チラーヂン S 静注液 200μg

医薬品製造販売承認申請書添付資料

2.4 非臨床試験の概括評価

あすか製薬株式会社

目次

略語一覧表 3
2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.2 薬理試験 5
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 5
2.4.2.2 安全性薬理試験 6
2.4.2.3 薬理総括 6
2.4.3 薬物動態試験 7
2.4.3.1 吸収 7
2.4.3.2 分布 7
2.4.3.3 代謝及び排泄 7
2.4.3.4 薬物動態学的薬物相互作用 7
2.4.3.5 薬物動態総括 7
2.4.4 毒性試験 8
2.4.4.1 単回投与毒性試験 8
2.4.4.2 反復投与毒性試験 8
2.4.4.3 遺伝毒性試験 8
2.4.4.4 がん原性試験 9
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 9
2.4.4.6 その他の試験 9
2.4.4.7 毒性総括 10
2.4.5 総括及び結論 11
2.4.6 参考文献一覧 12

略語一覧表

略語	省略しない形	
	日本語	英語
ALT	アラニンアミノ基転移酵素	Alanine aminotransferase
APD	活動電位持続時間	Action potential duration dispersion
AST	アスパラギン酸アミノ基転移酵素	Aspartate aminotransferase
C_{max}	最高血漿中濃度	Maximum plasma concentration
CyA	シクロスポリン A	Cyclosporin A
FSH	卵胞刺激ホルモン	Follicle-stimulating hormone
LD_{50}	50%致死量	Lethal dose, 50%
LH	黄体形成ホルモン	Luteinizing hormone
mdr	多剤耐性	multi drug resistance
QSAR	構造活性相関	Quantitative structure-activity relationship
SCE	姉妹染色分体交換	Sister chromatid exchange
SHBG	性ホルモン結合グロブリン	Sex hormone-binding globulin
SOD	スーパーオキシドジスムターゼ	Superoxide dismutase
$t_{1/2}$	消失半減期	Elimination half-life
T_3	トリヨードチロニン	Triiodothyronine
T_4	チロキシン	Thyroxine
TSH	甲状腺刺激ホルモン	Thyroid stimulating hormone

2.4　非臨床試験の概括評価

2.4.1　非臨床試験計画概略

（1）　本剤について

本剤は、あすか製薬株式会社（以下、あすか製薬）が仏国の Laboratoires SERB（以下、SERB 社）から導入した、1 アンプル中にレボチロキシンナトリウムを 200 μg 含有する注射液である。

あすか製薬では、「未承認薬・適応外薬の開発の要請について」（医政研発 0620 第 1 号 薬生審査発 0620 第 1 号 平成 28 年 6 月 20 日）により、厚生労働省から「開発を要請する医薬品：レボチロキシンナトリウム、要望効能・効果：粘液水腫性昏睡、重症甲状腺機能低下症」の開発要請を受け、本剤の開発に着手した。

レボチロキシンは生体内で分泌される甲状腺ホルモン（チロキシン：T_4）と同一であり、本剤は仏国では粘液水腫性昏睡及び嚥下障害のある甲状腺機能低下症等の効能・効果を取得し、30 年以上にわたって販売されている。また、経口製剤（チラーヂン S 錠）については、あすか製薬が国内において約 50 年にわたる販売実績を有し、粘液水腫、クレチン病、甲状腺機能低下症（原発性及び下垂体性）、甲状腺腫の効能・効果を取得している。

（2）　承認申請資料について

本剤は、既承認の経口剤と同一の有効成分を含有する注射剤であるため、申請区分は（3）新投与経路医薬品［「医薬品の承認申請について」（平成 26 年 11 月 21 日付薬食発 1121 第 2 号）］に該当し、申請資料として、薬理試験では効力を裏付ける試験、薬物動態試験では吸収、分布、代謝及び排泄、毒性試験では単回投与毒性、反復投与毒性及び生殖発生毒性が必要とされている。しかし、以下の 3 つの理由により、本申請においては新たな非臨床試験を実施せず、既承認の経口剤の情報、海外の承認申請に用いられた資料及び公表文献等を参考資料として提出することとした。

1)　甲状腺ホルモンの薬理作用、有効性及び安全性に関しては既に長年にわたり多くの知見が得られている。

2)　文献情報に基づきレボチロキシンナトリウム静脈内投与時と経口投与時の血清中濃度を比較した（5.3.3.1-2）。[redacted]すなわち、[redacted]においても、既承認の経口製剤チラーヂン S 錠投与時（用法・用量：レボチロキシンナトリウムとして通常、成人 25～400 μg を 1 日 1 回経口投与）と[redacted]と考えられた。加えて、[redacted]ことか

ら、[redacted]と考えられた。

3) 今回、[redacted]臨床薬理試験を実施した結果、[redacted]であり、[redacted]と考えられた[redacted]

