時間にかけて投与量の 45%から 63%が肝臓に速やかに取り込まれた。血球中放射能は投与後 24 時間以降増加し始め、投与後 7 日で投与量の 2.6%が血球に取り込まれた。胎児及び胎盤中放射能は投与後 72 時間まで低かったが、投与後 7 日 (妊娠 19 日) では投与量の 9.2%及び 3.1%がそれぞれ胎児及び胎盤から回収された。投与後 72 時間までの胎児中放射能は、他の生殖組織と同程度であったが、胎盤より低かったことから、胎盤は鉄過剰状態から胎児を守る関門であることが示唆された。当試験の投与後 7 日の胎児への分布率 (0.46 mg、投与量の 9.2%) は Romeu ら (82) の報告から推定した妊娠後期の胎児分布率 (約 3 mg) より低かった。以上の結果は胎盤の鉄過剰に対するバリア機能を支持するものであり、本薬の投与による胎児への過剰な鉄

移行は生じないことを示している。このメカニズムはヒト胎盤を用いた *in vitro* 潅流試験（74）で検証された。[^{59}Fe]カルボキシマルトース第二鉄が母動物側の循環系に最終鉄濃度として約 0.6 mg/mL（11 mmol/L、鉄欠乏性貧血患者に本剤 500 mg を投与したときの最高血清中濃度の約 3 倍）で添加されたとき、胎児側の循環系に放射能の分布は見られず、胎盤への分布は低かった（投与量の 2%）。本薬投与後、細胞生存率や胎児毛細血管系の改善が見られ、本薬の胎盤トランスフェリン受容体産生能や胎盤機能への有害作用は生じなかった。

[^{59}Fe]カルボキシマルトース第二鉄を授乳中の母動物に静脈内投与したときの鉄の乳汁移行について 2 試験を実施した。VFR 062/033271（表 2.6.5.7-1）において[^{59}Fe]カルボキシマルトース第二鉄を出産後 7 日の母動物に投与したとき、投与後 1 時間における乳汁中放射能濃度は血漿中放射能濃度の 2%であった。乳汁中放射能濃度は投与後 24 時間のみで血漿中放射能濃度を上まわり（乳汁：血漿濃度比 1.39）、その後血漿中より乳汁中放射能濃度のほうが速く減少し、投与後 240 時間で検出限界未満となった。乳汁：血漿 AUC 比は投与後 24 時間の間 0.09 であり、投与直近は放射能の乳汁への移行は低いことが示された。最高乳汁中放射能濃度は投与後 6 時間で 8 µg eq./g であった。授乳 1 週目の乳汁中鉄濃度は 5～9 µg/mL と報告されていることから（75）、本薬を鉄として 5 mg（約 20 mg/kg）をラットに投与しても生理学的レベル以上の鉄の乳汁移行は起きず、子動物の鉄過剰リスクは低いと推定された。SR-1077/E01（表 2.6.5.7-2）において[^{59}Fe]カルボキシマルトース第二鉄を出産日（出産後 1 日目）の母動物に投与したときの乳汁移行を 4 週間検討した。乳汁中放射能は全ての測定時点（投与後 8、12、16 及び 20 日）で投与量の 1%未満と低かった。各測定時点における子動物中放射能は投与量の 1.2%未満であった。投与後 28 日では母動物の赤血球中に投与量の 22%、肝臓中に投与量の 33%が分布し、残りの放射能の多くは母動物中に残った。投与後 28 日の子動物中放射能は投与量の 12.2%であった。同様の試験がスクロース鉄（Venofer）で実施されており、スクロース鉄投与後 28 日における子動物への放射能分布は投与量の 7.2%であった（76）。本薬を静脈内投与した乳汁移行試験により、本薬の乳汁を介した子動物への移行は限定的であることが示された。投与初期の最高血漿中鉄濃度時間に乳汁中鉄濃度が低かったことから、本薬の鉄は乳汁へ直接移行せず、むしろ貯蔵組織に分布後、トランスフェリンに結合した鉄として乳腺に分布することが示唆された。以上より、本薬投与後に鉄が過剰に乳汁へ直接移行する事実は認められなかった。さらに、子動物への鉄分布が低かったことから（投与後 28 日で投与量の 12%）、本薬を母動物に静脈内投与したとき子動物の鉄過剰は起こらないことが示唆された。

本薬を α-アミラーゼ又はラット肝 S9 画分と反応させたときのリガンド（カルボキシマルトース）分解生成物を検討する *in vitro* 分解試験が実施された（SR-1099-01/E02、表 2.6.5.4）。α-アミラーゼ又はラット肝 S9 画分を用いた *in vitro* 分解試験の結果から、本薬のカルボキシマルトースはマルトース、マルトトリオース、マルトテトラオース及びグルコースなどの単純な糖へ急速に加水分解された。α-アミラーゼ添加後、本薬の約 70%が主にマルトトリオース、マルトース及びグルコースに分解された。ラット肝 S9 画分とのインキュベーションにより α-アミラーゼ添加後とほとんど同様の反応生成物が見られ、マルトテトラオースも生成された。ラット肝 S9 画分と 37ºC で反応後 15 時間において、本薬の 47%が分解物として回収された。本

薬投与後の *in vivo* における分解生成物も以上の結果と同様と考えられた。同定された分解生成物 (マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオース及びグルコース) に毒性を示すものはないと考えられた。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性試験

以下の試験を実施した。

表 2.4.4.1-1. 単回投与毒性試験一覧

試験番号 (表 2.6.7.3)	動物種/ 投与経路	投与量 (鉄 mg/kg)	概略の最大非致死量	概略の致死量
VFR 034/003711/AC	SD ラット /静脈内	1000	1000	> 1000
VFR 035/003710/AC	マウス /静脈内	1000、2000	1000	< 2000
VFR 033/000038	SD ラット /静脈内持続注入 (1 時間)	60、120、240	240	> 240
VFR 032/000037	ビーグル犬 /静脈内持続注入 (1 時間)	60、120、240	240	> 240
SR1026/E01 (参考資料)	NMRI マウス /静脈内	250	250	ND

マウスを用いた試験では、鉄 1,000 mg/kg 投与群における投与に関連した変化は、投与後 14 日の剖検時の脾臓の大型化のみであった。鉄 2,000 mg/kg 投与群では、投与後 3 日以内に雄 5 例中 3 例と雌 5 例中 2 例が死亡した。ラットを用いた試験においても、鉄 1,000 mg/kg は最大非致死量であった。これらのげっ歯類における静脈内急速注入による急性毒性試験では、最大非致死量は静脈内持続注入による 1 回あたりの最大臨床用量 (鉄 500 mg、体重 55 kg の患者で鉄 9.1 mg/kg に相当する量) の 109.9 倍であった。

これらの急性毒性試験に加えて、NMRI マウスを用いて本剤の静脈内投与後の毒性を検討し、鉄の分布を組織学的に評価した (試験番号：SR-1026/E01 (参考資料) 、表 2.6.7.3) 。鉄 250 mg/kg の投与後 4 日に致死せしめ、組織の鉄蓄積及び鉄毒性について組織学的 (プルシアンブルー染色) に評価した。死亡例は認められず、体重に対する影響も認められなかった。4 日後において、主に肝臓及び脾臓における鉄の沈着が認められ、副腎、腎臓、胃及び腸においても認められた。本剤の染色のパターン及び程度は、デキストラン鉄といった他の既承認鉄剤を用いた試験 (52) で認められたものと同様であった。肝臓では鉄の約 10 ~ 20%が細網内皮系外に認められ、脾臓では白脾髄において鉄は認められなかった。いずれの評価組織においても、鉄沈着に伴う壊死は認められなかった。

本剤は週 1 回の持続注入による投与を行うが、ラット及びイヌの 13 週間反復投与毒性試験においても同様の用法での投与となるため、ラット及びイヌの単回静脈内持続注入毒性試験をパイロット試験として実施した (試験番号：VFR 033/000038 及び VFR 032/000037、表 2.6.7.3) 。ラットにおける忍容性は良好であったが、鉄 120 及び 240 mg/kg 投与群において

血清トランスアミナーゼ活性（ALT 及び AST）の上昇が認められたことから、過剰鉄が細網内皮系外の細胞に分布し、肝細胞毒性につながるような肝実質の鉄濃度の上昇に至ったと考えられた。したがって、鉄 120 及び 240 mg/kg は、ラット 13 週間反復投与毒性試験における投与量（週 1 回の投与）としては高すぎると考えられた。また、反復投与に伴う過剰鉄の実質組織への分布が重篤な臓器毒性につながる可能性や、動物の生存に影響を及ぼすことも考えられるため、鉄 90 mg/kg/週をラット 13 週間反復投与毒性試験の高用量に設定した。イヌを用いた試験においては、すべての投与群（鉄 60、120 及び 240 mg/kg）において肝機能に対する影響が認められたことから、ラットでの投与量の設定と同様に、鉄 90 mg/kg/週をイヌ 13 週間反復投与毒性試験の高用量に設定した。

げっ歯類（ラット及びマウス）における静脈内急速注入による試験では臨床用量の 109.9 倍まで、ラット及びイヌにおける静脈内持続注入による試験では臨床用量の 26.4 倍まで、忍容性は良好であった。また、過量投与時や、鉄欠乏状態にない場合での非経口的な鉄の高用量投与に伴い、特に肝臓において実質組織の毒性が発現する可能性が考えられる。スクロース鉄の急性毒性試験の結果を踏まえると、本剤の安全域は、鉄剤としては十分広いと推察される。スクロース鉄の静脈内投与時の LD_{50} 値は、ラットでは鉄 188 mg/kg、マウスでは鉄 430 mg/kg であり（11）、本剤と比較して、急性毒性試験の結果に基づいた安全域は狭い。また、デキストラン鉄のマウスにおける静脈内投与時の LD_{50} 値は鉄 460 mg/kg（12）又は鉄 1,013 mg/kg（60）と示されている。本剤の鉄含有量は約 28%であるが、50%の鉄を含有するデキストリン鉄を使用した場合、デキストリン鉄のマウスにおける静脈内投与時の LD_{50} 値は鉄 175 mg/kg（13）であることも報告されている。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

静脈内反復投与毒性試験は、まず 1 週間に 1 回（1 時間持続注入）の 13 週間投与によって実施した。さらに、臨床使用時に 1 週間に 3 回、急速静脈内投与することを想定し、1 週間に 3 回の急速静脈内投与によるラット及びイヌにおける 13 及び 26 週間毒性試験を実施した。また、将来的に本剤が筋肉内投与される可能性を考慮して、イヌにおける 13 週間筋肉内投与毒性試験も実施した。

実施試験を以下に示した（表 2.4.4.2-1）。

表 2.4.4.2-1.　反復投与毒性試験一覧

試験番号	動物種/ 投与経路	投与期間	用量 (鉄 mg/kg/週)	無毒性量 (鉄 mg/kg/週)
VFR 042/993363 (表 2.6.7.5.1)	SD ラット/ 静脈内 持続注入	13 週	9、30、90 1 回/週 点滴 (1 時間)	9
VFR 041/993362 (表 2.6.7.5.4)	ビーグル犬/ 静脈内 持続注入	13 週	9、30、90 1 回/週 点滴 (1 時間)	9
VFR 071/043284 (表 2.6.7.5.2)	SD ラット/ 静脈内 急速注入	13 週@	3、9、30、90 (鉄 1、3、10、30 mg/kg; 3 回/週) @	9 (免疫毒性: 90)
VFR 072/052022 (表 2.6.7.5.3)	SD ラット/ 静脈内 急速注入	26 週 +6 週回復	3、9、30 (鉄 1、3、10 mg/kg; 3 回/週)	3
VFR 057/033436 (表 2.6.7.5.5)	ビーグル犬/ 筋肉内	13 週	8.75、35、70 (鉄 1.25、5、10 mg/kg/日)	70 (10 mg/kg/日)
VFR 070/042337 (表 2.6.7.5.6)	ビーグル犬/ 静脈内 急速注入	26 週 +6 週回復 (13 週中間 剖検)	3、9、30 (鉄 1、3、10 mg/kg; 3 回/週)	9 (13 及び 26 週)

@鉄 9、30 及び 90 mg/kg/週 (鉄 3、10 及び 30 mg/kg、3 回/週) の 4 週間免疫毒性試験を含む

週 1 回の持続注入による 13 週間静脈内投与毒性試験における主要な変化及びそれらが発現した投与量を表 2.4.4.2-2 に示す。

表 2.4.4.2-2.　ラット及びイヌにおける週 1 回の持続注入による 13 週間毒性試験の主要所見

主要な所見	発現投与量 (鉄 mg/kg/週)	
	ラット VFR 042	イヌ VFR 041
体重増加量減少	30、90	-
摂餌量減少	30、90	-
大球性又は非再生性貧血	30、90	30、90
APTT 延長	-	30、90
アルブミン減少	90	30、90
ALT や AST の増加	30、90	30、90
ALP 増加	30、90	90
肝臓及び脾臓重量の増加	9、30、90	30、90 (肝臓のみ)
リンパ節の暗調又は大型化	-	30、90
髄外造血	-	9、30、90
褐色色素沈着: 肝臓及び腎臓の細網内皮系	9、30、90	9、30、90
褐色色素沈着: 肝臓又は腎臓の実質細胞	30、90	30、90
肝臓の血管周囲の線維化	-	30、90
肝細胞壊死	-	90
投与部位の刺激性変化	30、90	-

