ドチヌラド

ユリス錠0.5 mg

ユリス錠1 mg

ユリス錠2 mg

第2部（モジュール2）

CTDの概要（サマリー）

2.6.6 毒性試験の概要文

株式会社富士薬品

目次

2.6.6.1　まとめ 5
2.6.6.2　単回投与毒性試験 9
2.6.6.2.1　ラットの単回経口投与毒性試験 9
2.6.6.2.2　サルの 4 週間経口投与毒性試験（用量設定試験） 10
2.6.6.3　反復投与毒性試験 10
2.6.6.3.1　ラットの 2 週間経口投与毒性試験（用量設定試験） 10
2.6.6.3.2　ラットの 4 週間経口投与毒性試験（用量設定試験） 11
2.6.6.3.3　ラットの 4 週間経口投与毒性試験（用量設定試験，追加） 11
2.6.6.3.4　ラットの 13 週間経口投与毒性試験 11
2.6.6.3.5　ラットの 26 週間経口投与毒性試験 12
2.6.6.3.6　サルの 4 週間経口投与毒性試験（用量設定試験） 13
2.6.6.3.7　サルの 13 週間経口投与毒性試験 14
2.6.6.3.8　サルの 39 週間経口投与毒性試験 15
2.6.6.4　遺伝毒性試験 16
2.6.6.4.1　細菌を用いる復帰突然変異試験 16
2.6.6.4.2　CHL/IU 細胞を用いる染色体異常試験 16
2.6.6.4.3　ラットの小核試験 17
2.6.6.4.4　ラットの不定期 DNA 合成試験 17
2.6.6.5　がん原性試験 18
2.6.6.5.1　マウスの単回及び 4 週間経口投与試験（用量設定試験） 18
2.6.6.5.2　マウスの 13 週間経口投与試験（用量設定試験） 18
2.6.6.5.3　マウスの 104 週間経口投与がん原性試験 19
2.6.6.5.4　ラットの 13 週間経口投与試験（用量設定試験） 20
2.6.6.5.5　ラットの 104 週間経口投与がん原性試験 21
2.6.6.6　生殖発生毒性試験 22
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 22
2.6.6.6.1.1　ラットの経口投与試験 22
2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験 23
2.6.6.6.2.1　ラットの経口投与試験（用量設定試験） 23
2.6.6.6.2.2　ラットの経口投与試験 23
2.6.6.6.2.3　ウサギの経口投与試験（用量設定試験，非妊娠） 24
2.6.6.6.2.4　ウサギの経口投与試験（用量設定試験） 24
2.6.6.6.2.5　ウサギの経口投与試験（用量設定試験，追加） 25
2.6.6.6.2.6　ウサギの経口投与試験 25
2.6.6.6.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 25
2.6.6.6.3.1　ラットの経口投与試験（用量設定試験） 25
2.6.6.6.3.2　ラットの経口投与試験 26
2.6.6.7　局所刺激性試験 27
2.6.6.8　その他の毒性試験 27

2.6.6.8.1　抗原性試験 27
2.6.6.8.1.1　モルモットの抗原性試験 27
2.6.6.8.1.2　マウス，ラットの抗原性試験 27
2.6.6.8.2　免疫毒性試験 28
2.6.6.8.2.1　サル全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討（予備試験） 28
2.6.6.8.2.2　サル全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討（確認試験） 29
2.6.6.8.2.3　サル全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討（確認試験 2） 30
2.6.6.8.2.4　サル全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討（本試験） 30
2.6.6.8.2.5　ヒト全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討（本試験） 31
2.6.6.8.2.6　ラット全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討（予備試験） 31
2.6.6.8.3　毒性発現の機序に関する試験 32
2.6.6.8.3.1　ラットを用いた肝薬物代謝酵素誘導の検討 32
2.6.6.8.3.2　ラットを用いた肝薬物代謝酵素誘導の検討（高用量） 33
2.6.6.8.3.3　ラット肝細胞を用いた肝薬物代謝酵素誘導の検討 34
2.6.6.8.4　依存性試験 35
2.6.6.8.5　代謝物の毒性試験 35
2.6.6.8.6　不純物の毒性試験 35
2.6.6.8.7　その他の試験 35
2.6.6.8.7.1　ラットの光毒性試験 35
2.6.6.8.7.2　ラットの血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬） 35
2.6.6.8.7.3　ウサギの血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬） 36
2.6.6.8.7.4　サルの血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬） 36
2.6.6.8.7.5　ヒト肝細胞を用いた ^{14}C-ドチヌラドの共有結合能の検討 37
2.6.6.8.7.6　ミトコンドリアに対する影響の検討 38
2.6.6.8.7.7　THP-1 細胞を用いた IL-8 産生を指標とした検討 39
2.6.6.9　考察及び結論 42
2.6.6.10　図表 47
2.6.6.11　参考文献 47

略号及び用語の定義一覧

略号	省略していない名称又は定義
ALP	アルカリホスファターゼ
AUC	被験薬投与時からの血漿中濃度－時間曲線下面積
B6C3F1	C57BL/6NCrl♀×C3H/HeNCrl♂の交雑F1（マウス）
CHL/IU細胞	チャイニーズハムスター肺由来細胞株
C_{ave}	平均臨床曝露量（臨床曝露量AUC_{0-24}を24で除して求めた）
C_{max}	最高血漿中濃度
CYP	シトクロームP450
DMSO	ジメチルスルホキシド
F344	Fischer344（ラット）
NZW	New Zealand White（ウサギ）
SD	Sprague-Dawley（ラット）
THP-1細胞	ヒト急性単球性白血病由来細胞株
TK	トキシコキネティクス
T_{max}	最高血漿中濃度到達時間

2.6.6.1　まとめ

ドチヌラドの安全性を評価するため，ラットを用いた単回投与毒性試験，ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験，細菌，ほ乳類培養細胞及びラットを用いた遺伝毒性試験，マウス及びラットを用いたがん原性試験，ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験並びにその他の毒性試験（モルモット，マウス及びラットを用いた抗原性試験，サル，ヒト及びラット全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討，ラット肝細胞及びラットを用いた肝薬物代謝酵素誘導作用の検討，ラットを用いた光毒性試験，ラット，ウサギ及びサルを用いた血漿中薬物濃度の検討，薬物性肝障害に関連する各種検討）を実施した．毒性試験の一覧を表2.6.6.1-1に示す．本資料中の被験物質の用量及び処置濃度はドチヌラド（フリー体）として表記した．全ての重要な試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って実施した．なお，その他の試験のうち，一部の検討試験については申請資料の信頼性の基準（薬機法施行規則第43条）に従って実施した．

本資料では，反復投与毒性試験のうち，最終報告書で投与開始日を投与0日としている試験については，試験間で日数表記をそろえるために投与開始日を投与1日として表記した．

表2.6.6.1-1　毒性試験プログラム

試験の種類，投与期間	投与経路	動物種
単回投与毒性試験	強制経口	ラット，サル[a]
反復投与毒性試験		
2週間（用量設定試験）	強制経口	ラット[b]
4週間（用量設定試験）	強制経口	ラット[b]，サル[c]
13週間	強制経口	ラット，サル[c]
26週間	強制経口	ラット
39週間	強制経口	サル
遺伝毒性試験		
復帰突然変異試験	in vitro	ネズミチフス菌，大腸菌
染色体異常試験	in vitro	CHL/IU細胞
小核試験	強制経口	ラット
不定期DNA合成試験	強制経口	ラット
がん原性試験		
4週間（用量設定試験）	強制経口	マウス[b]
13週間（用量設定試験）	強制経口	マウス，ラット
104週間	強制経口	マウス，ラット
生殖発生毒性試験		
受胎能及び初期胚発生に関する試験	強制経口	ラット
胚・胎児発生に関する試験（用量設定試験）	強制経口	ラット，ウサギ[c]
胚・胎児発生に関する試験	強制経口	ラット，ウサギ
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（用量設定試験）	強制経口	ラット[b]
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	強制経口	ラット

表 2.6.6.1-1　毒性試験プログラム（続き）

試験の種類，投与期間	投与経路	動物種
その他の毒性試験		
抗原性試験（ASA，同種PCA）	強制経口，皮下	モルモット
抗原性試験（異種PCA）	強制経口，腹腔内	マウス，ラット
リンパ球幼若化反応の検討	in vitro	サル全血[bd]，ヒト全血[bd]，ラット全血[b]
肝薬物代謝酵素誘導の検討	強制経口	ラット[bd]
肝薬物代謝酵素誘導の検討	in vitro	ラット肝細胞[bd]
光毒性試験	強制経口	ラット
血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）	強制経口	ラット[bd]，ウサギ[bd]，サル[b]
共有結合能の検討	in vitro	ヒト肝細胞[bd]
ミトコンドリアに対する影響の検討	in vitro	ラット肝ミトコンドリア[bd]，ウシ心ミトコンドリア[bd]
IL-8産生を指標にした検討	in vitro	THP-1細胞[bd]

ASA：全身性アナフィラキシー反応，PCA：受身皮膚アナフィラキシー反応
a：サルの4週間投与毒性試験の初回投与時の成績で評価した．
b：GLP不適．
c：サルの4週間投与毒性試験の試料を用いたTK測定試験及び免疫組織染色の検討試験はGLP不適．サルの13週間投与毒性試験の試料を用いた免疫組織染色の検討試験はGLP不適．ウサギの用量設定試験3試験のうち1試験はGLP不適．
d：申請資料の信頼性の基準に準拠した試験．なお，サル全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討4試験のうち2試験は申請資料の信頼性の基準に準拠して実施した．

単回投与毒性

ラットの単回経口投与毒性試験（0，500，1000及び2000 mg/kg）において，1000及び2000 mg/kg群の雌雄で投与当日又は投与翌日に死亡が認められ，一般状態の変化として運動性の低下，不規則呼吸，攣縮，腹臥位/横臥位，流涎，流涙，あえぎ呼吸/緩徐呼吸，強直性/間代性痙攣などが認められた．ラットにドチヌラドを単回経口投与した際の概略の致死量は雌雄ともに1000 mg/kgと推定された．

サルの単回経口投与毒性試験は実施していないが，サルの4週間経口投与毒性試験（用量設定試験）（0，10，100，300及び1000 mg/kg/日）の投与1日の情報で急性毒性を評価した．死亡は認められず，300及び1000 mg/kg群の雌雄で投与1日に嘔吐が認められた．サルにドチヌラドを単回経口投与した際の概略の致死量は雌雄ともに1000 mg/kg超と推定された．

反復投与毒性

ラットの13週間経口投与毒性試験（0，30，100及び300 mg/kg/日）では，300 mg/kg/日群の雌で体重の低値が認められ，300 mg/kg/日群の雌雄で赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値が認められた．いずれの変化も休薬後に回復性が示された．なお，100及び300 mg/kg/日群の雌雄で肝臓重量の高値，300 mg/kg/日群の雌雄で軽度な肝細胞肥大，300 mg/kg/日群の雄で肝細胞の滑面小胞体の増生が認められたが，肝薬物代謝酵素の誘導作用に関連した適応性変化と考えられた．無毒性量は100 mg/kg/日と推定された．

ラットの26週間経口投与毒性試験（0，12，60及び300 mg/kg/日）では，300 mg/kg/日群の毒性試験群の雄1例及びサテライト群の雄1例が死亡した．300 mg/kg/日群の雌で体重の

低値，体重増加抑制及び摂餌量の低値並びに赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値及び血小板数の低値が認められた．いずれの変化も休薬により回復性が示された．また，大腿骨に骨小柱の増加が認められた．なお，12及び60 mg/kg/日群の雌並びに300 mg/kg/日群の雌雄で肝臓重量の高値，60 mg/kg/日群の雄及び300 mg/kg/日群の雌雄で肝細胞肥大が認められたが，肝薬物代謝酵素の誘導作用に関連した適応性変化と考えられた．無毒性量は60 mg/kg/日と推定された．

サルの13週間経口投与毒性試験（0，10，30及び100 mg/kg/日）では，100 mg/kg/日群の雄1例を全身状態悪化のため投与71日に切迫殺に供した．本例では病理組織学的検査で骨髄細胞の減少が認められ，赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値，白血球数及び血小板数の著しい低値などの変化が認められた．また，本例では投与4週の血液学的検査でヘモグロビン濃度の低値及び大型非染色細胞数の高値も認められた．生存例では，100 mg/kg/日群の雌で投与4週に大型非染色細胞数の高値が認められた．100 mg/kg/日群の雌1例では投与13週に赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値が認められ，この例を含む100 mg/kg/日群の雌2例で胸骨及び大腿骨の骨髄細胞の増加が認められた．いずれの変化も休薬により回復性が示された．免疫組織化学的検査では，骨髄細胞の増加が認められた2例でTリンパ球からなる濾胞形成が認められた．無毒性量は30 mg/kg/日と推定された．

サルの39週間経口投与毒性試験（0，3，12及び50 mg/kg/日）では，50 mg/kg/日群の雌1例を全身状態悪化のため投与84日に切迫殺に供した．病理組織学的検査では，胃粘膜の壊死，出血，水腫及び血栓，腹壁漿膜から周辺臓器の漿膜面の炎症性変化が認められた．本例で認められた胃の病変は背景疾患が明らかではないことから被験物質投与の影響が完全には否定できないものの，サルの13週間経口投与毒性試験（最高用量100 mg/kg/日）及び本試験の50 mg/kg/日群の他の動物で同様の所見が認められていないこと，急性の転帰を示す自然発生性の胃の梗塞と所見が類似していることから，自然発生病変である可能性も考えられた．また，50 mg/kg/日群の雄1例を事故による前腕の骨折のため投与85日に切迫殺に供した．無毒性量は12 mg/kg/日と推定された．

遺伝毒性

遺伝毒性試験では，細菌を用いた復帰突然変異試験（0，8.19～5000 μg/plate）において遺伝子突然変異誘発作用は認められなかった．ほ乳類培養細胞を用いたin vitroの染色体異常試験（0，262～800 μg/mL）において高い処理濃度で染色体構造異常が認められた．しかし，ラットの小核試験（0，250，500及び1000 mg/kg/日）では小核誘発作用は認められず，ラットの不定期DNA合成試験（0，500及び1000 mg/kg）でも肝細胞における不定期DNA合成の誘発作用は認められなかった．

以上の結果から，ドチヌラドが生体内で遺伝毒性を発現する可能性は低いと考えられた．

がん原性

マウス及びラットの104週間経口投与がん原性試験（0，3，10及び30 mg/kg/日）では，被験物質投与に関連したと考えられる腫瘍性病変及び非腫瘍性病変の発生は認められなかった．

以上の結果から，ドチヌラドにがん原性の懸念はないと考えられた．

生殖発生毒性

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（0，30，100及び300 mg/kg/日）では，300 mg/kg/日群の雌雄の親動物で摂餌量の低値，体重増加抑制あるいは体重の低値が認められた．また，300 mg/kg/日群で黄体数，着床数及び生存胚数の低値が認められた．雌雄の親動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量並びに初期胚発生に対する無毒性量はいずれも100 mg/kg/日と推定された．

ラットの胚・胎児発生に関する試験（0，30，100及び300 mg/kg/日）では，300 mg/kg/日群の母動物で摂餌量の低値，体重増加抑制及び体重の低値が認められた．また，300 mg/kg/日群の胎児で骨格変異（短小過剰肋骨，完全過剰肋骨，腰椎過剰）の発現頻度の高値が認められた．母動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量並びに胚・胎児発生に対する無毒性量はいずれも100 mg/kg/日と推定された．

ウサギの胚・胎児発生に関する試験（0，10，30，100及び300 mg/kg/日）では，300 mg/kg/日群の母動物で摂餌量の低値，体重増加抑制，便量の減少及び無便が認められた．また，100及び300 mg/kg/日群の胎児で骨格変異（完全過剰肋骨，腰椎過剰）の発現頻度の高値又は高値傾向が認められた．母動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量は100 mg/kg/日，胚・胎児発生に対する無毒性量は30 mg/kg/日と推定された．

ラットの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（0，30，100及び300 mg/kg/日）では，300 mg/kg/日群の母動物で摂餌量の低値，体重増加抑制，体重の低値及び妊娠期間の延長，離乳前の出生児で出生率，出生後0日の生存率，出生児数，出生後4日生存児数及び離乳時体重の低値又は低値傾向が認められた．離乳後では，300 mg/kg/日群の雌出生児で膣開口の遅れ，100及び300 mg/kg/日群で初回生殖能検査時に雌出生児の外陰部正中皮膚の不完全な癒合が認められた．また，生殖能検査用の雌雄出生児を用いた初回生殖能検査において，100及び300 mg/kg/日群で交尾率の低値，300 mg/kg/日群で受胎率の低値が認められた．生殖能検査用の雄出生児と無処置の雌動物を用いた追加生殖能検査及び無処置の雄動物と行動検査用の雌出生児を用いた追加生殖能検査の結果から，交尾率及び受胎率の低値は雌出生児に起因した変化と考えられた．母動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量は100 mg/kg/日，出生児に対する無毒性量は30 mg/kg/日と推定された．

生殖発生毒性試験における無毒性量の曝露量と臨床曝露量との乖離は55～542倍であることから，生殖発生毒性試験で認められた所見については，臨床使用にあたって懸念はほとんどないと考えられた．

その他の毒性試験

モルモットを能動感作及び受身感作した抗原性試験では全身性アナフィラキシー反応及び同種受身皮膚アナフィラキシー反応は認められなかった．また，2系統のマウスを能動感作後にラットを受身感作した抗原性試験では異種受身皮膚アナフィラキシー反応は認められなかった．したがって，ドチヌラドに抗原性の懸念はないと考えられた．

サルの4週間経口投与毒性試験（用量設定試験）でリンパ球増生が認められたことに関連して，無処置サルの全血を用いてリンパ球幼若化作用を検討した結果，300 μg/mLでリンパ

球幼若化作用が認められた．また，同条件でヒト全血及びラット全血を用いて検討したところ，それぞれの最高濃度300及び1000 μg/mLでリンパ球幼若化作用は認められず，ドチヌラドのリンパ球幼若化作用には種差があることが示唆された．

ラットの13週間及び26週間経口投与毒性試験並びに2週間及び4週間経口投与毒性試験（用量設定試験）で，肝臓重量の増加，肝細胞の肥大あるいは滑面小胞体の増生が認められたことに関連して，ラットの肝薬物代謝酵素誘導に関するin vitro及びin vivoの検討を実施した．ラット肝細胞を用いた検討では100及び300 μmol/L曝露によりCYP2B1のmRNA発現量の増加が認められた．一方，1～30 μmol/L曝露ではこの変化は認められなかった．また，ラットに300 mg/kg/日の用量で14日間経口投与した際には，肝臓重量及びミクロソーム蛋白含量の増加並びに薬物代謝酵素の増加傾向が認められ，CYP2B1のmRNA発現量の増加も認められた．同試験の30 mg/kg/日群ではこれらの変化は認められなかった．ラットに1～10 mg/kgの用量で7日間経口投与した際には肝臓重量の増加及び薬物代謝酵素の誘導は認められなかった．これらのことから，肝臓重量増加はCYP2B1などの肝薬物代謝酵素誘導に伴って発現したと考えられた．したがって，ラットの反復投与毒性試験で認められた肝臓重量の増加，肝細胞の肥大及び滑面小胞体の増生は被験物質投与による適応性変化と考えられ，毒性学的意義はないと考えられた．

光毒性試験では有色ラットの皮膚，耳介及び眼球に光毒性を示唆する変化は認められなかった．したがって，ドチヌラドに光毒性の懸念はないと考えられた．

ドチヌラド原薬の結晶形が[redacted]から[redacted]に変更された（2.6.7.4項参照）ことに伴って，ラット，ウサギ及びサルを用いて，両結晶形の原薬を経口投与した際の血漿中薬物濃度を比較検討した．その結果，[redacted]原薬投与時の血漿中薬物濃度に対する[redacted]原薬投与時の血漿中薬物濃度の比率は，C_{max}で62～103%，$AUC_{0\text{-}24}$で86～115%であり，$AUC_{0\text{-}24}$は大きく変わらないことが示された．

ラット及びサルの反復経口投与毒性試験では肝細胞への傷害性，胆汁鬱滞及びアポトーシスの亢進は認められていない．これらとともに薬物性肝障害の発現機序として挙げられている，共有結合，ミトコンドリア機能の障害及び免疫反応の刺激についても検討した．その結果，最大推奨臨床用量又は臨床曝露量を考慮すると，検討した範囲においては，ドチヌラドによる薬物性肝障害リスクを示唆する所見は認められなかった．

2.6.6.2　単回投与毒性試験

ドチヌラドの単回投与毒性を評価するため，ラットの単回投与毒性試験を実施した．また，非げっ歯類での急性毒性を評価するため，サルの4週間経口投与毒性試験における投与1日の情報を利用した．

2.6.6.2.1　ラットの単回経口投与毒性試験

［添付資料 4.2.3.1-1］

1群雌雄各5例のSDラットに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを500, 1000及び2000 mg/kgの用量で単回経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．一般状態観察，体重測定及び剖検を実施した．また，サテライト動物（本薬投与群は雌雄各4例/群）を用いて血漿中薬物濃度を測定した．

投与当日に2000 mg/kg群の雌雄各5例及び1000 mg/kg群の雌雄各3例が死亡し，投与翌日に 1000 mg/kg 群の雄 1 例が死亡した．死亡例では，一般状態の変化として運動性の低下，不規則呼吸，攣縮，腹臥位/横臥位，流涎，流涙，あえぎ呼吸/緩徐呼吸，強直性/間代性痙攣あるいは被毛の汚れが認められ，剖検で一部の例に腺胃部粘膜の暗赤色巣，肺全葉の散在性暗赤色巣又は気管支の泡沫液貯留が認められた．

生存例では，1000 mg/kg群で投与当日に運動性の低下，不規則呼吸及び攣縮，500 mg/kg群の雌1例で流涙が認められた．投与翌日に1000 mg/kg群で無糞，体重増加抑制傾向又は体重の減少，500 mg/kg群の雄で体重増加抑制傾向が認められた．剖検では異常はみられなかった．

500及び1000 mg/kgでは雄の C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量の増加に伴って増加した．なお，1000 mg/kg群の雌及び2000 mg/kg群の雌雄については投与当日に全例が死亡したため，C_{max} 及び AUC_{0-24} は算出しなかった．

以上の結果から，ドチヌラドをラットに単回経口投与した際の概略の致死量は雌雄ともに1000 mg/kgと推定された．

2.6.6.2.2　サルの4週間経口投与毒性試験（用量設定試験）

［添付資料 4.2.3.2-6］（参考資料），［添付資料 4.2.3.2-7］（参考資料）

1群雌雄各1例のカニクイザルに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを10，100，300及び1000 mg/kg/日の用量で1日1回，4週間経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．投与1日には一般状態観察及び血漿中薬物濃度測定を実施した．

死亡は認められなかった．300及び1000 mg/kg群の雌雄で投与1日に嘔吐が認められた．

投与1日の AUC_{0-24} は用量の増加に伴って増加した．C_{max} は10，100及び300 mg/kgで用量の増加に伴って増加したが，それ以上の用量では明らかな増加はみられなかった．C_{max} 及び AUC_{0-24} に雌雄で明らかな差はみられなかった．

以上の結果から，ドチヌラドをサルに単回経口投与した際の概略の致死量は雌雄ともに1000 mg/kg超と推定された．

2.6.6.3　反復投与毒性試験

ドチヌラドの反復投与毒性を評価するため，ラットの13週間及び26週間経口投与毒性試験並びにサルの13週間及び39週間経口投与毒性試験を実施した．また，用量設定試験として，ラットの2週間及び4週間経口投与毒性試験並びにサルの4週間経口投与毒性試験を実施した．

2.6.6.3.1　ラットの2週間経口投与毒性試験（用量設定試験）

［添付資料 4.2.3.2-1］（参考資料）

1群雄6例のSDラットに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを30，100及び300 mg/kg/日の用量で1日1回，2週間経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．

死亡は認められなかった．300 mg/kg/日群の雄で，肝臓の実重量及び体重比重量の高値が認められた．ラットの 13 週間経口投与毒性試験と同様に，肝臓の変化は本薬投与による適応性変化と考えられた．一般状態，体重，血液学的検査所見，血液生化学的検査所見，尿検査所見，剖検所見及び病理組織学的検査所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

投与 2 週の C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量の増加に伴って増加した．

2.6.6.3.2　ラットの 4 週間経口投与毒性試験（用量設定試験）

［添付資料 4.2.3.2-2］（参考資料）

1 群雌雄各 5 例の SD ラットに 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを 10, 30, 100 及び 300 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，4 週間経口投与した．対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．

死亡は認められなかった．300 mg/kg/日群の雌雄で，肝臓の実重量及び体重比重量の高値並びに軽微な肝細胞肥大が認められた．ラットの 13 週間経口投与毒性試験と同様に，肝臓の変化は本薬投与による適応性変化と考えられた．一般状態，体重，血液学的検査所見，血液生化学的検査所見，尿検査所見及び剖検所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

投与 4 週の C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量の増加に伴って増加し，雌では雄よりもやや高い傾向がみられた．

2.6.6.3.3　ラットの 4 週間経口投与毒性試験（用量設定試験，追加）

［添付資料 4.2.3.2-3］（参考資料）

1 群雌雄各 6 例の SD ラットに 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを 500 及び 1000 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，4 週間経口投与した．対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．

1000 mg/kg/日群の雌 1 例が投与 3 日に死亡した．500 及び 1000 mg/kg/日群の雌で体重の低値，雄で体重の低値傾向が認められた．1000 mg/kg/日群の雌雄でコレステロール及びリン脂質の高値，雌でトリグリセリドの高値が認められた．500 及び 1000 mg/kg/日群の雌雄で肝臓の実重量及び体重比重量の高値並びに軽微又は軽度な肝細胞肥大が認められ，500 及び 1000 mg/kg/日群の雄で肝臓の大型化が認められた．ラットの 13 週間経口投与毒性試験と同様に，肝臓の変化は本薬投与による適応性変化と考えられ，脂質の変化は肝臓の機能亢進に起因した二次的変化で，毒性学的意義は低いと考えられた．一般状態，血液学的検査所見及び尿検査所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

投与 4 週の C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量の増加に伴って増加した．AUC_{0-24} は雌雄で明らかな差はみられなかった．

2.6.6.3.4　ラットの 13 週間経口投与毒性試験

［添付資料 4.2.3.2-4］

1 群雌雄各 10 例の SD ラットに 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを 30, 100 及び 300 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，13 週間経口投与した．対照群には 0.5%メチルセル

ロース水溶液を同様の方法で投与した．0及び300 mg/kg/日群にはそれぞれ雌雄各5例の休薬動物を設定し，投与期間終了後に4週間休薬して毒性の回復性を検討した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査及び電子顕微鏡検査（肝臓）を実施した．また，サテライト動物（対照群は雌雄各4例，本薬投与群は雌雄各12例/群）を用いて血漿中薬物濃度を測定した．

300 mg/kg/日群の雄1例が投与87日に死亡したが，経口投与に関連した誤嚥によるものと考えられた．

300 mg/kg/日群の雌で投与64及び91日に体重の低値が認められた．300 mg/kg/日群の雌では休薬期間中にも体重の低値が認められたが，休薬終了時には有意差はみられず，回復性が示された．

血液学的検査では，300 mg/kg/日群の雌雄で赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値が認められた．休薬終了時には300 mg/kg/日群の雌で赤血球数の低値が認められたのみであり，回復性が示された．血液生化学的検査では，300 mg/kg/日群の雌雄で総コレステロールの高値，雌でリン脂質及びALPの高値が認められた．休薬終了後にはいずれの変化もみられなかった．

300 mg/kg/日群の雌雄で肝臓の実重量の高値及び100及び300 mg/kg/日群の雌雄で肝臓の体重比重量の高値が認められた．病理組織学的検査では，300 mg/kg/日群の雌雄で軽度な肝細胞肥大が認められた．電子顕微鏡検査では300 mg/kg/日群の雄で肝細胞の滑面小胞体の増生が確認された．休薬終了時には300 mg/kg/日群の雌で肝臓の体重比重量が高値であったが，その他に肝重量の高値及び肝臓の病理組織学的変化はみられておらず，回復性が示された．これらの変化は肝薬物代謝酵素の誘導作用を有する化合物の投与でみられることが知られており[1, 2, 3, 4, 5, 6]，本薬においてもラットに300 mg/kg/日の用量で14日間経口投与した際に肝薬物代謝酵素の誘導作用が確認されている（2.6.6.8.3.2項参照）．また，肝臓に病理組織学的な傷害性変化はみられていないことから，肝臓の変化は本薬投与による適応性変化と考えられた．総コレステロール，リン脂質及びALPの変化については肝臓の機能亢進に起因した二次的変化で，毒性学的意義は低いと考えられた．

一般状態，摂餌量，眼科学的検査所見，尿検査所見及び剖検所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

C_{max}及び$AUC_{0\text{-}24}$は用量の増加に伴って増加し，雌では雄よりもやや高い傾向がみられた．投与1日及び4週の血漿中薬物濃度は同等であったが，投与13週では高値を示した．

以上の結果から，本試験における無毒性量は100 mg/kg/日と推定された．

2.6.6.3.5　ラットの26週間経口投与毒性試験

［添付資料4.2.3.2-5］

1群雌雄各12例のSDラットに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを12, 60及び300 mg/kg/日の用量で1日1回，26週間経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．0及び300 mg/kg/日群にはそれぞれ雌雄各6例の休薬動物を設定し，投与期間終了後に4週間休薬して毒性の回復性を検討した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，

器官重量測定及び病理組織学的検査を実施した．また，サテライト動物（対照群は雌雄各4例，本薬投与群は雌雄各12例/群）を用いて血漿中薬物濃度を測定した．

300 mg/kg/日群のサテライト群の雄1例及び毒性試験群の雄1例がそれぞれ投与171日及び休薬23日に死亡した．前者では病理組織学的検査で本薬投与に関連する変化として小葉中心性の肝細胞の肥大がみられた他に死戦期の変化及び自然発生性の変化がみられたが，死亡につながる変化は認められなかった．後者では一般状態，体重，摂餌量及び尿検査において異常はみられず，病理組織学的検査で死後変化などがみられたが，死亡につながる変化は認められなかった．また，生存例では本薬投与に関連する重篤な変化は認められなかった．以上の結果から，これらの2例の死因は不明であったが，いずれの検査項目においても明らかな毒性変化がみられなかったことから，本薬投与に関連しない死亡である可能性が示唆された．しかし，本薬投与との関連性を否定することはできなかった．

300 mg/kg/日群の雌で投与1～14週に体重の低値，投与1及び5週に体重増加抑制並びに投与1週に摂餌量の低値が認められた．休薬期間中にはいずれの変化もみられなかった．

血液学的検査では，300 mg/kg/日群の雌で赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値及び血小板数の低値が認められた．休薬終了時にはいずれの変化もみられなかった．血液生化学的検査では，300 mg/kg/日群の雌雄で総コレステロールの高値，雄でアルブミン濃度，アルブミン比率及びA/G比の高値並びにγ-グロブリン比率の低値，雌でクレアチニンの高値が認められた．休薬終了後にはいずれの変化もみられなかった．

300 mg/kg/日群の雌雄で肝臓の実重量の高値，12及び60 mg/kg/日群の雌及び300 mg/kg/日群の雌雄で肝臓の体重比重量の高値が認められ，60 mg/kg/日群の雄及び300 mg/kg/日群の雌雄で肝細胞肥大が認められた．休薬終了後には300 mg/kg/日群の雌雄で肝臓の体重比重量の高値が認められたが，その他に肝重量の高値及び肝臓の病理組織学的変化はみられておらず，回復性が示された．肝臓の変化はラットの13週間経口投与毒性試験で認められたものと同様であり，本薬投与による適応性変化と考えられた．血液生化学的検査でみられた総コレステロール及びアルブミン・グロブリンの変化については肝臓の機能亢進に起因した二次的変化で，毒性学的意義は低いと考えられた．クレアチニンの高値は軽度であり，腎臓の病理組織学的な変化を伴っていないことから，毒性学的意義のない変化と考えられた．その他に，病理組織学的検査では，300 mg/kg/日群の雌 1 例で大腿骨に骨小柱の軽度な増加が認められ，休薬終了後に300 mg/kg/日群の雌1例で大腿骨に骨小柱の軽微な増加が認められた．

一般状態，眼科学的検査所見，尿検査所見及び剖検所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

C_{max}及びAUC_{0-24}は用量の増加に伴って増加し，雌では雄よりもやや高い傾向がみられた．60及び300 mg/kg/日では投与1日及び26週の血漿中薬物濃度は同等であった．

以上の結果から，本試験における無毒性量は60 mg/kg/日と推定された．

2.6.6.3.6　サルの4週間経口投与毒性試験（用量設定試験）

［添付資料 4.2.3.2-6］（参考資料），［添付資料 4.2.3.2-7］（参考資料），
［添付資料 4.2.3.2-8］（参考資料）

1群雌雄各1例のカニクイザルに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを10，100，300及び1000 mg/kg/日の用量で1日1回，4週間経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．

死亡は認められなかった．300及び1000 mg/kg/日群で嘔吐，1000 mg/kg/日群で体重の減少又は減少傾向，摂餌量の低値が認められた．

300及び1000 mg/kg/日群で赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値並びに単球数及び大型非染色細胞数の高値，1000 mg/kg/日群で網赤血球比率，白血球数及び好中球数の高値が認められた．また，300及び1000 mg/kg/日群でトリグリセリドの高値が認められ，1000 mg/kg/日群で尿中ケトン体が陽性であった．

300及び1000 mg/kg/日群で顎下リンパ節及び脾臓の腫大，肝臓及び脾臓の実重量及び体重比重量の高値が認められた．300及び1000 mg/kg/日群で骨髄，脾臓及び胸腺並びに1000 mg/kg/日群でリンパ節のリンパ球増生が認められ，関連した所見として，300及び1000 mg/kg/日群で胚中心の輪郭不明瞭，1000 mg/kg/日群で肝臓及び肺のリンパ球の集簇巣並びにリンパ節の類上皮細胞様の細胞結節が認められた．また，300及び1000 mg/kg/日群で肝臓のクッパー細胞の肥大，骨髄細胞の密度低下が認められた．骨髄細胞の密度低下は増生したリンパ球が流出した像である可能性が考えられた．その他に，300及び1000 mg/kg/日群でリンパ球の増生と骨髄細胞の密度低下に関連したと考えられる髄外造血（肝臓，脾臓及びリンパ節）及び巨核球の増加（肺及び胸腺）並びに嘔吐などによるストレスに関連すると考えられる胸腺の萎縮及び脾臓の細動脈周囲の細胞密度低下，1000 mg/kg/日群で体重の減少と関連すると考えられる脂肪織の萎縮が認められた．予備的に検討した免疫組織化学染色による細胞鑑別の結果，1000 mg/kg/日群の胸腺，脾臓，リンパ節，骨髄及び肝臓で増生していた細胞で共通した反応としてCD3陽性細胞の増加が観察され，これらの臓器で増生していた細胞は主にTリンパ球と考えられた．

眼科学的検査所見及び心電図検査所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

投与4週の$AUC_{0\text{-}24}$は100及び300 mg/kg/日群の雌で同等であったことを除いて用量の増加に伴って増加した．10及び100 mg/kg/日ではC_{max}は用量の増加に伴って増加したが，それ以上の用量では明らかな増加はみられなかった．C_{max}及び$AUC_{0\text{-}24}$に雌雄で明らかな差はみられなかった．

