ラスビック錠 75mg

(ラスクフロキサシン塩酸塩)

第 2 部　CTD の概要(サマリー)

2.6.6　毒性試験の概要文

杏林製薬株式会社

目次

略語及び専門用語一覧表 3
2.6.6.1　まとめ 4
2.6.6.2　単回投与毒性試験 8
2.6.6.3　反復投与毒性試験 9
2.6.6.4　遺伝毒性試験 14
2.6.6.5　がん原性試験 17
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 17
2.6.6.7　局所刺激性試験 22
2.6.6.8　その他の毒性試験 22
2.6.6.9　考察及び結論 26
2.6.6.10　図表 34
2.6.6.11　参考文献 34

表一覧

表 2.6.6.1-1　毒性試験プログラム 4
表 2.6.6.9-1　反復投与毒性試験で見られた主な所見の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度の比較 27
表 2.6.6.9-2　各生殖発生毒性試験の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度との比較 31
表 2.6.6.9-3　未成熟イヌにおける関節毒性の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度との比較 33

略語及び専門用語一覧表

略語及び専門用語	用語の説明
A/G	アルブミン/グロブリン
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血漿中濃度曲線下面積
$AUC_{0\text{-}24}$	24 時間までの AUC
AUC_t	投与間隔(t = 24 時間)までの AUC
CHL/IU 細胞	チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞
C_{max}	最高血漿中濃度
CPFX	シプロフロキサシン(Ciprofloxacin)
DMSO	ジメチルスルホキシド(Dimethyl sulfoxide)
E. coli	*Escherichia coli*
ENX	エノキサシン(Enoxacin)
FOB	機能観察総合評価法
GFLX	ガチフロキサシン(Gatifloxacin)
gpt delta ラット	大腸菌 *gpt* 遺伝子導入ラット
GRNX	ガレノキサシン(Garenoxacin)
LFLX	ロメフロキサシン(Lomefloxacin)
LVFX	レボフロキサシン(Levofloxacin)
MATE	Multidrug and toxic compound extrusion
MATE1	Multidrug and toxic compound extrusion 1
MATE2-K	Multidrug and toxic compound extrusion 2-K
MFLX	モキシフロキサシン(Moxifloxacin)
QTc	補正 QT
S. typhimurium	*Salmonella typhimurium*
TK	トキシコキネティクス
Tg-rasH2 マウス	ヒト型 c-Ha-ras 遺伝子導入マウス
UVA	A 領域紫外線
VLDL	超低密度リポタンパク質
マウスリンフォーマ *Tk*	マウスリンフォーマ・チミジンキナーゼ

2.6.6.1　まとめ

実施した毒性試験を以下に示す。被験物質は AM-1977 塩酸塩を使用したが、AM-1977(フリー体)としての投与量及び濃度を記載した。また、代謝物は AM2012-008(フリー体)を使用した。

これらの毒性試験は、厚生省令第 21 号「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」(1997 年 3 月 26 日)を遵守して実施した。

表 2.6.6.1-1　毒性試験プログラム

試験の種類及び期間	動物種	投与経路	試験番号	資料番号
単回投与毒性試験	イヌ	静脈内	[redacted]	4.2.3.1-1
反復投与毒性試験				
2 週間	ラット	経口	A[redacted]SR03	4.2.3.2-1
		静脈内	[redacted]	4.2.3.2-3
	イヌ	経口	A[redacted]SD04	4.2.3.2-5
		静脈内	[redacted]	4.2.3.2-7
4 週間	ラット	経口	A[redacted]SR04	4.2.3.2-2
		静脈内	[redacted]	4.2.3.2-4
	イヌ	経口	A[redacted]SD07	4.2.3.2-6
		静脈内	[redacted]	4.2.3.2-8
	サル	経口	[redacted]	4.2.3.2-9
遺伝毒性試験				
復帰突然変異	*S. typhimurium*、*E. coli*	*in vitro*	[redacted]	4.2.3.3.1-1
染色体異常	CHL/IU 細胞	*in vitro*	A[redacted]MC07	4.2.3.3.1-2
マウスリンフォーマ *Tk*	L5178Y *tk*$^{-}$ 細胞	*in vitro*	[redacted]	4.2.3.3.1-3
小核	ラット	経口	A[redacted]MR04	4.2.3.3.2-1
	ラット	静脈内	[redacted]	4.2.3.3.2-2
不定期 DNA 合成	ラット	経口	[redacted]	4.2.3.3.2-3
遺伝子突然変異	F344/NSlc-Tg (*gpt* delta)ラット	経口	[redacted]	4.2.3.3.2-4
がん原性試験				
26 週間	Tg-rasH2 マウス	経口	[redacted]	4.2.3.4.2-1
生殖発生毒性試験				
受胎能及び着床までの初期胚発生	ラット	経口	A[redacted]FR01	4.2.3.5.1-1
胚・胎児発生(用量設定)	ラット	経口	[redacted]	4.2.3.5.2-1
		静脈内		4.2.3.5.2-3
	ウサギ	経口		4.2.3.5.2-4
		静脈内		4.2.3.5.2-6
胚・胎児発生	ラット	経口		4.2.3.5.2-2
	ウサギ	経口		4.2.3.5.2-5
出生前及び出生後の発生並びに母体の機能	ラット	経口		4.2.3.5.3-1
その他の毒性試験				
光毒性	ラット	経口	[redacted]	4.2.3.7.1-1
関節毒性	イヌ	静脈内	[redacted]	4.2.3.7.2-1
代謝物の毒性試験				
復帰突然変異	*S. typhimurium*、*E. coli*	*in vitro*	[redacted]	4.2.3.7.3-1
マウスリンフォーマ *Tk*	L5178Y *tk*$^{-}$ 細胞	*in vitro*	[redacted]	4.2.3.7.3-2
遺伝子突然変異	F344/NSlc-Tg (*gpt* delta)ラット	皮下	[redacted]	4.2.3.7.3-6
胚・胎児発生	ラット	皮下	[redacted]	4.2.3.7.3-3
不純物の毒性試験				
復帰突然変異	*S. typhimurium*、*E. coli*	*in vitro*	[redacted]	4.2.3.7.4-1
遺伝子突然変異	Muta™ マウス	静脈内	[redacted]	4.2.3.7.4-2

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

ラット 2 週及び 4 週間反復経口投与毒性試験(20、80 及び 300 mg/kg)の投与 1 日目(初回投与後)の試験成績より、概略の致死量は 300 mg/kg 以上と推定された。

イヌ 2 週及び 4 週間反復経口投与毒性試験(10、30 及び 100 mg/kg)の投与 1 日目(初回投与後)の試験成績より、概略の致死量は 100 mg/kg 以上と推定された。

サル 4 週間反復経口投与毒性試験(7.5、15 及び 30 mg/kg)の投与 1 日目(初回投与後)の試験成績より、概略の致死量は 30 mg/kg 以上と推定された。

ラット 2 週及び 4 週間反復静脈内投与毒性試験(10、30 及び 100 mg/kg)の投与 1 日目(初回投与後)の試験成績より、概略の致死量は 100 mg/kg 以上と推定された。

イヌ単回静脈内投与毒性試験(25、50 及び 75 mg/kg)における概略の致死量は 75 mg/kg 以上と推定された。

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

2.6.6.1.2.1 ラット反復経口投与毒性試験

ラット 2 週間反復経口投与試験(20、80 及び 300 mg/kg)では、300 mg/kg 群の雄に体重増加抑制、一過性の摂餌量減少、並びに総コレステロール、遊離コレステロール及び ALT の軽度高値が、雌雄に肺の肺胞マクロファージの集簇及び脾臓の白脾髄に胚中心形成が認められた。したがって、無毒性量は 80 mg/kg/日と推定された。

ラット 4 週間反復経口投与試験(20、80 及び 300 mg/kg)では、300 mg/kg 群の雄に体重増加抑制、リン脂質、総コレステロール及び遊離コレステロールの高値が、雌に ALT の軽度高値が認められた。80 mg/kg 以上の群では、雌雄で脾臓の白脾髄に胚中心形成が認められた。したがって、無毒性量は 20 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.1.2.2 ラット反復静脈内投与毒性試験

ラット 2 週間反復静脈内投与試験(10、30 及び 100 mg/kg)では、100 mg/kg 群の雌雄に不規則呼吸、運動性低下及び半眼が、雌に流涎が、雄に体重増加抑制傾向、摂餌量減少及び脾臓の白脾髄に胚中心形成が認められた。したがって、無毒性量は 30 mg/kg/日と推定された。

ラット 4 週間反復静脈内投与試験(10、30 及び 100 mg/kg)では、100 mg/kg 群の雌雄に不規則呼吸、運動性低下及び半眼が、雄に体重増加抑制及び摂餌量減少が、雌に尾の肉眼的変化(変色、硬化及び先端部欠落)及び病理組織変化(血管壁の外傷性変化、血塊、血管周囲の炎症及び皮膚炎)が認められた。したがって、無毒性量は 30 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.1.2.3 イヌ反復経口投与毒性試験

イヌ 2 週間反復経口投与試験(10、30 及び 100 mg/kg)では、100 mg/kg 群の雌雄に嘔吐、QTc 間隔の延長及び心拍数の増加が、雄に体重増加抑制が、雌に体重及び摂餌量の減少、並びに大腿骨膝関節軟骨表面に陥凹及びブリスターが認められた。また、30 mg/kg 群の雌に QTc 間隔の延長、大腿骨膝関節軟骨表面に陥凹及びブリスターが認められた。したがって、無毒性量は雄が 30 mg/kg/日、雌が 10 mg/kg/日と推定された。

イヌ 4 週間反復経口投与試験(10、30 及び 100 mg/kg)では、100 mg/kg 群の雌雄に摂餌量減少、QTc 間隔の延長、大腿骨関節軟骨表面に陥凹及びブリスターが、雄に嘔吐及び体重増加抑制が、雌に体重減少が認められた。また、30 mg/kg 群の雌に QTc 間隔の延長が認められた。したがって、無毒性量は雄が 30 mg/kg/日、雌が 10 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.1.2.4 イヌ反復静脈内投与試験

イヌ 2 週間反復静脈内投与試験(12.5、30 及び 75 mg/kg)では、75 mg/kg 群の雌雄に一般状態の変化(嘔吐、嘔吐物、吐気、流涎、運動性低下、半眼、振戦及び間代性痙攣)、体重及び摂餌量の減少、心拍数の増加、QT/QTc 間隔の延長、血液学的検査の変化(白血球数及び網赤血球数・比の低値)、血液化学的検査の変化(A/G 比、総コレステロール及び遊離コレステロールの高値)、肉眼的変化(上腕骨又は尺骨の関節軟骨に陥凹、肥厚又は隆起並びに関節腔の滑液増加)、並びに病理組織変化(上腕骨又は大腿骨の関節軟骨にブリスター、胆嚢に出血又は出血・線維化、胃に変性壁細胞の増加、脾臓、下顎リンパ節及び腸間膜リンパ節に濾胞萎縮)が認められたほか、雄に血小板数の低値及び胸腺重量の減少が、雌にアルブミンの高値が認められた。また、30 mg/kg 群の雌雄に嘔吐及び嘔吐物が観察された。したがって、無毒性量は 12.5 mg/kg/日と推定された。

イヌ 4 週間反復静脈内投与試験(12.5、30 及び 75 mg/kg)では、75 mg/kg 群の雌雄に一般状態の変化(嘔吐、嘔吐物、流涎、半眼、運動性低下、よろめき歩行)、摂餌量減少、心拍数の増加、QTc 間隔の延長、血液学的検査の変化(白血球数、好中球数・比及び網赤血球数・比の低値)、血液化学的検査の変化(総コレステロール及び遊離コレステロールの高値)、大腿骨頭、膝関節又は上腕骨滑車に陥凹及びブリスター、投与部位(前肢静脈)に血栓形成が認められたほか、雄に横臥位、間代性痙攣及び単球数・比の低値が、雌に PR 間隔の短縮及び好酸球数・比の低値が認められた。また、30 mg/kg 群の雌雄に嘔吐、嘔吐物及び投与部位(前肢静脈)の血栓形成が、雌に流涎が認められた。したがって、無毒性量は 12.5 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.1.2.5 サル反復経口投与毒性試験

サル 4 週間反復経口投与試験(7.5、15 及び 30 mg/kg)では、30 mg/kg 群の雌雄に QTc 間隔の延長が認められた。したがって、本試験の無毒性量は 15 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

2.6.6.1.3.1 *In vitro* 試験

細菌を用いる復帰突然変異試験を行った結果、復帰突然変異誘発能は認められなかったが、ほ乳類の培養細胞を用いるマウスリンフォーマ試験にて遺伝子突然変異誘発能を示した。また、ほ乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験では、代謝活性化系の有無に関わらず、短時間処理法、連続処理法ともに染色体構造異常が認められ、CHL/IU 細胞に対し染色体異常誘発作用を示すことが確認された。

2.6.6.1.3.2 *In vivo* 試験

ラット経口投与小核試験(250、500 及び 1000 mg/kg)及びラット静脈内投与小核試験(10、30 及び 100 mg/kg)を実施した結果、小核誘発作用は認められなかった。また、ラット肝を用いる不定期 DNA 合成試験(500 及び 1000 mg/kg)では、DNA 損傷誘発作用は認められなかった。*gpt* delta ラットを用いる遺伝子突然変異試験(75、150 及び 300 mg/kg)を実施した結果、遺伝子突然変異誘発能は認められなかった。

2.6.6.1.4 がん原性試験

Tg-rasH2 マウスの 26 週間がん原性試験(雄 : 50、100 及び 200 mg/kg、雌 : 75、150 及び 300 mg/kg)を実施した結果、がん原性は認められなかった。

2.6.6.1.5　生殖発生毒性試験

2.6.6.1.5.1　受胎能及び初期胚発生に関する試験

ラット受胎能及び初期胚発生に関する経口投与試験(20、80 及び 300 mg/kg)では、300 mg/kg 群の雌に死亡が見られた。生存例では、300 mg/kg 群の雄に摂餌量減少、排便減少又は無便並びに体重増加抑制が、20 mg/kg 以上の群の雌に体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。雌雄の生殖機能及び初期胚発生への影響は認められなかった。したがって、親動物の一般毒性に関する無毒性量は、雄で 80 mg/kg/日、雌で 20 mg/kg/日未満、生殖機能及び初期胚発生に関する無毒性量は 300 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.1.5.2　ラット胚・胎児発生に関する試験

ラット胚・胎児発生に関する経口投与試験(3、30 及び 300 mg/kg)では、母動物に関する変化として、30 及び 300 mg/kg 群に体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。生殖機能に関する変化は認められなかった。胚・胎児発生に関わる変化として、300 mg/kg 群に生存胎児体重の低値、生存胎児の内臓異常、骨格異常、骨格変異及び骨化遅延が認められた。したがって、母動物の一般毒性に関する無毒性量は 3 mg/kg/日、生殖機能に関する無毒性量は 300 mg/kg/日、胚・胎児発生に関する無毒性量は 30 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.1.5.3　ウサギ胚・胎児発生に関する試験

ウサギ胚・胎児発生に関する経口投与試験(1、5 及び 30 mg/kg)では、母動物に関する変化として、30 mg/kg 群に死亡のほか体重増加抑制及び摂餌量減少が、5 mg/kg 群に摂餌量減少が認められた。生殖機能に関する変化として、30 mg/kg 群で妊娠維持への影響(母動物の死亡)が認められた。胚・胎児発生に関する変化として、30 mg/kg 群に着床前死亡率の高値傾向及び生存胎児数の減少が認められた。したがって、母動物の一般毒性に関する無毒性量は 1 mg/kg/日、生殖機能に関する無毒性量及び胚・胎児発生に関する無毒性量はいずれも 5 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.1.5.4　ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

ラット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(3、30 及び 300 mg/kg)では、母動物に関する変化として、30 及び 300 mg/kg 群に体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。生殖機能に関する変化は認められなかった。出生児に関わる変化として、300 mg/kg 群に 4 日生存率の低値、体重増加抑制及び発育分化の遅延が認められた。行動機能検査及び生殖機能に変化は認められなかった。したがって、母動物の一般毒性に関する無毒性量は 3 mg/kg/日、生殖機能に関する無毒性量は 300 mg/kg/日、出生児に関する無毒性量は 30 mg/kg/日と推定された。

2.6.6.1.6　その他の毒性試験

2.6.6.1.6.1　光毒性試験

ラットの単回経口投与光毒性試験(100 及び 1000 mg/kg)では、耳介及び背部の皮膚反応、耳介厚、眼科的検査及び眼球の病理組織学的検査に異常はなく、光毒性反応は認められなかった。

2.6.6.1.6.2　関節毒性試験

成熟イヌ関節毒性試験(30 及び 75 mg/kg)では、肩、肘、手根、股、膝及び足根関節に異常は認められなかった。

2.6.6.1.6.3　代謝物の毒性試験

AM2012-008 の *in vitro* 遺伝毒性試験として、細菌を用いる復帰突然変異試験を行った結果、復帰突然変異誘発能は認められなかったが、ほ乳類の培養細胞を用いるマウスリンフォーマ試験にて遺伝子突然変異誘発作用を示した。*gpt* delta ラットを用いる遺伝子突然変異試験(5、10 及び 20 mg/kg)を実施した結果、遺伝子突然変異誘発能は認められなかった。

AM2012-008 のラット胚・胎児発生に関する皮下投与試験(10、20 及び 30 mg/kg)では、母動物の一般毒性、生殖機能及び胚・胎児発生について AM2012-008 の毒性学的影響は認められなかった。

2.6.6.1.6.4　不純物の毒性試験

物質A*　の細菌を用いる復帰突然変異試験を行った結果、復帰突然変異誘発能が認められたが、トランスジェニックマウスを用いる遺伝子突然変異試験では遺伝子突然変異誘発能を示さなかった。

*新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

ラット、イヌ及びサルの単回経口投与毒性試験を実施しなかったため、各反復経口投与毒性試験における投与 1 日目(初回投与後)の試験成績を示す。ラットでは雌雄とも 300 mg/kg まで死亡並びに本薬に起因した一般状態の変化は観察されなかった[資料番号 4.2.3.2-1 及び 4.2.3.2-2]。イヌでは雌雄とも 100 mg/kg まで死亡は認められなかったが、100 mg/kg 群で嘔吐及び軟便が観察された[資料番号 4.2.3.2-3 及び 4.2.3.2-4]。サルでは雌雄とも 30 mg/kg まで死亡並びに本薬に起因した一般状態の変化は観察されなかった[資料番号 4.2.3.2-9]。

また、ラットの単回静脈内投与毒性試験についても実施しなかったため、反復静脈内投与毒性試験における投与 1 日目(初回投与後)の試験成績を示す。雌雄とも 100 mg/kg まで死亡は認められなかったが、100 mg/kg 群で不規則呼吸、運動性低下及び半眼といった中枢神経系への影響が観察された[資料番号 4.2.3.2-5 及び 4.2.3.2-6]。

2.6.6.2.1　イヌ単回静脈内投与毒性試験

資料番号 4.2.3.1-1

AM-1977 の 25、50 及び 75 mg/kg を 6 箇月齢の雄性ビーグル犬に単回静脈内投与し、毒性を評価した。各群 2 頭とし、観察期間は 14 日間とした。

いずれの投与量でも死亡例は見られなかった。75 mg/kg 群では、流涎、少量の嘔吐、よろめき歩行、運動性低下、舌なめずり、吐気及び一過性の強直性痙攣が認められた。50 mg/kg 群では、流涎、少量の嘔吐、よろめき歩行、運動性低下及び舌なめずりが、25 mg/kg 群ではよろめき歩行が 1 例に認められた。なお、体重推移、血液学的検査、血液化学的検査及び剖検所見に毒性学的変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験における概略の致死量は 75 mg/kg/以上と推定された。

TK では、用量比に伴った曝露の増加が確認され、75 mg/kg 群の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は 91.0 μg/mL 及び 203 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施したイヌ単回及び 5 日間反復静脈内投与試験(50 及び 75 mg/kg)で、75 mg/kg 群に強直性及び間代性痙攣、嘔吐並びに自発運動の減少などが認められ、50 mg/kg 群に嘔吐及び自発運動の減少が認められたことから、75 mg/kg を高用量とし、公比 1.5 及び 2 で 50 及び 25 mg/kg 群を設定した[資料番号 4.2.3.2-12]。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

2.6.6.3.1　ラット 2 週間反復経口投与毒性試験

資料番号 4.2.3.2-1

AM-1977 の 20、80 及び 300 mg/kg を 6 週齢の雌雄 SD 系ラット(各群 10 匹)に 2 週間反復経口投与し、毒性を評価した。対照群及び 300 mg/kg 群(各群 6 匹)には更に 2 週間の休薬期間を設け、回復性を検討した。

いずれの投与量でも死亡例は見られなかった。300 mg/kg 群では、雄で体重増加抑制、一過性の摂餌量減少、並びに総コレステロール、遊離コレステロール及び ALT の軽度高値が認められた。また、雌雄で肺の肺胞マクロファージの集簇、並びに脾臓の白脾髄に胚中心形成が認められた。これらの変化は、いずれも 2 週間の休薬後に回復した。そのほか、AM-1977 投与群の雌雄で尿中電解質(Na、K、Na/K 比)及び尿比重の低値又は低値傾向、並びに盲腸の腫大及び重量増加が認められたが、これらは AM-1977 の薬理作用に関連した変化と考えられた。

以上の結果より、本試験の無毒性量は 80 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与 1 及び 14 日目ともに投与量の増加に伴って曝露量は増加した。C_{max} 及び AUC_{0-24} に雌雄差は認められなかった。投与 14 日目の 80 mg/kg 群の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雄で 4.90 μg/mL 及び 60.6 μg·h/mL、雌で 5.51 μg/mL 及び 45.4 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施したラット 4 日間反復経口投与試験(100、300 及び 1000 mg/kg)において、1000 mg/kg 群で体重減少及び顕著な摂餌量減少、300 mg/kg 群で体重増加抑制及び軽度の摂餌量減少、100 mg/kg 群で体重増加抑制が認められたため、高用量は 300 mg/kg とし、公比約 4 で 80 及び 20 mg/kg を設定した[資料番号 4.2.3.2-10]。

2.6.6.3.2　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験

資料番号 4.2.3.2-2

AM-1977 の 20、80 及び 300 mg/kg を 6 週齢の雌雄 SD 系ラット(各群 10 匹)に 4 週間反復経口投与し、毒性を評価した。対照群及び 300 mg/kg 群(各群 6 匹)には更に 4 週間の休薬期間を設け、回復性を検討した。

いずれの投与量でも死亡例は見られなかった。300 mg/kg 群では、雄で体重増加抑制、リン脂質、総コレステロール及び遊離コレステロールの高値、雌で ALT の軽度高値が認められた。また、80 mg/kg 以上の群の雌雄で脾臓の白脾髄に胚中心形成が認められた。これらの変化は、いずれも 4 週間の休薬後に回復又は回復傾向を示した。そのほか、AM-1977 投与群の雌雄で盲腸の腫大及び重量増加が、300 mg/kg 群の雄で尿中 Na/K 比の低値が認められたが、これらは AM-1977 の薬理作用に関連した変化と考えられた。薬理作用に関連したいずれの変化も、4 週間の休薬により、回復又は回復傾向を示した。

以上の結果より、本試験の無毒性量は 20 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与 1 及び 28 日目ともに投与量の増加に伴って曝露量は増加し、投与 28 日目の C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与 1 日目よりもやや高値を示した。同一投与量の C_{max} に明確な雌雄差は認められなかったが、雄の AUC_{0-24} は雌より 1.3～1.8 倍高かった。投与 28 日目の 20 mg/kg 群の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雄で 2.46 μg/mL 及び 14.0 μg·h/mL、雌で 2.12 μg/mL 及び 9.86 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施したラット 2 週間反復経口投与試験(2.6.6.3.1 参照)において、300 mg/kg 群で死亡例はなく、体重増加抑制、一過性の摂餌量減少並びに肺及び脾臓の病理組織

変化などが観察されたことから、高用量は 300 mg/kg とし、公比約 4 で 80 及び 20 mg/kg を設定した。

2.6.6.3.3　ラット 2 週間反復静脈内投与毒性試験

資料番号 4.2.3.2-3

AM-1977 の 10、30 及び 100 mg/kg を 6 週齢の雌雄 SD 系ラット(各群 10 匹)に 2 週間反復静脈内投与し、毒性を評価した。対照群及び 100 mg/kg 群(各群 6 匹)には更に 2 週間の休薬期間を設け、回復性を検討した。

いずれの投与量でも死亡例は見られなかった。100 mg/kg 群では、雌雄に不規則呼吸、運動性低下及び半眼が、雌に流涎が認められた。雄では、体重増加抑制傾向及び摂餌量減少のほか、脾臓の白脾髄に胚中心形成が認められた。30 mg/kg 群の雄 2 例に不規則呼吸が認められたが、低頻度で一過性の軽微な変化であったため、毒性学的意義は乏しいと判断した。一方、雌 1 例に認められた不規則呼吸、運動性の低下、歩行異常及びライジングは、盲腸重量の増加に関連した腹部膨満に付随した変化であった。また、AM-1977 投与群の雌雄に着色尿(淡赤色)が観察されたが、尿検査及び病理組織学的検査に関連する所見は認められず、毒性学的意義は乏しいと判断した。これらの変化は、いずれも 2 週間の休薬後に回復した。そのほか、AM-1977 投与群の雌で盲腸重量の増加が認められたが、これは薬理作用に関連した変化と考えられた。

以上の結果より、本試験の無毒性量は 30 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与 1 及び 14 日目ともに投与量の増加に伴って曝露量は増加した。同一投与量の C_{max} に明確な雌雄差は認められなかったが、雄の AUC_{0-24} は雌より 1.4～1.6 倍高かった。投与 14 日目の 30 mg/kg 群の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雄で 13.2 μg/mL 及び 26.3 μg·h/mL、雌で 11.8 μg/mL 及び 17.5 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施したラット FOB 試験(2.6.2.4.1.2 参照)において、200 mg/kg 群で腹臥位、運動量の消失、瞳孔径の増加、体温低下及び瞳孔反射の消失、100 mg/kg 以上の群で不規則呼吸及び腹ばい歩行、50 mg/kg 以上の群で運動量の低下及び閉眼(部分閉眼)が認められたため、高用量は 100 mg/kg とし、公比約 3 で 30 及び 10 mg/kg を設定した。

2.6.6.3.4　ラット 4 週間反復静脈内投与毒性試験

資料番号 4.2.3.2-4

AM-1977 の 10、30 及び 100 mg/kg を 6 週齢の雌雄 SD 系ラット(各群 10 匹)に 4 週間反復静脈内投与し、毒性を評価した。対照群及び 100 mg/kg 群(各群 6 匹)には更に 4 週間の休薬期間を設け、回復性を検討した。

100 mg/kg 群では、雌雄に不規則呼吸、運動性低下及び半眼が観察されたほか、雄で体重増加抑制及び摂餌量減少が、雌で尾に肉眼的変化(変色、硬化及び先端部欠落)及び病理組織変化(血管壁の外傷性変化、血塊、血管周囲の炎症及び皮膚炎)が認められた。また、投与初期に AM-1977 投与群の雌雄で着色尿(淡赤色)が観察され、投与 5～10 日目に尿潜血反応を確認したところ、着色尿と尿潜血陽性に因果関係は認められず、尿検査及び病理組織学的検査に関連する所見が認められなかったことから、毒性学的意義は乏しいと判断した。これらの変化は、いずれも 4 週間の休薬後に回復又は回復傾向を示した。そのほか、AM-1977 投与群の雌雄で盲腸重量の増加が認められたが、AM-1977 の薬理作用に関連した変化と考えられた。

以上の結果より、本試験の無毒性量は 30 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与 1 及び 28 日目ともに投与量の増加に伴って曝露量は増加した。同一投与量の C_{max}

に明確な雌雄差は認められなかったが、雄の AUC_{0-24} は雌より 1.4～2.1 倍高かった。投与 28 日目の 30 mg/kg 群の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雄で 14.7 μg/mL 及び 32.3 μg·h/mL、雌で 13.2 μg/mL 及び 20.2 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施したラット 2 週間反復静脈内投与試験(2.6.6.3.3 参照)において、100 mg/kg 群の雌雄に不規則呼吸、運動性低下及び半眼が認められたほか、雄で体重増加抑制、摂餌量減少及び白脾髄の胚中心形成が認められたため、100 mg/kg を高用量とし、公比約 3 で 30 及び 10 mg/kg を設定した。

2.6.6.3.5　イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験

資料番号 4.2.3.2-5

AM-1977 の 10、30 及び 100 mg/kg を 6 箇月齢の雌雄ビーグル犬(各群 3 頭)に 2 週間反復経口投与し、毒性を評価した。対照群及び 100 mg/kg 群(各群 2 頭)には更に 2 週間の休薬期間を設け、回復性を検討した。

いずれの投与量でも死亡例は見られなかった。100 mg/kg 群では、雌雄に嘔吐が観察され、雄に体重増加抑制、雌に体重減少及び摂餌量減少が認められた。心電図検査では雌雄に QTc 間隔の延長及び心拍数の増加が認められた。また、雌で大腿骨の膝関節軟骨表面に陥凹が認められ、病理組織学的にブリスターが観察された。30 mg/kg 群では、雌に QTc 間隔の延長が認められたほか、大腿骨の膝関節軟骨表面に陥凹が認められ、病理組織学的にブリスターが観察された。これらの変化は、いずれも 2 週間の休薬後には回復した。

以上の結果より、本試験の無毒性量は雄が 30 mg/kg/日、雌が 10 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与 1 及び 14 日目ともに投与量の増加に伴って曝露量は増加した。雄の C_{max} 及び AUC_{0-24} は投与 1 日目より投与 14 日目で増加傾向を示したが、雌で明確な差異は認められなかった。投与 14 日目の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、30 mg/kg 群の雄で 5.07 μg/mL 及び 34.5 μg·h/mL、10 mg/kg 群の雌で 1.09 μg/mL 及び 13.4 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施したイヌ 8 日間反復経口投与試験(100 及び 200 mg/kg)で、100 mg/kg 以上の群に連日の嘔吐、200 mg/kg 群に体重減少が認められたため、高用量は 100 mg/kg とし、公比約 3 で 30 及び 10 mg/kg を設定した[資料番号 4.2.3.2-11]。

2.6.6.3.6　イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験

資料番号 4.2.3.2-6

AM-1977 の 10、30 及び 100 mg/kg を 6 箇月齢の雌雄ビーグル犬(各群 3 頭)に 4 週間反復経口投与し、毒性を評価した。対照群及び 100 mg/kg 群(各群 2 頭)には更に 4 週間の休薬期間を設け、回復性を検討した。

いずれの投与量でも死亡例は見られなかった。100 mg/kg 群では、雄に嘔吐及び体重増加抑制が、雌に体重減少が認められたほか、雌雄に摂餌量減少が認められた。心電図検査では雌雄に QTc 間隔の延長が認められた。また、雌雄では大腿骨の関節軟骨表面に陥凹が認められ、病理組織学的にブリスターが観察された。30 mg/kg 群では、雌に QTc 間隔の延長が認められた。これらの変化は、関節への影響を除き、いずれも 4 週間の休薬後に回復又は回復傾向を示した。

以上の結果より、本試験の無毒性量は雄が 30 mg/kg/日、雌が 10 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与 1 及び 28 日目ともに投与量の増加に伴って曝露量は増加した。C_{max} 及び AUC_{0-24} に雌雄差は認められなかった。投与 28 日目の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、30 mg/kg 群の雄で 4.58 μg/mL

及び 38.1 μg·h/mL、10 mg/kg 群の雌で 2.14 μg/mL 及び 13.2 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施したイヌ 2 週間反復経口投与試験(2.6.6.3.5 参照)において、100 mg/kg 群で嘔吐、体重の減少又は増加抑制、摂餌量の減少、心拍数の増加、QTc 間隔の延長、大腿骨に陥凹並びにブリスターが、30 mg/kg 群で QTc 間隔延長、大腿骨に陥凹並びにブリスターが認められたため、100 mg/kg を高用量とし、公比約 3 で 30 及び 10 mg/kg を設定した。

2.6.6.3.7　イヌ 2 週間反復静脈内投与毒性試験

資料番号 4.2.3.2-7

AM-1977 の 12.5、30 及び 75 mg/kg を 6 箇月齢の雌雄ビーグル犬(各群 3 頭)に 2 週間反復静脈内投与し、毒性を評価した。対照群及び 75 mg/kg 群(各群 2 頭)には更に 2 週間の休薬期間を設け、回復性を検討した。

いずれの投与量でも死亡例は見られなかった。75 mg/kg 群では、雌雄に嘔吐、嘔吐物、吐気、流涎及び運動性低下が観察されたほか、半眼、振戦、間代性痙攣を示す個体も認められた。また、雌雄では体重減少、摂餌量減少、心拍数の増加、並びに QT/QTc 間隔の延長が認められた。血液学的検査では、雌雄に白血球数及び網赤血球数・比の低値、雄に血小板数の低値が認められた。血液化学的検査では、雌雄に A/G 比、総コレステロール及び遊離コレステロールの高値、雌にアルブミンの高値が認められた。器官重量では、雄に胸腺重量の減少が認められた。剖検では、雌雄の上腕骨又は尺骨の関節軟骨に陥凹、肥厚又は隆起、並びに関節腔に滑液の増加が観察され、病理組織学的に上腕骨及び大腿骨の関節軟骨にブリスターが認められた。そのほか、雌雄で胆嚢に出血又は出血・線維化、胃に変性壁細胞の増加、並びに脾臓、下顎リンパ節及び腸間膜リンパ節に濾胞萎縮が観察された。30 mg/kg 群では、雌雄に嘔吐及び嘔吐物が観察された。12.5 mg/kg 群の雌 1 例に嘔吐が観察されたが、投与初日に認められたのみであったため、毒性変化ではないと判断した。これらの所見は、関節への影響を除き、いずれも 2 週間の休薬後に回復又は回復傾向を示した。

以上の結果より、本試験の無毒性量は 12.5 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与 1 及び 14 日目ともに投与量の増加に伴って曝露量は増加した。C_{max} 及び AUC_{0-24} に雌雄差は認められなかった。投与 14 日目の 12.5 mg/kg 群の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雄で 6.51 μg/mL 及び 28.0 μg·h/mL、雌で 5.74 μg/mL 及び 26.0 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施したイヌ単回及び 5 日間反復静脈内投与試験(50 及び 75 mg/kg)で、75 mg/kg 群に嘔吐及び振戦などの一般症状が観察されたことから、75 mg/kg を高用量とし、公比約 2.5 で 30 及び 12.5 mg/kg を設定した[資料番号 4.2.3.2-12]。

2.6.6.3.8　イヌ 4 週間反復静脈内投与毒性試験

資料番号 4.2.3.2-8

AM-1977 の 12.5、30 及び 75 mg/kg を 6 箇月齢の雌雄ビーグル犬(各群 3 頭)に 4 週間反復静脈内投与し、毒性を評価した。対照群及び 75 mg/kg 群(各群 2 頭)には 4 週間の休薬期間を設け、回復性を検討した。

いずれの投与量でも死亡例は見られなかった。75 mg/kg 群では、雌雄に嘔吐、嘔吐物、流涎、半眼、運動性低下及びよろめき歩行が認められ、雄では横臥位及び間代性痙攣も観察された。また、雌雄には摂餌量減少も認められた。心電図検査では、雌雄に心拍数の増加及び QTc 間隔の延長、雌に PR 間隔の短縮が認められた。血液学的検査では、雌雄に白血球数、好中球数・比及び

網赤血球数・比の低値、雄で単球数・比の低値、雌で好酸球数・比の低値が認められた。血液化学的検査では、雌雄に総コレステロール及び遊離コレステロールの高値が認められた。剖検では、雌雄で大腿骨頭、膝関節又は上腕骨滑車に陥凹が観察され、病理組織学的に大腿骨、上腕骨及び膝蓋骨にブリスターが認められた。また、雌雄の投与部位(前肢静脈)に血栓形成が認められた。30 mg/kg 群では、雌雄に嘔吐及び嘔吐物と投与部位(前肢静脈)の血栓形成が認められたほか、雌の 1 例に流涎が観察された。12.5 mg/kg 群の雄 1 例に嘔吐が観察されたが、投与 6 日目に認められたのみであったため毒性変化ではないと判断した。これらの所見は、関節への影響を除き、いずれも 4 週間の休薬後に回復又は回復傾向を示した。

以上の結果より、本試験の無毒性量は 12.5 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与 1 及び 28 日目ともに投与量の増加に伴って曝露量は増加した。C_{max} 及び AUC_{0-24} に雌雄差は認められなかった。投与 28 日目の 12.5 mg/kg 群の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雄で 5.98 µg/mL 及び 23.4 µg·h/mL、雌で 5.64 µg/mL 及び 24.3 µg·h/mL であった。

用量設定の根拠 : 先に実施したイヌ 2 週間反復静脈内投与試験(2.6.6.3.7 参照)で、30 mg/kg 以上の群に嘔吐が、75 mg/kg 群に運動性低下、半眼、振戦、間代性痙攣などの一般症状のほか、心電図検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び病理組織学的検査に毒性学的影響が認められたため、75 mg/kg を高用量とし、公比約 2.5 で 30 及び 12.5 mg/kg を設定した。