ラットを用いた試験 (試験番号：VFR 042/993363) において、鉄色素はほとんどがマクロファージにのみ認められ、細胞障害を示唆する他の病理組織学的変化は認められなかった。しかし、いくつかの組織 (肝臓、腎臓、副腎) では鉄色素が実質細胞に見られ、過剰鉄の除去に伴う細網内皮系の負荷が示唆された。これらの変化は、主に鉄 30 及び 90 mg/kg/週投与群で認められ、鉄色素は同用量の脾臓の被膜に認められた。鉄 30 及び 90 mg/kg/週投与群では投与部位の軽度の局所刺激性変化が認められ、病理組織学的検討では線維化、血栓及び血管内膜増殖の発現率の増加が認められた。したがって、ラットにおける無毒性量は鉄 9 mg/kg/週と考えられた。週 3 回の静脈内急速注入によるラット 13 週間毒性試験 (試験番号 : VFR 071/043284) においても、鉄 30 及び 90 mg/kg/週 (鉄 10 及び 30 mg/kg、週 3 回) 投与群で認められた変化は、週 1 回の持続注入試験における変化と同様であり、無毒性量は鉄 9 mg/kg/週と考えられた。ラットに週 3 回投与した試験では、鉄 30 及び 90 mg/kg/週投与群で体重増加量が減少し、鉄 90 mg/kg/週投与群では赤血球系パラメータの変化及び肝臓又は腎臓の機能障害を示唆する変化 (トランスアミナーゼの上昇、尿量増加及び尿比重の減少) も認められた。したがって、ラットにおいて、本剤の投与方法 (週 1 回の持続注入又は週 3 回の急速注入) の違いが発現する毒性作用の質又は程度に影響することはなく、いずれの投与方法であっても無毒性量 (1

週間あたりの鉄投与量として) は同じであった。免疫抑制作用の誘発性については、2 回目のラット 13 週間毒性試験 (試験番号：VFR 071/043284) において鉄 90 mg/kg/週までの投与量で 4 週間投与した後、T 細胞依存性抗原 (ヒツジ赤血球) に対する体液性反応によって評価したが、本剤の影響は認められなかった。

本剤のラットにおける 26 週間毒性試験 (週 3 回急速注入、試験番号：VFR 072/052022、表 2.6.7.5.3) では、ラットにおける 13 週間毒性試験 (2 回実施) で認められた所見の他に重要な新たな所見は認められなかった。ラットにおける 26 週間毒性試験では、全ての投与量 (鉄 3、9 及び 30 mg/kg/週) において肝臓又は腎臓の実質細胞で鉄が認められ、鉄 9 及び 30 mg/kg/週投与群における血液学的変化 (赤血球系パラメータの変動) 及び鉄 30 mg/kg/週投与群 (最高用量群) における肝及び腎機能の変化 (トランスアミナーゼ及び血中尿素の上昇) も認められた。したがって、13 週間毒性試験では無毒性量が鉄 9 mg/kg/週であったのに対し、投与期間の長期化に伴って、本試験では無毒性量が鉄 3 mg/kg/週に低下した。ラットを用いた本試験において、鉄 30 mg/kg/週投与群で認められた本剤の影響は、6 週間の回復期間後も回復性をほとんど示さなかったが、鉄貯蔵場所の飽和、及びその後の鉄貯蔵場所からの緩徐な鉄のクリアランス/利用が原因であると推察された。本剤の過敏反応の誘発性を評価するために、鉄 30 mg/kg/週の投与を行った回復群のラットに、回復期間の最終日に鉄 1 mg/kg を再度投与したが、過敏反応を示唆する一般状態の変化は認められなかった。

イヌ 13 週間毒性試験 (週 1 回の持続注入、試験番号：VFR 041/993362、表 2.6.7.5.4) における本剤の毒性プロファイルは、ラットを用いた試験と同様であった。鉄 30 又は 90 mg/kg/週投与群において肝機能や腎機能に対する影響が認められたが、ラットとは異なり、13 週間投与後の鉄 90 mg/kg/週投与群の雌において血中肝酵素値 (ALP 及び AST) の軽微な上昇が認められたのみであった。病理組織学的検査では、組織中に過剰鉄の沈着に関連した変化が認められ、鉄色素が肝臓及び脾臓における細網内皮系の細胞 (マクロファージ、クッパー細胞など) や腎臓の糸球体メサンギウム細胞に認められた。しかし、肝臓では肝細胞にも鉄顆粒が認められ、鉄 30 及び 90 mg/kg/週投与群では血管周囲の線維化や細胞密度の増加も認められた。鉄 90 mg/kg/週投与群 (雄 1 例) では肝細胞壊死が認められた。また腎臓では、鉄 90 mg/kg/週投与群の間質細胞において鉄が認められた。鉄 30 及び 90 mg/kg/週投与群では、他の多くの組織においても、過剰鉄と考えられる褐色色素沈着が認められた。以上の結果から、ラットの試験と同様、無毒性量は鉄 9 mg/kg/週と考えられた。本試験においてはラットの試験と異なり、投与部位における本剤投与液の刺激性を示唆する所見は認められなかった。

次に実施した、1 週間に 3 回の静脈内急速注入によるイヌ 26 週間毒性試験 (試験番号：VFR 070/042337) における本剤の毒性プロファイルは、13 週間毒性試験と同様であった。26 週間毒性試験における投与 13 週間での中間剖検では、いずれの投与群においても細網内皮系の細胞での鉄沈着が認められたが、鉄 30 mg/kg/週投与群 (最高用量群) では顕著であった。肝機能障害 (血中アルブミン及びコレステロールの減少) 及び赤血球系パラメータの軽度な減少が 13 週間投与後の鉄 30 mg/kg/週投与群で認められた。本試験における投与 13 週間での無毒性量は、1 週間に 1 回の持続注入による 13 週間毒性試験 (試験番号 : VFR 041/993362)

と同様、鉄 9 mg/kg/週と考えられた。26 週間投与（1 週間に 3 回投与）については、鉄 30 mg/kg/週投与群において臨床検査データ（APTT 延長、アルブミン減少）から示唆される肝機能障害、及び肝臓での髄外造血を伴う赤血球系パラメータの減少が認められたことから、無毒性量は鉄 9 mg/kg/週と考えられた。鉄 30 mg/kg/週投与群で認められた所見は、6 週間の回復期間後においても認められた。回復期間後においても所見が認められることはラット慢性毒性試験（試験番号：VFR 072/052022）においても確認されているが、貯蔵組織に保持された過剰鉄の代謝やクリアランスが緩徐であるため、慢性毒性試験における長期的な鉄過剰状態での影響の回復性も緩徐となると考えられる。鉄 30 mg/kg/週の投与を行った回復群のイヌ 1 例で肝細胞壊死が認められたが、これは本剤誘発の鉄過剰の結果と推察される。

TK データは反復投与試験で収集されなかったが、組織中鉄濃度をラット及びイヌ毒性試験で測定し、血漿中の鉄を両動物種で評価した。高分子量鉄-炭水化物複合体中の鉄の速度論的特性の観点から、血漿中鉄濃度に比べて、組織中鉄濃度と長期投与時の総鉄暴露との関連性は高いと考えられる。

表 2.4.4.2-3.　イヌ 13 週間毒性試験終了時の組織中及び血漿中の平均鉄濃度（1 回/週静脈内持続注入、試験番号：VFR 041/993362）

群/ 投与（鉄 mg/kg/週）	肝臓		腎臓		脾臓		血漿	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
1（対照）	218	234	52	37	567	697	28	33
2（9）	2743	2538	70	63	919	907	26	29
3（30）	6330	6968	120	132	1618	2070	37*	39
4（90）	13725	14228	501	420	6995	5803	64**	59**

鉄 µg/g 組織又は鉄 µmol/L

*p<0.05 vs. 対照群（組織中鉄濃度データは統計解析を実施していない）

**p<0.01 vs. 対照群（組織中鉄濃度データは統計解析を実施していない）

13 週間投与後における鉄 90 mg/kg/週投与群の肝臓中鉄濃度は、対照群と比較して約 60 倍となったことから、肝臓が本剤投与後の主要な鉄貯蔵器官であると推察される（表 2.4.4.2-3）。したがって、肝臓中鉄濃度は、本剤の試験間の暴露比較及び安全域の評価に関連するパラメータと考えられる。反復投与毒性試験における肝臓中鉄濃度を表 2.4.4.2-4 に示す。

表 2.4.4.2-4.　反復投与毒性試験における平均肝臓中鉄濃度（雄動物、13週間又は26週間、1週間に1回の持続注入又は1週間に3回の静脈内急速注入）

カルボキシマルトース第二鉄（鉄 mg/kg/週）	各投与期間後の雄動物の肝臓中鉄濃度（μg/g）				
期間: 動物種: 試験番号: 投与:	13 週間 イヌ VFR 041 週 1 回	13 週間 イヌ VFR 070 週 3 回	26 週間 イヌ VFR 070 週 3 回	13 週間 ラット VFR 071 週 3 回	26 週間 ラット VFR 072 週 3 回
対照	218	190	284	184	184
3	-	1261	2165	417	796[a]
9	2743[a]	3380[a]	5555[a]	1145[a]	2461
30	6330	8850	14438	4129	8886
90	13725	-	-	10105	-

[a] 無毒性量における肝臓中鉄濃度

全ての反復投与毒性試験において、肝臓における用量相関的な鉄の蓄積が明らかに認められた。イヌの肝臓における鉄の蓄積の程度は、用法の違い（1週間に1回の持続注入又は1週間に3回の急速注入）によらず、13週間の投与期間では同等であった。このことは、用法の異なるイヌの各試験における無毒性量（1週間の鉄投与量として）が同じである理由と考えられる。イヌ13週間毒性試験と26週間毒性試験の結果から、肝臓における鉄の蓄積の程度は、投与期間の延長に伴って増加すると考えられる。しかし、肝臓中鉄濃度の増加の程度は投与期間に比例せず（26週間投与後の濃度は13週間投与後の濃度の2倍未満）、イヌ13週間毒性試験と比較し、26週間毒性試験の無毒性量が低下する程ではなかった。一方、ラットにおける26週間反復投与後の肝臓中鉄濃度は、13週間反復投与後の1週間当たりの投与量が同じ群の測定値の約2倍であったため、ラット26週間毒性試験での無毒性量（鉄3 mg/kg/週）は13週間毒性試験での無毒性量（鉄9 mg/kg/週）より低下したと推察される。

本剤を投与した動物の組織における鉄蓄積のパターンは、高用量投与群で認められた標的臓器毒性（肝及び腎機能障害）と相関する。ヒトにおける慢性鉄過剰の主な臨床症状は、肝線維症及び肝硬変である。本剤の肝臓における所見は、動物における鉄過剰の影響に関する報告と一致している。ラットの実験的な鉄過剰状態では、肝細胞の鉄沈着症が組織学的に認められ、心筋症、脾臓リンパ組織の萎縮及び膵臓萎縮も伴うことが報告されている（46）。しかし、鉄の投与量が実質組織の鉄過剰を引き起こすレベルに達していなければ、鉄毒性は必ずしも認められない。

本剤を用いた反復投与毒性試験における所見は、スクロース鉄を用いて実施された同一の試験で報告されたものと類似している。ラットでは、スクロース鉄の鉄30及び90 mg/kg/週（鉄10及び30 mg/kg、週3回）の投与によって、体重増加の減少や、いくつかの組織の細網内皮系での広範な鉄沈着を伴う大球性貧血が認められ、高用量投与群（鉄90 mg/kg/週）では肝細

胞毒性も認められている。スクロース鉄を用いた本試験での無毒性量は鉄 3 mg/kg/週 3 回であり、本剤のラット 13 週間静脈内投与毒性試験における最大無作用量である鉄 9 mg/kg/週と同等であった（14）。イヌでは、スクロース鉄の鉄 30 及び 90 mg/kg/週（鉄 10 及び 30 mg/kg、週 3 回）の投与によって、体重増加の減少及び赤血球系パラメータの減少が認められ、低用量（鉄 9 mg/kg/週）を含む全ての投与群において肝毒性が認められている。肝臓における変化として、いずれの投与量においても血管周囲の線維化が見られ、高用量においては肝細胞壊死が認められている。結果として、スクロース鉄を用いた本試験では明確な無毒性量は求められなかった（15）が、本剤ではスクロース鉄の低用量と同等量（鉄 9 mg/kg/週）が、イヌ 13 及び 26 週間毒性試験での無毒性量であった。

本剤を投与した動物における赤血球系パラメータの減少は、非経口投与による鉄複合体の治療効果に反する所見とも考えられるが、類似した所見は、スクロース鉄を含む他の非経口鉄複合体の毒性試験においても認められている（14、15）。遊離鉄（鉄過剰状態における鉄の緩衝能及び結合能の飽和時に認められる可能性がある鉄）は、網赤血球集団に有害作用を及ぼし、ヘム合成（83）と同様に、T リンパ球（16）等の他の細胞集団に影響する可能性がある。

