目次

1. まとめ 4
2. 単回投与毒性試験 6
3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 6
3.1 SD ラットにおける 4 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（試験番号 20074709） 6
3.2 カニクイザルにおける 4 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（試験番号 20074710） 9
3.3 カニクイザルにおける 13 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（試験番号 20076807、TR-0121、TR-0129） 11
3.4 カニクイザルにおける 39 週間皮下投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（試験番号 20086030） 15
4. 遺伝毒性試験 20
4.1 *In vitro* 試験 20
4.1.1 細菌を用いる *in vitro* 復帰突然変異試験（試験番号 8327570） 20
4.1.2 ヒトリンパ球を用いる *in vitro* 染色体異常試験（試験番号 8327571） 21
4.2 *In vivo* 試験 21
4.2.1 SD ラットの骨髄細胞における小核試験（試験番号 NCD3747） 21
5. がん原性試験 23
6. 生殖発生毒性試験 23
6.1 カニクイザルにおける 13 週間皮下投与による雄受胎能試験及び 8 週間回復性試験（試験番号 8366459） 23
6.2 カニクイザルの 4、13、及び 39 週間皮下投与毒性試験における雌受胎能の評価 25
6.3 カニクイザルにおける胚・胎児発生試験を含む拡充型出生前及び出生後の発生に関する皮下投与試験（3 ヵ月間の授乳期／成熟期を含む）（試験番号 8340294） 25
7. 局所刺激性試験 29
8. その他の毒性試験 33
8.1 乱用及び依存性評価 33
9. 考察及び結論 33
10. 参考文献 37

表目次

表 1-1 GLP 適合の非臨床安全性試験の概要 5
表 3-1 ラット 4 週間投与毒性試験デザイン 6
表 3-2 ラット 4 週間連日皮下投与毒性試験におけるジルコプランの TK パラメータ 7
表 3-3 サル 4 週間投与毒性試験デザイン 9
表 3-4 サル 4 週間連日皮下投与毒性試験におけるジルコプランの TK パラメータ及び抗薬物抗体の産生 9
表 3-5 サル 13 週間投与毒性試験デザイン 11
表 3-6 13 週間連日皮下投与後のカニクイザルにおけるジルコプランの TK パラメータ及び抗薬物抗体の産生 12
表 3-7 サル 39 週間投与毒性試験デザイン 15

※調整中

表 3-8　カニクイザル 39 週間連日皮下投与毒性試験におけるジルコプランの TK パラメータ及び抗薬物抗体の産生 17
表 6-1　雄受胎能試験の試験デザイン 23
表 6-2　雄カニクイザルにおけるジルコプランの TK パラメータ（平均値） 24
表 6-3　胚・胎児発生及び ePPND 試験デザイン 25
表 6-4　妊娠サルにおけるジルコプランの TK パラメータ（平均値） 26
表 7-1　反復投与毒性試験における投与部位反応の要約 30
表 9-1　主要な毒性試験及び定常状態でのヒトにおける薬物曝露量に基づく推定安全域 36
表 9-2　39 週間毒性試験に基づく曝露量及びヒトに対する推定安全域、並びに、エスノブリッジング試験の日本人集団における推定曝露量及び平均曝露量 36

図目次

図 6-1　妊娠 100 日（±1）までの雌動物（1 群あたり 20 例）のノルモグラム 27
図 6-2　ePPND フェーズのノルモグラム 28

略語及び名称一覧表

略語（名称）	内容	
ALP	alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
ALS	amyotrophic lateral sclerosis	筋萎縮性側索硬化症
ALT	alanine aminotransferase	アラニン・アミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under the drug concentration versus time curve	薬物濃度-時間曲線下面積
C3	complement component 3	補体第 3 成分
C5	complement component 5	補体第 5 成分
CH50	50% hemolytic complement activity	血清補体価
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
COVID-19	corona virus disease 19	新型コロナウイルス感染症
ePPND	enhanced pre- and post-natal development	拡充型出生前及び出生後の発生
GGT	gamma-glutamyl-transferase	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
gMG	generalized myasthenia gravis	全身型重症筋無力症
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
Ig	immunoglobulin	免疫グロブリン
IHC	immunohistochemistry	免疫組織化学
IMNM	immune-mediated necrotizing myopathy	免疫介在性壊死性ミオパチー
MAC	membrane attack complex	膜侵襲複合体
NOAEL	no-observed-adverse-effect level	無毒性量
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PNH	paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	発作性夜間ヘモグロビン尿症
S9	rat liver metabolizing system	ラット肝代謝活性化系
$T_{1/2}$	half life	半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス

1. まとめ

ジルコプランナトリウム（以下、ジルコプラン）は、補体第 5 成分（C5）の異常な活性化が実証されているか、又は役割を果たすと仮定されている疾病の治療用に設計された 15 アミノ酸の大環状ペプチド構造を持つ C5 の阻害剤である。ジルコプランは C5 に高い親和性で結合し、C5 転換酵素による切断を阻害して C5a 及び C5b への開裂を防ぐ。全身型重症筋無力症（gMG）、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、免疫介在性壊死性ミオパチー（IMNM）及び新型コロナウイルス感染症（COVID-19）関連の呼吸窮迫症候群を適応症とした臨床試験が実施されており、本申請は gMG を適応症としたものである。本剤は 1 日 1 回自宅で自己投与可能な皮下投与製剤として開発した。

ラット及びカニクイザルにおける反復皮下投与毒性試験、一連の遺伝毒性試験、カニクイザルにおける生殖発生毒性試験、並びに *in vitro* 及び *in vivo* 安全性薬理試験等、ジルコプランの包括的な毒性試験プログラムを実施した（表 1-1）。

ジルコプランは、カニクイザルでヒトと同様の薬理活性を示し、ブタでは中等度の活性、ラットでは活性が非常に弱く（カニクイザルの 1/100 未満）、マウス、モルモット、イヌ、ウサギ等の他の動物種では活性を示さない。薬理活性、代謝プロファイルの類似性、及び代謝物の未変化体に対する比率に基づき、カニクイザルが毒性試験に最も適格な動物種であると判断した。ラット及びカニクイザルの 4 週間反復皮下投与毒性試験を実施し、更なる反復投与毒性試験（最大 39 週間）はカニクイザルのみを用いた。

全ての非臨床安全性試験は、現行の規制ガイドライン並びに業界標準に従い、地域及び経済協力開発機構（OECD）の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して、OECD データ相互受け入れ制度に加盟する国々で実施した。ジルコプランの曝露プロファイルに関する情報を取得するために、反復投与毒性試験の中でトキシコキネティクス（TK）を測定した。

- GLP に準拠したラットの 4 週間投与毒性試験では、用量反応的で可逆的な投与部位の所見のみが認められた。カニクイザルにおける注射部位反応は、概して軽度かつ可逆的であった。
- カニクイザルの毒性試験における主な所見として、動物の様々な部位に上皮単核細胞浸潤、小水疱変性及び関連する 2 次的な続発症が認められた。免疫学的な所見及び変性の特性より、既往の病原体の再活性化又は新規感染に続発する抗原刺激に対する免疫応答が示唆された。主要な試験である 39 週間投与試験では、2 例の早期安楽死動物から患部を採取し培養した結果、日和見病原体（黄色ブドウ球菌、ベータ型溶血性連鎖球菌、シュードモナス菌及び腸球菌）が分離された。このような感染症とそれに関連する続発症は、バックグラウンド微生物叢、潜伏感染のレベル、ストレス、衛生、サル間の相互汚染、及び相対的な脆弱性が動物種間で大きく異なるため、人間に直接外挿することはできず（Olivier et al. 2010）、これまでの臨床試験では皮膚感染症は観察されていない。膵臓の（架橋）線維化を伴う腺房細胞変性、単核細胞浸潤、胸腺のリンパ球数増加、黄疸、腹痛、散発性胆管過形成／胆管周囲炎症、並びに肝酵素上昇を伴う（架橋）肝線維化も観察されている。これらの所見は病原体の増殖、コロニー形成、及び感染に続発したものと考えられる。
- ジルコプランは、実施した遺伝毒性試験のいずれにおいても遺伝毒性のエビデンスを示さなかった。細菌を用いる *in vitro* 復帰突然変異試験及び哺乳類培養細胞を用いる *in vitro* 染色体異常試験を実施した結果、ジルコプランは変異原性を示さなかった。ラット骨髄中における *in vivo* 小核試験を実施した結果、遺伝毒性は認められなかった。

※調整中

- 妊娠中の雌カニクイザルにおける胚・胎児発生を含む拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（ePPND 試験）、並びに性成熟した雄カニクイザルにおける雄受胎能試験では、発生及び生殖能への影響は認められなかった。
- カニクイザルの心血管系及び呼吸器系への影響に関する単独の安全性薬理試験、並びにカニクイザルの反復投与毒性試験における安全性薬理評価では、ジルコプランに関連する影響はなかった。GLP に準拠したカニクイザルの 4 週間反復投与毒性試験の一環として実施した中枢神経系（CNS）への影響の安全性評価では、ジルコプランの投与後に神経学的変化は観察されなかった（M2.6.2.4 項）。
- 乱用性に関する包括的な評価を実施し、M4.2.3.7.4 に添付した。

薬理作用を示すカニクイザルでは、主要な毒性試験における曝露量比は適正と考えられた。ジルコプランを 32.4mg の用量で 80kg の患者に投与したときの推定曝露量のモデリング及びエスノブリッジング試験（UP0113 試験）の結果に基づき安全域を算出した。13 及び 39 週間投与毒性試験における AUC に基づく安全域は 2.0～2.2 と算出された。胚・胎児発生を含む ePPND 試験、並びに雄受胎能試験における AUC に基づく安全域は 4.3～7.8 と算出された（表 9-1）。結論として、主要な毒性試験から算出された曝露量比は適切であると考えられ、非臨床試験プログラムは、1 日 1 回の自己投与可能な皮下注射としてのジルコプランの製造販売承認をサポートする。

表 1-1　GLP 適合の非臨床安全性試験の概要

試験	動物種／系統	投与経路／投与レジメン	投与量（mg/kg/day）	試験施設	試験番号
反復投与毒性試験					
4 週間	ラット／Sprague Dawley	皮下／1 日 1 回	0, 2.5, 10, 40	[redacted] 米国	20074709
4 週間	カニクイザル	皮下／1 日 1 回	0, 1, 2, 4	[redacted] 米国	20074710
13 週間	カニクイザル	皮下／1 日 1 回	0, 0.25, 1, 2, 10	[redacted] 米国	20076807
39 週間	カニクイザル	皮下／1 日 1 回	0, 0.25, 1, 2, 4, 6	[redacted] 米国	20086030
***In vitro* 遺伝毒性試験**					
細菌を用いる復帰突然変異	ネズミチフス菌、大腸菌	*In vitro*	5～5000µg/plate	[redacted] 米国	8327570
染色体異常	初代培養ヒト末梢血リンパ球	*In vitro*	3.39～500µg/mL	[redacted] 米国	8327571
***In vivo* 遺伝毒性試験**					
骨髄細胞を用いた小核	ラット／Sprague Dawley	皮下／2 回（24 時間間隔）	主試験：0, 125, 250, 500	[redacted] オランダ	NCD3747

※調整中

試験	動物種／系統	投与経路／投与レジメン	投与量（mg/kg/day）	試験施設	試験番号
生殖発生毒性試験					
雄受胎能	カニクイザル	皮下／1 日 1 回（13 週間）	0, 1, 2, 4	[redacted] ドイツ	8366459
胚・胎児発生／ePPND	カニクイザル	皮下／1 日 1 回（妊娠 20 日から 100 日又は妊娠終了時まで）	0, 1, 2, 4	[redacted] ドイツ	8340294
安全性薬理試験 [a]					
hERG、パッチクランプ	HEK293 細胞	*In vitro*	0, 300μM	[redacted] 米国	150507.SBR
心血管系／呼吸器系テレメトリー	カニクイザル	皮下／単回投与	0, 2, 10	[redacted] 米国	20076954
中枢神経系	カニクイザル	皮下／1 日 1 回（4 週間）	0, 1, 2, 4	[redacted] 米国	20074710

ePPND=拡充型出生前及び出生後の発生、GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、hERG=ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子、HEK=ヒト胎児腎臓
[a] これらの試験成績は M2.6.2.4 項で考察されている

2. 単回投与毒性試験

ジルコプランの単回投与毒性試験は実施していない。しかし、カニクイザルの安全性薬理試験において 10mg/kg の単回投与で良好な忍容性が認められ、毒性変化及び投与部位の所見も報告されなかった（M2.6.2.4 項）。

3. 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

3.1 SD ラットにおける 4 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（試験番号 20074709）

本試験は、ジルコプランを Sprague Dawley（SD）ラットに 4 週間 1 日 1 回皮下投与したときの毒性及び 4 週間休薬したときの回復性を評価するために実施した。加えて、TK 特性を検討した。試験デザインは表 3-1 に示す。

表 3-1　ラット 4 週間投与毒性試験デザイン

試験群	被験物質	投与量 (mg/kg/day)	投与液量 (mL/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	動物数 [a]			
					主試験		4 週間回復性試験	
					雄	雌	雄	雌
1	溶媒対照 [b]	0	0.5	0	10	10	5	5
2	ジルコプラン	2.5	0.5	5	10	10	5	5
3	ジルコプラン	10	0.5	20	10	10	5	5

試験群	被験物質	投与量 (mg/kg/day)	投与液量 (mL/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	動物数 [a]			
					主試験		4 週間回復性試験	
					雄	雌	雄	雌
4	ジルコプラン	40	0.5	80	10	10	5	5
トキシコキネティクス								
5	溶媒対照 [b]	0	0.5	0	3	3	NA	NA
6	ジルコプラン	2.5	0.5	5	6	6	NA	NA
7	ジルコプラン	10	0.5	20	6	6	NA	NA
8	ジルコプラン	40	0.5	80	6	6	NA	NA

NA=該当せず

[a] 主試験及び回復性試験の動物は、それぞれ 29 及び 56 日目に安楽死させた

[b] 溶媒対照群には 50mM リン酸ナトリウムに塩化ナトリウムを加え、浸透圧を 300±20mOsm とした溶媒を投与した

本試験では、次のパラメータ又はエンドポイントを評価した。一般状態、投与部位における皮膚スコア、体重、摂餌量、眼科学的検査、臨床病理パラメータ（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）、TK パラメータ、肉眼的剖検所見、器官重量及び病理組織学的検査。

10mg/kg/day 群の雌 1 例（TK 評価群）が採血手順に関連した出血のため、投与後 8 時間の TK 採血の前（Day 1）に死亡した。死亡はジルコプラン投与とは関係がないと判断した。その他の死亡例はみられず、体重、眼科学的検査、血液生化学的検査、尿検査及び器官重量に被験物質に関連した変化も認められなかった。本試験の投与及び回復性試験期間中に、10 及び 40mg/kg/day 群で平均摂餌量が減少し、時折、有意に減少した。これらの減少は、被験物質に関連する体重の変化とは相関していなかった。

ジルコプランの血漿中濃度のピークは、雌雄動物共に Day 1 及び Day 28 の投与後 4～12 時間にみられた。曝露量は、Day 1 及び Day 28 共に概して用量に比例して増加したが、雌の Day 1 における 10 及び 40mg/kg/day 群間の曝露量の増加は用量比よりも小さかった（表 3-2）。ジルコプラン連日投与後、Day 28 に蓄積性が観察され、蓄積率は 1.6～3.0 の範囲であった。全身曝露量に顕著な性差は認められなかった。

表 3-2　ラット 4 週間連日皮下投与毒性試験におけるジルコプランの TK パラメータ

投与量 (mg/kg/day)	0（対照）		2.5		10		40	
雌雄動物数	雄 3 例	雌 3 例	雄 6 例	雌 6 例	雄 6 例	雌 6 例	雄 6 例	雌 6 例
ジルコプランの平均曝露量								
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	11,100	7930	38,900	36,000	108,000	73,000
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	NA	167,000	133,000	647,000	588,000	1,960,000	1,320,000
Day 28								
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	16,300	15,100	54,400	64,800	157,000	186,000
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	NA	266,000	274,000	1,030,000	1,100,000	3,060,000	3,950,000

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、LLOQ=定量下限（定量限界=100 ng/mL）、NA=該当せず

ジルコプランに関連する用量反応的で可逆的な一般状態の変化としては、投与部位における擦傷及び硬い／軟らかい腫脹が観察された。投与部位での皮膚剥離は、10 及び 40mg/kg/day 群の複数の動物に認められ、その発現頻度は用量反応的に増加した。40mg/kg/day 群でのこれらの変化は、

投与部位の硬いあるいは軟らかい腫脹としばしば相関していた。加えて、投与部位にジルコプランに関連する用量反応的で可逆性な皮膚の紅斑及び浮腫が観察された。2.5、10 及び 40mg/kg/day 群のそれぞれ 30 例中 1 例、8 例及び 29 例の動物に、投与期間中に紅斑スコアが認められた。紅斑の重篤度は用量反応的に増加した。2.5 及び 10mg/kg/day 群で軽度な紅斑スコアが観察されたのに対し、40mg/kg/day 群の数例の動物が、1 ヵ所又は数ヵ所の投与部位で中等度の紅斑を示した。紅斑を示したジルコプラン投与群のほとんどすべての動物は、投与期間終了までに紅斑が消失した。40mg/kg/day 群の全ての動物が少なくとも 1 つの投与部位で浮腫を示したが、10mg/kg/day 群では投与に関連する浮腫を示した動物は極わずかであった。投与期間終了時には、40mg/kg/day 群の 3 例を除き、すべての動物は軽度な浮腫スコアしか示さなかったか、又は浮腫は認められなかった。

40mg/kg/day 群における臨床病理パラメータの軽微かつ可逆的で非有害なジルコプランに関連する変化として、ヘモグロビン濃度の減少、並びに網状赤血球数、赤血球分布幅、好中球数及びフィブリノーゲン量の増加が認められた。

Day 29 には、40mg/kg/day 群のヘモグロビン濃度に軽微な低下がみられ、有意な低下であった。ヘモグロビン濃度の低下に相関して、網状赤血球数（雄で有意）及び赤血球分布幅（雄のみ）の軽微な増加が認められた。網状赤血球数の増加は、ヘモグロビン濃度の低下に対する骨髄の代償性反応であると考えられる。これらの変化は Day 56 には観察されず、程度は軽微であり、毒性学的意義はなかった。好中球数及びフィブリノーゲン量が 40mg/kg/day 群で増加したが、Day 56 には観察されなかった。好中球数及びフィブリノーゲン量の増加は、40mg/kg/day 群での投与部位の所見に関連する一過性の炎症反応と考えられた。

投与終了時剖検（Day 29）では、40mg/kg/day 群における投与部位の皮膚の肥厚増加、痂疲、変色あるいは暗赤色の病巣等、投与部位でのいくつかの被験物質に関連する肉眼的所見が認められた。