2.6.6.3.9　サル 4 週間反復経口投与毒性試験

資料番号 4.2.3.2-9

AM-1977 の 7.5、15 及び 30 mg/kg を 3～4 歳齢の雌雄カニクイザル(各群 3 頭)に 4 週間反復経口投与し、毒性を評価した。対照群及び 30 mg/kg 群(各群 2 頭)には更に 4 週間の休薬期間を設け、回復性を検討した。

いずれの投与量でも死亡例は認められなかった。30 mg/kg 群では、雌雄に QTc 間隔の延長が認められた。なお、15 mg/kg 以上の群の雄及び 7.5 mg/kg 以上の群の雌にクレアチニンの高値が認められたが、用量に伴った変化ではなく、腎障害を示唆する病理組織学的変化も見られなかったことから、毒性変化ではないと判断した。

以上の結果より、本試験の無毒性量は 15 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与 1 及び 28 日目ともに投与量の増加に伴って、AM-1977 及び AM2012-008 の曝露量は増加した。明確な雌雄差はなかった。AM-1977 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、投与 1 日目よりも投与 28 日目でやや高値を示したが、AM2012-008 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、投与 1 日目と投与 28 日目で同程度であった。投与 28 日目の 15 mg/kg 群における AM-1977 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雄で 8.42 µg/mL 及び 91.6 µg·h/mL、雌で 7.57 µg/mL 及び 81.8 µg·h/mL であった。また、AM2012-008 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雄で 0.332 µg/mL 及び 4.45 µg·h/mL、雌で 0.303 µg/mL 及び 3.85 µg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施したサル 2 週間反復経口投与予備試験(10、30 及び 100 mg/kg)で、30 mg/kg 以上の群に嘔吐や体重減少、血液化学的検査などの変化が、更に 100 mg/kg 群では、うずくまり、間代性痙攣、傾眠などの一般症状も観察されたため、30 mg/kg を高用量とし、公比 2 で 15 及び 7.5 mg/kg を設定した[資料番号 4.2.3.2-13]。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 *In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

資料番号 4.2.3.3.1-1

試験菌株として、*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び *E. coli* WP2*uvrA* の 5 菌株を用い、プレインキュベーション法により、代謝活性化系(ラット肝 S9)の非存在下及び存在下で AM-1977 の遺伝子突然変異誘発能を評価した。陰性対照(溶媒)には DMSO を用いた。予備試験で決定した最高用量から公比 2 で、代謝活性化系の非存在下及び存在下の各菌株について 8 用量を設定した。

代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株も AM-1977 処理群の復帰変異コロニー数は陰性対照値の 2 倍未満であった。

また、代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての菌株に生育阻害が認められ、いずれの用量もプレート上に AM-1977 の沈殿を認めなかった。

以上の結果より、AM-1977 は細菌に対する遺伝子突然変異誘発能を有さないと考えられた。

用量設定の根拠：予備試験で認められた菌の生育阻害を基に、代謝活性化系の非存在下では、TA100 及び TA1535 は 0.0313 μg/plate、TA98 及び TA1537 は 0.125 μg/plate、WP2*uvrA* は 0.5 μg/plate、代謝活性化系の存在下では、*S. typhimurium* 株は 0.125 μg/plate、WP2*uvrA* は 0.5 μg/plate を本試験の最高用量とした。

2.6.6.4.1.2 ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

資料番号 4.2.3.3.1-2

チャイニーズハムスター肺由来の線維芽細胞株である CHL/IU 細胞を用い、短時間処理法及び連続処理法のそれぞれの条件下で AM-1977 の染色体異常誘発能を評価した。短時間処理法は、代謝活性化系(ラット肝 S9)の非存在下及び存在下で AM-1977 を 6 時間曝露し、連続処理法は代謝活性化系の非存在下で 24 及び 48 時間曝露した。用量は、細胞増殖抑制試験で決定した最高用量から公比 2 で、短時間処理法の代謝活性化系非存在下は 5 用量、代謝活性化系存在下は 4 用量、連続処理法の 24 及び 48 時間曝露はそれぞれ 5 用量を設定した。

染色体構造異常をもつ細胞の出現頻度が、短時間処理法の代謝活性化系非存在下の 62.5 μg/mL、代謝活性化系存在下の 125 μg/mL、24 及び 48 時間曝露の 40 μg/mL で 10%以上を示したことから、AM-1977 の染色体構造異常誘発能は陽性と判定した。なお、数的異常をもつ細胞の出現頻度はすべての処理法で 5%未満であり陰性と判定した。

以上の結果より、AM-1977 はほ乳類培養細胞に対し染色体異常誘発能を有すると考えられた。

用量設定の根拠：細胞増殖抑制試験(31.3、62.5、125、250 及び 500 μg/mL)において、50%細胞増殖抑制濃度は、短時間処理法の代謝活性化系非存在下で 199 μg/mL、代謝活性化系存在下で 154 μg/mL、連続処理法の 24 及び 48 時間暴露で 156 及び 60.2 μg/mL であった。最高用量は細胞増殖率が 50%以上となることが予想される用量とし、各処理法でそれぞれ 250、250、160 及び 80 μg/mL を設定した。

2.6.6.4.1.3 ほ乳類培養細胞を用いるマウスリンフォーマ *Tk* 試験

資料番号 4.2.3.3.1-3

マウスリンフォーマ細胞 L5178Y ($tk^{+/-}$ -3.7.2C)を用い、短時間処理法及び連続処理法のそれぞれ

の条件下で AM-1977 の遺伝子突然変異誘発能を評価した。短時間処理法は、代謝活性化系(ラット肝 S9)の非存在下及び存在下で AM-1977 を 3 時間曝露し、連続処理法は代謝活性化系の非存在下で AM-1977 を 24 時間曝露した。用量は、予備試験の結果から、短時間処理法の代謝活性化系非存在下及び存在下、並びに連続処理法でそれぞれ 10 用量を設定した。

AM-1977 処理群の総変異出現率は、陰性対照群の総変異出現率よりも有意に高く、用量依存的な増加を示したため陽性と判定した。

以上の結果より、AM-1977 はほ乳類培養細胞に対し遺伝子突然変異誘発能を有すると考えられた。

用量設定の根拠：予備試験で細胞の相対増殖率が 10%以下を示した用量は、短時間処理法の代謝活性化系非存在下及び存在下で 62.5 μg/mL 以上、連続処理法の 24 時間暴露で 31.3 μg/mL 以上であった。したがって、短時間処理法の代謝活性化系非存在下及び存在下では 60 μg/mL、連続処理法の 24 時間曝露では 40 μg/mL を本試験の最高用量とした。

2.6.6.4.2　*In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.2.1　ラット経口投与による骨髄小核試験

資料番号 4.2.3.3.2-1

AM-1977 の 250、500 及び 1000 mg/kg を 6 週齢の雄性 SD 系ラット(各群 6 匹)に単回経口投与し、投与 24 及び 48 時間後の骨髄細胞における小核誘発能を評価した。

Kastenbaum and Bowman の方法により統計学的評価を行った結果、24 時間処理の 1000 mg/kg 群で有意な小核出現頻度の増加が観察されたことから、背景値及び用量反応性を考慮した追加評価を行った [30), 31)]。その結果、本試験の溶媒対照群における小核出現頻度は試験実施施設の背景値の変動範囲内(平均値±3SD)であり、また背景値から推定される 2 項分布と比較し AM-1977 投与群では有意な小核出現頻度の増加が観察されたものの、いずれの処理群においても Cochran Armitage による傾向検定の結果、用量反応性は認められなかった。従って 24 時間処理の 1000 mg/kg 群で観察された小核出現頻度の増加について生物学的意義はないと判断した。

以上の結果より、AM-1977 の経口投与はラット骨髄細胞に対し小核誘発作用を示さないと考えられた。

単回投与における TK を雌雄で実施した。用量間で C_{max} に明確な変化は認められず、$AUC_{0\text{-}24}$ は投与量に伴って増加したが、用量比に伴った増加ではなかった。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ に雌雄差は認められなかった。1000 mg/kg 群の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、雄で 11.7 μg/mL 及び 262 μg·h/mL、雌で 11.8 μg/mL 及び 241 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施したラット 4 日間反復経口投与試験(100、300 及び 1000 mg/kg)において、1000 mg/kg 群に体重減少及び顕著な摂餌量減少が認められたが、死亡は見られなかったため、1000 mg/kg を高用量とし、公比 2 で 500 及び 250 mg/kg を設定した[資料番号 4.2.3.2-10]。

2.6.6.4.2.2　ラット静脈内投与による骨髄小核試験

資料番号 4.2.3.3.2-2

AM-1977 の 10、30 及び 100 mg/kg を 8 週齢の雄性 SD 系ラット(各群 6 匹)に単回静脈内投与し、投与 24 及び 48 時間後の骨髄細胞における小核誘発能を評価した。

いずれの投与量でも、24 及び 48 時間処理の小核誘発頻度に有意な増加は認められず、AM-1977 の小核誘発能は陰性と判断した。また、全赤血球に対する多染性赤血球の比率に変化は認められ

なかった。

以上の結果より、AM-1977 の静脈内投与はラット骨髄細胞に対し小核誘発作用を示さないと考えられた。

用量設定の根拠：先に実施したラット FOB 試験(2.6.2.4.1.2 参照)において、200 mg/kg 群で腹臥位、運動量の消失、瞳孔径の増加、体温低下及び瞳孔反射の消失、100 mg/kg 以上の群で不規則呼吸及び腹ばい歩行、50 mg/kg 以上の群で運動量の低下及び閉眼(部分閉眼)が認められたことから、100 mg/kg を高用量とし、公比約 3 で 30 及び 10 mg/kg を設定した。

2.6.6.4.2.3 ラット肝を用いる不定期 DNA 合成試験

資料番号 4.2.3.3.2-3

AM-1977 の 500 及び 1000 mg/kg を 6 週齢の雄性 SD 系ラット(各群 3 匹)に単回経口投与し、^{3}H-thymidine の取込みを指標として、投与 2 及び 16 時間後の肝細胞における不定期 DNA 合成誘発能を評価した。

その結果、いずれの AM-1977 投与群でも、投与 2 及び 16 時間後の平均ネットグレイン数及び平均修復細胞率は陰性対照群と同程度であり、ラット肝細胞において不定期 DNA 合成を誘発しないと判断した。

以上の結果より、AM-1977 はラット肝細胞において不定期 DNA 合成誘発性は見られず、生体内での DNA 損傷誘発作用はないと考えられた。

用量設定の根拠:ラット経口投与小核試験(2.6.6.4.2.1 参照)と同様の理由で 1000 mg/kg を高用量とし、公比 2 で 500 mg/kg を設定した。

2.6.6.4.2.4 *gpt* delta ラットを用いる *in vivo* 遺伝子突然変異試験

資料番号 4.2.3.3.2-4

AM-1977 を 75、150 及び 300 mg/kg の用量で、10 週齢の雄性 F344/NSlc-Tg(*gpt* delta)ラット(各群 6 匹)に 28 日間反復経口投与した後、各群 5 匹について 3 日後に肝臓及び骨髄を採取して *gpt* アッセイを実施した。

肝臓及び骨髄における突然変異頻度は、いずれの AM-1977 投与群においても陰性対照群と比較して有意な増加は認められなかった。

以上の結果より、AM-1977 は肝臓及び骨髄の *gpt* アッセイにおいて陰性であり、*in vivo* 遺伝子突然変異を誘発しないと判断した。

TK 測定では、投与 1 日目及び投与 28 日目における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ はいずれも用量増加に伴い増加し、被験物質が全身曝露されていることが確認された。投与 28 日目における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、300 mg/kg 群で 14.5 μg/mL 及び 140 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠:先に実施した *gpt* delta ラットを用いる遺伝子変異予備試験において、20、80、160 及び 300 mg/kg の用量で 14 日間反復経口投与したところ、一般状態に異常は認められなかったが、投与期間を通して陰性対照群と比較して体重の低値が見られた[資料番号 4.2.3.3.2-5]。また、経口投与によるラット胚・胎児発生に関する用量設定試験(2.6.6.6.2 参照)では、600 mg/kg で死亡動物が見られた。以上から、300 mg/kg を高用量とし、以下公比 2 で 150 及び 75 mg/kg を設定した。

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 Tg-rasH2 マウスを用いる 26 週間がん原性試験

資料番号 4.2.3.4.2-1

AM-1977 を雄は 50、100 及び 200 mg/kg、雌は 75、150 及び 300 mg/kg の用量で、CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic@Jcl マウス(Tg-rasH2 マウス)に 26 週間反復経口投与するがん原性試験を実施した。溶媒対照群は雌雄各 25 匹、AM-1977 投与群は雌雄各 30 匹、陽性対照群(*N*-Methyl-*N*-nitrosourea (MNU)の単回腹腔内投与)は雌雄各 15 匹を設定した。

雄の 50、100 及び 200 mg/kg 群でそれぞれ 1、3 及び 6 例、雌では 150 及び 300 mg/kg 群でそれぞれ 1 及び 2 例が切迫屠殺あるいは死亡し、剖検において盲腸の拡張、捻転あるいは穿孔が、病理組織学的検査において盲腸の出血及び粘膜の壊死が確認されたが、生存動物には盲腸の拡張を除き、これらの変化は認められなかった。

26 週間生存した AM-1977 投与群については、一般状態及び体重に被験物質投与の影響は認められなかったが、摂餌量では雌雄ともに AM-1977 投与群で高値を示した。器官重量では雌の 150 及び 300 mg/kg 群で胸腺の重量低値がみられ、病理組織学的検査では胸腺の萎縮／退縮が認められたが、雄にこれらの変化は認められず、雌雄ともに関連するリンパ器官・組織にも異常は認められなかった。

AM-1977 投与群の腫瘍性病変はすべて Tg-rasH2 マウスで認められる自然発生性腫瘍であり、その発生頻度は低く、また用量依存性も認められなかった。なお、陽性対照群では雌雄全例に既知の腫瘍性病変が認められた。

以上のことから、Tg-rasH2 マウスを用いた短期がん原性評価において AM-1977 によるがん原性は認められないと結論した。

TK 測定では、26 週経過時の C_{max} 及び AUC_{0-24} は初回投与と比べ、同程度もしくは減少していた。26 週経過時の曝露量は用量の増加に伴い、初回投与の曝露量に対して減少する傾向があり、雌雄ともに同様の傾向を示した。各性の投与 26 週目の高用量(雄：200 mg/kg、雌：300 mg/kg)における C_{max} 及び AUC_{0-24} は、雄で 5.80 μg/mL 及び 35.8 μg·h/mL、雌で 5.32 μg/mL 及び 50.8 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施した Tg-rasH2 マウスを用いた 4 週間用量設定試験おいて、AM-1977 200、500 及び 1000 mg/kg の用量を各群雌雄 10 匹の Tg-rasH2 マウスに 28 日間経口投与したところ、雄の 200 mg/kg 群で 2 例、500 及び 1000 mg/kg 群で各 1 例が死亡した。また 200 mg/kg 以上で諸臓器への影響がみられたことから、26 週間の短期がん原性試験で用いる高用量は、雄で 200 mg/kg、雌では 200 mg/kg 以上 500 mg/kg 未満が相当と考えられた。以上から、雄では 200 mg/kg、雌では 300 mg/kg を高用量とし、以下公比 2 で、雄では 100 及び 50 mg/kg、雌では 150 及び 75 mg/kg を設定した。[資料番号 4.2.3.4.2-2]。

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

資料番号 4.2.3.5.1-1

AM-1977 を 20、80 及び 300 mg/kg の用量で、11 週齢の雄性 SD 系ラット(各群 20 匹)に交配前 14 日から交配期間を通して雌の剖検後まで(43～44 日間)、11 週齢の雌性 SD 系ラット(各群 20 匹)に交配前 14 日から交配期間を通して妊娠 7 日まで(22～28 日間)反復経口投与し、雌雄親動物の生殖機能及び初期胚に及ぼす影響を評価した。

親動物では、300 mg/kg 群で妊娠 6 日に雌の 1 例が途中死亡した。雄に死亡は見られなかった

が、300 mg/kg 群で摂餌量減少や排便減少又は無便、並びに体重増加抑制が認められた。雌の生存例では、一般状態に変化は見られなかったが、AM-1977 投与群に体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。雌雄の生殖機能及び初期胚発生への影響は認められなかった。そのほか、AM-1977 投与群の雌雄で盲腸の腫大が認められたが、AM-1977 の薬理作用に関連した変化と考えられた。

以上の結果より、親動物の一般毒性に関する無毒性量は、雄で 80 mg/kg/日、雌で 20 mg/kg/日未満、生殖機能及び初期胚発生に関する無毒性量は 300 mg/kg/日と推定された。

用量設定の根拠：先に実施したラット 2 及び 4 週間反復経口投与試験(2.6.6.3.1 及び 2.6.6.3.2 参照)では、300 mg/kg 群で雌雄生殖器の病理組織変化などは認められなかった。一方、ラット胚・胎児発生経口投与用量設定試験(2.6.6.6.2 参照)では、600 mg/kg 群で母動物の死亡が、300 mg/kg 群で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。以上から、300 mg/kg を高用量とし、中及び低用量は 80 及び 20 mg/kg を設定した。

2.6.6.6.2　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験(経口)

資料番号 4.2.3.5.2-1

AM-1977 の 20、80、300 及び 600 mg/kg を 10～11 週齢の雌性 SD 系ラット(各群 8 匹)に妊娠 7 日から 17 日まで 11 日間反復経口投与し、母動物及び胎児に及ぼす影響を予備的に評価した。

母動物に関する変化として、600 mg/kg 群の 1 例が妊娠 16 日に死亡(切迫屠殺)した。生存例では、一般状態の変化(排便減少又は無便、運動性低下及び着色尿(淡赤色)、体重増加抑制、摂餌量減少、並びに剖検所見(胸腺及び脾臓の小型化、副腎の大型化並びに腺胃部粘膜に暗赤色巣散在)が認められた。300 mg/kg 群では、体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。そのほか、AM-1977 投与群に盲腸の腫大が認められたが、AM-1977 の薬理作用に関連した変化と考えられた。

生殖機能に関する変化には、妊娠維持への影響として、600 mg/kg 群の母動物の 1 例に死亡が、3 例に全児死亡が認められた。

胚・胎児発生に関する変化として、20 mg/kg 以上の群に生存胎児体重の低値が認められた。母動物の死亡及び全児死亡が見られた 600 mg/kg 群では、死亡胚・胎児の発現率の高値が認められたほか、生存胎児に外表異常(舌の癒着)、内臓異常(膜性心室中隔欠損、脳室拡張、胸腺索、腎臓欠損及び腎臓位置異常)、骨格異常(肋骨欠損、肋骨短小及び肋骨癒合)、骨格変異及び骨化遅延が認められた。300 mg/kg 群では、骨格異常(肋骨短小)、骨格変異及び骨化遅延が認められた。

以上の結果より、母動物の一般毒性に関する無毒性量は 80 mg/kg/日、生殖機能に関する無毒性量は 300 mg/kg/日、胚・胎児発生に関する無毒性量は 20 mg/kg/日未満と推定された。

TK では、投与初日(妊娠 7 日)及び投与最終日(妊娠 17 日)ともに、用量の増加に伴って C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は増加した。妊娠 17 日の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、20～300 mg/kg 群では妊娠 7 日の値とほぼ同程度であったが、600 mg/kg 群では妊娠 7 日の値の約 2 倍であった。妊娠 17 日の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、20 mg/kg 群で 2.16 μg/mL 及び 10.9 μg·h/mL、80 mg/kg 群で 5.49 μg/mL 及び 52.8 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠:先に実施したラット 4 日間反復経口投与試験(100、300 及び 1000 mg/kg)では、1000 mg/kg 群の雄に体重減少及び顕著な摂餌量減少が認められた[資料番号 4.2.3.2-10]ため、600 mg/kg を高用量とし、以下 300、80 及び 20 mg/kg を設定した。

2.6.6.6.3　ラット胚・胎児発生に関する試験(経口)

資料番号 4.2.3.5.2-2

AM-1977 の 3、30 及び 300 mg/kg を 10～11 週齢の雌性 SD 系ラット(各群 20 匹)に妊娠 7 日から 17 日まで 11 日間反復経口投与し、母動物及び胎児に及ぼす影響を評価した。

母動物に関する変化として、30 mg/kg 群に体重増加量の減少が、300 mg/kg 群に体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。一般状態に変化は認められなかった。そのほか、30 mg/kg 以上の投与群に盲腸の腫大が認められたが、AM-1977 の薬理作用に関連した変化と考えられた。

生殖機能に関する変化は認められなかった。

胚・胎児発生に関する変化として、300 mg/kg 群で生存胎児体重及び胎盤重量の低値、生存胎児の内臓異常(胸腺索)、骨格異常(肋骨短小)及び骨格変異(頸部短小過剰肋骨及び腰椎減少)が認められた。また、骨化遅延(仙尾椎数及び胸骨分節数の低値)も認められた。胎児の外表異常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関する無毒性量は 3 mg/kg/日、生殖機能に関する無毒性量は 300 mg/kg/日、胚・胎児発生に関する無毒性量は 30 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与初日(妊娠 7 日)及び投与最終日(妊娠 17 日)ともに、用量の増加に伴って AM-1977 及び AM2012-008 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は増加した。AM-1977 及び AM2012-008 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、妊娠 7 日と 17 日でほぼ同程度であった。妊娠 17 日の AM-1977 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、3 mg/kg 群で 0.305 μg/mL 及び 0.807 μg·h/mL、30 mg/kg 群で 3.60 μg/mL 及び 22.9 μg·h/mL であった。また、AM2012-008 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、30 mg/kg 群で 0.00848 μg/mL 及び 0.0119 μg·h/mL であった。3 mg/kg 群では、AM2012-008 の血漿中濃度は定量下限未満であった。

用量設定の根拠：先に実施したラット胚・胎児発生経口投与用量設定試験(2.6.6.6.2 参照)では、600 mg/kg 群に母動物の死亡、300 mg/kg 以上の群に体重増加抑制及び摂餌量減少が認められ、80 mg/kg 以下の群に母体毒性は認められなかった。胚・胎児発生に関しては、300 mg/kg 以上の群に骨格異常及び骨格変異が、20 mg/kg 以上の群に胎児体重の低値が認められた。したがって、300 mg/kg を高用量とし、中及び低用量は 30 及び 3 mg/kg を設定した。

2.6.6.6.4　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験(静脈内)

資料番号 4.2.3.5.2-3

AM-1977 の 2、5、20 及び 80 mg/kg を 10～11 週齢の雌性 SD 系ラット(各群 8 匹)に妊娠 7 日から 17 日まで 11 日間反復静脈内投与し、母動物及び胎児に及ぼす影響を予備的に評価した。

母動物に関する変化として、80 mg/kg 群に一般状態の変化(運動性の低下及び不規則呼吸)及び摂餌量減少が、20 mg/kg 群に摂餌量減少が認められた。そのほか、AM-1977 投与群に盲腸の腫大が認められたが、AM-1977 の薬理作用に関連した変化と考えられた。

生殖機能及び胚・胎児発生への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関する無毒性量は 5 mg/kg/日、生殖機能及び胚・胎児発生に関する無毒性量はいずれも 80 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与初日(妊娠 7 日)及び投与最終日(妊娠 17 日)ともに、用量の増加に伴って C_{max} 及び AUC_{0-24} は増加し、妊娠 7 日と 17 日でほぼ同程度であった。妊娠 17 日の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、5 mg/kg 群で 1.70 μg/mL 及び 2.74 μg·h/mL、80 mg/kg 群で 36.1 μg/mL 及び 83.1 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施したラット 4 週間反復静脈内投与試験(2.6.6.3.4 参照)では、100 mg/kg 群で一般状態に変化が認められ、無毒性量は 30 mg/kg であった。ラット胚・胎児発生経口投与用量設定試験(2.6.6.6.2 参照)では、母動物の一般毒性に関する無毒性量は 80 mg/kg、胚・胎児発生に関する無毒性量は 20 mg/kg 未満であったことから、80 mg/kg を高用量とし、20、5 及び 2 mg/kg

を設定した。

2.6.6.6.5 ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験(経口)

資料番号 4.2.3.5.2-4

AM-1977 の 5、15、30 及び 50 mg/kg を 18 週齢の雌性 JW 系ウサギ(各群 8 匹)に妊娠 6 日から 18 日まで 13 日間反復経口投与し、母動物及び胎児に及ぼす影響を予備的に評価した。

母動物に関する変化として、50 mg/kg 群の 3 例が途中死亡し、30 mg/kg 群では体重増加抑制が認められた。また、5 mg/kg 以上の群に摂餌量減少が認められ、それに伴って排便減少若しくは無便、又は排尿減少若しくは無尿が認められた。

生殖機能に関する変化には、妊娠維持への影響として、50 mg/kg 群の 3/8 例に死亡が認められた。5 mg/kg 以上の群に流産(5 mg/kg 群：1 例、15 mg/kg 群：1 例、30 mg/kg 群：3 例、50 mg/kg 群：1 例)が認められたが、母動物の摂餌量減少による栄養不良に起因するものであり、死亡が見られなかった 30 mg/kg 以下の群では妊娠維持に及ぼす AM-1977 の直接的影響はなかったと考えられた。

胚・胎児発生に関する変化として、50 mg/kg 群に着床後死亡率の高値傾向並びに生存胎児の体重及び骨化数の低値傾向が認められた。外表、内臓及び骨格異常並びに骨格変異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関する無毒性量は 5 mg/kg/日未満、生殖機能及び胚・胎児発生に関する無毒性量はいずれも 30 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与初日(妊娠 6 日)及び投与最終日(妊娠 18 日)の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、用量比以上に増加した妊娠 18 日の 15 及び 30 mg/kg 群を除き、5～50 mg/kg 群で用量比に伴って増加した。妊娠 18 日の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、5 及び 15 mg/kg 群では妊娠 6 日の値とほぼ同程度であったが、30 及び 50 mg/kg 群では妊娠 6 日の値より高値であった。妊娠 18 日の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、5 mg/kg 群で 0.489 μg/mL 及び 4.17 μg·h/mL、30 mg/kg 群で 4.91 μg/mL 及び 80.1 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施した非妊娠ウサギ反復経口投与試験(1、5、10、25、50 及び 100 mg/kg)では、50 mg/kg 以上の群に死亡、食べ残し、排糞減少、体重減少及び摂餌量減少が、25 mg/kg 群に軽度な摂餌量減少が認められたが、10 mg/kg 以下の群に AM-1977 投与の影響は見られなかった[資料番号 4.2.3.5.2-7]。したがって、50 mg/kg を高用量とし、以下 30、15 及び 5 mg/kg を設定した。

2.6.6.6.6 ウサギ胚・胎児発生に関する試験(経口)

資料番号 4.2.3.5.2-5

AM-1977 の 1、5 及び 30 mg/kg を 18 週齢の雌性 JW 系ウサギ(各群 21 匹)に妊娠 6 日から 18 日まで 13 日間反復経口投与し、母動物及び胎児に及ぼす影響を評価した。

母動物に関する変化として、30 mg/kg 群の 5 例が途中死亡し、このうち 1 例は死亡前に間代性痙攣、横臥位及び呼吸深大が観察された。30 mg/kg 群では、体重増加抑制及び摂餌量減少も認められた。5 mg/kg 群では摂餌量減少が認められた。

生殖機能に関する変化には、妊娠維持への影響として、30 mg/kg 群の 5 例に母動物の死亡が認められた。中用量である 5 mg/kg 群の 1 例に流産が認められたが、母動物の栄養不良に起因するもので AM-1977 の直接的影響ではないと考えられた。

胚・胎児発生に関する変化として、30 mg/kg 群に着床前死亡率の高値傾向及び生存胎児数の減少が認められた。生存胎児の外表、内臓及び骨格異常並びに骨格変異は認められなかった。また、

骨化遅延も認められなかった。

以上の結果より、母動物の一般毒性に関する無毒性量は 1 mg/kg/日、生殖機能に関する無毒性量及び胚・胎児発生に関する無毒性量はいずれも 5 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与初日(妊娠 6 日)及び投与最終日(妊娠 18 日)の C_{max} 及び AUC_{0-24} はほぼ同程度であり、投与量の増加に伴って増加した。妊娠 18 日の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、1 mg/kg 群で 0.0739 μg/mL 及び 0.514 μg·h/mL、5 mg/kg 群で 0.532 μg/mL 及び 4.95 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施したウサギ胚・胎児発生経口投与用量設定試験(2.6.6.6.5 参照)では、50 mg/kg に母動物の死亡、着床後死亡率の高値傾向、胎児体重及び胎児骨化数の低値傾向が、30 mg/kg に母動物の体重増加抑制が認められた。5 mg/kg 以上の群では、摂餌量減少とそれに伴う排便又は排尿の減少、並びに栄養不良に起因する流産も認められたことから、30 mg/kg を高用量とし、以下 5 及び 1 mg/kg を設定した。

2.6.6.6.7　ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験(静脈内)

資料番号 4.2.3.5.2-6

AM-1977 の 1、5、15 及び 25 mg/kg を 18 週齢の雌性 JW 系ウサギ(各群 8 匹)に妊娠 6 日から 18 日まで 13 日間反復静脈内投与し、母動物及び胎児に及ぼす影響を予備的に評価した。

母動物に関する変化として、15 及び 25 mg/kg 群に体重増加抑制傾向及び摂餌量減少が認められた。

生殖機能への影響は認められなかった。

胚・胎児発生に関する変化としては、25 mg/kg 群に生存胎児体重の低値傾向及び骨化数(仙尾椎数)のわずかな減少が認められた。外表、内臓及び骨格異常並びに骨格変異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関する無毒性量は 5 mg/kg/日、母動物の生殖機能に関する無毒性量は 25 mg/kg/日、胚・胎児発生に関する無毒性量は 15 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与初日(妊娠 6 日)及び投与最終日(妊娠 18 日)ともに、C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量の増加に伴って増加した。妊娠 18 日の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、1～15 mg/kg 群では妊娠 6 日の値とほぼ同程度であったが、25 mg/kg 群では増加傾向を示し、最高で妊娠 6 日の約 1.5 倍の値になった。妊娠 18 日の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、5 mg/kg 群で 6.09 μg/mL 及び 7.84 μg·h/mL、15 mg/kg 群で 22.7 μg/mL 及び 30.5 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施したウサギ胚・胎児発生経口投与用量設定試験(2.6.6.6.5 参照)では、母動物の一般毒性に関する無毒性量は 5 mg/kg/日未満、生殖機能及び胚・胎児発生に関する無毒性量は 30 mg/kg/日であった。したがって、25 mg/kg を高用量とし、以下 15、5 及び 1 mg/kg を設定した。

2.6.6.6.8　出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験

資料番号 4.2.3.5.3-1

AM-1977 の 3、30 及び 300 mg/kg を 11～13 週齢の雌性 SD 系ラット(各群 22 匹)に妊娠 7 日から分娩後 20 日まで反復経口投与し、妊娠/授乳期の母動物、受胎産物及び出生児の発生に及ぼす影響を評価した。

母動物に関する変化として、30 及び 300 mg/kg 群に体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。一般状態に変化は認められなかった。そのほか、30 及び 300 mg/kg 投与群に盲腸の腫大が認められたが、AM-1977 の薬理作用に関連した変化と考えられた。

生殖機能に関する変化は認められなかった。

出生児に関する変化として、300 mg/kg 群に 4 日生存率の軽度の低値、体重減少及び発育分化の遅延(耳介展開、切歯萌出及び眼瞼開裂)が認められた。行動機能検査及び生殖機能に変化は認められなかった。

以上の結果より、母動物の一般毒性に関する無毒性量は 3 mg/kg/日、生殖機能に関する無毒性量は 300 mg/kg/日、出生児に関する無毒性量は 30 mg/kg/日と推定された。

用量設定の根拠：先に実施したラット胚・胎児発生に関する経口投与試験(2.6.6.6.3 参照)では、30 及び 300 mg/kg 群の母動物に体重増加抑制及び摂餌量減少が認められ、300 mg/kg では胎児の体重低値、内臓異常、骨格異常及び骨格変異も認められたが、胎児の生存に及ぼす影響は見られなかった。また、用量設定試験(30、100 及び 300 mg/kg)では、全群の母動物に摂餌量減少、300 mg/kg 群の母動物に体重増加抑制が認められたが、分娩及び出生児の生存に及ぼす影響は見られなかった[資料番号 4.2.3.5.3-2]。したがって、300 mg/kg を高用量とし、中及び低用量は 30 及び 3 mg/kg を設定した。

2.6.6.7　局所刺激性試験

該当試験なし。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　光毒性試験

資料番号 4.2.3.7.1-1

AM-1977 の 100 及び 1000 mg/kg を 7 週齢の雄性 Iar:Long-Evans 系ラット(各群 5 匹)に単回経口投与し、投与 3 時間後より長波長紫外線(UVA)を約 10 J/cm^2(1.40～1.43 mW/cm^2、120 分間)照射して光毒性を評価した。

照射 0.5、24、48 及び 72 時間後に耳介及び背部の皮膚反応観察、並びに耳介厚の測定を実施したところ、100 及び 1000 mg/kg 群では、背部皮膚の有色部位及び白色部位、耳介皮膚のいずれにも変化は認められず、耳介厚の増加も認められなかった。また、照射 72 時間後の眼科的検査、並びに眼球の病理組織学的検査では、100 及び 1000 mg/kg 群ともに異常は認められなかった。

以上の結果より、AM-1977 は光毒性誘発作用を示さないと考えられた。

単回投与 3 及び 5 時間後に AM-1977 の血漿中濃度を測定した。投与 3 及び 5 時間後の AM-1977 濃度は、100 mg/kg 群でそれぞれ 11.7 及び 8.74 μg/mL、1000 mg/kg 群でそれぞれ 26.1 及び 28.4 μg/mL であり、全身曝露されていることを確認した。

用量設定の根拠 : 先に実施したラット光毒性予備試験(300 及び 1000 mg/kg)では、光毒性は認められなかった[資料番号 4.2.3.7.1-2]。したがって、1000 mg/kg を本試験の高用量とし、公比 10 で 100 mg/kg を設定した。

2.6.6.8.2　成熟イヌ関節毒性試験

資料番号 4.2.3.7.2-1

AM-1977 の 30 及び 75 mg/kg を 16 箇月齢の雄性ビーグル犬(各群 3 頭)に 2 週間反復静脈内投与し、関節毒性を評価した。

いずれの投与量でも、肩、肘、手根、股、膝及び足根関節(関節軟骨含む)に肉眼的及び組織学的な異常は認められなかった。

関節以外の検査では、75 mg/kg 群で一般状態の変化(嘔吐、嘔吐物、流涎、半眼、運動性低下、よろめき歩行、痙攣(強直性/間代性)、振戦、脱糞)、血球数の低値又は低値傾向(網赤血球、白血球、リンパ球、好塩基球)、骨髄細胞数の低値又は低値傾向(総骨髄細胞、総顆粒球系細胞、総赤芽球系細胞、好塩基性赤芽球、多染性赤芽球)が、30 mg/kg 群で一般状態の変化(嘔吐、嘔吐物、流涎)が認められた。

以上の結果より、成熟イヌにおける関節毒性の無毒性量は 75 mg/kg/日と推定された。

用量設定の根拠:若齢イヌ(6 箇月齢)を用いて実施した 2 週間反復静脈内投与試験(2.6.6.3.7 参照)で、75 mg/kg 群の関節軟骨に肉眼的及び組織学的に毒性変化が認められたことから、75 mg/kg 及び 30 mg/kg を設定した。

2.6.6.8.3　代謝物の毒性試験

AM-1977 75 及び 150 mg/日を健康成人男性に単回経口投与した際(KRPAM1977X-T103 試験(2.7.2.2.2.2 参照))、代謝物(AM2012-008)の曝露量が総曝露量の 10%以上であったため、AM2012-008 の安全性評価(一般毒性、遺伝毒性、胚・胎児発生毒性)を実施した。

2.6.6.8.3.1　代謝物の細菌を用いる復帰突然変異試験

資料番号 4.2.3.7.3-1

試験菌株として、*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び *E. coli* WP2*uvrA* の 5 菌株を用い、プレインキュベーション法により、代謝活性化系(ラット肝 S9)の非存在下及び存在下で AM2012-008 の遺伝子突然変異誘発能を評価した。陰性対照には DMSO を、溶媒には塩酸含有 DMSO を用いた。予備試験で決定した最高用量から公比 2 で、代謝活性化系の非存在下及び存在下ともに各菌株について 8 用量を設定した。

代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株も AM2012-008 処理群の復帰変異コロニー数は陰性対照値の 2 倍未満であった。

また、代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての菌株に生育阻害が認められ、いずれの用量もプレート上に AM2012-008 の沈殿を認めなかった。

以上の結果より、AM2012-008 は細菌に対する遺伝子突然変異誘発能を有さないと考えられた。

用量設定の根拠：予備試験で認められた菌の生育阻害を基に、代謝活性化系の非存在下では、TA100 及び TA1535 は 0.0313 µg/plate、TA1537 は 0.0625 µg/plate、TA98 は 0.125 µg/plate、WP2*uvrA* は 1 µg/plate、代謝活性化系の存在下では、*S. typhimurium* 株は 0.125 µg/plate、WP2*uvrA* は 1 µg/plate を本試験の最高用量とした。