本剤の筋肉内投与による使用の可能性を考慮して、イヌ 13 週間毒性試験を実施し（試験番号：VFR 057/033436、表 2.6.7.5.5）、筋肉内投与によるイヌ 2 週間毒性予備試験（試験番号：VFR 056/030032（参考資料））も先行して実施した。予備試験では、特に筋肉内経路による注入量の限度が認められたため、イヌ 13 週間筋肉内投与毒性試験（試験番号：VFR 057/033436、表 2.6.7.5.5）は、鉄 0（対照）、1.25、5 及び 10 mg/kg/日の投与量で実施した。静脈内投与毒性試験の場合と同様に、鉄蓄積がいずれの投与量においても筋肉内投与後の細網内皮系の細胞で認められ、プルシアンブルー陽性物質が肝臓、腎臓、脾臓、副腎及びリンパ節で認められた。褐色色素性マクロファージが、注射部位の筋線維束、間質、皮下組織及び真皮で認められた。組織中鉄濃度に関して、筋肉内投与された鉄の全量が吸収及び利用されたとすると、筋肉内投与後の鉄 10 mg/kg/日投与群（鉄 70 mg/kg/週）での鉄蓄積の程度は、脾臓及び腎臓ではイヌ 13 週間静脈内投与毒性試験の結果から予想された量よりわずかに低値であったが、肝臓では静脈内投与試験から予測された値に近かった。しかし、静脈内投与毒性試験とは異なり、イヌ 13 週間筋肉内投与試験ではいずれの投与量においても鉄過剰毒性（肝又は腎機能障害）の所見は認められなかったことから、鉄 10 mg/kg/日（鉄 70 mg/kg/週）がイヌ 13 週間筋肉内投与毒性試験における本剤の無毒性量であった。

ラット及びイヌの反復投与毒性試験における主な所見は、全て慢性的な鉄過剰から生じる予想可能な変化である。13 週間静脈内投与毒性試験における本剤の無毒性量は、いずれの動物種においても鉄 9 mg/kg/週であり、用法の異なる試験（1 週間に 1 回の持続注入又は 1 週間に 3 回の急速注入）であっても無毒性量は同量であった。26 週間投与（1 週間に 3 回）後の無毒性量は、イヌでは鉄 9 mg/kg/週、ラットでは鉄 3 mg/kg/週であった。これらの無毒性量は、鉄欠乏性貧血における本剤の予想治療用量（鉄 9.1 mg/kg/週まで）を下回っている。そのため、本剤の臨床使用のための安全域がないとも考えられるが、毒性試験は鉄欠乏動物ではなく、十分な鉄を保持する動物で実施されているため、安全域の算出に際して動物実験結果の鉄欠乏

患者への外挿性は乏しい。本剤由来の鉄の、標的組織への効率的な取り込み及び吸収や、標的及び貯蔵組織からの低いクリアランスは薬物動態試験において示されており、鉄過剰及び鉄毒性は、試験を通じて投与された総鉄用量に関連して発現すると考えられる。13 週間静脈内投与毒性試験での無毒性量は、総投与量としては鉄 117 mg/kg となり、臨床において一連の治療の際に投与される最大総鉄用量 (鉄 27.3 mg/kg) の 4.3 倍にあたる。したがって、総鉄暴露量については、13 週間毒性試験と最大ヒト暴露量との間には 4.3 倍の安全域が認められる。正常時の内因的な組織負荷に対する安全域に関しては、組織中鉄濃度の結果から、いずれの試験においても無毒性量での投与に伴って肝臓中鉄濃度が対照群の 4～20 倍となり、肝臓中鉄濃度が対照群の 13 ～ 50 倍に達するまで鉄過剰毒性 (肝及び腎機能障害) を示す所見は認められない。したがって、本剤の安全域については、組織中鉄濃度に基づいて適切に評価されると考えられる。

反復投与試験における本剤誘発性の変化は、過剰鉄の利用又は排泄に従って、時間経過とともに回復すると考えられる。不可逆的な可能性のある変化は、イヌ 13 週間毒性試験 (週 1 回の持続注入試験、試験番号 : VFR 041/993362) において鉄 30 及び 90 mg/kg/週投与群の肝臓で認められた血管周囲の線維化のみであるが、本変化はラット及びイヌの 26 週間毒性試験では投与終了後 6 週間ではほとんど回復が認められなかった。本剤の薬物動態試験では、本剤投与後 28 日におけるクリアランスがほとんど認められておらず、実際、鉄は標的組織 (赤血球) に取り込まれたままであった。鉄の貯蔵形態 (組織中のフェリチンに結合したもの) は非常に安定で、正常動物における代謝回転も低いことが知られている。ヒトでは、1 日の鉄代謝回転又は必要量が 1～3 mg 程度であるのに対して、全身の鉄貯蔵量は約 800 mg と考えられていることから、鉄分の摂取/吸収の程度に応じて、貯蔵鉄の約 0.2%のみが利用又は代謝回転すると考えられる。鉄過剰状態での貯蔵鉄の利用率はさらに小さくなり、実際、貯蔵鉄は非常に緩やかに減少すると考えられ (1) 、実験的には Iancu らによるヒヒの鉄過剰の研究において示されている (72) 。ポリマルトース鉄又はソルビトール鉄の 15 カ月間筋肉内投与したヒヒの肝生検を行い、投与量を鉄 30 mg/kg/週程度 (体重約 12 kg と仮定) として、血清 AST レベル (投与 15 カ月後には 12 U/L の基準値から 120 U/L に増加) 及び形態学的な鉄分布 (肝細胞並びにクッパー細胞の細胞内レベル) について検討することで、鉄過剰を評価している。結果として、鉄剤投与終了後 6 カ月においても血清 AST は軽度に上昇 (35 U/L) しており、類洞細胞における多量の鉄も認められている。また投与終了後 12 カ月では、肝細胞中鉄は減少し、細網内皮系細胞における多量の鉄沈着や門脈周囲の線維化が認められるものの、実質組織は正常化していた。Iancu らの検討では、肝実質組織における鉄過剰の回復には長い時間を要することが示されていることから、本剤の 26 週間毒性試験において、投与終了後 6 週時に鉄過剰の回復性が認められないことは想定される。ラット及びイヌにおける本剤の長期投与によって誘発される肝及び腎機能障害の明らかな回復には、数カ月から 1 年の期間を要すると考えられる。

本剤の反復投与毒性試験では、免疫機能に及ぼす影響についても併せて評価した (CPMP Note for Guidance on Repeat Dose Toxicity、18) 。検討する鉄の形態に依存するが、過剰鉄又は

遊離鉄はリンパ球に対して毒性を示すことが報告されている (16) 。リンパ球のフェリチン合成能は限られていると考えられるため、過剰鉄の処理能も不十分であると推察される。しかし、本剤の 28 日間の反復投与は、鉄 90 mg/kg/週 (最大検討用量) の用量であっても、ラットの T 細胞依存性抗原に対する体液性応答に対して影響を及ぼさなかった (試験番号：VFR 071/043284、本剤の免疫刺激 [過敏反応] の可能性は 2.4.4.7 項を参照) 。

長期使用を含む非経口鉄補充療法として使用するにあたり、本剤の毒性プロファイルは反復投与毒性試験によって十分に評価されており、追加試験は不要と考えられた。

2.4.4.3 遺伝毒性試験

本剤の遺伝毒性試験として以下の 4 試験を実施した。

表 2.4.4.3-1. 遺伝毒性試験一覧

試験番号	試験法	濃度/投与量 (鉄濃度)
VFR 029/985223 (表 2.6.7.6.1)	細菌を用いる復帰突然変異試験	5 ~ 5000 µg/plate (-/+ S9)
VFR 028/992094 (表 2.6.7.6.2)	哺乳類細胞を用いる*in vitro*染色体異常試験	1250 ~ 5000 µg/mL (-/+ S9)
VFR 030/992265 (表 2.6.7.6.3)	哺乳類細胞を用いる*in vitro*突然変異試験	78 ~ 5000 µg/mL (- S9) 156 ~ 5000 µg/mL (+ S9)
VFR 031/992700 (表 2.6.7.7.1)	マウスを用いる小核試験	125、250、500 mg/kg (静脈内投与)

細菌を用いる復帰突然変異試験及び哺乳類細胞を用いる *in vitro* 染色体異常試験において、本剤の影響は認められなかった。マウスリンパ腫 L5178Y 細胞を用いた *in vitro* 突然変異試験では、代謝活性化系の非存在下において鉄 1,250 及び 2,500 µg/mL の濃度で突然変異頻度の増加が 1 試験で認められた。しかし、鉄 1,250 µg/mL における平均突然変異頻度は背景データの範囲内であり、鉄 2,500 µg/mL では相対細胞生存率は 10%以下であった。したがって、哺乳類細胞を用いる *in vitro* 突然変異試験において、本剤の遺伝毒性は認められないと判断した。

マウスを用いる小核試験では、本剤 (鉄 125、250 及び 500 mg/kg) の急速静脈内投与は、骨髄における小核出現率に影響を及ぼさなかった。なお、本試験において骨髄における本剤の曝露については未検討だが、投与経路が静脈内投与であること並びに組織分布試験の結果から標的組織は曝露されていると考えられた。

本剤の遺伝毒性試験は、ICH ガイドライン S2A 及び S2B (19、20) に準拠して実施した。遺伝毒性試験 4 試験の結果から、本剤は遺伝毒性を有さないと考えられた。

2.4.4.4 がん原性試験

動物を用いたがん原性試験は実施しなかった。臨床上は本剤を長期間使用する可能性があるが（例: 腎疾患患者）、がん原性試験の省略は以下の理由から妥当であると考えられる。

1) 本剤は、単に鉄欠乏状態を補正するための非経口鉄製剤として投与されるため、「補充」療法用製剤であると考えられる。ICH ガイドライン S1A (21) に従えば、がん原性試験は補充療法用製剤では要求されていない。本ガイダンスではタンパク質又はペプチドホルモン製剤の補充療法を取り扱っているが、同様の考え方が補充療法用として使用される鉄炭水化物複合体にも適用できると考えられる。
2) カルボキシマルトース第二鉄複合体の分解生成物（水酸化鉄、マルトース、マルトトリオース、マルトテトラオース及びグルコース）は、内因性分子で一般的に安全とされる物質であり、非経口製剤として投与されてきた長い歴史がある。鉄利用の生理学的調節を考えると、本剤を治療のために投与した場合、鉄はトランスフェリンに結合すると考えられる。したがって、治療時に適切にモニターされていれば、酸化ストレス及びフリーラジカル生成（発がんと関連する可能性がある）を引き起こす可能性のある組織中鉄過剰は生じないと考えられる。
3) 本剤について実施した全ての遺伝毒性試験は陰性であった。
4) 26 週間静脈内投与毒性試験では、実質組織に相当量の鉄の過剰及び蓄積を引き起こす高用量であっても、ラット及びイヌで増殖性又は前腫瘍性病変は認められなかった。

遊離鉄を放出し、活性酸素種（例: ヒドロキシルフリーラジカル）の生成を触媒するならば、鉄を含む化合物は発がん性物質になりうるとも考えられるが、本剤及び他の鉄炭水化物複合体の鉄は、安定な複合体（水酸化鉄 III）の形態をとるため、単核性水酸化鉄（フリーラジカルを生成することなく鉄結合蛋白質に移行できる生体利用可能な鉄の形態）として、制御された速度で放出される（1）。動物では、鉄欠乏はマウスにおいて腫瘍増殖を低下させることが報告されており（42、43）、高鉄含有飼料は、マウスにおける自然発生性腫瘍の増殖を促進させる（例: C3H マウスにおける乳腺腫瘍）。これらの試験は、体内の他の正常細胞と同様に、腫瘍細胞においても増殖のために鉄が必須の栄養素であることを示しているとも考えられる。1980 年代のいくつかのヒトの試験では、体内の総鉄貯蔵量が高値の時、発がんリスクの明らかな上昇が認められているが（22、23）、それらの評価の妥当性は疑問視されており（24、25）、鉄の補充又は鉄過剰に関連したヒトの発がんリスクについて議論が続いている。疫学的及び実験的研究における最近の分析によれば、過剰鉄と大腸がん及び腎がんの発生率には明確な関連性があり、また、ヘモクロマトーシス患者における肝がんのリスク増加は、病態における肝臓の鉄過剰と関連している可能性がある（78）。実験的には、経口鉄自体は大腸がんのリスクを増加させないが、ニトロソウレア化合物の投与後のラットの発生率の増加

が見られ、鉄が発がんプロモーターとして作用する可能性を示唆している。このような大腸がんの発生率に及ぼす影響は、非経口的に投与される本剤では該当しないと考えられる。

Huang は、増殖及び腫瘍促進を刺激し、*in vivo* では測定することが非常に難しい低分子量の「酸化還元活性」を示す鉄が存在する可能性について報告している（ 78 ）。鉄の状態の評価に用いる一般的なパラメータ（ 血清鉄、フェリチン及び鉄結合能など ）は、体内の「酸化還元活性」を示す鉄を評価できないと考えられるため、鉄を投与された被験者又は鉄過剰の被験者における発がんリスクのバイオマーカーとして適切ではない。強固な鉄炭水化物複合体の化学的性質を考慮すると、典型的な臨床症状の下での使用に際しては、「酸化還元活性」のある鉄は増加しないと考えられるが、非経口での鉄補充の影響による様々なリスクの増加に対して、鉄欠乏の補正によって患者が得る総合的な有益性は慎重に考慮されなければならない。

