チオテパ

製造販売承認申請

CTD 第２部

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

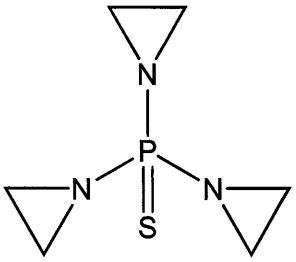
2.6.6　毒性試験の概要文

大日本住友製薬株式会社

目次

2.6.6 毒性試験の概要文
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.2 単回投与毒性試験 7
2.6.6.3 反復投与毒性試験 8
2.6.6.4 遺伝毒性試験 9
2.6.6.5 がん原性試験 9
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 10
2.6.6.7 新生児を用いた試験 11
2.6.6.8 局所刺激性試験 11
2.6.6.9 その他の毒性試験（マクロゴール 400） 11
2.6.6.10 その他の毒性試験（類縁物質B群） 12
2.6.6.11 考察及び結論 14
2.6.6.12 図表 18
2.6.6.13 参考文献 19

【本項における用語の説明】

チオテパ Thiotepa（TT）	化学名： Tris(aziridin-1-yl)phosphine sulfide 分子式（分子量）： $C_6H_{12}N_3PS$（189.22） 構造式： 

用語	定義	
チオテパのヒトでの体重当たりの1日最大投与量	本書では10 mg/kgとする。 （設定理由：申請する用量200 mg/m²/日での1日最大投与量は、成人での最大体表面積を2.5 m²と想定して500 mg/日とした。体重当たりの1日最大投与量は、体重を50 kgと想定して10 mg/kgとした。治験での実績から小児でも10 mg/kgを超えないと考えられた。）	
DSP-1958	チオテパの治験成分記号	
DSP-1958注	チオテパ100 mgを含有する注射剤	
テスパミン®注射液	過去に国内で販売されていたチオテパを含む製剤	
類縁物質B群	[redacted]	類縁物質試験法における相対保持時間[redacted]の類縁物質群
類縁物質B群[redacted]の主類縁物質	[redacted]	類縁物質B群[redacted]において最も多く存在する類縁物質（相対保持時間[redacted]）

2.6.6.1 まとめ

チオテパの一般毒性、遺伝毒性、がん原性及び生殖発生毒性はテスパミン®注射液の国内申請時に評価されているため、新たな試験は実施せず、その申請資料及び文献を基に評価した。また、チオテパ製剤の添加物であるマクロゴール400は使用前例を上回るため、マクロゴール400の一般毒性、遺伝毒性、がん原性及び生殖発生毒性は文献を基に評価した。

チオテパ製剤は長期保存時に類縁物質B群が増加し、「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドラインの改定について」（平成15年6月24日付 医薬審発第0624001号）に記載されている「安全性の確認が必要とされる閾値」を上回ることが予想されたため、分取した類縁物質B群のラット7日間反復静脈内投与毒性試験（予備試験及び本試験）を実施し、その毒性を評価した。なお、予備試験はGLP非適用下で、本試験はGLP適用下で実施した。

チオテパ、マクロゴール400及び類縁物質B群の毒性試験一覧を表 2.6.6.1-1 に示す。

表 2.6.6.1-1　毒性試験一覧

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	被験物質
単回投与毒性試験	静脈内、腹腔内、皮下 静脈内 静脈内 経口、腹腔内 腹腔内 腹腔内 腹腔内、経口	マウス ラット ウサギ マウス マウス ラット ラット	チオテパ
反復投与毒性試験 5日間投与 5日間投与 60日間投与 14～17日間投与 14～17日間投与 2週間投与 4週間投与 8週間投与 28日間、90日間又は2日間隔で22回投与	 静脈内 静脈内、腹腔内 静脈内又は皮下 静脈内 静脈内 経口、腹腔内 腹腔内 腹腔内 筋肉内	 マウス ラット ウサギ イヌ アカゲザル マウス マウス マウス ウサギ	
遺伝毒性試験 復帰突然変異試験 遺伝子突然変異試験 遺伝子突然変異試験 伴性劣性致死試験 宿主経由試験 Pig-aアッセイ	 *In vitro* *In vitro* *In vitro* *In vivo* *In vivo* *In vivo*	 ネズミチフス菌 チャイニーズハムスター細胞 アスペルギルス・ニデュランス ショウジョウバエ マウス ラット	

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	被験物質
遺伝子突然変異試験	*In vivo*	トランスジェニックラット	
遺伝子突然変異試験	*In vivo*	ラット	
優性致死試験	*In vivo*	マウス	
染色体異常試験	*In vitro*	マウス生殖細胞	
染色体異常試験	*In vivo*	マウス	
染色体異常試験	*In vitro*	マウス胎児肝細胞	
染色体異常試験	*In vivo / in vitro*	ウサギ末梢血リンパ球	
染色体異常試験	*In vivo*	アカゲザル末梢血リンパ球	
染色体異常試験	*In vitro*	ハムスター細胞	
染色体異常試験	*In vitro*	ヒト末梢血リンパ球	
染色体異常試験	*In vitro*	ソラマメ	
小核試験	*In vivo*	ラット	
小核試験	*In vivo*	マウス	
姉妹染色分体交換試験	*In vivo*	マウス	
姉妹染色分体交換試験	*In vitro*	マウス細胞	
姉妹染色分体交換試験	*In vitro*	チャイニーズハムスター細胞	
姉妹染色分体交換試験	*In vitro*	ソラマメ	
姉妹染色分体交換試験	*In vitro*	ヒト末梢血	
姉妹染色分体交換試験	*In vitro*	サル末梢血	
染色体異常試験	*In vivo*	チオテパ 40～100 mg の抗腫瘍治療を受けた患者の末梢血リンパ球	
染色体異常試験	*In vivo*	サル	
DNA との結合試験	*In vivo*	鶏胚	
不定期 DNA 合成試験	*In vitro*	ヒト末梢血リンパ球	
形質転換試験	*In vitro*	マウス細胞	
がん原性試験			
24 週間投与（週 3 回、4 週間）	腹腔内	マウス	
52 週間投与（週 3 回）	腹腔内	マウス	
52 週間投与（週 1 回）	静脈内	ラット	
86 週間投与（週 3 回、52 週間）	腹腔内	ラット	
生殖発生毒性試験			
雄性生殖能への影響			
単回投与	腹腔内	マウス	
5 日間投与	腹腔内	マウス	
1～8 日間投与	腹腔内	マウス	
5 日間投与	腹腔内	ラット	
初期胚への影響			
胞胚期	不明	ウサギ	
胚・胎児への影響			
妊娠 6.5～15.5 日投与	腹腔内	マウス	
妊娠 4.5 又は 5.5 日投与	腹腔内	マウス	
妊娠 0.5～12.5 日投与	腹腔内	マウス	
妊娠 8～16 日投与	皮下	ラット	

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	被験物質
出生児への影響 妊娠 4、11 又は 18 日投与	皮下	ラット	
妊娠 10 日投与	腹腔内	マウス	
単回投与毒性試験	静脈内	マウス、ラット、ウサギ	マクロゴール 400
反復投与毒性試験 30 日間投与 29 日間投与 4 週間投与 5 週間又は 30 日間投与	 静脈内 静脈内 静脈内 静脈内	 イヌ ヒヒ ラット ウサギ	
遺伝毒性試験 復帰突然変異試験 姉妹染色分体交換試験 不定期 DNA 合成試験	 *In vitro* *In vitro* *In vivo*	 ネズミチフス菌 チャイニーズハムスター細胞 ラット肝細胞	
がん原性試験 30 週間投与 6 ヵ月間投与	 経口 腹腔内	 マウス ラット	
生殖発生毒性試験 胚・胎児への影響 妊娠 7～16 日投与 妊娠 7～19 日投与	 静脈内 静脈内	 ラット ウサギ	
反復投与毒性試験 7 日間投与（GLP 非適用） 7 日間投与（GLP 適用）	 静脈内 静脈内	 ラット ラット	類縁物質B群

チオテパの単回投与では、マウス、ラット及びウサギの静脈内投与による LD_{50} 値はそれぞれ 14.5 mg/kg、10.5 mg/kg 及び 5 mg/kg 超であり、投与経路の違いはあるものの、主として本剤の薬理作用である細胞毒性に起因した骨髄機能抑制、並びに肝臓、脾臓、腎臓及び消化管への影響が認められた。また、死戦期の急性症状として下痢、衰弱、食思不振、鼻部出血及び体重減少がみられ、死因は呼吸麻痺と推察された。反復投与では、マウス及びラットの 5 日間静脈内投与による LD_{10} 値はそれぞれ 4.5 又は 5.1 mg/kg/日及び 2.2 又は 3.4 mg/kg/日であり、主として本剤の薬理作用である細胞毒性に起因した骨髄機能抑制、並びに肝臓、脾臓及び消化管への影響が認められた。遺伝毒性は、遺伝子突然変異試験、染色体異常試験及び小核試験を含め、実施された試験はいずれも陽性であった。がん原性試験では、マウスで肺腫瘍、造血器系腫瘍及び扁平上皮癌が、ラットで造血器系腫瘍、扁平上皮癌及び腺癌を含めた多臓器でのがんの発生率の上昇が認められた。生殖発生毒性として、マウス及びラットで精子形成障害に伴う授胎能の低下が、マウス、ラット及びウサギで催奇形性又は胚・胎児致死作用が、マウスで出生児の発育及び生存性への影響が認められた。以上、チオテパ投与により動物実験で致死作用、骨髄機能抑制等の一般毒性、遺伝毒性、発がん性及び生殖発生毒性（精子形成障害、催奇形性、胚・胎児致死作用など）が認められた。

マクロゴール400では、マウス、ラット及びウサギの単回静脈内投与によるLD_{50}値はそれぞれ 8.6 g/kg、4.7 g/kg 及び 10 g/kg 超であった。イヌの 30 日間反復静脈内投与では4.23 g/kg/日で血清電解質（Na及びCl）の上昇、6.34 g/kg/日以上で口渇及び鼻粘膜の乾燥、8.45 g/kg/日で腎細胞の混濁腫脹及び糸球体容積増加の病理組織学的変化がみられたが、いずれの変化も回復性が認められた。ヒヒの 29 日間反復静脈内投与では 1000 mg/kg/日の雌で体重減少が、ラットの 4 週間反復静脈内投与では 2500 mg/kg/日の雌で呼吸数及び網赤血球数の増加が、ウサギの 5 週間及び 30 日間反復静脈内投与では 350 mg/kg/日以上で肝臓及び腎臓に軽微な毒性所見が認められた。また、遺伝毒性はみられず、静脈内投与によるがん原性及び胎児毒性は認められなかった。

類縁物質B群では、チオテパ製剤を 5°C（申請予定の貯法：2～8°C）で■及び■箇月保存した場合、製剤中に含まれる類縁物質B群の主類縁物質量がそれぞれ■及び■%と予測されたため、類縁物質B群のラット 7 日間反復静脈内投与毒性試験は低及び高用量をそれぞれ■及び■%（チオテパ相当量としてそれぞれ 0.45 及び 0.9 mg/kg/日）に設定して実施した。その結果、0.9 mg/kg/日群の雄で白血球系パラメータの低値がみられたのみで、全身毒性はチオテパと同様に薬理作用に基づく骨髄機能抑制であり、更にその強さはチオテパと比較して極めて弱かった。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

チオテパの単回投与毒性試験結果の概要を表 2.6.7.4 に示す。

静脈内投与によるマウス、ラット及びウサギのLD_{50}値はそれぞれ 14.5 mg/kg、10.5 mg/kg 及び 5 mg/kg 超であった[文献 1), 2), 3)]。マウスでは死戦期の急性症状として下痢及び衰弱著明がみられ、死因は呼吸麻痺と推察された。ウサギでは最高用量の 5 mg/kg まで死亡はみられなかったものの、0.1 mg/kg 以上で白血球数、リンパ球数及び好酸球数の減少、1 mg/kg 以上で骨髄有核細胞数及び顆粒球系細胞の減少、3 mg/kg 以上で体重、赤血球数、栓球数（血小板数）及び血清中アルブミンの減少、並びに網状赤血球数及び血清中γ-グロブリンの増加が認められた。

