MD-711

第 2 部（モジュール 2）
CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.6 毒性試験の概要文

持田製薬株式会社

目次

2.6.6 毒性試験の概要文 4
2.6.6.1 まとめ 4
2.6.6.1.1 単回投与毒性試験 4
2.6.6.1.2 反復投与毒性試験 4
2.6.6.1.3 がん原性試験 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 5
2.6.6.2.1 ラットにおける単回吸入投与毒性試験 5
2.6.6.2.2 イヌにおける単回吸入投与毒性試験 6
2.6.6.3 反復投与毒性試験 6
2.6.6.3.1 ラットにおける 7 日間吸入投与毒性試験 6
2.6.6.3.2 イヌにおける 7 日間吸入投与毒性試験 6
2.6.6.3.3 ラットにおける 13 週間吸入投与毒性試験 7
2.6.6.3.4 イヌにおける 13 週間吸入投与毒性試験 9
2.6.6.4 遺伝毒性試験 10
2.6.6.5 がん原性試験 11
2.6.6.5.1 ラットにおける 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験 11
2.6.6.5.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 12
2.6.6.5.3 ラットにおける 2 年間経口投与がん原性試験 14
2.6.6.5.4 Tg.rasH2 マウスにおける 26 週間経口投与がん原性試験 15
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 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 16
2.6.6.9 考察および結論 17
2.6.6.10 参考文献一覧 29

略号一覧

略号	英語表記	日本語表記
ALT	Alanine aminotransferase activity	アラニンアミノトランスフェラーゼ活性
AST	Aspartate aminotransferase activity	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性
AUC_{0-t}	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last measurable point	測定可能なポイントまでの血漿中薬物濃度時間曲線下面積
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中薬物濃度
C_{ss}	Plasma concentration at steady state	定常状態の血漿中薬物濃度
DEA	Diethanolamine	ジエタノールアミン
GLP	Good laboratory practice	安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GSD	Geometric standard deviation	幾何標準偏差
MMAD	Mass median aerodynamic diameter	空気動力学的質量中央値
MPV	Mean platelet volume	平均血小板容積
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
TRE	Treprostinil	トレプロスチニル

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

トレプロスチニルの持続皮下投与および持続静脈内投与による毒性試験成績ならびにトレプロスチニル DEA の経口投与による毒性試験成績は、トレプロスト®注射液申請時（以下、初回申請時）に報告済みである。今回、トレプロスチニルの吸入剤である MD-711 の開発に際し、新たに評価した毒性試験（いずれも GLP 試験）を表 2.6.6.1-1 に示した。MD-711 の吸入投与による毒性評価として、ラットおよびイヌにおける単回および反復投与毒性試験に加え、ラットの 2 年間投与がん原性試験を実施した。また、トレプロスチニル DEA を用いた経口投与によるラットの 2 年間投与がん原性試験および Tg.rasH2 マウスの 26 週間投与がん原性試験についても評価した。

表 2.6.6.1-1 毒性試験一覧

試験の種類および期間	試験系	投与経路	被験物質	投与量 [a]
単回および 7 日間投与毒性試験	ラット	吸入	TRE	65、193、333、667、1009 μg/kg（単回） 0、289、415、528 μg/kg/日（7 日間）
	イヌ	吸入	TRE	560、840、3190、4800 μg/kg（単回） 0、530、860、2990/2280 [b] μg/kg/日（7 日間）
反復投与毒性試験				
13 週間投与毒性試験	ラット	吸入	TRE	0、7.0、66.6、463.5 μg/kg/日
13 週間投与毒性試験	イヌ	吸入	TRE	0、107.3、322.1、1557.9 μg/kg/日
がん原性試験				
13 週間投与がん原性用量設定試験	ラット	吸入	TRE	0、2.60、5.26、10.6、34.1、77.1、237.0 μg/kg/日
2 年間投与がん原性試験	ラット	吸入	TRE	空気対照、0、5.93、12.28、36.90 μg/kg/日
2 年間投与がん原性試験	ラット	強制経口	TRE-DEA	0、1、3、10 mg/kg/日
26 週間投与がん原性試験	Tg rasH2 マウス	強制経口	TRE-DEA	雄：陽性対照 [c]、0、5、10、20 mg/kg/日 雌：陽性対照 [c]、0、3、7.5、15 mg/kg/日

TRE：トレプロスチニル、TRE-DEA：トレプロスチニル DEA
a：吸入投与は推定肺到達用量の雌雄平均値、経口投与は 1 回/日（マウス）または 2 回/日（ラット）
b：投与 4 日に用量変更
c：ウレタン 1000 mg/kg 腹腔内投与×3 回

2.6.6.1.1 単回投与毒性試験

トレプロスチニルの単回吸入投与による死亡例は認められず、概略の致死量はラットで 1009 μg/kg 超、イヌで 4800 μg/kg 超であった。一般状態の変化として、ラットの 667 μg/kg 以上の投与で努力呼吸、呼吸数増加および衰弱、イヌの 3190 μg/kg 以上の投与で活動性の低下、4800 μg/kg 投与で体温低下、横臥位、嘔吐および運動失調が認められた。

2.6.6.1.2 反復投与毒性試験

トレプロスチニルの 7 日間吸入投与毒性試験では、ラットで 528 μg/kg/日、イヌで 2990/2280 μg/kg/日まで死亡例は認められなかったが、ラットでは 289 μg/kg/日以上、イヌでは 860 μg/kg/

日以上の群で呼吸器（鼻腔、喉頭および肺）に対する刺激性を示す病理組織学的変化、ラットの 528 µg/kg/日、イヌの 530 µg/kg/日以上の群で体重増加量の減少が認められた。

トレプロスチニルの 13 週間吸入投与毒性試験では、ラットの 7.0 µg/kg/日以上、イヌの 322.1 µg/kg/日以上の群で呼吸器（鼻腔、喉頭および肺）に対する刺激性を示す病理組織学的変化、ラットの 7.0 µg/kg/日以上、イヌの 1557.9 µg/kg/日群で体重増加量の減少が認められた。また、ラットの 13 週間吸入投与毒性試験では、7.0 µg/kg/日以上の群で副腎皮質の肥大、心筋変性/線維化、精巣の精上皮変性、66.6 µg/kg/日以上の群で精巣上体の精子減少/消失、463.5 µg/kg/日群で副腎皮質球状層の空胞化、胸腺リンパ系組織の萎縮/壊死が認められた。13 週間吸入投与毒性試験の無毒性量は、ラットで 7.0 µg/kg/日未満、イヌで 107.3 µg/kg/日であった。

2.6.6.1.3 がん原性試験

トレプロスチニルのラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験、トレプロスチニル DEA の Tg.rasH2 マウスにおける 26 週間経口投与がん原性試験およびラットにおける 2 年間経口投与がん原性試験のいずれにおいても腫瘍性病変の増加は認められず、がん原性は陰性であった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

2.6.6.2.1 ラットにおける単回吸入投与毒性試験

（資料番号 4.2.3.1.1、2.6.7.5 項、評価資料）

ラットの単回吸入投与毒性試験で認められた主な所見を表 2.6.6.2-1 に示した。

雌雄各 3 例/群の CD® IGS ラットに、[redacted] ネブライザーおよび[redacted] 型吸入装置を用いて、トレプロスチニルの 65、193、333、667 および 1009 µg/kg を吸入時間可変（120～360 分）で単回吸入投与した。667 µg/kg 以上の群で努力呼吸、呼吸数増加および衰弱が認められたが、667 µg/kg 群では軽度であり、発現頻度も低かった。1009 µg/kg 投与によっても死亡例は認められず、概略の致死量は 1009 µg/kg 超であった。体重、剖検および器官重量には、特記すべき変化は認められなかった。

表 2.6.6.2-1 ラットの単回吸入投与毒性試験で認められた主な所見

投与量 [a] (µg/kg)	トレプロスチニル				
	65	193	333	667	1009
吸入濃度 (µg/L)	10	10	52	54	53
吸入時間 (min)	120	360	120	240	360
動物数	雄 3/雌 3	雄 3/雌 3	雄 3/雌 3	雄 3/雌 3	雄 3/雌 3
死亡数	雄 0/雌 0	雄 0/雌 0	雄 0/雌 0	雄 0/雌 0	雄 0/雌 0
一般状態	―			努力呼吸、呼吸数増加、衰弱	

―：特記すべき変化なし

a：推定肺到達用量の雌雄平均値

2.6.6.2.2 イヌにおける単回吸入投与毒性試験

（資料番号 4.2.3.1.2、2.6.7.5 項、評価資料）

イヌの単回吸入投与毒性試験で認められた主な所見を表 2.6.6.2-2 に示した。

雌雄各 1 例のビーグル犬に、[redacted] ネブライザーおよび口腔鼻マスクを用いて、トレプロスチニルの 560、840、3190 および 4800 µg/kg を吸入時間可変（60 または 90 分）で単回吸入投与した。投与は用量漸増で実施し、投与間隔は 24 時間以上とした。

3190 µg/kg 以上の投与で活動性の低下、4800 µg/kg 投与ではさらに体温低下、横臥位、嘔吐および運動失調が認められたが、死亡例は発生せず、概略の致死量は 4800 µg/kg 超であった。心血管系検査、呼吸検査および剖検において、特記すべき変化は認められなかった。

表 2.6.6.2-2 イヌの単回吸入投与毒性試験で認められた主な所見

投与量 [a] (µg/kg)	トレプロスチニル			
	560	840	3190	4800
吸入濃度 (µg/L)	29	29	198	198
吸入時間 (min)	60	90	60	90
動物数	雄 1/雌 1	雄 1/雌 1	雄 1/雌 1	雄 1/雌 1
死亡数	雄 0/雌 0	雄 0/雌 0	雄 0/雌 0	雄 0/雌 0
一般状態	－		活動性の低下	
				体温低下・横臥位・嘔吐（雌）、運動失調

－：特記すべき変化なし

a：推定肺到達用量の雌雄平均値（漸増投与）

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ラットにおける 7 日間吸入投与毒性試験

（資料番号 4.2.3.1.1、2.6.7.6 項、評価資料）

雌雄各 5 例/群の CD® IGS ラットに、[redacted] ネブライザーおよび [redacted] 型吸入装置を用いて、0（溶媒）またはトレプロスチニルの 289、415 および 528 µg/kg/日を吸入時間可変（120～240 分）で 7 日間反復吸入投与した。

289 µg/kg/日以上の群で流涎、網赤血球数の増加、肺および肝臓重量の増加、胸腺重量の減少（胸腺の萎縮）、鼻腔の呼吸上皮の過形成/扁平上皮化生、杯細胞の過形成/肥大、喉頭の過形成/扁平上皮化生、肺の出血、415 µg/kg/日以上の群で MPV の増加、528 µg/kg/日群で体重増加量および血小板数の減少が認められた。鼻腔、喉頭および肺の病理組織学的変化は、気道に対する刺激性に起因すると考えられた。血液生化学的検査では、特記すべき変化は認められなかった。

2.6.6.3.2 イヌにおける 7 日間吸入投与毒性試験

（資料番号 4.2.3.1.2、2.6.7.6 項、評価資料）

雌雄各 2 例/群のビーグル犬に、[redacted] ネブライザーおよび口腔鼻マスクを用いて、0（溶媒）またはトレプロスチニルの 530、860 および 2990 μg/kg/日を吸入時間可変（15～60 分）で 7 日間反復吸入投与した。高用量群では、重篤な一般状態の変化が認められたことから、投与 4 日に用量を 2990 μg/kg/日（60 分吸入）から 2280 μg/kg/日（45 分吸入）に変更した。

530 μg/kg/日以上の群で軟便/液状便、体重増加量の減少、860 μg/kg/日以上の群で嘔吐、流涎、振戦、運動失調、心拍数の増加および鼻腔の呼吸上皮の再生、2990/2280 μg/kg/日群で衰弱、鼻腔の亜急性炎症・潰瘍・呼吸上皮の扁平上皮化生、心筋変性または壊死が認められた。鼻腔の病理組織学的変化は、気道に対する刺激性に起因すると考えられた。摂餌量、呼吸検査、血液学的検査、血液生化学的検査、剖検および器官重量には、特記すべき変化は認められなかった。

2.6.6.3.3 ラットにおける 13 週間吸入投与毒性試験

（資料番号 4.2.3.2.1、2.6.7.7.1 項、評価資料）

ラットの 13 週間吸入投与毒性試験で認められた主な所見を表 2.6.6.3-1 に示した。

雌雄各 15 例/群の Crl:CD® (SD) IGS BR ラットに、[redacted] ネブライザーおよび[redacted] 型吸入装置を用いて、0（溶媒）またはトレプロスチニルの 7.0、66.6 および 463.5 μg/kg/日を吸入時間可変（20～225 分）で 13 週間反復吸入投与した。また、対照群および高用量群には雌雄各 5 例/群を追加し、4 週間の休薬による回復性を検討した。

7.0 μg/kg/日群の雄 1 例および 463.5 μg/kg/日群の雌雄各 2 例が投与期間中に死亡した。7.0 μg/kg/日群の雄 1 例および 463.5 μg/kg/日群の雌 1 例は、採血部位付近に出血痕が認められたことから採血の影響による死亡と推定されたが、他の動物の死因は剖検では明らかでなかった。

7.0 μg/kg/日以上の群で体重増加量の減少、66.6 μg/kg/日以上の群で体重および摂餌量の減少、463.5 μg/kg/日群で体温低下、運動失調、努力呼吸、活動性および筋緊張の低下などが認められた。その他、7.0 μg/kg/日以上の群で肺の暗色巣/部位、66.6 μg/kg/日以上の群で分時換気量の減少、白血球数およびリンパ球数の減少、肺、副腎および甲状腺重量の増加、胸腺重量の減少、副腎の肥大および退色、精巣の小型化、463.5 μg/kg/日群で血小板数の減少、網赤血球数および MPV の増加、精巣重量の減少が認められた。また、463.5 μg/kg/日群の雄 1 例で AST/ALT の異常高値（他の動物の約 20 倍）が認められ、剖検で肝臓の退色巣/部位、病理組織学的検査で肝臓の多巣性壊死/炎症が認められた。肝臓の変化は当該試験より高用量を投与したラットの 7 日間吸入投与毒性試験やイヌの 7 日間および 13 週間吸入投与毒性試験では認められず、トレプロスチニル注射液の一般毒性試験においても認められていないこと（初回申請時資料）から、偶発的な変化であり薬物投与との関連性はないと考えられた。病理組織学的検査において、7.0 μg/kg/日以上の群で鼻腔の杯細胞の過形成/肥大、喉頭の扁平上皮化生、肺の出血およびマクロファージ集簇、副腎皮質の肥大、心筋変性/線維化、精巣の精上皮変性、66.6 μg/kg/日以上の群で鼻腔の呼吸上皮変性/再生、精巣上体の精子減少/消失、463.5 μg/kg/日群で副腎皮質球状層細胞の空胞化、胸腺リンパ系組織の萎縮/壊死、鼻腔の好中球浸潤、呼吸上皮の潰瘍および嗅上皮の変性/再生が認められ、鼻腔、喉頭および肺で認められた変化は、呼吸器に対する刺激性を示す変化と考えられた。眼科学的検査および尿検査では、特記すべき変化は認められなかった。

投与期間終了時に認められた変化は、心筋変性/線維化を除き、4 週間の休薬により回復または回復傾向を示した。

7.0 µg/kg/日群で認められた体重増加量の減少および病理組織学的変化に基づき、本試験の無毒性量は 7.0 µg/kg/日未満と考えられた。

表 2.6.6.3-1 ラットの 13 週間吸入投与毒性試験で認められた主な所見

投与量[a](µg/kg/日)		トレプロスチニル			
		0	7.0	66.6	463.5
吸入濃度 (µg/L)		0	7.1	44.0	40.3
吸入時間 (min)		225	20	30	225
動物数	主試験	雄 15/雌 15	雄 15/雌 15	雄 15/雌 15	雄 16[b]/雌 15
	回復試験	雄 5/雌 5			雄 4[b]/雌 5
死亡数		雄 0/雌 0	雄 1/雌 0	雄 0/雌 0	雄 2/雌 2
一般状態		−			体温低下、運動失調、部分閉眼、被毛粗剛、被毛の赤色化、努力呼吸、活動性および筋緊張の低下
体重		−	増加量減少		
				減少	
摂餌量		−		減少	
呼吸検査		−		分時換気量の減少	
血液学的検査		−		白血球数およびリンパ球数の減少（雄）	
					網赤血球数および MPV の増加、血小板数の減少
血液生化学的検査		−			AST/ALT 上昇（雄 1 例[c]）
器官重量		−		肺、副腎および甲状腺重量の増加、胸腺重量の減少	
					精巣重量の減少
剖検		−	肺の暗色巣/部位		
				副腎の肥大・退色（雌）、精巣の小型化	
					副腎の肥大・退色（雄）、肝臓の退色巣/部位（雄 1 例[c]）
病理組織学的検査		−	鼻腔の杯細胞の過形成/肥大、喉頭の扁平上皮化生、肺の出血およびマクロファージ集簇、副腎皮質の肥大、心筋変性/線維化、精巣の精上皮変性		
				鼻腔の呼吸上皮変性/再生、精巣上体の精子減少/消失	
					鼻腔の好中球浸潤、呼吸上皮の潰瘍および嗅上皮の変性/再生、副腎皮質球状層細胞の空胞化、胸腺リンパ系組織の萎縮/壊死、肝臓の多巣性壊死/炎症（雄 1 例[c]）
回復試験		心筋変性/線維化を除き、回復または回復傾向を示した。			
無毒性量		7.0 µg/kg/日未満			

−：特記すべき変化なし

a：推定肺到達用量の雌雄平均値

b：回復群で死亡した雄 2 例を主試験群で集計し、主試験群の雄 1 例を投与終了時に回復群へ移動した。

c：同一個体

2.6.6.3.4 イヌにおける 13 週間吸入投与毒性試験

（資料番号 4.2.3.2.2、2.6.7.7.2 項、評価資料）

イヌの 13 週間吸入投与毒性試験で認められた主な所見を表 2.6.6.3-2 に示した。

雌雄各 3 例/群のビーグル犬に、[redacted] ネブライザーおよび口腔鼻マスクを用いて、0（溶媒）またはトレプロスチニルの 107.3、322.1 および 1557.9 μg/kg/日を吸入時間可変（6～30 分）で 13 週間反復吸入投与した。また、対照群と高用量群には雌雄各 2 例を追加し、4 週間の休薬による回復性を検討した。

1557.9 μg/kg/日群の雌 1 例が吸入投与中に死亡し、嘔吐物を誤嚥したことによる窒息死と考えられた。

107.3 μg/kg/日以上の群で軟便および液状便、322.1 μg/kg/日以上の群で吸入投与中の嘔吐および脱糞、投与初期の摂餌量の減少、1557.9 μg/kg/日群で活動性の低下、運動失調、円背位、横臥位、脱水、流涎、振戦、腹側皮膚の赤色化、散瞳、努力呼吸、異常呼吸音、体重増加量の減少が認められた。心血管系検査では、投与 30 日に 322.1 μg/kg/日以上の群で中等度の洞性頻脈が認められたが、投与 80 日には 1557.9 μg/kg/日群で軽度に認められただけであり、適応またはタキフィラキシーが起きたと考えられた。血液学的検査では、1557.9 μg/kg/日群で血小板数の減少および MPV の増加が認められた。病理組織学的検査では、322.1 μg/kg/日以上の群で鼻腔の呼吸上皮の変性/再生および喉頭の線毛上皮の変性、1557.9 μg/kg/日群で鼻腔の杯細胞の過形成/肥大、扁平上皮および呼吸上皮の潰瘍、扁平上皮の変性/壊死ならびに肺の出血が認められ、呼吸器に対する刺激性を示す変化と考えられた。眼科学的検査、呼吸検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検および器官重量には、特記すべき変化は認められなかった。

投与終了時に見られた変化は、4 週間の休薬によりいずれも回復性を示した。

322.1 μg/kg/日以上の群で認められた呼吸器の病理組織学的変化より、本試験の無毒性量は 107.3 μg/kg/日と考えられた。

表 2.6.6.3-2 イヌの 13 週間吸入投与毒性試験で認められた主な所見

投与量[a] (μg/kg/日)		トレプロスチニル			
		0	107.3	322.1	1557.9
吸入濃度 (μg/L)		0	25	224	224
吸入時間 (min)		30	15	6	30
動物数	主試験	雄 3/雌 3	雄 3/雌 3	雄 3/雌 3	雄 3/雌 2
	回復試験	雄 2/雌 2			雄 2/雌 2
死亡数		雄 0/雌 0	雄 0/雌 0	雄 0/雌 0	雄 0/雌 1[b]
一般状態		－	軟便/液状便		
				嘔吐、脱糞（吸入投与中）	
					活動性の低下、運動失調、円背位、横臥位、脱水、流涎、振戦、腹側皮膚の赤色化、散瞳、努力呼吸、異常呼吸音
体重		－			増加量減少
摂餌量		－		減少（投与初期）	
心血管系検査	投与 30 日	－		洞性頻脈（中等度）	
	投与 80 日				洞性頻脈（軽度）
血液学的検査		－			血小板数の減少（雄）、MPV の増加
病理組織学的検査		－		鼻腔の呼吸上皮の変性/再生、喉頭の線毛上皮の変性	
					鼻腔の杯細胞の過形成/肥大および扁平上皮の潰瘍（雄）、鼻腔の呼吸上皮の潰瘍および扁平上皮の変性/壊死（雌）、肺の出血
回復試験		投与終了時に認められた変化はいずれも回復性を示した。			
無毒性量		107.3 μg/kg/日			

－：特記すべき変化なし

a：推定肺到達用量の雌雄平均値

b：投与 22 日の投与中に嘔吐物誤嚥により窒息死

2.6.6.4 遺伝毒性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.6.5 がん原性試験

2.6.6.5.1 ラットにおける 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験

（資料番号 4.2.3.4.1.1、2.6.7.10.1 項、評価資料）

ラットの 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験で認められた主な所見を表 2.6.6.5-1 に示した。

雌雄各 10 または 15 例/群の Crl:CD®(SD)IGS BR ラットに、[redacted] ネブライザーおよび [redacted] 型吸入装置を用いて、0（溶媒）またはトレプロスチニルの 2.60、5.26、10.6、34.1、77.1 および 237.0 μg/kg/日を吸入時間一定（55 分）で 13 週間反復吸入投与した。また、対照群と 77.1 および 237.0 μg/kg/日群には雌雄各 5 例を追加し、4 週間の休薬による回復性を検討した。

5.26 μg/kg/日群の雌 1 例、10.6 および 34.1 μg/kg/日群の雄 1 例、77.1 μg/kg/日群の雄 1 例、雌 2 例、237.0 μg/kg/日群の雄 2 例、雌 5 例が投与期間中に死亡した。高用量群の雄 1 例については入室時に死亡状態で発見され、剖検で尿路の閉塞が認められたことから、薬物投与との関連はないと考えられた。その他の死亡例は吸入投与中または吸入投与終了後の保定チューブからの解放時に死亡状態で発見され、病理組織学的検査では肺の著しいうっ血と喉頭部の浮腫が認められたが、死戦期の非特異的な所見と考えられたため、死因は明らかでなかった。