一方、製剤中に含まれる分解生成物（不純物）について評価したところ、本製剤の安定性試験において、　*類縁物質A　が経時的に増加することが判明した。その含量は、加速試験 6 箇月で構造確認の閾値である 1%を超えていないが、本不純物の安全性を確認することとし、本不純物及び本剤のラット 2 週間反復静脈内投与毒性試験及び *in silico* QSAR（構造活性相関）手法による遺伝毒性評価を追加実施した。

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.4.2　薬理試験

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

（1）　作用機序

甲状腺ホルモンである T_4 及び T_3 は、甲状腺において合成及び分泌される。T_4 は甲状腺の他、肝臓や腎臓などの末梢組織で T_3 に代謝された後、核内に存在する甲状腺ホルモン受容体に結合する。T_3 と結合した甲状腺ホルモン受容体は標的遺伝子の応答配列に結合することで、標的遺伝子の転写及びタンパク質の発現を調節し、多様な生理作用をもたらす[1)]。

（2）　エネルギー代謝に対する作用

甲状腺機能の低下したラットでは酸素消費は減少し、T_4 は酸素消費を亢進させた[2)]。T_4 は甲状腺摘出ラットにおいて、肝臓、腎臓などの組織で低下した酸素消費を有意に増加させ[3)]、低下した心拍数及び体温を有意に上昇させた[4)]。また、T_4 により低温環境下におけるラットの生存時間は延長した[5)]。

（3）　タンパク質代謝に対する作用

T_4 はラット肝細胞ミクロゾームへのアミノ酸の取込みを有意に促進し[6)]、心臓や腎組織においてもアミノ酸の取込みを促進した[7)]。

（4）　脂質代謝に対する作用

甲状腺摘除によりラット及びイヌの血清中コレステロール値は有意に上昇したが、T_4 により低下した[8,9)]。

（5） 水・電解質に対する作用

T_4 は甲状腺機能の低下した新生児ラットの脳内において、有意に上昇した水分量及び Na 濃度、有意に低下した K 濃度をそれぞれ正常化した [10]。

（6） 成長に対する作用

T_4 は幼若ラットの脛骨近位骨端の長さ及び面積を増加させ、骨の成長を促進した [11]。

（7） 中枢神経に対する作用

T_4 は新生児ラットの脳内におけるリン脂質 [12]、コレステロール [13]を増加させた。さらに、T_4 は、神経障害誘発ラットの麻痺、脳波障害、多発性漿膜炎及び脊髄の神経変性などを抑制した [14]。

2.4.2.2 安全性薬理試験

マウス、ラット及びウサギに T_4 を種々の投与経路（経口、皮下、腹腔内、静脈内）で反復投与した結果、いずれの動物も心肥大 [15-21]を生じ、機能的には、心拍数 [22,23]、心筋収縮力 [16,18,22]、心筋の酸素消費量 [15,19,22]及び血流量 [19,22]の増加、並びに血圧の上昇 [16,22]が認められた。心筋細胞を用いた電気生理学的な検討の結果、T_4 処置により、活動電位持続時間（APD）の短縮 [24]、並びに活動電位形成に関与するイオンチャネル電流の変化 [23-25]が認められた。

イヌに T_4 を反復経口投与した結果、投与期間中に呼吸数の増加が認められた [69]。

ラットに T_4 を数週間反復皮下又は腹腔内投与した結果、骨吸収の促進作用 [26-28]が認められた。

ラットに本剤を 50 μg/kg の用量で静脈内投与したとき（4.2.3.2）の最高血漿中 T_4 濃度（C_{max}）は、ヒトに本剤を 180 μg 単回静脈内投与したとき（5.3.3.1-1）の約 4.6 倍に到達したが、中枢神経系の異常を示唆する急性症状は認められなかった。

2.4.2.3 薬理総括

T_4 は酸素消費、心拍数、タンパク質代謝及び脂質代謝などの制御を介して、熱産生などのエネルギー代謝を増大させた。また、発育促進や中枢神経系の制御など、生命維持に重要な生理作用を示した。特に、甲状腺摘出などの甲状腺ホルモン減少に伴い低下した酸素消費、心拍数及びタンパク質合成は、T_4 の投与により有意に増加した。これらより、甲状腺ホルモンの低下により惹起される粘液水腫に対して、T_4 の補充によってその症状が緩和されると考えられた。

安全性薬理試験では、各種動物に T_4 を種々の投与経路で反復投与した結果、いずれの動物も心肥大を生じ、心拍数、心筋収縮力、心筋の酸素消費量及び血流量の増加、並びに血圧の上昇が認められた。しかし、本剤の臨床使用においては、甲状腺ホルモンの血中濃度が生理的濃度の範囲内にあると考えられることから、安全性への影響はないと判断された。

