

目次

2. 6. 6 毒性試験の概要文	3
2. 6. 6. 1 まとめ	3
2. 6. 6. 2 単回投与毒性試験	8
2. 6. 6. 2. 1 マウス、ラット単回経口及び静脈内投与毒性試験	8
2. 6. 6. 2. 2 イヌ単回経口投与毒性試験	8
2. 6. 6. 3 反復投与毒性試験	9
2. 6. 6. 3. 1 ラットの4週間反復経口投与毒性試験	9
2. 6. 6. 3. 2 ラットの13週間反復経口投与毒性試験（4週間回復群を含む）	9
2. 6. 6. 3. 3 ラットの26週間反復経口投与毒性試験	10
2. 6. 6. 3. 4 イヌの4週間反復経口投与毒性試験（4週間回復群を含む）	11
2. 6. 6. 3. 5 イヌの39週間反復経口投与毒性試験	11
2. 6. 6. 4 遺伝毒性試験	13
2. 6. 6. 4. 1 細菌を用いた復帰突然変異試験	13
2. 6. 6. 4. 2 CHL/IU細胞を用いた染色体異常試験	13
2. 6. 6. 4. 3 ラットを用いた骨髄小核試験	13
2. 6. 6. 5 がん原性試験	14
2. 6. 6. 6 生殖発生毒性試験	14
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	14
2. 6. 6. 6. 1. 1 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	14
2. 6. 6. 6. 2 胚・胎児発生に関する試験	14
2. 6. 6. 6. 2. 1 ラットの胚・胎児発生に関する試験	14
2. 6. 6. 6. 2. 2 ウサギの胚・胎児発生に関する試験	15
2. 6. 6. 6. 3 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	15
2. 6. 6. 6. 3. 1 ラットの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	15
2. 6. 6. 6. 4 新生児を用いた試験	16
2. 6. 6. 6. 4. 1 幼若ラットの4週間反復経口投与毒性試験	16
2. 6. 6. 7 局所刺激性試験	16
2. 6. 6. 8 その他の毒性試験	17
2. 6. 6. 8. 1 ラットの血漿ホルモンに対する影響	17
2. 6. 6. 8. 2 不純物の変異原性の評価	17
2. 6. 6. 8. 3 依存性試験	18
2. 6. 6. 9 考察	18
2. 6. 6. 9. 1 反復経口投与毒性試験について	18
2. 6. 6. 9. 2 反復経口投与毒性試験における無毒性量と臨床用量の関係について	19
2. 6. 6. 9. 3 幼若動物に対する影響について	19
2. 6. 6. 9. 4 がん原性について	20
2. 6. 6. 10 図表	22
2. 6. 6. 11 参考文献	22

略語・略号一覧

略語・略号	内容
ACTH	副腎皮質刺激ホルモン
A/G	アルブミン・グロブリン比
ALAT	アラニンアミノトランスフェラーゼ (GPT)
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
AUC _{0-6 h}	血液中薬物濃度—時間曲線下面積 (0-6 時間)
C _{max}	最高血液中濃度
FSH	卵胞刺激ホルモン
GH	成長ホルモン
GLU	グルコース
in silico	コンピュータ・シミュレーション
LH	黄体形成ホルモン
PT	プロトロンビン時間
S9mix	薬物代謝酵素誘導剤で処理したラット肝ホモジネート 9000×g 上清画分に、電子伝達系に関わる補助因子を添加した混合液
T ₃	甲状腺ホルモン(3つのヨウ素を持つトリヨードサイロニン)
T ₄	甲状腺ホルモン(4つのヨウ素を持つサイロキシン)
TG	中性脂肪
T _{max}	最高血液中濃度到達時間
TP	総蛋白
TSH	甲状腺刺激ホルモン
UDP-GT	グルクロン酸転移酵素(uridine diphosphate glucuronyl transferase)
UN	尿素窒素
γ GT	γ グルタミルトランスぺプチダーゼ

2. 6. 6 毒性試験の概要文

2. 6. 6. 1 まとめ

NPC-15 の安全性を評価するため、イヌを用いた単回投与毒性試験、ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験、細菌、チャイニーズハムスター肺細胞及びラットを用いた遺伝毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験並びに幼若ラットを用いた毒性試験を実施した。

単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験及び幼若ラットを用いた毒性試験については医薬品毒性試験法ガイドラインに準拠して実施した。投与経路は臨床適用経路である経口投与とし、本薬をカルボキシメチルセルロースナトリウム液に懸濁して投与した。また、用量設定試験及び検討試験を除くすべての試験は GLP に準拠して実施した。実施した毒性試験の一覧を表 2. 6. 6-1 に示した。

なお、がん原性試験は実施しなかった。本薬は生体内物質であるメラトニンと同一成分であり、生理的な濃度を超える曝露となるものの、メラトニンの生理学的作用である睡眠効果を期待して投与されることから、必ずしもがん原性試験の実施は必要ないと考えた。現在までに得られた本薬の安全性試験成績、海外におけるメラトニンの安全性情報及びメラトニンの生物学的特性に関する情報を踏まえ NPC-15 のがん原性に関する知見について 2. 6. 6. 9. 4 に記述した。

表 2. 6. 6-1 NPC-15 の毒性試験一覧

試験の種類	動物種（試験系）	投与経路・期間	投与量 (mg/kg/day)	GLP 適用	添付資料番号
単回投与毒性	マウス	経口、静注・単回	記載なし	非	4. 2. 3. 1-1（参考）
	ラット				
	イヌ	経口・単回	1000	適	4. 2. 3. 1-2
反復投与毒性	ラット	経口・4 週	15、75、375	適	4. 2. 3. 2-1
		経口・13 週（回復）	15、75、375	適	4. 2. 3. 2-2
		経口・26 週	15、75、375	適	4. 2. 3. 2-3
	イヌ	経口・4 週（回復）	15、75、375(150)	適	4. 2. 3. 2-4
		経口・39 週	15、75、250(150)	適	4. 2. 3. 2-5
遺伝毒性	復帰突然変異	ネズミチフス菌、大腸菌、in vitro	156～5000 μ g/プレート	適	4. 2. 3. 3. 1-1
	染色体異常	CHL/IU、in vitro	29.1～233 μ g/mL	適	4. 2. 3. 3. 1-2
	ラット小核	経口・2 回	500、1000、2000	適	4. 2. 3. 3. 2-1
がん原性	（実施せず）				
生殖発生毒性	ラット受胎能/初期胚発生	経口・雄：交配前 2 週～交配終了、雌：交配前 2 週～妊娠 7 日	15、75、375	適	4. 2. 3. 5. 1-1
	ラット胚・胎児発生	経口・妊娠 6～17 日	15、75、375	適	4. 2. 3. 5. 2-1
	非妊娠ウサギ予備毒性	経口・雌 2 週	150、300、375、600	非	4. 2. 3. 5. 2-2（参考）
	ウサギ胚・胎児発生	経口・妊娠 6～18 日	30、100、300	適	4. 2. 3. 5. 2-3
	ラット出生前後の発生/母体の機能	経口・妊娠 6 日～分娩 20 日	15、75、375	適	4. 2. 3. 5. 3-1
新生児	ラット	経口・4 週	15、75、375	適	4. 2. 3. 5. 4-1
その他	ラットホルモンへの影響	経口・雄 2 週、雌 3 週	15、75	非	4. 2. 3. 7-1（参考）
	不純物の変異原性評価	in silico	不純物 8 物質	非	4. 2. 3. 7-2（参考）
	不純物の変異原性評価	in silico	不純物 6 物質	非	4. 2. 3. 7-3（参考）

(1) 単回投与毒性

メラトニンをマウス、ラットに単回経口投与した際の50%致死量は、マウスで1250 mg/kg、ラットで3200 mg/kg以上であった。また、静脈内投与では、マウスで472 mg/kg、ラットで356 mg/kgであった。マウス及びラットとも高用量群では四肢の血管拡張、立毛、眼瞼下垂、筋弛緩、自発運動の減少及び運動失調がみられた。死亡例では、正向反射・踏み直り反射などの低下、体温の低下及び呼吸困難が認められた。

NPC-15をイヌに単回経口投与した際の概略致死量は、1000 mg/kg以上であった。雌雄とも投与後1～2時間より、吐物、結膜の充血、潮紅、歩行異常及び振戦が認められ、投与日に全例で摂餌量の低値、投与後2日に雄1例及び雌全例で体重の減少がみられたが、その後はいずれも回復傾向を示した。剖検では異常はなかった。

(2) 反復投与毒性

NPC-15をラットに4、13及び26週間、イヌに4及び39週間反復経口投与して毒性を検討した。

ラットにおける4週間反復経口投与毒性試験（15、75、375 mg/kg/day）では、いずれの投与群においても死亡は認められず、全身毒性を示唆する変化も認められなかった。375 mg/kg/dayでは黒色便（雌雄）及び尿ビリルビン陽性反応（雌）が観察された。また、雌雄で肝UDP-GT酵素活性の高値が、雌で肝臓重量の高値が認められたが、肝機能に関連する血液生化学的検査値の変動及び肝臓の病理組織学的検査において異常は認められなかったことから、肝臓重量の変動は、生体の適応性反応（薬物代謝酵素誘導）を反映したもので、毒性学的に意義のない変化と判断した。黒色便については、肝UDP-GT酵素活性が高値であったことから、ビリルビンの抱合が亢進され、多量の抱合型ビリルビンが腸管に分泌され、便の色調変化を生じたものと考えられた。また、尿ビリルビン陽性反応については、抱合型ビリルビンの一部が尿から排泄されたことに起因したものと考えられた。これらの変化については、薬物代謝酵素誘導に関連して発現した可能性が考えられることから、毒性学的に意義のない変化と判断した。本試験における無毒性量は、雌雄とも375 mg/kg/dayと判断した。

ラットにおける13週間反復経口投与毒性試験（15、75、375 mg/kg/day）では、本剤投与に関連する死亡は認められず、375 mg/kg/dayでは4週間反復経口投与試験と同様に黒色便及び尿ビリルビン陽性反応が観察された。同群では、甲状腺の褐色化並びに甲状腺重量の高値ないし高値傾向が認められ、病理組織学的検査において、濾胞上皮細胞の肥大及び褐色色素沈着が認められた。血液生化学的検査ではグルコースの高値が75及び375 mg/kg/dayの雌に、総コレステロール及びリン脂質の高値が375 mg/kg/dayの雌雄及び75 mg/kg/dayの雌にみられた。副腎では、束状帯の皮質細胞における空胞の増加が375 mg/kg/dayに認められた。卵巣の黄体の減少が75及び375 mg/kg/dayに、卵胞嚢胞及び腔粘膜上皮細胞の変性／壊死が375 mg/kg/dayに認められた。その他、375 mg/kg/dayでは、肝臓重量の高値及び小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。これらの肝臓の変化については、4週間反復経口投与試験と同様に、

生体の適応性反応（薬物代謝酵素誘導）を反映した変化と判断した。本試験における無毒性量は、雄で 75 mg/kg/day、雌で 15 mg/kg/day と判断した。

ラットにおける 26 週間反復経口投与毒性試験（15、75、375 mg/kg/day）では死亡は認められず、375 mg/kg/day では黒色便及び尿ビリルビン陽性反応が観察された。血液生化学的検査では 375 mg/kg/day で総コレステロール及びリン脂質の高値がみられた。器官重量では 75 及び 375 mg/kg/day の雄で副腎重量の低値が、375 mg/kg/day で甲状腺及び肝臓重量の高値が認められた。病理組織学的検査では 375 mg/kg/day の雌雄で副腎の束状帯の皮質細胞の空胞化が、甲状腺では 75 mg/kg/day の雄及び 375 mg/kg/day の雌雄に濾胞上皮細胞の褐色色素沈着、375 mg/kg/day の雄に濾胞上皮細胞の肥大が認められた。375 mg/kg/day の肝臓では小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。本試験における無毒性量は、雄で 15 mg/kg/day、雌で 75 mg/kg/day と判断した。

イヌにおける 4 週間反復経口投与毒性試験（15、75、375 (150) mg/kg/day）では、死亡は認められなかった。しかし 375 mg/kg/day の雄では自発運動の低下、消瘦、無便、粘液便及び結膜の充血が認められ、摂餌量及び体重の有意な低値が認められた。そのため、375 mg/kg/day での投与継続は困難と判断し、第 15 日より投与量を 150 mg/kg/day に変更した。その後、異常症状は次第に消失し、体重及び摂餌量もほぼ回復した。

375 (150) mg/kg/day の雌雄では嘔吐、振戦、歩行異常及び黒色便などが認められた。血液学的検査では、375 (150) mg/kg/day の雄で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び網状赤血球率の低値、血小板数の高値が認められ、雌でもヘマトクリット値の低値及び血小板数の高値が認められた。血液生化学的検査では、375 (150) mg/kg/day の雄で ALAT の高値傾向及び γ GT の高値が認められ、病理組織学的検査では雄の肝臓で小葉中心性肝細胞肥大、肉眼的な陥凹巣を伴う小葉辺縁性の肝細胞変性及び褐色色素貪食マクロファージの浸潤が認められた。さらに肝細胞内グリコーゲンの増加、胸腺の萎縮、骨髓における造血細胞の減少及び副腎の皮質束状帯細胞の脂肪滴の減少が認められた。これらの変化は投与開始初期の全身状態の悪化に関連すると考えられ、回復期間終了時にはいずれも回復性が確認された。心電図検査、眼科学的検査、尿検査及び器官重量測定では、薬物投与に起因した変化は認められなかった。本試験における無毒性量は、雌雄とも 75 mg/kg/day と判断した。

イヌの 39 週間反復経口投与毒性試験（15、75、250 (150) mg/kg/day）では、250 mg/kg/day の雄 1 例が摂餌量の低値、体重減少及び自発運動の低下を伴って第 217 日に死亡した。同群の他の動物においても同様の症状が認められたため、雄は第 217 日より、雌は第 209 日より投与用量を 150 mg/kg/day に変更した。

死亡例の投与 12～13 週の検査では、尿中ビリルビンの高値、赤血球数の低値、PT 及び APTT の延長並びに γ GT の高値が認められ、剖検では黄疸及び肝臓の白色斑がみられ、病理組織学的検査では肝硬変及び胆汁栓が認められた。また、甲状腺濾胞上皮細胞の肥大を伴う褐色色素沈着、精細管の萎縮に伴う間質細胞の増加、並びに精巣上体管及び前立腺の萎縮が認められた。

生存例では、250 (150) mg/kg/day の雄 2 例及び雌全例において嘔吐及び流涎が認められた。雌雄各 1 例が投与期間の末期に摂餌量の低値を示し体重が減少したが、投与量の変更後には回復した。なお、薬物投与群の全例で黒色便が認められたが、消化管の病理組織学的検査に異常

は認められていないことから、毒性学的意義のない変化と判断した。250(150) mg/kg/day では、雄で尿中ビリルビンの高値が、雌 1 例で尿中カリウムの低値（12 週検査のみ）がみられた。血液学的検査では、雄で血小板数の高値、雌で高値傾向が認められた。血液生化学的検査では、雌雄で ALAT 及び γ GT の高値が認められた。器官重量では、250(150) mg/kg/day の雌雄及び 75 mg/kg/day の雌で甲状腺重量の高値が認められた。また、250(150) mg/kg/day の雄では精巣重量の低値が、雌では肝臓重量の高値が認められた。病理解剖検査では、250(150) mg/kg/day の雌雄で甲状腺の黒色化及び大型化が認められた。また、雄では肝臓の黄色化、胸水の貯留、脾臓周辺組織の水腫、十二指腸の潰瘍、並びに精巣及び前立腺の小型化が認められた。病理組織学的検査では、250(150) mg/kg/day の雌雄で、淡明化肝細胞巣及び胆管上皮の空胞化が認められ、同群の雄 1 例には肝硬変、胆汁栓が認められた。同群では甲状腺濾胞上皮細胞の肥大が認められ、75 及び 250(150) mg/kg/day の雌雄で濾胞上皮細胞における褐色色素の沈着が認められた。濾胞上皮細胞に沈着した褐色色素は、特殊染色検査によりリポフスチン様のものと判断された。また、250(150) mg/kg/day の雄では精細管の萎縮に伴う間質細胞の増加、並びに精巣上体管及び前立腺の萎縮が認められた。この他、脾臓周囲組織の水腫及び十二指腸のびらん／潰瘍がみられた。心電図検査及び眼科学的検査では、薬物投与に起因した変化は認められなかった。本試験における無毒性量は、雌雄とも 15 mg/kg/day と判断した。