34.1 μg/kg/日以上の群で体重の減少、77.1 μg/kg/日以上の群で活動性の低下、努力呼吸、閉眼、円背位、体温低下および食欲低下など、237.0 μg/kg/日群で横臥位が認められた。その他、34.1 μg/kg/日以上の群で副腎および肺重量の増加、77.1 μg/kg/日以上の群で血小板数の減少、精嚢重量の減少、甲状腺および卵巣重量の増加、237.0 μg/kg/日群で胸腺、脾臓および前立腺重量の減少、肺の暗色巣/部位が認められた。また、34.1 μg/kg/日以上の群の雄でグルコースの減少、77.1 μg/kg/日以上の群の雌で総コレステロールの減少が認められたが、いずれも片性のみの軽微な変化であり、関連する病理組織学的変化もなかったことから、毒性学的意義のない変化と考えられた。病理組織学的検査では、237.0 μg/kg/日群で鼻腔の呼吸上皮の扁平上皮化生、杯細胞の過形成/肥大および嗅上皮の萎縮、喉頭の扁平上皮化生、肺の亜急性炎症が認められ、気道に対する刺激性を示す変化と考えられた。また、77.1 μg/kg/日以上の群で副腎皮質球状層の微小空胞の増加、精巣の精上皮の変性/萎縮、237.0 μg/kg/日群で胸腺および脾臓のリンパ系組織萎縮/減少、精巣上体の細胞残渣および精子減少/消失、副腎皮質の肥大、腎盂炎および膀胱尿路上皮過形成/炎症の頻度増加が認められた。

投与終了時に見られた変化は、4 週間の休薬によりいずれも回復性を示した。

34.1 μg/kg/日以上の群で体重減少、77.1 μg/kg/日以上の群で一般状態の変化および病理組織学的変化が認められたことから、がん原性試験の高用量は 34.1 μg/kg/日とすることが妥当と判断された。

表 2.6.6.5-1　ラットの 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験で認められた主な所見

投与量[a](μg/kg/日)		トレプロスチニル						
		0	2.60	5.26	10.6	34.1	77.1	237.0
吸入濃度 (μg/L)		0	0.76	1.53	3.10	9.91	22.52	69.01
吸入時間 (min)		55	55	55	55	55	55	55
動物数	主試験	雄 15 雌 15	雄 10 雌 10	雄 15 雌 15	雄 15 雌 15	雄 15 雌 15	雄 15 雌 15	雄 15 雌 15
	回復試験	雄 5 雌 5					雄 5 雌 5	雄 5 雌 5
死亡数		雄 0 雌 0	雄 0 雌 0	雄 0 雌 1	雄 1 雌 0	雄 1 雌 0	雄 1 雌 2	雄 2 雌 5
一般状態		−					活動性の低下、努力呼吸、閉眼、四肢の浮腫、被毛の汚れ、円背位、流涎、体温低下、食欲低下	
								横臥位
体重		−				減少（雄）		
血液学的検査		−					血小板数の減少	
血液生化学的検査		−				グルコースの減少（雄）		
							総コレステロールの減少（雌）	
器官重量		−				肺、副腎重量の増加		
							精嚢重量の減少、甲状腺、卵巣重量の増加	
								胸腺、脾臓、前立腺重量の減少
剖検		−						肺の暗色巣/部位（雄）
病理組織学的検査		−					精巣の精上皮の変性/萎縮、副腎皮質球状層の微小空胞増加	
								鼻腔の呼吸上皮の扁平上皮化生、杯細胞の過形成/肥大および嗅上皮の萎縮、喉頭の扁平上皮化生、肺の亜急性炎症、胸腺および脾臓のリンパ系組織萎縮/減少、精巣上体の細胞残渣および精子減少/消失、副腎皮質の肥大、腎盂炎・膀胱尿路上皮過形成/炎症の頻度増加（雌）
回復試験		投与終了時に認められた変化はいずれも回復性を示した。						

−：特記すべき変化なし

a：推定肺到達用量の雌雄平均値

2.6.6.5.2　ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験

（資料番号 4.2.3.4.1.2、2.6.7.10.2 項、評価資料）

ラットの 2 年間吸入投与がん原性試験で認められた主な所見を表 2.6.6.5-2 に示した。

雌雄各 60 例/群の Crl:CD® (SD) IGS BR ラットに、[redacted] ネブライザーおよび[redacted] 型吸入装置を用いて、0（空気または溶媒）またはトレプロスチニルの 5.93、12.28 および 36.90 μg/kg/日を吸入時間一定（55 分）で 104 週間反復吸入投与した。試験は生存率向上のため制限給餌下（雄は 5〜6 個/日、雌は 4〜5 個/日の固形資料（4.2 g/個）を給餌）で実施された。

104 週時の生存率は雄で 65～70%、雌で 43～55%と、対照群を含む全ての群で同程度であった。

トレプロスチニルの吸入投与は良好な忍容性を示し、トレプロスチニル投与に関連すると考えられる一般状態の変化は認められなかった。

36.90 μg/kg/日群の雄で体重が低値を示したが、雌では影響は認められなかった。血液学的検査では，トレプロスチニル投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

触知可能な腫瘤数および平均発現時期は、対照群を含む全ての群で同程度であった。

病理組織学的検査において、12.28 および 36.90 μg/kg/日群の雌で尿路上皮の過形成を伴う膀胱炎の発生率がわずかに増加したが、膀胱の腫瘍発生の増加は認められなかった。また、36.90 μg/kg/日群の雌で甲状腺 C 細胞限局性過形成がわずかに増加したが、腫瘍性病変の増加は認められなかった。

以上の結果から、Crl:CD®(SD) IGS BR ラットにトレプロスチニルを 1 日 1 回、104 週間反復吸入投与した際の忍容性は良好であり、発がん性は認められなかった。

表 2.6.6.5-2　ラットの 2 年間吸入投与がん原性試験で認められた主な所見

投与量[a] (μg/kg/日)	トレプロスチニル				
	0[b]	0[c]	5.93	12.28	36.90
吸入濃度 (μg/L)	0	0	1.80	3.72	11.13
吸入時間 (min)	55	55	55	55	55
動物数	雄 60/雌 60	雄 60/雌 60	雄 60/雌 60	雄 60/雌 60	雄 60/雌 60
死亡・瀕死期屠殺数[d]	雄 18/雌 34	雄 19/雌 34	雄 18/雌 28	雄 21/雌 31	雄 21/雌 27
生存率[d] (%)	雄 70/雌 43	雄 68/雌 43	雄 70/雌 53	雄 65/雌 48	雄 65/雌 55
触知可能腫瘤発現動物数	雄 16/雌 32	雄 21/雌 33	雄 18/雌 31	雄 15/雌 32	雄 13/雌 25
触知可能腫瘤総腫瘤数	雄 22/雌 63	雄 31/雌 60	雄 26/雌 45	雄 18/雌 58	雄 20/雌 47
平均腫瘤発現時期 (週)	雄 86/雌 83	雄 82/雌 83	雄 81/雌 81	雄 85/雌 85	雄 84/雌 86
体重	－				減少（雄）
病理組織学的検査 腫瘍性病変・非腫瘍性病変	－			膀胱の炎症および尿路上皮の過形成（雌）	
					甲状腺 C 細胞限局性過形成（雌）

－：特記すべき変化なし

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：空気対照　　c：溶媒対照　　d：104 週時

2.6.6.5.3　ラットにおける 2 年間経口投与がん原性試験

（資料番号 4.2.3.4.1.3、2.6.7.10.3 項、評価資料）

ラットの 2 年間経口投与がん原性試験で認められた主な所見を表 2.6.6.5-3 に示した。

雌雄各 60 例/群の Crl:CD(SD)ラットに、0（溶媒）またはトレプロスチニル DEA の 1、3、10 mg/kg/日を約 6 時間おきに 1 日 2 回反復強制経口投与した。投与期間は、雄の溶媒対照群、1、3 mg/kg/日群は 104 または 105 週間、雄の 10 mg/kg/日群は生存例が 15 匹まで減少したことから 93 週間、雌においては溶媒対照群の生存例が 20 匹まで減少したことから、薬物投与群を含めた全群を 88 または 89 週間とした。

生存率については、10 mg/kg/日群の雄で有意な低値を示したが、明確な死因は不明であった。雌では生存率に溶媒対照群との差は認められなかった。

一般状態、体重・体重増加量、摂餌量、血液学的パラメータおよび剖検所見に、トレプロスチニル投与による変化は認められなかった。

病理組織学的評価では、3 mg/kg/日以上の群の雌雄で膵臓の腺房細胞萎縮の発生率・程度が用量依存的に増加したが、トレプロスチニル投与に関連した腫瘍発生数増加は認められなかった。

以上の結果から、Crl:CD(SD)ラットにトレプロスチニルDEAを1日2回、2年間反復経口投与しても、発がん性を示さなかった。

表 2.6.6.5-3　ラットの 2 年間経口投与がん原性試験で認められた主な所見

投与量[a](mg/kg/日)	トレプロスチニル DEA			
	0	1	3	10
動物数	雄 60/雌 60	雄 60/雌 60	雄 60/雌 60	雄 60/雌 60
生存動物数	雄 25/雌 20	雄 15/雌 19	雄 21/雌 24	雄 15/雌 20
生存率 (%)	雄 42/雌 33	雄 25/雌 32	雄 35/雌 40	雄 25*/雌 33
腫瘍発現動物数	雄 47/雌 54	雄 47/雌 56	雄 40/雌 51	雄 31/雌 57
良性腫瘍数	雄 58/雌 77	雄 59/雌 76	雄 58/雌 75	雄 29/雌 84
悪性腫瘍数	雄 18/雌 17	雄 21/雌 22	雄 15/雌 23	雄 11/雌 28
悪性腫瘍の転移数	雄 6/雌 1	雄 5/雌 2	雄 4/雌 4	雄 5/雌 3
病理組織学的検査	－		膵臓の腺房細胞の萎縮	

－：特記すべき変化または被験物質投与による変化なし

a：投与量はトレプロスチニル量で記載した

*：p≤0.05（カプラン・マイヤー推定　溶媒対照群との pairwise comparison）

2.6.6.5.4 Tg.rasH2 マウスにおける 26 週間経口投与がん原性試験

（資料番号 4.2.3.4.2.1、2.6.7.10.4 項、評価資料）

Tg.rasH2 マウスの 26 週間経口投与がん原性試験で認められた主な所見を表 2.6.6.5-4 に示した。

雌雄各25例/群のTg.rasH2マウスに、溶媒またはトレプロスチニルDEAを雄で5.0、10.0、20.0 mg/kg/日、雌で 3.0、7.5、15.0 mg/kg/日を26週間1日1回反復経口投与した。また陽性対照群として雌雄各15例を追加し、ウレタン1000 mg/kgを投与1、3、5日に腹腔内投与した。

薬物投与群は、溶媒対照群と比較し、いずれの用量、性においても死亡数の増加は認められなかった。一般状態観察において、薬物投与全群の雌雄で自発運動減少、円背位、努力／浅速呼吸などが認められた。これらの症状には用量依存性が認められたが、一時的な変化で、次の投与までには回復していた。手保定時の観察で薬物投与群の雌で痩せや円背位などが認められたが、体重に変化はなかったことから、生物学的意義はないと考えられた。

器官重量において、20.0 mg/kg/日群の雄で脾臓重量（実重量および比重量）の増加が認められたが、溶媒対照群と比較して髄外造血の発生率が高かったためと考えられた。この他、薬物投与群で、脳や肝臓重量の有意な変化が認められたが、関連する病理組織学的変化は認められず、明確な用量依存性も認められなかった。

剖検において、トレプロスチニル投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

陽性対照群で上昇した肺および血管系腫瘍発生率を含む様々な腫瘍発症率に溶媒対照群と薬物投与群の間で差は認められなかった。

非腫瘍性病変において、20.0 mg/kg/日群の雄で腎尿細管の再生/変性の増加が認められたが、腎臓の腫瘍発生率の増加は認められなかった。

陽性対照群の死亡・瀕死期屠殺動物数、肺腫瘍および血管肉腫の発生動物数は、雌雄で有意に増加しており、本試験の妥当性が確認された。

以上の結果から、Tg.rasH2 マウスにトレプロスチニル DEA を 26 週間反復経口投与しても腫瘍性病変の発生率は増加せず、短期発がん性は陰性であった。

表 2.6.6.5-4 Tg.rasH2 マウスの 26 週間経口投与がん原性試験で認められた主な所見

投与量 (mg/kg/日)	トレプロスチニル DEA [a]				ウレタン
	0	雄 5.0/雌 3.0	雄 10.0/雌 7.5	雄 20.0/雌 15.0	1000
動物数	雄 25/雌 25	雄 25/雌 25	雄 25/雌 25	雄 25/雌 25	雄 15/雌 15
死亡・瀕死期屠殺数	雄 0/雌 0	雄 0/雌 1	雄 1/雌 2	雄 0/雌 1	雄 7#/雌 4#
肺 腺腫/腺癌	雄 2/雌 2	雄 4/雌 2	雄 1/雌 2	雄 1/雌 2	雄 15**/雌 15**
脾臓 血管肉腫/血管腫	雄 0/雌 2	雄 2/雌 0	雄 3/雌 0	雄 1/雌 3	雄 9**/雌 14**
非腫瘍性病変	－			腎尿細管の再生/変性（雄）	－

－：特記すべき変化または被験物質投与による変化なし

a：投与量はトレプロスチニル量で記載した

#：p<0.05（Fischer の exact test）、**：p<0.01（1-sided pairwise comparison）

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.6.7 局所刺激性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.6.8 その他の毒性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.6.9 考察および結論

(1) 一般状態への影響

ラットおよびイヌへの吸入投与により、両者に共通して活動性の低下、運動失調、流涎、努力呼吸、体温低下などが認められた。これらの症状は、トレプロスチニルの薬理作用である血圧低下作用および吸入投与による呼吸器への直接作用が過度に発現した影響と考えられた。また、イヌにおいては嘔吐、軟便/液状便などの消化器症状も認められた。軟便/液状便等の消化器への影響はトレプロスチニル注射液の毒性試験においてもイヌの方が強く認められており、臨床では下痢、悪心、嘔吐、上腹部痛などの消化器症状が認められている（初回申請時資料）。吸入投与毒性試験でも注射剤と同様の傾向が認められたことから、消化器への影響は吸入剤においても注意すべきと考えられた。

(2) 血球系への影響

1) 白血球

ラットの 13 週間吸入投与毒性試験では 66.6 μg/kg/日以上の群の雄で白血球数およびリンパ球数の減少が認められ、がん原性用量設定試験では 77.1 μg/kg/日以上の群の雌で白血球数およびリンパ球数の増加が認められた（2.6.7.10.1 項）。いずれも統計学的に有意な変化であったが、両試験結果の性別および変化の方向に一貫性がなかったことから、薬物投与との関連性はないと考えられた。

2) 血小板

ラットの7日間吸入投与毒性試験ならびにラットおよびイヌの13週間吸入投与毒性試験で血小板数の減少とMPVの増加が認められ、MPVを測定しなかったラットの13週間吸入投与がん原性用量設定試験では血小板数の減少が認められた。血小板数の減少とMPVの増加はトレプロスチニル注射液の一般毒性試験においても認められており、その発現機序は明らかでないものの、PGI_2誘導体に共通した変化と考えられていることから（初回申請時資料）、吸入剤においても注意すべきと考えられた。

3) 網赤血球

ラットの7日間および13週間吸入投与毒性試験で網赤血球数の増加が認められたが、赤血球系パラメータの減少は認められなかったことから、毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。

(3) 呼吸器への影響

1) 局所刺激性

ラットおよびイヌの反復吸入投与毒性試験において呼吸器（鼻腔、喉頭、肺）に対する局所刺激性を示す病理組織学的所見が認められたが、呼吸器への影響が認められると判断された用量は試験によって異なり、ラットの 2 年間吸入投与がん原性試験では呼吸器の病理組織学的

変化は認められなかった。そこで、ラットの各試験における詳細な吸入投与条件および呼吸器の病理組織学的変化について比較考察した。

ラットの 13 週間吸入投与毒性試験、13 週間吸入投与がん原性用量設定試験（以下、がん原性用量設定試験）および 2 年間吸入投与がん原性試験の投与条件と呼吸器の病理所見を表 2.6.6.9-1 に示した。13 週間吸入投与毒性試験とがん原性試験（用量設定試験含む）は、試験施設、吸入投与に用いたネブライザーおよび吸入装置、吸入時間が異なっていた。13 週間吸入投与毒性試験では、[redacted] ネブライザーおよび [redacted] 型吸入装置を用い、用量によって吸入時間可変（20、30 または 225 分）で投与したのに対して、がん原性試験では、[redacted] ネブライザーおよび [redacted] 型吸入装置を用い、吸入時間一定（55 分）で投与した。その結果、13週間吸入投与毒性試験におけるエアロゾルの空気動力学的質量中央値（MMAD）は 1.4～2 μmでがん原性試験の 0.8～1.2 μm より大きく、肺到達率（計算値）はがん原性試験の 10%よりやや低い 8%、吸入濃度は吸入時間の短い低および中用量群ではがん原性用量設定試験の同用量相当群より高く、吸入時間が長い高用量群ではがん原性用量設定試験の最高用量群より低かった。なお、いずれの試験のエアロゾルも OECD 吸入毒性試験ガイダンス（GD39、第 2 版）[1] で規定されている反復吸入投与毒性試験のエアロゾルの要件（MMAD = 2 μm 以下、幾何標準偏差（GSD）= 1～3）を満たしていた。しかしながら、エアロゾルの MMAD と肺内沈着率の関係には種差があり、MMAD が 0.1～1.5 μm では肺内沈着率はほぼ一定であるが、ラットでは MMAD が 1.5 μm 以上で上気道（鼻腔～喉頭）への沈着率が上昇し、肺内沈着率がヒトに比べて低値を示すと報告されている [2]。がん原性試験の MMAD は 0.8～1.2 μm で肺内沈着率一定の範囲内であったが、13 週間吸入投与毒性試験の MMAD は 1.4～2 μm であったため、上気道（鼻腔、喉頭）へのエアロゾル沈着率ががん原性試験より高かったものと推定された。

ラットの 13 週間吸入投与毒性試験およびがん原性用量設定試験における呼吸器の病理所見発現例数を、表 2.6.6.9-2 および表 2.6.6.9-3 に示した（2 年間吸入投与がん原性試験は呼吸器の異常所見なし）。以下に各呼吸部を分けて病理組織所見の評価・毒性学的考察を行う。

① 鼻腔

鼻腔は、前端が前庭部で主に扁平上皮、その後方が呼吸部で主に杯細胞を交えた呼吸上皮、その後方奥が嗅部で嗅上皮により構成されている。吸入毒性試験で刺激性物質を投与した場合、前庭部の扁平上皮は刺激に対する抵抗性が高いため変化は出にくく、呼吸上皮や嗅上皮に傷害が見られることが多い [3]。

トレプロスチニルの吸入投与毒性試験の内、ラットの 13 週間吸入投与毒性試験では雌雄の 7.0 μg/kg/日以上の群で杯細胞の過形成／肥大（呼吸部）が認められた。本変化は程度が極く軽度から軽度で、他の傷害性変化を伴わない場合は毒性ではないと考えられている [4]，[5]。66.6 μg/kg/日群の雄で、壊死や萎縮に至る前所見である呼吸上皮の変性／再生が 2 例に認められた。463.5 μg/kg/日群の雌雄では、呼吸上皮の変性／再生、好中球の浸潤、呼吸上皮の潰瘍等の明確な呼吸部の粘膜傷害を示し、嗅部嗅細胞の変性／再生も認められた。

がん原性用量設定試験では、雄で 10.6 μg/kg/日群から、雌で溶媒対照群も含め 5.26 μg/kg/日群から杯細胞の肥大が認められ、237.0 μg/kg/日群で発生例数が多くなった。237.0 μg/kg/日群

では傷害性・修復性変化である炎症、呼吸上皮の扁平上皮化生および嗅上皮の萎縮も認められた。

以上、粘膜の傷害性変化はラットの 13 週間吸入投与毒性試験では 66.6 μg/kg/日群の雄で僅かに、両試験の最高用量群（463.5 μg/kg/日および 237.0 μg/kg/日）で比較的明確に認められ、その変化の発生用量および質ともに両試験間で大きな違いはないと考えられた。両試験とも本用量未満の変化はがん原性用量設定試験の溶媒対照群でも認められた杯細胞過形成/肥大のみで、明らかな鼻腔粘膜傷害および炎症性変化は認められなかった。

② 喉頭

扁平上皮化生が 13 週間吸入投与毒性試験では 7.0 μg/kg/日以上の群で、がん原性用量設定試験では 237.0 μg/kg/日群で認められた。本変化については ESTP（European Society of Toxicologic Pathologists）の International Expert Workshop 等から「びまん性でなく軽度な喉頭の扁平上皮化生は適応性変化で毒性変化ではない」という見解が出されている[4),5),6),7)]。13 週間吸入投与毒性試験では用量依存的に発生数や変化の程度の上昇が認められたが、両試験とも変化の程度は極く軽度から軽度までであり、上皮の傷害性変化や炎症性変化は認められなかったことから、喉頭の扁平上皮化生は毒性変化ではないと考えられた。

③ 肺

出血は両試験でほぼ同用量（7.0 または 10.6 μg/kg/日）から認められたが、13 週間反復吸入投与毒性試験では薬物投与の影響とされたのに対して、がん原性用量設定試験では赤血球貪食マクロファージ、ヘモグロビン結晶やヘモジデリン色素が認められないことを根拠に安楽殺時の放血の影響とされた。13 週間反復吸入投与毒性試験の 7.0 μg/kg/日では極く軽度の出血のみの変化であったが、66.6 μg/kg/日以上の群では赤血球食細胞増加、亜急性炎症、間質性炎症を伴う個体があり、発生頻度、程度が増加した。（肺胞）マクロファージの集簇は、両試験とも極く軽度から軽度で色素の取り込みが認められているものもあり、がん原性用量設定試験では溶媒対照群でも認められ、被験物質肺到達物または出血の処理のために動員されたものと考えられた。また、極く軽度から軽度の炎症性変化ががん原性用量設定試験の最高用量群（237.0 μg/kg/日）で認められた。STP（Society of Txicologic Pathology）のポジションペーパーでは、「吸入毒性試験の肺において、他の毒性的肺所見を伴わない肺胞マクロファージの増加は毒性ではない」とされており、肺の急性出血は偶発所見として取り上げられている[4),8)]。13 週間反復吸入投与毒性試験では 66.6 μg/kg/日以上の群で、がん原性用量設定試験では最高用量の 237.0 μg/kg/日群で肺胞の傷害性変化と考えられる変化が認められたことから、これらが肺に対する毒性用量と考えられた。

