2.6.7.8 *In Vitro* 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

報告書の題名：AJM300 の細菌を用いる復帰突然変異試験
試験の種類：細菌を用いる復帰突然変異試験
菌株：*S. typhimurium* 及び *E. coli*
代謝活性化系：PB と BF で誘導したラット肝 S9
媒体：
被験物質：DMSO
陽性対照：DMSO（AF-2、ICR-191、2AA 及び B[a]P）及び注射用水（NaN_3）
処理：プレインキュベーション法で 48 時間培養
細胞毒性：
・-S9mix 法の TA98、TA100、TA1535 及び TA1537 株において、78 μg/plate 以上で生育阻害。
・+S9mix 法の TA98、TA1535 及び TA1537 株において 1250 μg/plate 以上で、TA100 株において 313 μg/plate 以上で生育阻害。
遺伝毒性：なし

独立して実施した試験数：3
プレート数：2
分析細胞数／培養：-
処理年月：20[redacted] 年[redacted] 月

被験物質：AJM300
試験番号：[redacted]
CTD における記載場所：〔4.2.3.3.1-1〕
GLP 適用：適用

代謝活性化	被験物質	用量段階（μg/plate）	Assay 1（用量設定試験）復帰コロニー数（平均コロニー数/plate）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし（-S9mix 法）	DMSO	0	30	117	24	16	27
	AJM300	1.2	23	116	21	12	28
		4.9	28	115	17	15	35
		20	28	111	15	14	30
		78[a]	17[b]	118[b]	18[b]	17[b]	22
		313[a]	26[b]	117[b]	16[b]	16[b]	34
		1250[a]	24[b]	111[b]	17[b]	16[b]	31
		5000[a]	16[b]	106[b]	13[b]	14[b]	25
	AF-2	0.01	NC	585	NC	NC	145
		0.1	568	NC	NC	NC	NC
	NaN_3	0.5	NC	NC	442	NC	NC
	ICR-191	1.0	NC	NC	NC	1514	NC

PB：フェノバルビタール　BF：5,6-ベンゾフラボン　DMSO：ジメチルスルホキシド
AF-2：2-（2-Furyl）-3-（5-nitro-2-furyl）acrylamide　NaN_3：Sodium azide　ICR-191：2-Methoxy-6-chloro-9-[3-（2-chloroethyl）aminopropylamino]acridine･2HCl
2AA：2-Aminoanthracene　B[a]P：Benzo[a]pyrene　NC：実施せず
a：被験物質の沈殿あり
b：菌の生育阻害あり

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

被験物質：AJM300　　試験番号：[redacted]

代謝活性化	被験物質	用量段階（μg/plate）	Assay 1（用量設定試験）復帰コロニー数（平均コロニー数/plate）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化あり（+S9mix 法）	DMSO	0	36	127	14	28	36
	AJM300	1.2	33	108	15	30	35
		4.9	31	115	19	22	37
		20	34	116	26	29	34
		78	40	112	23	29	43
		313	39	112[b]	19	27	37
		1250[a]	49[b]	117[b]	13[b]	32[b]	38
		5000[a]	41[b]	130[b]	14[b]	26[b]	32
	2AA	2.0	NC	NC	360	NC	NC
		10.0	NC	NC	NC	NC	630
	B[a]P	5.0	242	862	NC	126	NC

DMSO：ジメチルスルホキシド　2AA：2-Aminoanthracene　B[a]P：Benzo[a]pyrene
NC：実施せず
a：被験物質の沈殿あり
b：菌の生育阻害あり

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

被験物質：AJM300　　試験番号：[redacted]

