ロゼックスゲル0.75%

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

マルホ株式会社

略号一覧

略号	省略していない表現
ASg	Type A Spermatogonia： A型精原細胞
CHO細胞	Chinese hamster ovary derived cell line：チャイニーズハムスター卵巣由来細胞
FSH	Follicle-Stimulating Hormone：卵胞刺激ホルモン
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
HGPRT	ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ
IARC	International Agency for Research on Cancer：国際がん研究機関
LH	Luteinizing hormone：黄体形成ホルモン
MF	Mutant Frequency：突然変異頻度
PBRER	定期的ベネフィット・リスク評価報告
pLSc	Preleptotene Spermatocytes：プレレプトテン精母細胞
7Sd	Step 7 Spermatids：ステップ7精子細胞

目次

頁
2.6.6 毒性試験の概要文 5
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.1.1 単回投与毒性試験 6
2.6.6.1.2 反復投与毒性試験 6
2.6.6.1.3 遺伝毒性試験 6
2.6.6.1.4 がん原性試験 6
2.6.6.1.5 生殖発生毒性試験 6
2.6.6.1.6 新生児を用いた試験 7
2.6.6.1.7 局所刺激性試験 7
2.6.6.1.8 その他の毒性試験 7
2.6.6.2 単回投与毒性試験 7
2.6.6.3 反復投与毒性試験 7
2.6.6.4 遺伝毒性試験 7
2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（1） 7
2.6.6.4.2 細菌を用いた復帰突然変異試験（2） 8
2.6.6.4.3 細胞を用いた遺伝子突然変異試験 8
2.6.6.4.4 ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 9
2.6.6.4.5 マウスを用いた骨髄小核試験 9
2.6.6.4.6 Muta^{TM}マウスを用いた遺伝子突然変異試験 9
2.6.6.5 がん原性試験 10
2.6.6.5.1 マウス経口投与がん原性試験（1） 10
2.6.6.5.2 マウス経口投与がん原性試験（2） 10
2.6.6.5.3 マウス経口投与がん原性試験（3） 11
2.6.6.5.4 ラット経口投与がん原性試験（1） 11
2.6.6.5.5 ラット経口投与がん原性試験（2） 12
2.6.6.5.6 ラット経口投与がん原性試験（3） 12
2.6.6.5.7 ラット経口投与がん原性試験（4） 13
2.6.6.5.8 ハムスター経口投与がん原性試験 13
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 マウス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 14
2.6.6.6.1.2 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（1） 14
2.6.6.6.1.3 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（2） 15
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 15
2.6.6.6.2.1 マウスを用いた経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（1）

..... 15
2.6.6.6.2.2 マウスを用いた経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（2）
..... 15
2.6.6.6.2.3 ラットを用いた経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験 16
2.6.6.6.2.4 ウサギを用いた経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験 16
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 16
2.6.6.7 新生児を用いた試験 16
2.6.6.8 局所刺激性試験 16
2.6.6.9 その他の毒性試験 16
2.6.6.10 考察及び結論 17
2.6.6.11 図表 18
2.6.6.12 参考文献 18

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

ロゼックスゲル0.75%（以下、本剤）は、Galderma S.A.が開発したメトロニダゾールを含有するゲル剤であり、国内では、ガルデルマ株式会社が「がん性皮膚潰瘍部位の殺菌・臭気の軽減」の効能・効果で、2014年12月に本剤の製造販売承認を取得している。外国では、1988年に米国で酒さに対する効能・効果で承認されて以降、世界60以上の国又は地域で承認取得、販売されている（販売名：Rozex®、Metrogel®等）。

本剤の有効成分であるメトロニダゾールは、国内において、嫌気性菌感染症等に対する治療薬として内服錠、膣錠及び注射剤の剤型で既に50年以上広範に臨床使用されてきた実績のある医薬品であり、安全性プロファイルはよく知られている。毒性試験に関して、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、局所刺激性試験、その他の安全性試験（皮膚感作性試験）は、がん性皮膚潰瘍部位の殺菌・臭気の軽減を適応とした製造販売承認申請時に提出した資料で評価済みであり、本申請では、先の申請時に提出していないGalderma S.A.が実施した遺伝毒性試験に関する新たな評価資料を提出したほか、一部の遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験及びがん原性試験は公表論文を参考資料とした。

本申請で提出する毒性試験を表 2.6.6-1に示した。Galderma S.A.で実施されたすべての試験は、GLPを遵守して実施した。

表 2.6.6-1 メトロニダゾールの毒性試験一覧

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	試験分類	GLP適用	評価／参考
遺伝毒性試験					
細菌を用いた復帰突然変異試験（1）	*In vitro*	ネズミチフス菌	公表論文	不適	参考
細菌を用いた復帰突然変異試験（2）	*In vitro*	ネズミチフス菌	公表論文	不適	参考
細胞を用いた遺伝子突然変異試験	*In vitro*	チャイニーズハムスターV79肺細胞	公表論文	不適	参考
*In vitro*染色体異常試験	*In vitro*	ヒトリンパ球	最終報告書	適	評価
骨髄小核試験	腹腔内/経口	マウス	最終報告書	適	評価
*In vivo*遺伝子突然変異試験	経口	Muta™マウス	最終報告書	適	評価
がん原性試験					
生涯	経口（混餌）	マウス	公表論文	不適	参考
78又は92週間	経口（混餌）	マウス	公表論文	不適	参考
100日間	経口	マウス	公表論文	不適	参考
75週間	経口（混餌）	ラット	公表論文	不適	参考
80週間	経口（混餌）	ラット	公表論文	不適	参考
生涯	経口（混餌）	ラット	公表論文	不適	参考
100日間	経口	ラット	公表論文	不適	参考
生涯	経口（混餌）	ハムスター	公表論文	不適	参考
生殖発生毒性試験					
受胎能及び初期胚発生	経口	マウス	公表論文	不適	参考
	経口（混餌）	ラット	公表論文	不適	参考
	経口	ラット	公表論文	不適	参考
胚・胎児発生	経口	マウス	公表論文	不適	参考

試験の種類及び期間	投与経路	動物種	試験分類	GLP適用	評価／参考
胚・胎児発生	経口（混餌） 経口	ラット ウサギ	公表論文 公表論文	不適 不適	参考 参考

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.1.3 遺伝毒性試験

メトロニダゾールの細菌を用いた復帰突然変異試験（Ames試験）では陽性であったが、陽性を示した菌株のニトロレダクターゼ欠損株では、復帰突然変異コロニーの減少が確認された。培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験（HGPRT試験）及びトランスジェニック動物（Muta™マウス）を用いた遺伝子突然変異試験では、陰性の結果を得ている。以上のことから、メトロニダゾールにおけるAmes試験の陽性は、主に菌株特有のニトロ基還元酵素（ニトロレダクターゼ）によって、メトロニダゾールが還元されたことで突然変異を誘発した（陽性）ものであると考えられ、哺乳類ではニトロレダクターゼの活性が低いことが知られており[1)]、*in vitro*及び*in vivo*における哺乳類細胞での陰性の結果から、ヒトで遺伝子突然変異は誘発されないものと考えられた。

メトロニダゾールの培養細胞を用いた染色体異常試験及びマウス骨髄小核試験では、陰性の結果を得ている。

以上のことから、メトロニダゾールは、生体にて遺伝毒性を誘発しないものと考えられた。

2.6.6.1.4 がん原性試験

メトロニダゾールの経口投与によるがん原性試験が3種のげっ歯類（マウス、ラット及びハムスター）で実施され、マウス及びラットでは陽性、ハムスターでは陰性であった。国際がん研究機関（IARC）では、メトロニダゾールはヒトに対する発がん性が疑われる物質（IARCグループ2B）に分類されており、実験動物の経口投与における発がん性は陽性であると考えられる。

本剤の経皮投与によるがん原性試験は実施されていないが、本剤は1988年より約30年にわたる長年の臨床使用実績があり、定期的ベネフィット・リスク評価報告（PBRER）における腫瘍発生に関する副作用報告は、医薬品の発がんに対する生涯許容リスクレベル（10万分の1）よりも明らかに低いものとなっている。また、ヒトにおける発がん性を明確に示すデータや疫学的な証拠は報告されていない[2)]。

以上のことから、本剤の経皮投与による発がん性評価は実施していないが、これまでの臨床使用実績から、ヒトの経皮投与による腫瘍発生のリスクは低いものと考えられた。

2.6.6.1.5 生殖発生毒性試験

マウス及びラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する影響の報告、マウス、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する影響の報告がある。なお、出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する影響の報告はなかった。

雄性マウスを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、マウスでは

500 mg/kgの経口投与による精巣、精巣上体及び雄性生殖器（精嚢及び前立腺）の重量の減少、精子運動能及びテストステロン濃度の低下が認められている。ラットでは、マウスと同様に100 mg/kgより精巣の病理組織学的検査で精子及び精子細胞の退行性断片化が認められているが、休薬により回復性が確認されている。また、200及び400 mg/kgを投与した際、精子形成と性ホルモンへの影響が認められている。

胚・胎児発生に関する試験において、マウス、ラット及びウサギの経口投与で胚・胎児への影響は認められず、催奇形性も認められなかった。

以上のことから、マウス及びラットで精巣への影響が認められているものの、既承認の申請で提出したウサギ及びミニブタを用いた反復経皮投与では精巣への影響は認められていない。また、本剤の開発において、酒さ患者に本剤の単回経皮投与あるいはメトロニダゾール溶液を単回経口投与した臨床薬理試験（1.CG.03.SUM.0442試験）が実施されており、経皮投与による全身曝露量は、経口投与による全身曝露量よりも十分に低いことが示されている。

以上のことから、本剤の経皮投与による生殖発生毒性のリスクは低いものと考えられた。

2.6.6.1.6 新生児を用いた試験

該当資料なし。

2.6.6.1.7 局所刺激性試験

該当資料なし。

2.6.6.1.8 その他の毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

該当資料なし。

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（1）

[4.2.3.3.1-1（参考資料）、Cantelli-Forti et al 1983]

(1) 試験方法

ネズミチフス菌（TA1535、TA100、TA1537、TA1538及びTA98）を用いて、メトロニダゾールの遺伝子突然変異誘発性について代謝活性化を伴わない条件下で検討した。