以上の結果から、13 週間吸入投与毒性試験の 66.6 μg/kg/日群および 463 μg/kg/日群では被験物質の吸入濃度が各々44.0 μg/L および 40.3 μg/L、がん原性用量設定試験の 237.0 μg/kg/日で 69.0 μg/L と類似しており、呼吸器の傷害性変化は被験物質濃度に依存するものと考えられた。これに対してがん原性試験では、最高用量群の 36.90 μg/kg/日で吸入濃度は 11.1 μg/L と投与量、吸入濃度ともに低く、呼吸器の病理組織学的変化が認められなかったことに矛盾はないと考えられた。一方、上気道への刺激性変化（鼻腔の杯細胞の過形成/肥大、喉頭の扁平上皮化

生）は 13 週間吸入投与毒性試験の方が低用量から認められており、13 週間吸入投与毒性試験は吸入時間可変のため低用量群が相対的に高濃度であったこと、エアロゾルの MMAD が大きく上気道への沈着率が高かったことが影響したものと考えられた。

各試験の TK データを表 2.6.6.9-4 に示した。各試験とも $AUC_{0\text{-}t}$ は用量に従って上昇したが、C_{max} は 13 週間吸入投与毒性試験の高用量群（463.5 μg/kg/日）で低値を示し、同試験では用量で吸入時間を変更したため、長時間（225 分）吸入である高用量群の吸入濃度が相対的に低値になったためと考えられた。また、2 年間吸入投与がん原性試験の高用量（36.90 μg/kg/日）は、保守的（肺到達率 100%）に推定した臨床最高用量（54 μg×4 回/日）投与時の肺到達量（3.60 μg/kg/日）の約 10 倍、全身曝露量（$AUC_{0\text{-}t}$）も約 10 倍（C_{max} は 30 倍以上）であり、同群では対照群に比し有意な体重減少が認められたことから、長期吸入投与時の毒性プロファイルを検討するためには十分な用量であったと判断された。

13 週間吸入投与毒性試験とがん原性用量設定試験には投与条件の違い等による影響はあるものの、両試験における呼吸器の病理所見と発現用量に大きな矛盾はなく、がん原性用量設定試験と 2 年間吸入投与がん原性試験の投与条件は同じであることから、トレプロスチニル吸入剤の長期吸入投与時の毒性プロファイルは適切に評価されていると考えられた。1 日用量で評価した場合、呼吸器に病理組織学的な傷害性変化が認められた最低用量である 66.6 μg/kg/日は保守的に推定した臨床肺到達量（3.60 μg/kg/日）の 18.5 倍であり、がん原性試験では 36.90 μg/kg/日で傷害性変化はなく約 10 倍の安全域があるが、臨床の吸入濃度（約 75 μg/L）は傷害性がみられた濃度（約 40 μg/L）を超えていることから、呼吸器に対する刺激性（咳嗽やのどの痛み等）は臨床においても留意すべきと考えられた。しかしながら、毒性試験の吸入時間（30～225 分）に比べて臨床の吸入時間は短く（1~2 分/回、4 回/日）、吸入後の薬液は呼吸で速やかに希釈されることから、臨床で呼吸器の傷害性変化が起きる可能性は低いと考えられた。

2）呼吸機能

ラットでは 13 週間吸入投与毒性試験の 66.6 μg/kg/日以上の群で吸入投与中に分時換気量の減少が認められ、安全性薬理試験の 299.2 μg/kg/日以上の群で吸入投与中に呼吸数および分時換気量の減少がみられた（2.6.2.4 項）が、2 年間吸入投与がん原性試験の 36.90 μg/kg/日で分時換気量に変化がなかったことから、呼吸機能に関する無毒性量は 36.90 μg/kg/日と推定された。一方、イヌの 13 週間吸入投与毒性試験では呼吸機能への影響は認められなかった。ラットで呼吸機能への影響が認められなかった 36.90 μg/kg/日は、保守的に推定した臨床肺到達量（3.60 μg/kg/日）の約 10 倍に相当することから、臨床で呼吸機能への影響が認められる可能性は低いと考えられた。

（4）心筋への影響

イヌの7日間吸入投与毒性試験の高用量群（2990/2280 μg/kg/日）およびラットの13週間吸入投与毒性試験の全用量群（≥7.0 μg/kg/日）で心筋の変性および線維化が認められ、ラットでは4週間の休薬後にも同程度の変化が認められた。トレプロスチニルはPGI_2誘導体であり、正常

動物に大量投与した際には血圧低下後に交感神経反射による血圧上昇と心拍数増加を示すこと（2.6.2.4項）、実験動物およびヒトにおいて持続的な頻脈が心筋症を誘発することが報告されていることから[9)]、心筋の病理組織学的変化はトレプロスチニルの直接的な作用ではなく、血圧低下に対する交感神経反射による心拍数増加の二次的な影響と考えられた。ラットで心筋への影響が認められた7.0 μg/kg/日投与時のトレプロスチニル曝露量は、臨床最大用量投与時曝露量のC_{max}では12～20倍の乖離があるが、AUCでは1.5～2.5倍であることから（表 2.6.6.9-4）、臨床では血圧および心拍数の変化に注意すべきと考えられた。

（5） 副腎および胸腺への影響

ラットの 13 週間吸入投与毒性試験の 7.0 μg/kg/日以上の群で副腎皮質の肥大、66.6 μg/kg/日以上の群で副腎重量の増加および胸腺重量の減少、463.5 μg/kg/日群で副腎皮質球状層細胞の空胞化および胸腺リンパ系組織の萎縮/壊死が認められ、ラットの 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験では副腎重量増加が 34.1 μg/kg/日以上の群、球状層の微小空胞増加が 77.1 μg/kg/日以上の群、副腎皮質の肥大、胸腺重量の減少、胸腺リンパ系組織萎縮/減少が 273.0 μg/kg/日群で認められた。副腎皮質球状層で産生される主なホルモンはアルドステロンであるため、副腎皮質球状層の変化はトレプロスチニルの血圧低下作用に対する適応性変化と考えられた。一方、13 週間吸入投与毒性試験の 7.0 μg/kg/日以上の群で認められた副腎皮質の肥大は、高用量群以外は球状層の変化を伴っておらず、胸腺の萎縮性変化と同様、非特異的なストレス反応と考えられた。球状層への影響が認められなかった 66.6 μg/kg/日投与時のトレプロスチニル曝露量は、臨床最大用量投与時曝露量の C_{max} で 60～92 倍、AUC で 10～17 倍の乖離があることから（表 2.6.6.9-4）、臨床で副腎への影響が認められる可能性は低いものと考えられた。

（6） 精子形成への影響

ラットの 13 週間吸入投与毒性試験では、7.0 μg/kg/日以上の群で精巣の精上皮の変性、66.6 μg/kg/日以上の群で精巣上体の細胞残渣および精子減少/消失が認められ、がん原性用量設定試験では、精巣の変化は 77.1 μg/kg/日以上の群、精巣上体の変化は 237.0 μg/kg/日群で認められた。一方、トレプロスチニル注射液の一般毒性試験で同様の変化は認められず、ラットの受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験においても精子検査および受胎能に影響は認められなかった（初回申請時資料）。吸入剤と注射剤の試験結果が一致しなかった要因として、吸入投与時の C_{max} が持続投与時の C_{ss} の数十倍であったこと（表 2.6.6.9-5）も考えられたが、ラットより高用量まで投与して C_{max} も高値であったイヌの 13 週間吸入投与毒性試験（表 2.6.6.9-5）で精巣および精巣上体の変化が認められなかったことから、他の要因の関与が示唆された。すなわち、精子形成への影響が認められなかったトレプロスチニル注射液のラットおよびイヌの持続投与は無拘束、イヌの吸入投与は懸垂保定であったのに対して、影響が認められたラットの吸入投与はチューブ式ホルダー保定であった。チューブ式ホルダーによる 2 時間拘束によるストレス [10)] あるいは実験的潜在睾丸による放熱阻害 [11)] でラット精巣胚細胞のアポトーシスが増加すると報告されている。したがって、ラットの吸入投与で認められた精子

形成に及ぼす影響は、投与時にチューブ式ホルダーで長時間（20～225 分）拘束されたことによるストレスとトレプロスチニルの血管拡張作用により精巣の血流量が増加し、密閉環境で拘束されたことで放熱阻害による精巣の温度上昇が起きたことに起因するものと考えられた。精子形成への影響がみられたのはチューブ式ホルダーを用いたラットの吸入投与毒性試験に限定されており、臨床で同様の副作用が発現する可能性は低いと考えられた。

（7） 甲状腺への影響

ラットの13週間吸入投与毒性試験およびがん原性用量設定試験で甲状腺重量の増加が認められた。これらの試験では、病理組織学的変化を伴わないことから毒性学的変化とは捉えられていない。PGI_2製剤の臨床情報において、肺動脈高血圧症の患者に甲状腺機能亢進症、甲状腺腫、バセドウ病の発生報告があり、PGI_2治療との関連性が示唆されている[12),13)]。ラットの一般毒性試験で甲状腺の病理組織学的変化は見られず、甲状腺重量の増加のみの変化ではあるが、上記の文献情報からPGI_2製剤に共通したリスクである可能性もあることから、臨床での甲状腺機能亢進症の発現の有無に留意する必要があると考えられた。

また、ラットの2年間吸入投与がん原性試験において、高用量群（36.90 μg/kg/日）の雌で甲状腺C細胞の限局性過形成の増加が認められたが、腫瘍性病変の増加は認められなかった。同試験の雄および吸入投与による一般毒性試験ならびに経口投与によるがん原性試験で同様の変化は認められなかったことから、偶発的な変化と考えられた。

表 2.6.6.9-1　ラットにおける吸入毒性試験の投与条件および呼吸器病理所見

試験名	13 週間吸入投与毒性試験				13 週間吸入投与がん原性用量設定試験							2 年間吸入投与がん原性試験				
試験施設	[redacted] (旧 [redacted])				[redacted]							[redacted]				
動物種・系統	Crl:CD® (SD) IGS BR ラット				Crl:CD® (SD) IGS BR ラット							Crl:CD® (SD) IGS BR ラット				
投与開始時週齢	8 週齢				9～11 週齢							6 週齢				
ネブライザー	[redacted] ネブライザー				[redacted] ネブライザー							[redacted] ネブライザー				
吸入装置	[redacted] 型				[redacted] 型							[redacted] 型				
被験物質	溶媒	トレプロスチニル			溶媒	トレプロスチニル						空気	溶媒	トレプロスチニル		
投与量 [a] (μg/kg/日)	0	7.0	66.6	463.5	0	2.60	5.26	10.6	34.1	77.1	237.0	0	0	5.93	12.28	36.90
分時換気量 [b](L/min)	NC	0.211	0.187	0.177	0.199	0.198	0.195	0.194	0.193	0.194	0.195	0.228	0.231	0.230	0.229	0.224
吸入濃度 (μg/L)	0	7.1	44.0	40.3	0	0.76	1.53	3.10	9.91	25.5	69.0	0	0	1.80	3.72	11.1
吸入時間 (min)	225	20	30	225	55							55				
肺到達率 (%)	8				10							10				
MMAD (μm)	1.5	2.0	1.4	1.6	ND	1.0	0.9	0.9	0.8	0.9	1.2	NA	1.0	1.1	1.1	1.1
GSD	1.9	2.1	2.0	2.0	ND	1.95	1.97	2.06	2.00	2.00	2.12	NA	2.24	1.91	1.81	1.88
呼吸器病理所見 鼻腔	≥7.0：杯細胞過形成/肥大 ≥66.6：呼吸上皮変性/再生 463.5：好中球浸潤・呼吸上皮潰瘍・嗅上皮変性/再生				≥10.6：杯細胞肥大（溶媒群でも認められる変化） 237.0：扁平上皮化生・炎症・嗅上皮萎縮							正常範囲内				
喉頭	≥7.0：扁平上皮化生				237.0：扁平上皮化生（溶媒群でも認められる変化）							正常範囲内				
肺	≥7.0：出血（≥66.6 で赤血球食細胞増加、亜急性炎症、間質性炎症を伴う個体あり）、マクロファージ集簇				≥10.6：出血（溶媒群でも認められる変化） 237.0：亜急性炎症（多巣性） 溶媒群含む全群：肺胞マクロファージ							正常範囲内				

MMAD：空気動力学的質量中央値（対照群は重量法、薬物投与群は化学分析法）、GSD：幾何標準偏差、NC：算出せず、ND：測定せず、NA：該当せず

a：投与量 = 分時換気量 × 吸入濃度 × 吸入時間 × 肺到達率/100 ÷ 体重　b：分時換気量 = $0.499 \times [\text{体重 (kg)}]^{0.809}$

表 2.6.6.9-2　ラットにおける呼吸器病理所見の発現例数

13 週間吸入投与毒性試験

被験物質			溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)			0		7.0		66.6		463.5	
性別			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
鼻腔	杯細胞過形成/肥大	極く軽度	0/15	0/15	6/15	5/15	1/15	4/15	5/16	7/15
		軽度	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	5/16	0/15
	呼吸上皮の変性／再生	極く軽度	0/15	0/15	0/15	0/15	2/15	0/15	5/16	3/15
		軽度	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	9/16	11/15
		中等度	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	2/16	1/15
	好中球浸潤	極く軽度	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	6/16	1/15
	呼吸上皮の潰瘍	極軽度	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/16	1/15
		軽度	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	2/16	1/15
	嗅上皮の変性／再生	極く軽度	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/16	3/15
		軽度	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	3/16	0/15
喉頭	扁平上皮化生	極く軽度	0/15	0/15	3/15	1/15	3/15	3/15	4/16	6/15
		軽度	0/15	0/15	0/15	0/15	8/15	2/15	9/16	7/15
肺	出血	極く軽度	0/15	0/15	3/15	2/15	6/15[c d]	0/15	3/16	3/15
		軽度	0/15	0/15	0/15	0/15	1/15[c]	1/15[c e]	4/16[c]	2/15
	マクロファージ集簇[b]	極軽度	0/15	0/15	5/15	1/15	7/15[f]	1/15	10/16[f]	9/15[f]
		軽度	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	2/16	0/15

a：投与量 = 分時換気量 × 吸入濃度 × 吸入時間 × 肺到達率/100 ÷ 体重　　b：肺胞内の活性化マクロファージが増加し、時にクラスターを形成（13 週間吸入投与がん原性用量設定試験の「肺胞マクロファージ」と同質の所見と考えられる）　　c：赤血球食細胞増加を伴う　　d：亜急性炎症を伴う　　e：間質性炎症とフィブリンを伴う　　f：色素を伴う

表 2.6.6.9-3 ラットにおける呼吸器病理所見の発現例数

13 週間吸入投与がん原性用量設定試験

被験物質			溶媒		トレプロスチニル											
投与量[a] (μg/kg/日)			0		2.60		5.26		10.6		34.1		77.1		237.0	
性別			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
鼻腔#1[b]	杯細胞肥大	極く軽度	0/15	1/15	0/10	0/10	0/15	1/14	2/14	0/15	3/14	1/15	1/14	2/13	2/14	4/12
		軽度	0/15	1/15	0/10	0/10	0/15	0/14	1/14	0/15	3/14	0/15	1/14	0/13	12/14	8/12
	扁平上皮化生	極く軽度	0/15	0/15	0/10	0/10	0/15	0/14	0/14	0/15	0/14	0/15	0/14	0/13	11/14	11/12
		軽度	0/15	0/15	0/10	0/10	0/15	0/14	0/14	0/15	0/14	0/15	0/14	0/13	3/14	0/12
鼻腔#2[b]	扁平上皮化生	極く軽度	0/15	0/15	0/10	0/10	0/15	0/14	0/14	0/15	0/14	0/15	0/14	0/13	7/14	0/12
		軽度	0/15	0/15	0/10	0/10	0/15	0/14	0/14	0/15	0/14	0/15	0/14	0/13	0/14	0/12
	炎症	極く軽度	0/15	0/15	0/10	0/10	0/15	0/14	0/14	0/15	0/14	0/15	0/14	0/13	1/14	0/12
	嗅上皮の萎縮	極く軽度	0/15	0/15	0/10	0/10	0/15	0/14	0/14	0/15	0/14	0/15	0/14	0/13	0/14	2/12
		軽度	0/15	0/15	0/10	0/10	0/15	0/14	0/14	0/15	0/14	0/15	0/14	0/13	1/14	0/12
喉頭	扁平上皮化生	極く軽度	0/15	1/15	0/10	0/10	0/15	0/14	0/14	0/15	0/14	0/15	0/14	0/13	4/14	7/12
		軽度	0/15	0/15	0/10	0/10	0/15	0/14	0/14	0/15	0/14	0/15	0/14	0/13	2/14	1/12
肺	亜急性炎症（限局性）[c]	極く軽度	1/15	0/15	0/10	1/10	0/15	0/14	0/14	0/15	0/14	0/15	0/14	2/13	2/14	1/12
	亜急性炎症（多巣性）[c]	極く軽度	0/15	0/15	0/10	0/10	0/15	0/14	1/14	0/15	0/14	0/15	0/14	0/13	4/14	0/12
	出血（限局性）	極く軽度	1/15	0/15	0/10	1/10	0/15	0/14	1/14	0/15	2/14	1/15	0/14	0/13	2/14	0/12
		軽度	0/15	0/15	0/10	0/10	0/15	0/14	0/14	0/15	0/14	0/15	0/14	0/13	1/14	0/12
	出血（多巣性）	極く軽度	0/15	0/15	0/10	0/10	0/15	0/14	2/14	0/15	0/14	0/15	0/14	0/13	4/14	0/12
	肺胞マクロファージ（限局性）	極く軽度	0/15	0/15	0/10	0/10	0/15	0/14	0/14	0/15	0/14	0/15	0/14	0/13	1/14	1/12
	肺胞マクロファージ（多巣性）	極く軽度	1/15	6/15	2/10	3/10	5/15	3/14	4/14	5/15	4/14	6/15	4/14	6/13	9/14	3/12

a：投与量 = 分時換気量 × 吸入濃度 × 吸入時間 × 肺到達率/100 ÷ 体重　　b：4 横断面作製し検査した内の各断面　　c：散在性に肺胞内の単核炎症性細胞の小クラスターを認める

表 2.6.6.9-4　ラットの TK パラメータ

試験名		13 週間吸入投与毒性試験			13 週間吸入投与がん原性用量設定試験						2 年間吸入投与がん原性試験		
採血日		Day 80			Day 91						Day 358		
投与量 [a] (μg/kg/日)		7.0	66.6	463.5	2.60	5.26	10.6	34.1	77.1	237.0	5.93	12.28	36.90
臨床肺到達量比 [b]		1.9	18.5	129	0.7	1.5	2.9	9.5	21.4	65.8	1.6	3.4	10.3
C_{max} (ng/mL)	雄	15.7 [c]	122	564	5.62	13.1	19.8	58.3	150	758	8.83	19.0	54.0
	雌	26.8	78.6	212	5.01	10.3	19.1	73.7	95.0	298	6.85	19.5	39.8
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	雄	5.92	67.9	1195	3.66	8.57	13.4	50.2	105	506	5.83	12.6	38.9
	雌	9.75	40.0	505	3.49	7.06	14.8	53.4	86.4	240	5.48	13.4	32.3

a：投与量 = 分時換気量 × 吸入濃度 × 吸入時間 × 肺到達率/100 ÷ 体重

b：臨床推定肺到達量 = 臨床最大用量 (54 μg × 4 回/日) × 肺到達率 (100%)/100 ÷ 体重 (60 kg) = 3.60 μg/kg/日

c：平均値

臨床最大曝露量 (RIN-PH-103) = C_{max}：1.32 ng/mL、$AUC_{0\text{-}t}$：3.90 ng·h/mL (54 μg 単回投与時の $AUC_{0\text{-}t}$ × 4)

（8）トキシコキネティクス（TK）

1） 一般毒性試験

トレプロスチニルの吸入、持続皮下または持続静脈内投与による 13 週間反復投与時の TK パラメータを表 2.6.6.9-5 に示した。

吸入投与毒性試験の高用量群における AUC は、持続皮下投与および持続静脈内投与毒性試験（初回申請時資料）と比べてラットでほぼ同等、イヌで数倍であり、C_{max} はラットで数十倍、イヌで数百倍であった。吸入投与が高い C_{max} を示した原因は、吸入投与の投与量が推定肺到達用量であり、肺到達率としてラットで 8%、イヌで 55 または 60%で計算していること、持続皮下投与および持続静脈内投与が 24 時間持続投与であったのに対して、吸入投与はラットで 20～225 分、イヌで 6～30 分と相対的に短い投与時間であり、単位時間当たりの投与量が 24 時間持続投与よりも高くなったためと考えられた。

MD-711 の臨床最大用量（54 µg × 4 回/日）吸入時の C_{max} は 1.32 ng/mL、$AUC_{0\text{-}t}$ は 3.90 ng·h/mL であり、13 週間吸入投与毒性試験における最高用量群の C_{max} はラットで 161～427 倍、イヌで 886～1293 倍、AUC はラットで 129～306 倍、イヌで 106～136 倍に相当することから、吸入投与毒性試験の全身曝露量は十分に高いと考えられた。

表 2.6.6.9-5　13 週間反復投与毒性試験の TK パラメータ

投与経路	動物種	投与量 [a] (µg/kg/日)	C_{max} または C_{ss} (ng/mL) [b]		AUC (ng·h/mL) [c]	
			雄	雌	雄	雌
吸入	ラット	7.0	15.7 [d]	26.8	5.92	9.75
		66.6	122	78.6	67.9	40.0
		463.5	564	212	1195	505
	イヌ	107.3	44.6	54.5	18.8	21.2
		322.1	347	338	82.0	80.8
		1557.9	1706	1170	531	413
持続皮下	ラット	72	2.3	3.6	55.2	86.4
		216	10.1	8.2	242	197
		648	22.6	25.5	542	612
	イヌ	72	1.550	1.240	37.2	29.8
		144	3.023	3.467	72.6	83.2
		288	5.887	6.047	141	145
持続静脈内	ラット	72	2.48	2.68	59.5	64.3
		432	13.89	13.97	333	335
		1296	37.35	29.71	896	713
	イヌ	72	1.50	1.70	36.0	40.8
		144	3.01	3.50	72.2	84.0
		288	4.83	6.81	116	163

a：吸入投与は推定肺到達用量の雌雄平均値、持続皮下および持続静脈内投与は 24 時間投与量換算値

b：吸入投与は C_{max}、持続皮下投与および持続静脈内投与は C_{ss}

c：吸入投与は $AUC_{0\text{-}t}$、持続皮下投与および持続静脈内投与は C_{ss} × 24（計算値）

d：平均値

臨床最大曝露量 (RIN-PH-103) = C_{max}：1.32 ng/mL、$AUC_{0\text{-}t}$：3.90 ng·h/mL (54 µg 単回投与時の $AUC_{0\text{-}t}$ × 4)

2） がん原性試験

トレプロスチニルの吸入投与またはトレプロスチニル DEA の経口投与によるがん原性試験の TK パラメータを表 2.6.6.9-6 に示した。

経口投与では雌の曝露量が雄より高く、マウスでは雌雄別に用量を設定したが、低用量である雌の方が雄より高い曝露量を示した。吸入投与では、曝露量の雌雄差は認められなかった。また、経口投与の投与量は吸入投与の数百倍であるが、高用量群の C_{max} はほぼ同程度、AUC_{0-t} は約 15～30 倍であった。この原因は、両投与経路の吸収速度の差に加え、吸入投与の投与量は肺到達率 10%で計算した値であり、実際の投与量比は 30 倍程度になるためと考えられた。

MD-711 の臨床最大用量（54 μg × 4 回/日）吸入時の C_{max} は 1.32 ng/mL、AUC_{0-t} は 3.90 ng·h/mL であり、吸入投与がん原性試験の高用量群の曝露量は C_{max} で 30～41 倍、AUC_{0-t} で 8.3～10 倍であった。また、経口投与がん原性試験では、マウスで約 50～100 倍、ラットで約 150～250 倍の AUC_{0-t} まで曝露しており、トレプロスチニルのがん原性を評価するためには十分な曝露量であると考えられた。

表 2.6.6.9-6 がん原性試験の TK パラメータ

投与経路	動物種	投与量 [a]	Day	C_{max} (ng/mL) [b]		AUC_{0-t} (ng·h/mL)	
				雄	雌	雄	雌
吸入	ラット	5.93	358	8.83 [c]	6.85	5.83	5.48
		12.28		19.0	19.5	12.6	13.4
		36.90		54.0	39.8	38.9	32.3
強制経口	Tg.rasH2 マウス	雄 5.0/雌 3.0	176	5.61	6.38	36.4	63.1
		雄 10.0/雌 7.5		7.71	9.93	90.5	161
		雄 20.0/雌 15.0		17.5	28.2	185	409
	ラット	1	360	4.87	7.00	65.5	74.0
		3		15.6	21.5	191	227
		10		39.6	67.2	585	939

a：吸入投与は推定肺到達用量の雌雄平均値（μg/kg/日）、経口投与は 1 回/日（マウス）または 2 回/日（ラット）投与（mg/kg/日）

b：ラット強制経口投与の C_{max} は 2 回目投与後の値

c：平均値

臨床最大曝露量 (RIN-PH-103) = C_{max}：1.32 ng/mL、AUC_{0-t}：3.90 ng·h/mL (54 μg 単回投与時の AUC_{0-t} × 4)

2.6.6.10 参考文献一覧

1） OECD (2018). Guidance document on inhalation toxicity studies. Series on testing and assessment. No. 39 (2nd edition). ENV/JM/MONO(2009)28/REV1. OECD, Paris.