代謝活性化	被験物質	用量段階（μg/plate）	Assay 2（本試験、1 回目）復帰コロニー数（平均コロニー数/plate）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化なし（-S9mix 法）	DMSO	0	21	121	20	18	23
	AJM300	2.4	18	110	15	14	NC
		4.9	22	109	20	12	NC
		10	26	115	20	8	NC
		20	17	110	13	13	NC
		39	18[b]	103[b]	19[b]	15[b]	NC
		78[a]	20[b]	110[b]	13[b]	11[b]	NC
		313[a]	NC	NC	NC	NC	22
		625[a]	NC	NC	NC	NC	20
		1250[a]	NC	NC	NC	NC	17
		2500[a]	NC	NC	NC	NC	24
		5000[a]	NC	NC	NC	NC	21
	AF-2	0.01	NC	527	NC	NC	139
		0.1	573	NC	NC	NC	NC
	NaN_3	0.5	NC	NC	393	NC	NC
	ICR-191	1.0	NC	NC	NC	1437	NC

DMSO：ジメチルスルホキシド　AF-2：2-（2-Furyl）-3-（5-nitro-2-furyl）acrylamide
NaN_3：Sodium azide　ICR-191：2-Methoxy-6-chloro-9-[3-（2-chloroethyl）aminopropylamino]acridine･2HCl　NC：実施せず
a：被験物質の沈殿あり
b：菌の生育阻害あり

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

被験物質：AJM300　　試験番号：[redacted]

代謝活性化	被験物質	用量段階 (μg/plate)	Assay 2（本試験、1 回目） 復帰コロニー数（平均コロニー数/plate）				
			TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2*uvrA*
代謝活性化あり（+S9mix 法）	DMSO	0	41	113	13	21	35
	AJM300	10	NC	119	NC	NC	NC
		20	NC	125	NC	NC	NC
		39	30	118	13	27	NC
		78	32	104	12	24	NC
		156	38	115	17	18	NC
		313	37	125[b]	14	20	30
		625	39	NC	12	25	26
		1250[a]	27[b]	NC	12[b]	25[b]	36
		2500[a]	NC	NC	NC	NC	26
		5000[a]	NC	NC	NC	NC	22
	2AA	2.0	NC	NC	317	NC	NC
		10.0	NC	NC	NC	NC	753
	B[a]P	5.0	297	1010	NC	119	NC

DMSO：ジメチルスルホキシド　2AA：2-Aminoanthracene　B[a]P：Benzo[a]pyrene
NC：実施せず
a：被験物質の沈殿あり
b：菌の生育阻害あり

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験（続き）

被験物質：AJM300　　試験番号：[redacted]

代謝活性化	被験物質	用量段階（μg/plate）	Assay 3（本試験、2回目）復帰コロニー数（平均コロニー数/plate）			
			TA98	TA100	TA1535	TA1537
代謝活性化なし（-S9mix 法）	DMSO	0	17	122	20	11
	AJM300	2.4	22	110	14	10
		4.9	21	117	22	14
		10	23	119	21	7
		20	19	124	15	8
		39	19[b]	116[b]	24[b]	8[b]
		78[a]	18[b]	117[b]	19[b]	10[b]
	AF-2	0.01	NC	511	NC	NC
		0.1	563	NC	NC	NC
	NaN_3	0.5	NC	NC	439	NC
	ICR-191	1.0	NC	NC	NC	1513

DMSO：ジメチルスルホキシド　AF-2：2-（2-Furyl）-3-（5-nitro-2-furyl）acrylamide　NaN_3：Sodium azide
ICR-191：2-Methoxy-6-chloro-9-[3-（2-chloroethyl）aminopropylamino]acridine･2HCl
NC：実施せず
a：被験物質の沈殿あり
b：菌の生育阻害あり

2.6.7.8.2　ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

報告書の題名：AJM300 のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験
試験の種類：染色体異常試験
系統：CHL/IU 細胞
代謝活性化系：PB と BF で誘導したラット肝 S9
媒体：
被験物質：DMSO
陽性対照：生理食塩液（MMC 及び DMN）
独立して実施した試験数：2
プレート数：2
分析細胞数／培養：100
被験物質：AJM300
試験番号：[redacted]
CTD における記載場所：〔4.2.3.3.1-2〕
GLP 適用：適用
処理年月：20[redacted] 年[redacted]月