腹腔内投与によるマウス及びラットのLD_{50}値はそれぞれ 17～24 mg/kg [文献 1), 4), 5), 6)]及び 9.4～11 mg/kg であった[文献 5), 6)]。更にマウスでは 10 mg/kg で白血球数の半減がみられ[文献 1)]、ラットでは 5.7 mg/kg を 1 回量として 32 週間で 5 回投与した際には肝臓壊死、脾臓の細胞不染性及び濾胞萎縮、並びに腎臓の曲尿細管混濁腫脹が認められた[文献 6)]。いずれの動物種も死戦期の急性症状として著明な下痢、食思不振、衰弱、鼻部出血及び体重減少がみられ、死因は呼吸麻痺と推察された。

経口投与によるマウス及びラットのLD_{50}値はそれぞれ40～45 mg/kg[文献 4), 5)]及び55 mg/kg であった[文献 5)]。マウスでは死戦期の急性症状として著明な下痢、食思不振及び衰弱がみられ、死因は呼吸麻痺と推察された。

皮下投与によるマウスのLD_{50}値は 19.5 mg/kg であった[文献 1)]。死戦期の急性症状として下痢及び衰弱著明がみられ、死因は呼吸麻痺と推察された。

したがって、チオテパの単回投与による毒性は、投与経路の違いはあるものの、主として死亡（マウス、ラット及びウサギの単回静脈内投与による LD_{50} 値：それぞれ 14.5 mg/kg、10.5 mg/kg 及び 5 mg/kg 超）、本剤の薬理作用である細胞毒性に起因した骨髄機能抑制、並びに肝臓、脾臓、腎臓及び消化管への影響であった。また、死戦期の急性症状として下痢、衰弱、食思不振、鼻部出血及び体重減少がみられ、死因は呼吸麻痺と推察された。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

チオテパの反復投与毒性試験結果の概要を表 2.6.7.5 に示す。

静脈内投与による反復投与毒性はマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びアカゲザルで評価されている。マウス及びラットでは致死毒性以外の情報がなく、5 日間投与での LD_{10} 値はそれぞれ 4.5 又は 5.1 mg/kg/日及び 2.2 又は 3.4 mg/kg/日[文献 7)]であった。ウサギの 60 日間投与では、0.05 mg/kg/日以上で白血球数、赤血球数及び血色素量の減少並びに網状赤血球数の増加、0.1 mg/kg/日以上で栓球数（血小板数）の減少、0.3 mg/kg/日以上で肝機能障害を示唆する所見（血清中アルブミンの減少及び γ-グロブリンの増加）、2.5 mg/kg/日で死亡がみられ、平均生存日数は 9.5 日間であった[文献 3)]。イヌの 14～17 日間投与では、0.095 mg/kg/日以上で白血球数及び網赤血球数の減少、0.76 mg/kg/日で死亡、脾臓重量の低値及び顕著な体重減少、並びに重度の貧血及び骨髄障害が認められた[文献 7)]。アカゲザルの 14～17 日間投与では、0.19 mg/kg/日以上で白血球数及び網赤血球数の減少、0.38 mg/kg/日以上で体重減少、0.76 mg/kg/日で死亡、重度の骨髄障害及び脾臓重量の低値が認められた[文献 7)]。

腹腔内投与毒性では、マウスの 2 週間投与で 0.2 mg/kg/日以上で下痢及び死亡がみられ[文献 4)]、別の報告では、4 週間投与で 1 mg/kg/日以上で体重増加抑制及び白血球数の減少、5 mg/kg/日で死亡、脾臓の萎縮及び骨髄造血機能抑制[文献 8)]、8 週間投与で 0.05 mg/kg/日以上で白血球数の減少[文献 1)]が認められた。また、ラットの 5 日間投与での LD_{10} 値は 2.2 又は 3.2 mg/kg/日であった[文献 7)]。

経口投与毒性では、マウスの 2 週間投与で 0.4 mg/kg/日で体重増加抑制傾向、1 mg/kg/日以上で死亡及び下痢が認められた[文献 4)]。

皮下投与毒性では、ウサギの 60 日間投与で 0.05 mg/kg/日以上で白血球数、赤血球数及び血色素量の減少並びに網状赤血球数の増加、0.1 mg/kg/日以上で栓球数（血小板数）の減少、0.3 mg/kg/日以上で体重減少及び肝機能障害を示唆する所見（血清中アルブミンの減少及び γ-グロブリンの増加）がみられ、2.5 mg/kg/日で全例死亡し、平均生存日数は 12.3 日間であった[文献 3)]。

筋肉内投与毒性では、ウサギの 1 mg/日の 90 日間投与で骨髄造血障害として有核細胞数及び白血球数の減少がみられ、2 mg/日以上の 28 日間投与又は 5 mg/日の 2 日間隔の 22 回投与でも同様の障害としてヘモグロビン量、赤血球数、白血球数及び有核細胞数の減少が認められた。また、これらの用量では骨髄の病理組織学的検査所見として造血巣の分布異常、基質の線維化、血管系の分布異常及び巨核球又は顆粒球系の集簇が認められた[文献 9)]。

したがって、チオテパの反復投与による毒性は、主として本剤の薬理作用である細胞毒

性に起因した骨髄機能抑制、並びに肝臓、脾臓及び消化管への影響であった。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

チオテパの遺伝毒性試験結果の概要を表 2.6.7.6 に示す。

遺伝子突然変異試験として、ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター細胞及びアスペルギルス・ニデュランスを用いた突然変異試験、ショウジョウバエを用いた伴性劣性致死試験、マウス宿主経由試験、ラットを用いた Pig-a アッセイ、並びにラット及びトランスジェニックラットを用いた突然変異試験が実施された結果、いずれも陽性であった[文献 10), 11), 12), 13), 14)]。

染色体異常試験として、マウスを用いた優性致死試験、マウスの生殖細胞、骨髄及び胎児肝細胞を用いた染色体異常試験、ウサギ及びアカゲザルの末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験、ハムスター細胞及びヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験、並びにソラマメを用いた染色体異常試験が実施された結果、いずれも陽性であった[文献 10)]。ラット及びマウスを用いた骨髄小核試験が実施された結果、いずれも陽性であった[文献 10)]。マウス骨髄、マウス細胞、チャイニーズハムスター細胞、ソラマメ、ヒト末梢血及びサル末梢血を用いた姉妹染色分体交換試験が実施された結果、いずれも陽性であった[文献 10)]。アカゲザルを用いた骨髄細胞染色体異常試験（bolus と infusion 投与の比較）の結果はいずれも陽性であり、染色体異常誘発頻度は bolus に比べて infusion の方が低かった[文献 15)]。また、抗腫瘍薬としてチオテパ 40～100 mg の投与を受けた患者の末梢血リンパ球では対照群と比べて染色体異常を有する細胞数の増加が認められた[文献 10)]。

その他の遺伝毒性試験として、鶏胚を用いた DNA との結合試験、ヒト末梢血リンパ球を用いた不定期 DNA 合成試験、並びにマウス細胞を用いた形質転換試験が実施された結果、いずれも陽性であった[文献 10)]。

したがって、チオテパは遺伝毒性を有するものと考えられた。

2.6.6.5 がん原性試験

国際がん研究機関（International Agency for Research on Cancer, IARC）の発がん分類では、チオテパはグループ 1（ヒトに対する発がん性に関する十分な証拠がある物質群）に分類されている[文献 16)]。

チオテパのがん原性試験結果の概要を表 2.6.7.7 に示す。

がん原性はマウス及びラットを用いて評価されている。A/He 系雌雄マウスの 24 週間腹腔内投与（週 3 回で 4 週間投与し、計 12 回投与）では、総投与量が 47 mg/kg 以上で肺腫瘍の発生率が上昇し[文献 17)]、B6C3F1 系雌雄マウスの 86 週間腹腔内投与（週 3 回で 52 週間投与）では、雄の 1.15 mg/kg/日以上で皮膚、外耳道及び包皮腺などの扁平上皮癌の発生率が、雌雄の 2.3 mg/kg/日で悪性リンパ腫及びリンパ性白血病の発生率が上昇した[文献 18)]。BR46 系雄ラットの 52 週間静脈内投与（週 1 回投与）では、1 mg/kg/日で多臓器での悪性及び良性腫瘍の発生率が上昇した[文献 16)]。SD 系雌雄ラットの 86 週間腹腔内投与（週 3 回で 52 週

間投与）では、雄の 0.7 mg/kg/日以上でリンパ性白血病、骨髄性白血病、悪性リンパ腫、並びに皮膚及び外耳道の扁平上皮癌の発生率が、雌の 1.4 mg/kg/日で子宮腺癌、並びに皮膚及び外耳道の扁平上皮癌の発生率が上昇した。なお、雌雄の 2.8 mg/kg/日では投与 21 週までに全例死亡したため、病理組織学的評価は実施されていない[文献 18)]。

したがって、チオテパは肺腫瘍、造血器系腫瘍及び扁平上皮癌に加え、腺癌を含めた多臓器でがんの発生率を上昇させると考えられた。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

チオテパの生殖発生毒性試験結果の概要を表 2.6.7.8 に示す。

受胎能及び初期胚発生に及ぼす影響はマウス、ラット及びウサギを用いて評価されている。雄性マウスの単回腹腔内投与（3 及び 26 mg/kg）では、精子数の減少及び生殖細胞（精原及び精母細胞）の障害が[文献 19)]、5 日間腹腔内投与（0.5、2.5 及び 5.0 mg/kg/日）では、0.5 mg/kg/日以上で精巣重量の低値及び精子形成障害が認められた[文献 20)]。雄性マウスにチオテパを 2 mg/kg/日で腹腔内投与した後に無処置の雌動物と交配させた結果、2 日間以上連続投与すると着床数の減少が、3 日間以上連続投与すると生存胎児数の減少がみられ、6 日間以上連続投与すると授胎が認められなかった[文献 21)]。雄性ラットに 0.4 mg/kg/日を 5 日間腹腔内投与した後に無処置の雌動物と交配させた結果、投与後 6 週目までの交配では不妊又は授胎率の低下がみられたが、投与後 6 週目以降の交配では産児数に影響は認められなかった[文献 22)]。雌性ウサギの胞胚期に投与（3～10 mg/kg/日、投与経路不明）した結果、妊娠 3～6 日の投与では妊娠 6.5 日における胚盤胞に影響がみられ、妊娠 6～8 日の投与では 3 mg/kg/日で胎児致死が認められた[文献 23)]。

催奇形性は妊娠マウス及びラットを用いて評価されている。妊娠マウスの単回／反復腹腔内投与では、妊娠 0.5~12.5 日の 0.5 mg/kg 以上で生存胎児体重及び胎盤重量の低値が、妊娠 10.5 日の 1 mg/kg 以上で外形異常として多趾、合趾、足関節の異常及び指の位置異常が、妊娠 10.5~12.5 日の 5 mg/kg 及び妊娠 6.5~14.5 日の 7.5 mg/kg 以上で胎児致死、外形異常として水腫、二分脊椎、小顎症、口蓋裂、眼瞼開存、巨指、短趾、欠趾、臍ヘルニア、尾の形態異常などがみられ、妊娠 8.5 日の 10 mg/kg 及び妊娠 10.5 日の 20 mg/kg 以上で全児死亡が認められた。胎児に骨格異常として椎弓癒合、椎体変形などが妊娠 6.5 日での投与で、肋骨の異常（癒合及び波状肋骨）が妊娠 6.5 日以降の 7.5 mg/kg の投与で認められた[文献 24)]。妊娠ラットの単回皮下投与（3、5 及び 7 mg/kg）では、妊娠 8～10 日での 3 mg/kg 以上で流産率の上昇が認められ、妊娠 11 及び 12 日での 7 mg/kg で全例が流産した。更に 3 mg/kg 以上では、妊娠 11 日での投与で胎児に腎臓欠損を含む腎形成不全、無尾及び短尾が、妊娠 13 日での投与で減指及び指趾癒合が、妊娠 14 日又は 15 日での投与で頭蓋骨欠損、脳水腫、眼球突出（白内障）、全身浮腫、下顎狭小、肝ヘルニア及び性腺・副腎発育不全が、妊娠 16 日での投与で性腺及び副腎の発育障害が認められた[文献 25)]。