＜資料番号 4.3.5.1＞

2） 田中勇武. 特集「エアロゾル粒子の呼吸器内沈着と生体影響」. 小動物における呼吸器管内の粒子沈着とクリアランス. エアロゾル研究. 1988;3:104-10.

＜資料番号 4.3.5.2＞

3） 長野嘉介. 呼吸器系の毒性. 日薬理誌. 2009;133:87-90.

＜資料番号 4.3.5.3＞

4） Palazzi X, Burkhardt JE, Caplain H, Dellarco V, Fant P, Foster JR, et al. Characterizing “adversity” of pathology findings in nonclinical toxicity studies: results from the 4th ESTP International Expert Workshop. Toxicol Pathol. 2016;44:810-24.

＜資料番号4.3.5.4＞

5） Gopinath C, Mowat V.Toxicologic pathology forum*: opinion on designation of adverse and nonadverse histopathological findings in toxicity studies: the pathologist's dilemma. Toxicol Pathol. 2019;47:564-73.

＜資料番号4.3.5.5＞

6） Osimitz TG, Droege W, Finch JM. Toxicologic significance of histologic change in the larynx of the rat following inhalation exposure: a critical review. Toxicol Appl Pharmacol. 2007;225:229-37.

＜資料番号 4.3.5.6＞

7） Kaufmann W, Bader R, Ernst H, Harada T, Hardisty J, Kittel B, et al. 1st international ESTP expert workshop: "larynx squamous metaplasia". a re-consideration of morphology and diagnostic approaches in rodent studies and its relevance for human risk assessment. Exp Toxicol Pathol. 2009;61:591-603.

＜資料番号 4.3.5.7＞

8） Nikula KJ, McCartney JE, McGovern T, Miller GK, Odin M, Pino MV, et al. STP position paper: interpreting the significance of increased alveolar macrophages in rodents following inhalation of pharmaceutical materials. Toxicol Pathol. 2014;42:472-86.

＜資料番号 4.3.5.8＞

9） Shinbane JS, Wood MA, Jensen DN, Ellenbogen KA, Fitzpatrick AP, Scheinman MM. Tachycardia-induced cardiomyopathy: a review of animal models and clinical studies. J Am Coll Cardiol. 1997;29:709-15.

＜資料番号 4.3.5.9＞

10） Yazawa H, Sasagawa I, Ishigooka M, Nakada T. Effect of immpbilization stress on testicular germ cell apoptosis in rats. Hum Reprod. 1999;14:1806-10.

＜資料番号 4.3.5.10＞

11）Shikone T, Billig H, Hsueh AJW. Experimentally induced cryptorchidism increases apoptosis in rat testis. Biol Reprod. 1994;51:865-72.

＜資料番号 4.3.5.11＞

12）Chadha C, Pritzker M, Mariash CN. Effect of epoprostenol on the thyroid gland: enlargement and secretion of thyroid hormone. Endocr Pract. 2009;15:116-21.

＜資料番号 4.3.5.12＞

13）Menon AA, Sahay S, Braverman LE, Farber HW. Thyroid dysfunction in patients with pulmonary artery hypertension (PAH): the effect of therapies affecting the prostanoid pathway. Lung. 2019;197:761-8.

＜資料番号 4.3.5.13＞

MD-711

第 2 部（モジュール 2）
CTD の概要（サマリー）

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.7 毒性試験の概要表

持田製薬株式会社

目次

2.6.7 毒性試験の概要表 4
2.6.7.1 毒性試験 一覧表 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス トキシコキネティクス試験の一覧表 5
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 6
2.6.7.4 毒性試験 被験物質ロット一覧 7
2.6.7.5 単回投与毒性試験 8
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 10
2.6.7.7.1 ラットにおける 13 週間吸入投与毒性試験 10
2.6.7.7.2 イヌにおける 13 週間吸入投与毒性試験 19
2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験 23
2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験 23
2.6.7.10 がん原性試験 24
2.6.7.10.1 ラットにおける 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験 24
2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 32
2.6.7.10.3 ラットにおける 2 年間経口投与がん原性試験 50
2.6.7.10.4 Tg.rasH2 マウスにおける 26 週間経口投与がん原性試験 58
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 64
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験 64
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 64
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験 64
2.6.7.15 新生児を用いた試験 64
2.6.7.16 局所刺激性試験 64
2.6.7.17 その他の毒性試験 64

略号一覧

略号	英語表記	日本語表記
ALP	Alkaline phosphatase activity	アルカリホスファターゼ活性
ALT	Alanine aminotransferase activity	アラニンアミノトランスフェラーゼ活性
APTT	Activated partial thromboplastin time	活性化部分トロンボプラスチン時間
AST	Aspartate aminotransferase activity	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性
AUC_{0-t}	Area under the plasma concentration-time curve from time zero to the last measurable point	測定可能なポイントまでの血漿中薬物濃度時間曲線下面積
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中薬物濃度
DEA	Diethanolamine	ジエタノールアミン
GLP	Good laboratory practice	安全性に関する非臨床試験の実施の基準
GSD	Geometric standard deviation	幾何標準偏差
MMAD	Mass median aerodynamic diameter	空気動力学的質量中央値
MPV	Mean platelet volume	平均血小板容積
PT	Prothrombin time	プロトロンビン時間
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
TRE	Treprostinil	トレプロスチニル

2.6.7 毒性試験の概要表

2.6.7.1 毒性試験 一覧表

被験物質：トレプロスチニル、トレプロスチニル DEA[a]

試験の種類	動物種・系統	投与方法	投与期間	投与量[b]	GLP 適用	実施施設	試験番号	資料番号
単回投与毒性試験								
単回および 7 日間吸入投与試験	CD® IGS ラット	吸入	単回	65, 193, 333, 667, 1009 µg/kg	適	[redacted]	[redacted]54	4.2.3.1.1
			7 日間	0[c], 289, 415, 528 µg/kg/日				
単回および 7 日間吸入投与試験	ビーグル犬	吸入	単回	560, 840, 3190, 4800 µg/kg	適	[redacted]	[redacted]55	4.2.3.1.2
			7 日間	0[c], 530, 860, 2990/2280[d] µg/kg/日				
反復投与毒性試験								
13 週間吸入投与試験	Crl:CD® (SD) IGS BR ラット	吸入	13 週間	0[c], 7.0, 66.6, 463.5 µg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]56	4.2.3.2.1
13 週間吸入投与試験	ビーグル犬	吸入	13 週間	0[c], 107, 322, 1558 µg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]57	4.2.3.2.2
がん原性試験								
13 週間吸入投与がん原性用量設定試験	Crl:CD® (SD) IGS BR ラット	吸入	13 週間	0[c], 2.60, 5.26, 10.6, 34.1, 77.1, 237.0 µg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]02	4.2.3.4.1.1
2 年間吸入投与がん原性試験	Crl:CD® (SD) IGS BR ラット	吸入	104 週間	0[e], 0[c], 5.93, 12.28, 36.90 µg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]76	4.2.3.4.1.2
2 年間経口投与がん原性試験	Crl:CD (SD)ラット	強制経口	104 週間	0[c], 1, 3, 10 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]00010	4.2.3.4.1.3
26 週間経口投与がん原性試験	Tg.rasH2 マウス	強制経口	26 週間	雄：陽性対照, 0[c], 5.0, 10.0, 20.0 mg/kg/日 雌：陽性対照, 0[c], 3.0, 7.5, 15.0 mg/kg/日	適	[redacted]	[redacted]	4.2.3.4.2.1

CD® IGS ラット＝Crl:CD® (SD) IGS BR ラット＝Crl:CD (SD)ラット、[redacted]:[redacted]（現[redacted]；カナダ）、[redacted]:[redacted]（カナダ）、[redacted]（米国）、[redacted]:[redacted]（現[redacted]；米国）

a：吸入投与はトレプロスチニル、経口投与はトレプロスチニル DEA　b：吸入投与は推定肺到達用量の雌雄平均値、経口投与は 1 回/日（マウス）または 2 回/日（ラット）　c：溶媒対照　d：投与 4 日に投与量（吸入時間）変更　e：空気対照

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

被験物質：トレプロスチニル、トレプロスチニル DEA[a]

試験の種類	動物種・系統	投与方法	投与量 [b]	GLP 適用	試験番号	資料番号
13 週間投与毒性試験	Crl:CD® (SD) IGS BR ラット	吸入	7.0, 66.6, 463.5 µg/kg/日	適	[redacted]56	4.2.3.2.1
13 週間投与毒性試験	ビーグル犬	吸入	107, 322, 1558 µg/kg/日	適	[redacted]57	4.2.3.2.2
13 週間投与がん原性用量設定試験	Crl:CD® (SD) IGS BR ラット	吸入	2.60, 5.26, 10.6, 34.1, 77.1, 237.0 µg/kg/日	適	[redacted]02	4.2.3.4.1.1
2 年間投与がん原性試験	Crl:CD® (SD) IGS BR ラット	吸入	5.93, 12.28, 36.90 µg/kg/日	適	[redacted]76	4.2.3.4.1.2
2 年間投与がん原性試験	Crl:CD (SD)ラット	強制経口	1, 3, 10 mg/kg/日	適	[redacted]00010	4.2.3.4.1.3
26 週間投与がん原性試験	Tg rasH2 マウス	強制経口	雄：5.0, 10.0, 20.0 mg/kg/日 雌：3.0, 7.5, 15.0 mg/kg/日	適	[redacted]	4.2.3.4.2.1

CD® IGS ラット＝Crl:CD® (SD) IGS BR ラット＝Crl:CD (SD)ラット

a：吸入投与はトレプロスチニル、経口投与はトレプロスチニル DEA　　b：吸入投与は推定肺到達用量の雌雄平均値、経口投与は 1 回/日（マウス）または 2 回/日（ラット）

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

被験物質：トレプロスチニル、トレプロスチニル DEA[a]

投与量[b] (μg/kg/日)	投与経路	投与期間	性別	C_{max} (ng/mL)				AUC_{0-t} (ng·h/mL)[c]			
				マウス	ラット	イヌ	ヒト	マウス	ラット	イヌ	ヒト
3.60[d]	吸入	単回	男女				1.32[e]				3.90[e]
2.60	吸入	91 日間	雄/雌		5.62/5.01				3.66/3.49		
5.26	吸入	91 日間	雄/雌		13.1/10.3				8.57/7.06		
5.93	吸入	358 日間	雄/雌		8.83/6.85				5.83/5.48		
7.0	吸入	80 日間	雄/雌		15.7/26.8				5.92/9.75		
10.6	吸入	91 日間	雄/雌		19.8/19.1				13.4/14.8		
12.28	吸入	358 日間	雄/雌		19.0/19.5				12.6/13.4		
34.1	吸入	91 日間	雄/雌		58.3/73.7				50.2/53.4		
36.90	吸入	358 日間	雄/雌		54.0/39.8				38.9/32.3		
66.6	吸入	80 日間	雄/雌		122/78.6				67.9/40.0		
77.1	吸入	91 日間	雄/雌		150/95.0				105/86.4		
107.3	吸入	80 日間	雄/雌			44.6/54.5				18.8/21.2	
237.0	吸入	91 日間	雄/雌		758/298				506/240		
322.1	吸入	80 日間	雄/雌			346.7/337.7				82.0/80.8	
463.5	吸入	80 日間	雄/雌		564/212				1195/505		
1557.9	吸入	80 日間	雄/雌			1706.4/1169.5				531/412	
1000	強制経口	360 日間	雄/雌		4.87/7.00				65.5/74.0		
3000	強制経口	360 日間	雄/雌		15.6/21.5				191/227		
5000/3000	強制経口	176 日間	雄/雌	5.61/6.38				36.4/63.1			
10000/7500	強制経口	176 日間	雄/雌	7.71/9.93				90.5/161			
10000	強制経口	360 日間	雄/雌		39.6/67.2				585/939		
20000/15000	強制経口	176 日間	雄/雌	17.5/28.2				185/409			

a：吸入投与はトレプロスチニル、経口投与はトレプロスチニル DEA　b：吸入投与は推定肺到達用量の雌雄平均値、経口投与は 1 回/日（マウス）または 2 回/日（ラット）　c：AUC_{0-t} (ng·h/mL) = AUC_{0-t} (ng·min/mL) ÷ 60　d：臨床推定肺到達用量 = 臨床最大用量 (54 μg × 4 回/日) × 肺到達率 (100%)/100 ÷ 体重 (60 kg)

e：海外臨床薬理試験（RIN-PH-103）における 54 μg 単回投与時の C_{max} および AUC_{0-t} (0.975 ng·h/mL) × 4

2.6.7.4 毒性試験 被験物質ロット一覧

使用したロット（原体）

被験物質：トレプロスチニル、トレプロスチニル DEA [a]

被験物質	ロット番号	純度 (%)	不純物規格値 (%)								試験番号	試験の種類
TRE	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]54、[redacted]55 [redacted]56、[redacted]57	ラット、イヌ単回、7 日間および 13 週間吸入投与毒性試験
TRE	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]56、[redacted]57	ラット、イヌ 13 週間吸入投与毒性試験
TRE	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]57	イヌ 13 週間吸入投与毒性試験
TRE	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]02	ラット 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験
TRE	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]76	ラット 2 年間吸入投与がん原性試験
TRE-DEA	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]00010	ラット 2 年間経口投与がん原性試験
TRE-DEA	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	Tg.rasH2 マウス 26 週間経口投与がん原性試験

ND: Not detected.

a：吸入投与はトレプロスチニル (TRE)、経口投与はトレプロスチニル DEA (TRE-DEA)

2.6.7.5 単回投与毒性試験

被験物質：トレプロスチニル

動物種/系統	投与方法/溶媒	投与量[a] (μg/kg)	性別/動物数	概略の致死量	特記すべき所見	試験番号
CD® IGS ラット	吸入/クエン酸緩衝液（120～360 分吸入）[b]	65, 193, 333, 667, 1009	雌雄各 3/群	>1009 μg/kg	≥667 μg/kg：努力呼吸、呼吸数増加、衰弱	[redacted]54
ビーグル犬	吸入/クエン酸緩衝液（60～90 分吸入）[c]	560, 840, 3190, 4800	雌雄各 1（漸増投与）[d]	>4800 μg/kg	≥3190 μg/kg：皮膚の発赤[e]、活動性低下 4800 μg/kg：体温低下、横臥位、嘔吐、運動失調	[redacted]55

CD® IGS ラット＝Crl:CD® (SD) IGS BR ラット＝Crl:CD (SD)ラット

a：推定肺到達用量の雌雄平均値

b：[redacted] ネブライザーおよび [redacted] 型吸入装置を用いて吸入時間可変で吸入投与

c：[redacted] ネブライザーおよび口腔鼻マスクを用いて吸入時間可変で吸入投与

d：漸増投与は 24 時間以上の間隔で実施

e：被験物質の薬理作用による変化のため毒性としない

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

被験物質：トレプロスチニル

動物種/系統	投与方法/溶媒	投与期間	投与量[a] (μg/kg/日)	性別/動物数	無毒性量	特記すべき所見	試験番号
CD® IGS ラット	吸入/クエン酸緩衝液（120～240 分吸入）[b]	7 日間	0[d], 289, 415, 528	雌雄各 5/群	<289 μg/kg/日	≥289：流涎、網状赤血球数の増加、肺重量の増加、胸腺重量の減少（雄）、肝臓重量の増加（雌）、肺の暗赤色部/暗赤色巣/陥凹部（雌）、鼻腔の呼吸上皮の過形成/扁平上皮化生、杯細胞の過形成/肥大（雄）、喉頭の過形成/扁平上皮化生、肺の出血、胸腺の萎縮（雄） ≥415：MPV の増加 528：体重増加量の減少・血小板数の減少（雄）、胸腺重量の減少・胸腺の萎縮（雌）	[redacted]54
ビーグル犬	吸入/クエン酸緩衝液（15～60 分吸入）[c]	7 日間	0[d], 530, 860, 2990/2280[e]	雌雄各 2/群	<530 μg/kg/日	≥530：軟便/液状便、体重増加量減少 ≥860：嘔吐、流涎、振戦、運動失調、心拍数の増加、鼻腔の呼吸上皮の再生 2990/2280：皮膚の発赤[f]、衰弱、鼻腔の亜急性炎症・潰瘍・呼吸上皮の扁平上皮化生（雌）、心筋変性または壊死	[redacted]55

CD® IGS ラット＝Crl:CD® (SD) IGS BR ラット＝Crl:CD (SD)ラット

a：推定肺到達用量の雌雄平均値

b：[redacted] ネブライザーおよび [redacted] 型吸入装置を用いて吸入時間可変で吸入投与

c：[redacted] ネブライザーおよび口腔鼻マスクを用いて吸入時間可変で吸入投与

d：溶媒対照

e：投与 4 日に投与量（吸入時間）変更

f：被験物質の薬理作用による変化のため毒性としない

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 ラットにおける 13 週間吸入投与毒性試験

報告書の題名：A 13-week inhalation toxicity study of a nebulized aerosol formulation in the albino rat followed by a 4-week recovery period

試験番号：[redacted]56　　資料番号：4.2.3.2.1　　GLP 適用：適

被験物質：トレプロスチニル　　溶媒／投与形態：クエン酸緩衝液／エアロゾル

動物種／系統：Crl:CD® (SD) IGS BR ラット　　投与開始時週齢：8 週齢

投与期間：13 週間　　休薬期間：4 週間

初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日

投与方法：[redacted] ネブライザーおよび[redacted] 型吸入装置を用いて吸入投与

特記事項：用量によって吸入時間を可変とした

無毒性量：7.0 μg/kg/日未満

被験物質	溶媒	トレプロスチニル					
投与量 [a] (μg/kg/日)	0	7.0		66.6		463.5	
分時換気量 [b] (L/min)	NC	雄：0.253、雌：0.169		雄：0.214、雌：0.160		雄：0.196、雌：0.158	
吸入濃度 (μg/L)	0	7.1		44.0		40.3	
吸入時間 (min)	225	20		30		225	
肺到達率 (%)	8	8		8		8	
MMAD (μm) [c] ± GSD	1.5 ± 1.9	2.0 ± 2.1		1.4 ± 2.0		1.6 ± 2.0	
トキシコキネティクス	投与 1、30 および 80 日の投与終了後 0、5、15、30、75、105 分に無麻酔で頸静脈から採血（2 ポイント/匹）						
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数		9	9	9	9	9	9
C_{max} (ng/mL) 1 日		13.3 [e]	10.8	131.4	107.1	185.0	266.3
C_{max} (ng/mL) 30 日		23.0	19.1	158.4	104.2	279.0	169.0
C_{max} (ng/mL) 80 日		15.7	26.8	121.5	78.6	563.7	212.0
AUC_{0-t} (ng·h/mL) [d] 1 日		5.40	4.88	63.5	45.6	460	608
AUC_{0-t} (ng·h/mL) [d] 30 日		8.72	7.18	75.9	47.2	615	433
AUC_{0-t} (ng·h/mL) [d] 80 日		5.92	9.75	67.9	40.0	1195	505

CD® IGS ラット＝Crl:CD® (SD) IGS BR ラット＝Crl:CD (SD)ラット　　NC：算出せず　　（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値 =分時換気量 × 吸入濃度 × 吸入時間 × 肺到達率/100 ÷ 体重　　b：計算値（$0.499 \times [\text{体重 (kg)}]^{0.809}$）　　c：対照群は重量法、薬物投与群は化学分析法　　d：AUC_{0-t} (ng·h/mL) = AUC_{0-t} (ng·min/mL) ÷ 60　　e：平均値