2.6.6.8.3.2　代謝物のほ乳類培養細胞を用いるマウスリンフォーマ *Tk* 試験

資料番号 4.2.3.7.3-2

マウスリンフォーマ細胞 L5178Y ($tk^{+/-}$ -3.7.2C)を用い、短時間処理法及び連続処理法のそれぞれの条件下で AM2012-008 遺伝子突然変異誘発能を評価した。短時間処理法は、代謝活性化系(ラット肝 S9)の非存在下及び存在下で AM2012-008 を 3 時間曝露し、連続処理法は代謝活性化系の非存在下で AM2012-008 を 24 時間曝露した。用量は、予備試験の結果から、短時間処理の代謝活性化系非存在下で 10 用量、代謝活性化系存在下で 9 用量、連続処理法で 9 用量とした。

AM2012-008 処理群の総変異出現率は、陰性対照群の総変異出現率よりも有意に高く、用量依存的な増加を示したため陽性と判定した。

以上の結果より、AM2012-008 はほ乳類培養細胞に対し遺伝子突然変異誘発能を有すると考えられた。

用量設定の根拠：予備試験で細胞の相対増殖率が 10%以下を示した用量は、短時間処理法の代謝活性化系非存在下及び存在下で 100 μg/mL 以上、連続処理法の 24 時間暴露で 25 μg/mL 以上であった。したがって、短時間処理法の代謝活性化系非存在下では 100 μg/mL、代謝活性化系存在下では 80 μg/mL、連続処理法の 24 時間曝露では 30 μg/mL を本試験の最高用量とした。

2.6.6.8.3.3　代謝物の *in vivo* 遺伝子突然変異試験

資料番号 4.2.3.7.3-6

AM2012-008 を 5、10 及び 20 mg/kg の用量で、10 週齢の雄性 F344/NSlc-Tg(*gpt* delta)ラット(各群 6 匹)に 28 日間反復皮下投与した後、各群 5 匹について 3 日後に肝臓及び骨髄を採取して *gpt* アッセイを実施した。

肝臓及び骨髄における突然変異頻度は、いずれの AM2012-008 投与群においても陰性対照群と比較して有意な増加は認められなかった。

以上の結果より、AM2012-008 は肝臓及び骨髄の *gpt* アッセイにおいて陰性であり、本試験条件下で *in vivo* 遺伝子突然変異を誘発しないと判断した。

TK 測定では、投与 1 日目及び投与 28 日目における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}8}$ はいずれも用量増加に伴い増加し、被験物質が全身曝露されていることが確認された。投与 28 日目における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}8}$ は、20 mg/kg 群で 0.974 μg/mL 及び 1.63 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施した *gpt* delta ラットを用いる遺伝子変異予備試験において、5、10、20 及び 30 mg/kg の用量で 14 日間反復皮下投与したところ、20 mg/kg 以上の用量で投与期間中に痂皮形成、解剖時に背部皮膚の癒着及び暗赤色巣、10 mg/kg で解剖時に背部皮膚の暗赤色巣が認められた。30 mg/kg では 20 mg/kg と比較してより重い症状が認められ、皮膚と筋肉の癒着も著しかったことから、28 日間の反復皮下投与の技術的限界量は 20 mg/kg と判断した。、以上から、高用量を 20 mg/kg として､以下公比 2 で 10 及び 5 mg/kg の計 3 用量を設定した[資料番号 4.2.3.7.3-7]。

2.6.6.8.3.4　代謝物のラット胚・胎児発生に関する試験(皮下)

資料番号 4.2.3.7.3-3

AM2012-008 の 10、20 及び 30 mg/kg を 10～11 週齢の雌性 SD 系ラット(各群 20 匹)に妊娠 7 日から 17 日まで 11 日間反復皮下投与し、母動物及び胎児に及ぼす影響を評価した。

母動物に関する変化として、20 及び 30 mg/kg 群で摂餌量の低値が認められたが、体重には影響がみられない軽微で一過性の変動であったため、毒性変化ではないと判断した。すべての AM2012-008 投与群で、一般状態では投与部位の痂疲形成、剖検では投与部位の暗赤色巣が認められた。さらに、剖検では 20 及び 30 mg/kg 群で投与部位の皮膚と筋肉の癒着も認められた。しかし、いずれも投与局所に限定した変化であり、全身性の変化(母動物の一般毒性及び生殖機能に関する影響)は認められなかったため、毒性変化ではないと判断した。

生殖機能に関する変化は認められなかった。

胚・胎児発生に関する変化は認められなかった。

以上の結果より、母動物の一般毒性及び生殖機能、並びに胚・胎児発生に関する無毒性量はいずれも 30 mg/kg/日と推定された。

TK では、投与初日(妊娠 7 日)及び投与最終日(妊娠 17 日)ともに、用量の増加に伴って C_{max} 及

び AUC_{0-24} は増加した。また、C_{max} 及び AUC_{0-24} は、妊娠7日と17日でほぼ同程度であった。妊娠17日の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、30 mg/kg 群で 1.85 μg/mL 及び 4.39 μg·h/mL であった。

用量設定の根拠：先に実施した AM2012-008 のラットにおける皮下投与による胚・胎児発生に関する予備試験(10 及び 25 mg/kg)で、いずれの用量群でも投与部位に痂皮が認められ、剖検では筋肉癒着(25 mg/kg 群のみ)が認められた。これらの結果から、AM2012-008 の反復皮下投与では、25 mg/kg/日付近が技術的投与限界量と考えられたため、30 及び 20 mg/kg をそれぞれ高及び中用量とし、反復皮下投与が可能であることが確認された 10 mg/kg を低用量とした[資料番号 4.2.3.7.3-4]。

2.6.6.8.4　不純物の毒性試験

資料番号 4.2.3.7.4-1～4.2.3.7.4-13

安全性確認が必要な不純物はなかった。ただし、文献調査及びコンピュータによる毒性評価(Derek Nexus：4,1.0、5.0.1 又は 5.0.2、Nexus 2.0.0、2.1.0 又は 2.1.1)を実施し、原薬製造工程において、原薬又は原薬に関連する化合物と異なる警告構造を有する不純物、並びに出発物質(　物質B*　及び　物質C*　)、出発物質前駆体(　物質D*　)及び中間体(　物質A*　)、　物質E*　及び　物質F*　)(2.3.S.3.2.1.5)について、細菌を用いる復帰突然変異試験を行った。その結果、　物質A*　で復帰変異コロニー数の増加が認められたため、*in vivo* における遺伝子突然変異誘発能との関連性を検討するために *in vivo* 遺伝子突然変異試験を実施した。以下に　物質A*　の細菌を用いる復帰突然変異試験結果及び　物質A*　の *in vivo* 遺伝子突然変異試験結果を示す。

2.6.6.8.4.1　不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験

資料番号 4.2.3.7.4-1

試験菌株として、*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び *E. coli* WP2*uvrA* の5菌株を用い、プレインキュベーション法により、代謝活性化系(ラット肝 S9)の非存在下及び存在下で　物質A*　の遺伝子突然変異誘発能を評価した。陰性対照(溶媒)には注射用水を用いた。予備試験で決定した最高用量から公比2で、代謝活性化系の非存在下及び存在下ともに各菌株について5用量を設定した。

代謝活性化系非存在下の TA1535 の最高用量(5000 μg/plate)で、陰性対照値の 2.4 倍の復帰変異コロニー数の増加が認められた。TA1535 以外の菌株については、代謝活性化系の有無にかかわらず復帰変異コロニー数は陰性対照値の2倍未満であった。

再現性の確認のために、代謝活性化系非存在下の TA1535 についてのみ、5000 μg/plate を高用量とした公差 500 の6用量で確認試験を実施したところ、3500 μg/plate 以上の濃度で陰性対照値の 2.1～2.4 倍の復帰変異コロニー数の増加が認められた。

また、代謝活性化系の有無にかかわらず、すべての菌株で生育阻害やプレート上の沈殿は見られなかった。

以上の結果より、　物質A*　は細菌に対する遺伝子突然変異誘発能を有すると考えられた。

*新薬承認情報提供時に置き換えた。

用量設定の根拠：予備試験では菌の生育阻害やプレート上の沈殿が認められなかったため、代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの菌株も 5000 μg/plate を本試験の最高用量とした。

2.6.6.8.4.2　不純物の *in vivo* 遺伝子突然変異試験

資料番号 4.2.3.7.4-2

物質A*　の 16.7、50 及び 150 mg/kg(投与量はフリー体として表記)を 9 週齢の雄性 Muta™ マウス(各群 6 又は 8 匹)に 4 週間反復静脈内投与し、各群 5 匹について肝臓及び骨髄における遺伝子突然変異誘発能を評価した。

いずれの投与量でも、肝臓及び骨髄の突然変異体頻度に有意な増加は認められず、物質A*　の遺伝子突然変異誘発能は陰性と判断した。

以上の結果より、物質A*　の静脈内投与は Muta™ マウスの肝臓及び骨髄に対し遺伝子突然変異誘発作用を示さないと考えられた。　*新薬承認情報提供時に置き換えた。

用量設定の根拠:先に実施したマウス 14 日間反復静脈内投与試験(50、100、150 及び 200 mg/kg))において、200 mg/kg 群の 1/3 例に死亡が見られたため、150 mg/kg を高用量とし、公比 3 で 50 及び 16.7 mg/kg を設定した[資料番号 4.2.3.7.4-14]。

2.6.6.9　考察及び結論

2.6.6.9.1　単回投与毒性

ラット及びサルの単回経口投与では本薬投与に起因した変化は観察されなかった。イヌの単回経口投与時、嘔吐及び軟便が観察された。

ラットの単回静脈内投与時、不規則呼吸、運動性低下及び半眼といった中枢神経系への影響が観察された。イヌの単回静脈内投与時、運動性低下や強直性痙攣などの中枢神経系への影響が主に観察された。

2.6.6.9.2　反復投与毒性

以下に、反復投与毒性試験で見られた主な所見の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度との比較を示す。

表 2.6.6.9-1　反復投与毒性試験で見られた主な所見の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度の比較

毒性所見	動物種	投与経路	投与期間	性	無毒性量 (mg/kg/日)	C_{max} [a] (μg/mL)	AUC_{0-24} [a] (μg·h/mL)	臨床血中濃度 [b] との比	
								C_{max}	AUC
中枢神経系への影響(嘔吐/流涎以外)	ラット	静脈内	2 週間	雌雄	30	12.5	21.9	13	1.7
			4 週間		30	14.0	26.3	14	2.0
	イヌ	静脈内	2 週間	雌雄	30	19.8	67.5	20	5.2
			4 週間		30	14.6	61.7	15	4.7
	サル	経口	2 週間	雄	30	13.8	213	14	16
			4 週間	雌雄	30	13.3	156	13	12
嘔吐/流涎	イヌ	経口	2 週間	雌雄	30	6.00	42.9	6.0	3.3
			4 週間	雄	30	4.58	38.1	4.6	2.9
		静脈内	2 週間	雌雄	12.5	6.13	27.0	6.1	2.1
			4 週間		12.5	5.81	23.9	5.8	1.8
	サル	経口	2 週間	雄	10	3.64	37.4	3.6	2.9
			4 週間	雌雄	30	13.3	156	13	12
QTc 間隔延長	イヌ	経口	2 週間	雌	10	1.09	13.4	1.1	1.0
			4 週間		10	2.14	13.2	2.1	1.0
		静脈内	2 週間	雌雄	30	19.8	67.5	20	5.2
			4 週間		30	14.6	61.7	15	4.7
	サル	経口	4 週間	雌雄	15	8.00	86.7	8.0	6.7
免疫系への影響	ラット	経口	2 週間	雌雄	80	5.21	53.0	5.2	4.1
			4 週間		20	2.29	11.9	2.3	0.9
		静脈内	2 週間	雄	30	13.2	26.3	13	2.0
消化管への影響	イヌ	静脈内	2 週間	雌雄	30	19.8	67.5	20	5.2
肝毒性	ラット	経口	2 週間	雄	80	4.90	60.6	4.9	4.7
			4 週間	雌	80	7.22	48.2	7.2	3.7
白血球減少	イヌ	静脈内	2 週間	雌雄	30	19.8	67.5	20	5.2
			4 週間		30	14.6	61.7	15	4.7

a：性が雌雄の場合は両性を合わせた平均値、雄のみ又は雌のみの場合は各性の平均値(投与期間 2 週間の試験は投与 14 日目、同 4 週間の試験は投与 28 日目の値より算出)

b：AM-1977 75 mg/日を健康成人男性に 7 日間反復経口投与したとき、投与 7 日目の C_{max} (0.998 μg/mL)及び AUC_t (13.0 μg·h/mL) (KRPAM1977X-T103 試験、2.7.2.2.2.2 参照)

キノロン系抗菌薬のクラスエフェクトとして、中枢神経系への影響、心血管系への影響、免疫系への影響、消化管への影響、肝毒性、腎毒性、膵毒性及び眼毒性などが知られている。

中枢神経系への影響はキノロン系抗菌薬で報告されている症状と同様で [3)-7)]、主にラット及びイヌの反復静脈内投与時に見られ、ラットは 100 mg/kg で流涎、不規則呼吸、運動性低下及び半眼が、イヌは 30 mg/kg 以上で嘔吐や流涎が、75 mg/kg で運動性低下、よろめき歩行、半眼、振戦、間代性痙攣などの症状が観察された。サルでは反復経口投与毒性試験のための用量設定試験[資料番号 4.2.3.2-13]において 30 mg/kg では嘔吐及び流涎、100 mg/kg で嘔吐、流涎、間代性痙攣、傾眠、振戦、散瞳及び体のふらつきなどの症状が観察された。イヌでは単回静脈内投与時にも同様

の症状が観察された(2.6.6.2.1 参照)。中枢抑制性の症状(運動性低下や半眼など)や痙攣などは高用量投与時のみに観察され、これらの症状が観察されたときの投与量の C_{max} は、ラットは臨床の 44 倍以上、イヌは 54 倍以上、サルは 34 倍以上であった。一方、これらの症状に対する無毒性量投与時の C_{max} は、ラットは臨床の 13～14 倍、イヌは 15～20 倍、サルは 13～14 倍であった。一部のキノロン系抗菌薬による痙攣誘発には GABA 受容体結合阻害が関与すると考えられており、非ステロイド性抗炎症薬(NSAIDs)との併用により作用が増強することが知られている [1), 2)]。AM-1977 をラットに 1000 mg/kg 単回経口投与(臨床 C_{max} の約 15 倍の濃度に相当)したとき、抗炎症薬(4-ビフェニル酢酸 100 mg/kg 又はフルルビプロフェンアキセチル 200 mg/kg)を併用投与しても痙攣誘発作用を示さなかった(2.6.2.4.3.1 参照)が、対照薬である ENX 200 mg/kg 単回経口投与と抗炎症薬の併用投与では痙攣誘発作用が確認された。なお、イヌやサルでは嘔吐や流涎が高用量以外にも観察され、無毒性量投与時の C_{max} はイヌで臨床の 4.6 倍以上、サルで 3.6 倍以上であった。以上より、AM-1977 が臨床で中枢神経系に影響を及ぼす懸念は低いと考えられた。

心血管系への影響として、イヌの 30 及び 100 mg/kg 反復経口投与時と 75 mg/kg 反復静脈内投与時、サルの 30 mg/kg 反復経口投与時に QTc 間隔の延長が見られ、無毒性量投与時の C_{max} は、イヌで臨床の 1.1～20 倍、サルで 8.0 倍であった。AM-1977 は hERG 電流に対し抑制作用を示すことが確認されており(2.6.2.4.2.1 参照)、hERG 電流の抑制作用により発現する QTc 間隔の延長はキノロン系抗菌薬のクラスエフェクトとして知られている [8), 9), 10)]。したがって、AM-1977 の毒性試験で見られた QTc 間隔の延長も hERG 電流抑制作用に起因したものと推察されるが、臨床における QT/QTc 評価試験(KRPAM1977X-T111 試験、2.7.4.4.2.2.1 参照)において、臨床推奨用量の 3 倍量である 225 mg/日の単回経口投与では、QTc 間隔の延長作用は陰性であり、そのときの C_{max}(1.91 μg/mL)は臨床推奨用量の定常状態での C_{max}(0.998 μg/mL)の約 2 倍であったことから、臨床で QTc 間隔の延長作用を発現する可能性は低いと考えられた。

免疫系への影響として、ラット反復投与毒性試験で脾臓の白脾髄の胚中心形成が認められたが、血中の白血球数やグロブリン値に変動はなく、腸間膜リンパ節などの他の二次リンパ組織にも免疫応答の発現を示唆するような異常は見られなかった。ラット試験で脾臓の白脾髄の胚中心形成が見られた最小影響量投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ はそれぞれ 6.86 μg/mL 及び 63.5 μg·h/mL で臨床の 6.9 及び 4.9 倍であったが、イヌは臨床 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ の 56 及び 17 倍、サルは臨床 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ の 13 及び 12 倍の曝露量で投与されても同様の所見を示さなかった。また、経口剤の臨床試験でもリンパ球数の増加や過敏症など過剰な免疫反応と思われるような因果関係の否定できない有害事象は発現していないことからも、本所見はラットに特異的な変化である可能性が考えられた。したがって、AM-1977 が臨床で重篤な免疫系への影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

消化管への影響として、イヌ反復経口投与毒性試験の 100 mg/kg で嘔吐が観察されたが、キノロン系抗菌薬ではしばしば見られる所見であった [4), 5), 11), 12), 13)]。嘔吐に対する無影響量投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、臨床 C_{max} 及び AUC_t のそれぞれ 4.6～6.1 倍及び 1.8～3.3 倍であった。キノロン系抗菌薬でしばしば観察される下痢や軟便は見られなかった。また、イヌ 2 週間静脈内投与毒性試験の 75 mg/kg で胃変性壁細胞の増加が認められたが、胃への直接的な傷害像や増殖性病変像は観察されなかった。本所見の臨床的意義は不明であるが、より長期間投与した 4 週間試験では観察されず、長期投与により増悪する変化ではないと考えられたことから、本所見の毒性学的意義は低いと判断した。そのほか、ラットで盲腸の腫大や重量増加、尿中電解質の変動が見られたが、これらは抗菌薬を投薬したげっ歯類でしばしば見られる症状であった。また、ラット及びイヌで見られた脂質系パラメータの変動は、他のキノロン系抗菌薬でも認められて [4), 14)]おり、薬理作用に起因した腸内細菌叢の変化に伴ったものと考えられた。以上から、AM-1977 の消化管へ

の影響は従来のキノロン系抗菌薬で見られた変化を大きく逸脱するものではなく、臨床で重篤な消化管障害を生じる可能性は低いと考えられた。

肝臓への影響として、ラット反復経口投与毒性試験で ALT の軽度上昇が見られたが、ALT 上昇に対する無影響量投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、臨床の 4.9 及び 3.7 倍以上であり、また他の肝障害パラメータや肝組織に異常はなかった。イヌ及びサル試験では肝障害性を示唆する所見は認められなかった。キノロン系抗菌薬の肝臓への影響については、LVFX のラット 4 週間経口投与毒性試験(肝細胞の空胞化及び過形成)、GRNX のラット 4 週間経口投与毒性試験(肝細胞の脂肪滴沈着、肝細胞壊死を伴う単核細胞浸潤、VLDL 様顆粒の増加)又はイヌ 4 週間経口投与試験(ALT の一過性上昇、肝中心静脈周囲の炎症性細胞浸潤)や MFLX のイヌ 4 週間経口投与毒性試験(ALT 上昇)又はサル 4 週間経口投与毒性試験(ALT 及び AST 上昇、肝細胞の単細胞壊死及び空胞化)などで報告されている [4), 5), 15)]が、AM-1977 で見られた ALT 上昇は軽度であり、ラットは臨床 C_{max} 及び AUC_t のそれぞれ 51 及び 18 倍、イヌは 56 及び 17 倍、サルは 13 及び 12 倍の曝露量で投与されても肝臓に組織学的異常を示さなかった。一方、イヌの 2 週間静脈内投与毒性試験で、75 mg/kg 群の雄 1/3 例及び雌 2/3 例に胆嚢の出血又は出血・線維化が見られたが、肝胆道系パラメータは変動しておらず、より長期間投与した 4 週間静脈内投与毒性試験やサルでは胆嚢に病変は認められないことから、本所見の毒性学的意義は低いと判断した。以上から、AM-1977 の肝障害に関する懸念は低く、臨床で重篤な肝毒性を発現する可能性は低いと考えられた。

腎毒性を示唆する所見は、ラット、イヌ及びサルのいずれの反復投与毒性試験でも見られなかった。サル試験の 7.5 mg/kg 以上で投与量に依存しないクレアチニンの軽度上昇が見られたが、他の検査で腎障害を示唆するパラメータの変動や組織学的な異常はなかった。CPFX では、ラット及びサルの反復投与毒性試験で、尿中に排泄された薬物の再結晶化に起因したとされる尿素窒素及びクレアチニン上昇を伴った尿細管障害が報告されている [3)]が、AM-1977 ではいずれの動物種でも尿細管に病変は認められなかった。AM-1977 は、クレアチニンの尿細管分泌に関与するトランスポーターである MATE(MATE1 及び MATE2-K)に対する阻害作用を有することが確認されており(2.7.2.2.1.5.2 参照)、MATE 阻害作用をもつ化合物がクレアチニンの尿細管分泌を抑制し、血中のクレアチニンを上昇させることが報告されている [16), 17)]。サルに見られたクレアチニン上昇も MATE 阻害作用に起因したものと推察され、AM-1977 のサル試験では臨床 C_{max} 及び AUC_t のそれぞれ 13 及び 12 倍の曝露量で投与しても腎臓の組織学的異常は認められないことから、AM-1977 が臨床で重篤な腎障害を発現する可能性は低いと考えられた。

膵毒性を示唆する所見は、ラット、イヌ及びサルのいずれの反復投与毒性試験でも見られなかった。GFLX のラット及びイヌ反復投与毒性試験や LFLX のラット反復投与毒性試験では、膵 β 細胞の空胞変性が報告されている [12), 18)]が、AM-1977 の反復投与毒性試験では、ラット、イヌ及びサルのいずれも血糖値の変動を示さず、膵臓組織に病変は認められず、抗インスリン抗体を用いた免疫染色でも膵島に異常はなかった。したがって、AM-1977 が臨床で重篤な血糖異常を生じる可能性は低いと考えられた。

眼毒性を示唆する所見は、ラット、イヌ及びサルのいずれの反復投与毒性試験でも認められなかった。キノロン系抗菌薬は高度のメラニン親和性をもつため、メラニン豊富な眼の安全性に留意する必要がある [19)]。眼球ぶどう膜からの消失は遅く、メラニン親和性がみられた(2.6.4.4.2 参照)が、ラット、イヌ及びサルに臨床 C_{max} 及び AUC_t のそれぞれ 12 及び 6.7 倍以上の曝露量で AM-1977 を反復投与しても眼毒性を示すことはなく、イヌの 4 週間静脈内投与毒性試験で実施した網膜電位図測定にも異常は認められなかった。したがって、AM-1977 が臨床で重篤な眼障害を生じる懸念は低いと考えられた。

そのほか、イヌの反復静脈内投与毒性試験で 75 mg/kg 投与時に白血球の減少が見られた。成熟

イヌの関節毒性試験でも同様の所見が見られており、骨髄検査では骨髄細胞数や顆粒球系細胞の低値が認められた。白血球数(好中球数、リンパ球数など)や骨髄細胞数(比)の低値は、他のキノロン系抗菌薬でもいくつか報告されており[4), 5), 11), 20), 21)]、なかでも MFLX はサルの 4 週間経口投与毒性試験にて臨床 AUC_t の約 4.3 倍となる投与量で骨髄の組織学的異常(細胞数減少/充血、漿液性萎縮)を示す[5)]など、キノロン系抗菌薬による骨髄への影響が示唆されている。イヌの 75 mg/kg 反復静脈内投与時には網赤血球数の低値や赤芽球系骨髄細胞数の低値も見られていることから、AM-1977 が骨髄に影響を及ぼしている可能性は否定できないが、ラットは臨床 C_{max} 及び AUC_t のそれぞれ 51 及び 18 倍、イヌは 56 及び 17 倍、サルは 13 及び 12 倍の曝露量となる用量まで投与しても骨髄組織に病理組織学的異常を示さなかった。なお、イヌ試験の白血球減少に対する無影響量からは臨床 C_{max} 及び AUC_t の 15 及び 4.7 倍以上の安全域が確認されている。以上より、イヌ試験で 4.7 倍以上の安全域が得られていることから、臨床における AM-1977 の白血球減少に対する懸念は少ないと考えられた。

2.6.6.9.3　遺伝毒性

In vitro 試験では、細菌を用いる復帰突然変異試験は陰性、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験及びマウスリンフォーマ *Tk* 試験はいずれも陽性であった。染色体異常試験では 62.5 μg/mL 以上で染色体構造異常陽性を示し、マウスリンフォーマ *Tk* 試験では 20 μg/mL 以上で総変異出現率が増加した。類薬でも *in vitro* 染色体異常試験やマウスリンフォーマ *Tk* 試験の陽性結果が報告されており[5), 13), 20), 22), 23)]、キノロン系抗菌薬がほ乳動物の Topoisomerase II を阻害することが知られている[22), 24)]。したがって、AM-1977 で見られた染色体構造異常や突然変異コロニーの増加は Topoisomerase II 阻害作用に起因したものと考えられた。なお、マウスリンフォーマ *Tk* 試験の短時間処理法で遺伝子突然変異誘発作用を示さなかった濃度(15 μg/mL)は、臨床 C_{max} の約 15 倍であった。

一方、*in vivo* 試験では、経口及び静脈内投与による小核試験、経口投与による不定期 DNA 合成試験及び経口投与による遺伝子突然変異試験を実施したが、いずれも陰性であった。ラットで小核誘発作用が認められなかった 100 mg/kg を単回静脈内投与したときの平均 C_{max} は 38.2 μg/mL (概要表 2.6.7.7-3、投与 1 日目(雄性)より外挿)であり、臨床 C_{max} と比較して約 38 倍高く、また *gpt* delta ラットで遺伝子突然変異誘発作用が認められなかった 300 mg/kg を反復経口投与したときの C_{max} は 14.5 μg/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ は 140 μg･h/mL であり、それぞれ臨床の 15 倍、11 倍であった。

以上のことから、AM-1977 が生体内で遺伝毒性を示す懸念は低いと考えられた。

2.6.6.9.4　がん原性

本薬のがん原性試験として Tg-rasH2 マウスを用いる 26 週間がん原性試験を実施した結果、雌雄ともにいずれの組織・器官に対してもがん原性は認められなかった。がん原性が認められなかった雌雄の高用量(雄：200 mg/kg/日、雌：300 mg/kg/日)における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、雄で 5.80 μg/mL 及び 35.8 μg·h/mL、雌で 5.32 μg/mL 及び 50.8 μg·h/mL であり、それぞれ臨床の 5.8 及び 2.8 倍、並びに 5.3 及び 3.9 倍であった。

以上、AM-1977 は Tg-rasH2 マウスを用いた短期がん原性評価においてがん原性が認められなかったことから、臨床で発がん性を示す懸念は低いと考えられた。

2.6.6.9.5　生殖毒性

以下に、各生殖発生毒性試験の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度との比較を示す。

表 2.6.6.9-2　各生殖発生毒性試験の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度との比較

毒性試験		無毒性量 (mg/kg/日)	C_{max} [b] (μg/mL)	AUC [b] (μg·h/mL)	臨床血中濃度 [a] との比	
					C_{max}	AUC
ラット受胎能及び着床までの初期胚発生 (経口投与)	雄	80	6.50 [c]	78.7 [c]	6.5	6.1
	雌	<20	2.12 [c]	9.86 [c]	<2.1	<0.8
	初期胚発生	300	13.5 [c]	170 [c]	14	13
ラット胚・胎児発生 (経口投与)	母動物	3	0.305	0.807	0.3	0.1
	胚・胎児	30	3.60	22.9	3.6	1.8
	催奇形性	30	3.60	22.9	3.6	1.8
ラット胚・胎児発生 (静脈内投与、予備)	母動物	5	1.70	2.74	1.7	0.2
	胚・胎児	80	36.1	83.1	36	6.4
	催奇形性	80	36.1	83.1	36	6.4
ウサギ胚・胎児発生 (経口投与)	母動物	1	0.0739	0.514	0.1	<0.1
	胚・胎児	5	0.532	4.95	0.5	0.4
	催奇形性	30	3.02	24.4	3.0	1.9
ウサギ胚・胎児発生 (静脈内投与、予備)	母動物	5	6.09	7.84	6.1	0.6
	胚・胎児	15	22.7	30.5	23	2.3
	催奇形性	25	48.1	65.4	48	5.0
ラット出生前及び出生後の発生並びに母体機能 (経口投与)	母動物					
	一般毒性	3	0.305 [d]	0.807 [d]	0.3	0.1
	生殖機能	300	13.9 [d]	162 [d]	14	12
	出生児	30	3.60 [d]	22.9 [d]	3.6	1.8

a：AM-1977 75 mg/日を健康成人男性に 7 日間反復経口投与したとき、投与 7 日目の C_{max} (0.998 μg/mL)及び AUC_t (13.0 μg·h/mL)(KRPAM1977X-T103 試験、2.7.2.2.2.2 参照)
b：平均値
c：ラット 4 週間反復経口投与試験からの外挿値
d：ラット胚・胎児発生に関する経口投与試験からの外挿値

ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、雌の 20 mg/kg 以上の群及び雄の 300 mg/kg 群で一般状態の変化、体重増加抑制又は摂餌量減少が認められたが重篤な変化ではなく、すべての投与群の雌雄に生殖機能及び初期胚発生への影響は認められなかった。生殖機能及び初期胚発生に関する無毒性量(300 mg/kg/日)の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、それぞれ臨床の 14 及び 13 倍であった。

ラットの胚・胎児発生に関して、本試験(経口投与)の 300 mg/kg 群で胎児体重の低値、骨化遅延及び内臓異常(胸腺索)[25]が認められたが、これらは母動物の摂餌量減少を伴う体重増加抑制に関連した発育遅延と考えられた。一方、300 mg/kg 群で見られた骨格異常(肋骨の短小)及び骨格変異(頸部短小過剰肋骨及び腰椎減少)は AM-1977 による影響と考えられた。なお、静脈内投与用量設定試験では、静脈内投与による特有の変化は見られず、催奇形性は認められなかった。妊娠ラットの無毒性量は 3 mg/kg/日と推定され、臨床と比較すると、C_{max} では 0.3 倍、AUC_{0-24} では 0.1 倍であった。また、胚・胎児発生及び催奇形性に関する無毒性量は 30 mg/kg/日と推定され、臨床と比較すると、C_{max} では 3.6 倍、AUC_{0-24} では 1.8 倍であった。なお、催奇形性は、臨床と比較すると、C_{max} では 14 倍、AUC_{0-24} では 12 倍で認められた。

ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体機能に関する試験では、300 mg/kg 群で 4 日生存率の低値(対照群と比較して 3%)及び出生児の体重減少を主とした発育遅延が認められたが、4 日生存率はごく軽度の低値であり、発育遅延は母動物の体重及び摂餌量減少に関連する変化と考えられた。全ての投与群で母動物の生殖機能に関する変化は認められなかった。母動物の一般毒性

に関する無毒性量は 3 mg/kg/日で、C_{max} 及び AUC_{0-24} は臨床の 0.3 及び 0.1 倍、生殖機能に関する無毒性量は 300 mg/kg/日で、C_{max} 及び AUC_{0-24} は臨床の 14 及び 12 倍、出生児に関する無毒性量は 30 mg/kg/日で、C_{max} 及び AUC_{0-24} は臨床の 3.6 及び 1.8 倍であった。

ウサギの胚・胎児発生に関して、本試験(経口投与)では、胎児の外表、骨格及び内臓に異常は認められなかったが、30 mg/kg 以上の群で着床前死亡率の高値傾向に関連した生存胎児数の減少が認められた。ただし、着床前死亡率の高値については、当該試験は着床時期から投与を開始していること、更に、ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生並びに胚・胎児発生に関する試験の高用量でも着床への障害は見られていないことから、AM-1977 による明らかな影響とは考えられなかった。なお、ウサギでは催奇形性は認められなかった。また、静脈内投与用量設定試験では、静脈内投与特有の変化は認められなかった。以上の結果より、妊娠ウサギの無毒性量は 1 mg/kg/日と推定され、臨床と比較すると、C_{max} では 0.1 倍、AUC_{0-24} では 0.1 倍未満であった。また、胚・胎児発生に関する無毒性量は 5 mg/kg/日と推定され、臨床と比較すると、C_{max} では 0.5 倍、AUC_{0-24} では 0.4 倍であった。催奇形性は、臨床と比較すると、C_{max} では 3.0 倍、AUC_{0-24} では 1.9 倍まで認められなかった。

以上より、AM-1977 の生殖発生毒性試験において、妊娠動物及び胎児に十分な安全域が得られなかったこと、ラットの胎盤及び母乳中に AM-1977 が移行することが確認されたこと(2.6.4.4.3 及び 2.6.4.6.2 参照)、妊婦又は妊娠している可能性のある婦人に対する使用経験がなく、ヒトの妊娠中の投与に関する安全性は確立していないことから、妊婦又は妊娠している可能性のある婦人に対する AM-1977 の使用は禁忌とすることが妥当と考えられた。

2.6.6.9.6　光毒性

キノリン骨格の 8 位にハロゲンを有するキノロン系抗菌薬では、薬剤性光線過敏症等の副作用発現が報告されており [26]、マウスやラット、モルモットでしばしば光毒性反応が見られる。一方で、キノリン骨格の 8 位にメトキシ基が導入されたキノロン系抗菌薬は、光照射に対して安定で光毒性も弱いことが知られている [27), 28)]。8-メトキシ構造を有する AM-1977 は、有色ラットに 1000 mg/kg を単回経口投与したとき、UVA 照射後の眼球及び皮膚(有色部位及び白色部位)はいずれも光毒性反応を示さず、このときの血漿中濃度は 26.1～28.4 μg/mL と臨床 C_{max} の 26 倍以上高い濃度であった。以上より、AM-1977 の光毒性に関する懸念は低いと考えられた。

2.6.6.9.7　関節毒性

ラット及びサルの反復投与毒性試験で関節への影響は認められなかったが、イヌ(投与開始 6 箇月齢)の 2 週間及び 4 週間反復投与毒性試験では、大腿骨又は上腕骨の関節軟骨にブリスターや関節腔の滑液増加が観察された。関節軟骨の成長ピークを過ぎたと思われる成熟イヌ(投与開始 16 箇月齢)に 2 週間反復静脈内投与して関節への影響を調べたところ、肩・肘・手根・股・膝及び足根関節のいずれにも異常は観察されなかった。関節に対する影響はキノロン系抗菌薬のクラスエフェクトとして体重増加が著しい幼若動物でしばしば発現することが知られており、成長期動物の関節への荷重負荷が要因の 1 つと推察されている [29]。AM-1977 と類薬(LVFX 及び GRNX)について、以下に未成熟イヌにおける関節毒性の無毒性量と臨床血中濃度との関係を示す。

表 2.6.6.9-3　未成熟イヌにおける関節毒性の無毒性量における血中濃度と臨床血中濃度との比較

	イヌ 月齢	投与経路 投与期間	性	無毒性量 (mg/kg/日)	C_{max} (μg/mL)	AUC (μg·h/mL)	臨床血中濃度との比 [a]	
							C_{max}	AUC
AM-1977	6	経口 2 週間	雄 雌	100 10	17.0 1.09	130 13.4	17 1.1	10 1.0
	6	静脈内 2 週間	雌雄	30	19.8[b]	67.5[b]	20	5.2
LVFX	4	経口 7 日間	雄	5	1.64[c]	23.5[c]	0.3	0.5
	7～8	静脈内 4 週間	雌雄	2.9	3.38[d]	16.6[d]	0.5	0.3
GRNX	8～9	経口 4 週間	雌雄	25	9.42[e]	136[e]	0.9	1.2
	8	静脈内 4 週間	雌雄	15	11.5[f]	99.5[f]	1.1	0.9

a : AM-1977 : 75 mg/日を健康成人男性に 7 日間反復経口投与したとき、投与 7 日目の C_{max} 0.998 μg/mL、AUC_t 13.0 μg·h/mL(75 mg/日 ×7 日間反復経口投与) (KRPAM1977X-T103 試験、2.7.2.2.2.2 参照)
LVFX：C_{max} 6.32 μg/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ 49.67 μg·h/mL(500 mg/日 ×7 日間反復経口投与)[15)]
GRNX：C_{max} 10.90 μg/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ 114.9 μg·h/mL(400 mg/日 ×14 日間反復経口投与)[4)]
b：投与 14 日目の雌雄合わせた平均値
c：LVFX 20 mg/kg を雄性イヌに経口投与したときの C_{max} 6.57 μg/mL、$AUC_{0\text{-}48}$ 94.1 μg·h/mL[21)]から外挿
d：LVFX 5 mg/kg を雄性イヌに静脈内投与したときの C_{max} 5.83 μg/mL、$AUC_{0\text{-}48}$ 28.7 μg·h/mL[21)]から外挿
e：GRNX 25 mg/kg を経口投与(初回)したときの雌雄合わせた平均値[4)]
f：GRNX 15 mg/kg を静脈内投与(初回)したときの雌雄合わせた平均値[4)]