(3) 遺伝毒性

細菌を用いた復帰突然変異試験では突然変異誘発性は認められなかった。また、チャイニーズハムスター肺由来細胞(CHL/IU)株を用いた *in vitro* 染色体異常試験及びラットにおける骨髄小核誘発性を指標とした *in vivo* 染色体異常試験のいずれにおいても染色体異常誘発性は認められなかった。

(4) がん原性

該当する試験を実施していない。

(5) 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（15、75、375 mg/kg/day）では、雌雄とも試験期間を通して死亡例は認められなかった。375 mg/kg/day では雌雄で黒色便が散見され、甲状腺の褐色化が認められた。また、雌では発情周期（日）の延長及び発情回数の低値傾向が認められた。着床率、着床前死亡率、着床後死亡率及び生存胚数に薬物投与の影響は認められなかった。本試験における無毒性量は、雌雄の親動物の一般毒性に対しては 75 mg/kg/day、生殖能に対しては雄で 375 mg/kg/day 及び雌で 75 mg/kg/day、初期胚発生に対しては 375 mg/kg/day と判断した。

ラットの胚・胎児発生に関する試験（15、75、375 mg/kg/day）では、試験期間を通して死亡例は認められなかった。375 mg/kg/day では母動物で黒色便が散見され、投与初期から妊娠中期まで体重の増加抑制傾向及び摂餌量の低値がみられた。着床後死亡率（早期吸収胚率、後期

吸収胚率及び死亡胎児率)、生存胎児数、性比、胎児体重及び胎盤に薬物投与の影響は認められなかった。胎児の形態学的検査(外表、内臓及び骨格検査)及び骨化進行度にも薬物投与の影響は認められなかった。本試験における無毒性量は、母動物に対しては 75 mg/kg/day、胚・胎児発生に対しては 375 mg/kg/day と判断した。

ウサギの胚・胎児発生に関する試験(30、100、300 mg/kg/day)では、薬物投与に起因した死亡は認められなかった。300 mg/kg/day では母動物で潮紅及び黒色便が散見され、体重及び摂餌量の低値が認められ、生存胎児では体重の低値がみられた。着床後死亡率(早期吸収胚率、後期吸収胚率及び死亡胎児率)、生存胎児数、性比及び胎盤の肉眼的所見に薬物投与の影響はみられなかった。胎児の骨格検査では、300 mg/kg/day で胸骨分節の癒合に高値がみられた。外表及び内臓検査並びに骨化進行度の検査では、薬物投与の影響は認められなかった。本試験における無毒性量は、母動物及び胚・胎児発生に対していずれも 100 mg/kg/day と判断した。

ラットの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(15、75、375 mg/kg/day)では、試験期間を通して死亡は認められなかった。375 mg/kg/day では母動物で潮紅及び黒色便が散見されたほか、投与初期から妊娠期間を通して体重の増加抑制傾向がみられ、摂餌量も低値を示した。剖検では甲状腺の褐色化が認められた。出生児では、375 mg/kg/day の生後 21 日の体重で、雄に低値が、雌に増加抑制傾向が認められた。出生児の生存率、離乳後の生後発達、学習・行動及び生殖能に及ぼす薬物投与の影響は認められなかった。本試験における無毒性量は、母動物の一般毒性及び出生児に対してはいずれも 75 mg/kg/day、母動物の生殖機能に対しては 375 mg/kg/day と判断した。

(6) 新生児の毒性

幼若ラットの 4 週間反復経口投与毒性試験(15、75、375 mg/kg/day)では、375 mg/kg/day の雄 6 例、雌 3 例が死亡し、雌雄で体重の低値がみられた。375 mg/kg/day の雌の眼科学的検査において網膜嚢の発生頻度に増加傾向が認められた。375 mg/kg/day の血液学的検査では雌で白血球数の低値が、また、血液生化学的検査では雌雄で ALAT、GLU 及び UN の高値並びに $\alpha 1$ グロブリンの低値が認められた。さらに雄では A/G 比の高値及び $\alpha 2$ グロブリンの低値が、雌では TP 及び TG の低値が認められた。これらの変化はいずれも軽度な変動であり、関連する器官・組織(造血器系、消化管、肝臓、腎臓、心臓、骨格筋)への影響がみられないことから、全身状態の悪化に伴う栄養障害によるものと考えられた。発育分化検査、感覚機能検査、尿検査、剖検、器官重量及び病理組織学的検査では、薬物投与に関連した明らかな変化は認められなかった。本試験における無毒性量は、雌雄とも 75 mg/kg/day と判断した。

(7) その他の毒性

ラットの血漿ホルモンに対する影響

NPC-15 の 15、75 mg/kg/day を雄ラットに 2 週間、雌ラットに 3 週間反復経口投与した結果、一般状態観察、体重測定、性周期検査において、薬物投与の影響はみられなかった。血漿中ホルモンのうち、雌雄の TSH、 T_3 及び T_4 、雄の FSH、LH 及びテストステロン、並びに雌のプロラクチン及びコルチコステロンに対して薬物投与の影響は認められなかった。また、75 mg/kg/day

の約 2 週間休薬後においても変化はみられなかった。なお、雌雄の GH、雄のプロラクチン及びコルチコステロン並びに雌の FSH 及び LH では、個体値のバラツキが大きく、薬物投与の影響は明らかでなかった。

(8) 不純物の変異原性の評価

「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドライン（平成 27 年 11 月 10 日付け薬生審査発 1110 第 3 号）」に準拠し、NPC-15 の原薬製造工程由来の不純物、製剤中に存在が予想される分解生成物の化学構造について、対象となる 14 物質の化学構造について、in silico 変異原性予測を実施した。うち 12 物質（XXXXXXXXXX、XXXXXXXXXX、XXXXXXXXXX）については化学構造に警告構造のないことが示され、変異原性に関する懸念はなかった。残り 2 物質（XXXXXX A*、XXXXXX B*）については「警告構造あり」と判断され、変異原性に関する懸念を有することが示された。

2. 6. 6. 2 単回投与毒性試験

2. 6. 6. 2. 1 マウス、ラット単回経口及び静脈内投与毒性試験

<添付資料 4. 2. 3. 1-1（参考）>

メラトニンのマウス及びラットの単回経口及び静脈内投与毒性試験については、論文報告（Sugden、1983）を引用し以下に示した。メラトニンを 0.3% Tween 80 を含む生理食塩水に超音波処理により分散させ、マウス（MFI）及びラット（SD）に単回経口投与及び単回静脈内投与し、投与後 24 時間の動物の生死及び一般状態を観察した。

メラトニンの高用量投与（400 mg/kg）では、マウス及びラットとも耳介及び足の発赤を特徴とする四肢の血管拡張、立毛及び眼瞼下垂が認められた。さらに筋弛緩、自発運動の減少、運動失調もみられた。死亡例では、正向反射・踏み直り反射・後肢の同側屈筋反射の低下、体温の低下、呼吸困難が認められた。50%致死量は、単回経口投与のマウスで 1250 mg/kg、ラットで 3200 mg/kg 以上であった。静脈内投与では、マウスで 472 mg/kg、ラットで 356 mg/kg であった。

2. 6. 6. 2. 2 イヌ単回経口投与毒性試験

<添付資料 4. 2. 3. 1-2>

NPC-15 を 0.5 w/v%カルボキシメチルセルロースナトリウム液に懸濁し、イヌ（ビーグル、雌雄各 2 匹）に、1000 mg/kg 単回経口投与し、急性毒性を検討した。一般状態は投与後 2 週間観察した後、剖検した。

死亡は認められなかった。雌雄とも、投与後 1～2 時間より、吐物、結膜の充血、潮紅、歩行異常及び振戦が認められた。結膜の充血、潮紅及び振戦は投与 6 時間～翌日以降、歩行異常及び吐物は投与後 2～3 日以降に消失した。また、投与日に全例で摂餌量の減少がみられ、体重の

減少が投与後 2 日に雄 1 例を除きみられたが、その後は回復傾向を示した。剖検においては、薬物投与に起因する変化は認められなかった。

以上の結果より、本試験における NPC-15 の概略致死量は 1000 mg/kg 以上であった。

2. 6. 6. 3 反復投与毒性試験

ラットの反復投与毒性試験ではいずれの試験においても死亡は認められなかった。概略の致死量を、幼若ラットの 4 週間反復投与毒性試験の致死量とその曝露量 (AUC_{0-6h}) から換算すると 2000 mg/kg 付近となり、急性毒性症状は自発運動の低下、消瘦及び体重の低値が考えられる。

2. 6. 6. 3. 1 ラットの 4 週間反復経口投与毒性試験

<添付資料 4. 2. 3. 2-1>

NPC-15 を 0.5 w/v%カルボキシメチルセルロースナトリウム液に懸濁し、ラット (Cr1:CD (SD) 系、雌雄各 14 匹/群、6 週齢) に 0 (溶媒)、15、75、375 mg/kg/day を 4 週間反復経口投与し、その毒性及び全身曝露について検討した。

いずれの投与群においても死亡は認められず、全身毒性を示唆する変化も認められなかった。375 mg/kg/day では黒色便が観察され、雌で尿ビリルビン陽性反応が観察された。

なお、375 mg/kg/day では、雌雄で肝 UDP-GT 酵素活性の高値が、雌で肝臓重量の高値が認められた。しかし、肝機能に関連する血液生化学的検査値の変動は認められず、肝臓の病理組織学的検査においても薬物投与に関連した変化は認められなかったことから、肝臓重量の変動は、生体の適応性反応 (薬物代謝酵素誘導) を反映したものであり、毒性学的に意義のない変化と判断した。黒色便及び尿ビリルビン陽性反応については、上述のように肝 UDP-GT 酵素活性の高値が認められたことから、ビリルビンの抱合も亢進していたものと推察される。黒色便については、多量の抱合型ビリルビンが通常の過程で小腸に分泌され、最終的に便の色調変化として観察されたと考えられる。尿ビリルビン陽性反応については、抱合型ビリルビンの一部が尿から排泄されたことに起因したものと考えられた。従って、黒色便及び尿ビリルビン陽性反応については、生体の適応性反応 (薬物代謝酵素誘導) に関連して発現した可能性が考えられ、消化管及び腎機能に関連する血液生化学的検査値の変動あるいは病理組織学的な異常所見を伴わなかったことから、毒性学的に意義のない変化と判断した。

NPC-15 の曝露量 (C_{max} 及び AUC_{0-6h}) は雌雄とも用量依存的に増加した。また、曝露量に性差は認められなかった。4 週間投与後の曝露量を初回投与後と比較すると、15 mg/kg/day では高値を示し、75 mg/kg/day では差異はなく、375 mg/kg/day では低値であった。

以上の結果より、本試験における NPC-15 の無毒性量は、雌雄とも 375 mg/kg/day と判断した。

2. 6. 6. 3. 2 ラットの 13 週間反復経口投与毒性試験 (4 週間回復群を含む)

<添付資料 4. 2. 3. 2-2>

ラット (Cr1:CD(SD)系、雌雄各 10 匹～16 匹/群、6 週齢) に NPC-15 の 0 (溶媒)、15、75、375 mg/kg/day を 13 週間反復経口投与し、その毒性、全身曝露及び回復性について検討した。

本薬投与に関連する死亡は認められなかった。375 mg/kg/day では 4 週間反復経口投与試験と同様に黒色便及び尿ビリルビン陽性反応が観察された。同群では、甲状腺の褐色化並びに甲状腺重量の高値ないし高値傾向が認められ、病理組織学的検査において、濾胞上皮細胞の褐色色素沈着及び濾胞上皮細胞の肥大が認められた。

血液生化学的検査ではグルコースの高値が 75 及び 375 mg/kg/day の雌に、総コレステロール及びリン脂質の高値が 375 mg/kg/day の雌雄及び 75 mg/kg/day の雌にみられた。副腎では、束状帯の皮質細胞における空胞の増加が 375 mg/kg/day に認められた。卵巣の黄体の減少が 75 及び 375 mg/kg/day に、卵胞嚢胞及び膣粘膜上皮細胞の変性／壊死が 375 mg/kg/day に認められた。

その他、375 mg/kg/day では肝臓重量の高値及び小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。これらの肝臓の変化については 4 週間反復経口投与試験と同様に、生体の適応性反応（薬物代謝酵素誘導）を反映した変化であり、肝障害を示唆する血液生化学的検査値の変動を伴わないことから、毒性学的に意義のない変化と判断した。

回復性試験では、甲状腺の濾胞上皮細胞の褐色色素沈着を除き、上述した変化はすべて消失した。甲状腺の色素沈着についても濾胞細胞の肥大が回復したことから、回復する可能性が考えられた。

NPC-15 の曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0-6 h}$) は、雌雄の初回投与後及び 13 週間投与後とも用量依存的に増加した。 $AUC_{0-6 h}$ の上昇は初回投与後では用量増加比よりも高かったが、13 週間投与後では、用量増加比とほぼ同等であった。また、13 週間投与後の曝露量を初回投与後と比較すると、15 及び 75 mg/kg/day では初回投与後より上昇したが、375 mg/kg/day ではほぼ同等の曝露量であった。投与期間を通じて C_{max} 及び $AUC_{0-6 h}$ の値に顕著な性差は認められなかった。

以上の結果より、本試験における NPC-15 の無毒性量は、雄で 75 mg/kg/day、雌で 15 mg/kg/day と判断した。

2. 6. 6. 3. 3 ラットの 26 週間反復経口投与毒性試験

<添付資料 4. 2. 3. 2-3>

ラット (Cr1:CD(SD)系、雌雄各 12 匹/群、6 週齢) に NPC-15 の 0 (溶媒)、15、75、375 mg/kg/day を 26 週間反復経口投与し、その毒性について検討した。

いずれの投与量においても死亡は認められなかった。375 mg/kg/day では 4 週間及び 13 週間反復経口投与試験と同様に黒色便及び尿ビリルビン陽性反応が観察された。血液生化学的検査では 375 mg/kg/day で総コレステロール及びリン脂質の高値がみられた。75 及び 375 mg/kg/day の雄で副腎重量の低値が、375 mg/kg/day で甲状腺及び肝臓重量の高値が認められた。

病理組織学的検査では、75 mg/kg/day の雄及び 375 mg/kg/day の雌雄の甲状腺で濾胞上皮細胞の褐色色素沈着が、375 mg/kg/day の雄に濾胞上皮細胞の肥大が認められた。また、

375 mg/kg/day では小葉中心性の肝細胞肥大及び副腎の束状帯の皮質細胞の空胞化が認められた。

以上の結果より、本試験における NPC-15 の無毒性量は、雄で 15 mg/kg/day、雌で 75 mg/kg/day と判断した。

2. 6. 6. 3. 4 イヌの 4 週間反復経口投与毒性試験（4 週間回復群を含む）

＜添付資料 4. 2. 3. 2-4＞

イヌ（ビーグル、雌雄各 4～6 匹/群）に NPC-15 の 0（溶媒）、15、75 及び 375 (150) mg/kg/day を 4 週間経口投与し、その毒性、全身曝露及び回復性について検討した。

いずれの投与量においても死亡は認められなかった。375 mg/kg/day の雌雄で、投与開始から嘔吐が高頻度にみられ、振戦、歩行異常及び投与後の一時的な流涎が認められた。雄ではさらに自発運動の低下、消瘦、無便、粘液便及び結膜の充血も認められ、同時期の摂餌量及び体重も減少した。そのため、375 mg/kg/day での投与継続は困難と判断し、第 15 日より投与用量を 150 mg/kg/day に変更した。その後、異常症状は次第に消失し、体重及び摂餌量もほぼ回復した。

375 (150) mg/kg/day では投与期間中ほぼ連日にわたって黒色便が認められたが、投与期間終了後 3 日には消失したこと、及び消化管の病理検査において異常は認められないことから、毒性学的意義のない変化と判断した。

血液学的検査では、375 (150) mg/kg/day の雄で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値及び網状赤血球率の低値、血小板数の高値が認められ、同群の雌でもヘマトクリット値の低値及び血小板数の高値が認められた。血液生化学的検査では、375 (150) mg/kg/day の雄で ALAT の高値傾向及び γ GT の高値が認められた。