10mg/kg/day 群以上の投与群で投与部位に被験物質に関連する病理組織学的所見が認められた。通常みられる所見として、皮下筋の変性及び皮下組織における単核細胞浸潤、混合細胞浸潤、線維化、浮腫、並びに 40mg/kg/day 群では皮膚表面のびらん又は潰瘍形成を伴う皮下組織における膿瘍形成が観察された。所見の重篤度と特質に基づき、40mg/kg/day 群での投与部位の所見は毒性とみなされた。4 週間の回復性試験後（Day 56）、いずれのジルコプラン投与群でも、被験物質に関連する肉眼的及び病理組織学的所見は認められなかった。

結論として、ジルコプランを SD ラットに 4 週間連日皮下投与した結果、投与量 40mg/kg/day まで概して忍容性は良好であった。標的器官への可逆的な変化は、40mg/kg/day 群の投与部位における有害反応に限定されていた。これらの結果に基づき、無毒性量（NOAEL）は 10mg/kg/day と考えられ、この用量における平均 C_{max} は 59.6μg/mL（雌雄合算、雄で 54.4μg/mL、雌で 64.8μg/mL）、平均 $AUC_{0\text{-}24}$ は 1065μg·h/mL（雌雄合算、雄で 1030μg·h/mL、雌で 1100μg·h/mL）であった。

全身曝露を考慮し、投与部位での被験物質に関連する局所の影響を除外すると、NOAEL は 40mg/kg/day と考えられ、この用量における平均 C_{max} は 171.5μg/mL（雌雄合算、雄で 157μg/mL、雌で 186μg/mL）、平均 $AUC_{0\text{-}24}$ は 3505μg·h/mL（雌雄合算、雄で 3060μg·h/mL、雌で 3950μg·h/mL）であった。

3.2　カニクイザルにおける 4 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（試験番号 20074710）

本試験は、ジルコプランをカニクイザルに 4 週間 1 日 1 回皮下投与したときの毒性及び 4 週間休薬したときの回復性を評価するために実施した。加えて、ジルコプランの TK 特性及び補体阻害活性を検討した。試験デザインは表 3-3 に示す。

表 3-3　サル 4 週間投与毒性試験デザイン

試験群	被験物質	投与量 (mg/kg/day)	投与液量 (mL/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	動物数 [a]			
					主試験		4 週間回復性試験	
					雄	雌	雄	雌
1	溶媒対照 [b]	0	0.2	0	3	3	2	2
2	ジルコプラン	1	0.2	5	3	3	NA	NA
3	ジルコプラン	2	0.2	10	3	3	NA	NA
4	ジルコプラン	4	0.2	20	3	3	2	2

NA=該当せず
[a] 主試験の動物は Day 29、回復性試験の動物は Day 57 に安楽死させた
[b] 溶媒対照群には 50mM リン酸ナトリウム（pH7.0）に 0.9%塩化ナトリウムを加えた溶媒を投与した

本試験では、次のパラメータ又はエンドポイントを評価した。一般状態、投与部位における皮膚スコア、体重、摂餌量、獣医師による身体検査及び神経学的検査、心電図検査、臨床病理パラメータ（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）、TK 測定、補体測定（M2.6.2.2.2.2 項）、肉眼的剖検所見、器官重量及び病理組織学的検査。

ジルコプランの血漿中濃度は投与後 2～4 時間の間でピークに達し、投与量、投与日及び性別に関係がなかった。Day 1 及び Day 28 における投与後 2 時間から 12 時間の間で血漿中濃度が維持されていたため、終末消失相は、Day 28 の最終投与後、回復性試験動物（雌雄各 2 例）についてのみ推定され、半減期（$T_{1/2}$）は雄で 55.6～57.1 時間、雌で 38.6～41.8 時間であった。反復投与後に曝露が増加し、平均蓄積率は 1.70～1.90 であった。全身曝露に性差は認められなかった。

抗薬物抗体は、4mg/kg/day 群の 10 例中 1 例で Day 29 に採取した検体に確認されたが、ジルコプランの血漿中濃度及び全身曝露への明確な影響はなかった（表 3-4、M2.6.4.3.2.2 項）。

表 3-4　サル 4 週間連日皮下投与毒性試験におけるジルコプランの TK パラメータ及び抗薬物抗体の産生

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		1		2		4	
雌雄動物数 [a]	雄: 5	雌: 5	雄: 3	雌: 3	雄: 3	雌: 3	雄: 5	雌: 5
ジルコプラン平均曝露量								
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	11,200	10,700	20,400	20,800	39,300	39,200
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	NA	NA	185,000	174,000	344,000	339,000	629,000	612,000
$AUC_{0\text{-}12}$ (ng·h/mL)	NA	NA	107,000	102,000	198,000	200,000	368,000	370,000
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Day 28								
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	19,100	18,000	35,400	33,700	65,700	62,800
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	NA	NA	308,000	282,000	597,000	533,000	2,380,000	1,900,000

※調整中

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		1		2		4	
雌雄動物数 [a]	雄: 5	雌: 5	雄: 3	雌: 3	雄: 3	雌: 3	雄: 5	雌: 5
$AUC_{0\text{-}12}$ (ng·h/mL)	NA	NA	195,000	180,000	376,000	340,000	697,000	639,000
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	NA	NC	NC	NC	NC	1,250,000[b]	1,030,000[b]
抗薬物抗体 [c]（Day 29）	0/10		0/6		0/6		1/10	

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、NA=該当せず、NC=算出せず
LLOQ=定量下限（定量限界=100ng/mL）
[a] 動物数は Day 29 に安楽死させた主試験の動物（一群あたり雌雄各 3 例）及び回復性試験の動物（対照群及び 4mg/kg/day 群の各群で雌雄各 2 例）を含む
[b] 平均 $AUC_{0\text{-}24}$ 値は、雌雄各 2 例の計算値
[c] Day 29 における特異的な抗薬物抗体を有する動物数を示し、Day 29 以外に試験前及び Day 57 にも検査したが、陽性を示す動物は認められなかった

すべての動物は、予定された剖検時まで生存した。ジルコプランに関連する一般状態、獣医師による身体的及び神経学的所見はみられず、摂餌量、体重、血液学的、凝固系、器官重量、心電図及び肉眼的病理所見にジルコプランに関連する変化は認められなかった。

ジルコプランの 2mg/kg/day 以上の投与群で皮下投与部位の軽微な浮腫（腫脹）が認められた。浮腫は中・高投与量群でのみ観察されたため、ジルコプランに関連した変化と考えられたが、投与部位の浮腫の重篤度が軽微であり、概して、まれで一過性変化であるため、毒性学的意義はないと考えられた。投与部位の紅斑（発赤）は対照群を含む全投与群に観察されたため、ジルコプランに起因する変化ではないと判断した。

胆汁酸について、Day 28 における 4mg/kg/day 群の雄で、Day -7（投与開始 7 日前）と比較して約 3.4 倍上昇した。2mg/kg/day 群の雌の胆汁酸は、Day 14（のみ）において Day -7 と比較して約 2 倍上昇し、4mg/kg/day 群の雌では、Day 14 及び Day 28 において Day -7 と比較してそれぞれ約 7.1 倍及び 2.0 倍上昇した。個々の胆汁酸値に変動があるため、胆汁酸値の回復性は評価しなかった。Day 14 における 2 及び 4mg/kg/day 群の雌では、対照群と比較して、リパーゼに用量非依存性の上昇がみられたが、これは 2mg/kg/day 群の Day 28 では観察されず、4mg/kg/day 群では部分的に回復した。試験実施時には、これらの上昇の程度が小さく、肝胆道系の他の変化及び膵臓の組織学的変化がなかったため、胆汁酸及びリパーゼの上昇とジルコプランとの関連性は明確でないことが示唆された。

投与終了時剖検では、1mg/kg/day 以上の投与群で皮下投与部位における病理組織学的所見の出現頻度及び重篤度に用量非依存的でわずかな増加が認められ、ジルコプランに関連した影響が示唆された。病理組織学的所見として、軽微ないし軽度の浮腫、線維増殖、出血、筋細胞の変性／再生、あるいは皮下の混合細胞型炎症が観察された。回復性試験終了時の剖検では、対照群と比較して、皮下投与部位における病理組織学的所見の出現頻度及び重篤度のジルコプランに関連する増加は観察されず、投与終了時の剖検でみられた病理組織学的所見の回復性が示された。

ジルコプランの 1mg/kg/day 以上の投与群の動物の胸腺で、軽微から軽度の髄質細胞数増加及び軽微なリンパ濾胞の増加が認められた。これらは投与された動物でのみ観察されたが、これらの出現頻度及び重篤度は低く、背景データとして観察された所見との類似性を考慮すると、本試験内でこれらの所見とジルコプラン投与との関連性は明確でないことが示唆された。

2mg/kg/day 群及び 4mg/kg/day 群のそれぞれの雄 1 例の肝臓で胆管周囲の軽微ないし軽度な混合細胞型炎症が観察された。混合細胞型炎症は、主に単核細胞、少数の多形核細胞、胆管周囲への局所

的な分布及び胆管上皮過形成を特徴とした。同様の炎症は、胆嚢及び胆／膵管ではいずれの動物でも観察されなかった。ジルコプランと胆管周囲の炎症との正確な関係は明確でないが、試験実施時点では、分布が限局性であること、雌での同様の所見がないこと及びカニクイザルにおける背景データで報告されている肝臓所見との類似性のため、胆管周囲の炎症は偶発的である可能性が高く、ジルコプラン投与とは関係がないと考えられた。

血漿サンプルを用いる *ex vivo* 溶血アッセイで補体活性を測定した。溶血アッセイを用いた補体活性の分析により、試験期間中、すべての用量で 95%を超える溶血阻害が確認された。4 週間の休薬期間後、補体系の阻害はほとんど又は全く認められなかった（M2.6.2.2.2.2 項）。

結論として、ジルコプランを投与量 1、2 及び 4mg/kg/day でカニクイザルに 4 週間連日皮下投与した結果、忍容性は良好であった。ジルコプランに関連する影響は、2mg/kg/day 以上の投与群での投与部位の軽微な浮腫、1mg/kg/day 以上の投与群における投与部位の病理組織学的所見の出現頻度及び重篤度の用量非依存的かつ可逆的な僅かな増加に限定された。これらの変化は、出現頻度及び程度が限定されていること、並びに一過性又は可逆的であることから、有害とは考えられなかった。胆汁酸、リパーゼ、及び肝臓の所見の変化は、全体的な結論で更に考察し、ジルコプランで実施した他の毒性試験の項でも示す。

これらの結果に基づき、NOAEL は最高用量の 4mg/kg/day であり、この用量における平均 C_{max} は 64.25μg/mL（雌雄合算、雄では 65.7μg/mL、雌では 62.8μg/mL）、最終投与時の平均 $AUC_{0\text{-}24}$ は 1140μg·h/mL（雌雄合算、雄では 1250μg·h/mL、雌では 1030μg·h/mL）であった。

3.3　カニクイザルにおける 13 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（試験番号 20076807、TR-0121、TR-0129）

本試験は、ジルコプランをカニクイザルに 13 週間 1 日 1 回皮下投与したときの毒性及び 4 週間休薬したときの回復性を評価するために実施した。加えて、ジルコプランの TK 特性及び補体阻害活性を検討した。試験デザインは表 3-5 に示す。

表 3-5　サル 13 週間投与毒性試験デザイン

試験群	被験物質	投与量 (mg/kg /day)	投与液量 (mL/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	動物数 [a]			
					主試験		4 週間回復性試験	
					雄	雌	雄	雌
1	溶媒対照 [b]	0	0.2	0	3	3	2	2
2	ジルコプラン	0.25	0.2	1.25	3	3	NA	NA
3	ジルコプラン	1	0.2	5	3	3	NA	NA
4	ジルコプラン	2	0.2	10	3	3	2	2
5	ジルコプラン	10	0.2	50	3	3	2	2

NA=該当せず

[a] 主試験の動物は Day 92、回復性試験の動物は Day 120 に安楽死させた

[b] 溶媒対照群には 50mM リン酸ナトリウム（pH7.0）に 0.9%塩化ナトリウムを加えた溶媒を投与した

本試験では、次のパラメータ又はエンドポイントを評価した。一般状態、投与部位における皮膚スコア、体重、摂餌量、身体検査、心電図、臨床病理パラメータ（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査及び尿検査）、TK 測定、被験物質の代謝物分析（TR-0121 試験、TR-0129 試験、M2.6.4.5.2.2 項）、免疫原性、補体阻害活性（M2.6.2.2.2.2 項）、糞便病原体解析、血液培養評

価、肝臓及び胆汁検体分析（TR-0129 試験、M2.6.4.5.2.3 項）、器官重量、肉眼的剖検所見、病理組織学的検査及び免疫組織化学検査（IHC）。

すべての動物は、予定された剖検時まで生存した。

ジルコプランの血漿中濃度は、投与後 2～8 時間でピークに達した。血漿中濃度は C_{max} に到達後に緩やかに低下した。したがって、終末消失相は、Day 91 の最終投与後の回復性試験動物（雌雄各 2 例）についてのみ検討され、$T_{1/2}$ は 33.2～57.4 時間と推定された。概して、Day 1 及び Day 91 に、$AUC_{0\text{-}24}$ は 0.25～1mg/kg/day の間では用量比以下で増加し、1～10mg/kg/day の間で用量比例的に増加した（表 3-6）。Day 91 でのジルコプランの曝露量は、全投与群で Day 1 と比較して増加した。$AUC_{0\text{-}24}$ の平均蓄積率は 1.4～2.2 の範囲であった。全身曝露量に性差は認められず、雄の $AUC_{0\text{-}24}$ に対する雌の比率は 0.74～1.11 の範囲であった（表 3-6）。

抗薬物抗体の確認試験において、0.25mg/kg/day 群の雌 1 例で Day 92 に採取した検体の最低希釈液で特異抗体反応（40%阻害）を示すことがわかった。この動物のジルコプラン曝露量は、この時点で 0.25mg/kg/day 群の他の雌動物と同程度であった（表 3-6、M2.6.4.3.2.2 項）。

表 3-6　13 週間連日皮下投与後のカニクイザルにおけるジルコプランの TK パラメータ及び抗薬物抗体の産生

投与量 (mg/kg/day)	0 (対照)		0.25		1		2		10	
動物数 [a]	雄: 5	雌: 5	雄: 3	雌: 3	雄: 3	雌: 3	雄: 5	雌: 5	雄: 5	雌: 5
ジルコプラン平均曝露量										
Day 1										
C_{max} (ng/mL)	BQL	BQL	2920	3010	10,200	12,000	20,700	22,000	89,700	94,300
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL) [b]	NA	NA	55,700	60,100	168,000	187,000	344,000	335,000	1,530,000	1,590,000
Day 91										
C_{max} (ng/mL)	BQL	BQL	6050	6250	15,100	16,400	37,600	30,500	167,000	167,000
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL) [b]	NA	NA	117,000	126,000	273,000	295,000	659,000	488,000	3,330,000	3,210,000
抗薬物抗体 (Day 92) [c]	0 (0%)		1 (17%)		0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)	

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、BQL=定量限界未満（<100ng/mL）、NA=該当せず

[a] 動物数は Day 92 に安楽死させた主試験の動物（1 群あたり雌雄各 3 例）及び Day 120 に安楽死させた回復性試験の動物（対照群並びに 2 及び 10mg/kg/day 群の雌雄各 2 例）を含む

[b] $AUC_{0\text{-}24}$=TK レポートで特定された $AUC_{0\text{-}t}$

[c] 抗薬物抗体の測定は、Day 92 以外に、試験前及び Day 120 にも実施したが、陽性を示す動物は認められなかった

血漿補体活性に関しては、0.25mg/kg/day 以上の用量で初回投与の 2 時間後から 13 週間の投与期間中完全な溶血阻害（> 90%）を示し、4 週間回復性試験後では溶血阻害はほとんど又はまったくなかった（M2.6.2.2.2.2 項）。

投与部位の皮膚スコア、体重、摂餌量、身体検査、心電図検査、血液学的検査又は尿検査パラメータ、器官重量及び肉眼的病理検査にジルコプランに関連する変化はみられなかった。

一般状態観察では、顔の赤面及び乾燥、眼窩周囲の発赤を伴う両側性の眼分泌物、肝臓と膵臓の血液生化学的検査値の変化、並びに病理組織学的変化を伴う僅かな顔面黄疸と腹痛が 10mg/kg/day 群の雄 5 例中 3 例に認められた（1 例は 3 つの一般状態の各所見を示した）。

血液生化学パラメータのジルコプランに関連した変化として、10mg/kg/day 群でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、アラニン・アミノトランスフェラーゼ（ALT）、アルカリフォスファターゼ（ALP）、γ-グルタミルトランスフェラーゼ（GGT）、総ビリルビン、コレステロール、リパーゼ、アミラーゼ、胆汁酸、クレアチンキナーゼの上昇、及びアルブミン並びにアルブミン／グロブリン比の低下が認められた。2mg/kg/day 群の雄 1 例でリパーゼの上昇、1mg/kg/day 群の雄 2 例で GGT の上昇、同群の雄 1 例で ALP の上昇、0.25mg/kg/day 群の雌雄各 1 例でリパーゼの上昇、同群の雄 1 例で ALP 及びアミラーゼの上昇が認められた。凝固系パラメータのジルコプランに関連した変化として、10mg/kg/day 群の雌雄各 1 例、1mg/kg/day 群の雄 1 例、0.25mg/kg/day 群の雄 1 例でフィブリノーゲンの上昇が認められた。

病理組織学的変化として、10mg/kg/day 群の雄 1 例で膵臓の顕著な炎症（血管炎）が観察され、毒性とみなされた。この動物には、軽度の膵臓腺房細胞変性及び軽度の膵管過形成も観察され、これらの所見に関連したと考えられるアミラーゼとリパーゼの上昇が認められた。

軽微ないし軽度の膵臓腺房細胞変性は、1mg/kg/day 以上の投与群のそれぞれ雌 1 例でも観察されたが、この変化の重篤度に基づき膵臓機能に重大な影響を及ぼす可能性が低いことから、毒性と考えられなかった。

10mg/kg/day 群の雄 2 例の舌において中等度の粘膜小水疱変性及び中等度の単核細胞の浸潤の増加が観察され、そのうちの 1 例では小水疱形成領域で粘膜の軽微な好中球性炎症が認められた。唾液腺管上皮の変化として、変性及び単核細胞性炎症が 10mg/kg/day 群の雄 1 例に観察された。胸腺の髄質において、軽微から中等度のリンパ球数増加が 0.25mg/kg/day 以上の投与群の雄及び 1mg/kg/day 以上の投与群の雌に認められた。胸腺の髄質における軽微から軽度又は中等度のリンパ濾胞形成が、0.25mg/kg/day 及び 2mg/kg/day 以上の投与群の雄、並びに 1mg/kg/day 以上の投与群の雌で認められた。膵臓、腎臓、舌、食道、唾液腺、甲状腺、直腸、回腸、胃及び膀胱で血管／血管周囲単核細胞浸潤が観察され、出現頻度及び重篤度（軽微から中等度）は用量反応的に増加した。

肺、直腸及び腎臓に観察された病理組織学的変化は、散発的で出現頻度が低く用量反応性に乏しいことから、投与に関連する可能性が低く、ジルコプランとの関連は明確ではないと考えられた。