動物実験では、デキストラン鉄の高用量投与によって、筋肉内又は皮下の投与部位に肉腫が誘発されることが多く報告されている（ 26、27、28、41 ）。腫瘍はデキストランのみをマウスに投与した際には誘発されず、鉄塩類（ クエン酸鉄、サリチル酸鉄又はアスコルビン酸鉄 ）あるいはアルミニウム塩又は銅塩といった金属塩では、デキストラン鉄と比較してほとんど腫瘍誘発性は認められていない（ 28 ）。デキストリン鉄においても、ラットへの皮下投与後の肉腫誘発性が報告されているが（ 29 ）、ソルビトールクエン酸鉄のようなさらに不安定な複合体の投与では、腫瘍は誘発されていない（ 30 ）。ヒトでは、デキストラン鉄の筋肉内投与後の肉腫が、1973 年に 2 例報告されているが（ 31 ）、ヒトのデータの再調査の結果、デキストラン鉄投与に関連する腫瘍発生については、ヒトで大きなリスクは存在しないと結論づけられている（ 32 ）。これらの公表論文から、動物で認められる現象は、強固な鉄炭水化物複合体を、体重に基づくヒト投与量の最大 150 倍という非常に高い用量で投与することによって発現した顕著な局所作用の結果であると考えられる（ 29 ）。投与部位には、大型で緩やかに解離する鉄の蓄積部位が形成されるため、肉腫形成を引き起こすような顕著な局所の組織反応を引き起こす可能性がある（ 33 ）。ラットやマウスは高等な動物種に比べて、腫瘍を誘発する鉄複合体に対して感受性が高いと考えられる。医療器具に用いられるポリマー素材によってげっ歯類で誘発される固形腫瘍についても、本事象と関連していると考えられる。ポリ-L-ラクチド又はポリエチレンのようなポリマーを含むこれらの素材は、ラットに皮下移植した時に間葉系悪性腫瘍を誘発する（ 33、34 ）が、ヒトの疫学データから、移植される医療用具物質としての使用では肉腫形成のヒトでのリスクを増加させないことが示されている（ 35 ）。このことは、皮下（ 又は筋肉 ）組織で投与への反応が起こる場合、肉腫の誘発についてげっ歯類では高い感受性があり、げっ歯類の腫瘍からはヒトでの反応性を予測することはできないことを示している。臨床での使用経験を考慮すると、皮下又は筋肉内経路によって非経口的に投与される場合、デキストラン鉄又はその他の鉄炭水化物複合体が重大なリスクをもたらすという根拠はほとんどない。本剤の場合、剤型は静脈内投与又は点滴を想定しており、将来的には筋肉内投与も行う可能性がある。

以上より、鉄過剰投与を回避するために適切なモニタリングが治療期間中に実施される場合、他の鉄化合物における十分なデータ及び文献情報から、本剤を用いた長期治療はがんのリスクを増加させることはないと考えられる。

2.4.4.5　生殖発生毒性試験

ラット及びウサギを用いて、全ての生殖発生毒性試験を以下のように行った（表 2.4.4.5-1）。

表 2.4.4.5-1.　生殖発生毒性試験一覧

試験番号	動物種/ 投与経路	試験種	投与量 (鉄 mg/kg)	無毒性量 - 親動物/胎児 (鉄 mg/kg)
VFR 048/002163 (表 2.6.7.9.2)	SD ラット /静脈内	胚・胎児 毒性	3、9、30 - 毎日 (妊娠 6～17 日)	3/9
VFR 049/004349 (表 2.6.7.9.4)	New Zealand White ウサギ /静脈内	胚・胎児 毒性	4.5、9、13.5、18 - 毎日 (妊娠 6～19 日)	9/4.5
VFR 050/004685 (表 2.6.7.8.1)	SD ラット /静脈内	受胎能及び 初期胚発生	3、9、30 - 週 3 回 雄 - 交配前 4 週間 雌 - 交配前 2 週間 及び妊娠 0 又は 1、 3 及び 7 日	9/30
VFR 052/013368 (表 2.6.7.10.1)	SD ラット /静脈内	出生前・後	3、9、18 - 毎日 (妊娠 6～19 日) 、 その後授乳 1、4、7、 10、14 日	9/18

ラットにおける胚・胎児毒性試験では、母動物の毒性として、用量依存的な体重増加抑制が鉄 9 及び 30 mg/kg/日投与群で認められ、また、鉄 30 mg/kg/日投与群では摂餌量減少も見られた。これらの用量では、妊娠 20 日の剖検時、器官の橙変又は褐変が母動物で顕著であった。胚・胎児の生存及び成長に対する影響は全用量で認められなかった。胎児で見られた投与によるものと考えられる変化は、鉄 30 mg/kg/日投与群における肋骨の肥厚又は弯曲を伴う胎児の発生率の増加のみであったが、本用量では顕著な母動物の毒性が見られ、げっ歯類の胚・胎児毒性試験において、母動物の毒性用量では肋骨の異常は一般的かつ可逆的な所見であることから（36、37）、これらの所見は本剤の特異的な胚・胎児毒性を示すものではないと考えられた。

ウサギにおける胚・胎児毒性試験では、高用量 (鉄 13.5 及び 18 mg/kg/日) で死亡及び流産を含む顕著な母動物の毒性が見られた。鉄 18 mg/kg/日投与群における本所見から、本試験における生殖能の完全な評価は、鉄 4.5、9 及び 13.5 mg/kg/日投与群に限定して実施した。鉄

13.5 mg/kg/日投与群の雌生存例では、摂餌量は減少し、妊娠 29 日の剖検時、器官の橙変又は褐変が認められた。胎児の生存及び成長に対する影響は認められなかったが、骨格検査では、数例の胎児に頭蓋の異常（ ドーム頭、水頭症 ）及び様々な骨化の異常が見られた。鉄 9 mg/kg/日投与群では、同様に器官の橙変又は褐変が母動物に見られたが、他の毒性兆候は見られなかった。本用量の胎児では、1 例にドーム頭が見られ、趾骨の不完全骨化も見られた。鉄 4.5 mg/kg/日投与群では、母動物に明らかな所見は認められなかったが、趾骨の未骨化を有する胎児及び母体（ 腹 ）の発生率が増加した。しかし、鉄 4.5 mg/kg/日投与群でのこれらの骨化の変化は、胎児骨格の発達のわずかな遅延を表しており（ 母動物の鉄過剰が原因と考えられる ）、本質的に一過性であると考えられるため、胎児に対する不可逆的な影響を表すものではないと考えられる。本試験において鉄 4.5 mg/kg/日を投与された母動物の胎児における趾骨未骨化の発生率を、本剤の試験と同じ購入元のウサギを用い、同施設でほぼ同時期（ 19[redacted]年[redacted]月 ～ 20[redacted]年[redacted]月 ）に実施された同様のウサギの試験の対照群における発生率と比較した。それらの背景データを以下の表 2.4.4.5-2 に示す。

表 2.4.4.5-2.　19[redacted]年[redacted]月 ～20[redacted]年[redacted]月の間に[redacted]で行われた胚・胎児毒性試験の対照群のウサギ胎児における趾骨未骨化の発生率についての背景データ（77）

試験番号/用量@	試験実施日	対照群における趾骨未骨化の発生率					
		母体数			胎児数		
		No.	N	%	No.	N	%
1	19[redacted]年[redacted]月	0	4	0.0	0	38	0.0
2	19[redacted]年[redacted]月	0	5	0.0	0	46	0.0
3	19[redacted]年[redacted]月	0	4	0.0	0	31	0.0
4	19[redacted]年[redacted]月	0	20	0.0	0	123	0.0
5	20[redacted]年[redacted]月	1	6	16.7	1	31	3.2
VFR 049							
対照群	**20[redacted]年[redacted]月**	**2**	**22**	**9.1**	**2**	**118**	**1.7**
4.5		**5**	**16**	**31.3**	**10**	**102**	**9.8**
9.0		**6**	**19**	**31.6**	**24**	**105**	**22.9**
13.5		**6**	**16**	**37.5**	**22**	**94**	**23.4**
6	20[redacted]年[redacted]月	4	20	20.0	5	126	4.0
7	20[redacted]年[redacted]月	2	18	11.1	2	113	1.8
8	20[redacted]年[redacted]月	4	19	21.1	8	96	8.3
9	20[redacted]年[redacted]月	5	25	20.0	13	136	9.6
10	20[redacted]年[redacted]月	5	18	27.8	14	88	15.9

N=総検査数。@ 用量は VFR 049 試験のみ示す（ 鉄 mg/kg/日 ）。

これらの背景データを基に、本剤の試験とほぼ同時期に実施されたウサギの胚・胎児試験における胎児の趾骨未骨化の発生率に注目すると、VFR 049/004349 試験の鉄 4.5 mg/kg/日投与群で見られた発生率は、本試験の実施後約 1 年までに行われた試験で対照群の胎児において認められた発生率とほぼ同様であることが示された。本剤の鉄 4.5 mg/kg/日投与群における本所見の胎児での発生率は、上の表の試験番号 8 及び 9 の対照群の発生率と同様であり、試験番号 10 の対照群の発生率を下回った。本所見の母体あたりの発生率についても、試験番号 10 の対照群では、本剤の鉄 4.5 mg/kg/日投与群で見られた発生率に近い値を示した。したがって、本検討に基づき、本剤のウサギ胚・胎児毒性試験で用いられた低用量（ 鉄 4.5 mg/kg/日。鉄 31.5 mg/kg/週に相当。 ）は、ウサギの胚・胎児発生についての無毒性量と考えられた。鉄 9 及び 13.5 mg/kg/日のようなより高い用量で観察された胎児の異常については、母動物の毒性や鉄過剰の兆候との関連性が明らかに認められたため、本剤の特異的な胚毒性又は胎児毒性作用ではないと考えられる。

本剤の胚・胎児毒性試験で認められる変化は、鉄-炭水化物複合体である鉄-ポリ（ ソルビトール-グルコン酸 ）複合体を用いて実施された生殖発生毒性試験（ 38 ）で認められる変化に類似しており、妊娠動物における鉄過剰が原因と考えられる。同様の変化が、スクロース鉄（Venofer）を用いて行われた胚・胎児毒性試験（68、69）においても認められた。

ラットにおける受胎能及び初期胚発生試験（ 試験番号：VFR 050/004685、表 2.6.7.8.1）では、本剤を交配前 4 週から F_0 雌との交配後 1 ～ 4 週まで雄性ラットに投与し、雌性ラットには交配前 2 週から着床（ 妊娠 7 日 ）まで投与した。投与は 1 時間静脈内持続注入で 1 週間に 3 回行った。体重増加量の減少が、鉄 30 mg/kg/回投与群の雌雄の親動物で認められたが、交尾能力、妊娠率、妊娠 14 日までの胎児生存率への投与の影響は、いずれの用量においても認められなかった。試験終了時に雄の精管から採取した試料で精子運動性を評価したが、投与の影響は認められなかった。このように、本試験ではラットの受胎能又は初期胚発生への本剤投与の影響は、最大臨床用量（1 週間 ）の 9.9 倍である鉄 90 mg/kg/週までの用量で認められなかった。

ラットにおける出生前及び出生後の発生に関する試験（ 試験番号：VFR 052/013368、表 2.6.7.10.1）では、F_0 母動物における投与に関連した所見は、剖検時の器官の橙変又は褐変（ 全用量 ）、摂餌量減少（ 鉄 9 及び 18 mg/kg/日 ）及び体重増加量の有意な減少（ 鉄 18 mg/kg/日 ）のみであった。母動物への投与は、いずれの用量においても、F_1 出生児の出生前又は出生後の生存率、さらにはその後の行動、性成熟又は繁殖能力に影響を及ぼさなかった。F_1 出生児の発育速度は、高用量（ 鉄 18 mg/kg/日 ）で生後数日間、わずかに減少したが、その後は対照群と同様であった。以上のように、本試験から、妊娠及び授乳期間に本剤を投与した母動物の出生児において、出生前及び出生後の発生に及ぼす本剤の特異的影響は認められないことが明らかとなった。鉄 18 mg/kg/日投与群での F_1 出生児の初期の体重増加におけるわずかな減少は、本期間に見られた母動物の毒性（ 体重増加抑制 ）の二次的影響であったと推察されるため、本用量は生殖パラメータについての無毒性量であると考えられる。本用量（ 鉄 126 mg/kg/週に相当 ）は、臨床的に投与される可能性のある本剤の最大臨床用量（ 1 週間 ）

の 13.8 倍である。

本剤について実施した生殖発生毒性試験は、ICH ガイドライン S5A（39）の推奨に従っている。成熟動物及び受精から性成熟までの発生の全過程（ICH ガイドラインで区分されているステージ A ~ F）をこれらの試験で網羅している。出生前及び出生後の毒性試験について、ガイドラインでは授乳終了（ラットでは授乳 20 又は 21 日）まで投与を続けるべきと述べられているが、本剤の最終投与は授乳 14 日であった。しかし、カルボキシマルトース第二鉄複合体における鉄の動態及び特性を考慮すると、授乳終了まで母動物は継続的に曝露されていたものと推察され、ガイドラインとのこの軽度の差異が試験の信頼性に影響することはなかったと考えられる。ラットを用いて行われた胎盤移行性試験（試験番号：VFR 062/033271 及び SR-1077/E01）では、出生前及び出生後の毒性試験において、本剤から低濃度の鉄が乳汁を介して出生児に移行した可能性が高いことが示された。雄の生殖器の毒性については、ICH ガイドライン S5B（40）に従って、ラットにおける受胎能及び初期胚発生試験（試験番号：VFR 050/004685、表 2.6.7.8.1）の一部として精子運動性を評価し、ラットにおける 13 週間静脈内持続注入毒性試験（試験番号：VFR 042/993363、表 2.6.7.5.1）の一部として ICH ガイドラインで推奨されている精巣の組織学的検査を行うことで確認した。