処理：
・短時間処理法では代謝活性化系非存在下（-S9mix 法）又は存在下（+S9mix 法）の条件で AJM300 を CHL/IU 細胞に 6 時間曝露させ、さらに 18 時間培養。
・連続処理法では-S9mix 法の条件で AJM300 を CHL/IU 細胞に 24 又は 48 時間曝露。

細胞毒性（50%細胞増殖抑制濃度）：
・短時間処理法（-S9 mix）　：0.078 mg/mL
・短時間処理法（+S9 mix）　：0.450 mg/mL
・連続処理 24h 法　：0.086 mg/mL
・連続処理 48h 法　：0.060 mg/mL

遺伝毒性：なし

代謝活性化	処理	被験物質	濃度（μg/mL）	細胞増殖率（陰性対照に対する%）	構造異常を有する細胞の出現頻度（%）	数的異常を有する細胞の出現頻度（%）
代謝活性化なし	短時間処理法（-S9mix 法）	無処理	-	-	0.0	0.0
		DMSO（陰性対照）	0	100	0.0	0.5
		AJM300	20	100	0.5	0.5
			40	94	0.0	0.5
			60	57	0.5	1.0
			80	44	0.0	1.5
			100	40	0.0	1.5
		MMC	0.05	100	18.0	0.5
代謝活性化あり	短時間処理法（+S9mix 法）	無処理	-	-	0.5	1.0
		DMSO（陰性対照）	0	100	0.5	0.0
		AJM300	75	102	0.0	0.5
			150	98	1.0	1.5
			300[a]	86	0.0	0.0
			450[a]	58	0.5	0.0
			600[a]	43	1.5	0.5
		DMN	0.4（mg/mL）	100	33.0	0.0

CHL/IU 細胞：チャイニーズ・ハムスター肺由来線維芽細胞PB：フェノバルビタール　BF：5,6-ベンゾフラボン
DMSO：ジメチルスルホキシド　MMC：マイトマイシン C　DMN：N-ニトロソジメチルアミン　a：被験物質の沈殿あり

2.6.7.8.2 ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験（続き）

被験物質：AJM300　　試験番号：[redacted]

代謝活性化	処理	被験物質	濃度（μg/mL）	細胞増殖率（陰性対照に対する%）	構造異常を有する細胞の出現頻度（%）	数的異常を有する細胞の出現頻度（%）
代謝活性化なし	連続処理法（24 時間処理）	無処理	-	-	0.5	0.5
		DMSO（陰性対照）	0	100	0.0	0.0
		AJM300	30	81	0.0	0.0
			60	54	0.0	1.5
			90	47[a]	0.5	1.0
			120	52[a]	2.5	2.5[b]
		MMC	0.05	109	36.5	0.5
代謝活性化なし	連続処理法（48 時間処理）	無処理	-	-	0.5	0.0
		DMSO（陰性対照）	0	100	0.0	0.0
		AJM300	20	78	0.0	0.0
			40	71	0.0	0.0
			60	47	0.0	0.0
			80	35[a]	0.0	1.0
		MMC	0.05	104	54.5	0.0

DMSO：ジメチルスルホキシド
MMC：マイトマイシン C
a：被験物質の付着あり
b：細胞毒性のためシャーレ当たり 50 個以上の分裂中期像が得られなかった

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：AJM300M1 製剤のラットを用いる小核試験
試験の種類：骨髄細胞における小核試験
動物種／系統：CD（SD）ラット
投与時週齢：7 週齢
評価した細胞：幼若赤血球（IMEs）
分析細胞数／動物：1000 または 2000
処理計画：2 日間投与（1 日 1 回）
計測時間：最終投与の 24 時間後
投与方法：強制経口
媒体／投与形態：注射用水、懸濁液
被験物質：AJM300M1 製剤
試験番号：[redacted]
CTD における記載場所：〔4.2.3.3.2-1〕
GLP 適用：適用
投与年月：20[redacted] 年[redacted]月
特記事項：
・技術的に投与可能な最大容量である 10 mL/kg と調製可能な最大濃度（30 mg/mL）から 300 mg/kg/日を高用量とし、以下 150 及び 75 mg/kg/日を設定した。
毒性/細胞毒性：なし
遺伝毒性：なし