(2) 試験結果

TA1535及びTA100にて復帰突然変異コロニー数の増加を示し、200 µg/plateでは対照群と比較して、それぞれ2.57倍及び12.7倍であった。その他の菌株では用量依存性のある復帰突然変異コロニー数の増加を示さなかった。以上のことから、メトロニダゾールは塩基対置換型の突然変異誘発性を有するものと考えられた。

表 2.6.6-2 復帰突然変異試験におけるメトロニダゾールの作用

Metronidazole concentration	Fold increase in spontaneous revertants/DMSO control				
μg/plate	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
25	1.21	1.38	1.08	0.96	1.36
50	1.64	1.47	1.32	1.15	2.10
100	2.08	4.00	1.60	1.12	1.14
200	2.57	12.70	1.34	1.37	1.24

2.6.6.4.2 細菌を用いた復帰突然変異試験（2）

[4.2.3.3.1-2（参考資料）、Dayan et al 1982]

(1) 試験方法

メトロニダゾールのTA100に対する遺伝子突然変異誘発性について、ニトロレダクターゼ酵素活性への影響を検討した。野生株であるTA100及びTA100のニトロレダクターゼ欠損株であるTA100 Fr_1に対して、代謝活性化の有無で試験を実施した。

(2) 試験結果

TA100で認められた復帰突然変異コロニー数の増加は、TA100のニトロレダクターゼ欠損株であるTA100 Fr_1で減少していた。以上のことから、細菌におけるメトロニダゾールの突然変異誘発性は、メトロニダゾールのニトロ還元に関係しているものと考えられた。

表 2.6.6-3 復帰突然変異試験におけるメトロニダゾールの作用

Concentrations (μg/plate)	0	1	5	10	25	50	250	500	800	1000
Strain and metabolic condition	Number of total revertants after removal of spontaneous revertant									
TA100 (-S9)	0	11	31	50	112	373	1840	3840	8000	10^4
TA100 (+S9)	0	11	78	76	75	210	1800	4000	8000	10^4
TA100 Fr_1 (-S9)	0	1	2	2	3	2	0	190	390	410
TA100 Fr_1 (+S9)	0	2	2	3	3	23	160	100	260	440
Fold reduction (-S9)[(a)]	0	11	15.5	25	37	186.5	NA	20	20.5	24.4
Fold reduction (+S9) [(a)]	0	5.5	39	25.3	25	9.1	11.3	40	30.8	22.7

(a) Fold reduction calculated as ratio TA-100 wild type/ TA-100 Fr_1 (nitroreductase-deficient)
NA：Not available

2.6.6.4.3 細胞を用いた遺伝子突然変異試験

[4.2.3.3.1-2（参考資料）、Dayan et al 1982]

(1) 試験方法

チャイニーズハムスターV79肺細胞において、6-チオグアニン及びウアバイン耐性を誘導するHGPRT及びNa/K^+ ATPase遺伝子座の遺伝子変異を検討した。

(2) 試験結果

代謝活性化の有無にかかわらず、メトロニダゾールの突然変異誘発性は認められなかった。

2.6.6.4.4 ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

[4.2.3.3.1-3（評価資料）、報告書番号 [redacted]

(1) 試験方法

ヒト末梢血リンパ球を用いて、メトロニダゾールの染色体異常誘発性を検討した。

(2) 試験結果

代謝活性化の有無にかかわらず、メトロニダゾールに染色体異常誘発性は認められなかった。

2.6.6.4.5 マウスを用いた骨髄小核試験

[4.2.3.3.2-1（評価資料）、報告書番号 [redacted]

(1) 試験方法

5～7週齢のCD-1マウス（雌雄）に、メトロニダゾールの150、375、750及び1500 mg/kgを単回腹腔内投与又は150、500、1000及び2000 mg/kgを単回経口投与し、投与24及び48時間後に、大腿骨から骨髄細胞を回収して、*in vivo*における小核赤血球誘発性を検討した。

(2) 試験結果

腹腔内投与24時間後の375 mg/kg及び経口投与48時間後の500及び1000 mg/kgで小核の発現頻度の増加が認められたが、いずれも試験施設での背景データの範囲内であること、用量相関性は認められなかったことから、メトロニダゾールは小核誘発性を有さないものと考えられた。

2.6.6.4.6 Muta™マウスを用いた遺伝子突然変異試験

[4.2.3.3.2-2（評価資料）、報告書番号 [redacted]

(1) 試験方法

7～8週齢のMuta™マウス（雄）に、メトロニダゾールの500及び1000 mg/kgを5日間反復経口投与し、最終投与後7日及び28日に組織（肝臓、肺、骨髄、下部消化管）を採取した。各組織からDNAを抽出し、導入遺伝子部分をファージにて回収し、大腸菌に感染させ、培養後生成した変異プラーク数を基に突然変異頻度（MF）を算出した。

(2) 試験結果

500 mg/kgの最終投与後7日の骨髄では、同時対照群と比較して有意な突然変異頻度の増加が認められたが、用量依存性はみられず、試験施設での背景データの平均値（45.8×10^{-6}）付近であることから、対照群の突然変異頻度の低下によるものと考えられた。肝臓、肺及び下部消化管では、500及び1000 mg/kgのいずれの採取日も突然変異頻度の増加は認められなかった。

以上のことから、メトロニダゾールはトランスジェニックマウスに対して遺伝子突然変異誘発性は有さないものと考えられた。

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 マウス経口投与がん原性試験（1）

[4.2.3.4.1-1（参考資料）、Rustia and Shubik 1972]

(1) 試験方法

Swissマウスにメトロニダゾールの0.06%、0.15%、0.3%及び0.5%を生涯に渡り、経口（混餌）投与した。また、メトロニダゾールを投与しない群を対照群として設定した。

投与期間中は、一般状態観察、体重測定を実施し、すべての動物の剖検を実施した。肺、肝臓、腎臓、リンパ節及び骨髄（胸骨）の病理組織学的検査を実施した。

(2) 試験結果

メトロニダゾールを投与したいずれの群においても一般状態、生存率及び体重の影響は認められなかった。下表に示すように、メトロニダゾールを0.15%以上投与した群では肺腫瘍の発生率が対照群と比較して有意な高値を示した。メトロニダゾールを0.3%以上投与した群の雌では悪性リンパ腫の発生率が対照群と比較して有意な高値を示していた。

表 2.6.6-4 肺腫瘍及び悪性リンパ腫の発現率

メトロニダゾール濃度（%）	Sex / Number of animals	肺腫瘍の発現率（%）	悪性リンパ腫の発現率（%）
0	Male / 70	18.5	21.4
	Female / 70	20.0	22.8
0.06	Male / 9	33.3	22.2
	Female / 10	40.0	30.0
0.15	Male / 19	57.9**	15.7
	Female / 20	50.0*	25.0
0.3	Male / 18	66.6***	22.0
	Female / 20	70.0***	50.0*
0.5	Male / 35	77.1***	25.7
	Female / 36	44.4*	50.0**

統計手法不明 *<0.05、**<0.01、***<0.001

2.6.6.5.2 マウス経口投与がん原性試験（2）

[4.2.3.4.1-2（参考資料）、Rust 1977]

(1) 試験方法

ICRマウス又はCF_1マウス（雌雄各40例）を用いて、メトロニダゾールの75、150及び600 mg/kgをそれぞれ78週間又は92週間経口投与した。また、メトロニダゾールを投与しない群（雌雄各60例）を対照群として設定した。

(2) 試験結果

平均生存期間は、メトロニダゾールを78週間経口投与した試験では、対照群と比較して雌雄ともに差は認められなかったが、92週間経口投与した試験では、600 mg/kg群の雌で延長していた。腫瘍発生に関しては、下表に示すように、78週間投与した試験の雄、92週間投与した試験の雌雄で肺腫瘍の増加が認められた。いずれの試験でもメトロニダゾール投与に

よる悪性リンパ腫の発生は認められなかった。

表 2.6.6-5 肺腫瘍の発現頻度（%）

Study	Strain	Sex	Treatment Group (metronidazole dosage in mg/kg)			
			0	75	150	600
78-week treatment	ICR	Male	12	35	30	50
		Female	18	20	20	23
92-week treatment	CF_1	Male	33	25	40	68
		Female	22	38	48	58

2.6.6.5.3 マウス経口投与がん原性試験（3）

[4.2.3.4.1-3（参考資料）、Cavaliere et al 1983]

(1) 試験方法

BALB/cマウス（雄33例及び雌34例）に1日2 mgのメトロニダゾール（約66 mg/kg）を100日間経口投与した。対照群（雌雄各38例）は無処置とした。マウスは、投与開始80週後に、選択した臓器（肺、肝臓、脾臓、腸間膜リンパ節、腸、腎臓など）を採取し、病理組織学的検査を実施した。

(2) 試験結果

平均生存期間は、メトロニダゾールの投与の影響はなかった。対照群と比較して、雄の肺腺腫、雌のリンパ腫は有意な増加を示した。

表 2.6.6-6 肺腫瘍及び悪性リンパ腫の発現率

Study	Dose (mg/kg/day)	Lung tumors		Lymphomas	
		Number	%	Number	%
Male	0	10	26.3	0	0.0
	66	22	66.6***	1	3.0
Female	0	5	13.1	0	0.0
	66	7	20.5	15	44.1***

Log-rank test *** $p < 0.001$

2.6.6.5.4 ラット経口投与がん原性試験（1）

[4.2.3.4.1-4（参考資料）、Cohen et al 1973]

(1) 試験方法

雌性SDラット（36例）に0.135%のメトロニダゾールを含有する飼料を66週間（累積投与量：10.3 g）経口投与し、75週間までメトロニダゾールを含有しない飼料を与えた。また、メトロニダゾールを経口（混餌）投与しない群を対照群（71例）として設定した。投与期間終了時に、臓器を採取し、病理組織学的検査を実施した。

(2) 試験結果

メトロニダゾールの投与により、乳腺腫瘍（繊維腺腫及び腺癌）の発生率の増加は認められなかった（メトロニダゾール群：対照群 ＝15/36例：18/71例）。

2.6.6.5.5 ラット経口投与がん原性試験（2）

[4.2.3.4.1-2（参考資料）、Rust 1977]