本剤について実施された生殖発生毒性試験は、妊娠又は授乳中の女性における製品の使用に関してリスク評価するには十分であると考えられる。妊娠動物における鉄炭水化物複合体の有害作用を示すデータがあるが、通常、明らかな鉄過剰を引き起こすような非常に高い投与量のみでの作用である。デキストラン鉄は、妊娠ラットへの大量投与で催奇形性を示し胚に致死的に作用すると報告されている（47）。妊娠後期（妊娠 26 ~ 30 日）のウサギに大量のデキストラン鉄を静脈内投与（鉄 15、60 及び 150 mg/kg）することにより、鉄 60 及び 150 mg/kg 投与群で胎児死亡の増加が認められた（44）。ラットでは、妊娠 17 ~ 20 日に総投与量が鉄 800 mg/kg のデキストラン鉄を静脈内投与することにより、顕著な母動物毒性が見られ、出生児の成長及び生存性が悪化した。胎児の肝臓中鉄濃度は出生時に増加していたが、4 週齢までに正常に戻った（44）。これらの試験は、妊娠時の重度の鉄過剰が及ぼす影響を明らかにするだけと考えられ、よく管理されモニタリングされた臨床条件下で補充療法として使用される時の妊娠時における本剤の影響を予測するものではない。スクロース鉄を含む非経口の鉄製剤は、長年、妊娠時の貧血の予防及び治療において使用されており、通常、その有益性は胎児に対するリスクを上回ると考えられている。妊娠初期の 4 ヵ月間、非経口鉄を投与された 66 人の女性を含む試験においても、妊娠の様々な時点で投与された 1,864 人の女性における試験においても、先天異常の増加はなかった（53）。妊娠時の本剤の投与を不可能にするような動物のデータはなく、妊娠の初期に禁忌にすべきということを示唆するような非臨床データもないが、妊娠した女性への本剤の投与を考慮する場合、母体及び胎児への潜在的リスクに対しての有益性を慎重に考慮するべきである。

胎児への鉄の供給は胎盤によって厳密に制御されている（56、79、80、81）。胎児に供給される鉄の供給源は、母体の血漿画分におけるトランスフェリン結合鉄である。母体のトランスフェリンは胎盤に結合するが、胎児血液には移行せず、鉄についてはモルモットで見られる

ように（59）、能動輸送により胎児血液に放出、移行する。鉄欠乏の状態においては、ウサギでは母体の鉄貯蔵を犠牲にして、鉄が胎児に供給されるかもしれない（57）。過量投与状態では、ラット試験において胎児の総鉄含有量が母体の鉄欠乏及び鉄過剰の状態で同様であることが示されているように（58）、胎児は母体において吸収された鉄のプールから少量の鉄を取得する。このように、胎児への鉄の供給は厳密に調節されていると考えられ、その作用は鉄過剰状態においても胎児を保護するはずである。本剤が妊娠中に投与される場合でも、本作用により、胎児に対するリスクはほとんどないことがある程度保証され、それはラット及びウサギの胚・胎児毒性試験（試験番号：VFR 048/002163 及び VFR 049/004349、表 2.6.7.9.2 及び 2.6.7.9.4）において高用量を投与した時に、本剤の確実な催奇形性は全く認められないことにより裏付けられる。ラットにおける静脈内投与後の本剤からの鉄の胎盤移行についてのデータでは、投与後 7 日には投与された鉄の約 9%が胎児へ移行し、胎児の鉄過剰の防止における胎盤のバリア効果は明らかであった（試験番号：VFR 062/033271、表 2.6.5.7）。Romeu らが公表したデータ（82）によれば、この程度の鉄の胎盤移行は、妊娠後期におけるラット胎児への正常な生理的鉄移行の範囲内である。

ラットでは静脈内投与された本剤から乳汁を介して、低濃度（投与後 28 日で、総鉄投与量の 12%）の鉄が出生児に移行する。投与後 24 時間における乳汁/血漿 AUC 比は 0.09 と低く、本剤投与後の鉄の乳汁への排出は非常に低いことが示された。これらのデータは、ラットにおける出生前及び出生後の毒性試験（試験番号：VFR 052/013368）において毒性所見がないことと合わせ、授乳中の母親への本剤の投与による乳幼児のリスクはほとんどないことを示唆している。

本剤に関して、新生児又は幼若動物の毒性試験は実施していない。本製品は鉄欠乏の新生児又は小児患者に投与される可能性があるが、幼若動物における毒性データがないことが懸念事項であるとは考えられず、成熟動物の場合と同様に、幼若動物の毒性試験を実施しても、すでに十分に資料が得られている正常動物における鉄過剰の影響が示されるのみであると予想される。成長期にある動物やヒトでは鉄の要求量が成熟個体より高く、鉄過剰の発現リスクは低いと考えられる。体内総鉄量の評価に基づいて投与量を調整する小児での補充療法としての本剤の使用では、成人での本剤を用いた治療と同様に、鉄過剰による毒性は発現しないと推察される。13 週間毒性試験に関してラットについては急速に成長中の若齢成熟動物を用いて、イヌについては若く性的に未熟な動物を用いて行われたことを考慮すれば、これらの試験のデータは小児患者における毒性の予測に用いることができると考えられる。

以上のことから、成人と比較して小児で、本剤の使用中に発現する毒性のリスク増加があるとは考えられず、その毒性は若齢成熟動物を用いて行われた今回の反復投与毒性試験によって十分予測可能である。

2.4.4.6 局所刺激性試験

本剤のヒトに用いることを想定した製剤（鉄 50 mg/mL）を使用して、静脈内投与、動脈内投与及び静脈周囲投与によって、予定臨床投与経路に関連したウサギにおける局所刺激性試験を実施した。

ウサギにおける局所刺激性試験 3 試験のいずれにおいても、投与部位における組織学的変化は投与手技によるものと考えられ、ごく稀に認められる変化としてわずかな色素沈着がマクロファージ内に認められた。この変化は、真皮マクロファージによる本剤の除去及び取込みによるものと考えられ、局所刺激性を示すものではなかった。静脈内投与、動脈内投与及び静脈周囲投与に伴う変化の範囲及び発生頻度については、本剤と対照（生理食塩液）の投与部位で同様であり、本剤の組織に対する全般的な刺激性は認められなかった。

投与部位については、ラット及びイヌ 13 週間反復投与毒性試験においても検討した（試験番号：VFR 042/993363 及び VFR 041/993362、表 2.6.7.5.1 及び 2.6.7.5.4）。ラットを用いた試験では、鉄 30 及び 90 mg/kg/週投与群において、投与部位における病理組織学的変化（線維化、血栓及び血管内膜増殖）の発生頻度が増加した。しかし、イヌを用いた試験では、投与部位の病変は増加しなかった。なお、13 週間反復投与毒性試験において用いられた投与液は、投与容量を一定とするために生理食塩液で希釈調製されたため、臨床製剤とは異なる。また、ラットで認められた所見は、持続注入の手技自体の影響を受けた可能性がある。ラットの持続注入は尾静脈に留置した針から 1 時間かけてチューブによる拘束下で実施されたが、本手技自体が投与部位における外傷（投与液の軽微な刺激性の増加）につながったとも考えられる。静脈内投与による試験の結果を踏まえると、本剤の静脈内の投与経路での忍容性は良好であり、静脈周囲投与や動脈内投与といった誤投与が著しい刺激性につながることはないと考えられた。

筋肉内投与による使用の可能性を考慮した本剤の評価のために、ブタにおける局所刺激性/残留試験 3 試験を実施した（試験番号：SR-1076/E01、SR-1089-01/E01 及び SR-1091-01/E01（いずれも参考資料）、表 2.6.7.11）。第 1 試験（試験番号：SR-1076/E01（参考資料））では、ブタの後肢筋肉に鉄 200 mg（本剤の鉄 10 w/v%溶液）を注射したが、Schmitz らの方法（48）に従った本モデルにおいて、本剤（16 ロット）の投与に伴う局所反応は認められなかった。第 2 試験（試験番号：SR-1089-01/E01（参考資料））では、1 例のブタに本剤（鉄 5 w/v%）を鉄 50 mg/kg の用量で筋肉内注射したが、7 日後においても肉眼的及び組織学的に着色が認められた。第 3 試験（試験番号：SR-1091-01/E01（参考資料））では、本剤（鉄 5 w/v%）又は 3 つの異なるデキストラン鉄剤の鉄 100 mg 当量の筋肉内投与後 7 日において、注射部位における残留鉄の定量評価を行った。いずれの鉄剤も忍容性は良好であり、投与後 7 日で投与された鉄の 85 ～ 96%が注射部位から消失することが示された。また、注射部位における残留の程度は、本剤とデキストラン鉄剤に違いは認められなかった。

本剤の筋肉内の投与経路における局所刺激性については、イヌ 13 週間反復投与毒性試験においても、最大投与容量を用いて鉄 50 mg/mL まで検討された（試験番号：VFR 057/033436）。

注射部位における変化としては、マクロファージの褐色色素沈着及び炎症性細胞浸潤が認められたのみであった。本試験の注射部位については、13 週間にわたって 3 日ごとに注射されるため、実際のヒトでの本剤の使用と異なる極端な用法ではあるものの、注射部位における壊死や線維化といったより重篤な所見も認められなかったことから、本剤の忍容性はおおむね良好であると考えられた。

また、ヒト血液及び血漿を用いた、本剤（ 鉄 50 mg/mL ）の *in vitro* 適合性試験（ 試験番号 : VFR 065/033243 ）では、溶血を示唆する所見や血漿の有害反応（ 凝固、凝集、沈殿等 ）は認められなかった。

2.4.4.7　その他の毒性試験

複合体の免疫学的特性に関連して、本剤の非臨床安全性試験を追加して実施した。デキストラン鉄は非経口鉄製剤として広く使われているが、過敏性反応発現のリスクを抱えており、デキストラン鉄を処置された患者の 0.5 ~ 1.0%で起こる可能性があると見積もられている（ 1、49 ）。デキストラン鉄のこの重篤な症状を引き起こす可能性のある特性を考慮して、複合体の静脈内投与に先立ち、通常、試験的投与が行われる。デキストランを代用血漿として使用すると、アレルギー型反応が現れることがあり、複合体のデキストラン（ 糖質 ）成分は免疫原性を有すると考えられる（ 50 ）。デキストラン鉄に誘導される免疫学的反応の機序に関する試験では、それが古典的な I 型（ IgE 介在性 ）過敏反応ではなく、デキストランに対する IgG2 サブクラス抗体の誘導を伴い、III 型（ 免疫複合体介在性 ）過敏反応を引き起こしている可能性があることを示している（ 51 ）。

炭水化物は一般的に免疫原性を有していないが、一部には、澱粉及びグリコーゲンのような高分子量形態は種を越えて保存されており、ヒト及び動物において免疫原性を有する多糖類（ 特に細菌の細胞壁に由来するもの ）が幾つか存在する。これらの免疫原性多糖類は、澱粉又はグリコーゲンのような分子とは異なる糖残基間の結合を有しており、哺乳類で見られる正常な内因性多糖類とは異なる。例えば、哺乳類で免疫原性を有するデキストラン B512 では、糖間の結合は、澱粉及びグリコーゲンに存在する α1,4 結合とは対照的に、概して 1,6 である。哺乳類の内因性アミラーゼは、内因性炭水化物の α1,4 結合を速やかに加水分解可能であるが、デキストランで認められる 1,6 結合は速やかには加水分解できない。以上の理由に加え、デキストランは哺乳類組織に通常存在しないことから、デキストランは哺乳類では免疫原性の炭水化物となる可能性がある。対照的に、デキストリン鉄のような主に α1,4 結合を含む多糖複合体は概して免疫原性を有さず、アレルギー型反応はデキストリン鉄の大規模な臨床使用において報告されていない（ 1 ）。

上記考察に基づき、非経口鉄複合体の糖質成分が内因性アミラーゼによって速やかに加水分解可能である α1,4 結合を含む場合、その複合体が免疫原性を示す可能性は低いと考えられる。本剤の炭水化物は α1,4 結合によって繋がっているグルコース及びグルコン酸残基から成っており、*in vitro* 分解試験（ 試験番号 : SR1099-01/E02 ）において明らかにされたように、そ

の結合はアミラーゼによって速やかに加水分解され、グルコース、マルトース、マルトトリオース及びマルトテトラオースとなる。したがって、本剤がデキストラン鉄と同様に免疫原性を示す可能性はとても低いと考えられる。

本剤と抗デキストラン抗体の交差反応性に関して動物を用いた試験を実施し（試験番号：VFR 043/003504、表 2.6.7.12）、受身皮膚アナフィラキシー（PCA）反応を、ウサギで作製した抗デキストラン抗体を含む免疫血清を投与したモルモットで評価した。デキストラン曝露では明らかな皮膚反応が観察されたが、本剤の静脈内投与によるこれら動物への曝露は反応性を示さなかった。これらの所見は、デキストラン鉄に反応を示した患者に本剤を投与しても、過敏性反応発現の懸念はなく、安全であると考えられるということを示しており、臨床との直接的な関連性を有している。