出生児に及ぼす影響として、妊娠マウスの単回腹腔内投与では 0.01 mg（0.437～0.537 mg/kg）以上で出生児の成長遅延、骨形成遅延・不全及び性成熟遅延がみられており

文献26)、妊娠10日に単回腹腔内投与（5.0及び7.5 mg/kg）した結果、5.0 mg/kg以上で出生後の活力低下及び多指が、7.5 mg/kgで出生児死亡率の上昇が認められた。なお、出生児の生殖能に異常は認められなかった文献27)。

したがって、チオテパは精子形成障害に伴う授胎能の低下、催奇形性、胚・胎児致死作用、並びに出生児の発育及び生存性への影響があると考えられた。

2.6.6.7　新生児を用いた試験

新生児を用いた試験は実施していない。

2.6.6.8　局所刺激性試験

局所刺激性試験は実施していない。

2.6.6.9　その他の毒性試験（マクロゴール400）

マクロゴール400の毒性試験結果の概要を表2.6.7.11に示す。

2.6.6.9.1　単回投与毒性試験

マウス、ラット及びウサギの単回静脈内投与によるLD_{50}値はそれぞれ8.6 g/kg、4.7 g/kg及び10 g/kg超であった文献28)。

2.6.6.9.2　反復投与毒性試験

雌雄ビーグル犬の30日間反復静脈内投与試験（用量：4.23、6.34及び8.45 g/kg/日）文献29)では、いずれの用量でも体重、体温、心電図検査及び器官重量（肝臓、腎臓、脾臓及び副腎）にマクロゴール400投与による影響は認められなかった。6.34 g/kg/日以上で口渇及び鼻粘膜の乾燥が、8.45 g/kg/日で腎細胞の混濁腫脹及び糸球体容積増加の病理組織学的変化がみられたが、回復群（回復期間：21日）ではこれらの所見は認められなかった。4.23 g/kg/日で血清電解質（Na及びCl）の上昇がみられたが、回復群では同様の変化は認められなかった。雌雄ヒヒの29日間反復静脈内投与試験（用量：100、350及び1000 mg/kg/日）文献28)では、1000 mg/kg/日の雌の1/3例にみられた体重減少以外にマクロゴール400投与による影響は認められなかった。雌雄ラットの4週間反復静脈内投与試験（用量：250、1250及び2500 mg/kg/日）文献28)では、2500 mg/kg/日の雌で呼吸数及び網赤血球数の増加が認められた。ウサギの5週間反復静脈内投与試験（性別不明、用量：350 mg/kg/日）文献28)では、血中尿素窒素の増加を伴う死亡（5例中1例）、並びに肝実質及び尿細管上皮の混濁腫脹が、30日間反復静脈内投与試験（性別不明、用量：1 g/kg/日）文献28)では、肝臓及び腎臓に軽微な毒性所見が認められた。なお、血中尿素窒素の増加を伴う死亡に関しては、より高用量では認められていないことから、偶発的な発現と推察された。

2.6.6.9.3 遺伝毒性試験

ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 を用いた復帰突然変異試験では、代謝活性化系の有無に関わらず、0.004～10 mg/plate の用量で突然変異誘発性は認められなかった[文献 28)]。チャイニーズハムスター細胞を用いた遺伝子突然変異試験では、代謝活性化系の有無に関わらず、0.6～10 mg/mL の用量で突然変異誘発性は認められなかった[文献 30)]。チャイニーズハムスター細胞を用いた姉妹染色分体交換試験では、代謝活性化条件下の 5 mg/mL で媒体対照群と比較し、統計学的に有意な姉妹染色分体交換頻度の上昇がみられたが、0.6～10 mg/mL の用量で用量依存性が認められず、陰性と判定された[文献 30)]。ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験では、ラット肝細胞に 0.001～1 mg/mL のマクロゴール 400 を ^{3}H-チミジンを含む培地で処理し、肝細胞核への ^{3}H-チミジン取り込みを観察するとともに DNA への ^{3}H-チミジン取り込み量を計測した。その結果、肝細胞核への ^{3}H-チミジン取り込みの増加は観察されなかった。また、0.03 及び 1 mg/mL で統計学的に有意な DNA への ^{3}H-チミジン取り込み量の増加がみられたが、用量依存性は認められず、陰性と判定された[文献 30)]。

2.6.6.9.4 がん原性試験

静脈内投与によるがん原性は報告されていない。その他、マウス経口投与による前胃のみを評価対象とした試験（0.3 mL/週 1 回、30 週間反復投与）では、がん原性は陰性であった[文献 31)]。マクロゴール 400 を媒体対照として実施したゴム添加剤のラット腹腔内投与試験（0.25 mL/週 1 回、6 ヵ月間反復投与後、最長 2 年間経過観察）では、腹腔内に腫瘍の発生はみられなかった。なお、22～24 ヵ月齢のマクロゴール 400 群の 1 例に肝癌が認められたが、がん原性なしと判断されたゴム添加剤投与群に認められた肝癌と同じ低頻度の発生であり、自然発生性の変化と考えられた[文献 32)]。なお、IARC の発がん分類では、マクロゴール 400 は発がん物質に分類されていない。

2.6.6.9.5 生殖発生毒性試験

妊娠ラットに妊娠 7 日から 16 日まで 0.2、0.4 及び 0.8 g/kg/日の用量で反復静脈内投与した結果、母動物に毒性を示唆する変化はみられず、胎児毒性も認められなかった[文献 28)]。また、妊娠ウサギに妊娠 7 日から 19 日まで 0.2、0.4 及び 0.8 g/kg/日の用量で反復静脈内投与した結果、母動物に毒性を示唆する変化はみられず、胎児毒性も認められなかった[文献 28)]。

2.6.6.10 その他の毒性試験（類縁物質B群）

チオテパ製剤は長期保存時に類縁物質B群が増加し、「新有効成分含有医薬品のうち製剤の不純物に関するガイドラインの改定について」（平成 15 年 6 月 24 日付 医薬審発第 0624001 号）に記載されている「安全性の確認が必要とされる閾値」を上回ることが予想された（3.2.P.5.5.1）。このため、チオテパ製剤を[redacted]で[redacted]保存した後、[redacted]類縁物質B群を分取し、ラット 7 日間反復静脈内投与毒性試験（予備試験及び本試験）

を実施した。

チオテパ製剤を 5°C で[redacted]及び[redacted]箇月間保存した場合、製剤中に含まれる類縁物質B群[redacted]の主類縁物質量はそれぞれ[redacted]及び[redacted]%と予測された（3.2.P.5.5.1）ため、毒性試験の低用量及び高用量にはそれぞれ[redacted]及び[redacted]%を設定した。毒性試験の実施時点で想定されたチオテパのヒト最大投与量 14 mg/kg/日の[redacted]及び[redacted]%のそれぞれ 0.07 及び 0.14 mg/kg/日をラット及びヒトの体表面積換算を考慮した 0.162 で除することにより、毒性試験の実投与量をそれぞれ 0.45 及び 0.9 mg/kg/日とした。また、チオテパ製剤の臨床での総投与期間は 5 日間以内であることから、毒性試験の投与期間は 7 日間とした。なお、申請予定の臨床用量は 200 mg/m^2/日（最大 10 mg/kg/日程度）であり、毒性試験の実施時点で想定したチオテパのヒト最大投与量 14 mg/kg/日よりも少ないと考えられる。

2.6.6.10.1 ラット 7 日間反復静脈内投与毒性試験（予備試験、GLP 非適用）【表 2.6.7.12-1】

類縁物質B群につき、主類縁物質のチオテパ相当量として 0（対照群）、0.45 及び 0.9 mg/kg/日を各群雌雄各 5 匹の Crl:CD(SD)系ラットに 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与（投与容量：10 mL/kg/日，投与速度：10 mL/kg/h）したときの毒性を評価した。対照群には 4.5 v/v%マクロゴール水溶液を類縁物質B群と同様の方法で投与した.

7 日間の投与期間中、死亡はみられず、一般状態、体重、摂餌量、血液生化学的検査及び剖検に類縁物質B群の投与に起因する変化は認められなかった。なお、0.9 mg/kg/日群の雄でプロトロンビン時間及び活性化部分トロンボプラスチン時間の延長並びに精巣重量の高値が認められたが、いずれも軽度な変化であり、毒性学的に意義のない変化と考えられた。

以上の結果、本試験条件下では、0.9 mg/kg/日まで類縁物質B群の投与に起因した毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

2.6.6.10.2 ラット 7 日間反復静脈内投与毒性試験（本試験、GLP 適用）【表 2.6.7.12-2】

類縁物質B群につき、主類縁物質のチオテパ相当量として 0（対照群）、0.45 及び 0.9 mg/kg/日を各群雌雄各 10 匹の Crl:CD(SD)系ラットに 1 日 1 回 7 日間反復静脈内投与（投与容量：10 mL/kg/日，投与速度：10 mL/kg/h）したときの毒性を評価した。対照群には 4.5 v/v%マクロゴール水溶液を類縁物質B群と同様の方法で投与した。

7 日間の投与期間中、類縁物質B群の投与に起因する死亡はなく、一般状態、眼科学的検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査に類縁物質B群[redacted]の投与に起因する変化は認められなかった。血液学的検査では、0.9 mg/kg/日群の雄で白血球数、好中球数、リンパ球数、単球数及び好塩基球数の低値が認められたものの、病理組織学的に骨髄の変化を伴うものではなかった。なお、0.45 及び 0.9 mg/kg/日群の雌で体重増加量及び摂餌量の一過性の低値がみられたが、体重値には類縁物質B群の投与に起因する変化は認められなかったことから、毒性学的に意義のない変化と考えられた。また、これらの群の雌では尿検査パラメータの変動もみられたが、泌尿器系の病理

組織変化を伴わず、毒性学的に意義のない変化と考えられた。

以上の結果、本試験条件下では、0.9 mg/kg/日群の雄で白血球系パラメータの低値がみられたのみで、その他、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査に毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

2.6.6.11 考察及び結論

(1) 単回及び反復投与毒性について

チオテパの静脈内投与による単回投与毒性は、マウス、ラット及びウサギで評価されており、LD_{50}値はそれぞれ 14.5 mg/kg、10.5 mg/kg 及び 5 mg/kg 超であった。その他の投与経路（腹腔内、経口及び皮下）でも単回投与が実施されており、主として本剤の薬理作用である細胞毒性に起因した骨髄機能抑制、並びに肝臓、脾臓、腎臓及び消化管に対する影響が認められた。また、死戦期の急性症状として下痢、衰弱、食思不振、鼻部出血及び体重減少がみられ、死因は呼吸麻痺と推察された。

