目次

2.6.6 毒性試験の概要文 3
2.6.6.1 まとめ 3
2.6.6.2 単回投与毒性試験 9
2.6.6.3 反復投与毒性試験 9
2.6.6.4 遺伝毒性試験 16
2.6.6.5 がん原性試験 17
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 21
2.6.6.7 局所刺激性試験 28
2.6.6.8 その他の毒性試験 29
2.6.6.9 考察及び結論 32
2.6.6.10 図表 37
2.6.6.11 参考文献 37

略語一覧表

語句略語	語句略語内容
ALT	alanine transaminase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
APTT	activated partial thromboplastin time：活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	aspartate transaminase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the plasma concentration-time curve：血漿中濃度－時間曲線下面積
CHO	Chinese hamster ovary：チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	maximum observed plasma concentration：最高血漿中濃度
ConA	concanavalin A：コンカナバリン A
GGT	gamma glutamyltransferase：ガンマグルタミルトランスフェラーゼ
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
LPS	lipopolysaccharide：リポポリサッカライド
MNPCE	micronucleated polychromatic erythrocyte：小核を有する多染性赤血球
NCE	normochromatic erythrocytes：正染性赤血球
NK 細胞	natural killer cell：ナチュラルキラー細胞
NOAEL	no-observed-adverse-effect level：無毒性量
PCE	polychromatic erythrocytes：多染性赤血球
PHA	phytohaemagglutinin：フィトヘマグルチニン
PT	prothrombin time：プロトロンビン時間
SD	Sprague Dawley
SRBC	sheep red blood cells：ヒツジ赤血球
TK	toxicokinetics：トキシコキネティクス
t-PA	tissue plasminogen activator：組織プラスミノーゲン活性化因子
VOD	hepatic veno-occlusive disease：肝中心静脈閉塞症

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

毒性試験として、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験、抗原性試験及び免疫毒性試験を実施した。なお、単回投与毒性試験及び局所刺激性試験は独立した試験を実施せず、反復投与毒性試験並びに生殖発生毒性試験の一部を用いて評価を行った。

デフィブロチドナトリウムの毒性試験の一覧を表 2.6.6.1-1 に示す。

表 2.6.6.1-1 デフィブロチドナトリウムの毒性試験プログラム（1/2）

試験の種類	投与方法／期間	動物種	被験物質 [a]	GLP
反復投与毒性試験				
	持続静脈内投与／7 日間	ラット	ブタ	適
	静脈内投与、1 日 1 回／4 週間	ラット	ウシ、ブタ	不適 [d]
	持続静脈内投与／9 週間 [b]	ラット	ブタ	適
	6 時間静脈内投与、1 日 1 回／17 日間 [c]	ウサギ	ウシ、ブタ	適
	2 時間静脈内投与、1 日 4 回／7 日間	イヌ	ブタ	適
	2 時間静脈内投与、1 日 4 回／13 週間	イヌ	ブタ	適
	静脈内投与、1 日 1 回／13 週間	イヌ	ウシ、ブタ	不適 [d]
	静脈内投与、1 日 1 回／26 週間	イヌ	ウシ、ブタ	不適 [d]
遺伝毒性試験				
復帰突然変異試験	*in vitro*	ネズミチフス菌、大腸菌	ブタ	適
染色体異常試験	*in vitro*	CHO 細胞	ブタ	適
小核試験	腹腔内投与、1 日 1 回／2 日間	マウス	ウシ、ブタ	適
	静脈内投与、1 日 1 回／2 日間	ラット	ブタ	適
がん原性試験				
長期がん原性試験	混餌投与／雄：650 日、雌：730 日	マウス	ウシ、ブタ	適
	混餌投与／104 週間	ラット	ウシ、ブタ	適
その他の試験	混餌投与／13 週間	マウス	ウシ、ブタ	適
	混餌投与／52 週間	ラット	ウシ、ブタ	適
生殖発生毒性試験				
受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	筋肉内投与、1 日 1 回／雄：交配前 63 日、雌：交配前 14 日～交配期間～G14 又は L21	ラット	ウシ、ブタ	不適 [d]
胚・胎児発生に関する試験	持続静脈内投与／G6～15	ラット	ブタ	不適
	2 時間静脈内投与、1 日 4 回／G6～15			
	静脈内投与、1 日 1 回／10 日間（非妊娠）、G6～15	ラット	ウシ、ブタ	不適 [d]
	2 時間静脈内投与、1 日 4 回／G6～18	ウサギ	ブタ	不適
	2 時間静脈内投与、1 日 4 回／G6～10、G10～14、G14～18	ウサギ	ブタ	適
	静脈内投与、1 日 1 回／13 日間（非妊娠）、G6～18	ウサギ	ウシ、ブタ	不適 [d]

G：妊娠日齢（交尾成立日を妊娠 0 日と起算）
a：原料の由来動物種を示す
b：カテーテル留置による一般状態悪化に伴い、13 週間の投与期間を 9 週間に短縮した
c：投与部位の忍容性低下による動物の一般状態悪化のため、21 日間の投与期間を 17 日間に短縮した
d：GLP 施行前

表 2.6.6.1-1 デフィブロチドナトリウムの毒性試験プログラム（2/2）

試験の種類	投与方法／期間	動物種	被験物質 [a]	GLP
生殖発生毒性試験（続き）				
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験	筋肉内投与、1 日 1 回／G15～L21	ラット	ウシ、ブタ	不適 [c]
新生児を用いた毒性試験	静脈内投与、1 日 1 回／4 週間	ラット	ブタ	適
	静脈内投与、1 日 1 回／4 週間	ラット	ブタ	適
その他の毒性試験				
抗原性試験（免疫原性試験）	持続静脈内投与／9 週間 [b]	ラット	ブタ	不適
	2 時間静脈内投与、1 日 4 回／13 週間	イヌ		
抗原性試験（アレルギー誘発性試験）	腹腔内、皮下、静脈内投与、週 1 回／8 週間	モルモット	ウシ、ブタ	不適 [c]
免疫毒性試験	腹腔内、経口投与／4 週間	マウス	ウシ	不適
	マウス－腹腔内、経口投与／4 週間 マウス－*in vitro* ヒト－*in vitro*	マウス、ヒト	ウシ、ブタ	不適

G：妊娠日齢（交尾成立日を妊娠 0 日と起算）、L：授乳日齢
a：原料の由来動物種を示す
b：カテーテル留置による一般状態悪化に伴い、13 週間の投与期間を 9 週間に短縮した
c：GLP 施行前

本剤は 1986 年にイタリアで深部静脈血栓症予防及び血栓性静脈炎の治療薬として承認され、その際に多くの毒性試験が Substance P、Frazione P あるいは Compound P の名称で GLP 施行以前に実施されるとともに、混餌投与によるがん原性試験が承認後に実施されている。また、本剤の有効成分はブタ腸粘膜由来のポリデオキシリボヌクレオチドであり、当初はウシ及びブタ組織を原料として製造されていたが、牛海綿状脳症のリスクを避けるため、1996 年以降は原料がブタ組織のみに変更されて、海外にて臨床で使用されている。表 2.6.6.1-2 に示すとおり、DNA の核酸塩基構成は動物種や採取部位に依らないことから、ウシ及びブタ組織並びにブタ組織に由来する被験物質に大きな違いはないと判断した。

表 2.6.6.1-2 本剤と参照 DNA の核酸塩基構成の比較

物質	アデニン（%）	グアニン（%）	シトシン（%）	チアミン（%）	ウラシル（%）
デフィブロチドナトリウム	■	■	■	■	■
参照 DNA（仔ウシ胸腺）	8.4	7.8	5.4	7.1	0.1
参照 DNA（サカナ）	8.8	7.9	5.9	9.1	0.0

［3.2.S.3.1 表 3.2.S.3.1-3 より引用］

今回、肝中心静脈閉塞症（VOD）治療薬としての開発に当たり、現在の GLP 基準に適合した試験として静脈内投与によるラット 13 週間反復投与毒性試験及びイヌ 13 週間反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、胚・胎児発生に関する毒性試験及び幼若動物を用いた毒性試験を実施した。また、それ以前に実施された毒性試験についても毒性評価を行った。

一連の毒性試験を通じ、デフィブロチドナトリウムはその投与により、凝固・線溶系への影響など薬理作用に関連すると考えられる変化を示したほか、腎臓、肝臓、脾臓及びリンパ節が毒性

標的組織と考えられた。また胚・胎児発生試験では母動物及び胚･胎児に対し毒性を示すことが確認された。

（1） 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施せず、ラット及びイヌを用いた 13 週間反復投与毒性試験並びにラットを用いた生殖発生毒性試験の一部のデータを用いてデフィブロチドナトリウムの急性毒性を評価した。

ラットに持続静脈内投与した際の概略の致死量は 4800 mg/kg/日超であった。

イヌに 1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内投与した際の概略の致死量は 1600 mg/kg/日超であった。

なお、非妊娠ラットに 1 日 1 回静脈内投与した際の概略の致死量は 300 mg/kg/日であり、150 mg/kg/日以上の投与群で痙攣、意識消失、筋緊張低下、頻呼吸、嗜眠及び歩行不能が認められた。

（2） 反復投与毒性試験

ラット及びイヌを用いてデフィブロチドナトリウムの反復投与毒性を評価した。ラットではカテーテルの長期留置に起因した障害のため、対照群を含む全群で死亡又は瀕死安楽死処置となる動物が多数認められたため、持続静脈内投与による影響は 9 週までしか評価できなかった。このラット反復投与毒性試験の投与期間は、ICH M3 (R2)（医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス）で推奨されている期間より短い。しかし、本試験で得られた所見の多くは、カテーテル留置に伴う偶発的な変化又は一般状態の悪化に起因した二次的な影響によるものであったことから、カテーテルを 9 週間以上留置した状態での毒性試験の実施は困難であると判断し、臨床投与経路における長期反復投与毒性試験を実施しなかった。なお、げっ歯類における本剤の長期投与による毒性プロファイルについては、投与経路は異なるもののマウス及びラットを用いた 2 年間混餌投与によるがん原性試験を用いて評価した（2.6.6.5 項参照）。

1） ラット反復投与毒性試験

持続静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験（投与量：0、240、1200 及び 4800 mg/kg/日）では、対照群を含む全群においてカテーテル合併症に関連した死亡又は瀕死期安楽死処置となる動物が多数生じたため、9 週で投与を終了した。240 mg/kg/日の投与群の雄及び 1200 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で腎臓の尿細管の変性及び再生が、240 mg/kg/日投与群の雌及び 1200 mg/kg/日投与群の雌雄で投与部位のマクロファージの空胞化が認められた。1200 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で APTT 又は PT の延長、腎臓における尿細管の好塩基性顆粒、糸球体腎症及びリンパ球ないしは組織球浸潤、並びにリンパ系器官（脾臓及びリンパ節）におけるマクロファージの空胞化等が認められた。以上より、NOAEL は雌雄とも 240 mg/kg/日未満と判断した。

2） イヌ反復投与毒性試験

1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内投与する 13 週間反復投与毒性試験（投与量：0、60、300 及び 1600 mg/kg/日）では、1600 mg/kg/日投与群の雄で肝細胞の単細胞壊死が軽微に認められたことから、NOAEL は雄で 300 mg/kg/日、雌で 1600 mg/kg/日と判断した。

1 日 1 回、静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験（投与量：0、15、45 及び 150 mg/kg/日）では、概ね投与初期に限定して、45 mg/kg/日以上の投与群で失禁、脱糞、肛門腺からの分泌物、流涎、頭部反転動作等の異常行動及び歯肉蒼白が、150 mg/kg/日投与群で嘔吐がそれぞれ認められたことから、NOAEL は 15 mg/kg/日と判断した。

1 日 1 回、静脈内投与による 26 週間反復投与毒性試験（投与量：0、15、45 及び 150/135/150/165 mg/kg/日）では、高用量として 150 mg/kg/日の用量を投与した結果、初回投与（投与 0 日目）直後及び用量を 135 mg/kg/日に減量した投与 1 日目及び 2 日目の投与後に、顕著な歩行失調、嗜眠、運動失調が認められたが、投与 3 日目以降は認められなかったため、14 日目から 150 mg/kg/日に増量し、21 日目からはさらに 165 mg/kg/日まで増量して投与を継続した。以降、デフィブロチドナトリウム投与に起因した変化は認められなかった。以上より、NOAEL は 45 mg/kg/日と判断した。

上記のイヌ 26 週間反復投与毒性試験での試験中に観察された一般状態の変化（歩行失調、嗜眠及び運動失調）は、ラットを用いた静脈内投与による胚・胎児発生試験（試験番号 21/75822、資料番号 4.2.3.5.2-2）の予備試験においても同質の変化が認められ、ボーラス投与時に観察される本剤の特徴的な毒性であると考えられた。また、上記のイヌ 26 週間反復投与毒性試験の投与用量は、イヌ 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-002、資料番号 4.2.3.2-6）より低いが、ラット胚・胎児発生試験（試験番号 21/75822、資料番号 4.2.3.5.2-2）の予備試験では、これらの一般状態の変化が死亡用量においても発現していた。以上のことから、イヌ 26 週間反復投与毒性試験で認められた一般状態の変化は最大耐量と同程度の用量で観察される毒性であり、本試験条件下では十分高い用量域まで評価できていると判断した。以上より、イヌ 26 週間反復投与毒性試験の結果から、本剤の長期投与による毒性プロファイルは明らかにされていると判断した。

（3） 遺伝毒性試験

細菌あるいは哺乳類培養細胞を用いた *in vitro* 遺伝毒性試験、マウス及びラットを用いた小核試験を実施した。

細菌を用いる復帰突然変異試験及び哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を実施した結果、いずれの試験も陰性であった。腹腔内投与によるマウス小核試験及び静脈内投与によるラット小核試験を実施した結果、いずれの試験も陰性であった。

以上、デフィブロチドナトリウムは遺伝毒性を示さないと判断した。

（4） がん原性試験

本申請に当たり、本剤の臨床での使用が 6 ヵ月以上継続されることはないと考えられること、並びに本剤は遺伝毒性試験で陰性を示し、反復投与毒性試験においても前がん病変が認められておらずがん原性の懸念が乏しいと考えられることから、「医薬品のがん原性試験に関するガイド

ラインの改正について」（平成 20 年 11 月 27 日付け薬食審査発第 1127001 号、ICH S1C（R2）ガイドライン）に基づき、がん原性試験は不要である。しかし、長期反復投与時の一般毒性プロファイルを把握するために、マウスおよびラットの 2 年間がん原性試験の結果は有用であると判断し、申請パッケージの一部に加えた。

マウスがん原性試験では、対照群を含む全群の雄で高い死亡率を示したため、早期に雄全群の生存動物を剖検した（投与期間は雄 650 日、雌 730 日）。マウス及びラットともに死亡率及びその他の検査項目について投与による影響は認められず、腫瘍発生に関してデフィブロチドナトリウム投与に起因した変化は認められなかった。以上、デフィブロチドナトリウムはがん原性を示さないと判断した。

一方、長期反復投与時の一般毒性プロファイルとして、ラットがん原性試験において 2000 mg/kg/日投与群で痙攣、振戦及び副腎の鬱血が認められた。また、同投与群において PT の延長並びに脳出血及び脊髄出血の発現頻度の増加が認められ、凝固・線溶系に影響するデフィブロチドナトリウムの薬理作用との関連が示唆された。

（5） 生殖発生毒性試験

生殖発生毒性試験はラット及びウサギを用いて実施した。「受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験」並びに「出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験」については筋肉内投与時の影響を評価した。

1） 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

ラットを用いた筋肉内投与による影響を評価した。親動物の一般状態、体重、生殖能及び初期胚発生、胚･胎児発生及び出生児について投与に起因した変化は認められず、NOAEL は 12 mg/kg/日と判断した。

2） 胚・胎児発生に関する試験

妊娠ラットを用いた 1 日 4 回、各 2 時間かけての静脈内投与による予備試験では、60 mg/kg/日以上の全投与群において切迫流産が認められ、多数の動物を安楽死処置した。全投与群で母動物毒性が、120 mg/kg/日以上の投与群で吸収胚数の増加が認められ、デフィブロチドナトリウムは妊娠ラットにおいて母動物毒性及び胚･胎児毒性を有すると考えられた。

妊娠ウサギを用いた 1 日 4 回、各 2 時間かけての静脈内投与による試験では、80 mg/kg/日投与群で子宮重量の低下、黄体数及び着床数の減少が認められたが、着床前死亡率に変化は認められなかった。また、80 mg/kg/日投与群で黄体数の減少に伴う生存胎児数の減少が認められたほか、雄の胎児比率の減少及び着床後死亡率の増加が認められた。一方、催奇形性を示す所見は認められなかった。従って、母動物の一般毒性及び生殖能に対する NOAEL は 80 mg/kg/日、胚・胎児発生に対する NOAEL は 80 mg/kg/日未満と判断した。

以上の結果より、デフィブロチドナトリウムは母動物及び胚･胎児毒性を有すると判断した。

3） 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

妊娠ラットを用いた筋肉内投与による影響を評価した。母動物の一般状態、生殖能及び出生児の発達に異常は認められなかったことから、母動物の一般毒性、生殖能及び出生児に対するNOAELはいずれも12 mg/kg/日と判断した。

4） 新生児を用いた試験

幼若ラットを用いた静脈内投与による4週間反復投与試験では、40 mg/kg/日以上の投与群で脾臓の腫脹、脾臓の胚中心の過形成、肝臓の髄外造血の亢進及び網状赤血球数の増加が、320 mg/kg/日投与群で小葉中心性肝細胞空胞化が認められたが、4週間の回復期間中にいずれの変化も消失した。幼若ラットに特異的な新たな毒性所見は認められなかった。また、40 mg/kg/日以上の投与群の雄で陰茎亀頭包皮分泌腺の開裂の発現時期の遅延が認められ、雄の性成熟の遅延が示唆された。精巣下降は全ての投与群で正常に発現した。NOAELは雌雄とも40 mg/kg/日未満と判断した。雄の性成熟遅延についての追加試験では、陰茎亀頭包皮分泌腺の開裂の発現時期の遅延は認められなかった。

（6） 局所刺激性試験

独立した局所刺激性試験は実施せず、ラットを用いた持続静脈内投与による13週間反復投与試験（カテーテルの長期留置に伴う合併症のため、投与期間を13週から9週に短縮）及びイヌを用いた2時間かけての静脈内投与による13週間反復投与試験の一部として評価した。各試験とも投与部位で腫脹等の変化が認められたものの、投与操作に起因するものであり、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化ではないと考えられた。

以上の結果より、デフィブロチドナトリウムは局所刺激性を示さないと判断した。

（7） その他の毒性試験

抗原性試験及び免疫毒性試験を実施し、デフィブロチドナトリウムのアレルギー誘発性、免疫原性及び免疫毒性作用を評価した。

1） 抗原性試験

ラット及びイヌを用いた免疫原性試験において、デフィブロチドナトリウムの反復投与による抗デフィブロチド抗体、抗Platelet Factor 4-ヘパリン複合体抗体及び抗リン脂質抗体は検出されなかった。

モルモットを用いた抗原性試験において、デフィブロチドナトリウムの反復投与による能動的及び受動的皮膚アナフィラキシー反応並びに全身性アナフィラキシー反応は誘発されなかった。

以上、デフィブロチドナトリウムは抗原性を示さなかった。

2） 免疫毒性試験

マウスを用いた免疫毒性試験において、T 細胞依存性抗体反応、マクロファージ依存性細胞障害及びリンパ球幼若化反応を評価した結果、デフィブロチドナトリウムはこれら免疫毒性を示さ

なかった。マウス及びヒト細胞を用いた免疫毒性試験において、デフィブロチドナトリウムの投与はナチュラルキラー（NK）細胞活性に影響を与えなかった。

以上、デフィブロチドナトリウムは免疫毒性を示さなかった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

単回投与毒性試験は実施せず、ラットを用いた持続静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-001、資料番号 4.2.3.2-3）及びイヌを用いた静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-002、資料番号 4.2.3.2-6）のデータを用いて急性毒性を評価した。また、ラットを用いた静脈内投与による胚・胎児発生試験（試験番号 21/75822、資料番号 4.2.3.5.2-2）の非妊娠ラットのデータを用いて静脈内投与時の急性毒性を評価した。

雌雄の Crl:CD（SD）ラットに 4800 mg/kg/日までの用量にてデフィブロチドナトリウムを持続静脈内投与した結果、投与初日に特記すべき変化は認められず、概略の致死量は 4800 mg/kg/日超であった。

雌雄の Beagle イヌに 1600 mg/kg/日までの用量にてデフィブロチドナトリウムを 1 日 4 回、6 時間ごとに各 2 時間かけて静脈内投与した結果、投与初日に特記すべき変化は認められず、概略の致死量は 1600 mg/kg/日超であった。

非妊娠の CFY SD ラットに 300 mg/kg/日までの用量にてデフィブロチドナトリウムを静脈内投与した結果、300 mg/kg/日投与群では投与初日の投与直後に痙攣、意識消失、筋緊張低下、頻呼吸、嗜眠及び歩行不能が認められ、1 例が死亡した。150 mg/kg/日投与群でも同様の変化が認められたが死亡例はなく、概略の致死量は 300 mg/kg/日であった。

以上の結果より、概略の致死量は、ラットに持続静脈内投与した際は 4800 mg/kg/日超、イヌに 1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内投与した際は 1600 mg/kg/日超であった。また、ラットに静脈内投与した際の概略の致死量は 300 mg/kg/日であった。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ラットを用いた持続静脈内投与による 7 日間反復投与毒性試験（試験番号 1529-004、資料番号 4.2.3.2-1、参考資料）

雄 5 例の Crl:CD（SD）ラットに外科的に留置した大腿静脈カテーテルを介して、デフィブロチドナトリウムを 4800 mg/kg/日の用量で持続静脈内投与により 7 日間反復投与した。また、雄 3 例のトキシコキネティクス（TK）用動物を用いて、投与 1 日目及び 7 日目に血漿中デフィブロチド濃度を測定した。

投与期間中、デフィブロチドナトリウム投与に起因する死亡は認められなかった。TK 用動物が投与 6 日目及び最終投与 2 日後にそれぞれ 1 例ずつ死亡したが、死亡状況から静脈内投与カテーテル留置による感染及び炎症等の変化ならびに麻酔や TK 採血などの実験手技による二次的なものと考えられた。

デフィブロチドナトリウム投与群の 1 例で粗毛が認められた。その他にも種々の一般状態の変化が認められたが、いずれも偶発的なもの、又はジャケット／ハーネスの装着による二次的なものと判断した。

体重及び摂餌量測定では、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化は認められなかった。

病理解剖学的検査では、投与部位の腫脹、腎臓の黄褐色巣及び脾臓の大型化が認められた。これらの変化は、長期カテーテル留置に伴う二次的変化であることが疑われたものの、対照群が設けられておらず、病理組織学的評価も行われなかったことから、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化であることを否定できなかった。

TK 測定では、全ての動物の血漿中にデフィブロチドが検出された。1 日目の投与開始 24 時間後の血漿中濃度は 787、974、995 µg/mL、7 日目の投与終了直前の血漿中濃度は 654、1110、742 µg/mL であった（2.6.4.3.2.3 項参照）。

以上の結果より、一部の動物で認められた投与部位、腎臓及び脾臓の肉眼的変化は、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化であることを否定できないことから、NOAEL は 4800 mg/kg/日未満と判断した。

2.6.6.3.2 ラットを用いた静脈内投与による 4 週間反復投与毒性試験（試験番号 654、資料番号 4.2.3.2-2、参考資料）

1 群雌雄各 10 例の Crl:CD（SD）ラットにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、80/100、160/200 及び 320/400 mg/kg/日の用量で尾静脈より 1 日 1 回、4 週間反復静脈内投与した。投与初日から 16 日目までは 0（対照群）、80、160 及び 320 mg/kg/日の用量で投与し、投与 17 日目以降はそれぞれ 0（対照群）、100、200 及び 400 mg/kg/日の用量で投与を継続した。

試験期間中、デフィブロチドナトリウム投与に起因した死亡及び一般状態の変化は認められなかった。

体重測定では、320/400 mg/kg/日投与群の雌で摂餌量の減少を伴った体重増加抑制が認められた。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、全てのデフィブロチドナトリウム投与群の雌雄で、赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの軽度減少並びに白血球数及び血清クロールの増加が、雌で軽度な血小板数の減少が認められた。尿検査に異常は認められなかった。

器官重量測定では、全てのデフィブロチドナトリウム投与群の雌雄で肝臓重量の減少及び脾臓重量の増加が認められた。

病理解剖学的検査及び病理組織学的検査では、デフィブロチドナトリウム投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

以上の結果より、80/100 mg/kg/日以上の投与群で肝臓及び脾臓重量の変化が認められたことから、NOAEL は 80/100 mg/kg/日未満と判断した。

2.6.6.3.3 ラットを用いた持続静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-001、資料番号 4.2.3.2-3、評価資料）

1 群雌雄各 15 例の Crl:CD（SD）ラットに外科的に留置した大腿静脈カテーテルを介して、デフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、240、1200 及び 4800 mg/kg/日の用量で持続静脈内投与により 9 週間反復投与した。また、TK 測定のため、対照群及びデフィブロチドナトリウム投与群で雌雄各 3 例の血漿中デフィブロチド濃度を測定した。

計画時の試験期間は 13 週間であったが、投与 3～4 週目から対照群を含む全投与群において死亡又は瀕死期安楽死処置となる動物が複数認められたため、試験を 9 週で中止し、生存している全動物を安楽死処置した。死亡率に用量依存性は認められなかったものの、デフィブロチドナトリウム投与群で高い死亡率を示した。死亡動物ではカテーテル挿入部位の開存による感染及び炎症等の変化が観察されたほか、鼠径部、大腿部及び腹部の腫脹が認められており、これらの変化に伴って一般状態が徐々に悪化した結果、死亡又は瀕死期安楽死処置に至ったと考えられた。

一般状態観察では、対照群を含む全投与群の雄あるいは雌で活動性低下、軟便、切開部位／四肢からの黄色／白色／赤色／透明分泌物、四肢の機能障害、眼、鼻及び口周囲の赤色／褐色／黒色物質、被毛光沢消失、裂傷、皮膚の変色並びに粗毛が認められた。これらの変化は対照群でも観察されたことからカテーテル処置に関連したものと考えられたが、デフィブロチドナトリウム投与群で発現頻度が高かった。また、240 及び 1200 mg/kg/日投与群の雄で浅速呼吸が、240 mg/kg/日投与群の雄及び 4800 mg/kg/日投与群の雌で呼吸困難が、240 mg/kg/日投与群の雌で虚脱並びにケージ又は床敷における赤色物質が、240 mg/kg/日以上の投与群の雄で陰茎からの黄色／白色／赤色分泌物、円背位及び削痩が、240 mg/kg/日以上の投与群の雌で削痩及び冷感が、1200 mg/kg/日以上の投与群の雄で虚脱、尿の変色、唇／口からの赤色分泌物、被毛の変色及び冷感が、1200 mg/kg/日投与群の雌で尿の変色及び眼の変色、1200 mg/kg/日以上の投与群の雌で円背位及び被毛の変色が、4800 mg/kg/日投与群の雄で粘液便、水様便、ケージ又は床敷における赤色物質、眼球からの透明分泌物、眼の変色及び眼球退色が認められた。

体重測定では、1200 mg/kg/日投与群の雄及び 4800 mg/kg/日投与群の雌で有意な減少が、1200 mg/kg/日投与群の雌で一過性（投与 6 週目）の減少が認められた。

摂餌量測定では、デフィブロチドナトリウム投与群で軽度に減少したが、用量依存性はなく、偶発的又は一般状態の悪化に起因した二次的なものと考えられた。

血液学的検査では、240 mg/kg/日以上の投与群の雄あるいは雌で好中球数、リンパ球数、単球数の増加が、1200 mg/kg/日以上の投与群の雄あるいは雌で赤血球数の減少及び再生性の網状赤血球数の増加が、1200 mg/kg/日以上の投与群の雄で未熟好中球の早期放出を示唆する桿状好中球が認められた。また、1200 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で APTT 又は PT の延長並びにフィブリノーゲン濃度の増加が認められた。

血液生化学的検査では、240 mg/kg/日以上の投与群の雌雄でアルブミン減少が、1200 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で総タンパクの減少、一部の雌で ALT の増加及びソルビトール脱水素酵素の増加が認められた。240 および 1200 mg/kg/日投与群の雄で尿素窒素の増加が、240 mg/kg/日群の雌雄で血清グロブリンの増加が、4800 mg/kg/日投与群の雌雄で血清グロブリンの低下が認められた。

尿検査では、全投与群で異常は認められなかった。

器官重量測定では、用量との相関性は明らかでなかったが、240 mg/kg/日群以上の投与群の雌雄で腎臓及び肝臓重量の増加が認められた。240 mg/kg/日群以上の投与群の雌雄で脾臓重量の増加が、1200 mg/kg/日投与群の雄では肺重量の増加が認められたが、病理組織学的検査の結果から長期カテーテル留置による合併症に伴う髄外造血又は炎症反応によるものと考えられた。1200 mg/kg/日投与群の雄及び 1200 mg/kg 以上の投与群の雌で副腎重量の増加が認められたが、カテーテル留置に関連した合併症に伴う二次的なストレス性変化であると考えられた。