本剤自体が免疫刺激の原因になる可能性については、ラット 26 週間静脈内投与毒性試験（試験番号：VFR 072/052022）の一部として、あらかじめ本剤を鉄 30 mg/kg/週で投与（週 3 回の鉄 10 mg/kg 急速静脈内注入）した回復群のラットに、6 週間の回復期間終了時に本剤を鉄 1 mg/kg 曝露投与することによって試験した。曝露投与後にこれらラットに過敏性反応の所見はなく、本剤に感作性がないことを示唆していた。高分子量の炭水化物複合体が免疫原性を有するかどうかを試験によって直接的に判断することは、動物実験では非常に難しい。デキストランの知見は有用であり、免疫反応を惹起するには、ウシ血清アルブミンのようなタンパク質にデキストランが結合する必要があることが分かっている（54、55）。本剤の糖質成分の特性、その易分解性、ラットへの 26 週間投与後の曝露投与に対する反応性の欠如、及び他のグルコース及びグルコン酸を含む鉄複合体での知見（1、3、49）に基づくと、本剤がそれ自体で免疫原性を示す可能性はとても低いと考えられる。

2.4.4.8 不純物

本剤の不純物プロファイルは、出発物質又は製造工程由来と考えられる不純物に関して、モジュール 3.2.S.3.2（不純物）及びモジュール 3.2.P.5.5（不純物の特性）で元素不純物（ICH ガイドライン Q3D）及び DNA 反応性（変異原性）不純物（ICH ガイドライン M7）と合わせて詳しく考察している。非臨床試験で使用されたロットの分析データを表 2.6.7.2 に示す。本剤の潜在的不純物は 1,000 mg を基準として以下のように報告され管理されている。

(i) 有機不純物: 出発物質、[redacted]に由来すると考えられる。揮発性有機質はこれら物質の製造時に使用しておらず、存在する場合にも 0.1%をはるかに下回り、[redacted]によって除かれる濃度水準である。

(ii) リガンド: 過剰なリガンド（部分的に加水分解された[redacted]）は、[redacted]によって複合体から除去される。複合体の最終リガンド含有量が分析される。

(iii) 無機の試薬、リガンド、[redacted]として使用されるが、[redacted]工程で除去される。本剤 3 ロットの[redacted]含有量は約[redacted] ppm であり、鉄 1,000 mg 投与量の本剤では、[redacted] mg の摂取量に相当する。これは許容 1 日摂取量の 1 mg/kg/日を下回っている。[redacted]として使用できるが、[redacted]を使用した本剤のロット分析では、[redacted]を使用しないで調製したロットと同様の[redacted]含量を示した (61) 。

(iv) 金属類: 金属類は最終物でモニターしているが、出発物質でもいくつか分析を行っている。濃度範囲を 6 ロットの本剤 API (希釈して最終製剤とする前は、通常約[redacted]% w/w/鉄) から決定し、本剤の重金属含有量について以下のリスク評価を実施した (61) 。

ニッケル (API では通常[redacted] ppm) : ヒトに軽度の中毒を引き起こす血漿中ニッケル濃度は 3 mg/L と報告されている。本剤での鉄 1,000 mg 投与は最大[redacted] µg のニッケルを含む可能性があり、その時の最大血漿中濃度は約[redacted] µg/L となるが、中毒濃度より[redacted]倍低い値である。

マンガン (通常[redacted] ppm) : 本剤の最終製剤で最も高濃度に認められる重金属である (ロット番号[redacted]で[redacted] ppm) 。本剤での鉄 1,000 mg 投与はマンガン摂取量としては[redacted] µg/kg になると考えられる。これはラットにおける経口 LD_{50} 値 250 mg/kg について、その投与量の 13%が吸収されるという仮定 (理論上の静脈内投与 LD_{50} 値は 33 mg/kg となる) に基づく非経口投与の推定致死量より[redacted]倍以上低い値である。

カドミウム: この有毒な金属は本剤のロットで検出されないか、あっても非常に低濃度であった ([redacted] ppm) 。鉄 1,000 mg (本剤として) の投与に由来すると考えられる最大カドミウム摂取量は[redacted] µg であり、血漿中カドミウム濃度を[redacted] µg/L (2.5 リットルの血漿に分布すると仮定して) まで増加させる可能性がある。重篤な毒性症状が 10 ~ 20 mg のカドミウムの経口摂取により引き起こされる。吸収率を 5%と仮定すると、非経口経路による毒性用量の閾値は約 500 µg であると考えられ、それは本剤使用時に到達する可能性のある最大用量の[redacted]倍である (61) 。

クロム (通常[redacted] ppm) : 鉄 1,000 mg の投与量では、本濃度は[redacted]から摂取される[redacted]µg を含む可能性がある。ヒトの推定経口致死量は、吸収率を 1%と仮定すると約 1 g であり、10 mg の非経口投与で死亡が誘発される可能性がある。これは本剤において摂取される可能性のあるクロムの最大量の[redacted]倍である。

亜鉛 (通常[redacted] ppm) : 鉄 1,000 mg 投与 (本剤として) による最大亜鉛摂取量は[redacted] µg と考えられ、正常な 1 日要求量の 15 mg を大きく下回る。亜鉛は非常に低毒性であり、12 g (約 170 mg/kg) の経口投与で嗜眠を呈するのみである。亜鉛の経口吸収は 25 ~ 90%の範囲内であると推定される。

鉛（通常[redacted] ppm）：本鉛濃度により鉄 1,000 mg 投与（本剤として）では最大曝露量が[redacted] µg に達すると考えられ、理論上の最大血漿中濃度は[redacted] µg/L となる。この濃度は、400 µg/L と報告されている鉛曝露後に毒性症状を発現する血漿中濃度の閾値（61）を大きく下回っている。

銅（通常、[redacted] ppm）：銅はほとんど又は全く毒性がない。本剤の鉄 1,000 mg 投与量に含まれる可能性のある最大曝露量（[redacted] µg）は、金属鋳造労働者における曝露濃度と比較して[redacted] 倍以上低い（61）。

ヒ素（通常[redacted] ppm）：本剤の鉄 1,000 mg 投与で摂取されるヒ素の量（約[redacted] µg）は約[redacted] µg/L の血中濃度をもたらすと考えられる。本濃度は正常と報告されている血中濃度の 0～20 µg/L の範囲内であり、毒性濃度である約 1,000 µg/L（61）を大きく下回っている。

アルミニウム（通常[redacted] ppm）：本剤での鉄 1,000 mg 投与に伴って摂取されるアルミニウムの最大量は[redacted] µg 未満であると考えられる。この時、理論上の最大血清濃度である[redacted] µg/L を示す可能性がある。この濃度は毒性症状を示すと報告されている血清濃度の閾値（140 µg/L）を下回っている。FDA は、尿毒症患者における中心静脈栄養液からのアルミニウムの安全性の上限として 4～5 µg/kg/日を提示している。食事からの 1 日摂取量は 30～50 mg である。これらの考察に基づくと、本剤（約[redacted] µg/kg/回）の使用がもたらすと考えられるアルミニウムへの最大曝露は、中心静脈栄養液による摂取で安全とされる FDA の提示する上限の範囲内である。

水銀（[redacted] ppm 未満）：鉄 1,000 mg（本剤として）で摂取されると考えられる水銀の最大量は[redacted] µg 未満であり、正常な摂取量を超えて許容される週あたりの摂取量（75 µg）を下回っている（61）。

（v）残留溶媒：精製水は別として、唯一用いる溶媒が[redacted]工程で使用する[redacted]である。検査された本剤のロットにおけるこの溶媒の残留濃度は[redacted]%の範囲である。本剤における[redacted]の上限は、鉄 1,000 mg 投与では、ICH Q3C ガイドライン（67）に述べられている残留溶媒としての[redacted]の上限の 50 mg/日に基づき、1.2%と判断される。製造工程の改良により、本剤の最近の全ロットで、[redacted]は 1.2%未満となったことが確かめられている。API の[redacted]含有量が分析されている。

分解物の生成は、通常又は強制劣化条件下で本剤の最終製剤を用いて実施した安定性試験では認められなかった。容器及び施栓系から溶出する不純物に関する問題はない（73）。

カルボキシマルトース第二鉄製剤に混入している可能性のある不純物は、安全性について十分に評価されており、非臨床試験で使用されたロットは、不純物プロファイルに関して、市販製剤と同様であった。本剤の使用によって引き起こされる金属類への最大曝露量が算出され、CPMP による「残留金属触媒の規格限界に関する指針の注記」の最新ドラフト（62）に引用されている許容 1 日曝露量（PDE）の値と比較された。

表 2.4.4.8-1.　カルボキシマルトース第二鉄製剤の残留金属曝露

金属	カルボキシマルトース第二鉄として鉄 1000 mg を投与した時の最大曝露量（μg/kg/回）	CPMP ガイダンスにおける非経口 PDE（μg/kg/日）
ニッケル	[redacted]	2.0
マンガン	[redacted]	5.0
クロム	[redacted]	2.5
亜鉛	[redacted]	30
銅	[redacted]	10

ニッケルとマンガンを除いて、本剤の使用によって引き起こされるクロム、銅及び亜鉛への曝露は PDE 値を下回っている。マンガンへの潜在的曝露は PDE の約[redacted]倍だが、上で詳しく述べたように、この曝露レベルは、経口での吸収程度を考慮してげっ歯類の LD_{50} 値から計算すると、それでも約 800 倍の安全域がある。鉄 1,000 mg は、1 日あたりではなく、1 週間あたりの投与量であることは注意が必要であり、週 1 回の本剤の投与量からのマンガン摂取量は、1 週間を平均すると[redacted] μg/kg/日に相当し、許容値の 5 μg/kg/日とほぼ同じである。

結論として、本剤の潜在的不純物のリスク評価のために十分なデータが利用可能であり、定められた仕様上限では、本剤の不純物に重大な毒性学的懸念はなく、更なる検討は必要ない。

2.4.5 総括及び結論

鉄欠乏時の非経口鉄剤として本薬の承認を得るために、包括的な非臨床試験が実施された。非臨床試験は原則として十分に計画して実施され、全ての主要な試験は GLP に従った。これらの試験では第 2.4.1 項にまとめたように標的組織に鉄を運搬する複合体としての有効性、本薬投与後の鉄の体内動態と分布、他の非経口鉄剤との体内動態の類似性、本薬のカルボキシマルトース部分の毒性、本剤の毒性と鉄過剰状態との類似性及び局所刺激性について検討した。

薬理試験及び薬物動態試験により、本薬は標的組織（赤血球）及び鉄貯蔵組織（肝臓及び脾臓）に鉄を効率的に運搬することが示された。本薬は他の非経口鉄剤と同様に、鉄欠乏状態に依存した赤血球や貯蔵組織への分布率の変動を伴いながら、投与後 14 から 28 日間では投与した 90%以上が体内に保持された。これらの結果から反復投与毒性試験においても本薬が多量に蓄積すると推定され、実際に観察された。血漿からの消失は非常に早いが、リンパ節や貯蔵組織には投与後数日間貯留した。赤血球への分布は投与後 28 日でも増加し続けた。本薬投与後の組織評価により、本薬は細網内皮系（RES）細胞に取り込まれ貯蔵されるが、連続投与後の鉄過剰状態では実質細胞にも分布することが示された。

本薬は、薬力学及び薬物動態学的に、デキストラン鉄、スクロース鉄（Venofer）、ポリマルトース鉄などの他の非経口鉄剤と類似していた。鉄欠乏性貧血ラットにおける赤血球への鉄の分布に関しては、本薬はスクロース鉄及びポリマルトース鉄と同等で、デキストラン鉄より優れていた。

本薬のカルボキシマルトース部分は、アミラーゼやラット肝 S9 画分を用いたインビトロ分解試験により、グルコース、マルトース、マルトトリオース及びマルトテトラオースへ分解されると推定された。マルトースは澱粉の分解物であり、容易に中間代謝に組み込まれる。マルトースは他の非経口製剤や経管栄養法の一部としても利用される。マルトトリオース及びマルトテトラオースはヒト腎臓においてマルトースから生合成され（66）、アミラーゼで加水分解される。アミラーゼは唾液腺、膵臓、肝臓、血清、心臓及び腎臓など多くの組織に存在する（63、64、65）。以上より、本薬のカルボキシマルトース部分の分解物は比較的無害であり、毒性学的意義はほとんどないと考えられた。

反復投与毒性試験で認められた変化は、実験動物で鉄過剰に関連して認められる予想された範囲のものであった。主な鉄貯蔵器官では、細網内皮系の細胞に鉄が取り込まれ貯蔵されるが、細網内皮系の貯蔵能力を超え、鉄が組織実質に顕著に蓄積すると毒性が発現する。本剤の場合、反復投与毒性試験において組織実質への鉄蓄積の結果として明らかに臓器の機能障害が認められた時に、毒性が発現したと判断した。この毒性所見としては、臨床病理学パラメータの異常（赤血球パラメータの減少、肝機能障害を示唆する血中肝機能酵素の増加又はアルブミンの減少、又は腎機能障害を示唆する尿素の増加及び尿検査での異常）や病理組織学的検査での実質組織障害の所見（肝細胞壊死又は線維化）などの発現が考えられ、これに基づき、ラット及びイヌともに 13 週間反復投与毒性試験の無毒性量については鉄 9 mg/kg/週と判断した。本無毒性量は投与方法（週に 1 回の持続注入又は週に 3 回の急速注入）による影響を受けな

かった。26 週間反復投与毒性試験の無毒性量についてはイヌで鉄 9 mg/kg/週、ラットで鉄 3 mg/kg/週と判断した。本剤の安全域を求める場合、週あたりの最大臨床用量を鉄 9.1 mg/kg とすれば、これらの無毒性量から計算される安全率は 1 未満とも考えられる。