2.6.7.7.1 ラットにおける 13 週間吸入投与毒性試験　　試験番号：[redacted]56（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)		0		7.0		66.6		463.5	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	主試験	15	15	15	15	15	15	16[b]	15
	回復試験	5	5					4[b]	5
死亡動物数		0	0	1[c]	0	0	0	2	2[c]
一般状態	投与期間中	－	－	－	－	－	－	＋	＋
	回復終了時	－	－	NA	NA	NA	NA	－	－
体重 (g)	85 日	507.5[d]	293.8	509.0	292.2	407.2**	272.1*	346.8**	270.6**
	119 日	566.2	318.4	NA	NA	NA	NA	477.0**	285.0
体重増加量 (g)	1~85 日	238.4	107.4	197.4	84.1**	151.6**	83.1**	84.4**	82.6**
	85~119 日	57.0	31.0	NA	NA	NA	NA	109.0*	17.8
摂餌量 (g/日)	85~91 日	28	21	26	20*	22**	19**	23**	20*
	113~119 日	31	25	NA	NA	NA	NA	31	23
分時換気量	投与開始前	0.367	0.225	0.299	0.236	0.361	0.291	0.250	0.334*
(L/min)	1 週 吸入前	0.350	0.244	0.419	0.285	0.317	0.281	0.331	0.275
	吸入中	0.317	0.200	0.285	0.204	0.204	0.184	0.181	0.168
	6 週 吸入前	0.489	0.310	0.538	0.522*	0.346	0.308	0.314*	0.334
	吸入中	0.380	0.208	0.367	0.283	0.244*	0.164	0.220**	0.210
	13 週 吸入前	0.418	0.408	0.351	0.312	0.305	0.317	0.287	0.213*
	吸入中	0.327	0.297	0.442	0.247	0.207*	0.180**	0.205*	0.104**

－：特記すべき変化なし　＋：体温低下、運動失調、部分閉眼、被毛粗剛、皮膚の赤色化、努力呼吸、活動性・筋緊張低下　NA：該当せず　（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　b：回復群で死亡した雄 2 例（Nos. 4017、4020）の剖検所見および病理所見は主試験群で集計し、主試験群の雄 1 例（No.4008）を投与終了時に回復群へ移動した。　c：低用量群の雄 1 例（No. 2002）と高用量群の雌 1 例（No. 4505）は剖検で採血部位の出血痕が認められたことから、採血の影響による死亡と考えられた。　d：平均値

*：p≤0.05、**：p≤0.01（Dunnett または Dunn の検定）

2.6.7.7.1 ラットにおける 13 週間吸入投与毒性試験　　試験番号：[redacted]56（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)		0		7.0		66.6		463.5	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価例数 (4 週/13 週/回復)		20/15/5	20/15/5	15/13	15/15	15/13	15/15	15/13/4	15/12/5
眼科学的検査		—	—	—	—	—	—	—	—
尿検査		—	—	—	—	—	—	—	—
血液学的検査		4 週は無麻酔で頸静脈から採血、13 週と回復は麻酔下で腹部大動脈から採血							
赤血球数 ($\times10^6$/μL)	4 週	8.335[b]	8.099	8.493	8.061	8.623	8.071	8.705*[c]	8.069
	13 週	8.606	7.739	8.585	7.997	8.698	8.079	8.145	7.410
	回復	8.670	7.860	NA	NA	NA	NA	7.890**[c]	7.448*[c]
ヘモグロビン量 (g/dL)	4 週	15.91	15.77	16.16	15.37	16.63*[c]	15.72	17.17**[c]	16.30
	13 週	15.11	14.25	15.16	14.55	15.64	15.03**	15.25	14.64
	回復	15.10	14.46	NA	NA	NA	NA	14.30*[c]	14.50
ヘマトクリット値 (%)	4 週	49.02	47.06	48.58	45.51	50.41	46.77	52.91**[c]	49.38
	13 週	45.61	42.43	44.69	42.90	46.66	44.43	46.56	43.25
	回復	45.82	42.52	NA	NA	NA	NA	43.00	42.82
白血球数 ($\times10^3$/μL)	4 週	11.162[b]	9.258	10.539	9.436	10.131	8.827	8.689**	8.063
	13 週	6.359	3.681	5.442	3.508	4.372**	3.013	3.908**	3.135
	回復	6.622	3.882	NA	NA	NA	NA	6.220	4.460
リンパ球数 ($\times10^3$/μL)	4 週	9.695	8.223	8.711	7.867	8.883	7.878	6.949**	6.666
	13 週	5.265	3.023	4.296	2.945	3.356**	2.609	2.911**	2.475
	回復	5.308	3.054	NA	NA	NA	NA	4.928	3.834
網赤血球数 ($\times10^3$/μL)	4 週	174.11	144.17	148.79*	148.20	162.80	132.49	289.26**	245.16**
	13 週	165.00	171.89	152.48	165.49	143.52	152.89	196.42	228.83*
	回復	172.40	153.14	NA	NA	NA	NA	181.23	114.72**

（続く）

－：特記すべき変化なし　　NA：該当せず

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：平均値　　c：生理的変動範囲内と考えられた変化

*：$p \leq 0.05$、**：$p \leq 0.01$（Dunnett または Dunn の検定）

2.6.7.7.1 ラットにおける 13 週間吸入投与毒性試験 試験番号：[redacted]56（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)		0		7.0		66.6		463.5	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価例数 (4 週/13 週/回復)		20/15/5	20/15/5	15/13	15/15	15/13	15/15	15/13/4	15/12/5
血液学的検査		4 週は無麻酔で頸静脈から採血、13 週と回復は麻酔下で腹部大動脈から採血							
血小板数 ($\times 10^3/\mu L$)	4 週	1145.8	1213.0	1048.7*[c]	1210.8	1049.4*[c]	1075.9	792.7**	1027.5**[c]
	13 週	1032.5	1098.1	945.0	1115.9	932.5	1066.1	740.7**	889.8**
	回復	981.0	1052.0	NA	NA	NA	NA	1198.3**	1106.0
MPV (fL)	4 週	8.71	9.01	7.01**	7.29**	8.54	8.72	9.90**	9.39
	13 週	7.94	8.21	7.48	7.05**	8.11	8.18	8.98*	8.89**
	回復	7.26	7.54	NA	NA	NA	NA	7.68	7.44
PT (sec)	13 週	15.233	14.029	15.392	13.687	15.414	14.267	16.143**[c]	14.773**[c]
	回復	14.810	13.540	NA	NA	NA	NA	14.375	14.140
APTT (sec)	13 週	21.167	19.057	20.875	18.980	21.914	18.867	20.029	17.146*[c]
	回復	21.280	19.600	NA	NA	NA	NA	19.325	18.640

NA：該当せず （続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値 b：平均値 c：生理的変動範囲内と考えられた変化

*：p≤0.05、**：p≤0.01（Dunnett または Dunn の検定）

2.6.7.7.1 ラットにおける 13 週間吸入投与毒性試験 試験番号：[redacted]56（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)		0		7.0		66.6		463.5	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価例数 (4 週/13 週/回復)		20/15/5	20/15/5	15/13	15/15	15/13	15/15	20/13/4	20/12/5
血液生化学的検査		4 週は無麻酔で頸静脈から採血、13 週と回復は麻酔下で腹部大動脈から採血							
AST (U/L)	4 週	147.3[b]	129.1	132.1*[c]	118.1	111.0**[c]	123.3	103.5**[c]	97.9**[c]
	13 週	175.9	159.8	182.1	175.9	150.5	145.4	285.1**[d]	129.8*[c]
	回復	151.6	167.6	NA	NA	NA	NA	138.5	124.0
ALT (U/L)	4 週	42.0	37.2	40.5	33.5	35.1**[c]	34.4	36.1**[c]	29.0**[c]
	13 週	44.9	48.6	41.4	50.8	42.3	34.5*[c]	91.1[d]	33.4*[c]
	回復	40.0	74.2	NA	NA	NA	NA	30.5	25.0*[c]
ALP (U/L)	4 週	185.9	124.3	169.1	97.7	148.7*[c]	104.5	252.6**[c]	185.4**[c]
	13 週	78.8	42.4	83.4	36.5	67.5	40.3	134.3**[c]	93.5**[c]
	回復	70.4	39.4	NA	NA	NA	NA	71.5	53.8
グルコース (mg/dL)	4 週	90.4	92.4	89.5	99.9	95.1	97.9	74.3**[c]	88.8
	13 週	149.9	144.1	134.1	146.6	135.3	135.6	109.6**[c]	117.1**[c]
	回復	152.6	139.8	NA	NA	NA	NA	133.8*[c]	132.2
総コレステロール (mg/dL)	4 週	58.5	81.1	60.5	77.9	72.9**[c]	87.1	78.6**[c]	71.0
	13 週	57.5	75.7	57.2	80.5	62.5	79.0	68.7*[c]	55.5*[c]
	回復	56.4	91.2	NA	NA	NA	NA	61.0	80.6
トリグリセリド (mg/dL)	4 週	41.8	27.3	43.1	30.6	36.9	37.6**[c]	39.1	36.5**[c]
	13 週	39.9	32.1	43.9	41.5	28.3*	36.3	30.5	32.5
	回復	72.8	41.6	NA	NA	NA	NA	44.3	45.4

NA：該当せず （続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値 b：平均値 c：生理的変動範囲内と考えられた変化 d：雄 1 例（No.4004）の異常高値（他の個体の約 20 倍）によるもの

*：p≤0.05、**：p≤0.01（Dunnett または Dunn の検定）

2.6.7.7.1 ラットにおける 13 週間吸入投与毒性試験 試験番号：[redacted]56（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)		0		7.0		66.6		463.5	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価例数 (4 週/13 週/回復)		20/15/5	20/15/5	15/13	15/15	15/13	15/15	20/13/4	20/12/5
血液生化学的検査		4 週は無麻酔で頸静脈から採血、13 週と回復は麻酔下で腹部大動脈から採血							
総タンパク質 (g/dL)	4 週	6.59[b]	7.27	6.71	7.31	6.97**[c]	7.13	7.24**[c]	7.05
	13 週	6.28	6.93	6.28	7.06	6.43	6.82	6.44	6.40**[c]
	回復	6.08	6.92	NA	NA	NA	NA	6.25	6.42
アルブミン (g/dL)	4 週	4.44	5.04	4.49	5.04	4.71**[c]	4.92	4.65**[c]	4.62**[c]
	13 週	3.93	4.81	3.87	4.73	4.11	4.62	3.82	3.98**[c]
	回復	3.72	4.68	NA	NA	NA	NA	3.73	4.04**[c]
グロブリン (g/dL)	4 週	2.15	2.23	2.23	2.27	2.26	2.21	2.59**[c]	2.43**[c]
	13 週	2.35	2.13	2.41	2.33*	2.32	2.20	2.62	2.42**[c]
	回復	2.36	2.24	NA	NA	NA	NA	2.53*[c]	2.38
Ca (mg/dL)	4 週	10.83	11.07	10.75	11.23	11.19**[c]	11.18	11.58**[c]	11.73**[c]
	13 週	10.36	10.67	9.94**	10.59	10.40	10.62	10.36	10.30*[c]
	回復	10.10	10.50	NA	NA	NA	NA	9.98	10.24
無機リン (mg/dL)	4 週	9.397	8.526	8.959	7.833	8.794	8.163	8.572*[c]	8.421
	13 週	7.366	7.025	7.234	6.701	7.779	7.499	8.367	7.522
	回復	7.110	7.244	NA	NA	NA	NA	9.490**[c]	7.764
Na (mmol/L)	4 週	142.2	140.8	138.8**	137.2**	142.4	140.3	143.8**[c]	143.9**[c]
	13 週	144.9	143.7	146.1	144.9	144.8	144.5	146.6	144.9
	回復	142.8	140.6	NA	NA	NA	NA	142.0	141.8
Cl (mmol/L)	4 週	99.2	98.4	97.2**	96.1**	99.5	100.1**[c]	99.6	100.7**[c]
	13 週	103.5	104.2	103.6	100.9**	104.7	103.6	102.4	102.7
	回復	100.0	97.6	NA	NA	NA	NA	99.5	100.6

NA：該当せず （続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値 b：平均値 c：生理的変動範囲内と考えられた変化 *：p≤0.05、**：p≤0.01（Dunnett または Dunn の検定）

2.6.7.7.1 ラットにおける 13 週間吸入投与毒性試験 試験番号：[redacted]56（続き）

被験物質			溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)			0		7.0		66.6		463.5	
性別			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価例数 (13 週/回復)			15/5	15/5	14	15	15	15	14/4	13/5
器官重量										
副腎	13 週	(mg)	57.7[b]	65.4	62. 6	70.6	68.8*	74.1	85.7**	89.0**
		(mg%)	12.4	24.7	13.4	26.4	18.4**	30.0**	28.6**	36.5**
	回復	(mg)	61.8	67.1	NA	NA	NA	NA	61.6	76.3
		(mg%)	11.6	22.7	NA	NA	NA	NA	13.9	28.8
肺	13 週	(g)	1.55	1.22	1.64	1.28	1.50	1.28	1.78**	1.46**
		(g%)	0.333	0.456	0.350	0.480	0.401**	0.519**	0.591**	0.604**
	回復	(g)	1.67	1.28	NA	NA	NA	NA	2.18*	1.38
		(g%)	0.310	0.436	NA	NA	NA	NA	0.493*	0.523*
精巣	13 週	(g)	3.38	NA	3.52	NA	2.98	NA	2.57**	NA
		(g%)	0.730	NA	0.754	NA	0.787	NA	0.851	NA
	回復	(g)	3.50	NA	NA	NA	NA	NA	2.97	NA
		(g%)	0.651	NA	NA	NA	NA	NA	0.673	NA
胸腺	13 週	(mg)	221	201	199	187	159**	180	126**	138**
		(mg%)	47.1	75.7	42.2	70.1	42.4	72.9	42.5	57.8
	回復	(mg)	203	207	NA	NA	NA	NA	418**	304
		(mg%)	37.7	69.4	NA	NA	NA	NA	93.3*	115.2*
甲状腺	13 週	(mg)	23.7	19.6	24.7	17. 7	24.6	21. 7	25.9	26.2**
		(mg%)	5.13	7.37	5.30	6.64	6.54*	8.72*	8.52**	10.85**
	回復	(mg)	28.4	19.6	NA	NA	NA	NA	26.8	22.6
		(mg%)	5.30	6.61	NA	NA	NA	NA	5.98	8.63

NA：該当せず

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：平均値

*：p≤0.05、**：p≤0.01（Dunnett または Dunn の検定）

2.6.7.7.1 ラットにおける 13 週間吸入投与毒性試験　　試験番号：[redacted]56（続き）

被験物質			溶媒		トレプロスチニル					
投与量 (μg/kg/日)[a]			0		7.0		66.6		463.5	
性別			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価例数[b] (13 週/回復)			15/5	15/5	15	15	15	15	16/4	15/5
剖検所見[c]										
副腎	肥大	13 週	0[d]	0	0	0	0	1	1	1
	退色	13 週	0	0	0	0	0	1	6	6
肺	暗赤色巣/部位	13 週	0	0	2	1	3	3	7	3
精巣	小型	13 週	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA
		回復	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
肝臓	退色巣/部位	13 週	0	0	0	0	0	0	1[e]	0
病理組織学的所見[c]										
心臓	心筋変性/線維化	13 週	0	0	2	5	2	4	8	3
		回復	0	0	NA	NA	NA	NA	3	2
副腎	皮質肥大	13 週	0	0	0	4	1	3	12	12
		回復	0	0	NA	NA	NA	NA	0	2
	球状層空胞化	13 週	0	0	0	0	0	0	4	4
胸腺	リンパ系組織萎縮/壊死	13 週	0	0	0	0	0	0	11	4
精巣	精上皮変性	13 週	0	NA	2	NA	2	NA	9	NA
		回復	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
精巣上体	精子減少/消失	13 週	0	NA	0	NA	2	NA	7	NA
肝臓	多巣性壊死/炎症	13 週	0	0	0	0	0	0	1[e]	0

NA：該当せず　　（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：死亡例含む　　c：回復群の記載がない所見は、回復群では異常なし　　d：例数　　e：AST/ALT 異常高値個体（No. 4004）

2.6.7.7.1 ラットにおける 13 週間吸入投与毒性試験　　試験番号：[redacted]56（続き）

被験物質			溶媒		トレプロスチニル					
投与量 (μg/kg/日)[a]			0		7.0		66.6		463.5	
性別			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価例数[b] (13 週/回復)			15/5	15/5	15	15	15	15	16/4	15/5
病理組織学的所見（呼吸器）[c]										
鼻腔	杯細胞過形成/肥大	13 週	0[d]	0	6	5	1	4	10	7
		回復	0	0	NA	NA	NA	NA	4	0
	呼吸上皮変性/再生	13 週	0	0	0	0	2	0	16	15
	呼吸上皮潰瘍	13 週	0	0	0	0	0	0	2	2
	好中球浸潤	13 週	0	0	0	0	0	0	6	1
	嗅上皮変性/再生	13 週	0	0	0	0	0	0	3	3
喉頭	扁平上皮化生	13 週	0	0	3	1	11	5	13	13
		回復	0	0	NA	NA	NA	NA	2	2
肺	出血	13 週	0	0	3	2	7[e]	1[e]	7[e]	5
		回復	0	0	NA	NA	NA	NA	2	0
	マクロファージ集簇[f]	13 週	0	0	5	1	7[g]	1	12[g]	9[g]
		回復	0	0	NA	NA	NA	NA	3	1

NA：該当せず

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　b：死亡例含む　c：回復群の記載がない所見は、回復群では異常なし　d：例数　e：赤血球食細胞増加、亜急性炎症、間質性炎症とフィブリン沈着を伴う個体あり　f：肺胞内の活性化マクロファージが増加し、時にクラスターを形成　g：色素を伴う像を示す個体あり

2.6.7.7.2 イヌにおける 13 週間吸入投与毒性試験

報告書の題名：A 13-week inhalation toxicity study of a nebulized aerosol formulation in the beagle dog followed by a 4-week recovery period
試験番号：[redacted]57　　資料番号：4.2.3.2.2　　GLP 適用：適
被験物質：トレプロスチニル　　溶媒／投与形態：クエン酸緩衝液／エアロゾル
動物種／系統：ビーグル犬　　投与開始時週齢：7 ヵ月齢
投与期間：13 週間　　休薬期間：4 週間
初回投与年月日：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日
投与方法：[redacted] ネブライザーおよび口腔鼻マスクを用いて吸入投与
特記事項：用量によって吸入時間可変とした
無毒性量：107.3 μg/kg/日

被験物質	溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		107.3		322.1		1557.9	
分時換気量[b] (L/min)	雄：4.60、雌：3.55		雄：3.42、雌：4.40		雄：3.90、雌：3.38		雄：3.66、雌：3.09	
吸入濃度 (μg/L)	0		25		224		224	
吸入時間 (min)	30		15		6		30	
肺到達率 (%)	NC		60		55		55	
MMAD (μm)[c] ± GSD	1.3 ± 2.2		1.7 ± 2.2		1.6 ± 2.9		1.6 ± 2.9	
トキシコキネティクス	投与 1 日、6 週および 13 週の投与前、投与中 1 または 2 回、投与終了後 0、5、15、30、75、105 分に採血							
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	5	5	3	3	3	3	5	5[d]
C_{max} (ng/mL) 1 日			31.8[f]	18.8	143.6	143.3	627.4	622.2
C_{max} (ng/mL) 6 週			58.8	65.0	523.7	340.0	1326.8	1494.0
C_{max} (ng/mL) 13 週			44.6	54.5	346.7	337.7	1706.4	1169.5
AUC_{0-t} (ng·h/mL)[e] 1 日			14.7	10.1	57.7	57.4	509.2	476.3
AUC_{0-t} (ng·h/mL)[e] 6 週			19.0	21.7	110.7	93.6	647.0	665.3
AUC_{0-t} (ng·h/mL)[e] 13 週			18.8	21.2	82.0	80.8	530.9	412.5

MMAD：対照群は重量法、薬物投与群は化学分析法　　NC：算出せず　　（続く）
a：推定肺到達用量の雌雄平均値 =分時換気量 × 吸入濃度 × 吸入時間 × 肺到達率/100 ÷ 体重　　b：実測値（投与前 2 回の平均値）　　c：対照群は重量法、薬物投与群は化学分析法　　d：6 週以降は 4 例　　e：AUC_{0-t} (ng·h/mL) = AUC_{0-t} (ng·min/mL) ÷ 60　　f：平均値

2.6.7.7.2 イヌにおける 13 週間吸入投与毒性試験 試験番号：[redacted]57（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)		0		107.3		322.1		1557.9	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	主試験	3	3	3	3	3	3	3	3
	回復試験	2	2					2	2
死亡動物数		0	0	0	0	0	0	0	1[b]
一般状態	吸入投与中	－	－	－	－	嘔吐/脱糞	嘔吐/脱糞	嘔吐/脱糞	嘔吐/脱糞
	投与期間中	－	－	軟便/液状便	軟便/液状便	軟便/液状便	軟便/液状便	軟便/液状便、＋	軟便/液状便、＋
	回復終了時	－	－	NA	NA	NA	NA	－	－
体重 (kg)	投与終了時	10.08[c]	7.86	9.77	7.93	10.00	7.77	9.00	8.00
	回復終了時	10.90	8.20	NA	NA	NA	NA	9.55	7.65
体重増加量	投与期間中	1.42	0.86	1.47	0.93	1.50	0.80	0.68	0.68
(kg)	回復期間中	-0.15	-0.10	NA	NA	NA	NA	0.65	0.20
摂餌量	投与 1 週	130.86	100.74	107.53	91.37	87.60*	35.30**	84.76*	66.38
(g/日)	投与 13 週	184.44	124.24	176.43	115.97	165.63	91.47	145.20	126.00
	回復終了時	197.25	98.20	NA	NA	NA	NA	187.70	162.60
分時換気量	投与開始前 1	4.69	3.66	3.72	4.40	3.90	3.62	3.54	3.07
(L/min)	投与開始前 2	4.50	3.44	3.11	4.39	3.90	3.14	3.78	3.10
	1 週 吸入前	4.59	4.13	3.45	3.95	4.63	3.51	4.07	3.47
	吸入直後	5.65	4.07	4.18	3.82	5.10	4.07	5.72	5.19
	2 週 吸入前	4.14	3.53	3.13	4.04	4.50	3.39	3.68	3.69
	吸入直後	4.70	3.31	3.71	4.35	4.41	3.78	4.69	4.39
	6 週 吸入前	4.36	4.81	3.40	4.40	5.74	3.36	6.11	3.52
	吸入直後	7.57	6.01	4.63	5.30	4.96	3.47	4.23	4.64