病理解剖学的検査において、腎臓では 240 及び 1200 mg/kg/日投与群の雄並びに 1200 mg/kg/日以上の投与群の雌で淡褐色化又は変色病巣が、1200 mg/kg/日投与群の雌雄で腎盂拡張が、1200 mg/kg/日投与群の雄で表面不整が、4800 mg/kg/日投与群の雄で腫大が認められた。肝臓では 240 及び 4800 mg/kg/日投与群の雄並びに 1200 mg/kg/日投与群の雌で腫大が認められた。さらに、対照群を含む全群の雄及び 1200 mg/kg/日以上の投与群の雌で脾臓の腫大が認められ、長期カテーテル留置による合併症に伴う髄外造血又は炎症反応によるものと考えられた。その他、240 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で副腎の肥大が、1200 mg/kg/日投与群の雄で胸腺の小型化が認められた。これらの所見はカテーテル留置に関連した合併症に伴う二次的なストレス性変化であると考えられた。上記以外にも多数の剖検所見がデフィブロチドナトリウム投与群で認められたが、明白な用量依存性がなく、多くは長期のカテーテル留置に伴う合併症に関連する変化と考えられたため投与との関連性を評価することはできなかった。

病理組織学的検査において、腎臓では 240 mg/kg/日の投与群の雄と 1200 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で尿細管の変性及び再生が、1200 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で尿細管上皮細胞の好塩基性顆粒、糸球体腎症並びにリンパ球ないしは組織球の浸潤が認められた。肝臓では、対照群を含む概ね全群の雌雄でクッパー細胞肥大ないしは過形成が認められたが、1200 mg/kg/日以上の投与群の雌雄ではクッパー細胞の好塩基性顆粒を伴い、肥大／過形成の程度が強かった。尿細管上皮細胞及び肝臓クッパー細胞における好塩基性顆粒はデフィブロチドナトリウムの取り込みによる適応性変化と考えられた。また、240 mg/kg/日投与群の雌及び 1200 mg/kg/日投与群の雌雄の投与部位及び 1200 mg/kg/日以上の投与群の雌雄の脾臓、腸間膜リンパ節及び下顎リンパ節でマクロファージの空胞化が認められた。これらマクロファージではしばしば貪食した細胞残渣が認められ、一部の動物では敗血症との関連が示唆された。その他、播種性血管内凝固症候群、増殖性弁膜性心内膜炎、尿路感染を含む炎症や細菌感染、肝臓及び脾臓で髄外造血の増加、脾臓及び複数のリンパ節でリンパ過形成、胸腺、脾臓及び複数のリンパ系組織でリンパ球枯渇及び壊死、大腿骨及び胸骨骨髄で顆粒球過形成が認められたが、これらはカテーテル挿入部位の開存による感染及び炎症等に関連した二次的影響であると考えられた。これらの変化は対照群よりもデフィブロチドナトリウム投与群で多く認められたものの、明らかな用量依存性がなく、投与との関連性は明確でなかった。

TK 測定では、投与 1 日目の血漿中デフィブロチド濃度は、投与開始 24 時間後に最高値に達した。240 及び 1200 mg/kg/日投与群では、最高血漿中濃度（C_{max}）及び投与後 0 時間から 24 時間における血漿中濃度時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24hr}$）は投与量にほぼ比例して増加した。いずれの投与量を 65 日間にわたり持続静脈内投与しても、投与初日の C_{max} 値と比較して上昇しておらず、蓄積は認められなかった（2.6.4.3.2.5 項参照）。

以上の結果より、240 mg/kg/日投与群の雄で腎臓尿細管の変性が、240 mg/kg/日投与群の雌で投与部位のマクロファージの空胞化が認められたことから、NOAEL は雌雄とも 240 mg/kg/日未満と判断した。

2.6.6.3.4 ウサギを用いた静脈内投与による 17 日間反復投与毒性試験（試験番号 151-0-094-012、資料番号 4.2.3.2-4、参考資料）

1 群雌雄各 8 例の New Zealand White ウサギにデフィブロチドナトリウムを耳介静脈から 0（対照群）及び 900 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、17 日間反復静脈内投与した。投与 1 日目に 0 及び 150 mg/kg の用量を 1 分間かけて静脈内投与した後に、0（対照群）及び 900 mg/kg の用量で 6 時間かけての静脈内投与を開始し、以降 17 日目まで反復投与した。計画時の試験期間は 21 日間であったが、対照群を含む全ての投与群において投与部位の状態悪化に関連して死亡又は瀕死期安楽死処置となる動物が複数認められたため、試験は 17 日間で終了した。

投与期間中、対照群 6 例及びデフィブロチドナトリウム投与群 7 例が死亡又は安楽死処置となったが、いずれも投与部位の状態悪化等が原因であり、デフィブロチドナトリウム投与に起因した死亡は認められなかった。

一般状態観察では、擦過傷及び赤色化が多数の動物で認められた。これらの所見は対照群においても同様に認められ、投与手技によるものと推察された。体重及び摂餌量に明らかな変化はなく、眼科的検査での異常も認められなかった。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、デフィブロチドナトリウム投与群の雌雄で血漿中 β-グロブリンの有意な増加が、雌で α1-グロブリンの有意な増加が認められたが、毒性学的意義は低いと判断した。

病理解剖学的検査、器官重量測定及び病理組織学的検査では、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果より、デフィブロチドナトリウム投与に起因する明確な毒性所見は確認されなかったことから、NOAEL は 900 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.3.5 イヌを用いた静脈内投与による 7 日間反復投与毒性試験（試験番号 1529-003、資料番号 4.2.3.2-5、参考資料）

雄 3 例の Beagle イヌにデフィブロチドナトリウムを 1600 mg/kg/日の用量で 7 日間反復投与した。デフィブロチドナトリウムは外科的に留置した大腿静脈カテーテルを介して 1 日 4 回投与し（400 mg/kg/回、6 時間ごと）、1 回の投与は 2 時間かけての静脈内投与とした。また、TK 評価のため、1 日目及び 7 日目に血漿中デフィブロチド濃度を測定した。

デフィブロチドナトリウム投与に起因すると考えられる死亡又は一般状態の変化はなく、体重及び摂餌量の変化も認められなかった。

病理解剖学的検査では、デフィブロチドナトリウム投与に関連する変化は認められなかった。TK 測定では、3 例全てのイヌで血漿中にデフィブロチドが検出された。個体間で大きな差はなく、各測定時点における血漿中デフィブロチド濃度は投与 1 日目及び投与 7 日目で同程度であった（2.6.4.3.4.1 項参照）。

以上の結果より、デフィブロチドナトリウム投与に起因する明確な毒性所見は確認されなかったことから、NOAEL は 1600 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.3.6 イヌを用いた静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-002、資料番号 4.2.3.2-6、評価資料）

1 群雌雄各 4 例の Beagle イヌにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、60、300 及び 1600 mg/kg/日の用量で 13 週間反復投与した。デフィブロチドナトリウムは外科的に留置した大腿静脈カテーテルを介して 1 日 4 回投与し（0、15、75 及び 400 mg/kg/回、6 時間ごと）、1 回の投与は 2 時間かけての静脈内投与とした。投与用量は、イヌを用いた静脈内投与による 7 日間反復投与毒性試験（試験番号 1529-003、資料番号 4.2.3.2-5）において、1600 mg/kg/日の用量までデフィブロチドナトリウム投与に関連した影響が認められなかったことから、1600 mg/kg/日を最高用量とした。また、TK 評価のため 1 日目及び 91 日目に血漿中デフィブロチド濃度を測定した。

デフィブロチドナトリウム投与に起因する死亡例は認められなかった。投与期間中、60 mg/kg/日投与群の雌 1 例が全身状態悪化のために 44 日目に瀕死期安楽死処置に至ったが、偶発的な関節炎による二次的な影響であり、デフィブロチドナトリウム投与によるものではないと判断した。

一般状態観察では、60 mg/kg/日以上の投与群の雄あるいは雌で粘液便、水様便、ケージ上の有色物質が、300 mg/kg/日以上の投与群の雄あるいは雌で軟便が、1600 mg/kg/日投与群の雌雄で便変色（赤色）が認められた。これらは用量との相関性がなく、飼育下のイヌで一般に認められる変化であることから、投与操作や投与環境からのストレスに起因するものであり、デフィブロチドナトリウム投与に起因した変化ではないと考えられた。対照群を含む全群の雌雄で、投与部位の局所変化（変色、腫脹等）が一過性に認められたが、用量依存的な傾向はなく、数日以内に回復したことから長期に亘る外科的なカテーテル留置に関連した炎症性病変であり、デフィブロチドナトリウム投与に起因した変化ではないと考えられた。

体重、摂餌量、眼科学的検査及び心電図検査では、デフィブロチドナトリウム投与に起因した変化は認められなかった。

血液学的検査では、60 mg/kg/日投与群の雌及び 300 mg/kg/日投与群の雄で赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの低下が認められたが、用量依存性はなく、偶発的な変化あるいは投与操作に起因した変化であると考えられた。また、300 mg/kg/日投与群の雄及び 1600 mg/kg/日投与群の雌雄で投与 5 週目に APTT の有意な延長が認められたが、一過性の変化であり用量依存性が乏しいことから、デフィブロチドナトリウム投与に関連したものではないと判断した。

血液生化学的検査では、1600 mg/kg/日投与群の雌でカルシウム及びリンの増加が、60 及び 1600 mg/kg/日投与群の雌並びに 300 mg/kg/日投与群の雄でアルブミンの減少が認められたが、軽微な変化であり用量依存性が認められないことから、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化ではないと判断した。

尿検査では、300 mg/kg/日投与群の雄 1 例で投与 5 週目に軽度の糖尿、ケトン尿、ビリルビン尿及びタンパク尿が認められたが、一過性の変化であり投与による影響ではないと判断した。

病理解剖学的検査では、デフィブロチドナトリウム投与に関連する明白な肉眼的所見は認められなかった。

器官重量測定では、60 及び 1600 mg/kg/日投与群の雌並びに 300 mg/kg/日投与群の雄で肝臓重量の増加が認められた。

病理組織学的検査では、1600 mg/kg/日投与群の雄で軽微な肝細胞の単細胞壊死が認められた。60 mg/kg/日の投与群の雌及び 300 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で、肝臓に細胞質内好塩基性顆粒、びまん性のクッパー細胞肥大が認められたが、これらの変化はデフィブロチドナトリウムの取り込みによる適応性変化と考えられた。なお、対照群を含む全群の雌雄で、投与部位の軽微～軽度な血管周囲の出血、血管内皮細胞の腫大、血管新生、及び軽微な血管外膜への単核細胞浸潤が認められた。これらの変化は長期静脈内投与による血管内膜の破壊が原因であり、デフィブロチドナトリウム投与による影響ではないと判断した。また、デフィブロチドナトリウム投与群では投与部位に血栓形成が認められた。対照群の投与部位には血栓形成が確認されなかったものの、対照群を含む全投与群で投与部位の血栓に由来すると考えられる肺塞栓症、心房梗塞及び腎臓病変が認められていることから、この血栓形成はデフィブロチドナトリウム投与に関連した変化ではないと考えられた。

TK 測定において、1 日目及び 91 日目の C_{max} は、300 mg/kg/日以上の投与群で投与量の増加に伴い上昇した。全身曝露量に顕著な性差はなく、2 時間かけて持続静脈内投与することにより 1600 mg/kg/日の用量を 91 日間反復投与しても、蓄積性はなかった（2.6.4.3.4.2 項参照）。

以上の結果より、1600 mg/kg/日投与群の雄で軽微な肝細胞の単細胞壊死が認められたことから NOAEL は雄で 300 mg/kg/日、雌で 1600 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.3.7 イヌを用いた静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 15/75712、資料番号 4.2.3.2-7、参考資料）

1 群雌雄各 3 例の Beagle イヌにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、15、45 及び 150 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、13 週間反復静脈内投与した。

投与期間中、デフィブロチドナトリウム投与に関連する死亡は認められなかった。

一般状態観察では、45 mg/kg/日以上の投与群で失禁、脱糞、肛門腺からの分泌物、流涎、頭部反転動作等の異常行動、筋振戦及び歯肉蒼白等が、150 mg/kg/日投与群で嘔吐が認められたが、概して投与初期の数週間に限定して発現した。

体重、摂餌量、摂水量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量測定、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査において、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化は認められなかった。150 mg/kg/日投与群の 1 例で投与部位周囲の皮下組織に組織球浸潤を伴う黄色物質の蓄積が認められたが、被験物質の残存であると考えられた。

以上の結果より、45 mg/kg/日以上の投与群で一般状態の変化が認められたことから、NOAEL は 15 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.3.8 イヌを用いた静脈内投与による 26 週間反復投与毒性試験（試験番号 619、資料番号 4.2.3.2-8、参考資料）

1 群雌雄各 3 例の Beagle イヌにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、15、45 及び 150/135/150/165 mg/kg/日の用量で橈骨静脈から 1 日 1 回、26 週間反復静脈内投与した。150/135/150/165 mg/kg/日投与群は、150 mg/kg/日の用量で投与を開始したが、投与 0 日目（投与初回）の投与直後に全ての動物で顕著な歩行失調、嗜眠及び運動失調が認められたため、用量を

135 mg/kg/日に減量した。投与 1 日目及び 2 日目の投与後もこれらの症状は持続したが、投与 3 日目以降は認められなかったため、14 日目から 150 mg/kg/日に増量し、21 日目からは 165 mg/kg/日まで増量して投与を継続した。

投与期間中、デフィブロチドナトリウム投与に起因する死亡は認められなかった。

一般状態観察では、高用量群（150/135/150/165 mg/kg/日投与群）の全ての動物で、投与 0 日目から 2 日目まで顕著な歩行失調、嗜眠、運動失調が認められたが、3 日目以降にはこれらの症状は消失し、最終用量（165 mg/kg/日）においても良好な忍容性を示した。他の投与群では特記すべき一般状態の変化は認められなかった。

体重測定では、45 mg/kg/日以上の投与群において、投与約 1 ヵ月以降に体重の増加抑制が認められたが、統計学的有意差はなかった。摂餌量にデフィブロチドナトリウム投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査では、150/135/150/165 mg/kg/日投与群において、ALT の増加及びカリウム減少が一過性（投与 9 週目のみ）に有意な変化として認められた。

眼科学的検査、血液学的検査、尿検査、便潜血検査、器官重量測定、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査では、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果より、150/135/150/165 mg/kg/日投与群で一般状態の悪化が認められたため、NOAEL は 45 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 非哺乳動物細胞系での *In Vitro* 試験

2.6.6.4.1.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（試験番号 0245-2010、資料番号 4.2.3.3.1-1、評価資料）

ネズミチフス菌（TA100、TA1535、TA98 及び TA1537）及び大腸菌（WP2 *uvrA*）を用い、プレインキュベーション法により、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、デフィブロチドナトリウムの遺伝子突然変異誘発性の有無を検討した。溶媒対照と比較して、復帰変異コロニー数が 2 倍以上増加し、用量依存性が認められるときを陽性とした。

試験用量は、最高用量を 5000 µg/plate として、以下公比 2 で 2500、1250、625 及び 312.5 µg/plate の計 5 段階を設定した。

その結果、デフィブロチドナトリウムは全ての菌株において、代謝活性化の有無にかかわらず復帰変異コロニー数を増加させなかった。

以上の結果より、デフィブロチドナトリウムは遺伝子突然変異誘発性を示さないと判断した。

2.6.6.4.2 哺乳動物細胞系での *In Vitro* 試験

2.6.6.4.2.1 哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験（試験番号 [redacted]0076、資料番号 4.2.3.3.1-2、評価資料）

チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞にデフィブロチドナトリウムを代謝活性化系の非存在下及び存在下で 3 時間、並びに代謝活性化系の非存在下で 20 時間処理し、染色体異常誘発性を

評価した。処理濃度は、用量設定試験の結果をもとに、細胞毒性が認められなかった 500 µg/mL を最高処理濃度として、以下、公比 2 で 250 及び 125 µg/mL の計 3 段階を設定した。

その結果、デフィブロチドナトリウムはいずれの処理においても、構造異常及び数的異常を有する細胞の割合を増加させなかった。

以上の結果より、デフィブロチドナトリウムは染色体異常誘発性を示さないと判断した。

2.6.6.4.3 哺乳動物系での *In Vivo* 試験

2.6.6.4.3.1 マウス骨髄を用いた腹腔内投与による小核試験（試験番号 094007-[redacted]-03784、資料番号 4.2.3.3.2-1、参考資料）

1 群雌雄各 5 例の Swiss CD-1 マウスにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、250、833 及び 2500 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、2 日間腹腔内投与した。

デフィブロチドナトリウムを投与したいずれの群においても、小核を有する多染性赤血球（MNPCE）の出現頻度に溶媒対照群と比較して有意な差は認められなかった。また、多染性赤血球（PCE）と正染性赤血球（NCE）との比に差はなく、骨髄毒性は認められなかった。

以上の結果より、デフィブロチドナトリウムは小核誘発性を示さないと判断した。

2.6.6.4.3.2 ラット骨髄を用いた静脈内投与による小核試験（試験番号 [redacted]0077、資料番号 4.2.3.3.2-2、評価資料）

雄性 SD ラットにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、400、800 及び 1600 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、2 日間静脈内投与した。対照群、400 及び 800 mg/kg/日投与群は各 5 例、1600 mg/kg/日投与群は 8 例とした。投与量は、予備試験の結果をもとに 1600 mg/kg/日を最高用量として、以下、公比的に設定した。

デフィブロチドナトリウムを投与したいずれの群においても、MNPCE の出現頻度に溶媒対照群と比較して有意な差は認められなかった。また、PCE と NCE との比に差はなく、骨髄毒性は認められなかった。

以上の結果より、デフィブロチドナトリウムは小核誘発性を示さないと判断した。

2.6.6.4.4 その他の試験系

該当試験なし。

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 長期がん原性試験

2.6.6.5.1.1 マウスを用いた混餌投与によるがん原性試験（試験番号 253-094-024、資料番号 4.2.3.4.1-1、参考資料）

1 群雌雄各 50 例の Crl:CD-1 (SD)BR マウスにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群、2 群設定）、100、400 及び 2000 mg/kg/日の用量で 2 年間混餌投与した。2 つの対照群には、デフィブロチドナトリウムを含まない飼料を摂取させた。投与量は、マウスを用いた混餌投与による 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 239-094-022、資料番号 4.2.3.4.3-1）において、2000 mg/kg/日までの

用量で良好な忍容性が認められたことから、2000 mg/kg/日を最高用量に設定した。体重と摂餌量からデフィブロチドナトリウムの実投与量を算出し、設定した投与用量とほぼ同等であることを確認した。デフィブロチドナトリウムの曝露を確認するため、1 群雌雄各 15 例を別途設定し、1、13、26、53、85 及び 104 週目に採取した血液試料を用いて血漿中の t-PA 活性[1)]を測定した。

雄では対照群を含む全ての投与群で高い死亡率を示したため、早期に雄全群の生存動物全例を剖検した（雄 650 日目、雌 730 日目）。雌雄ともに死亡に対するデフィブロチドナトリウム投与の影響は認められなかった。

一般状態、摂餌量及び体重に関して、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化はなかった。デフィブロチドナトリウム投与群の雄では、触知可能な腫瘤数及び触知可能な腫瘤を有する動物数が対照群に比べて少なかった。腫瘤の発現時期について、デフィブロチドナトリウム投与による影響は認められなかった。

血液学的検査では、2000 mg/kg/日投与群の雄で赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリットの増加が認められた。

病理解剖学的検査及び病理組織学的検査ではデフィブロチドナトリウム投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

また、デフィブロチドナトリウムの曝露確認において血漿中の t-PA 活性を測定したところ、100 及び 400 mg/kg/日投与群の雌雄並びに 2000 mg/kg/日投与群の雄では対照群に比べて t-PA 活性が上昇し、概ね投与 53 週目まで高値または高値傾向が認められたが、2000 mg/kg/日投与群の雌では差が明確でなかった。

以上の結果より、マウスにデフィブロチドナトリウムを 100、400 及び 2000 mg/kg/日の用量でおよそ 2 年間混餌投与した結果、がん原性を示さなかった。

2.6.6.5.1.2 ラットを用いた混餌投与によるがん原性試験（試験番号 237-094-021、資料番号 4.2.3.4.1-2、参考資料）

1 群雌雄各 50 例の Crl:CD(SD)ラットにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群、2 群設定）、100、400 及び 2000 mg/kg/日の用量で 2 年間混餌投与した。2 つの対照群にはデフィブロチドナトリウムを含まない飼料を摂取させた。投与用量は、ラットを用いた混餌投与による 52 週間反復投与毒性試験（試験番号 57-0-094-006、資料番号 4.2.3.4.3-2）において、2000 mg/kg/日の用量で良好な忍容性が認められたことから、2000 mg/kg/日を最高用量に設定した。体重と摂餌量からデフィブロチドナトリウムの実投与量を算出し、設定した投与用量とほぼ同等であることを確認した。デフィブロチドナトリウムの曝露を確認するため、1 群雌雄各 15 例を別途設定し、1、13、26、52 及び 104 週目に採取した血液試料を用いて、血漿中の t-PA[1)]活性を測定した。

試験期間中、デフィブロチドナトリウム投与群と対照群の間で明らかな死亡の差は認められなかった。

一般状態観察では、2000 mg/kg/日投与群の雌雄で痙攣及び振戦が、2000 mg/kg/日投与群の雌で異常呼吸が認められた。2000 mg/kg/日投与群の雄で体重の有意な低値が認められたものの、いずれの投与群においても摂餌量の変化は認められなかった。触知可能な腫瘤を有する動物数、触知

可能な腫瘤数及び腫瘤発現時期に関して、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査では、2000 mg/kg 投与群の雌雄で PT の有意な延長が認められ、凝固・線溶系に影響するデフィブロチドナトリウムの薬理作用に起因する変化と考えられた。その他、2000 mg/kg/日投与群の雌で赤血球系の検査値の軽微な変動が認められたが、同種の動物で認められる増減の範囲内であり、用量依存性もなかったことから、毒性学的意義は低いと判断した。

病理解剖学的検査では特記すべき変化は認められなかった。

病理組織学的検査では、非腫瘍性の変化として 2000 mg/kg/日投与群の雄で副腎の鬱血が認められた。また、2000 mg/kg/日投与群の雌雄で脳の出血の、2000 mg/kg/日投与群の雄で脊髄の出血の発現頻度がそれぞれ増加し、凝固・線溶系に影響するデフィブロチドナトリウムの薬理作用との関連が示唆された。腫瘍性の変化としては、脳の良性星状膠細胞腫が 2000 mg/kg/日投与群の雄 3 例及び対照群 1 例に認められた。しかしながら、関連する増殖性病変の発現状況に影響がないこと、及び高齢ラットにおいては本腫瘍の発現は一般的であること[2, 3]から、偶発的な変化と考えられた。その他の腫瘍の発現状況についても、デフィブロチドナトリウムとの関連が示唆される変化は認められなかった。

デフィブロチドナトリウムの曝露確認において、血漿中の t-PA 活性を測定したところ、雌雄ともに対照群に比べてデフィブロチドナトリウム投与群の t-PA 活性が上昇し、概ね投与 52 週目まで高値または高値傾向が認められた。

以上、ラットにデフィブロチドナトリウムを 100、400 及び 2000 mg/kg/日の用量で 2 年間混餌投与した結果、がん原性を示さなかった。

2.6.6.5.2 短期又は中期がん原性試験

該当試験なし。

2.6.6.5.3 その他の試験

2.6.6.5.3.1 マウスを用いた混餌投与による 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 239-094-022、資料番号 4.2.3.4.3-1、参考資料）

1 群雌雄各 10 例の Crl:CD-1(SD)BR マウスにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、100、300、1000 及び 2000 mg/kg/日の用量で 13 週間混餌投与した。対照群にはデフィブロチドナトリウムを含まない飼料を摂取させた。体重と摂餌量からデフィブロチドナトリウムの実投与量を算出し、当初予定した用量とほぼ同等であることを確認した。

デフィブロチドナトリウム投与に起因した死亡例は認められなかった。血液採取時に各群 1～2 例の死亡例が認められたが、デフィブロチドナトリウム投与に起因した影響ではないと判断した。

一般状態観察、摂餌量及び体重測定では、デフィブロチドナトリウム投与に起因した変化は認められなかった。

血液学的検査では、投与 13 週目にデフィブロチドナトリウム投与群の雌で平均赤血球ヘモグロビン濃度の増加が認められたが、関連する他の血液学的検査項目は同系統のマウスにおける変化

の範囲内であったことから、この変化はデフィブロチドナトリウム投与に起因したものではないと判断した。

血液生化学的検査では、デフィブロチドナトリウム投与に起因した変化は認められなかった。

尿検査では、投与 13 週目に 300 mg/kg/日以上の投与群の雌でウロビリノーゲン及びタンパクの増加が認められたが、軽度であり、雌のみで観察された変化であることから、デフィブロチドナトリウム投与に起因したものではないと判断した。

器官重量測定、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査では、デフィブロチドナトリウム投与に起因した変化は認められなかった。

以上の結果より、マウスに 2000 mg/kg/日の用量までデフィブロチドナトリウムを 13 週間混餌投与したとき、デフィブロチドナトリウムに起因する変化は認められず、その忍容性は良好であった。

2.6.6.5.3.2 ラットを用いた混餌投与による 52 週間反復投与毒性試験（試験番号 57-0-094-006、資料番号 4.2.3.4.3-2、参考資料）

1 群雌雄各 30 例の Crl:CD(SD)ラットにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、80、400、及び 2000 mg/kg/日の用量で 52 週間混餌投与した。対照群にはデフィブロチドナトリウムを含まない飼料を摂取させた。各群雌雄 10 例を投与 26 週目に、残りの動物を投与 52 週目に計画剖検した。体重及び摂餌量からデフィブロチドナトリウムの実投与量を算出し、投与用量とほぼ同等であることを確認した。

投与期間中、血液採取時に 80 mg/kg/日投与群の雄 3 例、対照群及び 2000 mg/kg/日投与群の雌各 1 例が死亡したが、デフィブロチドナトリウム投与に起因した影響ではないと判断した。その他、80 mg/kg/日投与群の雄 2 例、対照群及び 80 mg/kg/日投与群の雌各 1 例が死亡したが、デフィブロチドナトリウム投与との関連は不明であった。

一般状態観察、摂餌量、摂水量、体重、眼科学的検査、血液学的検査及び血液生化学的検査では、デフィブロチドナトリウム投与に起因した変化は認められなかった。

尿検査では、投与 26 週目時点において、対照群に比べてデフィブロチドナトリウム投与群の雄で pH の低値が認められたが、同時点の対照群で高い pH 値を示したためであり、デフィブロチドナトリウム投与に起因した変化ではないと判断した。

器官重量、病理解剖学的検査及び病理組織学的検査では、デフィブロチドナトリウム投与に起因した変化は認められなかった。

以上の結果より、ラットに 2000 mg/kg/日の用量までデフィブロチドナトリウムを 52 週間混餌投与したとき、デフィブロチドナトリウム投与に起因した変化は認められず、その忍容性は良好であった。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1 ラットを用いた筋肉内投与による生殖発生毒性試験（試験番号 16/76299、資料番号 4.2.3.5.1-1、参考資料）

1 群雄 12 例（42 日齢）、雌 24 例（91 日齢）の CFY SD ラットにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、3、6 及び 12 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、筋肉内投与した。雄には交配前の 63 日間投与した。雌には交配前の 14 日間、交配期間、及び妊娠 0～14 日又は妊娠 0 日～授乳 21 日まで投与を継続した（交尾成立日を妊娠 0 日として起算）。

親動物に局所性又は全身性の変化は認められず、死亡もなかった。全てのデフィブロチドナトリウム投与群の雌雄及び妊娠中の雌の体重増加は、対照群と比較して差は認められなかった。授乳中の雌について、全てのデフィブロチドナトリウム投与群は対照群に比べて軽微な体重の増加抑制が認められたが、用量との相関がなく、毒性学的意義は低いと判断した。

交配能、妊娠率及び妊娠期間は、全ての投与群で同程度であった。

妊娠 14 日目に計画剖検した雌動物について、黄体数、着床数及び生存胚数並びに着床前及び着床後死亡率にデフィブロチドナトリウム投与の影響は認められなかった。

また、分娩から授乳期を通して離乳までの期間において、出生児数、出生児死亡率、母動物あたりの出生児体重及び平均出生児体重にデフィブロチドナトリウム投与の影響は認められなかった。また、全ての投与群で出生児に異常は認められなかった。

以上の結果より、親動物への一般毒性、生殖能及び初期胚発生、胚・胎児発生及び出生児に対する NOAEL はいずれも 12 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.6.2 胚及び胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 ラットを用いた静脈内投与による胚・胎児発生予備試験（試験番号 79820[redacted]、資料番号 4.2.3.5.2-1、参考資料）