しかし、これらの毒性試験は十分な鉄を保持する動物で行っており、鉄欠乏が明らかな患者にのみ投与され、投与量が体内貯蔵鉄の補充のために患者に合わせて調整される臨床での使用状況をほとんど反映していないと考えられる。多くの場合、体内鉄貯蔵量を回復させるには 3 週間の治療で十分であると考えられ、その時の総鉄投与量は鉄 27.3 mg/kg である。反復投与毒性試験の無毒性量で投与された総鉄投与量は、鉄 117 mg/kg (13 週間) 及び鉄 78 又は 234 mg/kg (26 週間) であった。毒性試験におけるこれら総曝露量には、鉄欠乏性貧血の治療における本剤のヒトへの総投与量に対して 2.9～8.6 倍の安全域があるが、これらの安全域は依然として十分な鉄を保持する動物に由来しており、本剤の臨床リスクを評価する代替法として、鉄過剰毒性が発現するのに必要な体内鉄貯蔵量の検査が考えられる。

そのための一つの方法として、反復投与毒性試験の無毒性量及び毒性用量の閾値での肝臓中鉄濃度の検査が挙げられる。表 2.4.5-1 に 13 及び 26 週間毒性試験における対照群の肝臓中鉄濃度に対する無毒性量及び最小毒性量での肝臓中鉄濃度の比率を示す。

表 2.4.5-1.　反復投与毒性試験において肝臓中鉄濃度によって評価した時のカルボキシマルトース第二鉄の安全域

	様々な期間投与した後のカルボキシマルトース第二鉄投与群の対照群に対する肝臓中鉄濃度の比率 (雄動物のデータ)				
期間:	13 週間	13 週間	26 週間	13 週間	26 週間
動物種:	イヌ	イヌ	イヌ	ラット	ラット
試験番号:	VFR041	VFR070	VFR070	VFR071	VFR072
投与:	週 1 回	週 3 回	週 3 回	週 3 回	週 3 回
無毒性量	12.6	17.8	19.6	6.2	4.3
最小毒性量	29.0	46.6	50.8	22.4	13.4

本検討は、本剤の投与が明らかな鉄毒性を引き起こさずに、体内鉄貯蔵量を約 4～20 倍まで増加させる可能性があることを示している。体内鉄貯蔵量 (肝臓中鉄濃度で評価する場合) が 13 倍以上増加すれば、鉄過剰によって臓器の機能障害のリスクが生じる。そのような総体内鉄貯蔵量の大幅な増加は、鉄製剤の臨床使用時の厳密に管理された状況のもとでは決して起きないと考えられ、従来の方法 (すなわち、鉄投与量/体重/週を単位とする) で算出される安全域は、本剤の安全に配慮した臨床使用時のリスクを表していないと考えられる。ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験における本剤の無毒性量はスクロース鉄 (Venofer) の無毒性量と同様であるが、本剤は Venofer と比較して急性毒性が弱いため、より急速かつより高い 1 回あたりの投与量で投与することができる。

本剤を反復投与した動物に認められる変化は、スクロース鉄のような他の承認済非経口鉄製剤のデータに加え、動物の鉄過剰について公表されている実験データから全て予想可能である。他の非経口鉄複合体（デキストラン鉄、ポリマルトース鉄又はソルビトール鉄）を様々な種（ウサギ、イヌ、ラット及びヒヒ）に長期間投与した試験では、全て鉄過剰が引き起こされた際に特徴的な肝毒性及び肝線維化が認められた。これらの毒性は、本剤の反復投与毒性試験で認められているのと同様に、最初に細網内皮系の細胞、次に実質細胞に過剰な鉄が分布し、その後に発現している。肝臓における鉄過剰の影響についての分子メカニズムは、Britton らによって詳細に述べられている（45）が、鉄に触媒されたフリーラジカルの生成が関係しており、それに伴う脂質過酸化が結果的に細胞毒性を引き起こす。26 週間毒性試験において、投与終了後 6 週間でも本剤による肝臓及び腎臓の機能障害が回復していないことは、引き起こされた鉄過剰の性質及び程度を考慮すれば予想外のことではなく、既に述べた単回投与後 28 日における投与された鉄の貯留を示す薬物動態データ、貯蔵鉄の低い代謝回転率（特に餌から十分な鉄を補給され続けている十分な鉄を保持する動物について）及び鉄過剰動物における肝臓の変化の回復が非常に遅いことを示している実験結果（72）、これら全てが本剤（又は他の鉄製剤）を慢性的に投与された動物での鉄過剰状態が回復するには、長い年月が必要となる可能性を示している。したがって、慢性毒性試験におけるこの毒性の回復性の欠如が、投与量が個々の患者の必要量に合わせて調整され、鉄の状態評価が臨床使用中の鉄過剰発現を予防すると考えられる本剤の臨床使用上の懸念になることはないと考えられた。

遺伝毒性試験のデータからは、本剤の特性、複合体の分解物の情報及び慢性毒性試験でいかなる前がん病変もなかったという情報とともに、本剤による発がん性リスクが非常に低いことが示唆された。本剤は多くの患者（慢性腎臓病の患者を除く）において短期間使用される「補充療法」製剤であるため、がん原性試験の省略が問題になることはないと考えられる。

生殖発生毒性試験では、鉄過剰の動物から予想される所見以外の毒性は見られなかった。胎児骨格の発達におけるいくつかの軽度な遅延又は変異が、ラット及びウサギの胚・胎児毒性試験で観察されたが、いずれも母動物毒性を引き起こす用量のみでの所見であった。ウサギの試験では、全ての投与量で胎児の骨格の発達に軽度な影響（趾骨の骨化遅延）が認められたが、低用量である鉄 4.5 mg/kg/日の変化は、対照群の背景データの範囲内であった。本試験におけるこの骨格異常は、不可逆的な異常ではなく、骨格の発達における一時的な遅延を表しているだけであり、胎児発達に及ぼす本剤の特異的影響ではないと考えられる。加えて、いくつかの他の鉄製剤の公表された催奇形性試験では、鉄過剰及び母動物毒性の二次的影響として様々な程度の胎児への影響が認められている。妊娠初期を含む妊娠中の鉄製剤の投与に関する臨床データでは、胎児異常の発現リスクの増加は認められていない。以上より、妊娠中の鉄欠乏補正のための本剤の投与によって、母体又は胎児に対して許容できないリスクが生じる可能性はほとんどないと考えられる。胎盤の鉄移行機序は、母体循環中の過剰な鉄が移行するのを防ぐために厳密に調節されており、それによって胎児の鉄過剰は回避されているが、妊娠初期の投与を保障する非臨床データはない。妊娠及び授乳中の女性患者で本剤の使用を考慮する場合、潜在的なリスク及び有用性を慎重に検討するべきである。授乳中の母親に本剤の投与が必要な場

合、出生前・後試験及び乳汁移行試験の結果に基づくと、出生児に対する著しいリスクはないと考えられる。

潜在的不純物の特性及びロット出荷規格上限で生じる可能性のある曝露量の詳細な検討からは、安全性についての懸念は示されなかった。

結論として、本薬について行われた非臨床試験では、鉄欠乏の治療時に、本薬が標的組織に鉄を運搬する効果的な複合体であることが明らかとなった。実施された様々な試験で観察された毒性は全て、健康で十分な鉄を保持する動物における鉄過剰の結果であると考えられ、鉄の投与量を各患者の必要量に合わせ調整すれば、本剤の臨床使用時に毒性が発現する可能性は低いと考えられる。本剤の生殖に関する安全性プロファイルは、実施された動物試験によれば良好であり、妊娠中又は授乳中の女性患者に過度のリスクは存在しないと考えられるが、これらの患者での投与の有用性は、母親又は出生児へのリスクと合わせて慎重に考慮されるべきである。本剤の遺伝毒性試験は全て陰性であった。

臨床用製剤は、動物において、予定臨床経路（静脈内投与）で良好な忍容性を示し、誤って投与される可能性がある静脈周囲又は動脈内投与についても顕著な局所刺激性を示さなかった。

本剤は抗デキストラン抗体といかなる交差反応も示さず、先にデキストラン鉄に感作された患者に安全に投与が可能である。また、前処置したラットへの本剤の投与は過敏性反応を引き起こさず、本剤自身が免疫原性を有する可能性は低いと考えられる。本剤の糖質成分はその組成及びすぐに内因性の糖残基へと分解する性質から、免疫原性を有する可能性は低いと推察される。

これらの非臨床試験で評価された本薬の有効性及び安全性は、デキストラン鉄又はスクロース鉄のような他の承認済非経口鉄複合体と同等か、場合によってはより好ましいプロファイルを示していると考えられる。得られた非臨床データから、鉄欠乏の治療のための非経口補充療法として本薬は有用であることが示唆された。

2.4.6 参考文献一覧

1) Crichton RR, Danielson BG, Geisser P. Iron therapy, with special emphasis on intravenous administration. 2nd ed. Bremen, Germany: UNI-MED Verlag AG; 2005.

2) Kosch M, Bahner U, Bettger H, Matzkies F, Teschner M, Schaefer RM. A randomized, controlled parallel-group trial on efficacy and safety of iron sucrose (Venofer®) vs iron gluconate (Ferrlecit®) in haemodialysis patients treated with rHuEpo. Nephrol Dial Transplant. 2001;16:1239-1244.

3) Faich G, Strobos J. Sodium ferric gluconate complex in sucrose: safer intravenous iron therapy than iron dextrans. Am J Kid Dis. 1999;33:464-470.

4) ICH Guideline for Topic M3: Note for guidance on non-clinical safety studies for the conduct of human clinical trials for pharmaceuticals, CPMP/ICH/286/95 modification (2000 November 16).

5) Structure and pharmacodynamic relationship of parenteral iron preparations. Vifor AG SR-1005/E01, [redacted]

6) Beshara S, Sörensen J, Lubberink M, Tolmachev V, Långström B, Antoni G, Danielson BG, Lundqvist H. Pharmacokinetics and red cell utilization of $^{52}Fe/^{59}Fe$- labelled iron polymaltose in anaemic patients using positron emission tomography. Brit J Haematol. 2003;120:853-859.

7) ICH Guideline for Topic S7A: Note for guidance on safety pharmacology studies for human pharmaceuticals, CPMP/ICH/539/00 (2000 November 16).

8) ICH Guideline for Topic S7B: Note for guidance on the nonclinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval prolongation) by human pharmaceuticals, CHMP/ICH/423/02 (2005 May 25).

9) Martindale W. Nutritional agents and vitamins. In: Parfitt K, editor. The extra pharmacopoeia. 32nd ed. Pharmaceutical Press; 1999. p.1346-1348.

10) Hillman RS. Hemopoietic agents. In: Hardman JG, Limbird L, editors. Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 9th ed. New York: McGraw Hill; 1996. p.1317-1325.

11) Watanabe M, Hatanaka J, Asaoka S, Iyatomi A. Acute toxicity study with HIPPIRON in rats and mice. Nihon Tokushu Noyaku Seizo KK, Agricultural Chemicals Institute, Toxicological Research Laboratory; 1982 April 30;Report No 223.

12) Iron dextran. Registry of Toxic Effects of Chemical Substances (RTECS). Canadian Centre for Occupational Health and Safety. RTECS No. NI2200000, last updated 2005 May 20.

13) Weaver LC, Gardier RW, Robinson VB, Bunde CA. Comparative toxicology of iron compounds. Am J Med Sci. 1961;241:296-302.

14) Toxicity study by intravenous infusion administration to CD rats for 13weeks. [redacted]

15) Toxicity study by intravenous infusion administration to beagle dogs for 13 weeks. [redacted]

16) Djeha A, Brock JH. Effect of transferrin, lactoferrin and chelated iron on human T-lymphocytes. Br J Haematol. 1992;80:235-241.

17) Summary basis of approval. Humatrope (Somatropin). Indianapolis. Eli Lilly; 1986 December 24. Report No.: NDA19-640.

18) Note for guidance on repeated dose toxicity, CPMP/SWP/1042/99 (2000 July 27).

19) ICH Guideline for Topic S2A: Note for guidance on genotoxicity: Guidance on specific aspects of regulatory genotoxicity tests for pharmaceuticals, CPMP/ICH/141/95 (1996 April 1).

20) ICH Guideline for Topic S2B: Note for guidance on genotoxicity: A standard battery for genotoxicity testing of pharmaceuticals, CPMP/ICH/174/95 (1998 March).

21) ICH Guideline for Topic S1A: Note for guidance on the need for carcinogenicity studies of pharmaceuticals, CPMP/ICH/140/95 (1995 November 29).

22) Selby JV, Friedman GD. Epidemiologic evidence of an association between body iron stores and risk of cancer. Int J Cancer. 1988;41:677-682.

23) Stevens RG, Jones DY, Micozzi MS, Taylor, PR. Body iron stores and the risk of cancer. N Engl J Med. 1988;319:1047-1052.

24) Hercberg S, Preziosi P, Galan P. Iron deficiency in Europe. Public Health Nutr. 2001;4:537-545.

25) Ullén H, Augustsson K, Gustavsson C, Steineck G. Supplementary iron intake and risk of cancer: reversed causality? Cancer Lett. 1997;114:215-216.

26) Haddow A, Roe FJC, Mitchley BCV. Induction of sarcomata in rabbits by intramuscular injection of iron-dextran ("imferon"). Br Med J. 1964;1:1593-1594.

27) Richmond HG. Induction of sarcoma in the rat by iron-dextran complex. Br Med J. 1959;1:947-949.

28) Haddow A, Horning ES. On the carcinogenicity of an iron-dextran complex. J Natl Cancer Inst. 1960;24:109-127.