類薬の関節毒性に対する安全域が C_{max} で 0.3～1.1 倍、$AUC_{0\text{-}24}$ で 0.3～1.2 倍であるのに対し、AM-1977 の安全域は C_{max} で 1.1～20 倍、$AUC_{0\text{-}24}$ で 1.0～10 倍であった。さらに、成熟イヌの試験では C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ が臨床のそれぞれ 58 及び 18 倍(概要表 2.6.7.7-7、投与 14 日目(雄性)より外挿)まで投与しても関節に影響を示さなかった。以上より、AM-1977 の関節毒性に対する懸念は他のキノロン系抗菌薬より強いものではないこと、成熟イヌでは関節毒性を示していないこと、並びにキノロン系抗菌薬の関節毒性は骨の成長速度が遅いヒトでは起こりにくいと考えられていることから、AM-1977 の関節毒性が臨床で発現する可能性は低いと考えられた。

2.6.6.9.8　代謝物の毒性

代謝物(AM2012-008)は、一般毒性、遺伝毒性及び胚・胎児発生毒性について安全性評価を行った。

一般毒性評価は、AM-1977 のサル 4 週間反復経口投与毒性試験で行った。当該試験で見られた毒性所見は他の毒性試験と同様であり、サルに AM-1977 30 mg/kg を反復経口投与した時の AM2012-008 の曝露量は臨床 C_{max} (0.0820 μg/mL)の 5.7 倍、臨床 AUC_t (1.22 μg·h/mL)の 5.6 倍であった。

In vitro 遺伝毒性試験を実施した結果、細菌を用いる復帰突然変異試験は陰性、マウスリンフォーマ *Tk* 試験は陽性であった。AM2012-008 がマウスリンフォーマ *Tk* 試験で陽性を示した最小濃度(20 μg/mL)が AM-1977 と同じであることや、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を予備的に検討した結果(2.6.7.19.4-1)から、AM2012-008 の *in vitro* 染色体異常誘発能は AM-1977 と同程度と考えられた。AM-1977 は前述した通り、臨床 C_{max} より約 38 倍高い血中濃度でも *in vivo* 小核誘発作用を有さない(2.6.6.9.3 参照)ことを考慮すると、AM-1977 と同様に認められた AM2012-008 の *in vitro* 染色体異常誘発能が生体内で発現する可能性は低いと考えられた。また、マウスリンフォーマ *Tk* 試験で陽性を示したことから、*gpt* delta ラットを用いて遺伝子突然変異誘発能を評価したが、陰性であったことから、生体内で遺伝子突然変異を誘発する可能性は低いと考えられた。

なお、小核試験で AM-1977 1000 mg/kg をラットに単回経口投与したときの AM2012-008 の C_{max} 及び AUC_{0-24} は、0.152 μg/mL 及び 1.39 μg·h/mL(妊娠ラットに AM-1977 を 300 mg/kg 単回経口投与したときの C_{max} 0.0456 μg/mL 及び AUC_{0-24} 0.418 μg·h/mL(概要表 2.6.7.15-2)から外挿)で、臨床 C_{max} (0.0820 μg/mL)及び AUC_t (1.22 μg·h/mL)の 1.9 倍及び 1.1 倍、遺伝子突然変異試験で AM2012-008 20 mg/kg を *gpt* delta ラットに反復皮下投与したときの C_{max} は 0.974 μg/mL、AUC_{0-8} は 1.63 μg·h/mL であり、それぞれ臨床の 12 倍、1.3 倍になることから、代謝物の *in vivo* 遺伝毒性評価はなされているものと判断した。AM2012-008 のがん原性試験は実施していないが、AM2012-008 は AM-1977 と高い構造類似性を有しており、遺伝毒性プロファイルにも明確な違いが認められないこと、並びに AM-1977 では *in vivo* 遺伝子突然変異誘発作用及びがん原性が認められなかったことを踏まえると、AM2012-008 が臨床で発がん性を示す懸念は低いことが推察された。

AM-1977 のラット胚・胎児発生経口投与試験にて AM2012-008 の曝露量を測定したところ、臨床 C_{max} (0.0820 μg/mL)の 0.4 倍、臨床 AUC_t (1.22 μg·h/mL)の 0.2 倍程度しか曝露されておらず、生殖毒性評価には不十分と考えられたため、AM2012-008 を直接皮下投与するラット胚・胎児発生毒性試験を追加で実施した。30 mg/kg まで投与した結果、母動物の一般毒性、生殖機能及び胚・胎児発生について AM2012-008 の毒性学的影響は認められなかった。30 mg/kg 投与したときの C_{max} 1.85 μg/mL 及び AUC_{0-24} 4.39 μg·h/mL は、臨床 C_{max} (0.0820 μg/mL)及び AUC_t (1.22 μg·h/mL)の 23 倍及び 3.6 倍になることから、代謝物の胚・胎児発生毒性評価はなされているものと判断した。

以上より、AM2012-008 について特段の毒性学的懸念はないものと考えられた。

2.6.6.9.9　不純物の毒性

物質A*　の細菌を用いる復帰突然変異試験では、代謝活性化非存在下の TA1535 株のみ陽性で、その他の菌株(*S. typhimurium* TA98、TA100、TA1537 及び *E. coli* WP2*uvrA*)は陰性であること、並びに *in vivo* 遺伝子突然変異試験結果は陰性であったことから、物質A*が生体内で遺伝子突然変異誘発作用を示す懸念は低いと考えられた。

*新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.6.10　図表

本文中の図表は、本文中の適切な場所に記載した。

2.6.6.11　参考文献

1) 堀誠治、佐藤淳子、川村将弘. GABA 受容体結合におけるキノロン薬と非ステロイド薬の薬物相互作用に関する研究–非ステロイド薬からみた構造活性相関–. 臨床薬理. 1997;28(1):437-8 [資料番号 4.3-14]
2) 堀誠治. 抗菌薬の副作用とその発現機序–濃度依存的な副作用を中心に–. 日本化学療法学会雑誌. 2004;52(6):293-303 [資料番号 4.3-15]
3) 申請資料概要. シプロキサン注(シプロフロキサシン)に関する資料. バイエル薬品株式会社 http://www.pmda.go.jp/drugs/2000/g000911/index.html (参照 2016-10-14)
4) 申請資料概要. ジェニナック錠 200 mg に関する資料. 富山化学工業株式会社 http://www.pmda.go.jp/drugs/2007/P200700040/index.html (参照 2016-10-14)
5) 申請資料概要. アベロックス錠 400 mg に関する資料. バイエル薬品株式会社 http://www.pmda.go.jp/drugs/2005/P200500032/index.html (参照 2016-10-14)
6) 申請資料概要. クラビット点滴静注バッグ 500 mg/100 mL、クラビット点滴静注 500 mg/20 mL (レボフロキサシン水和物)に関する資料. 第一三共株式会社

http://www.pmda.go.jp/drugs/2010/P201000061/index.html (参照 2016-10-14)

7) Oda S, Ide M, Tamura K, Nagatani M, Shindo Y, Iwakura K, et al. A 4-week oral toxicity study of Prulifloxacin (NM441) in dogs followed by a 4-week recovery test. J Toxicol Sci 1996;21(Sup.1):71-88 [資料番号 4.3-16]

8) Ball P. Quinolon-induced QT interval prolongation: a not-so-unexpected class effect. J Antibicrobial Chem 2000;45:557-9 [資料番号 4.3-1]

9) 中島光好．キノロン系薬の副作用としての QT 延長．日本化学療法学会雑誌．2001;49(4):229-35 [資料番号 4.3-2]

10) Bischoff U, Schmidt C, Netzer R and Pongs O. Effects on fluoroquinolones on HERG currents. Eur J Pharmacol 2000;406:341-3 [資料番号 4.3-3]

11) 申請資料概要．プルリフロキサシンの概要．日本新薬株式会社、明治製菓株式会社、十全化学株式会社 http://www.pmda.go.jp/drugs/2002/P200200034/index.html (参照 2016-10-14)

12) 申請資料概要．ガチフロキサシン及びガチフロ錠 100 mg に関する資料．杏林製薬株式会社 http://www.pmda.go.jp/drugs/2002/P200200012/index.html (参照 2016-10-14)

13) Takayama S, Hirohashi M, Kato M and Shimada H. Toxicity of quinolone antimicrobial agents. J Toxicol Environ Health 1995;45:1-45 [資料番号 4.3-17]

14) 申請資料概要．オゼックス細粒小児用 15%に関する資料．富山化学工業株式会社 http://www.pmda.go.jp/drugs/2009/P200900055/index.html (参照 2016-10-14)

15) 医薬品インタビューフォーム．クラビット錠 250 mg、500 mg、細粒 10%．第一三共株式会社 https://www.medicallibrary-dsc.info/di/cravit_tablets_500mg/pdf/if_cvh_1508_12.pdf (参照 2016-10-14)

16) Imamura Y, Murayama N, Okudaira N, Kurihara A, Okazaki O, Izumi T, et al. Prediction of fluoroquinolone-induced elevation in serum creatinine levels: A case of drug-endogenous substance interaction involving the inhibition of renal secretion. Clin Pharmacol Ther 2011;89(1):81-8 [資料番号 4.3-18]

17) Kusuhara H, Ito S, kumagai Y, Jiang M, Shiroshita T, Moriyama Y, et al. Effects of a MATE protein inhibitor, pyrimethamine, on the renal elimination of metformin at oral microdose and at therapeutic dose in healthy subjects. Clin Pharmacol Ther 2011;89(6):837-44 [資料番号 4.3-19]

18) 野村岳之、渡辺満利、河上喜之、平田真理子、鈴木修三、柳田知司．NY-198 のラット 13 週間経口投与亜急性毒性試験．日本化学療法学会雑誌．1988;36(S-2):343-70 [資料番号 4.3-20]

19) 大石正夫、北野周作．フルオロキノロン薬の眼毒性に関する総括－日本眼感染症学会におけるまとめ－．あたらしい眼科．1999;16(4):537-40 [資料番号 4.3-21]

20) 申請資料概要．グレースビット錠 50 mg、細粒 10%(シタフロキサシン水和物)に関する資料．第一三共株式会社 http://www.pmda.go.jp/drugs/2008/P200800006/index.html (参照 2016-10-14)

21) New Drug Application. Levaquin (levofloxacin). Application No. 20634. U.S. Food and Drugs Administration. http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/96/020634_levaquin_toc.cfm (参照 2016-10-14)

22) Shimada H, Itoh S, Hattori S, Tada S and Matsuura Y. Mutagenicity of new quinolone antibacterial agent Levofloxacin. Arzneimittel-Forschung 1992;42(3A):378-85 [資料番号 4.3-22]

23) 守田禎一、望月清一、能島康幸、荒木春美、鬼頭暢子、中嶋圓、他．Garenoxacin の遺伝毒性試験．日本化学療法学会雑誌．2007;55(S-1):54-61 [資料番号 4.3-23]

24) 前川健郎、井上喜雅、田口雅裕．キノロン系合成抗菌薬の染色体異常誘発性．変異原性試験．1993;2(3):154-61 [資料番号 4.3-24]
25) 小﨑司、古坊英子、三善隆広、古川正敏、藤堂洋三．Garenoxacin の生殖発生毒性試験．日本化学療法学会雑誌．2007;55(S-1):62-74 [資料番号 4.3-25]
26) 尾上誠良．薬剤性光線過敏症．ファルマシア．2011;47(4):295-300 [資料番号 4.3-26]
27) Hayashi N, Nakata Y and Yazaki A. New findings on the structure-phototoxicity relationship and photostability of fluoroquinolones with various substituents at position 1. Antimicrob Agents Chemother 2004;48(3):799-803 [資料番号 4.3-4]
28) Marutani K, Matsumoto M, Otabe Y, Nagamuta M, Tanaka K, Miyoshi A, et al. Reduced phototoxicity of a fluoroquinolone antibacterial agent with a methoxy group at the 8 position in mice irradiated with long-wavelength UV light. Antimicrob Agents Chemother 1993;37(10):2217-23 [資料番号 4.3-5]
29) Burkhardt JE, Hill MA, Carlton WW and Kesterson JW. Histologic and histochemical changes in articular cartilages of immature beagle dogs dosed with difloxacin, a fluoroquinolone. Vet Pathol 1990;27(3):162-70 [資料番号 4.3-27]
30) 林真著．小核試験．サイエンティスト社 1991 [資料番号 4.3-28]
31) Adler ID, Bootman J, Favor J, Hook G, Schriever-Schwemmer G, Welzl G, et al. Recommendations for statistical designs of in vivo mutagenicity tests with regard to subsequent statistical analysis. Mutation Research 1998;417(1):19-30 [資料番号 4.3-29]

ラスビック錠 75mg

(ラスクフロキサシン塩酸塩)

第 2 部　CTD の概要(サマリー)

2.6.7　毒性試験の概要表

杏林製薬株式会社

目次

略語及び専門用語一覧表 3
2.6.7.1　毒性試験：一覧表 4
2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 8
2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 9
2.6.7.4　毒性試験：被験物質（使用ロット）の一覧 15
2.6.7.5　単回投与毒性試験 17
2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 18
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 41
2.6.7.9　*In Vivo* 遺伝毒性試験：重要な試験以外の試験 49
2.6.7.10　*In Vivo* 遺伝毒性試験：重要な試験 50
2.6.7.11　がん原性試験：重要な試験以外の試験 56
2.6.7.12　がん原性試験：重要な試験 57
2.6.7.13　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 74
2.6.7.14　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 75
2.6.7.15　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 79
2.6.7.16　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 98
2.6.7.17　新生児を用いた試験 102
2.6.7.18　局所刺激性試験 103
2.6.7.19　その他の毒性試験 104

略語及び専門用語一覧表

略語及び専門用語	用語の説明
A/G	アルブミン/グロブリン
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC_{0-8}	8 時間までの AUC
AUC_{0-24}	24 時間までの AUC
CHL/IU 細胞	チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞
C_{max}	最高血漿中濃度
E. coli	*Escherichia coli*
gpt delta ラット	大腸菌 *gpt* 遺伝子導入ラット
QTc	補正 QT 間隔
RRT	相対保持時間
S. typhimurium	*Salmonella typhimurium*
Tg-rasH2 マウス	ヒト型 c-Ha-ras 遺伝子導入マウス
TK	トキシコキネティクス
t_{max}	最高血漿中濃度到達時間

2.6.7.1　毒性試験：一覧表

被験物質は AM-1977 塩酸塩を使用し、本文中及び表中には AM-1977(フリー体)としての投与量及び濃度を記載した。また、代謝物は AM2012-008(フリー体)を使用した。

被験物質：AM-1977 塩酸塩

試験項目	動物/細胞/菌種	投与(処置) 経路、期間	投与量 (mg/kg)	無毒性量	GLP 適用	実施施設	試験番号	資料番号
単回投与毒性	イヌ	静脈内	25, 50, 75	概略の致死量：75 mg/kg 以上	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.1-1
反復投与毒性	ラット	経口、2 週間	20, 80, 300	80 mg/kg/日	適	杏林製薬	A[redacted]SR03	4.2.3.2-1
	ラット	経口、4 週間	20, 80, 300	20 mg/kg/日	適	杏林製薬	A[redacted]SR04	4.2.3.2-2
	ラット	静脈内、2 週間	10, 30, 100	30 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-3
	ラット	静脈内、4 週間	10, 30, 100	30 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-4
	イヌ	経口、2 週間	10, 30, 100	雄：30 mg/kg/日 雌：10 mg/kg/日	適	杏林製薬	A[redacted]SD04	4.2.3.2-5
	イヌ	経口、4 週間	10, 30, 100	雄：30 mg/kg/日 雌：10 mg/kg/日	適	杏林製薬	A[redacted]SD07	4.2.3.2-6
	イヌ	静脈内、2 週間	12.5, 30, 75	12.5 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-7
	イヌ	静脈内、4 週間	12.5, 30, 75	12.5 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-8
	サル	経口、4 週間	7.5, 15, 30	15 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.2-9

2.6.7.1　毒性試験：一覧表(続き)

被験物質：AM-1977 塩酸塩

試験項目		動物/細胞/菌種	投与(処置) 経路、期間	投与量 (mg/kg)	無毒性量	GLP 適用	実施施設	試験番号	資料番号
遺伝毒性	復帰突然変異	*S. typhimurium*、 *E. coli*	直接法 代謝活性化法	0.000244～0.5 μg/plate	陰性	適	[redacted] a	[redacted]	4.2.3.3.1-1
	染色体異常	CHL/IU 細胞	短時間処理法(S9 +) 短時間処理法(S9 −) 連続処理法(24 時間) 連続処理法(48 時間)	31.3～250μg/mL 15.6～250μg/mL 10～160μg/mL 5～80μg/mL	陽性 (構造異常)	適	杏林製薬	A[redacted]MC07	4.2.3.3.1-2
	マウス リンフォーマ	L5178Y *tk*$^{+/-}$細胞	短時間処理法(S9 +) 短時間処理法(S9 −) 連続処理法(24 時間)	4～60μg/mL 4～60μg/mL 2～40μg/mL	陽性	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.1-3
	小核	ラット	経口、単回	250, 500, 1000	陰性	適	杏林製薬	A[redacted]MR04	4.2.3.3.2-1
			静脈内、単回	10, 30, 100	陰性	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.2-2
	不定期 DNA 合成	ラット	経口、単回	500, 1000	陰性	適	[redacted] a	[redacted]	4.2.3.3.2-3
	遺伝子突然変異	F344/NSlc-Tg (*gpt* delta)ラット	経口、28 日間	75, 150, 300	陰性	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.2-4
がん原性		Tg-rasH2 マウス	経口、26 週間	雄：50,100,200 雌：75,150,300	雄：200 mg/kg 雌：300 mg/kg	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.4.2-1

a：[redacted]

2.6.7.1　毒性試験：一覧表(続き)

被験物質：AM-1977 塩酸塩

試験項目		試験系	投与(処置) 経路、期間	投与量 (mg/kg)	無毒性量	GLP 適用	実施施設	試験番号	資料番号
生殖発生毒性	受胎能及び着床までの初期胚発生	ラット	経口、 雌：交配前 14 日間 ～妊娠 7 日 雄：交配前 14 日間 ～雌剖検後	20, 80, 300	雄：80 mg/kg/日 雌：20 mg/kg/日未満 生殖機能 300 mg/kg/日 初期胚発生：300 mg/kg/日	適	杏林製薬	A[redacted]FR01	4.2.3.5.1-1
	胚・胎児発生	ラット (用量設定)	経口、 妊娠 7～17 日	20, 80, 300,600	母動物：80 mg/kg/日 生殖機能：300 mg/kg/日 胚・胎児：20 mg/kg/日未満	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-1
		ラット	経口、 妊娠 7～17 日	3, 30, 300	母動物：3 mg/kg/日 生殖機能：300 mg/kg/日 胚・胎児：30 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-2
		ラット (用量設定)	静脈内、 妊娠 7～17 日	2, 5, 20, 80	母動物：5 mg/kg/日 生殖機能：80 mg/kg/日 胚・胎児：80 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-3
		ウサギ (用量設定)	経口、 妊娠 6～18 日	5, 15, 30, 50	母動物：5 mg/kg/日未満 生殖機能：30 mg/kg/日 胚・胎児：30 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-4
		ウサギ	経口、 妊娠 6～18 日	1, 5, 30	母動物：1 mg/kg/日 生殖機能：5 mg/kg/日 胚・胎児：5 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-5
		ウサギ (用量設定)	静脈内、 妊娠 6～18 日	1, 5, 15, 25	母動物：5 mg/kg/日 生殖機能：25 mg/kg/日 胚・胎児：15 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.2-6
	出生前及び出生後の発生並びに母体の機能	ラット	経口、 妊娠 7 日～分娩後 20 日	3, 30, 300	母動物：3 mg/kg/日 生殖機能：300 mg/kg/日 出生児：30 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.5.3-1

2.6.7.1　毒性試験：一覧表(続き)

被験物質：AM-1977 塩酸塩

試験項目		試験系	投与(処置) 経路、期間	投与量 (mg/kg)	無毒性量	GLP 適用	実施施設	試験番号	資料番号
その他	光毒性	ラット	経口、単回	100, 1000	陰性	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.1-1
	関節毒性	イヌ	静脈内、2 週間	30, 75	75 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.2-1
代謝物	復帰突然変異[a]	*S. typhimurium*、*E. coli*	直接法 代謝活性化法	0.000244～1 μg/plate 0.000977～1 μg/plate	陰性	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.3-1
	マウス リンフォーマ[a]	L5178Y *tk*$^{+/-}$細胞	短時間処理法(S9 +) 短時間処理法(S9 −) 連続処理法(24 時間)	5～80μg/mL 5～100 μg/mL 2～30 μg/mL	陽性	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.3-2
	胚・胎児発生[a]	ラット	皮下、 妊娠 7 日～17 日	10, 20, 30	母動物：30 mg/kg/日 生殖機能：30 mg/kg/日 胚・胎児：30 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.3-3
	遺伝子突然変異[a]	F344/NSlc-Tg (*gpt* delta)ラット	皮下、28 日間	5, 10, 20	陰性	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.3-6
不純物	復帰突然変異[b]	*S. typhimurium*、*E. coli*	直接法 代謝活性化法	313～5000 μg/plate	陽性	適[#]	[redacted]	[redacted]	4.2.3.7.4-1
	遺伝子突然変異[b]	Muta^{TM}マウス	静脈内、4 週間	16.7, 50, 150[c]	陰性	適	[redacted][d]	[redacted]	4.2.3.7.4-2

a：被験物質は AM2012-008　　b：被験物質は 物質A*　　c：投与量はフリー体として表記

d：[redacted]

#：安衛法 GLP

*新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：AM-1977 塩酸塩

試験の種類	動物/系統	投与方法	投与量 (mg/kg)	GLP 適用	試験番号	資料番号
イヌ単回投与毒性試験	イヌ/ビーグル	静脈内	25, 50, 75	適	[redacted]	4.2.3.1-1
ラット 2 週間反復投与毒性試験	ラット/SD 系	経口	20, 80, 300	適	A[redacted]SR03	4.2.3.2-1
ラット 4 週間反復投与毒性試験	ラット/SD 系	経口	20, 80, 300	適	A[redacted]SR04	4.2.3.2-2
ラット 2 週間反復投与毒性試験	ラット/SD 系	静脈内	10, 30, 100	適	[redacted]	4.2.3.2-3
ラット 4 週間反復投与毒性試験	ラット/SD 系	静脈内	10, 30, 100	適	[redacted]	4.2.3.2-4
イヌ 2 週間反復投与毒性試験	イヌ/ビーグル	経口	10, 30, 100	適	A[redacted]SD04	4.2.3.2-5
イヌ 4 週間反復投与毒性試験	イヌ/ビーグル	経口	10, 30, 100	適	A[redacted]SD07	4.2.3.2-6
イヌ 2 週間反復投与毒性試験	イヌ/ビーグル	静脈内	12.5, 30, 75	適	[redacted]	4.2.3.2-7
イヌ 4 週間反復投与毒性試験	イヌ/ビーグル	静脈内	12.5, 30, 75	適	[redacted]	4.2.3.2-8
サル 4 週間反復投与毒性試験	カニクイザル	経口	7.5, 15, 30	適	[redacted]	4.2.3.2-9
ラット小核試験	ラット/SD 系	経口	250, 500, 1000	適	A[redacted]MR04	4.2.3.3.2-1
in vivo 遺伝子突然変異試験	ラット/F344/NSlc-Tg	経口	75, 150, 300	適	[redacted]	4.2.3.3.2-4
マウス 26 週間がん原性試験	マウス/CByB6F1-Tg(HRAS)2 Jic@Jcl (Tg-rasH2)	経口	雄：50,100,200 雌：75,150,300	適	[redacted]	4.2.3.4.2-1
ラット生殖発生毒性試験	ラット/SD 系	経口	20, 80, 300, 600	適	[redacted]	4.2.3.5.2-1
ラット生殖発生毒性試験	ラット/SD 系	経口	3, 30, 300	適	[redacted]	4.2.3.5.2-2
ラット生殖発生毒性試験	ラット/SD 系	静脈内	2, 5, 20, 80	適	[redacted]	4.2.3.5.2-3
ウサギ生殖発生毒性試験	ウサギ/JW	経口	5, 15, 30, 50	適	[redacted]	4.2.3.5.2-4
ウサギ生殖発生毒性試験	ウサギ/JW	経口	1, 5, 30	適	[redacted]	4.2.3.5.2-5
ウサギ生殖発生毒性試験	ウサギ/JW	静脈内	1, 5, 15, 25	適	[redacted]	4.2.3.5.2-6
光毒性試験	ラット/LE 系	経口	100, 1000	適	[redacted]	4.2.3.7.1-1
代謝物の生殖発生毒性試験 [a]	ラット/SD 系	皮下	10, 20, 30	適	[redacted]	4.2.3.7.3-3
代謝物の *in vivo* 遺伝子突然変異試験 [a]	ラット/ F344/NSlc-Tg	皮下	5, 10, 20	適	[redacted]	4.2.3.7.3-6

a：被験物質は AM2012-008

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

定常状態における AM-1977 の C_{max} (μg/mL)

投与経路	投与量 (mg/kg)	マウス		ラット		イヌ		サル		ウサギ	ヒト[a]
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雌	
経口	1									0.0739	
	1.5										0.998
	3				0.305						
	5									0.489/0.532[c]	
	7.5							3.48	3.38		
	10					2.06/2.12[b]	1.09/2.14[b]				
	15							8.42	7.57	1.62	
	20			2.01/2.46[b]	1.99/2.12[b]						
					2.16						
	30				3.60	5.07/4.58[b]	6.92/5.39[b]	13.1	13.5	4.91/3.02[c]	
	50	2.15								7.84	
	75		2.60	5.52							
	80			4.90/6.50[b]	5.51/7.22[b]						
					5.49						
	100	5.55				17.0/11.8[b]	18.2/11.3[b]				
	150		3.40	9.54							
	200	5.80									
	300		5.32	14.5/19.1[b]	10.9/13.5[b]						
				14.5	13.0/13.9[c]						
	600				38.2						

a：体重 50 kg として投与量を換算。T103(Ph1)の C_{max} より。　　b：2 週/4 週反復　　c：生殖用量設定/本試験

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

定常状態における AM-1977 の C_{max} (μg/mL)

投与経路	投与量 (mg/kg)	ラット		イヌ		サル		ウサギ	ヒト[a]
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雌	
静脈内	1							1.31	
	2		0.615						
	5		1.70					6.09	
	10	3.97/4.84[b]	3.89/3.41[b]						
	12.5			6.51/5.98[b]	5.74/5.64[b]				
	15							22.7	
	20		7.72						
	25							48.1	
	30	13.2/14.7[b]	11.8/13.2[b]	20.5/14.7[b]	19.0/14.4[b]				
	75			57.8/52.3[b]	54.6/55.1[b]				
	80		36.1						
	100	43.5/51.5[b]	43.8/49.2[b]						

a：体重 50 kg として投与量を換算。T103(Ph1)の C_{max} より。　　b：2 週/4 週反復

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

定常状態における AM-1977 の $AUC_{0\text{-}24}$ (μg·h/mL)

投与経路	投与量 (mg/kg)	マウス		ラット		イヌ		サル		ウサギ	ヒト[a]
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雌	
経口	1									0.514	
	1.5										13.0
	3				0.807						
	5									4.17/4.95[c]	
	7.5							35.6	33.2		
	10					15.1/12.7[b]	13.4/13.2[b]				
	15							91.6	81.8	14.1	
	20			11.3/14.0[b]	7.48/9.86[b]						
					10.9						
	30				22.9	34.5/38.1[b]	51.3/38.7[b]	158	153	80.1/24.4[c]	
	50	7.62								136	
	75		12.4	44.0							
	80			60.6/78.7[b]	45.4/48.2[b]						
					52.8						
	100	22.9				130/136[b]	174/94.8[b]				
	150		23.4	95.4							
	200	35.8									
	300		50.8	217/302[b]	137/170[b]						
				140	191/162[c]						
	600				611						

a：体重 50 kg として投与量を換算。T103(Ph1)の AUC_t より。　　b：2 週/4 週反復　　c：生殖用量設定/本試験

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

定常状態における AM-1977 の AUC_{0-24} (μg·h/mL)

投与経路	投与量 (mg/kg)	ラット		イヌ		サル		ウサギ	ヒト[a]
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雌	
静脈内	1							1.95	
	2		0.751						
	5		2.74					7.84	
	10	7.70/10.3[b]	4.83/4.98[b]						
	12.5			28.0/23.4[b]	26.0/24.3[b]				
	15							30.5	
	20		14.6						
	25							65.4	
	30	26.3/32.3[b]	17.5/20.2[b]	72.1/51.5[b]	62.9/71.8[b]				
	75			236/192[b]	208/197[b]				
	80		83.1						
	100	102/126[b]	72.4/74.9[b]						

a：体重 50 kg として投与量を換算。T103(Ph1)の AUC_t より。　　b：2 週/4 週反復

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

定常状態における AM2012-008 の C_{max} (μg/mL)及び AUC_{0-24} (μg·h/mL)　(AM-1977 投与時)

投与経路	投与量[a] (mg/kg)	C_{max} (μg/mL)						AUC_{0-24} (μg·h/mL)					
		マウス		ラット	サル		ヒト[b]	マウス		ラット	サル		ヒト[b]
		雄	雌	雌	雄	雌		雄	雌	雌	雄	雌	
経口	1.5						0.082						1.22
	3			NC						NC			
	7.5				0.189	0.200					2.29	2.24	
	15				0.332	0.303					4.45	3.85	
	30			0.00848	0.469	0.464				0.0119	7.06	6.51	
	50	0.0503						0.122					
	75		0.0571						0.291				
	100	0.0586						0.314					
	150		0.0561						0.411				
	200	0.0626						0.393					
	300		0.0678	0.0318					0.705	0.297			

NC：算出せず　　a：AM-1977 の投与量　　b：体重 50 kg として投与量を換算。T103(Ph1)より。

定常状態における AM2012-008 の C_{max} (μg/mL)及び AUC_{0-8} (μg·h/mL)又は AUC_{0-24} (μg·h/mL)　(AM2012-008 投与時)

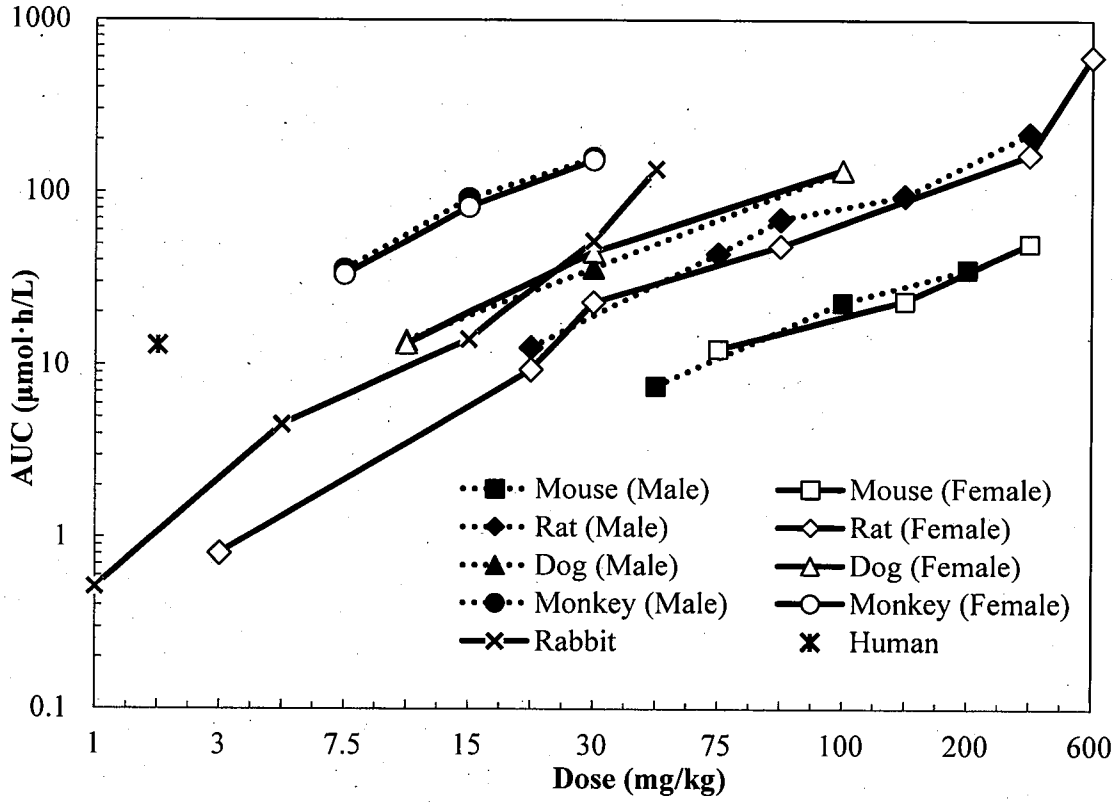
投与経路	投与量[a] (mg/kg)	雄ラット		雌ラット	
		C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-8} (μg·h/mL)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-24} (μg·h/mL)
皮下	5	0.221	0.332		
	10	0.681	1.03	0.579	0.953
	20	0.974	1.63	1.40	3.21
	30			1.85	4.39

a：AM2012-008 の投与量

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

被験物質：AM-1977 塩酸塩

定常状態における AM-1977 の $AUC_{0\text{-}24}$ (μg·h/mL)　(経口投与時)



2.6.7.4　毒性試験：被験物質（使用ロット）の一覧

被験物質：AM-1977 塩酸塩

ロット番号	定量値(%)	規格設定された類縁物質(%)			試験番号	試験の種類
		RRT[redacted]	RRT0[redacted]	合計		
G[redacted]9911	100.0	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	イヌ単回投与毒性試験
					A[redacted]SR03	ラット 2 週間反復投与毒性試験（経口）
					A[redacted]SD04	イヌ 2 週間反復投与毒性試験（経口）
	100.3	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	イヌ 2 週間反復投与毒性試験（静脈内）
					A[redacted]MR04	ラット小核試験（経口）
					A[redacted]MC07	染色体異常試験
	100.2	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	復帰突然変異試験
					[redacted]	不定期 DNA 合成試験
	100.1	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	ラット 2 週間反復投与毒性試験（静脈内）
					[redacted]	ラット小核試験（静脈内）
	99.5	[redacted]	[redacted]	[redacted]	A[redacted]SR04	ラット 4 週間反復投与毒性試験（経口）
					[redacted]	ラット胚・胎児発生用量設定試験（経口）
					[redacted]	ウサギ胚・胎児発生用量設定試験（経口）
					[redacted]	ラット光毒性試験
	99.5	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	ラット胚・胎児発生用量設定試験（静脈内）
					[redacted]	ウサギ胚・胎児発生用量設定試験（静脈内）
	100.7	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	受胎能及び着床までの初期胚発生試験
					[redacted]	ラット胚・胎児発生試験（経口）
					[redacted]	ウサギ胚・胎児発生試験（経口）
	99.1	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能試験

2.6.7.4　毒性試験：被験物質（使用ロット）の一覧(続き)

被験物質：AM-1977 塩酸塩

ロット番号	定量値(%)	規格設定された類縁物質(%)			試験番号	試験の種類
		RRT[redacted]	RRT[redacted]	合計		
G[redacted]0211	99.9	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	ラット 4 週間反復投与毒性試験（静脈内）
					A[redacted]SD07	イヌ 4 週間反復投与毒性試験（経口）
					[redacted]	イヌ 4 週間反復投与毒性試験（静脈内）
	99.8	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	サル 4 週間反復投与毒性試験（経口）
	99.7	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	マウスリンフォーマ試験
					[redacted]	イヌ関節毒性試験
	99.0	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	*in vivo* 遺伝子突然変異試験
[redacted]110	100.0	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	マウス 26 週間がん原性試験

被験物質：AM2012-008

ロット番号	純度(%)	類縁物質(%)				試験番号	試験の種類
		RRT[redacted]	RRT[redacted]	RRT[redacted]	合計		
K[redacted]0216	97.93	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	代謝物の復帰突然変異試験
						[redacted]	代謝物のマウスリンフォーマ試験
K[redacted]0216	99.22	[redacted]	[redacted]	-	[redacted]	[redacted]	代謝物のラット胚・胎児発生試験（皮下）
	99.08	[redacted]	[redacted]	-	[redacted]	[redacted]	代謝物の *in vivo* 遺伝子突然変異試験

2.6.7.5　単回投与毒性試験

報告書の題名　：A Single Intravenous Dose Toxicity Study of AM-2013 in Dogs
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：雄性イヌ/ビーグル
投与期間　：単回
試験番号　：[redacted]
試験開始月齢　：6 箇月齢
観察期間　：14 日間
資料番号　：4.2.3.1-1
投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted] 又は[redacted] 日
投与方法、投与速度　：静脈内、5 mL/分
溶媒/投与形態　：$MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
最大非致死量　：75 mg/kg
概略の致死量　：75 mg/kg 以上