被験物質	投与量[a]（mg/kg/日）	動物数/性別	IMEs/（IMEs+MEs）[b]（%）	MNIMEs[c] 数	MNIMEs[d]（%）
プラセボ[e]（陰性対照）	0	5M	54.2	16	0.16
AJM300M1 製剤	75	5M	53.8	10	0.10
	150	5M	54.2	9	0.09
	300	5M	52.8	15	0.15
CP[f]（陽性対照）	10	5M	48.3**	301##	3.01

IMEs：Immature erythrocytes
MEs：Matured erythrocytes
MNIMEs：Micronucleated immature erythrocytes
**：p＜0.01（陰性対照群 vs.被験物質投与群及び陽性対照群；Student の t 検定）
##：p＜0.01（陰性対照群 vs.被験物質投与群及び陽性対照群；Kastenbaum と Bowman の統計学的方法）
a：AJM300 換算
b：全赤血球（IMEs+MEs）5000 個中（1000 個×5 例／群）の幼若赤血球（IMEs）の割合
c：幼若赤血球（IMEs）10000 個中（2000 個×5 例／群）の小核を有する幼若赤血球（MNIMEs）の数
d：幼若赤血球（IMEs）10000 個中（2000 個×5 例／群）の小核を有する幼若赤血球（MNIMEs）の割合
e：300 mg/kg 群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを注射用水に懸濁させた液を投与した
f：シクロフォスファミド（CP）を 10 mL/kg の容量で腹腔内に 1 回投与し，投与の 24 時間後に骨髄細胞を採取した

2.6.7.9.2　ラット小核試験（高用量）

報告書の題名：Micronucleus test of AJM300M1 preparation in rats
試験の種類：骨髄細胞における小核試験
動物種／系統：CD（SD）ラット
投与時週齢：7 週齢
評価した細胞：幼若赤血球（IMEs）
分析細胞数／動物：1000 または 2000
処理計画：2 日間投与（1 日 1 回または 2 回）
計測時間：最終投与の 24 時間後
投与方法：強制経口
媒体／投与形態：注射用水、懸濁液
被験物質：AJM300M1 製剤
試験番号：[redacted]
CTD における記載場所：〔4.2.3.3.2-2〕
GLP 適用：適用
投与年月：20[redacted] 年[redacted] 月
特記事項：
・25 mg/mL の濃度の投与液を、1 回の投与で許容されている最大容量（40 mL/kg、空腹下）投与する 1000 mg/kg を中用量とし、以下同じ濃度の投与液を 20 mL/kg の容量で投与する 500 mg/kg を低用量に設定した。また、1000 mg/kg の投与 4 時間後にもう一度 1000 mg/kg を投与する 2000 mg/kg を高用量に設定した。
毒性/細胞毒性：なし
遺伝毒性：なし

被験物質	投与量[a]（mg/kg/日）	動物数/性別	IMEs/（IMEs+MEs）[b]（%）	MNIMEs[c]数	MNIMEs[d]（%）
プラセボ[e]（陰性対照）	0（0×2 回）	5M	54.2	10	0.10
AJM300M1 製剤	500	5M	55.0	9	0.09
	1000	5M	52.6	16	0.16
	2000（1000×2 回）	5M	48.9	6	0.06
CP[f]（陽性対照）	20	5M	31.7**	589##	5.89