2.6.6.3.7　サルの13週間経口投与毒性試験

［添付資料4.2.3.2-9］，［添付資料4.2.3.2-10］（参考資料）

1群雌雄各3例のカニクイザルに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを10，30及び100 mg/kg/日の用量で1日1回，13週間経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．0及び100 mg/kg/日群にはそれぞれ雌雄各2例の休薬動物を設定し，投与期間終了後に4週間休薬して毒性の回復性を検討した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，電子顕微鏡検査（肝臓）及び血漿中薬物濃度測定を実施した．別試験として，対照群及び100 mg/kg/日群の雌の大腿骨骨髄試料を用いた免疫組織化学的検査を実施した．

100 mg/kg/日群の雄1例で投与61日以降に嘔吐，口腔粘膜蒼白化，運動性の低下，体重減少，摂餌量減少及び無摂餌を示し，全身状態が悪化したため，投与71日に切迫殺に供した．本例では病理組織学的検査で骨髄細胞の減少（骨髄造血抑制）が認められ，骨髄造血抑制に起因すると考えられる赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値，白血球数及び血小板数の著しい低値，血小板の低値と死戦期の影響によると考えられる諸臓器の出血及び出血関連所見，貧血による肝血流量の低下によると考えられる肝細胞の脂肪変性や壊死，AST及びALTの高値が認められた．また，状態悪化に起因すると考えられる副腎皮質の肥厚やリンパ系臓器の萎縮なども認められた．なお，本例では投与4週の血液学的検査でヘモグロビン濃度の低値及び大型非染色細胞数の高値が認められた．

生存例では，100 mg/kg/日群の雌で投与4週に大型非染色細胞数の高値が認められたが，投与13週にはみられなかった．100 mg/kg/日群の雌1例では投与13週に赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値が認められた．この例を含む100 mg/kg/日群の雌2例で胸骨及び大腿骨の骨髄細胞の増加が認められた．休薬終了後にはいずれの変化もみられなかった．予備的に実施した免疫組織化学的検査では，骨髄細胞の増加が認められた2例でミエロペルオキシダーゼ陽性細胞密度の増加が認められた他に，CD3陽性細胞及びCD20陽性細胞からなる濾胞形成が認められ，これらの臓器で増加していた細胞は主にTリンパ球と考えられた．なお，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査所見，心電図検査所見，尿検査所見，血液生化学的検査所見，剖検所見，器官重量及び電子顕微鏡検査所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

C_{max}及び$AUC_{0\text{-}24}$は用量の増加に伴って増加した．性差又は反復投与による影響はみられなかった．

以上の結果から，本試験における無毒性量は30 mg/kg/日と推定された．

2.6.6.3.8　サルの39週間経口投与毒性試験

［添付資料4.2.3.2-11］

1群雌雄各4例のカニクイザルに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを3，12及び50 mg/kg/日の用量で1日1回，39週間経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．0及び50 mg/kg/日群にはそれぞれ雌雄各2例の休薬動物を設定し，投与期間終了後に4週間休薬して毒性の回復性を検討した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図検査，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，骨髄検査，剖検，器官重量測定，病理組織学的検査，電子顕微鏡検査（肝臓）及び血漿中薬物濃度測定を実施した．

50 mg/kg/日群の雌1例で投与80日以降に体重減少を伴う摂餌量減少，運動性の低下，刺激に対する反応性低下及びうずくまり状態を示し，全身状態が悪化したため，投与84日に切迫殺に供した．病理組織学的検査では，胃粘膜の壊死，出血，水腫及び血栓，腹壁漿膜から周辺臓器の漿膜面に炎症性変化が認められた．同様の所見を有する自然発生性の胃の梗塞が，カニクイザルで169例中5例に認められたと報告されている[7]．これらの動物は本例と同様に急性の転帰を示し，一般状態の悪化が認められてから1～4日で切迫殺されており，外傷，敗血症，腸重積，膵炎，膀胱炎などの背景疾患を有するものの，共通して認められた胃の梗塞が短期間での状態悪化と切迫殺の原因と考えられている．本例で認められた胃の梗

塞は，背景疾患が明らかではないことから被験物質投与の影響が完全には否定できないものの，サルの13週間経口投与毒性試験（最高用量100 mg/kg/日）及び本試験の50 mg/kg/日群の他の動物で同様の所見が認められていないこと，自然発生性の胃の梗塞と所見が類似していることから，自然発生病変である可能性も考えられた．

50 mg/kg/日群の雄1例が投与66日に前腕をケージ格子に挟んだため骨折した．回復の見込みがないと考えられたことから投与85日に切迫殺に供した．血液生化学的検査，剖検及び病理組織学的検査で骨折及び状態悪化に関連した変化が認められたが，本薬投与に関連したと考えられる変化はみられなかった．

生存例では，一般状態，体重，摂餌量，眼科学的検査所見，心電図検査所見，尿検査所見，血液学的検査所見，血液生化学的検査所見，骨髄検査所見，剖検所見，器官重量，病理組織学的検査所見及び電子顕微鏡検査所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

12 mg/kg/日群の雌4例中3例で投与39週の血漿中薬物濃度が投与1日よりも低かった．個体差によるバラつきとは考えにくく，病理組織学的検査で薬物代謝酵素の誘導を示す変化はないことから，この現象の原因は不明であった．この変化を除くと，C_{max}及びAUC_{0-24}は用量の増加に伴って増加した．性差又は反復投与による影響はみられなかった．

以上の結果から，本試験における無毒性量は12 mg/kg/日と推定された．

2.6.6.4　遺伝毒性試験

ドチヌラドの遺伝毒性を評価するため，細菌を用いる復帰突然変異試験，CHL/IU細胞を用いる染色体異常試験，ラットの小核試験及びラットの不定期DNA合成試験を実施した．

2.6.6.4.1　細菌を用いる復帰突然変異試験

［添付資料4.2.3.3.1-1］

ドチヌラドのin vitroにおける遺伝子突然変異誘発性を検討するために，ネズミチフス菌（TA100，TA98，TA1535，TA1537株）及び大腸菌（WP2*uvrA*株）を用いた復帰突然変異試験を実施した．ドチヌラドをDMSOに溶解し，用量設定試験では8.19～5000 μg/プレートの8用量，本試験では78.1～5000 μg/プレートの6～7用量を設定した．それぞれ，代謝活性化系（ラット肝S9）の存在下及び非存在下にプレインキュベーション法により試験を実施した．1用量あたり2枚のプレートを用いた．各試験条件では，陽性対照として各試験菌株に適した陽性対照物質を適切な用量で設定した．

代謝活性化系の存在下及び非存在下にかかわらず，いずれの菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．試験結果の再現性は用量設定試験及び本試験の結果から確認された．

以上の結果から，ドチヌラドはネズミチフス菌及び大腸菌に対して遺伝子突然変異誘発性を示さないと考えられた．

2.6.6.4.2　CHL/IU細胞を用いる染色体異常試験

［添付資料4.2.3.3.1-2］

ドチヌラドの in vitro における染色体異常誘発性を検討するために，CHL/IU 細胞を用いて，代謝活性化系（ラット肝 S9）の存在下及び非存在下に 6 時間の短時間処理並びに代謝活性化系の非存在下に 24 時間の連続処理を実施した．ドチヌラドは DMSO に溶解した．細胞増殖抑制試験の成績を基に本試験の処理濃度を設定し，本試験における細胞増殖率が 50%を下回る濃度を含む 3 濃度，すなわち，代謝活性化系非存在下 6 時間処理では 512，640 及び 800 μg/mL，代謝活性化系存在下 6 時間処理では 328，410 及び 512 μg/mL 並びに代謝活性化系非存在下 24 時間処理では 262，328 及び 410 μg/mL で染色体異常を評価した．1 濃度あたり 2 枚の標本を用いた．各試験条件では，陽性対照としてマイトマイシン C 又はシクロホスファミドを適切な用量で設定した．

代謝活性化系非存在下 6 時間処理では 640 及び 800 μg/mL，代謝活性化系存在下 6 時間処理では 512 μg/mL の濃度で，陽性判断基準（10%以上）を超える染色体構造異常細胞の出現頻度の増加が認められた．代謝活性化系非存在下 24 時間処理では染色体構造異常細胞の増加は認められなかった．いずれの処理においても数的異常の誘発は認められなかった．

以上の結果から，ドチヌラドは CHL/IU 細胞に対して染色体異常を誘発することが示された．

2.6.6.4.3　ラットの小核試験

［添付資料 4.2.3.3.2-1］

ドチヌラドの in vivo における染色体異常誘発性を検討するために，ラットを用いた小核試験を実施した．1 群雄 6 例の SD ラットに，0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを 1 日 1 回，2 日間経口投与した．少数例を用いて同様の投与方法で用量設定試験を実施した結果，2000 mg/kg/日では全例が死亡し，500 及び 1000 mg/kg/日では毒性徴候はみられなかった．このため，本試験の用量は 250，500 及び 1000 mg/kg/日とした．陰性対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与し，陽性対照群にはマイトマイシン C を 2 mg/kg の用量で単回静脈内投与した．最終投与後 24 時間に大腿骨から骨髄細胞を採取し，骨髄塗末標本を作製した．各群 5 例について，観察した全赤血球に対する幼若赤血球の割合及び観察した全幼若赤血球に対する小核を有する幼若赤血球の出現頻度を算出した．

本薬投与群では小核を有する幼若赤血球の出現頻度の増加は認められなかった．いずれの群においても幼若赤血球の割合の低下は認められなかった．500 及び 1000 mg/kg/日群の各 1 例が 2 回投与後に死亡した．

以上の結果から，ドチヌラドはラット骨髄に対して小核赤血球誘発性を示さないと考えられた．

2.6.6.4.4　ラットの不定期 DNA 合成試験

［添付資料 4.2.3.3.2-2］

ドチヌラドの DNA 損傷誘発性を検討するために，ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験を実施した．1 群雄 4 又は 5 例の SD ラットに，0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを単回経口投与した．ラットの小核試験の用量設定試験の成績（2.6.6.4.3 項参照）を基に，本試験の用量として 500 及び 1000 mg/kg を設定した．陰性対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を，陽性対照群にはジメチルニトロソアミン（5 mg/kg）又は 2-ア

セチルアミノフルオレン（100 mg/kg）を単回経口投与した．投与後 2 又は 16 時間に採取した肝細胞の初代培養細胞を用いて，トリチウムチミジンで処理した後にオートラジオグラフを作成し，各群 3 例について平均ネット核グレイン数及び DNA 修復細胞の出現頻度を算出した．

本試験では，陰性対照群及び陽性対照群における平均ネット核グレイン数及び DNA 修復細胞の出現頻度が背景データから求めた基準値の範囲を逸脱し，陽性対照群では陽性反応が認められなかった．このため，試験は不成立と判断し，別の製造者のトリチウムチミジンを使用して再試験を実施した．再試験では，陰性対照群における平均ネット核グレイン数及び DNA 修復細胞の出現頻度は背景データから求めた基準値の範囲内であり，陽性対照群では陽性反応が認められたことから，試験は成立したと考えられた．

再試験の結果，本薬投与群では，平均ネット核グレイン数及び DNA 修復細胞の出現頻度の増加は認められなかった．死亡は認められず，一般状態の変化はみられなかった．

以上の結果から，ドチヌラドは DNA 損傷誘発性を示さないと考えられた．

2.6.6.5　がん原性試験

ドチヌラドのがん原性を評価するために，マウス及びラットの 104 週間経口投与がん原性試験を実施した．また，用量設定試験として，マウスの 4 週間及び 13 週間経口投与試験並びにラットの 13 週間経口投与試験を実施した．

2.6.6.5.1　マウスの単回及び 4 週間経口投与試験（用量設定試験）

［添付資料 4.2.3.4.1-1］（参考資料）

まず，1 群雌雄各 3 例の B6C3F1 マウスに 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを 100，300 及び 1000 mg/kg の用量で単回経口投与した．対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．次に，1 群雌雄各 6 例の B6C3F1 マウスに 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを 100，300 及び 1000 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，4 週間経口投与した．対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．

単回投与した際には，死亡は認められず，一般状態，体重及び剖検所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．4 週間反復投与した際には，死亡は認められず，一般状態，体重及び剖検所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．300 及び 1000 mg/kg/日群の雌雄で肝臓の実重量及び体重比重量の高値が認められた．なお，血漿中薬物濃度測定用のサテライト動物のうち 1000 mg/kg/日群の雄 3 例と雌 7 例が単回投与後 1～8 時間に死亡した．

投与 1 日の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}8}$ は用量の増加に伴って増加した．また，雌雄で明らかな差はみられなかった．なお，1000 mg/kg/日群の雌では，死亡が認められたため，用量との関連と性差は不明であった．

2.6.6.5.2　マウスの 13 週間経口投与試験（用量設定試験）

［添付資料 4.2.3.4.1-2］（参考資料）

1群雌雄各10例のB6C3F1マウスに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを30，100及び300 mg/kg/日の用量で1日1回，13週間経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．

30 mg/kg/日群の雌1例が投与86日に死亡したが，自然発生性の腫瘍に関連していると考えられ，本薬投与と関連しない変化と考えられた．

一般状態，体重，摂餌量及び剖検所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

300 mg/kg/日群の雌雄で肝臓の実重量及び体重比重量，雌で脾臓の実重量及び体重比重量の高値が認められ，100 mg/kg/日群の雌雄でも肝臓の実重量及び体重比重量，雌で脾臓の実重量の高値が認められた．しかし，病理組織学的検査では，肝臓及び脾臓重量の高値に対応する明確な変化は確認できなかった．

雌雄ともに投与1日及び13週のC_{max}及び$AUC_{0\text{-}24}$は用量の増加に伴って増加した．試験実施時の推定臨床曝露量$AUC_{0\text{-}t}$（ヒト5 mg単回投与時，5345.09 ng･hr/mL，2.7.6.2項参照）と本試験における投与13週の$AUC_{0\text{-}24}$を比較すると，30 mg/kg/日群で60～74倍，100 mg/kg/日群で223～234倍，300 mg/kg/日群で410～462倍に相当した．

以上の結果から，本薬をマウスに13週間反復経口投与すると100及び300 mg/kg/日群で肝臓及び脾臓の重量の高値が認められたが，明確な病理組織学的変化を伴っていなかった．本試験結果から臨床最大1日用量におけるAUCに比して十分に大きな全身曝露が得られることが示されたため，後述のラットの104週間経口投与がん原性試験の用量設定（2.6.6.5.4項参照）と同様に，マウスの104週間経口投与がん原性試験の用量も薬物動態学的指標を基に設定することとした．

2.6.6.5.3　マウスの104週間経口投与がん原性試験

［添付資料4.2.3.4.1-3］

1群雌雄各50例のB6C3F1マウスに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを3，10及び30 mg/kg/日の用量で1日1回，104週間経口投与した．最高用量は薬物動態学的指標を基に設定した．すなわち，マウスの13週間経口投与試験（用量設定試験）において，30 mg/kg/日群では試験開始時の推定臨床曝露量$AUC_{0\text{-}t}$の60～74倍（投与13週）の$AUC_{0\text{-}24}$を示しており（2.6.6.5.2項参照），30 mg/kg/日は臨床最大1日用量におけるAUCの25倍以上を示す用量であることから最高用量に設定した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．一般状態観察，触診，体重測定，摂餌量測定，血液学的検査，剖検及び病理組織学的検査を実施した．また，サテライト動物（対照群は雌雄各12例，本薬投与群は雌雄各63例/群）を用いて血漿中薬物濃度を測定した．

生存率は雄で66.0～80.0%，雌で64.0～72.0%であり，対照群と本薬投与群の間に差はみられなかった．一般症状，触知可能な腫瘤，体重，摂餌量，血液学的検査所見及び剖検所見に本薬投与と関連すると考えられる変化はみられなかった．

病理組織学的検査において，腫瘍性病変には本薬投与と関連すると考えられる変化は認められなかった．非腫瘍性病変では，死亡及び切迫殺動物において，30 mg/kg/日群の雌で脾臓，リンパ節及び肝臓における腫瘍細胞の浸潤を示した動物数の高値が認められたが，主に悪性リンパ腫が認められた個体に発現していた（表2.6.6.5-1）．なお，悪性リンパ腫は雌の

対照群で 50 例中 12 例（24%），雌の 30 mg/kg/日群で 50 例中 16 例（32%）に認められたが，いずれも試験実施施設の背景データ（16～52%）［B6C3F1 マウス（生産者：日本チャールス・リバー），5 試験，雌 250 例，2004～2013 年］の範囲内であり，統計学的に有意な差は認められなかった．また，腫瘍発生週の早期化は認められなかった．このため，腫瘍細胞の浸潤は本薬投与による影響ではないと考えられた．また，死亡及び切迫殺動物の主な死因では，雌の 30 mg/kg/日群で悪性リンパ腫とされた動物数が高値傾向を示したが，同様に本薬投与による影響ではないと考えられた．したがって，本薬投与に関連したと考えられる腫瘍性病変及び非腫瘍性病変の増加は認められなかった．

表 2.6.6.5-1　脾臓，リンパ節及び肝臓の腫瘍細胞浸潤（死亡及び切迫殺動物）

性	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）	0	3	10	30	0	3	10	30
検査動物数	10	10	12	17	14	15	15	18
腫瘍細胞の浸潤（動物数）								
脾臓	1	0	4	2	3	8	7	13*
	[0]	[0]	[4]	[2]	[3]	[8]	[7]	[12]
リンパ節	1	0	4	3	4	8	7	13*
	[0]	[0]	[4]	[3]	[4]	[8]	[7]	[12]
肝臓	1	0	3	2	3	4	6	11*
	[0]	[0]	[3]	[2]	[3]	[4]	[5]	[10]
死因								
悪性リンパ腫	0	0	4	3	3	9	7(1)	10

*：p≤0.05（Fisher直接確率検定）
[]：悪性リンパ腫の浸潤が認められた動物数．()：人道的エンドポイントに達していると判断された動物．

雌雄ともに投与 1 日，26 週及び 52 週の C_{max} 及び AUC_{0-24} は用量の増加に伴って増加した．承認申請時点の臨床最大 1 日用量 4 mg における AUC_{0-24}（5052.31 ng·hr/mL，2.7.6.4 項参照）と本試験における投与 52 週の AUC_{0-24} を比較すると，3 mg/kg/日群で 6～15 倍，10 mg/kg/日群で 18～41 倍，30 mg/kg/日群で 45～101 倍に相当した．

以上の結果から，ドチヌラドはマウスに対してがん原性を示さないと考えられた．

2.6.6.5.4　ラットの 13 週間経口投与試験（用量設定試験）

［添付資料 4.2.3.4.1-4］（参考資料）

1 群雌雄各 10 例の F344 ラットに 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを 30，100 及び 300 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，13 週間経口投与した．対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．

死亡は認められず，一般状態，体重及び摂餌量に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

300 mg/kg/日群の雌雄及び 100 mg/kg/日群の雄で肝臓，腎臓及び脾臓の実重量及び体重比重量，100 mg/kg/日群の雌で肝臓，腎臓及び脾臓の体重比重量，30 mg/kg/日群の雄で腎臓の実重量及び体重比重量並びに 30 mg/kg/日群の雌で腎臓の体重比重量の高値が認められた．剖検では，300 mg/kg/日群の雌雄で肝臓の腫大が認められた．しかし，病理組織学的検査では，肝臓，腎臓及び脾臓重量の高値に対応する明確な変化は確認できなかった．血液学的検

査では，雌で軽度な貧血（300 mg/kg/日群で赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値）が認められ，雄でごく軽度の貧血傾向と反射性造血亢進（100及び300 mg/kg/日群で平均赤血球容積の低値，300 mg/kg/日群で網赤血球比率の高値）が認められた．

雌雄ともに投与1日及び13週のC_{max}及びAUC_{0-24}は用量の増加に伴って増加した．試験実施時の推定臨床曝露量AUC_{0-t}（ヒト5 mg単回投与時，5345.09 ng･hr/mL，2.7.6.2項参照）と本試験における投与13週のAUC_{0-24}を比較すると，30 mg/kg/日群で96～108倍，100 mg/kg/日群で296～402倍，300 mg/kg/日群で660～717倍に相当した．

以上の結果から，本薬をラットに13週間反復経口投与すると30，100及び300 mg/kg/日群で腎臓重量の高値，100及び300 mg/kg/日群で肝臓及び脾臓重量の高値，300 mg/kg/日群で肝臓の腫大及び軽度な貧血が認められたが，肝臓，脾臓及び腎臓に明確な病理組織学的変化を伴っていなかった．肝細胞を用いた代謝物の検討においてラット，サル及びヒトで生成する代謝物に種差はみられておらず，in vitroにおける血漿蛋白結合率はラット，サル及びヒトで大きな種差はみられていない（2.6.4.4.1項，2.6.4.5.2項参照）．さらに，本試験結果から臨床最大1日用量におけるAUCに比して十分に大きな全身曝露が得られることが示されたため，ラットの104週間経口投与がん原性試験の用量は薬物動態学的指標を基に設定することとした．

2.6.6.5.5　ラットの104週間経口投与がん原性試験

［添付資料4.2.3.4.1-5］

1群雌雄各50例のF344ラットに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを3，10及び30 mg/kg/日の用量で1日1回，104週間経口投与した．最高用量は薬物動態学的指標を基に設定した．すなわち，ラットの13週間経口投与試験（用量設定試験）において，30 mg/kg/日群では試験開始時の推定臨床曝露量AUC_{0-t}の96～108倍（投与13週）のAUC_{0-24}を示しており（2.6.6.5.4項参照），30 mg/kg/日は臨床最大1日用量におけるAUCの25倍以上を示す用量であることから最高用量に設定した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．一般状態観察，触診，体重測定，摂餌量測定，血液学的検査，剖検及び病理組織学的検査を実施した．また，サテライト動物（対照群は雌雄各12例，本薬投与群は雌雄各21例/群）を用いて血漿中薬物濃度を測定した．

雄では生存率に本薬投与に関連したと考えられる変化はみられなかった．雌では10 mg/kg/日群の生存率が低値を示した．しかし，10 mg/kg/日群の生存率（74%）は試験実施施設の背景データ（72～84%）［F344ラット（生産者：日本チャールス・リバー），4試験，雌200例，2011～2015年］の範囲内であり，対照群の生存率（90%）が偶発的に高かったと考えられた（表2.6.6.5-2）．したがって，生存率に本薬投与と関連すると考えられる変化は認められなかった．

表2.6.6.5-2　生存動物数及び生存率

性	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）	0	3	10	30	0	3	10	30
開始時動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
最終剖検動物数	40	38	41	40	45	40	37	39
生存率（%）	80.0	76.0	82.0	80.0	90.0	80.0	74.0*	78.0

*：p≤0.05（Log-rank検定）

一般症状，触知可能な腫瘤，体重，摂餌量，血液学的検査所見及び剖検所見に本薬投与と関連すると考えられる変化はみられなかった．

病理組織学的検査（腫瘍性病変）において，30 mg/kg/日群の雌で脾臓のLGL性リンパ腫の発現頻度（22%）の高値が認められた（表2.6.6.5-3）．しかし，試験実施施設の背景データ（10～26%）の範囲内であり，対照群における発生頻度（4%）が偶発的に低かったと考えられた．また，同群の造血器において前腫瘍性病変を示すリンパ球系細胞の増加も認められなかったことから，本薬投与による影響とは判断しなかった．なお，LGLリンパ腫はF344ラットに高頻度に発生することが知られており[8, 9, 10]ヒトへの外挿性はない又は低いと報告されている[10, 11]．病理組織学的検査（非腫瘍性病変）において，30 mg/kg/日群の雌で肝臓における腫瘍細胞の浸潤を示した動物数の高値が認められたが，LGL性リンパ腫が認められた個体に発現していることから，前述のLGL性リンパ腫に関連した変化と考えられた．したがって，本薬投与に関連したと考えられる腫瘍性病変及び非腫瘍性病変の増加は認められなかった．

表2.6.6.5-3　脾臓のLGL性リンパ腫及び肝臓の腫瘍細胞浸潤

性	雄				雌			
投与量（mg/kg/日）	0	3	10	30	0	3	10	30
検査動物数	50	12	9	50	50	10	13	50
脾臓　LGL性リンパ腫	5	1	2	6	2	3	4	11*
肝臓　腫瘍細胞の浸潤	5	2	2	6	3	3	5	11*

*：p≤0.05（Fisher直接確率検定）
病理組織学的検査は，対照群及び30 mg/kg/日群では全例，3及び10 mg/kg/日群では死亡及び切迫殺動物について実施した．

雌雄ともに投与1日，26週及び52週のC_{max}及びAUC_{0-24}は用量の増加に伴って増加した．承認申請時点の臨床最大1日用量4 mgにおけるAUC_{0-24}（5052.31 ng･hr/mL，2.7.6.4項参照）と本試験における投与52週のAUC_{0-24}を比較すると，3 mg/kg/日群で11～13倍，10 mg/kg/日群で33～45倍，30 mg/kg/日群で99～143倍に相当した．

以上の結果から，ドチヌラドはラットに対してがん原性を示さないと考えられた．

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

ドチヌラドの生殖発生毒性を評価するため，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，ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験，ラットの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を実施した．また，ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験とラットの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の用量設定試験を実施した．

2.6.6.6.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1　ラットの経口投与試験

［添付資料4.2.3.5.1-1］

1群雌雄各20例のSDラットに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを30, 100及び300 mg/kg/日の用量で，雄では交配前4週間及び同群の雌との交配期間を含めて剖検前日まで，雌では交配前2週間及び同群の雄との交配期間を経て妊娠7日まで，1日1回経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．一般状態観察，体重測定，摂餌量測定及び性周期検査を実施し，雌は妊娠15日に帝王切開して剖検を実施するとともに，黄体数，着床数，生存胚数及び死亡胚数を記録した．雄は投与61又は62日に剖検して，精子検査を実施した．

雌雄ともに死亡は認められなかった．300 mg/kg/日群の雄では，投与4日まで摂餌量の低値及び体重増加抑制が認められた．300 mg/kg/日群の雌では，投与8日まで摂餌量の低値，投与11日まで体重増加抑制が認められた．体重は投与11日以降，妊娠15日まで低値で推移した．一般状態，性周期，交尾率，受胎率，交尾成立までの日数，剖検所見及び精子検査所見に，本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

妊娠15日剖検では，300 mg/kg/日群の黄体数，着床数及び生存胚数が低値を示した．同群の着床率，着床前死亡率，胚生存率，着床後死亡胚数及び着床後死亡率については，対照群との間に差はみられなかった．したがって，着床数及び生存胚数の低値は黄体数及び排卵数の低値に起因した変化と考えられた．

以上の結果から，雌雄の親動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量並びに初期胚発生に対する無毒性量はいずれも100 mg/kg/日と推定された．

2.6.6.6.2　胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1　ラットの経口投与試験（用量設定試験）

［添付資料4.2.3.5.2-1］（参考資料）

1群7又は8例の妊娠SDラットに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを100，300及び500 mg/kg/日の用量で，妊娠7日から17日まで，1日1回経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．妊娠20日に母動物を帝王切開した．

母動物では，300及び500 mg/kg/日群で排便少量，摂餌量の低値及び体重増加抑制，500 mg/kg/日群で体重の低値が認められ，妊娠9及び10日に2例が死亡した．1例では排便少量，運動性の低下，よろめき歩行及び横臥位が認められ，2例ともに脾臓の小型化が認められた．黄体数，着床数及び着床前死亡率に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

胎児では，500 mg/kg/日群で生存胎児の体重の低値，骨格変異（胸椎体二分骨化，完全過剰肋骨，短小過剰肋骨）の発現頻度の高値及び骨化数の低値が認められた．骨格異常はみられなかった．また，300 mg/kg/日群で骨格変異（完全過剰肋骨，短小過剰肋骨）の発現頻度に高値傾向が認められた．生存胎児数，着床後死亡率，性比，胎盤重量並びに外表及び内臓所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

2.6.6.6.2.2　ラットの経口投与試験

［添付資料4.2.3.5.2-2］

1群19又は20例の妊娠SDラットに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを30，100及び300 mg/kg/日の用量で，妊娠7日から17日まで，1日1回経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．母動物の一般状態観察，体重測定及び摂餌量測定を実施した．妊娠20日に母動物を帝王切開して剖検を実施するとともに，子宮内検査を実施し，生存胎児の外表，内臓及び骨格を観察した．

母動物では，死亡は認められなかった．300 mg/kg/日群で投与期間中に体重増加抑制，体重及び摂餌量の低値が認められた．一般状態，剖検所見，黄体数，着床数及び着床率に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

胎児では，300 mg/kg/日群で骨格変異（短小過剰肋骨，完全過剰肋骨，腰椎過剰）の発現頻度の高値が認められた．しかし，対照群及び本薬投与群で骨格異常はみられておらず，骨化数についても本薬投与群と対照群との間に差はみられなかった．生存胎児数，胎児生存率，死亡胎児数，着床後死亡率，胎児体重，胎盤重量，性比並びに外表，胎盤及び内臓所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

以上の結果から，母動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量並びに胚・胎児発生に対する無毒性量はいずれも100 mg/kg/日と推定された．

2.6.6.6.2.3　ウサギの経口投与試験（用量設定試験，非妊娠）

［添付資料4.2.3.5.2-3］（参考資料）

1群3例の非妊娠雌NZWウサギに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを，まず500 mg/kg/日の用量で，次いで100，300及び1000 mg/kg/日の用量で，1日1回13日間経口投与した．

1000 mg/kg/日群で投与期間を通じて摂餌量の顕著な低値又は廃絶と，それに伴う便量の減少又は無便及び体重の減少が認められ，1例が最終投与翌日に死亡した．剖検において，死亡例では胃の暗赤色巣散在と腎臓の白色巣散在が認められ，生存例では2例で脾臓の大型化，このうち1例で胃の暗赤色巣散在，肝臓の淡褐色巣散在及び胆嚢の陥凹が認められた．

100，300及び500 mg/kg/日群では投与初期に体重の減少傾向が認められたが，用量に依存した変動ではなく，用量と毒性発現の関係は明確ではなかった．

2.6.6.6.2.4　ウサギの経口投与試験（用量設定試験）

［添付資料4.2.3.5.2-4］（参考資料）

1群6～8例の妊娠NZWウサギに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを100，300及び500 mg/kg/日の用量で，妊娠6日から18日まで，1日1回経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．妊娠29日に母動物を帝王切開した．

母動物では，300及び500 mg/kg/日群で摂餌量の低値とそれに伴う体重増加抑制及び体重の低値，便量及び尿量の減少が認められ，500 mg/kg/日群の2例が運動性の低下，削痩などを呈した後，妊娠25日に死亡した．また，500 mg/kg/日群の2例及び300 mg/kg/日群の1例で摂餌量の低値に伴う栄養不良に起因した流産が認められた．黄体数，着床数及び着床前死亡率に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

胎児では，100，300及び500 mg/kg/日群で骨格変異（腰椎過剰，完全過剰肋骨）の発現頻度の高値又は高値傾向が認められた．骨格異常の発現頻度について本薬投与群と対照群との間に差はみられなかった．生存胎児数，着床後死亡率，胎児体重，性比，胎盤重量並びに外表及び内臓所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

2.6.6.6.2.5 ウサギの経口投与試験（用量設定試験，追加）

［添付資料4.2.3.5.2-5］（参考資料）

1群8例の妊娠NZWウサギに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを10及び30 mg/kg/日の用量で，妊娠6日から18日まで，1日1回経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．妊娠29日に母動物を帝王切開した．

母動物及び胎児では，10及び30 mg/kg/日群で本薬投与に関連すると考えられる変化は認められなかった．

2.6.6.6.2.6 ウサギの経口投与試験

［添付資料4.2.3.5.2-6］

1群19又は20例の妊娠NZWウサギに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを10，30，100及び300 mg/kg/日の用量で，妊娠6日から18日まで，1日1回経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．母動物の一般状態観察，体重測定及び摂餌量測定を実施した．妊娠28日に母動物を帝王切開して剖検を実施するとともに，子宮内検査を実施し，生存胎児の外表，内臓及び骨格を観察した．また，試験群の一部の動物（対照群及び本薬投与群の各3例/群）を用いて血漿中薬物濃度を測定した．

母動物では，死亡は認められなかった．300 mg/kg/日群で投与期間中に摂餌量の低値及び体重増加抑制が認められ，3例では妊娠14～20日に便量の減少及び無便が認められた．剖検所見，黄体数，着床数及び着床率に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

胎児では，100及び300 mg/kg/日群で骨格変異（完全過剰肋骨，腰椎過剰）の発現頻度の高値又は高値傾向が認められた．しかし，本薬投与群で本薬投与に関連すると考えられる骨格異常はみられておらず，骨化数についても本薬投与群と対照群との間に差はみられなかった．生存胎児数，胎児生存率，死亡胎児数，着床後死亡率，胎児体重，胎盤重量，性比並びに外表，胎盤及び内臓所見に本薬投与に関連すると考えられる変化はみられなかった．

C_{max}及び$AUC_{0\text{-}24}$は用量の増加に伴って増加し，反復投与による影響はみられなかった．

以上の結果から，母動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量は100 mg/kg/日，胚・胎児発生に対する無毒性量は30 mg/kg/日と推定された．

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.6.6.3.1 ラットの経口投与試験（用量設定試験）

［添付資料4.2.3.5.3-1］（参考資料）

1群7又は8例の妊娠SDラットに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを10，30，100及び300 mg/kg/日の用量で，妊娠7日から分娩後13日まで，1日1回経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．

母動物では，300 mg/kg/日群で妊娠期間中に体重増加抑制が認められた．妊娠期間中の一般状態，妊娠期間，分娩率及び着床痕数並びに哺育期間中の一般状態，体重及び剖検所見に本薬投与に関連したと考えられる変化はみられなかった．

出生児では，出産児数，出生率，性比，生存児数，出生後14日までの生存率，一般状態，体重，外表所見，剖検所見，身体発育及び機能発達に本薬投与に関連したと考えられる変化はみられなかった．

2.6.6.6.3.2　ラットの経口投与試験

[添付資料 4.2.3.5.3-2]

1群20例の妊娠SDラットに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを30，100及び300 mg/kg/日の用量で，妊娠7日から分娩後21日まで，1日1回経口投与した．対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与した．母動物の一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，妊娠日数及び産児数並びに分娩及び授乳期の哺育状況の観察を実施した後，出生児を離乳し，剖検を実施した．出生児の生死観察，体重測定を実施し，身体的発達，感覚機能，反射，行動及び生殖機能の検査並びに剖検を実施した．また，生殖能検査用の雌雄出生児を用いた初回交配後に，無処置の動物を追加して，追加交配を実施した（生殖能検査用の雄出生児×無処置雌動物，無処置雄動物×行動検査用の雌出生児）．

母動物では，死亡は認められなかった．300 mg/kg/日群では妊娠期間中に摂餌量及び体重の低値と体重増加抑制が認められ，妊娠期間が延長した．哺育期間中の摂餌量にも低値が認められた．一般状態，分娩及び哺育状況，剖検所見，出産率並びに着床痕数に本薬投与に関連したと考えられる変化はみられなかった．

離乳前の出生児では，300 mg/kg/日群で出生率，出生後0日の生存率，生存出生児数及び出生後4日の生存児数の低値，離乳時点（出生後22日）の体重の低値傾向が認められた．出生後4日の生存率，離乳率及び性比，出生日の外表所見，一般状態，身体的発達，機能発達及び剖検所見（外表，内臓及び骨格所見含む）に本薬投与に関連したと考えられる変化はみられなかった．なお，離乳時に実施した骨格検査で骨格変異（短小過剰肋骨，完全過剰肋骨，腰椎過剰）の発現頻度には対照群と300 mg/kg/日群との間に差はみられなかった．