1 群 6～8 例の妊娠 HSD:SD ラットに、大腿静脈から頚背部にかけて外科的に留置したカテーテルを介して、デフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、240、1200 及び 4800 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から妊娠 15 日まで持続静脈内投与した（交尾成立日を妊娠 0 日とする）。この持続静脈内投与では、デフィブロチドナトリウム投与群において、下記に示す重篤な毒性のために多数の動物が安楽死処置となった。そのためデフィブロチドナトリウムの用量を 60、120 及び 240 mg/kg/日に減量し、妊娠 6 日から妊娠 15 日まで反復投与する 3 群（各群 8 例）を新たに追加した。また、デフィブロチドナトリウムは大腿静脈から尾部にかけて外科的に留置したカテーテルを介して 1 日 4 回、6 時間ごとに投与し（15、30 及び 60 mg/kg/回）、1 回の投与は 2 時間かけて静脈内投与する用法に変更した。妊娠 20 日に全生存動物を帝王切開した。対照群では、カテーテル挿入部位の開存のため 1 例が安楽死処置となった。デフィブロチドナトリウム投与群においては、持続静脈内及び 2 時間かけての静脈内のいずれの投与方法でも切迫流産が認められ、各群 6～7 例の動物が安楽死処置となった。全体として 51 例中 40 例が妊娠 7 日から妊娠 15 日に安楽死処置となり、うち 39 例はデフィブロチドナトリウム投与群であったことから、母動物に対する高い毒性が認められた。妊娠 20 日で生存胎児を有する母動物数は対照群で 7 例であったのに対し

て、デフィブロチドナトリウム投与群では、2 時間かけて静脈内投与した 120 及び 240 mg/kg/日投与群で各 1 例であり、それ以外はいずれも 0 例であった。なお、切迫流産により生存胎児数が十分でなかったことから、当試験では母動物体重及び胎児に対する影響を評価することはできなかった。

表 2.6.6.6.2.1-1 動物数

群番号	1 日投与量 (mg/kg/日)	投与方法	交尾成立動物数	安楽死処置した母動物数	帝王切開時の生存動物数（妊娠 20 日）	
					母動物数	生存胎児を有する母動物数
1	0	持続静脈内	8	1	7	7
2	240	持続静脈内	6	6	0	0
3	1200	持続静脈内	6	6	0	0
4	4800	持続静脈内	7	7	0	0
5	60	静脈内 [a]	8	7	1	0
6	120	静脈内 [a]	8	7	1	1
7	240	静脈内 [a]	8	6	2	1

a：2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回（6 時間ごと）

一般状態観察では、全てのデフィブロチドナトリウム投与群において切迫流産に関連した泌尿生殖器領域の皮膚の赤色化が認められた。持続静脈内投与したデフィブロチドナトリウム投与群においては頻脈が認められた。2 時間かけて静脈内投与した 120 mg/kg/日以上の投与群で胸部及び頚背部の痂皮並びに脱毛が認められた。対照群では特に変化は認められなかった。

病理解剖学的検査では、全てのデフィブロチドナトリウム投与群で脾臓の腫大、子宮及び腹腔に出血と考えられる暗赤色液体内容物が観察された。2 時間かけて静脈内投与した動物においては、デフィブロチドナトリウム投与群で投与部位（尾部）の肥厚が、240 mg/kg/日投与群の 1 例で投与部位（尾部）の水腫及び腰部リンパ節の腫脹が認められた。

病理組織学的検査は、デフィブロチドナトリウムを持続静脈内投与して安楽死処置となった動物の異常が認められた脾臓、及び帝王切開した対照群の動物の脾臓について実施した。240 mg/kg/日以上の投与群の脾臓で、赤血球系及び骨髄球系の髄外造血の亢進が認められ、それぞれ出血若しくは炎症性病変による二次的なものであると考えられた。

胚・胎児の評価は、妊娠 20 日に帝王切開した生存胎児を有する母動物とその出生児を用いて行った。2 時間かけて静脈内投与した 120 及び 240 mg/kg/日投与群で吸収胚数の増加が認められた。うち 120 mg/kg/日投与群の胎児 1 例に全身性浮腫が認められた。240 mg/kg/日投与群の胎児に異常はなかった。

以上の結果より、母動物の一般毒性に対する NOAEL は 60 mg/kg/日未満と判断した。デフィブロチドナトリウム投与群では生存胎児を有する母動物数が限られていたため、生殖能及び胚・胎児発生に対する影響を正確に評価することはできなかったが、デフィブロチドナトリウムは妊娠ラットにおいて母動物及び胚･胎児毒性を有すると考えられた。

2.6.6.6.2.2 ラットを用いた静脈内投与による胚・胎児発生試験（試験番号 21/75822、資料番号 4.2.3.5.2-2、参考資料）

予備試験では、1 群雌 6 例の非妊娠 CFY SD ラットにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、75、150 及び 300 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、10 日間反復静脈内投与し、4 日間の観察期間後に剖検を行った。300 mg/kg/日投与群では投与初日の投与直後に痙攣、意識消失、筋緊張低下、頻呼吸、嗜眠及び歩行不能が認められ、1 例が死亡した。150 mg/kg/日投与群では同様の変化が認められたが、頻度及びその程度はより軽度であった。75 mg/kg/日投与群では異常は特に認められなかった。

予備試験において、150 mg/kg/日以上の投与群で一般状態の悪化が認められたことから、本試験では 1 群雌 20 例の妊娠 CFY SD ラットにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、10、30 及び 90 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、妊娠 6 日から妊娠 15 日（交尾成立日を妊娠 0 日とする）まで反復静脈内投与し、妊娠 20 日に帝王切開した。

本試験では、母動物で投与に対する局所性及び全身性反応は認められず、死亡例はなかった。デフィブロチドナトリウム投与群で、体重の増加抑制が一過性に認められた。妊娠動物数及び着床前死亡率にデフィブロチドナトリウム投与による影響は認められなかった。

胎児数、死亡胎児数及び平均胎児体重についてデフィブロチドナトリウム投与の影響は認められなかった。

胚･胎児の内臓変異及び骨格異常の発現率について、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化は認められなかった。

なお、デフィブロチドナトリウム投与群の胎児では、過剰肋骨の出現率が対照群に比べて有意に高かったが、当該試験機関の背景データと同程度であった。

以上の結果より、母動物の一般毒性に対する NOAEL は 10 mg/kg/日未満、生殖能及び胚・胎児発生に対する NOAEL は 90 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.6.2.3 ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生予備試験（試験番号 79840[redacted]、資料番号 4.2.3.5.2-3、参考資料）

1 群雌 10 例の妊娠 New Zealand White ウサギにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、30、60 及び 120 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から妊娠 18 日まで反復静脈内投与した（交尾成立日を妊娠 0 日とする）。デフィブロチドナトリウムは外科的に留置した外頸静脈カテーテルを介して 1 日 4 回、6 時間ごとに投与し（0、7.5、15 及び 30 mg/kg/回）、1 回の投与は 2 時間かけての静脈内投与とした。妊娠 29 日に帝王切開した（表 2.6.6.6.2.3-1 参照）。

表 2.6.6.6.2.3-1 動物数

群番号	投与量		交尾成立動物数	死亡又は瀕死期安楽死処置した母動物数	帝王切開時の生存動物数（妊娠 29 日）	
	（mg/kg/日）	（mg/kg/回）			母動物数	生存胎児を有する母動物数
1	0	0	10	2	8	8
2	30	7.5	10	7	3	1
3	60	15	10	8	2	1
4	120	30	10	7	3	2

対照群と比較して、デフィブロチドナトリウム投与群では死亡率が高かった。

母動物の一般状態観察では、30 mg/kg/日以上の投与群で全胚吸収の増加が認められた。同投与群では、ケージトレー上に赤色の汚れ及び粘液が認められ、全胚吸収に関連した変化と考えられた。また、30 mg/kg/日以上の投与群で便量減少、軟便、蒼白、活動性低下並びに呼吸困難が認められた。

母動物の病理解剖学的検査では、途中死亡例の剖検において、デフィブロチドナトリウム投与群で胆嚢の膨満及び暗色内容物、肝臓の退色及び暗色化並びに腫大又は硬結、脾臓の腫大、腎臓の退色、子宮の赤色粘液又は薄赤色、薄緑色内容物を有する肥厚が認められた。

胚・胎児発生の評価は、妊娠 29 日の計画剖検時に生存胎児を有する母動物（対照群の 8 例、30 及び 60 mg/kg/日投与群の各 1 例、120 mg/kg/日投与群の 2 例）及びその胎児を用いて行われた。30 mg/kg/日投与群で、胎児の臍帯ヘルニアが認められた。また、対照群を含め全群で矮小胎児が認められ、30 及び 120 mg/kg/日投与群ではその発現率が高かった。

以上の結果より、母動物の一般毒性及び生殖能に対する NOAEL は 30 mg/kg/日未満と判断した。また、計画剖検日に生存している母動物数が限られていたため、胚・胎児発生に対するデフィブロチドナトリウムの影響を評価することはできなかったが、デフィブロチドナトリウムは妊娠ウサギにおいて母動物及び胚･胎児毒性を有すると考えられた。

2.6.6.6.2.4 ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生試験（試験番号 95800、資料番号 4.2.3.5.2-4、評価資料）

妊娠 New Zealand White 雌ウサギにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）及び 80 mg/kg/日の用量で反復静脈内投与した。デフィブロチドナトリウムは外科的に留置した外頸静脈カテーテルを介して 1 日 4 回投与し（0 及び 20 mg/kg/回）、1 回の投与は 2 時間かけての静脈内投与とした。用量設定試験（試験番号 79840[redacted]、資料番号 4.2.3.5.2-3）において、30 mg/kg/日以上の投与用量で忍容性が認められなかったことから、当試験においては用量設定試験の投与条件よりも投与による影響を軽減するため、投与速度を 3 mL/kg/hr から 1 mL/kg/hr に変更した。また、妊娠期間／胚・胎児発生段階の開始から終了までの投与期間を 1 日が重複する各 5 日間からなる投与期間に 3 分割することで投与期間を短縮し、サブグループ 1～3 とした。

サブグループ 1 は妊娠 6 日から妊娠 10 日（着床段階及び初期胚発生段階を含む）まで、サブグループ 2 は妊娠 10 日から妊娠 14 日（初期胚発生段階及び器官形成期を含む）まで、サブグルー

プ 3 は妊娠 14 日から妊娠 18 日（器官形成の終了から硬口蓋の閉鎖までの期間を含む）まで投与した（表 2.6.6.6.2.4-1 参照）。

表 2.6.6.6.2.4-1 試験デザイン

群番号	サブグループ	投与量（mg/kg/日）	投与期間	交尾成立動物数	妊娠が確認された雌動物数
1	1	0	G6～G10	14	5[a]
	2		G10～G14	14	2
	3		G14～G18	10	5
2	1	80	G6～G10	14	4
	2		G10～G14	14	3
	3		G14～G18	10	4

G：妊娠日齢（交尾成立日を妊娠 0 日と起算）
a：全胚吸収動物 1 例を含む

試験中に死亡動物は認められなかった。妊娠動物数は、当該試験施設で同種及び同系統で通常観察される数よりも少なかったが、同じ試験条件で過去に実施した用量設定試験（試験番号 79840[redacted]、資料番号 4.2.3.5.2-3）での妊娠率は約 90%であり、デフィブロチドナトリウム投与とは無関係であると判断した。妊娠 29 日に生存胎児を有する妊娠動物数（母動物数）は、対照群（交尾成立動物 38 例中 11 例）とデフィブロチドナトリウム投与群（交尾成立動物 38 例中 11 例）の間で差は認められなかった。

母動物について、一般状態観察ではデフィブロチドナトリウム投与に関連した変化は認められなかった。サブグループ群内で、体重及び摂餌量についてデフィブロチドナトリウム投与による影響は認められなかった。病理解剖学的検査では、デフィブロチドナトリウム投与群の母動物で子宮重量の低下が認められた。生殖能については、黄体数及び着床数の減少が認められたが、着床前死亡率に変化は認められなかった。

胚・胎児発生では、対照群の母動物 1 例に全胚吸収が、デフィブロチドナトリウム投与群で生存胎児数が 1 匹のみの母動物が 2 例認められたため、これら母動物 3 例を除外して評価を行った。デフィブロチドナトリウム投与群では生存胎児数の減少が認められたが、母動物の黄体数減少に伴う変化と考えられた。また、デフィブロチドナトリウム投与群で雄の胎児比率の減少並びに着床後死亡率の増加が認められた。剖検所見、外表検査、内臓検査、骨格検査において、催奇形性を示す所見は認められなかった。

デフィブロチドナトリウムの曝露を確認するため、最終投与日のデフィブロチドナトリウム投与群の妊娠雌動物について血漿中デフィブロチド濃度を測定した。デフィブロチドナトリウム投与群の動物で血漿中濃度の上昇が認められ、デフィブロチドナトリウムの曝露が確認された。1 回目投与開始後 1 時間で最高血漿中濃度に到達し、妊娠 10～14 日及び 10～14 日ではそれぞれ 46.38 及び 49.84 µg/mL であった（検出可能であった 2 個体の血漿中濃度）。

以上の結果より、母動物の一般毒性、生殖能に対する NOAEL は 80 mg/kg/日、胚・胎児発生に対する NOAEL は 80 mg/kg/日未満と判断した。

2.6.6.6.2.5 ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生試験（試験番号 19/75687、資料番号 4.2.3.5.2-5、参考資料）

予備試験では、非妊娠 New Zealand White 雌ウサギにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、20、80、100、160 及び 320 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、13 日間反復静脈内投与した。160 及び 320 mg/kg/日投与群では初回投与後に頻呼吸、散瞳、咀嚼運動及び痙攣が認められ、320 mg/kg/日投与群の 1 例が痙攣後に死亡した。このため、投与 2 日目以降は 160 及び 320 mg/kg/日投与群の生存動物を 100 mg/kg/日投与群に組み込み、残りの期間この用量を投与した。

投与初日に 160 mg/kg/日を投与した 1 例が投与 12 日目に死亡した。また、対照群の 1 例で摂餌量の減少、嗜眠及び下痢が認められ、投与 14 日目に安楽死処置した。一般状態観察では、20 mg/kg/日以上の投与群で頻呼吸及び散瞳が、80 mg/kg/日以上の投与群で咀嚼運動が認められた。剖検では、100 mg/kg/日投与群で死亡した 2 例（初日に 160 mg/kg/日を投与した 1 例及び 320 mg/kg/日を投与した 1 例）で肝臓、腎臓並びに腸血管の鬱血が認められた。初日に 320 mg/kg/日を投与した 1 例では肺の鬱血も認められたが、最終剖検時にデフィブロチドナトリウム投与に起因する肉眼的変化は認められなかった。

本試験では 1 群 13 例の妊娠 New Zealand White 雌ウサギにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、20、40 及び 80 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、妊娠 6 日から妊娠 18 日（交尾成立日を妊娠 0 日と起算）まで反復静脈内投与した。

デフィブロチドナトリウム投与に関連する死亡例はなかった。

母動物の一般状態観察では、80 mg/kg/日投与群で頻呼吸、咀嚼運動及び散瞳が認められた。また、全てのデフィブロチドナトリウム投与群で軽度の体重増加抑制が認められたが、用量依存性はなかった。妊娠率にデフィブロチドナトリウム投与による有意な影響はなかった。

胚・胎児発生については、胎児数、胎児死亡率、母動物あたりの胎児体重及び平均胎児体重、剖検所見、外表検査、内臓検査、骨格検査において、デフィブロチドナトリウム投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、母動物の一般毒性に対する NOAEL は 20 mg/kg/日未満、生殖能及び胚・胎児発生に対する NOAEL は 80 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.6.6.3.1 ラットを用いた筋肉内投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（試験番号 17/75802、資料番号 4.2.3.5.3-1、参考資料）

1 群各 20 例の妊娠 CFY SD ラットにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、3、6 及び 12 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、妊娠 15 日（交尾成立日を妊娠 0 日と起算）から授乳 21 日まで筋肉内投与した。

母動物の一般状態では、投与に対する局所性及び全身性反応は認められず、死亡例もなかった。母動物の生殖能について、全てのデフィブロチドナトリウム投与群で、妊娠率、妊娠期間、妊娠中及び授乳中の体重増加量は、対照群と同等であった。

出生児では、分娩から授乳期を通して離乳までの期間において、同腹児数、出生児死亡率、同腹児総体重及び平均出生児体重は、デフィブロチドナトリウム群と対照群とで同等であった。病

理解剖学的検査及び病理組織学的検査においてデフィブロチドナトリウム投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果より、母動物の一般毒性、生殖能及び出生児に対する NOAEL はいずれも 12 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.6.4 新生児を用いた試験

2.6.6.6.4.1 幼若ラットを用いた静脈内投与による 4 週間反復投与毒性試験（試験番号 82640、資料番号 4.2.3.5.4-1、評価資料）

1 群雌雄各 10 例の 21 日齢 HSD:SD ラットにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、40、150 及び 320 mg/kg/日の用量で尾静脈から 1 日 1 回、4 週間反復静脈内投与した。なお、0 及び 320 mg/kg/日投与群では、さらに 1 群雌雄各 5 例を設けて、投与終了後に 4 週間休薬した後の回復性評価を行った。

当試験では、死亡、一般状態、体重、摂餌量、離乳後発生評価（膣開口、精巣下降、陰茎亀頭包皮分泌腺開裂、自発運動、Y 字型水迷路試験及びロータロッド試験）、血液学的検査、血液生化学的検査、TK 測定、器官重量、剖検及び病理組織学的検査について評価した。

試験期間中、死亡及び毒性学的に重要な一般状態の変化は認められなかった。デフィブロチドナトリウム投与群の一部の動物で、投与部位（尾部）の痂皮形成、黒色化及び先端部の脱落が認められたが、発現例数が限られており、用量依存性も認められなかったことから、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化ではないと考えられた。投与期間中の 320 mg/kg/日投与群の雌において、軽度で一過性の体重増加抑制が認められた。

離乳後発生評価では、ケージ内自発運動、運動協調性（ロータロッド試験）、学習能（Y 字型水迷路試験）及び雌の性成熟（膣開口）にデフィブロチドナトリウム投与による影響は認められなかった。しかし、デフィブロチドナトリウム投与群の雄では、出生後の陰茎亀頭包皮分泌腺の開裂の発現時期の遅延が認められ、雄の性成熟の遅延が示唆された。精巣下降は全ての投与群で正常に発現した。

血液学的検査では、40 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で用量依存的な網状赤血球数の増加が認められた。150 mg/kg/日以上の投与群の雄で APTT の短縮が、320 mg/kg/日投与群の雄でリンパ球数の増加が認められた。休薬期間後、投与群の動物で認められた網状赤血球数増加及びリンパ球数増加は完全に回復し、APTT 短縮は回復傾向が認められた。

血液生化学検査では、320 mg/kg/日投与群の少数の雄で AST 及び ALT が増加した。その他、150 mg/kg/日以上の投与群の雄あるいは雌で総タンパク及びグルコースの減少、アルカリホスファターゼ及びカルシウムの減少、ナトリウムの減少が認められたが、いずれも程度が弱い、又は用量相関性に乏しい変化であり、毒性学的に重要なものではないと判断した。休薬期間後においてデフィブロチドナトリウム投与に関連する変化は認められなかった。

投与終了時の剖検において、40 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で脾臓の腫脹が認められた。器官重量測定では、150 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で脾臓重量の増加が、320 mg/kg/日投与群の雄で肝臓重量のわずかな増加が認められた。休薬期間後の剖検では、デフィブロチドナトリウム投与に関連する肉眼的変化は認められなかった。

病理組織学的検査では、40 mg/kg/日以上の投与群の雌雄で脾臓の胚中心（B 細胞領域）の過形成が、40 mg/kg/日以上の投与群の雄及び 320 mg/kg/日投与群の雌で肝臓の髄外造血の亢進が認められた。また、320 mg/kg/日投与群の雄 2 例の肝臓で、脂肪変性が示唆される軽度の小葉中心性肝細胞空胞化が認められた。この空胞化は微小胞性のものであった。休薬期間後にデフィブロチドナトリウム投与に関連した変化は認められなかった。この他に認められた変化は全て、対照群及び 320 mg/kg/日投与群で発現率が同等であったことから、投与経路に関連する変化、又は偶発的な変化であると考えられた。

TK 測定では、投与終了時（投与 28 日目）において全てのデフィブロチドナトリウム投与群で曝露が認められた。曝露量に性差はなく、$AUC_{0\text{-}tlast}$ 及び C_{max} は投与量の増加とともに上昇した。曝露量は 40 mg/kg/日及び 150 mg/kg/日投与群で用量に比例して増加したが、320 mg/kg/日投与群では、用量比を上回る増加が認められた（2.6.4.3.2.4 項参照）。

以上の結果より、デフィブロチドナトリウム投与により脾臓及び肝臓に変化が認められたため、NOAEL は雌雄とも 40 mg/kg/日未満と判断した。また、40 mg/kg/日以上の投与群の雄で性成熟の遅延を示唆する変化が認められた。

2.6.6.6.4.2 幼若雄性ラットを用いた静脈内投与による 4 週間反復投与毒性試験（試験番号 85800、資料番号 4.2.3.5.4-2、評価資料）

幼若ラットを用いた 4 週間静脈内投与毒性試験（試験番号 82640、資料番号 4.2.3.5.4-1）において、デフィブロチドナトリウム投与群の雄で陰茎亀頭包皮分泌腺開裂の発現時期の遅延が認められたが、当該試験で用いたデフィブロチドナトリウムに防腐剤として含まれるパラベンに関連した変化であることが疑われたことから [4, 5]、この詳細を確認するための毒性試験を実施した。1 群雄各 10 例の 21 日齢 HSD:SD ラットにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）及び 320 mg/kg/日の用量で尾静脈から 1 日 1 回、4 週間静脈内投与した後、6 日間の休薬期間を設けた。また、パラベン混合物を同様に投与する群を設けて陰茎亀頭包皮分泌腺開裂の発現時期に関する評価を行った。

投与終了後の肉眼検査において、精巣下降は全ての動物で正常に発現した。また、いずれの群においても陰茎亀頭包皮分泌腺開裂の平均発現日齢に、統計学的に有意な遅延は認められなかった。

以上の結果より、陰茎亀頭包皮分泌腺開裂の発現時期の遅延は認められなかった。NOAEL は 320 mg/kg/日と判断した。

2.6.6.7 局所刺激性試験

ラット 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-001、資料番号 4.2.3.2-3）及びイヌ 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-002、資料番号 4.2.3.2-6）において一般状態観察並びに投与部位の病理解剖学的検査及び病理組織学的検査の一部として、局所刺激性の評価を行った。

1 群雌雄各 15 例の Crl:CD（SD）ラットに大腿静脈カテーテルを介して、デフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、240、1200 及び 4800 mg/kg/日の用量で持続静脈内投与により 9 週間反復投与（カテーテルの長期留置に伴う合併症のため、投与期間を 13 週から 9 週に短縮）した結果、

240 mg/kg/日投与群の雌及び 1200 mg/kg/日投与群の雌雄で投与部位のマクロファージの空胞化が認められた。本試験では、対照群を含む全群でカテーテル処置の影響により投与部位の炎症性細胞浸潤が認められたものの、刺激性物質の投与時に一般的に観察される炎症細胞性浸潤はデフィブロチドナトリウム投与の影響として認められなかったこと、及びデフィブロチドナトリウム投与群では他のリンパ組織においても同様の変化が認められたことから、同変化は投与部位局所で発生した刺激性変化ではないと考えられた。また、対照群を含む全群で、投与部位又はカテーテル挿入部位の腫脹及び痂疲形成が認められた。これらは対照群でも認められた変化であり、また用量依存性もなかったことから、カテーテル処置に関連したものであり、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化ではないと判断した。

1 群雌雄各 4 例の Beagle イヌに大腿静脈カテーテルを介して、デフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、60、300 及び 1600 mg/kg/日の用量で 1 日 4 回、各 2 時間かけての静脈内投与により 13 週間反復投与した。対照群を含む全群で投与部位の一過性の局所炎症が認められたが、用量依存性はなく数日以内に回復したことから、長期的なカテーテルの外科的留置に起因するものであり、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化ではないと判断した。

以上の結果より、デフィブロチドナトリウムは局所刺激性を示さないと判断した。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性試験

2.6.6.8.1.1 ラット及びイヌを用いた免疫原性試験（試験番号 RB2010020、資料番号 4.2.3.7.1-1、参考資料）

デフィブロチドナトリウムを投与した Crl:CD (SD)ラット及び Beagle イヌから採取した血清試料を用いて、抗デフィブロチド抗体、抗 Platelet Factor 4-ヘパリン複合体抗体及び抗リン脂質抗体産生を ELISA 法により測定し、デフィブロチドナトリウムの抗原性について評価した。ラットの血清試料は、デフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、240、1200 及び 4800 mg/kg/日の用量で 9 週間持続静脈内投与した反復投与毒性試験（試験番号 1529-001、試料番号 4.2.3.2-3）より採取した。イヌの血清試料は、デフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、60、300 及び 1600 mg/kg/日の用量で 13 週間静脈内投与（1 日 4 回）した反復投与毒性試験（試験番号 1529-002、試料番号 4.2.3.2-6）より採取した。ラット及びイヌへのデフィブロチドナトリウムの反復投与により、抗デフィブロチド抗体、抗 Platelet Factor 4-ヘパリン複合体抗体及び抗リン脂質抗体は産生されなかったことから、デフィブロチドナトリウムは抗原性を示さないと判断した。

2.6.6.8.1.2 モルモットを用いた抗原性試験（試験番号 111035、資料番号 4.2.3.7.1-2、参考資料）

1 群雄各 6 例の Dunkin-Hartley モルモットにデフィブロチドナトリウムを 10 mg/kg/日（投与初週）及び 1 mg/kg/日（投与 2～8 週目）の用量で週 1 回、腹腔内、静脈内又は皮下投与により 8 週間反復投与し、能動的及び受動的皮膚アナフィラキシー反応性並びに全身性アナフィラキシー反応性を評価した。いずれの投与条件においてもアナフィラキシー症状は認められず、デフィブロチドナトリウムは抗原性を示さないと判断した。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

2.6.6.8.2.1 マウスを用いた免疫毒性試験（試験番号 10200、資料番号 4.2.3.7.2-1、参考資料）

1 群雄各 8 例以上の $CD2F_1$ マウスにデフィブロチドナトリウムを 0（無処置群並びに対照群）、10 及び 100 mg/kg/日の用量で 5 日間反復して経口又は腹腔内投与した後に 2 日間休薬する処置を 4 週間継続して実施した。これらマウスを用いて、T 細胞依存性抗体産生、マクロファージ依存性細胞障害及びリンパ球幼若化反応を評価した。

T 細胞依存性抗体産生

デフィブロチドナトリウムの投与終了 24 時間後、ヒツジ赤血球（SRBC）4×10^8 個を腹腔内投与した。SRBC 投与 5 日後、動物を安楽死処置し、脾臓内の抗 SRBC 溶血性抗体産生細胞数を局所溶血性試験により測定した。いずれのデフィブロチドナトリウム投与群においても、抗 SRBC 抗体産生脾細胞数に有意な変化はなかった。

マクロファージ依存性細胞障害

デフィブロチドナトリウムの投与終了 24 時間後 及び 7 日後に、腹腔マクロファージを単離・精製（>95%）した。^{3}H-チミジンで標識したマウス SV40 形質転換 mKSA-TU5 細胞（標的細胞）とともに、任意のエフェクター細胞/標的細胞（A/T）比で 48 又は 72 時間培養し、培養液中への ^{3}H-チミジンの遊離を指標にマクロファージの細胞障害性を評価した。

デフィブロチドナトリウムを経口投与終了 24 時間後にマクロファージを採取し、A/T 比 20/1 又は 40/1 で 48 時間もしくは A/T 比 20/1 で 72 時間培養したとき、無処置群、対照群及びデフィブロチドナトリウム投与群の間で ^{3}H-チミジン遊離量に有意な差は認められなかった。一方、A/T 比 40/1 で 72 時間培養したとき、無処置群に比べて 10 mg/kg/日投与群で、対照群に比べて 100 mg/kg/日投与群で ^{3}H-チミジン遊離量の軽度な低下が認められた。しかし、用量依存性はなく、またデフィブロチドナトリウムの経口投与終了 7 日後に採取したマクロファージを用いて A/T 比 40/1 で 72 時間培養した検討において ^{3}H-チミジン遊離量に差が認められなかったことから、本変化は毒性学的に意味のあるものではないと考えられた。

デフィブロチドナトリウムを腹腔内投与終了 24 時間後に採取したマクロファージにおいて、A/T 比 20/1 で 48 時間培養したときの 100 mg/kg/日投与群及び A/T 比 40/1 で 48 時間培養したときの 10 mg/kg/日投与群では、対照群と比べて ^{3}H-チミジン遊離量の軽度な低下が認められた。しかし、用量依存性及び両 A/T 比での再現性がなく、また、デフィブロチドナトリウムの腹腔内投与 7 日後に採取したマクロファージを用いた同様の検討において、^{3}H-チミジン遊離量に差が認められなかったことから、本変化についても毒性学的に意味のあるものではないと考えられた。

リンパ球幼若化反応

デフィブロチドナトリウム投与終了 24 時間後又は 7 日後に採取した脾細胞を各濃度の分裂促進因子［フィトヘマグルチニン（PHA）、コンカナバリン A（ConA）及びリポポリサッカライド（LPS）］に曝露し、リンパ球幼若化反応を評価した。