チオテパの静脈内投与による反復投与毒性はマウス、ラット、ウサギ、イヌ及びアカゲザルで評価されている。マウス及びラットの反復静脈内投与によるLD_{10}値はそれぞれ 4.5 又は 5.1 mg/kg/日（体表面積換算による HED：13.5 又は 15.3 mg/m^2/日）及び 2.2 又は 3.4 mg/kg/日（HED：13.2 又は 20.4 mg/m^2/日）であった。ウサギの反復静脈内投与では、0.05 mg/kg/日（体表面積換算による HED：0.6 mg/m^2/日）以上で白血球数、赤血球数及び血色素量の減少並びに網状赤血球数の増加、0.1 mg/kg/日（体表面積換算による HED：1.2 mg/m^2/日）以上で栓球数（血小板数）の減少、0.3 mg/kg/日（HED：3.6 mg/m^2/日）以上で肝機能障害を示唆する所見（血清中アルブミンの減少及び γ-グロブリンの増加）、2.5 mg/kg/日（HED：30 mg/m^2/日）で死亡が認められた。イヌの反復静脈内投与では、0.095 mg/kg/日（HED：1.9 mg/m^2/日）以上で白血球数及び網赤血球数の減少、0.76 mg/kg/日（HED：15.2 mg/m^2/日）で死亡、脾臓重量の低値及び顕著な体重減少、並びに重度の貧血及び骨髄障害が認められた。アカゲザルの反復静脈内投与では、0.19 mg/kg/日（HED：2.28 mg/m^2/日）以上で白血球数及び網赤血球数の減少、0.38 mg/kg/日（HED：4.56 mg/m^2/日）以上で体重減少、0.76 mg/kg/日（HED：9.12 mg/m^2/日）で死亡、重度の骨髄障害及び脾臓重量の低値が認められた。したがって、チオテパの反復静脈内投与による毒性は、主として本剤の薬理作用である細胞毒性に起因した骨髄機能抑制、並びに肝臓及び脾臓への影響であった。なお、国内臨床では、2011 年までに造血幹細胞移植された 68,145 件のうち、2,616 件で同移植の前治療としてチオテパが使用されていた（2.7.3.2.3）。また、チオテパが投与された 1,569 名の 1 日投与量（平均値±標準偏差）は 208±69 mg/m^2/日であり（2.7.3.2.3）、前述した動物実験のLD_{10}値等を含む毒性量を上回る用量が投与されている。今回の申請用量（200 mg/m^2）も動物実験の毒性量を上回るため、臨床での使用実績を基に適切な用量を患者に投与する必要がある。

その他の投与経路として、腹腔内投与ではマウスで下痢、体重増加抑制、白血球数の減

少、骨髄造血機能抑制及び脾臓の萎縮が、経口投与ではマウスで下痢及び体重増加抑制が、皮下投与ではウサギで体重減少、肝機能障害を示唆する所見（血清中アルブミンの減少及びγ-グロブリンの増加）及び骨髄造血障害［白血球数、赤血球数、血色素量及び栓球数（血小板数）の減少並びに網状赤血球数の増加］が、筋肉内投与ではウサギで骨髄造血障害（ヘモグロビン量、赤血球数、白血球数及び有核細胞数の減少並びに骨髄の病理組織学的変化）が認められた。したがって、その他の投与経路による毒性は、静脈内投与でも認められた骨髄機能抑制並びに肝臓及び脾臓への影響のほか、消化管への影響であった。

（2）遺伝毒性及びがん原性について

チオテパの遺伝毒性は、遺伝子突然変異試験、染色体異常試験及び小核試験を含め、実施された試験はいずれも陽性であった。チオテパを含むアルキル化剤は DNA の求核性部位との間に共有結合を形成し、細胞周期非特異的に DNA を傷害することにより遺伝子突然変異及び染色体異常を引き起こすことが広く知られている。

チオテパのがん原性試験では、マウスで肺腫瘍、造血器系腫瘍及び扁平上皮癌が、ラットで造血器系腫瘍、扁平上皮癌及び腺癌を含めた多臓器でのがんの発生率の上昇が認められ、マウス及びラットに対して発がん性を有することが示された。ヒトでの発がん性を示すものとして、がん治療のためのチオテパ投与後に非リンパ球性白血病の発症例が数多く報告されている。また、卵巣がんに対してチオテパによる化学療法を行った患者に関する疫学的調査の結果、化学療法を受けた患者では、クロラムブシル、メルファラン、シクロホスファミドなどのアルキル化剤と同様に、外科的手術のみを行った患者に比べて急性又は非リンパ性白血病の高い発症リスクを示すことが報告されている[文献33)]。また、IARC の発がん分類では、上記の動物におけるがん原性試験結果及びヒトにおける発がん性に関する疫学的調査結果から、チオテパはグループ 1（ヒトに対する発がん性に関する十分な証拠がある物質群）に分類され、発がん性を有するものと考えられた。したがって、チオテパは遺伝毒性発がん物質であり、患者に投与する際には治療上のリスクとベネフィットを十分に考慮する必要がある。

（3）生殖発生毒性について

チオテパの雄生殖能に及ぼす影響として、マウスで生殖細胞（精原及び精母細胞）の障害や精子形成障害が認められており、優性致死作用も報告されている。また、マウスやラットでは上記の障害に基づくと考えられる授胎能の低下や不妊が認められている。ヒトでは、チオテパの 400 mg/m^2 を投与された男性に一時的な精子数の減少又は無精子症が認められたとの報告がある[文献34)]。雌生殖能に及ぼす影響として、マウスではアルキル化剤であるシクロホスファミド投与により原始卵胞の枯渇が[文献35)]、ヒトでもアルキル化剤の投与により卵母細胞及び卵胞の枯渇、又は卵巣の機能不全による不妊が報告されていることから[文献36),37)]、同効剤であるチオテパも閉経前の女性では卵巣機能へ影響を及ぼす可能性が考えられた。したがって、男性、女性ともにチオテパ投与により一時的又は永久的な不妊症に

陥る危険性があること、また、小児でも性腺の発達に影響を及ぼす可能性があることから、患者に投与する際には治療上のリスクとベネフィットを十分に考慮する必要がある。また、チオテパは遺伝毒性も有するため、パートナーが妊娠する可能性のある男性には本剤投与中及び投与終了後一定期間は適切な避妊をするよう指導する必要がある。

チオテパは催奇形性を有することが知られており、マウスでは外形異常（巨指・欠趾、小顎症、口蓋裂、眼瞼開存、尾の形態異常など）及び骨格異常（椎弓癒合、椎体変形、肋骨癒合、波状肋骨など）がみられ、ラットでは外形異常（全身浮腫、眼球突出、減指、指趾癒合、無尾、短尾など）、内臓異常（肝ヘルニア、腎形成不全、性腺・副腎発育障害/不全など）及び骨格異常（頭蓋骨欠損など）が認められている。また、マウス及びラットでは胎児致死作用がみられており、ウサギでは初期胚に及ぼす影響も認められている。ヒトでは、アルキル化剤を妊娠第1三半期に投与することにより、胎児の異常、流産及び子宮内膜胎児死亡のリスクが増加するものの、アルキル化剤の治療を受けた生存者では数年の休薬期間後にはこれらのリスクの増加はないと報告されている[文献37)]。したがって、チオテパは妊婦又は妊娠している可能性のある女性には投与を避けるべきである。また、妊娠する可能性のある女性には本剤投与中及び投与終了後一定期間は適切な避妊をするよう指導する必要がある。更にマウスでは出生児の発育及び生存性への影響も認められていることから、授乳中の女性への投与を避け、やむを得ず投与する場合は授乳を中止させるべきである。

（4）マクロゴール400の毒性について

マクロゴール400の単回静脈内投与によるマウス、ラット及びウサギのLD_{50}値はそれぞれ8.6 g/kg、4.7 g/kg及び10 g/kg超であった。

イヌの30日間反復静脈内投与では、4.23 g/kg/日（HED：2350 mg/kg/日）で血清電解質（Na及びCl）の上昇、6.34 g/kg/日（HED：3522 mg/kg/日）以上で口渇及び鼻粘膜の乾燥、8.45 g/kg/日（HED：4694 mg/kg/日）で腎細胞の混濁腫脹及び糸球体容積増加の病理組織学的変化がみられたが、これらの変化には回復性が認められた。また、ヒヒの29日間反復静脈内投与では1000 mg/kg/日（HED：556 mg/kg/日）で体重減少が、ラットの4週間反復静脈内投与では2500 mg/kg/日（HED：403 mg/kg/日）で呼吸数及び網赤血球数の増加が、ウサギの5週間及び30日間反復静脈内投与では350 mg/kg/日（HED：113 mg/kg/日）以上で肝臓及び腎臓に軽微な毒性所見が認められた。なお、マクロゴール400のヒト一日最大投与量は「医薬品添加剤の一日最大使用量を算出する際に考慮する事項」（http://www.pmda.go.jp/files/000214201.docx）を踏まえ、成人での体表面積1.65 m^2としたときの本薬の一日最大投与量330 mg/日（体重60 kgとして5.5 mg/kg）に基づくと、8.976 g/日（体重60 kgとして149.6 mg/kg/日）であり、ウサギではヒト一日最大投与量付近の用量で肝臓及び腎臓に軽微な変化が認められたものの、イヌ、ヒヒ及びラットではいずれの変化もヒト一日最大投与量を上回る用量での発現であった。また、ウサギで認められた変化は4ないし5週間投与された結果であり、臨床では本薬の最長4日間投与でマクロゴール

400 に起因した肝臓及び腎臓への影響が発現する可能性は低いものと推察された。

IARC の発がん分類では、マクロゴール 400 は発がん物質に分類されておらず、静脈内投与によるがん原性は報告されていない。その他、マウス経口投与による前胃のみを評価対象とした試験（0.3 mL/週 1 回、30 週間反復投与）では、がん原性は陰性であった。また、ラット腹腔内投与による試験（0.25 mL/週 1 回、6 ヵ月間反復投与し、最長 2 年間経過観察）では、腹腔内に腫瘍はみられなかったものの、1 例のみに肝癌が認められた。

遺伝毒性試験として、ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター細胞を用いた突然変異試験及び姉妹染色分体交換試験、並びにラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験が実施されているが、いずれも陰性であった。

生殖発生毒性試験では、妊娠ラットに妊娠 7 日から 16 日まで、又は妊娠ウサギに妊娠 7 日から 19 日まで反復静脈内投与した結果、母動物に毒性を示唆する変化はみられず、胎児毒性も認められなかった。

(5) 類縁物質B群 の毒性について

類縁物質B群 のラット 7 日間反復静脈内投与毒性試験を実施した結果、主類縁物質のチオテパ相当量として 0.9 mg/kg/日群の雄で白血球系パラメータの低値がみられたのみで、その他、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査、尿検査、血液生化学的検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査に毒性学的に意義のある変化は認められなかった。しかしながら、白血球系パラメータの低値は、チオテパの反復投与毒性試験でも同様の変化（薬理作用に基づく骨髄機能抑制）がみられており、更にチオテパでは死亡並びに肝臓、脾臓及び消化管への影響も認められている。また、類縁物質B群 溶液中に含まれる類縁物質B群 の総量のチオテパ相当量は高用量（主類縁物質のチオテパ相当量として 0.9 mg/kg/日）で約 5.2 mg/kg/日であり、ラットにチオテパを 5 日間反復投与した時の LD_{10} 値である 2.3 又は 3.4 mg/kg/日を上回る。したがって、類縁物質B群 の全身毒性はチオテパと同様に薬理作用に基づく骨髄機能抑制であり、更にその強さはチオテパと比較して極めて弱かった。

なお、チオテパは [redacted] 遺伝毒性を示すことが知られている。一方、類縁物質B群 は、[redacted] ため、チオテパと同様の遺伝毒性発現メカニズムにより、遺伝毒性を示すと考えられるが、[redacted] で存在しているため、類縁物質B群 の遺伝毒性ポテンシャルは、相当量のチオテパと比較して弱いと推察される。したがって、チオテパ製剤の長期保存時に類縁物質B群 が増加したとしても、類縁物質B群 を含まない製剤の遺伝毒性ポテンシャルを上回るものではないと考えられる。

(6) 結論

チオテパ投与により動物実験で致死作用、骨髄機能抑制等の一般毒性、遺伝毒性、発が

ん性及び生殖発生毒性（精子形成障害、催奇形性、胚・胎児致死作用など）が認められた。チオテパ製剤の添加物であるマクロゴール400は高用量で軽微な毒性変化がみられたものの、遺伝毒性はなく、静脈内投与によるがん原性及び胎児毒性は認められなかった。チオテパ製剤の保存中に増加する類縁物質B群でも骨髄機能抑制が認められたが、その強さはチオテパと比較して極めて弱かった。