2.4.3　薬物動態試験

2.4.3.1　吸収

甲状腺摘除雄性ラットに[$^{13}C_9$]T_4 を静脈内投与したとき、[$^{13}C_9$]T_4 の消失半減期（$t_{1/2}$）は正常雄性ラットの約 2 倍に延長した [29]。甲状腺摘除雄性ラット及び雄性イヌに T_4 を静脈内投与したとき、いずれも T_4 は二相性で減少し、種間で同等の $t_{1/2}$ を示した [30,31]。

2.4.3.2　分布

T_4 は血中においてそのほとんどが thyroxine-binding globulin、transthyretin 及び albumin と結合しており、ヒトにおける遊離型の T_4 は総 T_4 の 0.02%である [32]。雄性ラットに[^{125}I]T_4 を静脈内投与したとき、放射能は血漿中及び肝臓、腎臓に多く分布し、脳への分布は少なかった [33]。妊娠ラットに[^{125}I]T_4 を静脈内投与したところ、胎児への放射能の移行量は胎児の T_4 産生量の 1%に満たなかった [34]。

2.4.3.3　代謝及び排泄

ヒト及び動物における T_4 の主な代謝は脱ヨード化であり、それ以外にグルクロン酸抱合、硫酸抱合、脱アミノ化などを受ける [35,36]。

胆管カニュレーションを施したラット及びイヌに[^{131}I]T_4 を静脈内投与したとき、いずれも投与後 24 時間までに胆汁中及び尿中に投与した放射能のそれぞれ約 20～30%が排泄された [37,38]。授乳期ラットに[^{131}I]T_4 を腹腔内投与したところ、放射能の乳汁への排泄は少なかった [39]。

2.4.3.4　薬物動態学的薬物相互作用

雄性ラットに T_4 を反復経口投与した後、Cyclosporin A（CyA）を経口投与すると、十二指腸における multi drug resistance (mdr)1a 及び mdr1b の発現誘導により、小腸上部からの CyA の吸収が減少することが示唆された [40]。

2.4.3.5　薬物動態総括

甲状腺摘除ラットに[$^{13}C_9$]T_4 を静脈内投与したとき、血中[$^{13}C_9$]T_4 の $t_{1/2}$ は正常ラットの約 2 倍に延長し、甲状腺機能低下により血中からの消失延長が認められた。また、甲状腺摘除ラット及びイヌに T_4 を静脈内投与したとき、いずれも二相性で減少し、種間で同等の $t_{1/2}$ を示した。

T_4 は血中においてそのほとんどがタンパク質と結合しており、遊離型の T_4 はごくわずかである。ラットに[^{125}I]T_4 を静脈内投与したとき、放射能は血漿中及び肝臓、腎臓に多く分布し、脳への分布は少なく、胎児への移行も少なかった。

ヒト及び動物における T_4 の主な代謝は脱ヨード化である。また、胆管カニュレーションを施したラット及びイヌに[^{131}I]T_4 を静脈内投与したとき、投与後 24 時間までに胆汁中及び尿中に約 20～30%が排泄された。授乳期ラットに[^{131}I]T_4 を腹腔内投与したところ、乳汁への放射能の排泄はわずかであった。

ラットにおいて、T_4 は十二指腸の mdr1a 及び 1b の発現を誘導することが示唆された。

2.4.4　毒性試験

2.4.4.1　単回投与毒性試験

マウスに T_4 を単回投与（経口、皮下、腹腔内）したときの 50%致死量（LD_{50}）は、雌雄共に、いずれの投与経路も 2500 mg/kg 超であった。一方、ラットに T_4 を単回投与（経口、皮下、腹腔内）した結果、観察期間において累積死亡率が 50%を超えた用量は、経口投与で雌雄共に 2000 mg/kg 超、皮下投与で雄は 20 mg/kg、雌は 100 mg/kg、腹腔内投与で雄は 50 mg/kg、雌は 100 mg/kg であった（1.13.1-2）。

2.4.4.2　反復投与毒性試験

ラットに本剤を 10 及び 50 μg/kg の用量で 2 週間反復静脈内投与した結果（4.2.3.2）、50 μg/kg 群で摂餌量の増加、網状赤血球数の増加、甲状腺重量の減少、心臓、脾臓及び腎臓重量の増加が認められた。病理組織検査では、甲状腺濾胞上皮細胞の萎縮が認められたが、心臓、脾臓及び腎臓に異常は認められなかった。

ラットに T_4 を種々の投与経路（筋肉内、腹腔内あるいは飲水投与）により 2 週間～8 ヵ月間反復投与した結果、主要な変化として、体重増加の抑制[41,42]、心肥大[41-44]、心拍数の増加[42]、酸素消費量の増加[41]、血清 AST 及び ALT の増加[44]、骨塩量の減少[45]、並びに肝臓のグルタチオン濃度減少、スーパーオキシドジスムターゼ（SOD）活性上昇等の酸化ストレスを示唆する変化[46,47]が認められた。

2.4.4.3　遺伝毒性試験

ヒトリンパ球を用いた姉妹染色分体交換（SCE）試験[48]では、T_4 添加群に SCE 頻度の増加が認められ、ヒト全血を用いた小核試験[49]では、T_4 添加群にリンパ球の小核発現頻度の増加が認められた。