デフィブロチドナトリウム経口投与終了 24 時間後に採取したリンパ球においては、0～

0.5 μg/mL の PHA 曝露により、対照群及びデフィブロチドナトリウム群で ^{3}H-チミジン取り込み量に差は認められなかった。デフィブロチドナトリウムの 10 mg/kg/日投与群では、2.5 μg/mL の PHA 曝露により対照群に比べて ^{3}H-チミジンの取り込み量が有意に増加したが、100 mg/kg/日群ではこの影響は維持されなかった。

デフィブロチドナトリウム投与 7 日後に採取したリンパ球においては、対照群に比べデフィブロチドナトリウム投与群では、0.25 及び 0.5 μg/mL の PHA 曝露により ^{3}H-チミジンの取り込み量が増加したが、2.5 μg/mL の PHA 曝露では ^{3}H-チミジンの取り込み量に差は認められなかった。なお、0.25 及び 0.5 μg/mL の PHA 曝露時には、無処置群に比べて対照群では ^{3}H-チミジンの取り込み量が有意に減少していた。デフィブロチドナトリウムを腹腔内投与した動物から採取したリンパ球では、いずれの PHA 曝露量及びリンパ球採取時点についても、^{3}H-チミジンの取り込み量に差は認められなかった。

マウスにデフィブロチドナトリウムを経口又は腹腔内投与した動物から採取したリンパ球において、ConA（0～8 μg/mL）及び LPS（0～250 μg/mL）曝露による ^{3}H-チミジンの取り込み量に差は認められなかった。デフィブロチドナトリウム 10 mg/kg/日群では、ConA 非存在下において ^{3}H-チミジンの取り込み量が軽度に増加したが、用量依存性はなかった。

これらのことから、デフィブロチドナトリウムは PHA、ConA 及び LPS 曝露によりリンパ球幼若化反応へ影響を及ぼさないと判断した。

以上の結果より、デフィブロチドナトリウムはマウスの細胞性免疫及び液性免疫に影響を及ぼさず、免疫応答に対する毒性を示さないと判断した。

2.6.6.8.2.2 マウス及びヒト細胞を用いたナチュラルキラー細胞活性（試験番号 10189、資料番号 4.2.3.7.2-2、参考資料）

In vivo 試験

1 群雄各 6 例以上の CD2F$_1$ マウスにデフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、10 及び 100 mg/kg/日の用量で 5 日間反復して経口又は腹腔内投与した後、2 日間休薬する処置を 4 週間継続して実施した。この免疫処置マウスを投与終了 24 時間後又は 7 日後に安楽死処置し、採取した脾細胞を ^{51}Cr で標識したマウスリンパ腫細胞 YAC-1（標的細胞）とともに、4 及び 18 時間培養した。培養液中への ^{51}Cr 遊離量を指標にナチュラルキラー細胞（NK 細胞）活性を評価した。その結果、デフィブロチドナトリウムは YAC-1 に対する NK 細胞活性に影響を及ぼさなかった。

マウス細胞を用いた *in vitro* 試験

中等度 NK 細胞活性を有する CD2F$_1$ マウス由来脾細胞、及び高度 NK 細胞活性を有する C3H/HeN マウス由来脾細胞を用いた。各脾細胞を ^{51}Cr で標識した YAC-1（標的細胞）とともに培養し、デフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、0.1、1、10 及び 100 μg/mL（C3H/HeN マウス由来脾細胞に対しては、さらに 1000 μg/mL 処置を実施）の用量で 4 及び 18 時間処置した。培養液中への ^{51}Cr 遊離量を指標に NK 細胞活性を評価した。処置 4 及び 18 時間とも、いずれの用量のデフィブロチドナトリウムも YAC-1 に対する NK 細胞活性に影響を及ぼさなかった。

ヒト細胞を用いた *in vitro* 試験

健常人由来の末梢血から単離した白血球を ^{51}Cr で標識したヒト慢性骨髄性白血病細胞 K562（標的細胞）とともに培養した。デフィブロチドナトリウムを 0（対照群）、1、10、100 及び 1000 μg/mL の用量で 4 及び 18 時間処置した。培養液中への ^{51}Cr 遊離量を指標に NK 細胞活性を評価した。その結果、処置 4 及び 18 時間とも、いずれの用量のデフィブロチドナトリウムも K562 に対する NK 細胞活性に影響を及ぼさなかった。

以上の結果より、デフィブロチドナトリウムは NK 細胞活性に影響を及ぼさず、自然免疫機構に対する毒性を示さないと判断した。

2.6.6.8.3 毒性発現の機序に関する試験

該当試験なし。

2.6.6.8.4 依存性試験

該当試験なし。

2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験

該当試験なし。

2.6.6.8.6 不純物の毒性試験

該当試験なし。

2.6.6.8.7 その他の試験

該当試験なし。

2.6.6.9 考察及び結論

デフィブロチドナトリウムの VOD 治療薬としての開発に当たり、持続静脈内投与によるラット 13 週間反復投与毒性試験、臨床での投与方法（1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内）に準じたイヌ 13 週間反復投与毒性試験、胚・胎児発生に関する毒性試験、幼若動物を用いた毒性試験及び遺伝毒性試験を実施するとともに、がん原性、生殖発生毒性、抗原性及び免疫毒性について評価した。

2.6.6.9.1 急性毒性

急性毒性は反復投与毒性試験並びに生殖発生毒性の一部のデータを用いて評価した。ラット 13 週間反復投与毒性試験（持続静脈内）における評価では、デフィブロチドナトリウム投与に起因した死亡は認められず、概略の致死量は 4800 mg/kg/日超であった。イヌ 13 週間反復投与毒性試験（1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内）における評価では良好な忍容性が得られ、概略の致死量は 1600 mg/kg/日超であった。なお、ラット胚・胎児発生試験（1 日 1 回、静脈内）においては、概略

の致死量が 300 mg/kg/日であった。当試験では 150 mg/kg/日以上の投与群において投与直後に痙攣、意識消失、筋緊張低下、頻呼吸、嗜眠及び歩行不能が認められ、300 mg/kg/日では投与初日に死亡が認められた。

2.6.6.9.2 反復投与毒性

ラット（持続静脈内）及びイヌ（1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内）を用いた 13 週間反復投与毒性試験を実施した。ラットではカテーテルの長期留置による影響のため投与期間を 13 週間から 9 週間へ短縮した。腎臓での変化として、ラットでは 240 mg/kg/日以上の投与群で腎臓重量の増加並びに腎臓の尿細管の変性及び再生が、1200 mg/kg/日以上の投与群で尿細管上皮細胞の好塩基性顆粒、糸球体腎症並びにリンパ球ないしは組織球の浸潤が認められた。肝臓での変化として、ラットの 240 mg/kg/日以上の投与群及びイヌの 60 mg/kg/日以上の投与群で肝臓重量の増加が、イヌの 1600 mg/kg/日投与群で肝細胞の単細胞壊死が認められ、これに関連する病理組織学的所見ではクッパー細胞の肥大が好塩基性顆粒を伴っていた。ラットの尿細管上皮細胞並びにラット及びイヌのクッパー細胞で認められた好塩基性顆粒又は肥大は、デフィブロチドナトリウムの取り込みによる適応性変化であると考えられた。ラットの 240 mg/kg/日以上の投与群では投与部位で、1200 mg/kg/日以上の投与群では脾臓及びリンパ節でそれぞれマクロファージの空胞化が認められた。また、ラットの 1200 mg/kg/日以上の投与群で APTT 又は PT の延長が認められ、凝固・線溶系に影響するデフィブロチドナトリウムの薬理作用に起因した変化と考えられた。以上より、反復投与におけるデフィブロチドナトリウムの主要な毒性標的は腎臓、肝臓、脾臓、リンパ節及び凝固系であり、NOAEL はラット 13 週間試験で 240 mg/kg/日未満、イヌ 13 週間試験では雄で 300 mg/kg/日、雌で 1600 mg/kg/日と判断した。

GLP 施行前に行われたイヌ 26 週間反復投与毒性試験（1 日 1 回、静脈内）では行動異常（歩行失調、嗜眠及び運動失調）がいずれも一過性に認められた。本試験で観察された一般状態の変化（歩行失調、嗜眠及び運動失調）は、ラット胚・胎児発生試験（1 日 1 回、静脈内）の予備試験においても同質の変化が認められたことから、ボーラス投与時にのみ観察される変化であると考えられた。また、上記のイヌ 26 週間試験（1 日 1 回、静脈内）の投与用量はイヌ 13 週間試験（1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内）より低いが、ラット胚・胎児発生試験（1 日 1 回、静脈内）の予備試験ではこれらの一般状態の変化が死亡用量においても発現していた。以上のことから、イヌ 26 週間試験（1 日 1 回、静脈内）で認められた一般状態の変化は最大耐量と同程度の用量で観察される毒性であり、当該試験条件下では十分高い用量域まで評価できていると判断した。

なお、反復投与毒性試験の投与期間は ICH M3（医薬品の臨床試験のための非臨床安全性試験の実施時期についてのガイドライン及びその改正）で推奨されている期間より短いが、デフィブロチドナトリウムの影響として凝固系の異常、腎臓における尿細管の変性、糸球体腎症及び好塩基性顆粒、肝臓における好塩基性顆粒を伴うクッパー細胞の肥大、リンパ系組織におけるマクロファージの空胞化などの変化が認められた。また、投与経路は異なるが、後述するラットを用いた 2 年間混餌投与によるがん原性試験において、凝固系の異常及び各種器官（脳、脊髄、副腎）における出血ないしは鬱血が認められた。以上のことから、投与方法が異なるため投与期間の延長に

よる変化の推移は明確でないが、げっ歯類における本剤の長期投与による毒性プロファイルは明らかにされていると判断した。

ラット及びイヌでの曝露量とヒトでの曝露量を比較して安全域を推定した（表 2.6.6.9-1 参照）。ラットは持続静脈内投与、イヌは 1 日 4 回、2 時間かけての静脈内投与により実施した。薬物動態の評価（2.6.4.9 項参照）より、デフィブロチドナトリウムは検討したすべての動物種において、消失半減期は短く、蓄積しないことが明らかになっている。そのため、1 日目に 1 サイクル投与した際のデフィブロチドナトリウム曝露量（$AUC_{0\text{-}6hr}$）を基に安全域を比較した。国内第 II 相臨床試験（試験番号 FMU-DF-002、資料番号 5.3.5.2-1）において、VOD 患者にデフィブロチドナトリウム（25 mg/kg/日）を 1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内投与したときの投与初日の $AUC_{0\text{-}\infty}$は 66.0 μg·hr/mL であった。ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において同じ時間枠で得られた $AUC_{0\text{-}6hr}$ と比較したとき、安全係数はラットで雄 3.1 未満及び雌 4.2 未満、イヌで雌 9.4（雄は算出せず）と推定された。ラットの反復投与毒性試験では、240 mg/kg/日投与群において腎尿細管の変性及び再生が雄で、投与部位のマクロファージの空胞化が雌で認められ、イヌの反復投与毒性試験では、1600 mg/kg/日投与群において肝細胞の単細胞壊死が雄で認められた。しかし、いずれも軽微または軽度な変化であること、一般的にモニターが可能であることから、ヒトにおいて大きなリスクとはならないと考えられた。

表 2.6.6.9-1 ラット、イヌ及びヒトにおけるデフィブロチドナトリウムの曝露とその比

動物種	NOAEL（mg/kg/日）	NOAEL における初回投与時の $AUC_{0\text{-}6hr}$（μg·hr/mL）	安全係数
ラット[a]	雄：＜240 雌：＜240	雄：807/4 = 201.8 雌：1110/4 = 277.5	雄：3.1 未満 雌：4.2 未満
イヌ[b]	雄：300 雌：1600	雄：NC 雌：619	雄：NC 雌：9.4
ヒト[c]	25	66.0	NA

NC：算出せず、NA：該当せず

a：ラットを用いた持続静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-001、試料番号 4.2.3.2-3）。初回投与時の曝露量 $AUC_{0\text{-}24hr}$ を 4 で除し、$AUC_{0\text{-}6hr}$ を算出した。

b：イヌを用いた 2 時間静脈内投与による 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-002、試料番号 4.2.3.2-6）。91 日目の 4 回目投与時における曝露量 $AUC_{0\text{-}6hr}$ を示す。

c：VOD 患者を対象とした国内第 II 相試験（試験番号 FMU-DF-002、資料番号 5.3.5.2-1）の投与初日の $AUC_{0\text{-}\infty}$。$AUC_{0\text{-}\infty}$を $AUC_{0\text{-}6hr}$ として使用した。

2.6.6.9.3 遺伝毒性

遺伝毒性試験では、細菌を用いた復帰突然変異試験、哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験並びにマウス及びラットを用いた小核試験を実施した。いずれの試験においても、デフィブロチドナトリウムは遺伝子突然変異誘発性または染色体異常誘発性を示さなかったことから、デフィブロチドナトリウムは遺伝毒性を示さないと判断した。

2.6.6.9.4 がん原性

がん原性の評価については、1986 年にイタリアで深部静脈血栓症予防及び血栓性静脈炎の治療薬として承認された当時、マウス及びラットを用いた混餌投与によるがん原性試験が承認後に実

施されている。一方、VOD 治療薬としての開発に当たり、臨床での使用が 6 ヵ月以上継続されることはないと考えられること、並びに本剤は遺伝毒性試験で陰性を示し、反復投与毒性試験においても前がん病変が認められておらずがん原性の懸念が乏しいと考えられることから、「医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について」（平成 20 年 11 月 27 日付け薬食審査発第 1127001 号、ICH S1C（R2）ガイドライン）に基づくとがん原性試験は不要である。しかし、デフィブロチドナトリウムの長期反復投与時の一般毒性プロファイルを把握するためにマウス及びラットの 2 年間がん原性試験の結果は有用と判断し、本申請パッケージの一部に加えた。

マウス及びラットを用いて 2000 mg/kg/日までの用量でデフィブロチドナトリウムをおよそ 2 年間混餌投与した結果、がん原性を示す変化は認められなかった。ラットでは 2000 mg/kg/日投与群で痙攣、振戦及び副腎の鬱血が認められた。また、同投与群において PT の延長並びに脳出血及び脊髄出血の発現頻度の増加が認められ、凝固・線溶系に影響するデフィブロチドナトリウムの薬理作用との関連が示唆された。

2.6.6.9.5 生殖発生毒性

生殖発生毒性試験は、ラット及びウサギを用いて「胚・胎児発生に関する試験」を静脈内投与により実施した。「受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験」並びに「出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験」は筋肉内投与により評価した。本剤は移植前処置後の造血幹細胞移植に伴う VOD 治療剤であり、対象となる患者集団は、大量の化学療法剤や放射線照射などによる骨髄破壊的な移植前処置により精巣機能や卵巣機能がすでに大きな障害を受けていることが想定される。そのため、「受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験」及び「出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験」については、臨床投与経路（静脈内投与）での評価の必要性が高くないものと判断した。なお、筋肉内投与と静脈内投与での曝露量を比較した成績はないが、静脈内投与によるラット及びイヌ 13 週間反復投与毒性試験において、雌雄の生殖器官に影響がないことを確認している。

ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（1 日 1 回、筋肉内）では、12 mg/kg/日まで親動物の一般状態、体重及び生殖能に影響は認められず、NOAEL は 12 mg/kg/日と判断した。

胚・胎児発生予備試験（1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内）においては、ラットの 60 mg/kg/日以上の投与群で切迫流産及び安楽死処置、ウサギの 30 mg/kg/日以上の投与群で活動性低下及び死亡等、母動物に対する毒性が認められ、母動物の一般毒性に対する NOAEL はラットで 60 mg/kg/日未満、ウサギで 30 mg/kg/日未満と判断した。なお、計画剖検日に生存胎児を有する母動物数が限られていたため、胚・胎児発生に対するデフィブロチドナトリウムの評価はできなかったが、ラットの 120 mg/kg/日以上の投与群で吸収胚数の増加が、ウサギの 30 mg/kg/日投与群で臍帯ヘルニアが、30 及び 120 mg/kg/日投与群で矮小胎児の発現率の増加が認められた。

予備試験の結果を踏まえて実施したウサギ胚・胎児発生試験（1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内）では、器官形成期を 3 分割して投与期間を短縮し母動物への投与の影響を軽減した。催奇形性は認められなかったものの、80 mg/kg/日投与群で着床後死亡率の増加が認められ、胚･胎児発生に対する NOAEL は 80 mg/kg/日未満と判断した。ラットでは、予備試験の結果よりデフィブロチ

ドナトリウムを 1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内投与したとき、胚・胎児発生に対する毒性を有することが明らかであったことから、ラットを用いた胚・胎児発生試験の本試験は実施しなかった。

なお、ラット及びウサギに器官形成期を通して投与する試験（1 日 1 回、静脈内）も実施した。ラットでは体重の増加抑制が一過性に認められたものの、生殖能及び胚・胎児発生に対する作用は認められず、母動物の一般毒性に対する NOAEL は 10 mg/kg/日未満、生殖能及び胚・胎児発生に対する NOAEL は 90 mg/kg/日と判断した。ウサギでは 20 mg/kg/日以上の投与群で体重増加抑制が、80 mg/kg/日投与群で咀嚼運動、頻呼吸及び散瞳が認められ、母動物の一般毒性に対する NOAEL は 20 mg/kg/日未満、生殖能及び胚・胎児発生に対する NOAEL は 80 mg/kg/日と判断した。

以上の結果より、デフィブロチドナトリウムは母動物及び胚･胎児に対し毒性を有すると判断した。

ラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（1 日 1 回、筋肉内）では、12 mg/kg/日の投与量まで母動物、生殖能、胚・胎児発生及び出生児に対する影響は認められず、NOAEL はいずれも 12 mg/kg/日と判断した。

幼若ラット（21 日齢）を用いた 4 週間反復投与試験（1 日 1 回、静脈内）では、40 mg/kg/日以上の投与群で脾臓の腫脹、脾臓の胚中心（B 細胞領域）の過形成、肝臓の髄外造血の亢進及び網状赤血球数の増加が、320 mg/kg/日以上の投与群で小葉中心性肝細胞空胞化が認められたが、4 週間の回復期間中にいずれの変化も消失した。これらの所見は成熟動物で認められたものと類似しており、幼若ラットに特異的な新たな毒性所見は認められなかった。また、40 mg/kg/日以上の投与群で陰茎亀頭包皮分泌腺開裂時期の遅延が認められ、雄の性成熟の遅延が示唆された。なお、精巣下降は全群で正常に発現した。雄の性成熟遅延についての追加試験では、陰茎亀頭包皮分泌腺開裂の発現時期の遅延は認められなかったものの、上記試験で認められた陰茎亀頭包皮分泌腺開裂時期の遅延についてはデフィブロチドナトリウム投与との関連を否定できないものと考えられた。

2.6.6.9.6 局所刺激性

局所刺激性については、ラット 13 週間反復投与毒性試験（持続静脈内）及びイヌ 13 週間反復投与毒性試験（1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内投与）の一部として評価した。ラット及びイヌに共通して、投与部位で腫脹等の変化が認められたものの、投与操作に起因するものであり、デフィブロチドナトリウム投与に関連した変化ではないと考えられた。以上、デフィブロチドナトリウムは局所刺激性を示さないと判断した。

2.6.6.9.7 抗原性

抗原性試験は、ラット 13 週間反復投与毒性試験（持続静脈内）及びイヌ 13 週間反復投与毒性試験（1 日 4 回、各 2 時間かけて静脈内）で採取した血清試料、並びにモルモットを用いて実施した。デフィブロチドナトリウムの反復投与により抗体産生、能動的及び受動的皮膚アナフィラキシー反応、全身性アナフィラキシー反応は誘発されなかった。以上、デフィブロチドナトリウムは抗原性を示さないと判断した。

2.6.6.9.8 免疫毒性

免疫毒性試験は、マウス（*in vivo*）並びにマウス細胞及びヒト細胞（*in vitro*）を用いて実施した。T 細胞依存性抗体反応、マクロファージの細胞障害に対する影響、リンパ球反応、NK 細胞活性のいずれにも影響は認められなかった。以上、デフィブロチドナトリウムは免疫毒性を示さないと判断した。

2.6.6.9.9 結論

一連の毒性試験を通じ、デフィブロチドナトリウムはその投与により、凝固・線溶系に影響する薬理作用に関連した変化を示したほか、腎臓、肝臓、脾臓及びリンパ節が毒性標的組織と考えられた。また胚・胎児発生試験では母動物及び胚･胎児に対し毒性を示すことが確認された。

2.6.6.10 図表

図表は、本文中の適切な場所に記載した。

2.6.6.11 参考文献

1. Nunziata A, Mariani MF, Cascone M, Calvani AB, Pescador R. Increased plasma t-PA activity and urinary PGE_2 after repeated oral administration of defibrotide to the rat and the mouse. Thromb Res. 1991;64:279-84. ＜資料番号 4.3-20＞

2. Brain, Nervous system and special sense organs. In: Greaves P, editor. Histopathology of preclinical toxicity studies. 4th ed. London: Academic Press; 2012. p. 799-818. ＜資料番号 4.3-21＞

3. Jänisch W. Tumours of the central nervous system. In: Turusov VS, Mohr U, editors. Pathology of tumours in laboratory animals. volume 1-Tumours of the rat. 2nd ed. Lyon: International Agency; 1990. p. 677-98. ＜資料番号 4.3-22＞

4. Yoshimura S, Yamaguchi H, Konno K, Ohsawa N, S Noguchi, and A Chisaka. Observation of Preputial Separation is a Useful Tool for Evaluating Endocrine Active Chemicals. J Toxicol Pathol. 2005;18:141-57. ＜資料番号 4.3-23＞

5. Chen J, Ahn KC, Gee NA, Gee SJ, Hammock BD and Lasley BL. Antiandrogenic properties of parabens and other phenolic containing small molecules in personal care products. Toxicol Appl Pharmacol. 2007;221:278–84. ＜資料番号 4.3-24＞

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 2
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティスク試験の一覧表 6
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 7
2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧 8
2.6.7.5 単回投与毒性試験 14
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 15
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 19
2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験 37
2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験 41
2.6.7.10 がん原性試験 43
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 59
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 61
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 62
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 65
2.6.7.15 新生児を用いた試験 66
2.6.7.16 局所刺激試験 71
2.6.7.17 その他の毒性試験 72
2.6.7.18 参考文献 73

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

一覧表（1/4）

被験物質：defibrotide

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）	GLP適用	実施施設	試験番号	CTD記載箇所
反復投与毒性試験	ラット Crl:CD (SD)	持続静脈内投与	7 日間	4800	適	[redacted]（米国）	1529-004	4.2.3.2-1（参考資料）
	ラット Crl:CD (SD)	静脈内投与、1 日 1 回	4 週間	1～16 日目：0, 80, 160, 320 17～28 日目：0, 100, 200, 400	不適 [a]	[redacted]（イタリア）	654	4.2.3.2-2（参考資料）
	ラット Crl:CD (SD)	持続静脈内投与	13 週間 [b]	0, 240, 1200, 4800	適	[redacted]（米国）	1529-001	4.2.3.2-3（評価資料）
	ウサギ New Zealand White	6 時間かけて静脈内投与、1 日 1 回 [c]	17 日間 [d]	0, 900 [c]	適	[redacted]（イタリア）[e]	151-0-094-012	4.2.3.2-4（参考資料 [f]）
	イヌ Beagle	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回	7 日間	1600（400 mg/kg/回）	適	[redacted]（米国）	1529-003	4.2.3.2-5（参考資料）
	イヌ Beagle	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回	13 週間	0, 60, 300, 1600 (0, 15, 75, 400 mg/kg/回)	適	[redacted]（米国）	1529-002	4.2.3.2-6（評価資料）
	イヌ Beagle	静脈内投与、1 日 1 回	13 週間	0, 15, 45, 150	不適 [a]	[redacted]（イギリス）	15/75712	4.2.3.2-7（参考資料）
	イヌ Beagle	静脈内投与、1 日 1 回	26 週間	0, 15, 45, 150/135/150/165 [g]	不適 [a]	[redacted]（イタリア）	619	4.2.3.2-8（参考資料）

単回投与毒性試験及び局所刺激性試験は実施せず、反復投与毒性試験並びに生殖発生毒性試験の一部を用いて評価を行った。

a：GLP 施行前

b：カテーテル留置による一般状態悪化のため死亡又は瀕死期安楽死処置となったため、13 週間の試験期間を 9 週間（65 日間）に短縮し解剖した。

c：投与 1 日目のみ 1 分間かけて 0 及び 150 mg/kg/日の用量で静脈内投与した。

d：投与部位の状態悪化による一般状態悪化のため死亡又は瀕死期安楽死処置となったため、21 日間の試験期間を 17 日間に短縮し解剖した。

e：現在の [redacted]

f：1996 年以前にウシ及びブタ組織に由来する被験物質を用いて実施した試験のため、参考資料として扱う。

g：投与 0 日目（投与初回）の投与（150 mg/kg/日）直後に全ての動物で一般状態の悪化が認められたため、用量を 135 mg/kg/日に減量した。投与 3 日目以降は一般状態の変化が認められなかったため、14 日目に 150 mg/kg/日に増量し、さらに 21 日目には 165 mg/kg/日まで増量し、投与を継続した。

一覧表（2/4）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）	GLP適用	実施施設	試験番号	CTD記載箇所
遺伝毒性試験	ネズミチフス菌及び大腸菌	*in vitro*	－	312.5, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate	適	[redacted]（イタリア）	0245-2010	4.2.3.3.1-1（評価資料）
	チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞	*in vitro*	－	短時間処理（代謝活性化系非存在下、代謝活性化系存在下）、連続処理（20時間）：125, 250, 500 µg/mL	適	[redacted]（イタリア）	[redacted]0076	4.2.3.3.1-2（評価資料）
	マウス Swiss CD-1	腹腔内投与、1日1回	2日間	0, 250, 833, 2500	適	[redacted]（イタリア）[a]	094007-[redacted]-03784	4.2.3.3.2-1（参考資料[b]）
	ラット SD	静脈内投与、1日1回	2日間	0, 400, 800, 1600	適	[redacted]（イタリア）	[redacted]0077	4.2.3.3.2-2（評価資料）
がん原性試験	マウス Crl:CD-1 (SD)BR	混餌投与	M：650日間 F：730日間	0, 100, 400, 2000	適	[redacted]（イタリア）	253-094-024	4.2.3.4.1-1（参考資料[b]）
	ラット Crl:CD(SD)	混餌投与	732日間	0, 100, 400, 2000	適	[redacted]（イタリア）	237-094-021	4.2.3.4.1-2（参考資料[b]）
	マウス Crl:CD-1 (SD)BR	混餌投与	13週間	0, 100, 300, 1000, 2000	適	[redacted]（イタリア）[a]	239-094-022	4.2.3.4.3-1（参考資料[b]）
	ラット Crl:CD(SD)	混餌投与	52週間	0, 80, 400, 2000	適	[redacted]（イタリア）[a]	57-0-094-006	4.2.3.4.3-2（参考資料[b]）

M：雄、F：雌

a：現在の[redacted]

b：1996年以前にウシ及びブタ組織に由来する被験物質を用いて実施した試験のため、参考資料として扱う。

一覧表（3/4）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）	GLP 適用	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
生殖発生毒性試験	ラット CFY SD	筋肉内投与、1 日 1 回	M：交配前 63 日間 F：交配前 14 日間、交配期間、G0～14 又は G0～L21	0, 3, 6, 12	不適 [a]	[redacted]（イギリス）	16/76299	4.2.3.5.1-1（参考資料）
	ラット HSD:SD	持続静脈内投与	G6～15	0, 240, 1200、4800	不適	[redacted]（イタリア）	79820[redacted]	4.2.3.5.2-1（参考資料）
		2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回		60, 120, 240（15, 30, 60 mg/kg/回）				
	ラット CFY SD	静脈内投与、1 日 1 回	10 日間（非妊娠）	0, 75, 150, 300	不適 [a]	[redacted]（イギリス）	21/75822	4.2.3.5.2-2（参考資料）
			G6～15	0, 10, 30, 90				
	ウサギ New Zealand White	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回	G6～18	0, 30, 60, 120（0, 7.5, 15, 30 mg/kg/回）	不適	[redacted]（イタリア）	79840[redacted]	4.2.3.5.2-3（参考資料）
	ウサギ New Zealand White	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回	G6～10、G10～14、G14～18	0, 80（0, 20 mg/kg/回）	適	[redacted]（イタリア）	95800	4.2.3.5.2-4（評価資料）
	ウサギ New Zealand White	静脈内投与、1 日 1 回	13 日間（非妊娠）	0, 20, 80, 100, 160[b], 320[b]	不適 [a]	[redacted]（イギリス）	19/75687	4.2.3.5.2-5（参考資料）
			G6～18	0, 20, 40, 80				
	ラット CFY SD	筋肉内投与、1 日 1 回	G15～L21	0, 3, 6, 12	不適 [a]	[redacted]（イギリス）	17/75802	4.2.3.5.3-1（参考資料）
	幼若ラット HSD:SD	静脈内投与、1 日 1 回	4 週間	0, 40, 150, 320	適	[redacted]（イタリア）	82640	4.2.3.5.4-1（評価資料）
	幼若ラット HSD:SD	静脈内投与、1 日 1 回	4 週間	0, 320	適	[redacted]（イタリア）	85800	4.2.3.5.4-2（評価資料）