－：特記すべき変化なし、＋：活動性低下、運動失調、円背位、横臥位、脱水症状、流涎、振戦、腹側皮膚の赤色化、散瞳、努力呼吸、異常呼吸音、嘔吐 （続く）

NA：該当せず a：推定肺到達用量の雌雄平均値 b：投与 22 日の投与中に嘔吐物誤嚥により窒息死 c：平均値

*：p≤0.05、**：p≤0.01（Dunnett または Dunn の検定）

2.6.7.7.2 イヌにおける 13 週間吸入投与毒性試験　　試験番号：[redacted]57（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)		0		107.3		322.1		1557.9	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	主試験	3	3	3	3	3	3	3	3
	回復試験	2	2					2	2
眼科学的検査		―	―	―	―	―	―	―	―
心血管系検査 (心電図、血圧)									
洞性頻脈	1 日	―	―	―	―	+	―	++	++
	30 日	―	―	+	+	++	++	++	++
	80 日	―	―	―	―	―	―	+	+
血液学的検査									
血小板数	投与前	386.0[b]	377.4	363.7	452.7	385.7	338.0	406.6	433.8
($\times10^3/\mu L$)	30 日	433.0	408.0	298.3*	398.7	344.0	341.3	372.6	401.0
	13 週	389.6	371.2	287.3*	363.3	298.7	307.7	294.2*	351.3
	回復	379.5	336.5	NA	NA	NA	NA	339.0	356.5
MPV (fL)	投与前	10.64	10.60	10.40	10.20	10.60	10.93	11.10	10.40
	30 日	9.40	9.68	10.40	11.23	11.57*	11.20	12.24**	12.05**
	13 週	9.84	9.72	10.43	10.43	10.80	10.70	12.86**	13.10**
	回復	11.50	10.45	NA	NA	NA	NA	12.30	12.70
血液生化学的検査		―	―	―	―	―	―	―	―
尿検査		―	―	―	―	―	―	―	―
器官重量		―	―	―	―	―	―	―	―
剖検所見		―	―	―	―	―	―	―	―

―：特記すべき変化なし、+：軽度、++：中等度　　NA：該当せず　　（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：平均値

*：$p \leq 0.05$、**：$p \leq 0.01$（Dunnett または Dunn の検定）

2.6.7.7.2 イヌにおける 13 週間吸入投与毒性試験 試験番号：[redacted]57（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)		0		107.3		322.1		1557.9	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	主試験	3	3	3	3	3	3	3	3
	回復試験	2	2					2	2
病理組織学的所見 (13 週)		回復期間終了時には、薬物投与の影響と思われる変化はなかった。							
鼻腔	呼吸上皮変性/再生	0[b]	0	0	0	3	2	3	3
	呼吸上皮潰瘍	0	0	0	0	0	0	0	1
	扁平上皮潰瘍	0	0	0	0	0	0	1	0
	扁平上皮変性/壊死	0	0	0	0	0	0	0	1
	杯細胞過形成/肥大	0	0	0	0	0	0	1	0
喉頭	線毛上皮変性	0	0	0	0	2	2	3	1
肺	出血 (急性)	1	0	0	1	1	1	2	3

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：例数

2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.10 がん原性試験

2.6.7.10.1 ラットにおける 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験

報告書の題名：Treprostinil: a 13-week inhalation toxicity study in the Sprague-Dawley rat with a 4-week treatment-free observation period
試験番号：[redacted]02　　資料番号：4.2.3.4.1.1　　GLP 適用：適
被験物質：トレプロスチニル　　溶媒／投与形態：クエン酸緩衝液／エアロゾル
動物種／系統：Crl:CD® (SD) IGS BR ラット　　投与開始時週齢：9～11 週齢
投与期間：13 週間　　休薬期間：4 週間
初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日
投与方法：[redacted] ネブライザーおよび[redacted] 型吸入装置を用いて吸入投与
特記事項：吸入時間一定で投与した
無毒性量：34.1 µg/kg/日

被験物質	溶媒		トレプロスチニル											
投与量 [a] (µg/kg/日)	0		2.60		5.26		10.6		34.1		77.1		237.0	
分時換気量 [b] (L/min)	0.199		0.198		0.195		0.194		0.193		0.194		0.195	
吸入濃度 (µg/L)	0		0.76		1.53		3.10		9.91		22.52		69.01	
吸入時間 (min)	55		55		55		55		55		55		55	
肺到達率 (%)	10		10		10		10		10		10		10	
MMAD (µm) [c] ± GSD	ND		1.0 ± 1.95		0.9 ± 1.97		0.9 ± 2.06		0.8 ± 2.00		0.9 ± 2.00		1.2 ± 2.12	
トキシコキネティクス	投与 1 および 91 日の投与前、投与終了後 0、6、15、30、60、90、120 分 [d] に無麻酔で頸静脈から採血（2 ポイント以内/匹）													
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	6	6	10	9	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
C_{max} (ng/mL) 1 日	BLQ	BLQ	3.52 [e]	2.47	3.38	4.42	12.87	7.32	41.63	40.37	85.00	89.13	702.33	413.00
C_{max} (ng/mL) 91 日	BLQ	≤0.1 [f]	5.62	5.01	13.07	10.29	19.77	19.10	58.30	73.67	150.33	94.97	758.00	298.00
AUC_{0-t} (ng·h/mL) 1 日	NC	NC	2.24	1.72	2.36	3.03	8.05	5.48	27.20	27.87	71.06	70.10	454.41	293.66
AUC_{0-t} (ng·h/mL) 91 日	NC	NC	3.66	3.49	8.57	7.06	13.37	14.77	50.16	53.42	104.79	86.40	506.28	239.79

CD® IGS ラット＝Crl:CD®(SD)IGS BR ラット＝Crl:CD (SD)ラット　　ND：測定せず　　BLQ：定量限界 (0.025 ng/mL) 未満　　NC：算出できず　　（続く）
a：推定肺到達用量の雌雄平均値 = 分時換気量 × 吸入濃度 × 吸入時間 × 肺到達率/100 ÷ 体重　　b：計算値（$0.499 \times [体重(kg)]^{0.809}$）　　c：化学分析法　　d：対照群は投与前と投与終了後 0 分のみ　　e：平均値　　f：対照群の雌 2 例でトレプロスチニルが検出されたが、最低用量群の血漿中薬物濃度の 1/30～1/100 で、TK 評価への影響はないものと考えられた。

2.6.7.10.1 ラットにおける 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験 試験番号：[redacted]02（続き）

被験物質			溶媒		トレプロスチニル											
投与量[a] (μg/kg/日)			0		2.60		5.26		10.6		34.1		77.1		237.0	
性別			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数		主試験	15	15	10	10	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
		回復試験	5	5									5	5	5	5
死亡動物数[b]			0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	2	2[c]	5
一般状態	吸入投与中	活動性低下	－	－	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋
		呼吸困難	－	－	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋
		皮膚の蒼白化	－	－	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋
	投与期間中	活動性低下	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋
		横臥位	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	＋
		努力呼吸	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋
		四肢の浮腫	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋
		閉眼	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋
		被毛の汚れ	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋
		円背位	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋
		流涎	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋
		体温低下	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋
		食欲不振	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋
		皮膚の発赤[d]	－	－	－	－	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋	＋
	回復終了時		－	－									－	－	－	－
体重 (g)		4 週	395[e]	249	384	249	368**	242	370*	239	350**	237	367**	239	363**	241
		8 週	414	254	399	257	397	254	396	254	390**	257	395*	257	391*	260
		13 週	441	265	422	272	422	267	421	260	414*	269	411**	268	406**	272
		回復	462	277	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	451	266	434	278

－：陰性　＋：陽性　NA：該当せず　（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　b：高用量群の雄 1 例（6006B）を除き、吸入投与中あるいは投与終了時に死亡状態で発見された。　c：雄 1 例（6006B）は尿路閉塞による死亡で、薬物投与の影響ではないと考えられた。　d：被験物質の薬理作用による変化のため毒性としない　e：平均値

2.6.7.10.1 ラットにおける 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験　　試験番号：[redacted]02（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル											
投与量[a] (μg/kg/日)		0		2.60		5.26		10.6		34.1		77.1		237.0	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価動物数 (13 週/回復)		20/5	20/5	10	10	15	14	14	15	14	15	19/5	18/5	18/4	15/3
眼科学的検査		－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
尿検査		－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－	－
血液学的検査															
評価動物数 (13 週/回復)		15/5	15/5	10	10	15	13	14	14	14	13	14/5	13/5	14/4	12/3
赤血球数	13 週	8.15[b]	7.72	8.49	7.81	8.47	7.79	8.48*	8.05*	8.63	7.97	8.71**[c]	8.21**[c]	8.98**[c]	8.21**[c]
($\times10^6$/μL)	回復	7.79	7.61	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	8.05	7.80	7.82	7.22
ヘモグロビン量	13 週	14.9	14.3	15.7	14.6	15.2	14.6	15.1	14.8	15.7*[c]	14.8	15.9**[c]	15.3**[c]	16.8**[c]	15.8**[c]
(g/dL)	回復	14.6	14.7	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	15.0	15.0	14.8	13.8
ヘマトクリット	13 週	44	42	46	42	44	42	45	43	46*[c]	43	47**[c]	45**[c]	50**[c]	46**[c]
値 (%)	回復	41	42	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	42	42	41	39*[c]
白血球数	13 週	4.22	3.35	3.61	3.59	4.34	3.34	4.47	3.29	4.46	3.40	4.41	4.65*[c]	4.41	4.55*[c]
($\times10^3$/μL)	回復	4.03	3.39	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.01	2.99	4.58	3.78
リンパ球数	13 週	3.44	2.70	2.71	2.99	3.43	2.77	3.50	2.76	3.62	2.85	3.58	3.92*[c]	3.42	3.70*[c]
($\times10^3$/μL)	回復	3.07	2.79	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.16	2.55	3.63	3.24
血小板数	13 週	1013	1085	989	1107	1018	1097	985	1088	899*[c]	1116	881**	924**	737**	792**
($\times10^3$/μL)	回復	1085	1106	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1082	1108	1053	1125
PT (sec)	13 週	15.8	15.2	17.8**	16.9**	15.7	15.1	15.8	15.6	16.0	15.5	16.2	15.6	16.5*[c]	16.4**[c]
	回復	15.5	15.3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	16.2	15.5	15.8	15.5
APTT (sec)	13 週	15.9	15.8	16.3	15.0	15.4	15.6	15.8	15.9	15.5	15.6	15.8	15.7	16.0	15.6
	回復	16.2	16.3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	16.6	15.8	16.2	15.6

－：特記すべき変化なし　　NA：該当せず　　（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：平均値　　c：偶発的あるいは背景データの範囲内の変化であり、毒性学的意義がないと考えられる変化

*：p≤0.05、**：p≤0.01（Dunnett の両側検定）

2.6.7.10.1 ラットにおける 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験 試験番号：[redacted]02（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル											
投与量[a] (μg/kg/日)		0		2.60		5.26		10.6		34.1		77.1		237.0	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価動物数 (13 週/回復)		15/5	15/5	10	10	15	13	14	14	14	13	14/5	13/5	14/4	12/3
血液生化学的検査															
評価動物数 (13 週/回復)		15/5	15/5	10	10	15	13	14	14	14	13	14/5	13/5	14/4	12/3
グルコース	13 週	8.3[b]	7.4	7.7	8.1	7.7	7.8	8.5	7.4	7.2*	7.4	7.1**	7.5	6.6**	6.7
(mmol/L)	回復	6.9	7.0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	6.8	7.1	7.3	7.2
総コレステロール (mmol/L)	13 週	1.60	2.07	1.43	1.99	1.47	2.03	1.53	2.09	1.50	1.88	1.55	1.71	2.12**[c]	1.40**
	回復	1.62	2.05	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.80	2.02	1.78	1.84
総タンパク質	13 週	5.8	6.9	5.8	6.5	6.0	6.9	6.0	6.6	5.9	6.6	6.2**[c]	6.3**[c]	6.4**[c]	6.2**[c]
(g/dL)	回復	5.8	6.3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	6.0	6.3	5.9	6.3
アルブミン	13 週	3.8	4.9	3.8	4.6	3.9	4.8	4.0**[c]	4.7	4.0*[c]	4.6	4.0**[c]	4.3**[c]	4.1**[c]	4.3**[c]
(g/dL)	回復	4.0	4.8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	4.1	4.8	4.1	4.7
グロブリン	13 週	2.0	2.0	2.0	1.9	2.0	2.0	2.0	1.9	2.0	2.1	2.2	2.0	2.3**[c]	1.9
(g/dL)	回復	1.8	1.6	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.9	1.5	1.8	1.5
Ca (mmol/L)	13 週	2.41	2.62	2.39	2.56	2.43	2.58	2.43	2.57	2.46	2.54	2.46	2.53	2.54**[c]	2.53
	回復	2.33	2.45	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2.39	2.46	2.39	2.48
Na (mmol/L)	13 週	147	148	145**	145**	147	148	147	149	149**[c]	148	149**[c]	149	149**[c]	149*[c]
	回復	146	147	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	147	147	148	148

NA：該当せず （続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値 b：平均値 c：偶発的あるいは背景データの範囲内の変化であり、毒性学的意義がないと考えられる変化

*：p≤0.05、**：p≤0.01（Dunnett の両側検定）

2.6.7.10.1 ラットにおける 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験 試験番号：[redacted]02（続き）

被験物質			溶媒		トレプロスチニル											
投与量[a] (μg/kg/日)			0		2.60		5.26		10.6		34.1		77.1		237.0	
性別			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価動物数 (13 週/回復)			15/5	15/5	10	10	15	14	14	15	14	15	14/5	13/5	14/4	12/3
器官重量																
副腎	13 週	(mg)	52.0[b]	64.2	55.8	59.7	56.2	61.6	56.7	61.9	56.5	75.6**	63.4**	72.9*	71.8**	77.1**
		(mg%)	11.8	25.1	13.5	23.1	13.6	24.2	13.9*	24.7	14.3**	30.0**	16.1**	29.0*	18.8**	30.4**
	回復	(mg)	49.8	56.3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	52.3	63.0	51.4	62.2
		(mg%)	10.8	20.8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	11.7	24.4	12.1	23.2
肺	13 週	(g)	1.38	1.08	1.44	1.16	1.44	1.18**	1.46	1.15	1.48*	1.20**	1.49*	1.19**	1.53**	1.25**
		(g%)	0.313	0.421	0.349**	0.447	0.348**	0.465**	0.358**	0.459**	0.373**	0.475**	0.380**	0.473**	0.402**	0.494**
	回復	(g)	1.40	1.15	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.54	1.14	1.43	1.18
		(g%)	0.306	0.424	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.344*	0.442	0.336	0.438
甲状腺	13 週	(mg)	22.0	15.8	21.1	17.9	21.1	17.8	22.8	16.4	21.7	18.7	25.4	20.0**	29.0*	22.0**
		(mg%)	5.0	6.1	5.1	6.9	5.1	7.0	5.6	6.6	5.5	7.4	6.4*	7.9**	7.6**	8.7**
	回復	(mg)	22.7	19.1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	23.2	19.5	25.1	17.1
		(mg%)	5.0	7.1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	5.2	7.6	5.9	6.4
脾臓	13 週	(mg)	754	547	718	490	746	484	697	526	705	524	696	572	688	611
		(mg%)	171	213	173	190	181	190	170	210	178	207	177	226	180	241
	回復	(mg)	734	548	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	904	540	748	598
		(mg%)	160	201	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	202	209	175	222
胸腺	13 週	(mg)	201	163	170	164	182	199	177	178	179	176	162	181	145	169
		(mg%)	45.4	63.4	41.9	63.1	44.4	77.6	43.0	70.8	45.2	69.5	41.2	71.5	37.8	67.0
	回復	(mg)	204	201	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	215	155	267	217
		(mg%)	44.7	74.0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	47.7	59.8	62.5	79.6

NA：該当せず

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　b：平均値　*：p≤0.05、**：p≤0.01（Dunnett の両側検定）

2.6.7.10.1 ラットにおける 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験 試験番号：[redacted]02（続き）

被験物質			溶媒		トレプロスチニル											
投与量[a] (μg/kg/日)			0		2.60		5.26		10.6		34.1		77.1		237.0	
性別			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価動物数 (13 週/回復)			15/5	15/5	10	10	15	14	14	15	14	15	14/5	13/5	14/4	12/3
精巣	13 週	(g)	3.56[b]	NA	3.50	NA	3.58	NA	3.44	NA	3.47	NA	3.47	NA	3.22	NA
		(g%)	0.809	NA	0.848	NA	0.869	NA	0.843	NA	0.875	NA	0.886	NA	0.844	NA
	回復	(g)	3.66	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	3.74	NA	3.33	NA
		(g%)	0.800	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.835	NA	0.780	NA
精巣上体	13 週	(g)	1.50	NA	1.50	NA	1.49	NA	1.44	NA	1.41	NA	1.40	NA	1.27**	NA
		(g%)	0.340	NA	0.363	NA	0.360	NA	0.352	NA	0.355	NA	0.355	NA	0.334	NA
	回復	(g)	1.52	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.48	NA	1.44	NA
		(g%)	0.331	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.331	NA	0.337	NA
精嚢	13 週	(g)	1.122	NA	1.312	NA	1.234	NA	1.009	NA	1.063	NA	0.920	NA	0.900	NA
		(g%)	0.256	NA	0.317	NA	0.300	NA	0.247	NA	0.267	NA	0.235	NA	0.233	NA
	回復	(g)	1.229	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.157	NA	1.277	NA
		(g%)	0.269	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.258	NA	0.299	NA
前立腺	13 週	(g)	1.096	NA	1.076	NA	1.029	NA	0.972	NA	0.994	NA	0.961	NA	0.808**	NA
		(g%)	0.249	NA	0.259	NA	0.250	NA	0.237	NA	0.250	NA	0.242	NA	0.211	NA
	回復	(g)	1.270	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1.010	NA	1.116	NA
		(g%)	0.277	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.226	NA	0.261	NA
卵巣	13 週	(mg)	NA	80.4	NA	82.8	NA	75.4	NA	77.7	NA	77.5	NA	93.2	NA	102.2*
		(mg%)	NA	31.2	NA	32.2	NA	29.5	NA	31.2	NA	30.5	NA	36.9	NA	40.2*
	回復	(mg)	NA	89.3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	75.8	NA	80.6
		(mg%)	NA	32.8	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	29.3	NA	29.4

NA：該当せず

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値 b：平均値

*：p≤0.05、**：p≤0.01（Dunnett の両側検定）

2.6.7.10.1 ラットにおける 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験 試験番号：[redacted]02（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル											
投与量[a] (μg/kg/日)		0		2.60		5.26		10.6		34.1		77.1		237.0	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価動物数 (13 週/回復)		15/5	15/5	10	10	14	14	14	15	14	15	14/5	13/5	14/4	12/3
剖検所見 (13 週)		回復期間終了時には、薬物投与の影響と思われる変化はなかった。													
肺	暗色巣/暗色部位	4[b]	0	2	1	1	1	4	2	5	0	5	1	7	0
胸腺	小型	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0
甲状腺	肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
病理組織学的所見 (13 週)		回復期間終了時には、薬物投与の影響と思われる変化はなかった。													
副腎	球状層の微細空胞増加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	7	10	6
	皮質球状層の肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	皮質束状層の肥大	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
腎臓	腎盂炎 (両側性)	0	0	0	0	0	2	0	1	0	2	0	2	0	3
	腎盂炎 (片側性)	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	腎盂腎炎 (片側性)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
	亜急性炎症 (片側性)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
	尿路上皮過形成 (両側性)	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1
	尿路上皮過形成 (片側性)	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3
膀胱	炎症	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	2	0	5
	尿路上皮過形成	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	2	0	5
脾臓	リンパ系組織萎縮/減少	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	7	0
胸腺	リンパ系組織萎縮/減少	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	9	1
精巣	精上皮の萎縮/変性	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA	4	NA
精巣	細胞残渣	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	3	NA
上体	精子減少/消失	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA

NA：該当せず

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：例数

2.6.7.10.1 ラットにおける 13 週間吸入投与がん原性用量設定試験 試験番号：[redacted]02（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル											
投与量[a] (μg/kg/日)		0		2.60		5.26		10.6		34.1		77.1		237.0	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
評価動物数 (13 週/回復)		15/5	15/5	10	10	14	14	14	15	14	15	14/5	13/5	14/4	12/3
病理組織学的所見 (13 週)		回復期間終了時には、薬物投与の影響と思われる変化はなかった。													
鼻腔#1	呼吸上皮萎縮	0[b]	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	呼吸上皮扁平上皮化生	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	11
	杯細胞過形成/肥大	0	2	0	0	0	1	3	0	6	1	2	2	14	12
鼻腔#2	呼吸上皮扁平上皮化生	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0
	嗅上皮萎縮	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
喉頭	扁平上皮化生	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	8
肺	出血 (急性)[c]	1	0	0	0	0	0	3	0	2	1	0	0	7	0
	亜急性炎症[d]	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	2	6	1
	肺胞マクロファージ	1	6	2	3	5	3	4	5	4	6	4	6	10	4

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　b：例数　c：安楽殺時の放血の影響と考えられた。　d：散在性に肺胞内の単核炎症性細胞の小クラスターを認める。

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験

報告書の題名：Treprostinil: A 104-week inhalation carcinogenicity study in Sprague-Dawley rats
試験番号：[redacted]76　　資料番号：4.2.3.4.1.2　　GLP 適用：適
被験物質：トレプロスチニル　　溶媒／投与形態：クエン酸緩衝液／エアロゾル
動物種／系統：Crl:CD® (SD) IGS BR ラット　　投与開始時週齢：6 週齢
投与期間：104 週間
初回投与年月日：：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日
投与方法：[redacted] ネブライザーおよび[redacted] 型吸入装置を用いて吸入投与
特記事項：吸入時間一定で投与した、試験は給餌量制限下で実施された

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量 [a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
分時換気量 [b] (L/min)	0.228		0.231		0.230		0.229		0.224	
吸入濃度 (μg/L)	0		0		1.80		3.72		11.13	
吸入時間 (min)	55		55		55		55		55	
肺到達率 (%)	10		10		10		10		10	
MMAD [c] ± GSD (μm)	NA		1.0±2.24		1.1±1.91		1.1±1.81		1.1±1.88	
トキシコキネティクス	投与 1、26 および 52 週の投与前、投与終了直後、5、15、30、60、90、120 分 [d] に無麻酔下で経静脈から採血（2 ポイント／匹）									
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数			6	6	12	12	12	12	12	12
データ数/ポイント			3	3	3	3	3	3	3	3
C_{max} (ng/mL) 1 日			BLQ	BLQ	7.74 [e]	4.39	19.4	9.74	45.2	29.7
C_{max} (ng/mL) 176 日			BLQ	BLQ	8.80	9.05	22.8	21.4	40.6	39.1
C_{max} (ng/mL) 358 日			BLQ	BLQ	8.83	6.85	19.0	19.5	54.0	39.8
AUC_{0-t} (ng·h/mL) 1 日			NC	NC	5.03	4.08	12.1	6.89	31.2	23.5
AUC_{0-t} (ng·h/mL) 176 日			NC	NC	5.87	6.82	14.4	15.2	30.8	31.3
AUC_{0-t} (ng·h/mL) 358 日			NC	NC	5.83	5.48	12.6	13.4	38.9	32.3

CD® IGS ラット＝Crl:CD® (SD) IGS BR ラット＝Crl:CD (SD)ラット　NA：該当せず　BLQ：定量限界 (0.025 ng/mL) 未満　NC：算出できず　（続く）
a：推定肺到達用量の雌雄平均値 = 分時換気量 × 吸入濃度 × 吸入時間 × 肺到達率/100 ÷ 体重　b：計算値（$0.499 \times [体重(kg)]^{0.809}$）　c：対照群は重量法、薬物投与群は化学分析法　d：対照群は投与前と投与終了直後のみ　e：平均値