T_4 の変異原性を Derek 及び Sarah を用いた *in silico* QSAR 手法で評価した結果（4.2.3.3.1）、非変異原性物質に分類された。

2.4.4.4　　がん原性試験

T_4 のがん原性について、げっ歯類を用いた長期がん原性試験による検討は行われていないが、2 段階発がんモデルによるプロモーション作用の検討が行われている。

ラットに発がん物質 azoxymethane によるイニシエーション処置と並行して、T_4 を 35 週間皮下から持続的に吸収させた結果[50]、結腸腫瘍の発生率が上昇した。

ラットに発がん物質 *N*-methyl-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidine によるイニシエーション処置を行った後、T_4 を 26 週間皮下から持続的に吸収させた結果[51]、胃癌の発生率が上昇した。

2.4.4.5　　生殖発生毒性試験

交配前の雌ラットに T_4 を反復投与した結果、黄体数及び着床数の増加[52]、出生児数の増加及び乳汁排出への影響[53]が見られた。

雄ラットに T_4 を投与した結果、体重増加の抑制、血清中黄体形成ホルモン（LH）の変動（主に低下）、卵胞刺激ホルモン（FSH）及びテストステロン濃度の低下、精巣及び精嚢重量の減少[54,55]、並びに精巣の脂質含量低下[56]が認められたが、T_4 を 3 ヵ月間反復飲水投与した後に雌ラットと同居させた試験では、交尾率及び受胎率に異常は認められなかった[57]。

妊娠雌ラットに T_4 を反復投与した結果、母動物の血漿中 T_4 濃度が上昇し、胎児及び胎盤重量が増加した[58]。一方、出生児数及び胎児の血漿中 T_4 濃度の上昇は認められなかった。また、妊娠雌ウサギに T_4 を反復投与した結果、胎児の血糖値上昇及び肝グリコーゲン含量の減少が見られた[59]。逆に、妊娠雌ラットの甲状腺を摘除し、甲状腺機能低下症を誘発させた結果、新生児の出生時体重の低下、記憶や学習行動に対する発達阻害が認められたが、母体に妊娠前から離乳時まで T_4 を皮下投与して補充したところ、これらの変化は対照と同程度まで改善された[60]。

新生児ラットに T_4 を反復投与した結果、離乳時体重の減少[61]、体重増加抑制、下垂体の甲状腺刺激ホルモン（TSH）濃度の減少[62]、初回発情及び腟開口の遅延[61,62]、早期開眼[63]及び耳下腺の発育促進[64]、並びに自発運動量の増加[65]が認められた。さらに、成熟後の性機能を検討した結果、妊娠率及び妊娠期間には影響が見られなかったが、出生児数の減少が認められた[61,66]。

2.4.4.6　　その他の試験

本剤の分解生成物（不純物）　　*類縁物質A　　の安全性を評価するため、雌ラットに本剤（T_4：10 及び 50 μg/kg）又は不純物を [redacted]%添加した本剤（T_4：50 μg/kg、　　*類縁物質A　　：[redacted] μg/kg）を 2 週間反復静脈内投与した（4.2.3.2）。その結果、不純物特異的な毒性は認められなかった。

また、*in silico* QSAR 手法で評価した結果（3.2.P.5.5）、　　*類縁物質A　　は非変異原性物質に分類された。したがって、内因性物質として知られている　　*類縁物質A　　[67]は変異原性を示さないと判断された。

*新薬承認情報提供時に置き換え

2.4.4.7　毒性総括

T_4 の単回投与時の急性毒性の感受性は、マウスと比較してラットでより高かった。最も感受性の高い雄ラットへの皮下投与における累積死亡率が 50%を超えた用量は 20 mg/kg であり、この用量のヒト等価量（約 210 mg、ラット、体重：0.3 kg、ヒト体重：60 kg で算出）と臨床用量との間には十分な乖離が認められた。また、血中 T_4 濃度がヒトの基準値を大きく上回る用量の T_4 をラットに静脈内投与したが、投与後の一般症状に異常は認められなかった。

T_4 の反復投与毒性試験では、心拍数及び酸素消費量の増加を伴う心肥大、網状赤血球数の増加、骨塩量の低下及び甲状腺濾胞上皮細胞の萎縮が認められた。いずれも T_4 の生理学的作用、あるいは甲状腺ホルモンのフィードバック作用に起因した変化と考えられた。

心臓は、甲状腺ホルモンに対して感受性が高い臓器であり、T_4 は心筋収縮力及び心拍数を増加させ、血圧を上昇させる。この作用は、甲状腺ホルモンの心筋への直接作用やアドレナリンの効果を増強する間接作用に起因すると考えられている。甲状腺機能亢進症患者では、心房細動の合併リスクが上昇することが知られており、過度の T_4 レベル上昇に伴うリスクとして不整脈が挙げられる。また、肝臓への影響も認められたが、T_4 投与による酸素消費量の増加により誘発された酸化ストレスが原因と考えられた。