投与量 (mg/kg)	0 (対照)	25	50	75
投与液濃度 (mg/mL)	0 [a]	5 [b]	10 [b]	15 [b]
動物数	2	2	2	2
トキシコキネティクス：				
投与日　C_{max}(μg/mL)	NC	31.3	61.0	91.0
AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	71.0	130	203
一般状態	なし	よろめき歩行	流涎、嘔吐(少量)、よろめき歩行、運動性低下、舌なめずり	流涎、嘔吐(少量)、よろめき歩行、運動性低下、舌なめずり、吐気、一過性の強直性痙攣
血液学的検査	-	-	-	-
血液化学的検査	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-

NC：算出せず　　-：特記すべき所見なし
a：溶媒の pH 及び浸透圧：pH 5.23 及び 5.30、浸透圧 290 mOsm
b：投与液の pH 及び浸透圧：pH 6.33～6.52、浸透圧 291～294 mOsm

2.6.7.6　反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：AM-1977 塩酸塩

動物種/系統	投与方法/(媒体/投与形態)	投与期間	投与量(mg/kg)	性別・動物数	特記すべき所見	試験番号	資料番号
SD 系ラット	強制経口(注射用水/懸濁液)	4 日間	0 100 300 1000	雄性・2 匹/群	≥100：体重増加抑制、好中球数・比及び網赤血球数・比の低値、盲腸腫大、脾臓(赤脾髄)の造血細胞減少 ≥300：摂餌量減少(軽度)、大腿骨(骨髄)の造血細胞減少及び血管拡張、胸腺(皮質)のリンパ球減少 1000：体重減少、摂餌量減少(顕著)、グルコース、尿素窒素、中性脂肪、K 及び ALP の低値、リン脂質、総コレステロール、遊離コレステロール及び遊離脂肪酸の高値、前立腺及び精嚢の小型化	R99H[redacted]07	4.2.3.2-10
ビーグル犬	強制経口(カプセル/原末)	8 日間	無処置 100 200	雄性・1 頭/群	100：リンパ球数及び中性脂肪の高値 ≥100：嘔吐、好中球数・比及び血小板数の低値、リンパ球比の高値、尿素窒素及び遊離脂肪酸の高値 200：食べ残し、流涎、体重減少、APTT 延長、白血球数及び網赤血球数・比の低値、総ビリルビン、総コレステロール及び遊離コレステロールの高値	R99H[redacted]05	4.2.3.2-11
ビーグル犬	静脈内 5 mL/分(単回)及び 2 mL/分(5 日間)($MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液)	単回及び 5 日間	50 75	雄性・1 頭/群	≥50：嘔吐、自発運動減少、腹臥位、振戦、白血球数及び好中球数・比の低値、尿素窒素、総コレステロール及び遊離脂肪酸の高値 75：強直性痙攣、間代性痙攣、眼瞼下垂、よろめき歩行、流涎、網赤血球数・比の低値	R99H[redacted]09	4.2.3.2-12
カニクイザル	強制経口(注射用水/懸濁液)	14 日間	10 30 100	雄性・2 頭/群	≥30：嘔吐、流涎、泥状便、水様便、体重減少、尿素窒素、クレアチニン、AST、総ビリルビン、総コレステロール、遊離コレステロール及び K の高値、尿中円柱 100：うずくまり、間代性痙攣、傾眠、振戦、散瞳、体のふらつき、摂餌量減少，中性脂肪高値、Ca 低値，尿中上皮細胞，腎臓重量高値、尿細管の拡張及び円柱、尿細管上皮の空胞化	[redacted]	4.2.3.2-13

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7-1　ラット 2 週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名　：2-Week Repeated Oral Dose Toxicity Study of AM-2013 in Rats with a 2-Week Recovery Study
動物種/系統　：ラット/SD
試験開始週齢　：6 週齢
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted] 日
投与期間　：2 週間
休薬期間　：2 週間
投与方法　：強制経口
溶媒/投与形態　：注射用水/懸濁液
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
試験番号　：A[redacted]SR03
資料番号　：4.2.3.2-1
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：80 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)		20		80		300	
動物数		雄 16	雌 16	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 16	雌 16
トキシコキネティクス[a]：									
投与 1 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	1.84	2.01	5.86	5.50	9.54	8.93
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	10.1	8.59	50.8	32.1	167	125
投与 14 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	2.01	1.99	4.90	5.51	14.5	10.9
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	11.3	7.48	60.6	45.4	217	137
途中死亡		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態		-	-	-	-	-	-	-	-
体重 (%[b])									
投与 15 日目		333.2 g	190.9 g	-3	0	-5	+3	-9**	-2
摂餌量 (%[b])									
投与 4 日目		26.5 g	16.9 g	-9	-8	-11	-1	-12**	-6
眼科的検査[c]		-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査[c]									
Na (mmol/L)		224.6	233.4	137.0*	125.3**	166.5	171.1	125.3*	122.1**
K (mmol/L)		389.6	425.4	290.1	251.3*	321.1	333.4	344.4	250.2*
Na/K 比		0.58	0.55	0.46*	0.49	0.52	0.51	0.38***	0.49
血液学的検査[d]		-	-	-	-	-	-	-	-

NC：算出せず　-：特記すべき所見なし　*：p<0.05、**：p<0.01、***：p<0.001(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)　a：各採血時点における個体数：各群 3 匹
b：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。 c：検査対象動物：各群 6 匹　d：検査対象動物：各群 10 匹

2.6.7.7-1　ラット 2 週間反復経口投与毒性試験

試験番号：A[redacted]SR03 (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		20		80		300	
動物数	雄 16	雌 16	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 16	雌 16
血液化学的検査 [b]								
総コレステロール (mg/dL)	65	70	68	60	74	64	83***	73
遊離コレステロール (mg/dL)	17	17	17	14	18	15	21*	17
ALT (U/L)	43	35	43	35	45	32	56*	39
器官重量 (%[a]) [b]								
盲腸(内容物有り：絶対重量)	5.595 g	3.860 g	+108***	+133***	+105***	+122***	+174***	+138***
盲腸(内容物有り：相対重量)	1.612 g%	1.936 g%	+120***	+141***	+122***	+124**	+210***	+151***
盲腸(内容物無し：絶対重量)	1.267 g	0.889 g	+76***	+70***	+86***	+83***	+83***	+91***
盲腸(内容物無し：相対重量)	0.365 g%	0.446 g%	+85***	+76**	+101***	+85***	+105***	+103***
剖検所見 [b]								
盲腸腫大	0	0	10##	10##	10##	10##	10##	10##
病理組織学的検査 [b]								
脾臓 (白脾髄)：胚中心の形成	2	1	NE	NE	1	1	10##	9##
肺 (肺胞)：マクロファージ集簇	1	0	NE	NE	0	0	8##	2
インスリン免疫染色(膵島)	-	-	-	-	-	-	-	-
回復性の評価								
評価動物数	6	6	0	0	0	0	6	6
器官重量 (%[a])								
盲腸(内容物有り：絶対重量)	4.866 g	4.239 g	NE	NE	NE	NE	+101§§	+52§
盲腸(内容物有り：相対重量)	1.222 g%	1.958 g%	NE	NE	NE	NE	+104§§	+50§§
盲腸(内容物無し：絶対重量)	1.458 g	0.860 g	NE	NE	NE	NE	+32	+60§
盲腸(内容物無し：相対重量)	0.364 g%	0.396 g%	NE	NE	NE	NE	+35	+58§§
剖検所見								
盲腸腫大	0	0	NE	NE	NE	NE	6##	4#

NE：実施せず　　**：p<0.01、***：p<0.001(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)　　#：p<0.05、##：p<0.01 (χ^2 検定)　　§：p<0.05、§§：p<0.01 (Aspin-Welch の t 検定)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。　　b：検査対象動物：各群 10 匹

2.6.7.7-2　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名　：4-Week Repeated Oral dose Toxicity Study of AM-2013 in Rats with a 4-Week Recovery Study
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：ラット/SD
投与期間　：4 週間
試験番号　：A[redacted]SR04
試験開始週齢　：6 週齢
休薬期間　：4 週間
資料番号　：4.2.3.2-2
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted]日
投与方法　：強制経口
溶媒/投与形態　：注射用水/懸濁液
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：20 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		20		80		300	
動物数	雄 16	雌 16	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 16	雌 16
トキシコキネティクス[a]：								
投与 1 日目 C_{max}(μg/mL)	NC	NC	2.03	1.93	6.28	4.97	11.4	11.2
AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	9.54	7.15	42.3	30.4	184	134
投与 28 日目 C_{max}(μg/mL)	NC	NC	2.46	2.12	6.50	7.22	19.1	13.5
AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	14.0	9.86	78.7	48.2	302	170
途中死亡	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-
体重 (%[b])								
投与 29 日目	390.9 g	227.9 g	-3	-6	-3	-3	-10**	-3
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科的検査[c]	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査[c]								
Na/K 比	0.49	0.46	0.43	0.44	0.43	0.57	0.36**	0.45
血液学的検査[d]	-	-	-	-	-	-	-	-
血液化学的検査[d]								
リン脂質 (mg/dL)	122	138	122	126	128	127	147*	138
総コレステロール (mg/dL)	57	66	62	58	62	60	80***	67

NC：算出せず　-：特記すべき所見なし　*：p<0.05、**：p<0.01、***：p<0.001 (Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)　a：各採血時点における個体数：各群 3 匹
b：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。 c：検査対象動物：各群 6 匹　d：検査対象動物：各群 10 匹

2.6.7.7-2　ラット 4 週間反復経口投与毒性試験

試験番号：A[redacted]SR04 (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		20		80		300	
動物数	雄 16	雌 16	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 16	雌 16
遊離コレステロール (mg/dL)	15	19	15	16	16	16	21^{**}	17
ALT (U/L)	54	39	51	38	52	38	59	45^{*}
器官重量 (%[a])[b]								
盲腸(内容物有り：絶対重量)	6.046 g	4.350 g	$+118^{***}$	$+97^{*}$	$+114^{***}$	$+139^{***}$	$+122^{***}$	$+133^{***}$
盲腸(内容物有り：相対重量)	1.551 g%	1.832 g%	$+123^{***}$	$+114^{**}$	$+118^{***}$	$+150^{***}$	$+148^{***}$	$+148^{***}$
盲腸(内容物無し：絶対重量)	1.489 g	1.118 g	$+63^{***}$	$+32^{*}$	$+64^{***}$	$+79^{***}$	$+48^{***}$	$+74^{***}$
盲腸(内容物無し：相対重量)	0.379 g%	0.470 g%	$+67^{***}$	$+45^{*}$	$+67^{***}$	$+89^{***}$	$+67^{***}$	$+87^{***}$
剖検所見[b]								
盲腸腫大	0	0	$10^{\#\#}$	$9^{\#\#}$	$10^{\#\#}$	$10^{\#\#}$	$10^{\#\#}$	$10^{\#\#}$
病理組織学的検査[b]								
脾 (白脾髄)：胚中心の形成	3	2	3	2	$10^{\#\#}$	4	$10^{\#\#}$	$8^{\#}$
インスリン免疫染色(膵島)	-	-	-	-	-	-	-	-
回復性の評価								
評価動物数	6	6	0	0	0	0	6	6
血液化学的検査								
総コレステロール (mg/dL)	58	64	NE	NE	NE	NE	$75^{\S}$	63
遊離コレステロール (mg/dL)	16	17	NE	NE	NE	NE	$21^{\S}$	17
器官重量 (%[a])								
盲腸(内容物有り：絶対重量)	5.394 g	4.277 g	NE	NE	NE	NE	$+92^{\S\S\S}$	$+63^{\S\S}$
盲腸(内容物有り：相対重量)	1.058 g%	1.635 g%	NE	NE	NE	NE	$+105^{\S\S\S}$	$+60^{\S\S\S}$
盲腸(内容物無し：絶対重量)	1.296 g	1.211 g	NE	NE	NE	NE	$+66^{\S\S}$	+15
盲腸(内容物無し：相対重量)	0.253 g%	0.466 g%	NE	NE	NE	NE	$+77^{\S\S\S}$	+13
剖検所見								
盲腸腫大	0	0	NE	NE	NE	NE	$6^{\#\#}$	$5^{\#\#}$

NE：実施せず　　*：$p<0.05$、**：$p<0.01$、***：$p<0.001$(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)　　$^{\#}$：$p<0.05$、$^{\#\#}$：$p<0.01$ (χ^2 検定)

§：$p<0.05$、§§：$p<0.01$、§§§：$p<0.001$ (Student's t 又は Aspin-Welch's t 検定)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。　　b：検査対象動物：各群 10 匹

2.6.7.7-3　ラット 2 週間反復静脈内投与毒性試験

報告書の題名　：2-Week Repeated Intravenous Dose Toxicity Study of AM-2013 in Rats with a 2-Week Recovery Study
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：ラット/SD
投与期間　：2 週間
試験番号　：[redacted]
試験開始週齢　：6 週齢
休薬期間　：2 週間
資料番号　：4.2.3.2-3
初回投与年月日　：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日(雄)
投与方法、投与速度　：静脈内、1 mL/分
20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日(雌)
溶媒/投与形態　：$MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：30 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		10		30		100	
投与液濃度 (mg/mL)	0 [a]		1 [b]		3 [b]		10 [b]	
動物数	雄 16	雌 16	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 16	雌 16
トキシコキネティクス [c]：								
投与 1 日目 C_{max}(μg/mL)	NC	NC	3.62	3.28	11.7	11.3	38.2	38.9
AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	6.32	4.39	22.8	16.0	95.8	67.9
投与 14 日目 C_{max}(μg/mL)	NC	NC	3.97	3.89	13.2	11.8	43.5	43.8
AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	7.70	4.83	26.3	17.5	102	72.4
途中死亡	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態								
不規則呼吸	-	-	-	-	+	+	+	+
運動性低下	-	-	-	-	-	+	+	+
半眼	-	-	-	-	-	-	+	+
流涎	-	-	-	-	-	-	-	+
着色尿 (淡赤色)	-	-	+	-	+	+	+	+
体重 (%[d])								
投与 14 日目	309 g	212 g	+3	+3	0	0	-5	0

NC：算出せず　a：溶媒の pH 及び浸透圧：pH 5.75～5.79、浸透圧 290～294 mOsm　b：投与液の pH 及び浸透圧：pH 6.43～6.72、浸透圧 287～292 mOsm
c：各採血時点における個体数：各群 3 匹　d：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

2.6.7.7-3　ラット 2 週間反復静脈内投与毒性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		10		30		100	
動物数	雄 16	雌 16	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 16	雌 16
摂餌量 (%[a])								
投与 4 日目	24.3 g	17.6 g	-5	-5	-7	-6	-12**	-6
投与 8 日目	25.0 g	18.4 g	-2	-1	-4	-5	-8*	-6
眼科的検査[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
血液化学的検査[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量 (%[a])[b]								
盲腸(内容物有り：絶対重量)	NE	2.311 g	NE	+120*	NE	+207**	NE	+165**
盲腸(内容物有り：相対重量)	NE	1.17 g%	NE	+116*	NE	+210**	NE	+173**
盲腸(内容物無し：絶対重量)	NE	0.870 g	NE	+48**	NE	+74**	NE	+61**
盲腸(内容物無し：相対重量)	NE	0.44 g%	NE	+45**	NE	+77**	NE	+66**
剖検所見[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査[b]								
脾臓 (白脾髄)：胚中心の形成	1	1	1	NE	1	0[c]	6#	2
インスリン免疫染色(膵島)	-	-	-	-	-	-	-	-
回復性の評価								
評価動物数	6	6	0	0	0	0	6	6
器官重量 (%[a])								
盲腸(内容物有り：絶対重量)	3.357 g	2.625 g	NE	NE	NE	NE	+54§	+82§§
盲腸(内容物有り：相対重量)	0.94 g%	1.19 g%	NE	NE	NE	NE	+68§§	+76§§
盲腸(内容物無し：絶対重量)	1.331 g	0.895 g	NE	NE	NE	NE	+11	+46§§
盲腸(内容物無し：相対重量)	0.38 g%	0.40 g%	NE	NE	NE	NE	+18§	+43§§

-：特記すべき所見なし　　NE：実施せず

*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)　　#：$p<0.05$ (χ^2 検定)　　§：$p<0.05$、§§：$p<0.01$ (Student 又は Aspin-Welch の t 検定)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。　b：検査対象動物：各群 10 匹　c：検査対象動物：1 匹

2.6.7.7-4　ラット 4 週間反復静脈内投与毒性試験

報告書の題名　：4-Week Repeated Intravenous Dose Toxicity Study of AM-2013 in Rats with a 4-Week Recovery Study
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：ラット/SD
投与期間　：4 週間
試験番号　：[redacted]
試験開始週齢　：6 週齢
休薬期間　：4 週間
資料番号　：4.2.3.2-4
初回投与年月日　：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日(雄)
投与方法、投与速度　：静脈内、1 mL/分
20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日(雌)
溶媒/投与形態　：$MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：30 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		10		30		100	
投与液濃度 (mg/mL)	0 [a]		1 [b]		3 [b]		10 [b]	
動物数	雄 16	雌 16	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 16	雌 16
トキシコキネティクス [c]：								
投与 1 日目 C_{max}(μg/mL)	NC	NC	3.78	3.44	13.2	12.7	44.2	40.9
AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	6.63	3.70	23.9	17.3	97.6	67.6
投与 28 日目 C_{max}(μg/mL)	NC	NC	4.84	3.41	14.7	13.2	51.5	49.2
AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	10.3	4.98	32.3	20.2	126	74.9
途中死亡	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態								
不規則呼吸	-	-	-	-	-	-	+	+
運動性低下	-	-	-	-	-	-	+	+
半眼	-	-	-	-	-	-	+	+
尾 (変色, 硬化, 先端部の欠落)	-	-	-	-	-	-	-	+
着色尿 (淡赤色)	-	-	+	+	+	+	+	+
着色尿 [d] (投与 5 日目)	0	0	7	1	7	7	6	5
尿潜血陽性反応 [e] (投与 5 日目)	2	0	0	0	1	0	0	2
体重 (%[f])								
投与 28 日目	409 g	253 g	0	0	-3	-1	-10**	-3

NC：算出せず　**：p<0.01(Dunnett 法)　a：溶媒の pH 及び浸透圧：pH 5.24～5.54、浸透圧 289～291 mOsm　b：投与液の pH 及び浸透圧：pH 6.43～6.77、浸透圧 286～292 mOsm
c：採血時点における個体数：各群 3 匹　　d：着色尿が最も多かった投与 5 日目の発現例数　　e：+/-, +, ++ (尿試験紙；N-マルティスティックス) の発現例数
f：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく

2.6.7.7-4　ラット 4 週間反復静脈内投与毒性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		10		30		100	
動物数	雄 16	雌 16	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 16	雌 16
摂餌量 (%[a])								
投与 4 日目	25.8 g	17.9 g	-10**	-3	-9**	-7*	-10**	-4
投与 11 日目	26.5 g	19.7 g	-1	-3	-9**	-1	-4	-2
投与 28 日目	26.8 g	18.6 g	-3	+1	-1	+3	-8**	-3
眼科的検査[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
血液化学的検査[b]	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見[b]								
尾(投与部位)								
変色(淡赤色)	0	0	0	0	0	0	0	1
変色(黒色)	0	0	0	0	0	0	0	2
硬化	0	0	0	0	0	0	0	1
尾(非投与部位：中枢側)								
変色(淡赤色)	0	0	0	0	0	0	0	1
尾(非投与部位：末梢側)								
変色(黒色)	0	0	0	0	0	0	0	2
硬化	0	0	0	0	0	0	0	2
先端部の欠落	0	0	0	0	0	0	0	1

-：特記すべき所見なし　　*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

b：検査対象動物：各群 10 匹

2.6.7.7-4　ラット 4 週間反復静脈内投与毒性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0(対照)		10		30		100	
動物数	雄 16	雌 16	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 16	雌 16
器官重量 (%[a])								
盲腸(内容物有り：絶対重量)	4.10 g	2.85 g	+124**	+112**	+115**	+124**	+116**	+146**
盲腸(内容物有り：相対重量)	1.06 g%	1.19 g%	+126**	+116**	+125**	+128**	+141**	+162**
盲腸(内容物無し：絶対重量)	1.28 g	0.96 g	+47**	+27**	+55**	+52**	+56**	+54**
盲腸(内容物無し：相対重量)	0.33 g%	0.40 g%	+48*	+30**	+61**	+55**	+76**	+65**
病理組織学的検査[b]								
尾(投与部位)								
外傷性変化(血管壁)	7	10	NE	NE	NE	9	10	10
血塊(背側部静脈)	0	0	NE	NE	NE	0	0	1
血管周囲の炎症	10	10	NE	NE	NE	10	10	10
皮膚炎(皮膚/皮下組織)	4	7	NE	NE	NE	7	6	9
尾(非投与部位：中枢側)								
外傷性変化(血管壁)	0	0	NE	NE	NE	0	0	1
血管周囲の炎症	0	0	NE	NE	NE	0	0	3
皮膚炎(皮膚/皮下組織)	0	0	NE	NE	NE	0	0	3
尾(非投与部位：末梢側)[c]								
外傷性変化(血管壁)	0	0	NE	NE	NE	0	0	1
血塊(背側部静脈)	0	0	NE	NE	NE	0	0	1
血管周囲の炎症	0	0	NE	NE	NE	0	0	1
皮膚炎(皮膚/皮下組織)	0	0	NE	NE	NE	0	0	1
インスリン免疫染色(膵島)	-	-	-	-	-	-	-	-

NE：実施せず　　*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。　　b：検査対象動物：各群 10 匹

c：雌 100 mg/kg 群の検査数は 9 例 (1 例は尾の欠失のため検査不可)

2.6.7.7-4　ラット 4 週間反復静脈内投与毒性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		10		30		100	
動物数	雄 16	雌 16	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 16	雌 16
回復性の評価								
評価動物数	6	6	0	0	0	0	6	6
一般状態								
尾の変化(変色)	-	-	NE	NE	NE	NE	-	+
体重 (%[a])								
休薬 28 日目	526 g	303 g	NE	NE	NE	NE	-8*	0
器官重量 (%[a])								
盲腸(内容物有り：絶対重量)	4.15 g	2.97 g	NE	NE	NE	NE	+73§	+99§
盲腸(内容物有り：相対重量)	0.84 g%	1.05 g%	NE	NE	NE	NE	+86§	+97§§
盲腸(内容物無し：絶対重量)	1.27 g	1.10 g	NE	NE	NE	NE	+24§§	+41§§
盲腸(内容物無し：相対重量)	0.26 g%	0.39 g%	NE	NE	NE	NE	+31§§	+41§§
病理組織学的検査								
尾(投与部位)								
外傷性変化(血管壁)	5	4	NE	NE	NE	NE	6	6
血管周囲の炎症	4	2	NE	NE	NE	NE	5	5
皮膚炎(皮膚/皮下組織)	0	1	NE	NE	NE	NE	0	2

-：特記すべき所見なし　　NE：実施せず　　*：$p<0.05$ (Student の t 検定)　　§：$p<0.05$、§§：$p<0.01$ (Student 又は Aspin-Welch の t 検定)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

2.6.7.7-5　イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名　：2-Week Repeated Oral Dose Toxicity Study of AM-2013 in Dogs with a 2-Week Recovery Study
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：イヌ/ビーグル
投与期間　：2 週間
試験番号　：A[redacted]SD04
試験開始月齢　：6 箇月齢
休薬期間　：2 週間
資料番号　：4.2.3.2-5
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted]日
投与方法、投与速度　：強制経口
溶媒/投与形態　：ゼラチンカプセル充てん
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：雄 30 mg/kg/日、雌 10 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)		10		30		100	
動物数		雄 5	雌 5	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 5	雌 5
トキシコキネティクス：									
投与 1 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	1.43	1.51	2.56	6.98	7.68	12.5
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	12.3	15.0	26.3	58.1	65.1	147
投与 14 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	2.06	1.09	5.07	6.92	17.0	18.2
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	15.1	13.4	34.5	51.3	130	174
途中死亡		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態									
嘔吐(頻回)		-	-	-	-	-	-	+	+
体重 (%[a])									
投与 15 日目		7.64 kg	6.68 kg	+4	-2	+4	-1	-3	-7
体重増加量 (kg)									
投与 15 日目		0.26	0.13	0.28	0.23	0.25	0.07	0.07	-0.44***
摂餌量 (%[a])									
投与 14 日目		300.1 g	286.7 g	-4	-22	0	+1	-6	-36

NC：算出せず　　-：特記すべき所見なし　　***：p<0.001(Dunnett 法)
a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

2.6.7.7-5　イヌ 2 週間反復経口投与毒性試験

試験番号：A[redacted]SD04 (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)		10		30		100	
動物数		雄 5	雌 5	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 5	雌 5
眼科的検査		-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査									
投与 11 日目：	心拍数 (beats/min)	110	124	110	93	117	91	139*	132
(投与後)	QTc 間隔 (ms)	231	230	234	218	231	240	242	252*
尿検査		-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-
血液化学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量		-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見 [a]									
大腿骨(膝関節軟骨表面)：陥凹		0	0	0	0	0	1	0	1
病理組織学的検査 [a]									
大腿骨(関節軟骨)：ブリスター		0	0	0	0	0	1	0	1
インスリン免疫染色(膵島)		-	-	-	-	-	-	-	-
回復性の評価									
評価動物数		2	2	0	0	0	0	2	2
特記すべき所見		-	-	NE	NE	NE	NE	-	-

-：特記すべき所見なし　　NE：実施せず　　*：$p<0.05$(Dunnett 法)

a：検査対象動物：各群 3 頭

2.6.7.7-6　イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名　：4-Week Repeated Oral Dose Toxicity Study of AM-2013 in Dogs with a 4-Week Recovery Study
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：イヌ/ビーグル
投与期間　：4 週間
試験番号　：A[redacted]SD07
試験開始月齢　：6 箇月齢
休薬期間　：4 週間
資料番号　：4.2.3.2-6
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted] 日
投与方法、投与速度　：強制経口
溶媒/投与形態　：ゼラチンカプセル充てん
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：雄 30 mg/kg/日、雌 10 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)		10		30		100	
動物数		雄 5	雌 5	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 5	雌 5
トキシコキネティクス：									
投与 1 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	2.26	2.33	4.91	4.92	10.0	8.84
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	11.3	14.1	34.7	34.4	131	77.1
投与 28 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	2.12	2.14	4.58	5.39	11.8	11.3
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	12.7	13.2	38.1	38.7	136	94.8
途中死亡		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態									
嘔吐(頻回)		-	-	-	-	-	-	+	-
体重 (%[a])									
投与 29 日目		8.92 kg	7.14 kg	-2	-3	-2	0	-5	-9
体重増加量 (kg)									
投与 29 日目		0.60	0.35	0.75	0.38	0.35	0.32	0.04*	-0.22
摂餌量 (%[a])									
投与 28 日目		300.0 g	282.9 g	0	-7	0	-3	-17	-18

NC：算出せず　　*：$p<0.05$(Dunnett 法)
a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

2.6.7.7-6　イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験

試験番号：A[redacted]SD07 (続き)

投与量 (mg/kg/日)[a]	0 (対照)		10		30		100	
動物数	雄 5	雌 5	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 5	雌 5
眼科的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査								
投与 17～18 日目：　QTc 間隔 (ms) (投与後)	224	223	227	225	234	245	248	242
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液化学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見[a]								
大腿骨(関節軟骨表面)：陥凹	0	0	0	0	0	0	1	1
病理組織学的検査[a]								
大腿骨(関節軟骨)：ブリスター	0	0	0	0	0	0	1	1
インスリン免疫染色(膵島)	-	-	-	-	-	-	-	-
回復性の評価								
評価動物数	2	2	0	0	0	0	2	2
剖検所見								
大腿骨/上腕骨：陥凹	0	0	NE	NE	NE	NE	0	1
病理組織学的検査								
大腿骨/上腕骨(関節軟骨)：ブリスター	0	0	NE	NE	NE	NE	0	1

-：特記すべき所見なし　　NE：実施せず

a：検査対象動物：各群 3 頭

2.6.7.7-7　イヌ 2 週間反復静脈内投与毒性試験

報告書の題名　：2-Week Repeated Intravenous Dose Toxicity Study of AM-2013 in Dogs with a 2-Week Recovery Study
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：イヌ/ビーグル
投与期間　：2 週間
試験番号　：[redacted]
試験開始月齢　：6 箇月齢
休薬期間　：2 週間
資料番号　：4.2.3.2-7
初回投与年月日　：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日(雄)
投与方法、投与速度　：静脈内、2 mL/分
20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日(雌)
溶媒/投与形態　：$MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：12.5 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)		12.5		30		75	
投与液濃度 (mg/mL)		0[a]		2.5[b]		6[b]		15[b]	
動物数		雄 5	雌 5	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 5	雌 5
トキシコキネティクス：									
投与 1 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	5.77	6.10	19.4	21.9	58.2	63.3
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	22.8	20.7	57.2	57.0	185	183
投与 14 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	6.51	5.74	20.5	19.0	57.8	54.6
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	28.0	26.0	72.1	62.9	236	208
途中死亡		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態									
嘔吐、嘔吐物		-	-	-	+	+	+	+	+
吐気		-	-	-	-	-	-	+	+
流涎、運動性低下		-	-	-	-	-	-	+	+
半眼、振戦、間代性痙攣		-	-	-	-	-	-	+	+
体重 (%[c])									
投与 14 日目		7.98 kg	7.06 kg	+8	+3	+3	+1	-4	-7

NC：算出せず　　-：特記すべき所見なし
a：溶媒の pH 及び浸透圧：pH 5.38～5.87、浸透圧 292 mOsm　　b：投与液の pH 及び浸透圧：pH 6.36～6.73、浸透圧 288～292 mOsm
c：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。

2.6.7.7-7　イヌ 2 週間反復静脈内投与毒性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		12.5		30		75	
動物数	雄 5	雌 5	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 5	雌 5
体重増加量 (kg)								
投与 14 日目	0.15	-0.01	0.40	0.16	0.06	0.16	-0.37	-0.42
摂餌量 (%[a])								
投与 13 日目	289 g	225 g	-2	+23	-7	+17	-16	-2
眼科的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査								
投与 2 週: 心拍数 (beats/min)	96	92	103	85	90	93	137**	150**
(投与後) QT 間隔 (ms)	209	213	214	217	227	223	244**	220
QTc 間隔 (ms)	241	242	250	241	255	254	293**	270
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査[a]								
投与 2 週: 白血球数 (10^3/μL)	12.50	9.23	10.18	11.32	9.90	8.62	5.30**	7.02
網赤血球数 (10^9/L)	47.3	45.7	52.2	41.5	34.7	33.9	11.7**	11.5*
網赤血球比 (%)	0.7	0.7	0.8	0.6	0.6	0.5	0.2**	0.2*
血小板数 (10^3/μL)	322	264	275	284	227*	253	208**	249
血液化学的検査								
投与 2 週: A/G 比	0.95	0.98	0.99	0.98	0.98	1.09*	1.09*	1.14**
アルブミン (g/dL)	2.58	2.58	2.68	2.63	2.56	2.73	2.65	2.75*
総コレステロール (mg/dL)	131	119	154	143	161	143	196	198**
遊離コレステロール (mg/dL)	39	35	45	42	45	42	55	55**

-：特記すべき所見なし　　*：p<0.05、**：p<0.01(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。

2.6.7.7-7　イヌ 2 週間反復静脈内投与毒性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		12.5		30		75	
動物数	雄 5	雌 5	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 5	雌 5
器官重量 (%[a])								
胸腺 (絶対重量)	9.21 g	10.13 g	+12	-21	-2	-35	-52*	-33
胸腺 (相対重量)	0.1093 g%	0.1392 g%	+9	-20	-3	-32	-51*	-28
剖検所見[b]								
上腕骨/尺骨(関節軟骨)：陥凹、肥厚又は隆起	0	0	0	0	0	0	2	1
関節腔：滑液増加	0	0	0	0	0	0	1	0
病理組織学的検査[b]								
上腕骨/大腿骨(関節軟骨)：ブリスター	0	0	0	0	0	0	2	1
胆嚢：出血又は出血・線維化	0	0	0	0	0	0	1	2
胃：変性壁細胞の増加	0	0	0	0	0	0	2	2
脾臓：濾胞萎縮	0	0	0	0	0	0	2	2
下顎リンパ節：濾胞萎縮	0	0	0	0	0	0	2	1
腸間膜リンパ節：濾胞萎縮	0	0	0	0	0	0	1	1
インスリン免疫染色(膵島)	-	-	-	-	-	-	-	-
回復性の評価								
評価動物数	2	2	0	0	0	0	2	2
剖検所見								
尺骨/大腿骨(関節軟骨)：暗赤色巣又は陥凹	0	0	NE	NE	NE	NE	1	1
病理組織学的検査								
上腕骨/大腿骨(関節軟骨)：ブリスター	0	0	NE	NE	NE	NE	1	1

-：特記すべき所見なし　　NE：実施せず

*：$p<0.05$ (Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。　　b：検査対象動物：各群 3 頭

2.6.7.7-8　イヌ 4 週間反復静脈内投与毒性試験

報告書の題名　：4-Week Repeated Intravenous Dose Toxicity Study of AM-2013 in Dogs with a 4-Week Recovery Study　　被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：イヌ/ビーグル　　投与期間　：4 週間　　試験番号　：[redacted]
試験開始月齢　：6 箇月齢　　休薬期間　：4 週間　　資料番号　：4.2.3.2-8
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted]日(雄)　　投与方法、投与速度　：静脈内、2 mL/分
20[redacted] 年[redacted]月[redacted]日(雌)　　溶媒/投与形態　：$MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液　　GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：12.5 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)		12.5		30		75	
投与液濃度 (mg/mL)		0[a]		2.5[b]		6[b]		15[b]	
動物数		雄 5	雌 5	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 5	雌 5
トキシコキネティクス：									
投与 1 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	5.84	6.05	21.3	17.9	63.4	59.6
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	25.6	24.4	58.0	58.8	166	181
投与 28 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	5.98	5.64	14.7	14.4	52.3	55.1
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	NC	23.4	24.3	51.5	71.8	192	197
途中死亡		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態									
嘔吐、嘔吐物		-	-	+	-	+	+	+	+
流涎		-	-	-	-	-	+	+	+
半眼、運動性低下、よろめき歩行		-	-	-	-	-	-	+	+
横臥位、間代性痙攣		-	-	-	-	-	-	+	-
体重		-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量 (%[c])									
投与 24 日目		300 g	262 g	-10	-16	-3	-12	-17	-41*
投与 26 日目		292 g	286 g	-13	-26	-9	-10	-34**	-25

NC：算出せず　　*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)
a：溶媒の pH 及び浸透圧：pH 5.37～5.42、浸透圧 290～291 mOsm　　b：投与液の pH 及び浸透圧：pH 6.31～6.62、浸透圧 290～293mOsm
c：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す

2.6.7.7-8　イヌ 4 週間反復静脈内投与毒性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)		12.5		30		75	
動物数		雄 5	雌 5	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 5	雌 5
眼科的検査		-	-	-	-	-	-	-	-
網膜電位図検査		-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査									
投与 4 週：	心拍数 (beats/min)	94	108	111	117	117	123	130*	153*
(投与後)	QTc 間隔 (ms)	236	241	244	241	244	244	271**	267*
	PR 間隔 (ms)	91	91	95	90	86	92	79	74**
尿検査		-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査									
投与 2 週：	白血球数 (10^3/μL)	9.45	9.11	9.30	8.97	8.77	9.16	6.27**	5.73**
	好中球数 (10^3/μL)	5.16	4.92	5.60	5.28	5.49	4.94	2.97*	2.56**
	好中球比 (%)	54.5	54.2	60.1	58.8	62.1	53.3	47.2	45.1*
	好酸球数 (10^3/μL)	0.22	0.16	0.18	0.22	0.11	0.16	0.14	0.04*
	好酸球比 (%)	2.3	1.7	2.0	2.5	1.3	1.8	2.1	0.7*
	網赤血球数 (10^9/L)	76.5	63.7	42.5*	47.3	60.8	54.8	41.4**	19.3**
	網赤血球比 (%)	1.1	0.9	0.7	0.7	0.9	0.8	0.6*	0.3**
投与 4 週：	白血球数 (10^3/μL)	10.46	9.14	9.18	8.39	8.44	8.37	6.33**	5.99**
	好中球数 (10^3/μL)	5.99	5.03	5.68	4.70	5.03	4.34	3.43*	2.61**
	好中球比 (%)	57.0	55.3	61.3	55.9	59.3	51.3	53.0	43.9*
	単球数 (10^3/μL)	0.66	0.44	0.37**	0.31	0.36**	0.33	0.26**	0.31
	単球比 (%)	6.3	4.9	4.2	3.6	4.3	3.9	4.3*	5.1

-：特記すべき所見なし　　*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)