(1) 試験方法

チャールスリバーの白色ラット（系統不明）を用いて、メトロニダゾールの75、150及び300 mg/kgをそれぞれ80週間経口（混餌）投与した。また、メトロニダゾールを投与しない群を対照群として設定した。

(2) 試験結果

75及び150 mg/kgの雌では、メトロニダゾール投与の影響は認められなかった。また、300 mg/kgの雌では悪性及び良性腫瘍数の増加傾向が認められた。雄ではメトロニダゾール投与による腫瘍の発生率の増加は認められなかった。

2.6.6.5.6 ラット経口投与がん原性試験（3）

[4.2.3.4.1-5（参考資料）、Rustia and Shubik 1979]

(1) 試験方法

Sas: MRC(WI)BRラットを用いて、0.06、0.3及び0.6%のメトロニダゾールを含有する飼料を生涯に渡り、経口（混餌）投与した（各群30例）。また、メトロニダゾールを投与しない群を対照群（100例）として設定した。投与期間中は、一般状態及び体重測定を行い、投与期間終了時に、すべての腫瘍及び臓器（肺、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓、生殖器、下垂体、甲状腺、副甲状腺、唾液腺、リンパ節、皮膚、乳腺、脳及び骨髄）を採取し、病理組織学的検査を実施した。

(2) 試験結果

生存率は、雌ではすべての群で同程度であったが、雄では、メトロニダゾール投与により長くなる傾向にあった。腫瘍発生に関して、0.6%の雄では、精巣腫瘍及び下垂体腺腫の発生率の増加が認められた。0.6%の雌では、乳腺腫瘍及び肝腫瘍の発生率の増加が認められた。

表 2.6.6-7 各臓器の腫瘍発現率

		0 (controls)		0.6%メトロニダゾール	
Organs	Sex (No. of animals)	Male (100)	Female (97)	Male (30)	Female (30)
Pituitary Gland	Incidence (%)	20.0	62.9	50.0	56.6
	Comparison vs. control			p < 0.04	-
Mammary Gland	Incidence (%)	0	35.1	10.0	76.6
	Comparison vs. control			-	p < 0.02
Liver	Incidence (%)	2.0	0	3.3	23.3
	Comparison vs. control			-	p < 0.05
Uterus	Incidence (%)		13.4		23.3
	Comparison vs. control				-
Testes	Incidence (%)	18.0		46.7	
	Comparison vs. control			p < 0.04	

統計手法不明

2.6.6.5.7 ラット経口投与がん原性試験（4）

[4.2.3.4.1-6（参考資料）、Cavaliere et al 1984]

(1) 試験方法

SDラット（雌雄各50例）を用いて、メトロニダゾールの30 mg/kgを100日間経口投与した。また、メトロニダゾールを経口投与しない群を対照群として設定した（雌雄各50例）。投与期間終了時に、臓器を採取し、病理組織学的検査を実施した。

(2) 試験結果

メトロニダゾール投与による生存率の変化は、雌雄ともに認められなかった。雌では、乳腺腫瘍の増加が認められたが、他の組織（肺、皮膚、甲状腺、軟部組織及びリンパ系組織）では腫瘍発生率の増加は認められなかった。雄では、いずれの臓器及び組織においても腫瘍発生率の増加は認められなかった。

表 2.6.6-8 各臓器の腫瘍発生率

Sex	Dose (mg/kg)	Mammary gland	Lung	Skin	Thyroid	Soft tissues	Lymphoreticular system
		Number (%)	Number (%)	Number (%)	Number (%)	Number (%)	Number (%)
Male	0	2 (4)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	0 (0)
	30	7 (14)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	0 (0)
Female	0	15 (30)	1 (2)	0 (0)	2 (4)	0 (0)	0 (0)
	30	36 (72) ***	1 (2)	1 (2)	3 (6)	2 (4)	1 (2)

Log-rank test *** $p < 0.001$

2.6.6.5.8 ハムスター経口投与がん原性試験

[4.2.3.4.1-7（参考資料）、Roe 1977]

(1) 試験方法

＜報告①＞

ハムスター（系統不明）を用いて、0.15%（雄37例及び雌36例）及び0.3%（雄35例及び雌36例）のメトロニダゾールを含有する飼料を生涯に渡り、経口（混餌）投与した。また、メトロニダゾールを投与しない群（雌雄各49例）を対照群として設定した。投与期間終了時に、臓器を採取し、病理組織学的検査を実施した。

＜報告②＞

Lakeview系統のハムスターを用いて、メトロニダゾールの30及び80 mg/kgをそれぞれ生涯経口（混餌）投与した（雌雄各36例）。また、メトロニダゾールを投与しない群を対照群として設定した（雌雄各50例）。投与期間中は、体重及び摂餌量測定を行い、投与期間終了時に、臓器を採取し、病理組織学的検査を実施した。

(2) 試験結果

＜報告①＞

生存率は、雌雄ともに、メトロニダゾール投与により長くなる傾向にあった。腫瘍発生率はメトロニダゾール投与の影響は認められなかった。

＜報告②＞

体重及び摂餌量は、雌雄ともに、メトロニダゾール投与により減少し、生存率は、メトロニダゾール投与により長くなる傾向にあった。腫瘍発生率はメトロニダゾール投与の影響は認められなかった。

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 マウス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

[4.2.3.5.1-1（参考資料）、El-Nahas et al 2004]

(1) 試験方法

雄性Swissマウスに、メトロニダゾールの500 mg/kgを14日間経口投与した。投与開始2週間後（投与終了時）、1カ月後（投与終了後2週間の休薬）及び2カ月後（投与終了後6週間の休薬）を設定し、雄性生殖器の重量、精子検査及びテストステロンの濃度について検査した。

(2) 試験結果

精巣、精巣上体及びそのほかの雄性生殖器（精嚢及び前立腺）の重量は投与開始1カ月後で有意な減少が認められ、投与開始2カ月後では、そのほかの雄性生殖器の重量は回復したが、精巣及び精巣上体の重量の減少は持続していた。精子の運動能は、投与開始2週間後より有意な減少が認められ、投与開始1カ月後でも有意な減少が持続していたが、投与開始2カ月後で回復し、対照群との有意差は認められなかった。異常な精子は、投与開始1カ月後に増加が認められたが、投与開始2カ月後では減少し、対照群との有意差は認められなかった。テストステロン濃度は、投与開始2週間後より有意な低値が認められ、投与開始2カ月後でも有意な低値が持続していた。

2.6.6.6.1.2 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（1）

[4.2.3.5.1-2（参考資料）、McClain et al 1989]

(1) 試験方法

雄性SDラットに、メトロニダゾールの0、25、100及び400 mg/kgを8週間経口（混餌）投与した。雄の受胎能は、無処置の雌との交配により、投与開始2、4、6及び8週間目に評価した。投与による回復性は、400 mg/kgは投与終了後に14週間の休薬期間を設定し、回復性について評価した。

(2) 試験結果

投与2週間後と4週間後の交配率と受胎能は対照群とすべてのメトロニダゾール投与群で同程度であった。25 mg/kgでは投与8週間目まで投与による影響は認められなかった。100 mg/kgでは、投与8週間目では、交配率や受胎能に投与の影響は認められなかったものの、精巣の病理組織学的検査で軽微な精子及び精子細胞の退行性断片化がみられた。400 mg/kgでは 投与6週間後に全例で不妊がみられ、投与後8週間に精巣重量及び精巣上体重量が著しく減少したほか、精巣及び精巣上体における精子数が著しく減少し、精巣上体に生存してい

た精子のほとんどは形態学的には異常であった。病理組織学的検査では、精上皮の重度の変性が認められ、精細管では一次あるいは二次精母細胞及び精子細胞が消失していた

400 mg/kgの回復群では、休薬8週間後までにほとんどの個体で交配率が回復し、回復期間終了後の精巣及び精巣上体の重量及び精子数は回復傾向にあったが、対照群と比較して依然有意に減少したままであった。病理組織学的にはほとんどの精細管で精子形成が認められたが、精細管の委縮は残存していた。

2.6.6.6.1.3 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（2）

[4.2.3.5.1-3（参考資料）、Sohrabi et al 2007]

(1) 試験方法

雄性Wistarラットを用いて、メトロニダゾールの200及び400 mg/kgを60日間経口投与した。また、対照群には滅菌水を投与した。雄性ラットの精子形成への影響を検討するために、第VII期の精上皮周期における生殖細胞の種類（A型精原細胞（ASg）、プレレプトテン精母細胞（pLSc）及びステップ7精子細胞（7Sd））及び血漿中卵胞刺激ホルモン（FSH）、黄体形成ホルモン（LH）、テストステロンを定量的に評価した。

(2) 試験結果

200及び400 mg/kg群では、第VII期のASgを除くすべての生殖細胞の変性がみられ、精巣及び他の雄性生殖器の重量、血中FSH、LH及びテストステロン濃度の有意な低値が認められた。

2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験

2.6.6.6.2.1 マウスを用いた経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（1）

[4.2.3.5.2-1（参考資料）、Cella 1969]

(1) 試験方法

雌性Swissマウス（妊娠）を用いて、メトロニダゾールの10及び20 mg/kgを妊娠6日から15日まで経口投与した。また、対照群には蒸留水を投与した。検査項目は、一般状態観察、体重及び摂餌量測定のほか、妊娠18日に母動物を帝王切開し、子宮形態、着床数、死亡及び生存胎児数、再吸収胚数を観察後、胎児の外表検査を実施した。また、胎児の内臓及び骨格検査も実施した。

(2) 試験結果

母動物では、一般状態観察、体重及び摂餌量への影響は認められなかった。胚・胎児におけるメトロニダゾール投与の影響は認められなかった。

2.6.6.6.2.2 マウスを用いた経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（2）

[4.2.3.5.2-2（参考資料）、Chacko and Bhide 1986]

(1) 試験方法

雌性Swissマウス（妊娠）を用いて、妊娠6日から15日までメトロニダゾールの2 mg（約100 mg/kg）を経口投与した。また、無処置動物を対照群として設定した。検査項目は、妊娠18日に母動物の体重測定を実施したのち、母動物を帝王切開し、黄体数、着床部位、再吸収

数、胎児数、胎児体重、頭殿長、死亡及び生存胎児数を観察後、胚・胎児発生への影響について、内臓及び骨格検査を実施した。

(2) 試験結果

母動物及び胚・胎児ともに、いずれの検査項目においてもメトロニダゾール投与の影響は認められなかった。

2.6.6.6.2.3 ラットを用いた経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験

[4.2.3.5.2-3（参考資料）、Bost 1977]