2.6.6.12 図表

該当なし

2.6.6.13 参考文献

1) 佐藤 信保、森広 正明、斉藤 千春. Thio-TEPA の毒性試験及びマウス白血球数に対する影響. 大日本住友製薬資料.【4.2.3.1.01】
2) Druckrey H, Schmähi D, Danneberg P, Kaiser K, Nieper HA, Lo HW, et al. Vergleichende Prüfung der chemotherapeutischen Wirkung von N-oxyd-Lost und anderen alkylierenden Substanzen auf Tumoren von Ratten. Arzneimittel-Forschung. 1956;6:539-50.【4.3.22】
3) 田代 哲男. Thio-TEPA 投与の実験的研究. 久留米医学会雑誌. 1961;24(1):562-84.【4.3.23】
4) 高木 博司、猪木 令三、平沢 とよ. Thio-TEPA の毒性及びコリンエステラーゼに対する作用について. 大日本住友製薬資料.【4.2.3.1.02】
5) Sloboda AE, Vogel AW. Comparison of Two Antineoplastic Compounds with Thiotepa: A Laboratory Evaluation. Cancer Chemother Rep. 1962;24:7-17.【4.3.24】
6) 山口 寿、寺下 楢治、倉堀 知弘、田淵 幸博、池田 悦郎. Triethylene-thiophosphoramide (TSPA)に関する実験的研究. 癌. 1956;47:399-400.【4.3.25】
7) Schmidt LH, Fradkin R, Sullivan R, Flowers A. COMPARATIVE PHARMACOLOGY OF ALKYLATING AGENTS. I. Cancer Chemother Rep. 1965;Suppl.2:1-401, 1017-528.【4.3.26】
8) 山本 正、竹内 美恵子、草野 信男、織田 昭. 実験動物. 1958;7(2):35-9.【4.3.27】
9) 塩沼 真一. Triethylene thio-phosphoramide 投与時の家兎骨髄造血障害に関する実験的研究. 和歌山医学. 1969;20(4):405-18.【4.3.28】
10) International Agency of Research for Cancer (IARC). Thiotepa. Pharmaceutical Drugs. IARC Monographs. 1990;50:123-41.【4.3.29】
11) Chen T, Aidoo A, Manjanatha MG, Mittelstaedt RA, Shelton SD, Lyn-Cook LE, et al. Comparison of mutant frequencies and types of mutations induced by thiotepa in the endogenous Hprt gene and transgenic lacI gene of Big Blue rats. Mutat Res. 1998;403(1-2):199-214.【4.3.30】
12) Chen T, Aidoo A, Mittelstaedt RA, Casciano DA, Heflich RH. Hprt mutant frequency and molecular analysis of Hprt mutations in Fischer 344 rats treated with thiotepa. Carcinogenesis. 1999;20(2):269-77.【4.3.31】
13) Dertinger SD, Phonethepswath S, Avlasevich SL, Torous DK, Mereness J, Cottom J, et al. Pig-a gene mutation and micronucleated reticulocyte induction in rats exposed to tumorigenic doses of the leukemogenic agents chlorambucil, thiotepa, melphalan, and 1,3-propane sultone. Environ Mol Mutagen. 2014;55(4):299-308.【4.3.32】
14) Labash C, Carlson k, Avlasevich SL, Berg A, Bemis JC, MacGregor JT, et al. Induction of Pig-a mutant erythrocytes in male and female rats exposed to 1,3-propane sultone, ethyl carbamate, or thiotepa. Mutat Res. 2015;782:24-9.【4.3.33】

15) Rao VK, Knutsen T, Ried T, Wangsa D, Flynn BM, Langham G, et al. The extent of chromosomal aberrations induced by chemotherapy in non-human primates depends on the schedule of administration. Mutat Res. 2005;583(2):105-19.【4.3.34】
16) IARC. Thiotepa. Pharmaceuticals. IARC Monographs. 2012;100A:165-71.【4.3.35】
17) Stoner GD, Shimkin MB, Kniazeff AJ, Weisburger JH, Weisburger EK, Gori GB. Test for carcinogenicity of food additives and chemotherapeutic agents by the pulmonary tumor response in strain A mice. Cancer Res. 1973;33(12):3069-85.【4.3.36】
18) National Toxicology Program. Bioassay of thio-TEPA for possible carcinogenicity. Natl Cancer Inst Carcinog Tech Rep Ser. 1978;58:1-168.【4.3.37】
19) Meistrich ML, Finch M, da Cunha MF, Hacker U, Au WW. Damaging effects of fourteen chemotherapeutic drugs on mouse testis cells. Cancer Res. 1982;42(1):122-31.【4.3.38】
20) Evenson DP, Baer RK, Jost LK, Gesch RW. Toxicity of thiotepa on mouse spermatogenesis as determined by dual-parameter flow cytometry. Toxicol Appl Pharmacol. 1986;82(1):151-63.【4.3.39】
21) 大鳥 寛. 雄マウスの生殖能力に対する thio-TEPA の影響について. 日本不妊学会雑誌. 1971;16(2):146-8.【4.3.40】
22) Jackson H, Fox BW, Craig AW. The effect of alkylating agents on male rat fertility. Br J Pharmacol Chemother. 1959;14(2):149-57.【4.3.41】
23) Adams CE, Hay MF, Lutwak MC. The action of various agents upon the rabbit embryo. J Embryol Exp Morphol. 1961;9:468-91.【4.3.42】
24) Tanimura T. Relationship of dosage and time of administration to the teratogenic effects of thio-TEPA in mice. Okajimas Folia Anat Jpn. 1968;44(4):203-53.【4.3.43】
25) 藤田 弘. Thio-TEPA による白鼠胎仔の奇型発生. 阪大医誌. 1959;11:1907-17.【4.3.44】
26) 松田 英弐. 諸種抗腫瘍性物質負荷マウス産仔の成長発育に関する実験的研究. 昭和医学会雑誌. 1959;19:961-85.【4.3.45】
27) 田中 忠弘. 胎生期に Thio-TEPA の適用を受けたマウスの生後の運命. 解剖学雑誌. 1967;42(2):94-8.【4.3.46】
28) Polyethylene glycol. The MAK Collection for Occupational Health and Safety. 1998;247-70.【4.3.47】
29) Li BQ, Dong X, Fang SH, Gao JY, Yang GQ, Zhao H. Systemic toxicity and toxicokinetics of a high dose of polyethylene glycol 400 in dogs following intravenous injection. Drug Chem Toxicol. 2011;34(2):208-12.【4.3.48】
30) Cosmetic Ingredient Review. Final report on the safety assessment of polyethylene glycols (PEGs) -6, -8, -32, -75, -150, -14M, -20M. J Am Coll Toxicol. 1993;12:429-57.【4.3.49】
31) The EFSA Journal. 2006;414:1-22.【4.3.50】
32) Boyland E, Carter RL, Gorrod JW, Roe FJ. Carcinogenic properties of certain rubber additives. Eur J Cancer. 1968;4(2):233-9.【4.3.51】

33) Kaldor JM, Day NE, Pettersson F, Clarke EA, Pedersen D, Mehnert W, et al. Leukemia following chemotherapy for ovarian cancer. N Engl J Med. 1990;322(1):1-6.【4.3.52】
34) Meistrich ML. Male gonadal toxicity. Pediatr Blood Cancer. 2009;53(2):261-6.【4.3.53】
35) Chen XY, Xia HX, Guan HY, Li B, Zhang W. Follicle Loss and Apoptosis in Cyclophosphamide-Treated Mice: What's the Matter? Int J Mol Sci. 2016;17(6):836.【4.3.54】
36) Tao T, Del ValleA. Human oocyte and ovarian tissue cryopreservation and its application. J Assist Reprod Genet. 2008;25(7):287-96.【4.3.55】
37) Blumenfeld Z. Chemotherapy and fertility. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2012;26(3):379-90.【4.3.56】

チオテパ
製造販売承認申請

CTD 第 2 部

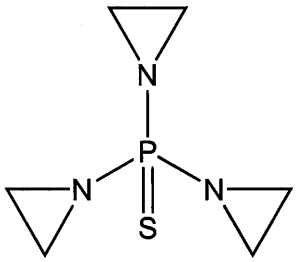
2.6　非臨床試験の概要文及び概要表
2.6.7　毒性試験概要表

大日本住友製薬株式会社

目次

2.6.7 毒性試験概要表
2.6.7.1 毒性試験：一覧表....4
2.6.7.2 トキシコキネティクス....13
2.6.7.3 毒性試験：被験物質一覧....14
2.6.7.4 単回投与毒性試験....15
2.6.7.5 反復投与毒性試験....17
2.6.7.6 遺伝毒性試験....19
2.6.7.7 がん原性試験....21
2.6.7.8 生殖発生毒性試験....22
2.6.7.9 新生児を用いた試験....25
2.6.7.10 局所刺激性試験....26
2.6.7.11 その他の毒性試験（マクロゴール400）....27
2.6.7.12 その他の毒性試験（類縁物質B群）....32

【本項における用語の説明】

チオテパ Thiotepa（TT）	化学名： Tris(aziridin-1-yl)phosphine sulfide 分子式（分子量）： $C_6H_{12}N_3PS$（189.22） 構造式： 

用語	定義	
チオテパのヒトでの体重当たりの 1 日最大投与量	本書では 10 mg/kg とする。 （設定理由：申請する用量 200 mg/m^2/日での 1 日最大投与量は、成人での最大体表面積を 2.5 m^2 と想定して 500 mg/日とした。体重当たりの 1 日最大投与量は、体重を 50 kg と想定して 10 mg/kg とした。治験での実績から小児でも 10 mg/kg を超えないと考えられた。）	
DSP-1958	チオテパの治験成分記号	
DSP-1958 注	チオテパ 100 mg を含有する注射剤	
テスパミン®注射液	過去に国内で販売されていたチオテパを含む製剤	
類縁物質B群	[redacted]	類縁物質試験法における相対保持時間[redacted]の類縁物質群
類縁物質B群[redacted]の主類縁物質	[redacted]	類縁物質B群[redacted]において最も多く存在する類縁物質（相対保持時間[redacted]）

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

表 2.6.7.1-1　一覧表（チオテパ）

被験物質：チオテパ

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所	
								Vol.	Section
単回投与毒性試験	マウス／dm 系	静脈内、腹腔内、皮下	単回	不明	非適	住友化学（株）	大日本住友製薬資料	4-3	4.2.3.1.01
	ラット／Wistar 系	静脈内	単回	不明	非適	Chemotherapeutischen Forschungs-Instituts	公表文献	4-3	4.3.22
	ウサギ／不明	静脈内	単回	0.1、1、3、5	非適	久留米大学	公表文献	4-3	4.3.23
	マウス／不明	経口	単回	35、38、40、44、48、50	非適	京都大学	大日本住友製薬資料	4-3	4.2.3.1.02
		腹腔内	単回	10、15、16、17、18、20					
	マウス／C3H 系	経口、腹腔内	単回	不明	非適	American Cyanamid Co.	公表文献	4-3	4.3.24
	マウス／不明	腹腔内	単回	30～60	非適	大阪大学	公表文献	4-3	4.3.25
	ラット／交雑系	腹腔内	単回	30～60	非適	大阪大学	公表文献	4-3	4.3.25
			単回	5 回連続（32 週間） 1 回量として 5.7 mg/kg					
	ラット／Wistar 系	経口、腹腔内	単回	不明	非適	American Cyanamid Co.	公表文献	4-3	4.3.24