離乳後の出生児では，300 mg/kg/日群の雌38例中17例及び100 mg/kg/日群の雌40例中13例に初回交配開始時点で外陰部正中皮膚の不完全な癒合が認められた．また，300 mg/kg/日群の雌では膣開口の遅れが認められた．生殖能検査用の雌雄出生児を交配させた生殖能検査（初回交配）では，100及び300 mg/kg/日群で交尾率の低値並びに300 mg/kg/日群で受胎率の低値が認められた．そこで，生殖能検査用の雄出生児と無処置雌動物を追加交配させた結果，交尾率及び受胎率について100及び300 mg/kg/日群と対照群との間に差はみられなかった．一方，無処置雄動物と行動検査用の雌出生児を交配させた追加交配では，100及び300 mg/kg/日群で交尾率の低値並びに300 mg/kg/日群で受胎率の低値が認められ，初回交配を再現する結果が得られた．以上の結果から，100及び300 mg/kg/日群で認められた交尾率及び受胎率の低値は，雌出生児に起因した変化であり，雄出生児の受胎能には本薬投与に関

連したと考えられる変化は認められないことが示された．また，雌出生児における妊娠 15 日剖検では，300 mg/kg/日群の黄体数，着床数，着床率及び生存胚数の低値又は低値傾向並びに着床前死亡率の高値又は高値傾向が認められた．胚生存率，着床後死亡胚数及び着床後死亡率について対照群との間に差はみられなかった．雄出生児と交配した無処置雌動物では，黄体数，着床数，着床率，着床前死亡率，生存胚数，胚生存率，着床後死亡胚数及び着床後死亡率について対照群との間に差はみられなかった．離乳後の一般状態，体重，雄の生殖器分化，一般行動・学習に関する検査（オープンフィールド試験及び水迷路試験），初回交配開始時点での雄出生児の外表所見，交尾成立までの日数及び雄出生児の剖検所見に本薬投与に関連したと考えられる変化はみられなかった．

以上の結果から，母動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量は 100 mg/kg/日，出生児に対する無毒性量は 30 mg/kg/日と推定された．

2.6.6.7　局所刺激性試験

本剤の臨床適用経路は経口投与であるため，局所刺激性試験は実施していない．

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　抗原性試験

2.6.6.8.1.1　モルモットの抗原性試験

［添付資料 4.2.3.7.1-1］

1 群雄 5 例の Hartley モルモットに 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを 0.1 及び 1 mg/kg の用量で週 5 回，3 週間経口投与して能動感作した．別途設定した 1 群雄 5 例のモルモットに 0.5%メチルセルロース水溶液及びアジュバント（フロイント完全アジュバント又はフロイント不完全アジュバント）を用いて，ドチヌラドを 1 mg/kg の用量で週 1 回，3 週間皮下投与して能動感作した．最終能動感作後 14 日にドチヌラドを 1 mg/kg の用量で静脈内投与して惹起し，アナフィラキシー症状の発現について観察した．（全身性アナフィラキシー反応）．また，最終能動感作後 12 日に全例について採血し，得られた血清を段階希釈後，別途設定した 1 群雄 5 例のモルモットの背部皮膚に 0.1 mL ずつ皮内投与して受身感作した．受身感作後 4 時間にドチヌラドを 1 mg/kg の用量で静脈内投与して惹起し，背部皮膚裏面の漏出色素斑の有無を確認した（同種受身皮膚アナフィラキシー反応）．陰性対照群には経口投与群と同様の方法で 0.5%メチルセルロース水溶液を投与して能動感作し，ドチヌラドを投与して惹起した．陽性対照群には皮下投与群と同様の方法で卵白アルブミン（1 mg/kg）を投与して能動感作し，卵白アルブミン（1 mg/kg）を投与して惹起した．

本薬能動感作群ではアナフィラキシー症状は認められず，全身性アナフィラキシー反応は陰性であった．また，本薬受身感作群では漏出色素斑は認められず，同種受身皮膚アナフィラキシー反応は陰性であった．

以上の結果から，ドチヌラドはモルモットに対して抗原性を示さないと考えられた．

2.6.6.8.1.2　マウス，ラットの抗原性試験

［添付資料 4.2.3.7.1-2］

1群雄各6例のBALB/cマウス及びC3Hマウスに0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁したドチヌラドを0.1及び1 mg/kgの用量で週5回，3週間経口投与して能動感作した．別途設定した1群雄各6例の両系統のマウスに0.5%メチルセルロース水溶液及びアジュバント（水酸化アルミニウムゲル）を用いて，ドチヌラドを1 mg/kgの用量で週1回，3週間腹腔内投与して能動感作した．最終能動感作後7日に全例について全採血し，得られたマウス血清を段階希釈後，別途設定した1群雄6例のSDラットの背部皮膚に0.05 mLずつ皮内投与して受身感作した．受身感作後48時間にドチヌラドを1 mg/kgの用量で静脈内投与して惹起し，背部皮膚裏面の漏出色素斑の有無を確認した（異種受身皮膚アナフィラキシー反応）．陰性対照群には経口投与群と同様の方法で0.5%メチルセルロース水溶液を投与して能動感作し，ドチヌラドを投与して惹起した．陽性対照群には腹腔内投与群と同様の方法で卵白アルブミン（1 mg/kg）を投与して能動感作し，卵白アルブミン（1 mg/kg）を投与して惹起した．

本薬受身感作群では両系統ともに漏出色素斑は認められず，異種受身皮膚アナフィラキシー反応は陰性であった．

以上の結果から，ドチヌラドはマウスに対して抗原性を示さないと考えられた．

2.6.6.8.2　免疫毒性試験

サルの4週間経口投与毒性試験（用量設定試験）において，骨髄，脾臓，胸腺及びリンパ節のリンパ球の増生が認められた．ドチヌラドのリンパ球に対する作用を検討するためにリンパ球幼若化反応を検討した．

2.6.6.8.2.1　サル全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討（予備試験）

［添付資料4.2.3.7.2-1］（参考資料）

ドチヌラドのサルのリンパ球に対する幼若化作用の有無を検討するために，試験条件を検討した．

カニクイザル雄1例から採取した全血をドチヌラドと約72時間インキュベート後，5-bromo-2'-deoxy-uridine（BrdU）の細胞への取り込みを測定し，陽性細胞の比率を幼若化の指標とした．処置濃度は100及び1000 μg/mLとした．陰性対照には溶媒（DMSO）を用いた．代謝活性化系（S9 mix，サル），フィトヘマグルチニン-M（PHA-M，最終濃度10 μg/mL）及びOligodeoxynucleotide [Oligo (dT) 15mers]（ODN，最終濃度3 μmol/L）添加の有無の条件で実施した．なお，すべての検討でIL-2（最終濃度30 U/mL）を培地に添加した．

代謝活性化系を添加しない条件では，PHA-Mを添加したときの陰性対照群におけるBrdU陽性細胞比率はPHA-Mを添加しないときの陰性対照群と比較して増加しているため，試験で使用したリンパ球は刺激に対する反応性を有していたと考えられた．PHA-Mを添加しない条件では，代謝活性化系及びODNの添加の有無にかかわらず，陰性対照群のBrdU陽性細胞比率と比較して，100 μg/mL群では減少又は変化がみられなかったが，1000 μg/mL群では増加傾向がみられた．PHA-Mを添加した条件では，PHA-Mが本薬の作用に影響したため，明確な傾向はみられなかった．また，ODNによる明らかな影響はみられなかった（表2.6.6.8-1）．

表 2.6.6.8-1　BrdU 陽性細胞の比率（%）

処理条件								
IL-2（U/mL）	30	30	30	30	30	30	30	30
PHA-M（10 μg/mL）	-	-	-	-	+	+	+	+
ODN（3 μmol/L）	-	-	+	+	-	-	+	+
S9 mix	-	+	-	+	-	+	-	+
ドチヌラド濃度（μg/mL）								
0	2.04	0.47	1.74	1.06	8.23	1.69	8.51	3.51
100	0.85	0.67	0.44	0.85	3.08	0.81	4.17	0.80
1000	2.64	2.76	3.85	3.29	2.81	5.24	1.20	3.19

+：添加．-：添加せず．

2.6.6.8.2.2　サル全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討（確認試験）

[添付資料 4.2.3.7.2-2]　（参考資料）

ドチヌラドのサルのリンパ球に対する幼若化作用の有無を検討するために，動物数 2 例で再現性を確認するとともに，試験条件を追加検討した．

カニクイザル雄 2 例から採取した全血をドチヌラドと約 72 時間インキュベート後，BrdU の細胞への取り込みを測定し，陽性細胞の比率を幼若化の指標とした．処置濃度は 100 及び 1000 μg/mL とした．陰性対照には溶媒（DMSO）を用いた．代謝活性化系（S9 mix，サル）及びコンカナバリン-A（Con-A，最終濃度 20 μg/mL）添加の有無の条件で実施した．なお，すべての検討で IL-2（最終濃度 30 又は 100 U/mL）を培地に添加した．

IL-2 を 30 U/mL の濃度で添加し，代謝活性化系を添加しない条件では，Con-A を添加したときの陰性対照群における BrdU 陽性細胞比率は Con-A を添加しないときの陰性対照群と比較して僅かであるが増加しているため，試験で使用したリンパ球は刺激に対する反応性を有していたと考えられた．また，代謝活性化系を添加しない条件では，サンプル A 及び B ともに濃度依存的な BrdU 陽性細胞比率の増加がみられたが，増加の程度はサンプル間で差が大きかった．代謝活性化系を添加する条件では，サンプル A 及び B ともに 100 μg/mL 群で BrdU 陽性細胞比率の増加がみられたが，1000 μg/mL 群では 100 μg/mL 群と比較して減少又は消失した．また，Con-A を添加する条件では，1000 μg/mL 群で BrdU 陽性細胞比率の増加がみられたが，Con-A を添加しない条件と比較して BrdU 陽性細胞比率は低かった．IL-2 濃度を 100 U/mL とし，代謝活性化系を添加しない条件では IL-2 濃度 30 U/mL と同様の結果が得られた．一方，代謝活性化系を添加する条件では IL-2 濃度 30 U/mL と比較して陰性対照群の BrdU 陽性細胞比率が増加したが，1000 μg/mL 群では消失した（表 2.6.6.8-2）．

表 2.6.6.8-2　BrdU 陽性細胞の比率（%）

処理条件							
IL-2（U/mL）	30		30		30	100	100
Con-A（20 μg/mL）	-		-		+	-	-
S9 mix	-		+		-	-	+
サンプルID	A	B	A	B	A	A	A
ドチヌラド濃度（μg/mL）							
0	0.18	0.04	2.04	0.32	0.98	2.18	11.83
100	1.62	0.49	13.98	19.10	NT	NT	NT
1000	36.31	2.75	0.01	12.04	10.73	24.03	0.07

＋：添加．－：添加せず．NT：実施せず．

2.6.6.8.2.3　サル全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討（確認試験 2）

［添付資料 4.2.3.7.2-3］（参考資料）

ドチヌラドのサルのリンパ球に対する幼若化作用の有無を検討するために，動物数 5 例で再現性を確認するとともに，濃度依存性を検討した．

カニクイザル雄 5 例から採取した全血をドチヌラドと，IL-2（最終濃度 30 U/mL）添加培地で約 72 時間インキュベート後，BrdU の細胞への取り込みを測定し，陽性細胞の比率を幼若化の指標とした．処置濃度は 100，300 及び 1000 μg/mL とし，陰性対照には溶媒（DMSO）を用いた．

100 及び 300 μg/mL 群では濃度に依存して BrdU 陽性細胞比率の増加がみられたが，陰性対照の値及び本薬による増加の程度にはサンプル間で差がみられた．1000 μg/mL 群では 300 μg/mL 群と比較して BrdU 陽性細胞比率が減少しており，本薬の細胞に対する傷害性が生じた可能性が考えられた（表 2.6.6.8-3）．

表 2.6.6.8-3　BrdU 陽性細胞の比率（%）

サンプルID	A	B	C	D	E	平均±標準偏差
ドチヌラド濃度（μg/mL）						
0	7.25	9.25	4.30	14.51	5.49	8.16±4.01
100	6.97	6.82	8.54	16.39	11.42	10.03±4.01
300	12.42	13.34	9.95	31.37	23.30	18.08±9.01
1000	7.43	4.52	5.33	10.47	5.54	6.66±2.38

2.6.6.8.2.4　サル全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討（本試験）

［添付資料 4.2.3.7.2-4］（参考資料）

ドチヌラドのサルのリンパ球に対する幼若化作用を検討した．

カニクイザル雄 5 例から採取した全血をドチヌラドと，IL-2（最終濃度 30 U/mL）添加培地で約 72 時間インキュベート後，BrdU の細胞への取り込みを測定し，陽性細胞の比率を幼若化の指標とした．処置濃度は 30，100 及び 300 μg/mL とし，陰性対照には溶媒（DMSO）を用いた．

本薬の濃度の増加に伴って BrdU 陽性細胞比率の増加が認められ，300 μg/mL 群では陰性対照群と比較して統計学的に有意差が認められた．陰性対照群の値及び本薬添加による増加の程度にはサンプル間で差がみられたが，個体差に起因するものと考えられた（表 2.6.6.8-4）．

表 2.6.6.8-4　BrdU 陽性細胞の比率（%）

サンプルID	A	B	C	D	E	平均±標準偏差
ドチヌラド濃度（μg/mL）						
0	3.33	5.66	7.79	12.85	8.52	7.63±3.55
30	7.06	9.38	11.27	14.13	9.00	10.17±2.67
100	6.69	14.55	10.30	10.67	15.17	11.48±3.47
300	12.51	18.29	18.84	19.69	16.46	17.16±2.86**

**：p<0.01（Dunnett検定）

以上の結果から，ドチヌラドはサルのリンパ球に対して幼若化作用を有することが確認された．

2.6.6.8.2.5　ヒト全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討（本試験）

［添付資料 4.2.3.7.2-5］（参考資料）

ドチヌラドはサルのリンパ球に対して幼若化作用を有することが示唆されたため（2.6.6.8.2.3 項参照），サル全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討の試験条件から，試験系をヒト全血に変更して，ドチヌラドのヒトのリンパ球に対する幼若化作用を検討した．

日本人男性 5 名から採取した全血をドチヌラドと，IL-2（最終濃度 30 U/mL）添加培地で約 72 時間インキュベート後，BrdU の細胞への取り込みを測定し，陽性細胞の比率を幼若化の指標とした．処置濃度は 30，100 及び 300 μg/mL とし，陰性対照には溶媒（DMSO）を用いた．

全てのサンプルにおいて陰性対照と比較して本薬添加による BrdU 陽性細胞比率の増加は認められなかった（表 2.6.6.8-5）．

表 2.6.6.8-5　BrdU 陽性細胞の比率（%）

サンプルID	A	B	C	D	E	平均±標準偏差
ドチヌラド濃度（μg/mL）						
0	1.86	1.29	1.16	1.54	0.47	1.26±0.52
30	1.00	1.31	2.21	1.21	1.50	1.45±0.46
100	1.31	0.96	1.27	0.81	0.94	1.06±0.22
300	1.33	2.07	1.27	0.74	0.94	1.27±0.51

以上の結果から，ドチヌラドはヒトのリンパ球に対して幼若化作用を示さないことが示唆された．

2.6.6.8.2.6　ラット全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討（予備試験）

［添付資料 4.2.3.7.2-6］（参考資料）

ドチヌラドはサルのリンパ球に対して幼若化作用を有することが示唆されたため（2.6.6.8.2.1 項，2.6.6.8.2.2 項参照），サル全血を用いたリンパ球幼若化反応の検討の試験条件から，試験系をラット全血に変更して，ドチヌラドのラットのリンパ球に対する幼若化作用を検討した．

SD ラット雄 3 例から採取した全血をドチヌラドと，IL-2（最終濃度 30 U/mL）添加培地で約 72 時間インキュベート後，BrdU の細胞への取り込みを測定し，陽性細胞の比率を幼若化の指標とした．処置濃度は 100，300 及び 1000 μg/mL とし，陰性対照には溶媒（DMSO）を用いた．

全てのサンプルにおいて本薬添加による BrdU 陽性細胞比率の増加は認められなかった（表 2.6.6.8-6）．

表 2.6.6.8-6　BrdU 陽性細胞の比率（%）

サンプルID	A	B	C
ドチヌラド濃度（μg/mL）			
0	0.03	0.00	0.00
100	0.01	0.02	0.01
300	0.00	0.01	0.00
1000	0.00	0.00	0.00

以上の結果から，ドチヌラドはラットのリンパ球に対して幼若化作用を示さないことが示唆された．

2.6.6.8.3　毒性発現の機序に関する試験

ラットの 13 週間経口投与毒性試験において肝重量の増加，肝細胞肥大及び滑面小胞体増生が認められており，他のラットの反復経口投与毒性試験でも肝重量の増加などが認められている．これらは肝薬物代謝酵素の誘導を示唆する所見と考えられたため，ラットの肝薬物代謝酵素誘導に関する検討を実施した．

2.6.6.8.3.1　ラットを用いた肝薬物代謝酵素誘導の検討

［添付資料 4.2.3.7.3-1］（参考資料）

1 群雌 5 例の SD ラットに 0.5%メチルセルロースに懸濁したドチヌラドを 1，3 及び 10 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回，7 日間経口投与した．陰性対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与し，陽性対照群にはフェノバルビタールを 80 mg/kg/日の用量で 3 日間腹腔内投与した．最終投与の翌日に肝臓を採取し，肝臓の重量，ミクロソーム蛋白含量，P450 含量，CYP1A2，CYP2B1 及び CYP3A1 の酵素活性並びに mRNA 発現量を測定した．

10 mg/kg/日群でミクロソーム蛋白含量が有意に増加した．しかし，各 CYP 分子種の酵素活性及び mRNA 発現量には陰性対照群との間に差は認められなかった（表 2.6.6.8-7）．このことから，今回評価した薬物代謝酵素については，ドチヌラドは誘導作用を示さなかったと考えられた．また，10 mg/kg/日群で肝臓の体重比重量の増加は認められなかった．

表 2.6.6.8-7　肝臓の体重比重量，P450 含量，各 CYP 分子種の活性及び mRNA 発現量

群	陰性対照	ドチヌラド（mg/kg/日）			陽性対照
		1	3	10	
体重（g）	166.8 ±5.3	164.0 ±7.4	159.6 ±4.0	163.0 ±6.3	159.6 ±5.3
肝臓，体重比重量 (g/100 g body weight)	3.47 ±0.27	3.48 ±0.11	3.56 ±0.12	3.45 ±0.15	4.15 ±0.34**
ミクロソーム蛋白含量 (mg/g liver)	9.24 ±1.10	10.77 ±1.20	11.12 ±1.00	12.59 ±2.85*	15.06 ±1.46**
P450含量 (nmol/mg protein)	1.04 ±0.10	0.95 ±0.07	0.92 ±0.06	0.82 ±0.08*	1.09 ±0.17
CYP1A2酵素活性 (pmol/min/mg protein)	84.6 ±10.9	77.5 ±7.0	84.7 ±1.9	79.9 ±6.6	85.5 ±12.0
CYP2B1酵素活性	14.7	12.4	12.1	15.3	240.4

(pmol/min/mg protein)	±2.4	±1.8	±1.7	±4.3	±39.5**
CYP3A1酵素活性 (pmol/min/mg protein)	76.3 ±19.6	83.6 ±16.3	71.0 ±21.9	112.5 ±18.5	589.6 ±190.3**
CYP1A2 mRNA量 (β-actin補正)	0.68137 ±0.20736	0.65424 ±0.29873	0.71844 ±0.42522	0.64545 ±0.23751	0.41391 ±0.17440
CYP2B1 mRNA量 (β-actin補正)	6.34085 ±4.36954	9.39431 ±6.16134	6.43454 ±2.98972	8.10769 ±4.72239	1117.38638 ±409.01887**
CYP3A1 mRNA量 (β-actin補正)	0.84832 ±0.31024	0.58993 ±0.13158	0.58271 ±0.29254	0.81323 ±0.37629	6.92881 ±2.81828**

平均値±標準偏差（n＝5）.
*：p<0.05，**：p<0.01（Dunnett検定，vs陰性対照）
注）10 mg/kg/日群でP450含量の低下がみられたが，ミクロソーム蛋白含量の増加によるものと推察され，P450含量の低下はないと判断した.

以上の結果から，ドチヌラドを1～10 mg/kg/日の用量でラットに7日間経口投与した場合には肝薬物代謝酵素は誘導されないことが示された.

2.6.6.8.3.2 ラットを用いた肝薬物代謝酵素誘導の検討（高用量）

［添付資料 4.2.3.7.3-2］（参考資料）

1群雌5例のSDラットに0.5%メチルセルロースに懸濁したドチヌラドを30及び300 mg/kg/日の用量で1日1回，14日間経口投与した．陰性対照群には0.5%メチルセルロース水溶液を同様の方法で投与し，陽性対照群にはフェノバルビタールを80 mg/kg/日の用量で3日間腹腔内投与した．最終投与の翌日に肝臓を採取し，肝臓の重量，ミクロソーム蛋白含量，P450含量及びCYP2B1のmRNA発現量を測定した.

300 mg/kg/日群では，肝臓の体重比重量及びミクロソーム蛋白含量の増加，P450含量の増加傾向が認められ，CYP2B1のmRNA発現量の増加も認められた．30 mg/kg/日群ではこれらの変化はみられなかった（表2.6.6.8-8）.

表2.6.6.8-8 肝臓の体重比重量，P450含量及びCYP2B1のmRNA発現量

群	陰性対照	ドチヌラド（mg/kg/日）		陽性対照
		30	300	
体重（g）	183.4 ±12.2	180.8 ±10.8	179.6 ±7.4	188.0 ±11.1
肝臓，体重比重量 (g/100 g body weight)	3.22 ±0.12	3.12 ±0.09	3.91 ±0.26**	3.79 ±0.15##
ミクロソーム蛋白含量 (mg/g liver)	11.40 ±0.83	10.91 ±0.70	13.02 ±1.13*	14.41 ±1.34##
P450含量 (nmol/mg protein)	1.26 ±0.15	1.18 ±0.05	1.44 ±0.11	1.97 ±0.25##
CYP2B1 mRNA量 (β-actin補正)	3.58180 ±3.18874	4.74147 ±2.26675	58.47826 ±21.88252**	1247.46705 ±657.74345##

平均値±標準偏差（n＝5）.
*：p<0.05，**：p<0.01（Dunnett検定，vs陰性対照）．##：p<0.01（Student-t検定，vs陰性対照）.

以上の結果から，ドチヌラドを300 mg/kg/日の用量でラットに14日間経口投与した場合には肝薬物代謝酵素が誘導されることが示された.

2.6.6.8.3.3　ラット肝細胞を用いた肝薬物代謝酵素誘導の検討

［添付資料 4.2.3.7.3-3］（参考資料）

ドチヌラドの CYP2B1 及び CYP3A1 に対する誘導作用を検討するために，ラット肝細胞に，DMSO に溶解したドチヌラドを 1，3，10，30，100 及び 300 μmol/L の濃度で 72 時間曝露した後の各 mRNA 発現量及び酵素活性を測定した．陰性対照群には DMSO，陽性対照群にはフェノバルビタール（1000 μmol/L）を同様に処置した．

CYP2B1 の mRNA 発現量は濃度依存的に増加し，100 及び 300 μmol/L で陰性対照群の 2 倍以上に増加した（表 2.6.6.8-9）．CYP2B1 酵素活性は濃度依存的に増加し，% positive control は 100 及び 300 μmol/L でそれぞれ 15.9 及び 27.5%であった（表 2.6.6.8-10）．酵素活性の判断基準では明確な誘導作用は無いと判断される範囲の変化であったが，mRNA 発現量と酵素活性の反応性に相関がみられていることから，本薬はラット肝細胞において CYP2B1 の誘導作用を示したと考えられた．CYP3A1 の mRNA 発現量及び酵素活性については，陽性対照群で明確な誘導作用がみられず，試験の妥当性が担保されなかったため，本薬の CYP3A1 に対する誘導作用は評価できなかった．

表 2.6.6.8-9　各 CYP 分子種の mRNA 発現量

分子種	陰性対照	陽性対照	ドチヌラド（μmol/L）					
			1	3	10	30	100	300
CYP2B1	1.0	26.7	0.8	1.0	0.8	1.4	3.3	32.2
CYP3A1	1.0	1.3	0.8	1.0	0.9	0.9	0.9	1.2

陰性対照に対する誘導倍率（β-actinによる補正）の平均値（CYP2B1 100及び300 μmol/Lはn＝2，その他はn＝3）

表 2.6.6.8-10　各 CYP 分子種の酵素活性

分子種		陰性対照	陽性対照	ドチヌラド（μmol/L）					
				1	3	10	30	100	300
CYP 2B1	酵素活性（pmol/min/10^6cells）	0.795 ±0.073	3.375 ±0.979	0.734 ±0.122	0.744 ±0.081	0.901 ±0.142	0.882 ±0.204	1.204 ±0.150	1.505 ±0.092
	% positive control			-2.4	-2.0	4.1	3.4	15.9	27.5
CYP 3A1	酵素活性（pmol/min/10^6cells）	194.722 ±5.751	287.655 ±34.079	191.111 ±21.105	190.311 ±16.689	180.367 ±25.861	163.100 ±26.808	173.067 ±9.769	124.828 ±7.304
	% positive control			-3.9	-4.7	-15.4	-34.0	-23.3	-75.2

平均値±標準偏差（n＝3）

以上の結果から，ドチヌラドはラット肝細胞において 100 及び 300 μmol/L の濃度で CYP2B1 の誘導作用を有することが示された．

2.6.6.8.4 依存性試験

ドチヌラドの中枢神経系への分布は血漿中放射能濃度の 0.01～0.05 倍と小さいこと（2.6.4.4.4 項参照），各種酵素活性及び各種受容体のリガンド結合能等の評価で中枢神経系に関与する受容体へのリガンド作用は示されていないこと（2.6.2.3.1 項参照）並びに安全性薬理試験，単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験で中枢神経系への影響を示唆する変化はみられていないこと（2.6.2.4.1 項，2.6.6.2 項，2.6.6.3 項参照）から，薬物乱用に関する非臨床試験は実施していない.

2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験

ヒト特異的な代謝物は生成されないこと及びヒトにおける主な代謝物の血漿中曝露量は総曝露量の 10%未満であること（2.7.6.5 項参照）から，代謝物を用いた毒性試験は実施していない.

2.6.6.8.6 不純物の毒性試験

原薬及び製剤中の類縁物質に関する申請規格はそれぞれ ICH-Q3A(R2)及び Q3B(R2)ガイダンスで規定された安全性確認の閾値を超えないことから，類縁物質を用いた毒性試験は実施していない.

2.6.6.8.7 その他の試験

2.6.6.8.7.1 ラットの光毒性試験

［添付資料 4.2.3.7.7-1］

1 群雄 5 例の Long-Evans ラットに 0.5%メチルセルロースに懸濁したドチヌラドを 1，10 及び 100 mg/kg の用量で単回経口投与し，投与後 0.5 時間より約 10 J/cm^2 の UVA を照射した．一般症状観察，体重測定，耳介及び皮膚の肉眼的観察，耳介厚測定，眼科学的検査及び病理組織学的検査（眼球／視神経，背部皮膚，耳介）を実施した．陰性対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液，陽性対照群には 8-メトキシソラレン（20 mg/kg）を同様の方法で投与した.

本薬投与群では，一般状態及び体重に異常は認められず，皮膚の肉眼的観察，耳介厚の測定，眼科学的検査及び病理組織学的検査で異常は認められなかった.

以上の結果から，ドチヌラドは Long-Evans ラットに対して光毒性を示さないと考えられた.

2.6.6.8.7.2 ラットの血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）

［添付資料 4.2.3.7.7-2］（参考資料）

結晶形の異なるドチヌラド [redacted]及び[redacted] をラットに単回経口投与した際の吸収性を比較した．1 群雄 4 例の SD ラットに 0.5%メチルセルロースに懸濁したドチヌラド [redacted]及び [redacted] を 30 及び 300 mg/kg の用量で単回経口投与し，血漿中薬物濃度を測定した.

30 及び 300 mg/kg 群ともに，ドチヌラド [redacted] とドチヌラド [redacted] を投与したときの $AUC_{0\text{-}24}$ はほぼ同等であった（表 2.6.6.8-11）.

表 2.6.6.8-11　ラット血漿中薬物濃度

投与量 (mg/kg)	被験物質	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (μg·hr/mL)
30	ドチヌラド [redacted]	59.24±29.54	0.63±0.25	411.74±123.35
	ドチヌラド [redacted]	39.03± 0.43	1.50±0.58	371.97± 34.08
	[redacted]と[redacted]の比較 (%)	66	-	90
300	ドチヌラド [redacted]	307.28±26.20	4.00±2.83	4923.74±547.44
	ドチヌラド [redacted]	315.53±11.44	3.50±1.00	4527.88±269.07
	[redacted]と[redacted]の比較 (%)	103	-	92

平均値±標準偏差 (n=4)
[redacted]と[redacted]の比較 (%) =[redacted]の平均値/[redacted]の平均値×100

2.6.6.8.7.3　ウサギの血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）

[添付資料 4.2.3.7.7-3]　(参考資料)

結晶形の異なるドチヌラド [redacted]及び[redacted] をウサギに単回経口投与した際の吸収性を比較した．1群雌3例の NZW ウサギに 0.5%メチルセルロースに懸濁したドチヌラド [redacted]及び[redacted] を 30 及び 300 mg/kg の用量で単回経口投与し，血漿中薬物濃度を測定した．

30 及び 300 mg/kg 群ともに，ドチヌラド [redacted] ではドチヌラド [redacted] と比較して，C_{max} が低下するものの，AUC_{0-24} はほぼ同等であった（表 2.6.6.8-12）．

表 2.6.6.8-12　ウサギ血漿中薬物濃度

投与量 (mg/kg)	被験物質	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (μg·hr/mL)
30	ドチヌラド [redacted]	53.80± 8.61	0.67±0.29	386.79± 38.29
	ドチヌラド [redacted]	34.80± 7.08	5.33±2.31	444.91± 8.57
	[redacted]と[redacted]の比較 (%)	65	-	115
300	ドチヌラド [redacted]	278.78±123.88	0.83±0.29	2042.37±249.63
	ドチヌラド [redacted]	171.63± 23.32	0.83±0.29	2154.41±142.53
	[redacted]と[redacted]の比較 (%)	62	-	105

平均値±標準偏差 (n=3)
[redacted]と[redacted]の比較 (%) =[redacted]の平均値/[redacted]の平均値×100

2.6.6.8.7.4　サルの血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）

[添付資料 4.2.3.7.7-4]　(参考資料)

結晶形の異なるドチヌラド [redacted]及び[redacted] をサルに単回経口投与した際の吸収性を比較した．雌雄各3例のカニクイザルに 0.5%メチルセルロースに懸濁したドチヌラド [redacted] を 50 mg/kg の用量で単回経口投与（1回目投与）し，血漿中薬物濃度を測定した．1回目投与の7日後にドチヌラド [redacted] を同様の方法で投与（2回目投与）し，血漿中薬物濃度を測定した．

各 PK パラメータに明確な雌雄差はみられなかった．ドチヌラド [redacted] ではドチヌラド [redacted] と比較して，C_{max} と AUC_{0-24} がやや低い傾向を示した（表 2.6.6.8-13）．

表 2.6.6.8-13　サル血漿中薬物濃度

性，投与量 (mg/kg)	被験物質	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24} (μg·hr/mL)
雄，50	ドチヌラド [redacted]	238.8±36.6	1.3±0.6	2024±276
	ドチヌラド [redacted]	201.1±21.6	1.3±0.6	1739±367
	[redacted]と[redacted]の比較（%）	84	-	86
雌，50	ドチヌラド [redacted]	233.1±23.1	2.0±0.0	2003±101
	ドチヌラド [redacted]	178.8± 6.4	2.7±1.2	1793±104
	[redacted]と[redacted]の比較（%）	77	-	90

平均値±標準偏差（n＝3）
[redacted]と[redacted]の比較（%）＝[redacted]の平均値／[redacted]の平均値×100

2.6.6.8.7.5　ヒト肝細胞を用いた ^{14}C-ドチヌラドの共有結合能の検討

［添付資料 4.2.3.7.7-5］（参考資料）

薬物性肝障害の発現機序の一つとして，薬物の蛋白に対する共有結合が挙げられている[12]．そこで，ドチヌラドの共有結合能について，in vitro 試験で検討した．

ヒト肝細胞懸濁液に ^{14}C-ドチヌラドを添加して 2 時間インキュベーションした後に肝細胞の放射能を測定し，共有結合量を評価した．化合物の最終濃度は 10 μmol/L とした．陽性対照物質として ^{14}C-ベンズブロマロン，^{3}H-イミプラミン，^{14}C-ジクロフェナック及び ^{3}H-フルタミドを用いた．

ヒト肝細胞に対する ^{14}C-ドチヌラドの共有結合量は，^{14}C-ベンズブロマロンのそれと同程度であった（表 2.6.6.8-14）．

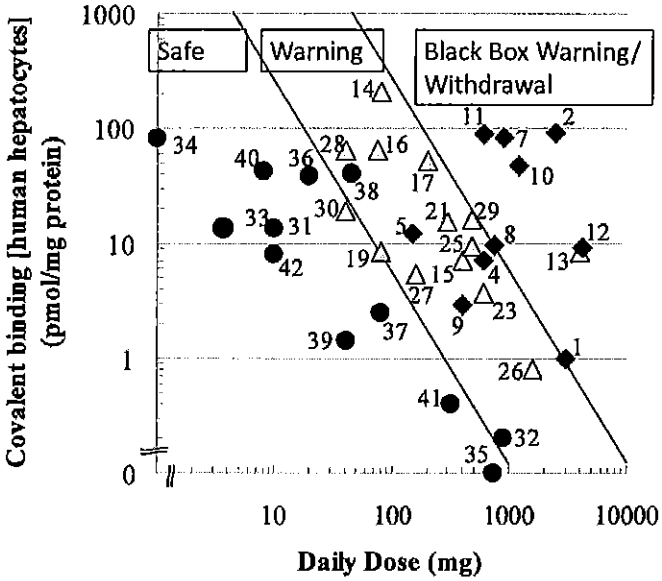
表 2.6.6.8-14　ヒト肝細胞に対する共有結合量

化合物名	共有結合量（pmol/mg protein）
^{14}C-ドチヌラド	13.8
^{14}C-ベンズブロマロン	12.7
^{3}H-イミプラミン	5.1
^{14}C-ジクロフェナック	52.5
^{3}H-フルタミド	36.3

平均値（n＝2）

共有結合量の定量的評価として，1 日最大用量を組み合わせた分類が現実的な評価と考えられている[13]．多くの化合物のデータをもとに提案され汎用されている Nakayama らの分類[14]を参考に，ヒト肝細胞に対する共有結合量と臨床用量を基にした毒性発現リスクのエリア分けをしたところ，本薬の最大推奨臨床用量は 4 mg/日であることから Safe のエリアに分類され，毒性発現リスクが懸念される分類には入らないことが確認された（図 2.6.6.8-1）．一方，ベンズブロマロンでは，本試験で Nakayama らの報告[14]とほぼ同等の共有結合量が得られ，文献報告と同様に Warning のエリアに分類され，本薬とは異なる分類になることが確認された．