(1) 試験方法

ラットに0.13%のメトロニダゾールを妊娠18日間経口（混餌）投与、50～200 mg/kgで妊娠中期の10日間、あるいは、妊娠前及び妊娠期間中の40日間に経口投与した。

(2) 試験結果

いずれの試験条件もメトロニダゾール投与に関連した胚・胎児への影響は認められなかった。

2.6.6.6.2.4 ウサギを用いた経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験

[4.2.3.5.2-3（参考資料）、Bost 1977]

(1) 試験方法

妊娠ウサギにメトロニダゾールの30～200 mg/kgを妊娠3～13日に経口投与した。

(2) 試験結果

いずれの試験条件でもメトロニダゾール投与に関連した胚・胎児への影響は認められなかった。

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

該当資料なし。

2.6.6.7 新生児を用いた試験

該当資料なし。

2.6.6.8 局所刺激性試験

該当資料なし。

2.6.6.9 その他の毒性試験

該当資料なし。

2.6.6.10 考察及び結論

本剤は、2014年12月に「がん性皮膚潰瘍部位の殺菌・臭気の軽減」の効能・効果の製造販売承認を取得しており、単回投与毒性、反復投与毒性及び局所刺激性は評価済みである。したがって、酒さの効能・効果の追加を目的とした本開発では、新たに遺伝毒性、生殖発生毒性及びがん原性について評価した。

なお、酒さ患者を対象とした国内第III相臨床試験（M122101-01試験）における本剤の投与4週後及び12週後の本剤群の平均血漿中薬物濃度は、それぞれ33.0 ± 22.3 ng/mL及び30.5 ± 18.1 ng/mLであり、本剤を既承認の適応（がん性皮膚潰瘍部位の殺菌・臭気の軽減）で7日反復塗布後の平均血漿中濃度（852 ng/mL）と比較して十分に低かった。また、酒さ患者を対象とした本剤の国内第III相試験では、治験薬と関連のある有害事象は皮膚局所の有害事象のみで、本剤の忍容性は高いものと考えられた。これらのことから、本剤を酒さ患者に投与した際の安全性リスクは既承認の適応症を上回らないものと判断した。

遺伝毒性試験に関して、Ames試験では陽性を示したが、陽性を示した菌株におけるニトロ基還元酵素（ニトロレダクターゼ）欠損株では、突然変異誘発性は減少した。哺乳類培養細胞を用いた*in vitro*遺伝子突然変異試験及び*in vivo*突然変異試験の結果は陰性であった。これらの結果から、メトロニダゾールにおけるAmes試験の陽性は、主に菌株特有のニトロレダクターゼによって、メトロニダゾールが還元されたことで突然変異を誘発したものであると考えられた。一方、哺乳類ではニトロレダクターゼの活性が低いことが知られており[1)]、*in vitro*及び*in vivo*突然変異試験における哺乳類細胞での陰性の結果が得られたことから、生体では遺伝子突然変異誘発性のリスクはないものと考えられた。メトロニダゾールの染色体異常誘発性に関しては、Mudryらの報告によると、CHO細胞を用いた*in vitro*染色体異常試験、リンパ球培養細胞を用いた染色体異常及び小核試験、マウスを用いた腹腔内投与による骨髄小核試験はいずれも陽性であった[3)]。一方、メトロニダゾールの染色体異常誘発性を確認する目的で、*in vitro*染色体異常試験及びマウス骨髄小核試験をGLP適合下で実施した結果、いずれの試験も陰性であった。以上のことから、メトロニダゾールは、生体にて遺伝毒性を誘発しないもの（陰性）と判断した。

がん原性試験に関して、メトロニダゾールの経口投与により、マウス及びラットでは陽性、ハムスターでは陰性の結果が報告されている。国際がん研究機関（IARC）では、メトロニダゾールはヒトに対する発がん性が疑われる物質（IARCグループ2B）に分類されており、実験動物の経口投与における発がん性は陽性であると考えられる。一方、本剤の経皮投与によるがん原性試験は実施していない。しかし、本剤は1988年より約30年にわたる臨床使用実績があり、定期的ベネフィット・リスク評価報告（PBRER）の腫瘍発生に関する副作用報告（約3800万例のうちの8例）は、医薬品の発がんに対する生涯許容リスクレベル（10万分の1）よりも明らかに低いものとなっている。また、ヒトにおけるメトロニダゾールの発がん性を明確に示すデータや疫学的な証拠は報告されていない[2)]。以上のことから、本剤の経皮投与による発がん性評価は実施していないが、これまでの臨床使用実績から、ヒトの経皮投与による腫瘍発生のリスクは低いものであると考えられた。しかしながら、添付文書では、本剤の経皮投与によるがん原性試験の成績がないことを注意喚起する予定である。なお、メトロニダゾールをヘアレスマウスに腹腔内投与して光がん原性を評価した試験では、皮膚腫瘍発生頻度が増加したとの報告がある[4)]。現在、医薬品の光安全性評価ガイドライン（ICH S10ガイドライン）にて、非臨床安全性評価における光がん原性試験は、ヒトの医薬品開発では有用ではないとの報告がされていることから、上記の結果に対するヒトへの外

挿性は低いものと考えられる。

生殖発生毒性試験に関して、雄性マウス及びラットを用いた経口投与による受胎能及び初期胚発生に関する影響を評価した試験では、精巣に関する影響が報告されている。一方、ウサギ及びミニブタを用いた本剤の反復経皮投与毒性試験（初回承認申請時資料）では精巣に関する影響は認められていない。また、本剤の開発において、酒さ患者に本剤を単回経皮投与あるいはメトロニダゾール溶液を単回経口投与した臨床薬理試験（1.CG.03.SUM.0442試験）の結果、経皮投与による全身曝露量は、経口投与による全身曝露量よりも十分に低いことが示されている。以上のことから、本剤の臨床使用条件下では精巣に対して安全性の懸念が生じる可能性は低いものと考えられた。胚・胎児発生に関する影響について、マウス、ラット及びウサギの経口投与では、胚・胎児への影響は認められず、催奇形性は認められなかった。以上のことから、本剤の経皮投与による生殖発生毒性のリスクは低いものと考えられた。

以上のことから、本剤の酒さに対する使用において、ヒトへの安全性は有するものと考えられた。

2.6.6.11 図表

毒性試験の概要文中に図表を含めた。

2.6.6.12 参考文献

1) McGregor DB, Edwards I, Wolf CR, Forrester LM, Caspary WJ. Endogenous xenobiotic enzyme levels in mammalian cells. Mutat Res 1991; 26: 29-39.
2) Bendesky A, Menéndez D, Ostrosky-Wegman P. Is metronidazole carcinogenic? Mutat Res 2002; 511: 133-144.
3) MD Mudry, M Carballo, M Labal de Vinuesa, M Gonzalez Cid, I Larripa. Mutagenic bioassay of certain pharmacological drugs: III. Metronidazole (MTZ). Mutat Res. 1994; 305: 127-132.
4) GE Kelly, WD Meikle, DE Moore. Enhancement of UV-induced skin carcinogenesis by azathioprine: role of photochemical sensitization. Photochem Photobiol. 1989; 49: 59-65.

ロゼックスゲル0.75%

第2部（モジュール2）
CTDの概要（サマリー）

2.6.7 毒性試験概要表

マルホ株式会社

略号一覧

略号	省略していない表現
ASg	Type A Spermatogonia：A型精子細胞
CE	Cloning efficiency：コロニー形成率
CHO細胞	Chinese hamster ovary derived cell line：チャイニーズハムスター卵巣由来細胞
CPA	シクロフォスファミド
DMN	N-nitrosodimethylamine：ジメチルニトロソアミン
FSH	Follicle-Stimulating Hormone：卵胞刺激ホルモン
GLP	Good Laboratory Practice：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
HGPRT	ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ
LH	Luteinizing hormone：黄体形成ホルモン
MF	Mutant Frequency：突然変異頻度
MNNG	N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン
4-NQO	4-ニトロキノリン1-オキシド
pLSc	Preleptotene Spermatocytes：プレレプトテン精子細胞
7Sd	Step 7 Spermatids：ステップ7精子細胞

目次

頁
2.6.7 毒性試験概要表 1
略号一覧 2
2.6.7.1 毒性試験：試験種類の一覧 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 7
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 7
2.6.7.4 毒性試験：被験物質使用ロットの一覧 8
2.6.7.5 単回投与毒性試験 9
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 9
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 9
2.6.7.8 *In vitro*遺伝毒性試験 10
2.6.7.8.1 *In vitro*遺伝毒性試験：復帰突然変異試験 10
2.6.7.8.2 *In vitro*遺伝毒性試験：復帰突然変異試験 11
2.6.7.8.3 *In vitro*遺伝毒性試験：細胞を用いた復帰突然変異試験 12
2.6.7.8.4 *In vitro*遺伝毒性試験：ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験 14
2.6.7.9 *In vivo*遺伝毒性試験 17
2.6.7.9.1 *In vivo*遺伝毒性試験：マウスを用いた骨髄小核試験 17
2.6.7.9.2 *In vivo*遺伝毒性試験：Muta™マウスを用いた遺伝子突然変異試験 20
2.6.7.10 がん原性試験 23
2.6.7.10.1 マウス経口投与がん原性試験（1） 23
2.6.7.10.2 マウス経口投与がん原性試験（2） 24
2.6.7.10.3 マウス経口投与がん原性試験（3） 25
2.6.7.10.4 ラット経口投与がん原性試験（1）及び（2） 26
2.6.7.10.5 ラット経口投与がん原性試験（3） 27
2.6.7.10.6 ラット経口投与がん原性試験（4） 28
2.6.7.10.7 ハムスター経口投与がん原性試験 29
2.6.7.11 生殖発生毒性試験 30
2.6.7.11.1 生殖発生毒性試験：マウス受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 30
2.6.7.11.2 生殖発生毒性試験：ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（1） 31
2.6.7.11.3 生殖発生毒性試験：ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（2） 32
2.6.7.11.4 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 33
2.6.7.11.5 生殖発生毒性試験：ラットを用いた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 34
2.6.7.12 新生児を用いた試験 34
2.6.7.13 局所刺激性試験 34
2.6.7.14 その他の毒性試験 34