M：雄、F：雌、G：妊娠日齢、L：授乳日齢

a：GLP 施行前

b：160 及び 320 mg/kg/日群は 2 日目以降 100 mg/kg/日に変更。

一覧表（4/4）

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）	GLP適用	実施施設	試験番号	CTD記載箇所
その他の毒性試験－抗原性試験	ラット Crl:CD(SD)	持続静脈内投与	13 週間 [a]	0, 240, 1200, 4800	不適	Loyola University Medical Center（米国）	RB2010020[b]	4.2.3.7.1-1（参考資料）
	イヌ Beagle	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回	13 週間	0, 60, 300, 1600（0, 15, 75, 400 mg/kg/回）				
	モルモット Dunkin-Hartley	静脈内投与、腹腔内投与、皮下投与、週 1 回	8 週間	1 週目：10 2～8 週目：1	不適 [c]	[redacted]（スコットランド）	111035	4.2.3.7.1-2（参考資料）
その他の毒性試験－免疫毒性試験	マウス $CD2F_1$	腹腔内投与、経口投与	4 週間	0, 10, 100	不適	[redacted]（イタリア）	10200	4.2.3.7.2-1（参考資料）
	$CD2F_1$ マウス及び C3H/HeN マウス由来脾細胞	*in vitro*	4、18 時間	0, 0.1, 1, 10, 100, 1000 µg/mL	不適	[redacted]（イタリア）	10189	4.2.3.7.2-2（参考資料）
	健常人由来末梢白血球	*in vitro*	4、18 時間	0, 1, 10, 100, 1000 µg/mL				
	マウス $CD2F_1$	腹腔内投与、経口投与	4 週間	0, 10, 100				

a：カテーテル留置による一般状態悪化のため死亡又は瀕死期安楽死処置となったため、13 週間の試験期間を 9 週間（65 日間）に短縮し解剖した。

b：ラット 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-001、資料番号 4.2.3.2-3）及びイヌ 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-002、資料番号 4.2.3.2-6）で採取した血清試料を使用した。

c：GLP 施行前

2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティスク試験の一覧表

トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：defibrotide

試験の種類	試験系	投与方法	投与量（mg/kg/日）	GLP 適用	試験番号	CTD 記載箇所
ラット 7 日間反復投与毒性試験	ラット Crl:CD (SD)	持続静脈内投与	4800	適	1529-004	4.2.3.2-1（参考資料）
ラット 13 週間反復投与毒性試験 [a]	ラット Crl:CD (SD)	持続静脈内投与	240, 1200, 4800	適	1529-001	4.2.3.2-3（評価資料）
イヌ 7 日間反復投与毒性試験	イヌ Beagle	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回	1600 (400 mg/kg/回)	適	1529-003	4.2.3.2-5（参考資料）
イヌ 13 週間反復投与毒性試験	イヌ Beagle	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回	60, 300, 1600 (15, 75, 400 mg/kg/回)	適	1529-002	4.2.3.2-6（評価資料）
ウサギ胚・胎児発生試験	妊娠ウサギ New Zealand White	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回	80 (20 mg/kg/回)	適	95800	4.2.3.5.2-4（評価資料）
幼若ラット 4 週間反復投与毒性試験	幼若ラット HSD:SD	静脈内投与、1 日 1 回	40, 150, 320	適	82640	4.2.3.5.4-1（評価資料）

a：カテーテル留置による一般状態悪化のため死亡又は瀕死期安楽死処置となったため、13 週間の試験期間を 9 週間（65 日間）に短縮し解剖した。

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

ラット、イヌ及びヒトにおけるデフィブロチドの AUC（μg·hr/mL）

被験物質：defibrotide

動物種		ラット[a]		イヌ[b]		幼若ラット[c]		ヒト[d]
投与方法		持続静脈内投与		2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回		静脈内投与、1 日 1 回		2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回
測定日（初回投与日からの日数）		1		91		28		1
測定例数		M: 3	F: 3	M: 4	F: 4	M: 3	F: 3	17 (15)
投与量 (mg/kg/日)	25							41.8 (66.0)
	40					151	127	
	60			NC	NC			
	150					625	562	
	240	807	1110					
	300			NC	522			
	320					1857	1562	
	1200	4430	5100					
	1600			774	619			
	4800	23300	30100					

ラット 7 日間反復投与毒性試験（試験番号 1529-004、資料番号 4.2.3.2-1）、イヌ 7 日間反復投与毒性試験（試験番号 1529-003、資料番号 4.2.3.2-5）及びウサギ胚・胎児発生試験（試験番号 95800、資料番号 4.2.3.5.2-4）については、血漿中デフィブロチド濃度は測定したが AUC は算出しなかった。

M：雄、F：雌、NC：算出せず

a：ラット 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-001、資料番号 4.2.3.2-3）：$AUC_{0\text{-}24hr}$

b：イヌ 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-002、資料番号 4.2.3.2-6）：91 日目の 4 回目投与時における $AUC_{0\text{-}6hr}$

c：幼若ラット 4 週間反復投与毒性試験（試験番号 82640、資料番号 4.2.3.5.4-1）：$AUC_{0\text{-}\infty}$

d：VOD 患者を対象とした国内第 II 相臨床試験（試験番号 FMU-DF-002、資料番号 5.3.5.2-1）：1 日目の初回投与時における $AUC_{0\text{-}3hr}$。(　)内は $AUC_{0\text{-}\infty}$。

2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧

使用ロット（1/6）

被験物質：defibrotide

バッチ番号	定量値（%）	規格設定された不純物	規格値	試験番号	試験の種類
申請規格[a] （原薬）	[redacted]	[redacted] その他の類縁物質（最大） [redacted]及びその他の類縁物質の合計 [redacted] [redacted] 水分 [redacted] [redacted] 重金属 [redacted] [redacted] [redacted]	[redacted]%以下 [redacted]%以下 [redacted]%以下 [redacted]%以下 [redacted]%以下 [redacted]%以下 [redacted]ppm 以下 [redacted]%以下 [redacted]ppm 以下 [redacted]%以下 [redacted]%以下 [redacted]%以下		
申請規格[b] （製剤）	[redacted]	[redacted] その他の類縁物質（最大） [redacted]及びその他の類縁物質の合計 [redacted]	[redacted]mg/mL 以下 [redacted] mg/mL 以下 [redacted] mg/mL 以下 [redacted] mg/mL 以下		

a：原薬規格の詳細はモジュール 3.2.S.4.4「ロット分析」に記載。
b：製剤規格の詳細はモジュール 3.2.P.5.4「ロット分析」に記載。

使用ロット（2/6）

バッチ番号	定量値（%）	規格設定された不純物	実測値	試験番号	試験の種類
DVD007	[redacted]	[redacted] [redacted] メチルパラベン プロピルパラベン	[redacted]mg/mL [redacted]mg/mL [redacted]mg/mL [redacted]mg/mL	1529-004 1529-003	ラット 7 日間反復投与毒性試験 イヌ 7 日間反復投与毒性試験
2070010005	[redacted]	[redacted] [redacted] メチルパラベン プロピルパラベン	[redacted]mg/mL [redacted]mg/mL [redacted]mg/mL [redacted] mg/mL	1529-001	ラット 13 週間反復投与毒性試験
2070020006	[redacted]	[redacted] [redacted] メチルパラベン プロピルパラベン	[redacted]mg/mL [redacted] mg/mL [redacted]mg/mL [redacted]mg/mL	1529-001 1529-002	ラット 13 週間反復投与毒性試験 イヌ 13 週間反復投与毒性試験
222	[redacted]	[redacted] [redacted] メチルパラベン プロピルパラベン	[redacted] mg/[redacted]mL [redacted]mg/[redacted]mL [redacted] mg/[redacted] mL [redacted] mg/[redacted]mL	151-0-094-012	ウサギ 17 日間反復投与毒性試験
1070010073	[redacted]	[redacted] その他の類縁物質（最大） [redacted]及びその他の類縁物質の合計 [redacted] [redacted] [redacted] [redacted] 重金属 [redacted] [redacted] [redacted]	[redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted] ppm [redacted]% [redacted] ppm [redacted]% [redacted]% [redacted]%	0245-2010	細菌を用いる復帰突然変異試験

使用ロット（3/6）

バッチ番号	定量値（%）	規格設定された不純物	実測値	試験番号	試験の種類
1130030096	[redacted]	[redacted] その他の類縁物質（最大） [redacted]及びその他の類縁物質の合計 [redacted] [redacted] 水分 [redacted] [redacted] 重金属 [redacted] [redacted] [redacted]	[redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted] ppm [redacted]% [redacted] ppm [redacted]% [redacted]% [redacted]%	[redacted]0076 [redacted]0077	哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験 ラット骨髄細胞を用いる小核試験
1/GB	[redacted]	[redacted] [redacted]	[redacted] mg/[redacted] mL [redacted] mg/[redacted] mL	094007-[redacted]-03784	マウス骨髄細胞を用いる小核試験
16065	[redacted] [redacted]	[redacted] [redacted] [redacted] [redacted] [a] [redacted] 重金属	[redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted] ppm	253-094-024 237-094-021 239-094-022	マウス 2 年間がん原性試験 ラット 2 年間がん原性試験 マウス 13 週間反復投与毒性試験（がん原性予備試験）
16162	[redacted] [redacted]	[redacted] [redacted] [redacted] [redacted] [a] [redacted] 重金属	[redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted] ppm	253-094-024 237-094-021	マウス 2 年間がん原性試験 ラット 2 年間がん原性試験

[redacted]

a：[redacted]の一部として検出されたと推定される。

使用ロット（4/6）

バッチ番号	定量値（%）	規格設定された不純物	実測値	試験番号	試験の種類
167	[redacted]	[redacted] [redacted] [redacted] [redacted] a [redacted] 重金属	[redacted]% [redacted] [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted] ppm	253-094-024	マウス 2 年間がん原性試験
157	[redacted] [redacted]	[redacted] [redacted] [redacted] [redacted] a [redacted] 重金属	[redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted] ppm	237-094-021 239-094-022	ラット 2 年間がん原性試験 マウス 13 週間反復投与毒性試験（がん原性予備試験）
P0.064/P	[redacted]	[redacted] [redacted] [redacted] [redacted] a 重金属	[redacted]% [redacted] [redacted]% [redacted] [redacted] ppm	57-0-094-006	ラット 52 週間反復投与毒性試験（がん原性予備試験）
P0.064/Q	[redacted]	[redacted] [redacted] [redacted] [redacted] a 重金属	[redacted]% [redacted] [redacted]% [redacted]% [redacted]	57-0-094-006	ラット 52 週間反復投与毒性試験（がん原性予備試験）

[redacted]

a : [redacted]の一部として検出されたと推定される。

使用ロット（5/6）

バッチ番号	定量値（%）	規格設定された不純物	実測値	試験番号	試験の種類
10018	[redacted]	[redacted] [redacted] [redacted] [redacted] a 重金属	[redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted] [redacted] ppm	57-0-094-006	ラット 52 週間反復投与毒性試験（がん原性予備試験）
25	[redacted]	[redacted] [redacted] [redacted] [redacted] a 重金属	[redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted] ppm	57-0-094-006	ラット 52 週間反復投与毒性試験（がん原性予備試験）
17	[redacted]	[redacted] [redacted] [redacted] [redacted] a 重金属	[redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted]% [redacted] ppm	57-0-094-006	ラット 52 週間反復投与毒性試験（がん原性予備試験）
28	[redacted]	[redacted] [redacted] [redacted] [redacted] a 重金属	[redacted]% [redacted] [redacted] [redacted]% [redacted] ppm	57-0-094-006	ラット 52 週間反復投与毒性試験（がん原性予備試験）
2080010002	[redacted]	[redacted] [redacted] メチルパラベン プロピルパラベン	[redacted] mg/mL [redacted]mg/mL [redacted] mg/mL [redacted] mg/mL	82640	幼若ラットを用いた毒性試験（1）

n.d.：not detected（検出せず）

a：[redacted]の一部として検出されたと推定される。

使用ロット（6/6）

バッチ番号	定量値（%）	規格設定された不純物	実測値	試験番号	試験の種類
12G01	[redacted]	[redacted] その他の類縁物質（最大） [redacted]及びその他の類縁物質の合計 [redacted]	[redacted]mg/mL [redacted]mg/mL [redacted] mg/mL [redacted] mg/mL	95800	ウサギ胚・胎児発生試験
10G02	[redacted]	[redacted] その他の類縁物質（最大） [redacted]及びその他の類縁物質の合計 [redacted]	[redacted] mg/mL [redacted] mg/mL [redacted] mg/mL [redacted]mg/mL	85800	幼若ラットを用いた毒性試験（2）

a：[redacted]の一部として検出されたと推定される。

2.6.7.5　単回投与毒性試験

被験物質：defibrotide

動物種/系統	投与方法(溶媒/投与形態)	投与量(mg/kg/日)	性別及び一群の動物数	最大非致死量（mg/kg/日）	概略の致死量（mg/kg/日）	特記すべき所見	試験番号(CTD 記載箇所)
ラット Crl:CD(SD)	持続静脈内投与（生理食塩液／外科的に留置した大腿静脈カテーテルを介する）	0, 240, 1200, 4800	M:15, F:15	4800	＞4800	特記すべき所見なし	1529-001（4.2.3.2-3、評価資料）
ラット CFY SD	静脈内投与、1 日 1 回（生理食塩液）	0, 75, 150, 300	F:6	150	300	≧150：痙攣、意識消失、筋緊張低下、頻呼吸、嗜眠、歩行不能 300：死亡	21/75822（4.2.3.5.2-2、参考資料）
イヌ Beagle	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回（6 時間ごと）（生理食塩液／外科的に留置した大腿静脈カテーテルを介する）	0, 60, 300, 1600（0, 15, 75, 400 mg/kg 回）	M:4, F:4	1600（400 mg/kg/回）	＞1600（＞400 mg/kg/回）	特記すべき所見なし	1529-002（4.2.3.2-6、評価資料）

M：雄、F：雌

単回投与毒性試験は実施せず、反復投与毒性試験並びに生殖発生毒性試験の一部を用いて評価を行った。

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

重要な試験以外の試験（1/4）

被験物質：defibrotide

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び一群の動物数	無毒性量（mg/kg/日）	特記すべき所見	試験番号（CTD 記載箇所）
ラット Crl:CD(SD)	静脈内投与、1 日 1 回（生理食塩液）	4 週間	0/0[a], 80/100[a], 160/200[a], 320/400[a]	M:10, F:10	＜80/100	≧80/100：赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットの減少、白血球数及び血清クロールの増加、血小板数の減少、肝臓重量の減少、脾臓重量の増加 320/400：体重増加抑制、摂餌量の減少	654（4.2.3.2-2、参考資料）
イヌ Beagle	静脈内投与、1 日 1 回（生理食塩液）	13 週間	0, 15, 45, 150	M:3, F:3	15	≧45：失禁、脱糞、肛門腺からの分泌物、流涎、クンクン鳴く、苦悶、頭部反転動作、挙尾、舌の伸張、顎の震え、不穏、浅速呼吸、咳、舌舐めずり、筋振戦、ふらつき、虚脱、歯肉蒼白 150：嘔吐、投与部位周囲の皮下組織への組織球浸潤を伴う黄色物質の蓄積	15/75712（4.2.3.2-7、参考資料）
イヌ Beagle	静脈内投与、1 日 1 回（生理食塩液）	26 週間	0, 15, 45, 150/135/150/165[b]	M:3, F:3	45	≧45：体重の増加抑制 150/135/150/165：歩行失調、嗜眠、運動失調、ALT の増加、カリウムの減少	619（4.2.3.2-8、参考資料）

M：雄、F：雌

a：投与量は、「1～16 日目/17～28 日目」で示す。

b：投与 0 日目（投与初回）の投与（150 mg/kg/日）直後に全ての動物で一般状態の悪化が認められたため、用量を 135 mg/kg/日に減量した。投与 3 日目以降は一般状態の変化が認められなかったため、14 日目に 150 mg/kg/日に増量し、さらに 21 日目には 165 mg/kg/日まで増量し、投与を継続した。

重要な試験以外の試験（2/4）

報告書の題名：A 7-day continuous intravenous infusion tolerability study in rats

被験物質：defibrotide

動物種/系統：	ラット/Crl:CD(SD)	投与期間：	7 日間	試験番号：	1529-004
投与開始週齢：	13 週齢	休薬期間：	なし	CTD における記載箇所：	4.2.3.2-1
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	投与方法：	持続静脈内投与	GLP 適用：	適
特記事項：	なし	溶媒/投与形態：	生理食塩液		
無毒性量：	4800 mg/kg/日未満				

投与量（mg/kg/日）	4800
動物数	M: 5
トキシコキネティクス [a]	
血漿中濃度（μg/mL）	
1 日目　投与開始 24 時間後	787, 974, 995
7 日目　投与終了直前	654, 1110, 742
死亡又は瀕死期安楽死動物数	0
体重（g）　8 日目	388.2
摂餌量（g/日）　8 日目	26.2
一般状態	
粗毛	1
病理解剖学的検査	
投与部位の腫脹　軽度	1
腎臓の黄褐色巣　中等度	1
脾臓の大型化　軽度	1
中等度	1

M：雄
a：3 例の血漿中デフィブロチド濃度を示す。

重要な試験以外の試験（3/4）

報告書の題名：Defibrotide 17 day intravenous perfusion study in rabbits

被験物質：defibrotide

動物種/系統：	ウサギ/New Zealand White	投与期間：	17 日間	試験番号：	151-0-094-012
投与開始週齢：	64～80 日齢	休薬期間：	なし	CTD における記載箇所：	4.2.3.2-4
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	投与方法：	6 時間かけて静脈内投与、1 日 1 回	GLP 適用：	適

溶媒/投与形態：　クエン酸ナトリウム＋塩化ナトリウム＋ニパジン＋ニパソール＋蒸留水

特記事項：　試験計画時の投与期間は 21 日間であったが、対照群を含む全ての投与群において投与部位の状態悪化に関連して死亡又は瀕死期安楽死処置となる動物が複数認められたため、17 日間で投与を中止し、全生存動物を解剖した。
投与 1 日目のみ 1 分間かけて 0 及び 150 mg/kg/日の用量で静脈内投与した。

無毒性量：　900 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		900	
動物数	M: 8	F: 8	M: 8	F: 8
死亡又は瀕死期安楽死処置動物数	3	3	5	2
体重（g）　17 日目	2738	2885	2673	2869
摂餌量（g/日）　17 日目	117.6	152.7	146.5	154.1
一般状態：投与部位				
擦過傷	6	8	5	4
赤色化	2	5	6	4
眼科学的検査	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－
血液生化学的検査　投与 3 週目				
α1-グロブリン	5.3	5.5	5.9	6.1*
β グロブリン	6.5	6.5	8.7*	7.6*
器官重量	－	－	－	－
病理解剖学的検査	－	－	－	－
病理組織学的検査	－	－	－	－

M：雄、F：雌、－：特記すべき所見なし
*：$p<0.02$（Mann/Whitney u-test, two-sided）

重要な試験以外の試験（4/4）

報告書の題名：A 7-day (four times daily for 2 hours) intravenous infusion tolerability study in dogs

被験物質：defibrotide

動物種/系統：　イヌ/Beagle
投与開始週齢：　5～6 ヵ月齢
初回投与年月日：　[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日

投与期間：　7 日間
休薬期間：　なし
投与方法：　2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回（6 時間ごと）
溶媒/投与形態：　生理食塩液

試験番号：　1529-003
CTD における記載箇所：　4.2.3.2-5
GLP 適用：　適

特記事項：　なし
無毒性量：　1600 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）	1600
動物数	M: 3
トキシコキネティクス [a]	
投与終了直後の血漿中濃度	
1 日目	437, 291, 395
7 日目	285, 355, 462
C_{max}（μg/mL）	
1 日目：1 回目投与後	510, 443, 503
1 日目：4 回目投与後	437, 291, 395
7 日目：1 回目投与後	444, 367, 471
7 日目：4 回目投与後	285, 355, 462
死亡又は瀕死期安楽死動物数	0
体重（kg）　8 日目	8.963
摂餌量（g/日）　8 日目	374.0
一般状態	－
病理解剖学的検査	－

M：雄、－：特記すべき所見なし
a：3 例の血漿中デフィブロチド濃度を示す。

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1　　反復投与毒性試験（ラット 13 週間反復持続静脈内投与毒性試験）

報告書の題名：A 13-week intravenous infusion toxicity study of defibrotide in rats

被験物質：defibrotide

動物種/系統：	ラット/Crl:CD(SD)	投与期間：	9 週間	試験番号：	1529-001
投与開始週齢：	10 週齢	休薬期間：	なし	CTD における記載箇所：	4.2.3.2-3
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	投与方法：	持続静脈内投与	GLP 適用：	適
		溶媒/投与形態：	生理食塩液		

特記事項：　カテーテルの長期留置による影響のため対照群を含む全投与群において死亡又は瀕死期安楽死処置となる動物が複数認められたため、9 週で投与を中止し、TK 測定のための血液採取後に全生存動物を解剖した。

無毒性量：　240 mg/kg/日未満

（1/13）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		240		1200		4800	
動物数	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
トキシコキネティクス[a]								
1 日目								
$AUC_{0\text{-}24hr}$（μg·hr/mL）	/	/	807	1110	4430	5100	23300	30100
C_{max}（μg/mL）	/	/	51.8	71.4	267	394	1670	2310
T_{max}（hr）	/	/	24.0	24.0	24.0	24.0	24.0	24.0
65日目								
投与終了直前の血漿中濃度（μg/mL）	0.0	21.7	69.4	47.3	97.2	57.4	1790	1920
死亡又は瀕死期安楽死動物数	2	2	13	14	10	5	9	5
体重（g）　投与 6 週	464.7	305.0	428.9	300.4	407.3*	282.8*	420.2	282.1*
投与 9 週	480.2	320.2	525.0	314.0	405.6*	298.6	460.0	287.6**
摂餌量（g/日）　投与 9 週	29.02	22.09	20.13*	18.54	18.29**	20.48	27.19	19.29

M：雄、F：雌、/：データなし又は評価せず

*：$p<0.05$、**：$p<0.01$（Levene／ANOVA-Dunnett／Welch 検定）

a：3 例の平均値。トキシコキネティクス測定のため、対照群及びデフィブロチドナトリウム投与群で雌雄各 3 例の血漿中デフィブロチド濃度を測定した。

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		240		1200		4800	
動物数	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
一般状態								
爪の消失	0	0	0	2	0	1	0	0
歯の欠損、消失	0	0	0	0	0	1	0	0
活動性低下	1	1	9	1	11	3	7	6
多飲	0	0	0	0	0	0	1	0
虚脱	0	0	0	1	3	0	1	0
正向反射の消失	0	0	0	0	1	0	0	0
振戦	0	1	0	0	0	0	0	0
粘液便	0	0	0	0	0	0	2	0
軟便	1	0	0	0	2	0	3	2
水様便	0	0	0	0	0	0	2	0
ケージ又は床敷における赤色物質	0	0	0	1	0	0	3	0
多尿	0	0	0	0	0	0	0	1
尿変色（赤色／褐色／白色／黄色）	0	0	0	0	1	1	3	0
投与部位の漏出液	4	3	0	0	2	1	0	1
陰茎からの分泌物（黄色／白色／赤色）	0	0	2	0	3	0	1	0
切開部位／四肢からの分泌物（黄色／白色／赤色／透明）	2	1	1	1	2	1	5	4
眼球からの分泌物（透明）	0	0	0	0	0	0	1	0
唇／口からの分泌物（赤色）	0	0	0	0	1	0	1	0
四肢の機能障害、喪失	1	0	6	3	6	6	5	3
眼、鼻、口周囲の赤色/褐色/黒色物質	3	6	8	7	11	4	9	5
陰茎突出	0	0	1	0	1	0	0	0
円背位	0	0	4	0	3	2	6	3
外表の腫脹	10	7	11	12	12	10	12	9
削痩	0	0	1	1	2	1	2	2
眼球混濁	1	0	0	0	0	1	1	1
眼の変色（暗色／白色）	0	0	0	0	0	2	2	0
眼球退色	0	0	0	0	0	0	2	0
眼球突出	4	3	0	0	0	1	2	1
小型眼球	0	0	0	0	0	0	1	0
閉眼	0	0	0	0	0	0	1	0

M：雄、F：雌

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		240		1200		4800	
動物数	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
一般状態								
擦過傷	12	9	11	7	9	6	12	5
浮腫	0	0	1	1	0	0	0	0
発赤	1	0	0	0	1	0	0	1
被毛の変色（褐色／赤色／黄色）	0	0	0	0	1	1	2	2
被毛光沢消失	3	3	3	3	2	5	1	6
裂傷	0	2	2	1	2	4	4	2
結節	1	0	0	1	0	1	0	0
痂皮	12	14	14	13	14	15	13	13
冷感	0	0	0	1	3	1	2	2
皮膚変色（黒色/青色/褐色/白色/蒼白）	0	1	1	0	3	2	5	3
皮膚変色（赤色）	5	0	0	0	0	2	1	0
熱感	1	1	0	1	1	1	0	0
粗毛	1	0	8	0	10	0	6	1
呼吸困難	0	0	1	0	0	0	0	1
浅速呼吸	0	0	1	0	3	0	0	0
外科処置部位の離開	2	1	0	0	0	2	0	0
眼科学的検査[a] 投与前	―	―	―	―	―	―	-	-
血液学的検査[b]								
検査動物数								
5週目	10	13	12	9	14	13	11	14
終了時	16	17	12	9	13	16	13	15
白血球数（$10^3/\mu L$）								
5週目	16.10	11.37	24.42**	18.82**	24.39**	16.88**	44.07**	39.33**
終了時	18.73	12.10	―	―	―	18.49**	32.25**	20.93**
赤血球数（$10^6/\mu L$）								
5週目	7.353	7.424	―	5.898**	―	―	5.914*	6.035**
終了時	7.754	7.366	―	―	5.806**	5.522**	6.459**	5.307**

M：雄、F：雌、－：特記すべき所見なし

*：$p<0.05$、**：$p<0.01$（白血球数及び白血球分画：対数変換／群間対比較、それ以外：Levene／ANOVA-Dunnett／Welch 検定）

a：眼科学的検査では、試験を早期に中止したため投与前のみ検査を実施した。

b：投与終了時の検査では、主群及びトキシコキネティクス試験用動物の全ての生存動物を対象に測定した。

投与量（mg/kg/日）		0（対照）		240		1200		4800	
動物数		M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
ヘモグロビン（g/dL）									
	5週目	14.00	14.48	—	11.39**	—	—	11.37*	11.93**
	終了時	13.69	13.99	—		10.03**	10.39**	11.41**	10.12**
ヘマトクリット（%）									
	5週目	48.53	49.07	—	39.16**	41.39*	42.02*	37.53**	38.92**
	終了時	44.22	44.33	—	—	34.40**	34.30**	37.82*	31.99**
MCV（fL）									
	5週目	65.93	66.11	—	—	60.47**	—	—	—
	終了時	57.09	60.29	—	—	—	—	—	—
MCHC（g/dL）					—				
	5週目	28.90	29.54	—	—	31.23**	32.35**	—	—
	終了時	30.99	31.58	—	—	29.01**	30.04*	—	—
網状赤血球数（10^3/μL）									
	5週目	243.28	188.92	—	316.39*	—	—	—	300.79*
	終了時	214.86	169.14	—	—	457.28**	363.88*	—	—
網状赤血球割合（%）									
	5週目	3.44	2.55	—	—	—	—	—	—
	終了時	2.78	2.36	—	—	9.09**	7.89**	—	—
好中球数（10^3/μL）									
	5週目	4.687	3.105	—	8.130**	—	—	12.997**	9.293**
	終了時	6.293	2.994	—	—	10.686*	5.907*	—	4.818*
桿状好中球数（10^3/μL）[a]									
	5週目	NA	NA	0.00	NA	0.00	NA	0.00	0.00
	終了時	NA	NA	0.00	NA	1.82	0.00	0.98	0.00
リンパ球数（10^3/μL）									
	5週目	10.767	7.808	15.284*	—	14.911*	11.244**	28.551**	27.538**
	終了時	11.299	8.359	—	—	—	11.313*	22.156**	14.663**
単球数（10^3/μL）									
	5週目	0.389	0.219	—	0.801**	1.005*	0.655*	1.671**	1.705**
	終了時	0.608	0.374	—	—	—	—	—	0.835**