図 2.6.6.8-1　ドチヌラド及びベンズブロマロンの毒性リスクのエリア分類



Nakayamaらの報告[14] のFig. 4を改変
薬物　5：ベンズブロマロン，8：フルタミド，17：ジクロフェナック，21：イミプラミン
シンボル　Black Box Warning/Withdrawn：赤，Warning：黄色，Safe：青，ドチヌラド：緑

以上の結果から，ドチヌラドによる肝細胞への共有結合を介した薬物性肝障害リスクを示唆する所見は認められなかった．

2.6.6.8.7.6　ミトコンドリアに対する影響の検討

［添付資料 4.2.3.7.7-6］（参考資料），［添付資料 4.2.3.7.7-7］（参考資料）

薬物性肝障害の発現機序の一つ[12] として，また，ベンズブロマロンによる肝障害の発現機序の一つ[15] として，ミトコンドリア機能の障害が挙げられている．そこで，ミトコンドリア呼吸及び酵素複合体に対する影響を検討した．

ミトコンドリアの呼吸については，無処置ラットの肝臓からミトコンドリア懸濁液を調製し，酸素消費測定システムを用いて測定した．コハク酸又はグルタミン酸を基質とし，基質添加時の酸素消費速度（state 4）を測定後，ADP 添加時の酸素消費速度（state 3）を測定した．呼吸調節率（state 3／state 4）をミトコンドリア呼吸の指標として評価した．ミトコンドリア酵素複合体については，MitoCheck® Complex Activity Assay Kit（ウシ心ミトコンドリア）を用いて，各キットのプロトコルに準じて酵素複合体 I，II，II/III 及び IV の活性を測定した．いずれの検討においても，陰性対照群に対する被験物質添加群の阻害率を算出した．陰性対照には溶媒（DMSO），陽性対照にはそれぞれの測定系に適した陽性対照物質を適切な用量で用いた．各サンプルの測定は 3 回実施した．

ドチヌラドでは，10，30 及び 100 μmol/L で濃度依存的な呼吸調節率の抑制が認められた（IC_{50}；30 及び 23 μmol/L）．酵素複合体 I～IV 活性については 100 μmol/L でほとんど抑制は認められなかった．ベンズブロマロンでは，0.1，0.3 及び 1 μmol/L で濃度依存的な呼吸調節率の抑制が認められた（IC_{50}；0.33 及び 0.51 μmol/L）．酵素複合体 I については 100 μmol/L でほとんど抑制は認められなかったが，酵素複合体 II 及び II/III については濃度

依存的な抑制が認められた（IC_{50}；4.6及び1.6 μmol/L）．酵素複合体IVについては100 μmol/Lで65.9%の抑制が認められた（表2.6.6.8-15）．

表2.6.6.8-15 ミトコンドリアの呼吸及び酵素複合体に対する影響

化合物名	呼吸調節率 IC_{50}（μmol/L）		酵素複合体 IC_{50}（μmol/L）			
	コハク酸	グルタミン酸	I	II	II/III	IV
ドチヌラド	30	23	>100	>100	>100	>100
ベンズブロマロン	0.33	0.51	>100	4.6	1.6	(65.9%[a])

(n=3)
a：100 μmol/Lにおける抑制率

本薬ではミトコンドリア機能に対する抑制作用が一部の項目で弱いながら認められるが，ミトコンドリア呼吸の抑制が認められた濃度（IC_{50}；23～30 μmol/L）と平均臨床曝露量 C_{ave}［0.588 μmol/L；4 mg投与時の臨床曝露量 $AUC_{0\text{-}24}$（5052.31 ng·hr/mL）/24（時間）（2.7.6.4項参照）］の間に乖離（39～51倍）があることから，臨床使用した際にミトコンドリア機能の障害が発現する可能性は低いと考えられた．一方，ベンズブロマロンでは，ミトコンドリア呼吸及び酵素複合体に対する抑制作用が認められた濃度（IC_{50}；0.33～4.6 μmol/L）と平均臨床曝露量 C_{ave}［1.562 μmol/L；100 mg投与時の臨床曝露量 $AUC_{0\text{-}inf}$（15.9 μg·hr/mL[16]）/24（時間）］の間に乖離はないか小さかった（0.21～2.9倍）．

以上の結果から，ドチヌラドによるミトコンドリア機能の障害を介した薬物性肝障害リスクを示唆する所見は認められなかった．

2.6.6.8.7.7 THP-1細胞を用いたIL-8産生を指標とした検討

［添付資料4.2.3.7.7-8］（参考資料），［添付資料4.2.3.7.7-9］（参考資料）

薬物性肝障害の発現機序の一つとして，免疫反応の刺激が挙げられている[12]．また，特異体質性薬物性肝障害を発症した患者ではアレルギー反応を伴うことや，血清中サイトカイン及びケモカインなどの炎症性因子が上昇していることが報告されている[17]．これに関連した，ヒト単球由来のTHP-1細胞を用いて炎症性サイトカインIL-8産生量増加を指標とした評価方法では，臨床で重篤な肝障害を誘発するトログリタゾン[18]，アミオダロン[19]，テルビナフィン[20]や，臨床試験における肝障害により開発が中止されたキシメラガトラン[21]による変化を検出することが可能と報告されている．そこで，Endoらの報告[19]を参考に，THP-1細胞を用いて炎症性サイトカインIL-8産生量を指標とする試験系を，肝障害の報告がある医薬品及び肝障害の報告がない医薬品を用いて予備的に検討した（添付資料4.2.3.7.7-8，資料添付のみ）．その後，同試験系を用いて本薬とベンズブロマロンのIL-8産生量に及ぼす影響を検討した（添付資料4.2.3.7.7-9）．

THP-1細胞にドチヌラド及びベンズブロマロンを3，10，30及び100 μmol/Lの濃度で添加し，ヒト肝ミクロソーム存在下で24時間培養した．培養後，上清中のIL-8濃度を測定した．また，細胞生存率を測定し，陰性対照群との相対値（細胞生存比）を算出した．陰性対照には溶媒（DMSO），陽性対照にはアミオダロンを用いた．独立した2試験を実施した．

本薬及びベンズブロマロン処置により，30 及び 100 μmol/L 群で IL-8 産生量の増加が認められたが，その程度はベンズブロマロン処置群の方が大きかった（表 2.6.6.8-16）．なお，ドチヌラド処置群では細胞生存比に対する影響は認められなかったが，ベンズブロマロン処置群では 30 及び 100 μmol/L 群で細胞生存比の低下が認められた．

表 2.6.6.8-16　THP-1 細胞からの IL-8 産生量及び細胞生存比

化合物	濃度 (a)	試験1			試験2		
		IL-8		細胞生存比	IL-8		細胞生存比
		産生量 (pg/mL)	相対値		産生量 (pg/mL)	相対値	
0.1% DMSO	0	311±39.6	1.00	1.00	169± 16.2	1.00	1.00
ドチヌラド	3	313±30.0	1.01	0.96±0.05	151± 10.9	0.89	0.98±0.04
	10	352±17.1	1.15	0.94±0.08	177± 6.8	1.05	0.97±0.08
	30	429±12.1*	1.40	0.97±0.10	268± 73.6*	1.61	0.99±0.09
	100	816± 7.4*	2.66	0.97±0.02	412± 14.0*	2.45	0.93±0.05
ベンズブロマロン	3	334±38.1	1.08	0.97±0.06	175± 19.4	1.05	1.00±0.04
	10	366±21.6	1.19	0.99±0.06	194± 30.7	1.16	1.08±0.05
	30	876±75.6$^{\$}$	2.84	0.83±0.09*	538± 18.7$^{*\$}$	3.20	0.85±0.07*
	100	3056±797.9$^{*\$}$	9.94	0.56±0.08$^{*\$}$	1471±160.9$^{*\$}$	8.71	0.64±0.04$^{*\$}$
アミオダロン	30	1735±162.3$^{\#}$	5.62	0.58±0.10$^{\#}$	1843± 89.9$^{\#}$	10.92	0.57±0.02$^{\#}$

平均値±標準偏差（n＝3）
*：p<0.05（陰性対照群との多重比較，Dunnett検定）
#：p<0.05（陰性対照群とアミオダロン群との比較，Student-t検定）
$：p<0.05（同一濃度のドチヌラド群とベンズブロマロン群との比較，Student-t検定）
a：μmol/L

本薬の 30 及び 100 μmol/L は平均臨床曝露量 C_{ave}（0.588 μmol/L）のそれぞれ 51 及び 170 倍に相当した．本薬で作用が認められた濃度と臨床曝露量との間に約 50 倍の乖離があることから，臨床使用した際に免疫系の刺激を介した肝障害発現の可能性は低いと考えられる．一方，ベンズブロマロンの 30 及び 100 μmol/L は平均臨床曝露量 C_{ave}（1.562 μmol/L）のそれぞれ 19 及び 64 倍に相当した．

以上の結果から，ドチヌラドによる免疫反応の刺激を介した薬物性肝障害リスクを示唆する所見は認められなかった．

2.6.6.9　考察及び結論

単回投与毒性

ラットにドチヌラドを単回経口投与した際の概略の致死量は1000 mg/kgと推定された．一般状態の変化として運動性の低下，不規則呼吸，攣縮，腹臥位/横臥位，流涎，流涙，あえぎ呼吸/緩徐呼吸，強直性/間代性痙攣などが認められた．サルの4週間経口投与毒性試験（用量設定試験）では最高用量の1000 mg/kgで死亡は認められず，サルにドチヌラドを単回経口投与した際の概略の致死量は1000 mg/kg超と推定された．また，300及び1000 mg/kgで投与1日に嘔吐が認められた．

反復投与毒性

ラットの肝重量増加及び肝薬物代謝酵素誘導

ラットの13週間及び26週間経口投与毒性試験並びに2及び4週間経口投与毒性試験（用量設定試験）では，肝臓重量の増加，肝細胞の肥大あるいは滑面小胞体の増生が認められた．これらは，用量に依存した変化であり，病理組織学的傷害像を伴っておらず，休薬後に消失した．類似の変化が肝薬物代謝酵素を誘導する化合物で認められていることから，ラットの肝薬物代謝酵素誘導に関するin vitro及びin vivoの検討を実施した．ラット肝細胞を用いた検討では100及び300 μmol/L曝露によりCYP2B1のmRNA発現量の増加が認められた．一方，1～30 μmol/L曝露ではこの変化は認められなかった．また，ラットに300 mg/kg/日の用量で14日間経口投与した際には，肝臓重量及びミクロソーム蛋白含量の増加並びに薬物代謝酵素の増加傾向が認められ，CYP2B1のmRNA発現量の増加も認められた．同試験の30 mg/kg/日群ではこれらの変化は認められなかった．ラットに1～10 mg/kg/日の用量で7日間経口投与した際には肝臓重量の増加及び薬物代謝酵素の誘導は認められなかった．これらのことから，肝臓重量増加はCYP2B1などの肝薬物代謝酵素誘導に伴って発現したと考えられた．したがって，ラットの反復投与毒性試験で認められた肝臓重量の増加，肝細胞の肥大及び滑面小胞体の増生は被験物質投与による適応性変化と考えられ，毒性学的意義はないと考えられた．

ラットで肝薬物代謝酵素の誘導が認められなかった30 mg/kg/日における血漿中薬物濃度$AUC_{0\text{-}24}$（693 μg･hr/mL，ラットの13週間投与毒性試験の投与13週）と最大推奨臨床用量（4 mg/日）における曝露量$AUC_{0\text{-}24}$（5052.31 ng･hr/mL）（2.7.6.4項参照）の乖離は137倍に相当した．肝薬物代謝酵素誘導作用は用量反応性を伴う反応であり，曝露量の乖離が大きいことから，臨床用量で発現する可能性は低いと考えられた．

肝毒性

ラット及びサルの反復経口投与毒性試験では，肝臓の病理組織学的検査で変性や壊死などの肝細胞への傷害性を示唆する組織学的変化は認められなかった．また，胆汁鬱滞又はアポトーシスの亢進を示唆する組織学的変化も認められなかった．

肝細胞への傷害性，胆汁鬱滞及びアポトーシスの亢進とともに薬物性肝障害の発現機序として挙げられている，共有結合，ミトコンドリア機能の障害及び免疫反応の刺激[12)]についても検討した．その結果，最大推奨臨床用量又は臨床曝露量を考慮すると，検討した範囲においては，ドチヌラドによる薬物性肝障害リスクを示唆する所見は認められなかった．

腎毒性

ラット及びサルの反復経口投与毒性試験では，腎臓の病理組織学的検査で変性や壊死などの腎臓への傷害性を示唆する組織学的変化は認められなかった．

サルのリンパ球増生及び骨髄への影響

サルの4週間経口投与毒性試験（用量設定試験）では，300及び1000 mg/kg/日で骨髄，脾臓及び胸腺，1000 mg/kg/日でリンパ節にリンパ球の増生が認められ，胚中心の輪郭不明瞭を伴っていた．また，1000 mg/kg/日で肝臓及び肺のリンパ球集簇巣が認められた．これらのリンパ組織の増生に関連したと考えられる変化として，1000 mg/kg/日でリンパ節の類上皮細胞様の細胞結節，300及び1000 mg/kg/日で肺及び胸腺の巨核球増加，肝臓のクッパー細胞肥大，血液学的検査で大型非染色細胞の増加が認められた．また，300及び1000 mg/kg/日で骨髄細胞の密度低下が認められた．これはリンパ球滞留が少ないリンパ組織の組織像に類似しており，同用量でリンパ組織の増生が認められていることから，増生したリンパ球が流出した跡である可能性が考えられた．なお，摂餌量や体重の低値などの状態悪化も骨髄細胞の密度低下に関連している可能性が考えられた．骨髄細胞の密度低下に関連したと考えられる赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値（ヘマトクリット値は20～33%），それに続発した髄外造血及び網赤血球比率の高値が認められた．予備的に実施した免疫組織化学染色による細胞鑑別の結果，胸腺，脾臓，リンパ節，骨髄及び肝臓で増生していた細胞はTリンパ球と考えられた．

サルの13週間経口投与毒性試験では，100 mg/kg/日で生存例の雌で投与4週に大型非染色細胞数の高値，投与終了時に雌1例で赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値（ヘマトクリット値は28%）並びに雌2例で骨髄細胞の増加が認められた．また，100 mg/kg/日では投与71日に切迫殺に供した雄1例で投与4週に大型非染色細胞数の高値及びヘモグロビン濃度の低値，切迫殺時に赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値，網赤血球比率，白血球数，白血球の各成分及び血小板数の著しい低値（ヘマトクリット値は4%）並びに骨髄細胞の減少が認められた．骨髄細胞の増加が認められた生存例の雌2例について，予備的に実施した骨髄の免疫組織化学染色でTリンパ球からなる濾胞形成が認められた．

13週間経口投与毒性試験の血液学的検査において，投与4週に100 mg/kg/日群の雌で大型非染色細胞の増加が認められた．幼若なリンパ球は大型非染色細胞に分類される可能性があるため，大型非染色細胞の増加はリンパ系細胞の増加に関連する所見と考えられ，投与4週時点で既に生じていたと推察される．一方，切迫殺例においても投与4週時点で大型非染色細胞は上昇しており，投与71日の切迫殺時の検査では対照群よりも低値を示していたことから，時間経過とともに骨髄でのリンパ系細胞の増加に伴い，赤血球系細胞の増生が抑制された結果，貧血に至ったと考えられた．

以上のことから，両試験ともにリンパ組織の増生，骨髄細胞の減少，造血抑制，代償性造血の順に発生したと考えられた．なお，サルの39週間経口投与毒性試験では，最高用量の50 mg/kg/日まで骨髄に病理組織学的な変化は認められなかったことから，この変化は用量に関連した変化であることが示された．また，13週間経口投与毒性試験の休薬期間終了時

剖検例では骨髄に異常が認められなかったことから，骨髄への影響は可逆的なものであることが示された．

サルの4週間経口投与毒性試験（用量設定試験）で認められたリンパ球増生に関連して，無処置サルの全血を用いてリンパ球幼若化作用を検討した結果，300 μg/mLでリンパ球幼若化（増殖）作用が認められた．また，同条件でヒト全血及びラット全血を検討したところ，それぞれの最高濃度300及び1000 μg/mLにおいてもリンパ球幼若化作用は認められず，ドチヌラドのリンパ球幼若化作用には種差があることが示唆された．このことは，ラットの反復投与毒性試験でリンパ系細胞の増生などの病理組織学的変化が認められていないことと一致すると考えられた．

サルの13週間投与毒性試験で骨髄の病理組織学的変化が認められなかった最高用量の30 mg/kg/日における血漿中薬物濃度$AUC_{0\text{-}24}$（917 μg･hr/mL，投与13週）と最大推奨臨床用量における曝露量$AUC_{0\text{-}24}$の乖離は182倍に相当した．曝露量の乖離が大きいこと及び回復性があること，さらに，ドチヌラドのリンパ球幼若化作用には種差が示唆されることから，ドチヌラドを臨床使用した際に問題になる可能性は低いと考えられた．

ラットの貧血

ラットの13週間及び26週間経口投与毒性試験では，300 mg/kg/日で赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値が認められた．これはヘマトクリット値でみると5～6%低下に相当する程度の，軽度な貧血と考えられた．いずれも骨髄の病理組織学的変化は伴っておらず，4週間休薬後に消失した．

ラットの26週間経口投与毒性試験において貧血が認められなかった最高用量の60 mg/kg/日における血漿中薬物濃度$AUC_{0\text{-}24}$（1090 μg･hr/mL）と最大推奨臨床用量における曝露量$AUC_{0\text{-}24}$の乖離は216倍に相当した．軽度な変化で回復性があり，曝露量の乖離が大きいことから，ドチヌラドを臨床使用した際に問題になる可能性は低いと考えられた．

遺伝毒性

遺伝毒性試験では，細菌を用いた復帰突然変異試験において遺伝子突然変異誘発作用は認められなかった．ほ乳類培養細胞を用いたin vitroの染色体異常試験において高い処理濃度（512～800 μg/mL）で染色体構造異常が認められた．しかし，ラットの小核試験では死亡の認められた1000 mg/kg/日においても小核誘発作用は認められず，ラットの不定期DNA合成試験でも1000 mg/kgで肝細胞における不定期DNA合成の誘発作用は認められなかった．このため，ドチヌラドが生体内で遺伝毒性を発現する可能性は低いと考えられた．

なお，ラットで小核及び不定期DNA合成の誘発作用が認められなかった最高用量1000 mg/kgにおける血漿中薬物濃度$AUC_{0\text{-}24}$（13100 μg･hr/mL，ラットの単回経口投与毒性試験の1000 mg/kg群雄）と最大推奨臨床用量における曝露量$AUC_{0\text{-}24}$の乖離は2593倍に相当した．

がん原性

マウス及びラットの 104 週間経口投与がん原性試験（投与量：0，3，10 及び 30 mg/kg/日）では，被験物質投与に関連したと考えられる腫瘍性病変及び非腫瘍性病変の発生は認められなかった．

以上の結果から，ドチヌラドにがん原性の懸念はないと考えられた．

なお，マウス及びラットの最高用量における血漿中薬物濃度 $AUC_{0\text{-}24}$（それぞれ 227～508 及び 499～722 μg･hr/mL，投与 52 週）と最大推奨臨床用量における曝露量 $AUC_{0\text{-}24}$ の乖離はそれぞれ 45～101 倍及び 99～143 倍に相当した．

生殖発生毒性

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，300 mg/kg/日で雌雄の親動物に摂餌量の低値，体重増加抑制あるいは体重の低値が認められた．また，300 mg/kg/日で黄体数及び排卵数の低値に起因する着床数及び生存胚数の低値が認められた．雌雄の親動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量並びに初期胚発生に対する無毒性量はいずれも 100 mg/kg/日と推定された．無毒性量における血漿中薬物濃度 $AUC_{0\text{-}24}$［1850 及び 2740 μg･hr/mL（雄及び雌），それぞれ，ラットの 13 週間投与毒性試験の投与 13 及び 4 週］と最大推奨臨床用量における曝露量 $AUC_{0\text{-}24}$ の乖離は雄で 366 倍，雌で 542 倍に相当した．

ラットの胚・胎児発生に関する試験では，300 mg/kg/日で母動物に摂餌量の低値，体重増加抑制及び体重の低値が認められた．また，300 mg/kg/日で胎児の骨格変異（短小過剰肋骨，完全過剰肋骨，腰椎過剰）の発現頻度の高値が認められた．骨格異常は認められておらず，骨化数に変化は認められなかった．ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において離乳時剖検で骨格検査をした結果，対照群と 300 mg/kg/日群の間で骨格変異の発現頻度に差は認められなかったことから，認められた骨格変異は出生後に回復することが示された．母動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量並びに胚・胎児発生に対する無毒性量はいずれも 100 mg/kg/日と推定された．無毒性量における血漿中薬物濃度 $AUC_{0\text{-}24}$（2740 μg･hr/mL，ラットの 13 週間投与毒性試験の投与 4 週）と最大推奨臨床用量における曝露量 $AUC_{0\text{-}24}$ の乖離は 542 倍に相当した．

ウサギの胚・胎児発生に関する試験では，300 mg/kg/日で母動物に摂餌量の低値，体重増加抑制，便量の減少及び無便が認められた．また，100 及び 300 mg/kg/日で胎児の骨格変異（完全過剰肋骨，腰椎過剰）の発現頻度の高値又は高値傾向が認められた．骨格異常の発現頻度の増加は認められておらず，骨化数に変化は認められなかった．母動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量は 100 mg/kg/日，胚・胎児発生に対する無毒性量は 30 mg/kg/日と推定された．胚・胎児に対する無毒性量における血漿中薬物濃度 $AUC_{0\text{-}24}$（280 μg･hr/mL，妊娠 18 日）と最大推奨臨床用量における曝露量 $AUC_{0\text{-}24}$ の乖離は 55 倍に相当した．

ラットの出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験において，300 mg/kg/日で母動物に摂餌量の低値，体重増加抑制，体重の低値及び妊娠期間の延長，離乳前の出生児に出生率，出生後 0 日の生存率，出生児数，出生後 4 日生存児数及び離乳時体重の低値又は低値傾向が認められた．離乳後では，300 mg/kg/日で雌出生児の膣開口の遅れ，100 及び 300 mg/kg/日で初回生殖能検査時に雌出生児の外陰部正中皮膚の不完全な癒合が認められた．生殖能検査用の雌雄出生児を用いた初回生殖能検査において，100 及び 300 mg/kg/日で交尾率の低値，300 mg/kg/日で受胎率の低値が認められた．生殖能検査用の雄出生児と無処置の

雌動物を用いた追加生殖能検査では異常は認められなかった．一方，無処置の雄動物と行動検査用の雌出生児を用いた追加生殖能検査では初回生殖能検査を再現する結果が得られた．したがって，交尾率及び受胎率の低値は雌出生児に起因した変化と考えられた．母動物の一般毒性及び生殖機能に対する無毒性量は 100 mg/kg/日，出生児に対する無毒性量は 30 mg/kg/日と推定された．出生児に対する無毒性量における血漿中薬物濃度 $AUC_{0\text{-}24}$（565 μg･hr/mL，ラットの 13 週間投与毒性試験の投与 4 週）と最大推奨臨床用量における曝露量 $AUC_{0\text{-}24}$ の乖離は 112 倍に相当した．

生殖発生毒性試験で認められた所見については，無毒性量における曝露量と臨床曝露量との乖離は 55～542 倍であり，いずれも 25 倍以上であることから，臨床使用にあたって懸念はほとんどないと考えられた[22, 23]．

その他の毒性

抗原性

モルモットを能動感作及び受身感作した抗原性試験では全身性アナフィラキシー反応及び同種受身皮膚アナフィラキシー反応は認められなかった．また，2 系統のマウスを能動感作後にラットを受身感作した抗原性試験では異種受身皮膚アナフィラキシー反応は認められなかった．したがって，ドチヌラドに抗原性の懸念はないと考えられた．

光毒性

光毒性試験では有色ラットの皮膚，耳介及び眼球に光毒性を示唆する変化は認められなかった．したがって，ドチヌラドに光毒性の懸念はないと考えられた．

結晶形の異なる原薬を投与した際の血漿中薬物濃度

ドチヌラド原薬の結晶形が[redacted]から[redacted]に変更されたことに伴って，ラット，ウサギ及びサルを用いて，両結晶形の原薬を経口投与した際の血漿中薬物濃度を比較検討した．その結果，[redacted]原薬投与時の血漿中薬物濃度に対する[redacted]原薬投与時の血漿中薬物濃度の比率は，C_{max} で 62～103%，$AUC_{0\text{-}24}$ で 86～115%であり，$AUC_{0\text{-}24}$ は大きく変わらないことが示された．

曝露量の乖離

ドチヌラドの主な毒性試験における曝露量及び臨床曝露量との乖離を表 2.6.6.9-1 に示した．

主な毒性試験における無毒性量では臨床曝露量との間に十分な乖離が認められた．

表 2.6.6.9-1 ドチヌラドの主な毒性試験における曝露量と臨床曝露量との比

動物種	試験	用量 (mg/kg/日)	性	AUC_{0-24}[a] (μg·hr/mL)	臨床曝露量との乖離
ラット	13週間投与毒性試験	無毒性量：100	雄	1850	366
			雌	3570	707
ラット	26週間投与毒性試験	無毒性量：60	雄	1090	216
			雌	2684	531
ラット	小核／UDS試験	最高用量：1000	雄	13100[b]	2593
ラット	がん原性試験	最高用量：30	雄	499	99
			雌	722	143
ラット	受胎能試験	無毒性量：100	雄	1850[c]	366
			雌	2740[d]	542
ラット	胚・胎児試験	無毒性量：100	雌	2740[d]	542
ラット	出生前後試験	無毒性量：30	雌	565[d]	112
サル	13週間投与毒性試験	無毒性量：30	雄	988	196
			雌	917	182
サル	39週間投与毒性試験	無毒性量：12	雄	443	88
			雌	87.6	17
マウス	がん原性試験	最高用量：30	雄	227	45
			雌	508	101
ウサギ	胚・胎児試験	無毒性量：30	雌	280	55
ヒト	反復投与臨床薬理試験2	最大推奨臨床用量：4 mg/日	男性	5.05231[e]	

a：最終投与日．がん原性試験では投与52週．
b：ラット単回投与毒性試験の成績を利用．
c：ラット13週間投与毒性試験の投与13週の成績を利用．
d：ラット13週間投与毒性試験の投与4週の成績を利用．
e：投与4日（投与1，4及び7日の測定結果のなかの最大値，2.7.6.4項参照）

2.6.6.10 図表

本文中の適切な場所に記載した．

2.6.6.11 参考文献

1) Chiesara E, Clementi F, Conti F, Meldolesi J. The induction of drug-metabolizing enzymes in rat liver during growth and regeneration. A biochemical and ultrastructural study. Lab Invest. 1967;16(2):254-67.

2) Crampton RF, Gray TJB, Grasso P, Parke DV. Long-term studies on chemically induced liver enlargement in the rat I. Sustained induction of microsomal enzymes with absence of liver damage on feeding phenobarbitone or butylated hydroxytoluene. Toxicology. 1977;7(3):289-306.

3) Greaves P. Liver and Pancreas. In: Histopathology of preclinical toxicity studies; Interpretation and relevance in drug safety evaluation. 3rd ed. New York: Elsevier; 2007. p.470-2.

4) Herdson PB, Garvin PJ, Jennings RB. Fine structural changes in rat liver induced by phenobarbital. Lab Invest. 1964;13(9):1032-7.

5) Owen NV, Griffing WJ, Hoffman DG, Gibson WR, Anderson RC. Effects of dietary administration of 5-(3, 4-Dichloro-phenyl)-5-ethylbarbituric acid (dichlorophenobarbital) to rats: Emphasis on hepatic drug-metabolizing enzymes and morphology. Toxicol Appl Pharmacol. 1971;18(3):720-33.

6）奈良間功，望月泰男，佐野正樹，波多野宗利．Benzbromarone (L-2214) の安全性に関する研究（ラットによる慢性毒性実験）．診療と新薬. 1977;14(12):3121-73.
7）Fikes JD, O'Sullivan MG, Bain FT, Jayo MJ, Harber ES, Carlson CS. Gastric infarction in cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis). Vet Pathol. 1996;33(2):171-5.
8）Rebelatto MC. Large granular lymphocytic leukemia. In: Suttie AW ed. Boorman's pathology of the rat; Reference and atlas. 2nd ed. London: Academic Press; 2018. p.475-7.
9）田村一利，大町康，渋谷一元，久田茂，細川暁，松本清司．造血系．日本毒性病理学会編．新毒性病理組織学．東京：西村書店；2017．p.438-9.
10）Greaves P. Lymphoreticular neoplasms. In: Histopathology of preclinical toxicity studies; Interpretation and relevance in drug safety evaluation. 4th ed. London: Academic Press; 2012. p.128-39.
11）Caldwell DJ. Review of mononuclear cell leukemia in F-344 rat bioassays and its significance to human cancer risk: A case study using alkyl phthalates. Regul Toxicol Pharmacol. 1999;30:45-53.
12）Lee WM. Drug-induced hepatotoxicity. N Engl J Med. 2003;349:474-85.
13）池田敏彦．特異体質性薬物毒性の発現メカニズムに関する最近の知見．Yakugaku Zasshi. 2015;135(4)567-78.
14）Nakayama S, Atsumi R, Takakusa H, Kobayashi Y, Kurihara A, Nagai Y, et al. A zone classification system for risk assessment of idiosyncratic drug toxicity using daily dose and covalent binding. Drug Metab Dispos. 2009;37(9):1970-7.
15）Kaufmann P, Torok M, Hanni A, Roberts P, Gasser R, Krahenbuhl S. Mechanisms of benzarone and benzbromarone-induced hepatic toxicity. Hepatology. 2005;41(4):925-35.
16）ユリノーム®錠 50mg，ユリノーム®錠 25mg　医薬品インタビューフォーム 2011 年 11 月改訂（第 4 版）．
17）Li J, Zhu X, Liu F, Cai P, Sanders C, Lee WM, et al. Cytokine and autoantibody patterns in acute liver failure. J Immunotoxicol. 2010;7(3):157-64.
18）Edling Y, Sivertsson LK, Butura A, Ingelman-Sundberg M, Ek M. Increased sensitivity for troglitazone-induced cytotoxicity using a human in vitro co-culture model. Toxicol In Vitro. 2009;23(7):1387-95.
19）Endo S, Toyoda Y, Fukami T, Nakajima M, Yokoi T. Stimulation of human monocytic THP-1 cells by metabolic activation of hepatotoxic drugs. Drug Metab Pharmacokinet. 2012;27(6):621-30.
20）Mizuno K, Fukami T, Toyoda Y, Nakajima M, Yokoi T. Terbinafine stimulates the pro-inflammatory responses in human monocytic THP-1 cells through an ERK signaling pathway. Life Sci. 2010;87(17-18):537-44.
21）Edling Y, Sivertsson L, Andersson TB, Porsmyr-Palmertz M, Ingelman-Sundberg M. Pro-inflammatory response and adverse drug reactions: Mechanisms of action of ximelagatran on chemokine and cytokine activation in a monocyte in vitro model. Toxicol In Vitro. 2008;22(6):1588-94.
22）Guidance for Industry; Reproductive and developmental toxicities -Integrating study results to assess concerns. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. September 2011.
23）ICH-S5：「医薬品の生殖発生毒性試験ガイドライン」の改訂（案）に関するご意見・情報の募集について．厚生労働省 医薬・生活衛生局 医薬品審査管理課．2017 年 9 月 6 日．

ドチヌラド

ユリス錠0.5 mg

ユリス錠1 mg

ユリス錠2 mg

第2部（モジュール2）

CTDの概要（サマリー）

2.6.7 毒性試験の概要表

株式会社富士薬品

目次

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試験の一覧表 10
2.6.7.3　トキシコキネティクス成績の一覧 11
2.6.7.4　毒性試験に使用したロット 15
2.6.7.5　単回投与毒性試験 18
2.6.7.6　反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験） 20
2.6.7.7　反復投与毒性試験 24
2.6.7.7A　ラットの 13 週間経口投与毒性試験 24
2.6.7.7B　ラットの 26 週間経口投与毒性試験 27
2.6.7.7C　サルの 13 週間経口投与毒性試験 31
2.6.7.7D　サルの 39 週間経口投与毒性試験 34
2.6.7.8　In vitro 遺伝毒性試験 37
2.6.7.8A　細菌を用いる復帰突然変異試験 37
2.6.7.8B　CHL/IU 細胞を用いる染色体異常試験 40
2.6.7.9　In vivo 遺伝毒性試験 42
2.6.7.9A　ラットの小核試験 42
2.6.7.9B　ラットの不定期 DNA 合成試験 43
2.6.7.10　がん原性試験 45
2.6.7.10A　がん原性予備試験（重要な試験以外の試験） 45
2.6.7.10B　マウスの 104 週間経口投与がん原性試験 48
2.6.7.10C　ラットの 104 週間経口投与がん原性試験 53
2.6.7.11　生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験） 58
2.6.7.12　生殖発生毒性試験－受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 61
2.6.7.12A　ラットの経口投与試験 61
2.6.7.13　生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験 64
2.6.7.13A　ラットの経口投与試験 64
2.6.7.13B　ウサギの経口投与試験 67
2.6.7.14　生殖発生毒性試験－出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 70
2.6.7.14A　ラットの経口投与試験 70
2.6.7.15　新生児を用いた試験 77
2.6.7.16　局所刺激性試験 78
2.6.7.17　その他の毒性試験 79
2.6.7.17A　抗原性試験 79
2.6.7.17B　免疫毒性試験 80
2.6.7.17C　毒性発現の機序に関する試験 82
2.6.7.17D　その他の試験 83

略号及び用語の定義一覧

略号	省略していない名称又は定義
ALP	アルカリホスファターゼ
AUC	被験薬投与時からの血漿中濃度－時間曲線下面積
B6C3F1	C57BL/6NCrl♀×C3H/HeNCrlo♂の交雑F1（マウス）
CHL/IU細胞	チャイニーズハムスター肺由来細胞株
C_{max}	最高血漿中濃度
CYP	シトクロームP450
DMSO	ジメチルスルホキシド
F12981 FYU-981	ドチヌラド（JAN：日本名）
F344	Fischer344（ラット）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
NZW	New Zealand White（ウサギ）
SD	Sprague-Dawley（ラット）
THP-1細胞	ヒト急性単球性白血病由来細胞株
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

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）[a]	GLP適用	実施施設	試験番号	CTD記載箇所
単回投与毒性	ラット／SD	強制経口	単回	0，500，1000，2000	適	[redacted]	[redacted]248	4.2.3.1-1
	サル／カニクイ	強制経口	4週間[b]	0，10，100，300，1000	適	[redacted]	[redacted]016	4.2.3.2-6（参）
反復投与毒性	ラット／SD	強制経口	2週間[c]	0，30，100，300	不適	富士薬品	F1149	4.2.3.2-1（参）
	ラット／SD	強制経口	4週間[c]	0，10，30，100，300	不適	富士薬品	F1178	4.2.3.2-2（参）
	ラット／SD	強制経口	4週間[c]	0，500，1000	不適	富士薬品	F1269	4.2.3.2-3（参）
	ラット／SD	強制経口	13週間	0，30，100，300	適	[redacted]	[redacted]249	4.2.3.2-4
	ラット／SD	強制経口	26週間	0，12，60，300	適	[redacted]	[redacted]042	4.2.3.2-5
	サル／カニクイ	強制経口	4週間[c]	0，10，100，300，1000	適	[redacted]	[redacted]016	4.2.3.2-6（参）
					不適	富士薬品	F1236（TK）	4.2.3.2-7（参）
					不適	富士薬品	F1236-1	4.2.3.2-8（参）
	サル／カニクイ	強制経口	13週間	0，10，30，100	適	[redacted]	[redacted]025	4.2.3.2-9
					不適	[redacted]	[redacted]027	4.2.3.2-10（参）
	サル／カニクイ	強制経口	39週間	0，3，12，50	適	[redacted]	[redacted]041	4.2.3.2-11