T_4 の遺伝毒性については、*in silico* QSAR 評価の結果から非変異原性物質として分類されたが、*in vitro* 遺伝毒性試験での結果から、染色体異常誘発作用を有する可能性が示唆された。長期がん原性試験は実施されていないが、発がん物質によるイニシエーション処置後の T_4 の持続投与により消化管腫瘍が増加したとの報告があり、T_4 がプロモーション作用を有する可能性が示唆されている。しかし、本剤は、T_4 及び T_3 濃度を生理学的濃度の範囲内とするための補充療法として使用することを考えると臨床で問題となる可能性は低いと考えられた。

生殖発生毒性については、主にラットで検討された。T_4 投与により、雄では精巣の脂質含量の低下、雌では、黄体数及び着床数の増加、並びに出生児数の増加が見られたが、交尾率及び受胎率に影響は認められなかった。また、胎児期及び新生児期の T_4 濃度の生理的範囲からの逸脱は、児の発育や成熟後の学習機能に影響を及ぼすことが示された。ヒトでは、甲状腺機能の低下及び亢進症患者では、甲状腺機能正常者と比べて、性ホルモン結合グロブリン（SHBG）、性腺刺激ホルモン及び性ホルモン濃度の変動、並びに妊娠率の低下が見られ、甲状腺機能異常と生殖異常との関連性が示されている [68]。

動物実験における曝露情報は限られているが、本剤を用いたラットの 2 週間反復静脈内投与試験（50 μg/kg）における T_4 の C_{max} は 38.3 μg/dL であり、各検査機関におけるヒトの血清中 T_4 の基準値（Ciba Corning Diagnostic Corp：4.5～12.5 μg/dL、SRL 株式会社：6.10～12.4 μg/dL）を上回っていた。様々な投与経路（経口、皮下、腹腔内、筋肉内）で実施された動物実験における投与量のヒト等価用量は、臨床投与量の数倍～数十倍に相当し、各投与経路でおおむね同様の所見が認められていることから、多くの動物実験では T_4 の十分な曝露で評価されたと考えられた。したがって、本項及び安全性薬理試験の項で示した情報から、T_4 の過量投与時の毒性については明らかであると判断された。また、本剤投与後の T_4 濃度は生理的な範囲内にあると考えられることから（5.3.3.1-2）、臨床使用における安全性の問題はないと判断された。

2.4.5　総括及び結論

レボチロキシンは生体内で分泌される甲状腺ホルモン（チロキシン：T_4）と同一であること、同一成分を含有する経口製剤が国内において約 50 年にわたる販売実績を有すること、また本剤を日本人に静脈内投与したときの血中甲状腺ホルモン濃度が生理的濃度の範囲内にあり、かつ曝露量が既承認の経口製剤を投与したときの曝露量を超えることがなく、国内外の薬物動態に差がないと考えられたことから、新たな非臨床試験の実施は不要であると考えた。

本剤は、文献情報等に基づく国内外における非臨床試験成績等から、有効性と安全性が十分に確認されている薬剤であると考える。

2.4.6　参考文献一覧

1) Yen RM. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. Physiological Reviews. 2001;81(3):1097-142. 【4.3-1】

2) Hsieh ACL. The effects of triiodo-L-thyronine and L-thyroxine on the oxygen consumption and body weights of rats fed on a diet containing 0.05% propylthiouracil. J Endocrinol. 1963;26(1):55-63. 【4.3-2】

3) Barker SB, Shwartz HS. Further studies on metabolism of tissues from thyroxine-injected rats. Proc Soc Exp Biol Med. 1953;83(3):500-2. 【4.3-3】

4) Bray GA, Goodman HM. Studies on the early effects of thyroid hormones. Endocrinol. 1965;76:323-8. 【4.3-4】

5) Bauman TR, Turner CW. The effect of varying temperatures on the thyroid activity and the survival of rats exposed to cold and treated with L-thyroxine or corticosterone. J Endocrinol. 1967;37(4):355-9. 【4.3-5】

6) Sokoloff L, Kaufman S. Thyroxine stimulation of amino acid incorporation into protein. J Biol Chem. 1961;236(3):795-803. 【4.3-6】

7) Michels R, Cason J, Sokoloff L. Thyroxine: effects on amino acid incorporation into protein *in vivo*. Science. 1963;140:1417-8. 【4.3-7】

8) Ellefson RD, Mason HL. Effects of thyroid hormone on lipide metabolism in the rat. Endocrinol. 1962;71:425-30. 【4.3-8】

9) Grande F, Schultz AL. Serum lipid responses in dogs to coconut and sunflower oils, before and after thyroidectomy and with thyroid hormone replacement. J Nutr. 1968;94(1):60-70. 【4.3-9】