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所	
								Vol.	Section
反復投与毒性試験	マウス／Rolfsmeyer、BDF_1系	静脈内	5日間	不明	非適	Cancer Chemotherapy National Service Center	公表文献	4-3	4.3.26
	ラット／Holtzman、Fischer系	静脈内、腹腔内	5日間	不明	非適	Cancer Chemotherapy National Service Center	公表文献	4-3	4.3.26
	ウサギ／不明	静脈内又は皮下	60日間	0.05、0.1、0.3、0.5、2.5	非適	久留米大学	公表文献	4-3	4.3.23
	イヌ／不明	静脈内	14～17日間	0.095、0.19、0.38、0.76	非適	Cancer Chemotherapy National Service Center	公表文献	4-3	4.3.26
	アカゲザル／不明	静脈内	14～17日間	0.095、0.19、0.38、0.76	非適	Cancer Chemotherapy National Service Center	公表文献	4-3	4.3.26
	マウス／不明	経口	2週間	0.4、1、2、4、8	非適	京都大学	大日本住友製薬資料	4-3	4.2.3.1.02
		腹腔内	2週間	0.2、0.5、1、2、4					
	マウス／SM系	腹腔内	4週間	0.025、0.05、0.1、0.2、1、5	非適	東大伝染病研究所、日本大学	公表文献	4-3	4.3.27
	マウス／dd系	腹腔内	8週間	0.05、0.1	非適	住友化学（株）	大日本住友製薬資料	4-3	4.2.3.1.01
	ウサギ／不明	筋肉内	28日間	1、2、3 mg/日	非適	和歌山県立医科大学	公表文献	4-3	4.3.28
			90日間	1 mg/日					
			2日間隔で22回	5 mg/日					

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所	
								Vol.	Section
遺伝毒性試験	遺伝子突然変異								
	(1) ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験 (2) チャイニーズハムスター細胞を用いた突然変異試験 (3) アスペルギルス・ニデュランスを用いた突然変異試験 (4) ショウジョウバエを用いた伴性劣性致死試験 (5) マウス宿主経由試験			不明	非適	International Agency for Research on Cancer	公表文献	4-3	4.3.29
	トランスジェニックラットを用いた突然変異試験			1.4	非適	National Center for Toxicological Research	公表文献	4-3	4.3.30
	ラットを用いた突然変異試験			0.7、1.4、2.8	非適	National Center for Toxicological Research	公表文献	4-3	4.3.31
	ラットを用いたPig-aアッセイ			0.0547、0.164、0.492、10	非適	Litron Laboratories	公表文献	4-3	4.3.32
	ラットを用いたPig-aアッセイ			7.5	非適	Litron Laboratories	公表文献	4-3	4.3.33
	染色体異常								
	(1) マウスを用いた優性致死試験 (2) マウス生殖細胞を用いた染色体異常試験 (3) マウス骨髄を用いた染色体異常試験 (4) マウス胎児肝細胞を用いた染色体異常試験 (5) ウサギ末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 (6) アカゲザル末梢血リンパ球を用い			不明	非適	International Agency for Research on Cancer	公表文献	4-3	4.3.29

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所	
								Vol.	Section
	た染色体異常試験 (7) ハムスター細胞を用いた染色体異常試験 (8) ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 (9) ソラマメを用いた染色体異常試験 (10) ラットを用いた骨髄小核試験 (11) マウスを用いた骨髄小核試験 (12) マウス骨髄を用いた姉妹染色分体交換試験 (13) マウス細胞を用いた姉妹染色分体交換試験 (14) チャイニーズハムスター細胞を用いた姉妹染色分体交換試験 (15) ソラマメを用いた姉妹染色分体交換試験 (16) ヒト末梢血を用いた姉妹染色分体交換試験 (17) サル末梢血を用いた姉妹染色分体交換試験 (18) チオテパの抗腫瘍治療を受けた患者の末梢血リンパ球を用いた染色体異常解析								
	アカゲザルを用いた骨髄細胞染色体異常試験（bolus投与とinfusion投与の比較）			総投与量 2	非適	Center for Cancer Research, National Cancer Institute	公表文献	4-3	4.3.34
	その他の遺伝毒性								
	(1) 鶏胚を用いたDNAとの結合試験 (2) ヒト末梢血リンパ球を用いた不定期DNA合成試験 (3) マウス細胞を用いた形質転換試験			不明	非適	International Agency for Research on Cancer	公表文献	4-3	4.3.29

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所	
								Vol.	Section
がん原性試験	マウス／A/He 系	腹腔内	24 週間（週 3 回で 4 週間投与）	総投与量 0、19、47、94	非適	University of California	公表文献	4-3	4.3.36
	マウス／B6C3F1 系	腹腔内	86 週間（週 3 回で 52 週間投与）	0、1.15、2.3	非適	National Institutes of Health (NIH)	公表文献	4-3	4.3.37
	ラット／BR46 系	静脈内	52 週間（週 1 回投与）	0、1	非適	不明	公表文献	4-3	4.3.35
	ラット／SD 系	腹腔内	86 週間（週 3 回で 52 週間投与）	0、0.7、1.4、2.8	非適	National Institutes of Health (NIH)	公表文献	4-3	4.3.37
生殖発生毒性試験	雄性マウス／C3H 系	腹腔内	単回	0、3、26	非適	University of Texas	公表文献	4-3	4.3.38
	雄性マウス／C57BL×C3H 系	腹腔内	5 日間	0、0.5、2.5、5.0	非適	South Dakota State University	公表文献	4-3	4.3.39
	雄性マウス／ICR-JCL 系	腹腔内	1～8 日間（投与後、無処置雌と交配）	2	非適	塩野義製薬（株）	公表文献	4-3	4.3.40
	雄性ラット／Wistar 系	腹腔内	5 日間（投与後、毎週 1 回、無処置雌と交配）	0.4	非適	Christie Hospital and Holt Radium Institute, Manchester	公表文献	4-3	4.3.41

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所	
								Vol.	Section
	妊娠雌ウサギ／不明	不明	胎胚期投与	3～10	非適	University of Cambridge	公表文献	4-3	4.3.42
	妊娠雌マウス／dd系	腹腔内	妊娠6.5～15.5日	0.5～30	非適	京都大学	公表文献	4-3	4.3.43
			妊娠4.5又は5.5日	7.5					
			妊娠0.5～12.5日	0.5					
	妊娠雌ラット／Wistar系	皮下	妊娠8～16日までの単回	3、5、7	非適	大阪大学	公表文献	4-3	4.3.44
	妊娠雌マウス／ddN系	腹腔内	妊娠4、11、18日の単回	0.01 mg（0.437～0.537 mg/kg）、0.05 mg（2.15～2.5 mg/kg）	非適	昭和医科大学	公表文献	4-3	4.3.45
	妊娠雌マウス／dd系	腹腔内	妊娠10日	5.0、7.5	非適	京都大学	公表文献	4-3	4.3.46
新生児を用いた試験	評価せず								
局所刺激性試験	評価せず								

表 2.6.7.1-2　一覧表（マクロゴール 400）

被験物質：マクロゴール 400

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP 適用	実施施設	試験番号	記載箇所	
								Vol.	Section
単回投与毒性試験	マウス／不明 ラット／不明 ウサギ／不明	静脈内	単回	不明	非適	不明	公表文献	4-3	4.3.47
反復投与毒性試験	イヌ／ビーグル	静脈内	30 日間	4.23、6.34、8.45 g/kg/日	非適	Shandong University, China	公表文献	4-3	4.3.48
	ヒヒ／不明	静脈内	29 日間	100、350、1000	非適	不明	公表文献	4-3	4.3.47
	ラット／不明	静脈内	4 週間	250、1250、2500					
	ウサギ／不明	静脈内	5 週間	350 mg/kg/日					
	ウサギ／不明	静脈内	30 日間	1 g/kg/日					
遺伝毒性試験	ネズミチフス菌	*In vitro*		0.004～10 mg/plate	非適	Brushy Run Research Center	公表文献	4-3	4.3.47
	チャイニーズハムスター細胞	*In vitro*		0.6～10 mg/mL	非適	Brushy Run Research Center	公表文献	4-3	4.3.49
	ラット肝細胞	*In vitro*		0.001～1 mg/mL	非適	Brushy Run Research Center	公表文献	4-3	4.3.49
がん原性試験	マウス／Swiss 系	経口	30 週間	0.3 mL/週 1 回	非適	不明	公表文献	4-3	4.3.50
	ラット／CB 系	腹腔内	6 ヵ月間	0.25 mL/週 1 回	非適	不明	公表文献	4-3	4.3.51

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所	
								Vol.	Section
生殖発生毒性試験	妊娠雌ラット／不明	静脈内	妊娠7～16日	0.2、0.4、0.8 g/kg/日	非適	不明	公表文献	4-3	4.3.47
	妊娠雌ウサギ／不明	静脈内	妊娠7～19日	0.2、0.4、0.8 g/kg/日					

表 2.6.7.1-3　一覧表（類縁物質B群）

被験物質：類縁物質B群

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg）	GLP適用	実施施設	試験番号	記載箇所	
								Vol.	Section
反復投与毒性試験	ラット／Crl:CD(SD)系	静脈内	7日間	0.45、0.9	非適	[redacted]	[redacted]-352	4-2	4.2.3.7.6.1
	ラット／Crl:CD(SD)系	静脈内	7日間	0.45、0.9	適	[redacted]	[redacted]-360	4-2	4.2.3.7.6.2

2.6.7.2 トキシコキネティクス

トキシコキネティクスは実施していない。

2.6.7.3　毒性試験：被験物質一覧

類縁物質B群のラット 7 日間反復静脈内投与毒性試験（本試験）で使用されたロットのみを下表に示す。

表 2.6.7.3-1　使用ロット

被験物質：類縁物質B群

ロット番号.	含量	試験番号	試験の種類
[redacted]	2.014 mg/mL （主類縁物質のチオテパ相当量として）	[redacted]-360	類縁物質B群のラット 7 日間反復静脈内投与毒性試験（本試験）

2.6.7.4　単回投与毒性試験

表 2.6.7.4-1　単回投与毒性試験一覧

被験物質：チオテパ

試験の種類	GLP	目的／方法	結論	CTD における記載箇所
単回投与毒性試験	非適	マウス（dm 系）／性別不明／1 群 5 匹 （1）静脈内（2）腹腔内（3）皮下	【LD_{50}】(1) 14.5 mg/kg (2) 17 mg/kg (3) 19.5 mg/kg 10 mg/kg（単回腹腔内）：白血球数の半減 死戦期の急性症状：下痢、衰弱著明。死因は呼吸麻痺と推察	4.2.3.1.01
		ラット（Wistar 系）／性別不明 静脈内／投与量不明	【LD_{50}】10.5 mg/kg	4.3.22
		ウサギ／性別不明 静脈内／0.1、1、3、5 mg/kg	【LD_{50}】5 mg/kg 超 0.1 mg/kg 以上：白血球数、リンパ球数、好酸球数の減少 1 mg/kg 以上：骨髄有核細胞数、顆粒球系細胞の減少 3 mg/kg 以上：体重、赤血球数、栓球数（血小板数）、血清中アルブミンの減少、網状赤血球数、血清中 γ-グロブリンの増加	4.3.23
		マウス／性別不明／1 群 6 匹 （1）経口／35、38、40、44、48、50 mg/kg （2）腹腔内／10、15、16、17、18、20 mg/kg	【LD_{50}】 （1）40 mg/kg （2）17 mg/kg 死戦期の急性症状：著明な下痢、食思不振及び衰弱。死因は呼吸麻痺と推察	4.2.3.1.02
		マウス（C3H 系）／性別不明／1 群 10 匹 （1）経口／投与量不明 （2）腹腔内／投与量不明	【LD_{50}】 （1）45 mg/kg （2）24 mg/kg	4.3.24

表 2.6.7.4-2　単回投与毒性試験一覧（続き）

被験物質：チオテパ

試験の種類	GLP	目的／方法	結論	CTD における記載箇所
単回投与毒性試験（続き）	非適	マウス／雄 腹腔内／30～60 mg/kg	【LD_{50}】23 mg/kg 死戦期の急性症状：著明な下痢、鼻部出血及び体重減少	4.3.25
		ラット（交雑系）／性別不明 （1）腹腔内／30～60 mg/kg （2）腹腔内、5 回連続（32 週間）	【LD_{50}】 （1）11 mg/kg 死戦期の急性症状：著明な下痢、鼻部出血及び体重減少 （2）1 回量として 5.7 mg/kg 肝臓壊死、脾臓の細胞不染性・濾胞萎縮、腎臓の曲尿細管部混濁腫脹	4.3.25
		ラット（Wistar 系）／性別不明／1 群 10 匹 （1）経口／投与量不明 （2）腹腔内／投与量不明	【LD_{50}】 （1）55 mg/kg （2）9.4 mg/kg	4.3.24