2.6.7.1 毒性試験：試験種類の一覧

被験物質：メトロニダゾール

試験の種類	動物種/系統	投与方法	投与期間	投与量 (mg/kg)	GLP適用	実施施設	試験番号/報告年[a)]	記載箇所 (Module 4)
遺伝毒性試験								
細菌を用いた復帰突然変異試験	ネズミチフス菌	*In vitro*	48時間	25～200 µg/plate	非適	—	1983年	4.2.3.3.1-1（参考資料）
細菌を用いた復帰突然変異試験	ネズミチフス菌	*In vitro*	—	1～1000 µg/plate	非適	—	1982年	4.2.3.3.1-2（参考資料）
細胞を用いた復帰突然変異試験	チャイニーズハムスターV79	*In vitro*	18時間	1～1000 µM	非適	—		
ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験	ヒト末梢血リンパ球	*In vitro* 短時間処理法	3時間（回復17時間あるいは41時間）	615.6～1710 µg/mL（代謝活性化系の非存在下/存在下）	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.1-3（評価資料）
		In vitro 連続処理法	20時間あるいは44時間	615.6～1710 µg/mL（代謝活性化系の非存在下）	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.1-3（評価資料）
骨髄細胞の小核試験	マウス/CD-1	腹腔内 経口	単回	腹腔内： 150, 375, 750, 1500 経口： 150, 500, 1000, 2000	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.2-1（評価資料）
トランスジェニックマウスにおける遺伝子突然変異試験	マウス/Muta™マウス	経口	5日間	500, 1000	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.3.2-2（評価資料）
がん原性試験	Swissマウス	経口（混餌）	生涯	0.06、0.15、0.3、0.5%	非適	—	1983年	4.2.3.4.1-1（参考資料）

2.6.7.1 毒性試験：試験種類の一覧（続き）

被験物質：メトロニダゾール

がん原性試験	ICRマウス	経口（混餌）	78週間	75、150、600	非適	—	1977年	4.2.3.4.1-2（参考資料）
	CF1マウス	経口（混餌）	92週間	75、150、600	非適	—	1977年	4.2.3.4.1-2（参考資料）
	BALB/cマウス	経口	100日間	66	非適	—	1983年	4.2.3.4.1-3（参考資料）
	SDラット	経口（混餌）	75週間	0.135%	非適	—	1973年	4.2.3.4.1-4（参考資料）
	ラット（系統不明）	経口（混餌）	80週間	75、150、300	非適	—	1977年	4.2.3.4.1-2（参考資料）
	Sas: MRC(WI)BRラット	経口（混餌）	生涯	0.06、0.3、0.6%	非適	—	1979年	4.2.3.4.1-5（参考資料）
	SDラット	経口	100週間	30	非適	—	1984年	4.2.3.4.1-6（参考資料）
	ハムスター（系統不明）	経口（混餌）	生涯	0.15、0.3%	非適	—	1977年	4.2.3.4.1-7（参考資料）
	Lakeviewハムスター	経口（混餌）	生涯	30、80	非適	—	1977年	4.2.3.4.1-7（参考資料）
生殖発生毒性試験								
受胎能・初期胚発生	Swissマウス	経口	2週間	500	非適	—	2004年	4.2.3.5.1-1（参考資料）
	SDラット	経口	8週間	25、100、400	非適	—	1989年	4.2.3.5.1-2（参考資料）
	Wistarラット	経口	60日間	200、400	非適	—	2007年	4.2.3.5.1-3（参考資料）

2.6.7.1 毒性試験：試験種類の一覧（続き）

被験物質：メトロニダゾール

胚・胎児発生	Swissマウス	経口	妊娠6日から妊娠15日	10、20	非適	—	1969年	4.2.3.5.2-1 （参考資料）
	Swissマウス	経口	妊娠6日から妊娠15日	100	非適	—	1986年	4.2.3.5.2-2 （参考資料）
	ラット	経口（混餌） 又は経口	妊娠18日間、 妊娠中期の10日間 又は妊娠前及び妊娠中の40日間	0.13%又は 50～200 mg/kg	非適	—	1977年	4.2.3.5.2-3 （参考資料）
	ウサギ	経口	妊娠3～13日	30～200 mg/kg	非適	—	1977年	4.2.3.5.2-3 （参考資料）
a-導入元であるGalderma S.A.で実施した試験の場合は試験番号、公表論文の場合は報告年を示す。								

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

該当資料なし

2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

該当資料なし

2.6.7.4 毒性試験：被験物質使用ロットの一覧

被験物質：メトロニダゾール

ロット番号	純度（%）	総不純物量（%）	試験番号	試験の種類
[redacted]	100.3%	0.3%未満	[redacted]	*In vitro*遺伝毒性試験：ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験
			[redacted]	*In vivo*遺伝毒性試験：マウスを用いた骨髄小核試験
			[redacted]	*In vivo*遺伝毒性試験：Muta™マウスを用いた遺伝子突然変異試験

2.6.7.5 単回投与毒性試験

該当資料なし

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

該当資料なし

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

該当資料なし

2.6.7.8 *In vitro*遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 *In vitro*遺伝毒性試験：復帰突然変異試験

報告書の題名: Mutagenicity of a series of 25 nitroimidazoles and two nitrothiazoles in *Salmonella typhimurium*		被験物質：メトロニダゾール
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	報告年：1983年
菌株：*Salmonella typhimurium*	プレート数：－	CTDにおける記載箇所：4.2.3.3.1-1
代謝活性化系：処理なし	分析細胞数/用量；－	GLP適用：不適
処理条件：プレート法	溶媒；ジメチルスルホキシド（DMSO）	処理年月日: 記載なし
特記事項：なし		
遺伝毒性：あり（TA1535及びTA100）		

被験物質	用量（μg/plate）	復帰突然変異コロニー数（DMSO）又は復帰突然変異コロニー頻度[a)]				
		TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
DMSO	0	16	156	14	36	58
メトロニダゾール	25	1.21	1.38	1.08	0.96	1.36
	50	1.64	1.47	1.32	1.15	2.10
	100	2.08	4.00	1.60	1.12	1.14
	200	2.57	12.70	1.34	1.37	1.24

a) Fold increase in spontaneous revertants/DMSO (vehicle control)

2.6.7.8.2 *In vitro*遺伝毒性試験：復帰突然変異試験

報告書の題名: Mutagenic activity of 4 active-principle forms of pharmaceutical drugs. Comparative study in the *Salmonella typhimurium* microsome test, and the HGPRT and Na^+/K^+ ATPase systems in cultured mammalian cells		被験物質：メトロニダゾール
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：3	報告年：1982年
菌株：*Salmonella typhimurium*	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：フェノバルビタール及びメチルコランスレンで誘導したマウス肝S9	分析細胞数/用量；－	GLP適用：不適
処理条件：プレート法	溶媒；ジメチルスルホキシド（DMSO）	処理年月日: 記載なし
特記事項：なし		
遺伝毒性：あり		

Metabolic activation	Concentrations (µg/plate)	0	1	5	10	25	50	250	500	800	1000
	Strain and metabolic condition	Number of total revertants after removal of spontaneous revertant									
-	TA100	0	11	31	50	112	373	1840	3840	8000	10^4
	TA100 Fr_1	0	1	2	2	3	2	0	190	390	410
	Fold reduction [a)]	0	11	15.5	25	37	186.5	NA	20	20.5	24.4
+	TA100	0	11	78	76	75	210	1800	4000	8000	10^4
	TA100 Fr_1	0	2	2	3	3	23	160	100	260	440
	Fold reduction [a)]	0	5.5	39	25.3	25	9.1	11.3	40	30.8	22.7

a) Fold reduction calculated as ratio TA-100 wild type/ TA-100 Fr_1 (nitroreductase-deficient)

NA：Not available

2.6.7.8.3 *In vitro*遺伝毒性試験：細胞を用いた復帰突然変異試験

報告書の題名: Mutagenic activity of 4 active-principle forms of pharmaceutical drugs. Comparative study in the Salmonella typhimurium microsome test, and the HGPRT and Na^+/K^+ ATPase systems in cultured mammalian cells		被験物質：メトロニダゾール
試験の種類：培養細胞を用いた復帰突然変異試験	独立して実施した試験数：3	報告年：1982年
細胞：チャイニーズハムスターV79肺細胞	プレート数：－	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/用量；－	GLP適用：不適
薬物処理条件：代謝活性化系の非存在下及び存在下で18時間	溶媒；被験物質：ジメチルスルホキシド（DMSO） 陽性対照：ジメチルスルホキシド（DMSO）	処理年月日: 記載なし
特記事項：なし		
毒性/細胞毒性：なし		
遺伝毒性：なし		

PAGE 1 OF 2 PAGE TABLES

【Ouabain resistance】

Metabolic activation	Concentrations (μM)	CE（%）	Mutant	Number of plates	Freq mut / 10^6 survivors
-	0	51	1	16	1
	1	44	1	16	2
	10	37	1	15	2
	100	31	2	16	4
	1000 (1 mM)	29	1	16	3
	MNNG（0.4 μg/mL）	6	97	13	1243
+	0	37	1	16	2
	1	29	2	16	3
	10	31	1	16	2
	100	27	1	15	2
	1000 (1 mM)	25	1	14	3
	DMN（100 μM）	38	169	16	278

CE: cloning efficiency、MNNG：N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine、DMN：N-nitrosodimethylamine

2.6.7.8.3 *In vitro*遺伝毒性試験：細胞を用いた復帰突然変異試験（続き）

PAGE 2 OF 2 PAGE TABLES

【Thioguanine resistance】

Metabolic activation	Concentrations (μM)	CE（%）	Mutant	Number of plates	Freq mut / 10^6 survivors
-	0	36	1	10	1
	1	29	2	15	2
	10	25	2	16	3
	100	25	1	16	2
	1000 (1 mM)	24	1	16	2
	MNNG（0.4 μg/mL）	26	95	15	121
+	0	36	1	15	1
	1	26	0	16	1
	10	26	1	16	1
	100	31	2	16	2
	1000 (1 mM)	27	2	16	2
	DMN（100 μM）	32	70	15	73

CE: cloning efficiency、MNNG：N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine、DMN：N-nitrosodimethylamine