M：雄、F：雌、－：特記すべき所見なし、NA：データなし、MCV：平均赤血球容積、MCHC：平均赤血球ヘモグロビン濃度

*：$p<0.05$、**：$p<0.01$（白血球分画：対数変換／群間対比較、それ以外：Levene／ANOVA-Dunnett／Welch 検定）

a：対照群は測定せず。デフィブロチドナトリウム投与群は生存動物 1 例の個体もしくは 2～4 例の平均値を示し、有意差検定は実施しなかった。

投与量（mg/kg/日）		0（対照）		240		1200		4800	
動物数		M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
好酸球数（$10^3/\mu L$）									
	5 週目	0.108	0.108	—	—	—	—	—	—
	終了時	0.136	0.132	—	—	—	0.058*	0.283*	—
好塩基球数（$10^3/\mu L$）									
	5 週目	0.061	0.038	—	—	—	0.064*	0.282**	0.238**
	終了時	0.101	0.065	—	—	—	—	0.259**	—
凝固検査 [a]									
検査動物数									
	5 週目	5	7	7	4	13	11	8	14
	終了時	16	17	11	9	13	16	12	15
APTT（sec）									
	5週目	18.84	16.83	—	—	34.39*	—	63.04**	67.19**
	終了時	18.29	18.51	—	—	—	—	30.06**	—
PT（sec）									
	5週目	15.66	15.20	—	—	—	—	18.28**	17.99**
	終了時	16.28	15.16	—	—	—	15.99*	—	—
フィブリノーゲン（mg/dL）									
	5週目	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	終了時	471.8	344.8	—	—	607.5*	483.2**	—	456.9*
血液生化学的検査[a]									
検査動物数									
	5週目	14	15	12	9	14	13	11	14
	終了時	16	17	11	9	13	16	12	15
ナトリウム（mEq/L）									
	5週目	146.9	144.7	144.8**	—	—	—	—	—
	終了時	144.8	142.0	—	—	—	—	—	—
カリウム（mEq/L）									
	5週目	6.49	5.89	—	—	—	—	5.75**	5.08*
	終了時	7.04	7.85	—	—	—	6.56**	—	6.07**

M：雄、F：雌、—：特記すべき所見なし、NA：データなし、APTT：活性化部分トロンボプラスチン時間、PT：プロトロンビン時間

*：$p<0.05$、**：$p<0.01$（Levene／ANOVA-Dunnett／Welch 検定）

a：投与終了時の検査では、主群及びトキシコキネティクス試験用動物の全ての生存動物を対象に測定した。

（6/13）

投与量（mg/kg/日）		0（対照）		240		1200		4800	
動物数		M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
クロール（mEq/L）									
	5 週目	104.2	104.3	－	－	100.5**	101.2**	99.7**	97.6**
	終了時	101.4	100.8	－	－	－	－	－	－
カルシウム（mg/dL）									
	5 週目	10.21	10.37	9.70*	－	－	－	11.11**	↑11.56**
	終了時	10.16	10.91	－	－	－	－	－	－
リン（mg/dL）									
	5 週目	13.39	10.11	10.91**	－	9.86**	－	9.04**	－
	終了時	9.28	8.67	－	－	10.72*	－	－	－
ALP（U/L）									
	5 週目	174.3	104.5	－	183.7*	－	－	－	－
	終了時	130.8	75.9	－	－	－	－	－	－
総ビリルビン（mg/dL）									
	5 週目	0.19	0.17	－	－	－	－	－	0.24*
	終了時	0.14	0.14	－	－	－	－	－	－
GGT（U/L）									
	5週目	1.0	1.1	－	－	－	－	－	－
	終了時	1.1	1.1	－	－	－	1.6*	－	－
ALT（U/L）									
	5週目	44.4	53.3	－	－	－	70.4	－	88.2
	終了時	43.4	40.5	－	－	－	－	－	54.0
アミラーゼ（U/L）									
	5週目	368.0	305.3	－	－	－	－	－	－
	終了時	289.3	286.4	－	－	－	－	601.7**	417.6**
尿素窒素（mg/dL）									
	5週目	18.3	20.7	24.3*	－	－	－	－	－
	終了時	16.5	16.8	－	－	40.5**	－	－	－
クレアチニン（mg/dL）									
	5週目	0.44	0.44	0.36*	0.36**	－	－	－	－
	終了時	0.36	0.44	－	－	－	－	－	－

M：雄、F：雌、－：特記すべき所見なし

*：p<0.05、**：p<0.01（Levene／ANOVA-Dunnett／Welch 検定）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		240		1200		4800	
動物数	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
ソルビトール脱水素酵素（U/L）								
5 週目	22.39	19.72	－	－	－	28.87	－	25.84
終了時	15.27	16.17	－	－	－	－	－	25.38
総タンパク（g/dL）								
5 週目	6.39	7.15	－	－	5.93*	6.42**	5.36**	5.77**
終了時	6.60	7.29	－	－	－	6.72**	5.77**	5.71**
アルブミン（g/dL）								
5 週目	2.96	3.55	2.54*	2.72**	2.55*	3.08**	2.49**	2.73**
終了時	2.77	3.39	－	2.87**	2.35**	2.68**	－	2.64**
グロブリン（g/dL）								
5 週目	3.44	3.60	3.87*	4.10*	－	－	2.87**	3.04**
終了時	3.83	3.89	－	－	－	－	3.23**	3.07**
アルブミン／グロブリン比								
5週目	0.88	0.98	0.68**	0.66**	－	－	－	－
終了時	0.74	0.89	－	－	0.62*	0.68**	－	－
コレステロール（mg/dL）								
5週目	55.0	76.1	－	55.1**	43.1*	50.2**	43.8*	51.3**
終了時	50.7	74.3	－	－	－	－	－	－
グルコース（mg/dL）								
5週目	88.3	84.3	－	－	－	－	－	－
終了時	105.1	121.2	－	－	－	－	157.2**	－
リパーゼ（U/L）								
5週目	48.1	26.2	－	51.9**	－	－	－	64.0**
終了時	45.7	21.2	－	－	－	－	－	－
尿検査[a] 投与終了時	－	－	－	－	－	－	－	－
器官重量								
副腎（g）	0.082	0.083	－	－	0.174*	0.154**	－	0.204**
副腎／体重（%）	0.0191	0.0304	－	－	－	0.0626**	－	0.0842**
脳／体重（%）	0.4650	0.6735	－	－	－	－	－	0.7782**
心臓／体重（%）	0.3751	0.3960	－	－	0.4776**	－	－	0.4481*

M：雄、F：雌、－：特記すべき所見なし

*：p<0.05、**：p<0.01（尿検査：ランク変換＋Dunnett 検定、その他：Levene／ANOVA-Dunnett／Welch 検定）

a：主群及びトキシコキネティクス試験用動物の全ての生存動物を対象に測定した。

（8/13）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		240		1200		4800	
動物数	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
腎臓（g）	3.709	2.216	5.353	3.113	5.761*	2.981*	6.052	3.819**
腎臓／体重（%）	0.8587	0.8055	1.1677	1.1572	1.6381**	1.1902*	1.5250	1.5752**
肝臓（g）	13.932	9.438	19.910	13.001	24.040*	14.281**	22.112*	14.813**
肝臓／体重（%）	3.2206	3.4203	4.2753	4.8331	6.9442*	5.7732*	5.5618*	6.0875**
肺＋気管支（g）	1.904	1.507	－	－	2.972*	－	－	－
肺＋気管支／体重（%）	0.4443	0.5492	－	－	0.8496**	－	－	－
脾臓（g）	1.302	0.795	1.975	1.412	3.943*	2.210*	2.822	1.898**
脾臓／体重（%）	0.3050	0.2892	0.4289	0.5249	1.1244*	0.8969*	0.7066	0.7835**
下垂体（g）	0.0150	0.0233	－	－	0.0131*	－	－	－
唾液腺＋下顎腺（g）	0.0361	0.247	－	－	－	－	－	0.197*
病理解剖学的検査								
検査動物数	13	13	2	1	5	10	6	10
投与部位								
膿瘍								
軽度	1	0	0	0	0	0	0	0
腫大/肥厚								
軽度	0	3	0	0	0	1	0	0
中等度	2	1	0	0	2	1	0	0
重度	2	0	1	0	0	1	0	1
腹腔内								
膿瘍								
軽度	0	0	0	0	0	1	0	0
癒着								
軽度	1	0	0	0	0	0	0	0
中等度	0	0	0	0	1	1	0	0
副腎								
肥大								
軽微	0	0	1	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	3	3	1	8
中等度	0	0	0	1	1	2	1	1

M：雄、F：雌、－：特記すべき所見なし

*：p<0.05、**：p<0.01（Levene／ANOVA-Dunnett／Welch 検定）

投与量（mg/kg/日）		0（対照）		240		1200		4800	
動物数		M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
腎臓									
腎盂拡張									
	軽度	0	0	0	0	1	0	0	0
	重度	0	0	0	0	0	1	0	0
淡褐色化									
	軽度	0	0	1	0	0	0	0	0
腫大									
	軽度	1	0	0	0	0	0	1	0
	重度	0	0	0	0	0	0	1	0
白色病巣									
	軽度	0	0	0	0	0	1	0	0
	中等度	0	0	0	0	1	0	0	0
	重度	0	0	0	0	1	0	0	0
赤色病巣									
	軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
淡褐色病巣									
	軽度	0	0	0	0	0	1	0	0
黄色病巣									
	軽度	0	0	0	0	0	1	0	0
	中等度	0	0	0	0	0	0	0	1
表面不整									
	中等度	0	0	0	0	1	0	0	0
	重度	0	0	0	0	1	0	0	0
肝臓									
癒着									
	中等度	0	0	0	0	1	0	0	0
腫大									
	軽微	0	0	1	0	0	0	0	0
	中等度	0	0	0	0	0	1	1	0
表面不整									
	軽度	0	0	0	0	0	1	0	0
	中等度	0	0	0	0	1	0	0	0

M：雄、F：雌

投与量（mg/kg/日）		0（対照）		240		1200		4800	
動物数		M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
脾臓									
腫大									
	軽微	0	0	1	0	0	0	0	0
	軽度	0	0	1	0	1	0	0	1
	中等度	1	0	0	0	3	3	2	2
	重度	0	0	0	0	0	2	2	2
胸腺									
小型化									
	重度	0	0	0	0	1	0	0	0
リンパ節									
肥大									
	中等度	0	0	1	0	0	1	0	0
病理組織学的検査									
検査動物数		13	13	2	1	5	10	6	10
腎臓									
尿細管細胞内好塩基性顆粒									
	軽微	0	0	0	0	0	2	1	0
	軽度	0	0	0	0	1	3	4	4
	中等度	0	0	0	0	2	0	1	6
糸球体腎症									
	軽微	0	0	0	0	1	3	0	1
	軽度	0	0	0	0	3	0	1	2
	中等度	0	0	0	0	1	0	3	6
リンパ球・組織球浸潤									
	軽度	0	0	0	0	1	2	1	0
	中等度	0	0	0	0	4	3	4	9
	重度	0	0	0	0	0	0	0	1
尿細管変性／再生									
	軽微	0	0	0	0	0	1	1	0
	軽度	0	0	1	0	0	3	3	6
	中等度	0	0	0	0	5	2	1	3
	重度	0	0	0	0	0	1	0	0

M：雄、F：雌

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		240		1200		4800	
動物数	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
肝臓								
クッパー細胞肥大／過形成								
軽微	3	2	2	0	0	1	0	0
軽度	1	1	0	0	2	4	4	5
中等度	0	0	0	0	3	4	2	5
クッパー細胞細胞質内好塩基性顆粒								
軽微	0	0	0	0	2	5	0	1
軽度	0	0	0	0	0	1	4	7
中等度	0	0	0	0	0	0	2	2
巣状壊死								
軽微	0	0	0	0	1	0	1	1
軽度	0	1	0	0	0	1	0	2
髄外造血								
軽微	0	1	0	0	2	5	1	1
軽度	0	0	0	0	0	1	0	0
遠位下大静脈投与部位								
マクロファージ空胞化								
軽微	0	0	0	1	0	3	0	0
中等度	0	0	0	0	1	0	0	0
近位下大静脈投与部位								
マクロファージ空胞化								
軽微	0	0	0	0	1	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	1	0	0
腋下リンパ節								
リンパ過形成								
中等度	1	0	0	0	0	0	1	0
腸骨リンパ節								
リンパ過形成								
軽微	1	1	0	0	0	0	0	0
軽度	1	1	0	0	0	0	0	0

M：雄、F：雌

投与量（mg/kg/日）		0（対照）		240		1200		4800	
動物数		M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
下顎リンパ節									
マクロファージ空胞化									
	軽微	0	0	0	0	2	2	4	4
	軽度	0	0	0	0	0	0	1	4
リンパ過形成									
	軽微	1	0	2	0	1	2	0	0
	軽度	0	0	0	0	3	3	0	0
	中等度	0	0	0	0	0	0	2	0
腸間膜リンパ節									
マクロファージ空胞化									
	軽度	0	0	0	0	1	8	2	1
	中等度	0	0	0	0	4	2	4	9
リンパ球枯渇									
	軽度	1	0	0	0	0	1	0	1
脾臓									
マクロファージ空胞化									
	軽微	0	0	0	0	0	4	1	3
	軽度	0	0	0	0	3	3	5	7
髄外造血									
	軽微	2	2	0	0	0	0	0	1
	軽度	2	1	1	0	3	2	1	1
	中等度	0	0	0	0	1	2	0	0
	重度	0	0	0	0	1	1	0	0
リンパ過形成									
	軽微	2	1	0	0	0	0	0	1
	軽度	0	0	1	0	0	3	2	6
	中等度	0	0	0	0	0	0	2	3
リンパ球枯渇									
	軽微	1	0	0	0	0	0	0	0
リンパ球枯渇、辺縁部									
	軽微	0	0	0	0	1	0	4	1

M：雄、F：雌

（13/13）

投与量（mg/kg/日）		0（対照）		240		1200		4800	
動物数		M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
胸腺									
リンパ球枯渇									
	軽微	3	2	0	0	0	0	0	5
	軽度	2	0	0	0	0	0	0	2
	中等度	1	0	0	0	0	0	0	1
	重度	0	0	0	0	0	0	1	0
リンパ球壊死									
	軽微	1	0	0	0	0	0	0	0
大腿骨									
顆粒球過形成									
	軽度	3	0	0	0	0	0	1	1
	中等度	0	0	0	0	0	0	0	1
胸骨									
顆粒球過形成									
	軽度	2	0	0	0	0	0	1	0
	中等度	0	0	0	0	0	0	0	1

瀕死期安楽死処置動物：

安楽死処置例の多くは、投与部位の炎症（慢性活動性炎症、血管変性、壊死など）に起因するものであり、関連する病理組織学的検査では、敗血症、播種性血管内凝固症候群、増殖性弁膜性心内膜炎又は尿路感染等の合併症が認められた。

M：雄、F：雌

2.6.7.7.2 反復投与毒性試験（イヌ 13 週間反復静脈内投与毒性試験）

報告書の題名：A 13-week intravenous toxicity study of defibrotide in dogs

被験物質：defibrotide

動物種/系統：	イヌ／Beagle	投与期間：	13 週間	試験番号：	1529-002
投与開始月齢：	5～6 ヵ月齢	休薬期間：	なし	CTD における記載箇所：	4.2.3.2-6
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	投与方法：	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回（6 時間ごと）	GLP 適用：	適
		溶媒/投与形態：	生理食塩液		
特記事項：	なし				
無毒性量：	雄：300 mg/kg/日、雌：1600 mg/kg/日				

（1/5）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		60		300		1600	
動物数	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
トキシコキネティクス[a]：								
1 日目の 4 回目投与								
$AUC_{0-\infty}$（μg·hr/mL ）			NC	NC	NC	NC	723	633
$AUC_{0-6\ hr}$（μg·hr/mL）			NC	NC	NC	NC	626	670
$AUC_{0-tlast}$（μg·hr/mL）			NC	NC	NC	NC	562	609
C_{max}（μg/mL）			BLQ	BLQ	152	60.8	481	495
91日目の4回目投与								
$AUC_{0-\infty}$（μg·hr/mL）			NC	NC	NC	9630	731	585
$AUC_{0-6\ hr}$（μg·hr/mL）			NC	NC	NC	522	774	619
$AUC_{0-tlast}$（μg·hr/mL）			NC	NC	NC	522	704	563
C_{max}（μg/mL）			BLQ	BLQ	69.0	146	570	457
死亡又は瀕死期安楽殺動物数	0	0	0	1[b]	0	0	0	0
体重（kg） 投与 91 日目	10.525	7.925	10.563	7.350	9.663	8.425	9.638	8.088
摂餌量（g/日） 投与 91 日目	372.0	344.0	454.5	318.7	327.0	309.3	400.8	332.8

M：雄、F：雌、NC：算出せず、BLQ：定量下限（50.0 μg/mL）未満

a：4 例の平均値。

b：デフィブロチドナトリウム投与に起因しない偶発的な関節炎に伴い一般状態が悪化したため、投与 44 日目に安楽死処置した。

（2/5）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		60		300		1600	
動物数	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
一般状態								
便変色（赤色）	0	0	0	0	0	0	1	1
粘液便	0	0	0	1	0	0	2	2
軟便	0	1	0	0	2	0	2	2
水様便	0	0	1	1	2	0	1	0
ケージ上の有色物質	0	0	2	1	2	2	2	2
眼科学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
心電図検査	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査								
赤血球数（10^6/μL）								
5 週目	6.730	6.850	－	－	5.873*	－	－	－
終了時	6.745	6.768	－	5.030*	－	－	－	－
ヘモグロビン（g/dL）								
5 週目	15.08	15.73	－	－	13.05*	－	－	－
終了時	15.68	15.85	－	－	12.18*	－	－	－
ヘマトクリット（%）								
5 週目	41.60	42.95	－	－	－	－	－	－
終了時	41.15	40.80	－	31.53*	－	－	－	－
MCH（pg）								
投与前	21.80	22.15	－	－	－	－	－	20.88**
5 週目	22.40	23.00	－	－	－	－	－	21.20**
終了時	23.30	23.53	－	－	－	－	－	－
MCHC（g/dL）								
5 週目	36.18	36.65	34.58*	－	34.48*	－	34.25*	33.63**
終了時	38.13	39.00	－	－	－	－	－	－
単球数（10^3/μL）								
5 週目	0.483	0.415	－	－	－	－	－	－
終了時	0.760	0.505	－	－	－	0.355*	－	－
リンパ球数（10^3/μL）								
5 週目	4.083	4.213	－	2.725*	－	－	－	－
終了時	3.888	3.453	－	－	－	－	－	－

M：雄、F：雌、－：特記すべき所見なし、MCHC：平均赤血球ヘモグロビン濃度、MCH：平均赤血球ヘモグロビン量

*：$p<0.05$、**：$p<0.01$（白血球数及び白血球分画：対数変換／群間対比較、それ以外： Levene／ANOVA-Dunnett／Welch 検定）

（3/5）

投与量（mg/kg/日）		0（対照）		60		300		1600	
動物数		M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
血小板数（10^3/μL）									
	5 週目	221.0	180.0	－	－	－	－	－	301.5*
	終了時	156.3	134.5	－	－	－	－	－	291.0*
凝固検査 [a]									
APTT（sec）									
	5 週目	10.78	11.35	－	－	13.43**	－	26.65**	27.63**
	終了時	9.75	10.10	－	－	－	－	－	－
PT（sec）									
	5 週目	7.08	7.38	－	6.80*	－	－	－	－
	終了時	6.63	6.60	－	－	－	－	－	－
フィブリノーゲン（mg/dL）									
	終了時	207.0	188.8	－	359.7**	－	－	－	－
血液生化学的検査									
ナトリウム（mEq/L）									
	5 週目	145.3	144.5	－	－	－	－	148.5**	147.8**
	終了時	146.5	147.3	－	－	－	145.3*	－	－
クロール（mEq/L）									
	5 週目	110.8	111.0	－	－	－	－	108.8*	－
	終了時	111.3	111.5	－	－	－	－	－	－
カルシウム（mg/dL）									
	5 週目	11.20	11.00	－	－	－	－	12.45**	11.98**
	終了時	10.65	10.53	－	－	－	－	－	－
リン（mg/dL）									
	5 週目	7.20	6.48	－	－	－	－	－	7.83**
	終了時	5.80	5.13	－	－	－	－	－	－
総ビリルビン									
	5 週目	0.18	0.20	－	－	－	－	－	－
	終了時	0.15	0.20	－	0.10*	－	－	－	－
AST（U/L）									
	5 週目	30.8	34.3	－	26.0*	23.8**	－	24.5*	－
	終了時	37.3	41.8	－	－	28.0**	－	27.3**	－

M：雄、F：雌、－：特記すべき所見なし、APTT：活性化部分トロンボプラスチン時間、PT：プロトロンビン時間

*：$p<0.05$、**：$p<0.01$（Levene／ANOVA-Dunnett／Welch 検定）

投与量（mg/kg/日）		0（対照）		60		300		1600	
動物数		M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
ALT（U/L）									
	5 週目	27.3	33.8	－	18.0*	－	－	－	－
	終了時	34.5	43.3	－	23.0**	－	－	－	－
クレアチニン（mg/dL）									
	5 週目	0.58	0.60	－	0.43*	－	－	－	－
	終了時	0.70	0.63	－	－	－	－	－	－
総タンパク（g/dL）									
	5 週目	5.60	5.45	5.20*	－	5.25*	－	－	－
	終了時	5.65	5.50	－	－	－	－	－	－
アルブミン（g/dL）									
	5 週目	3.23	3.30	－	2.40**	2.55*	－	－	－
	終了時	3.20	3.33	－	2.27**	－	－	－	2.93*
グロブリン（g/dL）									
	5 週目	2.38	2.15	－	－	－	－	－	－
	終了時	2.45	2.18	－	2.97**	－	－	－	－
アルブミン／グロブリン比									
	5 週目	1.38	1.53	－	0.97*	－	－	－	－
	終了時	1.30	1.55	－	0.77**	－	－	－	1.23*
尿検査		－	－	－	－	－[a]	－	－	－
器官重量									
肝臓（g）		270.703	194.875	－	244.723*	347.079*	－	－	252.287**
肝臓／体重（%）		2.6638	2.5547	－	3.4978**	3.8388*	－	－	3.2627*

M：雄、F：雌、－：特記すべき所見なし

*：p<0.05、**：p<0.01（尿検査：ランク変換＋Dunnett 検定、それ以外：Levene／ANOVA-Dunnett／Welch 検定）

a：雄 1 例に軽度の糖尿、ケトン尿、ビリルビン尿及びタンパク尿が認められたが、投与終了時には消失したため、デフィブロチドナトリウム投与の影響ではないと判断した。

（5/5）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		60		300		1600	
動物数	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4	M:4	F:4
病理解剖学的検査	―	―	―	―	―	―	―	―
病理組織学的検査								
検査動物数	4	4	4	3	4	4	4	4
肝臓								
クッパー細胞細胞質内好塩基性顆粒								
軽微	0	0	0	1	1	3	0	2
軽度	0	0	0	0	0	0	3	1
中等度	0	0	0	0	0	0	1	1
クッパー細胞肥大								
軽微	0	0	0	2	1	3	0	2
軽度	0	0	0	0	1	0	4	1
中等度	0	0	0	0	0	0	0	1
亜急性炎症								
軽微	0	1	0	0	1	0	2	0
肝細胞の単細胞壊死								
軽微	0	0	0	0	0	0	2	0

全群（対照群を含む）：長期のカテーテル留置に関連すると考えられる、投与部位の軽微～軽度な血管周囲の出血、血管内皮細胞の腫大、血管新生、及び軽微な血管外膜への単核細胞浸潤が認められた。また、投与部位の血栓に由来すると考えられる肺塞栓症、心房梗塞及び腎臓病変（しばしば急性炎症並びに糸球体肥厚を伴う腎尿細管の変性／壊死）が認められた。

デフィブロチドナトリウム投与群：投与部位において血栓形成が認められた。

瀕死期安楽死処置動物（60 mg/kg/日投与群の雌 1 例）：軽度な肝臓のクッパー細胞肥大、軽微な亜急性炎症が認められた。

M：雄、F：雌

2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書の題名：DEFIBROTIDE: Bacterial reverse mutation assay

被験物質：defibrotide

試験の種類：	細菌を用いる復帰突然変異試験	独立して実施した試験数：	2	試験番号：	0245-2010
菌株：	ネズミチフス菌（TA100、TA1535、TA98、TA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*）	プレート数：	用量設定試験：1 本試験：3	CTD における記載箇所：	4.2.3.3.1-1
代謝活性化系：	S9mix（ラット肝 S9）			GLP 適用：	適
溶媒：	PBS			試験期間：	[redacted] 年 [redacted] 月～[redacted] 月
処理：	プレインキュベーション法で 3 日間				
細胞毒性：	なし				
遺伝毒性：	なし				

（1/3）

代謝活性化	被験物質	用量（μg/plate）	用量設定試験：復帰変異数（コロニー数/plate、平均値）				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化なし	非処理	-	136.3	18.7	61.0	22.3	13.3
	溶媒対照（PBS）	0	140.7	19.3	56.7	21.3	13.7
	デフィブロチドナトリウム	9.76	124.0	24.0	54.0	25.0	10.0
		19.5	126.0	16.0	52.0	16.0	14.0
		39	121.0	25.0	70.0	13.0	14.0
		78.12	125.0	23.0	70.0	20.0	13.0
		156.25	130.0	21.0	57.0	27.0	15.0
		312.5	143.0	25.0	48.0	17.0	9.0
		625	138.0	19.0	49.0	16.0	11.0
		1250	161.0	32.0	46.0	20.0	21.0
		2500	127.0	15.0	38.0	21.0	17.0
		5000	129.0	33.0	62.0	19.0	21.0

（2/3）

代謝活性化	被験物質	用量（μg/plate）	用量設定試験：復帰変異数（コロニー数/plate、平均値）				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化なし（続き）	NaN_3	1	403.0	381.0	N.A.	N.A.	N.A.
	MMS	500	N.A.	N.A.	193.0	N.A.	N.A.
	2NF	2	N.A.	N.A.	N.A.	231.0	N.A.
	9AA	50	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	178.0
代謝活性化あり	非処理	-	168.3	27.7	75.7	31.7	23.0
	溶媒対照（PBS）	0	151.7	30.3	60.0	39.3	24.0
	デフィブロチドナトリウム	9.76	127.0	22.0	62.0	40.0	19.0
		19.5	142.0	19.0	67.0	42.0	23.0
		39	131.0	28.0	64.0	38.0	21.0
		78.12	152.0	27.0	58.0	39.0	20.0
		156.25	146.0	32.0	57.0	35.0	26.0
		312.5	158.0	35.0	51.0	24.0	25.0
		625	149.0	27.0	69.0	32.0	16.0
		1250	152.0	32.0	62.0	33.0	21.0
		2500	167.0	23.0	84.0	43.0	30.0
		5000	122.0	19.0	73.0	37.0	27.0
	2AAN	5	3385.0	365.0	N.A.	2492.0	175.0
		20	N.A.	N.A.	184.0	N.A.	N.A.

N.A.：実施せず

NaN_3：Sodium Azide、MMS：Methyl methane-sulfonate、2NF：2-nitrofluorene、9AA：9-aminoacridine、2AAN：2-amino-anthracene

（3/3）

代謝活性化	被験物質	用量（μg/plate）	本試験：復帰変異数（コロニー数/plate、平均値）				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化なし	非処理	-	121.7	17.3	61.3	31.0	13.3
	溶媒対照（PBS）	0	118.0	17.3	68.0	24.3	23.7
	デフィブロチドナトリウム	312.5	136.7	20.0	75.0	27.3	17.7
		625	133.7	16.0	72.0	21.3	19.0
		1250	142.7	16.0	77.0	29.3	15.7
		2500	115.7	17.0	70.7	22.0	18.3
		5000	130.3	14.7	74.7	24.0	16.3
	NaN_3	1	335.3	390.0	N.A.	N.A.	N.A.
	MMS	500	N.A.	N.A.	378.7	N.A.	N.A.
	2NF	2	N.A.	N.A.	N.A.	226.7	N.A.
	9AA	50	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	112.3
代謝活性化あり	非処理	-	144.0	26.3	66.3	43.0	26.3
	溶媒対照（PBS）	0	144.0	24.3	74.0	42.0	24.3
	デフィブロチドナトリウム	312.5	151.0	24.0	80.3	37.7	31.7
		625	149.7	21.3	74.3	41.0	31.0
		1250	151.3	21.0	87.0	44.0	28.0
		2500	159.0	24.0	75.7	42.3	36.3
		5000	148.0	25.3	90.3	38.7	29.7
	2AAN	5	3699.0	374.3	N.A.	3139.3	156.0
		20	N.A.	N.A.	201.0	N.A.	N.A.