10) Geel SE, Valcana T, Timiras PS. Effect of neonatal hypothyroidism and of thyroxine on L-[^{14}C]leucine incorporation in protein *in vivo* and the relationship to ionic levels in the developing brain of the rat. Brain Res. 1967;4(2):143-50. 【4.3-10】

11) Tapp E. The effects of hormones on bone in growing rats. J Bone Joint Surg. 1966;48B(3):526-31. 【4.3-11】

12) Myant NB, Cole LA. Effect of thyroxine on the deposition of phospholipids in the brain *in vivo* and on the synthesis of phospholipids by brain slices. J Neurochemistry. 1966;13(12):1299-307. 【4.3-12】

13) Schapiro S. Metabolic and maturational effects of thyroxine on the infant rat. Endocrinol. 1966;78(3):527-32. 【4.3-13】

14) Vivanco F, Sanchez-Martin JA, Diaz CJ. Neuronal degeneration, electroencephalographic disturbances and polyserositis in rats produced by iminodipropionitrile and prevented by L-thyroxine. Endocrinol. 1961;69:1111-6. 【4.3-14】

15) Cohen J, Aroesty JM, Rosenfeld MG. Determinants of thyroxine-induced cardiac hypertrophy in mice. Circ Res. 1966;18(4):388-97. 【4.3-15】

16) Marriott ML, McNeill JH. Effect of thyroid hormone treatment on responses of the isolated working rat heart. Can J Physiol Pharmacol. 1983;61(11):1382-90. 【4.3-17】

17) Carneiro-Ramos MS, Diniz GP, Nadu AP, Almeida J, Vieira RL, Santos RA, et al. Blockage of angiotensin II type 2 receptor prevents thyroxine-mediated cardiac hypertrophy by blocking Akt activation. Basic Res Cardiol. 2010;105(3):325-35. 【4.3-21】

18) Wang YY, Jiao B, Guo WG, Che HL, Yu ZB. Excessive thyroxine enhances susceptibility to apoptosis and decreases contractility of cardiomyocytes. Mol Cell Endocrinol. 2010;320(1-2):67-75. 【4.3-22】

19) Talafih K, Briden KL, Weiss HR. Thyroxine-induced hypertrophy of the rabbit heart. Effect on regional oxygen extraction, flow, and oxygen consumption. Circ Res. 1983;52(3):272-9. 【4.3-23】

20) Parmacek MS, Magid NM, Lesch M, Decker RS, Samarel AM. Cardiac protein synthesis and degradation during thyroxine-induced left ventricular hypertrophy. Am J Physiol. 1986;251(5 Pt 1):C727-36. 【4.3-24】

21) Coleman PS, Parmacek MS, Lesch M, Samarel AM. Protein synthesis and degradation during regression of thyroxine-induced cardiac hypertrophy. J Mol Cell Cardiol. 1989;21(9):911-25. 【4.3-25】

22) Weiss HR, Tse J. Myocardial metabolic and functional responses to acetylcholine are altered in thyroxine-induced cardiac hypertrophy. Can J Physiol Pharmacol. 1995;73(6):729-35. 【4.3-27】

23) Dai DZ, Wang HL, Zhang GQ, He GX, Chen L. Matrix is the site of indirect effects of propranolol on the ion channelopathies in cardiac remodeling by L-thyroxine. J Card Surg. 2002;17(5):439-46. 【4.3-18】

24) Sunagawa M, Yamakawa M, Shimabukuro M, Higa N, Takasu N, Kosugi T. Electrophysiologic characteristics of atrial myocytes in levo-thyroxine-treated rats. Thyroid. 2005;15(1):3-11. 【4.3-20】

25) Yu Z, Wang T, Xu L, Huang CX. Thyroid hormone increased L-type calcium channel mRNA expression and L-type calcium current of myocytes in rabbits. Biomed Mater Eng. 2012;22(1-3):49-55. 【4.3-26】

26) Hoffman SJ, Vasko-Moser J, Miller WH, Lark MW, Gowen M, Stroup G. Rapid inhibition of thyroxine-induced bone resorption in the rat by an orally active vitronectin receptor antagonist. J Pharmacol Exp Ther. 2002;302(1):205-11. 【4.3-30】

27) Gouveia CH, Jorgetti V, Bianco AC. Effects of thyroid hormone administration and estrogen deficiency on bone mass of female rats. J Bone Miner Res. 1997;12(12):2098-107. 【4.3-31】

28) Ongphiphadhanakul B, Alex S, Braverman LE, Baran DT. Excessive L-thyroxine therapy decreases femoral bone mineral densities in the male rat: effect of hypogonadism and calcitonin. J Bone Miner Res. 1992;7(10):1227-31. 【4.3-32】

29) Nagao H, Imazu T, Hayashi H, Takahashi K, Minato K. Influence of thyroidectomy on thyroxine metabolism and turnover rate in rats. J. Endocrinol. 2011;210:117-23. 【4.3-39】