直腸では、ジルコプラン投与群の動物 4 例（0.25mg/kg/day 群の雌雄各 1 例、10mg/kg/day 群の雄 2 例）に、筋層の軽微から顕著な筋変性が認められた。変性が認められた筋層では、比較的高頻度に軽微ないし軽度の混合細胞型炎症を呈する平滑筋の再生を伴っていた。2mg/kg/day 群の雄 1 例は、直腸粘液腺に好中球性炎症が観察されたが、筋変性は認められなかった。これに類似した病変はサルで時折みられ、潜在的に処置手順に関連している可能性があった（すなわち、直腸温度データの収集）。しかし、再生を伴う軽度から顕著な筋変性の原因は、病理切片及び利用可能な臨床病理データから明確にされず、また動物試験中の一般状態の変化とも関連しなかったが、この所見の出現頻度は被験物質投与により上昇した可能性がある。

回復性試験終了時のジルコプランに関連した病理組織学的変化は、投与部位の変化が 2mg/kg/day 以上、膵臓の変化が 10mg/kg/day（単核細胞浸潤を含む）、肝臓の変化が 10mg/kg/day で観察された。0.25 及び 1mg/kg/day 群では回復性試験を設けなかった。

投与期間終了時の動物では肝臓の変化は認められなかったが、4 週間回復性試験の 10mg/kg/day 群の雄 1 例で以下の有害な顕微鏡的変化が観察された：肝臓における架橋門脈を有する中等度の胆管過形成、中等度な卵円形細胞過形成、軽微な線維化、及び中等度の肝細胞グリコーゲンの増加。この個体では、投与期間中に AST、ALT、ALP、GGT、総ビリルビン及びコレステロールの上昇並

びに僅かな黄疸及び腹痛が認められたが、4 週間回復性試験の剖検時にはこれらの所見は認められなかった。この個体は、膵臓における中等度の腺房萎縮及び軽度の単核細胞浸潤を伴う膵管過形成を有していた。これらの所見は、ジルコプランに関連している可能性が高いと考えられ、投与終了時の剖検動物に膵臓腺房細胞変性が認められたこと、及び投与期間中の臨床病理所見により毒性と考えられた。この所見は高投与量群の 1 例に認められ、Day 58 頃に獣医師が観察した一般状態の変化と関連していた。

顕著な炎症（血管炎）、舌の変化、唾液腺管上皮の変性及び単核細胞性炎症は回復性試験動物にはなかった。胸腺の髄質におけるリンパ球数増加及び胸腺髄質のリンパ濾胞形成は、投与終了時剖検の雌雄動物に観察され、回復性試験の雌雄動物にも認められた。胸腺の髄質におけるリンパ球数の軽微から中等度の増加は、2mg/kg/day 以上の投与群の雄及び 10mg/kg/day 群の雌に認められた。軽微ないし軽度の胸腺髄質のリンパ濾胞形成は、10mg/kg/day 投与群の雌雄に認められた。投与終了時剖検動物に認められたジルコプランに関連する血管／血管周囲の細胞浸潤は、回復性試験では膵臓に軽微な血管／血管周囲の単核細胞浸潤を示した 10mg/kg/day 群の雄 1 例（動物番号 5005）にのみに観察され、回復性試験期間中にそのほとんどは回復したことを示している。

2mg/kg/day 群の雌 1 例の直腸において、筋層の顕著な筋変性が認められ、混合細胞型炎症を呈する平滑筋の再生を伴っていた。これは投与終了時動物でみられたものと同一の現象であった。10mg/kg/day 群の雄 1 例は、直腸部分の筋層及び固有層に軽微な単核細胞浸潤を示し、これは筋変性／再生を有する投与終了時の剖検動物と同様の所見であった。投与終了時の剖検動物と同様に、この病変はジルコプランとの関連が不確かであり、処置手順により悪化する偶発的な所見の可能性がある。

2mg/kg/day の雌 1 例で、肺に軽微な混合細胞浸潤が観察されたが、この所見はカニクイザルにおける偶発的所見のため、ジルコプランに関連する可能性は低かった。

雌雄の生殖器官にジルコプラン投与に関連する顕微鏡的所見は認められなかった。

その他の観察された顕微鏡的所見は、サルのこの系統及び年齢で一般的に観察される程度の偶発的所見とみなされるか、あるいは対照群と投与群の動物間で同様の発生率及び重篤度であったことから、ジルコプラン投与とは関係がないと考えられた。

IHC 染色では、高投与量群（10mg/kg/day）及び対照群（0mg/kg/day）のそれぞれ 6 例の舌、直腸及び膵臓に、免疫複合体の沈着を示唆するようなサルの免疫グロブリン（Ig）G、IgM 又は補体第 3 成分（C3）を含む顆粒状の沈着物は認められなかった。

IgG、IgM 及び C3 の漏出の増加、並びに浸潤性／炎症性単核細胞の IgG、IgM 及び C3 の染色の増加が、高投与量群（10mg/kg/day）動物 6 例の舌、直腸及び膵臓組織において、血管／血管周囲の単核細胞浸潤を有する血管の主に固有粘膜下組織及び血管周囲領域に認められた。

結論として、ジルコプランをカニクイザルに 13 週間連日皮下投与した結果、10mg/kg/day までの用量で忍容性が認められた。すべての動物は、予定された剖検時まで生存した。投与終了剖検時の Day 91 における病理組織学的変化は、膵臓、腎臓、舌、食道、唾液腺、甲状腺、直腸、回腸、胃及び膀胱に 0.25mg/kg/day 以上の投与量で観察された。概して、これらの所見の出現頻度あるいは重篤度に用量反応的な増加が認められ、2mg/kg/day 以下の投与量でみられた変化は、出現頻度及び重篤度が低いため、毒性とは考えられなかった。血管／血管周囲の単核細胞浸潤は部分的に回復可能であった。しかし、10mg/kg/day での膵臓及び肝臓、並びに 2mg/kg/day での胸腺の病理組織学的変化は、4 週間回復性試験後では完全には回復しなかった。

これらの結果に基づいて、NOAEL は 2mg/kg/day と考えられ、この用量における Day 91 での平均 C_{max} は 34.05μg/mL（雌雄合算、雄では 37.6μg/mL、雌では 30.5μg/mL）であり、平均 AUC_{0-24} は 573.5μg·h/mL（雌雄合算、雄では 659μg·h/mL、雌では 488μg·h/mL）であった。これらの曝露量は、第 III 相臨床試験における推定最大 C_{max} 及び AUC をそれぞれ 1.6 倍及び 2.1 倍、並びにエスノブリッジング試験（UP0113 試験）で得られた C_{max} 及び AUC をそれぞれ 2.7 倍及び 2.2 倍上回っている（表 9-1）。

3.4　カニクイザルにおける 39 週間皮下投与毒性試験及び 8 週間回復性試験（試験番号 20086030）

本試験は、ジルコプランをカニクイザルに 39 週間 1 日 1 回皮下投与したときの毒性及び 8 週間休薬したときの回復性を評価するために実施した。加えて、ジルコプランの TK 特性及び補体阻害活性を検討した。試験デザインは表 3-7 に示す。

表 3-7　サル 39 週間投与毒性試験デザイン

試験群	被験物質	投与量 (mg/kg /day)	投与液量 (mL/kg)	投与液濃度 (mg/mL)	動物数 [a]			
					主試験		回復性試験	
					雄	雌	雄	雌
1	溶媒対照	0	0.2	0	3	3	2	2
2	ジルコプラン	0.25	0.2	1.25	3	3	NA	NA
3	ジルコプラン	1	0.2	5	3	3	NA	NA
4	ジルコプラン	2	0.2	10	3	3	2	2
5	ジルコプラン	4	0.2	20	3	3	2	2
6	ジルコプラン	6	0.2	30	3	3	2	2

NA=該当せず

[a] 主試験の剖検は、次の早期安楽死例を除き Day 274 に実施した。第 5 群の雄 1 例は Day 52、第 6 群の雌 1 例は Day 203、第 2 群の雌 1 例は Day 245 に安楽死させた。回復性試験の動物は Day 330 に安楽死させた

次のパラメータ又はエンドポイントを評価した。一般状態、体重、摂餌量、獣医師による身体検査、心電図、血圧及び心拍数、眼科学的検査、涙液試験（雌のみ）、唾液採取（雌のみ）、臨床病理パラメータ（血液学的、凝固系、血液生化学的及び尿検査）、TK 測定、抗薬物抗体測定、補体阻害活性（M2.6.2.2.2.2 項）、血清サンプルの電気泳動、肉眼的剖検所見、器官重量、及び病理組織学的検査を実施した。

ジルコプランを投与量 0.25、1、2、4 及び 6mg/kg/day で雌雄サルに皮下投与した結果、すべての動物にジルコプランの全身曝露が確認された。ジルコプランの AUC_{0-t} 及び C_{max} は、Day 1、Day 182 及び Day 273 では 0.25～6mg/kg/day の投与量範囲にわたり、投与量比より僅かに少ないか、投与量にほぼ比例して増加した。AUC_{0-t} については、ジルコプランの曝露量は雌雄間で類似しており、その差は 2 倍未満であった。ジルコプランを反復皮下投与すると、多くの動物に僅かな薬物蓄積が観察され、Day 182 及び Day 273 の平均蓄積率は雌雄で 1.5～2.1 の範囲であった。血漿中濃度のピークは、投与後 2 時間又は 4 時間で観察され、性別、投与量レベル及び評価日の影響を受けなかった。

すべての対照群のサンプルは、ex vivo 溶血試験で試験期間を通して 90%を超える高レベルの溶血を示し、補体活性に対する溶媒の影響がないことが示された。0.25mg/kg/day を投与したすべての動物は、投与期間を通して高レベルの溶血抑制を示し、ほとんどの測定時点で溶血は 20%未満であった。1mg/kg/day 以上の群のすべての動物では、投与後 2 時間以内から 39 週間の連日投与を

通じて、速やかかつほぼ完全に溶血が抑制された（> 90%）。溶血レベルは、回復性試験における 4mg/kg/day 群のすべての動物で 8 週間休薬期間を通してベースラインに戻った。6mg/kg/day 群のほとんどの動物は、休薬期間終了時にベースラインの溶血レベルに戻るかあるいは戻る傾向を示した（M2.6.2.2.2.2 項）。

最初の投与前及び投与期間中並びに回復性試験期間中にすべての動物から採取した血清を、直接酵素結合免疫吸着アッセイを用いて、ジルコプランに対する免疫反応性について検査した。すべてのサンプルに反応がないことを確認した（表 3-8）。

表 3-8　カニクイザル 39 週間連日皮下投与毒性試験におけるジルコプランの TK パラメータ及び抗薬物抗体の産生

投与量(mg/kg/day)	0 （対照）		0.25		1		2		4		6	
動物数 [a]	雄: 5	雌: 5	雄: 3	雌: 3	雄: 3	雌: 3	雄: 5	雌: 5	雄: 5	雌: 5	雄: 5	雌: 5
トキシコキネティクス（ジルコプランの平均曝露量）												
Day 1												
C_{max} (ng/mL)	BQL	BQL	3100	3140	12,200	12,200	21.400	23,600	37,700	42,700	66,300	63,000
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	NA	NA	59,700	60,200	193,000	185,000	348,000	360,000	632,000	688,000	1,110,000	1,040,000
Day 273												
C_{max} (ng/mL)	BQL	BQL	5650	5990 (n=2)	17,600	17,900	30,600	33,900	64,900 (n=4)	74,800	100,000	91,000 (n=3)
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	NA	NA	109,000	108,000 (n=2)	306,000	289,000	534,000	548,000	1,170,000 (n=4)	1,290,000	1,890,000	1,610,000 (n=3)
抗薬物抗体 [b]	0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)	

BQL=定量限界未満（<100ng/mL)、 AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、 C_{max}=最高血漿中濃度、NA=該当せず

[a] Day 274 に安楽死させた主試験の動物（1 群あたり雌雄各 3 例）及び Day 330 に安楽死させた回復性試験の動物（対照群及び 2、4 及び 6mg/kg/day 群の雌雄各 2 例）を含む。Day 52（4mg/kg/day 群の雄），Day 203（6mg/kg/day 群の雌）及び Day 245（0.25mg/kg/day 群の雌）の 3 例の主試験の早期安楽死させた動物は除外する

[b] 抗薬物抗体陽性の動物数（陽性パーセント）は、試験前から回復性試験期間までの評価結果を示す。スクリーニング試験で陽性と判定された 5 サンプルは、特異性試験での解析に基づき、反応性なしと報告された

※調整中

ジルコプランを投与量 0、0.25、1、2、4 及び 6mg/kg/day で投与したとき、被験物質に関連する変化が見られた。3 例の動物（0.25、4 及び 6mg/kg/day 群で各 1 例）は試験途中に安楽死させた。そのうちジルコプランを 0.25mg/kg/day で投与した 1 例は、試験開始前からの状態と考えられた慢性的で重度の大腸炎がストレスにより悪化したために安楽死させたが、被験物質に直接関連する可能性は低いと考えられた。

ジルコプランを 4 及び 6mg/kg/day で投与された 2 例は、被験物質に関連する皮膚の重度の潰瘍及びびらんのため、予定よりも早期に安楽死させた。これらの動物には安楽死の決定に寄与した被験物質に関連する追加所見（肝線維化、肺浮腫、及び中等度の膵臓腺房細胞変性）が 1 つ又は複数認められた。肉眼的に、これらの動物は、痂疲、張りのない皮膚領域、及び臀部、足蹠、眼瞼、陰嚢、唇、下腹部、耳、並びに尾を含む複数の皮膚位置に暗赤色の病巣を有していた。顕微鏡的所見では、これらの皮膚病変は、表皮内の割裂、表皮内の膿疱／微小膿瘍、微小胞、上皮細胞の水腫性変化、並びに表皮のびらん及び潰瘍であった。動物 1 例では足蹠の軽度な表皮過形成、陰嚢及び足蹠の皮膚の血管周囲で単核細胞浸潤が観察され、他の動物は肉眼的な皮膚所見が認められた部位にインターフェース混合細胞浸潤を有していた。顕著な多発性小水疱変性（上皮基底層の棘細胞離開）は、動物 1 例のいくつかの皮膚切片に共通して見られた。これら動物 2 例の皮膚切片の組織所見は、子宮頸部、膣、胃、舌、食道でも様々に観察され、類似していたが、投与終了時剖検動物よりも概して広範囲（皮膚を含む）で重篤度が高かった。4mg/kg/day 群の動物では浮腫を伴う中等度の肝臓の架橋線維化、胆管／卵円形細胞の過形成、門脈単核細胞浸潤、及び細気管支／気管支での混合細胞浸潤を伴う顕著な肺浮腫が認められた。所見が見られた肝臓では、ALT、AST 及び乳酸脱水素酵素の僅かな増加、総ビリルビンの中等度な増加に伴う ALP 及び GGT の著しい増加、並びに総胆汁酸の著しい増加が認められた。ジルコプランの 6mg/kg/day 群の動物では、唾液腺管の中等度な変性／再生が観察され、Day 202 において、顕微鏡的所見と関連するリパーゼ及びアミラーゼの軽微な増加が認められた。

早期の安楽死動物は、膵臓の中等度な腺房細胞変性、又は腺房萎縮を伴う膵管変性／再生を有した。0.25mg/kg/day の早期の安楽死動物では骨髄での造血増加が観察され、これは、この動物における潰瘍性及び炎症性状態からの末梢需要が原因であると考えられた。同様に、0.25mg/kg/day 群における結腸及び盲腸のリンパ節の傍皮質リンパ球過形成及び肝類洞混合細胞浸潤（内毒素反応を示唆）は、大腸炎／直腸炎と関連していた。早期の安楽死動物における軽微ないし軽度の副腎皮質肥大／過形成、並びに胸腺、脾臓及びリンパ節の濾胞性リンパ球の枯渇は、ストレスによるものと考えられた。軽微から軽度の腸粘膜萎縮は、0.25 及び 4mg/kg/day 群の動物でのみ観察された。

計画剖検まで生存した動物では、体重、摂餌量、血圧、心拍数、眼科学的検査、心電図、血液学的、凝固系及び尿検査パラメータにジルコプランに関連する変化はなかった。ジルコプランに起因する一般状態の変化として、局所的ないくつかの部位［腹部、陰茎、尾、眼瞼（結膜）］での腫脹、眼分泌物、局所的及び全身的な皮膚の発赤、投与部位の反応、並びに様々な皮膚の損傷又は擦過傷が含まれていた。4mg/kg/day 群の 1 例及び 6mg/kg/day 群の 1 例は、頬粘膜紅斑及び口腔潰瘍（後者は 6mg/kg/day 群の動物のみ）のため Day 148 から Day 150 まで休薬した結果、Day 150 までに回復した。ジルコプランに関連するとみられる血液生化学的変化として、すべての投与群でアルブミンの減少が認められ、6mg/kg/day 群で最大の変化を示した。ジルコプランの最高用量（6mg/kg/day）を投与した動物は、血清中濃度の約 2%であると報告（Willcox et al.1997）されている局所 C5 を阻害するのに十分に高い涙液中の薬物濃度を示した。この分泌物液中のジルコプランの存在は、眼粘膜（結膜）及び口腔内の補体媒介防御システムに影響を与えた可能性がある。これ

らの結果は 4 及び 6mg/kg/day を投与された動物にみられる粘膜皮膚接合部の感染症（例えば、結膜炎）の発症を示唆している可能性がある。

0.25mg/kg/day 以上のジルコプラン投与群では、舌切片に、軽微から顕著なインターフェース単核／混合細胞浸潤が観察された。4 及び 6mg/kg/day 群の数例で影響を受けた舌は、IHC の評価により、T 細胞の浸潤が観察され、少数のマクロファージ及び B 細胞のクラスターを時折伴っていた。加えて、様々な器官内で単核細胞、好中球及び混合細胞の浸潤の出現頻度及び重篤度が上昇した。細胞浸潤の程度は、主に軽微ないし軽度であり、4mg/kg/day 以上の投与群では時折中等度であった。

ジルコプランの 1mg/kg/day 以上の投与群では、胸腺髄質の軽微から顕著な細胞数増加が観察された。IHC 評価の結果、2mg/kg/day 以上の投与群の一部動物における髄質の細胞数増加は、T 細胞（$CD3^+$、$CD4^+$及び $CD8^+$）の増加によるものであった。胸腺髄質の細胞数増加は、B 細胞が豊富なリンパ濾胞を伴うことが多く、まれに多核巨細胞及び出血を伴っていた。いくつかのリンパ球凝集体は、二次濾胞に類似した部分的又は完全に形成された外側の同心領域を備えた胚中心からなり、$CD20^+$ B 細胞で構成されていた。

子宮頸部における軽度から顕著な上皮小水疱変性及びインターフェース単核細胞浸潤は、扁平上皮化生の発生率及び重篤度の増加を伴い、1mg/kg/day 以上の投与群ではまれに上皮びらんを伴った。1mg/kg/day の投与群の 1 例は、早期の安楽死動物で認められたものと同様の軽度の子宮内膜変性を示した。脾臓において、1mg/kg/day 以上の投与群で濾胞性リンパ球数の軽微ないし軽度の増加が観察された。