N.A.：実施せず

NaN_3：Sodium Azide、MMS：Methyl methane-sulfonate、2NF：2-nitrofluorene、9AA：9-aminoacridine、2AAN：2-amino-anthracene

2.6.7.8.2 哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

報告書の題名：Evaluation of in vitro chromosome aberrations in Chinese hamster ovary cells with defibrotide

被験物質：defibrotide

試験の種類：	哺乳類細胞を用いる染色体異常試験	独立して実施した試験数：	2	試験番号：	[redacted]0076
菌株：	CHO 細胞	プレート数：	2	CTD における記載箇所：	4.2.3.3.1-2
代謝活性化系：	S9mix（ラット肝 S9）	分析細胞数：	200	GLP 適用：	適
溶媒：	生理食塩水			試験期間：	[redacted] 年 [redacted] 月～[redacted] 月
処理：	代謝活性化なしで 3、20 時間、代謝活性化ありで 3 時間				
特記事項：	用量設定試験の結果、500 µg/mL までの用量で細胞毒性が認められなかったため、本試験の最高用量を 500 µg/mL とした。				
細胞毒性：	なし	遺伝毒性：	なし		

代謝活性化	被験物質	濃度（µg/mL）	処理時間（hr）	培養時間（hr）	細胞増殖率（%）	構造異常細胞 [a] 出現頻度（%）	数的異常細胞出現頻度（%）
代謝活性化なし	溶媒対照（生理食塩水）	0	3	17	100	0.5	0.0
	デフィブロチドナトリウム	125	3	17	86	1.0	1.0
		250	3	17	90	1.0	0.5
		500	3	17	118	2.0	0.0
代謝活性化あり	溶媒対照（生理食塩水）	0	3	17	100	1.5	1.0
	デフィブロチドナトリウム	125	3	17	85	0.0	1.5
		250	3	17	76	0.0	1.5
		500	3	17	94	0.5	1.0
	Cyclophosphamide	15.0	3	17	59	28.0***	1.5
代謝活性化なし	溶媒対照（生理食塩水）	0	20	0	100	0.0	0.0
	デフィブロチドナトリウム	125	20	0	83	0.5	0.0
		250	20	0	102	0.5	0.5
		500	20	0	92	0.5	0.0
	Mitomycin-C	0.100	20	0	123	33.5***	0.0

***：P<0.001 (Exact Fisher test)

a：ギャップを除く構造異常細胞

2.6.7.9 *In Vivo* 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1 マウス骨髄細胞を用いる小核試験

報告書の題名：Micronucleus test- test substance defibrotide

被験物質：defibrotide

試験方法：	骨髄細胞を用いる小核試験	処理計画：	1 日 1 回 2 日間	試験番号：	094007-[redacted]-03784
動物種/系統：	マウス/Swiss CD-1	計測時間：	最終投与後 6 時間	CTD における記載箇所：	4.2.3.3.2-1
投与開始週齢：	5~6 週齢	投与方法：	腹腔内	GLP 適用：	適
評価した細胞：	多染性赤血球（PCE） 正染性赤血球（NCE）	溶媒/投与形態：	10 mg/mL クエン酸ナトリウム	試験期間：	[redacted] 年 [redacted] ～ [redacted] 月
分析細胞数/動物：	1000PCE				
特記事項：	なし				
毒性/細胞毒性：	なし				
遺伝毒性：	なし				
曝露証明：	なし				

被験物質	投与量（mg/kg/日）	動物数	NCE/PCE（%）[a]	MNPCE/PCE（%）[b]
溶媒対照（10 mg/mL クエン酸ナトリウム）	0	5M, 5F	69	0.08±0.02
デフィブロチドナトリウム	250	5M, 5F	69	0.17±0.04
	833	5M, 5F	70	0.11±0.05
	2500	5M, 5F	68	0.13±0.03
Mitomycin-C	5	5M, 5F	80	6.49±0.48***

M：雄、F：雌
***：P<0.001（Chi-squared test）
a：多染性赤血球約 1000 個に対する正染性赤血球の割合。平均値。
b：多染性赤血球約 1000 個に対する小核を有する多染性赤血の割合。平均値±標準偏差。

2.6.7.9.2　ラット骨髄細胞を用いる小核試験

報告書の題名：In vivo micronucleus test in rats with IV administration of defibrotide

被験物質：defibrotide

試験方法：	骨髄細胞を用いる小核試験	処理計画：	1 日 1 回 2 日間	試験番号：	[redacted]0077
動物種/系統：	ラット/SD	計測時間：	最終投与後 24 時間	CTD における記載箇所：	4.2.3.3.2-2
投与開始週齢：	8～9 週齢	投与方法：	静脈内（被験物質、溶媒対照） 腹腔内（陽性対照物質）	GLP 適用：	適
評価した細胞：	多染性赤血球（PCE） 正染性赤血球（NCE）	溶媒/投与形態：	10 mg/mL クエン酸ナトリウム二水和物	試験期間：	[redacted] 年 [redacted]～[redacted] 月
分析細胞数/動物：	1000 全赤血球（骨髄毒性） 2000PCE（小核）				
特記事項：	なし				
毒性/細胞毒性：	1600 mg/kg 投与群（立毛が残存）を除いて、認められた一般状態の変化はすべて完全に回復した。全てのデフィブロチドナトリウム投与群で軽度の体重減少が認められた。骨髄毒性は認められなかった。				
遺伝毒性：	なし	曝露証明：	なし		

被験物質	投与量 (mg/kg/日)	動物数	PCE/(PCE+NCE) （%）[a]	MNPCE/PCE （%）[b]
溶媒対照（10 mg/mL クエン酸ナトリウム二水和物）	0	5M	50	0.13±0.04
デフィブロチドナトリウム	400	5M	52	0.11±0.03
	800	5M	50	0.21±0.06
	1600	8M	53	0.13±0.04
Mitomycin-C [c]	2	5M	48	2.29±0.26***

M：雄

***：P<0.001（Chi-squared test）

a：全赤血球 1000 個に対する多染性赤血球の割合。平均値。

b：多染性赤血球 2000 個に対する小核を有する多染性赤血球の割合。平均値±標準誤差。

c：腹腔内より単回投与した。

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.1 マウスを用いた混餌投与によるがん原性試験

報告書の題名：Defibrotide: Dietary oncogenicity study in mice

被験物質：defibrotide

動物種/系統：	マウス/ Crl:CD-1 (SD)BR	投与期間：	雄：650 日間、雌：730 日間	試験番号：	253-094-024
投与開始日齢：	39～41 日齢	投与方法：	経口	CTD における記載箇所：	4.2.3.4.1-1
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	溶媒/投与形態：	混餌	GLP 適用：	適
		対照群の処置：	被験物質を含まない飼料		

高用量の設定根拠：マウスを用いた混餌投与による 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 239-094-022、資料番号 4.2.3.4.3-1）において、2000 mg/kg/日までの用量で良好な忍容性が認められたことから、最高用量を 2000 mg/kg/日に設定した。

特記事項：雄では対照群及び投与群で高い死亡率を示したため、早期に雄全群の生存動物全例を剖検した（650 日）。
対照群は 2 群（I 及び II）設定し、対照群 I 及び対照群 II のどちらにもデフィブロチドナトリウムを含まない餌を与えた。
混餌投与によるデフィブロチドナトリウムの曝露を確認するため、各群雌雄各 15 例を別途設定し、血漿中 t-PA 活性を測定した。

（1/6）

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
t-PA[a]（IU/ml）/動物数										
1 週目	1.80/13	3.39/13			2.89**/14	4.23*/15	2.68**/13	3.46/14	2.33*/13	3.45/13
13 週目	2.17/15	2.97/15			2.93**/15	4.25**/14	2.83**/15	3.33/15	2.50/14	2.97/15
26 週目	1.98/15	2.87/15			3.25**/15	4.56**/14	2.74**/15	3.67**/15	2.37**/15	3.03/14
53 週目	2.28/11	2.48/14			3.72**/14	3.71**/14	3.55**/10	2.92/14	2.72/9	2.59/14
85 週目	2.25/8	3.30/12			3.14/7	4.45*/12	1.83/3	2.93/12	2.50/5	2.64/12
104 週目	2.88/4	3.10/8			3.97/3	4.14*/8	/	3.02/10	/	3.56/11

M：雄、F：雌、/：検査対象外または該当なし（生存動物なし）
*：$p<0.05$、**：$p<0.01$（Dunnett's test）
a：別途設定した各群 15 例の血漿中 t-PA 活性を測定することでデフィブロチドナトリウムの曝露を確認した。死亡、瀕死期安楽死処置又はその他の理由で血液を採取できない動物が認められた。

（2/6）

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
動物数										
開始時	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
死亡/瀕死期安楽死処置	21	18	34	31	35	30	34	20	37	22
最終剖検例数 [a]	29	32 [b]	16	19	15	20	16	30	13	28
生存率（%）	58	64	32	38	30	40	32	60	26	56
体重（g） [c]	46.35	37.53			44.70	38.32	44.04	37.88	44.21	37.90
摂餌量（g/日） [c]	8.11	6.41			8.60	6.55	7.03	5.89	8.96	5.64
一般状態及び触診										
触知可能な腫瘤を有する動物数	20	7	27	7	20	5	16	6	16	3
触知可能な腫瘤数 [d]	45	8	40	8	35	5	27	12	27	3
血液学的検査 [c]										
赤血球数（10^6/μL）	8.790	8.611			—	—	—	—	9.813**	–
ヘマトクリット（%）	36.07	40.77			—	—	—	—	39.05*	–
ヘモグロビン（g/dL）	12.98	12.87			—	—	—	—	14.84**	–
平均赤血球ヘモグロビン濃度（g/dL）	35.91	31.58			—	—	—	—	38.05**	–
病理解剖学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査－非腫瘍性変化										
腎臓	M:48	F:50	M:47	F:48	M:39	F:29	M:36	F:21	M:48	F:49
皮質嚢胞	4	4	2	4	1	1	1	1	9	3
石灰化	2	0	1	0	7	1	2	0	7	0
化膿性腎炎	0	0	3	0	4	0	4	0	7	0
膀胱	M:48	F:48	M:47	F:48	M:37	F:28	M:38	F:21	M:48	F:47
膨満	8	2	7	1	10	0	12	0	14	0
胆嚢	M:46	F:50	M:46	F:47	M:37	F:29	M:36	F:21	M:46	F:45
膨満	4	4	1	5	0	5	1	3	4	9

M：雄、F：雌、/：検査対象外、－：特記すべき所見なし

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

a：雄は 650 日間投与後に、雌は 730 日間投与後にそれぞれ瀕死期安楽死処置した。

b：最終剖検に供する前に死亡した 1 例を含む。

c：投与最終日。対照群は 2 つの対照群（I 及び II）をまとめた平均値を対照群 I のカラムに示す。

d：各群での触知可能な腫瘤数の合計を示す。

（3/6）

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
脾臓	M:48	F:50	M:45	F:46	M:38	F:29	M:33	F:21	M:47	F:47
顆粒球系髄外造血	1	0	2	0	8	1	4	1	6	2
精嚢	M:48	/	M:46	/	M:39	/	M:38	/	M:49	/
急性炎症	1	/	2	/	3	/	2	/	7	/
病理組織学的検査－腫瘍性変化										
胸腔	M:1	F:1	M:0	F:0	M:0	F:0	M:0	F:1	M:0	F:0
転移性腫瘍	1	1	/	/	/	/	/	1	/	/
腹腔	M:0	F:2	M:0	F:1	M:0	F:0	M:0	F:0	M:0	F:2
脂肪肉腫	/	0	/	0	/	/	/	/	/	2
転移性腫瘍	/	1	/	1	/	/	/	/	/	0
膀胱	M:48	F:48	M:47	F:48	M:37	F:28	M:38	F:21	M:48	F:47
癌	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
転移性腫瘍	0	0	0	4	0	2	0	2	0	2
肺	M:48	F:50	M:47	F:49	M:39	F:29	M:37	F:21	M:49	F:48
肺腺腫	11	7	5	4	5	2	0	0	3	1
肺腺癌	1	4	0	1	1	1	5	3	1	1
転移性腫瘍	2	5	1	12	2	8	2	5	3	7
気管	M:49	F:50	M:47	F:48	M:39	F:29	M:38	F:21	M:50	F:50
転移性腫瘍	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
大動脈	M:50	F:50	M:47	F:50	M:39	F:28	M:38	F:21	M:50	F:50
転移性腫瘍	0	2	1	5	1	2	2	4	2	4
舌	M:47	F:50	M:47	F:50	M:39	F:26	M:37	F:20	M:49	F:48
転移性腫瘍	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
唾液腺	M:46	F:50	M:46	F:49	M:39	F:27	M:36	F:20	M:48	F:50
転移性腫瘍	1	1	0	6	0	4	1	2	0	4
膵臓	M:48	F:49	M:44	F:46	M:36	F:28	M:32	F:19	M:45	F:45
膵島腺腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
転移性腫瘍	0	4	0	9	1	4	0	3	1	5
胆嚢	M:46	F:50	M:46	F:47	M:37	F:29	M:36	F:21	M:47	F:45
転移性腫瘍	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
食道	M:49	F:50	M:47	F:50	M:39	F:29	M:37	F:21	M:49	F:50
転移性腫瘍	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2

M：雄、F：雌、/：検査対象外

（4/6）

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
胃	M:46	F:50	M:43	F:47	M:38	F:29	M:36	F:20	M:46	F:48
転移性腫瘍	0	1	0	2	0	2	1	1	0	2
十二指腸	M:47	F:48	M:39	F:45	M:37	F:28	M:34	F:20	M:44	F:46
腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
平滑筋肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
転移性腫瘍	1	0	1	2	0	0	0	0	0	1
盲腸	M:48	F:47	M:43	F:44	M:38	F:28	M:35	F:20	M:46	F:47
転移性腫瘍	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
結腸	M:47	F:48	M:45	F:45	M:39	F:28	M:36	F:21	M:46	F:47
転移性腫瘍	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
上皮小体	M:42	F:46	M:42	F:40	M:36	F:20	M:34	F:14	M:44	F:40
転移性腫瘍	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
副腎	M:48	F:50	M:46	F:48	M:38	F:29	M:35	F:21	M:48	F:48
皮質細胞腫	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1
皮質細胞癌	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0
クロム親和性細胞腫	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
転移性腫瘍	1	5	1	6	0	3	1	2	0	8
下垂体	M:46	F:47	M:46	F:49	M:37	F:25	M:37	F:19	M:48	F:48
腺腫	0	1	0	3	0	0	0	1	0	0
転移性腫瘍	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1
甲状腺	M:46	F:48	M:48	F:48	M:38	F:27	M:36	F:20	M:49	F:50
濾胞腺腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
転移性腫瘍	0	0	0	1	0	1	0	1	0	2
骨髄	M:49	F:50	M:49	F:49	M:39	F:30	M:38	F:21	M:50	F:50
転移性腫瘍	1	2	1	6	0	1	0	2	4	3
造血組織	M:2	F:9	M:2	F:15	M:1	F:9	M:1	F:7	M:4	F:10
リンパ腫	1	8	2	12	0	8	1	7	3	7
組織球肉腫	1	1	0	3	1	1	0	0	1	3
肝臓	M:48	F:50	M:46	F:48	M:39	F:29	M:37	F:21	M:48	F:49
血管肉腫	3	3	0	0	0	1	1	0	1	0
肝細胞腺腫	4	0	2	0	1	0	1	0	4	0
転移性腫瘍	1	7	2	13	1	8	1	4	3	8

M：雄、F：雌

（5/6）

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
胸腺	M:37	F:48	M:32	F:43	M:22	F:20	M:29	F:19	M:39	F:38
胸腺腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
転移性腫瘍	2	8	1	11	0	8	1	7	2	7
脾臓	M:48	F:50	M:45	F:46	M:38	F:29	M:33	F:21	M:47	F:47
血管腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
血管肉腫	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
転移性腫瘍	1	8	2	12	0	8	1	4	3	6
腸間膜リンパ節	M:46	F:49	M:42	F:43	M:35	F:26	M:31	F:19	M:45	F:47
転移性腫瘍	2	7	2	9	0	8	1	4	2	6
頸部リンパ節	M:46	F:48	M:45	F:47	M:38	F:27	M:35	F:19	M:46	F:50
転移性腫瘍	1	5	2	7	0	8	1	3	3	6
リンパ節	M:1	F:10	M:3	F:9	M:0	F:3	M:1	F:7	M:3	F:4
転移性腫瘍	1	7	2	9	/	3	1	6	2	4
脳	M:49	F:49	M:48	F:50	M:39	F:29	M:38	F:21	M:50	F:50
髄膜腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
転移性腫瘍	0	1	0	1	0	1	1	1	0	3
脊髄	M:50	F:50	M:48	F:50	M:39	F:30	M:38	F:21	M:50	F:50
転移性腫瘍	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
坐骨神経	M:48	F:50	M:48	F:50	M:39	F:29	M:38	F:21	M:50	F:50
転移性腫瘍	0	1	0	3	0	0	0	1	0	5
皮膚	M:50	F:50	M:47	F:50	M:39	F:29	M:38	F:21	M:50	F:50
扁平上皮乳頭腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
扁平上皮癌	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1
乳腺癌	0	1	0	2	0	2	0	0	0	1
悪性線維性組織球腫	2	2	2	1	4	1	2	0	1	0
骨肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
悪性乳腺腺棘細胞癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
転移性腫瘍	0	0	0	3	0	0	1	2	1	0
乳房領域	M:48	F:50	M:47	F:50	M:39	F:29	M:38	F:21	M:49	F:50
乳腺癌	0	1	0	2	0	2	0	0	0	1
悪性乳腺腺棘細胞腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
転移性腫瘍	0	1	0	5	0	2	0	1	0	4

M：雄、F：雌

（6/6）

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
胸骨	M:49	F:50	M:48	F:50	M:39	F:30	M:38	F:21	M:50	F:50
骨肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
転移性腫瘍	0	0	0	5	0	0	1	3	0	2
骨	M:0	F:0	M:0	F:1	M:0	F:0	M:0	F:0	M:0	F:0
骨肉腫	/	/	/	1	/	/	/	/	/	/
骨格筋	M:48	F:50	M:48	F:50	M:39	F:29	M:38	F:21	M:49	F:50
転移性腫瘍	1	0	0	2	0	0	0	0	0	3
横隔膜	M:0	F:0	M:0	F:1	M:0	F:1	M:0	F:0	M:0	F:0
転移性腫瘍	/	/	/	1	/	1	/	/	/	/
精巣	M:48	/	M:47	/	M:38	/	M:38	/	M:49	/
間質細胞腫	1	/	0	/	1	/	0	/	0	/
乳頭状腺腫	0	/	0	/	0	/	0	/	1	/
陰茎	M:2	/	M:11	/	M:10	/	M:4	/	M:12	/
転移性腫瘍	0	/	0	/	0	/	1	/	0	/
精嚢	M:48	/	M:46	/	M:39	/	M:38	/	M:49	/
転移性腫瘍	0	/	0	/	0	/	0	/	1	/
前立腺	M:47	/	M:47	/	M:37	/	M:36	/	M:48	/
転移性腫瘍	0	/	0	/	0	/	1	/	0	/
卵巣	/	F:49	/	F:47	/	F:28	/	F:20	/	F:49
乳頭状嚢胞腺腫	/	0	/	2	/	0	/	0	/	0
顆粒膜・莢膜細胞腫	/	2	/	0	/	1	/	0	/	0
転移性腫瘍	/	5	/	8	/	3	/	4	/	5
子宮	/	F:50	/	F:48	/	F:29	/	F:20	/	F:50
平滑筋腫	/	2	/	2	/	0	/	0	/	2
平滑筋肉腫	/	1	/	0	/	0	/	0	/	0
血管腫	/	0	/	0	/	0	/	0	/	2
血管肉腫	/	0	/	0	/	0	/	1	/	1
転移性腫瘍	/	4	/	10	/	3	/	4	/	7
子宮頸部	/	F:4	/	F:2	/	F:0	/	F:0	/	F:2
平滑筋肉腫	/	1	/	0	/	/	/	/	/	0
転移性腫瘍	/	0	/	1	/	/	/	/	/	1
眼	M:48	F:49	M:47	F:49	M:39	F:27	M:36	F:19	M:49	F:50
転移性腫瘍	0	0	0	3	0	0	1	0	0	2

M：雄、F：雌、/：検査対象外

2.6.7.10.2　ラットを用いた混餌投与によるがん原性試験

報告書の題名：Defibrotide: Dietary oncogenicity study in rats

被験物質：defibrotide

動物種/系統：	ラット/ Crl:CD (SD)	投与期間：	732 日間	試験番号：	237-094-021
投与開始日齢：	41～43 日齢	投与方法：	経口	CTD における記載箇所：	4.2.3.4.1-2
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	溶媒/投与形態：	混餌	GLP 適用：	適
		対照群の処置：	被験物質を含まない飼料		

高用量の設定根拠：　ラットを用いた混餌投与による 52 週間反復投与毒性試験（試験番号 57-0-094-006、資料番号 4.2.3.4.3-2）において、2000 mg/kg/日までの用量で良好な忍容性が認められたことから、最高用量を 2000 mg/kg/日に設定した。

特記事項：　対照群は 2 群（I 及び II）設定し、対照群 I 及び対照群 II のどちらにもデフィブロチドナトリウムを含まない飼料を与えた。混餌投与によるデフィブロチドナトリウムの曝露を確認するため、各群雌雄各 15 例を別途設定し、血漿中 t-PA 活性を測定した。

（1/8）

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
t-PA[a]（IU/mL）/動物数										
1 週目	1.99/14	4.27/13			2.75*/13	6.18*/13	2.92*/14	7.18*/13	2.97**/13	5.47/13
13 週目	2.11/15	2.12/15			2.87**/15	3.03*/15	2.90/15	3.45**/15	2.95**/15	3.26*/15
26 週目	2.01/15	2.13/15			2.80**/14	3.28**/14	3.23**/15	3.35**/15	2.91**/15	2.91*/15
52 週目	2.07/15	2.41/14			2.56/14	2.84/14	2.81*/14	3.27*/15	2.33/15	2.34/15
104 週目	3.44/11	3.07/9			2.65/6	3.93/9	3.08/10	3.37/9	3.00/11	3.39/9

M：雄、F：雌、/：検査対象外

*：p<0.05、**：p<0.01（Dunnett's test）

a：別途設定した各群 15 匹の動物の血漿中 t-PA 活性を測定することでデフィブロチドナトリウムの曝露を確認した。死亡、瀕死期安楽死処置又はその他の理由で血液を採取できない動物が認められた。

（2/8）

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
動物数										
開始時	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
死亡/瀕死期安楽死処置	23	20	22	14	27	18	25	18	21	16
最終剖検	27	30	28	36	23	32	25	32	29	34
生存率（%）	54	60	56	72	46	64	50	64	58	68
体重（g）[a] 投与 729 日	727.66	520.68			714.42	559.73	718.91	505.11	657.42[#]	489.31
摂餌量（g/日）[a] 投与 730 日	37.23	30.62			35.02	33.92	35.84	28.56	33.56	29.64
一般状態及び触診										
痙攣/振戦	0	0	1	0	1	1	0	0	3	4
異常呼吸/ラッセル音	1	1	3	0	4	1	2	1	2	5
攻撃性の亢進	7	5	10	9	9	4	16	6	7	16
腫瘤を有する動物数	34	33	32	37	26	29	26	33	29	35
腫瘤数[b]	51	64	73	80	45	57	53	70	50	65
血液学的検査[a]										
平均赤血球ヘモグロビン量（pg）	17.41	18.90			—	—	—	—	—	18.23*
平均赤血球ヘモグロビン濃度（g/dL）	30.89	30.61			—	—	—	—	—	29.66*
血小板数（$10^3/mm^3$）	999.04	737.87			—	—	—	—	—	817.59*
PT（sec）	13.45	13.43			—	—	—	—	14.63[*]	14.14**
病理解剖学的検査										
精巣	M:50	/	M:50	/	M:50	/	M:50	/	M:50	/
弛緩	10	/	6	/	9	/	9	/	14	/

M：雄、F：雌、/：検査対象外、－：特記すべき所見なし、PT：プロトロンビン時間

#：Day 281～Day 694 にかけて概ね体重の有意な低値が認められた。

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

a：対照群は 2 つの対照群（I 及び II）をまとめた平均値を対照群 I のカラムに示す。

b：各群での触知可能な腫瘤数の合計を示す。

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
病理組織学的検査－非腫瘍性変化										
副腎	M:50	F:50	M:50	F:50	M:27	F:18	M:26	F:18	M:50	F:50
皮質毛細血管拡張	4	36	1	35	2	10	0	10	7	41
鬱血	0	3	2	2	0	0	0	2	10	2
腎臓	M:50	F:50	M:50	F:50	M:27	F:18	M:25	F:18	M:50	F:50
尿細管拡張/蛋白円柱	14	12	9	8	9	3	12	1	17	14
石灰化	3	14	2	25	4	10	1	7	7	16
慢性間質性腎炎	3	0	6	2	3	1	3	0	12	9
肺	M:50	F:50	M:50	F:49	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:49
血管石灰化	35	22	25	17	19	9	19	9	40	42
脳	M:50	F:50	M:50	F:50	M:28	F:18	M:25	F:18	M:50	F:50
出血	1	1	1	1	1	0	2	1	5	5
脊髄	M:50	F:50	M:50	F:50	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:50
出血	3	0	2	2	0	0	2	1	8	2
精巣	M:50	/	M:50	/	M:28	/	M:26	/	M:50	/
萎縮	5	/	7	/	6	/	4	/	13	/
精嚢	M:50	/	M:50	/	M:28	/	M:26	/	M:50	/
分泌液の減少	8	/	5	/	5	/	3	/	12	/
病理組織学的検査－腫瘍性変化										
腹腔	M:4	F:0	M:3	F:1	M:2	F:1	M:0	F:0	M:1	F:0
クロム親和性細胞腫	0	/	0	1	0	0	/	/	0	/
腎臓	M:50	F:50	M:50	F:50	M:27	F:18	M:25	F:18	M:50	F:50
腎腺癌	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0
脂肪肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
転移性腫瘍	0	0	2	0	4	0	1	0	2	0
膀胱	M:50	F:49	M:50	F:49	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:48
転移性腫瘍	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
肺	M:50	F:50	M:50	F:49	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:49
腺腫	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
腺癌	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
転移性腫瘍	0	1	4	2	6	1	2	0	1	2

M：雄、F：雌、/：検査対象外

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
気管	M:50	F:50	M:50	F:49	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:49
転移性腫瘍	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0
心臓	M:50	F:50	M:50	F:49	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:49
神経鞘腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
転移性腫瘍	0	0	0	0	1	0	2	0	1	0
大動脈	M:50	F:50	M:50	F:50	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:50
血管肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
肝臓	M:50	F:50	M:50	F:49	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:50
肝細胞腺腫	3	3	3	3	0	1	1	0	1	3
肝細胞癌	2	1	2	0	1	0	0	0	0	0
転移性腫瘍	0	0	2	0	6	1	2	1	2	1
唾液腺	M:50	F:50	M:49	F:49	M:28	F:18	M:26	F:18	M:49	F:49
転移性腫瘍	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
膵臓	M:50	F:50	M:49	F:49	M:26	F:17	M:26	F:18	M:48	F:48
膵島細胞腺腫	5	2	4	4	2	0	1	0	3	0
膵島細胞癌	0	2	1	1	0	0	1	0	2	0
転移性腫瘍	0	0	0	0	2	0	2	1	1	0
舌	M:50	F:50	M:50	F:50	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:49
転移性腫瘍	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
食道	M:50	F:50	M:50	F:50	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:49
転移性腫瘍	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
胃	M:50	F:49	M:50	F:49	M:26	F:18	M:26	F:18	M:48	F:49
扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
転移性腫瘍	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
空腸	M:47	F:49	M:47	F:49	M:24	F:17	M:25	F:18	M:45	F:48
腺癌	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
平滑筋腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

M：雄、F：雌

（5/8）

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
直腸	M:49	F:50	M:50	F:50	M:26	F:18	M:25	F:18	M:48	F:49
転移性癌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
下垂体	M:50	F:49	M:50	F:50	M:28	F:18	M:26	F:17	M:50	F:49
下垂体腺腫	19	34	21	32	15	14	13	8	16	31
転移性腫瘍	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
副腎	M:50	F:50	M:50	F:50	M:27	F:18	M:26	F:18	M:50	F:50
皮質細胞腫	5	2	1	4	1	2	0	1	1	4
皮質細胞癌	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1
クロム親和性細胞腫	3	1	8	1	3	0	0	0	7	1
悪性クロム親和性細胞腫	1	2	2	1	0	0	0	0	1	0
転移性腫瘍	0	0	2	0	2	0	1	0	1	0
甲状腺	M:50	F:50	M:50	F:49	M:27	F:18	M:26	F:18	M:49	F:49
濾胞腺腫	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1
濾胞腺癌	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
傍濾胞腺腫	0	2	3	4	1	0	0	0	0	3
傍濾胞腺癌	1	1	0	3	0	0	0	0	0	0
転移性腫瘍	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
上皮小体	M:50	F:48	M:49	F:47	M:28	F:17	M:25	F:17	M:49	F:48
腺腫	1	0	2	0	1	0	0	0	2	0
転移性腫瘍	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
骨髄	M:50	F:50	M:50	F:50	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:49
転移性腫瘍	0	0	2	0	3	0	2	1	2	0
造血組織	M:0	F:0	M:2	F:0	M:3	F:0	M:2	F:1	M:2	F:0
骨髄性白血病	/	/	1	/	3	/	1	0	1	/
リンパ腫	/	/	1	/	0	/	0	1	1	/
組織球肉腫	/	/	0	/	0	/	1	0	0	/
胸腺	M:48	F:44	M:48	F:44	M:22	F:18	M:26	F:14	M:42	F:47
悪性線維性組織球腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
転移性腫瘍	1	0	1	0	1	0	2	1	1	0
脾臓	M:50	F:50	M:50	F:49	M:27	F:17	M:25	F:18	M:49	F:50
血管肉腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
組織球肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
転移性腫瘍	0	0	2	0	4	0	1	1	2	0