病理組織学的検査では、375 (150) mg/kg/day の雄の肝臓で、小葉中心性肝細胞肥大、肉眼的な陥凹巣を伴う小葉辺縁性の肝細胞変性及び褐色色素貪食マクロファージの浸潤が認められた。同群の雄ではさらに肝細胞内グリコーゲンの増加、胸腺の萎縮、骨髄における造血細胞の減少及び副腎の皮質束状帯細胞の脂肪滴の減少が認められた。これらの変化は投与開始初期の状態悪化に関連すると考えられ、回復期間終了時にはいずれも回復性が確認された。

心電図検査、眼科学的検査、尿検査及び器官重量測定では、薬物投与に起因した変化は認められなかった。

NPC-15 の曝露量 (C_{max} 及び AUC_{0-8h}) は、雌雄とも用量依存的に増加した。いずれの投与量においても 4 週間反復投与後の C_{max} 及び AUC_{0-8h} には反復投与による変化はみられず、また、いずれの用量群でも性差は認められなかった。

以上の結果より、本試験における NPC-15 の無毒性量は、雌雄とも 75 mg/kg/day であると判断した。

2. 6. 6. 3. 5 イヌの 39 週間反復経口投与毒性試験

＜添付資料 4. 2. 3. 2-5＞

イヌ（ビーグル、雌雄各4匹/群）にNPC-15の0（溶媒）、15、75及び250(150) mg/kg/dayを39週間経口投与し、その毒性及び全身曝露について検討した。

250 mg/kg/dayの雄1例が、投与開始以降、嘔吐、流涎及び黒色便を呈して、第193日より摂餌量の低値と体重減少、第215日より自発運動の低下がみられ、第217日に死亡した。同群の他の動物においても同様の症状が認められたため、雄は第217日より、雌は第209日より投与用量を150 mg/kg/dayに変更した。

雄の死亡例の投与12～13週の検査では、尿中ビリルビンの高値、赤血球数の低値、PT及びAPTTの延長並びに γ GTの高値が認められた。剖検では黄疸及び肝臓の白色斑がみられ、病理組織学的検査では、肝硬変及び胆汁栓が認められた。また、甲状腺濾胞上皮細胞の肥大を伴う褐色色素沈着、精細管の萎縮に伴う間質細胞の増加、並びに精巣上体管及び前立腺の萎縮が認められた。

生存例では、250(150) mg/kg/dayの雄2例及び雌全例において、投与開始以降、嘔吐及び流涎が認められた。これらの所見は投与用量変更後において、回復あるいは発現頻度が減少した。なお、薬物投与群の全例で黒色便が認められたが、消化管の病理組織学的検査に異常は認められていないことから、毒性学的意義のない変化と判断した。

250(150) mg/kg/dayの雌雄各1例が投与期間の末期に摂餌量の低値を示し体重が減少したが、投与用量の変更後には回復した。尿検査では、250(150) mg/kg/dayの雄に、尿中ビリルビンの高値が、雌1例の12週検査で尿中カリウムの低値がみられたが、投与用量変更後（第39週）では回復した。血液学的検査では、250(150) mg/kg/dayの雄で血小板数の高値、雌での高値傾向が認められた。血液生化学的検査では、250(150) mg/kg/dayの雌雄でALAT及び γ GTの高値が認められた。器官重量では、250(150) mg/kg/dayの雌雄及び75 mg/kg/dayの雌で甲状腺重量の高値が認められた。また、雄では精巣重量の低値が、雌では肝臓重量の高値が認められた。病理解剖検査では、250(150) mg/kg/dayの雌雄で、甲状腺の黒色化及び大型化が認められた。また、雄では肝臓の黄色化、胸水の貯留、脾臓周辺組織の水腫、十二指腸の潰瘍、並びに精巣及び前立腺の小型化が認められた。

病理組織学的検査では、250(150) mg/kg/dayの雌雄で、淡明化肝細胞巣及び胆管上皮の空胞化が認められ、同群の雄1例には肝硬変、胆汁栓が認められた。同群では甲状腺濾胞上皮細胞の肥大が認められ、75及び250(150) mg/kg/dayの雌雄で濾胞上皮細胞における褐色色素の沈着が認められた。濾胞上皮細胞に沈着した褐色色素は、特殊染色検査によりリポフスチン様のものと判断された。また、250(150) mg/kg/dayの雄では精細管の萎縮に伴う間質細胞の増加、並びに精巣上体管及び前立腺の萎縮が認められた。この他、脾臓周囲組織の水腫及び十二指腸のびらん／潰瘍がみられた。

心電図検査及び眼科学的検査では、薬物投与に起因した変化は認められなかった。

NPC-15の曝露量（ C_{max} 及び AUC_{0-8h} ）は、雌雄とも用量依存的に増加した。投与回数の増加に伴う曝露量は、15 mg/kg/dayでは差がなかったが、75及び250(150) mg/kg/dayでは低値傾向が認められた。投与期間を通じて C_{max} 及び AUC_{0-8h} に性差は認められなかった。

以上の結果より、本試験におけるNPC-15の無毒性量は、雌雄とも15 mg/kg/dayであると判断した。

2. 6. 6. 4 遺伝毒性試験

2. 6. 6. 4. 1 細菌を用いた復帰突然変異試験

<添付資料 4. 2. 3. 3. 1-1>

ネズミチフス菌株 (TA100、TA1535、TA98、TA1537) 及び大腸菌株 (WP2uvrA) の 5 菌株を用いる復帰突然変異試験で NPC-15 の変異原性を検討した。試験は S9 mix 非存在下及び存在下でプレインキュベーション法により実施した。

その結果、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの試験菌株においても NPC-15 処理群における復帰変異コロニー数は陰性 (溶媒) 対照群の 2 倍未満であった。また、NPC-15 処理群において菌の生育阻害及びプレート上に沈殿は認められなかった。

以上の結果より、NPC-15 はネズミチフス菌株及び大腸菌株に対して変異原性を有しないと判断した。

2. 6. 6. 4. 2 CHL/IU 細胞を用いた染色体異常試験

<添付資料 4. 2. 3. 3. 1-2>

チャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL/IU) 株に NPC-15 を S9 mix の非共存下及び共存下で曝露した。最高曝露濃度は 233 µg/mL とし、処理時間は S9 mix 非共存下で 6 及び 24 時間、S9 mix 共存下で 6 時間とした。それぞれの試験系、処理濃度について 200 個の分裂中期細胞について、染色体の数的及び構造的異常の有無を検査した。

その結果、いずれの処理条件においても NPC-15 処理群における染色体の数的及び構造的異常細胞の出現頻度は 5% 未満であった。

以上の結果より、NPC-15 は CHL/IU 細胞に対して染色体異常誘発性を有しないと判断した。

2. 6. 6. 4. 3 ラットを用いた骨髓小核試験

<添付資料 4. 2. 3. 3. 2-1>

ラット (Cr1:CD(SD)系、雄 5 匹/群) に NPC-15 の 0 (溶媒)、500、1000、2000 mg/kg/day を 24 時間間隔で 2 回強制経口投与し、最終投与後 24 時間に骨髓細胞を採取した。小核をもつ幼若赤血球 (MNIME) の出現数と幼若赤血球 (IME) の割合を計測し、ラット骨髓細胞における小核誘発を指標とする染色体異常誘発作用の有無を検討した。

その結果、1000 mg/kg/day 以上で体重の減少及び潮紅がみられ、2000 mg/kg/day では腹臥位、自発運動の低下、歩行異常又は歩行失調が投与後にみられたが、死亡はみられなかった。

10000 個中 (2000 個×5 匹/群) の MNIME 出現数及び IME の割合は陰性対照群と比較して統計学的に有意な差はみられなかった。

以上の結果より、NPC-15 の小核誘発性は陰性と判定され、ラット骨髓細胞における染色体異常誘発性を有しないと判断した。

2. 6. 6. 5 がん原性試験

該当する試験を実施していない。

2. 6. 6. 6 生殖発生毒性試験

2. 6. 6. 6. 1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2. 6. 6. 6. 1. 1 ラットの受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

<添付資料 4. 2. 3. 5. 1-1>

ラット (Cr1:CD(SD)系、雌雄各 20 匹/群) に NPC-15 の 0 (溶媒)、15、75、375 mg/kg/day を雄では交配前 2 週間及び交配期間中 (最長 2 週間) 並びに剖検前日まで (42 日間)、雌では交配前 2 週間及び交配期間中 (最長 2 週間) 並びに妊娠 7 日まで経口投与し、受胎能及び着床までの初期胚発生に及ぼす影響について検討した。

雌雄とも試験期間を通して死亡例は認められなかった。375 mg/kg/day の雌雄で黒色便が散見されたほか、甲状腺の褐色化が認められた。また、375 mg/kg/day の雌では発情周期 (日) の延長及び発情回数の低値傾向が認められた。

帝王切開時検査において、着床率、着床前死亡率、着床後死亡率及び生存胚数に薬物投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、本試験における NPC-15 の無毒性量は、雌雄の親動物の一般毒性に対しては 75 mg/kg/day、生殖能に対しては雄で 375 mg/kg/day 及び雌で 75 mg/kg/day、初期胚発生に対しては 375 mg/kg/day と判断した。

2. 6. 6. 6. 2 胚・胎児発生に関する試験

2. 6. 6. 6. 2. 1 ラットの胚・胎児発生に関する試験

<添付資料 4. 2. 3. 5. 2-1>

ラット (Cr1:CD(SD)系、雌 19~20 匹/群) に NPC-15 の 0 (溶媒)、15、75、375 mg/kg/day を妊娠 6~17 日に経口投与し、母動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響について検討した。

試験期間を通して死亡例は認められなかった。375 mg/kg/day では、母動物で黒色便が散見されたほか、投与初期から妊娠中期まで体重の増加抑制傾向及び摂餌量の低値が認められた。

帝王切開時検査では、着床後死亡率 (早期吸収胚率、後期吸収胚率及び死亡胎児率)、生存胎児数、性比、胎児体重及び胎盤に薬物投与の影響は認められなかった。胎児の形態学的検査 (外表、内臓及び骨格検査) 及び骨化進行度にも薬物投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、本試験における NPC-15 の無毒性量は、母動物に対して 75 mg/kg/day、胚・胎児発生に対しては 375 mg/kg/day と判断した。

2. 6. 6. 6. 2. 2 ウサギの胚・胎児発生に関する試験

＜添付資料：4. 2. 3. 5. 2-2（参考）＞＜添付資料 4. 2. 3. 5. 2-3＞

用量設定試験として、ウサギ（Kb1:NZW 系、非妊娠雌 3 匹/群）に NPC-15 の 0（溶媒）、150、300、375、600 mg/kg/day を 2 週間経口投与し、その毒性について検討した。その結果、375mg/kg/day 以上で著しい体重の減少と摂餌の廃絶が認められた。600mg/kg/day では自発運動の低下、緩徐呼吸などがみられ瀕死と判断されたことから、本試験の最高用量を 300 mg/kg/day とし、以下、100、30 mg/kg/day を設定した。本試験では、ウサギ（Kb1:NZW 系、雌 18～19 匹/群）に NPC-15 の 0（溶媒）、30、100、300 mg/kg/day を妊娠 6～18 日に経口投与し、母動物及び胚・胎児の発生に及ぼす影響について検討した。

薬物投与に起因した死亡は認められなかった。100 mg/kg/day で 1 例が死亡したが、300 mg/kg/day では死亡及び剖検での異常はみられないことから、薬物投与と関連のない偶発的な死亡と判断した。300 mg/kg/day の母動物では潮紅及び黒色便が散見されたほか、投与開始後に体重及び摂餌量の低値が認められた。

帝王切開時検査では、300 mg/kg/day で生存胎児体重に低値がみられたが、着床後死亡率（早期吸収胚率、後期吸収胚率及び死亡胎児率）、生存胎児数、性比及び胎盤の肉眼的所見に薬物投与の影響はみられなかった。胎児の骨格検査では、300 mg/kg/day で胸骨分節の癒合に高値がみられた。外表及び内臓検査並びに骨化進行度の検査では、薬物投与の影響は認められなかった。

NPC-15 の曝露量（ C_{max} 及び AUC_{0-6h} ）は、初回投与後（妊娠 6 日）及び最終投与後（妊娠 18 日）とも用量依存的に増加し、初回投与後での増加は用量増加比よりも高かった。投与回数の増加に伴う曝露量は、30 mg/kg/day では顕著な増加が、100 mg/kg/day では増加傾向がみられたが、300 mg/kg/day では差がなかった。

以上の結果より、本試験における NPC-15 の無毒性量は、母動物及び胚・胎児発生に対していずれも 100 mg/kg/day と判断した。

2. 6. 6. 6. 3 出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験

2. 6. 6. 6. 3. 1 ラットの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

＜添付資料 4. 2. 3. 5. 3-1＞

ラット（Cr1:CD(SD)系、雌 19～20 匹/群）に NPC-15 の 0（溶媒）、15、75、375 mg/kg/day を妊娠 6 日から分娩後 20 日に経口投与し、母体の機能、胚及び出生児の発生、成長、行動、学習並びに生殖機能に及ぼす影響について検討した。

試験期間を通して死亡は認められなかった。375 mg/kg/day では、母動物で潮紅及び黒色便が散見されたほか、投与初期から妊娠期間を通して体重の増加抑制傾向がみられ、摂餌量も低値を示した。剖検では甲状腺の褐色化が認められた。

出生児では、375 mg/kg/day の雄で生後 21 日に体重の低値がみられ、雌でも生後 21 日に増加抑制傾向が認められた。出生児の生存率、離乳後の生後発達、学習・行動及び生殖能に及ぼす薬物投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、本試験における NPC-15 の無毒性量は、母動物の一般毒性及び出生児に対してはいずれも 75 mg/kg/day、母動物の生殖機能に対しては 375 mg/kg/day と判断した。

2. 6. 6. 6. 4 新生児を用いた試験

2. 6. 6. 6. 4. 1 幼若ラットの 4 週間反復経口投与毒性試験

＜添付資料 4. 2. 3. 5. 4-1＞

幼若ラット [Cr1:CD(SD)系、1 週齢、雌雄各 12 匹/群(毒性試験)、雌雄各 32 匹/群(TK 試験)] に NPC-15 の 0 (溶媒)、15、75、375 mg/kg/day を 4 週間反復経口投与し、その毒性及び全身曝露について検討した。

375 mg/kg/day の雌雄で自発運動の低下及び消瘦が認められ、雄 6 例が投与 6～17 日に、雌 3 例が投与 4 ないし 7 日に死亡した。また、同群の雌雄とも投与 8～28 日で体重が低値となった。

眼科学的検査では、375 mg/kg/day の雌で網膜変性の発生頻度に増加傾向が認められた。血液学的検査では 375 mg/kg/day の雌で白血球数（主にリンパ球、好塩基球及び大型非染色球）の低値が、血液生化学的検査では、375 mg/kg/day の雌雄で ALAT、GLU 及び UN の高値並びに $\alpha 1$ グロブリンの低値が認められ、雄では A/G 比の高値及び $\alpha 2$ グロブリンの低値が、雌では TP 及び TG の低値が認められた。しかし、これらの変化はいずれも軽度な変動であり、関連する器官・組織（造血器系、消化管、肝臓、腎臓、心臓、骨格筋）への影響がみられないことから、全身状態の悪化に伴う栄養障害に関連したものと考えられた。

発育分化検査、感覚機能検査、尿検査、剖検、器官重量測定及び病理組織学的検査では、薬物投与に関連した明らかな変化は認められなかった。

NPC-15 の曝露量 (C_{max} 及び $AUC_{0-6 h}$) は、雌雄とも用量依存的に増加した。性差に関しては、375 mg/kg/day の投与 28 日の雌で高値 (C_{max} : 2.4 倍、 $AUC_{0-6 h}$: 2.6 倍) を示したが、その他の用量では性差はなかった。また、薬物各群の曝露量は、雌雄とも投与回数の増加により低値となり、加えて投与 28 日における T_{max} は雌雄の各群とも短縮が認められた。