IMEs：Immature erythrocytes
MEs：Matured erythrocytes
MNIMEs：Micronucleated immature erythrocytes
**：p＜0.01（陰性対照群 vs.被験物質投与群及び陽性対照群；Student の t 検定）
##：p＜0.01（陰性対照群 vs.被験物質投与群及び陽性対照群；Kastenbaum と Bowman の統計学的方法）
a：AJM300 換算
b：全赤血球（IMEs+MEs）5000 個中（1000 個×5 例／群）の幼若赤血球（IMEs）の割合
c：幼若赤血球（IMEs）10000 個中（2000 個×5 例／群）の小核を有する幼若赤血球（MNIMEs）の数
d：幼若赤血球（IMEs）10000 個中（2000 個×5 例／群）の小核を有する幼若赤血球（MNIMEs）の割合
e：1000 mg/kg 群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを注射用水に懸濁させた液を 4 時間の間隔で 1 日 2 回，2 日間投与した
f：シクロフォスファミド（CP）を 10 mL/kg の容量で 1 日 1 回、2 日間投与した

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.1 マウスを用いたがん原性試験

報告書の題名：AJM300M1 製剤のマウスを用いた強制経口投与によるがん原性試験　　被験物質：AJM300M1 製剤

動物種／系統：B6C3F$_1$ マウス　　投与期間：24 ヵ月間（104 週間）　　試験番号：[redacted]

投与開始週齢：6 週齢　　投与方法：強制経口　　CTD における記載場所：〔4.2.3.4.1-2〕

投与開始日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日　　媒体／投与形態：注射用水、懸濁液　　GLP 適用：適用

高用量の設定根拠：反復投与可能な最大投与容量（10 mL/kg）及び調製可能な最大濃度（30 mg/mL）から、投与可能な最大量である 300 mg/kg/日を高用量とした。

特記事項：TK サンプルは TK サテライト群を設定し、AJM300 の各用量 80 例／性より採取した。

投与量[a]（mg/kg/日）	0[b]（対照）		30		100		300		プラセボ[c]	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
トキシコキネティクス										
C_{max}（ng/mL）										
AJM300										
初回	NC	NC	298	445	999	1142	1298	1614	NC	NC
6 ヵ月	NC	NC	293	410	648	951	1274	1473	NC	NC
12 ヵ月	NC	NC	185	616	769	1084	1234	1894	NC	NC
HCA2969										
初回	NC	NC	5205	5850	11220	11921	18059	21734	NC	NC
6 ヵ月	NC	NC	4264	6390	8337	11570	14199	19792	NC	NC
12 ヵ月	NC	NC	3908	9403	16102	15015	18072	23353	NC	NC
$AUC_{0\text{-}24h}$（ng･h/mL）										
AJM300										
初回	NC	NC	262	417	1152	1870	2497	4446	NC	NC
6 ヵ月	NC	NC	347	620	1227	1850	3017	6849	NC	NC
12 ヵ月	NC	NC	201	463	833	1647	2024	4279	NC	NC
HCA2969										
初回	NC	NC	5972	8538	17463	29271	39452	70272	NC	NC
6 ヵ月	NC	NC	5689	10289	15065	25498	39462	75549	NC	NC
12 ヵ月	NC	NC	5580	10747	22424	27727	40735	79929	NC	NC

NC：実施せず

a：AJM300 換算

b：注射用水を投与した

c：300 mg/kg 群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを注射用水に懸濁させた液を投与した

2.6.7.10.1 マウスを用いたがん原性試験（続き）

被験物質：AJM300M1 製剤　　試験番号：[redacted]