ジルコプランの 2mg/kg/day 以上の投与群では、食道及び膣粘膜にインターフェース単核／混合細胞浸潤があり、一部は上皮小水疱変性を伴っていた。膵臓腺房細胞の変性は、一部線維化及び膵管の変性／再生又は過形成を伴うものもあり、すべての早期の安楽死動物で観察され、投与終了時剖検での 2mg/kg/day 群の 1 例でも軽微な症状が認められた。

ジルコプランの 4mg/kg/day 以上の投与群では、早期の安楽死動物でのみ皮膚表皮の小水疱変性を伴うインターフェース細胞浸潤が観察され、表皮の潰瘍に関連していた。

ジルコプランの 6mg/kg/day 群では、対照群及び低用量群と比較して、骨髄中の単核細胞凝集体の出現頻度及び重篤度が上昇した。単核細胞凝集体はリンパ濾胞形成をしばしば伴っていた。4 及び 6mg/kg/day 群の数例で影響を受けた舌は、IHC の評価により、主に $CD3^+$、$CD4^+$及び $CD8^+$ T 細胞の浸潤が観察された。CD 68^+マクロファージは、$CD20^+$ B 細胞のクラスターを時折伴うインターフェース細胞浸潤部にも少数存在していた。4 及び 6mg/kg/day 投与群における IgG の発現は、細胞外及びインターフェース細胞浸潤により移入した細胞の細胞質内で増加していた。細胞浸潤の形態及びそれらに関連する上皮の変化は、早期の安楽死動物について記載されたものと同様であり、しばしば上皮の用量反応的な小水疱変性を含んでいた。

Day 330 の回復性試験終了の安楽死の時に、ジルコプランの 2mg/kg/day 以上の投与群では、舌、膣、胃及び皮膚のインターフェース単核／混合細胞浸潤、上皮小水疱変性／びらん／壊死、膵臓腺房細胞変性、肝線維化及び胆管過形成、唾液腺管過形成、並びに子宮内膜変性等、ジルコプランに関連する複数所見からの完全な回復性が認められた。ほとんどの器官及び投与部位の炎症性細胞浸潤は、対照群及びジルコプラン投与群との間で分布が類似しており、完全に回復したとみなされた。しかし、食道粘膜への浸潤は、2mg/kg/day 以上の群で対照群と比較して出現頻度及び重篤度は増加したままであった。2mg/kg/day 以上の群の雌では、子宮頸部粘膜の軽微、軽度又は顕著な扁平上皮化生は回復性試験後にも認められた。ジルコプラン投与群の一部動物の胸腺で、投与終了時の

安楽死動物に認められたものと同様の髄質細胞数の増加が回復性試験動物で認められたが、重篤度は低下し、退行性リンパ濾胞の形態学的特徴を有していたため、回復に向かいつつあるものと考えられた。同様に、被験物質を投与した動物数例の骨髄中リンパ濾胞は、軽微で辺縁が明確でなくなっており、投与時点からの継続的な回復性が示唆されていた。骨髄内の軽微なリンパ球凝集体は、2mg/kg/day 以上の群で存在したままであった。

結論として、ジルコプランを投与量 0.25、1、2、4 及び 6mg/kg/day で 39 週間投与した結果、投与期間終了時の動物及び 3 例の早期安楽死動物にジルコプランに関連する所見が認められた。0.25mg/kg/day 群で慢性の重度な大腸炎のために早期に安楽死させた動物 1 例は、ストレスにより悪化したと推察され、被験物質に直接関連がないと考えられた。4 及び 6mg/kg/day 投与群の 2 例は、被験物質に関連する重度の皮膚潰瘍及びびらんのために早期に安楽死させた。これらの動物には、肝線維化、肺浮腫及び中等度の膵臓腺房細胞変性のいずれか 1 つ又は複数の所見を含む被験物質に関連する追加所見が観察された。いくつかの所見は、早期安楽死動物と計画剖検動物の間で共通しており、これらは、舌、子宮頸部、膣、食道、胃及び皮膚のインターフェース単核細胞／混合細胞浸潤、上皮小水疱変性、膵臓腺房細胞変性、肝線維化及び胆管過形成、唾液腺管過形成、並びに子宮内膜変性の所見であった。

ジルコプランに関連する複数の所見は、回復性試験の剖検時には完全に回復していた。しかし、食道の粘膜浸潤、子宮頸部粘膜の扁平上皮化生、胸腺の髄質細胞数増加及び骨髄の軽微なリンパ球凝集体は、回復性試験終了時にも認められた。胸腺及び骨髄に部分的な回復を示す変化がみられた。さらに、胸腺では髄質の細胞数増加の程度は軽微ないし軽度であり、髄質拡張の特徴を欠いていた。

39 週間投与試験では NOAEL は決定されなかった。最大耐量は 2mg/kg/day であり、39 週時点でこの用量での平均 C_{max} は 32.25μg/mL（雌雄合算、雄では 30.6μg/mL、雌では 33.9μg/mL）、AUC_{0-24} は 541μg·h/mL（雌雄合算、雄では 534μg·h/mL、雌では 548μg·h/mL）であり、これらは、第 III 相臨床試験における推定最大 C_{max} 及び AUC のそれぞれ約 1.6 倍及び 2.0 倍、並びにエスノブリッジング試験（UP0113 試験）で得られた C_{max} 及び AUC のそれぞれ 2.6 倍及び 2.1 倍に相当する（表 9-1）。

4. 遺伝毒性試験

ジルコプランの遺伝毒性は、細菌を用いる *in vitro* 復帰突然変異試験及びヒト末梢血リンパ細胞を用いる *in vitro* 染色体異常試験で評価した。また、SD ラットの骨髄細胞を用いて *in vivo* 小核試験も実施した。

4.1 *In vitro* 試験

4.1.1 細菌を用いる *in vitro* 復帰突然変異試験（試験番号 8327570）

本試験は、サルモネラ菌のヒスチジン要求株（TA98、TA100、TA1535 及び TA1537）及び大腸菌のトリプトファン要求株（WP2*uvrA*）を用いて、ラット肝代謝活性化系（S9）の存在下及び非存在下で、ジルコプランの復帰突然変異誘発性を検討するために実施した。ジルコプランの 5、16、50、160、500、1600 及び 5000μg/plate の用量で（各用量あたり 3 枚のプレート）試験菌株 TA98、TA100、TA1535、TA1537 及び WP2*uvrA* を用いて S9 存在下及び非存在下で変異原性を検討した。

すべての陽性対照群及び溶媒対照群の測定値は許容範囲内であり、有効な試験のすべての基準を満たした。

ジルコプランは、S9 の存在下又は非存在下で、いずれの試験菌株でも復帰突然変異コロニー数の増加を引き起こさなかった。以上より、ジルコプランは細菌を用いる復帰突然変異原性試験で陰性結果を示した。

4.1.2 ヒトリンパ球を用いる *in vitro* 染色体異常試験（試験番号 8327571）

本試験は、S9 の存在下及び非存在下で処理された培養ヒト末梢血リンパ球の染色体に対する影響を検討することにより、ジルコプランの染色体異常誘発能を評価するために実施した。処理時間は、S9 の有無にかかわらず 3 時間、及び S9 なしで 24 時間とした。培養時間は処理の開始から 24 時間とした。染色体異常試験のための細胞毒性評価におけるジルコプラン濃度は 3.39、4.84、6.92、9.89、14.1、20.2、28.8、41.2、59.0、84.0、120、172、245、350 及び 500µg/mL とした。染色体異常試験は、ジルコプラン濃度 245、350 及び 500µg/mL を用いた。

その結果、染色体異常、倍数性又は核内倍加を伴う細胞の有意な増加は、S9 処理の有無にかかわらず 3 時間処理の培養では観察されなかった。一方、350 及び 500µg/mL 濃度で 24 時間処理した培養では、倍数体又は核内倍加を示さないが、染色体異常を有する細胞の有意な増加がそれぞれ 1.33 及び 2.33%認められた。実施研究施設での 24 時間処理の背景データの観察範囲は 0〜3%、95%参照範囲は 0〜1.75%であり、350 及び 500µg/mL の両方で染色体異常を有する細胞の出現率は背景データの範囲内であった。加えて、350µg/mL の用量で染色体異常を示す細胞の割合は 95%参照範囲内であった。これらの数値が比較された陰性対照の培養では、染色体異常を有する細胞の出現率は 0%であった。したがって、これらの結果の生物学的意義は疑わしいと考えられる。今回のアッセイで選択された高用量（500µg/mL）は、被験物質の分子量（3562.229）より医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン（ICH S2）に基づき、このアッセイに推奨される最高用量であった。溶媒対照の培養では染色体異常を有する細胞は背景データの範囲内にあり、陽性対照物質の培養では、溶媒対照の培養と比較して、染色体異常を有する細胞の有意な増加を示した（異常を有する細胞のパーセントは 61.9〜78.9%の範囲）。

結論として、ジルコプランは、S9 の有無にかかわらず、3 時間処理後では培養ヒトリンパ球の染色体異常、倍数性及び核内倍加の誘発性に対して陰性とみなされた。S9 なしで 24 時間処理後、濃度 350 及び 500µg/mL の培養では、染色体異常を示すが倍数体又は核内倍加を有さない細胞の有意な増加が観察されたが、これは増加程度が小さく、背景データの範囲内の値であったため、生物学的関連性は疑わしいと考えられた。

4.2 *In vivo* 試験

4.2.1 SD ラットの骨髄細胞における小核試験（試験番号 NCD3747）

本試験は、ジルコプランを SD ラットに最大耐量（現行の規制ガイドラインに準拠）で皮下投与したときのラット骨髄中における小核を有する多染性赤血球数（多染性赤血球 4000 個あたり）の増加を測定することにより、ジルコプランの潜在的な遺伝毒性情報を得るために実施した。

ジルコプランを塩化ナトリウムで理論上 300mOsm/kg に維持した pH7.0 の 50mM リン酸ナトリウム緩衝液に溶解し、用量設定試験及び主試験の全ての群で 10mL/kg を投与した。

用量設定試験では、雌雄各 1 例に 2000mg/kg を 1 回皮下投与した。続いて、雌雄各 1 例に 250mg/kg を 24 時間間隔で 2 回投与し、最終的には雌雄各 3 例に 500mg/kg を 24 時間間隔で 2 回投与した。500mg/kg/day が最大耐量と考え、主試験の最高用量として選択された。本用量で観察された一般状態の変化は、注射部位の腫脹（全例）、粗皮（2 回目の投与後の雌 1 例）及び皮膚の病変（3 日目の雌 1 例及び 5 日目に追加観察した雌雄各 1 例）であった。2000mg/kg では皮膚病変が過度に重度であり、予定していた 2 回目の投与前に早期屠殺した。2000mg/kg 投与時の皮膚所見が重篤であること、500mg/kg 投与時にラット 3 例で軽度の皮膚病変が認められたと同時にその他の一般状態の変化が認められたことから、1000mg/kg では毒性の強さから試験を完遂できないと考えられた。

雌雄間で本質的な差が認められなかったことから、主試験では雄のみを用いた。雄動物 5 例からなる 4 群に、溶媒又は 125、250、500mg/kg のジルコプランを 24 時間間隔で 2 回皮下投与した。雄動物 3 例からなる陽性対照群では、19mg/kg のシクロホスファミドを単回皮下投与した。溶媒群には溶媒（50mM リン酸ナトリウム緩衝液、pH7.0+0.51%塩化ナトリウム）を投与した。陽性対照群も皮下投与を行ったが、シクロホスファミドを皮下投与した背景データがないため、シクロホスファミドを経口投与した試験施設のバックグラウンドスライド 3 枚をスコア化する際の対照として含めた。

ジルコプラン 500mg/kg を投与した動物では、投与後に軟らかい腫脹、無毛の斑点及び皮膚の病変などの一般状態の変化が認められた。250mg/kg 投与群では柔らかい腫脹が認められ、1 例に病変が認められた。125mg/kg 投与群、溶媒又は陽性対照群では、投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。試験期間中に死亡した動物はいなかった。

初回投与から 48 時間後に骨髄を採取し、小核評価を実施した。1 例あたり少なくとも 4000 個の多染性赤血球について小核を有する多染性赤血球の有無を分析し、赤血球 500 個について、毒性の指標となる総赤血球数（多染性赤血球+正染性赤血球）中の多染性赤血球の割合を評価した。さらに、2 回目の投与から 4 及び 24 時間後に全動物（陽性対照群を除く）から血液サンプルを採取し、ジルコプランの血漿中濃度を測定した。

ジルコプラン投与群の骨髄では、溶媒群と比較して、小核を有する多染性赤血球の平均発現頻度に生物学的に意義のある増加は認められなかった。溶媒群の骨髄における小核を有する多染性赤血球の発現頻度は、陰性対照データベースにおける背景値分布の 95%管理限界の範囲内であった。陽性対照物質であるシクロホスファミドは、いずれの投与経路においても、統計学的に有意な小核を有する多染性赤血球の増加を誘発した。さらに、経口投与した陽性対照群で認められた多染性赤血球数は、陽性対照データベースにおける背景値分布の 95%管理限界の範囲内であった。したがって、試験系として妥当であった。

ジルコプラン投与群では、溶媒群と比較して、正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合の低下は認められず、赤血球産生に対するジルコプランの影響は認められなかった。シクロホスファミド投与群では、皮下及び経口投与のいずれの場合でも、溶媒群と比較して、正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合に想定通りの低下が認められ、赤血球産生に対する毒性作用が示された。

溶媒群ではジルコプランは検出されなかったが、ジルコプラン投与群ではすべての動物でジルコプランを定量可能であった。ジルコプラン血漿中薬物濃度は用量の増加とともに増加した。

結論として、ジルコプラン 500mg/kg/day（現行の規制ガイドラインに準拠した最大耐量）を 2 回雄ラットに投与し、初回投与 48 時間後にサンプリングしたとき、ジルコプランは骨髄の小核を有する多染性赤血球の増加を誘発しなかった。したがって、骨髄における小核試験において染色体異

常誘発性も異数性もないと考えられる。また、血漿分析により、ジルコプランは全身的に曝露されていた。

5. がん原性試験

ジルコプランのがん原性試験は実施していない。ジルコプラン、代謝物及び不純物の発がん性についての包括的評価は行われている（M4.2.3.4.3）。この発がん性評価には、利用可能なすべての薬理学の情報、ジルコプランの利用可能な非臨床及び臨床データ、生物学、及び他の C5 阻害剤の腫瘍リスク評価が含まれる。ジルコプランの包括的な非臨床プログラムは実施されており、C5 欠損症の家族及び C5 欠損マウス系統は腫瘍発生のエビデンスを示さないことを考慮すると、ヒトでの潜在リスクに対する更なる理解が加わる可能性が低いため、霊長類での更なる検討を行う理由に乏しい。ジルコプランはマウスでは薬理活性を示さず、ラットでの薬理活性が非常に弱く（カニクイザルの 1/100 未満）、C5 を欠損するマウス系統のデータが包括的がん原性評価に含まれるため、げっ歯類の試験は妥当ではない。既承認の C5 阻害剤が悪性腫瘍のリスクを増大したというエビデンスはない。したがって、C5 阻害が悪性腫瘍のリスクを高めることを示唆するエビデンスはない。

6. 生殖発生毒性試験

6.1 カニクイザルにおける 13 週間皮下投与による雄受胎能試験及び 8 週間回復性試験（試験番号 8366459）

本試験は、カニクイザルに 13 週間 1 日 1 回皮下投与したときのジルコプランの雄受胎能への影響を検討し、8 週間の休薬期間中における可逆性を評価するために実施した。

臨床投与経路が皮下投与であるため、本試験における投与経路を皮下投与にした。

ジルコプラン 1、2 及び 4mg/kg/day を 0.2mL/kg の液量で、雄カニクイザル（1 群あたり 6 例）に 13 週間連日皮下投与した。対照群（1 群あたり雄 6 例）には、対照物質を同一投与経路で 13 週間連日投与した（表 6-1）。

1 群あたり雄 4 例の動物は、13 週間投与の翌日に試験を終了させ、1 群あたり雄 2 例は 8 週間の休薬期間後に試験を終了させた。

表 6-1　雄受胎能試験の試験デザイン

群番号	群名称	投与量 (mg/kg/day)	投与液量 [a] (mL/kg)	動物数／群	剖検	
				雄	13 週目	21 週目
1	対照群	0	0.2	6	4	2
2	低用量群	1	0.2	6	4	2
3	中用量群	2	0.2	6	4	2
4	高用量群	4	0.2	6	4	2

[a] 個々動物の最新の体重に基づく

毒性評価は、一般状態観察、体重、精巣検査、臨床病理検査（血液学的及び凝固系検査、血液生化学的検査、並びに尿検査）、イムノフェノタイピング、肉眼的及び顕微鏡的所見、器官重量、並びに精子形成段階及び IHC の検査に基づき実施した。

血液サンプルは、Day 1 及び 13 週目の投与後 0、1、2、4、6 及び 24 時間、並びに休薬期間の 4 週目及び 8 週目に、TK 解析及び補体活性測定のために採取した。

ジルコプランの皮下投与後、すべての動物にジルコプランの曝露が確認された。AUC_{0-24} 及び C_{max} に基づくと、ジルコプラン曝露は、用量にほぼ比例して増加した（表 6-2）。ジルコプランの吸収はゆっくりと進み、個々の C_{max} 値は投与後 1～6 時間の間に観察された。血漿中濃度の経時的プロファイルは比較的平坦であり、投与後 24 時間までのジルコプラン血漿中濃度の低下は僅かであった。連日皮下投与した 91 日後に約 2 倍の蓄積が認められた。計算可能な場合、$t_{1/2}$ は約 79～108 時間の範囲であった。

表 6-2　雄カニクイザルにおけるジルコプランの TK パラメータ（平均値）

投与量(mg/kg/day)	0（対照群）	1	2	4
トキシコキネティクス（ジルコプランの平均曝露量）				
Day 1				
動物数	6	6	6	6
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	12,100	25,300	46,200
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	NA	227,000	445,000	843,000
Day 91				
動物数	6	6	6	6
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	25,300	52,900	103,000
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	NA	488,000	998,000	1,990,000

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、 C_{max}=最高血漿中濃度、LLOQ=定量下限（100ng/mL）、 NA=該当せず

補体活性の分析データより、動物 P0105（第 2 群、1mg/kg/day）を除く被験物質投与群の全動物から得られたすべての血漿サンプルが、初回投与 1 時間以内から 13 週の投与期間を通じて、溶媒及び投与前のサンプルと比較して 95%を超える溶血の抑制を示した。回復性試験動物の補体活性は休薬期間中に投与前値まで回復した（M2.6.2.2.2.3 項）。

13 週間にわたるジルコプランの投与において、死亡例はなく、一般状態の変化は認められなかった。体重増加、精巣サイズ、臨床病理検査、イムノフェノタイピング及び器官重量は、ジルコプランの影響を受けなかった。精子形成は完了し、すべての動物の精巣に精子形成全段階が認められた。軽微ないし軽度の片側又は両側性の精巣生殖細胞の枯渇／変性は、カニクイザルで観察されていた自然発生性の背景病変と一致していたため、被験物質と関係がないと考えられた。