以上の結果より、本試験における NPC-15 の無毒性量は、雌雄とも 75 mg/kg/day と判断した。

2. 6. 6. 7 局所刺激性試験

該当する試験を実施していない。

むメラトニン代謝物が遺伝毒性を有する可能性は低いものと考えられる。本剤中の B_a の含有量の規格は、構造決定の閾値である 0.5% 以下とすることで管理する。

2. 6. 6. 8. 3 依存性試験

本薬は、既知の乱用薬物と化学構造の類似性がないこと、ヒトメラトニン受容体以外の受容体、輸送担体及びイオンチャネルに親和性がないこと、非臨床試験において退薬症候を示唆する行動／症状を示さないこと、文献報告^{1,2)}において Ramelteon あるいはメラトニンは自覚効果、欲求効果及び身体依存性を示さなかったことから、本薬の依存性・乱用リスクは低いと考え依存性試験は実施しなかった。

なお、米国及び欧州においてメラトニンは乱用薬物として管理されていない。

2. 6. 6. 9 考察

2. 6. 6. 9. 1 反復経口投与毒性試験について

メラトニンは性腺抑制作用 (LH、FSH 抑制)、副腎皮質抑制作用 (コルチコステロン産生抑制)、甲状腺抑制作用 (TRH 放出ホルモン抑制) などを有しており³⁾、NPC-15 のラット及びイヌの反復経口投与毒性試験においてもこれらに関連する変化が認められた。

ラット 13 週間及び 26 週間経口投与毒性試験では肝臓重量の増加及び肝細胞の肥大とともに甲状腺の重量増加、甲状腺濾胞上皮の肥大及び褐色色素の沈着がみられ、肝 UDP-GT 酵素活性が上昇した。イヌ 4 週間経口投与毒性試験では肝臓及び甲状腺に異常はなかったが、39 週間の試験では、肝臓重量増加とともに甲状腺の重量増加並びに濾胞上皮の肥大及び褐色色素の沈着がみられた。

ラットでの甲状腺の変化は肝 UDP-GT 酵素活性の上昇がみられることから、肝薬物代謝酵素誘導に起因する変化と考えられた。甲状腺ホルモンは主に肝臓においてウリジン-5'-二リン酸-グルクロン酸転移酵素 (UGT-GT) によりグルクロン酸抱合を受け胆汁中に排泄される。本薬の過剰量投与 (375 mg/kg/day) により甲状腺ホルモンの抱合活性が亢進し、血中甲状腺ホルモンが減少したことから、TSH 分泌が亢進し、甲状腺濾胞上皮が肥大したのと考えられた。これらの変化は甲状腺・下垂体の恒常性に関連した適応反応と考えられ、休薬により回復性が認められた。ラットの肝薬物代謝酵素を誘導させるような薬剤における甲状腺濾胞上皮の肥大及び過形成は種特異的变化であることが知られており^{4), 5), 6), 7)}、ヒトでの変化を示唆する所見ではないと考えられる。その要因としてラットはヒトに比べて T_4 値の変化に対する下垂体からの TSH 分泌の反応性が高いこと、ラット血漿中に T_4 結合グロブリンが存在せず T_4 の半減期が短いことなどが知られている。

一方、ヒトの凍結肝細胞を用いた CYP 分子種 (CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4) に対しては誘導作用は認められず (2. 6. 4. 7. 3)、臨床試験においても薬物相互作用が疑われる有害事象は認められなかった (2. 7. 4. 5. 3)。

濾胞上皮細胞にみられた褐色色素の沈着はイヌ 39 週間経口投与毒性試験における特殊染色検査でリポフスチン様の物質と判断された。これは甲状腺機能亢進症においてしばしばみられることが報告されており⁸⁾、細胞質内の不飽和脂肪酸の過酸化によりリソソーム内に形成される不溶性色素と考えられることから毒性学的意義は低いと考えられた。

ラットの 13 週間及び 26 週間経口投与毒性試験では、375 mg/kg/day で副腎束状帯の空胞化、75 mg/kg/day 以上で卵巣黄体の減少が認められた。メラトニンは ACTH、グルコルチコイド及びゴナドトロピンの分泌を抑制することが知られており⁹⁾、これらの変化は本薬の薬理作用の過剰発現の可能性がある。しかし、NPC-15 の 75 mg/kg/day をラットに 2～3 週間投与した検討試験では FSH、LH、テストステロン、プロラクチン、コルチコステロンに対する本薬の影響はみられなかった(2. 6. 6. 8. 1)。また、Jahnke らは、妊娠ラットの器官形成期にメラトニン 50～200 mg/kg/day を投与し、血清 17 β -エストラジオール、プロゲステロン、プロラクチン及び黄体形成ホルモンに影響がないことを報告している¹⁰⁾。このため副腎及び卵巣の変化はホルモンの分泌調節機構に影響するほどの変化ではないと考えられた。なお、これらの変化はラット 13 週間経口投与後の 4 週間の休薬において回復性が認められた。

2. 6. 6. 9. 2 反復経口投与毒性試験における無毒性量と臨床用量の関係について

ラット及びイヌの反復経口投与毒性試験の無毒性量とその曝露量(AUC_{0-6 h} 及び C_{max})を表 2. 6. 6-2 に示した。臨床試験 (NPC-15 の第 I 相試験、5mg 単回投与、男性 6 名)において測定された曝露量は AUC_{0-∞}: 8.6 ng・h/mL, C_{max}:9.6 ng/mL であった<2. 7. 2. 2. 2-4>。

これを反復経口投与毒性試験の無毒性量における AUC_{0-6 h} (イヌ試験では AUC_{0-8 h}) と比較すると、ラット (13 週間経口投与毒性試験) では 2189 倍(雄)～301 倍(雌)、イヌ (39 週間経口投与毒性試験) では 698 倍(雄)～895 倍(雌)の安全域が得られた。

表 2. 6. 6-2 反復経口投与毒性試験の無毒性量と臨床用量での曝露量との比較

試験		無毒性量 (mg/kg/day)	無毒性量に おける AUC _{0-6h} * (ng・h/mL) ^a	臨床におけ る AUC _{0-∞} と の比 ^b	無毒性量に おける C _{max} (ng/mL) ^a	臨床におけ る C _{max} との 比 ^b
ラット 13 週試験	雄	75	19040	2189	13670	1424
	雌	15	2620	301	5701	594
イヌ 4 週試験	雄	75	43510	5001	16750	1745
	雌	75	65710	7553	26130	2722
イヌ 39 週試験	雄	15	6076	698	5698	594
	雌	15	7788	895	5861	611

a: 最終投与時の値、b: 健康成人の 5 mg 服用時の PK 成績を基準とした (AUC_{0-∞}: 8.6 ng・h/mL, C_{max}:9.6 ng/mL)、*: イヌ試験では AUC_{0-8 h}

2. 6. 6. 9. 3 幼若動物に対する影響について

幼若ラット (1 週齢) 及び成獣ラット (6 週齢) を用いた 4 週間経口投与毒性試験成績の概要を表 2. 6. 6-3 に示した。幼若ラットでは 375 mg/kg/day で自発運動の低下、消瘦及び体重の低値が認められ、雄 6 例及び雌 3 例が死亡した。同群では血液学的及び血液生化学的検査で栄養

障害に関連すると考えられる諸種の変化がみられた。また、眼科学的検査では 375 mg/kg/day の雌で網膜嚢の発生頻度の増加傾向がみられた。一方、成獣ラットでは 375 mg/kg/day の雌雄で肝 UDP-GT 酵素活性の高値及び雌で肝臓重量の高値が認められた以外に特記すべき変化はなかった。投与 1 日における曝露量 (AUC_{0-6h}) は成獣ラットに比していずれの投与量も幼若ラットで 5~40 倍高く、この差が毒性発現の差に関連していると考えられる。幼若ラットでは薬物代謝酵素系及び腎クリアランスの未発達^{11), 12)}が曝露量を高くした要因と考えられる。投与 28 日の曝露量では両者の差はなかった。

なお、幼若ラットの 375 mg/kg/day では網膜嚢の発現増加を認めたが、本用量が致死量でもあることから、栄養障害に関連して発現した可能性が高い。ラットの網膜血管網が成獣の形状をとるのは生後 13 日¹³⁾で、未熟児ラット及び成長抑制を受けた幼若ラットでは網膜血管網の発達に異常を認めることが知られている^{14), 15), 16)}。一方、ヒトの網膜血管は胎生 9 か月頃にはほぼ完成し、網膜の発達も生後 4 か月間程度で終了するとされている^{17), 18)}。このように、網膜の発達時期がラットとヒトで異なること、網膜嚢はラットの自然発症性変化 (3-6%) として認められていること^{19), 20)}を考慮すると、本変化のヒトへの外挿性は低く、本薬の投与対象患者である 6 歳以上の小児へのリスクを示唆するものでないと判断した。

表 2.6.6-3 幼若ラット及び成獣ラットの 4 週間経口投与毒性試験成績の比較

投与量 (mg/kg/day)	幼若ラット						成獣ラット					
	15		75		375		15		75		375	
動物数	雄 12	雌 12	雄 12	雌 12	雄 12	雌 12	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
AUC_{0-6h} ($\mu g \cdot h/mL$)												
1 日	12.5	12.4	116.4	113.7	556.8	573.4	0.4	0.3	11.5	19.8	89.8	100.4
28 日	0.3	3.6	8.4	11.7	27.2	70.6	1.3	1.3	13.6	21.8	65.6	53.5
死亡	—	—	—	—	↑	↑	—	—	—	—	—	—
自発運動低下	—	—	—	—	↑	↑	—	—	—	—	—	—
体重	—	—	—	—	↓	↓	—	—	—	—	—	—
眼科学												
網膜嚢	—	—	—	—	—	↑	—	—	—	—	—	—
血液学												
WBC	—	—	—	—	—	↓	—	—	—	—	—	—
血液生化学												
ALAT	—	—	—	—	↑	↑	—	—	—	—	—	—
GLU	—	—	—	—	↑	↑	—	—	—	—	—	—
UN	—	—	—	—	↑	↑	—	—	—	—	—	—
TP	—	—	—	—	—	↑	—	—	—	—	—	—
TG	—	—	—	—	—	↑	—	—	—	—	—	—
肝 UDP-GT	NE	NE	NE	NE	NE	NE	—	—	—	—	↑	↑
肝臓重量	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	↑
病理組織学	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、↑：対照群に比し高値、↓：対照群に比し低値、NE：実施せず

2.6.6.9.4 がん原性について

NPC-15 は生体内物質であるメラトニンと同一成分であり、メラトニンの生理学的作用である睡眠に対する効果を期待するものである。臨床的には生理的な濃度を超える曝露となるものの、がん原性が懸念される情報は得られていないことから NPC-15 によるがん原性試験の実施の必要性は少ないと考えられる。現在までに得られた NPC-15 の安全性試験成績、海外におけるメラ

トニンの安全性情報及びメラトニンの生物学的特性に関する情報を踏まえ、NPC-15 のがん原性に関連する知見を以下に取りまとめた。

(1) NPC-15 の反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験成績について

ラット 13 週間及び 26 週間経口投与毒性試験では、肝臓重量の増加及び肝細胞の肥大とともに甲状腺の重量増加及び甲状腺濾胞上皮の肥大がみられ、肝 UDP-GT 酵素活性が上昇した。イヌ 39 週間経口投与毒性試験でも肝臓重量増加とともに甲状腺の重量増加及び濾胞上皮の肥大がみられたが、いずれの試験でも前がん病変又は発がん性を懸念させる所見は認められなかった。なお、ラットにおける肝臓重量の増加、肝細胞の肥大、甲状腺の重量増加及び甲状腺濾胞上皮の肥大は肝薬物代謝酵素誘導に起因する変化と考えられ、これらの変化は甲状腺・下垂体の恒常性に関連した適応反応と考えられた。

ラット及びイヌの反復経口投与毒性試験の無毒性量における曝露量(AUC)は、臨床試験の曝露量(AUC)のそれぞれ 2188 倍(13 週毒性試験/雄)～301 倍(同/雌)及び 698 倍(39 週毒性試験/雄)～895 倍(同/雌)となり極めて高い安全域が示された。

細菌を用いた復帰突然変異試験、ほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験及びラットを用いた小核試験ではいずれも遺伝毒性は認められなかった。

(2) 海外におけるメラトニンの安全性情報（がん原性）について

Slenyto（メラトニン）錠の EMA 審査報告書²¹⁾によると、ラットの経口投与による 104 週間投与毒性／発がん性併合試験（15、75、150 mg/kg/day）で、甲状腺濾胞細胞腫瘍の増加が 150 mg/kg/day の雄でみられたが有意差はなかった。メラトニンの関与を検討するため、TSH、T₃ 及び T₄ への影響並びに甲状腺又は肝臓の病理組織所見との関連が検討されたが、いずれにおいても関連する傾向がみられないことから、メラトニンはがん原性を示さないと判断された。

なお、本薬の反復経口投与毒性試験でもみられた甲状腺の濾胞上皮の肥大については、2.6.6.9.1 にも記載したように、種特異的变化であることが知られており、ヒトでの変化を示唆する所見ではないと考えられる。

(3) メラトニンの生物学的特性について

メラトニンは免疫系の保護的役割を有する可能性があり、抗原感作のストレスを受けたマウスに投与すると、胸腺重量の減少が抑制され、通常の（ストレスを受けない）生存率に回復する。メラトニンの免疫増強作用はナルトレキソンによって阻害されることから、内因性オピエートペプチドの役割があることが示唆されている^{22), 23), 24)}。

またメラトニンはフリーラジカルスカベンジャー作用及び抗酸化作用を有する物質として Reiter らによるレビューがある²⁵⁾。急性及び慢性炎症モデル²⁶⁾において損傷の重症度を軽減させるほか、中枢神経系の保護作用を有し、神経毒の 6-ヒドロキシドパミンによってラットのクロム親和性細胞に引き起こされる初期のニューロン病変の予防²⁷⁾、酸化的ミトコンドリア損傷に対するラット胎児脳の保護作用²⁸⁾、パーキンソン病のマウスモデルにおける脳損傷の予防²⁹⁾

などがある。また、メラトニンの抗老化作用は、マウス及びラットにおける延命及び発情衰退の軽減として認められ^{30), 31), 32), 33)}、これらも抗酸化作用に関連している可能性がある³⁴⁾。

以上のように、NPC-15（メラトニン）は生体内成分であり、ラット及びイヌの長期反復投与毒性試験において高い安全域が示され、前がん病変又は発がん性を懸念させる所見は認められず、遺伝毒性もなかった。また、メラトニンは免疫力や抗酸化力を高めることが期待される。なお、Slenyto（メラトニン）錠のEMA 審査報告書におけるラットの104週間経口投与毒性／発がん性併合試験ではメラトニンはがん原性を示さないと判断されている。

2. 6. 6. 10 図表

本文中に記載した。

2. 6. 6. 11 参考文献

¹ France CP, Weltman RH, Koek W, et al. Acute and chronic effects of ramelteon in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*): dependence liability studies. *Behav Neurosci*. 2006;120(3):535-41.

² Hirai K, Kita M, Ohta H, et al. Ramelteon (TAK-375) accelerates reentrainment of circadian rhythm after a phase advance of the light-dark cycle in rats. *J Biol Rhythms*. 2005;20(1):27-37.

³ 土谷 稔, 佐藤 順子, 松果体「新毒性病理組織学」: 日本毒性病理学会 (編). 西村書店, 東京. pp526-530. 2017.

⁴ Hotz KJ, Mechanism of thiazopyr-induced effects on thyroid hormone homeostasis in male Sprague-Dawley rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1997 Jan;142(1):133-42.

⁵ Capen CC, Mechanistic data and risk assessment of selected toxic end points of the thyroid gland. *Toxicol Pathol*. 1997 Jan-Feb;25(1):39-48.

⁶ Hill RN, Thyroid follicular cell carcinogenesis. *Fundam Appl Toxicol*. 1989 May;12(4):629-97.

⁷ Dellarco VL, Thiazopyr and thyroid disruption: case study within the context of the 2006 IPCS Human Relevance Framework for analysis of a cancer mode of action. *Crit Rev Toxicol*. 2006 Nov-Dec;36(10):793-801.

⁸ Korényi-Both A, Korényi-Both I, Kayes BC, Thyrotoxic myopathy. Pathomorphological observations of human material and experimentally induced thyrotoxicosis in rats. *Acta Neuropathol*. 1981;53(3):237-48.

⁹ Preslock JP, The pineal gland: basic implications and clinical correlations. *Endocr Rev*. 1984 Spring;5(2):282-308.