30) 岩村 敏, 森 宏美, 桑山 典之, 藤方 明. レボチロキシン・ナトリウムの体内動態（第 1 報）：甲状腺摘除ラットにおける血漿中 T4, T3 および TSH 濃度, 蛋白結合性ならびに肝薬物代謝酵素活性. 薬物動態. 1994;9(2):184-200. 【4.3-40】

31) 岩村 敏, 森 宏美, 桑山 典之, 藤方 明. レボチロキシン・ナトリウムの体内動態（第 2 報）：甲状腺摘除イヌにおける血漿中 T4, T3 および TSH 濃度, 尿中排泄ならびに蛋白結合性. 薬物動態. 1994;9(2):201-23. 【4.3-41】

32) Schussler GC. The thyroxine-binding proteins. Thyroid. 2000;10(2):141-9. 【4.3-42】

33) van Doorn J, Roelfsema F, van der Heide D. Concentrations of thyroxine and 3,5,3'-triiodothyronine at 34 different sites in euthyroid rats as determined by an isotopic equilibrium technique. Endocrinology.1985;117(3):1201-8. 【4.3-43】

34) Dussault JH, Coulombe P. Minimal placental transfer of L-thyroxine (T4) in the rat. Pediatr Res. 1980;14(3):228-31. 【4.3-44】

35) Darras VM, Van Herck SL. Iodothyronine deiodinase structure and function: from ascidians to humans. J Endocrinol. 2012;215(2):189-206. 【4.3-45】

36) Wu SY, Green WL, Huang WS, Hays MT, Chopra IJ. Alternate pathways of thyroid hormone metabolism. Thyroid. 2005;15(8):943-58. 【4.3-46】

37) Flock EV, David C, Stobie GH, Owen CA Jr. 3,3',5'-Triiodothyronine and 3,3'-diiodothyronine: Partially deiodinated intermediates in the metabolism of the thyroid hormones. Endocrinology. 1963;73:442-55. 【4.3-47】

38) Flock EV, Bollman JL. The effect of thiouracil on the metabolism of L-thyroxine. Biochem J. 1963;84:621-6. 【4.3-48】

39) Potter GD, Tong W, Chaikoff IL. The metabolism of I131-labeled iodine, thyroxine, and triiodothyronine in the mammary gland of the lactating rat. J Biol Chem. 1959;234(2):350-4. 【4.3-50】

40) Jin M, Shimada T, Shintani M, Yokogawa K, Nomura M, Miyamoto K. Long-term levothyroxine treatment decreases the oral bioavailability of cyclosporin A by inducing P-glycoprotein in small intestine. Drug Metab Pharmacokinet. 2005;20(5):324-30. 【4.3-51】

41) Berg BN. Effect of thyroxine on spontaneous nephrosis in the rat. Proc Soc Exp Biol Med. 1966;121(1):198-203. 【4.3-59】

42) Sandler G, Wilson GM. The Production of cardiac hypertrophy by thyroxine in the rat. Q J Exp Physiol coqn Med Sci. 1959;44:282-9. 【4.3-60】

43) Sanford CF, Griffin EE, Wildenthal K. Synthesis and degradation of myocardial protein during the development and regression of thyroxine-induced cardiac hypertrophy in rats. Circ Res. 1978;43(5):688-94. 【4.3-52】

44) Subudhi U, Das K, Paital B, Bhanja S, Chainy GB. Alleviation of enhanced oxidative stress and oxygen consumption of L-thyroxine induced hyperthyroid rat liver mitochondria by vitamin E and curcumin. Chem Biol Interact. 2008;173(2):105-14. 【4.3-56】

45) Suwanwalaikorn S, Ongphiphadhanakul B, Braverman LE, Baran DT. Differential responses of femoral and vertebral bones to long-term excessive L-thyroxine administration in adult rats. Eur J Endocrinol 1996;134(5):655-9. 【4.3-54】

46) Messarah M, Boulakoud MS, Boumendjel A, Abdennour C, El Feki A. The impact of thyroid activity variations on some oxidizing-stress parameters in rats. C R Biol. 2007;330(2):107-12. 【4.3-57】

47) Messarah M, Boumendjel A, Chouabia A, Klibet F, Abdennour C, Boulakoud MS, et al. Influence of thyroid dysfunction on liver lipid peroxidation and antioxidant status in experimental rats. Exp Toxicol Pathol. 2010;62(3):301-10. 【4.3-58】

48) Djelić N, Spremo-Potparevic B, Bajic V, Djelic D. Sister chromatid exchange and micronuclei in human peripheral blood lymphocytes treated with thyroxine *in vitro*. Mutat Res. 2006;604(1-2):1-7. 【4.3-61】

49) Raut YS, Bhartiya US, Kand P, Hawaldar RW, Asopa, RV, Joseph LJ, et al. Effect of L-Thyroxine on micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes in clinical and experimental conditions. Ind J Clin Biochem. 2016;31:99-103. 【4.3-62】