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
死亡および切迫殺動物数[b]	18	34	19	34	18	28	21	31	21	27
最終剖検動物数	42	26	41	26	42	32	38[d]	29	39	33
生存率[b]（%）	70.0	43.3	68.3	43.3	70.0	53.3	65.0	48.3	65.0	55.0
推定死因										
不明	2[e]	1	1	1	6	2	6	6	10	3
下垂体　前葉腺腫／前葉腺癌	5	23	13	25	5	14	7	19	5	16
乳腺　腺腫／線維腺腫／腺癌	0	4	0	5	0	6	0	1	0	3
血リンパ系　血リンパ網内性腫瘍[c]	4	0	1	0	1	0	1	1	1	0
体重（g）　105 週	610[f]	403	613	422	610	410	587	413	568**	390
一般状態	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
触診（触知可能腫瘤）										
発生動物数	16	32	21	33	18	31	15	32	13	25
総腫瘤数	22	63	31	60	26	45	18	58	20	47
平均発現時期（週）	86	83	82	83	81	81	85	85	84	86
血液学的検査	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
剖検所見	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

（続く）

—：特記すべき変化なし

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　b：104 週時点　c：組織球性肉腫／リンパ腫　d：105 週に 1 例死亡　e：発生例数　f：群の平均値

*：p≤0.05、**：p≤0.01（Dunnett の両側検定）

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　腫瘍性病変　最終安楽殺										
多中心性腫瘍										
血管腫、良性	1[b]	0	0	0	2	0	0	0	0	1
組織球性肉腫、悪性	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0
脂肪組織（検査動物数）	(1)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(1)	(0)
脂肪腫、良性、偶発性	0	NA	0	NA	NA	NA	NA	1	0	NA
副腎（検査動物数）	(42)	(26)	(41)	(26)	(42)	(32)	(38)	(29)	(39)	(33)
皮質腺腫、良性、偶発性	0	1	1	0	1	2	2	0	0	2
褐色細胞腫、良性、偶発性	5	0	3	0	2	0	2	0	5	1
褐色細胞腫、悪性、偶発性	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0
複合型褐色細胞腫、良性、偶発性	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
脳（検査動物数）	(42)	(26)	(41)	(26)	(42)	(32)	(38)	(29)	(39)	(33)
膠細胞腫 NOS、悪性、偶発性	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
心臓（検査動物数）	(42)	(26)	(41)	(26)	(42)	(32)	(38)	(29)	(39)	(33)
神経鞘腫、悪性、偶発性	0	0	1	0	0	1	0	0	2	0
血管・リンパ管（検査動物数）	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)
組織球性肉腫、悪性、偶発性	NA	NA	NA	NA	2	NA	NA	1	NA	NA

NOS：起源不明　　NA：該当せず

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：発生例数

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　腫瘍性病変　最終安楽殺										
腎臓（検査動物数）	(42)	(26)	(41)	(26)	(42)	(32)	(38)	(29)	(39)	(33)
移行上皮癌、悪性、偶発性	0[c]	1	0	0	0	0	0	0	0	0
脂肪肉腫、悪性、偶発性	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
尿細管腺癌、悪性、偶発性	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
脂肪腫、良性、偶発性	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
肝臓（検査動物数）	(42)	(26)	(41)	(26)	(42)	(32)	(38)	(29)	(39)	(33)
肝細胞腺腫、良性、偶発性	1	1	1	0	1	0	1	0	0	1
肝細胞癌、悪性、偶発性	2	0	1	0	0	0	0	0	1	0
乳腺（検査動物数）	(42)	(26)	(41)	(26)	(42)	(32)	(38)	(29)	(39)	(32)
腺癌、悪性、偶発性	1	5	0	4	1	3	0	3	0	4
腺腫、良性、偶発性	0	4	1	4	1	2	1	0	0	3
線維腺腫、良性、偶発性	0	9	0	11	0	10	0	11	1	9
鼻腔 #1[b]（検査動物数）	(42)	(26)	(41)	(26)	(42)	(32)	(38)	(29)	(39)	(33)
腺癌、悪性、偶発性	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
扁平上皮癌、悪性、偶発性	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
鼻腔 #3[b]（検査動物数）	(42)	(26)	(41)	(26)	(42)	(32)	(38)	(29)	(39)	(33)
腺腫、良性、偶発性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

NA：該当せず （続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　b：4 断面作製しそれぞれ検査した　c：発生例数

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　腫瘍性病変　最終安楽殺										
卵巣（検査動物数）	NA	(26)	NA	(26)	NA	(32)	NA	(29)	NA	(33)
管状間質腺腫、良性、偶発性	NA	0[b]	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
嚢胞状腺腫、良性、偶発性	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
黄体腫、良性、偶発性	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0
莢膜細胞腫、良性、偶発性	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
膵臓（検査動物数）	(42)	(26)	(41)	(26)	(42)	(32)	(38)	(29)	(39)	(33)
腺房細胞腺腫、良性、偶発性	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
ラ氏島細胞腺腫、良性、偶発性	5	0	4	0	6	0	2	1	1	1
ラ氏島細胞癌、悪性、偶発性	2	0	2	0	1	0	1	0	2	0
上皮小体（検査動物数）	(16)	(16)	(20)	(11)	(32)	(25)	(25)	(26)	(26)	(18)
腺腫、良性、偶発性	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
下垂体（検査動物数）	(42)	(26)	(41)	(26)	(42)	(32)	(38)	(29)	(39)	(33)
前葉腺腫、良性、偶発性	23	21	27	20	24	22	12	19	24	24
前葉腺腫、良性、致死性	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0
中間葉腺腫、良性、偶発性	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
前葉癌、悪性、偶発性	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
前立腺（検査動物数）	(42)	NA	(41)	NA	(42)	NA	(38)	NA	(39)	NA
腺癌、悪性、偶発性	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA

NA：該当せず

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：発生例数

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　腫瘍性病変　最終安楽殺										
皮膚・皮下（検査動物数）	(42)	(26)	(41)	(26)	(42)	(32)	(38)	(29)	(39)	(33)
皮脂腺腫、良性、偶発性	0[b]	1	0	0	0	0	0	0	0	0
扁平上皮癌、悪性、偶発性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
線維腫、良性、偶発性	1	0	1	0	0	0	1	0	2	1
線維肉腫、悪性、偶発性	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1
角化棘細胞腫、良性、偶発性	1	0	0	0	0	0	3	1	2	0
脂肪腫、良性、偶発性	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
神経鞘腫、悪性、偶発性	0	0	1	2	1	0	0	1	0	0
毛嚢上皮腫、良性、偶発性	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
基底細胞腫、良性、偶発性	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
精巣（検査動物数）	(42)	NA	(41)	NA	(42)	NA	(38)	NA	(39)	NA
間細胞腫、良性、偶発性	3	NA	1	NA	1	NA	1	NA	2	NA
胸腺（検査動物数）	(40)	(25)	(41)	(23)	(40)	(32)	(37)	(27)	(39)	(27)
胸腺腫、良性、偶発性	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
胸腺腫、悪性、偶発性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
甲状腺（検査動物数）	(42)	(26)	(41)	(26)	(42)	(32)	(38)	(29)	(39)	(33)
C 細胞腺腫、良性、偶発性	0	1	1	2	4	8	2	3	2	3
濾胞細胞腺腫、良性、偶発性	2	0	1	0	2	0	0	0	0	0
C 細胞癌、悪性、偶発性	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
膀胱（検査動物数）	(41)	(26)	(41)	(25)	(42)	(31)	(38)	(29)	(39)	(33)
移行上皮癌、悪性、偶発性	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
移行上皮乳頭腫、良性、偶発性	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0

NA：該当せず

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：発生例数

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　腫瘍性病変　最終安楽殺										
子宮（検査動物数）	NA	(26)	NA	(25)	NA	(31)	NA	(29)	NA	(33)
腺癌、悪性、偶発性	NA	0[b]	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
扁平上皮癌、悪性、偶発性	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
子宮内膜間質ポリープ、良性、偶発性	NA	2	NA	0	NA	3	NA	5	NA	2
子宮内膜間質肉腫、悪性、偶発性	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
神経鞘腫、悪性、偶発性	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
顆粒細胞腫、良性、偶発性	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
膣（検査動物数）	NA	(26)	NA	(25)	NA	(31)	NA	(29)	NA	(33)
顆粒細胞腫、良性、偶発性	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
ジンバル腺（検査動物数）	(41)	(26)	(41)	(26)	(39)	(32)	(36)	(29)	(39)	(31)
皮脂腺腫、良性、偶発性	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
皮脂腺癌、悪性、偶発性	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
循環系（検査動物数）	(1)	(0)	(0)	(0)	(2)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)
血管腫、良性、偶発性	1	NA	NA	NA	2	NA	NA	NA	NA	1

NA：該当せず

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：発生例数

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　腫瘍性病変　切迫屠殺										
多中心性腫瘍										
血管肉腫、悪性	0[b]	0	0	0	0	0	1	0	0	0
組織球性肉腫、悪性	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
リンパ腫、悪性	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
腹壁（検査動物数）	(1)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
線維肉腫、悪性、致死性	0	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
副腎（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(18)	(8)	(19)
皮質腺腫、良性、偶発性	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
褐色細胞腫、良性、偶発性	2	0	2	0	0	0	2	0	0	0
褐色細胞腫、悪性、偶発性	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
脳（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(18)
膠細胞腫 NOS、悪性、致死性	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
希突起膠細胞腫、悪性、致死性	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
耳（検査動物数）	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)
神経堤腫瘍、良性、偶発性	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA	NA	NA	NA
精巣上体（検査動物数）	(10)	NA	(13)	NA	(9)	NA	(15)	NA	(8)	NA
中皮腫、悪性、致死性	1	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA
心臓（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(19)
神経鞘腫、悪性、偶発性	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
血管・リンパ管（検査動物数）	(2)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
リンパ腫、悪性、致死性	0	NA	NA	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA
組織球性肉腫、悪性、致死性	2	NA	NA	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA

NA：該当せず　NOS：起源不明

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　b：発生例数

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　腫瘍性病変　切迫屠殺										
腎臓（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(19)
癌 NOS、悪性、偶発性	0[c]	1	0	0	0	0	0	0	0	0
尿細管腺癌、悪性、偶発性	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
肝臓（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(19)
肝細胞癌、悪性、おそらく偶発性	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
肝細胞癌、悪性、偶発性	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
肝細胞癌、悪性、致死性	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
肺（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(19)
細気管支・肺胞上皮腺腫、良性、偶発性	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
乳腺（検査動物数）	(10)	(25)	(12)	(29)	(9)	(21)	(15)	(19)	(8)	(19)
腺癌、悪性、偶発性	0	1	0	5	0	4	0	6	0	1
腺癌、悪性、致死性	0	2	0	3	0	4	0	1	0	1
腺腫、良性、偶発性	0	3	0	2	0	0	0	1	0	1
線維腺腫、良性、偶発性	0	5	0	7	0	6	0	5	0	3
線維腺腫、良性、致死性	0	1	0	1	0	2	0	0	0	0
混合腫瘍、悪性、致死性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
鼻腔 #2[b]（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(19)
骨肉腫、悪性、致死性	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
鼻腔 #3[b]（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(19)
腺癌、悪性、致死性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
口腔（検査動物数）	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)
扁平上皮癌、悪性、致死性	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA	NA

NA：該当せず　NOS：起源不明

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　b：4 横断面作製しそれぞれ検査した　c：発生例数

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　腫瘍性病変　切迫屠殺										
卵巣（検査動物数）	NA	(25)	NA	(29)	NA	(22)	NA	(19)	NA	(19)
嚢胞腺癌、悪性、致死性	NA	0[b]	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
膵臓（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(18)	(8)	(19)
ラ氏島細胞腺腫、良性、偶発性	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
ラ氏島細胞癌、悪性、偶発性	0	0	2	0	0	0	2	1	0	0
ラ氏島細胞癌、悪性、致死性	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
下垂体（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(19)
前葉腺腫、良性、おそらく偶発性	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0
前葉腺腫、良性、偶発性	1	2	2	3	2	4	3	2	0	2
前葉腺腫、良性、致死性	4	19	10	22	3	11	7	13	4	13
中間葉腺腫、良性、偶発性	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
前葉癌、悪性、致死性	0	0	0	1	0	2	0	1	0	0
前立腺（検査動物数）	(10)	NA	(13)	NA	(8)	NA	(15)	NA	(8)	NA
腺癌、悪性、偶発性	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA
骨格筋（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(19)
肉腫 NOS、悪性、致死性	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
皮膚・皮下（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(21)	(15)	(18)	(8)	(19)
扁平上皮癌、悪性、偶発性	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
扁平上皮癌、悪性、致死性	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
線維腫、良性、偶発性	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
線維腫、良性、致死性	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
線維肉腫、悪性、致死性	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1

NA：該当せず　NOS：起源不明

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　b：発生例数

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　腫瘍性病変　切迫屠殺										
皮膚・皮下（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(21)	(15)	(18)	(8)	(19)
角化棘細胞腫、良性、偶発性	0[b]	0	0	0	0	0	0	0	1	0
脂肪腫、良性、偶発性	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
扁平上皮乳頭腫、良性、偶発性	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
肉腫 NOS、悪性、偶発性	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
肉腫 NOS、悪性、致死性	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
脊髄（頸部）（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(19)
肉腫 NOS、悪性、致死性	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
精巣（検査動物数）	(10)	NA	(13)	NA	(9)	NA	(15)	NA	(8)	NA
間細胞腫、良性、偶発性	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2	NA
甲状腺（検査動物数）	(10)	(24)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(18)
C 細胞腺腫、良性、偶発性	0	1	0	0	0	1	1	1	0	0
濾胞細胞腺腫、良性、偶発性	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
C 細胞癌、悪性、致死性	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
子宮（検査動物数）	NA	(25)	NA	(29)	NA	(22)	NA	(19)	NA	(19)
腺癌、悪性、偶発性	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	1
子宮内膜間質ポリープ、良性、偶発性	NA	1	NA	2	NA	1	NA	1	NA	0
子宮内膜間質ポリープ、良性、致死性	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0
ジンバル腺（検査動物数）	(10)	(24)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(19)
皮脂腺癌、悪性、致死性	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

NA：該当せず　　NOS：起源不明

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：発生例数

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　腫瘍性病変　切迫屠殺										
循環系（検査動物数）	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(1)	(0)	(0)	(0)
血管肉腫、悪性、偶発性	NA	NA	NA	NA	NA	1[b]	0	NA	NA	NA
血管肉腫、悪性、致死性	NA	NA	NA	NA	NA	0	1	NA	NA	NA

NA：該当せず （続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：発生例数

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　腫瘍性病変　死亡										
多中心性腫瘍										
血管肉腫、悪性	0[b]	0	0	0	0	0	0	0	0	1
組織球性肉腫、悪性	1	0	1	0	0	0	1	1	1	0
リンパ腫、悪性	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
副腎（検査動物数）	(8)	(9)	(6)	(4)	(9)	(6)	(6)	(7)	(9)	(8)
皮質腺腫、良性、偶発性	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
皮質癌、悪性、致死性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
褐色細胞腫、良性、偶発性	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
褐色細胞腫、悪性、偶発性	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
脳（検査動物数）	(8)	(9)	(6)	(4)	(9)	(6)	(6)	(7)	(9)	(8)
膠細胞腫 NOS、悪性、致死性	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
盲腸（検査動物数）	(8)	(9)	(6)	(4)	(9)	(6)	(6)	(7)	(9)	(8)
平滑筋肉腫、悪性、致死性	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
血管・リンパ管（検査動物数）	(2)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(1)	(2)	(1)	(0)
リンパ腫、悪性、偶発性	0	NA	0	NA	NA	NA	0	1	0	NA
リンパ腫、悪性、致死性	1	NA	0	NA	NA	NA	0	0	0	NA
組織球性肉腫、悪性、致死性	1	NA	1	NA	NA	NA	1	1	1	NA
後肢（検査動物数）	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)
骨肉腫、悪性、偶発性	NA	NA	NA	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA
肝臓（検査動物数）	(8)	(9)	(6)	(4)	(9)	(6)	(6)	(7)	(9)	(8)
肝細胞癌、悪性、致死性	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

NA：該当せず　　NOS：起源不明

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：発生例数

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　腫瘍性病変　死亡										
肺（検査動物数）	(8)	(9)	(6)	(4)	(9)	(6)	(6)	(7)	(9)	(8)
細気管支・肺胞上皮腺癌、悪性、致死性	0[b]	0	1	0	0	0	0	0	0	0
乳腺（検査動物数）	(8)	(9)	(6)	(4)	(9)	(6)	(6)	(7)	(9)	(8)
腺癌、悪性、偶発性	0	1	0	0	0	0	0	2	0	1
腺癌、悪性、致死性	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
腺腫、良性、偶発性	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
腺腫、良性、致死性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
線維腺腫、良性、偶発性	0	2	0	0	0	1	0	2	0	0
線維腺腫、良性、致死性	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
口腔（検査動物数）	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)
扁平上皮乳頭腫、良性、偶発性	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
膵臓（検査動物数）	(8)	(9)	(6)	(4)	(9)	(6)	(6)	(7)	(9)	(8)
ラ氏島細胞腺腫、良性、偶発性	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0
ラ氏島細胞癌、悪性、偶発性	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
ラ氏島細胞癌、悪性、致死性	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
下垂体（検査動物数）	(8)	(9)	(6)	(4)	(9)	(6)	(6)	(7)	(9)	(8)
前葉腺腫、良性、偶発性	1	3	0	1	1	4	0	1	1	1
前葉腺腫、良性、致死性	2	5	3	2	2	1	0	5	1	3
皮膚・皮下（検査動物数）	(8)	(9)	(6)	(4)	(9)	(6)	(6)	(7)	(9)	(8)
線維腫、良性、偶発性	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0
角化棘細胞腫、良性、偶発性	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

NA：該当せず

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：発生例数

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　腫瘍性病変　死亡										
胃（検査動物数）	(8)	(9)	(6)	(4)	(9)	(6)	(6)	(7)	(9)	(8)
神経鞘腫、悪性、致死性	1[b]	0	0	0	0	0	0	0	0	0
精巣（検査動物数）	(8)	NA	(6)	NA	(9)	NA	(6)	NA	(9)	NA
間細胞腫、良性、偶発性	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
甲状腺（検査動物数）	(8)	(9)	(6)	(4)	(9)	(6)	(6)	(7)	(9)	(8)
C 細胞腺腫、良性、偶発性	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
濾胞細胞腺腫、良性、偶発性	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
子宮（検査動物数）	NA	(9)	NA	(4)	NA	(6)	NA	(7)	NA	(8)
平滑筋肉腫、悪性、致死性	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
子宮内膜間質ポリープ、良性、偶発性	NA	1	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1
神経鞘腫、悪性、致死性	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0
循環系（検査動物数）	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)
血管肉腫、悪性、致死性	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1

NA：該当せず

（続く）

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：発生例数

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　非腫瘍性病変　最終安楽殺										
甲状腺（検査動物数）	(42)	(26)	(41)	(26)	(42)	(32)	(38)	(29)	(39)	(33)
C 細胞過形成、限局性										
極く軽度	1[b]	0	1	0	2	3	2	1	1	1
軽度	1	0	0	0	3	1	0	1	2	5
中等度	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1
膀胱（検査動物数）	(41)	(26)	(41)	(25)	(42)	(31)	(38)	(29)	(39)	(33)
炎症										
極く軽度	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1
軽度	1	0	0	1	0	0	0	0	1	3
中等度	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2
尿路上皮過形成										
極く軽度	0	0	0	2	0	0	1	2	0	1
軽度	1	0	0	0	0	0	0	1	1	5

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：発生例数

（続く）

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　非腫瘍性病変　切迫屠殺										
甲状腺（検査動物数）	(10)	(24)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(18)
C 細胞過形成、限局性										
極く軽度	1[b]	1	1	2	0	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
膀胱（検査動物数）	(10)	(25)	(13)	(29)	(9)	(22)	(15)	(19)	(8)	(19)
炎症										
極く軽度	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2
軽度	0	1	1	0	0	3	0	2	0	1
中等度	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
尿路上皮過形成										
極く軽度	1	0	1	1	1	0	0	2	0	2
軽度	0	0	0	0	0	4	0	1	0	1
中等度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
重度	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　b：発生例数

（続く）

2.6.7.10.2 ラットにおける 2 年間吸入投与がん原性試験 試験番号：[redacted]76（続き）

被験物質	空気		溶媒		トレプロスチニル					
投与量[a] (μg/kg/日)	0		0		5.93		12.28		36.90	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的検査　非腫瘍性病変　死亡										
甲状腺（検査動物数）	(8)	(9)	(6)	(4)	(9)	(6)	(6)	(7)	(9)	(8)
C 細胞過形成、限局性										
軽度	0[b]	0	0	0	1	0	0	0	0	0
膀胱（検査動物数）	(8)	(9)	(6)	(4)	(9)	(6)	(6)	(7)	(9)	(8)
炎症										
極く軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
軽度	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
尿路上皮過形成										
極く軽度	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
軽度	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0
中等度	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
病理組織学的検査　非腫瘍性病変　事故死										
膀胱（検査動物数）	NA	NA	NA	(1)	NA	NA	(1)	(5)	(4)	NA
炎症										
中等度	NA	NA	NA	0	NA	NA	0	1	0	NA
尿路上皮過形成										
軽度	NA	NA	NA	0	NA	NA	0	1	0	NA

NA：該当せず

a：推定肺到達用量の雌雄平均値　　b：発生例数

2.6.7.10.3 ラットにおける 2 年間経口投与がん原性試験

報告書の題名：A 2-year carcinogenicity study of UT-15C administered by oral gavage in Sprague Dawley rats
試験番号：[redacted]00010　　資料番号：4.2.3.4.1.3　　GLP 適用：適
被験物質：トレプロスチニル　　溶媒／投与形態：注射用蒸留水／強制経口
動物種／系統：Crl:CD (SD)ラット　　投与開始時週齢：7 週齢
投与期間：104 週間
初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日
投与方法：強制経口投与（2 回／日、6 時間±30 分の間隔）
特記事項：13 週間反復投与毒性試験の結果より、20 mg/kg/日で死亡例が認められたが、10 mg/kg/日では死亡はないものの毒性が認められたことから、最高用量を 10 mg/kg/日に設定した