¹⁰ Jahnke G, Maternal and developmental toxicity evaluation of melatonin administered orally to pregnant Sprague-Dawley rats. *Toxicol Sci*. 1999; 50(2):271-9.

¹¹ Kopin IJ, et al. The fate of Melatonin in animals. *J Biol Chem*. 1961;236:3072-5.

¹² Guidance for Industry Nonclinical Safety Evaluation of Pediatric Drug Products. U. S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration (CDER) 2006

¹³ Cairns JE. Normal development of the hyaloid and retinal vessels in the rat. *Br J Ophthalmol*. 1959;43:385-93.

¹⁴ Li R, Yang X, Wang Y, Effect(s) of preterm birth on normal retinal vascular development and oxygen-induced retinopathy in the neonatal rat. *Curr Eye Res*. 2013;38:1266-73.

- ¹⁵ Holmes JM, Duffner LA, The effect of litter size on normal retinal vascular development in the neonatal rat. *Curr Eye Res.* 1995;14:737-40.
- ¹⁶ Holmes JM, Duffner LA, The effect of postnatal growth retardation on abnormal neovascularization in the oxygen exposed neonatal rat. *Curr Eye Res.* 1996;15:403-9.
- ¹⁷ Duke-Elder S, Cook C, Embryology. In: Duke-Elder S, editor. *System of Ophthalmology.* London, UK: Kimpton; 1963. pp. 81-109
- ¹⁸ 木村肇二郎. 眼の形態および視機能の発達. *周産期医学.* 1979;9:1315-20.
- ¹⁹ [redacted] (私信). 5~7 週齢ラットの網膜嚢の発現率. [redacted] の背景データ. 20[redacted]
- ²⁰ [redacted] (私信 2). 3~9 週齢ラットの網膜嚢の発現推移 ([redacted]). 20[redacted].
- ²¹ Assessment report for Slenyto(melatonin). EMA/556280/2018
(https://www.ema.europa.eu/documents/assessment-report/slenyto-epar-public-assessment-report_en.pdf#search=%2710%29+Assessment+report+for+Slenyto%28melatonin%29.EMA%2F556280%2F2018%27)
- ²² Maestroni, G. J. M., A. Conti, et al. Role of the pineal gland in immunity. *Immunology.* 1988; 63 : 465-9.
- ²³ Maestroni, G. J. M., A. Conti, et al. Melatonin, stress, and the immune system. *Pineal Res Rev.* 1989; 7 : 203-26.
- ²⁴ Maestroni, M. J. G., C. Ario., et al. Colony stimulating activity and hematopoietic from cancer chemotherapy are induced by melatonin via endogenous interleukin. *J Cancer Res.* 1994; 54 : 4740-3.
- ²⁵ Reiter, R. J., D.-x. Tan, et al. Melatonin: reducing the toxicity and increasing the efficacy of drugs. *J Pharma Pharmacol* 2002;54 : 1299-1321.
- ²⁶ Cuzzocrea, S. and R. Reiter, Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol.* 2001; 426 : 1-10.
- ²⁷ Mayo, J. C., R. M. Sainz, et al. Ultrastructural confirmation of neuronal protection by melatonin against the neurotoxin 6-hydroxydopamine cell damage. *Brain Res.* 1999; 818(2) : 221-7.
- ²⁸ Wakatsuki, A., Y. Okatani, et al. Melatonin protects fetal rat brain against oxidative mitochondrial damage. *J Pineal Res.* 2001; 30(1) : 22-8.
- ²⁹ Antolin, I., J. C. Mayo, et al. Protective effect of melatonin in a chronic experimental model of Parkinson's disease. *Brain Res.* 2002; 943 : 163-173.
- ³⁰ Rozenzweig, R., B. R. Grad, et al. The role of melatonin and serotonin in aging. *Med Hypotheses.* 1987; 23(4) : 337-52.
- ³¹ Armstrong, S. M. and J. R. Redman, Melatonin: a chronobiotic with anti-aging properties? *Med Hypotheses.* 1991; 34 : 300-9.
- ³² Pierpaoli, W. and W. Regelson, Pineal control of aging: effect of melatonin and pineal grafting on aging mice. *Proc Nat Acad Sci USA.* 1994; 91 : 787-91.
- ³³ Rasmussen, D. D., B. M. Boldt, et al. Daily melatonin administration at middle age suppresses male rat visceral fat, plasma leptin, and plasma insulin to youthful levels. *Endocrinol.* 1999; 140(2) : 1009-12.
- ³⁴ Pierrefiche G, Topall G, et al. Antioxidant activity of melatonin in mice. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.* 1993; 80(2) : 211-23.

目次

2.6.7 毒性試験概要表	2
2.6.7.1 毒性試験の一覧表	2
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表	3
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧表	4
2.6.7.4 毒性試験に用いた被験物質の一覧表	6
2.6.7.5 単回投与毒性試験	7
2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）	7
2.6.7.7 反復投与毒性試験	8
2.6.7.7.1 ラットの4週間反復経口投与毒性試験	8
2.6.7.7.2 ラットの13週間反復経口投与毒性試験（4週間回復群を含む）	9
2.6.7.7.3 ラットの26週間反復経口投与毒性試験	11
2.6.7.7.4 イヌの4週間反復経口投与毒性試験	13
2.6.7.7.5 イヌの39週間反復経口投与毒性試験	16
2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験	19
2.6.7.8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験	19
2.6.7.8.2 哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験	20
2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験	22
2.6.7.9.1 ラット小核試験	22
2.6.7.10 がん原性試験	23
2.6.7.11 生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）	23
2.6.7.11.1 非妊娠ウサギの2週間反復経口投与予備毒性試験	23
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	24
2.6.7.12.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	24
2.6.7.13 生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験	26
2.6.7.13.1 ラット胚・胎児発生に関する試験	26
2.6.7.13.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験	28
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動物の機能に関する試験 ..	31
2.6.7.14.1 ラットの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	31
2.6.7.15 新生児を用いた試験	34
2.6.7.15.1 幼若ラットの4週間反復経口投与毒性試験	34
2.6.7.16 局所刺激性試験	36
2.6.7.17 その他の試験	36
2.6.7.17.1 ラット血漿ホルモンに対する影響	36
2.6.7.17.2 不純物の変異原性評価	37

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験の一覧表

被験物質：メラトニン

試験の種類	動物種	投与経路・期間	投与量(mg/kg/day) 又は濃度	GLP 適用	実施 施設	試験 番号	添付資料
単回投与毒性試験	マウス	経口・静注・単回	記載なし	非	Sugden,	-	4.2.3.1-1
	ラット	経口・静注・単回	記載なし	非	1983		(参考)
	イヌ	経口・単回	1000	適	■		4.2.3.1-2
反復投与毒性試験	ラット	経口・4週 (TK)	0、15、75、375	適	■	■	4.2.3.2-1
	ラット	経口・13週 (回復・TK)	0、15、75、375	適	■	■	4.2.3.2-2
	ラット	経口・26週	0、15、75、375	適	■	■	4.2.3.2-3
	イヌ	経口・4週 (回復・TK)	0、15、75、375(150)	適	■	■	4.2.3.2-4
	イヌ	経口・39週 (TK)	0、15、75、250(150)	適	■	■	4.2.3.2-5
遺伝毒性試験	復帰突然変異	in vitro	0、156～5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$	適	■	■	4.2.3.3.1-1
	染色体異常、CHL/IU	in vitro	0、29.1～233 $\mu\text{g}/\text{mL}$	適	■	■	4.2.3.3.1-2
	ラット小核	経口・2回	0、500、1000、2000	適	■	■	4.2.3.3.2-1
がん原性試験	(実施せず)						
生殖発生毒性試験	ラット受胎能・初期胚発生	経口・雄：交配前2週～剖検前日、 雌：交配前2週～妊娠7日	0、15、75、375	適	■	■	4.2.3.5.1-1
	ラット胚・胎児発生	経口・妊娠6～17日	0、15、75、375	適	■	■	4.2.3.5.2-1
	非妊娠ウサギ予備毒性	経口・雌 2週	150、(300)、375、600	非	■	■	4.2.3.5.2-2 (参考)
	ウサギ胚・胎児発生	経口・妊娠6～18日 (TK)	0、30、100、300	適	■	■	4.2.3.5.2-3
	ラット出生前後の発生・母体機能	経口・妊娠 6 日～分娩 20 日	0、15、75、375	適	■	■	4.2.3.5.3-1
新生児の試験	幼若ラット	経口・4週 (TK)	0、15、75、375	適	■	■	4.2.3.5.4-1
その他の試験	ラット血漿ホルモンへの影響	経口・雄 2週、雌 3週	0、15、75	非	■	■	4.2.3.7-1 (参考)
	不純物の変異原性評価	in silico (不純物8物質)	-	非	■	■	4.2.3.7-2 (参考)
	不純物の変異原性評価	in silico (不純物6物質)	-	非	■	■	4.2.3.7-3 (参考)

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：メラトニン

試験の種類	動物種	投与経路・期間	投与量 (mg/kg/day)	GLP 適用	実施施設 (報告年)	試験番号	添付資料
反復投与毒性試験	ラット	経口・4 週	15、75、375	適	■■(20■■)	■■■■	4.2.3.2-1
	幼若ラット	経口・4 週	15、75、375	適	■■(20■■)	■■■■	4.2.3.5.4-1
	ラット	経口・13 週	15、75、375	適	■■(20■■)	■■■■	4.2.3.2-2
	イヌ	経口・4 週	15、75、375(150)	適	■■(20■■)	■■■■	4.2.3.2-4
	イヌ	経口・39 週	15、75、250(150)	適	■■(20■■)	■■■■	4.2.3.2-5
	ウサギ	経口・妊娠 6～18 日	30、100、300	適	■■(20■■)	■■■■	4.2.3.5.2-3

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧表

被験物質：メラトニン

投与量 (mg/kg/day)	曝露量 (AUC _{0-6h} : ng・h/mL)										
	ラット						イヌ				ウサギ
	経口・4 週 ^a		経口・4 週 (幼若) ^b		経口・13 週 ^c		経口・4 週 ^d		経口・39 週 ^e		経口・13 日 ^f
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雌
初回投与日											
15	425	341	12520	12350	369.7	379.8	3744	2070	4361	7294	－
30	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	27.02
75	11460	19770	116400	113700	6672	9165	42020	39140	110800	120300	－
100	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	22620
250(300)	－	－	－	－	－	－	－	－	246600	275900	(124500) ⁱ
375	89760	100400	556800	573400	64120	75220	191000	205200	－	－	－
投与終了日											－
15	1358	1253	341.8	364.8	3803	2620	4909	5972	6076	7788	－
30	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	1880
75	13640	21750	8360	11710	19040	21330	43510	65710	62410	84870	－
100	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	29280
250(300)	－	－	－	－	－	－	－	－	195500 ^h	158400 ^h	(112000) ⁱ
375	65550	53510	27230	70570	91850	70170	121400 ^g	74500 ^g	－	－	－

a : 成熟ラット 4 週間反復経口投与毒性試験、b : 幼若ラット 4 週間反復経口投与毒性試験、c : ラット 13 週間反復経口投与毒性試験、d : イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験 (AUC_{0-8h})、e : イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験 (AUC_{0-8h})、f : ウサギ胚・胎児発生に関する試験 (妊娠 6 日～18 日投与)、g : 投与 15 日採血、h : 投与 217/209 日 (♂/♀) 採血、i : 300 mg/kg/day

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧表（続き）

被験物質：メラトニン

投与量 (mg/kg/day)	曝露量 (Cmax : ng/mL)										
	ラット						イヌ				ウサギ
	経口・4週 ^a		経口・4週(幼若) ^b		経口・13週 ^c		経口・4週 ^d		経口・39週 ^e		経口・13日 ^f
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雌
初回投与日											
15	789.9	793.1	4191	4792	672.2	937	3875	2330	4519	5431	－
30	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	20.08
75	9688	18460	25570	24450	6459	9457	20440	15280	56980	59950	－
100	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	19550
250(300)	－	－	－	－	－	－	－	－	69240	74630	(47110) ⁱ
375	48620	54690	122300	123900	32480	35170	40470	43590	－	－	－
投与終了日											－
15	1980	2724	810.3	1118	4843	5701	4360	4762	5698	5861	－
30	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	2742
75	10130	16660	8991	13680	13670	17630	16750	26130	23670	32680	－
100	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	32530
250(300)	－	－	－	－	－	－	－	－	48860 ^h	40620 ^h	(42920) ⁱ
375	24080	32880	12410	29940	34470	45750	27490 ^g	23850 ^g	－	－	－

a : 成熟ラット 4 週間反復経口投与毒性試験、b : 幼若ラット 4 週間反復経口投与毒性試験、c : ラット 13 週間反復経口投与毒性試験、d : イヌ 4 週間反復経口投与毒性試験 (AUC_{0-8h})、e : イヌ 39 週間反復経口投与毒性試験、f : ウサギ胚・胎児発生に関する試験 (妊娠 6 日～18 日投与)、g : 投与 15 日採血、h : 投与 217/209 日 (♂/♀) 採血、i : 300mg/kg/day

2.6.7.4 毒性試験に用いた被験物質の一覧表

被験物質：メラトニン

ロット番号 申請規格：	含量(%)	不純物(%)			試験番号	試験の種類
		総量		その他		
	98.0-102.0	<1.0	<0.10	<0.10		
	99.62	0.04	0	0.03		ラット 13 週間毒性試験
						イヌ 4 週間毒性試験
						復帰突然変異試験
						染色体異常試験
						ラット骨髄小核試験
						非妊娠ウサギ 2 週間予備毒性試験
	99.61	0.23	0.02	0.06		イヌ単回投与毒性試験
						ラット 4 週間毒性試験
						幼若ラット 4 週間毒性試験
						ラット血漿ホルモンに対する影響
	99.3	0.0	<0.05	<0.05		イヌ 39 週間毒性試験
	99.4	0.0	<0.05	0.05		ラット 26 週間毒性試験
						イヌ 39 週間毒性試験
						ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験
						ラット胚・胎児発生に関する試験
						ウサギ胚・胎児発生に関する試験
						ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験
	99.1	0.1	<0.05	0.06		イヌ 39 週間毒性試験

2.6.7.5 単回投与毒性試験

						被験物質：メラトニン	
動物種/系統	投与方法 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数/群	最大非致死量 (mg/kg)	特記すべき所見	GLP 適用	試験番号(出典) 添付資料
マウス/MFI (BW;18-30 g)	経口	記載なし	記載なし	LD ₅₀ ;1250	マウス及びラットの高用量群で、四肢の血管拡張（耳介、足の発赤）、立毛、眼瞼下垂、筋弛緩、自発運動の減少、運動失調がみられた。さらに高用量群では死亡する前に正向反射・踏み直り反射・後肢の同側屈筋反射の低下、体温の低下、呼吸困難が認められた。	非	(Sugden, 1983) 4.2.3.1-1 (参考)
	静注 (生食-tween 80)	同上	同上	LD ₅₀ ;472			
ラット/SD (BW;80-120 g)	経口	同上	同上	LD ₅₀ ;>3200			
	静注 (生食-tween 80)	同上	同上	LD ₅₀ ;356			
イヌ/ビーグル (6-7 ヲ月齡)	経口 (0.5%CMC-Na 懸濁液)	1000	雌雄各 2	>1000	雌雄の投与後 1~2 時間より、吐物、結膜の充血、潮紅、歩行異常及び振戦が認められ、投与日に全例で摂餌量の低値、投与後 2 日に雄 1 例及び雌全例で体重が減少した。その後はいずれも回復傾向を示した。病理解剖検査では異常はなかった。	適	4.2.3.1-2

2.6.7.6 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）

該当する試験は実施していない。

2.6.7.7 反復投与毒性試験

2.6.7.7.1 ラットの4週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名：NPC-15 の成熟ラットを用いた4週間反復経口投与毒性試験