2.6.7.7-8　イヌ 4 週間反復静脈内投与毒性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		12.5		30		75	
動物数	雄 5	雌 5	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 5	雌 5
血液化学的検査								
投与 4 週: 総コレステロール (mg/dL)	130	124	152	185	161	160	171*	190*
遊離コレステロール (mg/dL)	37	37	46	54	46	47	50*	55*
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見 [a]								
大腿骨頭/膝関節/上腕骨滑車：陥凹	0	0	0	0	0	0	3	2
投与部位：血栓	0	0	0	0	0	0	1	2
病理組織学的検査 [a]								
大腿骨：ブリスター	0	0	0	0	0	0	3	1
投与部位：血栓	0	0	0	0	1	1	1	2
非投与部位 (中枢側)：血栓	0	0	0	0	0	1	1	0
インスリン免疫染色(膵島) [a]	-	-	-	-	-	-	-	-
回復性の評価								
評価動物数	2	2	0	0	0	0	2	2
剖検所見								
大腿骨頭/上腕骨頭/膝関節/膝蓋骨：陥凹、ブリスター又は淡褐色巣	0	0	NE	NE	NE	NE	2	1
病理組織学的検査								
大腿骨/上腕骨/膝蓋骨：ブリスター	0	0	NE	NE	NE	NE	2	0

-：特記すべき所見なし　　NE：実施せず　　*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)

a：検査対象動物：各群 3 頭

2.6.7.7-9　サル 4 週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名　：A 4-Week Oral Dose Toxicity Study of AM-2013 in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Study
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：カニクイザル
投与期間　：4 週間
試験番号　：[redacted]
試験開始年齢　：3～4 歳齢
休薬期間　：4 週間
資料番号　：4.2.3.2-9
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted] 日(雄)
投与方法、投与速度　：強制経口
20[redacted] 年[redacted]月[redacted]日(雌)
溶媒/投与形態　：注射用水/懸濁液
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：15 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)		7.5		15		30	
動物数		雄 5	雌 5	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 5	雌 5
トキシコキネティクス：									
AM-1977									
投与 1 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	2.45	2.93	5.87	5.59	8.91	10.2
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	NC	19.4	20.4	52.6	45.5	101	94.6
投与 28 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	3.48	3.38	8.42	7.57	13.1	13.5
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	NC	35.6	33.2	91.6	81.8	158	153
AM2012-008									
投与 1 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	0.229	0.279	0.362	0.352	0.496	0.543
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	NC	1.76	2.05	3.35	3.05	5.71	5.53
投与 28 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	0.189	0.200	0.332	0.303	0.469	0.464
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	NC	2.29	2.24	4.45	3.85	7.06	6.51
途中死亡		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態		-	-	-	-	-	-	-	-
体重		-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量		-	-	-	-	-	-	-	-
眼科的検査		-	-	-	-	-	-	-	-

NC：算出せず　　-：特記すべき所見なし

2.6.7.7-9　サル 4 週間反復経口投与毒性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		7.5		15		30	
動物数	雄 5	雌 5	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 5	雌 5
心電図検査								
投与 4 週 (投与後)：　QTc 間隔 (ms)	366	367	376	369	364	382	410	414*
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液化学的検査								
投与 2 週：　クレアチニン (mg/dL)	0.53	0.46	0.66	0.60*	0.70*	0.62*	0.68*	0.60**
投与 4 週：　クレアチニン (mg/dL)	0.55	0.49	0.69	0.61*	0.69	0.64**	0.69	0.60*
器官重量[a]	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見[a]	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査[a]	-	-	-	-	-	-	-	-
インスリン免疫染色(膵島)[a]	-	-	-	-	-	-	-	-
回復性の評価								
評価動物数	2	2	NE	NE	NE	NE	2	2
特記すべき所見	-	-	NE	NE	NE	NE	-	-

NE：実施せず　　-：特記すべき所見なし　　*：p<0.05、**：p<0.01 (Dunnett 法)

a：検査対象動物：各群 3 頭

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　：A Bacterial Reverse Mutation Test of AM-2013
菌株　：*S.typhimurium* 及び *E.coli*
代謝活性化系　：PB 及び BF で誘導したラット肝 S9
溶媒　：DMSO
陽性対照　：AF-2、NaN_3、9-AA、2-AA
細胞毒性　：菌の生育阻害あり
遺伝毒性　：なし
独立して実施した試験数　：2
プレート数　：2 枚
分析細胞数/培養　：－
処理：プレインキュベーション法、48 時間培養
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
試験番号　：[redacted]
資料番号　：4.2.3.3.1-1
GLP 適用　：適

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	復帰変異コロニー数(Mean)　(予備試験)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化 なし	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	18	127	12	13	30
	AM-1977	0.00477	17	106	8	11	19
		0.0191	15	68*	5*	11	29
		0.0763	12*	0*	0*	4*	29
		0.305	0*	0*	0*	0*	0*
		1.22	0*	0*	0*	0*	0*
		4.88	0*	0*	0*	0*	0*
		19.5	0*	0*	0*	0*	0*
		78.1	0*	0*	0*	0*	0*
		313	0*	0*	0*	0*	0*
		1250	0*	0*	0*	0*	0*
		5000	0*	0*	0*	0*	0*
	陽性対照 [a]		687	845	524	387	191

*：菌の生育阻害

DMSO：Dimethyl sulfoxide　PB：Phenobarbital　BF：5,6-Benzoflavone
AF-2：2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide　NaN_3：Sodium azide　9-AA：9-Aminoacridine hydrochloride hydrate　2-AA：2-Aminoanthracene
a：AF-2: 0.1 μg/plate(TA98), 0.01 μg/plate(TA100, WP2*uvrA*), NaN_3: 0.5 μg/plate(TA1535), 9-AA: 80 μg/plate(TA1537)

2.6.7.8-1　細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：[redacted](続き)

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	復帰変異コロニー数(Mean)　(予備試験)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化 あり	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	31	134	14	16	31
	AM-1977	0.00477	23	118	10	17	31
		0.0191	22	122	9	20	33
		0.0763	14*	0*	0*	7*	37
		0.305	0*	0*	0*	0*	0*
		1.22	0*	0*	0*	0*	0*
		4.88	0*	0*	0*	0*	0*
		19.5	0*	0*	0*	0*	0*
		78.1	0*	0*	0*	0*	0*
		313	0*	0*	0*	0*	0*
		1250	0*	0*	0*	0*	0*
		5000†	0*	0*	0*	0*	0*
	陽性対照 a		287	1403	254	174	1556

*：菌の生育阻害　　†：プレート上の沈殿物

a：2-AA: 0.5 μg/plate(TA98)，1 μg/plate(TA100)，2 μg/plate(TA1535，TA1537)，10 μg/plate(WP2*uvrA*)

2.6.7.8-1 細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：[redacted] (続き)

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	復帰変異コロニー数(Mean) (本試験 (1 回目))				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	16	107	12	10	25
	AM-1977	0.000244	NT	105	9	NT	NT
		0.000488	NT	103	10	NT	NT
		0.000977	16	106	10	12	NT
		0.00195	18	107	10	11	NT
		0.00391	16	103	10	12	27
		0.00781	18	101	10	11	30
		0.0156	20	87*	6*	12	26
		0.0313	17	46*	4*	10	33
		0.0625	8*	NT	NT	2*	32
		0.125	0*	NT	NT	0*	27
		0.25	NT	NT	NT	NT	8*
		0.5	NT	NT	NT	NT	0*
	陽性対照 [a]		693	731	571	320	218
代謝活性化あり	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	23	130	13	19	34
	AM-1977	0.000977	21	111	12	19	NT
		0.00195	23	117	11	19	NT
		0.00391	23	111	14	19	35
		0.00781	27	117	11	17	33
		0.0156	23	128	12	17	38
		0.0313	22	87*	8*	18	38
		0.0625	15*	21*	4*	11*	38
		0.125	0*	0*	0*	0*	28*
		0.25	NT	NT	NT	NT	9*
		0.5	NT	NT	NT	NT	0*
	陽性対照 [b]		256	1118	235	159	1289

NT：実施せず　　*：菌の生育阻害　　a：AF-2: 0.1 μg/plate(TA98), 0.01 μg/plate(TA100, WP2*uvrA*), NaN_3: 0.5 μg/plate(TA1535), 9-AA: 80 μg/plate(TA1537)

b：2-AA: 0.5 μg/plate(TA98), 1 μg/plate(TA100), 2 μg/plate(TA1535, TA1537), 10 μg/plate(WP2*uvrA*)

2.6.7.8-1　細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：[redacted](続き)

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	復帰変異コロニー数(Mean)　(本試験 (2 回目))				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	16	115	9	10	28
	AM-1977	0.000244	NT	110	11	NT	NT
		0.000488	NT	103	9	NT	NT
		0.000977	20	104	10	12	NT
		0.00195	18	121	10	13	NT
		0.00391	16	112	11	10	31
		0.00781	19	106	10	11	27
		0.0156	21	78*	6*	12	28
		0.0313	18	41*	4*	11	35
		0.0625	9*	NT	NT	2*	35
		0.125	0*	NT	NT	0*	31
		0.25	NT	NT	NT	NT	7*
		0.5	NT	NT	NT	NT	0*
	陽性対照 [a]		751	884	550	288	199
代謝活性化あり	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	23	118	12	19	38
	AM-1977	0.000977	28	107	11	16	NT
		0.00195	24	119	10	17	NT
		0.00391	25	106	12	17	35
		0.00781	24	116	10	20	36
		0.0156	25	113	11	17	38
		0.0313	28	73*	6*	18	36
		0.0625	15*	16*	2*	7*	40
		0.125	0*	0*	0*	0*	31*
		0.25	NT	NT	NT	NT	10*
		0.5	NT	NT	NT	NT	0*
	陽性対照 [b]		257	1300	242	167	1299

NT：実施せず　　*：菌の生育阻害　　a：AF-2: 0.1 μg/plate(TA98), 0.01 μg/plate(TA100, WP2*uvrA*), NaN_3: 0.5 μg/plate(TA1535), 9-AA: 80 μg/plate(TA1537)

b：2-AA: 0.5 μg/plate(TA98), 1 μg/plate(TA100), 2 μg/plate(TA1535, TA1537), 10 μg/plate(WP2*uvrA*)

2.6.7.8-2　ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

報告書の題名　：Chromosomal Aberration Study of AM-2013 in Cultured Mammalian Cells　　被験物質　：AM-1977 塩酸塩
系統　：CHL/IU 細胞(チャイニーズ・ハムスター肺由来)　　独立して実施した試験数　：1　　試験番号　：A[redacted]MC07
代謝活性化系　：PB 及び BF で誘導したラット肝 S9　　プレート数　：2 枚　　資料番号　：4.2.3.3.1-2
溶媒　：DMSO(AM-1977、BP)、注射用水(MMC)　　分析細胞数/培養　：200 個
陽性対照　：BP、MMC　　処理：6 時間(代謝活性化あり/なし)　　GLP 適用　：適
24 及び 48 時間(代謝活性化なし)
細胞毒性(IC_{50})　：154 μg/mL(S9 添加 6 時間処理)、199 μg/mL(S9 非添加 6 時間処理)、156 μg/mL(24 時間処理)、60.2 μg/mL(48 時間処理)
遺伝毒性　：あり(染色体構造異常)

代謝活性化	処理時間	被験物質	濃度 (μg/mL)	構造異常細胞の出現頻度 (平均%)	倍数体の出現数 (平均%)
代謝活性化 なし	6 時間	陰性対照(DMSO)	0	0.5	1.0
		AM-1977	15.6	0.0	0.5
			31.3	1.0	0.0
			62.5	20.0	0.5
			125	NE	NE
			250	NE	NE
		陽性対照(MMC)	0.1	46.0	0.5
代謝活性化 あり	6 時間	陰性対照(DMSO)	0	0.0	0.0
		AM-1977	31.3	0.5	0.0
			62.5	1.0	1.5
			125	71.0	0.5
			250	NE	NE
		陽性対照(BP)	10	13.0	0.0

IC_{50}：50%細胞増殖抑制濃度　　NE：1 培養当たりの分析細胞数(分裂中期細胞数)が 200 個に満たなかったため評価せず
PB：Phenobarbital　　BF：5,6-Benzoflavone　　DMSO：Dimethyl sulfoxide　　BP：1,2-Benzopyrene　　MMC：MitomycinC

2.6.7.8-2　ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験番号：A[redacted]MC07 (続き)

代謝活性化	処理時間	被験物質	濃度 (μg/mL)	構造異常細胞の出現頻度 (平均%)	倍数体の出現数 (平均%)
代謝活性化 なし	24 時間	陰性対照(DMSO)	0	0.0	1.0
		AM-1977	10	1.0	0.5
			20	2.0	2.0
			40	32.5	0.0
			80	NE	NE
			160	NE	NE
		陽性対照(MMC)	0.05	38.0	0.5
	48 時間	陰性対照(DMSO)	0	0.5	0.0
		AM-1977	5	1.0	0.0
			10	0.0	0.5
			20	0.0	0.5
			40	25.5	0.0
			80	NE	NE
		陽性対照(MMC)	0.05	29.5	0.0

NE：1 培養当たりの分析細胞数(分裂中期細胞数)が 200 個に満たなかったため評価せず

2.6.7.8-3　ほ乳類培養細胞を用いるマウスリンフォーマ *Tk* 試験

報告書の題名　：*In vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test of AM-2013
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
系統　：L5178Y 細胞 (*tk*$^{+/-}$-3.7.2C)　独立して実施した試験数　：1
試験番号　：[redacted]
代謝活性化系　：PB 及び BF で誘導したラット肝 S9　プレート数　：4 枚
資料番号　：4.2.3.3.1-3
溶媒　：DMSO　分析細胞数/培養　：－
陽性対照　：MMS、CP　処理：マイクロウェル法　GLP 適用　：適
3 時間 (代謝活性化あり/なし)、24 時間 (代謝活性化なし)
細胞毒性　：あり(相対増殖率 10%以下の濃度は評価対象としない)
遺伝毒性　：あり

処理時間	被験物質	濃度 (μg/mL)	代謝活性化なし		代謝活性化あり	
			相対増殖率(%)	総変異出現率(× 10^{-6})	相対増殖率(%)	総変異出現率(× 10^{-6})
3 時間	陰性対照(DMSO)	0	100.0	132.5	100.0	146.5
	AM-1977	4	91.1	138.6	104.3	160.3†
		6	114.9	118.6†	95.7	181.0†
		8	86.0	162.9†	114.8	176.3†
		10	106.3	124.5†	134.2	161.6†
		15	94.1	115.6†	100.1	200.8†
		20	100.8	183.1†	86.2	295.8*†
		30	60.5	555.8*†	42.2	1188.6*†
		40	34.7	1378.7*†	14.7	2286.1*†
		50	13.8	2450.4*†	4.7	2378.9
		60	4.6	2614.5	1.3	2564.8
	陽性対照(MMS)	10	75.9	644.0*	NT	NT
	陽性対照(CP)	3	NT	NT	21.7	1518.8*

PB：Phenobarbital　BF：5,6-Benzoflavone　DMSO：Dimethyl sulfoxide　MMS：Methyl methanesulfonate　CP：Cyclophosphamide monohydrate
NT：実施せず　*：総変異出現率 > 陰性対照群の総変異出現率 + 126 × 10^{-6} (ただし、相対増殖率が 10%以上)
†：$p<0.05$ (用量依存性の検定、Robinson WD ら(1989), Cambridge: Cambridge University Press, pp 102-140)

2.6.7.8-3　ほ乳類培養細胞を用いるマウスリンフォーマ *Tk* 試験

試験番号：[redacted] (続き)

処理時間	被験物質	濃度 (μg/mL)	代謝活性化なし	
			相対増殖率(%)	総変異出現率(× 10^{-6})
24 時間	陰性対照(DMSO)	0	100.0	118.5
	AM-1977	2	95.0	121.2†
		4	82.9	134.3†
		6	86.8	137.8†
		8	67.5	221.9†
		10	85.0	225.8†
		15	58.2	563.6*†
		20	24.6	1381.6*†
		25	3.7	3209.0
		30	0.2	3476.9
		40	0.0	1402.8
	陽性対照(MMS)	5	72.5	843.0*

DMSO：Dimethyl sulfoxide　　MMS：Methyl methanesulfonate

*：総変異出現率 > 陰性対照群の総変異出現率 + 126 × 10^{-6} (ただし、相対増殖率が 10%以上)

†：$p<0.05$ (用量依存性の検定、Robinson WD ら(1989), Cambridge: Cambridge University Press, pp 102-140)

2.6.7.9　*In Vivo* 遺伝毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：AM-1977 塩酸塩

動物種/系統	投与方法 (媒体/投与形態)	投与期間	投与量 (mg/kg)	性別・動物数	特記すべき所見	試験番号	資料番号
F344/NSlc-Tg (*gpt* delta)	経口 (注射用水/溶液)	14 日間	0 20 80 160 300	雄性・ 2 匹/群	20 及び 80：体重の低値傾向 ≥160：体重の低値	[redacted]	4.2.3.3.2-5

2.6.7.10 *In Vivo* 遺伝毒性試験：重要な試験

2.6.7.10-1 ラット経口投与による骨髄小核試験

報告書の題名　：Micronucleus Study of AM-2013 in Rats by Single Oral Administration and Toxicokinetic Study
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：雄性ラット/SD
投与期間　：単回
試験番号　：A[redacted]MR04
試験開始週齢　：6 週齢
処置時間　：投与後 24 及び 48 時間
資料番号　：4.2.3.3.2-1
投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted] 日
投与方法　：強制経口
陽性対照　：CP
溶媒/投与形態　：注射用水/懸濁液
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
分析細胞数/培養　：2000 個以上
毒性/細胞毒性　：なし
遺伝毒性　：なし (1000 mg/kg 群では、投与 24 時間後に Kastenbaum-Bowman 法で有意な変化が見られたが、追加解析の結果に基づき陰性と判断した)
曝露証明　：TK 実施(雌雄)

処置時間	被験物質	投与量 (mg/kg)	動物数 (雄)	小核を有する多染性赤血球(%) 平均± S.D.	多染性赤血球(%) 平均± S.D.
24	注射用水	0	6	0.16 ± 0.06	76.06 ± 3.56
	AM-1977	250	6	0.25 ± 0.35*	76.43 ± 4.39
		500	6	0.24 ± 0.06*	73.20 ± 5.10
		1000	6	0.27 ± 0.12#*	74.31 ± 2.54
	CP	20	6	3.21 ± 0.76#	67.54 ± 3.38§§
48	注射用水	0	6	0.21 ± 0.11	71.20 ± 4.60
	AM-1977	250	6	0.17 ± 0.07	73.89 ± 4.02
		500	6	0.19 ± 0.10	71.90 ± 5.92
		1000	6	0.25 ± 0.12*	69.84 ± 9.05

#：$p<0.05$ (Kastenbaum-Bowman 検定)　*：$p<0.05$ (二項検定)　§§：$p<0.01$ (Student の t 検定)
CP：Cyclophosphamide monohydrate

2.6.7.10-1　ラット経口投与による骨髄小核試験

試験番号：A[redacted]MR04 (続き)

投与量 (mg/kg)		0 (対照)		250		500		1000	
動物数		雄 6	雌 6	雄 6	雌 6	雄 6	雌 6	雄 6	雌 6
トキシコキネティクス：									
AM-1977									
投与日	C_{max}(μg/mL)	0	0	10.7	10.3	9.24	11.2	11.7	11.8
	AUC_{0-24}(μg・h/mL)	0	0	138	114	180	201	262	241
	AUC_{all}(μg・h/mL)	0	0	168	124	258	257	581	408

AUC_{all}：AM-1977 血漿中濃度が消失するまでの AUC (AM-1977 の最終検出時間：投与後 72 時間(雄)、投与後 48 時間(雌))

2.6.7.10-2　ラット静脈内投与による骨髄小核試験

報告書の題名　：Micronucleus Study of AM-2013 in Rats by Intravenous Administration
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：雄性ラット/SD
投与期間　：単回
試験番号　：[redacted]
試験開始週齢　：8 週齢
処置時間　：投与後 24 及び 48 時間
資料番号　：4.2.3.3.2-2
投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted] 日
投与方法　：静脈内（陽性対照は経口）
陽性対照　：CP
溶媒/投与形態　：$MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
分析細胞数/培養　：2000 個
毒性/細胞毒性　：なし
遺伝毒性　：なし
曝露証明　：FOB 試験(2.6.2.4.1.2)において、雄ラットへの 100 mg/kg 投与で全個体の血漿中に AM-1977 が検出されたことを確認した。

処置時間	被験物質	投与量 (mg/kg)	動物数 (雄)	小核を有する多染性赤血球(%) 平均± S.D.	多染性赤血球(%) 平均± S.D.
24	溶媒対照 [a]	0	6	0.15 ± 0.08	45.4 ± 11.4
	AM-1977[b]	10	6	0.09 ± 0.07	44.7 ± 8.8
		30	6	0.11 ± 0.11	41.5 ± 12.6
		100	6	0.11 ± 0.09	37.7 ± 7.6
	CP	15	6	1.81 ± 0.59**	29.8 ± 7.7 #
48	溶媒対照 [a]	0	6	0.04 ± 0.02	41.6 ± 8.3
	AM-1977[b]	10	6	0.11 ± 0.06	37.9 ± 9.2
		30	6	0.10 ± 0.06	45.3 ± 6.4
		100	6	0.10 ± 0.05	40.1 ± 11.2

** ：P<0.01 (Fisher の正確検定)　　# ：P<0.05 (Student の t 検定)　　CP：Cyclophosphamide monohydrate
a：溶媒の pH 及び浸透圧：pH 5.94、浸透圧 292 mOsm　　b：投与液の pH 及び浸透圧：pH 6.41～6.66、浸透圧 289 mOsm

2.6.7.10-3　ラット肝を用いる不定期 DNA 合成試験

報告書の題名　：*In vivo/in vitro* Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test of AM-2013 using Rat Livers　　被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：雄性ラット/SD　　投与期間　：単回　　試験番号　：[redacted]
試験開始週齢　：6 週齢　　処置時間　：投与後 2 及び 16 時間　　資料番号　：4.2.3.3.2-3
投与年月日　：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 又は[redacted] 日　　投与方法　：強制経口
陽性対照　：DMN、2-AAF　　溶媒/投与形態　：注射用水/懸濁液　　GLP 適用　：適
特記事項　：なし　　分析細胞数/培養　：100
毒性/細胞毒性　：16 時間群の AM-1977 投与群(500 及び 1000 mg/kg 群)において体重増加抑制が認められた。
遺伝毒性　：なし
曝露証明　：小核試験(2.6.7.10-1)において、雄ラットへの 1000 mg/kg 投与で全個体の血漿中に AM-1977 が検出されたことを確認した。

処置時間	被験物質	投与量 (mg/kg)	動物数 (雄)	ネットグレイン数 平均± S.D.	平均修復細胞率(%) 平均± S.D.
2	注射用水	0	3	-0.56 ± 0.17	2.3 ± 1.2
	AM-1977	500	3	-0.66 ± 0.47	2.7 ± 0.6
		1000	3	-0.34 ± 0.35	3.0 ± 1.0
	DMN	10	3	12.03 ± 0.32	85.3 ± 4.5
16	注射用水	0	3	-0.47 ± 0.03	3.3 ± 1.5
	AM-1977	500	3	-0.31 ± 0.21	3.0 ± 1.7
		1000	3	-0.13 ± 0.20	3.7 ± 0.6
	2-AAF	50	3	7.89 ± 0.89	74.3 ± 3.2

DMN : Dimethylnitrosamine　　2-AAF : 2-Acetylaminofluorene

2.6.7.10-4　*gpt* delta ラットを用いる *in vivo* 遺伝子突然変異試験

報告書の題名　：AM-2013 の *gpt* delta ラットを用いる遺伝子変異試験
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：雄性ラット/ F344/NSlc-Tg (*gpt* delta)　投与期間　：28 日間　試験番号　：[redacted]
試験開始週齢　：10 週齢　発現期間　：最終投与後 3 日　資料番号　：4.2.3.3.2-4
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日 (主試験群)　投与方法　：経口
20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日 (TK サテライト群)
陽性対照　：ENU　溶媒/投与形態　：注射用水/溶液　GLP 適用　：適
特記事項　：なし　分析細胞数/培養　：タイター値 100 万以上
毒性/細胞毒性　：150 及び 300 mg/kg/日群で摂餌量の減少に伴う体重の低値、300 mg/kg/日群の 1 例を著しい体重減少により切迫屠殺
遺伝毒性　：なし
曝露証明　：TK 実施

被験物質	投与量 (mg/kg/日)	動物数	突然変異体頻度($\times 10^{-6}$)、平均± S.D.	
			肝臓	骨髄
注射用水	0	5	0.76 ± 0.50	3.06 ± 1.23
AM-1977	75	5	1.36 ± 0.61	2.46 ± 1.46
	150	5	0.95 ± 1.34	2.64 ± 1.16
	300	5	1.04 ± 0.48	2.25 ± 0.58
ENU[a]	10	5	19.63 ± 4.92**	107.49 ± 40.31**

** : $p<0.01$ (Aspin-Welch の t 検定)　a : ENU : *N*-Ethyl-*N*-nitrosourea

2.6.7.10-4　*gpt* delta ラットを用いる *in vivo* 遺伝子突然変異試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0(陰性対照)	75	150	300
動物数		3	3	3	3
トキシコキネティクス：					
AM-1977					
投与 1 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	6.18	8.20	13.1
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	63.0	105	187
投与 28 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	5.52	9.54	14.5
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	44.0	95.4	140

NC：算出せず

2.6.7.11　がん原性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：AM-1977 塩酸塩

動物種/系統	投与方法/(媒体/投与形態)	投与期間	投与量(mg/kg)	性別・動物数	特記すべき所見	試験番号	資料番号
マウス/CByB6F1-Tg(HRAS)2 Jic@Jcl (Tg-rasH2)	強制経口(注射用水/懸濁液)	28 日間	0 200 500 1000	雌雄・10 匹/群	1) 雄性 ≥ 200：死亡(TK 群)、AST 及び ALT 高値、好中球数低値、胸腺重量低値、盲腸重量高値、骨髄造血細胞の減少、胸腺萎縮、脾臓萎縮、前胃扁平上皮過形成、盲腸血管拡張、盲腸粘膜細胞死/空胞化、汎小葉性肝細胞肥大、肝単細胞壊死(200 及び 500) ≥ 500：自発運動の減少、白血球数低値、肝細胞壊死 1000：体重低値、摂餌量高値、貧血傾向、網赤血球数低値、リンパ球数低値、脾臓重量低値、肝重量高値、腸間膜リンパ節萎縮、腺胃糜爛及び前胃過角化、前胃扁平上皮乳頭腫 2) 雌性 ≥ 200：ALT 高値、脾臓重量低値、盲腸重量高値、胸腺萎縮、脾臓萎縮、前胃扁平上皮過形成、盲腸血管拡張(200) ≥ 500：自発運動の減少、AST 高値、肝重量高値、骨髄造血細胞の減少、汎小葉性肝細胞肥大、肝単細胞壊死(500) 1000：貧血傾向、網赤血球数低値、腸間膜リンパ節萎縮、盲腸粘膜細胞死/空胞化、肝細胞壊死	[redacted]	4.2.3.4.2-2

2.6.7.12　がん原性試験：重要な試験

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

報告書の題名　：AM-2013 の Tg-rasH2 マウスを用いた 26 週間発がん性試験　　被験物質　：AM-1977 塩酸塩

動物種/系統　：CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic@Jcl マウス (Tg-rasH2 マウス)　投与期間　：26 週間　(陽性対照は単回)　試験番号　：[redacted]

試験開始週齢　：7~8 週齢　　資料番号　：4.2.3.4.2-1

初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted] 日　投与方法　：強制経口　(陽性対照は腹腔内)

陽性対照　：MNU　溶媒/投与形態　：注射用水/懸濁液　GLP 適用　：適

高用量の設定根拠　：Tg-rasH2 マウスを用いた 4 週間用量設定試験(資料番号：4.2.3.4.2-2)の結果に基づき、雄で 200 mg/kg/日、雌では 300 mg/kg/日に設定した。

特記事項　：なし

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)		50	75	100	150	200	300
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
トキシコキネティクス[a]：									
AM-1977									
投与 1 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	2.18	3.76	4.76	7.62	7.25	8.20
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	NC	8.96	13.1	19.3	31.7	50.2	59.7
投与 26 週目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	2.15	2.60	5.55	3.40	5.80	5.32
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	NC	7.62	12.4	22.9	23.4	35.8	50.8
AM2012-008									
投与 1 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	0.0755	0.116	0.125	0.151	0.145	0.156
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	NC	0.375	0.493	0.513	0.680	0.814	0.897
投与 26 週目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	0.0503	0.0571	0.0586	0.0561	0.0626	0.0678
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	NC	0.122	0.291	0.314	0.411	0.393	0.705

NC：算出せず

a：各採血時点における個体数：各群 3 匹

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数										
開始時	25	25	30	30	30	30	30	30	15	15
死亡/瀕死による屠殺	0	0	1	0	3	1	6	2	13	11
最終剖検例数	25	25	29	30	27	29	24	28	2	4
生存率 (%)	100	100	97	100	90	97	80[&]	93	13	27
一般状態	-	-	-	-	-	-	-	-	P	P
体重 (%[b])	28.5g	22.0g	1	4[**]	2	6[**]	3	6[**]	1	11
摂餌量 (%[b])	3.2g	3.0g	-3	17[**]	3	10[**]	6[*]	17[**]	3	10
病理組織学的検査-腫瘍性病変										
検査動物数(死亡動物含む)	25	25	30	30	30	30	30	30	15	15
心臓										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	11[##]	9[##]
動脈										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	11[##]	8[##]
下顎リンパ節										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	7[##]	7[##]

-：特記すべき所見なし　　MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　*：p<0.05、**：p<0.01(Dunnett 法検定)、#：p<0.05、##：p<0.01(Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)、&：p<0.05(Log-rank 検定)

b：投与 26 週目。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

P：陽性対照群では削痩、自発運動の減少あるいは消失、不規則呼吸、頻呼吸、呼吸深大、体温低下が死亡あるいは切迫屠殺前に観察された。

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
腸間膜リンパ節										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	7##	7##
リンパ節(その他)						[1]			[5]	[10]
血管腫						1			0	0
血管肉腫						0			0	1
転移(扁平上皮癌、胃原発)						0			0	1
転移/浸潤(悪性リンパ腫)						0			5	9
脾臓										
血管腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
血管肉腫	2	2	2	1	2	3	1	0	3	3
浸潤(扁平上皮癌、胃原発)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	9##	9##
骨髄										
血管腫	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1
血管肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	6##	8##

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　##：p<0.01(Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)

[ ]：検査動物数

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
胸腺										
胸腺腫(良性)	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0
胸腺腫(悪性)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
血管肉腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	1	12##	9##
下垂体										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	5##	7##
甲状腺										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
上皮小体										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
副腎										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	5##	8##
鼻腔										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	3#	5##
気管										
乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
肺／気管支										
気管支肺胞上皮腺腫	0	1	1	0	0	0	0	0	0	3
気管支肺胞上皮腺癌	0	2	2	0	0	0	0	1	0	2
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	12##	9##

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　#：$p<0.05$、##：$p<0.01$(Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
舌										
扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
唾液腺										
扁平上皮癌	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
食道										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
胃										
腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
扁平上皮乳頭腫	1	0	2	1	0	0	0	1	$15^{\#\#}$	$13^{\#\#}$
扁平上皮癌	0	0	0	0	0	0	0	0	2	$5^{\#\#}$
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
十二指腸										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	$4^{\#}$
空腸										
腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	$3^{\#}$
腺癌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	$3^{\#}$
血管肉腫	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	$3^{\#}$

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　#：$p<0.05$、##：$p<0.01$(Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
回腸										
腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	3#	5##
盲腸										
腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
結腸										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
直腸										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
膵臓										
浸潤(扁平上皮癌、胃原発)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
肝臓										
血管肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
浸潤(扁平上皮癌、胃原発)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	11##	9##
胆嚢										
転移(血管肉腫、肝臓原発)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	3#	2

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　#：$p<0.05$、##：$p<0.01$(Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
腎臓										
腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4#
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	11##	9##
膀胱										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3#
精巣										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0		0		0		0		2	
前立腺										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0		0		0		0		5##	
精巣上体										
血管腫	0		0		0		0		2	
血管肉腫	1		0		0		0		0	
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0		0		0		0		4#	
精嚢										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0		0		0		0		2	
乳腺										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)		0		0		0		0		4#
卵巣										
血管腫		0		0		0		1		0
転移/浸潤(悪性リンパ腫)		0		0		0		0		9##
卵管										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)		0		0		0		0		8##

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　#：p<0.05、##：p<0.01(Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
子宮										
血管腫		0		0		0		1		1
平滑筋肉腫		1		0		0		0		0
転移/浸潤(悪性リンパ腫)		0		0		0		0		$7^{\#\#}$
膣										
浸潤(血管肉腫、筋肉組織原発)		0		0		0		1		0
転移/浸潤(悪性リンパ腫)		0		0		0		0		$6^{\#\#}$
大腿骨										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	$4^{\#}$	$6^{\#\#}$
胸骨										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	$10^{\#\#}$	$9^{\#\#}$
筋肉組織										
血管肉腫	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
浸潤(血管肉腫、骨髄原発)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
皮膚／皮下組織										
扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	1	0	0	2	$5^{\#\#}$
扁平上皮癌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　#：$p<0.05$、##：$p<0.01$(Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
眼球										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2
ハーダー腺										
腺腫	1	0	0	1	0	0	0	2	0	0
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	4#	4#
脳										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	4#	7##
脊髄										
浸潤(血管肉腫、筋肉組織原発)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
胸腔									[12]	[6]
転移/浸潤(悪性リンパ腫)									12	6
涙腺										
転移/浸潤(悪性リンパ腫)	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4#
横隔膜									[4]	[1]
転移/浸潤(悪性リンパ腫)									4	1
耳介					[1]					[2]
皮脂腺腫					1					0
扁平上皮乳頭腫					0					1
扁平上皮癌					0					1

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　#：p<0.05、##：p<0.01(Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)

[ ]：検査動物数

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted](続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
全身								[1]	[13]	[8]
悪性リンパ腫								1	13	8
尿道										[3]
移行上皮乳頭腫										3
腰椎								[1]		
浸潤(血管肉腫、筋肉組織原発)								1		
特記すべき所見										
剖検所見										
検査動物数(死亡動物含む)	25	25	30	30	30	30	30	30	15	15
リンパ節										
腫大/腋窩リンパ節	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
腫大/下顎リンパ節	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4#
腫大/縦隔リンパ節	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4#
腫大/腸間膜リンパ節	0	0	0	0	0	0	0	0	3#	7##
腫大/内側腸骨リンパ節	0	0	0	0	0	0	0	0	1	6##
腫大/膵リンパ節	0	0	0	0	0	0	0	0	3#	3#
腫大/腎リンパ節	0	0	0	0	0	0	0	0	5##	6##
腫大/鼠径リンパ節	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3#

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　#：p<0.05、##：p<0.01(Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)

[ ]：検査動物数

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted](続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
脾臓										
腫大	1	0	0	0	0	0	0	1	6##	11##
変色結節(暗赤色、単発性)	0	0	2	0	0	0	0	0	4##	1
変色結節(白色、単発性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
結節(単発性)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
胸腺										
腫大	0	0	0	0	0	0	0	0	12##	8##
心臓との癒着	0	0	0	0	0	0	0	0	7##	5##
肺との癒着	0	0	0	0	0	0	0	0	9##	4#
胸骨との癒着	0	0	0	0	0	0	0	0	10##	7##
横隔膜との癒着	0	0	0	0	0	0	0	0	4#	1
胸椎との癒着	0	0	0	0	0	0	0	0	4#	2
肺										
変色結節(白色、単発性)	0	3	2	0	1	0	0	1	0	1
変色結節(白色、複数性)	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
変色結節(白色、まとめ)	0	3	2	0	1	1	0	1	0	1
胃										
脾臓との癒着	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
結節(単発性)	1	1	2	1	0	0	0	1	0	2
結節(複数性)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
結節(多発性)	0	0	0	0	0	0	0	0	14	11
結節(まとめ)	1	1	2	1	0	0	0	1	15##	15##

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　#：p<0.05、##：p<0.01(Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
小腸										
結節(単発性)	0	0	1	0	0	0	0	0	1	2
結節(複数性)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
結節(まとめ)	0	0	1	0	0	0	0	0	1	$4^{\#\#}$
肝臓										
腫大	0	0	0	0	0	0	0	0	$4^{\#}$	$4^{\#}$
変色(退色)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	$4^{\#}$
腎臓										
腫大(片側)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腫大(両側)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
嚢胞(片側、単発性)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
嚢胞(片側、複数性)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
嚢胞(片側、まとめ)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	$3^{\#}$
変色結節(白色、片側、単発性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
卵巣										
変色結節(暗赤色、片側、単発性)		0		0		0		1		0
子宮										
拡張(子宮角、両側)		4		4		$0^{\#}$		$0^{\#}$		2
結節(子宮角、片側、単発性)		1		0		0		0		0
結節(頚部、単発性)		0		0		0		0		1