M：雄、F：雌、/：検査対象外

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
リンパ節	M:6	F:3	M:6	F:1	M:7	F:0	M:3	F:3	M:7	F:3
転移性腫瘍	0	0	1	0	3	/	1	0	2	0
頸部リンパ節	M:50	F:50	M:49	F:49	M:27	F:18	M:26	F:17	M:49	F:48
転移性腫瘍	1	0	1	0	2	0	1	1	2	0
腸間膜リンパ節	M:49	F:50	M:49	F:49	M:27	F:17	M:26	F:18	M:50	F:47
転移性腫瘍	0	0	0	0	2	0	1	0	2	0
脳	M:50	F:50	M:50	F:50	M:28	F:18	M:25	F:18	M:50	F:50
星状膠細胞腫	1	0	0	0	0	0	0	1	3	0
混合性神経膠腫	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
髄膜肉腫	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
転移性腫瘍	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0
坐骨神経	M:50	F:50	M:50	F:50	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:50
転移性腫瘍	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
皮膚	M:50	F:50	M:50	F:50	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:50
角化棘細胞腫	7	0	3	0	1	0	1	0	2	0
扁平上皮乳頭腫	1	1	2	0	1	0	1	0	3	0
内反性乳頭腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
基底細胞腺癌	1	1	0	0	0	0	1	0	2	0
毛包上皮腫	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
皮脂腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
乳腺線維腺腫	1	27	3	26	0	8	0	4	1	28
乳腺腺癌	0	5	0	9	0	1	0	2	0	4
筋上皮腫	0	0	0	3	0	0	0	0	0	1
線維腫	7	1	8	0	3	1	4	2	8	0
線維脂肪腫	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0
脂肪腫	2	1	4	2	1	0	0	1	7	1
線維肉腫	3	2	2	1	1	0	1	0	0	0
血管内皮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
組織球肉腫	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0
悪性線維性組織球腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
神経鞘腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

M：雄、F：雌、/：検査対象外

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
乳房領域	M:50	F:50	M:50	F:50	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:50
乳房線維腺腫	1	27	3	28	1	8	0	4	2	30
乳腺腺癌	0	6	0	11	0	1	0	2	0	4
筋上皮腫	0	0	0	3	0	0	0	0	0	1
転移性腫瘍	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0
骨格筋	M:50	F:50	M:50	F:50	M:27	F:18	M:26	F:18	M:50	F:50
血管腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
転移性腫瘍	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0
横隔膜	M:0	F:0	M:1	F:0	M:1	F:0	M:0	F:0	M:0	F:0
転移性腫瘍	/	/	0	/	1	/	/	/	/	/
胸骨	M:50	F:50	M:50	F:49	M:28	F:18	M:26	F:18	M:50	F:49
骨肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
転移性腫瘍	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0
脊椎	M:0	F:0	M:0	F:0	M:0	F:0	M:1	F:0	M:0	F:1
転移性腫瘍	/	/	/	/	/	/	1	/	/	0
頭部	M:2	F:1	M:1	F:0	M:1	F:0	M:1	F:0	M:3	F:0
転移性腫瘍	1	1	1	/	1	/	1	/	2	/
前肢	M:3	F:0	M:3	F:0	M:1	F:0	M:0	F:0	M:0	F:1
扁平上皮乳頭腫	0	/	1	/	0	/	/	/	/	0
後肢	M:11	F:4	M:17	F:2	M:7	F:1	M:5	F:1	M:15	F:4
転移性腫瘍	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0
精巣	M:50	/	M:50	/	M:28	/	M:26	/	M:50	/
間細胞腺腫	6	/	0	/	2	/	3	/	4	/
中皮腫	0	/	1	/	0	/	0	/	0	/
脂肪肉腫	0	/	0	/	1	/	0	/	0	/
転移性腫瘍	0	/	0	/	0	/	1	/	1	/
精巣上体	M:50	/	M:50	/	M:28	/	M:26	/	M:50	/
過誤腫	0	/	0	/	0	/	0	/	1	/
精嚢	M:50	/	M:50	/	M:28	/	M:26	/	M:50	/
転移性腫瘍	0	/	0	/	1	/	0	/	0	/
前立腺	M:50	/	M:50	/	M:28	/	M:26	/	M:49	/
線維肉腫	0	/	1	/	0	/	0	/	0	/
転移性腫瘍	0	/	0	/	2	/	0	/	0	/

M：雄、F：雌、/：検査対象外

投与量(mg/kg/日)	0（対照 I）		0（対照 II）		100		400		2000	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
卵巣	/	F:49	/	F:50	/	F:18	/	F:18	/	F:48
転移性腫瘍	/	0	/	0	/	0	/	0	/	1
子宮	/	F:50	/	F:50	/	F:18	/	F:18	/	F:49
腺癌	/	1	/	0	/	0	/	0	/	0
血管周囲細胞腫	/	1	/	0	/	0	/	0	/	0
転移性腫瘍	/	0	/	0	/	0	/	0	/	1
子宮頸部	/	F:2	/	F:0	/	F:0	/	F:1	/	F:1
転移性腫瘍	/	0	/	/	/	/	/	1	/	0
眼	M:49	F:49	M:50	F:50	M:26	F:18	M:26	F:18	M:49	F:50
転移性腫瘍	0	0	1	0	3	0	1	0	1	0
ハーダー腺	M:50	F:50	M:50	F:50	M:28	F:18	M:26	F:18	M:49	F:50
転移性腫瘍	0	0	1	0	4	0	1	0	1	0

M：雄、F：雌、/：検査対象外

2.6.7.10.3　マウスを用いた混餌投与による 13 週間反復投与毒性試験

報告書の題名：Defibrotide: 13 week oral toxicity study in mice

被験物質：defibrotide

動物種/系統：	マウス/ Crl:CD-1 (SD)BR	投与期間：	13 週間	試験番号：	239-094-022
投与開始日齢：	39～41 日齢	投与方法：	経口	CTD における記載箇所：	4.2.3.4.3-1
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	溶媒/投与形態：	混餌	GLP 適用：	適
特記事項：	なし	対照群の処置：	被験物質を含まない飼料		

投与量(mg/kg/日)	0（対照）		100		300		1000		2000	
動物数	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10
死亡動物数	1	0	2	2	1	1	1	0	1	0
体重（g）　投与 92 日目	38.11	32.78	37.50	32.50	38.78	32.78	40.44	31.90	41.11	32.70
摂餌量（g/日）　投与 93 日目	7.486	6.975	7.281	7.843	8.489	4.939	7.618	6.071	9.393	7.200
一般状態	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査　投与 13 週目										
MCHC（g/dL）	35.06	33.73	－	－	－	－	－	－	－	37.23**
血液生化学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査[a]　投与 13 週目										
ウロビリノーゲン（EU%）	2.500	2.000	2.000	2.500	2.000	5.000	1.000	5.000	2.000	5.000
尿タンパク（mg/dL）	60.000	60.000	75.000	40.000	50.000	175.000	30.000	300.000	60.000	150.000
器官重量	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
病理解剖学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
病理組織学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－

M：雄、F：雌、－：特記すべき所見なし

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

a：飼育ケージごとの平均値（n=2）を示す。

2.6.7.10.4　ラットを用いた混餌投与による 52 週間反復投与毒性試験

報告書の題名：Defibrotide: 52 week dietary toxicity study in rats with an interim sacrifice after 26 weeks

被験物質：defibrotide

動物種/系統：	ラット/ Crl:CD (SD)	投与期間：	52 週間	試験番号：	57-0-094-006
投与開始日齢：	40～42 日齢	投与方法：	経口	CTD における記載箇所：	4.2.3.4.3-2
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	溶媒/投与形態：	混餌	GLP 適用：	適
		対照群の処置：	被験物質を含まない飼料		
特記事項：	各群雌雄 10 例を投与 26 週目に、残りの動物を投与 52 週目に計画剖検した。				

投与量(mg/kg/日)	0（対照）		80		400		2000	
動物数	M:30	F:30	M:30	F:30	M:30	F:30	M:30	F:30
死亡/瀕死期安楽死処置動物数	0	2	5	1	0	0	0	1
体重（g）　投与 364 日目	658	388	677	358	681	412	640	333
摂餌量（g/日）　投与 365 日目	27.2	23.2	28.5	21.3	25.2	22.2	26.2	20.0
摂水量（g/日）　投与 350 日目	38.8	37.8	27.9	36.6	27.7	47.7	28.7	42.1
一般状態	－	－	－	－	－	－	－	－
眼科学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
血液生化学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査　投与 26 週目								
pH	8.1	6.8	7.4*	7.2	6.9**	6.4	7.3*	6.8
器官重量	－	－	－	－	－	－	－	－
病理解剖学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－
病理組織学的検査	－	－	－	－	－	－	－	－

M：雄、F：雌、－：特記すべき所見なし

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

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

重要な試験以外の試験（1/2）

被験物質：defibrotide

動物種/系統	投与方法（溶媒/投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg/日）	一群の動物数	特記すべき所見	試験番号（CTD 記載箇所）
ラット CFY SD	筋肉内投与、1 日 1 回（生理食塩液）	M：交配前 63 日間 F:交配前 14 日間、交配期間、G0 ～ 14 又は G0～L21	0, 3, 6, 12	M;12, F:24	特記すべき所見なし	16/76299（4.2.3.5.1-1、参考資料）
ラット HSD: SD	持続静脈内投与（生理食塩液）	G6～15	0, 240, 1200, 4800	F:8 (0) F:6 (240) F:6 (1200) F:7 (4800)	≧240：切迫流産、瀕死期安楽死処置、脾臓の腫大、脾臓の赤血球系及び骨髄球系の髄外造血の亢進、子宮及び腹腔での暗赤色液体内容物、泌尿生殖器領域の皮膚の赤色化、頻脈、生存胎児を有する母動物数の減少	79820[redacted]（4.2.3.5.2-1、参考資料）
	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回（6 時間ごと）（生理食塩液）[a]		60, 120, 240	F:8	≧60：切迫流産、瀕死期安楽死処置、脾臓の腫大、子宮及び腹腔での暗赤色液体内容物、泌尿生殖器領域の皮膚の赤色化、投与部位（尾部）の肥厚、生存胎児を有する母動物数の減少 120：生存胎児の全身性浮腫 ≧120：胸部及び頚背部の痂皮、脱毛、吸収胚数の増加 240：投与部位（尾部）の水腫、腰部リンパ節の腫脹	
ラット CFY SD	静脈内投与、1 日 1 回（生理食塩液）	10 日間	0, 75, 150, 300	F:6（非妊娠）	≧150：痙攣、意識消失、筋緊張低下、頻呼吸、嗜眠、歩行不能 300：死亡	21/75822（4.2.3.5.2-2、参考資料）
		G6～15	0, 10, 30, 90	F:20	≧10：体重増加抑制（一過性）	

M：雄、F：雌、G：妊娠日齢（交尾成立日を妊娠 0 日と起算）、L：授乳日齢

a：240、1200、4800 mg/kg/日の用量で持続静脈内投与した結果、重度の毒性徴候が認められたため、投与方法を変更（2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回［6 時間ごと］）した 3 群（60、120、240 mg/kg/日）を追加した。

重要な試験以外の試験（2/2）

動物種/系統	投与方法 （溶媒/投与形態）	投与期間	投与量 （mg/kg/日）	一群の動物数	特記すべき所見	試験番号 （CTD 記載箇所）
ウサギ New Zealand White	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回（6 時間ごと） （生理食塩液）	G6～18	0, 30, 60, 120	F:10	母動物/雌動物： ≧30：死亡又は瀕死期安楽死処置動物数の増加（0: 2 例、30: 7 例、60: 8 例、120：7 例）、全胚吸収の増加、生存胎児を有する母動物数の減少（0: 8 例、30: 1 例、60: 1 例、120：2 例）、ケージトレー上の赤色汚れ及び粘液、便量減少、軟便、蒼白、活動性低下、呼吸困難、胆嚢の膨満及び暗色内容物、肝臓の退色及び暗色化並びに腫大又は硬結、脾臓の腫大、腎臓の退色、子宮の赤色粘液又は薄赤色、薄緑色内容物を有する肥厚 胎児： 30：臍帯ヘルニア 30、120：矮小胎児の発現率の増加（0: 13/69 例、30: 2/4 例、60: 1/7 例、120：8/14 例）	79840[redacted] （4.2.3.5.2-3、参考資料）
ウサギ New Zealand White	静脈内投与、1 日 1 回 （生理食塩液）	13 日間	0, 20, 80, 100, 160[a], 320[a]	F:6 (0, 20, 80) F:2 (100, 160, 320) （非妊娠）	≧20：頻呼吸、散瞳 ≧80：咀嚼運動 ≧160：痙攣 160→100：死亡（肝臓、腎臓、腸血管の鬱血） 320：死亡（肺、肝臓、腎臓、腸血管の鬱血）	19/75687 （4.2.3.5.2-5、参考資料）
		G6～18	0, 20, 40, 80	F:13	≧20：軽度の体重増加抑制 80：頻呼吸、咀嚼運動、散瞳	
ラット CFY SD	筋肉内投与、1 日 1 回 （蒸留水）	G15～L21	0, 3, 6, 12	F:20	特記すべき所見なし	17/75802 （4.2.3.5.3-1、参考資料）

M：雄、F：雌、G：妊娠日齢（交尾成立日を妊娠 0 日と起算）、L：授乳日齢

a：160 及び 320 mg/kg/日群は 2 日目以降 100 mg/kg/日に変更。

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

該当試験なし。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1 ウサギを用いた静脈内投与による胚・胎児発生試験

報告書の題名：Defibrotide embryo-foetal development study in rabbits by intravenous administration

被験物質：defibrotide

試験計画：ICH4.1.3	非準拠	投与期間：	妊娠 6～10 日、妊娠 10～14 日、妊娠 14～18 日	試験番号：	95800
動物種/系統：	ウサギ/New Zealand White	交尾成立日：	妊娠 0 日	CTD における記載箇所：	4.2.3.5.2-4
入荷時週齢：	10～18 週齢	帝王切開日：	妊娠 29 日	GLP 適用：	適
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	投与方法：	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回（6 時間ごと）		
		溶媒/投与形態：	生理食塩液		

特記事項：器官形成期（妊娠期間／胚・胎児発生段階の開始から終了までの期間）を 5 日間連続した 3 つの期間（妊娠 6～10 日、10～14 日、14～18 日）に分割し、対照群、80 mg/kg/日投与群いずれもサブグループ 1～3 を設けた。

無毒性量：F_0 雌 一般状態及び生殖能 80 mg/kg/日

F_1 胚・胎児 80 mg/kg/日未満

（1/2）

被験物質：defibrotide

投与量（mg/kg/日）		0（対照）			80		
投与期間（妊娠日）		6～10	10～14	14～18	6～10	10～14	14～18
母体/雌動物	トキシコキネティクス 血漿中デフィブロチド濃度（μg/mL）	/	/	/	/	46.38[a]	49.84[a]
	交配動物数	14	14	10	14	14	10
	妊娠動物数	5[b]	2	5	4	3	4
	死亡又は瀕死期安楽死処置動物数	0	0	0	0	0	0
	全胚吸収母動物数	1	0	0	0	0	0
	一般状態	―	―	―	―	―	―
	体重（kg）[c]						
	投与初日前日	3.7	3.9	3.6	3.6	3.6	3.5
	投与最終日翌日	3.7	3.9	3.5	3.5	3.5	3.4
	摂餌量（g）[c]						
	投与初日	193.9	191.8	145.8	192.9	210.4	109.9
	投与最終日	197.3	204.1	153.3	197.9	194.5	121.2
	剖検						
	子宮重量（g）[d]	395.0	594.5	467.6	349.0	257.8	369.0

/：評価せず、－：特記すべき所見なし

a：妊娠 10～14 日及び 14～18 日の各 1 例の最終投与日の 1 回目投与開始後 1 時間の測定値。

b：全胚吸収となった 1 例（No.95800097）を含む。

c：妊娠母動物における平均値を Appendix 3（体重）、Appendix 5（摂餌量）より算出した。なお、全胚吸収となった対照群の 1 例（No.95800097）は除外。

d：最終剖検時に生存胎児を有する母動物における平均値を Appendix 6 より算出した。なお、全胚吸収となった対照群の 1 例（No.95800097）は除外。

（2/2）

投与量（mg/kg）		0（対照）			80		
投与期間（妊娠日）		6～10	10～14	14～18	6～10	10～14	14～18
胎児	評価母動物数 [a]	4	2	5	4	2	3
	黄体数 [a]	7.50	13.50	8.60	6.50	5.50	8.67
	着床数 [a]	6.50	11.00	8.00	5.50	5.00	7.33
	着床前死亡率（%）[a,b]	11.25	18.95	7.18	18.13	12.50	15.27
	生存胎児数 [a]	6.25	10.50	7.80	4.75	4.00	7.33
	吸収胚数 [a]	0.25	0.50	0.20	0.75	1.00	0.00
	死亡胎児を有する母動物数 [c]	1	1	1	2	2	0
	着床後死亡率（%）[a,b]	2.08	3.85	2.00	11.25	23.80	0.00
	胎児体重（g）[a]	50.15	38.86	43.23	48.15	53.08	45.20
	胎児の性別比（%、雄性率）[b]	46.09	52.78	53.02	32.74	50.00	45.83
	胎児の異常						
	外表観察動物数	25	21	39	19	9	23
	外表異常が認められた胎児数（%）	3 (12.0)	7 (33.3)	5 (12.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	外表異常が認められた母動物数（%）	2 (50.0)	1 (50.0)	3 (60.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	矮小胎児数（%）	3 (12.0)	7 (33.3)	5 (12.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	内臓観察動物数	25	21	39	19	9	23
	内臓異常が認められた胎児数（%）	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	骨格観察動物数	25	21	39	19	9	23
	骨格異常が認められた胎児数（%）	0 (0.0)	1 (4.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	骨格異常が認められた母動物数（%）	0 (0.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
	Pubis の無骨化	0 (0.0)	1 (4.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

a：生存胎児を有する母動物における平均値を Appendix 7 より算出した。なお、対照群における全吸収胚のみられた母動物並びに 80 mg/kg/日投与群における生存胎児数が 1 例のみの母動物 2 個体（No.95800089, 95800139）は除外。

b：母動物単位での百分率

c：子宮内死亡胎児を有する母動物数を Appendix 7 よりカウントした。

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

該当試験なし。

2.6.7.15 新生児を用いた試験

2.6.7.15.1 反復投与毒性試験（幼若ラット 4 週間反復静脈内投与毒性試験）

報告書の題名：Defidrotide 28 days intravenous repeated toxicity study in juvenile rats followed by a 28 days recovery period

被験物質：defibrotide

動物種/系統：	ラット/HSD: SD	投与期間：	4 週間	試験番号：	82640
投与開始日齢：	21 日齢	休薬期間：	4 週間	CTD における記載箇所：	4.2.3.5.4-1
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	投与方法：	静脈内	GLP 適用：	適
		溶媒/投与形態：	生理食塩液		

特記事項： 0 及び 320 mg/kg/日投与群では 1 群雌雄各 15 例のうち各 5 例を用いて、投与終了後に 4 週間休薬した後の回復性評価を行った。

無毒性量： 40 mg/kg/日未満

（1/4）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		40		150		320	
動物数	M:15	F:15	M:10	F:10	M:10	F:10	M:15	F:15
トキシコキネティクス[a] 投与 28 日目								
$AUC_{0\text{-}tlast}$（μg·hr/mL）	NC	NC	143.47	117.89	620.17	556.13	1848.61	1550.11
$AUC_{0\text{-}\infty}$（μg·hr/mL）	NC	NC	150.81	126.99	625.06	562.23	1857.48	1562.0
C_{max}（μg/mL）	BLQ	BLQ	488.8	468.7	1373.0	1655.0	3666.0	3812.0
$t_{1/2}$ (hr)	NC	NC	0.82	0.92	0.55	0.58	0.54	0.59
死亡及び瀕死期安楽死動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態：投与部位（尾部）								
痂皮形成	0	0	0	0	0	0	1	0
先端部の脱落	0	0	0	0	1	0	0	0
黒色化	0	0	0	0	0	0	0	1
体重（g）[b] 投与29日目	224.21	172.02	224.92	175.23	220.17	171.37	223.41	166.39
摂餌量（g/日）[c] 投与28日目	24.23	19.02	23.50	18.50	23.68	18.98	24.17	17.46

M：雄、F：雌、NC：算出せず、BLQ：定量下限（5.119 μg/mL）未満、－：特記すべき所見なし

a：3 例の平均値

b：対照群及び 320 mg/kg/日投与群では回復性評価に用いた雌雄各 5 例を除いた値を示す（各群 10 例）。

c：各群 2 例の摂餌量。

（2/4）

投与量（mg/kg/日）	0（対照）		40		150		320	
動物数	M:15	F:15	M:10	F:10	M:10	F:10	M:15	F:15
離乳後発生評価								
陰茎亀頭包皮分泌腺開裂（平均日齢）	39.00	/	42.50*	/	41.67*	/	42.20*	/
精巣下降、膣開口、自発運動、Y字型水迷路試験、ロータロッド試験	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査[a]								
網状赤血球数（10^9/L）	336.50	285.60	412.54*	393.34	430.49*	418.55	457.08**	427.79
リンパ球数（10^3/μL）	6.966	6.802	－	－	－	－	9.297*	－
単球比率（%）	3.18	2.57	－	－	2.26*	－	－	－
APTT（sec）	19.48	21.83	－	－	16.94*	－	16.94*	－
血液生化学的検査[a]								
ALP（U/L）	398.65	265.77	－	－	－	－	－	217.45*
ALT（U/L）	36.46	24.12	－	－	－	－	93.97	－
AST（U/L）	89.79	81.57	－	－	－	－	220.24	－
グルコース（mg/dL）	99.99	102.78	－	－	81.86*	－	－	－
総タンパク（g/dL）	5.84	5.70	－	－	－	－	5.58*	－
カルシウム（mmol/L）	2.687	2.688	－	－	－	2.550*	－	－
ナトリウム（mmol/L）	148.46	144.78	－	－	－	142.46*	143.78**	140.77**
投与終了時解剖例数	M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M: 10	F: 10
器官重量								
絶対器官重量								
肝臓（g）	6.808	5.002	－	－	－	－	7.311	－
脾臓（g）	0.6558	0.5550	－	－	0.8081*	－	0.9049**	0.6905[#]
相対器官重量								
脾臓（%）	0.3037	0.3362	－	－	0.3840**	0.4018[#]	0.4270**	0.4412[#]

M：雄、F：雌、/：該当なし、－：特記すべき所見なし

*：$p<0.05$、**：$p<0.01$（Dunnett's test）、#：$p<0.05$（Modified t test）

a：対照群及び 320 mg/kg/日投与群では回復性評価に用いた雌雄各 5 例を除いた値を示す（各群 10 例）。

（3/4）

投与量（mg/kg/日）		0（対照）		40		150		320	
動物数		M:15	F:15	M:10	F:10	M:10	F:10	M:15	F:15
投与終了時解剖例数		M:10	F:10	M:10	F:10	M:10	F:10	M: 10	F: 10
病理解剖学的検査									
脾臓									
腫脹		0	1	3	5	6	4	7	6
病理組織学的検査									
脾臓									
胚中心（B細胞領域）の過形成	軽微	2	2	0	0	0	0	0	0
	軽度	0	0	6	4	1	2	2	2
	中等度	0	0	4	5	9	7	8	8
肝臓									
小葉中心性肝細胞空胞化	軽度	0	0	0	0	0	0	2	0
髄外造血の亢進		2	0	4	0	4	0	6	3

M：雄、F：雌

回復性の評価									
投与量（mg/kg/日）	0（対照）		40		150		320	
動物数	M:5	F:5	M:0	F:0	M:0	F:0	M:5	F:5
一般状態	―	―					―	―
体重（g）　回復29日目	354.75	221.83					343.57	217.04
摂餌量（g/日）[a]　回復29日目	24.0	18.4					23.7	18.1
離乳後発生評価（Y字型水迷路試験）	―	―					―	―
血液学的検査[a]								
白血球数（10^3/μL）	11.112	7.060					8.114*	―
リンパ球数（10^3/μL）	9.358	6.096					6.300**	―
好中球比率（%）	9.52	8.14					15.48*	―
リンパ球比率（%）	84.46	86.14					77.98*	―
大型非染色細胞比率（%）	0.66	0.52					―	0.84**
APTT（sec）	20.90	16.42					19.38*	―
血液生化学的検査[a]								
尿素（mg/dL）	41.38	46.12					51.12**	57.48**
クロール（mmol/L）	103.98	106.76					105.74**	―
器官重量								
絶対器官重量	―	―					―	―
相対器官重量	―	―					―	―
病理解剖学的検査	―	―					―	―
病理組織学的検査	―	―					―	―

M：雄、F：雌、―：特記すべき所見なし

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

a：各群 1 例の摂餌量。

2.6.7.15.2　反復投与毒性試験（幼若ラット 4 週間反復静脈内投与毒性試験（2））

報告書の題名：Defibrotide 28 day intravenous repeated toxicity study in juvenile rats followed by a 6 day recovery period

被験物質：defibrotide

動物種/系統：	ラット/HSD: SD	投与期間：	28 日間	試験番号：	85800
投与開始日齢：	21 日齢	休薬期間：	6 日間	CTD における記載箇所：	4.2.3.5.4-2
初回投与年月日：	[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日	投与方法：	静脈内	GLP 適用：	適
		溶媒/投与形態：	生理食塩液		

特記事項：　なし

無毒性量：　320 mg/kg/日

被験物質	Vehicle	デフィブロチドナトリウム	パラベン混合物
投与量（mg/kg/日）	0（対照）	320	4 mL/kg
動物数	M:10	M:10	M:10
死亡及び瀕死期安楽死動物数	0	0	0
陰茎亀頭包皮分泌腺開裂（平均日齢）	40.90	43.80	42.40
精巣下降	－	－	－

M：雄、－：特記すべき所見なし

2.6.7.16 局所刺激試験

被験物質：defibrotide

動物種/系統	投与方法 （溶媒/投与形態）	投与期間	投与量 （mg/kg/日）	一群の動物数	特記すべき所見	試験番号 （CTD 記載箇所）
ラット Crl:CD(SD)	持続静脈内投与 （生理食塩液）	13 週間 [a]	0, 240, 1200, 4800	M:15, F:15	≧0：投与部位又はカテーテル挿入部位の腫脹、痂疲形成 240：投与部位のマクロファージ空胞化（F） ≧1200：投与部位のマクロファージ空胞化	1529-001 （4.2.3.2-3、評価資料）
イヌ Beagle	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回（6 時間ごと） （生理食塩液）	13 週間	0, 60, 300, 1600	M:4, F:4	≧0：投与部位の局所炎症（一過性）	1529-002 （4.2.3.2-6、評価資料）

局所刺激試験は実施せず、反復投与毒性試験の一部として評価を行った。

M：雄、F：雌

a：カテーテル留置による一般状態悪化のため死亡又は瀕死期安楽死処置となったため、13 週間の試験期間を 9 週間（65 日間）に短縮し解剖した。

2.6.7.17 その他の毒性試験

被験物質：defibrotide

動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び一群の動物数	特記すべき所見	試験番号（CTD 記載箇所）
抗原性試験						
ラット Crl:CD (SD)	持続静脈内投与	13 週間 [a]	0, 240, 1200, 4800	M:3, F:3	ラット [b] 及びイヌ [c] において、抗デフィブロチド抗体、抗 Platelet Factor 4-ヘパリン複合体抗体及び抗リン脂質抗体の産生は認められなかった。	RB2010020（4.2.3.7.1-1、参考資料）
イヌ Beagle	2 時間かけて静脈内投与、1 日 4 回（6 時間ごと）	13 週間	0, 60, 300, 1600（0, 15, 75, 400 mg/kg/回）	M:4, F:4		
モルモット Dunkin-Hartley	静脈内投与、腹腔内投与、皮下投与、週 1 回	8 週間	1 週目：10 2～8 週目：1	M:6	能動的及び受動的皮膚アナフィラキシー並びに全身性アナフィラキシーを誘発しなかった。	111035（4.2.3.7.1-2、参考資料）
免疫毒性試験						
マウス $CD2F_1$	腹腔内投与、経口投与	4 週間（5 日間投与＋2 日間休薬/週）	0, 10, 100	M:8≦	免疫学的反応（T 細胞依存性抗体産生、マクロファージ依存性細胞障害、並びに PHA、ConA 及び LPS 誘導リンパ球幼若化反応）に対する影響なし。	10200（4.2.3.7.2-1、参考資料）
$CD2F_1$ マウス及び C3H/HeN マウス由来脾細胞	*In vitro*	4, 18 時間	0, 0.1, 1, 10, 100, 1000 µg/mL	－	^{51}Cr 標識マウスリンパ腫細胞 YAC-1（標的細胞）に対する NK 細胞活性に影響なし。	10189（4.2.3.7.2-2、参考資料）
健常人由来末梢白血球	*In vitro*	4, 18 時間	0, 1, 10, 100, 1000 µg/mL	－	^{51}Cr 標識ヒト慢性骨髄性白血病細胞 K562（標的細胞）に対する NK 細胞活性に影響なし。	
マウス $CD2F_1$	腹腔内投与、経口投与	4 週間（5 日間投与＋2 日間休薬/週）	0, 10, 100	M:6≦	^{51}Cr 標識マウスリンパ腫細胞 YAC-1（標的細胞）に対する NK 細胞活性に影響なし。	

M：雄、F：雌

a：カテーテル留置による一般状態悪化のため死亡又は瀕死期安楽死処置となったため、13 週間の試験期間を 9 週間（65 日間）に短縮し解剖した。

b：ラット 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-001、資料番号 4.2.3.2-3）で採取した血清試料を使用した。

c：イヌ 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 1529-002、資料番号 4.2.3.2-6）で採取した血清試料を使用した。

2.6.7.18 参考文献

該当資料なし。