被験物質：メラトニン

動物種/系統/性：ラット/Cr1:CD(SD)/雌雄

投与期間：4週間

試験番号：■■■■■

試験開始週齢：6週齢

回復期間：なし

添付資料：4.2.3.2-1

初回投与年月：20■■年■■月

投与方法：経口投与

GLP適用：適

特記事項：なし

溶媒/投与形態：0.5%CMC-Na/懸濁

無毒性量：雌雄とも 375 mg/kg/day

投与量(mg/kg/day)		0 (溶媒)		15		75		375	
トキシコキネティクス	動物数	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4
C _{max} (ng/mL)	1 日	BLQ	BLQ	789.9	793.1	9688	18460	48620	54690
	28 日	BLQ	BLQ	1980	2724	10130	16660	24080	32880
T _{max} (h)	1 日	NC	NC	0.25	0.25	0.31	0.31	0.25	0.25
	28 日	NC	NC	0.25	0.17	0.38	0.38	0.63	0.25
AUC _{0-6h} (ng・h/mL)	1 日	NC	NC	425.1	340.7	11460	19770	89760	100400
	28 日	NC	NC	1358	1253	13640	21750	65550	53510
特記すべき所見	動物数	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
死亡/瀕死期殺		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	黒色便	0	0	0	0	0	0	10	10
体重		—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査	ビリルビン陽性	0	0	0	0	0	0	0	3
血液学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
血液生化学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
肝 UDP-GT(nmol/min/mg) ^a		15.86	6.50	20.90	9.58*	19.52	8.82	53.00**	31.08**
剖検		—	—	—	—	—	—	—	—
器官重量	肝臓 (g)	—	6.456	—	6.611	—	6.920	—	7.230*
	肝臓 (%)	—	2.835	—	2.982	—	2.935	—	3.171**
病理組織学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、BLQ：定量限界未満 (<0.04 ng/mL)、NC：算出不可、a：雌雄各 5 匹/群、*：p<0.05、**：p<0.01

2.6.7.7.2 ラットの13週間反復経口投与毒性試験（4週間回復群を含む）

報告書の題名：NPC-15のラットを用いた13週間反復経口投与毒性試験及び4週間回復試験

被験物質：メラトニン

動物種/系統/性：ラット/Cr1:CD(SD)/雌雄

投与期間：13週間

試験番号：■■■■■

試験開始週齢：6週齢

回復期間：4週間

添付資料：4.2.3.2-2

初回投与年月：20■■年■■月

投与方法：経口投与

GLP適用：適

特記事項：なし

溶媒/投与形態：0.5%CMC-N /懸濁

無毒性量：雄；75 mg/kg/day、雌；15 mg/kg/day

投与量 mg/kg/day		0 (溶媒)		15		75		375	
トキシコネティクス	動物数	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4
C _{max} (ng/mL)	1 日	BLQ	BLQ	672.2	937.1	6459	9457	32480	35170
	91 日	BLQ	BLQ	4843	5701	13670	17630	34470	45750
T _{max} (h)	1 日	NC	NC	0.25	0.25	0.38	0.33	0.25	0.25
	91 日	NC	NC	0.21	0.21	0.31	0.50	0.50	0.25
AUC _{0-6h} (ng・h/mL)	1 日	NC	NC	369.7	379.8	6672	9165	64120	75220
	91 日	NC	NC	3803	2620	19040	21330	91850	70170
特記すべき所見	動物数	雄 16	雌 16	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 16	雌 16
死亡/瀕死期殺		0	0	0	0	0	0	1 ^a	0
一般状態 黒色便		0	0	0	0	0	0	16	16
体重		—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査 ビリルビン陽性		2	3	2	3	1	2	9	7
血液学的検査	動物数	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
血液生化学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
Glu (mg/dL)		129.2	103.2	121.8	112.2	119.6	120.9*	134.1	118.7*
TC (mg/dL)		65.9	74.8	67.8	76.7	76.4	96.8*	96.6**	113.0**
PL (mg/dL)		110.5	139.7	117.5	146.2	125.1	178.1*	165.8**	198.0*

—：特記すべき所見なし、BLQ：定量限界未満（＜0.04 ng/mL）、NC：算出不可、a：被験物質投与との関連なし、*：p＜0.05、**：p＜0.01

2.6.7.7.2 ラットの13週間反復経口投与毒性試験（4週間回復群を含む）（続き） 試験番号：■■■■■

投与量 mg/kg/day		0 (溶媒)		15		75		375	
特記すべき所見	動物数	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
剖検	甲状腺の褐色化	0	0	0	0	0	0	9	9
器官重量	甲状腺 (mg)	25.88	19.40	24.59	20.94	24.83	21.36	31.75	22.75
	(mg %)	5.02	6.40	4.86	7.08	4.75	6.91	6.04	7.58*
	肝臓 (g)	12.786	7.383	12.580	7.042	13.313	8.219	15.969**	9.054**
	(g %)	2.493	2.441	2.475	2.386	2.558	2.653	2.999**	3.004**
病理組織学的検査									
副腎	束状帯皮質細胞の空胞化	0	0	0	0	0	0	4	2
卵巣	黄体の減少	NA	0	NA	0	NA	1	NA	3
	卵胞嚢胞	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2
膣	膣粘膜上皮の変性/壊死	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
甲状腺	濾胞上皮の褐色色素沈着	0	0	0	0	0	0	10	10
	濾胞上皮の肥大	0	0	0	0	0	0	3	4
肝臓	小葉中心性肝細胞肥大	0	0	0	0	0	0	3	2

【回復期間終了時】

投与量 mg/kg/day		0 (溶媒)		375	
特記すべき所見	動物数	雄 6	雌 6	雄 5	雌 6
死亡/瀕死期殺		0	0	0	0
一般状態	黒色便	—	—	回復期間の初日のみに観察	
体重		—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—
眼科学的検査		—	—	—	—
尿検査	ビリルビン陽性	—	—	—	—
血液学的検査		—	—	—	—
血液生化学的検査		—	—	—	—
剖検	甲状腺の褐色化	0	0	5	5
器官重量		—	—	—	—
病理組織学的検査					
甲状腺	濾胞上皮の褐色色素沈着	0	0	5	6

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし、*：p<0.05、**：p<0.01

2.6.7.7.3 ラットの26週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名：NPC-15のラットを用いた26週間反復経口投与毒性試験

被験物質：メラトニン

動物種/系統/性：ラット/Cr1:CD(SD)/雌雄

投与期間：26週間

試験番号：[REDACTED]

試験開始週齢：6週齢

回復期間：なし

添付資料：4.2.3.2-3

初回投与年月：20[REDACTED]年[REDACTED]月

投与方法：経口投与

GLP適用：適

特記事項：なし

溶媒/投与形態：0.5%CMC-Na /懸濁

無毒性量：雄；15 mg/kg/day、雌；75 mg/kg/day

投与量 mg/kg/day			0 (溶媒)		15		75		375	
特記すべき所見	動物数		雄:12	雌:12	雄:12	雌:12	雄:12	雌:12	雄:12	雌:12
死亡/瀕死期殺			0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態	黒色便		0	0	0	0	0	0	12	12
体重			—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量			—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査			—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査										
ビリルビン陽性	13週	+1	1	2	0	1	0	3	10	9
		+2	0	0	0	0	0	0	0	1
	26週	+1	4	5	2	2	7	4	5	6
		+2	0	0	0	0	0	0	4	4
血液学的検査			—	—	—	—	—	—	—	—
血液生化学的検査										
総コレステロール(mg/dL)			84.0	99.0	80.8	90.7	97.4	96.0	108.6**	119.3*
リン脂質(mg/dL)			130.8	180.9	133.9	170.5	150.2	170.8	174.2**	207.0
剖検										
甲状腺の黒色化			0	0	0	0	0	0	12	12
肝臓の肥大			0	0	0	0	0	0	3	1

—：特記すべき所見なし、*：p<0.05、**：p<0.01

2.6.7.7.3 ラットの26週間反復経口投与毒性試験（続き） 試験番号：■■■■■

投与量 mg/kg/day			0 (溶媒)		15		75		375	
特記すべき所見			雄:12	雌:12	雄:12	雌:12	雄:12	雌:12	雄:12	雌:12
器官重量	副腎	(mg)	63.93	76.03	57.15	78.92	54.65*	70.73	50.22*	71.18
		(mg %)	9.64	23.42	9.48	24.53	8.44	21.73	7.83**	20.96
	甲状腺	(mg)	28.50	22.98	31.40	21.64	31.77	21.53	35.70**	29.38*
		(mg %)	4.30	7.07	5.23*	6.71	4.88	6.49	5.61**	8.54*
	肝臓	(g)	16.221	8.261	14.690	7.802	16.567	8.042	18.413	10.154**
		(%)	2.432	2.533	2.406	2.411	2.544	2.442	2.876**	2.973**
病理組織学的検査										
副腎	束状帯皮質細胞の空胞化		1	0	0	0	1	0	5	2
甲状腺	濾胞上皮の褐色色素沈着		0	0	0	0	3	0	12	12
	濾胞上皮の肥大		0	0	0	0	0	0	1	0
肝臓	小葉中心性肝細胞肥大		0	0	0	0	0	0	7	5

—：特記すべき所見なし、*：p<0.05、**：p<0.01

2.6.7.7.4 イヌの4週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名：NPC-15 のイヌを用いた4週間反復経口投与毒性試験及び4週間回復試験

被験物質：メラトニン

動物種/系統/性：ビーグル/雌雄

投与期間：4週間

試験番号：■■■■■

試験開始週齢：6〜7ヵ月齢

回復期間：4週間

添付資料：4.2.3.2-4

初回投与年月：20■■年■■月

投与方法：経口投与

GLP適用：適

特記事項：375 mg/kg/day では毒性症状により投与継続が困難となったため、第15日以降の投与量を150 mg/kg/dayに変更した。

溶媒/投与形態：0.5%CMC-Na/懸濁

無毒性量：雌雄とも75 mg/kg/day

投与量(mg/kg/day)		0 (溶媒)		15		75		375 (150)	
トキシコキネティクス	動物数	雄 6	雌 6	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 6	雌 6
C _{max} (ng/mL)	1 日	BLQ	BLQ	3875	2330	20440	15280	40470	43590
	15 日 ^a	NA	NA	NA	NA	NA	NA	27490	23850
	28 日	BLQ	BLQ	4360	4762	16750	26130	(27590) ^b	(30970) ^b
T _{max} (h)	1 日	NC	NC	0.44	0.46	0.75	0.88	1.6	1.7
	15 日 ^a	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.2	0.75
	28 日	NC	NC	0.40	0.50	1.5	0.63	(0.75) ^b	(1.3) ^b
AUC _{0-8h} (ng・h/mL)	1 日	NC	NC	3744	2070	42020	39140	191000	205200
	15 日 ^a	NA	NA	NA	NA	NA	NA	121400	74500
	28 日	NC	NC	4909	5972	43510	65710	(93240) ^b	(106600) ^b
特記すべき所見									
死亡/瀕死期殺		0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態 嘔吐、振戦、歩行異常		0	0	0	0	0	0	3〜6	3〜6
黒色便		0	0	4	4	4	4	6	6
体重		—	—	—	—	—	—	低値	低値
摂餌量		—	—	—	—	—	—	低値	低値
心電図		—	—	—	—	—	—	—	—
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査		—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、a：用量変更日、b：150 mg/kg/day、BLQ：定量限界未満 (<0.04 ng/mL)、NA：該当なし、NC：算出不可

2.6.7.7.4 イヌの4週間反復経口投与毒性試験（続き） 試験番号：■■■■■

投与量 mg/kg/day		0 (溶媒)		15		75		375 (150)	
特記すべき所見	動物数	雄 6	雌 6	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 6	雌 6
血液学的検査									
赤血球数 ($10^6/\mu\text{L}$)		6.903	6.982	6.798	6.643	6.495	6.335	5.980*	6.317
ヘモグロビン濃度 (g/dL)		15.75	16.03	15.18	15.25	14.95	14.45	13.33**	14.37
ヘマトクリット値 (%)		46.48	46.78	44.80	44.80	43.80	42.33	39.18**	41.55*
網状赤血球率 (%)		1.113	0.748	0.678	0.515	0.828	0.658	0.598*	0.612
血小板数 ($10^3/\mu\text{L}$)		326.8	345.7	365.3	387.0	363.0	385.3	470.0**	498.8**
血液生化学的検査									
ALAT (U/L)		38.8	33.7	37.8	36.8	30.8	29.3	92.7	30.2
γ GT (U/L)		4.0	4.2	4.5	3.8	4.8	4.5	26.3*	7.0
特記すべき所見	動物数	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4
剖検：肝臓、陥凹巣									
器官重量		0	0	0	0	0	0	1	0
病理組織学的検査									
肝臓：小葉中心性肝細胞肥大		0	0	0	0	0	0	2	0
小葉辺縁性肝細胞変性		0	0	0	0	0	0	1	0
マクロファージ浸潤		0	0	0	0	0	0	1	0
肝細胞内グリコーゲン増加		0	0	0	0	0	0	1	0
胸腺：萎縮		0	0	0	0	0	0	3	0
胸骨骨髓：造血細胞の減少		0	0	0	0	0	0	1	0
副腎：束状帯細胞の脂肪滴の減少		0	0	0	0	0	0	1	0

—：特記すべき所見なし、*：p<0.05、**：p<0.01

2.6.7.7.4 イヌの4週間反復経口投与毒性試験（続き） 試験番号： XXXXXXXXXX

【回復期間終了時】

投与量 mg/kg/day		0 (溶媒)		375 (150)	
	動物数	雄 2	雌 2	雄 2	雌 2
特記すべき所見					
死亡/瀕死期殺		0	0	0	0
一般状態 黒色便 (30 日まで)		0	0	2 ^a	2 ^a
体重		—	—	—	—
摂餌量		—	—	—	—
心電図		—	—	—	—
眼科学的検査		—	—	—	—
尿検査		—	—	—	—
血液学的検査		—	—	—	—
血液生化学的検査		—	—	—	—
剖検		—	—	—	—
器官重量		—	—	—	—
病理組織学的検査		—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、a：第30日までみられたが、以後異常なし

2.6.7.7.5 イヌの39週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名：NPC-15 のイヌを用いた39週間反復経口投与毒性試験

被験物質：メラトニン

動物種/系統/性：ビーグル/雌雄

投与期間：39週間

試験番号：■■■■■

試験開始週齢：6～7ヵ月齢

回復期間：なし

添付資料：4.2.3.2-5

初回投与年月：20■■年■■月

投与方法：経口投与

GLP適用：適

特記事項：250 mg/kg/day では毒性症状により投与継続が困難となったため、雄は第217日、雌は第209日以降の投与量を150 mg/kg/dayに変更した。

溶媒/投与形態：0.5%CMC-Na/懸濁

無毒性量：雌雄とも15 mg/kg/day

投与量(mg/kg/day)		0 (溶媒)		15		75		250 (150)	
トキシコキネティクス	動物数	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4
C _{max} (ng/mL)	1 日	BLQ	BLQ	4519	5431	56980	59950	69240	74630
	91 日	BLQ	BLQ	4558	4362	29080	30330	49990	49620
	217/209 日 ^a	NA	NA	NA	NA	NA	NA	48860	40620
	273 日	BLQ	BLQ	5698	5861	23670	32680	(40620)	(35570)
T _{max} (h)	1 日	NC	NC	0.38	0.50	0.44	0.88	1.3	1.3
	91 日	NC	NC	0.31	0.50	0.88	0.63	2.0	1.4
	217/209 日 ^a	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.7	1.5
	273 日	NC	NC	0.31	0.38	1.0	0.75	(1.7)	(0.81)
AUC _{0-8h} (ng・h/mL)	1 日	NC	NC	4361	7294	110800	120300	246600	275900
	91 日	NC	NC	5217	6933	72040	60110	234500	208400
	217/209 日 ^a	NA	NA	NA	NA	NA	NA	195500	158400
	273 日	NC	NC	6076	7788	62410	84870	(157600)	(126400)
特記すべき所見									
死亡/瀕死期殺		0	0	0	0	0	0	1	0
一般状態 嘔吐、流涎		0	0	0	0	0	0	3	4
黒色便		0	0	4	4	4	4	4	4
体重		—	—	—	—	—	—	低値(1)	低値(2)
摂餌量		—	—	—	—	—	—	低値(1)	低値(2)
心電図		—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、a：用量変更日(♂/♀)、BLQ：定量限界未満 (<0.04 ng/mL)、NA：該当なし、NC：算出不可