投与量[a]（mg/kg/日）		0[b]（対照）		30		100		300		プラセボ[c]	
性別		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
動物数											
開始時		55	55	55	55	55	55	55	55	55	55
死亡及び途中解剖動物数		19	20	10	24	20	19	28	23	18	18
最終剖検例数		36	35	45	31	35	36	27	32	37	37
特記すべき所見											
生存率（%）		65.5	63.6	81.8$^{\&}$	56.4	63.6	65.5	49.1$^{\$}$	58.2	67.3	67.3
一般症状		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
体重（g）	第 26 週	35.9	29.7	35.5	30.0$^{\#D}$	35.1	29.3	34.9	29.1	35.1	29.0
	第 52 週	41.4	35.1	41.6	36.0$^{\#D}$	40.8	35.2	40.1	34.9	41.4	34.2
	第 104 週	39.5	36.0	38.6	35.1	37.2	35.3	39.0	35.1	38.0	36.0
摂餌量（g）	第 26 週	4.8	4.8	4.6$^{**\#\#D}$	4.8$^{\#\#D}$	4.7	4.8$^{\#\#D}$	4.8	4.7	4.8	4.6
	第 52 週	5.3	5.3	5.3	5.4	5.3	5.2	5.3	5.3	5.2	5.1
	第 104 週	5.3	6.1	5.3	5.9	5.5	5.7	5.2	5.6	5.3	5.8
血液学的検査											
評価動物数		36	35	45	31	35	36	27	32	37	37
白血球数（$\times 10^2/\mu L$）		47	40	60	63$^{**\#ST}$	65	45	318[d]	68^{*ST}	55	71
血小板数（$\times 10^4/\mu L$）		149.4	92.4	143.9$^{\#D}$	109.3	145.5	94.9	140.0$^{\#D}$	108.0	163.4	97.6
解剖検査		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査（非腫瘍性病変）		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-：特記すべき所見なし
*：$p<0.05$、**：$p<0.01$（対照群 vs.被験物質投与群、D：Dunnett's test、ST：Steel's test）
$^{\#}$：$p<0.05$、$^{\#\#}$：$p<0.01$（プラセボ群 vs.被験物質投与群、D：Dunnett's test、ST：Steel's test）
$^{\&}$：$p<0.05$（対照群 vs.被験物質投与群；Log-rank 検定）
$^{\$}$：$p<0.05$（プラセボ群 vs.被験物質投与群；Log-rank 検定）
a：AJM300 換算
b：注射用水を投与した
c：300 mg/kg 群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを注射用水に懸濁させた液を投与した
d：悪性リンパ腫を呈した 1 例の高値を反映（白血球数：$6990\times 10^2/\mu L$）

2.6.7.10.1　　マウスを用いたがん原性試験（続き）

被験物質：AJM300M1 製剤　　試験番号：[redacted]

投与量[a]（mg/kg/日）		0[b]（対照）		30		100		300		プラセボ[c]	
評価動物数		M：55	F：55	M：55	F：55	M：55	F：55	M：55	F：55	M：55	F：55
すべての腫瘍病変											
腹腔	血管肉腫	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
胸腔	線維肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	血管肉腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
副腎	皮質腺腫	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	被膜下細胞腺腫	0	3	1	0	0	0	0	1	2	0
	褐色細胞腫（良性）	0	0	0	1	1	0	0	1	0	2
	褐色細胞腫（悪性）	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
骨/骨髄（大腿骨）	血管腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	血管肉腫	1	0	1	0	0	2	2	1	2	0
	骨肉腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
骨/骨髄（胸骨）	血管肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
血液リンパ網内系	リンパ腫（悪性）	16	26	10	15	7	17	8	15	6	21
	組織球性肉腫	5	4	1	7	4	8	4	6	1	6
ハーダー氏腺	腺腫	4	3	4	5	7	3	5	3	5	7
	腺癌	0	1	0	3[&]	1	0	0	3[&]	0	0
後肢	肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
心臓	血管肉腫	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0
	肉腫 NOS	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
十二指腸	腺腫	1	1	0	1	1	0	0	1	2	0
空腸	腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	腺癌	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腎臓	尿細管腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	血管肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0

[&]：$p < 0.05$（プラセボ群と比べて有意差あり、致死性+偶発 Peto 検定法）

a：AJM300 換算

b：注射用水を投与した

c：300 mg/kg 群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを注射用水に懸濁させた液を投与した

2.6.7.10.1　　マウスを用いたがん原性試験（続き）

被験物質：AJM300M1 製剤　　試験番号：[redacted]