2.6.7.8.4 *In vitro*遺伝毒性試験：ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験

報告書の題名: Metronidazole: Induction of Chromosome Aberrations in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes		被験物質：メトロニダゾール
試験の種類：ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験	独立して実施した試験数：2	試験番号：[redacted]
細胞：ヒト末梢血リンパ球	プレート数：2	CTDにおける記載箇所：4.2.3.3.1-3
代謝活性化系：Aroclor 1254で誘導したラット肝 S9	分析細胞数/用量；被験物質処理：200細胞 陽性対照物質処理：50細胞	GLP適用：適
評価した細胞：多染性赤血球	溶媒；被験物質：ジメチルスルホキシド（DMSO） 陽性対照：ジメチルスルホキシド（DMSO）	処理年月日: [redacted]20[redacted]
薬物処理条件：短時間処理法（3時間処理+17時間回復）；代謝活性化系の非存在下及び存在下 短時間処理法（3時間処理+41時間回復）；代謝活性化系の存在下 連続処理法（20時間処理又は44時間処理）：代謝活性化系の非存在下		
特記事項：なし		
毒性/細胞毒性：なし		
遺伝毒性：なし		

2.6.7.8.4 *In vitro*遺伝毒性試験：ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）

PAGE 1 OF 2 PAGE TABLES

代謝活性化	処理時間（処理時間 + 再培養時間、h）	被験物質	用量（μg/mL）	検体	ギャップを含む構造異常細胞数	ギャップを含まない構造異常細胞数	Mitotic index（%）
代謝活性化系なし	20 + 0	媒体	0	男性	1	1	3.9
		メトロニダゾール	615.6		0	0	3.1
			1026		3	1	3.0
			1710		1	1	2.4
		4-NQO（陽性対照）	2.5		22	21	NC
	44 + 0	媒体	0		2	0	4.7
		メトロニダゾール	1710		8	4	2.8
	3 + 17	媒体	0		5	3	5.2
		メトロニダゾール	615.6		1	1	5.1
			1026		3	2	5.5
			1710		3	1	5.6
代謝活性化系あり	3 + 17	媒体	0		2	0	5.0
		メトロニダゾール	615.6		1	1	5.1
			1026		1	1	4.2
			1710		3	1	4.5
		CPA（陽性対照）	25		18	13	NC
	3 + 41	媒体	0		3	0	5.0
		メトロニダゾール	1710		2	2	5.8

NC = not calculated、4-NQO：4-Nitroquinoline 1-oxide、CPA：Cyclophosphamide

2.6.7.8.4 *In vitro*遺伝毒性試験：ヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（続き）

PAGE 2 OF 2 PAGE TABLES

代謝活性化	処理時間（処理時間 + 再培養時間、h）	被験物質	用量（μg/mL）	検体	ギャップを含む構造異常細胞数	ギャップを含まない構造異常細胞数	Mitotic index（%）
代謝活性化なし	20 + 0	媒体	0	女性	1	1	2.7
		メトロニダゾール	837.9		1	0	3.9
			1197		5	2	4.1
			1710		7	5	3.4
		4-NQO（陽性対照）	2.5		18	15	NC
	44 + 0	媒体	0		5	2	2.9
		メトロニダゾール	1710		6	4	2.8
	3 + 17	媒体	0		1	1	6.1
		メトロニダゾール	837.9		1	0	6.4
			1197		2	1	6.3
			1710		0	0	6.5
代謝活性化あり	3 + 17	媒体	0		5	0	5.0
		メトロニダゾール	615.6		2	0	5.4
			1026		3	0	5.2
			1710		2	0	5.0
		CPA（陽性対照）	25		18	15	NC
	3 + 41	媒体	0		2	0	4.7
		メトロニダゾール	1710		4	2	5.4

NC = not calculated、4-NQO：4-Nitroquinoline 1-oxide、CPA：Cyclophosphamide

2.6.7.9 *In vivo*遺伝毒性試験

2.6.7.9.1 *In vivo*遺伝毒性試験：マウスを用いた骨髄小核試験

報告書の題名: Metronidazole: Induction of Micronuclei in the Bone Marrow of Treated Mice		被験物質：メトロニダゾール
試験方法：骨髄細胞の小核試験	処理計画：単回投与	試験番号：[redacted]
動物種/系統：マウス/CD-1	計測時間：投与24及び48時間後	CTDにおける記載箇所：4.2.3.3.2-1
週齢：5～7週齢	投与方法：腹腔内投与又は経口投与	
評価した細胞：多染性赤血球	媒体/投与形態：1% (w/v) メチルセルロース溶液 被験物質を溶媒中に均質に懸濁	GLP適用：適
分析細胞数/動物：2000		
特記事項：なし		
毒性/細胞毒性：雌雄3例ずつを用いた用量設定試験において、2000 mg/kgでの腹腔内投与により雌雄全例が死亡、同用量での経口投与により雌1/3例が死亡。 本試験において、2000 mg/kgの経口投与により雌2/5例が死亡。		
遺伝毒性：なし		
曝露証明：なし		

2.6.7.9.1 *In vivo*遺伝毒性試験：マウスを用いた骨髄小核試験（続き）

PAGE 1 OF 2 PAGE TABLES

被験物質	投与量（mg/kg）	投与経路	標本作製時間（h）	動物数	性別	正染性赤血球に対する多染性赤血球比[a)]（平均値）	小核を有する多染性赤血球出現頻度[b)]	
							（雌雄別平均）	（群別平均）
媒体	0	腹腔内	24	5	雄	0.83	0.50	0.35
					雌	0.89	0.20	
			48		雄	1.27	0.70	0.78
					雌	0.99	0.85	
メトロニダゾール	150		24		雄	1.08	1.00	0.70
					雌	0.96	0.40	
			48		雄	1.31	1.00	0.85
					雌	1.01	0.70	
	375		24		雄	0.91	1.10	1.05*
					雌	0.92	1.00*	
			48		雄	1.24	0.90	1.10
					雌	1.05	1.30	
	750		24		雄	0.92	0.80	0.70
					雌	0.92	0.60	
			48		雄	1.24	0.60	1.00
					雌	1.20	1.40	
	1500		24		雄	1.24	0.70	0.70
					雌	1.19	0.70	
			48		雄	1.31	0.10	0.70
					雌	1.12	1.30	
シクロホスファミド	40		24		雄	1.06	11.80***	10.20***
					雌	1.05	8.60***	

χ^2 Test * p≤0.05, *** p≤0.001.

a）正染性赤血球と多染性赤血球の合計が1000個になるまで計測　b）多染性赤血球1000個当たり

2.6.7.9.1 *In vivo*遺伝毒性試験：マウスを用いた骨髄小核試験（続き）

PAGE 2 OF 2 PAGE TABLES

被験物質	投与量（mg/kg）	投与経路	標本作製時間（h）	動物数	性別	正染性赤血球に対する多染性赤血球比[a)]（平均値）	小核を有する多染性赤血球出現頻度[b)]	
							（雌雄別平均）	（群別平均）
媒体	0	経口	24	5	雄	1.24	0.50	0.70
					雌	0.94	0.90	
			48		雄	0.77	0.45	0.53
					雌	0.93	0.60	
メトロニダゾール	150		24		雄	1.13	0.20	0.15
					雌	0.95	0.10	
			48		雄	0.78	0.90	0.70
					雌	1.09	0.50	
	500		24		雄	1.28	1.10	1.05
					雌	1.41	1.00	
			48		雄	0.90	0.95	1.10**
					雌	1.03	1.25*	
	1000		24		雄	1.37	0.90	0.85
					雌	1.22	0.80	
			48		雄	1.04	0.80	0.92
					雌	1.44	1.05	
	2000		24		雄	0.91	0.10	0.50
					雌	1.36	0.90	
			48		雄	1.26	0.30	0.75
					雌	0.93	1.20	
シクロホスファミド	80		24		雄	0.66	28.19***	25.10***
					雌	0.74	22.00***	

χ^2 Test * p≤0.05, *** p≤0.001.

a）正染性赤血球と多染性赤血球の合計が1000個になるまで計測　b）多染性赤血球1000個当たり

2.6.7.9.2 *In vivo*遺伝毒性試験：Muta™マウスを用いた遺伝子突然変異試験

報告書の題名：Metronidazole: induction of LacZ$^-$ mutations in tissues of treated Muta™ Mice		被験物質：メトロニダゾール
試験方法：トランスジェニック動物を用いた遺伝子突然変異試験	処理計画：5日連続投与 陽性対照は単回投与	試験番号：[redacted]
動物種/系統：Mouse/Muta™Mouse	採取時間：投与終了後7日及び28日	CTDにおける記載箇所：4.2.3.3.2-2（評価）
週齢：7～8週齢	投与方法：経口投与	GLP適用：適
評価した組織：肝臓、肺、骨髄、下部消化管	溶媒/投与形態：1% (w/v) メチルセルロース溶液	初回投与年月日：19[redacted]年[redacted]月[redacted]日
評価した動物数：5匹/群		
分析細胞数/動物：総プラーク数として20万以上/動物		
特記事項：なし		
毒性/細胞毒性：用量設定試験では、非トランスジェニック動物にメトロニダゾールを500、1000及び2000 mg/kgで5日間連続して経口投与したところ、2000 mg/kgで動物の死亡が認められた。また、トランスジェニック動物に1200 mg/kgで投与したところ、4匹中2匹が死亡した。本試験では、1000 mg/kgの最終投与日に3/5例に傾眠、立毛がみられた。		
遺伝毒性：なし		
曝露証明：なし		

2.6.7.9.2 *In vivo*遺伝毒性試験：Muta™マウスを用いた遺伝子突然変異試験（続き）

PAGE 1 OF 2 PAGE TABLES

被験物質	投与量（mg/kg/day）	投与回数	投与経路	発現期間（日間）	動物数	性別	評価組織	突然変異頻度（$\times 10^{-6}$）（平均値 ± 標準偏差）
媒体	0	5	経口	7	5	雄	肝臓	47.1 ± 7.8
メトロニダゾール	500							38.4 ± 10.7
媒体	0							49.1 ± 24.0
メトロニダゾール	1000							40.1 ± 14.0
媒体	0			28				50.4 ± 18.4[a)]
メトロニダゾール	500							55.4 ± 14.1
媒体	0							77.9 ± 55.8
メトロニダゾール	1000							51.0 ± 27.0
媒体	0	1		7				60.5 ± 17.8
4-NQO（陽性対照）	200							136.9 ± 46.1**
媒体	0	5		7			肺	50.9 ± 17.9
メトロニダゾール	500							58.5 ± 19.0
媒体	0							56.3 ± 15.9
メトロニダゾール	1000							43.6 ± 8.9
媒体	0			28				49.4 ± 1.9[a)]
メトロニダゾール	500							58.2 ± 24.7
媒体	0							47.4 ± 17.9
メトロニダゾール	1000							49.4 ± 17.7
媒体	0	1		7				47.8 ± 27.1
4-NQO（陽性対照）	200							99.6 ± 17.3**

One way ANOVA ** $p<0.01$.