2.6.7.7.5 イヌの39週間反復経口投与毒性試験（続き） 試験番号： XXXXXXXXXX

投与量 (mg/kg/day)		0 (溶媒)		15		75		250 (150)	
動物数		雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査									
ビリルビン (+2)	12 週	0	0	0	0	0	0	1	0
	38 週	0	0	0	0	0	0	2	0
カリウム (mmol)	12 週	24.874	29.837	27.403	26.157	22.640	27.160	23.562	16.037**
	38 週	20.457	27.327	22.102	26.256	16.479	31.601	16.987	26.093
血液学的検査									
血小板数 ($10^3/\mu\text{L}$)	13 週	322.8	380.5	283.3	299.8	359.0	369.8	460.5**	472.0
	39 週	280.5	382.0	279.0	325.0	326.0	358.0	396.0*	516.5
血液生化学的検査									
ALAT (U/L)	13 週	30.0	43.0	32.8	28.3	26.5	28.5	320.3**	236.8
	39 週	41.0	43.0	39.5	27.3	55.8	65.3	129.3*	92.8*
γ GT (U/L)	13 週	4.8	4.0	4.5	3.5	4.8	4.3	17.8**	16.5**
	39 週	4.5	4.8	4.5	4.0*	4.3	5.0	7.0**	6.5**
動物数		雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 3	雌 4
剖検									
十二指腸	潰瘍	0	0	0	0	0	0	1	0
肝臓	顆粒状化、黄色化	0	0	0	0	0	0	1	0
脾臓	周囲組織の水腫	0	0	0	0	0	0	1	0
精巣	小型化	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
前立腺	小型化	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
甲状腺	黒色化	0	0	0	0	0	0	3	4
	大型化	0	0	0	0	0	0	1	1
胸腔	胸水の貯留	0	0	0	0	0	0	1	0

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし、*：p<0.05、**：p<0.01

2.6.7.7.5 イヌの39週間反復経口投与毒性試験（続き） 試験番号：■■■■■

投与量(mg/kg/day)		0 (溶媒)		15		75		250 (150)	
動物数		雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 4	雌 4	雄 3	雌 4
器官重量									
肝臓	(g)	255.88	219.65	225.48	221.08	254.63	251.23	278.20	276.38*
	(%)	2.599	2.440	2.385	2.384	2.650	2.546	2.962	2.988*
甲状腺	(mg)	1104.8	844.0	845.0	912.5	1212.3	1206.0*	1659.0**	1708.5**
	(mg %)	11.228	9.388	8.956	9.892	12.710	12.224	17.592**	18.324**
精巣	(g)	14.958	NA	15.783	NA	13.945	NA	8.540*	NA
	(mg %)	148.82	NA	167.89	NA	146.81	NA	89.86*	NA
病理組織学的検査									
肝臓：淡明化肝細胞巣		0	0	0	0	0	0	3	4
肝硬変		0	0	0	0	0	0	1	0
胆汁栓		0	0	0	0	0	0	1	0
胆管上皮の空胞化		0	0	0	0	0	0	3	3
甲状腺：濾胞上皮の褐色色素沈着		0	0	0	0	4	2	3	4
濾胞上皮細胞の肥大		0	0	0	0	0	0	2	3
精巣：精細管の萎縮		0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
間質細胞の増加		0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
精巣上体：精巣上体管の萎縮		0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
前立腺：腺の萎縮		0	NA	0	NA	0	NA	1	NA
十二指腸：糜爛/潰瘍		0	0	0	0	0	0	1	0
脾臓：周辺組織の水腫		0	0	0	0	0	0	1	0

—：特記すべき所見なし、NA：該当なし、*：p<0.05、**：p<0.01

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 細菌を用いた復帰突然変異試験

報告書の題名：NPC-15 の細菌を用いた復帰突然変異試験

被験物質：メラトニン

試験の種類：細菌を用いた復帰突然変異試験

独立して実施した試験数：1

試験番号：■■■■

菌株：S. typhimurium (TA100, TA1535, TA98, TA1537), E. coli WP2uvrA

プレート数：2

添付資料：4.2.3.3.1-1

代謝活性化系：phenobarbital と 5,6-benzoflavone で誘導したラット肝臓より調製

生菌数 ($\times 10^9/\text{mL}$)：1.98~6.06

GLP 適用：適

溶媒：DMSO

処理：S9 添加及び非添加とも 48 時間

処理年月：20■■年■■月

細胞毒性：なし、遺伝毒性：なし

代謝活性化の有無	被験物質	用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異コロニー数 (平均値)				
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
S9 mix(-)	DMSO	—	111	8	46	19	15
	NPC-15	156	102	8	40	20	14
		313	109	5	37	19	16
		625	115	10	36	21	13
		1250	119	12	43	17	14
		2500	98	8	37	17	14
		5000	112	7	27	10	13
S9 mix(+)	DMSO	—	121	10	42	28	21
	NPC-15	156	122	8	39	26	17
		313	123	8	33	22	16
		625	122	11	39	30	19
		1250	137	11	43	28	22
		2500	138	9	42	26	20
		5000	127	7	39	21	20
陽性対照	AF-2	0.01 (TA100, WP2uvrA), 0.1 (TA98)	556	—	184	674	—
S9 mix(-)	NaN ₃	0.5	—	564	—	—	—
	9-AA	80	—	—	—	—	506
陽性対照	2-AA	0.5 (TA98), 1 (TA100), 2 (TA1535, TA1537), 10 (WP2uvrA)	825	263	1165	207	167

DMSO:ジメチルスルホキシド、AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃:アジ化ナトリウム、9-AA:9-アミノアクリジン塩酸塩-水和物、2-AA:2-アミノアントラセン

2.6.7.8.2 哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験

報告書の題名：NPC-15 のほ乳類培養細胞を用いた染色体異常試験

被験物質：メラトニン

試験の種類：哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験

独立して実施した試験数：1

試験番号：■■■■

細胞株：チャイニーズハムスターCHL/IU

プレート数：2

添付資料：4.2.3.3.1-2

代謝活性化系：phenobarbital と 5,6-benzoflavone で

分析細胞数/培養：100

GLP 適用：適

誘導したラット肝臓より調製

溶媒：DMSO

処理：6 時間（+S9 及び-S9）、24 時間（-S9）

細胞増殖率：1.82~233 μ g/mL で 6、24 時間処理した結果、50%以上の細胞増殖抑制は認められなかった。

処理年月：20■■年■■月

細胞毒性：なし、遺伝毒性：なし

【短時間処理法（6 時間処理—18 時間回復）】

S9 mix	被験物質	用量 μ g/mL	構造異常細胞数(%)						ギャップの出現数	細胞増殖率(%)	数的異常細胞数(%)	
			観察細胞数	染色分体 型切断	染色分体 型交換	染色体 型切断	染色体 型交換	断片化	総異常細胞数		観察細胞数	総異常細胞数
-	DMSO		200	2(1.0)	2(1.0)	2(1.0)	0(0.0)	0(0.0)	5(2.5)	0	200	0(0.0)
	NPC-15	29.1	観察対象外								93.9	観察対象外
		58.3	200	2(1.0)	1(0.5)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	3(1.5)	0	200	0(0.0)
		117	200	2(1.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	2(1.0)	0	200	0(0.0)
		233	200	2(1.0)	1(0.5)	1(0.5)	0(0.0)	0(0.0)	4(2.0)	0	200	0(0.0)
	MMC	0.1	200	58(29.0)	84(42.0)	2(1.0)	0(0.0)	0(0.0)	128(64.0)	0	200	0(0.0)
+	DMSO		200	1(0.5)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.5)	0	200	0(0.0)
	NPC-15	29.1	観察対象外								102.1	観察対象外
		58.3	200	0(0.0)	0(0.0)	1(0.5)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.5)	0	200	0(0.0)
		117	200	0(0.0)	0(0.0)	1(0.5)	0(0.0)	0(0.0)	1(0.5)	0	200	0(0.0)
		233	200	2(1.0)	1(0.5)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	3(1.5)	0	200	0(0.0)
	BP	15	200	14(7.0)	41(20.5)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	52(26.0)	0	200	0(0.0)

DMSO:ジメチルスルホキシド、MMC:マイトマイシン C、BP:ベンゾ(a)ピレン

2.6.7.8.2 哺乳類の培養細胞を用いた染色体異常試験（続き） 試験番号： XXXXXXXXXX

【連続処理法（24 時間処理）】

S9 mix	被験物質	用量 μg/mL	構造異常細胞数(%)							ギャップの出現数	細胞増殖率(%)	数的異常細胞数(%)	
			観察細胞数	染色分体型切断	染色分体型交換	染色体型切断	染色体型交換	断片化	総異常細胞数			観察細胞数	総異常細胞数
-	DMSO		200	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	100.0	200	0 (0.0)
	NPC-15	29.1	観察対象外								93.1	観察対象外	
		58.3	200	4 (2.0)	2 (1.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (3.5)	0	87.6	200	0 (0.0)
		117	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	83.5	200	0 (0.0)
		233	200	5 (2.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (3.0)	0	67.7	200	0 (0.0)
	MMC	0.05	200	45 (22.5)	68 (34.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	98 (49.0)	0	—	200	0 (0.0)

DMSO: ジメチルスルホキシド、MMC: マイトマイシンC

2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験

2.6.7.9.1 ラット小核試験

報告書の題名：NPC-15 のラットを用いた骨髓小核試験

被験物質：メラトニン

試験の種類：骨髓細胞を用いた小核試験

処理計画：2 回経口投与

試験番号：■■■■

動物種/系統：Cr1:CD(SD) ラット(雄)

骨髓採取時間：最終投与後 24 時間

添付資料：4.2.3.3.2-1

週齢：8 週齢

投与方法：経口投与

GLP 適用：適

分析対象細胞：幼若赤血球

溶媒：0.5%CMC-Na

分析細胞数/動物：2000

処理年月：20■■年■■月

細胞毒性：幼若赤血球の割合は陰性対照群と比較し有意差はなく、骨髓抑制はなかった。

特記事項：なし

毒性兆候：2000 mg/kg 群では自発運動の低下、歩行異常、体重の低値がみられた。

遺伝毒性：なし

被験物質	投与量 (mg/kg/day)	小核を有する幼若赤血球出現数		全赤血球中の幼若赤血球の割合	
		観察幼若赤血球数	小核を有する細胞数(平均±SD)	観察赤血球数	幼若赤血球数/幼若赤血球数+成熟赤血球数(平均±SD)
0.5%CMC-Na		10000	13 (0.13±0.08)	1000	54.2±1.4
NPC-15	500	10000	12 (0.12±0.03)	1000	53.9±2.3
	1000	10000	13 (0.13±0.08)	1000	52.9±1.7
	2000	10000	7 (0.07±0.06)	1000	52.8±2.9
Cyclophosphamide	20	10000	380** (3.80±0.33)	1000	32.5±2.1**

**：p<0.01

2.6.7.10 がん原性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）

2.6.7.11.1 非妊娠ウサギの2週間反復経口投与予備毒性試験

報告書の題名：NPC-15 の非妊娠ウサギを用いた2週間反復経口投与予備毒性試験

被験物質：メラトニン

動物種／ 系統	投与方法 (媒体／投与形 態)	投与期間	投与量 (mg/kg/day)	動物数 ／群	特記すべき所見	GLP 適用	試験番号 添付資料
ウサギ／ Kb1:NZW* (雌)	経口 (0.5%CMC-Na / 懸濁)	14 日間	0, 150, 375, 600, 300 ^a	3	375 mg/kg/day 以上で著しい体重の減少、摂餌の廃絶が継続し、潮紅、黒色便が認められた。600 mg/kg/day では自発運動の低下、緩徐呼吸などがみられ瀕死と判断した。 300 mg/kg/day では潮紅、体重及び摂餌量の低値傾向が認められた。 150 mg/kg/day では異常はなかった。	非	4.2.3.5.2-2 (参考)

*: ウサギの胚・胎児発生に関する試験の予備試験として実施、a : 600 mg/kg/day 群を投与9日に瀕死剖検したため、別に300 mg/kg/day を追加し5日間投与した。

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

2.6.7.12.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

報告書の題名：NPC-15 のラットを用いた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

被験物質：メラトニン

動物種/系統/性：ラット/Cr1:CD(SD)/雌雄

投与期間：雄；交配前 2 週～交配後の剖検前日

報告書番号：[REDACTED]

試験開始時週齢：10 週齢

雌；交配前 2 週～妊娠 7 日

添付資料：4.2.3.5.1-1

初回投与年月：20[REDACTED]年[REDACTED]月

交尾成立日：妊娠 0 日

GLP 適用：適

特記事項：なし

帝王切開日：妊娠 13 日

無毒性量：一般毒性：75 mg/kg/day (雌雄)、生殖能：雄 375 mg/kg/day、

投与方法：経口投与

雌 75 mg/kg/day、初期胚発生：375 mg/kg/day

溶媒/投与形態：0.5%CMC-Na/懸濁

投与量(mg/kg/day)		0(溶媒)	15	75	375
F ₀ 雄	一般毒性 動物数	20	20	20	20
	死亡/瀕死期殺	0	0	0	0
	一般状態 潮紅	0	0	0	1
	黒色便	0	0	0	20
	体重	—	—	—	—
	摂餌量	—	—	—	—
	剖検 甲状腺の褐色化	0	0	0	16
F ₀ 雌	一般毒性 動物数	20	20	20	20
	死亡/瀕死期殺	0	0	0	0
	一般状態 潮紅	0	0	0	1
	黒色便	0	0	0	20
	体重	—	—	—	—
	摂餌量	—	—	—	—
	剖検 甲状腺の褐色化	0	0	0	2

—：特記すべき所見なし

2.6.7.12.1 ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（続き） 試験番号： XXXXXXXXXX

投与量(mg/kg/day)			0(溶媒)	15	75	375
F ₀ 雌雄	生殖能	動物数(雄/雌)	20/20	20/20	20/20	20/20
	性周期	発情周期(日)	4.025	4.000	4.211	4.300*
		発情回数	3.650	3.650	3.500	3.400
	交尾率	雄(%)	95.0	95.0	95.0	100.0
		雌(%)	95.0	95.0	95.0	100.0
	受胎率	雌(%)	94.7	100.0	100.0	95.0
		交尾所要日数(日)	2.5	2.4	2.4	2.4
F ₀ 雌	初期胚発生	動物数	18	19	19	19
		黄体数	14.67	13.68	14.89	15.89
		着床数	13.61	12.11	14.58	15.16
		着床前死亡率(%)	8.53	14.61	2.29	4.55
		着床後死亡率(%)	5.73	7.09	7.10	7.00
		生存胚数	12.78	11.16	13.58	14.11

—：特記すべき所見なし、*：p<0.05

2.6.7.13 生殖発生毒性試験－胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1 ラット胚・胎児発生に関する試験

報告書の題名：NPC-15 のラットを用いた経口投与による胚・胎児発生に関する試験

被験物質：メラトニン

動物種/系統/性：ラット/Cr1:CD(SD)/雌

投与期間：妊娠 6～17 日

報告書番号：[REDACTED]

試験開始時週齢：12 週齢

交尾成立日：妊娠 0 日

添付資料：4.2.3.5.2-1

初回投与年月：20[REDACTED]年[REDACTED]月

帝王切開日：妊娠 20 日

GLP 適用：適

特記事項：なし

投与方法：経口投与

無毒性量：母動物：75 mg/kg/day

溶媒/投与形態：0.5%CMC-Na/懸濁

胚・胎児：375 mg/kg/day

投与量(mg/kg/day)		0(溶媒)	15	75	375
F ₀ 雌	評価動物数	20	20	19	20
	死亡動物数	0	0	0	0
	一般状態：潮紅	0	0	0	6
	黒色便	0	0	0	20
	体重	—	—	—	—
	摂餌量	—	—	—	低値(妊娠 9～15 日)
	剖検	—	—	—	—
胎児	黄体数	15.60	14.80	15.32	15.05
	着床数	15.30	14.45	14.89	14.75
	着床前死亡率(%)	1.86	2.34	2.67	1.97
	着床後死亡率(%)	8.35	5.18	2.14*	3.35
	早期吸収胚率(%)	8.35	5.18	2.14*	3.35
	後期吸収胚率(%)	0	0	0	0
	死亡胎児数	0	0	0	0
	生存胎児数	14.00	13.70	14.58	14.25
	性比	1.04	1.70*	1.26	1.05
	生存胎児体重(g)：雄	3.881	3.824	3.770	3.775
	：雌	3.629	3.602	3.505	3.562