IHC により、4mg/kg/day 群の動物で胸腺内の $CD3^+$、$CD4^+$ 及び $CD8^+$ 細胞の数及び分布に、投与終了時及び回復性試験終了時の両方の時点で、全体的に軽微な減少が認められ、胸腺退縮／萎縮／リンパ球枯渇の出現率及び程度（組織の形態学的検査結果に基づく）の増加と一致していた。影響は軽微であり、動物試験中のデータ、すなわち一般状態観察、体重、臨床病理学的検査及びイムノフェノタイピングで所見がみられないことより、被験物質に直接関連する有害作用ではないと考えられるが、この用量では完全に除外することはできなかった。

結論として、ジルコプランを 1、2 及び 4mg/kg/day の投与量で 13 週間連日皮下投与した結果、良好な忍容性が認められ、いずれの毒性変化も誘発しなかった。試験結果及び本試験条件に基づき、NOAEL は高用量の 4mg/kg/day と考えられ、投与最終日 Day 91 での C_{max} は 103μg/mL、AUC_{0-24} は 1990μg·h/mL であった。これらの曝露量は、第 III 相臨床試験での推定最大曝露量（C_{max} 及び AUC）のそれぞれ約 5.0 倍及び 7.2 倍、並びにエスノブリッジング試験（UP0113 試験）で得られた C_{max} 及び AUC のそれぞれ 8.3 倍及び 7.8 倍であった（表 9-1）。

6.2　カニクイザルの 4、13、及び 39 週間皮下投与毒性試験における雌受胎能の評価

ジルコプランはげっ歯類で薬理作用を示さないことから、受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（FEED 試験）は実施していない。また、サルにおける着床までの初期胚発生試験は、実施可能性がなく、また非倫理的である。

サルを用いた 4（20074710）、13（20076807）及び 39 週間（20086030）反復投与毒性試験における雌受胎能を評価した。卵巣の形態学的評価に基づくと雌動物の大半が成熟していた。また、黄体の消失／新規形成が確認されたこと、あるいは排卵が認められたことに基づき、卵巣における正常月経周期を確認した。また、いずれの雌生殖器にも肉眼的異常や器官重量変化は認められなかった。さらに、病理組織学的変化も認められなかった。

胚・胎児発生／拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）試験（8340294）では、雌生殖器の肉眼検査は行わなかったが、母動物及び出生児のいずれにも卵巣重量の変化はなく、正常な卵巣機能／発達が示唆された。

6.3　カニクイザルにおける胚・胎児発生試験を含む拡充型出生前及び出生後の発生に関する皮下投与試験（3 ヵ月間の授乳期／成熟期を含む）（試験番号 8340294）

本試験は、カニクイザルの妊娠 20 日から 100 日又は妊娠終了時まで皮下投与した場合、並びに出産及び授乳後（母動物に投与せず）のジルコプランの影響を評価するために実施した。胚・胎児発生への影響は妊娠 100 日まで評価した。流産、胚・胎児の生存、成長及び出生後の発達は、産後 91 日（±1）まで評価した。出生児にはジルコプランを投与しなかった。

胚・胎児発生毒性試験では、溶媒対照（溶媒：50mM リン酸ナトリウム緩衝液、pH 7.0）、あるいはジルコプランを投与量 1、2 又は 4mg/kg/day で雌ザル 16 例（1 群あたり 4 例）に 80 日間連日皮下投与した（妊娠 20 日～100 日）。ePPND 試験では、溶媒対照（溶媒：50mM リン酸ナトリウム緩衝液、pH 7.0）あるいはジルコプランを投与量 1、2 及び 4mg/kg/day で雌ザル 64 例（1 群あたり 16 例）に約 140 日間連日皮下投与した（妊娠 20 日から分娩まで）。試験デザインを表 6-3 に示す。

表 6-3　胚・胎児発生及び ePPND 試験デザイン

群番号	群名称	帝王切開した妊娠動物数	分娩した妊娠動物数	投与量 (mg/kg/day)	投与液量 (mL/kg)
1	対照群	4	16	0	0.2
2	低用量群	4	16	1	0.2
3	中用量群	4	16	2	0.2
4	高用量群	4	16	4	0.2

ePPND=拡充型出生前及び出生後の発生

選択された用量では、ジルコプランは C5 レベルで補体活性を完全に阻害すると推察された（M2.6.2.2.2 項）。

胚・胎児発生毒性試験では、母動物での観察に、一般状態観察、膣からの出血、体重、臨床病理パラメータ［血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査及び CH50（血清補体価）測定］、肉眼的剖検所見及び器官重量を含めた。妊娠状態及び胚・胎児検査は、異なる 6 つの妊娠日数（妊娠 30、44、58、72、86 及び 100 日）での超音波検査により実施した。胎盤は肉眼的に観察し、重

量を測定した。胎児観察として、体重、身体測定値（尾骨から頭蓋骨まで、鼻の先端から後頭骨まで、前頭骨から後頭骨までの距離、眼間距離、頭部の幅及び肛門性器間距離）、器官重量、外表観察、並びに内臓及び骨格検査を実施した。

ePPND 試験では、母体の観察に、一般状態観察、膣からの出血、体重、臨床病理パラメータ（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査及び CH50 測定）、肉眼的剖検所見及び器官重量を含めた。妊娠状態及び胚・胎児検査は、異なる 10 の妊娠日数（妊娠 30、44、58、72、86、100、114、128、142 及び 156 日）での超音波検査により実施した。出生児のデータには、一般状態観察、体重、外表異常、形態学的測定、神経行動学的検査及び骨格発達を含めた。TK 用の血液は、出生後 21 日及び 90 日（±1）に採取した。抗薬物抗体測定用の血液は出生後 90 日（±1）に採取した。

母動物の TK 測定用血液は、妊娠 20、58、90 及び 142 日の投与後 0、1、4、6 及び 24 時間に採取し、抗薬物抗体測定用血液は、妊娠 20、90 及び 142 日（±1）、並びに授乳 90 日（±1）に採取した。乳汁は、授乳 28 日（±1）に TK のために採取した。

ジルコプランの曝露は、妊娠サルでは用量の増加と共に増加し、投与後 1～6 時間の間にピーク濃度が認められた。曝露は Day 58、90 及び 142 で同様であった（表 6-4）。

表 6-4　妊娠サルにおけるジルコプランの TK パラメータ（平均値）

投与量 (mg/kg/day)	0 (対照)	1	2	4
トキシコキネティクス（ジルコプランの平均曝露量）				
Day 20				
動物数	20	20	20	20
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	12,800	23,900	44,900
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	230,000	411,000	776,000
Day 58				
動物数	19	20	17	17
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	19,500	36,000	70,600
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	335,000	604,000	1,200,000
Day 90				
動物数	19	19	16	17
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	17,800	32,900	62,000
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	296,000	528,000	988,000
Day 142				
動物数	15	13	12	10
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	18,800	37,000	72,900
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	308,000	588,000	1,190,000

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、LLOQ=定量下限（定量限界=100ng/mL）、NA=算出できず

ジルコプランは、分娩後 21 日の母体血漿中、又は分娩後 28 日に採取された乳汁サンプルには検出されなかった。すべての出生児の分娩後 21 日における血漿サンプルでは定量限界未満であった。

胚・胎児発生毒性試験では、すべての投与量群で薬理学的に推察される CH50 の低下を除いて、臨床病理パラメータに被験物質に関連する母動物への影響は認められなかった。

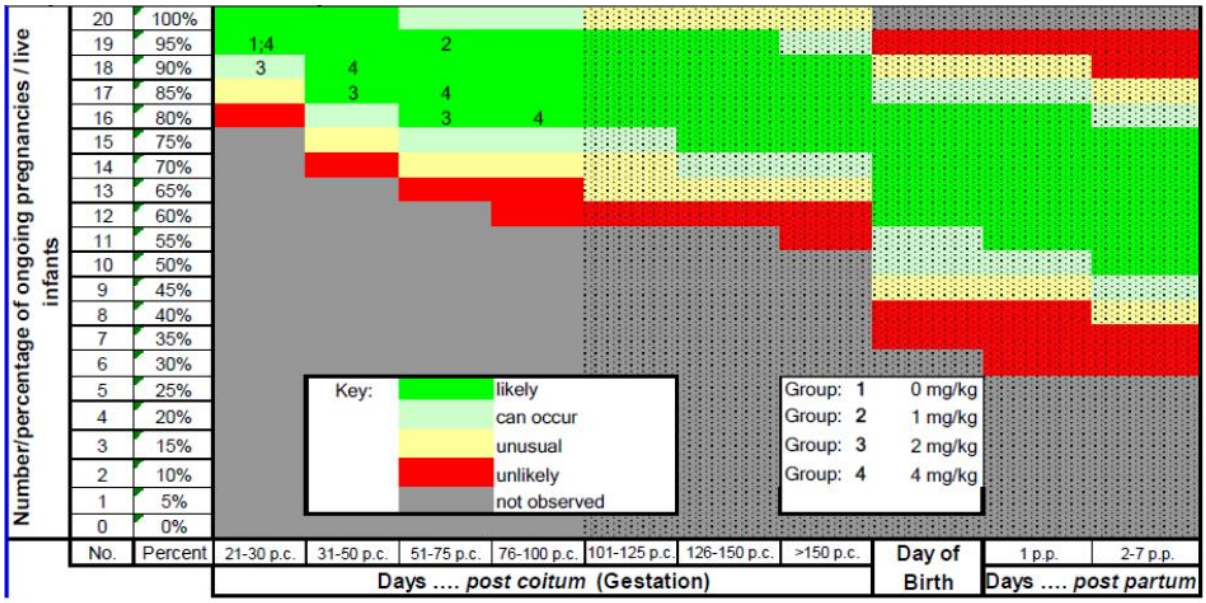
母動物への毒性、あるいは妊娠、生存胎児数及び胎盤重量への影響は認められなかった。胎児の体重、体長測定、器官重量及び胎児検査に対する被験物質に関連する影響がなかったことに基づき、胎児発生への影響は認められないと判断した。

※調整中

ジルコプランの忍容性は良好であり、母動物の被験物質に関連する死亡はみられなかった。授乳 90 日まで、母動物の一般状態観察及び体重の変化に対するジルコプランに関連する影響は認められなかった。臨床病理パラメータである CH50 の薬理学的に推察される低下は、被験物質を投与したすべての母動物にみられ、出生時に投薬を停止した後、正常レベルに戻った。

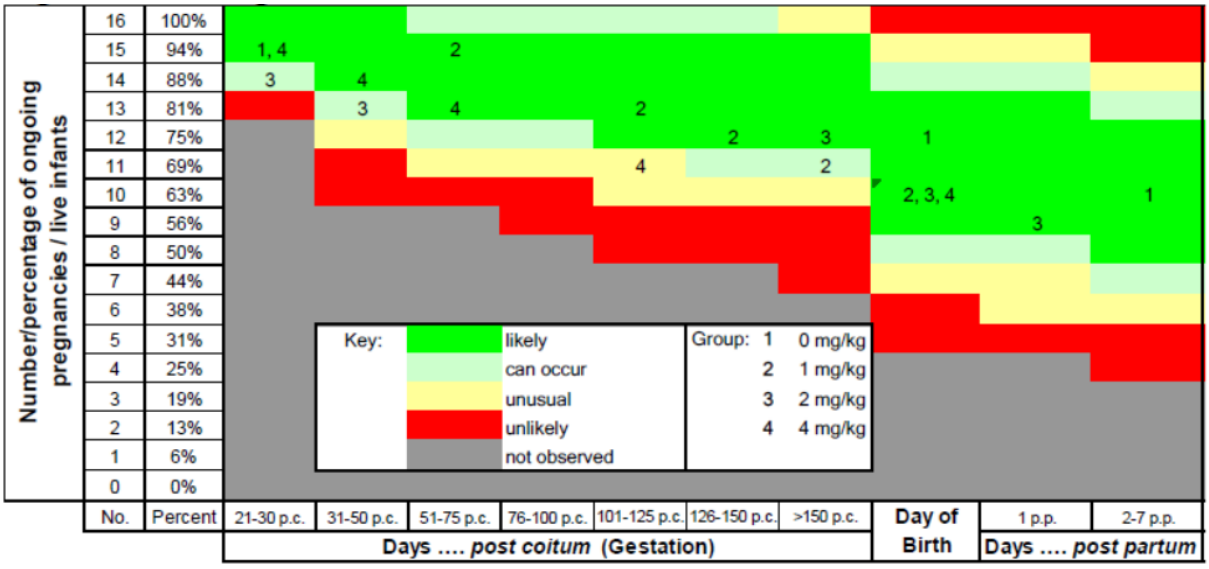
胚・胎児発生毒性試験（1 群あたり 4 例）では、妊娠 64 日に 1 例の妊娠が失われた（中用量群）。ePPND 試験（1 群あたり 16 例）では、出生前の喪失は高用量群のある時点でのみ（妊娠 101～125 日）認められた「稀に発生する」所見であった。しかし、試験全体を通して、出生後 7 日での出生児数は高用量群では正常であった。妊娠 100 日までの出生前の喪失について、胚・胎児発生試験アームと ePPND アームでは同一の試験方法のため、両アームの動物数の合計である 20 例のデータに合算し、妊娠 100 日（±1）までノルモグラムにプロットした（図 6-1）。このノルモグラムは、試験施設の背景データと比較して試験結果を視覚化及び評価するための重要なツールである。ノルモグラムでは、妊娠の転帰において「発生する可能性が高い」（"likely"）、「発生する可能性がある」（"can occur"）、「稀に発生する」（"unusual"）及び「発生する可能性は低い」（"unlikely"）（背景データに基づくと、それぞれの妊娠の転帰の確率は 70%超、約 20%、約 8%及び約 2%に相当）に分類し、各分類を色分けして可視化した。用量群はノルモグラムの凡例に示され、ノルモグラム上の各群番号（1、2、3 又は 4）は妊娠又は出生児の喪失を示す。統合したデータは、高用量群を含むすべての群で出生前の喪失が正常であったことを示した（「発生する可能性が高い」又は「発生する可能性がある」）。妊娠 20～100 日及び生後 7 日における出生前の喪失は正常の範囲（「発生する可能性が高い」又は「発生する可能性がある」）であり、「稀に発生する」の範囲となったのが妊娠 101～125 日における 1 用量群のみであることを踏まえると、出生前の生存に対して悪影響を及ぼす可能性は低いと考えられた（図 6-2）。

図 6-1　妊娠 100 日（±1）までの雌動物（1 群あたり 20 例）のノルモグラム



※調整中

図 6-2　ePPND フェーズのノルモグラム



本試験の PD マーカーとして、適格な動物（妊娠 50 日後の出生前喪失）の CH50 は、妊娠 20 日と比較して低下したが、出生前又は出生後の喪失の発生とは相関しなかった。さらに、出生児の体重及び生後 90 日間の発達［一般状態観察、体重、母動物の微生物学的膣内細菌叢分析、臨床病理パラメータ（血液学的検査、凝固系検査及び血液生化学的検査）、肉眼的剖検所見及び器官重量］にジルコプランの母動物への投与の影響もみられなかった。出生児の体重、外表異常、形態、一連の神経行動学的検査、握力、骨格 X 線検査及び臨床病理学データ（血液学的検査、凝固系検査、血液生化学的検査及び血清補体価）により評価される成長と発達は、母動物に被験物質を投与しても影響を受けなかった。出生児の死亡は出生後 1 日と 67 日の間にみられ、死亡率は対照群及び参考データの正常範囲内であった。内臓検査により、出生後 16 日で死亡した高用量群の 1 例で心臓所見が強く示唆された。試験施設の背景データでは、947 例の胎児／出生児のうち 12 例で心臓所見が認められており、本試験における心臓所見は用量相関のない偶発的な所見であるため、被験物質投与とは無関係であると考えられた。死産、死亡又は出生児の計画剖検時の肉眼的観察及び器官重量について、他の異常所見は認められなかった。したがって、出生児の死亡は被験物質と関係がないと考えられた。ジルコプランを投与されたすべての妊娠動物は、全評価日（妊娠 20、58、90 及び 142 日）にすべての用量段階でジルコプランに曝露された。$AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max} を指標とした曝露量は、全評価日にわたり用量相関的に増加した。すべての出生児のジルコプラン血漿中濃度は、すべての母動物の用量段階で授乳 21 日では定量限界未満であった。ジルコプランは分娩後 21 日の母動物の血漿中、及び分娩後 28 日に採取された乳汁サンプルに検出されなかった。ジルコプラン投与動物で抗薬物抗体は陰性であった。

結論として、ジルコプランを投与量 1、2 及び 4mg/kg/day で妊娠中のカニクイザルに 1 日 1 回皮下投与したとき、母動物、胚・胎児発生期（妊娠 20～100 日）、並びに出生前及び出生後の発達時期（妊娠 20 日から出産を経て授乳／出生後 90 日まで）に毒性は誘発されなかった。出生児の成長と発達に悪影響はなく、あるいは形態学的所見に毒性学的懸念はなかった。以上の試験成績より、胚・胎児発生、並びに出生前及び出生後の発生への影響に対する NOAEL は高用量の 4mg/kg/day と考えられた。本用量における Day 142 での平均 C_{max} は 72.9μg/mL、対応する $AUC_{0\text{-}24}$ は 1190μg·h/mL であり、これらは第 III 相臨床試験における推定最大曝露量（C_{max} 及び AUC）をそれぞれ約 3.5 倍

※調整中

及び 4.3 倍、並びにエスノブリッジング試験（UP0113 試験）で得られた C_{max} 及び AUC をそれぞれ 5.9 倍及び 4.6 倍上回る（表 9-1）。

7. 局所刺激性試験

個別の局所刺激性試験は実施していない。しかし、投与部位における局所刺激性の評価は、カニクイザル及びラットの反復投与毒性試験の中で実施した（表 7-1）。カニクイザルにおける投与部位の反応は概して軽度で可逆的であったが、ラットでは一部の高用量群の動物でより顕著であり、その理由はラットの反復毒性試験では投与量がより高いためであると考えられた。