2.6.7.5 反復投与毒性試験

表 2.6.7.5-1 反復投与毒性試験一覧

被験物質：チオテパ

試験の種類	GLP	目的／方法	結論	CTD における記載箇所
反復投与毒性試験	非適	マウス（Rolfsmeyer、BDF_1 系）／雌雄／1 群 10 匹、静脈内／投与量不明／5 日間	【LD_{10}】 Rolfsmeyer 系：4.5 mg/kg/日（静脈内、雌） BDF_1 系：5.1 mg/kg/日（静脈内、性別不明）	4.3.26
		ラット（Holtzman、Fischer 系）／性別不明 腹腔内又は静脈内／投与量不明／5 日間	【LD_{10}】 Holtzman 系：3.2 mg/kg/日（腹腔内）、 3.4 mg/kg/日（静脈内） Fischer 系：2.2 mg/kg/日（腹腔内）、 2.2 mg/kg/日（静脈内）	4.3.26
		ウサギ／性別不明 静脈内又は皮下／0.05、0.1、0.3、0.5、2.5 mg/kg/日／60 日間	0.05 mg/kg/日以上：白血球数、赤血球数、血色素量の減少、網状赤血球数の増加（静脈内・皮下） 0.1 mg/kg/日以上：栓球数（血小板数）の減少 0.3 mg/kg/日以上：体重減少（皮下）、肝機能障害を示唆する所見（血清中アルブミンの減少、γ-グロブリンの増加）（静脈内・皮下） 2.5 mg/kg/日：全例死亡（静脈内・皮下）、平均生存日数 9.5 日（静脈内）・12.3 日（皮下）	4.3.23
		イヌ／性別不明 静脈内／0.095、0.19、0.38、0.76 mg/kg/日／14～17 日間	0.095 mg/kg/日以上：白血球数、網赤血球数の減少 0.76 mg/kg/日：死亡、顕著な体重減少、重度の貧血、重度の骨髄障害、脾臓重量の低値	4.3.26

表 2.6.7.5-2　反復投与毒性試験一覧（続き）

被験物質：チオテパ

試験の種類	GLP	目的／方法	結論	CTD における記載箇所
反復投与毒性試験（続き）	非適	アカゲザル／性別不明 静脈内／0.095、0.19、0.38、0.76 mg/kg/日／14～17 日間	0.19 mg/kg/日以上：白血球数、網状赤血球数の減少 0.38 mg/kg/日以上：体重減少 0.76 mg/kg/日：死亡、重度の骨髄障害、脾臓重量の低値	4.3.26
		マウス／性別不明／1 群 10 匹 （1）経口／0.4、1、2、4、8 mg/kg/日／2 週間 （2）腹腔内／0.2、0.5、1、2、4 mg/kg/日／2 週間	（1）0.4 mg/kg/日：死亡なし、体重増加抑制傾向 1、2 mg/kg/日：死亡率 10%、下痢 4、8 mg/kg/日：死亡率 50%、下痢 （2）0.2、0.5 mg/kg/日：死亡率 70%、下痢 1、2 mg/kg/日：死亡率 80%、下痢 4 mg/kg/日：全例死亡、下痢	4.2.3.1.02
		マウス（SM 系）／雄／1 群 10 匹 腹腔内／0.025、0.05、0.1、0.2、1、5 mg/kg/日／4 週間	0.2 mg/kg/日以下：特記すべき異常所見なし 1 mg/kg/日以上：体重増加抑制、白血球数の減少 5 mg/kg/日：全例死亡、脾臓の萎縮、骨髄造血機能抑制	4.3.27
		マウス（dd 系）／性別不明／1 群 20 匹 腹腔内／0.05、0.1 mg/kg/日／8 週間	体重への影響なし 0.05 mg/kg/日以上：白血球数の減少	4.2.3.1.01
		ウサギ／性別不明／1 群 5～6 匹 （1）筋肉内／1、2、3 mg/日／28 日間 （2）筋肉内／1 mg/日／90 日間 （3）筋肉内／5 mg/日／2 日間隔で 22 回	（1）2 mg/日以上：骨髄造血障害（ヘモグロビン量、赤血球数、白血球数、有核細胞数の減少） （2）骨髄造血障害（有核細胞数、白血球数の減少） （3）骨髄造血障害（ヘモグロビン量、赤血球数、白血球数、有核細胞数の減少） 上述の障害に加え、骨髄の病理組織変化（造血巣の分布異常、基質の線維化、血管系の分布異常、巨核球又は顆粒球系の集簇）が認められた。	4.3.28

2.6.7.6　遺伝毒性試験

表 2.6.7.6-1　遺伝毒性試験一覧

被験物質：チオテパ

試験の種類	GLP	目的／方法		結論	CTD における記載箇所
遺伝毒性試験	非適	遺伝子突然変異	(1) ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験 (2) チャイニーズハムスター細胞を用いた突然変異試験 (3) アスペルギルス・ニデュランスを用いた突然変異試験 (4) ショウジョウバエを用いた伴性劣性致死試験 (5) マウス宿主経由試験	いずれも陽性	4.3.29
			トランスジェニックラットを用いた突然変異試験 Big Blue®ラット／雄／1 群 8 匹／腹腔内／1.4 mg/kg/日／4 週間（週 3 回投与）	陽性	4.3.30
			ラットを用いた突然変異試験 ラット（Fischer 系）／雄／1 群 12 匹／腹腔内／0.7、1.4、2.8 mg/kg/日／4 週間（週 3 回投与）	陽性	4.3.31
			ラットを用いた Pig-a アッセイ ラット（SD 系）／雄／1 群 6 匹／経口／0.0547、0.164、0.492、10 mg/kg/日／28 日間	陽性	4.3.32
			ラットを用いた Pig-a アッセイ ラット（SD 系）／雌雄各 5 匹／経口／7.5 mg/kg/日／3 日間	陽性	4.3.33
		染色体異常	(1) マウスを用いた優性致死試験 (2) マウス生殖細胞を用いた染色体異常試験 (3) マウス骨髄を用いた染色体異常試験 (4) マウス胎児肝細胞を用いた染色体異常試験 (5) ウサギ末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 (6) アカゲザル末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験	いずれも陽性	4.3.29

表 2.6.7.6-2　遺伝毒性試験一覧（続き）

被験物質：チオテパ

試験の種類	GLP	目的／方法		結論	CTD における記載箇所
遺伝毒性試験（続き）	非適	染色体異常（続き）	(7) ハムスター細胞を用いた染色体異常試験 (8) ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 (9) ソラマメを用いた染色体異常試験 (10) ラットを用いた骨髄小核試験験 (11) マウスを用いた骨髄小核試験験 (12) マウス骨髄を用いた姉妹染色分体交換試験 (13) マウス細胞を用いた姉妹染色分体交換試験 (14) チャイニーズハムスター細胞を用いた姉妹染色分体交換試験 (15) ソラマメを用いた姉妹染色分体交換試験 (16) ヒト末梢血を用いた姉妹染色分体交換試験 (17) サル末梢血を用いた姉妹染色分体交換試験 (18) チオテパの抗腫瘍治療を受けた患者の末梢血リンパ球を用いた染色体異常解析	いずれも陽性	4.3.29
			アカゲザルを用いた骨髄細胞染色体異常試験 Bolus 投与／2 mg/kg／単回、持続静脈内投与／0.5 mg/kg/日／4 日間	陽性	4.3.34
		その他	(1) 鶏胚を用いた DNA との結合試験 (2) ヒト末梢血リンパ球を用いた不定期 DNA 合成試験 (3) マウス細胞を用いた形質転換試験	いずれも陽性	4.3.29

2.6.7.7　がん原性試験

表 2.6.7.7-1　がん原性試験一覧

被験物質：チオテパ

試験の種類	GLP	目的／方法	結論	CTD における記載箇所
がん原性試験	非適	マウス（A/He 系）／雌雄／1 群 20 匹（被験物質投与群） 腹腔内／総投与量 0、19、47、94 mg/kg／24 週間（週 3 回で 4 週間投与）	肺腫瘍：47 mg/kg 以上で有意な上昇	4.3.36
		マウス（B6C3F1 系）／雌雄／1 群 35 匹（被験物質投与群） 腹腔内／0、1.15、2.3 mg/kg/日／86 週間（週 3 回で 52 週間投与）	扁平上皮癌（皮膚・外耳道・包皮腺）：1.15 mg/kg/日で有意な上昇（雄） 扁平上皮癌（包皮腺）：2.3 mg/kg/日（雄） 悪性リンパ腫、リンパ性白血病：2.3 mg/kg/日で有意な上昇（雌雄）	4.3.37
		ラット（BR46 系）／雄／1 群 48 匹（被験物質投与群） 静脈内／0、1 mg/kg/日／52 週間（週 1 回投与）	悪性・良性腫瘍（多臓器で発がん）：1 mg/kg/日で有意な上昇	4.3.35
		ラット（SD 系）／雌雄／1 群 31～39 匹（被験物質投与群） 腹腔内／0、0.7、1.4、2.8 mg/kg/日／86 週間（週 3 回で 52 週間投与）	リンパ性白血病、骨髄性白血病、悪性リンパ腫、扁平上皮癌（皮膚・外耳道）：0.7 mg/kg/日以上で有意な上昇（雄） 子宮腺癌、扁平上皮癌（皮膚・外耳道）：1.4 mg/kg/日で有意な上昇（雌） なお、2.8 mg/kg/日で雌雄とも 21 週までに全例死亡	4.3.37

2.6.7.8　生殖発生毒性試験

表 2.6.7.8-1　生殖発生毒性試験一覧

被験物質：チオテパ

試験の種類	GLP	目的／方法	結論	CTD における記載箇所
生殖発生毒性試験	非適	マウス（C3H 系）／雄 腹腔内／0、3、26 mg/kg／単回	3 mg/kg 以上：精子数の減少、生殖細胞（精原・精母細胞）の障害	4.3.38
		マウス（C57BL×C3H 系）／雄 腹腔内／0、0.5、2.5、5.0 mg/kg/日／5 日間	0.5 mg/kg/日以上：精巣重量の低値、精子形成障害	4.3.39
		マウス（ICR-JCL 系）／雄 腹腔内／2 mg/kg/日／1～8 日間（投与後、無処置雌と交配）	2 日以上連続投与：着床数減少 3 日以上連続投与：生存胎児数減少 6 日以上連続投与：授胎なし	4.3.40
		ラット（Wistar 系）／雄 腹腔内／0.4 mg/kg/日／5 日間 （投与後、毎週 1 回、無処置雌と交配）	投与後 6 週目までの交配：不妊、授胎率低下 投与後 6 週目以降の交配：産児数に影響なし	4.3.41
		ウサギ（系統不明）／妊娠雌 投与経路不明／3～10 mg/kg/日／胞胚期投与	妊娠 6.5 日の胚盤胞に影響あり（妊娠 3～6 日投与） 3 mg/kg：胎児致死（妊娠 6～8 日投与）	4.3.42