被験物質		溶媒		トレプロスチニル DEA[a]					
投与量 (mg/kg/日)		0		1		3		10	
トキシコキネティクス		投与 1, 180, 360 日の 1 回目投与前、投与後 1, 2, 4, 6[b], 7, 8, 10, 12, 24 時間に麻酔下[c]で頸静脈から採血（2 ポイント以内/匹）							
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数		36	36	36	36	36	36	36	36
データ数/ポイント		6	6	6	6	6	6	6	6
C_{max1}[d] (ng/mL)	1 日	BLQ	BLQ	3.72[g]	2.94	5.73	8.98	10.2	8.77
	180 日	BLQ	BLQ	1.79	2.61	6.89	7.43	27.5	36.2
	360 日	≤0.1[f]	≤0.1[f]	3.24	3.51	10.4	11.2	30.0	55.0
C_{max2}[e] (ng/mL)	1 日	BLQ	BLQ	3.90	4.32	7.91	11.6	21.1	16.7
	180 日	BLQ	BLQ	3.91	6.74	10.3	12.8	40.2	44.7
	360 日	≤0.1[f]	≤0.1[f]	4.87	7.00	15.6	21.5	39.6	67.2
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	1 日	NC	NC	51.2	44.9	117	143	315	292
	180 日	NC	NC	51.7	71.7	156	183	506	714
	360 日	NC	NC	65.5	74.0	191	227	585	939

CD® IGS ラット＝Crl:CD® (SD) IGS BR ラット＝Crl:CD (SD)ラット　　BLQ：定量限界（0.025 ng/mL）未満　　NC：算出できず　　（続く）
a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した　　b：2 回目投与前に採血　　c：イソフルラン麻酔　　d：毎日の初回投与時の最高血漿中薬物濃度（0-6 時間）
e：毎日の 2 回目投与時の最高血漿中薬物濃度（6-24 時間）　　f：対照群の雄 3 例、雌 2 例でトレプロスチニルが検出されたが、最低用量群の血漿中薬物濃度の 1/145～1/709 で、TK 評価への影響はないものと考えられた　　g：平均値

2.6.7.10.3 ラットにおける 2 年間経口投与がん原性試験　　試験番号：[redacted]00010（続き）

被験物質	溶媒		トレプロスチニル DEA[a]					
投与量 (mg/kg/日)	0		1		3		10	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
死亡動物数	20	9	16	11	30	15	32	9
切迫屠殺動物数	15	31	29	30	9	21	13	31
最終剖検動物数	25	20	15	19	21	24	15	20
生存率（%）[b]	42#	33	25	32	35	40	25*	33
一般状態	―	―	―	―	―	―	―	―
体重	―	―	―	―	―	―	―	―
摂餌量	―	―	―	―	―	―	―	―
血液学的検査	―	―	―	―	―	―	―	―
剖検所見	―	―	―	―	―	―	―	―

ー：特記すべき変化なし（トレプロスチニル投与に起因すると考えられる変化なし）　（続く）

a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した

b：生存率：カプラン・マイヤー推定　#p≤0.05（trend test）、*p≤0.05（溶媒対照群との pairwise comparison）

2.6.7.10.3 ラットにおける 2 年間経口投与がん原性試験 試験番号：[redacted]00010（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル DEA[a]					
投与量 (mg/kg/日)		0		1		3		10	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数		60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的所見　腫瘍性病変									
腫瘍を持つ全動物数		47	54	47	56	40	51	31	57
複数の腫瘍を持つ全動物数		20	30	25	29	19	26	8	35
全良性腫瘍数		58	77	59	76	58	75	29	84
全悪性腫瘍数		18	17	21	22	15	23	11	28
転移した全悪性腫瘍数		6	1	5	2	4	4	5	3
死因	（検査動物数）	(35)	(40)	(45)	(41)	(39)	(36)	(45)	(40)
（腫瘍関連）	星状膠細胞腫、悪性	0[b]	0	1	0	0	1	1	1
	癌、悪性	1	3	0	4	0	2	1	4
	C 細胞癌、悪性	0	0	1	0	0	0	0	0
	扁平上皮癌、悪性	1	0	0	0	1	0	0	0
	尿細管腺癌、悪性	0	0	0	0	1	0	0	0
	線維腫、良性	0	4	0	2	0	0	0	3
	線維肉腫、悪性	0	0	0	1	0	0	0	0
	褐色細胞腫、良性	0	0	0	0	0	1	0	0
	骨肉腫、悪性	0	0	1	0	0	0	0	0
	下垂体腺腫、良性	9	28	24	32	12	24	12	23
	下垂体癌、悪性	0	0	1	0	0	2	0	2
	多形性線維肉腫、悪性	0	1	0	0	0	0	0	0
	ポリープ、良性	0	0	1	0	0	2	0	1
	間質肉腫、悪性	0	1	0	0	0	0	0	0
	胸腺腫、悪性	1	0	0	1	1	0	0	0
	ジンバル腺癌、悪性	0	1	0	0	0	0	0	1
	血管・リンパ系腫瘍、悪性	5	0	3	0	2	1	3	0

a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した　b：発生例数

（続く）

2.6.7.10.3 ラットにおける 2 年間経口投与がん原性試験 試験番号：[redacted]00010（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル DEA[a]					
投与量 (mg/kg/日)		0		1		3		10	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数		60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的所見	腫瘍性病変								
副腎	（検査動物数）	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
	皮質腺腫、良性	0[b]	1	0	1	0	0	1	0
	皮質癌、悪性	1	1	0	0	0	1	0	0
	褐色細胞腫、良性	6	1	1	0	2	0	2	1
	褐色細胞腫、悪性	3	0	0	0	2	0	0	0
脳	（検査動物数）	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
	星状膠細胞腫、悪性	0	0	1	0	0	1	1	1
	顆粒細胞腫、良性	1	0	0	0	0	0	0	0
頭蓋腔	（検査動物数）	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)
	神経線維肉腫、悪性	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
子宮頸	（検査動物数）	NA	(60)	NA	(60)	NA	(60)	NA	(60)
	ポリープ、良性	NA	1	NA	0	NA	0	NA	1
	間質肉腫、悪性	NA	1	NA	2	NA	0	NA	0
耳	（検査動物数）	(0)	NA	(1)	NA	(0)	NA	(0)	NA
	ポリープ、良性	NA	NA	1	NA	NA	NA	NA	NA
脂肪	（検査動物数）	(1)	NA	(1)	NA	(1)	NA	(1)	NA
	脂肪腫、良性	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA
血管リンパ細網系組織	（検査動物数）	(5)	(0)	(4)	(0)	(3)	(1)	(3)	(1)
	リンパ腫、悪性	1	NA	2	NA	2	1	2	1
	組織球性肉腫、悪性	4	NA	2	NA	1	0	1	0
腎臓	（検査動物数）	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
	尿細管腺癌、悪性	0	0	0	0	1	0	1	0

NA：該当せず a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した b：発生例数

（続く）

2.6.7.10.3 ラットにおける 2 年間経口投与がん原性試験 試験番号：[redacted]00010（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル DEA[a]					
投与量 (mg/kg/日)		0		1		3		10	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数		60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的所見　腫瘍性病変									
肝臓	（検査動物数）	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
	肝細胞腺腫、良性	0[b]	0	0	0	1	0	0	0
	肝細胞癌、悪性	0	0	0	1	2	1	0	0
	胆管腺腫、良性	0	0	0	0	1	0	0	0
肺	（検査動物数）	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
	細気管支・肺胞上皮腺癌、悪性	0	0	0	0	0	0	1	0
腸間膜リンパ節	（検査動物数）	(60)	(59)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
	血管肉腫、悪性	0	0	0	0	1	0	0	0
乳腺	（検査動物数）	(60)	(60)	(59)	(60)	(60)	(60)	(59)	(60)
	腺腫、良性	0	3	0	3	0	6	0	9
	腺癌、悪性	2	12	2	14	0	17	1	17
	癌肉腫、悪性	0	1	0	0	0	0	0	1
	線維腺腫、良性	0	17	1	19	1	17	1	24
卵巣	（検査動物数）	NA	(60)	NA	(60)	NA	(60)	NA	(60)
	癌、悪性	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
	セルトリ細胞腫、良性	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
膵臓	（検査動物数）	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
	腺房細胞腺腫、良性	2	0	1	0	1	0	0	0
	ラ氏島細胞腺腫、良性	3	0	7	2	5	1	3	0
	ラ氏島細胞癌、悪性	0	0	2	0	1	0	0	0

NA：該当せず （続く）

a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した　b：発生例数

2.6.7.10.3 ラットにおける 2 年間経口投与がん原性試験 試験番号：[redacted]00010（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル DEA[a]					
投与量 (mg/kg/日)		0		1		3		10	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数		60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的所見	腫瘍性病変								
上皮小体	（検査動物数）	(48)	(52)	(46)	(43)	(44)	(46)	(39)	(45)
	腺腫、良性	1[b]	0	0	0	2	1	1	0
下垂体	（検査動物数）	(59)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
	下垂体腺腫、良性	23	50	33	48	24	39	17	40
	下垂体癌、悪性	1	0	1	1	0	2	0	2
皮膚	（検査動物数）	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
	基底細胞腫、良性	3	0	1	0	1	0	0	1
	扁平上皮癌、悪性	1	0	1	0	1	0	0	0
	線維腫、良性	1	0	2	0	2	0	0	0
	線維肉腫、悪性	2	0	0	1	2	0	1	0
	血管腫、良性	0	0	1	0	0	0	0	1
	血管周皮腫、悪性	0	0	0	0	1	0	0	0
	血管肉腫、悪性	0	0	1	0	0	0	0	0
	褐色細胞腫、良性	0	0	0	0	0	1	0	0
	角化棘細胞腫、良性	3	2	4	0	5	1	1	1
	脂肪腫、良性	1	0	1	0	0	0	0	0
	肥満細胞腫、悪性	0	0	0	0	0	0	0	1
	神経線維肉腫、悪性	0	0	1	0	0	0	0	0
	骨肉腫、悪性	0	0	1	0	0	0	0	0
	多形性線維肉腫、悪性	0	1	0	0	0	0	0	0
	扁平上皮乳頭腫、良性	2	0	0	0	5	0	0	0

NA：該当せず （続く）

a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した b：発生例数

2.6.7.10.3 ラットにおける 2 年間経口投与がん原性試験 試験番号：[redacted]00010（続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル DEA[a]					
投与量 (mg/kg/日)		0		1		3		10	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数		60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的所見　腫瘍性病変									
脾臓	（検査動物数）	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
	肉腫、起源不明、悪性	1[b]	0	0	0	0	0	0	0
胃	（検査動物数）	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
	癌、悪性	0	0	0	0	0	0	1	0
精巣	（検査動物数）	(60)	NA	(60)	NA	(60)	NA	(60)	NA
	間細胞腺腫、良性	0	NA	1	NA	2	NA	1	NA
胸腺	（検査動物数）	(58)	(57)	(58)	(60)	(56)	(58)	(59)	(59)
	扁平上皮癌、悪性	0	0	0	1	0	0	0	0
	胸腺腫、悪性	1	0	1	1	1	0	0	1
甲状腺	（検査動物数）	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(59)	(60)	(60)
	C 細胞腺腫、良性	10	1	4	2	3	3	2	2
	濾胞細胞腺腫、良性	2	0	1	0	2	1	0	1
	C 細胞癌、悪性	1	0	4	0	0	0	0	1
	濾胞細胞癌、悪性	0	0	2	1	0	0	1	0
舌	（検査動物数）	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
	扁平上皮乳頭腫、良性	0	1	0	0	0	0	0	0
子宮	（検査動物数）	NA	(60)	NA	(60)	NA	(60)	NA	(60)
	腺腫、良性	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
	ポリープ、良性	NA	1	NA	1	NA	2	NA	2
膣	（検査動物数）	NA	(59)	NA	(60)	NA	(60)	NA	(60)
	ポリープ、良性	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1

NA：該当せず （続く）

a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した　b：発生例数

2.6.7.10.3 ラットにおける 2 年間経口投与がん原性試験 試験番号：[redacted]00010（続き）

被験物質	溶媒		トレプロスチニル DEA[a]					
投与量 (mg/kg/日)	0		1		3		10	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	60	60	60	60	60	60	60	60
病理組織学的所見　腫瘍性病変								
ジンバル腺　（検査動物数）	(59)	(60)	(58)	(60)	(59)	(60)	(59)	(60)
ジンバル腺癌、悪性	0[b]	1	0	0	0	0	0	2
病理組織学的所見　非腫瘍病変								
膵臓　（検査動物数）	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)	(60)
腺房細胞萎縮 総計	13	7	18	9	27	11	30	24
極く軽度	11	7	13	7	15	7	17	18
軽度	2	0	4	2	9	3	11	5
中等度	0	0	1	0	2	1	2	1
重度	0	0	0	0	1	0	0	0

a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した　b：発生例数

2.6.7.10.4 Tg.rasH2 マウスにおける 26 週間経口投与がん原性試験

報告書の題名：UT-15C: 26-week repeated dose oral carcinogenicity study in Tg.rasH2 mice
試験番号：[redacted]　資料番号：4.2.3.4.2.1　GLP 適用：適
被験物質：トレプロスチニル　溶媒／投与形態：注射用滅菌水／溶液
陽性対照物質：ウレタン　溶媒／投与形態：生食／溶液
動物種／系統：Tg.rasH2 マウス　試験開始時週齢：9-10 週齢（投与開始時）
投与期間：26 週間
初回投与年月日：20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日（雄）、20[redacted] 年[redacted] 月[redacted] 日（雌）
投与方法：強制経口投与（1 回／日）
特記事項：薬物動態学的指標ならびに FDA との協議の結果、本用量を設定した。

被験物質		溶媒		トレプロスチニル DEA [a]					
投与量 (mg/kg/日)		0		5.0	3.0	10.0	7.5	20.0	15.0
トキシコキネティクス		投与 176 日の投与前、投与後 2, 4, 7, 12, 18, 24 時間 [c] に軽麻酔下で後眼窩洞から採血（2 ポイント／匹）							
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数 [b]		5	5	23	23	23	23	23	23
データ数/ポイント		3	3	3	3	3	3	3	3
C_{max} (ng/mL)	176 日	BLQ	BLQ	5.61[d]	6.38	7.71	9.93	17.5	28.2
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	176 日	NC	NC	36.4	63.1	90.5	161	185	409

BLQ：定量限界（0.500 ng/mL）未満　NC：算出できず　（続く）
a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した　b：Tg rasH2 マウスの wildtype 同腹子（-/- homozygous c-Ha-ras）を使用　c：溶媒対照群は投与後 2 時間のみ
d：平均値

2.6.7.10.4 Tg.rasH2 マウスにおける 26 週間経口投与がん原性試験 試験番号：[redacted] （続き）

被験物質		溶媒		トレプロスチニル DEA[a]						ウレタン	
投与量 (mg/kg/日)		0		5	3	10	7.5	20	15	1000	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数		25	25	25	25	25	25	25	25	15	15
死亡／瀕死期屠殺動物数		0	0	0	1[c]	1[d]	2[e]	0	1[f]	7*	4*
最終剖検動物数		25	25	25	24	24	23	25	24	8	11
生存率 (%)		100	100	100	96	96	92	100	96	53	73
一般状態：ケージサイド											
	歩行失調	0[b]	0	0	0	0	0	0	0	0	4*
	自発運動減少	0	0	25*	2	25*	15*	25*	25*	2	3*
	歩行障害	0	0	0	0	0	0	0	0	7*	11*
	立毛	0	0	4	0	15*	3	25*	14*	0	0
	円背位	0	1	10*	14*	17*	17*	25*	25*	1	1
	伏臥位	0	0	3	0	2	1	20*	9*	13*	8*
	努力呼吸	0	0	9*	2	17*	8*	25*	23*	0	0
	浅速呼吸	0	0	21*	12*	18*	17*	25*	23*	14*	15*
	眼脂	0	0	3	0	1	0	18*	1	0	0
一般状態：手保定時											
	痩せ	0	3	0	15*	2	20*	1	8*	5*	2
	円背位	0	1	0	8*	3	11*	1	4	6*	2
	努力呼吸	0	0	0	0	0	1	0	0	7*	1
	浅速呼吸	0	0	3	0	3	0	0	0	3*	3

a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した　b：発生例数 （続く）

死因； c：唾液腺肉腫　d：脾臓血管肉腫　e：鼻腔癌および不明　f：不明

致死、一般状態：*p<0.05（Fisher’s Exact Test）

2.6.7.10.4 Tg.rasH2 マウスにおける 26 週間経口投与がん原性試験 試験番号：[redacted] （続き）

被験物質			溶媒		トレプロスチニル DEA[a]						ウレタン[b]	
投与量 (mg/kg/日)			0		5	3	10	7.5	20	15	1000	
性別			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数			25	25	25	25	25	25	25	25	15	15
体重			—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
摂餌量			—	—	—	—	—	—	—	—	↓*	↓*
剖検所見												
	肺／気管支	結節など	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
	脾臓	結節など	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
器官重量		（検査動物数）	(25)	(25)	(25)	(24)	(24)	(23)	(25)	(24)	NA	NA
	脳	実重量 (g)	0.47500[c]	0.49679	0.46268*	0.48418	0.46327*	0.47520**	0.46010*	0.48061**	NA	NA
	脾臓	実重量 (g)	0.07994	0.11188	0.09815	0.09912	0.09451	0.13379	0.11824*	0.11621	NA	NA
		比重量 (g%BW)	0.27928	0.46734	0.34420	0.41699	0.33186	0.56672	0.42904*	0.48730	NA	NA
	肝臓	実重量 (g)	1.53398	1.32602	1.50781	1.30394	1.60065	1.22031*	1.54437	1.25445	NA	NA
		比重量 (g%BW)	5.32767	5.57925	5.24176	5.48015	5.60186*	5.25058*	5.59118*	5.31021	NA	NA

↓：低値または低下 —：特記すべき変化なし +：所見あり NA：該当せず （続く）

a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した b：陽性対照のウレタン投与群は、器官重量測定せず c：平均値

体重、摂餌量、器官重量：*p<0.05, **p<0.01（Dunnett’s T-Test）

2.6.7.10.4 Tg.rasH2 マウスにおける 26 週間経口投与がん原性試験 試験番号：[redacted]（続き）

被験物質	溶媒		トレプロスチニル DEA[a]						ウレタン[b]	
投与量 (mg/kg/日)	0		5	3	10	7.5	20	15	1000	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	25	25	25	25	25	25	25	25	15	15
病理組織学的検査　腫瘍性病変										
鼻腔（検査動物数）	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(0)	(0)
癌腫、悪性	0[c]	0	0	0	0	1	0	0	NA	NA
腺癌、悪性	0	1	0	0	1	0	1	0	NA	NA
耳（検査動物数）	(0)	(0)	(2)	(1)	(2)	(3)	(0)	(0)	(0)	(0)
乳頭腫、良性	NA	NA	1	0	0	1	NA	NA	NA	NA
ハーダー腺（検査動物数）	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(0)	(0)
腺腫、良性	0	1	0	0	1	1	2	0	NA	NA
腺癌、悪性	0	0	0	0	0	0	0	1	NA	NA
腺癌／腺腫	0	1	0	0	1	1	2	1	NA	NA
肺・気管支（検査動物数）	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(15)	(15)
中皮腫、良性	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
血管肉腫、悪性	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2
細気管支肺胞上皮癌、悪性	0	0	0	0	0	0	0	0	4*	10**
細気管支肺胞上皮腺腫、良性	2	2	4	2	1	2	1	2	15**	15**
細気管支肺胞上皮腺腫／癌	2	2	4	2	1	2	1	2	15**	15**
多発性（検査動物数）	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(15)	(15)
リンパ腫、悪性	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1
多臓器（検査動物数）	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(15)	(15)
血管肉腫／血管腫	0	2	3	1	3	0	1	3	9	14

NA：該当せず （続く）

a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した　b：標的臓器である肺と脾臓について病理組織検査を実施した　c：発生例数

腫瘍性病変：*p≤0.05, **p≤0.01（溶媒対照群との 1-sided pairwise comparison）

2.6.7.10.4 Tg.rasH2 マウスにおける 26 週間経口投与がん原性試験 試験番号：[redacted] （続き）

被験物質	溶媒		トレプロスチニル DEA[a]						ウレタン[b]	
投与量 (mg/kg/日)	0		5	3	10	7.5	20	15	1000	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	25	25	25	25	25	25	25	25	15	15
病理組織学的検査　腫瘍性病変										
唾液腺（検査動物数）	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(0)	(0)
肉腫、悪性	0[c]	0	0	1	0	0	0	0	NA	NA
中皮腫、良性	0	1	0	0	0	0	0	0	NA	NA
皮膚（乳腺）（検査動物数）	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(0)	(0)
血管腫、良性	0	0	0	1	0	0	0	0	NA	NA
脾臓（検査動物数）	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(15)	(15)
血管肉腫、悪性	0	2	2	0	3	0	1	3	9**	14**
胃（検査動物数）	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(0)	(0)
扁平上皮癌、悪性	0	0	0	0	1	0	0	0	NA	NA
乳頭腫、良性	0	0	0	0	1	0	0	0	NA	NA
精巣（検査動物数）	(25)	NA	(25)	NA	(25)	NA	(25)	NA	(0)	NA
血管肉腫、悪性	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	NA	NA
甲状腺（検査動物数）	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(0)	(0)
腺腫、良性	1	0	0	0	0	0	0	0	NA	NA

NA：該当せず （続く）

a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した　b：標的臓器である肺と脾臓について病理組織検査を実施した　c：発生例数

腫瘍性病変：**p≤0.01（溶媒対照群との 1-sided pairwise comparison）

2.6.7.10.4 Tg.rasH2 マウスにおける 26 週間経口投与がん原性試験 試験番号：[redacted] （続き）

被験物質	溶媒		トレプロスチニル DEA[a]						ウレタン[b]	
投与量 (mg/kg/日)	0		5	3	10	7.5	20	15	1000	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験動物数	25	25	25	25	25	25	25	25	15	15
病理組織学的検査　非腫瘍性病変										
腎臓（検査動物数）	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(0)	(0)
尿細管変性										
極く軽度	0[c]	0	0	0	0	0	9	0	NA	NA
軽度	0	0	0	0	1	0	5	0	NA	NA
中等度	0	0	0	0	0	0	1	0	NA	NA
尿細管壊死										
極く軽度	0	0	0	0	0	0	3	0	NA	NA
尿細管再生										
極く軽度	1	0	0	0	0	0	12	1	NA	NA
軽度	0	0	0	0	1	0	2	0	NA	NA
中等度	0	0	0	0	0	0	4	0	NA	NA
蛋白円柱										
極く軽度	1	9	0	8	1	4	4	12	NA	NA
軽度	0	0	0	0	0	0	1	0	NA	NA
脾臓（検査動物数）	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(25)	(15)	(15)
髄外造血亢進										
極く軽度	0	2	0	2	2	1	1	0	0	0
軽度	0	0	0	1	1	0	1	0	0	2
中等度	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
重度	0	0	0	0	0	0	3	1	1	0

NA：該当せず

a：投与量はトレプロスチニルの用量で記載した　b：標的臓器である肺と脾臓について病理組織検査を実施した　c：発生例数

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前および出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験

該当する試験は実施していない。

2.6.7.15 新生児を用いた試験

該当する試験は実施していない。

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 その他の毒性試験

該当する試験は実施していない。