4-NQO：4-Nitroquinoline 1-oxide

a) 評価例数：4

2.6.7.9.2 *In vivo*遺伝毒性試験：Muta™マウスを用いた遺伝子突然変異試験（続き）

PAGE 2 OF 2 PAGE TABLES

被験物質	投与量 (mg/kg/day)	投与回数	投与経路	発現期間（日間）	動物数	性別	評価組織	突然変異頻度（$\times 10^{-6}$）（平均値 ± 標準偏差）
媒体	0	5	経口	7	5	雄	骨髄	19.1 ± 7.6
メトロニダゾール	500							39.1 ± 12.2**
媒体	0							31.7 ± 14.3[a)]
メトロニダゾール	1000							40.4 ± 6.4[a)]
媒体	0			28				94.7 ± 65.3[a)]
メトロニダゾール	500							41.0 ± 11.5
媒体	0							24.4 ± 10.3
メトロニダゾール	1000							16.6 ± 10.5[a)]
媒体	0	1		7				31.6 ± 11.9 [a)]
4-NQQ（陽性対照）	200							541.6 ± 151.1 [a)]***
媒体	0	5		7			下部消化管	61.1 ± 14.6
メトロニダゾール	500							59.1 ± 29.7
媒体	0							55.7 ± 8.7
メトロニダゾール	1000							53.3 ± 10.5
媒体	0			28				81.3 ± 14.7 [a)]
メトロニダゾール	500							74.4 ± 25.2
媒体	0							55.8 ± 24.5
メトロニダゾール	1000							49.0 ± 14.1

One way ANOVA ** p<0.01, *** p<0.001.

4-NQO：4-Nitroquinoline 1-oxide

a) 評価例数：4

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.1 マウス経口投与がん原性試験（1）

報告書の題名: Induction of Lung Tumors and Malignant lymphomas in Mice by Metronidazole		被験物質：メトロニダゾール
動物種/系統：Swissマウス	投与期間：生涯	報告年：1972年
投与開始齢：6～8週齢	投与方法：経口投与	CTDにおける記載箇所：4.2.3.4.1-1
初回投与年月日：－	媒体/投与形態：混餌	GLP適用：不適
特記事項：なし		

投与量（%）	0		0.06		0.15		0.3		0.5	
動物数	M: 70	F: 70	M: 10	F: 10	M: 20	F: 20	M: 20	F: 20	M: 36	F: 36
一般状態	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
体重	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
生存率	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
病理組織学的検査										
評価動物数	M: 70	F: 70	M: 9	F: 10	M: 19	F: 20	M: 18	F: 20	M: 35	F: 36
肺腫瘍の発現率（%）	18.5	20.0	33.3	40.0	57.9**	50.0*	66.6***	70.0***	77.1***	44.4*
悪性リンパ腫の発現率（%）	21.4	22.8	22.2	30.0	15.7	25.0	22.0	50.0*	25.7	50.0**
肝臓										
血管腫	6	2	0	0	3	0	1	2	2	0
血管内肉腫	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
肝細胞癌	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
肝細胞腺腫	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
血管内皮腫	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
そのほかの組織の腫瘍	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

統計手法不明　* p<0.05、** p<0.01、*** p<0.001

—：特記すべき所見なし

2.6.7.10.2 マウス経口投与がん原性試験（2）

報告書の題名: An Assessment of Metronidazole Tumorigenicity : Studies in the Mouse and Rat		被験物質：メトロニダゾール
動物種/系統：ICRマウス / CF_1マウス	投与期間：78週間 / 92週間	報告年：1977年
投与開始齢：不明	投与方法：経口投与	CTDにおける記載箇所：4.2.3.4.1-2
初回投与年月日：－	媒体/投与形態：混餌	GLP適用：不適
特記事項：Swissマウス；雄で用量依存的に肺腫瘍の発現頻度の増加 CF_1マウス；雌雄ともに用量依存的に肺腫瘍の発現頻度の増加		

投与量（mg/kg）	0		75		150		600	
動物数	M: 60	F: 60	M: 40	F: 40	M: 40	F: 40	M: 40	F: 40
ICRマウス（投与期間：78週間）								
平均生存期間	487	504	484	485	484	512	477	501
病理組織学的検査								
肺腫瘍の発現頻度（%）	12	18	35	20	30	20	50	23
悪性リンパ腫の発現頻度（%）	3	7	3	5	5	8	0	5
そのほかの組織の腫瘍	—	—	—	—	—	—	—	—
CF_1（投与期間：92週間）								
平均生存期間	457	432	467	474	442	515	479	517
病理組織学的検査								
肺腫瘍の発現頻度（%）	33	22	25	38	40	48	68	58
悪性リンパ腫の発現頻度（%）	18	30	15	33	13	28	15	30
そのほかの組織の腫瘍	—	—	—	—	—	—	—	—

—：特記すべき所見なし

2.6.7.10.3 マウス経口投与がん原性試験（3）

報告書の題名: INDUCTION OF LUNG TUMORS AND LYMPHOMAS IN BALB/c MICE BY METRONIDAZOLE		被験物質：メトロニダゾール
動物種/系統：BALB/cマウス	投与期間：100日間	報告年：1983年
投与開始齢：8週齢	投与方法：経口投与	CTDにおける記載箇所：4.2.3.4.1-3
初回投与年月日：－	媒体/投与形態：不明	GLP適用：不適
特記事項：投与開始80週後に臓器を採取し、病理組織学的検査を実施した。		

投与量（mg/kg）	0		66	
動物数	M: 38	F: 38	M: 33	F: 34
平均生存期間	—	—	—	—
病理組織学的検査				
肺				
腺腫（数、%）	10（26.3）	5（13.1）	22（66.6***）	7（20.5）
肝臓	—	—	—	—
脾臓及び腸間膜リンパ節				
悪性リンパ腫（数、%）	0（0.0）	0（0.0）	1（3.0）	15（44.1***）
腸	—	—	—	—
腎臓	—	—	—	—
そのほかの組織の腫瘍	—	—	—	—

Log-rank test *** p<0.001

—：特記すべき所見なし

2.6.7.10.4 ラット経口投与がん原性試験（1）及び（2）

<table>
<tr><th>動物種 / 系統</th><th>投与経路
（媒体・投与形態）</th><th>投与期間</th><th>投与量</th><th>一群の動物数</th><th>特記すべき所見</th><th>GLP
適用</th><th>報告年</th><th>CTDにおける
記載箇所</th></tr>
<tr><td colspan="9">ラット経口投与がん原性試験（1）</td></tr>
<tr><td>SDラット</td><td>経口（混餌）</td><td>66週間</td><td>0、0.135%</td><td>0%：71F
0.135%：36F</td><td>メトロニダゾール投与による影響なし
（メトロニダゾール群：対照群 =15/36例：18/71例）</td><td>不適</td><td>1973年</td><td>4.2.3.4.1-4</td></tr>
<tr><td colspan="9">ラット経口投与がん原性試験（2）</td></tr>
<tr><td>ラット
（系統不明）</td><td>経口（混餌）</td><td>80週間</td><td>0、75、150、
300 mg/kg</td><td>0 mg/kg：16F
75 mg/kg：17F
150 mg/kg：16F
300 mg/kg：15F
雄の例数不明</td><td>
<table>
<tr><th>投与量
（mg/kg）</th><th>乳腺
腫瘍</th><th>良性
腫瘍</th><th>悪性
腫瘍</th></tr>
<tr><td>0</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td></tr>
<tr><td>75</td><td>4</td><td>4</td><td>0</td></tr>
<tr><td>150</td><td>2</td><td>2</td><td>0</td></tr>
<tr><td>300</td><td>4</td><td>6</td><td>1</td></tr>
</table>
雄ではメトロニダゾール投与による腫瘍の発生率の増加は認められなかった。300 mg/kgの雌では悪性及び良性腫瘍数の増加傾向が認められた。</td><td>不適</td><td>1977年</td><td>4.2.3.4.1-2</td></tr>
</table>

2.6.7.10.5 ラット経口投与がん原性試験（3）

報告書の題名: Experimental Induction of Hepatomas, Mammary Tumors, and Other Tumors With Metronidazole in Nonlnbred Sas: MRC(Wl)BR Rats		被験物質：メトロニダゾール
動物種/系統：Sas: MRC(WI)BRラット	投与期間：生涯	報告年：1979年
投与開始齢：6週齢	投与方法：経口投与	CTDにおける記載箇所：4.2.3.4.1-5
初回投与年月日：ー	媒体/投与形態：混餌	GLP適用：不適
特記事項：なし		

投与量（%）	0		0.06		0.3		0.6	
動物数	M: 100	F: 100	M: 30	F: 30	M: 30	F: 30	M: 30	F: 30
一般状態	—	—	—	—	—	—	—	—
体重	—	—	—	—	—	—	—	—
生存期間	—	—	延長傾向	—	延長傾向	—	延長傾向	—
病理組織学的検査								
評価動物数	100	97	30	30	30	28	30	30
下垂体腫瘍の発現率（%）	20.0	62.9	36.7	80.0	33.3	67.9	50.0##	56.6
乳腺腫瘍の発現率（%）	0	35.1	6.7	56.6	3.3	53.5	10.0	76.6###
肝腫瘍の発現率（%）	2.0	0	0	0	0	3.6	3.3	23.3#
子宮又は精巣腫瘍の発現率（%）	18.0	13.4	30.0	30.0	20.0	28.6	46.7##	23.3
皮下組織の腫瘍の発現率（%）	5.0	0	6.7	3.3	16.6	10.7	13.3	3.3
そのほかの組織の腫瘍の発現率（%）	—	—	—	—	—	—	—	—