2.6.7.1　毒性試験一覧表

（その2）　　被験物質名：ドチヌラド

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）[a]	GLP適用	実施施設	試験番号	CTD記載箇所
遺伝毒性	ネズミチフス菌，大腸菌	in vitro	−	用量設定試験： 0，8.19～5000 μg/plate 本試験： 0，78.1～5000 μg/plate	適	[redacted]	[redacted]570 [redacted]056)	4.2.3.3.1-1
	CHL/IU細胞	in vitro	−	6時間処理（-S9）： 0，512～1000 μg/mL 6時間処理（+S9）： 0，328～640 μg/mL 24時間処理（-S9）： 0，262～410 μg/mL	適	[redacted]	[redacted]571 [redacted]057)	4.2.3.3.1-2
	ラット／SD	強制経口	2日間	0，250，500，1000	適	[redacted]	[redacted]572 [redacted]058)	4.2.3.3.2-1
	ラット／SD	強制経口	単回	0，500，1000	適	[redacted]	[redacted]573 [redacted]059)	4.2.3.3.2-2
がん原性	マウス／B6C3F1	強制経口	単回，4週間[c]	0，100，300，1000	不適	富士薬品	FB0104	4.2.3.4.1-1 （参）
	マウス／B6C3F1	強制経口	13週間[c]	0，30，100，300	適	[redacted]	[redacted]783 [redacted]069)	4.2.3.4.1-2 （参）
	マウス／B6C3F1	強制経口	104週間	0，3，10，30	適	[redacted]	[redacted]343 [redacted]072)	4.2.3.4.1-3
	ラット／F344	強制経口	13週間[c]	0，30，100，300	適	[redacted]	[redacted]782 [redacted]068)	4.2.3.4.1-4 （参）
	ラット／F344	強制経口	104週間	0，3，10，30	適	[redacted]	[redacted]342 [redacted]071)	4.2.3.4.1-5

2.6.7.1　毒性試験一覧表

（その3）　　被験物質名：ドチヌラド

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）[a]	GLP適用	実施施設	試験番号	CTD記載箇所
生殖発生毒性	ラット／SD	強制経口	交配前～妊娠初期[d]	0，30，100，300	適	[redacted]	[redacted]040	4.2.3.5.1-1
	ラット／SD	強制経口	妊娠7～17日[c]	0，100，300，500	適	[redacted]	[redacted]250	4.2.3.5.2-1（参）
	ラット／SD	強制経口	妊娠7～17日	0，30，100，300	適	[redacted]	[redacted]038	4.2.3.5.2-2
	ウサギ／NZW	強制経口	13日間[c]	100，300，500，1000	不適	[redacted]	[redacted]287	4.2.3.5.2-3（参）
	ウサギ／NZW	強制経口	妊娠6～18日[c]	0，100，300，500	適	[redacted]	[redacted]251	4.2.3.5.2-4（参）
	ウサギ／NZW	強制経口	妊娠6～18日[c]	0，10，30	適	[redacted]	[redacted]115	4.2.3.5.2-5（参）
	ウサギ／NZW	強制経口	妊娠6～18日	0，10，30，100，300	適	[redacted]	[redacted]037	4.2.3.5.2-6
	ラット／SD	強制経口	妊娠7日～分娩後13日[c]	0，10，30，100，300	不適	富士薬品	FB0081	4.2.3.5.3-1（参）
	ラット／SD	強制経口	妊娠7日～分娩後21日	0，30，100，300	適	[redacted]	[redacted]039	4.2.3.5.3-2

2.6.7.1　毒性試験一覧表

（その 4）　　被験物質名：ドチヌラド

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）[a]	GLP適用	実施施設	試験番号	CTD記載箇所
その他 抗原性	モルモット／ Hartley	感作：強制経口 感作：皮下 惹起：静脈内	15日間/3週 3日間/3週 単回	0，0.1，1 1（FCA/FIA併用） 1	適	[redacted]	[redacted]043	4.2.3.7.1-1
		受身感作：皮内 惹起：静脈内	単回 単回	－（能動感作動物の血清） 1				
	マウス／C3H	感作：強制経口 感作：腹腔内	15日間/3週 3日間/3週	0，0.1，1 1［$Al(OH)_3$併用］	適	[redacted]	[redacted]044	4.2.3.7.1-2
	マウス／BALB/c	感作：強制経口 感作：腹腔内	15日間/3週 3日間/3週	0，0.1，1 1［$Al(OH)_3$併用］				
	ラット／SD	受身感作：皮内 惹起：静脈内	単回 単回	－（能動感作動物の血清） 1				
免疫毒性 リンパ球 幼若化反応	サル／カニクイ 全血	in vitro	－[c]	0，100，1000 μg/mL	不適	[redacted]	[redacted]017	4.2.3.7.2-1 （参）
	サル／カニクイ 全血	in vitro	－[e]	0，100，1000 μg/mL	不適	[redacted]	[redacted]020	4.2.3.7.2-2 （参）
	サル／カニクイ 全血	in vitro	－[e]	0，100，300，1000 μg/mL	不適[f]	[redacted]	[redacted]021	4.2.3.7.2-3 （参）
	サル／カニクイ 全血	in vitro	－	0，30，100，300 μg/mL	不適[f]	[redacted]	[redacted]022	4.2.3.7.2-4 （参）
	ヒト／日本人 全血	in vitro	－	0，30，100，300 μg/mL	不適[f]	[redacted]	[redacted]018	4.2.3.7.2-5 （参）
	ラット／SD 全血	in vitro	－[c]	0，100，300，1000 μg/mL	不適	[redacted]	[redacted]019	4.2.3.7.2-6 （参）

2.6.7.1　毒性試験一覧表

（その 5）　　被験物質名：ドチヌラド

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）[a]	GLP適用	実施施設	試験番号	CTD記載箇所
その他 機序 肝薬物代謝酵素誘導	ラット／SD	強制経口	7日間	0，1，3，10	不適[f]	富士薬品	FB0155	4.2.3.7.3-1 （参）
	ラット／SD	強制経口	14日間	0，30，300	不適[f]	富士薬品	FB0267	4.2.3.7.3-2 （参）
	ラット凍結肝細胞	in vitro	－	0，1，3，10，30，100，300 μmol/L	不適[f]	富士薬品	FB0204	4.2.3.7.3-3 （参）
その他 光毒性	ラット／Long-Evans	強制経口	単回	0，1，10，100	適	[redacted]	[redacted]028	4.2.3.7.7-1
その他 血漿中薬物濃度検討（結晶形の異なる原薬）	ラット／SD	強制経口	単回	30，300	不適[f]	富士薬品	FB0124	4.2.3.7.7-2 （参）
	ウサギ／NZW	強制経口	単回	30，300	不適[f]	富士薬品	FB0140	4.2.3.7.7-3 （参）
	サル／カニクイ	強制経口	単回	50	不適	[redacted]	[redacted]034	4.2.3.7.7-4 （参）

2.6.7.1　毒性試験一覧表

（その 6）　　被験物質名：ドチヌラド

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量（mg/kg/日）[a]	GLP適用	実施施設	試験番号	CTD記載箇所
その他 その他 共有結合能	ヒト凍結肝細胞	in vitro	—	10 μmol/L	不適[f]	[redacted]	[redacted]1142[redacted]	4.2.3.7.7-5 （参）
その他 ミトコンドリアに対する影響	ラット肝ミトコンドリア	in vitro	—	0，10，30，100 μmol/L	不適[f]	富士薬品	FB0270	4.2.3.7.7-6 （参）
	ウシ心ミトコンドリア	in vitro	—	0，100 μmol/L	不適[f]	富士薬品	FB0275	4.2.3.7.7-7 （参）
その他 IL-8産生	THP-1細胞	in vitro	—	—（予備検討，本薬を使用せず）	不適	富士薬品	FB0139	4.2.3.7.7-8 （参）
	THP-1細胞	in vitro	—	0，3，10，30，100 μmol/L	不適[f]	富士薬品	FB0142	4.2.3.7.7-9 （参）

—：該当なし，（参）：参考資料.

[redacted]　富士薬品：（株）富士薬品.

$Al(OH)_3$：水酸化アルミニウムゲル，FCA：フロイント完全アジュバント，FIA：フロイント不完全アジュバント，-S9：代謝活性化系非存在下，+S9：代謝活性化系存在下.

a：特に記載のない場合．反復投与毒性試験の下線を施した投与量は，無毒性量を示す.

b：投与開始日の一般状態観察結果で評価.

c：用量設定試験／予備試験

d：雄では交配前4週間～交配期間及び剖検前日まで，雌では交配前2週間～交配期間及び妊娠7日まで.

e：確認試験

f：「申請資料の信頼性の基準」適用試験

2.6.7.2　トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質名：ドチヌラド

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与量（mg/kg/日）	GLP適用	試験番号	CTD記載箇所
単回及び4週間投与がん原性試験の用量設定試験	マウス／B6C3F1	強制経口	100，300，1000	不適	FB0104	4.2.3.4.1-1
13週間投与がん原性試験の用量設定試験	マウス／B6C3F1	強制経口	30，100，300	適	[redacted]	4.2.3.4.1-2
104週間投与がん原性試験	マウス／B6C3F1	強制経口	3，10，30	適	[redacted]	4.2.3.4.1-3
単回投与毒性試験	ラット／SD	強制経口	500，1000，2000	適	[redacted]	4.2.3.1-1
2週間投与毒性試験	ラット／SD	強制経口	30，100，300	不適	F1149	4.2.3.2-1
4週間投与毒性試験	ラット／SD	強制経口	10，30，100，300	不適	F1178	4.2.3.2-2
4週間投与毒性試験	ラット／SD	強制経口	500，1000	不適	F1269	4.2.3.2-3
13週間投与毒性試験	ラット／SD	強制経口	30，100，300	適	[redacted]	4.2.3.2-4
26週間投与毒性試験	ラット／SD	強制経口	12，60，300	適	[redacted]	4.2.3.2-5
血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）	ラット／SD	強制経口	30，300	不適	FB0124	4.2.3.7.7-2
13週間投与がん原性試験の用量設定試験	ラット／F344	強制経口	30，100，300	適	[redacted]	4.2.3.4.1-4
104週間投与がん原性試験	ラット／F344	強制経口	3，10，30	適	[redacted]	4.2.3.4.1-5
胚・胎児発生試験	ウサギ／NZW	強制経口	10，30，100，300	適	[redacted]	4.2.3.5.2-6
血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）	ウサギ／NZW	強制経口	30，300	不適	FB0140	4.2.3.7.7-3
4週間投与毒性試験	サル／カニクイ	強制経口	10，100，300，1000	不適	F1236（TK）	4.2.3.2-7
13週間投与毒性試験	サル／カニクイ	強制経口	10，30，100	適	[redacted]	4.2.3.2-9
39週間投与毒性試験	サル／カニクイ	強制経口	3，12，50	適	[redacted]	4.2.3.2-11
血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）	サル／カニクイ	強制経口	50	不適	[redacted]	4.2.3.7.7-4

2.6.7.3　トキシコキネティクス成績の一覧

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

経口投与による定常状態でのAUC_{0-24}（μg·hr/mL）										
1日投与量 (mg/kg)	マウス		ラット				サル		ウサギ	ヒト
	雄	雌	雄		雌		雄	雌	雌	男性
			(SD)	(F344)	(SD)	(F344)				
0.07	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5.05[j]
3	30.4[b]	76.5[b]	—	53.6[f]	—	67.6[f]	107[h]	96.2[h]	—	—
10	90.4[b]	208[b]	—	168[f]	—	225[f]	338[g]	354[g]	131[i]	—
12	—	—	197[d]	—	337[d]	—	443[h]	87.6[h]	—	—
30	227[b] 322[a]	508[b] 393[a]	693[c]	499[f] 512[e]	1200[c]	722[f] 575[e]	988[g]	917[g]	280[i]	—
50	—	—	—	—	—	—	1688[h]	1333[h]	—	—
60	—	—	1090[d]	—	2684[d]	—	—	—	—	—
100	1190[a]	1250[a]	1850[c]	1580[e]	3570[c]	2150[e]	2305[g]	2126[g]	879[i]	—
300	2470[a]	2190[a]	6620[c] 3945[d]	3530[e]	9810[c] 7380[d]	3830[e]	—	—	1968[i]	—

—：該当なし.

a：マウスの13週間投与がん原性試験の用量設定試験（投与13週），b：マウスの104週間投与がん原性試験（投与52週），

c：ラットの13週間投与毒性試験（投与13週），d：ラットの26週間投与毒性試験（投与26週），e：ラットの13週間投与がん原性試験の用量設定試験（投与13週），

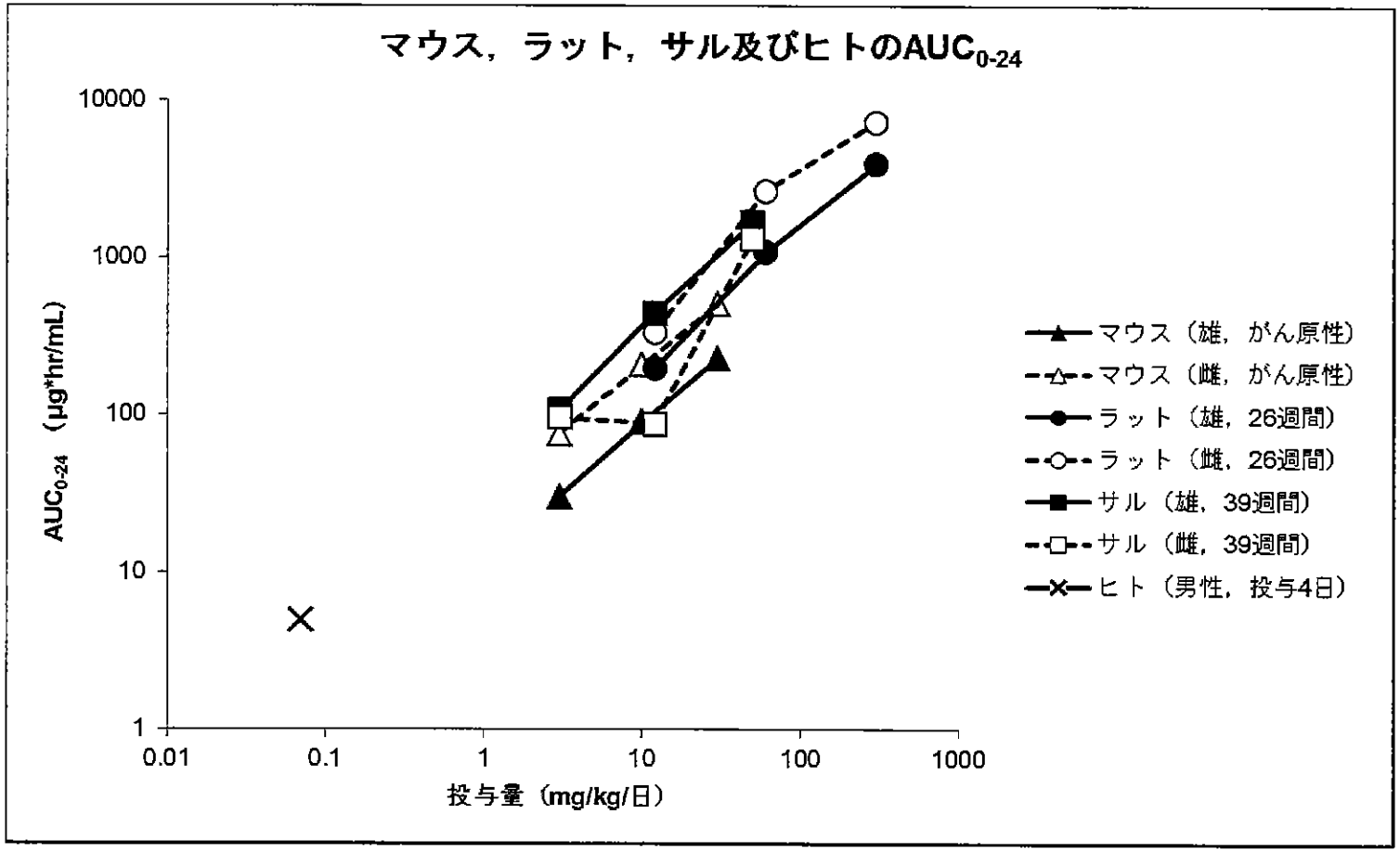
f：ラットの104週間投与がん原性試験（投与52週），g：サルの13週間投与毒性試験（投与13週），h：サルの39週間投与毒性試験（投与39週），

i：ウサギの胚・胎児発生試験（妊娠18日），

j：健康成人男性を対象としたFYU-981の7日間反復投与による臨床薬理試験2における4 mg経口投与時のAUC_{0-24}（投与4日目：投与1，4及び7日目で測定した中の最大値）（2.7.6.4項参照）.

2.6.7.3　トキシコキネティクス成績の一覧

（その 2）　　被験物質名：ドチヌラド



2.6.7.3　トキシコキネティクス成績の一覧

（その3）　　被験物質名：ドチヌラド

経口投与による定常状態でのC_{max}（μg/mL）										
1日投与量 (mg/kg)	マウス		ラット				サル		ウサギ	ヒト
	雄	雌	雄		雌		雄	雌	雌	男性
			(SD)	(F344)	(SD)	(F344)				
0.07	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.421[j]
3	5.96[b]	10.6[b]	—	7.34[f]	—	9.96[f]	14.7[h]	13.9[h]	—	—
10	17.8[b]	36.9[b]	—	29.5[f]	—	27.1[f]	59.7[g]	56.0[g]	13.5[i]	—
12	—	—	33.0[d]	—	45.7[d]	—	63.4[h]	16.1[h]	—	—
30	55.1[b] 88.9[a]	123[b] 84.2[a]	120[c]	70.9[f] 63.1[e]	228[c]	83.6[f] 68.3[e]	119[g]	119[g]	47.8[i]	—
50	—	—	—	—	—	—	150[h]	152[h]	—	—
60	—	—	118[d]	—	209[d]	—	—	—	—	—
100	225[a]	208[a]	241[c]	165[e]	439[c]	207[e]	228[g]	188[g]	104[i]	—
300	343[a]	381[a]	483[c] 286[d]	332[e]	657[c] 441[d]	343[e]	—	—	154[i]	—

－：該当なし.

a：マウスの13週間投与がん原性試験の用量設定試験（投与13週），b：マウスの104週間投与がん原性試験（投与52週），

c：ラットの13週間投与毒性試験（投与13週），d：ラットの26週間投与毒性試験（投与26週），e：ラットの13週間投与がん原性試験の用量設定試験（投与13週），

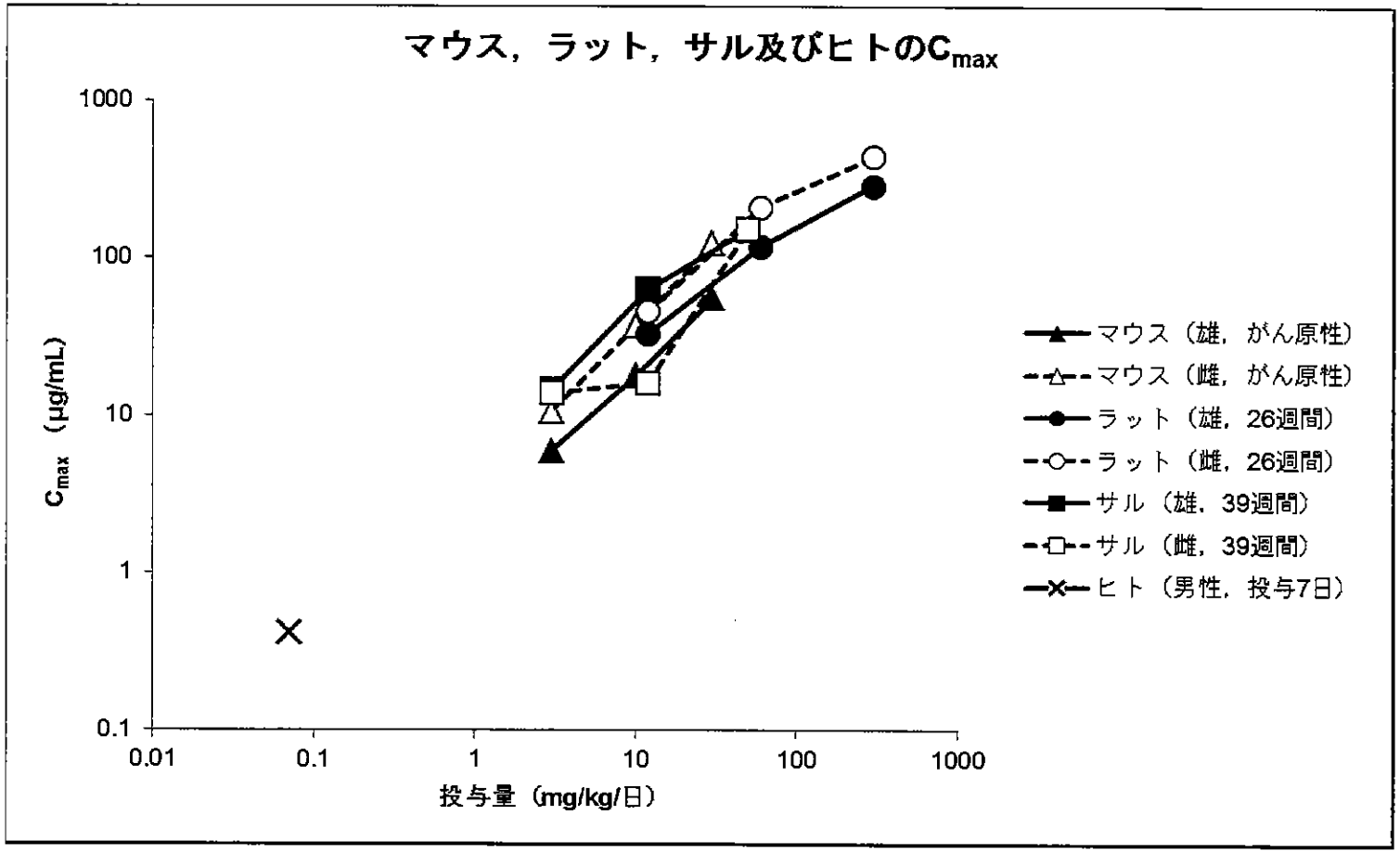
f：ラットの104週間投与がん原性試験（投与52週），g：サルの13週間投与毒性試験（投与13週），h：サルの39週間投与毒性試験（投与39週），

i：ウサギの胚・胎児発生試験（妊娠18日），

j：健康成人男性を対象としたFYU-981の7日間反復投与による臨床薬理試験2における4 mg経口投与時のC_{max}（投与7日目：投与1，4及び7日目で測定した中の最大値）（2.7.6.4項参照）.

2.6.7.3　トキシコキネティクス成績の一覧

（その 4）　　被験物質名：ドチヌラド



2.6.7.4　毒性試験に使用したロット

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

ロット番号	純度（%）	規格設定された不純物		試験番号	試験の種類
		個別[a]	総量		
申請規格					
原薬	[redacted]	[redacted]	[redacted]	－	－
製剤	[redacted]	[redacted]	[redacted]	－	－
140-125	[redacted]	[redacted]	[redacted]	F1149	ラット，経口投与，2週間投与毒性試験
142-108	[redacted]	[redacted]	[redacted]	F1178	ラット，経口投与，4週間投与毒性試験
157-002	[redacted]	[redacted]	[redacted]	F1269	ラット，経口投与，4週間投与毒性試験（追加試験）
147-082	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]016	サル，経口投与，4週間投与毒性試験
				[redacted]019	ラット全血，in vitro，リンパ球幼若化反応の検討（予備試験）
				[redacted]017	サル全血，in vitro，リンパ球幼若化反応の検討（予備試験）
				[redacted]020	サル全血，in vitro，リンパ球幼若化反応の検討（確認試験）
				[redacted]021	サル全血，in vitro，リンパ球幼若化反応の検討（確認試験2）
				[redacted]022	サル全血，in vitro，リンパ球幼若化反応の検討
				[redacted]018	ヒト全血，in vitro，リンパ球幼若化反応の検討
YII[redacted]0901	[redacted]	[redacted]	[redacted]	FB0104	マウス，経口投与，単回及び4週間投与がん原性試験の用量設定試験
				[redacted]248	ラット，経口投与，単回投与毒性試験
				[redacted]249	ラット，経口投与，13週間投与毒性試験
				[redacted]572 ([redacted]058)	ラット，経口投与，小核試験
				[redacted]573 ([redacted]059)	ラット，経口投与，不定期DNA合成試験
				[redacted]250	ラット，経口投与，胚・胎児発生試験の用量設定試験
				FB0081	ラット，経口投与，出生前後試験の用量設定試験
				[redacted]028	ラット，経口投与，光毒性試験
				FB0124	ラット，経口投与，血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）
				[redacted]287	ウサギ，経口投与，胚・胎児発生試験の用量設定試験（非妊娠動物）
				[redacted]251	ウサギ，経口投与，胚・胎児発生試験の用量設定試験
				[redacted]115	ウサギ，経口投与，胚・胎児発生試験の用量設定試験（追加試験）
				FB0140	ウサギ，経口投与，血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）

2.6.7.4　毒性試験に使用したロット

（その 2）　　被験物質名：ドチヌラド

ロット番号	純度（%）	規格設定された不純物		試験番号	試験の種類
		個別[a]	総量		
申請規格				―	―
原薬				―	―
製剤					
YII[redacted]0901				[redacted]025	サル，経口投与，13週間投与毒性試験
（続き）				[redacted]034	サル，経口投与，血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）
				[redacted]670 [redacted]056)	細菌，in vitro，復帰突然変異試験
				[redacted]671 [redacted]057)	CHL/IU細胞，in vitro，染色体異常試験
				[redacted]1142-G	ヒト凍結肝細胞，in vitro，共有結合能の検討
227-078-2				[redacted]034	サル，経口投与，血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）
YII[redacted]0901				[redacted]783 [redacted]069)	マウス，経口投与，13週間投与がん原性試験の用量設定試験
				[redacted]044	マウス及びラット，経口投与／腹腔内投与，抗原性試験
				[redacted]042	ラット，経口投与，26週間投与毒性試験
				[redacted]782 [redacted]068)	ラット，経口投与，13週間投与がん原性試験の用量設定試験
				[redacted]040	ラット，経口投与，受胎能試験
				[redacted]038	ラット，経口投与，胚・胎児発生試験
				[redacted]039	ラット，経口投与，出生前後試験
				FB0155	ラット，経口投与，肝薬物代謝酵素誘導の検討
				FB0124	ラット，経口投与，血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）
				[redacted]043	モルモット，経口投与／皮下投与，抗原性試験
				[redacted]037	ウサギ，経口投与，胚・胎児発生試験
				FB0140	ウサギ，経口投与，血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）
				[redacted]041	サル，経口投与，39週間投与毒性試験
				FB0142	THP-1細胞，in vitro，IL-8産生を指標とした検討
				FB0204	ラット凍結肝細胞，in vitro，肝薬物代謝酵素誘導の検討
YII[redacted]1001				[redacted]843 [redacted]072)	マウス，経口投与，104週間投与がん原性試験
				[redacted]842 [redacted]071)	ラット，経口投与，104週間投与がん原性試験

2.6.7.4　毒性試験に使用したロット

（その 3）　　被験物質名：ドチヌラド

ロット番号	純度（%）	規格設定された不純物		試験番号	試験の種類
		個別[a]	総量		
申請規格					
原薬				－	－
製剤				－	－
YII[redacted]0201				FB0267	ラット，経口投与，肝薬物代謝酵素誘導の検討
				FB0270	ラット肝ミトコンドリア，in vitro，ミトコンドリアに対する影響の検討
				FB0275	ウシ心ミトコンドリア，in vitro，ミトコンドリアに対する影響の検討

NE：検査せず.
a：個別の不純物の最大値.
ロット番号と結晶形の対応：ドチヌラド [redacted] はロット番号140-125，142-108，157-002，147-082及びYII[redacted]0901，ドチヌラド [redacted] はロット番号227-078-2，YII[redacted]0901，YII[redacted]1001及びYII[redacted]0201.

2.6.7.5　単回投与毒性試験

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	最大非致死量（mg/kg）	概略の致死量（mg/kg）	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
ラット／Crl:CD(SD)	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	0, 500, 1000, 2000	雄5, 雌5 （TKサテライト群設定）	500	1000	死亡，一般状態，体重 ≧500：流涙．体重の低値又は増加抑制傾向（500雄，1000雌雄）． ≧1000：死亡（1000；雄4例・雌3例，2000；雄5例・雌5例）．運動性の低下，不規則呼吸，攣縮，腹臥位／横臥位，流涎，あえぎ呼吸／緩徐呼吸又は強直性／間代性痙攣．無糞（1000雌），被毛の汚れ（1000雄）． 剖検 1000：肺全葉の散在性暗赤色巣，気管支の泡沫液貯留（死亡例雌）． 2000：腺胃部粘膜の暗赤色巣（死亡例）． TK（雄/雌，n＝4） 投与量（mg/kg）　500　1000　2000 C_{max}（μg/mL）　543/660　677/NC　NC/NC AUC_{0-24}（μg·hr/mL）　9540/9930　13100/NC　NC/NC	[redacted]248 4.2.3.1-1

2.6.7.5　単回投与毒性試験

（その2）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	最大非致死量（mg/kg）	概略の致死量（mg/kg）	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
サル／カニクイ	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	0, 10, 100, 300, 1000	雄1, 雌1	1000	＞1000	死亡（投与1日） なし. 一般状態（投与1日） 10，100：変化なし. ≧300：嘔吐.	[redacted]016[a] 4.2.3.2-6
						TK（雄/雌，投与1日，n＝1） 投与量（mg/kg）　10　100　300　1000 C_{max}（μg/mL）　48.8/49.2　296.7/302.1　513.8/648.6　451.9/467.1 AUC_{0-24}（μg·hr/mL）　450.4/354.5　3797.1/3676.6　5214.5/7157.6　7593.8/9145.9	F1236（TK）[a] 4.2.3.2-7

NC：算出せず.
a：4週間経口投与毒性試験（用量設定試験）の投与開始日の一般状態観察及びTK測定結果．なお，TK測定［試験番号F1236（TK）］はGLP不適.