投与量[a]（mg/kg/日）		0[b]（対照）		30		100		300		プラセボ[c]	
評価動物数		M：55	F：55	M：55	F：55	M：55	F：55	M：55	F：55	M：55	F：55
すべての腫瘍病変（続き）											
リンパ節、NOS	血管肉腫	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
腸間膜リンパ節	血管肉腫	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0
肝臓	肝細胞腺腫	10	4	23*	3	11	2	12	3	14	2
	血管腫	3	0	0	2	1	0	3	1	0¥	0
	胆管細胞癌	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	肝細胞癌	11	3	6	7	11	3	8	6	15	5
	血管肉腫	5	2	3	6	3	2	7	2	4	1
肺	細気管支/肺胞上皮腺腫	3	5	9	1	2	3	0	2	6	2
	気管支癌	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	細気管支/肺胞上皮腺癌	5	0	4	2	6	3	2	0	3	1
	血管肉腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	骨肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
乳腺	腺癌		0		1		2		0		1
卵巣	嚢胞状腺腫		2		1		1		1		0
	顆粒膜/莢膜細胞腫（良性）		0		0		0		0		1
	血管腫		0		1		1		0		0
	奇形腫（良性）		0$		0		0		2		0#
上皮小体	癌	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
膵臓	島細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
	島細胞癌	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	肉腫 NOS	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
下垂体	腺腫/前葉	0	1	0	2	0	4	0	4	0	1
	腺腫/中間葉	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
耳介	無色素性黒色腫	0	0	3	0	0	0	1	0	0	0

*：p＜0.01（対照群と比べて有意差あり、Fisher 直接確率計算法）
¥：p＜0.005（傾向検定；プラセボ群と比べて有意差あり、致死性+偶発 Peto 検定法）
#：p＜0.025（傾向検定；プラセボ群と比べて有意差あり、致死性+偶発 Peto 検定法）
$：p＜0.025（傾向検定；対照群と比べて有意差あり、致死性+偶発 Peto 検定法）
a：AJM300 換算
b：注射用水を投与した
c：300 mg/kg 群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを注射用水に懸濁させた液を投与した

2.6.7.10.1 マウスを用いたがん原性試験（続き）

被験物質：AJM300M1 製剤　　試験番号：[redacted]

投与量[a]（mg/kg/日）		0[b]（対照）		30		100		300		プラセボ[c]	
評価動物数		M：55	F：55	M：55	F：55	M：55	F：55	M：55	F：55	M：55	F：55
すべての腫瘍病変（続き）											
皮膚/皮下組織	血管腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	扁平上皮乳頭腫	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	線維肉腫	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	血管肉腫	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0
	横紋筋肉腫	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	肉腫 NOS	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
	神経鞘腫（悪性）	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
脾臓	血管腫	2	0	0	0	0	1	0	0	1	0
	血管肉腫	2	2	2	1	3	4	2	1	2	2
胃	腺腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	扁平上皮乳頭腫	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
	平滑筋肉腫	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
尾	平滑筋肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
胸腺	胸腺腫（良性）	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	胸腺腫（悪性）	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
甲状腺	濾胞上皮細胞腺腫	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0
	濾胞上皮細胞癌	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
傍胱	血管腫	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
子宮	血管腫		0		0		0		1		0
	子宮内膜間質ポリープ		0		2		1		0		0
	平滑筋肉腫		0		0		1		0		0
膣	血管腫		1		0		0		0		0
	膣間質ポリープ		1		0		0		0		0
脊椎骨	血管肉腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
血管系	血管腫	5	1	0	3	2	1	3	3	2	1
	血管肉腫	6	3	3	6	6	6	9	4	6	3

a：AJM300 換算
b：注射用水を投与した
c：300 mg/kg 群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを注射用水に懸濁させた液を投与した