29) Fielding J. Sarcoma induction by iron-carbohydrate complexes. Br Med J. 1962;1:1800-1803.

30) Lundin PM. The carcinogenic action of complex iron preparations. Br J Cancer. 1961;15:838-847.

31) MacKinnon AE, Bancewicz J. Sarcoma after injection of intramuscular iron. Br Med J. 1973;2:277-279.

32) Weinbren K, Salm R, Greenberg G. Intramuscular injections of iron compounds and oncogenesis in man. Br Med J. 1978;1:683-685.

33) Nakamura T, Shimizu Y, Takimoto Y, Tsuda T, Li Y-H, Kiyotani T, Teramachi M, Hyon S-H, Ikada Y, Nishiya K. Biodegradation and tumorigenicity of implanted plates made from a copolymer of ε-caprolactone and L-lactide in rat. J Biomed Mater Res. 1998;42:475-484.

34) Nakamura T, Shimizu Y, Okumura N, Matsui T, Hyon S-H, Shimamoto T. Tumorigenicity of poly-L-lactide (PLLA) plates compared with medical-grade polyethylene. J Biomed Mater Res. 1994;28:17-25.

35) Morgan RW, Elcock M. Artificial implants and soft tissue sarcomas. J Clin Epidemiol. 1995;48:545-549.

36) Khera KS. Maternal toxicity: A possible etiological factor in embryo-fetal deaths and fetal malformations of rodent-rabbit species. Teratology. 1985;31:129-153.

37) Nishimura M, Iizuka M, Iwaki S, Kast A. Repairability of drug-induced "wavy ribs" in rat offspring. Arzneim Forsch Drug Res. 1982;32:1518-1522.

38) Flodh H, Magnusson G, Malmfors T. Teratological, peri- and postnatal studies on Ferastral®, an iron-poly (sorbitol-gluconic acid) complex. Scand J Haematol, 1977;Suppl 32:69-86.

39) ICH Guideline for Topic S5A: Note for guidance on reproductive toxicology: Detection of toxicity to reproduction for medicinal products, CPMP/ICH/386/95 (1994 March).

40) ICH Guideline for Topic S5B(M): Note for guidance on reproductive toxicology: toxicity on male fertility, CPMP/ICH/136/95 modification. Addendum to ICH Topic S5A: Note for guidance on reproductive technology: Detection of toxicity to reproduction for medicinal products, CPMP/ICH/386/95 (2000 November 16).

41) Sunderman FW. Metal carcinogenesis in experimental animals. Fd Cosmet Toxicol. 1971;9:105-120.

42) Hann H-W.L, Stahlhut MW, Menduke H. Iron enhances tumor growth. Cancer. 1991;68:2407-2410.

43) Hann H-W.L, Stahlhut MW, Blumberg BS. Iron nutrition and tumor growth: Deceased tumor growth in iron-deficient mice. Cancer Res. 1988;48:4168-4170.

44) Beliles RP, Palmer AK. The effect of massive transplacental iron loading. Toxicology. 1975;5:147-158.

45) Britton RS, Tavill AS, Bacon BR. Mechanisms of iron toxicity. In: Brock JH, et al, editors. Iron metabolism in health and disease. London: W.B Saunders Company Ltd; 1994. p.311-351.

46) Whittaker P, Hines FA, Robl MG, Dunkel VC. Histopathological evaluation of liver, pancreas, spleen, and heart from iron-overloaded Sprague-Dawley rats. Toxicol Pathol. 1996;24:558-563.

47) Dollery C. Iron salts, iron-dextran complex and iron-sorbitol-citrate. In: Dollery C, editor. Therapeutic drugs. 2nd ed. London: Churchill Livingstone; 1999. p.178-183.

48) Schmitz H, Schaub E, Műller A. Intramuscular iron therapy. Schweizer Archiv fűr Tierheilkunde. 1976;118:441-479.

49) Michael B, et al. Sodium ferric gluconate complex in hemodialysis patients: Adverse

reactions compared to placebo and iron dextran. Kidney Int. 2002;61:1830-1839.

50) Ljungström K-G, et al. Adverse reactions to dextran in Sweden 1970-1979. Acta Chir Scand. 1983;149:253-262.

51) Kraft D, Hedin H, Richter W, Scheiner O, Rumpold H, Devey ME. Immunoglobulin class and subclass distribution of dextran-reactive antibodies in human reactors and non reactors to clinical dextran. Allergy. 1982;37:481-489.

52) Geisser P, Baer M, Schaub E. Structure/histotoxicity relationship of parenteral iron preparations. Arzneim Forsch Drug Res. 1992;42:1439-1452.

53) Shepard TH. Catalog of teratogenic agents. 6th ed. London: The Johns Hopkins University Press; 1989. p.356.

54) Arakatsu Y, Ashwell G, Kabat EA. Immunochemical studies on dextrans. V. Specificity and cross-reactivity with dextrans of the antibodies formed in rabbits to isomaltonic and isomaltotrionic acids coupled to bovine serum albumin. J Immunology. 1966;97:858-866.

55) Richter W, Kågedal L. Preparation of dextran-protein conjugates and studies of their immunogenicity. Int Arch Allergy. 1972;42:885-902.

56) Bothwell TH, Finch CA. In: Iron metabolism. 1st ed. London: J and A Churchill Ltd;1962. p.16-17.

57) Bothwell TH, Pribilla WF, Mebust W, Finch CA. Iron metabolism in the pregnant rabbit. Iron transport across the placenta. Am J Physiol, 1958;193:615-622.

58) Murray MJ, Stein N. Contribution of maternal rat iron stores to fetal iron in maternal iron deficiency and overload. J Nutr. 1971;101:1583-1587.

59) Wong CT, Morgan EH. Placental transfer of iron in the guinea pig. Quart J Exp Physiol. 1973;58:47-58.

60) Martin LE, Bates CM, Beresford CR, Donaldson JD, McDonald FF, Dunlop D, Sheard P, London E, Twigg GD. The pharmacology of an iron-dextran intramuscular haematinic. Brit J Pharmacol, 1955;10:375-382.

61) [redacted] Impurity profile of VIT-45. Vifor AG VaP-1702/E02, [redacted]

62) Note for guidance on specification limits for residues of metal catalysts, CPMP/SWP/4446/00 (2002 December 17).

63) Whitten RO, Chandler WL, Thomas MGE, Clayson KJ, Fine JS. Survey of α-amylase activity and isoamylases in autopsy tissue. Clin Chem. 1988;34:1552-1555.

64) Terada T, Nakanuma Y. Immunohistochemical demonstration of pancreatic α-amylase and trypsin in intrahepatic bile ducts and peribiliary glands. Hepatology. 1991;14:1129-1135.

65) McGeachin RL, Akin JR. Amylase levels in the tissues and body fluids of several primate species. Comp Biochem Physiol. 1982;72A:267-269.

66) Yuge O, Morio M, Fukui T, Fujii K, Kikuchi H, Takahashi S. Maltotriose and maltotetraose excreted in urine following intravenous administration of maltose to

human volunteers. Jpn J Surg. 1983;13:296-303.

67) ICH Guideline for Topic Q3C: Impurities: Guideline for residual solvents, (1997 July 17).

68) Study of effects on embryo-foetal toxicity in Crl:CD®BR rats by intravenous infusion. [redacted]

69) Study of effects on embryo-fetal toxicity in the rabbit by intravenous administration. [redacted]

70) Will G. The Absorption, distribution and utilization of intramuscularly administered iron-dextran: A radio-isotope study. Br J Haematol. 1968;14:395-406.

71) Karlefors T, Norden A. Studies on iron-dextran complex. Acta Med Scand Suppl. 1958;342:1-54.

72) Iancu TC , Rabinowitz H, Brissot P, Guillouzo A, Deugnier Y, Bourel M. Iron overload of the liver in the baboon. An ultrastructural study. J Hepatol. 1985;1:261-275.

73) [redacted] Impurities in VIT-45FP. Vifor AG VaP-1703/E01, 2005 September 6.

74) Malek A . Investigation of the placental permeability for the iron drug VIT-45. [redacted]

75) Keen CL, Lönnerdal B, Clegg M, Hurley LS. Developmental changes in composition of rat milk: trace elements, minerals, protein, carbohydrate and fat. J Nutr. 1981;111:226-236.

76) Transport of intravenously injected ^{59}Fe-labelled Iron Sucrose of Rat dams through the milk to the offspring. Vifor AG SR-1020/E01, 1997 December 9.

77) Historical control data for skeletal anomalies in New Zealand white rabbits. [redacted]

78) Huang X. Iron overload and its association with cancer risk in humans: evidence of iron as a carcinogenic metal. Mutation Res. 2003;533:153-171.

79) Srai SKS, Bomford A, McArdle HJ. Iron transport across cell membranes: molecular understanding of duodenal and placental iron uptake. Best Pract Res Clin Haematol. 2002;15:243-259.

80) Nandakumaran M, Dashti HM, Al-Zaid NS. Maternal-fetal transport kinetics of copper, selenium, magnesium and iron in perfused human placental lobule: in vitro study. Mol Cell Biochem. 2002;231:9-14.

81) McArdle HJ, Danzeisen R, Fosset C, Gambling L. The role of the placenta in iron transfer from mother to fetus and the relationship between iron status and fetal outcome. Biometals. 2003;16:161-167.

82) Romeu A, Alemany M, Arola L. Net transfer of essential metals from mother to fetus in

the second half of pregnancy in the rat. Biol Neonate. 1986;49:204-210.

83) Hentze MW, Muckenthaler MU, Andrews NC. Balancing acts: Molecular control of mammalian iron metabolism. Cell. 2004;117:285-297.

ANNEX I：多核性の鉄（III）- 炭水化物複合体の特性

2.4.1 項で概略を示したように、有効な非経口鉄製剤は、有毒なフリーラジカルを形成する重大なリスクを伴わず、効率的な鉄輸送又は貯蔵タンパク質（トランスフェリン及びフェリチン）へ鉄の輸送が可能である必要がある。そのために、ほぼすべての非経口鉄製剤は、炭水化物ポリマーの複合体又は糖残基と会合して、安定した第二鉄の状態（しばしば鉄（III）-水酸化物）で鉄を含有する。これらの複合体は、生体利用可能な形態の鉄をアポトランスフェリン又は鉄貯蔵部位に送達するため、放出速度を制御するように設計されているが、その速度は細胞内外への移動中に遊離鉄の毒性が優先するほど速くてはならない。非経口治療に利用される鉄錯体は、それらの分子量及び安定性に基づいて分類することができる（1）。

I 型複合体は、堅牢で強固であり、一般的には約 100,000 以上の分子量を有し、デキストラン鉄及びデキストリン鉄が含まれる。これらは、ゆっくりと制御された速度で鉄を放出するために分解が緩やかで、フリーラジカルの生成による鉄の毒性リスクがほとんどない利点を有する。近年最も広く使用されていると考えられる非経口鉄製剤であるデキストラン鉄の欠点は、重篤なアナフィラキシー反応を示す可能性があることである。

II型複合体は、中程度に堅牢で強固とされており、一般的に分子量は30,000~100,000である。このグループには、多くの国でここ数年間（1, 2）の非経口鉄療法において、安全かつ有効に使用されているスクロース鉄複合体が含まれる。

III 型複合体は、より不安定で弱く、分子量が 50,000 未満であり、比較的速い分解及び鉄放出速度を有する。このグループには、グルコン酸鉄、ソルビトール鉄及びクエン酸鉄のような鉄複合体が含まれる。

最後に、スクロース中のグルコン酸鉄のような 2 種の鉄複合体の混合物である IV 型複合体が存在する。

これらの III 型及び IV 型複合体は、非経口鉄製剤として使用することができるが、鉄の放出速度がより速く、分子量がより低いため、全身鉄貯蔵（赤血球含む）への鉄の取り込み効率は、より強固で安定な I 型又は II 型複合体よりも低く、投与した複合体の腎臓によるクリアランスが大きい。これらの理由から、ソルビトール鉄-クエン酸塩複合体（分子量約 8,700）のような III 型又は IV 型の複合体は、迅速なクリアランス及び腎臓過負荷を避けるために筋肉内投与される。しかしながら、その場合でも、複合体中の鉄の投与量のかなりの割合が、ソルビトール鉄-クエン酸塩複合体の投与の数時間以内に肝実質細胞において認められる。これは、複合体中の鉄が全て鉄輸送タンパク質に効果的に移行していないことを示しており、2.4.4 項で示したように、過剰の実質細胞鉄（すなわち細網内皮系（RES）の細胞外に沈着した）は潜在的に有毒である（17）。

本薬は、分子量約 150,000 で、デキストラン鉄又はデキストリン鉄と同様又はわずかに速い分解速度を有する I 型鉄複合体である。そのため、遊離鉄を放出するリスクが低く、鉄結合タンパク質に生体利用される鉄がゆっくりと制御されて放出するという堅牢で強固な鉄複合体の利点を有すると共に、全貯蔵鉄への高い鉄輸送率が確保される。したがって、スクロース鉄

のようなタイプ II 複合体と比較して、鉄輸送及び赤血球への取り込みでの効率の点で同様の利点を有するとともに、2.4.4.7 項で示したように、最も一般的に使用される I 型鉄複合体であるデキストラン鉄のようにアナフィラキシーを生じる可能性の欠点がない。また、前述のように、スクロース鉄は製剤の高い pH 及び浸透圧に関していくつかの制限があるが、本薬では重要な問題ではない。