2.6.7.6　反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び動物数／群	無毒性量	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
ラット／Crl:CD(SD)	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	2週間	0, 30, 100, 300	雄6（TKサテライト群設定）	求めず	100：肝臓の瘢痕[a]． 300：肝臓の実重量及び体重比重量の高値[b]，クッパー細胞増加[a]．脾臓の表面粗造[a]，白色斑[a]又は白色巣[a]，びまん性細網細胞増加[a]及び限局性B細胞域過形成[a]． 死亡なし．一般状態，体重，血液学的検査所見，血液生化学的検査所見及び尿検査所見に本薬投与に関連した変化なし． TK（雄，投与14日，n＝3） 投与量（mg/kg/日）　30　100　300 C_{max}（μg/mL）　48.2　94.0　203.7 AUC_{0-24}（μg·hr/mL）　371.5　1085.2　2824.6	F1149[cd] 4.2.3.2-1
ラット／Crl:CD(SD)	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	4週間	0, 10, 30, 100, 300	雄5, 雌5（TKサテライト群設定）	求めず	300：雌雄で肝臓の実重量及び体重比重量の高値[b]，軽微な肝細胞肥大[b]． 死亡なし．一般状態，体重，血液学的検査所見，血液生化学的検査所見，尿検査所見及び剖検所見に本薬投与に関連した変化なし． TK（雄/雌，投与28日，n＝3） 投与量（mg/kg/日）　10　30　100　300 C_{max}（μg/mL）　20.9/31.8　69.7/84.3　116.1/166.4　166.7/344.0 AUC_{0-24}（μg·hr/mL）　93.4/149.7　287.8/454.6　1042.0/1811.3　2708.8/4741.6	F1178[cd] 4.2.3.2-2

2.6.7.6　反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）

（その2）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び動物数／群	無毒性量	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
ラット／Crl:CD(SD)	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	4週間	0, 500, 1000	雄6, 雌6 （TKサテライト群設定）	求めず	≧500：雌で体重の低値，雄で体重の低値傾向．雌雄で肝臓の実重量及び体重比重量の高値[b]，軽微又は軽度な肝細胞肥大[b]．雄で肝臓の大型化[b]． 1000：死亡（雌1例，投与3日）．雌雄で総コレステロール及びリン脂質の高値[b]，雌でトリグリセリドの高値[b]，副腎の実重量及び体重比重量の低値[e]，雄でカルシウム及び無機リンの高値[e]． 一般状態，血液学的検査所見及び尿検査所見に本薬投与に関連した変化なし． TK（雄/雌，投与28日，n＝3） 投与量（mg/kg/日）　500　1000 C_{max}（μg/mL）　236.7/232.6　254.4/315.0 AUC_{0-24}（μg·hr/mL）　3794.1/3727.9　4695.0/4784.0	F1269[cd] 4.2.3.2-3

2.6.7.6　反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）

（その3）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び動物数／群	無毒性量	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
サル／カニクイ	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	4週間	0, 10, 100, 300, 1000	雄1, 雌1	求めず	≧300：嘔吐，赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値，単球数及び大型非染色細胞数の高値，トリグリセリドの高値，顎下リンパ節及び脾臓の腫大，肝臓及び脾臓の実重量及び体重比重量の高値．骨髄，脾臓及び胸腺のリンパ球の増生及び胚中心の輪郭不明瞭，肝臓のクッパー細胞の肥大，骨髄細胞の密度低下，肝臓，脾臓及びリンパ節の髄外造血，肺及び胸腺の巨核球の増加，胸腺の萎縮，脾臓の細動脈周囲での細胞密度の低下． 1000：体重の減少又は減少傾向及び摂餌量の低値，網赤血球比率，白血球数及び好中球数の高値，尿中ケトン体陽性．リンパ節のリンパ球の増生，肝臓及び肺のリンパ球の集簇巣，リンパ節の類上皮細胞様細胞結節，脂肪織の萎縮． 死亡なし．眼科学的検査所見及び心電図検査所見に本薬投与に関連した変化なし．	[redacted]016[d] 4.2.3.2-6
						TK（雄/雌，投与28日，n＝1） 投与量（mg/kg/日）：10 / 100 / 300 / 1000 C_{max}（μg/mL）：54.2/59.9 / 244.8/270.2 / 349.9/181.4 / 238.1/265.1 AUC_{0-24}（μg·hr/mL）：393.1/329.1 / 2365.5/2301.5 / 3274.7/2275.6 / 3924.1/4475.2	F1236（TK）[c] 4.2.3.2-7
						免疫組織化学染色による細胞鑑別（予備的検討）の結果，1000 mg/kg/日群の胸腺，脾臓，リンパ節，骨髄及び肝臓で増生していた細胞で共通した反応としてCD3陽性細胞の増加が観察され，これらの臓器で増生していた細胞は主にTリンパ球と考えられた．	F1236-1[c] 4.2.3.2-8

2.6.7.6　反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）

（その 4）　　被験物質名：ドチヌラド

a：ラットの13及び26週間経口投与毒性試験の300 mg/kg/日群で認められていないことから，偶発的変化と考えられた．
b：肝臓の変化はラットの13週間経口投与毒性試験で認められたものと同様であり，本薬投与による適応性変化と考えられた．また，同様に血液生化学的検査でみられた総コレステロール，リン脂質及びトリグリセリドの変化については肝臓の機能亢進に起因した二次的変化で，毒性学的意義は低いと考えられた．
c：GLP不適
d：最終報告書では投与開始日を投与0日として記載しているが，試験間で日数表記をそろえるために，本項では投与開始日を投与1日として記載した．
e：病理組織学的変化を伴っていないので，毒性学的意義のない変化と考えられた．

2.6.7.7　反復投与毒性試験

2.6.7.7A　ラットの 13 週間経口投与毒性試験

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：F12981のラットにおける13週間反復経口投与毒性試験及び4週間回復性試験
動物種／系統：ラット／Crl:CD(SD)　　**投与期間**：13週間　　**試験番号**：[redacted]249
試験開始時週齢：6週齢　　**休薬期間**：4週間　　**CTDにおける記載箇所**：4.2.3.2-4
初回投与年月日：[redacted]　　**投与方法**：強制経口　　**GLP適用**：適
媒体／投与形態：0.5%メチルセルロース水溶液／懸濁
特記事項：対照群及び300 mg/kg/日群にそれぞれ雌雄各5例を追加し，投与終了後の回復性を検討した．また，サテライト動物を追加して，トキシコキネティクスを検討した．
無毒性量：100 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）		0（媒体）		30		100		300	
動物数		雄：15	雌：15	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：15	雌：15
トキシコキネティクス（n＝4）									
C_{max}	投与1日	ND	ND	97.7	118	194	290	354	434
（μg/mL）	投与28日	ND	ND	124	136	291	329	367	424
	投与91日	ND	ND	120	228	241	439	483	657
$AUC_{0\text{-}24}$	投与1日	ND	ND	488	661	1710	2730	4970	6420
（μg·hr/mL）	投与28日	ND	ND	437	565	1940	2740	4590	5320
	投与91日	ND	ND	693	1200	1850	3570	6620	9810
特記すべき所見									
検査動物数		15	15	10	10	10	10	15	15
死亡及び切迫殺動物数		0	0	0	0	0	0	1[a]	0
一般状態		—	—	—	—	—	—	—	—
体重（g）	投与64日	583	321	580	303	571	301	559	301*
	投与91日	635	337	627	319	620	316	595	315*
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査		—	—	—	—	—	—	—	—

2.6.7.7A　ラットの 13 週間経口投与毒性試験

（その 2）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		30		100		300	
動物数	雄：15	雌：15	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：15	雌：15
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
血液学的検査								
赤血球数（10^6/mm^3）	9.36	8.15	9.21	8.15	9.46	8.10	8.77**	7.80
ヘモグロビン濃度（g/dL）	15.9	15.3	16.0	15.1	16.0	15.0	15.1**	14.5*
ヘマトクリット値（%）	49.1	45.5	49.1	45.0	49.4	44.9	46.6**	43.3*
血液生化学的検査								
ALP（U/L）[b]	298	139	299	146	318	139	345	196*
総コレステロール（mg/dL）[b]	60	76	56	75	67	81	78*	108**
リン脂質（mg/dL）[b]	106	141	96	140	109	147	116	181#
クレアチニン（mg/dL）[c]	0.33	0.40	0.35	0.40	0.35	0.42	0.37**	0.44
無機リン（mg/dL）[c]	6.26	5.61	6.34	5.35	6.36	5.63	7.03**	5.70
クロライド（mEq/L）[c]	107.2	108.4	106.9	108.6	106.8	107.6	105.6*	106.3*
剖検	—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量								
肝臓　実重量（g）[b]	15.6	7.8	15.3	8.0	16.4	8.5	18.3*	9.9**
体重比重量（%）[b]	2.582	2.450	2.565	2.652	2.783*	2.831**	3.304**	3.296**
腎臓　実重量（g）[c]	3.56	1.96	3.67	2.01	3.85	1.98	3.99*	2.01
体重比重量（%）[c]	0.591	0.615	0.618	0.666	0.659*	0.658	0.726**	0.670*
病理組織学的検査（例数）								
肝臓　肝細胞肥大，軽度[b]	0	0	0	0	0	0	6	2
検査動物数	2	2	0	0	0	0	2	2
電子顕微鏡検査（例数）								
肝臓　肝細胞滑面小胞体の増生[b]	0	0	NE	NE	NE	NE	1	0

2.6.7.7A　ラットの13週間経口投与毒性試験

（その3）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）		0（媒体）		30		100		300	
動物数		雄：15	雌：15	雄：10	雌：10	雄：10	雌：10	雄：15	雌：15
回復性の評価									
検査動物数		5	5	0	0	0	0	4	5
一般状態		—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
体重（g）	休薬1日	627	340	NE	NE	NE	NE	616	310$^{\$\$}$
	休薬8日	646	352	NE	NE	NE	NE	641	319$^{\$\$}$
	休薬22日	670	362	NE	NE	NE	NE	680	336$^{\$}$
	休薬28日	671	359	NE	NE	NE	NE	686	342
摂餌量		—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
眼科学的検査		—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
尿検査		—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
血液学的検査									
赤血球数（$10^6/mm^3$）		9.25	8.54	NE	NE	NE	NE	9.23	8.11$^{\$}$
血液生化学的検査		—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
剖検		—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
器官重量									
肝臓　体重比重量（%）[b]		2.353	2.238	NE	NE	NE	NE	2.705	2.785$^{\&}$
病理組織学的検査		—	—	NE	NE	NE	NE	—	—

－：特記すべき所見なし，ND：定量下限濃度未満，NE：検査せず．

*：$p<0.05$，**：$p<0.01$（Dunnett検定）．$^{\#}$：$p<0.05$（平均順位の差についてDunnett型検定）．$^{\$}$：$p<0.05$，$^{\$\$}$：$p<0.01$（Student-t検定）．$^{\&}$：$p<0.05$（Aspin-Welch-t検定）．

a：投与87日に死亡した．死亡前の一般状態，体重などに特記すべき変動はなく，剖検で肺の全葉に散在性の暗赤色巣，気管支に泡沫液の貯留及び鼻周囲の被毛の汚れなどがみられたことから，本例の死亡は経口投与に関連した誤嚥によるものと考えられた．剖検で肝臓及び盲腸の大型化もみられた．病理組織学的検査で，肺の血管周囲の水腫及び胸腺皮質の出血が認められた．

b：本所見は傷害性変化ではなく，肝臓での薬物代謝能亢進に基づく生体の適応性変化と考えられ，毒性学的意義は低いと考えられた．血液生化学的検査でみられた変化は肝臓の機能亢進に起因する二次的所見と考えられた．

c：尿検査で本薬投与に関連した変化はなく，病理組織学的検査で器質的傷害を示す変化がみられないことから，毒性学的意義の低い変化と考えられた．

2.6.7.7B　ラットの26週間経口投与毒性試験

（その1）　　被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：FYU-981のラットにおける26週間反復経口投与毒性試験及び4週間回復性試験
動物種／系統：ラット／Crl:CD(SD)　　**投与期間**：26週間　　**試験番号**：[redacted]042
試験開始時週齢：6週齢　　**休薬期間**：4週間　　**CTDにおける記載箇所**：4.2.3.2-5
初回投与年月日：[redacted]　　**投与方法**：強制経口　　**GLP適用**：適
媒体／投与形態：0.5%メチルセルロース水溶液／懸濁
特記事項：対照群及び300 mg/kg/日群にそれぞれ雌雄各6例を追加し，投与終了後の回復性を検討した．また，サテライト動物を追加して，トキシコキネティクスを検討した．最終報告書では投与開始日を投与0日として記載しているが，試験間で日数表記をそろえるために，本項では投与開始日を投与1日として記載した．
無毒性量：60 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）		0（媒体）		12		60		300	
動物数		雄：18	雌：18	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：18	雌：18
トキシコキネティクス（n＝3～4[a]）									
C_{max}	投与1日	ND	ND	10.49	20.03	90.01	117.3	282.4	382.1
（μg/mL）	投与182日	ND	ND	32.97	45.69	118.2	208.8	286.2	440.6
$AUC_{0\text{-}24}$	投与1日	ND	ND	99.72	167.1	1086	1752	4509	6160
（μg·hr/mL）	投与182日	ND	ND	196.7	337.4	1090	2684	3945	7380
特記すべき所見									
検査動物数		18	18	12	12	12	12	18	18
死亡及び切迫殺動物数		0	0	0	0	0	0	1[b]	0
一般状態		—	—	—	—	—	—	—	—

2.6.7.7B　ラットの 26 週間経口投与毒性試験

（その 2）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）		0（媒体）		12		60		300	
動物数		雄：18	雌：18	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：18	雌：18
検査動物数		18	18	12	12	12	12	18	18
体重（g）	投与1週	238.9	190.4	239.1	187.4	240.7	187.1	234.9	177.3**
	投与2週	297.8	214.4	301.7	210.7	302.9	211.7	296.5	198.3##
	投与3週	344.3	232.3	349.8	227.3	350.1	230.3	341.2	214.3#
	投与4週	380.6	248.1	387.5	241.9	390.3	244.7	378.4	227.8#
	投与5週	410.6	264.1	418.4	253.4	420.8	258.3	406.8	237.7##
	投与6週	436.2	277.3	444.1	264.3	449.5	271.3	434.6	251.3#
	投与7週	459.5	286.2	466.9	273.5	474.7	278.9	460.1	259.5#
	投与10週	519.1	311.8	527.8	299.0	535.8	301.9	523.2	282.6#
	投与11週	533.7	317.1	543.5	305.6	552.1	307.0	536.8	287.7#
	投与12週	548.5	325.0	558.5	316.7	565.4	314.4	553.3	297.8*
	投与14週	575.7	335.1	587.3	327.2	594.0	326.2	577.9	306.3*
体重増加量（g）	投与1週	66.9	30.9	67.8	29.4	69.3	28.8	63.0	18.5**
	投与5週	30.0	16.0	30.9	11.5	30.5	13.6	28.4	9.9#
摂餌量（g/日）	投与1週	22.2	15.9	21.4	16.1	21.9	15.8	21.2	12.4**
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査		—	—	—	—	—	—	—	—

2.6.7.7B　ラットの 26 週間経口投与毒性試験

（その 3）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		12		60		300	
動物数	雄：18	雌：18	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：18	雌：18
検査動物数	12	12	12	12	12	12	12	12
血液学的検査								
赤血球数（10^6/mm^3）	8.746	7.814	8.832	7.661	8.897	7.661	8.593	7.387**
ヘモグロビン濃度（g/dL）	15.29	14.61	15.18	14.30	15.39	14.51	14.70	13.68**
ヘマトクリット値（%）	44.13	41.84	43.97	40.97	44.50	41.44	42.79	39.23**
血小板数（10^3/mm^3）	965.6	953.8	1047.3	918.5	982.6	940.2	959.8	825.0**
血液生化学的検査								
総コレステロール（mg/dL）[c]	85.8	81.8	80.4	88.3	84.6	95.7	111.4**	133.4**
アルブミン（g/dL）[c]	3.11	3.98	3.12	4.23	3.13	4.29	3.29$^{\#}$	4.06
アルブミン（%）[c]	47.85	58.37	48.43	60.09	49.18	60.25	50.29$^{\#}$	59.53
γ-グロブリン（%）[c]	5.28	6.35	4.88	6.38	4.65	6.23	4.23*	5.74
A/G比[c]	0.918	1.407	0.946	1.513	0.974	1.525	1.012$^{\#}$	1.477
クレアチニン（mg/dL）	0.317	0.358	0.304	0.354	0.318	0.372	0.358^{*d}	0.431**
剖検	—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量								
肝臓　実重量（g）[c]	16.347	8.292	16.878	8.688	17.431	9.251	19.172**	10.143**
体重比重量（%）[c]	2.489	2.229	2.504	2.453*	2.590	2.626**	2.960**	3.078**
病理組織学的検査（例数）								
肝臓　肝細胞肥大，軽微[c]	0	0	0	0	1	0	8	8
（小葉中心性）　軽度[c]	0	0	0	0	0	0	0	1
大腿骨　海綿骨骨小柱増加，軽度	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.7B　ラットの26週間経口投与毒性試験

（その4）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		12		60		300	
動物数	雄：18	雌：18	雄：12	雌：12	雄：12	雌：12	雄：18	雌：18
回復性の評価								
検査動物数	6	6	0	0	0	0	6(5)[b]	6
一般状態	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
体重	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
体重増加量（g）　休薬2週	10.5	3.0	NE	NE	NE	NE	12.8	9.3**
摂餌量	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
眼科学的検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
尿検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
血液学的検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
血液生化学的検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
剖検	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
器官重量								
肝臓　体重比重量（%）[c]	2.487	2.332	NE	NE	NE	NE	2.800*	2.622*
病理組織学的検査								
大腿骨　海綿骨骨小柱増加，軽微	0	0	NE	NE	NE	NE	0	1

－：特記すべき所見なし，ND：定量下限濃度未満，NE：検査せず．

*：p<0.05，**：p<0.01（Dunnett検定）．#：p<0.05，##：p<0.01［Dunnett型検定（Miller検定）］．

a：投与171日にサテライト群の雄1例が死亡した．病理組織学的検査で，本薬投与に関連する変化として，肝臓に小葉中心性の肝細胞肥大（軽度）が認められた．その他に，心臓に心房内血栓，肺に泡沫細胞集簇並びに腎臓，ハーダー腺，涙腺及び前立腺に自然発生性変化がみられた．心房内血栓は死戦期の変化と考えられ，死因は不明であった．

b：休薬23日に毒性試験群の雄1例が死亡した．肝臓及び肺にうっ血，下垂体に前葉の過形成及び嚢胞，前立腺に小葉の腺上皮の巣状萎縮及び腺腔の細胞残渣，胸骨骨髄に赤芽球系の造血亢進，心筋症並びに死後変化がみられたが，死因は不明であった．

c：これらの変化（アルブミンの変化を除く）はラットの13週間経口投与毒性試験でも認められており，肝薬物代謝酵素誘導に伴う適応性変化と考えられることから，毒性学的に意義のない変化と考えられた．

d：個別値では背景データ内の変化であるか，僅かに逸脱する程度の軽度な変化であることから，毒性学的に意義のない変化と考えられた．

2.6.7.7C　サルの13週間経口投与毒性試験

(その1)　　被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：F12981のカニクイザルにおける13週間反復経口投与毒性試験及び4週間回復性試験
動物種／系統：サル／カニクイ　　投与期間：13週間　　試験番号：[redacted]025, [redacted]027[a]
試験開始時週齢：3～6才　　休薬期間：4週間　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.2-9, 4.2.3.2-10[a]
初回投与年月日：[redacted]　　投与方法：強制経口　　GLP適用：適，不適[a]
媒体／投与形態：0.5%メチルセルロース水溶液／懸濁
特記事項：対照群及び100 mg/kg/日群にそれぞれ雌雄各2例を追加し，投与終了後の回復性を検討した．最終報告書では投与開始日を投与0日として記載しているが，試験間で日数表記をそろえるために，本項では投与開始日を投与1日として記載した．
無毒性量：30 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）		0（媒体）		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（n＝3～5）									
C_{max}	投与1日	ND	ND	48.77	46.75	141.4	124.1	311.5	268.3
（μg/mL）	投与28日	ND	ND	60.31	51.26	107.4	107.3	202.5	195.4
	投与91日	ND	ND	59.74	56.00	119.3	118.5	228.4[b]	187.6
AUC_{0-24}	投与1日	ND	ND	334.8	339.4	1066	978.8	3329	3463
（μg·hr/mL）	投与28日	ND	ND	333.5	346.4	1014	1016	2003	2310
	投与91日	ND	ND	338.3	353.8	988.3	917.0	2305[b]	2126
特記すべき所見									
検査動物数		5	5	3	3	3	3	5[b]	5
死亡及び切迫殺動物数		0	0	0	0	0	0	1[c]	0
一般状態		—	—	—	—	—	—	—	—
体重		—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
心電図検査		—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査		—	—	—	—	—	—	—	—

2.6.7.7C　サルの 13 週間経口投与毒性試験

（その 2）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		10		30		100	
動物数	雄：5	雌：5	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：5	雌：5
検査動物数	5	5	3	3	3	3	5(4)[b]	5
血液学的検査								
赤血球数（10^6/mm^3）　投与13週	5.878	5.588	5.783	5.780	5.593	5.857	5.678	5.206 (3.18[d])
ヘモグロビン濃度（g/dL）　投与13週	13.66	12.96	14.00	13.90	13.00	14.27	13.65	12.08 (7.7[d])
ヘマトクリット値（%）　投与13週	44.38	41.94	45.13	44.63	42.03	46.33	44.03	40.16 (28.4[d])
大型非染色細胞数　投与4週	0.094	0.040	0.100	0.057	0.050	0.050	0.164	0.218[*]
（10^3/ mm^3）　投与13週	0.112	0.048	0.103	0.053	0.053	0.063	0.068	0.086
血液生化学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
検査動物数	3	3	3	3	3	3	3	3
剖検	—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量								
肝臓　実重量（g）	67.23	53.83	79.90	59.30	71.57	54.77	99.60[*] (103.3, 118.7[de])	62.17
体重比重量（g/kg）	15.297	18.760	18.867	18.893	18.793	19.050	23.453[**] (23.97, 22.46, 23.93[de])	23.660 (24.98[de])
病理組織学的検査（例数）	3	3	0	0	0	0	3	3
骨髄（胸骨）　骨髄細胞増加[f]	0	0	0	0	0	0	0	2
骨髄（大腿骨）　骨髄細胞増加[g]	0	0	0	0	0	0	0	2
骨髄[a]　ミエロペルオキシダーゼ陽性細胞密度増加	NE	0	NE	NE	NE	NE	NE	2
CD3陽性細胞及びCD20陽性細胞からなる濾胞形成	NE	1	NE	NE	NE	NE	NE	2
CD34染色，異常あり	NE	0	NE	NE	NE	NE	NE	0

2.6.7.7C　サルの13週間経口投与毒性試験

（その3）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		10		30		100	
動物数	雄：5	雌：5	雄：3	雌：3	雄：3	雌：3	雄：5	雌：5
検査動物数	2	2	0	0	0	0	2	0
電子顕微鏡検査　肝臓	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
回復性の評価								
検査動物数	2	2	0	0	0	0	1	2
一般状態	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
体重	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
摂餌量	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
眼科学的検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
心電図検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
尿検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
血液学的検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
血液生化学的検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
剖検	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
器官重量	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
病理組織学的検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—

－：特記すべき所見なし，ND：定量下限濃度未満，NE：検査せず．

*：$p<0.05$，**：$p<0.01$［Dunnett検定又はDunnett型検定（Miller検定）］．

a：別試験として，100 mg/kg/日群雌の大腿骨骨髄標本を用いて免疫組織化学的検査を実施した（GLP不適）．

b：n＝4（投与13週）

c：休薬期間終了後剖検予定例の雄1例を状態悪化［嘔吐（投与61日以降散発），口腔粘膜蒼白化（投与63日以降），運動性の低下（投与69～71日），体重減少（投与8～10週），摂餌量減少（投与62～68日）及び無摂餌（投与69～70日）］のために投与71日に切迫殺に供した．投与4週にヘモグロビン濃度の低値及び大型非染色細胞数の高値，切迫殺時に赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値，白血球数及び血小板数の著しい低値，AST及びALTの高値，カルシウム及びクロライドの低値がみられた．剖検では心臓の赤色巣及び肝臓の小葉構造明瞭化がみられた．病理組織学的検査で，大腿骨及び胸骨の骨髄細胞減少，脳（大脳，小脳，橋及び延髄），眼球及び心臓の出血，腸間膜リンパ節のヘモジデリン沈着，顎下リンパ節の赤血球貪食細胞並びに肝細胞の脂肪変性及び壊死がみられた．また，副腎皮質の肥厚，回腸パイエル板，腸間膜リンパ節，顎下リンパ節，脾臓及び胸腺に萎縮性の変化がみられた．

d：変化のみられた例の個別値を()内に示した．

e：病理組織学的検査及び電子顕微鏡検査で重量変化に関連した変化はみられなかったため，毒性学的意義のない変化と考えられた．

f：軽度～中等度

g：軽微～中等度

2.6.7.7D　サルの39週間経口投与毒性試験

（その1）　　被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：FYU-981のカニクイザルにおける39週間反復経口投与毒性試験及び4週間回復性試験
動物種／系統：サル／カニクイ　　**投与期間**：39週間　　**試験番号**：[redacted]041
試験開始時週齢：3～6才　　**休薬期間**：4週間　　**CTDにおける記載箇所**：4.2.3.2-11
初回投与年月日：[redacted]　　**投与方法**：強制経口　　**GLP適用**：適
媒体／投与形態：0.5%メチルセルロース水溶液／懸濁
特記事項：対照群及び50 mg/kg/日群にそれぞれ雌雄各2例を追加し，投与終了後の回復性を検討した．最終報告書では投与開始日を投与0日として記載しているが，試験間で日数表記をそろえるために，本項では投与開始日を投与1日として記載した．
無毒性量：12 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）		0（媒体）		3		12		50	
動物数		雄：6	雌：6	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：6	雌：6
トキシコキネティクス（n＝4～6）									
C_{max}	投与1日	ND	ND	11.25	12.08	50.33	50.14	118.4	171.2
（μg/mL）	投与273日	ND	ND	14.72	13.87	63.37	16.05	149.5	152.4
$AUC_{0\text{-}24}$	投与1日	ND	ND	99.95	96.81	379.2	345.3	1492	1798
（μg·hr/mL）	投与273日	ND	ND	106.8	96.16	443.3	87.62	1688	1333
特記すべき所見									
検査動物数		6	6	4	4	4	4	6[a]	6[a]
死亡及び切迫殺動物数		0	0	0	0	0	0	1[b]	1[c]
一般状態		—	—	—	—	—	—	—	—
体重		—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
心電図検査		—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査		—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
血液生化学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—

2.6.7.7D　サルの 39 週間経口投与毒性試験

（その 2）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		3		12		50	
動物数	雄：6	雌：6	雄：4	雌：4	雄：4	雌：4	雄：6	雌：6
検査動物数	4	4	4	4	4	4	3	4
骨髄検査（有核細胞数）	—	—	—	—	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量								
肝臓　実重量（g）	75.63	65.28	80.30	64.85	77.48	66.95	103.53 (118.0, 117.1[d])	72.13
体重比重量（g/kg）	14.700	19.600	17.315[*]	19.183	16.135	20.110	19.777[**d] (21.00[d])	22.150
病理組織学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—
検査動物数	2	2	0	0	0	0	2	2
電子顕微鏡検査　肝臓	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
回復性の検討								
検査動物数	2	2	0	0	0	0	2	1
一般状態	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
体重	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
摂餌量	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
眼科学的検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
心電図検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
尿検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
血液学的検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
血液生化学的検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
骨髄検査（有核細胞数）	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
剖検	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
器官重量	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—
病理組織学的検査	—	—	NE	NE	NE	NE	—	—

2.6.7.7D　サルの39週間経口投与毒性試験

（その3）　　被験物質名：ドチヌラド

－：特記すべき所見なし，ND：定量下限濃度未満，NE：検査せず．
*：p<0.05，**：p<0.01（Dunnett検定）
a：n＝5（投与39週）
b：投与期間終了後剖検予定例の雄1例が投与66日にケージ格子に前腕を挟んだことにより骨折した．回復の見込みがないと判断されたため，投与85日目に切迫殺に供した．投与66日に摂餌量の低値がみられたが，骨折による影響と考えられた．その他に，血液生化学的検査，剖検及び病理組織学的検査で，骨折及び状態悪化に関連した所見がみられた．
c：休薬期間終了後剖検予定例の雌1例を状態悪化［無摂餌（投与80～82日），摂餌量減少（83日），体重減少（投与11～12週），運動性の低下（投与82～84日），刺激に対する反応性低下及びうずくまり状態（投与84日）］のために投与84日に切迫殺に供した．剖検で，腹壁の白色化，胸腺の小型化，胃の赤色巣，胃及び結腸の大網との癒着並びに副腎の暗調がみられ，副腎及び肝臓の実重量及び体重比重量の高値がみられた．病理組織学的検査で，腹壁漿膜に出血，偽膜及び血栓を伴った炎症がみられ，胃，回腸，盲腸，膵臓，結腸及び膀胱の漿膜にも炎症が認められた．さらに，漿膜では胃及び結腸で線維素性癒着，結腸で出血並びに胃で血栓が認められた．また，胃粘膜の壊死，出血，水腫及び血栓が認められた．肝臓におけるクッパー細胞の腫大，脾臓における形質細胞増生，胸骨骨髄における顆粒球系細胞密度の増加，腎臓における糸球体上皮細胞核の腫大がみられた．なお，動物の状態悪化に起因すると考えられる変化として，顎下腺及び膵臓における腺房萎縮，十二指腸及び空腸粘膜の萎縮，脂肪組織の萎縮，肝臓における肝細胞でのグリコーゲン減少，副腎皮質の肥厚並びに胸腺萎縮が認められた．血液学的検査で，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値及び網赤血球比率の低値，活性化部分トロンボプラスチン時間の延長，リンパ球数，単球数及び好酸球数の低値，骨髄検査で有核細胞数の低値が認められた．なお，血液生化学的検査で，トリグリセリド，尿素窒素及びクレアチニンの高値，総タンパク，アルブミン，A/G比及びナトリウムの低値がみられたが関連臓器に病理学的な変化がないため，状態悪化とそれに起因するストレス性の変化又は摂餌量減少による二次的な影響で本薬投与に関連しない変化と考えられた．
d：病理組織学的検査及び電子顕微鏡検査で重量変化に関連した変化はみられなかったため，毒性学的意義のない変化と考えられた．変化のみられた例の個別値を()内に示した．

2.6.7.8　In vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8A　細菌を用いる復帰突然変異試験

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：細菌を用いるF12981の復帰突然変異試験
試験の種類：細菌を用いる復帰突然変異試験　　独立して実施した試験数：2
菌株：ネズミチフス菌，大腸菌　　プレート数：2
代謝活性化系：ラット肝S9　　分析細胞数／培養：－
媒体：被験物質：DMSO，陽性対照：DMSO又は注射用水
処理：プレインキュベーション法
細胞毒性：5000 μg/plate（代謝活性化系の非存在下TA100，存在下TA100及びTA1537）
遺伝毒性：陰性

試験番号：[redacted]670 [redacted]056）
CTDにおける記載箇所：4.2.3.3.1-1
GLP適用：適
処理年月：[redacted]

2.6.7.8A　細菌を用いる復帰突然変異試験

（その 2）　　被験物質名：ドチヌラド

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	用量設定試験（平均復帰変異コロニー数[a]）				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化なし	DMSO	100 μL/plate	118	12	34	27	10
	ドチヌラド	8.19	121	18	32	28	15
		20.5	125	14	26	35	9
		51.2	123	18	29	30	12
		128	133	13	21	30	13
		320	118	14	24	22	14
		800	117	12	25	33	12
		2000	102	16	35	32	11
		5000	59[b]	13	32	24	10
	AF-2	0.01	586	NE	138	NE	NE
	AF-2	0.1	NE	NE	NE	739	NE
	NaN_3	0.5	NE	662	NE	NE	NE
	9-AA	80	NE	NE	NE	NE	390
代謝活性化あり	DMSO	100 μL/plate	117	18	27	37	22
	ドチヌラド	8.19	100	17	22	34	23
		20.5	108	12	17	40	26
		51.2	106	13	23	38	24
		128	116	13	26	39	30
		320	125	14	22	38	23
		800	101	16	24	28	22
		2000	99	14	21	34	21
		5000[c]	72[b]	12	32	32	7[b]
	2-AA	0.5	NE	NE	NE	402	NE
		1	891	NE	NE	NE	NE
		2	NE	433	NE	NE	159
		10	NE	NE	982	NE	NE

2.6.7.8A　細菌を用いる復帰突然変異試験

（その3）　　被験物質名：ドチヌラド

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	本試験（平均復帰変異コロニー数[a]）				
			TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
代謝活性化なし	DMSO	100 μL/plate	122	18	29	23	10
	ドチヌラド	156	127	9	24	28	9
		313	127	15	23	23	11
		625	124	15	34	24	15
		1250	127	12	28	20	7
		2500	98	11	32	20	6
		5000	85[b]	13	27	16	9
	AF-2	0.01	799	NE	129	NE	NE
	AF-2	0.1	NE	NE	NE	755	NE
	NaN_3	0.5	NE	648	NE	NE	NE
	9-AA	80	NE	NE	NE	NE	358
代謝活性化あり	DMSO	100 μL/plate	124	15	20	36	23
	ドチヌラド	78.1	109	NE	NE	NE	21
		156	128	8	35	27	26
		313	116	14	22	35	23
		625	113	14	28	33	17
		1250	112	13	23	28	21
		2500	82	13	28	29	19
		5000[c]	57[b]	15	25	43	12[b]
	2-AA	0.5	NE	NE	NE	404	NE
		1	1047	NE	NE	NE	NE
		2	NE	398	NE	NE	135
		10	NE	NE	778	NE	NE

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド，NaN_3：アジ化ナトリウム，9-AA：9-アミノアクリジン塩酸塩，2-AA：2-アミノアントラセン．
NE：検査せず．
a：復帰変異コロニー数が陰性対照群の2倍以上に増加し，かつ，その増加に用量依存性あるいは再現性が認められた場合に陽性と判定した．
b：生育阻害．
c：コロニー数計測時に沈殿（析出など）あり．

2.6.7.8B　CHL/IU 細胞を用いる染色体異常試験

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：ほ乳類培養細胞を用いるF12981の染色体異常試験

試験の種類：染色体異常試験　　**独立して実施した試験数**：1　　**試験番号**：[redacted]571 [redacted]057）

系統：CHL/IU細胞　　プレート数：2　　**CTDにおける記載箇所**：4.2.3.3.1-2

代謝活性化系：ラット肝S9　　分析細胞数／培養：100　　**GLP適用**：適

媒体：被験物質：DMSO　陽性対照：注射用水あるいは生理食塩液　　処理年月：[redacted]

処理：代謝活性化系非存在下又は存在下で6時間培養後，18時間回復培養．代謝活性化系非存在下で24時間培養．

細胞毒性：細胞増殖抑制試験の結果，代謝活性化系非存在下6時間処理，代謝活性化系存在下6時間処理及び代謝活性化系非存在下24時間処理の50%細胞増殖抑制濃度は，それぞれ715，489及び255 μg/mLであった．

遺伝毒性：陽性：代謝活性化系の非存在下及び存在下ともに，6時間処理で染色体構造異常細胞の出現頻度が増加した（それぞれ，640 μg/mL以上及び512 μg/mL）．

2.6.7.8B　CHL/IU 細胞を用いる染色体異常試験

(その 2)　　被験物質名：ドチヌラド

代謝活性化	処置	被験物質	濃度 (μg/mL)	細胞増殖率 (対照に対する%)	染色体構造異常細胞の出現頻度 (%) [a]	倍数体細胞の出現頻度 (%)
代謝活性化なし	6時間処置	DMSO	10 μL/mL	100.0	1.5	0.0
		ドチヌラド	512	76.7	5.0	0.0
			640	55.2	19.0	0.0
			800	35.6	13.0	0.0
			1000	32.2	b	b
		MMC	0.1	81.2	49.5	0.0
代謝活性化あり	6時間処置	DMSO	10 μL/mL	100.0	0.0	0.0
		ドチヌラド	328	72.9	1.0	0.0
			410	69.6	2.5	1.0
			512	42.9	11.0	0.0
			640	25.2	NE	NE
		CP	12.5	63.6	42.0	0.0
代謝活性化なし	24時間処置	DMSO	10 μL/mL	100.0	0.0	0.0
		ドチヌラド	262	74.2	0.0	0.0
			328	64.3	0.0	0.0
			410	47.8	2.0	0.0
		MMC	0.05	80.8	37.0	0.0

CP：シクロホスファミド，MMC：マイトマイシンC．NE：検査せず．

a：ギャップを除く．出現頻度が10%以上，かつ，再現性あるいは被験物質の濃度に依存性が認められた場合に陽性と判定した．

b：細胞毒性．

2.6.7.9　In vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9A　ラットの小核試験

被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：ラットを用いるF12981の小核試験
試験の種類：骨髄細胞の小核試験　　処理計画：2日間投与　　試験番号：[redacted]672 [redacted]058)
動物種／系統：ラット／Crl:CD(SD)　　計測時間：最終投与の24時間後　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.3.2-1
週齢：8週齢（投与開始時）　　投与方法：強制経口　　GLP適用：適
評価した細胞：幼若赤血球　　媒体／投与形態：0.5%メチルセルロース水溶液／懸濁　　投与年月：[redacted]
分析細胞数／動物：2000
特記事項：少数例を用いて同様の投与方法で用量設定試験を実施した結果，2000 mg/kg/日では全例が死亡し，500及び1000 mg/kg/日では死亡及び毒性徴候はなかった．
毒性／細胞毒性：500及び1000 mg/kg/日群の各1例が2回投与後に死亡した．骨髄細胞（観察全赤血球に対する幼若赤血球の割合）に影響はなかった．
遺伝毒性：陰性．
曝露証明：同系統のラットを用いた単回経口投与毒性試験（2.6.7.5項参照）では，1000 mg/kg群雄のC_{max}及びAUC_{0-24}はそれぞれ677 μg/mL及び13100 μg·hr/mLであった．

被験物質	投与量 (mg/kg/日)	動物数[a]	幼若赤血球の割合 (%，平均値±標準偏差)	小核幼若赤血球の出現頻度[b] (%，平均値±標準偏差)
0.5%メチルセルロース水溶液	0	雄5	52.6± 9.1	0.08±0.03
ドチヌラド	250	雄5	55.5± 4.1	0.13±0.06
	500	雄5	55.6± 5.1	0.08±0.07
	1000	雄5	47.9±10.7	0.13±0.03
MMC	2	雄5	48.0± 3.9	3.78±0.32*

MMC：マイトマイシンC（単回静脈内投与）．
*：$p \leq 0.025$（Kastenbaum and Bowmanの推計学的方法）．
a：評価動物数5例を確保するために，いずれの群も6例に投与し，5例を評価に用いた．
b：陰性対照群と被験物質処置群との比較において統計学的有意差が認められた場合に，陽性と判定した．ただし，最終的な判定は試験条件下での生物学的な妥当性も考慮して行った．

2.6.7.9B　ラットの不定期 DNA 合成試験

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：ラット肝細胞を用いるF12981のin vivo不定期DNA合成（UDS）試験

試験の種類：不定期DNA合成試験　　処理計画：単回投与　　試験番号：[redacted]573 [redacted]059）

動物種／系統：ラット／Crl:CD(SD)　　計測時間：2及び16時間　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.3.2-2

週齢：8週齢（投与時）　　投与方法：強制経口　　GLP適用：適

評価した細胞：肝細胞　　媒体／投与形態：0.5%メチルセルロース水溶液／懸濁　　投与年月：[redacted]

分析細胞数／動物：100

特記事項：本試験において陰性対照群及び陽性対照群におけるネット核グレイン数及び修復細胞出現頻度が試験成立条件を満たさなかったため，別の製造者のトリチウムチミジンを用いて再試験を実施した．再試験では試験成立条件を満たした．

毒性／細胞毒性：なし（再試験）．

遺伝毒性：陰性．

曝露証明：同系統のラットを用いた単回経口投与毒性試験（2.6.7.5項参照）では，1000 mg/kg群雄のC_{max}及びAUC_{0-24}はそれぞれ677 μg/mL及び13100 μg·hr/mLであった．

2.6.7.9B　ラットの不定期 DNA 合成試験

(その 2)　　被験物質名：ドチヌラド

処理時間	被験物質	投与量 (mg/kg)	動物数[a]	核グレイン数 (平均値±標準偏差)	細胞質グレイン数 (平均値±標準偏差)	ネット核グレイン数[b]	DNA修復細胞（%, 平均値±標準偏差）[c]
本試験[d]							
2時間	0.5%メチルセルロース水溶液	0	雄3	8.5±0.8	8.3±0.3	0.2	10.0± 4.4
	ドチヌラド	500	雄3	8.0±0.9	7.6±1.0	0.4	9.7± 6.0
		1000	雄3	8.3±0.5	8.6±0.4	-0.3	5.3± 1.2
	DMN	5	雄3	9.1±2.1	8.4±1.3	0.7	12.0± 7.9
16時間	0.5%メチルセルロース水溶液	0	雄3	8.3±1.4	7.9±0.4	0.4	9.3± 7.1
	ドチヌラド	500	雄3	13.6±1.0	12.7±1.5	0.9	16.0± 7.0
		1000	雄3	11.3±1.5	10.6±0.3	0.7	15.0±13.0
	2AAF	100	雄3	10.5±0.7	10.7±1.3	-0.2	6.3± 1.5
再試験							
2時間	0.5%メチルセルロース水溶液	0	雄3	8.4±1.5	10.0±1.6	-1.6	2.3± 0.6
	ドチヌラド	500	雄3	9.1±1.2	10.0±1.5	-0.9	4.7± 1.5
		1000	雄3	8.3±0.5	9.2±0.5	-0.9	4.7± 0.6
	DMN	5	雄3	29.5±0.5	8.1±1.0	21.4	100.0± 0.0
16時間	0.5%メチルセルロース水溶液	0	雄3	9.1±0.4	10.4±0.7	-1.3	3.3± 0.6
	ドチヌラド	500	雄3	11.2±0.7	13.1±1.4	-1.9	3.3± 1.2
		1000	雄3	10.6±0.7	12.1±1.0	-1.5	4.3± 0.6
	2AAF	100	雄3	32.8±2.5	10.3±1.6	22.5	99.7± 0.6

2AAF：2-アセチルアミノフルオレン，DMN：ジメチルニトロソアミン.

a：評価動物数3例を確保するために，1000 mg/kg群では5例及びその他の群では4例に投与し，3例を評価に用いた.

b：ネット核グレイン数＝平均核グレイン数－平均細胞質グレイン数.

c：平均ネット核グレイン数が5以上を示し，かつ，DNA修復細胞の出現頻度が20%以上を示した場合に，陽性と判定した.

d：試験成立条件のうち，「陰性対照群及び陽性対照群のネット核グレイン数及び修復細胞頻度が背景データから求めた基準値内であること」を満たさなかった.