2.6.7.10.2 ラットを用いたがん原性試験

報告書の題名：AJM300M1 製剤のラットを用いた強制経口投与によるがん原性試験　　被験物質：AJM300M1 製剤
動物種／系統：CD（SD）ラット　　投与期間：24 ヵ月間（104 週間）　　試験番号：[redacted]
投与開始週齢：6 週齢　　投与方法：強制経口　　CTD における記載場所：〔4.2.3.4.1-4〕
投与開始日：20[redacted]年[redacted]月[redacted]日　　媒体／投与形態：注射用水、懸濁液　　GLP 適用：適用
高用量の設定根拠：反復投与可能な最大投与容量（10 mL/kg）及び調製可能な最大濃度（30 mg/mL）から、投与可能な最大量である 300 mg/kg/日を高用量とした。
特記事項：
・TK サンプルは TK サテライト群を設定し、AJM300 の各用量 4 例／性より採取した。
・雄は 104 週間投与したが、雌の低用量群で生存率が低下したため、雌については 102 週の投与後に全生存動物を解剖検査し、動物試験を終了した。

投与量[a]（mg/kg/日）	0[b]（対照）		30		100		300		プラセボ[c]	
性別	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
トキシコキネティクス										
C_{max}（ng/mL）										
AJM300										
初回	NC	NC	60	115	149	118	369	503	NC	NC
6 ヵ月	NC	NC	282	376	195	849	531	1106	NC	NC
12 ヵ月	NC	NC	208	515	180	806	170	1351	NC	NC
HCA2969										
初回	NC	NC	935	1388	2567	1691	4667	6199	NC	NC
6 ヵ月	NC	NC	5272	3124	3744	6916	6441	8984	NC	NC
12 ヵ月	NC	NC	5185	4945	4265	6762	5836	10760	NC	NC
$AUC_{0\text{-}24h}$（ng･h/mL）										
AJM300										
初回	NC	NC	307	307	827	459	1881	2848	NC	NC
6 ヵ月	NC	NC	755	759	590	1996	1937	5163	NC	NC
12 ヵ月	NC	NC	767	1666	982	2366	1130	6355	NC	NC
HCA2969										
初回	NC	NC	6293	4245	18986	6974	36576	43598	NC	NC
6 ヵ月	NC	NC	19721	7906	19231	27552	49893	60498	NC	NC
12 ヵ月	NC	NC	21594	16634	30414	35576	50645	72284	NC	NC

NC：実施せず
a：AJM300 換算
b：注射用水を投与した
c：300 mg/kg 群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを注射用水に懸濁させた液を投与した

2.6.7.10.2 ラットを用いたがん原性試験（続き）

被験物質：AJM300M1 製剤　　試験番号：[redacted]

投与量[a]（mg/kg/日）		0[b]（対照）		30		100		300		プラセボ[c]	
性別		M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
動物数											
開始時		60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
死亡及び途中解剖動物数		34	34	26	43	32	45	37	37	29	36
最終剖検例数		26	26	34	17	28	15	23	23	31	24
特記すべき所見											
生存率（%）		43.3	43.3	56.7	28.3	46.7	25.0*	38.3	38.3	51.7	40.0
一般症状		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
体重（g）	第 26 週	647	331	661	326	641	332	642	327	651	334
	第 52 週	759	418	779	409	745	422	746	421	751	419
	第 104 週（♂）、第 102 週（♀）	816	520	859	539	796	495	808	572	796	552
摂餌量（g）	第 26 週	29	20	30	20	29	20	29	20	29	20
	第 52 週	30	22	29	21	29	22	29	22	30	22
	第 104 週（♂）、第 102 週（♀）	29	23	32	25	31	23	31	26	32	26
血液学的検査		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
解剖検査		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査（非腫瘍性病変）											
脾臓：辺縁帯細胞数減少	（軽微）	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
	（軽度）	5	3	37	13	33	25	36	34	3	4
	（中等度）	2	1	8	6	14	6	22	5	3	0
脾臓：白脾髄細胞成分増加[d]	（軽微）	0	0	17	2	18	5	21	8	0	0
	（軽度）	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0

-：特記すべき所見なし
*：$p < 0.05$（対照群 vs.被験物質投与群；Log-rank 検定）
a：AJM300 換算
b：注射用水を投与した
c：300 mg/kg 群と同じ量のメチルセルロース及びクロスカルメロースナトリウムを注射用水に懸濁させた液を投与した
d：辺縁帯を除く細胞成分の増加