表 2.6.7.8-2　生殖発生毒性試験一覧（続き）

被験物質：チオテパ

試験の種類	GLP	目的／方法	結論	CTD における記載箇所
生殖発生毒性試験（続き）	非適	マウス（dd 系）／妊娠雌 (1) 腹腔内／0.5～30 mg/kg／妊娠 6.5～15.5 日・単回投与 (2) 腹腔内／7.5 mg/kg／妊娠 4.5 又は 5.5 日・単回投与 (3) 腹腔内／0.5 mg/kg/日／妊娠 0.5～12.5 日・反復投与	0.5 mg/kg 以上：生存胎児体重低値、胎盤重量低値（妊娠 0.5~12.5 日・反復投与） 1 mg/kg 以上：外形異常（妊娠 10.5 日・単回投与、多趾、合趾、足関節の異常、指の位置異常） 5 mg/kg 以上：胎児致死、外形異常（妊娠 10.5~12.5 日・単回投与、口蓋裂、眼瞼開存、巨指、短趾、欠趾、臍ヘルニア、尾の形態異常など） 7.5 mg/kg 以上：外形異常（妊娠 6.5~14.5 日・単回投与、水腫、二分脊椎、小顎症など）、骨格異常［椎弓癒合・椎体変形（妊娠 6.5 日・単回投与）、肋骨の異常（妊娠 6.5 日以降・単回投与、癒合・波状肋骨）］ 10 mg/kg 以上：全児死亡 20 mg/kg 以上：母動物死亡	4.3.43
		ラット（Wistar 系）／妊娠雌 皮下／3、5、7 mg/kg／妊娠 8～16 日・単回投与	3 mg/kg 以上：流産率上昇（妊娠 8～10 日、腎臓欠損を含む腎形成不全・無尾・短尾（妊娠 11 日）、減指・指趾癒合（妊娠 13 日）、頭蓋骨欠損・脳水腫・眼球突出（白内障）・全身浮腫・下顎狭小、肝ヘルニア、性腺・副腎発育不全（妊娠 14、15 日）、性腺・副腎の発育障害（妊娠 16 日） 7 mg/kg：全例流産（妊娠 11、12 日）	4.3.44
		マウス（ddN 系）／妊娠雌 腹腔内／0.01 mg（0.437～0.537 mg/kg）、0.05 mg（2.15～2.5 mg/kg）／妊娠 4、11、18 日・単回投与	出生児 0.01 mg 以上：成長遅延、骨形成遅延・不全、性成熟遅延	4.3.45

表 2.6.7.8-3　生殖発生毒性試験一覧（続き）

被験物質：チオテパ

試験の種類	GLP	目的／方法	結論	CTD における記載箇所
生殖発生毒性試験（続き）	非適	マウス（dd 系）／妊娠雌 腹腔内／5.0、7.5 mg/kg／妊娠 10 日・単回投与	5.0 mg/kg 以上：出生後活力低下、多指 7.5 mg/kg：出生児死亡率の上昇 出生児の生殖能に影響なし	4.3.46

2.6.7.9　新生児を用いた試験

新生児を用いた試験は実施していない。

2.6.7.10 局所刺激性試験

局所刺激性試験は実施していない。

2.6.7.11 その他の毒性試験（マクロゴール 400）

表 2.6.7.11-1　単回投与毒性試験一覧（マクロゴール 400）

被験物質：マクロゴール 400

試験の種類	GLP	目的／方法	結論	CTD における記載箇所
単回投与毒性試験	非適	マウス／性別不明 静脈内／投与量不明	【LD_{50}】8.6 g/kg	4.3.47
		ラット／性別不明 静脈内／投与量不明	【LD_{50}】4.7 g/kg	
		ウサギ／性別不明 静脈内／投与量不明	【LD_{50}】10 g/kg 超	

表 2.6.7.11-2　反復投与毒性試験一覧（マクロゴール 400）

被験物質：マクロゴール 400

試験の種類	GLP	目的／方法	結論	CTD における記載箇所
反復投与毒性試験	非適	イヌ（ビーグル犬）／雌雄／1 群 3 例 静脈内／4.23、6.34、8.45 g/kg/日／30 日間	4.23 g/kg/日：血清電解質（Na 及び Cl）の上昇 6.34 g/kg/日以上：口渇及び鼻粘膜の乾燥 8.45 g/kg/日：腎細胞の混濁腫脹及び糸球体容積増加の病理組織学的変化 いずれの変化も回復性あり	4.3.48
		ヒヒ／雌雄／1 群 3 例 静脈内／100、350、1000 mg/kg/日／29 日間	1000 mg/kg/日：体重減少（雌 1/3 例）	4.3.47
		ラット／雌雄／1 群 12 例 静脈内／250、1250、2500 mg/kg/日／4 週間	2500 mg/kg/日：呼吸数及び網赤血球数の増加（雌）	
		ウサギ／性別不明 静脈内／350 mg/kg/日／5 週間	350 mg/kg/日：血中尿素窒素の増加を伴う死亡（5 例中 1 例）、肝実質及び尿細管上皮の混濁腫脹	
		ウサギ／性別不明 静脈内／1 g/kg/日／30 日間	1 g/kg/日：肝臓及び腎臓に軽微な毒性所見	

表 2.6.7.11-3　遺伝毒性試験一覧（マクロゴール 400）

被験物質：マクロゴール 400

試験の種類	GLP	目的／方法	結論	CTD における記載箇所
遺伝毒性試験	非適	ネズミチフス菌 TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 を用いた復帰突然変異試験 用量：0.004～10 mg/plate 代謝活性化系：Aroclor 1254 誘導ラット肝 S9 fraction	陰性	4.3.47
		チャイニーズハムスター細胞を用いた遺伝子突然変異試験及び姉妹染色分体交換試験 用量：0.6～10 mg/mL 代謝活性化系：詳細不明	いずれも陰性	4.3.49
		ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験 用量：0.001～1 mg/mL	陰性	4.3.49

表 2.6.7.11-4　がん原性試験一覧（マクロゴール 400）

被験物質：マクロゴール 400

試験の種類	GLP	目的／方法	結論	CTD における記載箇所
がん原性試験	非適	マウス（Swiss 系）／雄 経口／0.3 mL/週 1 回／30 週間	がん原性（前胃のみ対象）：陰性	4.3.50
		ラット（CB 系）／雄 腹腔内／0.25 mL/週 1 回／6 ヵ月間（投与後、最長 2 年間経過観察）	腹腔内に腫瘍なし ただし、22～24 ヵ月齢のラット 1 例のみに肝癌あり	4.3.51

表 2.6.7.11-5　生殖発生毒性試験一覧（マクロゴール 400）

被験物質：マクロゴール 400

試験の種類	GLP	目的／方法	結論	CTD における記載箇所
生殖発生毒性試験	非適	ラット／妊娠雌／1 群 30 匹 静脈内／0.2、0.4、0.8 g/kg/日／妊娠 7～16 日	母動物毒性なし 胎児毒性（催奇形性）なし	4.3.47
		ウサギ／妊娠雌／1 群 16 匹 静脈内／0.2、0.4、0.8 g/kg/日／妊娠 7～19 日	母動物毒性なし 胎児毒性（催奇形性）なし	

2.6.7.12 その他の毒性試験（類縁物質B群）

表 2.6.7.12-1　重要な試験以外の試験：類縁物質B群のラット 7 日間反復静脈内投与毒性試験（予備試験）

被験物質：類縁物質B群

CTD における記載箇所：4.2.3.7.6.1

動物種／系統	投与方法（溶媒／投与形態）	投与量（mg/kg/日）a)	性別及び一群の動物数	無毒性量（mg/kg）	特記すべき所見	試験番号
ラット／Crl:CD(SD)系	4.5 v/v%マクロゴール水溶液	0 0.45 0.9	雄：5 雌：5	該当せず	特になし	[redacted]-352

a)：チオテパ製剤を 5℃ で [redacted]及び[redacted]箇月間保存した場合、製剤中に含まれる類縁物質B群の主類縁物質量はそれぞれ [redacted]及び[redacted]%と予測されたため、当該試験の低用量及び高用量にはそれぞれ [redacted] 及び[redacted]%を設定した。チオテパのヒト 1 日最大投与量を 14 mg/kg/日としたとき、その [redacted]及び[redacted]%はそれぞれ 0.07 及び 0.14 mg/kg/日に相当するため、体表面積換算によりそれぞれ 0.45 及び 0.9 mg/kg/日とした。

表 2.6.7.12-2　重要な試験：類縁物質B群のラット 7 日間反復静脈内投与毒性試験（本試験）

報告書の題名：DSP-1958 注類縁物質群のラットにおける 7 日間反復静脈内投与毒性試験（本試験）　被験物質：類縁物質B群

動物種／系統：ラット／Crl:CD(SD)　投与期間：7 日間　試験番号：[redacted]-360

試験開始週齢：6 週齢　休薬期間：なし　CTD における記載箇所：4.2.3.7.6.2

初回投与年月日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日　投与方法：静脈内　GLP 適用：適

溶媒／投与形態：4.5 v/v%マクロゴール水溶液／溶液

特記事項：なし

無毒性量：該当せず

投与量（mg/kg/日）[a]		0（対照）		0.45		0.9	
動物数		M：10	F：10	M：10	F：10	M：10	F：10
特記すべき所見							
死亡及び屠殺動物数		1[b]	0	0	0	0	0
体重（%[c]）	投与 7 日	270.4 g	186.3 g	−1	−3	−1	−2
体重増加量（%[c]）	投与 2 日 投与 7 日	6.2 g 12.6 g	5.4 g 8.2 g	−29 −10	−74* −54	−18 −20	−70* −12
摂餌量（%[c]）	投与 1〜3 日 投与 5〜7 日	21.8 g 21.6 g	16.1 g 15.4 g	0 0	−9* −3	+2 0	−8* −5
一般状態		−	−	−	−	−	−
眼科学的検査		−	−	−	−	−	−

−：特記すべき所見なし

a) チオテパ製剤を 5°C で [redacted] 及び [redacted] 箇月間保存した場合、製剤中に含まれる類縁物質B群の主類縁物質量はそれぞれ [redacted] 及び [redacted]%と予測されたため、当該試験の低用量及び高用量にはそれぞれ [redacted] 及び [redacted]%を設定した。チオテパのヒト 1 日最大投与量を 14 mg/kg/日としたとき、その [redacted] 及び [redacted]%はそれぞれ 0.07 及び 0.14 mg/kg/日に相当するため、体表面積換算によりそれぞれ 0.45 及び 0.9 mg/kg/日とした。

b) 投与 7 日に死亡　c) 対照群は平均値、被験物質投与群は対照群との差を%で表示。統計学的有意差は実測値に基づく（%ではない）。

* $p<0.05$（Dunnett 法又は Dunnett 型検定）

表 2.6.7.12-3　重要な試験：類縁物質B群のラット 7 日間反復静脈内投与毒性試験（本試験）（続き）

投与量（mg/kg/日）[a]	0（対照）		0.45		0.9	
動物数	M：10（9）[b]	F：10	M：10	F：10	M：10	F：10
血液学的検査（剖検時）						
白血球数（$\times 10^3$ μL）	7.082	6.025	6.368	5.998	4.854**	5.361
好中球数（$\times 10^3$ μL）	1.096	0.752	0.899	0.641	0.665**	0.539
リンパ球数（$\times 10^3$ μL）	5.726	5.061	5.254	5.112	4.003*	4.619
単球数（$\times 10^3$ μL）	0.132	0.065	0.113	0.090	0.085*	0.078
好塩基球数（$\times 10^3$ μL）	0.021	0.012	0.018	0.013	0.010*	0.014
血液生化学的検査（剖検時）	–	–	–	–	–	–
尿検査（投与 5 日）						
尿量（mL）	8.19	8.90	7.78	5.51*	7.46	5.20**
総カリウム排泄量（mEq）	2.282	1.895	2.305	1.609**	2.227	1.605**
浸透圧（mOsm/kg）	1696.6	1483.0	1826.0	1877.2*	1831.0	2044.8**
Na/K 比	0.651	0.539	0.610	0.660**	0.603	0.626
器官重量	–	–	–	–	–	–
剖検所見	–	–	–	–	–	–
病理組織学的検査	–	–	–	–	–	–

–：特記すべき所見なし

a) チオテパ製剤を 5°C で ■ 及び ■ 箇月間保存した場合、製剤中に含まれる類縁物質B群の主類縁物質量はそれぞれ ■ 及び ■%と予測されたため、当該試験の低及び高用量にはそれぞれ ■ 及び ■%を設定した。ヒトにおけるチオテパの投与量 14 mg/kg/日の ■ 及び ■%はそれぞれ 0.07 及び 0.14 mg/kg/日に相当するため、体表面積換算によりそれぞれ 0.45 及び 0.9 mg/kg/日とした。

b) 投与 7 日に 1 例死亡

*　$p<0.05$、**　$p<0.01$（Dunnett 法又は Dunnett 型検定）