【基準値】		ネット核グレイン数	DNA修復細胞（%）
陰性対照	2時間処理	-4.3～0.7	0.0～5.3
	16時間処理	-4.1～0.3	0.0～5.1
陽性対照	2時間処理	16.9～34.5	98.5～100.0
	16時間処理	20.5～34.4	99.4～100.0

2.6.7.10　がん原性試験

2.6.7.10A　がん原性予備試験（重要な試験以外の試験）

（その1）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び動物数／群	無毒性量	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
マウス／B6C3F1/Slc	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	単回，4週間	0，100，300，1000	単回 雄3，雌3 4週間 雄6，雌6 （TKサテライト群設定）	求めず	単回投与 死亡なし．一般状態，体重及び剖検所見に本薬投与に関連した変化なし． 4週間投与 ≧300：肝臓の実重量及び体重比重量の高値． 1000：死亡（TKサテライト群，雄3/16例・雌7/15例）． 一般状態，体重及び剖検所見に本薬投与に関連した変化なし． TK（雄/雌，投与1日，n＝3） 投与量（mg/kg/日）　100　300　1000 C_{max}（μg/mL）　208.1/233.9　411.3/429.3　544.2/614.1 $AUC_{0\text{-}8}$（μg·hr/mL）　621.9/633.0　1781.4/1467.7　3182.6/971.5[b]	FB0104[a] 4.2.3.4.1-1

2.6.7.10A　がん原性予備試験（重要な試験以外の試験）

（その2）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び動物数／群	無毒性量	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
マウス／B6C3F1/Crl	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	13週間	0, 30, 100, 300	雄10， 雌10 （TKサテライト群設定）	求めず	30：死亡（雌1例，投与86日）[c]. ≧100：雌雄で肝臓の実重量及び体重比重量の高値，雌で脾臓の実重量の高値．雄で腎臓の尿細管上皮細胞の空胞減少[d]．雌で好中球比率の低値[e]，リンパ球比率，大型非染色球比率及び大型非染色球数の高値[e]，雄で平均赤血球容積の高値[e]. 300：雌で脾臓の体重比重量の高値．雌で平均赤血球容積の高値[d]，雄で平均赤血球血色素量の高値[e]. 一般状態，体重，摂餌量及び剖検所見に本薬投与に関連した変化なし. TK（雄/雌，投与90日，n＝3） 投与量（mg/kg/日）　30　100　300 C_{max}（μg/mL）　88.9/84.2　225/208　343/381 AUC_{0-24}（μg·hr/mL）　322/393　1190/1250　2470/2190	[redacted]783[redacted]069) 4.2.3.4.1-2

2.6.7.10A　がん原性予備試験（重要な試験以外の試験）

（その3）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び動物数／群	無毒性量	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
ラット／F344/DuCrl Crlj	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	13週間	0, 30, 100, 300	雄10，雌10（TKサテライト群設定）	求めず	≧30：雌雄で腎臓の体重比重量の高値，雄で腎臓の実重量の高値. ≧100：雌雄で肝臓及び脾臓の体重比重量の高値，雄で肝臓及び脾臓の実重量の高値．雄で平均赤血球容積の軽度低値. 300：雌雄で肝臓の腫大．雌で肝臓，腎臓及び脾臓の実重量の高値. 雌で赤血球数，ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値の低値，雄で網赤血球比率の高値. 死亡なし．一般状態，体重，摂餌量及び病理組織学的検査所見に，本薬投与に関連した変化なし. TK（雄/雌，投与90日，n＝3） 投与量（mg/kg/日）　30　100　300 C_{max}（μg/mL）　63.1/68.3　165/207　332/343 AUC_{0-24}（μg·hr/mL）　512/575　1580/2150　3530/3830	[redacted]782 [redacted] 068） 4.2.3.4.1-4

a：GLP不適
b：AUC_{0-2}（死亡のため）
c：30 mg/kg/日群の雌1例が投与86日に死亡した．病理組織学的検査で卵巣に悪性奇形腫が認められ，死因は腫瘍組織内にみられた広範な壊死によるものと考えられた．マウスでは13週間投与試験で悪性奇形腫の自然発生が報告されているため，本薬投与と関連しない変化と考えられた.
d：無処置の雄マウスにも認められる腎臓の尿細管上皮細胞の空胞が用量に関連した減少を示したが，本所見の毒性学的意義は不明であることから，その毒性学的意義は明らかではなかった.
e：これらの変化はいずれも軽微であり，赤血球数，ヘモグロビン濃度，ヘマトクリット値あるいは白血球数に対照群と比較して差はなく，毒性学的意義は低いと考えられた.

2.6.7.10B　マウスの104週間経口投与がん原性試験

（その1）　　被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：FYU-981のマウスにおける2年間経口投与がん原性試験
動物種／系統：マウス／B6C3F1/Crl　　投与期間：104週間　　試験番号：[redacted]343 [redacted]072）
試験開始時週齢：6週齢　　投与方法：強制経口　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.4.1-3
初回投与年月日：[redacted]　　対照群の処理：媒体を同様に投与　　GLP適用：適
媒体／投与形態：0.5%メチルセルロース水溶液／懸濁
高用量の設定根拠：薬物動態学的指標．マウス13週間経口投与用量設定試験の結果，30 mg/kg/日群の投与13週のAUCは試験開始時のヒト推定臨床用量5 mg投与時のAUC（5345.09 ng·hr/mL）の60～74倍を示した．
特記事項：サテライト動物を追加して，トキシコキネティクスを検討した．病理組織学的検査は対照群及び30 mg/kg/日群では全例，3及び10 mg/kg/日群では死亡及び切迫殺動物について実施した．

投与量（mg/kg/日）		0（媒体）		3		10		30	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
トキシコキネティクス（n＝3）									
C_{max}	投与1日	ND	ND	4.67	7.17	23.5	26.0	74.9	85.4
（μg/mL）	投与182日	ND	ND	6.84	10.3	21.2	37.5	83.4	94.3
	投与364日	ND	ND	5.96	10.6	17.8	36.9	55.1	123
$AUC_{0\text{-}24}$	投与1日	ND	ND	38.2	54.6	135	211	568	594
（μg·hr/mL）	投与182日	ND	ND	36.6	69.2	106	190	319	489
	投与364日	ND	ND	30.4	76.5	90.4	208	227	508
動物数									
開始時動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
死亡及び切迫殺動物数		10	14	10	15	12	15	17	18
最終剖検動物数		40	36	40	35	38	35	33	32
生存率（%）		80.0	72.0	80.0	70.0	76.0	70.0	66.0	64.0
体重		—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—
一般状態		—	—	—	—	—	—	—	—
触診（触知可能腫瘤）		—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—

2.6.7.10B　マウスの 104 週間経口投与がん原性試験

（その 2）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		3		10		30	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
病理組織学的検査，腫瘍性病変（動物数）								
心臓（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(15)	(12)	(15)	(50)	(50)
神経鞘腫，心内膜，悪性	0	0	1	0	0	0	0	0
骨髄（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(15)	(12)	(15)	(50)	(50)
血管肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0
脾臓（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(15)	(12)	(15)	(50)	(50)
血管肉腫	1	0	0	0	0	1	0	1
組織球性肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0
リンパ節（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(15)	(12)	(15)	(50)	(50)
血管肉腫	2	0	1	0	0	0	0	1
肺（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(15)	(12)	(15)	(50)	(50)
細気管支肺胞上皮腺腫	6	3	3	1	0	0	7	3
細気管支肺胞上皮癌	9	4	1	1	0	0	6	4
胸膜（検査動物数）	(0)	(1)	(1)	(1)	(0)	(0)	(2)	(0)
中皮腫，悪性	NA	0	0	1	NA	NA	0	NA
腺胃（検査動物数）	(49)	(49)	(10)	(15)	(12)	(14)	(50)	(50)
腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1
腺癌	0	0	1	0	1	0	0	0
十二指腸（検査動物数）	(50)	(48)	(10)	(15)	(11)	(14)	(50)	(49)
腺腫	0	0	0	0	1	0	1	0
空腸（検査動物数）	(47)	(48)	(10)	(14)	(10)	(12)	(47)	(47)
腺癌	1	0	0	0	0	0	0	0
回腸（検査動物数）	(48)	(48)	(10)	(15)	(12)	(12)	(48)	(48)
腺癌	0	0	0	0	1	0	0	0
結腸（検査動物数）	(48)	(48)	(10)	(15)	(11)	(14)	(48)	(49)
平滑筋肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1

2.6.7.10B　マウスの 104 週間経口投与がん原性試験

（その 3）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		3		10		30	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
病理組織学的検査，腫瘍性病変（動物数）（続き）								
肝臓（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(15)	(12)	(15)	(50)	(50)
肝細胞腺腫	19	3	4	1	3	1	21	9
肝細胞癌	10	5	1	0	4	0	7	3
肝細胞胆管細胞癌	1	0	2	0	0	0	3	1
肝芽細胞腫	1	0	0	0	0	0	1	1
血管肉腫	3	1	0	0	0	0	4	0
歯肉（検査動物数）	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)
扁平上皮癌	NA	NA	NA	1	NA	NA	NA	NA
歯（検査動物数）	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
歯牙腫	1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
腹膜（検査動物数）	(4)	(8)	(0)	(6)	(0)	(3)	(3)	(11)
血管肉腫	0	0	NA	0	NA	1	0	0
脂肪肉腫	0	0	NA	1	NA	0	1	0
中皮腫，悪性	0	0	NA	0	NA	0	2	0
腎臓（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(15)	(12)	(15)	(50)	(50)
尿細管腺癌	0	0	0	2	0	0	0	0
精巣（検査動物数）	(50)	NA	(10)	NA	(12)	NA	(50)	NA
間細胞腫	2	NA	1	NA	0	NA	0	NA
精巣上体（検査動物数）	(50)	NA	(10)	NA	(12)	NA	(50)	NA
組織球性肉腫	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
卵巣（検査動物数）	NA	(50)	NA	(15)	NA	(15)	NA	(50)
嚢胞状腺腫	NA	2	NA	0	NA	0	NA	0
奇形腫，良性	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
顆粒膜細胞腫，良性	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1

2.6.7.10B　マウスの 104 週間経口投与がん原性試験

（その 4）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		3		10		30	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
病理組織学的検査，腫瘍性病変（動物数）（続き）								
子宮（検査動物数）	NA	(50)	NA	(15)	NA	(15)	NA	(50)
子宮内膜間質ポリープ	NA	1	NA	0	NA	0	NA	4
血管肉腫	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
下垂体（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(15)	(12)	(15)	(50)	(50)
前葉腺腫	0	6	0	1	0	1	0	3
前葉癌	0	2	0	0	0	0	0	0
甲状腺（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(15)	(12)	(15)	(50)	(50)
濾胞細胞腺腫	0	1	0	0	0	1	0	0
濾胞細胞癌	0	0	0	0	0	0	1	0
上皮小体（検査動物数）	(49)	(49)	(10)	(14)	(12)	(15)	(48)	(49)
腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0
副腎（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(15)	(12)	(15)	(50)	(50)
皮質腺腫	4	0	1	0	0	0	3	0
被膜下細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	1	0
褐色細胞腫，良性	0	1	0	0	1	0	0	1
褐色細胞腫，悪性	0	0	1	0	0	0	0	0
膵臓，内分泌（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(14)	(12)	(15)	(50)	(50)
ラ氏島細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	1	1
ラ氏島細胞癌	0	0	0	0	0	0	0	2
脊髄（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(15)	(12)	(15)	(50)	(50)
血管肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0
ハーダー腺（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(15)	(12)	(15)	(50)	(50)
腺腫	5	1	0	2	1	1	7	4
腺癌	6	2	0	0	0	1	5	4

2.6.7.10B　マウスの104週間経口投与がん原性試験

（その5）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		3		10		30	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
病理組織学的検査，腫瘍性病変（動物数）（続き）								
皮膚（検査動物数）	(50)	(50)	(10)	(14)	(12)	(15)	(50)	(50)
毛嚢上皮腫，良性	1	0	1	0	0	0	0	0
扁平上皮癌	0	0	0	0	0	0	1	1
皮下織（検査動物数）	(0)	(7)	(0)	(1)	(1)	(4)	(4)	(2)
肥満細胞腫	NA	0	NA	0	0	0	1	0
血管肉腫	NA	1	NA	0	0	0	0	1
脂肪肉腫	NA	1	NA	1	0	1	0	1
起源不明肉腫	NA	2	NA	0	0	2	0	0
骨（検査動物数）	(1)	(3)	(0)	(0)	(2)	(1)	(0)	(1)
骨腫	0	0	NA	NA	0	0	NA	1
骨肉腫	0	0	NA	NA	0	1	NA	0
全身性腫瘍（検査動物数）	(5)	(15)	(1)	(9)	(5)	(9)	(8)	(17)
血管肉腫	2	3	1	1	1	1	4	0
リンパ腫，悪性	2	12	0	9	4	7	4	16
組織球性肉腫	1	0	0	0	0	1	0	1
腫瘍発生時期	—	—	—	—	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査，非腫瘍性病変（動物数）								
検査動物数（死亡及び切迫殺動物数）	(10)	(14)	(10)	(15)	(12)	(15)	(17)	(18)
脾臓　　腫瘍細胞の浸潤（転移性腫瘍）	1	3	0	8	4	7	2	13 *
リンパ節　　腫瘍細胞の浸潤（転移性腫瘍）	1	4	0	8	4	7	3	13 *
肝臓　　腫瘍細胞の浸潤（転移性腫瘍）	1	3	0	4	3	6	2	11 *
死因　悪性リンパ腫	0	3	0	9	4	7 [1]	3	10

－：特記すべき所見なし，ND：定量下限濃度未満，NA：該当せず，[]：人道的エンドポイントに達していると判断された動物.

*：$p \leq 0.05$（Fisher直接確率検定）.

2.6.7.10C　ラットの104週間経口投与がん原性試験

（その1）　　被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：FYU-981のラットにおける2年間経口投与がん原性試験
動物種／系統：ラット／F344/DuCrlCrlj　　投与期間：104週間　　試験番号：[redacted]342 [redacted]071）
試験開始時週齢：6週齢　　投与方法：強制経口　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.4.1-5
初回投与年月日：[redacted]　　対照群の処理：媒体を同様に投与　　GLP適用：適
媒体／投与形態：0.5%メチルセルロース水溶液／懸濁
高用量の設定根拠：薬物動態学的指標．ラット13週間経口投与用量設定試験の結果，30 mg/kg/日群の投与13週のAUCは試験開始時のヒト推定臨床用量5 mg投与時のAUC（5345.09 ng·hr/mL）の96～108倍を示した．
特記事項：サテライト動物を追加して，トキシコキネティクスを検討した．病理組織学的検査は対照群及び30 mg/kg/日群では全例，3及び10 mg/kg/日群では死亡及び切迫殺動物について実施した．

投与量（mg/kg/日）		0（媒体）		3		10		30	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
トキシコキネティクス（n＝3）									
C_{max}	投与1日	ND	ND	4.85	4.82	11.9	14.3	40.7	49.5
（μg/mL）	投与182日	ND	ND	7.47	7.80	25.9	31.6	65.5	89.7
	投与364日	ND	ND	7.34	9.96	29.5	27.1	70.9	83.6
$AUC_{0\text{-}24}$	投与1日	ND	ND	38.9	43.3	125	138	358	486
（μg·hr/mL）	投与182日	ND	ND	43.4	49.5	162	197	447	732
	投与364日	ND	ND	53.6	67.6	168	225	499	722
動物数									
開始時動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
死亡及び切迫殺動物数		10	5	12	10	9	13	10	11
最終剖検動物数		40	45	38	40	41	37	40	39
生存率（%）		80.0	90.0	76.0	80.0	82.0	74.0*	80.0	78.0
体重		—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—
一般状態		—	—	—	—	—	—	—	—
触診（触知可能腫瘤）		—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—

2.6.7.10C　ラットの 104 週間経口投与がん原性試験

（その 2）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		3		10		30	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
病理組織学的検査，腫瘍性病変（動物数）								
心臓（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
神経鞘腫，壁内，良性	1	0	0	0	0	0	1	0
脾臓（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
リンパ腫，LGL	5	2	1	3	2	4	6	11[#]
肺（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
細気管支肺胞上皮腺腫	1	0	0	0	0	1	2	0
細気管支肺胞上皮癌	2	0	1	1	0	0	0	0
胸膜（検査動物数）	(1)	(0)	(2)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
中皮腫，悪性	1	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA
舌（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	0	1	0
扁平上皮癌	0	0	1	0	0	0	0	0
前胃（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
扁平上皮乳頭腫	0	0	0	0	0	0	0	1
回腸（検査動物数）	(46)	(49)	(8)	(10)	(8)	(11)	(49)	(48)
平滑筋肉腫	1	0	0	0	0	0	0	0
直腸（検査動物数）	(50)	(50)	(11)	(10)	(9)	(12)	(50)	(49)
腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0
肝臓（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
肝細胞腺腫	1	0	0	0	0	0	1	0
胆管癌	0	0	0	0	0	0	1	0
顎下腺（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
神経鞘腫，悪性	1	0	0	0	0	0	0	0
腹膜（検査動物数）	(3)	(0)	(1)	(0)	(0)	(1)	(4)	(2)
血管肉腫	0	NA	1	NA	NA	0	0	0

2.6.7.10C　ラットの104週間経口投与がん原性試験

（その3）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		3		10		30	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
病理組織学的検査，腫瘍性病変（動物数）（続き）								
腎臓（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
尿細管腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0
腎芽腫	1	0	0	0	0	0	0	0
膀胱（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
神経節細胞腫，良性	0	0	0	0	0	0	1	0
乳腺（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
線維腺腫	1	7	0	1	0	1	1	11
腺癌	1	1	0	2	0	1	0	3
精巣（検査動物数）	(50)	NA	(12)	NA	(9)	NA	(50)	NA
間細胞腫	44	NA	6	NA	4	NA	40	NA
血管肉腫	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
精嚢（検査動物数）	(50)	NA	(11)	NA	(9)	NA	(50)	NA
腺癌	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
卵巣（検査動物数）	NA	(50)	NA	(10)	NA	(13)	NA	(50)
莢膜細胞腫，良性	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
顆粒膜細胞腫，悪性	NA	1	NA	1	NA	0	NA	0
子宮（検査動物数）	NA	(50)	NA	(10)	NA	(13)	NA	(50)
子宮内膜間質ポリープ	NA	4	NA	0	NA	2	NA	4
子宮内膜腺癌	NA	3	NA	2	NA	1	NA	5
子宮内膜間質肉腫	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1
膣（検査動物数）	NA	(50)	NA	(10)	NA	(13)	NA	(50)
ポリープ	NA	2	NA	0	NA	0	NA	0
陰核腺（検査動物数）	NA	(1)	NA	(1)	NA	(0)	NA	(0)
腺癌	NA	1	NA	1	NA	NA	NA	NA
陰嚢（検査動物数）	(0)	NA	(0)	NA	(0)	NA	(2)	NA
中皮腫，悪性	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2	NA

2.6.7.10C　ラットの 104 週間経口投与がん原性試験

（その 4）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		3		10		30	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
病理組織学的検査，腫瘍性病変（動物数）（続き）								
下垂体（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
前葉腺腫	14	12	1	3	0	1	15	16
前葉癌	1	6	0	0	0	2	1	5
甲状腺（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
C細胞腺腫	12	13	0	3	2	2	14	10
濾胞細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	2	0
C細胞癌	3	2	0	0	0	0	2	3
副腎（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
皮質腺腫	1	0	0	0	0	0	1	0
褐色細胞腫，良性	5	1	0	0	0	0	3	1
褐色細胞腫，悪性	1	0	2	0	0	0	0	0
膵臓，内分泌（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
腺房ラ氏島細胞混合腫瘍	2	2	0	0	0	0	0	0
ラ氏島細胞腺腫	6	1	2	0	0	0	3	0
ラ氏島細胞癌	4	0	0	0	0	0	1	0
脳（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
低悪性度悪性混合型膠細胞腫	0	1	0	0	0	0	0	0
髄膜腫，悪性	0	0	1	0	0	0	0	0
低悪性度悪性希突起膠細胞腫	1	0	0	0	0	1	0	0
ジンバル腺（検査動物数）	(1)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)
癌	1	NA	NA	NA	1	NA	NA	NA
皮膚（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
角化棘細胞腫	2	0	0	0	0	0	2	1
基底細胞腫，良性	0	1	0	0	0	0	0	0

2.6.7.10C　ラットの104週間経口投与がん原性試験

（その5）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）		3		10		30	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	50	50	50	50	50	50	50	50
病理組織学的検査，腫瘍性病変（動物数）（続き）								
皮下繊（検査動物数）	(7)	(0)	(2)	(0)	(4)	(2)	(6)	(0)
線維腫	4	NA	1	NA	1	1	3	NA
血管腫	1	NA	0	NA	0	0	0	NA
脂肪腫	1	NA	0	NA	0	0	0	NA
脂肪肉腫	0	NA	0	NA	1	0	0	NA
起源不明肉腫	0	NA	1	NA	1	0	0	NA
骨格筋（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
横紋筋肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0
骨（検査動物数）	(2)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(0)
骨肉腫	1	0	NA	NA	NA	NA	2	NA
大腿骨（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
骨肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0
全身性腫瘍（検査動物数）	(0)	(1)	(1)	(0)	(0)	(1)	(2)	(0)
骨髄性白血病	NA	0	0	NA	NA	1	0	NA
リンパ腫，悪性	NA	1	0	NA	NA	0	0	NA
組織球性肉腫	NA	0	1	NA	NA	0	2	NA
腫瘍発生時期	—	—	—	—	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査，非腫瘍性病変（動物数）								
肝臓（検査動物数）	(50)	(50)	(12)	(10)	(9)	(13)	(50)	(50)
腫瘍細胞の浸潤（転移性腫瘍）	5	3	2	3	2	5	6	11[#]

—：特記すべき所見なし，ND：定量下限濃度未満，NA：該当せず．

[*]：p≤0.05（Log-rank検定）．[#]：p≤0.05（Fisher直接確率検定）．

2.6.7.11　生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
ラット／Crl:CD(SD)	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	妊娠7～17日	0, 100, 300, 500	雌7～8	母動物の一般毒性への影響 100 mg/kg：影響なし. 300 mg/kg：摂餌量及び体重増加量の低値．排便少量（1例）. 500 mg/kg：摂餌量，体重増加量及び体重の低値．死亡2例（妊娠9日死亡例；脾臓の小型化．妊娠10日死亡例；排便少量，運動性の低下，よろめき歩行，横臥位，被毛の汚れ及び脾臓の小型化）. 母動物の生殖機能への影響 影響なし. 胚・胎児への影響 100 mg/kg：影響なし. 300 mg/kg：骨格変異の総発現頻度及び骨格変異（完全過剰肋骨，短小過剰肋骨）の発現頻度の高値傾向. 500 mg/kg：胎児体重の低値，骨格変異の総発現頻度及び骨格変異（胸椎体二分骨化，完全過剰肋骨，短小過剰肋骨）の発現頻度の高値，骨化数（仙尾椎，胸骨分節，中手骨）の低値. 黄体数，着床数，着床前死亡率，着床後死亡率，生存胎児数，性比及び胎盤重量に本薬投与に関連した変化なし．外表異常，内臓異常及び骨格異常の増加なし.	[redacted]250 4.2.3.5.2-1

2.6.7.11　生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）

（その2）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
ウサギ／Kbl:NZW	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	13日間	100, 300, 500, 1000	雌3（非妊娠）	100～500 mg/kg：投与初期に体重の減少傾向が認められたが，用量に依存した変動ではなく，用量と毒性発現の関係は明確ではなかった． 1000 mg/kg：摂餌量の顕著な低値又は廃絶，便量の減少又は無便，体重の減少．死亡1例（最終投与翌日；胃の暗赤色巣散在，腎臓の白色巣散在）．生存例で，脾臓の大型化（2例），胃の暗赤色巣散在，肝臓の淡褐色巣散在及び胆嚢の陥凹（1例）．	[redacted]287[a] 4.2.3.5.2-3
ウサギ／Kbl:NZW	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	妊娠6～18日	0, 100, 300, 500	雌6～8	母動物の一般毒性への影響 100 mg/kg：影響なし． 300 mg/kg：摂餌量の低値，体重及び体重増加量の低値，便量及び尿量の減少． 500 mg/kg：摂餌量の低値，体重及び体重増加量の低値，便量及び尿量の減少．死亡2例（妊娠25日；運動性の低下，削痩，赤色水様物．胃粘膜及び胆嚢粘膜の暗赤色巣，副腎の大型化，胃粘膜の陥凹）． 母動物の生殖機能への影響 300及び500 mg/kg：流産（それぞれ1及び2例，妊娠19日）． 胚・胎児への影響 100及び300 mg/kg：骨格変異の総発現率及び骨格変異（腰椎過剰，完全過剰肋骨）の高値傾向． 500 mg/kg：骨格変異（腰椎過剰）の発現率の高値．骨格変異の総発現率及び骨格変異（完全過剰肋骨）の高値傾向． 黄体数，着床数，着床前死亡率，着床後死亡率，生存胎児数，性比，胎児体重及び胎盤重量に本薬投与に関連した変化なし．外表異常，内臓異常及び骨格異常の増加なし．骨化数の低下なし．	[redacted]251 4.2.3.5.2-4

2.6.7.11　生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）

（その 3）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg/日）	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
ウサギ／Kbl:NZW	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	妊娠6～18日	0, 10, 30	雌8	母動物の一般毒性への影響 影響なし. 母動物の生殖機能への影響 影響なし. 胚・胎児への影響 影響なし.	[redacted]15 4.2.3.5.2-5
ラット／Crl:CD(SD)	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	妊娠7日～分娩後13日	0, 10, 30, 100, 300	雌7～8	母動物への影響 （妊娠期間中） 10～100 mg/kg：影響なし. 300 mg/kg：体重増加量の低値. 一般状態，妊娠期間，分娩率及び着床痕数に，本薬投与に関連した変化なし. （哺育期間中） 一般状態，体重及び剖検所見に，本薬投与に関連した変化なし. 出生児への影響： 出産児数，出生率，性比，生存児数，出生後14日までの生存率，一般状態，体重，外表所見，剖検所見，身体的発達（耳介展開，毛生，切歯萌出，眼瞼開裂）及び機能発達（背面立ち直り反射，負の走地性）に本薬投与に関連した変化なし.	FB0081[a] 4.2.3.5.3-1

a：GLP不適

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

2.6.7.12A　ラットの経口投与試験

(その 1)　　被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：FYU-981のラットにおける経口投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

試験計画：ICH4.1.1に準拠
動物種／系統：ラット／Crl:CD(SD)
試験開始週齢：雄；11週齢，雌；12週齢
初回投与年月日：雄；[redacted]
雌；[redacted]
投与期間：雄；交配前4週間，交配期間及び剖検前日まで
雌；交配前2週間，交配期間及び妊娠7日まで
交尾成立日：妊娠0日
帝王切開日：妊娠15日
投与方法：強制経口
試験番号：[redacted]040
CTDにおける記載箇所：4.2.3.5.1-1
GLP適用：適

媒体／投与形態：0.5%メチルセルロース水溶液／懸濁
特記事項：最終報告書では交配前投与の投与開始日を投与0日として記載しているが，試験間で日数表記をそろえるために，本項では投与開始日を投与1日として記載した.
無毒性量：F0雄；100 mg/kg/日，F0雌；100 mg/kg/日，F1胎児；100 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）	30	100	300
雄				
評価動物数	20	20	20	20
死亡及び切迫殺動物数	0	0	0	0
一般状態	—	—	—	—
剖検	—	—	—	—
体重	—	—	—	—
体重増加量（g）　投与1～4日	12.7	10.7	10.2	4.7**
摂餌量（g/day）　投与1～2日	22.6	22.2	20.8	18.3**
平均交配所要日数，交尾動物数，交尾率，受胎動物数，受胎率[a]				
精子検査（n＝10）	—	—	—[b]	—[b]

2.6.7.12A　ラットの経口投与試験

（その2）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）		0（媒体）	30	100	300
雌					
評価動物数	交配前	20	20	20	20
	妊娠期間	18	19	20	19
死亡及び切迫殺動物数		0	0	0	0
一般状態		—	—	—	—
剖検		—	—	—	—
体重（g）	投与11日	285.0	285.0	279.7	269.3**
	投与15日	288.8	289.1	283.4	274.5*
	妊娠0日	295.2	292.8	289.8	280.5*
	妊娠1日	301.2	300.9	296.7	286.1*
	妊娠2日	309.4	307.2	303.9	288.3**
	妊娠3日	315.1	311.3	308.5	293.6**
	妊娠4日	318.2	314.0	310.9	295.8**
	妊娠5日	322.3	319.0	315.8	301.9**
	妊娠6日	327.4	323.1	320.4	303.4**
	妊娠7日	332.6	327.3	324.0	306.2**
	妊娠10日	348.1	341.2	341.0	323.2**
	妊娠13日	363.8	358.7	359.0	342.5**
	妊娠15日	373.9	370.5	371.3	354.8*
体重増加量（g）	投与1～4日	2.6	2.3	0.8	-2.5**
	投与4～8日	5.0	3.9	4.3	0.3**
	投与8～11日	2.2	3.9	1.4	-2.6*
	妊娠1～2日	8.2	6.3	7.2	2.2**
	妊娠5～6日	5.2	4.1	4.6	1.5*
摂餌量（g/day）	投与1～2日	17.6	16.3	15.5*c	10.9**
	投与4～5日	19.1	18.2	17.8	16.4**
	投与8～9日	19.0	18.6	17.1*c	14.6**

2.6.7.12A　ラットの経口投与試験

（その3）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）	30	100	300
雌（続き）				
評価動物数	20	20	20	20
平均性周期（発情回数）／14日	3.3	3.4	3.3	3.3
平均交配所要日数	2.7	2.3	3.0	3.1
交尾動物数	18	19	20	20
交尾率（%）	90.0	95.0	100.0	100.0
受胎動物数	18	19	20	19
受胎率（%）	100.0	100.0	100.0	95.0
平均黄体数	15.9	16.2	16.2	13.8*
平均着床数	14.6	15.4	14.5	12.8#
着床率（%）	90.7	95.4	90.0	90.4
着床前死亡率（%）	9.3	4.6	10.1	9.6
胚・胎児				
平均生存胚数	13.7	14.5	13.9	11.6#
胚生存率（%）	93.9	94.1	96.5	89.8
平均死亡胚数	0.9	0.9	0.6	1.2
着床後死亡率（%）	6.1	5.9	3.6	10.2

－：特記すべき所見なし．
*：$p<0.05$，**：$p<0.01$（Dunnett検定）．#：$p<0.05$［Dunnett型検定（Miller検定）］．
交尾率＝交尾動物数／同居動物数×100．受胎率＝妊娠動物数／交尾動物数×100．着床率＝着床数／黄体数×100．着床前死亡率＝（黄体数－着床数）／黄体数×100．
胚生存率＝生存胚数／着床数×100．着床後死亡率＝死亡胚数／着床数×100．
a：雌動物の成績を参照．
b：100及び300 mg/kg/日群では精子活力及び運動精子率が対照群と比較して低値であったが，300 mg/kg/日群の値は背景データの範囲内の値であり，受胎率に影響がなかったことから，本薬投与に関連しない変化と考えられた．また，100 mg/kg/日群の低値には剖検で精巣上体の小型化がみられた1例が影響していた．
c：いずれも軽度な変化であり，体重及び体重増加量には統計学的有意差はみられなかったことから，本薬投与に関連しない変化と考えられた．

2.6.7.13　生殖発生毒性試験ー胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13A　ラットの経口投与試験