統計手法不明　# p<0.05、## p<0.04、### p<0.02

—：特記すべき所見なし

2.6.7.10.6 ラット経口投与がん原性試験（4）

報告書の題名: INDUCTION OF MAMMARY TUMORS WITH NIETRONIDAZOLE IN FEMALE SPRAGUE-DAWLEY RATS		被験物質：メトロニダゾール
動物種/系統：SDラット	投与期間：100日間	報告年：1984年
投与開始齢：8週齢	投与方法：経口投与	CTDにおける記載箇所：4.2.3.4.1-6
初回投与年月日：－	媒体/投与形態：不明	GLP適用：不適
特記事項：なし		

投与量（mg/kg）	0		30	
動物数	M: 50	F: 50	M: 50	F: 50
生存期間	—	—	—	—
病理組織学的検査				
腫瘍の発現例数及び発生率（数、%）				
乳腺	2（4）	15（30）	7（14）	36（72）***
肺	1（2）	1（2）	0（0）	1（2）
皮膚	0（0）	0（0）	0（0）	1（2）
甲状腺	0（0）	2（4）	0（0）	3（6）
軟部組織	1（2）	0（0）	1（2）	2（4）
リンパ系組織	0（0）	0（0）	0（0）	1（2）

Log-rank test *** p<0.001

—：特記すべき所見なし

2.6.7.10.7 ハムスター経口投与がん原性試験

被験物質：メトロニダゾール

<table>
<tr><th>動物種 / 系統</th><th>投与経路
（媒体・投与形態）</th><th>投与期間</th><th>投与量</th><th>一群の動物数</th><th>特記すべき所見</th><th>GLP
適用</th><th>報告年</th><th>CTDにおける
記載箇所</th></tr>
<tr><td>ハムスター
（系統不明）</td><td>経口
（混餌）</td><td>生涯</td><td>0、0.15、0.3%</td><td>0%：49M、49F
0.15%：37M、36F
0.3%：35M、36F</td><td>生存期間は、雌雄ともに、メトロニダゾール投与により長くなる傾向。
腫瘍発生率にメトロニダゾール投与の影響は認められなかった。
<table>
<tr><th>投与量</th><th colspan="2">0%</th><th colspan="2">0.15%</th><th colspan="2">0.3%</th></tr>
<tr><th>雌雄</th><th>M</th><th>F</th><th>M</th><th>F</th><th>M</th><th>F</th></tr>
<tr><td>腫瘍発現の割合</td><td>8/46</td><td>7/47</td><td>7/32</td><td>3/34</td><td>5/26</td><td>5/27</td></tr>
<tr><td>総腫瘍数</td><td>9</td><td>10</td><td>8</td><td>3</td><td>5</td><td>6</td></tr>
<tr><td>総悪性腫瘍数</td><td>3</td><td>5</td><td>2</td><td>1</td><td>2</td><td>3</td></tr>
</table></td><td rowspan="2">不適</td><td rowspan="2">1977年</td><td rowspan="2">4.2.3.4.1-7</td></tr>
<tr><td>Lakeview
ハムスター</td><td>経口
（混餌）</td><td>生涯</td><td>0、30、80 mg/kg</td><td>0 mg/kg：50M、50F
30、80 mg/kg：
36M、36F</td><td>雌雄ともに、体重及び摂餌量はメトロニダゾール投与により減少し、生存期間はメトロニダゾール投与により長くなる傾向にあった。
腫瘍発生率にメトロニダゾール投与の影響は認められなかった。
<table>
<tr><th>投与量</th><th colspan="2">0 mg/kg</th><th colspan="2">30 mg/kg</th><th colspan="2">80 mg/kg</th></tr>
<tr><th>雌雄</th><th>M</th><th>F</th><th>M</th><th>F</th><th>M</th><th>F</th></tr>
<tr><td>総腫瘍数</td><td>13</td><td>9</td><td>3</td><td>3</td><td>10</td><td>4</td></tr>
<tr><td>総悪性腫瘍数</td><td>3</td><td>1</td><td>1</td><td>0</td><td>3</td><td>1</td></tr>
</table></td></tr>
</table>

2.6.7.11 生殖発生毒性試験

2.6.7.11.1 生殖発生毒性試験：マウス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: Reproductive and cytogenetic toxicity of metronidazole in male mice		被験物質：メトロニダゾール
動物種/系統：Swissマウス	投与期間：2週間	報告年：2004年
投与開始齢：10～12週齢	投与方法：経口投与	CTDにおける記載箇所：4.2.3.5.1-1
初回投与年月日：－	媒体/投与形態：生理食塩液（懸濁）	GLP適用：不適
特記事項：なし		
無毒性量：－		

投与量（mg/kg/日）	0	500	500	500
投与期間	2週間	2週間	2週間	2週間
回復期間（投与終了後経過期間）	—	—	2週間	6週間
評価動物数	5	5	5	5
I.W. of testis (g)	0.21	0.19	0.15*	0.14*
I.W. of epididymis (g)	0.16	0.14	0.11*	0.12*
I.W. of accessory sex organs (g)	0.20	0.22	0.12*	0.21
Sperm motility（%）	85.0	55.0*	35.0*	80.0
Abnormal sperm（%）	8.0	8.8	11.40*	8.6
Testosterone level (ng/mL)	2.84	2.27*	1.74*	2.35*

I.W.（index weight）= Organ weight / body weight × 20

Student’s T-test * $p<0.05$ （Significantly different compared to control）

2.6.7.11.2 生殖発生毒性試験：ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（1）

報告書の題名: Effect of Metronidazole on Fertility and Testicular Function in Male Rats		被験物質：メトロニダゾール
動物種/系統：SDラット	投与期間：8週間（雄）、無処置（雌）	報告年：1989年
投与開始齢：約10週齢	投与方法：経口投与	CTDにおける記載箇所：4.2.3.5.1-2
初回投与年月日：－	媒体/投与形態：混餌	GLP適用：不適
特記事項：対照群及び高用量群では14週間の回復期間を設定		
無毒性量：－		

投与量（mg/kg/日）	0	25	100	400		0	400
評価動物数	10	10	10	10		10	10
投与期間	8週間	8週間	8週間	8週間		8週間	8週間
回復期間	—	—	—	—		14週間	14週間
Testis							
Weight（g）	3.4	3.4	3.6	1.4*		3.6	2.3*
Spermatid count（No. × 10^6/g testis/day）	86	83	80	1.4*		89	66*
Daily sperm production（No. × 10^6/g testis/day）	14.1	13.6	13.1	0.2*		15.0	11.0*
Epididymides							
Weight（g）	1.28	1.28	1.29	0.8*		1.40	1.00*
Sperm count（No. × 10^6/g epididymis/day）	512	504	482	37*		456	249*
Sperm viability（% viable）	100	99.9	100	NC		100	100
Sperm morphology（% abnormal）	5.7	6.9	6.6	95.6*		4.8	12.6*

Mann-Whitney *U* test * $p<0.05$ （Significantly different compared to control）

NC：Not calculated, sufficient numbers of intact sperm were not present to assess viability

2.6.7.11.3 生殖発生毒性試験：ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（2）

報告書の題名: Effect of Metronidazole on Spermatogenesis, Plasma Gonadotrophins and Testosterone in Male Rats		被験物質：メトロニダゾール
動物種/系統：Wistarラット	投与期間：60日間（雄）	報告年：2007年
投与開始齢：70～90日齢	投与方法：経口投与	CTDにおける記載箇所：4.2.3.5.1-3
初回投与年月日：－	媒体/投与形態：Sterile water	GLP適用：不適
特記事項：－		
無毒性量：－		

投与量（mg/kg/日）	0	200	400
評価動物数	6	6	6
Body weght (g)	210.10	204.25	202.87
Testis (Pair) (mg% body weight)	1581.12	1452.87**	1423.25**
Seminal Vesicle (mg% body weight)	521.75	412.75**	407.51**
Ventral Prostate (mg% body weight)	286.25	193.01**	176.75**
FSH (mIU/mL)	12.07	7.81**	6.32**
LH (mIU/mL)	9.87	6.93**	5.43**
Testosterone (ng/mL)	6.12	3.51**	2.62**
ASg (spermatogonia)	1.83	1.71	1.85
PLSc (Preleptotene spermatocytes)	20.75	15.75**	11.18**
7Sd (Step 7 spermatid)	84.62	73.68**	63.51**

Student T-test ** p<0.001 （Significantly different compared to control）

2.6.7.11.4 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

動物種/系統	投与経路（媒体・投与形態）	投与期間	投与量（mg/kg/日）	一群の動物数	特記すべき所見	GLP適用	報告年	CTDにおける記載箇所
マウスを用いた経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（1）								
Swiss マウス	経口	妊娠6日から妊娠15日	0、10、20	10F	母動物では、一般状態観察、体重及び摂餌量への影響はみられなかった。胎児の外表、内臓及び骨格検査で異常は観察されなかった。	不適	1969年	4.2.3.5.2-1
マウスを用いた経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験（2）								
Swiss マウス	経口	妊娠6日から妊娠15日	0、約100 mg/kg	0 mg/kg：25F 100 mg/kg：17F	黄体数、着床部位、再吸収数、胎児数、胎児体重、頭殿長、母動物の体重は対照群と同程度であった。また、胎児の外表、内臓及び骨格検査で異常は観察されなかった。	不適	1986年	4.2.3.5.2-2
ラットを用いた経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験								
ラット	経口（混餌）又は経口	妊娠18日間、妊娠中期の10日間又は妊娠前及び妊娠中の40日間	0.13%又は50～200 mg/kg	—	胚・胎児への影響はみられなかった。	不適	1977年	4.2.3.5.2-3
ウサギを用いた経口投与による胚・胎児発生への影響に関する試験								
ウサギ	経口	妊娠3～13日	30～200 mg/kg	—	胚・胎児への影響はみられなかった。	不適	1977年	4.2.3.5.2-3

2.6.7.11.5 生殖発生毒性試験：ラットを用いた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

該当資料なし

2.6.7.12 新生児を用いた試験

該当資料なし

2.6.7.13 局所刺激性試験

該当資料なし

2.6.7.14 その他の毒性試験

該当資料なし