表 7-1　反復投与毒性試験における投与部位反応の要約

種 （試験番号）	投与期間 （週）	投与量 （mg/kg/日）	濃度 （mg/mL）	容量 （mL/kg）	性別	評価動物数	所見 （投与部位反応）
ラット (20074709)	4	0	0	0.5	M	10	肥厚（投与部位 2）:0 痂皮及び／又は焦点性暗赤色化（投与部位 3）:0 焦点性暗赤色化及び／又は変色（投与部位 4）:0 痂皮（投与部位 4）:0
					F	10	肥厚（投与部位 2）:0 痂皮及び／又は焦点性暗赤色化（投与部位 3）:0 焦点性暗赤色化及び／又は変色（投与部位 4）:0 痂皮（投与部位 4）:0
		2.5	5	0.5	M	10	肥厚（投与部位 2）:0 痂皮及び／又は焦点性暗赤色化（投与部位 3）:0 焦点性暗赤色化及び／又は変色（投与部位 4）:0 痂皮（投与部位 4）:0
					F	10	肥厚（投与部位 2）:0 痂皮及び／又は焦点性暗赤色化（投与部位 3）:0 焦点性暗赤色化及び／又は変色（投与部位 4）:0 痂皮（投与部位 4）:0
		10	20	05	M	10	肥厚（投与部位 2）:0 痂皮及び／又は焦点性暗赤色化（投与部位 3）:0 焦点性暗赤色化及び／又は変色（投与部位 4）:1[a] 痂皮（投与部位 4）:0 a) この所見は顕微鏡的に出血と相関しており、被験物質とは関連していなかった。
					F	10	肥厚（投与部位 2）:0 痂皮及び／又は焦点性暗赤色化（投与部位 3）:0 焦点性暗赤色化及び／又は変色（投与部位 4）:0 痂皮（投与部位 4）:0
		40	80	0.5	M	10	肥厚（投与部位 2）:1 痂皮及び／又は焦点性暗赤色化（投与部位 3）:1 焦点性暗赤色化及び／又は変色（投与部位 4）:3 痂皮（投与部位 4）:0

種 （試験番号）	投与期間 （週）	投与量 （mg/kg/日）	濃度 （mg/mL）	容量 （mL/kg）	性別	評価動物数	所見 （投与部位反応）
		40	80	0.5	F	10	肥厚（投与部位 2）:0 痂皮及び／又は焦点性暗赤色化（投与部位 3）:1 焦点性暗赤色化及び／又は変色（投与部位 4）:0 痂疲 （投与部位 4） :1
サル (20074710)	4	0	0	0.2	M, F	3, 3	ジルコプランの 2mg/kg/day 以上の投与群で皮下投与部位の軽微な浮腫（腫脹）が認められた。投与部位の紅斑（発赤）は対照群を含む全投与群に観察されたため、ジルコプランに 起因する変化ではないと判断した。ごく軽微でかろうじて認識できるグレード 1（4 段階中）から軽微なグレード 2 の浮腫が、2 mg/kg/日群の 4/6 例に、また 4mg/kg/日群の 2/10 例に様々な時点で観察された。軽度な浮腫が対照群の 1 例で観察された。
		1	5	0.2	M, F	3, 3	前述の動物の 1 例は、2 mg/kg/日で 28 回の投与のうちの 1 回で中等度の浮腫（グレード 3） を示すことが観察された。 この動物の紅斑の他の所見は、非常にわずかなものから明確なものであった。浮腫の発現は用量に依存せず、2 mg/kg/日群よりも 4 mg/kg/日群で観察される動物数が少なく、観察数も少なかった。浮腫は中用量群および高用量群でのみ観察され、ジルコプラン関連性が考えられる。 しかし、この所見は一般に単発性で一過性であり、重症度も最小限であるため、注射部位の浮腫は有害とはみなされなかった。
		2	10	0.2	M, F	3, 3	対照を含むすべての用量群で、非常に軽度・かろうじて知覚できる程度から明確な紅斑（それぞれグレード 1 及び 2） が観察された。4 mg/kg/日群の 1 例の動物は、28 回の投与のうちの 1 回で、中等度から重度の紅斑（グレード 3）を示した。この動物の他の紅斑所見は、非常に軽度から明確なものであった.この単発の一時的な所見と、最小限の重症度および対照動物においても所見が認められたことより、注射部位の紅斑はジルコプランに起因しないと考えられた。
		4	20	0.2	M, F	3, 3	報告書 20074710 の 8.19 に記載のように、1 mg/kg/日以上の動物で、皮下注射部位での顕微鏡的所見の発生率及び／又は重症度のわずかな用量非依存性の可逆的増加が観察された。

種 （試験番号）	投与期間 （週）	投与量 （mg/kg/日）	濃度 （mg/mL）	容量 （mL/kg）	性別	評価動物数	所見 （投与部位反応）
サル (20076807)	13	0	0	0.2	M, F	3, 3	投与部位の皮膚スコアにジルコプランに明確に関連する変化はみられなかった。 対照とジルコプランを投与された動物の両方で、同様の発生率で非常に軽度から軽度の紅斑と浮腫（時折明確な所見）が観察された。
		0.25	1.25	0.2	M, F	3, 3	
		1	5	0.2	M, F	3, 3	
		2	10	0.2	M, F	3, 3	
		10	50	0.2	M, F	3, 3	
サル (20086030)	39	0	0	0.2	M, F	3, 3	投与に用いた部位を試験記録に記載し、投与部位反応を動物観察記録に記載した。 サル 2002（0.25 mg/kg/日）では、投与 87 日目から投与部位 4 に投与部位反応が認められた。投与部位は血性膿性分泌物により腫脹し、約 1～2 cm の深さの壊死領域が認められた。 サルは、クラバモックス®、バイトリル®及びリマダイル®で処置した。投与部位が完全に回復するまで（Day 103）、投与ローテションでは、この投与部位を除外して投与を行った。 サル 6003（6.0mg/kg/日）では、157 日目から投与部位 4 に投与部位反応が認められた。投与部位に黄色の分泌物が認められ、感染の可能性があると判断された。サルをクラバモックス®で処置し、当該部位が回復するまで観察を更に続けた。投与部位が完全に回復するまで（Day 170）、投与ローテションでは、投与部位 4 を除外して投与を行った。
		0.25	1.25	0.2	M, F	3, 3	
		1	5	0.2	M, F	3, 3	
		2	10	0.2	M, F	3, 3	
		4	20	0.2	M, F	3, 3	
		6	30	0.2	M, F	3, 3	

F=雌、M=雄

8. その他の毒性試験

8.1 乱用及び依存性評価

ジルコプランの乱用及び依存性を評価するための独立した *in vivo* 非臨床試験は実施していない。

環状ペプチドの一般的特性と一致して、ジルコプランは標的たん白である C5 に対して優れた選択性を示した。*In vitro* パネルを用いた乱用性評価試験において、ジルコプランは、薬理学的又は臨床的に意義のある濃度で、他の副次的標的のいずれにも結合しなかった（M2.6.2.3.4 項）。GLP 適用毒性試験の所見から、ジルコプランは動物において行動又は顕著な中枢神経系への影響を及ぼさないことが示された（3 項）。

乱用性に関する包括的な評価は M4.2.3.7.4 に添付した。

9. 考察及び結論

ジルコプランの毒性プロファイルは、反復投与毒性試験、一連の遺伝毒性試験及び生殖発生毒性試験で十分に特徴付けられている。

ラットの 4 週間投与毒性試験におけるジルコプランに関連する毒性所見は、投与部位の反応に限定されていた。毒性試験の動物種として薬理学的に適格であるカニクイザルにおける主な所見は、上皮単核細胞浸潤及び小水疱変性、並びにこれらに関連する二次的な変化であった。免疫学的変化及び変性の特性より、病原体の再活性化又は新規感染に続発する抗原刺激に対する免疫応答の可能性が示唆された。カニクイザルの 39 週間投与試験では、早期の安楽死動物 2 例から患部を採取し培養した結果、日和見病原体（黄色ブドウ球菌、ベータ型溶血性連鎖球菌、シュードモナス菌及び腸球菌）が分離された。これらの試験動物は、一般的な病原体（サルレトロウイルス、サル免疫不全ウイルス、はしか等）及び腸内病原体（ランブル鞭毛虫、クリプトスポリジウム、エントアメーバ）の事前スクリーニングを受けていたが、霊長類コロニーのスクリーニングにおける潜伏感染に対する課題はよく認識されている（Olivier et al. 2010）。そのため、特定された病原体に加えて、他の未検出の病原体が存在し、これらの所見に繋がった可能性を排除することはできない。B ウイルス（Macacine Herpes Virus-1）等のウイルス感染症は上皮向性であり、霊長類のコロニーに潜伏して広まりやすく、免疫抑制下では粘膜に小水疱や潰瘍等の病変を示すことがある（Keeble et al. 1958, Wachtman and Mansfield 2012）。ジルコプランのげっ歯類における定量的全身オートラジオグラフィーでは、薬物由来物質の皮膚への蓄積は示されなかった（16863 及び C18038 試験）。さらに、局所的に高濃度の薬物が存在し得るジルコプラン皮下投与部位では、軽微から軽度の細胞浸潤のみが観察され、小水胞形成を伴っていなかったことから、上皮病変と薬物が高濃度である可能性のある領域は関連しないことを示している。したがって、GLP に適合したジルコプランの毒性試験で観察された上皮病変は、カニクイザルにおける病原体の再活性化又は新規感染が原因の可能性がある。このような感染症とそれに関連する続発症は、バックグラウンドの微生物叢、潜伏感染のレベル、ストレス、衛生、サル間の相互汚染、及び相対的な脆弱性が種間で大きく異なるため、人間に直接外挿することはできない（Olivier et al. 2010）。臨床試験で認められた感染症の解析は安全性統合解析（M5.3.5.3.3）に記載した。

膵臓の浸潤並びに変性、リンパ球過形成、散発性架橋胆管過形成、及び肝線維化も観察されている。これらの所見は病原体の増殖、コロニー形成、及び胆管の感染に続発したものと考えられる。持続的に感染した動物では、通常は唾液腺、膵臓、腎臓、胸腺髄質、骨髄にリンパ濾胞が現れる可能性がある（Guzman et al. 1999）。さらに、肝臓の所見も病原体感染の二次的な結果の可能性

がある。*Enterocytozoon bieneusi* は、マカク属のサルの消化管の一般的な微胞子虫寄生体であり、免疫抑制下では、胆管過形成と架橋肝線維化を引き起こす。さらに、様々な再活性化ヘルペスウイルスも肝胆道系に感染して壊死を引き起こす可能性がある（Wachtman and Mansfield. 2008）。このような感染とそれに関連する続発症は、ヒトに直接外挿することはできない（Martin and Bugelski 2012; Olivier et al. 2010; Sasseville and Mansfield 2010; Price 2010）。

4、13 及び 39 週間投与毒性試験における数例の動物は、腹痛／黄疸／胆管過形成／胆管周囲炎症又は架橋胆管過形成及び肝線維化を示した。13 及び 39 週間投与試験の動物では、胆汁うっ滞性肝障害の生化学バイオマーカーの明確な増加が認められた。これらの病変の可逆性は、13 週間投与試験での回復性試験の動物、及び 39 週間投与試験で皮膚病変のために早期終了が必要な動物で同定されたため、評価できなかった。しかし、13 週間投与試験の動物で投与期間中に観察された肝臓の顕微鏡的変化を伴う肝酵素の変化は、回復性試験の安楽死の時には観察されず、影響を受けた動物では可逆性の傾向を示していた。13 週間投与試験では、投与終了時安楽死動物及び回復性試験動物（10mg/kg/day 群の 1 例を除く）のいずれにおいても、39 週間投与試験では試験終了時まで生存した動物においても、架橋胆管過形成及び肝線維化は観察されなかった。

膵臓については、13 及び 39 週間投与試験で投与量及び期間に依存する可逆的な単核細胞浸潤が時折認められた。これらの試験では、投与量 1mg/kg/day 以上で軽微ないし軽度の外分泌膵臓腺房細胞変性が散発的に観察された。これらの所見は、投与量 10mg/kg/day 未満で可逆的であった。13 週間投与試験では、リパーゼ及びアミラーゼの散発的な増加が 0.25、2 及び 10mg/kg/day 群で観察され、1mg/kg/day 群では観察されなかったが、これらの酵素は 10mg/kg/day でより明確に増加した。対照的に 39 週間投与試験では、早期安楽死動物を除き、有意ではない軽微ないし軽度のリパーゼ及びアミラーゼの増加が、6mg/kg/day 群でのみ認められた。13 週間の雄受胎能試験及び胚・胎児発生を含む ePPND 試験では、膵酵素値の一貫的な上昇は認められず、上皮単核細胞浸潤及び小水疱変性も観察されなかった。

リンパ球過形成（リンパ球数増加、リンパ球凝集体の増加又はリンパ濾胞の増加）は、カニクイザルを用いた 4、13、及び 39 週間投与試験の胸腺、並びに 39 週間投与試験の骨髄及び脾臓で認められた。後者の試験では、リンパ濾胞は進行中の免疫（B 細胞）応答を示す活動的な二次濾胞と考えられた。これは、免疫抑制及び二次的な日和見病原体の増殖、コロニー形成及び感染をもたらした C5 の薬理学的阻害に対する適応免疫応答の可能性がある。このような感染とそれに関連する続発症は、ヒトに直接外挿することはできない。

リンパ球過形成は、承認された補体 C5 阻害剤であるエクリズマブの非臨床試験で認められている。作用機序的には、エクリズマブとジルコプランのいずれも C5 の開裂を阻害し、C5 開裂生成物の産生を減少させる。特に、C5 開裂生成物のひとつである C5a は、盲腸穿刺で誘発された敗血症ラットモデルで胸腺細胞のアポトーシスを促進することにより、胸腺細胞数に影響を与える可能性がある（Riedemann et al. 2002）。しかし、敗血症は重度の全身感染状態であり、サル 39 週間投与毒性試験で敗血症と診断された動物はいなかった。ただし、これでは胸腺、脾臓及び骨髄にリンパ濾胞（B 細胞）が存在することを十分に説明できないため、感染に対する全身性免疫応答等の他の要因がこれらの観察結果のより一貫した説明になる可能性がある。特に、リンパ濾胞は活動的であり、進行中の免疫応答を示すものと考えられた。

注目すべきことは、ジルコプランの C5 薬理活性が非常に弱い（カニクイザルの 1/100 未満）ラットの 4 週間投与 GLP 試験では胸腺、骨髄又は脾臓に被験物質に関連する変化はなく、全身感染の徴候は観察されなかったことである。

C5 及び終末補体経路の阻害が、ナイセリア種の細菌感染に対する感受性を高めることは十分に立証されている。しかし、これまでの臨床試験では、ジルコプラン治療によるナイセリア感染は確認されていない。髄膜炎菌感染症のリスクは、予防的髄膜炎菌ワクチン接種及び予防的抗生物質投与により軽減される。C5 の阻害は、すべての標準的な補体活性化経路（古典経路、第 2 経路及びレクチン経路）の下流の膜侵襲複合体（MAC）活性を抑制する。しかし、これまでのところ、C5 阻害又は MAC 欠損が獲得免疫反応を抑制するという証拠はなく、抗 C5 モノクローナル抗体［Soliris®（エクリズマブ）］で治療された患者は、髄膜炎菌ワクチン接種レジメンに対して正常又はほぼ正常な体液性免疫応答を誘発することが示されている（Langereis et al. 2020; Alashkar et al. 2017; Drogari-Apiranthitou et al. 2000; Platonov et al. 1995; Andreoni et al. 1993）。補体系は、ウイルスが進化の圧力の下で身につけてきた補体回避戦略によって証明されるように、ウイルスに対する防御においても役割を果たす。具体的には、初期の補体成分［C1q 及びマンノース結合レクチン（MBL）］は、直接又は補体第 3 成分（C3）分割産物によるウイルス表面のオプソニン化を促進してウイルスの凝集及び食細胞上に存在する補体受容体を介した食作用を引き起こすことにより、一部のウイルスを不活化するのに十分と考えられる。補体の末端成分（C5b-C9）は MAC を形成し、ウイルスエンベロープに入り込んでウイルス分解を引き起こし、ウイルスの中和に寄与する可能性がある。しかし、ウイルスを不活性化に導く経路には冗長性があり、ヒト C5 欠損症における臨床観察においても、ナイセリア感染に対する感受性のリスク上昇を示すが、ウイルス感染に対する感受性リスク上昇は示されていない。つまり、C5 欠損症は一般的に真菌、寄生虫又はウイルス感染に対する感受性の増加をもたらさない。（Skattum et al. 2011; Agrawal et al. 2017; Stoermer and Morrison 2011 で概説）。したがって、ジルコプランによる C5 阻害は特定の種類の癌のリスク増大に関連する感染症リスクの増加に関連することは推察されない。なお、髄膜炎菌感染症については癌のリスクの増大に関連付けられていない（http://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/infectious-agents.html）。

投与部位の反応は、概してカニクイザルでは軽度で可逆的であったが、ラットではこれらの反応は一部の高用量群の動物でより顕著であり、その理由はラットの反復毒性試験では投与量がより高いためであると考えられた。

細菌を用いる復帰突然変異試験及びヒトリンパ球を用いる染色体異常試験を *in vitro* で検討した。その結果、ジルコプランは変異原性を示さなかった。ラット骨髄中における *in vivo* 小核試験においても、遺伝毒性は示さなかった。

妊娠中の雌カニクイザルにおける胚・胎児発生／ePPND の組み合わせ試験と、性成熟した雄のカニクイザルにおける雄受胎能試験では、発生及び生殖能への影響は認められなかった。さらに、カニクイザルの独立した心血管系及び呼吸器系の安全性薬理試験、あるいはカニクイザルの反復投与毒性試験の中で行われた安全性薬理評価では、ジルコプランに関連する影響はなかった。カニクイザルにおける 4 週間反復投与毒性試験（GLP 適用）の一環として実施した CNS の安全性評価では、ジルコプラン投与後に神経学的変化は観察されなかった（M2.6.2.4 項）。

環状ペプチドの一般的特性と一致して、ジルコプランは標的たん白である C5 に対して優れた選択性を示した。*In vitro* パネルを用いた乱用性評価試験において、ジルコプランは、薬理学的又は臨床的に意義のある濃度で、他の副次的標的のいずれにも結合しなかった（M2.6.2 3.4 項）。乱用性に関する包括的な評価は M4.2.3.7.4 に添付した。

結論として、ラットで 4 週間、カニクイザルで最大 39 週間までの反復投与毒性試験が実施され、主要な毒性試験では、臨床的に意味のあるジルコプランの有害な標的器官毒性は観察されなかった。ジルコプランは、実施した標準的組合せの遺伝毒性試験のいずれにおいても遺伝毒性のエビ

デンスを示さなかった。胚・胎児発生／ePPND 試験及び雄受胎能試験では、発生毒性及び生殖毒性は認められなかった。

安全域は、第 III 相臨床試験におけるヒト最大推定曝露量のモデリング及びエスノブリッジング試験（UP0113 試験）に基づき算出した（表 9-1）。前者では、第 III 相臨床試験におけるヒト最大推定曝露量（体重 80kg の患者に 32.4mg の用量を投与したときの推定曝露量：C_{max} は 20.7μg/mL、AUC は 275μg·h/mL）のモデリングに基づき曝露量比を算出した。一方、後者ではエスノブリッジング試験（UP0113 試験、ジルコプラン 0.3mg/kg を最大 14 日間連日投与）の曝露量データを使用した。すなわち、定常状態におけるジルコプランの平均曝露量（白人集団における C_{max} 及び AUC）は、それぞれ 12.4μg/mL 及び 256μg·h/mL であった。いずれのデータセットにおいても安全域は適切であると考えられ、そのため、1 日 1 回、自己投与可能な皮下投与製剤としてのジルコプランの製造販売承認をサポートしている。臨床試験においても、ジルコプランは良好な安全性プロファイルを示しており、異なる適応症を含めて良好な忍容性を示している。