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　#：$p<0.05$、##：$p<0.01$ (Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
皮膚/皮下組織										
結節(顔部、単発性)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
結節(生殖器周囲、単発性)	0	0	0	0	0	1	0	0	2	3
結節(生殖器周囲、複数性)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
結節(生殖器周囲、まとめ)	0	0	0	0	0	1	0	0	2	6##
胸腔										
液貯留	0	0	0	0	1	0	0	0	3#	2
液貯留(赤色)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
腹腔										
液貯留	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
液貯留(暗赤色)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
液貯留(赤色)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
耳介										
結節(片側、単発性)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
結節(片側、複数性)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
結節(片側、まとめ)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　#：p<0.05、##：p<0.01 (Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
盲腸										
拡張	0	0	29##	30##	30##	30##	28##	29##	0	0
捻転	0	0	0	0	3	0	3	0	0	0
貯留液(暗赤色)	0	0	0	0	2	0	4	0	0	0
貯留物(暗赤色)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
穿孔	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
変色(暗赤色)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
変色領域(暗赤色、単発性)	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　##：$p<0.01$ (Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
器官重量[b]										
検査動物数	25	25	29	30	27	29	24	28[c]	2	4
脳(絶対、g)	0.475	0.488	0	0	-1	0	-1	-1	-2	0
脳(相対、g/100g)	1.672	2.223	-1	-4**	-2	-6**	-4	-7**	-4	-10$$
心臓(絶対、g)	0.154	0.118	1	3	-1	4	0	4	6$$	14$$
心臓(相対、g/100g)	0.540	0.536	-1	-1	-2	-2	-3	-1	4	3
肝臓(絶対、g)	1.471	1.125	-3	1	-2	4	1	2	9$$	27
肝臓(相対、g/100g)	5.130	5.109	-3*	-3	-3	-2	-2	-4	8$	13
腎臓(絶対、g)	0.562	0.381	-4	1	-4	4*	-4	5**	-4	10
腎臓(相対、g/100g)	1.978	1.731	-5	-3	-5	-2	-7	-1	-5	-2
脾臓(絶対、g)	0.081	0.081	-9	-4	-15	0	-15	-6	5	160
脾臓(相対、g/100g)	0.287	0.368	-11	-7	-16	-6	-18	-12*	2	130
胸腺(絶対、g)	0.035	0.030	0	-7	-6	-13	-9	-23*	-49$	-17
胸腺(相対、g/100g)	0.123	0.138	-1	-10	-7	-21*	-10	-29**	-50$	-28
精巣(絶対、g)	0.270		-6		-3		-3		-19	
精巣(相対、g/100g)	0.949		-7		-5		-6		-19$	
卵巣(絶対、mg)		18.3		6		-2		9		-28$$
卵巣(相対、$\times 10^{-3}$g/100g)		83.30		2		-8*		2		-36$$
盲腸(内容物含む)(絶対、g)	0.516	0.430	109**	85**	122**	102**	154**	136**	17$$	19$$
盲腸(内容物含む)(相対、g/100g)	1.802	1.953	108**	79**	121**	91**	147**	124**	16$	6
盲腸(内容物含まない)(絶対、g)	0.143	0.136	57**	46**	67**	60**	73**	75**	13	4
盲腸(内容物含まない)(相対、g/100g)	0.497	0.616	57**	41**	67**	51**	68**	66**	12$$	-6

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　*：p<0.05、**：p<0.01 (Dunnett 法検定)、$：p<0.05、$$：p<0.01 (Student t 検定又は Welch 検定)

b：投与 26 週目。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。　c：脳重量のみ 27 例

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
病理組織学的検査-非腫瘍性病変										
検査動物数(死亡動物含む)	25	25	30	30	30	30	30	30	15	15
胸腺										
胸腺萎縮/退縮										
軽微(Minimal)	5	6	2	2	4	8	3	11	1	1
軽度(Slight)	0	1	3	3	2	11	3	6	0	2
中等度(Moderate)	0	3	0	3	1	3	0	2	1	1
顕著(Marked)	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1
重篤(Severe)	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
(まとめ)	5	10	5	8	7	22#	7	21#	2	5
検査動物数(生存動物)	25	25	29	30	27	29	24	28	2	4
盲腸										
出血　軽微(Minimal)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
アポトーシス/空胞化、粘膜、軽微(Minimal)	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
アポトーシス/空胞化、粘膜、軽度(Slight)	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
アポトーシス/空胞化、粘膜、(まとめ)	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea　　#：$p<0.05$ (Fisher の直接確率検定又は Wilcoxon の順位和検定)

2.6.7.12-1　Tg-rasH2 マウスを用いるがん原性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)		50	75	100	150	200	300	MNU 75	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
検査動物数(死亡動物)	0	0	1	0	3	1	6	2	13	11
盲腸										
出血 重篤(Severe)			0		2	0	6	0	0	0
粘膜壊死　重篤(Severe)			0		2	0	6	0	0	0

MNU：*N*-Methyl-*N*-nitrosourea

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：AM-1977 塩酸塩

動物種/系統	投与方法/(媒体/投与形態)	投与期間	投与量(mg/kg)	性別・動物数	特記すべき所見	試験番号	資料番号
JW 系ウサギ	強制経口(注射用水/懸濁液)	13 日間	1、5、10、25、50、100	雌性・3 匹/群	25：摂餌量軽度減少 ≥50：一般状態(食べ残し、摂餌量減少)、体重増加抑制、摂餌量減少	R02H[redacted]02	4.2.3.5.2-7
SD 系ラット	強制経口(注射用水/懸濁液)	妊娠 7 日～分娩後 6 日	0、3、30、100、300	雌性・6 匹/群	≥30：摂餌量減少、盲腸腫大 300：体重増加抑制	[redacted]	4.2.3.5.3-2

2.6.7.14　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

報告書の題名　：Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation in Rats Treated Orally with AM-2013　　被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：ラット/SD　　投与期間　：(雄) 交配前 14 日～交配期間～雌動物の剖検後　　試験番号　：A[redacted]FR01
試験開始週齢　：11 週齢　　(雌) 交配前 14 日～交配期間～妊娠 7 日　　資料番号　：4.2.3.5.1-1
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted] 日　　投与方法　：強制経口
帝王切開日　：妊娠 14 日　　溶媒/投与形態　：注射用水/懸濁液　　GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：親動物の一般毒性に関する無毒性量：雄 80 mg/kg/日、雌 20 mg/kg/日未満
親動物の生殖機能に関する無毒性量：雌雄 300 mg/kg/日
初期胚発生に関する無毒性量：300 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)	20	80	300
動物数		20	20	20	20
雄	途中死亡	0	0	0	0
	一般状態				
	摂餌量の減少	-	-	-	+
	排便減少又は無便	-	-	-	+
	体重 (%[a])				
	交配前 (投与 14 日目)	446.5 g	-2	-2	-9**
	交配後 (交配開始 29 日目)	516.5 g	-2	-3	-10***
	体重増加量 (g[b])				
	交配前 (投与 14 日目)	38.3	29.0	23.4**	-3.4***
	交配後 (交配開始 29 日目)	64.0	60.3	58.4	49.2**
	摂餌量 (%[a])				
	交配前 (投与 14 日目)	26.2 g	0	+2	+3
	交配後 (交配開始 25 日目)	26.1 g	+1	+8	+12**

-：特記すべき所見なし　　**：$p<0.01$、***：$p<0.001$(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)
a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。
b：投与開始 0 日又は交配開始 0 日を基準として算出し、対照群との統計学的有意差は算出値に基づく。

2.6.7.14 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

試験番号：A[redacted]FR01 (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)	20	80	300
動物数		20	20	20	20
雄	交配動物数	20	20	20	20
	交尾確認動物数	19	20	20	20
	交尾率 (%)	95.0	100.0	100.0	100.0
	受胎動物数	19	20	20	19
	受胎率 (%)	100.0	100.0	100.0	95.0
	平均交配日数 (日)	2.5	2.2	2.2	2.0
	剖検所見				
	盲腸腫大	0	$17^{\#\#\#}$	$18^{\#\#\#}$	$17^{\#\#\#}$
	器官重量 (%[a])				
	精巣(絶対重量)	3.353 g	-1	-4	0
	精巣(相対重量)	0.647 g%	0	0	$+12^{**}$
	精巣上体(絶対重量)	1.437 g	-8^{*}	-15^{***}	-21^{***}
	精巣上体(相対重量)	0.277 g%	-6	-12^{**}	-11^{**}
	病理組織学的検査				
	精巣	-	NE	NE	-
	精巣上体	-	NE	NE	-

NE：実施せず　　-：特記すべき所見なし

*：$p<0.05$、**：$p<0.01$、***：$p<0.001$ (Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)、$^{\#\#\#}$：$p<0.001$ (χ^2 検定)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

2.6.7.14 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

試験番号：A[redacted]FR01 (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)	20	80	300
動物数		20	20	20	20
雌	途中死亡	0	0	0	1
	一般状態(死亡例)				
	運動性低下、摂餌の低下、低体温、下腹部の汚れ、排便減少	-	-	-	1
	一般状態(生存例)	-	-	-	-
	体重 (%[a])				
	交配前(投与 14 日目)	283.0 g	-2	-4**	-5**
	妊娠 7 日	325.4 g	-4*	-6***	-9***
	妊娠 14 日	362.6 g	-5**	-7***	-9***
	体重増加量 (g[b])				
	交配前(投与 14 日目)	21.1	13.9*	10.2***	7.0***
	妊娠 7 日	36.1	31.2	28.5**	23.3***
	妊娠 14 日	73.3	63.8*	61.0**	57.7***
	摂餌量 (%[a])				
	交配前(投与 14 日目)	20.7 g	-9	-9	-7
	妊娠 7 日	26.1 g	-15**	-10	-12*
	妊娠 14 日	25.9 g	0	0	+7

-：特記すべき所見なし　　*：$p<0.05$、**：$p<0.01$、***：$p<0.001$ (Dunnett 法)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

b：投与開始 0 日又は妊娠 0 日を基準として算出し、対照群との統計学的有意差は算出値に基づく。

2.6.7.14 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

試験番号：A[redacted]FR01 (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)	20	80	300
動物数		20	20	20	20
雌	性周期(回数)	3.3	3.2	3.2	3.1
	交配動物数	20	20	20	20
	交尾確認動物数	19	20	20	20
	交尾率 (%)	95.0	100.0	100.0	100.0
	受胎動物数	19	20	20	19
	受胎率 (%)	100.0	100.0	100.0	95.0
	平均交配日数 (日)	2.5	2.2	2.2	2.0
	剖検所見				
	盲腸腫大	0	$7^{\#\#}$	$8^{\#\#}$	$10^{\#\#\#}$
	平均黄体数	16.0	14.7^{*}	14.6^{*}	14.8
	平均着床数	14.8	13.9	13.5	13.6
	平均着床前死亡率 (%)	7.3	5.2	7.5	8.3
	平均着床後死亡率 (%)	7.0	5.0	6.2	7.8
	平均生存胚数	13.7	13.2	12.8	12.6
	平均生存胚率 (%)	93.0	95.0	93.8	92.2
	器官重量	-	-	-	-
	病理組織学的検査	NE	NE	NE	NE

NE：実施せず　　-：特記すべき所見なし

*：$p<0.05$ (Dunnett 法)　　$^{\#\#}$：$p<0.01$、$^{\#\#\#}$：$p<0.001$ (χ^2 検定)

2.6.7.15　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.15-1　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験(経口)

報告書の題名　：Dose-Range Finding Study for the Effects of AM-2013 on Embryo-Fetal Development by Oral Administration in Rats　被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：ラット/SD　投与期間　：妊娠 7～17 日　試験番号　：[redacted]
試験開始週齢　：10～11 週齢　休薬期間　：－　資料番号　：4.2.3.5.2-1
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted]日　投与方法　：強制経口
帝王切開日　：妊娠 20 日　溶媒/投与形態　：注射用水/懸濁液　GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：母動物の一般毒性に関する無毒性量：80 mg/kg/日
母動物の生殖機能に関する無毒性量：300 mg/kg/日
胚・胎児発生に関する無毒性量：20 mg/kg/日未満

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)	20	80	300	600
交尾動物数		8	8	8	8	8
妊娠動物数		8	8	8	8	8
トキシコキネティクス：						
妊娠 7 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	2.42	6.83	12.0	18.1
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	9:57	61.9	171	290
妊娠 17 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	2.16	5.49	13.0	38.2
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	10.9	52.8	191	611
母動物	切迫屠殺動物数	0	0	0	0	1
	流産	0	0	0	0	0
	一般状態(死亡例)					
	排便減少、低体温、運動性低下、腹臥位	-	-	-	-	1
	一般状態(生存例)					
	排便減少又は無便	-	-	-	-	+
	運動性低下	-	-	-	-	+
	着色尿 (淡赤色)	-	-	-	-	+

NC：算出せず　-：特記すべき所見なし

2.6.7.15-1　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験(経口)

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)	20	80	300	600
交尾動物数		8	8	8	8	8
妊娠動物数		8	8	8	8	8
母動物	体重 (%[a])					
	妊娠 17 日	354 g	-2	-3	-8*	-24**
	妊娠 20 日	406 g	-1	-2	-8	-26**
	体重増加量 (g[b])					
	妊娠 17 日	121	114	107	89**	31**
	妊娠 20 日	173	168	161	137**	64**
	摂餌量 (%[a])					
	妊娠 17 日	30.6 g	-4	-7	-11	-40**
	妊娠 20 日	29.4 g	+3	+4	0	-4
	剖検所見(死亡例)					
	胸腺及び脾臓の小型化、副腎の大型化、腺胃部粘膜(暗赤色巣)、膀胱(暗赤色尿貯留)	-	-	-	-	1
	剖検所見(生存例)					
	胸腺の小型化	0	0	0	0	1
	脾臓の小型化	0	0	0	0	1
	副腎の大型化	0	0	0	0	1
	腺胃部粘膜(暗赤色巣)	0	0	0	0	1
	盲腸腫大	0	8	8	8	7
	器官重量	-	-	-	-	-
	平均黄体数	16.1	16.3	15.9	16.5	17.1
	平均着床数	15.0	15.1	14.9	15.0	15.3

-：特記すべき所見なし　　*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

b：妊娠 0 日を基準として算出し、対照群との統計学的有意差は算出値に基づく。

2.6.7.15-1　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験(経口)

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)	20	80	300	600
妊娠動物数		8	8	8	8	8
帝王切開動物数		8	8	8	8	7
全児(胚・胎児)死亡母動物数		0	0	0	0	3
評価対象母動物数[a]		8	8	8	8	4
胎児	平均着床前死亡率 (%)	7.0	6.3	5.9	8.5	10.1
	平均着床後死亡率 (%)	4.7	1.5	3.5	3.9	49.3*
	平均生存胎児数	14.3	14.9	14.4	14.4	7.9
	性比 (雄/(雄+雌))[b]	0.46	0.50	0.51	0.58	0.40
	平均胎児体重 (g)[b]					
	雄	4.43	4.05*	3.98**	3.26**	1.99**
	雌	4.18	3.86*	3.75**	3.08**	2.01**
	胎盤重量 (g)[b]					
	雄	0.505	0.467	0.433*	0.392**	0.260**
	雌	0.469	0.456	0.416	0.366**	0.268**
	外表異常					
	発現母動物数 (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (25.0)
	異常胎児数 (%)[c]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (9.4)
	舌の癒着 (%)[c]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (9.4)
	内臓異常					
	発現母動物数 (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (12.5)	3 (37.5)	4 (100.0)##
	異常胎児数 (%)[c]	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.8)	4 (7.4)	17 (62.8)**
	膜性心室中隔欠損 (%)[c]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	11 (40.5)**
	脳室拡張 (%)[c]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (16.7)
	胸腺索 (%)[c]	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.8)	4 (7.4)	4 (15.5)
	腎臓欠損 (%)[c]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (3.1)
	腎臓位置異常 (%)[c]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (3.1)

*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)　　##：$p<0.01$(χ^2 検定)

a：途中死亡及び全児死亡を除く生存胎児を認めた母動物数　　b：600 mg/kg 群は、全児死亡を除いた母動物数で算出

c：異常が認められた胎児数 (発現率%)

2.6.7.15-1　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験(経口)

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0(対照)	20	80	300	600
帝王切開動物数	8	8	8	8	7
評価対象母動物数[a]	8	8	8	8	4
胎児　骨格異常					
発現母動物数 (%)	0 (0.0)	1 (12.5)	0 (0.0)	4 (50.0)$^{\#}$	4 (100.0)$^{\#\#}$
異常胎児数 (%)[b]	0 (0.0)	2 (3.1)	0 (0.0)	4 (6.7)	23 (80.2)**
肋骨欠損 (%)[b]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	16 (56.3)**
肋骨癒合 (%)[b]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (3.1)
肋骨短小 (%)[b]	0 (0.0)	2 (3.1)	0 (0.0)	4 (6.7)	10 (33.3)**
骨格変異					
発現母動物数 (%)	2 (25.0)	4 (50.0)	2 (25.0)	7 (87.5)$^{\#}$	4 (100.0)$^{\#}$
変異胎児数 (%)[b]	6 (10.7)	5 (8.3)	2 (3.1)	12 (20.3)	25 (88.5)**
胸椎体二分骨化 (%)[b]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.8)	15 (56.3)**
胸椎体ダンベル状骨化 (%)[b]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (8.3)**
腰椎減少 (%)[b]	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.6)	6 (10.3)	18 (61.5)**
頸肋(頚部短小過剰肋骨) (%)[b]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (6.7)	17 (60.4)**
骨化数					
仙尾椎	8.7	8.4	8.4	7.9*	3.8**
胸骨分節	5.9	5.9	5.8	5.2**	2.2**
中手骨	7.9	7.9	7.9	7.7	6.3**
末節骨 (前肢)	10.0	10.0	10.0	10.0	7.4**
中足骨	8.0	8.0	8.0	8.0	7.6**
末節骨 (後肢)	10.0	10.0	10.0	10.0	1.8**

*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)、$^{\#}$：$p<0.05$、$^{\#\#}$：$p<0.01$(χ^2 検定)

a：途中死亡、流産及び全児死亡を除く生存胎児を認めた母動物数

b：異常又は変異が認められた胎児数 (発現率%)

2.6.7.15-2　ラット胚・胎児発生に関する試験(経口)

報告書の題名　：Study for the Effects of AM-2013 on Embryo-Fetal Development by Oral Administration in Rats
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：ラット/SD
投与期間　：妊娠 7～17 日
試験番号　：[redacted]
試験開始週齢　：10～11 週齢
休薬期間　：－
資料番号　：4.2.3.5.2-2
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted]日
投与方法　：強制経口
帝王切開日　：妊娠 20 日
溶媒/投与形態　：注射用水/懸濁液
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：母動物の一般毒性に関する無毒性量：3 mg/kg/日
母動物の生殖機能に関する無毒性量：300 mg/kg/日
胚・胎児発生に関する無毒性量：30 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)	3	30	300
交尾動物数		20	20	20	20
妊娠動物数		19	20	19	20
トキシコキネティクス：					
AM-1977					
妊娠 7 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	0.283	3.35	14.9
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	0.846	16.0	204
妊娠 17 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	0.305	3.60	13.9
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	0.807	22.9	162
AM2012-008					
妊娠 7 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	0.00797	0.0456
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	NC	0.0109	0.418
妊娠 17 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	NC	0.00848	0.0318
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	NC	0.0119	0.297
母動物	途中死亡	0	0	0	0
	流産	0	0	0	0

NC：算出せず

2.6.7.15-2　ラット胚・胎児発生に関する試験(経口)

試験番号：[redacted](続き)

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)	3	30	300
交尾動物数		20	20	20	20
妊娠動物数		19	20	19	20
帝王切開動物数		19	20	19	20
母動物	一般状態	-	-	-	-
	体重 (%[a])				
	妊娠 17 日	374 g	+2	-3	-9**
	妊娠 20 日	426 g	+3	-2	-8**
	体重増加量 (g[b])				
	妊娠 17 日	120	126	107*	86**
	妊娠 20 日	172	181	162	136**
	摂餌量 (%[a])				
	妊娠 12 日	29.1 g	+2	-16**	-22**
	妊娠 17 日	30.8 g	+3	-8	-11**
	妊娠 20 日	29.5 g	+3	+3	+2
	剖検所見				
	盲腸腫大	0	0	19	20
	器官重量	-	-	-	-
	平均黄体数	17.5	17.5	18.4	17.7
	平均着床数	15.3	15.9	15.7	15.2
胎児	平均着床前死亡率 (%)	12.1	8.5	13.3	13.1
	平均着床後死亡率 (%)	4.5	3.9	7.2	7.2
	平均生存胎児数	14.6	15.3	14.8	14.2
	性比 (雄/(雄+雌))	0.51	0.51	0.43	0.50
	平均胎児体重 (g)				
	雄	4.29	4.36	4.16	3.46**
	雌	4.00	4.09	3.87	3.24**

-：特記すべき所見なし　　*：p<0.05、**：p<0.01(Dunnett 法)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

b：妊娠 0 日を基準として算出し、対照群との統計学的有意差は算出値に基づく。

2.6.7.15-2　ラット胚・胎児発生に関する試験(経口)

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0(対照)	3	30	300
妊娠動物数	19	20	19	20
帝王切開動物数	19	20	19	20
全児(胚・胎児)死亡母動物数	0	0	0	0
評価対象母動物数 [a]	19	20	19	20
胎児　胎盤重量 (g)				
雄	0.488	0.513	0.515	0.431$^{\#\#}$
雌	0.455	0.481	0.485	0.414$^{\#\#}$
外表異常				
発現母動物数 (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
異常胎児数 (%)[b]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
内臓異常				
発現母動物数 (%)	3 (15.8)	1 (5.0)	6 (31.6)	17 (85.0)$^{\$\$}$
異常胎児数 (%)[b]	3 (2.3)	2 (1.1)	8 (5.9)	53 (38.4)$^{\#\#}$
胸腺索 (%)[b]	3 (2.3)	2 (1.1)	8 (5.9)	53 (38.4)$^{\#\#}$
骨格異常				
発現母動物数 (%)	0 (0.0)	1 (5.0)	0 (0.0)	7 (35.0)$^{\$\$}$
異常胎児数 (%)[b]	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	12 (8.0)$^{\#}$
肋骨短小 (%)[b]	0 (0.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	12 (8.0)$^{\#}$
骨格変異				
発現母動物数 (%)	9 (47.4)	8 (40.0)	6 (31.6)	14 (70.0)
変異胎児数 (%)[b]	23 (15.3)	18 (11.7)	7 (4.3)	34 (22.6)
頸部短小過剰肋骨 (%)[b]	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)	10 (6.7)$^{\#}$
腰椎減少 (%)[b]	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	24 (15.5)$^{\#\#}$
骨化数				
仙尾椎	8.6	8.5	8.2*	7.8**
胸骨分節	5.8	5.8	5.7	5.1**

*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法)　　$^{\#}$：$p<0.05$、$^{\#\#}$：$p<0.01$(Steel 検定)　　$^{\$\$}$：$p<0.01$($\chi^2$ 検定)

a：途中死亡、流産及び全児死亡を除く生存胎児を認めた母動物数

b：異常又は変異が認められた胎児数 (発現率%)

2.6.7.15-3　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験(静脈内)

報告書の題名　：Dose-Range Finding Study for the Effects of AM-2013 on Embryo-Fetal Development by Intravenous Administration in Rats　　被験物質　：AM-1977 塩酸塩

動物種/系統　：ラット/SD　　投与期間　：妊娠 7～17 日　　試験番号　：[redacted]

試験開始週齢　：10～11 週齢　　休薬期間　：－　　資料番号　：4.2.3.5.2-3

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

帝王切開日　：妊娠 20 日　　溶媒/投与形態　：$MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液　　GLP 適用　：適

特記事項　：なし

無毒性量　：母動物の一般毒性に関する無毒性量：5 mg/kg/日
母動物の生殖機能に関する無毒性量：80 mg/kg/日
胚・胎児発生に関する無毒性量：80 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)[a]	2[b]	5[b]	20[b]	80[b]
交尾動物数		8	8	8	8	8
妊娠動物数		8	7	8	8	8
トキシコキネティクス：						
妊娠 7 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	0.741	2.04	8.87	34.7
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	0.801	2.97	15.8	73.3
妊娠 17 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	0.615	1.70	7.72	36.1
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	0.751	2.74	14.6	83.1
母動物	途中死亡	0	0	0	0	0
	流産	0	0	0	0	0
	一般状態					
	運動性低下	-	-	-	-	+
	不規則呼吸	-	-	-	-	+

NC：算出せず　-：特記すべき所見なし

a：溶媒の pH 及び浸透圧：pH 5.74～5.93、浸透圧 292 mOsm

b：投与液の pH 及び浸透圧：pH 6.53～6.83、浸透圧 286～293 mOsm

2.6.7.15-3　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験(静脈内)

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)	2	5	20	80
交尾動物数		8	8	8	8	8
妊娠動物数		8	7	8	8	8
帝王切開動物数		8	7	8	8	8
母動物	体重 (%[a])					
	妊娠 17 日	351 g	+1	+3	-3	-3
	妊娠 20 日	398 g	+3	+3	-1	-1
	体重増加量 (g[b])					
	妊娠 17 日	107	113	113	103	94
	妊娠 20 日	154	167	163	154	148
	摂餌量 (%[a])					
	妊娠 9 日	24.1 g	+8	+4	-19**	-15*
	妊娠 17 日	26.0 g	+11	+10	0	-5
	妊娠 20 日	25.2 g	+11	+11	+13	+10
	剖検所見					
	盲腸腫大	0	0	0	1	6
	器官重量	-	-	-	-	-
	平均黄体数	17.8	17.3	17.1	16.6	17.1
	平均着床数	16.0	16.1	16.0	15.5	15.9
胎児	平均着床前死亡率 (%)	8.9	6.3	6.2	6.1	6.6
	平均着床後死亡率 (%)	10.0	5.3	10.6	2.4#	4.0
	平均生存胎児数	14.4	15.3	14.1	15.1	15.3
	性比 (雄/(雄+雌))	0.51	0.49	0.49	0.43	0.51

-：特記すべき所見なし　　*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法)　　#：$p<0.05$ (Steel 検定)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

b：妊娠 0 日を基準として算出した。

2.6.7.15-3　ラット胚・胎児発生に関する用量設定試験(静脈内)

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)	2	5	20	80
妊娠動物数		8	7	8	8	8
帝王切開動物数		8	7	8	8	8
全児(胚・胎児)死亡母動物数		0	0	0	0	0
評価対象母動物		8	7	8	8	8
胎児	平均胎児体重 (g)					
	雄	4.28	4.40	4.39	4.34	4.08
	雌	4.07	4.19	4.15	4.14	3.78
	胎盤重量 (g)					
	雄	0.489	0.492	0.493	0.488	0.474
	雌	0.476	0.455	0.483	0.469	0.440
	外表異常	-	-	-	-	-
	内臓異常	-	-	-	-	-
	骨格異常	-	-	-	-	-
	骨格変異	-	-	-	-	-
	骨化数	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし

2.6.7.15-4　ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験(経口)

報告書の題名　：Dose-Range Finding Study for the Effects of AM-2013 on Embryo-Fetal Development by Oral Administration in Rabbits
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：ウサギ/JW
投与期間　：妊娠 6～18 日
試験番号　：[redacted]
試験開始週齢　：18 週齢
休薬期間　：－
資料番号　：4.2.3.5.2-4
初回投与年月日　：20[redacted]年[redacted]月[redacted]～[redacted]日
投与方法　：強制経口
帝王切開日　：妊娠 29 日
溶媒/投与形態　：注射用水/懸濁液
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：母動物の一般毒性に関する無毒性量：5 mg/kg/日未満
母動物の生殖機能に関する無毒性量：30 mg/kg/日
胚・胎児発生に関する無毒性量：30 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)	5	15	30	50
交尾動物数		8	8	8	8	8
妊娠動物数		8	8	8	8	8
トキシコキネティクス：						
妊娠 6 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	0.520	1.87	3.45	6.32
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	3.73	12.3	27.3	47.9
妊娠 18 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	0.489	1.62	4.91	7.84
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	4.17	14.1	80.1	136
母動物	途中死亡	0	0	0	0	3
	流産	0	1	1	3	1
	一般状態					
	排便減少又は無便	+	+	+	+	+
	排尿減少又は無尿	-	+	+	+	+

NC：算出せず

2.6.7.15-4　ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験(経口)

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)	5	15	30	50
交尾動物数		8	8	8	8	8
妊娠動物数		8	8	8	8	8
帝王切開動物数		8	7	7	5	4
母動物	体重 (%[a])					
	妊娠 18 日	3.75 kg	-3	-3	-8*	-4
	妊娠 29 日	3.89 kg	0	0	-6	-1
	体重増加量 (kg[b])					
	妊娠 18 日	0.25	0.13	0.19	-0.03**	0.09
	妊娠 29 日	0.39	0.40	0.41	0.19	0.26
	摂餌量 (%[a])					
	妊娠 18 日	148 g	-28	-36	-69**	-79**
	妊娠 29 日	101 g	+37	+24	+7	+7
	剖検	-	-	-	-	-
	器官重量	-	-	-	-	-
	平均黄体数	11.1	10.9	10.9	10.8	12.5
	平均着床数	10.1	8.7	9.3	6.8	11.0
胎児	平均着床前死亡率 (%)	9.5	20.3	13.9	38.2	12.7
	平均着床後死亡率 (%)	7.8	2.5	5.2	5.2	27.3
	平均生存胎児数	9.3	8.4	8.9	6.4	7.8
	性比 (雄/(雄+雌))	0.46	0.41	0.40	0.43	0.45

-：特記すべき所見なし　　*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

b：妊娠 0 日を基準として算出し、対照群との統計学的有意差は算出値に基づく。

2.6.7.15-4　ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験(経口)

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)	5	15	30	50
妊娠動物数	8	8	8	8	8
帝王切開動物数	8	7	7	5	4
全児(胚・胎児)死亡母動物数	0	0	0	0	0
評価対象母動物数[a]	8	7	7	5	4
胎児　平均胎児体重 (g)					
雄	40.6	44.6	42.5	39.2	31.6
雌	42.4	41.5	41.3	42.9	35.7
胎盤重量 (g)					
雄	3.00	3.62	3.21	3.36	2.82
雌	3.17	3.33	3.11	3.34	3.37
外表異常	-	-	-	-	-
内臓異常	-	-	-	-	-
骨格異常	-	-	-	-	-
骨格変異	-	-	-	-	-
骨化数					
仙尾椎	19.2	19.0	19.4	18.7	18.0
中手骨	10.0	9.9	10.0	10.0	9.7
基節骨 (前肢)	10.0	10.0	10.0	10.0	9.7
中節骨 (前肢)	8.0	8.0	8.0	8.0	7.5
基節骨 (後肢)	8.0	8.0	8.0	8.0	7.6
中節骨 (後肢)	8.0	8.0	8.0	8.0	7.6

-：特記すべき所見なし

a：途中死亡、流産及び全児死亡を除く生存胎児を認めた母動物数

2.6.7.15-5　ウサギ胚・胎児発生に関する試験(経口)

報告書の題名　：Study for the Effects of AM-2013 on Embryo-Fetal Development by Oral Administration in Rabbits
動物種/系統　：ウサギ/JW
試験開始週齢　：18 週齢
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted], [redacted], [redacted], [redacted], [redacted], [redacted] 日
帝王切開日　：妊娠 29 日
特記事項　：なし
投与期間　：妊娠 6～18 日
休薬期間　：－
投与方法　：強制経口
溶媒/投与形態　：注射用水/懸濁液
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
試験番号　：[redacted]
資料番号　：4.2.3.5.2-5
GLP 適用　：適
無毒性量　：母動物の一般毒性に関する無毒性量：1 mg/kg/日
母動物の生殖機能に関する無毒性量：5 mg/kg/日
胚・胎児発生に関する無毒性量：5 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)	1	5	30
交尾動物数		21	21	21	21
妊娠動物数		20	18	21	19
トキシコキネティクス：					
妊娠 6 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	0.0871	0.506	4.15
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	0.563	2.80	27.6
妊娠 18 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	0.0739	0.532	3.02
	AUC_{0-24}(μg･h/mL)	NC	0.514	4.95	24.4
母動物	途中死亡	0	0	0	5
	流産	0	0	1	0
	一般状態				
	排便減少又は無便	+	+	+	+
	排尿減少	-	-	+	+
	間代性痙攣	-	-	-	+[a]
	横臥位	-	-	-	+[a]
	呼吸深大	-	-	-	+[a]

NC：算出せず　　a：死亡動物 1 例のみ

2.6.7.15-5　ウサギ胚・胎児発生に関する試験(経口)

試験番号：[redacted](続き)

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)	1	5	30
交尾動物数		21	21	21	21
妊娠動物数		20	18	21	19
帝王切開動物数		20	18	20	14
母動物	体重 (%[a])				
	妊娠 18 日	3.792 kg	-2	-3	-7**
	妊娠 29 日	3.954 kg	-1	0	-4
	体重増加量 (kg[b])				
	妊娠 18 日	0.294	0.272	0.234	0.098**
	妊娠 29 日	0.455	0.481	0.510	0.360
	摂餌量 (%[a])				
	妊娠 12 日	176 g	-14	-22*	-43**
	妊娠 18 日	170 g	-2	-14	-51**
	妊娠 29 日	121 g	+6	+26**	+27**
	剖検	-	-	-	-
	器官重量	-	-	-	-
	平均黄体数	10.8	10.2	10.7	10.6
	平均着床数	9.0	9.1	9.3	7.4

-：特記すべき所見なし　　*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

b：妊娠 0 日を基準として算出し、対照群との統計学的有意差は算出値に基づく。

2.6.7.15-5　ウサギ胚・胎児発生に関する試験(経口)

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)	1	5	30
妊娠動物数		20	18	21	19
帝王切開動物数		20	18	20	14
全児(胚・胎児)死亡母動物数		0	1	0	0
評価対象母動物数[a]		20	17	20	14
胎児	平均着床前死亡率 (%)	15.7	10.4	13.9	33.1
	平均着床後死亡率 (%)	3.4	8.3	5.1	9.1
	平均生存胎児数	8.7	8.3	8.8	6.5*
	性比 (雄/(雄+雌))	0.49	0.53	0.42	0.57
	平均胎児体重 (g)				
	雄	45.9	46.8	44.6	46.1
	雌	44.6	45.1	45.2	43.9
	胎盤重量 (g)				
	雄	3.42	3.49	3.35	3.77
	雌	3.35	3.49	3.36	3.20
	外表異常	-	-	-	-
	内臓異常	-	-	-	-
	骨格異常	-	-	-	-
	骨格変異	-	-	-	-
	骨化数	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし　　*：$p<0.05$(Dunnett 法)

a：途中死亡、流産及び全児死亡を除く生存胎児を認めた母動物数

2.6.7.15-6　ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験(静脈内)

報告書の題名　：Dose-Range Finding Study for the Effects of AM-2013 on Embryo-Fetal Development by Intravenous Administration in Rabbits
被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：ウサギ/JW
投与期間　：妊娠 6～18 日
試験番号　：[redacted]
試験開始週齢　：18 週齢
休薬期間　：－
資料番号　：4.2.3.5.2-6
初回投与年月日　：20[redacted]年[redacted]月[redacted]～[redacted]日
投与方法　：静脈内
帝王切開日　：妊娠 29 日
溶媒/投与形態　：$MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：母動物の一般毒性に関する無毒性量：5 mg/kg/日
母動物の生殖機能に関する無毒性量：25 mg/kg/日
胚・胎児発生に関する無毒性量：15 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)[a]	1[b]	5[b]	15[b]	25[b]
交尾動物数		8	8	8	8	8
妊娠動物数		8	8	8	8	6
トキシコキネティクス：						
妊娠 6 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	1.13	6.17	21.7	33.5
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	1.50	7.60	29.0	43.9
妊娠 18 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	1.31	6.09	22.7	48.1
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	1.95	7.84	30.5	65.4
母動物	途中死亡	0	0	0	0	0
	流産	0	1	0	0	0
	一般状態					
	排便減少又は無便	+	+	+	+	+
	排尿減少	+	+	+	-	+

NC：算出せず
a：溶媒の pH 及び浸透圧：pH 5.45～5.76、浸透圧 287～290 mOsm
b：投与液の pH 及び浸透圧：pH 6.49～6.72、浸透圧 284～316 mOsm

2.6.7.15-6　ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験(静脈内)

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)	1	5	15	25
交尾動物数		8	8	8	8	8
妊娠動物数		8	8	8	8	6
帝王切開動物数		8	7	8	8	6
母動物	体重 (%[a])					
	妊娠 18 日	3.748 kg	-1	-2	-5	-5
	妊娠 29 日	3.900 kg	+1	0	-5	-5
	体重増加量 (kg[b])					
	妊娠 18 日	0.303	0.218	0.189	0.161	0.142
	妊娠 29 日	0.456	0.425	0.428	0.307	0.273
	摂餌量 (%[a])					
	妊娠 8 日	168 g	-25	-28	-43**	-45**
	妊娠 18 日	160 g	-16	-29	-34	-61**
	妊娠 29 日	112 g	-16	+18	-4	0
	剖検	-	-	-	-	-
	器官重量	-	-	-	-	-
	平均黄体数	10.1	11.3	11.3	10.6	9.5
	平均着床数	8.1	9.3	9.5	7.6	8.0

-：特記すべき所見なし　　**：$p<0.01$(Dunnett 法)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

b：妊娠 0 日を基準として算出し、対照群との統計学的有意差は算出値に基づく。

2.6.7.15-6　ウサギ胚・胎児発生に関する用量設定試験(静脈内)