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：FYU-981のラットにおける経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験
試験計画：ICH4.1.3に準拠　　投与期間：妊娠7～17日　　試験番号：[redacted]038
動物種／系統：ラット／Crl:CD(SD)　　交尾成立日：妊娠0日　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.5.2-2
試験開始週齢：12～13週齢　　帝王切開日：妊娠20日　　GLP適用：適
初回投与年月日：[redacted]　　投与方法：強制経口
媒体／投与形態：0.5%メチルセルロース水溶液／懸濁
特記事項：なし
無毒性量：母動物；100 mg/kg/日，胎児；100 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）		0（媒体）	30	100	300
母動物					
妊娠動物数		20	19	19	19
死亡及び切迫殺動物数		0	0	0	0
流産あるいは全胚吸収母動物数		0	0	0	0
一般状態		—	—	—	—
剖検		—	—	—	—
体重（g）	妊娠12日	345.2	341.0	342.5	331.8*
	妊娠16日	373.7	370.1	372.3	355.7*
	妊娠18日	405.4	398.4	402.2	385.6*
体重増加量（g）	妊娠7～12日	27.2	24.6	22.1*a	9.1**
	妊娠7～18日	87.4	82.1	81.7	62.8**
	妊娠18～20日	34.6	32.4	38.6	39.8*
	妊娠0～20日	165.4	156.6	164.7	148.4**
摂餌量（g/day）	妊娠7～8日	23.3	22.9	21.0	12.4**
	妊娠8～9日	24.0	23.6	22.5	17.1##
	妊娠12～13日	25.6	25.5	25.5	22.6*

2.6.7.13A　ラットの経口投与試験

（その2）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）	30	100	300
母動物（続き）				
妊娠動物数	20	19	19	19
平均黄体数	15.6	15.6	15.5	16.1
平均着床数	15.0	14.0	14.9	15.6
着床率（%）	96.2	89.1	95.9	97.2
胎児				
評価母動物数	20	19	19	19
平均生存胎児数	14.4	12.7	14.3	14.8
胎児生存率（%）	96.3	91.6	95.2	94.8
平均死亡胎児数	0.6	1.3	0.7	0.8
着床後死亡率（%）	3.7	8.4	4.8	5.4
平均胎児体重（g，雄／雌）	3.76／3.58	3.92／3.69	3.69／3.51	3.57／3.36
性比［雄／（雄＋雌）］	0.470	0.482	0.491	0.453
平均胎盤重量（g，雄／雌）	0.52／0.50	0.54／0.53	0.51／0.50	0.49／0.48

2.6.7.13A　ラットの経口投与試験

（その3）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）	30	100	300
胎児（続き）				
評価母動物数	20	19	19	19
胎児の異常				
観察胎児数	288	242	271	281
外表異常（% [例数]）	0.00 [0]	0.00 [0]	0.00 [0]	0.33 [1] [b]
胎盤異常（% [例数]）	0.00 [0]	2.63 [6] [c]	0.00 [0]	0.00 [0]
観察胎児数	140	NE	NE	138
内臓異常（% [例数]）	0.00 [0]	NE	NE	0.00 [0]
内臓変異（% [例数]）	5.79 [9] [d]	NE	NE	11.37 [16] [d]
観察胎児数	148	127	139	143
骨格異常（% [例数]）	0.00 [0]	0.00 [0]	0.00 [0]	0.00 [0]
骨格変異（% [例数]） [e]	16.04 [24]	14.52 [20]	18.48 [26]	60.59 [**] [86]
完全過剰肋骨（% [例数]）	0.00 [0]	0.66 [1]	0.00 [0]	5.98 [##] [8]
短小過剰肋骨（% [例数]）	12.52 [19]	13.11 [18]	16.33 [23]	49.98 [**] [72]
腰椎過剰（% [例数]）	0.00 [0]	0.66 [1]	0.75 [1]	4.79 [#] [7]
骨化数（胸骨分節数，仙尾椎数）	—	—	—	—

－：特記すべき所見なし，NE：検査せず．

[*]：$p<0.05$，[**]：$p<0.01$（Dunnett検定）．[#]：$p<0.05$，[##]：$p<0.01$［Dunnett型検定（Miller検定）］．

着床率＝着床数／黄体数×100．胎児生存率＝生存胎児数／着床数×100．着床後死亡率＝死亡胎児数／着床数×100．

a：1時点のみの極軽微な変化であり，摂餌量の減少を伴っていないことから，本薬投与に関連しない変化と考えられた．

b：300 mg/kg/日群で索状尾が1胎児にみられたが，低頻度であり，背景データでもみられる所見であることから，本薬投与に関連しない変化と考えられた．

c：30 mg/kg/日群で胎盤腫大が1腹中の6胎児にみられたが，用量に関連しない変化であるため，本薬投与に関連しない変化と考えられた．

d：300 mg/k/日g群又は対照群で，胸腺の頸部残留，腎盂の拡張，尿管の蛇行及び尿管の拡張がみられたが，発生頻度に差はないことから，本薬投与に関連しない変化と考えられた．

e：その他に胸椎体ダンベル状骨化，胸椎体分離及び腰椎体分離がみられたが，対照群との間に差はなく，背景データの範囲内の頻度であった．

2.6.7.13B　ウサギの経口投与試験

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：FYU-981のウサギにおける経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験
試験計画：ICH4.1.3に準拠　　投与期間：妊娠6～18日　　試験番号：[redacted]037
動物種／系統：ウサギ／Kbl:NZW　　交尾成立日：妊娠0日　　CTDにおける記載箇所：4.2.3.5.2-6
試験開始週齢：18～21週齢　　帝王切開日：妊娠28日　　GLP適用：適
初回投与年月日：[redacted]　　投与方法：強制経口
溶媒／投与形態：0.5%メチルセルロース水溶液／懸濁
特記事項：試験群の一部の動物（対照群及び本薬投与群の各5例/群）を用いてトキシコキネティクスを検討した（測定は3例/群）．
無毒性量：母動物；100 mg/kg/日，胎児；30 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）		0（媒体）	10	30	100	300
母動物						
トキシコキネティクス（n＝3）						
C_{max}	妊娠6日	ND	15.17	41.72	125.9	182.6
（μg/mL）	妊娠18日	ND	13.53	47.84	103.7	153.8
AUC_{0-24}	妊娠6日	ND	154.2	326.8	962.3	1707
（μg·hr/mL）	妊娠18日	ND	131.2	280.3	879.1	1968
妊娠動物数		20	20	19	19	20
死亡及び切迫殺動物数		0	0	0	0	0
流産あるいは全胚吸収母動物数		0	1[a]	0	0	0
一般状態						
便量の減少		0	0	0	0	3
無便		0	0	0	0	3
剖検		—	—	—	—	—
体重		—	—	—	—	—
体重増加量（kg）	妊娠6～14日	0.097	0.110	0.069	0.075	0.009**
	妊娠6～19日	0.173	0.191	0.148	0.161	0.051#
摂餌量（g/day）	妊娠8～9日	162.4	159.4	149.4	153.3	134.2**
	妊娠10～11日	156.8	154.2	145.4	149.2	135.0*
	妊娠12～13日	144.8	141.1	123.3	138.6	119.0#

2.6.7.13B　ウサギの経口投与試験

（その 2）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）	10	30	100	300
母動物（続き）					
妊娠動物数	20	19	19	19	20
平均黄体数	8.3	8.1	7.9	7.8	8.0
平均着床数	7.4	7.2	7.3	6.9	6.5
着床率（%）	89.0	88.1	89.3	88.2	80.0
胎児					
評価母動物数	20	19	19	19	20
平均生存胎児数	6.9	6.8	6.7	6.6	6.2
胎児生存率（%）	94.4	95.9	94.2	95.1	95.7
平均死亡胎児数	0.5	0.3	0.5	0.3	0.4
着床後死亡率（%）	5.7	4.1	5.8	5.1	4.3
平均胎児体重（g，雄／雌）	34.27／33.91	36.94／34.84	35.06／34.57	38.21 **[b]／36.84	34.72／34.47
性比［雄／（雄＋雌）］	0.503	0.574	0.482	0.537	0.506
平均胎盤重量（g，雄／雌）	5.35／5.17	5.88／5.41	5.42／5.47	6.00／5.68	5.92／5.74
胎児の異常					
観察胎児数	138	130	128	126	123
外表異常（% [例数]）	0.72 [1] [c]	0.00 [0]	0.00 [0]	0.75 [1] [c]	0.00 [0]
胎盤異常（% [例数]）	0.00 [0]	0.00 [0]	0.00 [0]	0.75 [1] [c]	0.00 [0]
内臓異常（% [例数]）	1.55 [2] [d]	0.00 [0]	0.00 [0]	0.75 [1] [d]	0.00 [0]
内臓変異（% [例数]）	0.00 [0]	0.00 [0]	0.00 [0]	0.75 [1] [d]	0.00 [0]
骨格異常（% [例数]）	0.00 [0]	0.00 [0]	1.51 [2] [e]	0.75 [1] [e]	1.92 [3] [e]
骨格変異（% [例数]） [f]	65.42 [86]	75.49 [99]	68.99 [96]	83.51 [104]	89.90 #[115]
完全過剰肋骨（% [例数]）	47.59 [61]	48.89 [69]	55.49 [77]	70.11 [85]	85.43 ##[110]
腰椎過剰（% [例数]）	0.72 [1]	3.31 [4]	3.41 [5]	16.93 #[17]	25.71 ##[35]
骨化数					
胸骨分節数	5.62	5.72	5.77	5.91 ##[g]	5.97 ##[g]
仙尾椎数	19.37	19.53	19.36	19.46	19.21

2.6.7.13B　ウサギの経口投与試験

（その3）　　被験物質名：ドチヌラド

－：特記すべき所見なし，ND：定量下限濃度未満，NE：検査せず．
*：p<0.05，**：p<0.01（Dunnett検定）．#：p<0.05，##：p<0.01［Dunnett型検定（Miller検定）］．
着床率＝着床数／黄体数×100．胎児生存率＝生存胎児数／着床数×100．着床後死亡率＝死亡胎児数／着床数×100．
a：流産前の一般状態に変化はないこと，用量に関連しない変化であること及び背景データでも自然発生性の流産が認められることから，本薬投与に関連しない変化と考えられた．
b：背景データの範囲内の変動であり，用量に関連しない変化であることから，本薬投与に関連しない変化と考えられた．
c：100 mg/kg/日群ではドーム状頭部，異常回転肢及び腹部膨満の合併が1胎児にみられ，胎盤の褪色を伴っていた．300 mg/kg/日群ではいずれの胎児にも異常はみられず，1胎児のみの変化であることから，本薬投与に関連しない変化と考えられた．対照群では腹部膨満が1胎児にみられた．
d：100 mg/kg/日群では外表検査で複合異常が認められた1胎児において，脳室の拡張及び腎盂の拡張がみられた．1胎児のみの変化であることから，本薬投与に関連しない変化と考えられた．対照群では腹水の貯留が1胎児に，左心室拡張，右心室低形成，心室中隔膜性部欠損及び肺動脈幹狭窄の合併が他の1胎児にみられた．
e：300 mg/kg/日群では肋骨癒合，胸椎弓欠損及び胸椎体癒合が1胎児並びに胸椎体半椎体が2胎児に，100 mg/kg/日群では泉門拡張並びに肩甲骨，上腕骨，橈骨，尺骨，腸骨，大腿骨，腓骨及び脛骨の湾曲が1胎児に，30 mg/kg/日群では肋骨癒合，腰椎弓欠損，腰椎体半椎体又は腰椎欠損が2胎児にみられたが，いずれも1又は2胎児のみに低頻度でみられた所見であり，みられた所見のタイプに一貫性がないことから，本薬投与に関連しない変化と考えられた．
f：その他に胸骨分節糸状癒合，胸骨分節の非対称癒合，胸骨分節の非対称，短小過剰肋骨及び波状肋骨がみられたが，対照群との間に差はみられなかった．
g：骨化遅延を示唆する変化ではないため，毒性学的意義のない変化と考えられた．

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

2.6.7.14A　ラットの経口投与試験

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

報告書の題名：FYU-981のラットにおける経口投与による出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験
試験計画：ICH4.1.2に準拠　　**投与期間**：妊娠7日～分娩後21日　　**試験番号**：[redacted]039
動物種／系統：ラット／Crl:CD(SD)　　**交尾成立日**：妊娠0日　　**CTDにおける記載箇所**：4.2.3.5.3-2
試験開始週齢：12～13週齢　　**投与方法**：強制経口　　**GLP適用**：適
初回投与年月日：[redacted]　　**同腹児数の調整**：分娩後4日に雌雄各4例/腹に調整
媒体／投与形態：0.5%メチルセルロース水溶液／懸濁
特記事項：生殖能検査用F1雌雄を用いた初回交配後に，無処置の動物を追加して追加交配を実施した（生殖能検査用F1雄×無処置雌，無処置雄×行動検査用F1雌）．
無毒性量：F0動物；100 mg/kg/日，F1動物；30 mg/kg/日

投与量（mg/kg/日）		0（媒体）	30	100	300
F0母動物					
妊娠動物数		20	20	20	20
死亡及び切迫殺動物数		0	0	0	0
一般状態		—	—	—	—
剖検		—	—	—	—
体重（g）	妊娠12日	318.3	315.8	313.5	303.8*
	妊娠14日	327.6	326.1	325.2	313.4*
	妊娠16日	345.1	342.1	342.6	327.4**
	妊娠18日	373.0	371.3	371.7	352.2**
	妊娠20日	404.7	403.1	401.4	378.6**
体重増加量（g）	妊娠7～12日	25.0	23.3	20.8	9.0##
	妊娠12～18日	54.7	55.5	58.3	48.5*
	妊娠7～18日	79.7	78.8	79.1	57.4**
	妊娠18～20日	31.8	31.9	29.7	26.4**
	妊娠0～20日	152.0	149.6	148.7	125.7**

2.6.7.14A　ラットの経口投与試験

（その2）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）		0（媒体）	30	100	300
F0母動物（続き）					
妊娠動物数		20	20	20	20
摂餌量（g/day）	妊娠7～8日	21.8	21.4	19.2	12.7##
	妊娠8～9日	22.5	21.5	20.8	17.7**
	妊娠10～11日	22.7	22.1	21.4	20.2**
	妊娠18～19日	27.2	25.6	26.1	24.5**
	分娩後14～15日	68.8	69.5	67.3	63.7*
平均妊娠期間（日数）		21.85	21.95	21.80	22.18*
分娩及び哺育状況		—	—	—	—
分娩動物数		20	20	20	20
出産率（%）		100.0	100.0	100.0	100.0
平均着床痕数		14.8	15.2	14.9	14.0
F1出生児（離乳前）					
観察母動物数		20	20	20	20
平均出生児数		13.7	14.0	14.0	12.1*
出生率（%）		92.52	91.88	93.87	86.25
出生後0日の生存率（%）		99.65	100.00	98.54	96.44#
出生後0日の性比［雄／（雄＋雌）］		0.49	0.44	0.49	0.54
出生後4日の出生児数		13.6	13.7	13.8	11.5**
出生後4日生存率（%）		99.33	97.87	98.54	95.53
出生後4日調整後の出生児数（雄／雌）		80／78	80／80	81／79	86／74
離乳時の出生児数		7.9	8.0	8.0	8.0
離乳率（%）		100.00	99.38	99.38	99.38
外表異常（出生日）		—	—	—	—
一般状態		—	—	—	—
体重（g，雄／雌）	出生後22日	63.36／60.83	64.89／61.86	64.49／61.79	60.14／58.04

2.6.7.14A　ラットの経口投与試験

（その3）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）	30	100	300
F1出生児（離乳前）（続き）				
観察母動物数	20	20	20	20
身体的発達（出生後4～17日）	—	—	—	—
機能発達（出生後1～20日）	—	—	—	—
剖検（離乳時，雌雄合算）	— （n＝78）	— （n＝79）	— （n＝79）	— （n＝81）
外表異常（% [例数]）	0.00 [0]	0.00 [0]	0.00 [0]	0.00 [0]
内臓異常（% [例数]）	0.00 [0]	0.00 [0]	0.00 [0]	0.00 [0]
内臓変異（% [例数]）	0.00 [0]	0.00 [0]	0.00 [0]	0.00 [0]
骨格異常（% [例数]）	0.00 [0]	NE	NE	0.00 [0]
骨格変異（% [例数]）	11.25 [9]	NE	NE	19.25 [16]
頸肋（% [例数]）	7.50 [6]	NE	NE	7.50 [6]
完全過剰肋骨（% [例数]）	0.00 [0]	NE	NE	1.25 [1]
短小過剰肋骨（% [例数]）	3.75 [3]	NE	NE	9.25 [8]
腰椎過剰（% [例数]）	0.00 [0]	NE	NE	3.25 [3]
骨化数（胸骨分節数，仙尾椎数）	—	NE	NE	—

2.6.7.14A　ラットの経口投与試験

（その4）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）			0（媒体）	30	100	300
F1出生児（離乳後）						
離乳後評価動物数（生殖能／行動）		雄	20／20	20／20	20／20	20／20
		雌	20／20	20／20	20／20	20／18
死亡及び切迫殺動物数		雄雌	0	0	0	0
一般状態		雄雌	－	－	－	－
剖検（生殖能／行動）		雄	－／－	－／－	－／－	－／－
外陰部正中皮膚の不完全な癒合		雌	0／0	0／0	6／7	11／6
体重		雄雌	－	－	－	－
生殖器形態分化						
雄　包皮の分離			－	－	－	－
雌　膣開口（%）	出生後35日		92.5	87.5	70.0	42.5**
	出生後40日		100.0	100.0	92.5	77.5##
	出生後41日				97.5	87.5
	出生後42日				100.0	97.5
	出生後43日					100.0
一般行動・学習						
オープンフィールド試験		雌雄	－	－	－	－
水迷路試験		雌雄	－	－	－	－

2.6.7.14A　ラットの経口投与試験

（その5）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）	30	100	300
F1出生児（離乳後）（続き）				
初回交配（生殖能検査用F1雌雄）				
評価動物数	20	20	20	20
平均交配所要日数	3.5	2.7	2.4	4.0[a]
交尾動物数	19	18	10	6[b]
交尾率（%）	95.0	90.0	50.0[$$]	30.0[$$b]
受胎動物数	18	16	10	3[b]
受胎率（%）	94.7	88.9	100.0	50.0[$b]
初回交配開始時の外表異常[c]（% [例数], 生殖能・行動検査用動物合算）				
雄	0.00 [0]	0.00 [0]	0.00 [0]	0.00 [0]
雌　外陰部正中皮膚の不完全な癒合	0.00 [0]	0.00 [0]	32.50[##] [13]	45.00[##] [17]
一般状態（妊娠期間）	—	—	—	—
体重（妊娠0，7，15日）	—	—	—	—
平均黄体数	14.7	14.3	13.9	13.5[a]
平均着床数	14.2	13.6	12.4	10.0[a]
着床率（%）	96.6	95.8	89.6	74.0[#a]
着床前死亡率（%）	3.4	4.3	10.4	26.0[#a]
平均生存胚数	13.3	12.5	11.5	10.0[a]
胚生存率（%）	93.9	91.9	93.4	100.0[a]
平均死亡胚数	0.9	1.1	0.9	0.0[a]
着床後死亡率（%）	6.1	8.1	6.7	0.0[a]

2.6.7.14A　ラットの経口投与試験

（その6）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）	30	100	300
F1出生児（離乳後）（続き）				
追加交配（生殖能検査用F1雄×無処置雌）				
評価動物数	20	NE	20	20
平均交配所要日数	3.3	NE	3.2	3.5
交尾動物数	20	NE	18	20
交尾率（%）	100.0	NE	90.0	100.0
受胎動物数	18	NE	18	19
受胎率（%）	90.0	NE	100.0	95.0
一般状態（妊娠期間）	NE	NE	NE	NE
体重（妊娠0，7，15日）	—	NE	—	—
平均黄体数	14.6	NE	14.5	14.5
平均着床数	14.3	NE	13.7	13.1
着床率（%）	97.8	NE	94.2	88.3
着床前死亡率（%）	2.3	NE	5.8	11.7
平均生存胚数	13.7	NE	12.8	12.4
胚生存率（%）	95.6	NE	93.5	95.2
平均死亡胚数	0.6	NE	0.9	0.7
着床後死亡率（%）	4.4	NE	6.5	4.9

2.6.7.14A　ラットの経口投与試験

（その 7）　　被験物質名：ドチヌラド

投与量（mg/kg/日）	0（媒体）	30	100	300
F1出生児（離乳後）（続き）				
追加交配（無処置雄×行動検査用F1雌）				
評価動物数	20	NE	20	18
平均交配所要日数	3.2	NE	3.9	4.5
交尾動物数	19	NE	11	6
交尾率（%）	95.0	NE	55.0 $^{\$\$}$	33.3 $^{\$\$}$
受胎動物数	18	NE	8	3
受胎率（%）	94.7	NE	72.7	50.0 $^{\$}$
一般状態（妊娠期間）	—	NE	—	—
体重（妊娠0，7，15日）	—	NE	—	—
平均黄体数	13.7	NE	15.5	10.7
平均着床数	13.0	NE	14.4	6.3
着床率（%）	93.4	NE	93.1	55.3
着床前死亡率（%）	6.7	NE	7.1	44.7
平均生存胚数	12.3	NE	12.8	6.0
胚生存率（%）	95.2	NE	88.9	91.7
平均死亡胚数	0.7	NE	1.6	0.3
着床後死亡率（%）	4.8	NE	11.3	8.3

－：特記すべき所見なし，NE：検査せず．

*：p<0.05，**：p<0.01（Dunnett検定）．$^{\#}$：p<0.05，$^{\#\#}$：p<0.01［Dunnett型検定（Miller検定）］．$^{\$}$：p <0.05，$^{\$\$}$：p <0.01（Fisher直接確率検定）．

出産率＝（生存児出産動物数／妊娠動物数）×100．出生率＝（出生日の生存F1児数／着床痕数）×100．

出生後0日の生存率＝（出生日の生存F1児数／出生日のF1児数）×100．出生後4日の生存率＝（出生後4日調整前の生存F1児数／出生日の生存F1児数）×100．

離乳率＝（出生後22日の生存F1児数／出生後4日調整後の生存F1児数）×100．交尾率＝交尾動物数／同居動物数×100．受胎率＝妊娠動物数／交尾動物数×100．

着床率＝着床数／黄体数×100．着床前死亡率＝（黄体数－着床数）／黄体数×100．胚生存率＝生存胚数／着床数×100．

着床後死亡率＝死亡胎児数／着床数×100．

a：交尾が確認できなかった妊娠動物1例を除く．

b：交尾が確認できなかった妊娠動物1例を含む．

c：交尾確認開始日の膣スメア採取時に，生殖能検査に用いたF1雌動物において外陰部正中皮膚の不完全な癒合がみられた．このため，雌雄全例について外陰部を詳細に観察し，外表異常の所見として取り扱った．

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当資料なし.

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当資料なし.

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17A　抗原性試験

被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
モルモット／ Slc:Hartley	強制経口（0.5% MC）	週5回，3週間（能動感作）14日後惹起[a]	0，0.1，1	雄5	【全身性アナフィラキシー反応】 全身性アナフィラキシー反応は陰性であった．	[redacted] 043 4.2.3.7.1-1
	皮下（FCA/FIA）	週1回，3週間（能動感作）14日後惹起[a]	1	雄5	【同種受身皮膚アナフィラキシー反応】 同種受身皮膚アナフィラキシー反応は陰性であった．	
	皮内	単回（受身感作）4時間後惹起[a]	b	雄5		
マウス／ BALB/cAnNCrlCrlj	強制経口（0.5% MC）	週5回，3週間（能動感作）	0，0.1，1	雄6	【異種受身皮膚アナフィラキシー反応】 いずれの系統のマウスの血清で受身感作した場合でも，異種受身皮膚アナフィラキシー反応は陰性であった．	[redacted] 044 4.2.3.7.1-2
	腹腔内［$Al(OH)_3$］	週1回，3週間（能動感作）	1	雄6		
マウス／ C3H/HeNCrl	強制経口（0.5% MC）	週5回，3週間（能動感作）	0，0.1，1	雄6		
	腹腔内［$Al(OH)_3$］	週1回，3週間（能動感作）	1	雄6		
ラット／ Crl:CD(SD)	皮内	単回（受身感作）48時間後惹起[a]	c	雄6		

$Al(OH)_3$：水酸化アルミニウムゲル（アジュバント）．FCA/FIA：フロイント完全アジュバント又はフロイント不完全アジュバント（アジュバント）．
0.5% MC：0.5%メチルセルロース水溶液．
a：静脈内投与．
b：能動感作した動物から最終能動感作後12日に採取した血清．
c：能動感作した動物から最終能動感作後7日に採取した血清．

2.6.7.17B　免疫毒性試験

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
サル／カニクイ 全血	in vitro	—	0, 100, 1000 μg/mL	雄1	【リンパ球幼若化反応の検討，予備試験】 BrdUの細胞への取り込みを測定し，陽性細胞の比率を幼若化の指標とした． 代謝活性化系を添加しない条件では，PHA-Mを添加したときの陰性対照群におけるBrdU陽性細胞比率はPHA-Mを添加しないときの陰性対照群と比較して増加しているため，使用したリンパ球は刺激に対する反応性を有していたと考えられた． PHA-Mを添加しない条件では，代謝活性化系及びODNの有無にかかわらず，BrdU陽性細胞比率は100 μg/mLで変化はないか減少したが，1000 μg/mLでは増加傾向がみられた．PHA-Mを添加する条件では，PHA-Mが本薬の作用に影響したため，明確な傾向はみられなかった． ODN添加による明らかな影響はみられなかった．	[redacted] 017[a] 4.2.3.7.2-1
サル／カニクイ 全血	in vitro	—	0, 100, 1000 μg/mL	雄2	【リンパ球幼若化反応の検討，確認試験】 IL-2を30 U/mLの濃度で添加し，代謝活性化系を添加しない条件では，Con-Aを添加したときの陰性対照群におけるBrdU陽性細胞比率はCon-Aを添加しないときの陰性対照群と比較して僅かではあるが増加しているため，使用したリンパ球は刺激に対する反応性を有していたと考えられた． 代謝活性化系を添加しない条件では，濃度依存的にBrdU陽性細胞比率が増加した．増加の程度は個体間で大きな差がみられた．代謝活性化系を添加する条件では，100 μg/mLでBrdU陽性細胞比率が増加したが，1000 μg/mLでは減少又は消失した．Con-Aを添加する条件では，1000 μg/mLでBrdU陽性細胞比率が増加したが，Con-Aを添加しない条件に比べてその比率は低かった． IL-2濃度を100 U/mLとした場合，代謝活性化系を添加しない条件では30 U/mLと同様の結果が得られた．代謝活性化系を添加する条件では30 U/mLと比べて陰性対照のBrdU陽性細胞比率が増加したが，1000 μg/mLで反応は消失した．	[redacted] 020[a] 4.2.3.7.2-2

2.6.7.17B　免疫毒性試験

（その2）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
サル／カニクイ 全血	in vitro	—	0, 100, 300, 1000 μg/mL	雄5	【リンパ球幼若化反応の検討，確認試験2】 100及び300 μg/mL群では濃度依存的にBrdU陽性細胞比率が増加した．陰性対照の値及び本薬による増加の程度にはサンプル間で差がみられた．1000 μg/mL群では本薬の細胞に対する傷害性が生じた可能性が考えられた．	[redacted] 021[a] 4.2.3.7.2-3
サル／カニクイ 全血	in vitro	—	0, 30, 100, 300 μg/mL	雄5	【リンパ球幼若化反応の検討，本試験】 本薬の濃度の増加に伴ってBrdU陽性細胞比率の増加が認められ，300 μg/mL群では陰性対照群と比較して統計学的に有意差が認められた．陰性対照の値及び本薬による増加の程度に個体差がみられた． 以上の結果から，ドチヌラドはカニクイザルのリンパ球に対して幼若化作用を有することが確認された．	[redacted] 022[a] 4.2.3.7.2-4
ヒト／日本人 全血	in vitro	—	0, 30, 100, 300 μg/mL	男性5	【リンパ球幼若化反応の検討，本試験】 全てのサンプルにおいて陰性対照と比較して本薬添加によるBrdU陽性細胞比率の増加はみられなかった． 以上の結果から，ドチヌラドはヒトのリンパ球に対して幼若化作用を示さないことが示唆された．	[redacted] 018[a] 4.2.3.7.2-5
ラット／Crl: CD(SD) 全血	in vitro	—	0, 100, 300, 1000 μg/mL	雄3	【リンパ球幼若化反応の検討，予備試験】 全てのサンプルにおいて本薬添加によるBrdU陽性細胞比率の増加はみられなかった． 以上の結果から，ドチヌラドはラットのリンパ球に対して幼若化作用を示さないことが示唆された．	[redacted] 019[a] 4.2.3.7.2-6

BrdU：5-Bromo-2'-deoxy-uridine．Con-A：コンカナバリンA．IL-2：Interleukin-2 human．ODN：Oligodeoxynucleotide [Oligo (dT) 15mers].
PHA-M：フィトヘマグルチニン．
a：GLP不適

2.6.7.17C　毒性発現の機序に関する試験

被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
ラット／Crl: CD(SD)	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	7日間	0, 1, 3, 10	雌5	【反復投与時の肝薬物代謝酵素誘導の検討】 CYP1A2，CYP2B1及びCYP3A1については，誘導作用はみられなかった．また，肝臓の体重比重量の増加はみられなかった． 以上の結果から，ドチヌラドを1～10 mg/kg/日の用量でラットに7日間経口投与した場合には肝薬物代謝酵素は誘導されないことが示された．	FB0155[a] 4.2.3.7.3-1
ラット／Crl: CD(SD)	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	14日間	0, 30, 300	雌5	【反復投与時の肝薬物代謝酵素誘導の検討】 300 mg/kg/日群では，肝臓の体重比重量及びミクロソーム蛋白含量の増加，P450含量の増加傾向が認められ，CYP2B1のmRNA発現量の増加も認められた．30 mg/kg/日群ではこれらの変化はみられなかった． 以上の結果から，ドチヌラドを300 mg/kg/日の用量でラットに14日間経口投与した場合には肝薬物代謝酵素が誘導されることが示された．	FB0267[a] 4.2.3.7.3-2
ラット／凍結肝細胞	in vitro	—	0, 1, 3, 10, 30, 100, 300 μmol/L	—	【CYP2B1及びCYP3A1に対する誘導の検討】 CYP2B1のmRNA発現量は濃度依存的に増加し，100及び300 μmol/Lで陰性対照の2倍以上に増加した．CYP2B1酵素活性は濃度依存的に増加し，% positive controlは100及び300 μmol/Lでそれぞれ15.9及び27.5%であった．酵素活性の判断基準では誘導作用はないと判断される範囲の変動であったが，mRNA発現量と酵素活性の反応性に相関がみられることから，CYP2B1の誘導作用を示したと考えられた． CYP3A1のmRNA発現量及び酵素活性については，陽性対照で明確な誘導作用がみられなかったため，誘導作用は評価できなかった． 以上の結果から，ドチヌラドはラット肝細胞において100及び300 μmol/Lの濃度でCYP2B1の誘導作用を有することが示された．	FB0204[a] 4.2.3.7.3-3

a：GLP不適．

2.6.7.17D　その他の試験

（その 1）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
ラット／Iar:Long-Evans	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	単回	0, 1, 10, 100	雄5	【光毒性試験】 一般状態及び体重に異常は認められず，皮膚の肉眼的検査，耳介厚の測定，眼科学的検査及び病理組織学的検査で異常は認められなかった． 以上の結果から，ドチヌラドはLong-Evansラットに対しては光毒性を示さないと考えられた．	[redacted] 028 4.2.3.7.7-1
ラット／CD(SD)	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	単回	30, 300	雄4	【血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）】 30及び300 mg/kgともに，ドチヌラド [redacted] とドチヌラド [redacted] を投与したときのAUC_{0-24}はほぼ同等であった．	FB0124[a] 4.2.3.7.7-2
ウサギ／Slc:NZW	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	単回	30, 300	雌3	【血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）】 30及び300 mg/kgともに，ドチヌラド [redacted] ではドチヌラド [redacted] と比較して，C_{max}が低下するものの，AUC_{0-24}はほぼ同等であった．	FB0140[a] 4.2.3.7.7-3
サル／カニクイ	強制経口（0.5%メチルセルロース水溶液）	単回（7日間隔で2回）	50	雄3, 雌3	【血漿中薬物濃度の検討（結晶形の異なる原薬）】 各PKパラメーターに明確な雌雄差はみられなかった．ドチヌラド [redacted] ではドチヌラド [redacted] と比較して，C_{max}とAUC_{0-24}がやや低い傾向を示した．	[redacted] 034[a] 4.2.3.7.7-4

2.6.7.17D　その他の試験

（その 2）　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
ヒト／凍結肝細胞	in vitro	—	10 μmol/L	—	【共有結合能の検討】 ヒト肝細胞懸濁液に^{14}C-ドチヌラド，^{14}C-ベンズブロマロン，^{3}H-イミプラミン，^{14}C-ジクロフェナック及び^{3}H-フルタミドを10 μmol/Lで2時間反応したときの共有結合量は，それぞれ13.8，12.7，5.1，52.5及び36.3 pmol/mg proteinであった． ヒト肝細胞に対する共有結合量と臨床用量を基にした毒性発現リスクのエリア分けをしたところ，本薬はSafeのエリアに分類された． 以上の結果から，ドチヌラドによる肝細胞への共有結合を介した薬物性肝障害リスクを示唆する所見は認められなかった．	[redacted]1142[redacted][a] 4.2.3.7.7-5
ラット／肝ミトコンドリア	in vitro	—	0， 10， 30， 100 μmol/L	—	【ミトコンドリア呼吸に対する影響の検討】（FB0270） 【ミトコンドリア酵素複合体に対する影響の検討】（FB0275） ドチヌラドでは，濃度依存的な呼吸調節率の抑制がみられた（IC_{50}；30及び23 μmol/L）．酵素複合体I～IV活性については100 μmol/Lでほとんど抑制はみられなかった．	FB0270[a] 4.2.3.7.7-6
ウシ／心ミトコンドリア	in vitro	—	0， 100 μmol/L	—	ベンズブロマロンでは，濃度依存的な呼吸調節率の抑制がみられた（IC_{50}；0.33及び0.51 μmol/L）．酵素複合体Iについては100 μmol/Lでほとんど抑制はなかったが，酵素複合体II及びII/IIIについては濃度依存的な抑制がみられた（IC_{50}；4.6及び1.6 μmol/L）．酵素複合体IVについては100 μmol/Lで65.9%の抑制がみられた． 本薬でミトコンドリア呼吸の抑制が認められた濃度と臨床曝露量との乖離は39～51倍に相当した． 以上の結果から，ドチヌラドによるミトコンドリア機能の障害を介した薬物性肝障害リスクを示唆する所見は認められなかった．	FB0275[a] 4.2.3.7.7-7

2.6.7.17D　その他の試験

(その 3)　　被験物質名：ドチヌラド

動物種／系統	投与方法（媒体）	投与期間	投与量（mg/kg）	性別及び動物数／群	特記すべき所見	試験番号 CTD記載箇所
THP-1 細胞	in vitro	—	0, 3, 10, 30, 100 μmol/L	—	【IL-8産生を指標にした検討】 ドチヌラド及びベンズブロマロン処置により，30及び100 μmol/L群でIL-8産生量の増加がみられたが，その程度はベンズブロマロン処置群の方が大きかった． 本薬で作用が認められた濃度と臨床曝露量との乖離は51倍に相当した． 以上の結果から，ドチヌラドによる免疫反応の刺激を介した薬物性肝障害リスクを示唆する所見は認められなかった．	FB0142[a] 4.2.3.7.7-9 予備検討 FB0139[a] 4.2.3.7.7-8

a：GLP不適