まとめると、ジルコプランは適切な安全域で補体活性の 95%を超える阻害とその持続を達成することが可能である。

表 9-1　主要な毒性試験及び定常状態でのヒトにおける薬物曝露量に基づく推定安全域

毒性試験	NOAEL 又は最大耐量 (mg/kg/day)	NOAEL 又は最大耐量における曝露量		モデリングアプローチに基づく安全域 [a]		エスノブリッジング試験に基づく安全域 [b]	
		C_{max} (μg/mL)	AUC (μg·h/mL)	C_{max}	AUC	C_{max}	AUC
サル 13 週間投与	2	34.05	573.5	1.6	2.1	2.7	2.2
サル 39 週間投与	2[c]	32.25	541	1.6	2.0	2.6	2.1
サル雄受胎能	4	103	1990	5.0	7.2	8.3	7.8
サル ePPND	4	72.9	1190	3.5	4.3	5.9	4.6

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、ePPND=拡充型出生前及び出生後の発生、NOAEL=無毒性量

[a] ジルコプランを 32.4mg の用量（0.4mg/kg）で 80kg の患者に投与したときの推定曝露量（C_{max} は 20.7μg/mL、AUC は 275μg·h/mL）に基づく安全域（CL0529）

[b] エスノブリッジング試験の曝露量データ（UP0113 試験の表 14.2.2.4 を参照、Day 14 での白人集団の算術平均値、C_{max} は 12.4μg/mL、AUC は 256μg·h/mL）

[c] 最大耐量に基づく安全域

表 9-2　39 週間毒性試験に基づく曝露量及びヒトに対する推定安全域、並びに、エスノブリッジング試験の日本人集団における推定曝露量及び平均曝露量

NOAEL 又は最大耐量 (mg/kg/day)	NOAEL 又は最大耐量における曝露量		モデリングアプローチに基づく安全域 [a]	エスノブリッジング試験に基づく安全域 [b]
	C_{max} (μg/mL) 雌/雄/合算	AUC (μg·h/mL) 雌/雄/合算	AUC 雌/雄/合算	AUC 雌/雄/合算
0.25	5.99/5.65/5.82	108/109/108.5	0.4/0.4/0.4	0.4/0.4/0.4
2[c]	33.90/30.60/32.25	548/534/541	2.0/1.9/2.0	2.0/1.9/2.0

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、NOAEL=無毒性量

[a] ジルコプランを 32.4mg の用量（0.4mg/kg）で 80kg の患者に投与したときの推定曝露量（C_{max} は 20.7μg/mL、AUC は 275μg·h/mL）に基づく安全域（CL0529）

[b] エスノブリッジング試験の曝露量データ（UP0113 試験の表 14.2.2.4 を参照、Day 14 での日本人集団の算術平均値、C_{max} は 13.5μg/mL、AUC は 275μg·h/mL）

[c] 最大耐量に基づく安全域

10. 参考文献

Agrawal P, Nawadkar R, Ojha H, Kumar J, Sahu A. Complement Evasion Strategies of Viruses: An Overview. Front Microbiol. 2017;8:1117. doi: 10.3389/fmicb.2017.01117.

Alashkar1 F, Vance C, Herich-Terhürne1 D, Preising N, Dührsen U, Röth A. Serologic response to meningococcal vaccination in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) chronically treated with the terminal complement inhibitor eculizumab. Ann Hematol. 2017; 96; 589-96.

Andreoni J, Kayhty H, Densen P. Vaccination and the Role of Capsular Polysaccharide Antibody in Prevention of Recurrent Meningococcal Disease in Late Complement Component-Deficient Individuals: The Journal of Infectious Diseases. 1993; 168; 227-31.

Drogari-Apiranthitou M, Fijen CAP, Beek DVD, Hensen EF, DANKERT J, Kuijper EJ. Development of antibodies against tetravalent meningococcal polysaccharides in revaccinated complement-deficient patients: Clin Exp Immunol. 2000; 119; 311-16.

Guzman RE, Kerlin RL, Zimmerman TE. Histologic lesions in cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis) naturally infected with simian retrovirus type D: Comparison of seropositive, virus-positive, and uninfected animals. Toxicol Pathol.1999;27:672-7.

Keeble SA, Christofinis GJ, Wood W. Natural Virus-B infection in rhesus monkeys. J. Pathol. 1958;76:189-99.

Langereis JD, Broek B, Franssen S, Joosten I, Blijlevens NMA, Jong MI, Langemeijer S. Eculizumab impairs Neisseria meningitidis serogroup B killing in whole blood despite 4CMenB vaccination of PNH patients. The American Society of Hematology. 2020; 4: 3615-20.

Martin PL, Bugelski PJ. Concordance of preclinincal and clinical pharmacology and toxicology of monoclonal antibodies and fusion proteins: soluble targets. Br. J. Pharmacology. 2012;166:806-22.

Olivier KJ, Price KD, Hutto DL, Lerche NW, Mansfield KG, Simmons JH, et al. Naturally occurring infections in non-human primates (NHP) and immunotoxicity implications: Discussion sessions. Journal of Immunotoxicology, 2010;7:138-46.

Platonov AE, Beloborodov VB, Pavlova LI, Vershinina IV, Kayhty H. Vaccination of patients deficient in a late complement component with tetravalent meningococcal capsular polysaccharide vaccine. Clin Exp immunol 1995; 100:32-9.

Price KD. Bacterial infections in cynomolgus monkeys given small molecule immunomodulatory antagonists. Journal of Immunotoxicology. 2010;7:128-37.

Riedemann NC, Guo RF, Laudes IJ, Keller K, Sarma VJ, Padgaonkar V, et al. C5a receptor and thymocyte apoptosis in sepsis. FASEB J. 2002;16(8):887-8.

Sasseville VG, Mansfield KG. Overview of known non-human primate pathogens with potential to affect colonies used for toxicity testing. Journal of immunotoxicology. 2010;7:79-92.

Skattum L, van Deuren M, van der Poll T, Truedsson L. Complement deficiency states and associated infections. Mol Immunol. 2011;48(14):1643-55. doi: 10.1016/j.molimm.2011.05.001.

Stoermer KA, Morrison TE. Complement and viral pathogenesis. Virology. 2011;411(2):362-73. doi: 10.1016/j.virol.2010.12.045.

Wachtman L, Mansfield K. Chapter 1: Viral Diseases of Nonhuman Primates. In: Abee C, Mansfield K, eds. Nonhuman Primates in Biomedical Research, Volume 2: Diseases. 2nd ed. Canada: Elsevier; 2012:1-104.

Wachtman LM, Mansfield KG. Opportunistic infections in immunologically compromised nonhuman primates. ILAR Journal. 2008;49:191-208.

Willcox MD, Morris CA, Thakur A, Sack RA, Wickson J, Boey W. Complement and complement regulatory proteins in human tears. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1997;38(1):1-8.

目次

1. 毒性試験：一覧表 2
2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験一覧表 3
3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクスデータの一覧 4
4. 毒性試験：被験物質 10
5. 単回投与毒性試験 11
6. 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験） 11
7. 反復投与毒性試験（重要な試験） 12
8. *In Vitro* 遺伝毒性試験 47
9. *In Vivo* 遺伝毒性試験 52
10. がん原性試験 53
11. 生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験） 53
12. 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（重要な試験） 54
13. 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（重要な試験） 56
14. 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（重要な試験） 56
15. 幼若動物試験 59
16. 局所刺激性試験 59
17. その他の毒性試験 59

※調整中

1. 毒性試験：一覧表

毒性試験一覧表

被験物質：ジルコプラン

試験の種類	動物種／系統	投与方法	投与期間	投与量[a]	GLP 適用[b]	実施施設	試験番号	記載箇所
反復投与毒性試験								
4 週間投与	ラット／Sprague Dawley	皮下	4 週間	0, 2.5, 10, 40mg/kg/day	適	[redacted]	20074709	4.2.3.2
4 週間投与	カニクイザル	皮下	4 週間	0, 1, 2, 4mg/kg/day	適	[redacted]	20074710	4.2.3.2
13 週間投与	カニクイザル	皮下	13 週間	0, 0.25, 1, 2, 10mg/kg/day	適	[redacted]	20076807	4.2.3.2
39 週間投与	カニクイザル	皮下	39 週間	0, 0.25, 1, 2, 4, 6mg/kg/day	適	[redacted]	20086030	4.2.3.2
遺伝毒性試験								
復帰突然変異	ネズミチフス菌、大腸菌	*In vitro*	プレート法、52±4 時間	5, 16, 50, 160, 500, 1600, 5000μg/plate	適	[redacted]	8327570	4.2.3.3.1
染色体異常	初代培養ヒトリンパ球	*In vitro*	S9 非存在下 24 時間連続処理；S9 存在下及び非存在下で 3 時間処理後、21 時間の回復時間	245, 350, 500μg/mL	適	[redacted]	8327571	4.2.3.3.1
骨髄細胞を用いた小核	ラット／Sprague Dawley	皮下	24 時間間隔で 2 回	0, 125, 250, 500mg/kg/day	適	[redacted]	NCD3747	4.2.3.3.2
生殖発生毒性試験								
雄受胎能	カニクイザル	皮下	13 週間	0, 1, 2, 4mg/kg/day	適	[redacted]	8366459	4.2.3.5.1
胚・胎児発生及び ePPND	カニクイザル	皮下	胚・胎児：妊娠 20 日から妊娠 100 日まで（80 日間） ePPND：妊娠 20 日から分娩まで（約 140 日間）	0, 1, 2, 4mg/kg/day	適	[redacted]	8340294	4.2.3.5.3

ePPND=拡充型出生前及び出生後の発生、GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、S9=ラット肝代謝活性化系

[a] 特に断りのない限り、反復投与毒性試験については、無毒性量（NOAEL）に下線を引いた。サル 39 週間投与毒性試験では推定されず、最大耐量は 2mg/kg/day と推定された

[b] GLP 適合陳述書が添付された試験を示す

※調整中

2. トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験一覧表

トキシコキネティクス試験の一覧表

被験物質：ジルコプラン

試験の種類	試験系	投与方法	投与量（mg/kg/day）[a]	GLP 適用 [b]	試験番号	記載箇所
4 週間反復投与毒性試験	ラット／Sprague Dawley	皮下	0, 2.5, 10 及び 40	適用	20074709	4.2.3.2
4 週間反復投与毒性試験	カニクイザル	皮下	0, 1, 2 及び 4	適用	20074710	4.2.3.2
13 週間反復投与毒性試験	カニクイザル	皮下	0, 0.25, 1, 2 及び 10	適用	20076807	4.2.3.2
39 週間反復投与毒性試験	カニクイザル	皮下	0, 0.25, 1, 2, 4 及び 6	適用	20086030	4.2.3.2
雄受胎能試験	カニクイザル	皮下	0, 1, 2 及び 4	適用	8366459	4.2.3.5.1
胚・胎児発生及び ePPND 試験	カニクイザル	皮下	0, 1, 2 及び 4	適用	8340294	4.2.3.5.3

ePPND=拡充型出生前及び出生後の発生、GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準

a: 特に断りのない限り、反復投与毒性試験については、無毒性量（NOAEL）に下線を引いた。サル 39 週間投与毒性試験では推定されず、最大耐量は 2mg/kg/day と推定された

b: GLP 適合陳述書が添付された試験を示す

※調整中

3. トキシコキネティクス：トキシコキネティクスデータの一覧

表 3-1　トキシコキネティクス試験成績の一覧（試験番号 20074709）

被験物質：ジルコプラン

試験の種類	ラット 4 週間反復投与毒性試験					
動物種	ラット／Sprague Dawley					
投与経路	皮下投与					
投与量（mg/kg/day）	2.5		10		40	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Day 1						
C_{max} (ng/mL)	11,100±371	7930±607	38,900±2710	36,000±1350	108,000±3380	73,000±6850
AUC_{last} (ng·h/mL)	167,000±3580	133,000±6450	647,000±77,900	588,000±13,600	1,960,000±42,800	1,320,000±154,000
Day 28						
C_{max} (ng/mL)	16,300±233	15,100±410	54,400±1070	64,800±153	157,000±3500	186,000±9000
AUC_{last} (ng·h/mL)	266,000±12,600	274,000±19,500	1,030,000±39,900	1,100,000±62,300	3,060,000±333,000	3,950,000±226,000

平均値±標準偏差、AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度

※調整中

表 3-2　トキシコキネティクス試験成績の一覧（試験番号 20074710）

被験物質：ジルコプラン

試験の種類	サル 4 週間反復投与毒性試験					
動物種	カニクイザル					
投与経路	皮下投与					
投与量（mg/kg/day）	1		2		4	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Day 1						
C_{max} (ng/mL)	11,200±1160	10,700±874	20,400±1670	20,800±700	39,300±3090	39,200±4370
AUC_{last} (ng·h/mL)	185,000±17,600	174,000±8760	344,000±30,800	339,000±24,200	629,000±50,100	612,000±59,000
Day 28						
C_{max} (ng/mL)	19,100±751	18,000±819	35,400±4640	33,700±5000	65,700±4040	62,800±4960
AUC_{last} (ng·h/mL)	308,000±13,400	282,000±20,300	597,000±71,900	533,000±90,900	2,380,000±1,790,000	1,900,000±1,230,000

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度

※調整中

表 3-3　トキシコキネティクス試験成績の一覧（試験番号 20076807）

被験物質：ジルコプラン

試験の種類	サル 13 週間反復投与毒性試験							
動物種	カニクイザル							
投与経路	皮下投与							
投与量（mg/kg/day）	0.25		1		2		10	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	2920±116	3010±360	10,200±855	12,000±757	20,700±600	22,000±994	89,700±8880	94,300±8380
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	55,700±2900	60,100±3570	168,000 ±11,600	187,000 ±19,000	344,000 ±7840	335,000 ±13,700	1,530,000 ±157,000	1,590,000 ±132,000
Day 91								
C_{max} (ng/mL)	6050±1,050	6250±951	15,100±2740	16,400±379	37,600±2880	30,500±1440	167,000 ±15,800	167,000 ±25,000
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	117,000 ±19,500	126,000 ±18,000	273,000 ±41,600	295,000 ±19,100	659,000 ±40,500	488,000 ±31,400	3,330,000 ±379,000	3,210,000 ±470,000

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度

※調整中

表 3-4　トキシコキネティクス試験成績の一覧（試験番号 20086030）

被験物質：ジルコプラン

試験の種類	サル 39 週間反復投与毒性試験									
動物種	カニクイザル									
投与経路	皮下投与									
投与量（mg/kg/day）	0.25		1		2		4		6	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Day 1										
C_{max} (ng/mL)	3100 ±351	3140 ±140	12,200 ±529	12,200 ±1700	21,400 ±1900	23,600 ±2030	37,700 ±2130	42,700 ±2650	66,300 ±3850	63,000 ±9040
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	59,700 ±1270	60,200 ±7150	193,000 ±6660	185,000 ±5570	348,000 ±22,500	360,000 ±21,500	632,000 ±41,500	688,000 ±29,600	1,110,000 ±66,100	1,040,000 ±60,900
Day 182										
C_{max} (ng/mL)	6130 ±207	6330 ±242	19,500 ±1930	18,300 ±1100	36,500 ±1860	37,200 ±2690	70,700 ±8000	80,200 ±6660	116,000 ±15,500	108,000 ±15,200
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	118,000 ±10,800	115,000 ±10,600	327,000 ±2590	290,000 ±18,500	635,000 ±28,700	621,000 ±47,000	1,250,000 ±108,000	1,410,000 ±123,000	2,170,000 ±305,000	1,910,000 ±272,000
Day 273										
C_{max} (ng/mL)	5650± 808	5990 [a]	17,600 ±603	17,900 ±1500	30,600 ±1970	33,900 ±3920	64,900 ±5550	74,800 ±13,600	100,000 ±16,000	91,000 ±5090
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	109,000 ±14,800	108,000 [a]	306,000 ±26,900	289,000 ±42,900	534,000 ±54,200	548,000 ±68,400	1,170,000 ±105,000	1,290,000 ±268,000	1,890,000 ±317,000	1,610,000 ±273,000

a: n=2

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度

※調整中

表 3-5　トキシコキネティクス試験成績の一覧（試験番号 8366459）

被験物質：ジルコプラン

試験の種類	サル雄受胎能試験		
動物種	カニクイザル		
投与経路	皮下投与		
投与量（mg/kg/day）	1	2	4
性別	雄	雄	雄
Day 1			
C_{max} (ng/mL)	12,100±880	25,300±2450	46,200±2860
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	227,000±23,900	445,000±23,900	843,000±64,800
Day 91			
C_{max} (ng/mL)	25,300±4910	52,900±3970	103,000±11,300
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	488,000±109,000	998,000±90,900	1,990,000±283,000

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度

※調整中

表 3-6　トキシコキネティクス試験成績の一覧（試験番号 8340294）

被験物質：ジルコプラン

試験の種類	サル胚・胎児発生／ePPND 試験		
動物種	カニクイザル		
投与経路	皮下投与		
投与量（mg/kg/day）	1	2	4
性別	雌	雌	雌
Day 1（妊娠 20 日）			
C_{max} (ng/mL)	12,800±1320	23,900±3010	44,900±5430
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	230,000±23,900	411,000±50,000	776,000±103,000
Day 39（妊娠 58 日）			
C_{max} (ng/mL)	19,500±3020	36,000±5230	70,600±14,500
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	335,000±60,800	604,000±97,100	1,200,000±272,000
Day 71（妊娠 90 日）			
C_{max} (ng/mL)	17,800±3300	32,900±5150	62,000±12,700
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	296,000±51,200	528,000±85,000	988,000±217,000
Day 123（妊娠 142 日）			
C_{max} (ng/mL)	18,800±2360	37,000±3940	72,900±8620
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	308,000±37,000	588,000±55,500	1,190,000±186,000

AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度

ePPND=拡充型出生前及び出生後の発生

※調整中

4. 毒性試験：被験物質

使用ロット

被験物質：ジルコプラン

バッチ番号	製造元	純度（%） HPLC	試験の種類	動物種	試験番号
7002310	Bachem Inc.	95.0	4 週間投与毒性試験	ラット	20074709
7002308	Bachem Inc.	90.3	4 週間投与毒性試験 心血管系安全性薬理試験	サル	20074710 20076954
			復帰突然変異試験 染色体異常試験	*In vitro*	8327570 8327571
7002399	Bachem Inc.	91.8	13 週間投与毒性試験	サル	20076807
7002436	Bachem Inc.	92.1	13 週間投与毒性試験	サル	20076807
7002753	Bachem Inc.	93.3	39 週間投与毒性試験 胚・胎児発生及び ePPND 試験	サル	20086030 8340294
QP010208	PPL Strasbourg	97.8	雄受胎能試験 胚・胎児発生及び ePPND 試験	サル	8366459 8340294
23-21-0016-01	PolyPeptide	97	*In vivo* 小核試験	ラット	NCD3747

ePPND=拡充型出生前及び出生後の発生

※調整中

5. 単回投与毒性試験

該当せず。

6. 反復投与毒性試験（重要な試験以外の試験）

該当せず。

7.　反復投与毒性試験（重要な試験）

表 7-1　ラット 4 週間皮下投与毒性試験

被験物質：ジルコプラン

報告書の題名：　A 4-Week Study of RA101495 by Subcutaneous Injection in Sprague Dawley Rats with a 4-Week Recovery Period
動物種／系統：　ラット／Sprague Dawley　投与期間：　4 週間 [a]　試験番号：　20074709
試験開始週齢：　6～8 週齢　休薬期間：　4 週間　CTD における記載箇所：　4.2.3.2
初回投与年月日：　2015 年 6 月 4 日　投与方法：　皮下　GLP 適用：　適
溶媒／投与形態：0.9%塩化ナトリウムを含む 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.0）
製剤緩衝液：塩化ナトリウムを添加し浸透圧を 300±20mOsm に調整した 50mM リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.0）
特記事項：　なし
無毒性量：　40mg/kg/day（全身毒性）、10mg/kg/day（局所毒性）