50) Iishi H, Tatsuta M, Baba M, Okuda S, Taniguchi H. Enhancement by thyroxine of experimental carcinogenesis induced in rat colon by azoxymethane. Int J Cancer. 1992;50(6): 974-6. 【4.3-63】

51) Iishi H, Tatsuta M, Baba M, Yamamoto R, Taniguchi H. Enhancement by thyroxine of gastric carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in Wistar rats. Br J Cancer. 1993;68(3): 515-8. 【4.3-64】

52) Schultze AB, Noonan J. Thyroxine administration and reproduction in rats. J Anim Sci. 1979;30(5):774-6. 【4.3-66】

53) Rosato RR, Gimenez MS, Jahn GA. Effects of chronic thyroid hormone administration on pregnancy, lactogenesis and lactation in the rat. Acta Endocrinol (Copenh). 1992;127(6):547-54. 【4.3-65】

54) Schneider G, Kopach K, Ohanian H, Bonnefond V, Mittler JC, Ertel NH. The hypothalamic-pituitary-gonadal axis during hyperthyroidism in the rat. Endocrinology. 1979;105(3):674-9. 【4.3-67】

55) Asker ME, Hassan WA, El-Kashlan AM. Experimentally induced hyperthyroidism influences oxidant and antioxidant status and impairs male gonadal functions in adult rats. Andrologia. 2015;47(6):644-54. 【4.3-69】

56) Aruldhas MM, Valivullah HM, Srinivasan N, Govindarajulu P. Role of thyroid on testicular lipids in prepubertal, pubertal and adult rats. Biochim Biophys Acta. 1986;881(3):462-9. 【4.3-68】

57) Jiang JY, Umezu M, Sato E. Characteristics of infertility and the improvement of fertility by thyroxine treatment in adult male hypothyroid rdw rats. Biol Reprod. 2000;63(6):1637-41. 【4.3-70】

58) Spencer GSG, Robinson GM. Stimulation of placental, fetal and neonatal growth by thyroxine administration to pregnant rats. J Endocrinol. 1993;139(2):275-9. 【4.3-72】

59) Devaskar UP, Devaskar SU, Sadiq HF, Chechani V. Ontogeny of plasma-free thyroxine and triiodothyronine concentrations during the perinatal period and maternofetal transfer of thyroid hormones in the rabbit. Dev Pharmacol Ther. 1986;9(2):115-23. 【4.3-73】

60) Lu L, Yu X, Teng W, Shan Z. Treatment with levothyroxine in pregnant rats with subclinical hypothyroidism improves cell migration in the developing brain of the progeny. J Endocrinol Invest. 2012;35(5):490-6. 【4.3-83】

61) Bakke JL, Lawrence NL, Robinson S, Bennett J. Endocrine studies in the untreated F1 and F2 progeny of rats treated neonatally with thyroxine. Biol Neonate. 1977;31(1-2):71-83. 【4.3-82】

62) Gellert RJ, Bakke JL, Lawrence NL. Delayed vaginal opening in the rat following pharmacologic doses of T4 administered during the neonatal period. J Lab Clin Med. 1971;77(3):410-6. 【4.3-74】

63) Yilmazer-Hanke DM, Hantsch M, Hanke J, Schulz C, Faber-Zuschratter H, Schwegler H. Neonatal thyroxine treatment: changes in the number of corticotropin-releasing-factor (CRF) and neuropeptide Y (NPY) containing neurons and density of tyrosine hydroxylase positive fibers (TH) in the amygdala correlate with anxiety-related behavior of wistar rats. Neuroscience. 2004;124(2):283-97. 【4.3-75】

64) Ikeda R, Aiyama S, Redman RS. Effects of exogenous thyroid hormone on the postnatal morphogenesis of the rat parotid gland. Anat Rec. 2007;291(1):94–104. 【4.3-76】

65) Schapiro S. Some physiological, biochemical, and behavioral consequences of neonatal hormone administration: cortisol and thyroxine. Gen Comp Endocrinol. 1968;10(2):214-28. 【4.3-77】

66) Best MM, Duncan CH. Accelerated maturation and persistent growth impairment in the rat resulting from thyroxine administration in the neonatal period. J Lab Clin Med. 1969;73(1):135-43. 【4.3-79】

67) EMEA, 1998, Committee for veterinary medicinal products 3,5-Diiodo-L-tyrosine summary report (EMEA/MRL/320/97-FINAL) 【4.3-84】

68) Krassas GE, Poppe K, Glinoer D. Thyroid function and human reproductive health. Endocr Rev. 2010;31(5):702-55. 【4.3-87】

69) Hare JE, Morrow CMK, Caldwell J, Lloyd WE. Safety of orally administered, USP-compliant levothyroxine sodium tablets in dogs. J Vet Pharmacol Ther. 2018;41(2):254-65. 【4.3-88】