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0 (対照)	1	5	15	25
妊娠動物数		8	8	8	8	6
帝王切開動物数		8	7	8	8	6
全児(胚・胎児)死亡母動物数		0	0	0	0	0
評価対象母動物数 [a]		8	7	8	8	6
胎児	平均着床前死亡率 (%)	20.8	17.0	16.5	30.7	16.3
	平均着床後死亡率 (%)	4.5	6.6	8.1	1.4	10.1
	平均生存胎児数	7.6	8.7	8.6	7.5	7.0
	性比 (雄/(雄+雌))	0.46	0.37	0.54	0.47	0.48
	平均胎児体重 (g)					
	雄	47.1	44.8	45.7	41.1	38.2
	雌	45.8	43.8	43.4	45.3	39.9
	胎盤重量 (g)					
	雄	3.59	3.57	3.59	3.19	3.25
	雌	3.65	3.38	3.35	3.65	3.12
	外表異常	-	-	-	-	-
	内臓異常	-	-	-	-	-
	骨格異常	-	-	-	-	-
	骨格変異	-	-	-	-	-
	骨化数					
	仙尾椎	19.5	19.0	19.2	19.5	18.9*

-：特記すべき所見なし　　*：$p<0.05$(Dunnett 法)

a：途中死亡、流産及び全児死亡を除く生存胎児を認めた母動物数

2.6.7.16　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

報告書の題名　：Study for the Effects of AM-2013 on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function, by Oral Administration in Rats　　被験物質　：AM-1977 塩酸塩

動物種/系統　：ラット/SD　　投与期間　：妊娠 7 日～分娩後 20 日　　試験番号　：[redacted]

交尾成立時週齢　：10～12 週齢　　同腹児数の調整　：4 匹/性/腹　　資料番号　：4.2.3.5.3-1

初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted] 日　　投与方法　：強制経口

特記事項　：なし　　溶媒/投与形態　：注射用水/懸濁液　　GLP 適用　：適

無毒性量　：母動物の一般毒性に関する無毒性量：3 mg/kg/日
母動物の生殖機能に関する無毒性量：300 mg/kg/日
出生児に関する無毒性量：30 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)	3	30	300
交尾動物数		22	22	22	22
妊娠動物数		22	21	22	22
分娩動物数		22	21	22	22
母動物	途中死亡	0	0	0	0
	流産	0	0	0	0
	一般状態	-	-	-	-
	体重 (%[a])				
	妊娠 20 日	400 g	+1	-2	-3
	分娩後 21 日	320 g	+2	+1	+6**
	体重増加量 (g[b])				
	妊娠 13 日	69	+7	-13*	-9
	妊娠 18 日	122	+3	-7	-12**
	妊娠 20 日	155	160	149	142
	分娩後 4 日	25	-16	-12	-68**
	分娩後 21 日	27	20	25	30

-：特記すべき所見なし　　*：p<0.05、**：p<0.01(Dunnett 法)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

b：妊娠 0 日又は分娩 0 日を基準として算出し、対照群との統計学的有意差は算出値に基づく。

2.6.7.16 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

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0(対照)	3	30	300
交尾動物数	22	22	22	22
妊娠動物数	22	21	22	22
分娩動物数	22	21	22	22
母動物　摂餌量 (%[a])				
妊娠 13 日	27.0 g	-2	-17**	-10*
妊娠 20 日	25.0 g	+5	0	+9
分娩後 14 日	63.7 g	+1	+4	+2
剖検所見				
盲腸大型化	0	0	17	22

-：特記すべき所見なし　　*：p<0.05、**：p<0.01(Dunnett 法)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

2.6.7.16 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

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)	3	30	300
妊娠動物数		22	21	22	22
分娩動物数		22	21	22	22
母動物	妊娠期間 (日)	21.7	21.7	21.7	22.0
	平均着床痕数	15.2	14.6	15.4	15.0
	出産率 (%)	100.0	100.0	100.0	100.0
	分娩率 (%)	93.2	92.9	96.7	96.5
	出生率 (%)	92.1	92.4	96.0	94.5
	平均産児数	14.1	13.6	14.9	14.5
出生児	平均出生児数	14.0	13.5	14.8	14.2
	外表異常児数	0	0	0	0
	性比 (雄/(雄+雌))	0.51	0.49	0.48	0.55
	4 日生存率 (%)	99.3	99.4	98.4	96.1$^{\#}$
	離乳率 (%)	100.0	100.0	100.0	98.9
	平均出生児体重(%[a])：雄				
	0 日齢	6.54 g	+2	-2	-9**
	21 日齢	60.5 g	+2	-1	-14$^{\#\#}$
	平均出生児体重(%[a])：雌				
	0 日齢	6.20 g	+2	-2	-9**
	21 日齢	58.9 g	+2	-2	-15**
	一般状態	-	-	-	-
	離乳後体重(%[a])：雄				
	28 日齢	106 g	-1	0	-12**
	70 日齢	446 g	-1	-3$^{*\,b}$	-11**
	離乳後体重(%[a])：雌				
	28 日齢	96 g	+1	-1	-13**
	70 日齢	255 g	0	-2	-9**

$^{\#}$：$p<0.05$、$^{\#\#}$：$p<0.01$(Steel 検定)　　*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

b：散発的な変化であり、背景値内であったため、毒性変化ではないと判断した。

2.6.7.16 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

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)	3	30	300
分娩動物数		22	21	22	22
出生児	妊娠時(生殖機能検査時)体重(%[a]):雌				
	妊娠 13 日	349 g	0	-1	-7*
	発育分化				
	耳介展開 (%)				
	雄 2 日齢	13.4	10.4	16.5	0.0##
	雌 2 日齢	10.7	12.1	17.5	0.0##
	切歯萌出 (日齢)				
	雄	11.1	11.3	11.1	12.0**
	雌	11.0	11.2	10.9	12.0**
	眼瞼開裂 (日齢)				
	雄	15.4	15.5	15.6	15.9**
	雌	15.4	15.6	15.6	15.9**
	初期行動観察	-	-	-	-
	行動検査	-	-	-	-
	生殖機能				
	生殖器発育分化	-	-	-	-
	交尾能	-	-	-	-
	受胎能	-	-	-	-
	平均着床前死亡率 (%)	10.4	7.8	3.8	6.4
	平均着床後死亡率 (%)	4.5	3.4	4.4	4.3
	剖検				
	離乳後、10 週齢時、生殖能検査時	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし　　##：p<0.01(Steel 検定)　　*：p<0.05、**：p<0.01(Dunnett 法)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

2.6.7.17　新生児を用いた試験

該当する資料なし

2.6.7.18　局所刺激性試験

該当する資料なし

2.6.7.19　その他の毒性試験

2.6.7.19.1　光毒性試験(重要な試験以外の試験)

被験物質：AM-1977 塩酸塩

動物種/系統	投与方法/(媒体/投与形態)	投与期間	投与量(mg/kg)	性別・動物数	特記すべき所見	試験番号	資料番号
Long-Evans 系ラット	強制経口(注射用水/懸濁液)	単回	0 300 1000	雄性・3 匹/群	一般状態、体重、眼科的検査、皮膚反応、耳介厚、剖検及び病理組織学的検査 (背部皮膚、眼球、視神経・ハーダー腺、耳介)に変化なし <TK の結果> t_{max} はいずれも投与 4 時間後 300：C_{max} 30.2 μg/mL、AUC_{0-24} 232 μg·h/mL 1000：C_{max} 28.5 μg/mL、AUC_{0-24} 326 μg·h/mL	R02H[redacted]03	4.2.3.7.1-2

2.6.7.19.2 光毒性試験

報告書の題名　：Phototoxicity Study of AM-2013 in Pigmented Rats
動物種/系統　：雄性ラット/Long-Evans　　投与期間　：単回
試験開始週齢　：7 週齢　　投与方法　：強制経口
初回投与年月日　：20[redacted] 年 [redacted]月 [redacted] 日　　溶媒/投与形態　：注射用水/懸濁液
陽性対照　：8-MOP
特記事項　：投与 3 時間後から 120 分間、約 10 J/cm^2 (1.40～1.43 mW/cm^2) の UVA を照射
光毒性　：なし

被験物質　：AM-1977 塩酸塩
試験番号　：[redacted]
資料番号　：4.2.3.7.1-1
GLP 適用　：適

投与量 (mg/kg)	0 (対照)	AM-1977		8-MOP
		100	1000	20
動物数 (雄)	5	5	5	5
血漿中濃度 (μg/mL)[a]				
投与 3 時間後	NE	11.7	26.1	NE
投与 5 時間後	NE	8.74	28.4	NE
一般状態(投与 2 又は 3 日後)				
発赤(耳介、前肢、鼻、背部皮膚、眼瞼)	-	-	-	+
浮腫(耳介、前後肢、背部皮膚、眼瞼)	-	-	-	+
痂皮(背部皮膚)	-	-	-	+
眼球混濁	-	-	-	+
体重	-	-	-	-
皮膚反応スコア(耳介)				
照射前	0.0	0.0	0.0	0.0
照射 0.5 時間後	0.0	0.0	0.0	0.0
照射 24 時間後	0.0	0.0	0.0	0.8
照射 48 時間後	0.0	0.0	0.0	4.0
照射 72 時間後	0.0	0.0	0.0	5.0

-：特記すべき所見なし　　NE：実施せず　　8-MOP：8-Methoxypsoralen
a：各採血時点における個体数：各群 3 匹

2.6.7.19.2 光毒性試験

試験番号：[redacted](続き)

投与量 (mg/kg)	0(対照)		AM-1977				8-MOP	
			100		1000		20	
動物数	5		5		5		5	
皮膚反応スコア(背部：照射側)	有色部位	白色部位	有色部位	白色部位	有色部位	白色部位	有色部位	白色部位
照射前	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
照射 0.5 時間後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
照射 24 時間後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6	0.6
照射 48 時間後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.6	3.6
照射 72 時間後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.8	4.2
皮膚反応スコア(背部：非照射側)	有色部位	白色部位	有色部位	白色部位	有色部位	白色部位	有色部位	白色部位
照射前	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
照射 0.5 時間後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
照射 24 時間後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
照射 48 時間後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
照射 72 時間後	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
耳介厚の増加(mm)								
照射 0.5 時間後	0.0006		0.0012		0.0000		0.0020	
照射 24 時間後	0.0004		0.0008		0.0002		0.0054*	
照射 48 時間後	0.0014		-0.0012		0.0014		0.5712**	
照射 72 時間後	0.0016		0.0004		0.0008		1.2752**	
眼科的検査(照射 72 時間後)								
角膜混濁	0		0		0		5	
眼瞼浮腫	0		0		0		5	
病理組織学的検査(左眼球/右眼球)								
浮腫(角膜固有質)	0/0		0/0		0/0		4/5	
炎症細胞浸潤(角膜固有質)	0/0		0/0		0/0		3/5	
空胞変性(角膜上皮)	0/0		0/0		0/0		4/5	

* P<0.05、** P<0.01：Student 又は Aspin-Welch の t 検定

2.6.7.19.3 成熟イヌ関節毒性試験

報告書の題名　：A 2-Week Intravenous Dose Articular Toxicity Study of AM-2013 in Adult Dogs　　被験物質　：AM-1977 塩酸塩
動物種/系統　：雄性イヌ/ビーグル　　投与期間　：2 週間　　試験番号　：[redacted]
試験開始月齢　：16 箇月齢　　休薬期間　：なし　　資料番号　：4.2.3.7.2-1
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted]月[redacted] 日　　投与方法、投与速度　：静脈内
特記事項　：なし　　溶媒/投与形態　：$MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液　　GLP 適用　：適
無毒性量　：75 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)	30	75
投与液濃度 (mg/mL)	0	6	15
動物数 (雄)	3	3	3
途中死亡	0	0	0
一般状態			
嘔吐、嘔吐物、流涎	-	+	+
半眼、運動性低下、よろめき歩行	-	-	+
痙攣(強直性/間代性)、振戦、脱糞	-	-	+
体重	-	-	-
摂餌量	-	-	-
血液学的検査			
白血球数 ($10^3/\mu L$)	6.63	6.07	4.67
リンパ球数 ($10^3/\mu L$)	2.15	1.75*	1.59**
好塩基球数 ($10^3/\mu L$)	0.06	0.04	0.01*
網赤血球数 ($10^9/L$)	41.3	28.1	13.5
網赤血球比 (%)	0.5	0.3	0.2*
血液化学的検査	-	-	-

-：特記すべき所見なし　　*：$p<0.05$、**：$p<0.01$(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)

2.6.7.19.3 成熟イヌ関節毒性試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)	0 (対照)	30	75
投与液濃度 (mg/mL)	0	6	15
動物数 (雄)	3	3	3
骨髄検査			
総骨髄細胞数 ($10^4/\mu L$)	192	156	118
総顆粒球系細胞数 ($10^4/\mu L$)	94.4	88.1	68.0
総赤芽球系細胞数 ($10^4/\mu L$)	75.5	52.3	33.3*
好塩基性赤芽球数 ($10^4/\mu L$)	10.7	7.5	5.3*
好塩基性赤芽球比 (%)	5.6	4.8	4.4*
多染性赤芽球数($10^4/\mu L$)	60.0	41.3	25.7*
器官重量(肝臓・腎臓・膵臓・胸腺・脾臓)	-	-	-
剖検所見	-	-	-
病理組織学的検査	-	-	-

-：特記すべき所見なし　　*：$p<0.05$(Dunnett 法又は Dunnett 型順位和検定)

2.6.7.19.4　代謝物の毒性試験

2.6.7.19.4-1　代謝物の毒性試験(重要な試験以外の試験)

被験物質：AM2012-008

動物種/系統 又は 細胞種	投与方法 又は 処理方法 (媒体/投与形態)	投与期間 又は 処理条件	投与量 (mg/kg) 又は 濃度 (μg/mL)	性別・動物数 又は プレート数	特記すべき所見	試験番号	資料番号
SD 系 ラット	皮下 ($MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液)	妊娠 7～17 日	0、10、25 mg/kg	雌性・ 6 匹/群	≥10：痂皮 25：脱毛、筋肉の癒着	KP02H[redacted]0 1	4.2.3.7.3- 4
CHL/IU 細胞	*in vitro* (溶解媒体：1 mol/L 塩酸及び DMSO、希釈媒体：DMSO / 溶液)	短時間処理法： 6 時間処理 連続処理法： 24 時間処理 (ともに代謝活性化系非存在下)	短時間処理法： 120 ~ 180 μg/mL 連続処理法： 32 ~ 60 μg/mL	2 枚/dose	・染色体構造異常：陽性 (短時間処理法 180 μg/mL: 出現頻度 14.0%) ・染色体数的異常：不確か (短時間処理法 144 μg/mL: 出現頻度 6.5%)	R02H[redacted]02	4.2.3.7.3- 5
F344/NSlc-Tg(*gpt* delta)	皮下 ($MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液)	14 日間	0 5 10 20 30	雄性・ 2 匹/群	≥10：暗赤色巣(投与部位) ≥20：痂皮、皮膚と筋肉の癒着	[redacted]	4.2.3.7.3- 7

2.6.7.19.4-2　代謝物の細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書の題名　：Bacterial Reverse Mutation Study of AM2012-008
菌株　：*S.typhimurium* 及び *E.coli*
代謝活性化系　：PB 及び BF で誘導したラット肝 S9
溶媒　：塩酸含有 DMSO
陽性対照　：AF-2、NaN_3、9-AA、2-AA
細胞毒性　：菌の生育阻害あり
遺伝毒性　：なし

独立して実施した試験数　：2
プレート数　：2 枚
分析細胞数/培養　：－
処理：プレインキュベーション法、48 時間培養

被験物質　：AM2012-008
試験番号　：[redacted]
資料番号　：4.2.3.7.3-1
GLP 適用　：適

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	復帰変異コロニー数(Mean)　(予備試験)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	23	126	10	16	28
なし	AM2012-008	0.00122	25	120	11	17	27
		0.00488	18	106	9	18	27
		0.0195	18	61*	1*	12*	28
		0.0781	8*	59*	1*	2*	18
		0.313	0*	0*	0*	0*	11*
		1.25	0*	0*	0*	0*	11*
		5	0*	0*	0*	0*	0*
		50	0*	0*	0*	0*	0*
		500	0*	0*	0*	0*	0*
		5000	0*	0*	0*	0*	0*
	陽性対照 [a]		452	424	396	219	120

*：菌の生育阻害
DMSO：Dimethyl sulfoxide　PB：Phenobarbital　BF：5,6-Benzoflavone
AF-2：2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide　NaN_3：Sodium azide　9-AA：9-Aminoacridine hydrochloride hydrate　2-AA：2-Aminoanthracene
a：AF-2: 0.1 μg/plate(TA98), 0.01 μg/plate(TA100, WP2*uvrA*), NaN_3: 0.5 μg/plate(TA1535), 9-AA: 80 μg/plate(TA1537)

2.6.7.19.4-2　代謝物の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：[redacted](続き)

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	復帰変異コロニー数(Mean)　(予備試験)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	28	120	11	17	33
あり	AM2012-008	0.0000000745	NT	NT	9	18	NT
		0.000000298	NT	NT	11	16	NT
		0.00000119	NT	NT	8	16	NT
		0.00000477	NT	NT	11	21	NT
		0.0000191	NT	NT	7	18	NT
		0.0000763	NT	NT	9	20	NT
		0.000305	NT	NT	8	18	NT
		0.00122	28	140	8	20	30
		0.00488	27	100	13	17	30
		0.0195	27	123	7	17	32
		0.0781	15*	39*	3*	18*	35
		0.313	11*	0*	0*	2*	20*
		1.25	0*	0*	0*	0*	11*
		5	0*	0*	0*	0*	0*
		50	0*	0*	0*	0*	0*
		500	0*	0*	0*	0*	0*
		5000	0*	0*	0*	0*	0*
	陽性対照 [a]		253	813	210	124	949

NT：実施せず　　*：菌の生育阻害

a：2-AA: 0.5 μg/plate(TA98)，1 μg/plate(TA100)，2 μg/plate(TA1535，TA1537)，10 μg/plate(WP2*uvrA*)

2.6.7.19.4-2　代謝物の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：[redacted] (続き)

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	復帰変異コロニー数 (Mean)　(本試験 (1 回目))				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	19	106	7	11	37
	AM2012-008	0.000244	NT	103	10	NT	NT
		0.000488	NT	114	7	11	NT
		0.000977	18	108	8	13	NT
		0.00195	16	100	7	12	NT
		0.00391	19	108	8	12	NT
		0.00781	19	106	9	9	38
		0.0156	18	56*	2*	9*	39
		0.0313	16*	56*	2*	5*	36
		0.0625	10*	NT	NT	3*	38
		0.125	6*	NT	NT	NT	22
		0.25	NT	NT	NT	NT	21*
		0.5	NT	NT	NT	NT	14*
		1	NT	NT	NT	NT	14*
	陽性対照 [a]		462	424	458	208	134
代謝活性化あり	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	24	111	9	19	39
	AM2012-008	0.000977	27	120	10	18	NT
		0.00195	21	102	9	19	NT
		0.00391	25	118	10	22	NT
		0.00781	30	113	12	21	40
		0.0156	27	112	9	21	42
		0.0313	23	94*	6*	18	40
		0.0625	23*	61*	2*	11*	39
		0.125	18*	57*	3*	12*	38
		0.25	NT	NT	NT	NT	26*
		0.5	NT	NT	NT	NT	17*
		1	NT	NT	NT	NT	15*
	陽性対照 [b]		223	790	202	190	907

NT：実施せず　　*：菌の生育阻害　　a：AF-2: 0.1 μg/plate(TA98), 0.01 μg/plate(TA100, WP2*uvrA*), NaN_3: 0.5 μg/plate(TA1535), 9-AA: 80 μg/plate(TA1537)

b：2-AA: 0.5 μg/plate(TA98), 1 μg/plate(TA100), 2 μg/plate(TA1535, TA1537), 10 μg/plate(WP2*uvrA*)

2.6.7.19.4-2　代謝物の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：[redacted] (続き)

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	復帰変異コロニー数 (Mean)　(本試験 (2 回目))				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	17	132	8	10	41
	AM2012-008	0.000244	NT	126	11	NT	NT
		0.000488	NT	132	7	10	NT
		0.000977	19	137	10	10	NT
		0.00195	18	141	9	11	NT
		0.00391	17	128	7	12	NT
		0.00781	17	105	8	11	39
		0.0156	15	86*	3*	7*	38
		0.0313	9*	51*	2*	6*	38
		0.0625	8*	NT	NT	4*	40
		0.125	7*	NT	NT	NT	32
		0.25	NT	NT	NT	NT	30*
		0.5	NT	NT	NT	NT	22*
		1	NT	NT	NT	NT	20*
	陽性対照 [a]		504	433	442	242	155
代謝活性化あり	陰性対照(DMSO)	0 (100 μL/plate)	26	143	9	19	39
	AM2012-008	0.000977	23	141	10	17	NT
		0.00195	26	140	9	19	NT
		0.00391	26	139	11	19	NT
		0.00781	24	144	10	16	40
		0.0156	29	140	8	17	39
		0.0313	23	98*	5*	18	43
		0.0625	15*	42*	4*	15*	41
		0.125	12*	43*	1*	12*	37
		0.25	NT	NT	NT	NT	23*
		0.5	NT	NT	NT	NT	23*
		1	NT	NT	NT	NT	11*
	陽性対照 [b]		248	936	210	167	972

NT：実施せず　　*：菌の生育阻害　　a：AF-2: 0.1 μg/plate(TA98), 0.01 μg/plate(TA100, WP2*uvrA*), NaN_3: 0.5 μg/plate(TA1535), 9-AA: 80 μg/plate(TA1537)

b：2-AA: 0.5 μg/plate(TA98), 1 μg/plate(TA100), 2 μg/plate(TA1535, TA1537), 10 μg/plate(WP2*uvrA*)

2.6.7.19.4-3　代謝物のほ乳類培養細胞を用いるマウスリンフォーマ *Tk* 試験

報告書の題名　：*In vitro* Mammalian Cell Gene Mutation Test of AM2012-008
被験物質　：AM2012-008
系統　：L5178Y 細胞 ($tk^{+/-}$ -3.7.2C)
独立して実施した試験数　：1
試験番号　：[redacted]
代謝活性化系　：PB 及び BF で誘導したラット肝 S9
プレート数　：4 枚
資料番号　：4.2.3.7.3-2
溶媒　：塩酸含有 DMSO
分析細胞数/培養　：－
陽性対照　：MMS、CP
処理：マイクロウェル法
GLP 適用　：適
3 時間(代謝活性化あり/なし)、24 時間(代謝活性化なし)
細胞毒性　：あり(相対増殖率 10%以下の濃度は評価対象としない)
遺伝毒性　：あり

処理時間	被験物質	濃度 (μg/mL)	代謝活性化なし		代謝活性化あり	
			相対増殖率(%)	総変異出現率(× 10^{-6})	相対増殖率(%)	総変異出現率(× 10^{-6})
3 時間	陰性対照(DMSO)	0	100.0	120.5	100.0	121.7
	AM2012-008	5	94.6	128.6†	113.0	127.7†
		7.5	91.4	163.5†	82.8	129.1†
		10	115.4	154.8†	88.9	151.3†
		20	91.4	246.3†	87.3	461.4*†
		30	69.2	448.6*†	55.7	1042.4*†
		40	52.2	762.4*†	27.1	2081.6*†
		50	32.4	1555.3*†	14.3	2762.8*†
		60	22.5	1775.5*†	6.4	3830.4
		80	9.0	2604.4	1.0	4786.4
		100	1.8	3787.5	NT	NT
	陽性対照(MMS)	10	74.1	608.9*	NT	NT
	陽性対照(CP)	3	NT	NT	17.0	1868.9*

PB：Phenobarbital　BF：5,6-Benzoflavone　DMSO：Dimethyl sulfoxide　MMS：Methyl methanesulfonate　CP：Cyclophosphamide monohydrate
NT：実施せず　*：総変異出現率 > 陰性対照群の総変異出現率 + 126 × 10^{-6} (ただし、相対増殖率が 10%以上)
†：$p<0.05$ (用量依存性の検定、Robinson WD ら(1989), Cambridge: Cambridge University Press, pp 102-140)

2.6.7.19.4-3　代謝物のほ乳類培養細胞を用いるマウスリンフォーマ *Tk* 試験

試験番号：[redacted] (続き)

処理時間	被験物質	濃度 (μg/mL)	代謝活性化なし	
			相対増殖率(%)	総変異出現率(× 10^{-6})
24 時間	陰性対照(DMSO)	0	100.0	109.9
	AM2012-008	2	77.5	149.2†
		3	87.1	116.3†
		4	88.0	156.9†
		5	87.4	244.6*†
		7.5	60.1	325.4*†
		10	54.4	420.9*†
		15	14.7	1021.4*†
		20	3.5	1817.5
		30	0.0	3600.6
	陽性対照(MMS)	5	72.3	1155.5*

*：総変異出現率 > 陰性対照群の総変異出現率 + 126 × 10^{-6} (ただし、相対増殖率が 10%以上)

†：$p<0.05$ (用量依存性の検定、Robinson WD ら(1989), Cambridge: Cambridge University Press, pp 102-140)

2.6.7.19.4-4　代謝物の *in vivo* 遺伝子突然変異試験

報告書の題名　：AM2012-008 の *gpt* delta ラットを用いる遺伝子変異試験
動物種/系統　：雄性ラット/ F344/NSlc-Tg (*gpt* delta)
試験開始週齢　：10 週齢
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日 (主試験群)
20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日 (TK サテライト群)
陽性対照　：ENU
特記事項　：なし
毒性/細胞毒性　：20 mg/kg/日群で摂餌量の減少に伴う体重の低値
遺伝毒性　：なし
曝露証明　：TK 実施

投与期間　：28 日間
発現期間　：最終投与後 3 日
投与方法　：皮下 (陽性対照は経口)
溶媒/投与形態　：$MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液
分析細胞数/培養　：タイター値 100 万以上

被験物質　：AM2012-008
試験番号　：[redacted]
資料番号　：4.2.3.7.3-6
GLP 適用　：適

被験物質	投与量 (mg/kg/日)	動物数	突然変異体頻度($\times 10^{-6}$)、平均± S.D.	
			肝臓	骨髄
陰性対照($MgCl_2$ 含有生理食塩液)	0	5	2.15 ± 1.42	2.12 ± 0.76
AM2012-008	5	5	1.94 ± 0.76	2.05 ± 0.88
	10	5	1.50 ± 1.02	2.60 ± 0.46
	20	5	1.88 ± 0.70	2.71 ± 1.45
陽性対照(ENU[a])	10	5	52.22 ± 30.34*	109.66 ± 37.28**

*：$p<0.05$ 、**：$p<0.01$ (Aspin-Welch の t 検定)　　a：ENU：*N*-Ethyl-*N*-nitrosourea

2.6.7.19.4-4　代謝物の *in vivo* 遺伝子突然変異試験

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0(陰性対照)	5	10	20
動物数		3	3	3	3
トキシコキネティクス：					
AM2012-008					
投与 1 日目	C_{max}(μg/mL)	N.C.	0.265	0.638	1.37
	AUC_{0-8}(μg・h/mL)	N.C.	0.419	1.06	3.27
投与 28 日目	C_{max}(μg /mL)	N.C.	0.221	0.681	0.974
	AUC_{0-8}(μg・h/mL)	N.C.	0.332	1.03	1.63

NC：算出せず

2.6.7.19.4-5　代謝物のラット胚・胎児発生に関する試験(皮下)

報告書の題名　：Study for the Effects of AM2012-008 on Embryo-Fetal Development in Rats by Subcutaneous Administration
被験物質　：AM2012-008
動物種/系統　：ラット/SD
投与期間　：妊娠 7～17 日
試験番号　：[redacted]
試験開始週齢　：10～11 週齢
休薬期間　：－
資料番号　：4.2.3.7.3-3
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日
投与方法　：皮下
帝王切開日　：妊娠 20 日
溶媒/投与形態　：$MgCl_2$ 含有生理食塩液/溶液
GLP 適用　：適
特記事項　：なし
無毒性量　：母動物の一般毒性に関する無毒性量：30 mg/kg/日
母動物の生殖機能に関する無毒性量：30 mg/kg/日
胚・胎児発生に関する無毒性量：30 mg/kg/日

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)	10	20	30
交尾動物数		20	20	20	20
妊娠動物数		20	19	20	20
トキシコキネティクス：					
妊娠 7 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	0.496	1.01	1.67
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	0.760	2.16	3.53
妊娠 17 日目	C_{max}(μg/mL)	NC	0.579	1.40	1.85
	AUC_{0-24}(μg·h/mL)	NC	0.953	3.21	4.39
母動物	途中死亡	0	0	0	0
	流産	0	0	0	0

NC：算出せず

2.6.7.19.4-5　代謝物のラット胚・胎児発生に関する試験(皮下)

試験番号：[redacted](続き)

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)	10	20	30
交尾動物数		20	20	20	20
妊娠動物数		20	19	20	20
帝王切開動物数		20	19	20	20
母動物	一般状態				
	痂皮	-	+	+	+
	体重 (%[a])				
	妊娠 10 日	303 g	0	0	0
	妊娠 17 日	351 g	+3	+2	+2
	妊娠 20 日	405 g	+1	0	0
	体重増加量 (g[b])				
	妊娠 10 日	59	61	61	60
	妊娠 17 日	108	119	114	115
	妊娠 20 日	161	170	164	160
	摂餌量 (%[a])				
	妊娠 10 日	26.3 g	-5	-8*	-13**
	妊娠 17 日	28.3 g	+2	-2	-3
	妊娠 20 日	27.8 g	-1	-1	-4
	剖検所見	-	-	-	-
	器官重量	-	-	-	-
	平均黄体数	17.0	16.2	16.7	15.3*
	平均着床数	15.8	15.7	15.5	14.6

-：特記すべき所見なし　　*：$p<0.05$ (Dunnett 法)　　**：$p<0.01$ (Dunnett 法)

a：対照群は平均値を示す。投与群は対照群との差を%で示す。統計学的有意差は実測値に基づく。

b：妊娠 0 日を基準として算出し、対照群との統計学的有意差は算出値に基づく。

2.6.7.19.4-5　代謝物のラット胚・胎児発生に関する試験(皮下)

試験番号：[redacted] (続き)

投与量 (mg/kg/日)		0(対照)	10	20	30
妊娠動物数		20	19	20	20
帝王切開動物数		20	19	20	20
全児(胚・胎児)死亡母動物数		0	0	0	0
評価対象母動物数[a]		20	19	20	20
胎児	平均着床前死亡率 (%)	6.7	2.5	6.2	4.1
	平均着床後死亡率 (%)	10.0	4.4	6.2	5.1
	平均生存胎児数	14.2	15.1	14.5	13.9
	性比 (雄/(雄+雌))	0.52	0.46	0.46	0.49
	平均胎児体重 (g)				
	雄	4.30	4.29	4.36	4.30
	雌	4.03	4.05	4.10	4.09
	胎盤重量 (g)				
	雄	0.518	0.510	0.502	0.521
	雌	0.501	0.492	0.482	0.491
	外表異常	-	-	-	-
	内臓異常	-	-	-	-
	骨格異常	-	-	-	-
	骨格変異	-	-	-	-
	骨化数	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし

a：途中死亡、流産及び全児死亡を除く生存胎児を認めた母動物数

2.6.7.19.5　不純物の毒性試験

2.6.7.19.5-1　重要な試験以外の試験(不純物の *in vivo* 遺伝子突然変異予備試験)

被験物質：　　物質A*

動物種/系統	投与方法/(媒体/投与形態)	投与期間	投与量(mg/kg)	性別・動物数	特記すべき所見	試験番号	資料番号
CD2F1 マウス	静脈内 1mL/分 (生理食塩液/溶液)	14 日間	0 50 100 150 200	雄性・3 匹/群	200：1/3 例死亡、生存例(自発運動低下、呼吸不整、呼吸促迫)	[redacted]	4.2.3.7.4-14

*新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.19.5-2　不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書の題名　：　物質A*　の微生物を用いる変異原性試験
菌株　：*S.typhimurium* 及び *E.coli*
代謝活性化系　：PB 及び BF で誘導したラット肝 S9
溶媒　：注射用水
陽性対照　：AF-2、B[a]P、NaN、2-AA、ICR-191
細胞毒性　：なし
遺伝毒性　：あり

独立して実施した試験数　：2
プレート数　：2 枚
分析細胞数/培養　：－
処理：プレインキュベーション法、48 時間培養

被験物質　：物質A*
試験番号　：[redacted]
資料番号　：4.2.3.7.4-1
GLP 適用　：適(安衛法)

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	復帰変異コロニー数(Mean)　(用量設定試験)				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし	陰性対照(注射用水)	0 (100 μL/plate)	26	129	14	17	30
	物質A*	1.2	23	116	13	22	35
		4.9	23	111	14	18	36
		20	16	122	8	20	38
		78	23	113	11	20	31
		313	27	134	17	21	36
		1250	24	134	22	19	31
		5000	25	134	25	23	39
	陽性対照 [a]		539	608	486	1942	175
代謝活性化あり	陰性対照(注射用水)	0 (100 μL/plate)	30	141	12	20	38
	物質A*	1.2	27	131	10	13	39
		4.9	32	150	16	18	31
		20	29	132	12	19	26
		78	26	116	10	15	31
		313	34	162	11	19	29
		1250	30	142	14	23	38
		5000	25	144	20	15	34
	陽性対照 [b]		223	940	338	105	376

PB：Phenobarbital　BF：5,6-Benzoflavone　AF-2：2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide　B[a]P：Benzo[a]pyrene　NaN_3：Sodium azide
2-AA：2-Aminoanthracene　ICR-191：2-Methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine·2HCl
a：AF-2: 0.1 μg/plate(TA98)，0.01 μg/plate(TA100，WP2*uvrA*)，NaN_3: 0.5 μg/plate(TA1535)，ICR-191: 1.0 μg/plate(TA1537)
b：B[a]P: 5.0 μg/plate(TA98，TA100，TA1537)，2-AA: 2.0 μg/plate(TA1535)，10 μg/plate(WP2*uvrA*)

*新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.19.5-2　不純物の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：[redacted] (続き)

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	復帰変異コロニー数 (Mean)					
			本試験					確認試験
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*	TA1535
代謝活性化なし	陰性対照(注射用水)	0 (100 μL/plate)	25	124	18	17	30	15
	物質A*	313	22	131	21	14	37	NT
		625	29	138	18	19	31	NT
		1250	21	135	23	17	30	NT
		2500	24	156	27	16	36	24
		3000	NT	NT	NT	NT	NT	27
		3500	NT	NT	NT	NT	NT	32
		4000	NT	NT	NT	NT	NT	31
		4500	NT	NT	NT	NT	NT	36
		5000	31	151	44	17	32	33
	陽性対照 [a]		532	585	431	2092	153	420
代謝活性化あり	陰性対照(注射用水)	0 (100 μL/plate)	29	139	11	18	28	NT
	物質A*	313	32	145	7	19	33	NT
		625	26	139	14	18	29	NT
		1250	32	140	14	14	32	NT
		2500	22	165	16	20	23	NT
		5000	30	153	21	23	31	NT
	陽性対照 [b]		238	959	317	84	397	NT

NT：実施せず

AF-2：2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide　　B[a]P：Benzo[a]pyrene　　NaN_3：Sodium azide　　2-AA：2-Aminoanthracene

ICR-191：2-Methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine·2HCl

a：AF-2: 0.1 μg/plate(TA98)，0.01 μg/plate(TA100，WP2*uvrA*)，NaN_3: 0.5 μg/plate(TA1535)，ICR-191: 1.0 μg/plate(TA1537)

b：B[a]P: 5.0 μg/plate(TA98，TA100，TA1537)，2-AA: 2.0 μg/plate(TA1535)，10 μg/plate(WP2*uvrA*)，

*新薬承認情報提供時に置き換えた。

2.6.7.19.5-3　不純物の *in vivo* 遺伝子突然変異試験

報告書の題名　：Gene Mutation Assay of　物質A+　) in Muta™ Mouse
動物種/系統　：雄性マウス/Muta™
試験開始週齢　：9 週齢
初回投与年月日　：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日
陽性対照　：ENU
特記事項　：なし
毒性/細胞毒性　：なし
遺伝毒性　：なし

投与期間　：4 週間(陽性対照は 2 日間)
発現期間　：最終投与後 3 日
(陽性対照は最終投与後 10 日)
投与方法　：静脈内 (陽性対照は腹腔内)
溶媒/投与形態　：生理食塩液/溶液
分析細胞数/培養　：総プラーク数 30 万以上

被験物質　：物質A+
試験番号　：[redacted]
資料番号　：4.2.3.7.4-2
GLP 適用　：適

被験物質	投与量[a] (mg/kg/日)	動物数 (雄)	突然変異体頻度($\times 10^{-6}$)、平均± S.D.	
			肝臓	骨髄
生理食塩液	0	5	50.4 ± 6.8	55.9 ± 24.7
物質A*	16.7	5	54.8 ± 7.7	44.7 ± 12.1
	50	5	50.3 ± 11.6	48.2 ± 10.1
	150	5	51.2 ± 12.6	47.3 ± 8.2
ENU[b]	100	5	124.3 ± 24.2*	616.8 ± 122.8*

*：$p<0.05$ (Aspin-Welch の t 検定)　a：投与量はフリー体として表記　b：ENU：*N*-Ethyl-*N*-nitrosourea

+新薬承認情報提供時に置き換えた。