—：特記すべき所見なし、*：p<0.05

2.6.7.13.1 ラット胚・胎児発生に関する試験（続き） 報告書番号：■■■■■

投与量(mg/kg/day)		0(溶媒)	15	75	375
胎児 検査胎児数	胎児 検査胎児数	280	274	277	285
	胎盤	—	—	—	—
	外表異常：全身浮腫	0	0	0	3
	内臓異常	135	NE	NE	137
検査胎児数	食道背方鎖骨下動脈	0			1
	心室中隔欠損	1			2
	尿管拡張	2			6
	胸腺の頸部遺残	2			5
	骨格異常	145	NE	NE	148
	肋骨短小	1			1
	骨格変異				
	短小過剰肋骨	14			15
	胸骨非対称	1			2
	胸椎体二分骨化	2			2
	胸椎分節二分骨化	2			1
	頸肋骨	1			0
	完全過剰肋骨	4			0

—：特記すべき所見なし、NE：未実施

2.6.7.13.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験

報告書の題名：NPC-15 の ウサギを用いた経口投与による胚・胎児発生に関する試験

被験物質：メラトニン

動物種/系統/性：ウサギ/Kb1:NZW/雌

投与期間：妊娠 6～18 日

報告書番号：[REDACTED]

試験開始時週齢：18 週齢以上

交尾成立日：妊娠 0 日

添付資料：4.2.3.5.2-3

初回投与年月：20[REDACTED]年[REDACTED]月

帝王切開日：妊娠 28 日

GLP 適用：適

特記事項：100 mg/kg/day で死亡した 1 例は薬物投与と関連のない偶発的な死亡と判断した。

投与方法：経口投与

無毒性量：母動物：100 mg/kg/day

溶媒/投与形態：0.5%CMC-Na/懸濁

胚・胎児：100 mg/kg/day

投与量(mg/kg/day)		0(溶媒)	30	100	300
トキシコキネティクス	動物数	6	6	6	6
	C _{max} (ng/mL) 妊娠 6 日	BLQ	20.80	19550	47110
	18 日	BLQ	2742	32530	42920
	T _{max} (h) 妊娠 6 日	NC	0.40	0.23	1.9
	18 日	NC	0.21	0.21	1.0
	AUC _{0-6h} (ng・h/mL) 妊娠 6 日	NC	27.02	22620	124500
		18 日	NC	1880	29280
F ₀ 雌	動物数	18	19	18	18
	死亡動物数	0	0	1	0
	一般状態 潮紅	0	0	0	4
	黒色便	0	0	0	5
	体重	—	—	—	低値
	摂餌量	—	低値	—	低値
剖検:子宮・盲腸・空腸の癒着、肺水腫		0	0	1 ^a	0

—：特記すべき所見なし、BLQ：定量限界未満（＜0.04 ng/mL）、NC：算出不可、a：死亡例の所見

2.6.7.13.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き） 報告書番号： XXXXXXXXXX

投与量(mg/kg/day)		0(溶媒)	30	100	300
胎児	黄体数	7.72	9.42*	9.18	9.17*
	着床数	6.89	8.79**	8.35	8.56*
	着床前死亡率(%)	10.74	9.84	12.65	6.44
	着床後死亡率(%)	16.09	1.44**	19.89	14.20
	早期吸収胚率(%)	13.22	0.00**	17.51	9.08
	後期吸収胚率(%)	2.88	1.44	2.38	5.13
	死亡胎児数	0	0	0	0
	生存胎児数	5.67	8.63**	6.76	7.28
	性比	1.93	1.19	1.14	1.31
	生存胎児体重(g)：雄	35.602	32.774	33.946	30.900*
	：雌	35.137	31.929	33.317	30.883*
	検査胎児数	102	164	115	131
	胎盤	—	—	—	—
	外表異常				
	局所性浮腫	1	0	0	0
	臍帯ヘルニア	1	0	0	0
	鎖肛	0	0	1	0
	腹壁破裂	0	0	1	0
	外脳	0	0	0	1
	口蓋裂	0	0	0	1
	異常回転肢	0	0	1	0
	欠指	0	0	1	0
	無尾	0	0	1	0

—：特記すべき所見なし、*：p<0.05、**：p<0.01

2.6.7.13.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験（続き） 報告書番号：■■■■■

投与量(mg/kg/day)		0(溶媒)	30	100	300
内臓異常	検査胎児数	102	NE	NE	131
	腎盂拡張	0			1
	小脳形態異常	0			1
	大脳形態異常	0			1
	食道背方鎖骨下動脈	0			1
骨格異常	検査胎児数	102	NE	115	131
	尾椎体配列異常	0		1	0
	肋骨分岐	0		1	0
	肋骨癒合	0		1	0
	ノブ状肋骨	0		1	0
	胸骨分節癒合	1		2	12*
	胸椎弓癒合	0		1	0
骨格変異					
	6 腰椎	2		0	0
	8 腰椎	1		0	3
	完全過剰肋骨	70		83	110
	短小過剰肋骨	1		0	1
	胸骨分節非対称	0		1	0
	胸骨分節二分化骨	1		0	2
	胸椎体二分化骨	0		1	0
	骨化進行度				
	胸骨分節数	5.609		5.794	5.710
	仙尾椎体数	19.594		19.654	19.401

NE : 未実施、* : p<0.05

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動物の機能に関する試験

2.6.7.14.1 ラットの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

報告書の題名：NPC-15 のラットを用いた経口投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

被験物質：メラトニン

動物種/系統/性：ラット/Cr1:CD(SD)/雌

投与期間：妊娠 6 日～分娩後 20 日

報告書番号：[REDACTED]

試験開始時週齢：12 週齢

交尾成立日：妊娠 0 日

添付資料：4.2.3.5.3-1

初回投与年月：20[REDACTED]年[REDACTED]月

分娩完了日：分娩後 0 日(生後 0 日)

GLP 適用：適

特記事項：なし

投与方法：経口投与 (5 mL/kg)

無毒性量：母動物：75 mg/kg/day、出生児：75 mg/kg/day、

溶媒/投与形態：0.5%CMC-Na/懸濁

母動物の生殖機能：375 mg/kg/day

投与量(mg/kg/day)		0(溶媒)	15	75	375
F ₀ 雌	動物数	20	20	19	20
	死亡動物数	0	0	0	0
	一般状態	潮紅	0	0	7
		黒色便	0	0	20
		全哺育児死亡	0	1 ^a	0
	体重	—	—	—	増加抑制傾向 ^b
	摂餌量	—	—	—	低値 ^b
	剖検	甲状腺の褐色化	0	0	13
	妊娠期間 (日)	22.20	22.20	22.26	22.35
F ₁ 児	着床痕数	14.95	13.70	15.32	13.90
	同腹児数	14.3	12.7	14.1	12.4
	妊娠率(%)	100.0	100.0	100.0	100.0
	出生児数	14.2	12.7	14.0	12.1
	性比	1.252	1.236	1.095	1.245
	死産率(%)	0.333	0.000	0.376	2.324
	4日生存率(%)	99.615	98.810	92.925*	98.498
	離乳率(%)	100.000	100.000	99.306	100.000

—：特記すべき所見なし、*：p<0.05、a：分娩後 1 日、b：妊娠 9～21 日

2.6.7.14.1 ラットの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（続き） 報告書番号： XXXXXXXXXX

投与量 (mg/kg/day)		0 (溶媒)	15	75	375
F ₁ 児	動物数	144	134	134	123
	死亡動物数	0	0	0	0
	体重 出生～離乳	—	—	—	雄：低値 ^a 、雌：増加抑制傾向 ^a
	離乳～剖検	—	—	—	—
	発育分化				
	切歯萌出	—	—	—	—
	耳介展開	—	—	—	—
	毛生	—	—	—	—
	眼瞼開裂	—	—	—	—
	包皮分離	—	—	—	—
	臍開口	—	—	—	—
	機能検査				
	正向反射	—	—	—	—
	同側屈筋反射	—	—	—	—
	視覚性踏み直り反射	—	—	—	—
	耳介反射	—	—	—	—
	剖検：腎盂拡張	0	0	0	雌 2
	運動協調性				
	Rotarod performance test	—	—	—	—
	学習能力				
	Water filled multiple T-maze	—	—	—	—
	情動性検査				
	Open field test	—	—	—	—
	生殖能力検査				
	交尾率 (%)	95.0	95.0	88.9	90.0
	授(受)胎率 (%)	100.0	78.9*	100.0	83.3
	交尾所要日数 (日)	4.1	4.1	4.3	2.8

—：特記すべき所見なし、*：p<0.05、a：生後 21 日

2.6.7.14.1 ラットの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（続き） 報告書番号： XXXXXXXXXX

投与量 (mg/kg/day)		0 (溶媒)	15	75	375
F ₁ 児	動物数	19	19	16	18
(親動物)	死亡動物数	0	0	0	0
	一般状態	—	—	—	—
	体重	—	—	—	—
剖検	腎盂拡張	雄 1、雌 1	0	0	0
	腎臓結石	雌 1	0	0	0
帝王切開時検査					
	黄体数	15.21	14.47	13.19*	14.47
	着床数	14.89	13.27	11.81**	13.53
	着床前死亡率 (%)	1.98	8.51	11.09	6.96
	着床後死亡率 (%)	6.79	3.69	7.14	10.36
	生存胚数	13.89	12.80	11.00**	12.07

—：特記すべき所見なし、*：p<0.05、**：p<0.01

2.6.7.15 新生児を用いた試験

2.6.7.15.1 幼若ラットの4週間反復経口投与毒性試験

報告書の題名：NPC-15の幼若ラットを用いた4週間反復経口投与毒性試験

被験物質：メラトニン

動物種/系統/性：Cr1:CD(SD)ラット

投与期間：4週間

試験番号：[REDACTED]

試験開始時週齢：1週齢

回復期間：なし

添付資料：4.2.3.5.4-1

初回投与年月：20[REDACTED]年[REDACTED]月

投与方法：経口投与

GLP適用：適

特記事項：なし

溶媒/投与形態：0.5%CMC-Na/懸濁

無毒性量：雌雄とも75 mg/kg/day

投与量(mg/kg/day)		0(溶媒)		15		75		375	
トキシコキネティクス	動物数	雄 32	雌 32	雄 32	雌 32	雄 32	雌 32	雄 32	雌 32
C _{max} (ng/mL)	1 日	BLQ	BLQ	4191	4792	25570	24450	122300	123900
	28 日	BLQ	BLQ	810.3	1118	8991	13680	12410	29940
T _{max} (h)	1 日	NC	NC	1.0	1.0	1.0	1.0	6.0	6.0
	28 日	NC	NC	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
AUC _{0-6h} (ng・h/mL)	1 日	NC	NC	12520	12350	116400	113700	556800	573400
	28 日	NC	NC	341.8	364.8	8360	11710	27230	70570
特記すべき所見	動物数	雄 12	雌 12	雄 12	雌 12	雄 12	雌 12	雄 12	雌 12
死亡及び屠殺動物数		0	0	0	0	1 ^a	0	6	3
一般状態	自発運動低下	—	—	—	—	—	—	12	12
	消瘦	—	—	—	—	—	—	4	4
	腹臥位	—	—	—	—	—	—	1	—
	緩徐呼吸	—	—	—	—	—	—	1	—
平均体重(g)	2 週	61	61	62	61	64	63	40**	33**
	4 週	165	143	158	142	159	141	122**	98**
発育分化検査(毛生、切歯萌出、四足歩行、眼瞼開裂、精巣下降)		—	—	—	—	—	—	—	—
感覚機能検査(視覚性踏み直り反射、耳介反射)		—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし、BLQ：定量限界未満(<0.04 ng/mL)、NC：算出不可、**：p<0.01、a：投与ミス

2.6.7.15.1 幼若ラットの4週間反復経口投与毒性試験(続き) 報告書番号: [REDACTED]

投与量(mg/kg/day)		0(溶媒)		15		75		375	
動物数		雄 12	雌 12	雄 12	雌 12	雄 11-12	雌 12	雄 5-6	雌 9
眼科学的検査	網膜壁	0	0	1	0	1	1	1	5
尿検査		—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査									
WBC($10^3/\mu\text{L}$)		—	5.915	—	5.689	—	5.026	—	3.222**
白血球分画	リンパ球(%)	—	88.03	—	87.85	—	87.33	—	82.49
	好塩基球(%)	—	0.43	—	0.43	—	0.43	—	0.28
大型非染色球($10^3/\mu\text{L}$)		—	0.074	—	0.073	—	0.063	—	0.037**
血液生化学的検査									
ALAT(U/L)		23.1	17.5	23.3	17.1	23.1	17.0	28.5**	22.1*
Gluc(mg/dL)		86.8	92.5	96.3	98.1	93.5	99.9	111.5*	115.3**
UN(mg/dL)		11.13	13.08	13.50*	14.35	11.64	14.34	15.57**	20.13**
A/G		1.370	1.513	1.456*	1.368*	1.419	1.345**	1.585**	1.637
α_1 グロブリン(g/dL)		0.797	0.769	0.786	0.808	0.767	0.801	0.656**	0.616**
α_2 グロブリン(g/dL)		0.319	—	0.313	—	0.311	—	0.270*	—
TP(g/dL)		—	4.80	—	4.75	—	4.78	—	4.56*
TG(mg/dL)		—	29.6	—	24.0	—	24.3	—	13.1**
剖検									
生存例:肝臓の黄色斑		0	0	0	0	0	0	0	1
死亡例:胸腺の小型化		NA	NA	NA	NA	1/1	NA	5/6	2/3
器官重量		—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査									
生存例:		—	—	—	—	—	—	—	—
死亡例:胸腺のリンパ球壊死		NA	NA	NA	NA	1/1	NA	4/6	1/3

— : 特記すべき所見なし、NA : 該当なし、* : $p<0.05$ 、** : $p<0.01$

2.6.7.16 局所刺激性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.17 その他の試験

2.6.7.17.1 ラット血漿ホルモンに対する影響

報告書の題名：NPC-15 のラット血漿ホルモンに対する影響

被験物質：メラトニン

動物種/系統/性：Cr1:CD(SD)ラット

投与期間：雄：14 日間、雌：21 日間*

試験番号：■■■■■

試験開始時週齢：10 週齢

休薬期間：雄：14 日間、雌：最大 17 日間*

添付資料：4.2.3.7-1

初回投与年月：20■■年■■月

投与方法：経口投与

GLP 適用：非

特記事項：なし

溶媒/投与形態：0.5%CMC-Na/懸濁

投与量(mg/kg/day)		0(溶媒)		15		75	
動物数		雄 8	雌 8	雄 8	雌 8	雄 8	雌 8
一般状態		—	—	—	—	—	—
体重		—	—	—	—	—	—
性周期検査	性周期 (日)	NA	4.000	NA	4.042	NA	4.167
	発情回数	NA	3.375	NA	3.625	NA	3.500
血漿中ホルモン濃度	TSH	—	—	—	—	—	—
	T3	—	—	—	—	—	—
	T4	—	—	—	—	—	—
	FSH	—	NE	—	NE	—	NE
	LH	—	NE	—	NE	—	NE
	プロラクチン	NE	—	NE	—	NE	—
	GH	NE	NE	NE	NE	NE	NE
	コルチコステロン	NE	—	NE	—	NE	—
テストステロン		—	NA	—	NA	—	NA

—：特記すべき所見なし、*：発情前期での採血を実施するため雄より投与期間が長い、NA：該当なし、NE：データのバラツキ大きく評価不能、回復期間中の検査値には特記すべき所見なし

2.6.7.17.2 不純物の変異原性評価

報告書の題名：NPC-15（メラトニン）の不純物8物質の in silico による変異原性評価

被験物質：メラトニン

試験	試験方法	特記すべき所見	GLP 適用	試験番号 添付資料
不純物の in silico による変異原性評価	in silico	NPC-15 の調査対象 8 物質のうち、 「警告構造なし」と判断されたが、 A* については「警告構造あり」と判断された。	非	4.2.3.7-2 (参考)

報告書の題名：医薬品中不純物の in silico による変異原性評価

被験物質：メラトニン

試験	試験方法	特記すべき所見	GLP 適用	試験番号 添付資料
不純物の in silico による変異原性評価	in silico	NPC-15 の調査対象 6 物質のうち、 「警告構造なし」と判断されたが、 B* については「警告構造あり」と判断された。	非	4.2.3.7-3 (参考)