[a] 被験物質及び対照物質は Day 1 から Day 28 まで 1 日 1 回皮下投与し、投与部位は、28 日間の投与期間中に 4 ヵ所でローテーションした

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		2.5		10		40	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数								
主試験 [a]	10	10	10	10	10	10	10	10
回復性試験 [a]	5	5	5	5	5	5	5	5
トキシコキネティクス [b]	3	3	6	6	6	6	6	6
トキシコキネティクス（平均値）								
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	11,100	7930	38,900	36,000	108,000	73,000
AUC_{last} (ng·h/mL)	NA	NA	167,000	133,000	647,000	588,000	1,960,000	1,320,000
Day 28								
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	16,300	15,100	54,400	64,800	157,000	186,000
AUC_{last} (ng·h/mL)	NA	NA	266,000	274,000	1,030,000	1,100,000	3,060,000	3,950,000
特記すべき所見								
主試験の動物								
死亡及び安楽死動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態観察 [c]								
投与部位：擦傷	0/30		0/30		12/30		28/30	
投与部位：硬い／軟らかい腫脹	0/30		0/30		0/30		23/30	

※調整中

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		2.5		10		40	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与部位の皮膚スコア [d]								
浮腫（腫脹）								
軽微（グレード1）	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (7)	2 (8)	15 (302)	15 (271)
軽度（グレード2）	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	15 (125)	13 (79)
中等度（グレード3）	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	7 (18)	6 (13)
重度（グレード4）	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
紅斑								
軽微（グレード1）	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4)	5 (31)	3 (17)	14 (202)	15 (352)
軽度（グレード2）	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (2)	8 (31)	4 (53)
中等度（グレード3）	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (5)	2 (2)
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量（g／例／日）								
Day 1～Day 7	-	17.80	-	16.80*	-	17.13*	-	16.33*
Day 7～Day 14	26.80	19.67	27.20	18.67*	26.47	18.53*	25.20*	17.87*
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査、Day 29								
ヘモグロビン（g/dL）	15.13	14.87	-	-	-	-	14.20*	14.19*
網状赤血球数（10^9/L）	191.96	173.88	-	203.80	-	-	242.73*	203.13
赤血球分布幅（%）	11.50	-	-	-	-	-	12.66*	-
好中球数（10^3/μL）	0.73	0.44	-	-	-	-	1.66*	0.73
凝固系検査								
フィブリノーゲン（mg/dL）	287.60	229.90	-	-	-	-	397.80*	259.80 [490] [e]
血液生化学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-

※調整中

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		2.5		10		40	
投与終了時剖検、Day 29								
評価動物数	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10	雄 10	雌 10
剖検所見 [f]								
投与部位 2								
肥厚	0	0	0	0	0	0	1	0
投与部位 3								
痂疲及び暗赤色の病巣	0	0	0	0	0	0	1	1
投与部位 4								
病巣、暗赤色又は変色	0	0	0	0	1[g]	0	3	0
痂疲	0	0	0	0	0	0	0	1
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査 [f]								
投与部位 2								
皮下筋線維の変性								
軽微	0	0	0	0	0	1	0	1
軽度	0	0	0	0	0	0	2	4
皮下の単核細胞浸潤								
軽微	0	1	0	0	2	0	2	3
軽度	0	0	0	1	0	0	2	5
中等度	0	0	0	0	0	0	1	0
皮下の混合細胞浸潤								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	1
中等度	0	0	0	0	0	0	1	0
投与部位 4								
皮下筋線維の変性								
軽微	0	0	0	0	0	0	1	1
軽度	0	0	0	0	0	0	3	2
中等度	0	0	0	0	0	0	0	5
顕著	0	0	0	0	0	0	1	2

投与量（mg/kg/day）	0（対照）		2.5		10		40	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
皮下の単核細胞浸潤								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	1
軽度	0	0	0	0	1	1	3	3
中等度	0	0	0	0	1	0	3	2
顕著	0	0	0	0	0	0	1	0
皮下の混合細胞浸潤								
軽度	0	0	0	0	0	0	0	3
中等度	0	0	0	0	0	0	2	1
回復性試験								
評価動物数	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5	雄 5	雌 5
一般状態観察	-	-	-	-	-	-	-	-
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量（g／例／日）								
Day 28 ～ Day 35	30.80	20.80	-	18.40*	25.60*	-	26.40*	19.40
Day 35 ～ Day 42	32.20	21.20	-	19.60	28.00*	-	28.80*	19.40*
Day 42 ～ Day 49	31.60	20.20	-	19.00	27.20*	-	28.00*	19.40
Day 49 ～ Day 55	32.60	20.00	-	-	27.60*	-	29.00*	19.40
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
凝固系検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-

* 分散分析及び Dunnet 検定／Dunn 検定（$p \leq 0.05$）により対照群との統計学的有意差が認められた

- =特記すべき所見なし、<LLOQ=定量下限未満（定量限界=100ng/mL）、AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、NA=該当せず

a: 動物数には、Day 29 に安楽死させた主試験の動物（1 群あたり雌雄各 10 例）、Day 56 に安楽死させた回復性試験の動物（1 群あたり雌雄各 5 例）及びトキシコキネティクス試験の動物（対照群は雌雄各 3 例、残りの群は雌雄各 6 例）が含まれる

※調整中

b: 10mg/kg/day 群の雄 1 例及び 40mg/kg/day 群の雌 2 例（B セットとして指定された動物）がトキシコキネティクスサンプルを収集するために代替として利用された。これは、両投与群の他の動物から最初に採取されなかったか又は採取された量がトキシコキネティクスサンプルとして不十分であったためである。これらの動物 3 例は、剖検せずに Day 2 に安楽死させた。10mg/kg/day のトキシコキネティクス群の雌 1 例の死亡が Day 1 に発見され、代わりの動物が追加された。死因は手技関連の出血によるものであり、ジルコプラン投与との関係はなかった。残りのトキシコキネティクス用動物は、Day 56 に剖検せずに安楽死させた

c: 評価動物数のうち、主試験の期間（Day 1 から Day 29 までの間）に 1 回以上の所見が観察された動物数を示している

d: 動物数（発現回数）は、Day 1 から Day 29 の 4 つの投与部位の浮腫及び紅斑スコアについて示している

e: 注目に値する動物 1 例のデータを角括弧内に示す

f: 所見を発現した動物数を示す。10mg/kg/day 群以上の投与群で投与部位に被験物質に関連する病理組織学的所見が認められた。通常みられる所見として、皮下筋の変性及び皮下組織における単核細胞浸潤、混合細胞浸潤、線維化、浮腫、並びに 40mg/kg/day 群では皮膚表面のびらん又は潰瘍形成を伴う皮下組織における膿瘍形成が観察された

g: この動物の所見は顕微鏡的に出血と相関しており、被験物質に関連しなかった

表 7-2　サル 4 週間皮下投与試験

被験物質：ジルコプラン

報告書の題名：　A 4-Week Toxicity Study of RA101495 by Subcutaneous Injection in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Period
動物種／系統：　カニクイザル　投与期間：　4 週間 [a]　試験番号：　20074710
試験開始年齢：　2.7～4 年齢　休薬期間：　4 週間　CTD における記載箇所：　4.2.3.2
初回投与年月日：　2015 年 5 月 7 日　投与方法：　皮下　GLP 適用：　適
溶媒／投与形態：　0.9%塩化ナトリウム を含む 50mM リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.0）
製剤緩衝液：　0.8%塩化ナトリウムを含む 50mM リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.0）
特記事項：　補体活性解析
無毒性量：　4mg/kg/day

[a] 被験物質及び対照物質は、Day 1 から Day 28 まで 1 日 1 回皮下投与された。投与部位は、28 日間の投与期間中、7 ヵ所でローテーションした

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		1		2		4	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2
トキシコキネティクス（平均値）								
Day 1								
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	11,200	10,700	20,400	20,800	39,300	39,200
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	NA	NA	185,000	174,000	344,000	339,000	629,000	612,000
$AUC_{0\text{-}12}$ (ng·h/mL)	NA	NA	107,000	102,000	198,000	200,000	368,000	370,000
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)	NA	NA	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Day 28								
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	19,100	18,000	35,400	33,700	65,700	62,800
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	NA	NA	308,000	282,000	597,000	533,000	2,380,000	1,900,000
$AUC_{0\text{-}12}$ (ng·h/mL)	NA	NA	195,000	180,000	376,000	340,000	697,000	639,000
$AUC_{0\text{-}24}$ (ng·h/mL)[b]	NA	NA	NC	NC	NC	NC	1,250,000[c]	1,030,000[c]
抗薬物抗体 [d]	0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)		1 (10%)	

※調整中

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		1		2		4	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2
特記すべき所見								
主試験の動物								
死亡及び安楽死動物数	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態観察	-	-	-	-	-	-	-	-
投与部位の皮膚スコア [e]								
浮腫（腫脹）								
軽微（グレード1）	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (8)	1 (2)	2 (4)	0 (0)
軽度（グレード2）	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (11)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
中等度（グレード3）	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
体重	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-
獣医師による身体検査	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図（定性的）	-	-	-	-	-	-	-	-
神経学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-
凝固系検査	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学的検査								
胆汁酸（μM） [f, g, h]								
Day -7	11.22	2.36	7.30	3.57	8.77	2.00	1.66	1.28
Day 14	2.64	2.54	3.90	1.67	4.53	4.17	2.52	9.10
Day 28	1.70	1.54	8.97	1.97	3.10	1.07	5.58	2.58
リパーゼ（U/L） [f, i, j]								
Day -7	35.80	9.20	15.33	11.67	17.33	11.33	19.00	12.60
Day 14	30.40	14.60	12.67	10.67	16.33	28.67	31.20	22.20
Day 28	27.40	11.00	12.33	9.00	14.00	11.33	23.00	14.80
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-
補体活性 [k]	M2.6.2.2.2.1 項及び M2.6.3.2 項に概略記載							

※調整中

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		1		2		4	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2
主試験の投与終了時剖検（Day 29）								
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
	3	3	3	3	3	3	3	3
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査 [l]								
胸腺								
髄質細胞数増加								
軽微	0	0	1	0	2	0	1	0
軽度	0	0	0	0	0	0	1	0
リンパ濾胞								
軽微	0	0	1	0	0	1	1	0
投与部位 1								
筋細胞変性／再生								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
浮腫								
軽微	0	0	0	1	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
線維増殖								
軽微	0	0	0	0	0	0	1	1
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
出血								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	1
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
皮下組織、混合細胞型炎症								
軽微	0	0	0	1	0	0	1	1
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		1		2		4	
動物数[a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2
投与部位 2								
筋細胞変性／再生								
軽微	0	0	0	0	1	0	0	0
浮腫								
軽微	1	0	0	0	0	2	1	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
線維増殖								
軽微	0	2	0	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	1	0
出血								
軽微	0	0	0	0	0	1	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
皮下組織、混合細胞型炎症								
軽微	0	0	0	0	0	1	0	2
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
投与部位 3								
筋細胞変性／再生								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	1
浮腫								
軽微	0	0	1	0	1	1	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
線維増殖								
軽微	0	0	0	2	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		1		2		4	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2
出血								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
皮下組織、混合細胞型炎症								
軽微	0	1	1	1	1	1	0	1
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
投与部位 4								
筋細胞変性／再生								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	1
浮腫								
軽微	0	0	0	1	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
線維増殖								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
出血								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
皮下組織、混合細胞型炎症								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	1
軽度	0	0	0	0	0	0	0	1
投与部位 5								
筋細胞変性／再生								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
浮腫								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		1		2		4	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2
線維増殖								
軽微	0	0	2	0	0	0	0	1
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
出血								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	1	0	0	0	0
皮下組織、混合細胞型炎症								
軽微	0	1	1	1	0	0	2	1
軽度	0	0	1	0	0	0	0	0
投与部位 6								
筋細胞変性／再生								
軽微	0	0	0	1	0	0	1	0
浮腫								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
線維増殖								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
出血								
軽微	0	0	0	0	0	1	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
皮下組織、混合細胞型炎症								
軽微	1	0	0	1	0	1	0	2
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
投与部位 7								
筋細胞変性／再生								
軽微	1	0	0	0	0	0	2	0

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		1		2		4	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2
浮腫								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	1	0
線維増殖								
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
出血								
軽微	0	0	0	0	0	0	1	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0
皮下組織、混合細胞型炎症								
軽微	0	1	0	1	1	1	0	1
軽度	0	0	0	2	0	0	1	1
回復性試験								
回復性試験の動物数 [a]	雄 2	雌 2	雄 0	雌 0	雄 0	雌 0	雄 2	雌 2
血液生化学的検査								
胆汁酸（μM）								
Day 42	1.85	4.65	NA	NA	NA	NA	2.60	0.90
Day 56	4.05	1.85	NA	NA	NA	NA	5.90	1.40
リパーゼ（U/L）								
Day 42	33.00	24.00	NA	NA	NA	NA	36.00	26.00
Day 56	24.00	15.00	NA	NA	NA	NA	27.00	17.50
回復性試験終了時の剖検（Day 57）								
肉眼的剖検所見	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
器官重量	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
病理組織学的検査 [m]								
投与部位 1								
浮腫								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		1		2		4	
動物数[a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2
線維増殖								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
出血								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
皮下組織、混合細胞型炎症								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
単核細胞浸潤								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
投与部位 2								
筋細胞変性／再生								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
浮腫								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
線維増殖								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
出血								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
皮下組織、混合細胞型炎症								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
投与部位 3								
筋細胞変性／再生								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
浮腫								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
線維増殖								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		1		2		4	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2
皮下組織、混合細胞型炎症								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
投与部位 4								
筋細胞変性／再生								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
浮腫								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
皮下組織、混合細胞型炎症								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
投与部位 5								
線維増殖								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0
出血								
軽度	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
皮下組織、混合細胞型炎症								
軽微	0	1	NA	NA	NA	NA	0	0
投与部位 6								
筋細胞変性／再生								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
出血								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
単核細胞性炎症								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
投与部位 7								
筋細胞変性／再生								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
浮腫								
軽度	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		1		2		4	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2
出血								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
皮下組織、混合細胞型炎症								
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0
単核細胞浸潤								
軽微	1	0	NA	NA	NA	NA	0	0

- =特記すべき所見なし、<LLOQ=定量下限未満（定量下限= 100ng/mL）、AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、M=mol/L、NA=該当せず、NC=算出せず

a: 動物数には、Day 29 に安楽死させた主試験の動物（1 群あたり雌雄各 3 例）、回復性試験（対照群及び 4mg/kg/day 群）の動物（1 群あたり雌雄各 2 例）が含まれる

b: 回復性試験の動物でのみ（対照群及び 4mg/kg/day 群は 1 群あたり雌雄各 2 例）測定した

c: 平均 $AUC_{0\text{-}24}$ 値は、雌雄各 2 例の曝露量より算出した

d: ジルコプラン投与により産生した抗薬物抗体を有する動物数（パーセント）を示している。ジルコプラン群に割り当てられた 22 例中 5 例（2mg/kg/day 群で雌 2 例、4mg/kg/day 群で雄 1 例及び雌 2 例）の投与前検体で陽性が認められた。抗薬物抗体は 4mg/kg/day 群の 10 例中 1 例に確認された（動物番号 4502、Day 29）。ジルコプランの血漿中濃度又は全身曝露に明らかな影響はなかった

e: 動物数（発現回数）は、投与前及び投与後 24 時間に認められた動物を示す（剖検前に注射部位を観察した Day 29 を除く）。浮腫の所見は有害とみなさなかった。すべての投与群（対照群を含む）において投与部位に紅斑（発赤）を示したため、ジルコプランの投与によるものではないと考えられた

f: 数値のばらつきが大きいため、投与前（Day -7）及び同時に実施した対照群の値の両方を示している

g: 増加程度が小さく、他の肝胆道の変化がなかったため、増加した胆汁酸は生物学的意義があるとはみなされなかった

h: Day 42 及び Day 56 に 4mg/kg/day 群で残った雄 2 例と雌 2 例の個々の胆汁酸値にばらつきがあるため、回復性の評価はしなかった

i: 増加程度が小さく、膵臓の組織学的変化が観察されなかったため、リパーゼの上昇は生物学的意義があるとはみなされなかった

j: 回復性試験（Day 42 及び Day 56）でのリパーゼ値は、それぞれのベースライン値と比較して上昇したままであった。ただし、これは対照群にも当てはまり、両方の測定日で同様の平均値が得られた

k: 血漿サンプルを用いて *ex vivo* 溶血アッセイにおいて補体活性を測定した。1mg/kg/day 以上のジルコプランを投与したすべての動物の血漿サンプルにおいて、対照群及びそれぞれの投与前サンプルと比較して、初回投与後 2 時間以内に溶血は完全に抑制され、抑制は 4 週間の投与期間中維持された。4 週間の休薬期間後、補体系の阻害はほとんど又はまったく残っていなかった

l: 1mg/kg/day 群の雄 2 例で投与部位 3 について評価した

m: 回復性試験の剖検時では、対照群の動物と比較して、投与された動物の皮下注射部位における顕微鏡的所見の発生率及び重症度のジルコプランに関連する増加は観察されず、投与終了時の剖検で観察された顕微鏡的所見の部分的な可逆性を示していた

表 7-3　サル 13 週間投与毒性試験

被験物質：ジルコプラン

報告書の題名：　A 13-Week Toxicity Study of RA101495 by Subcutaneous Injection in Cynomolgus Monkeys with a 4-Week Recovery Period
動物種／系統：　カニクイザル　投与期間：　13 週間 [a]　試験番号：　20076807
試験開始年齢：　2.7～5.3 年齢　休薬期間：　4 週間　CTD における記載箇所：　4.2.3.2
初回投与年月日：　2015 年 6 月 30 日　投与方法：　皮下投与　GLP 適用：　適
溶媒／投与形態：　0.9%塩化ナトリウム を含む 50mM リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.0）
製剤緩衝液：　0.8%塩化ナトリウム を含む 50mM リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.0）
特記事項：　抗薬物抗体測定、補体活性解析、糞便病原体分析、血液培養評価及び選択した組織の免疫組織化学検査
無毒性量：　2mg/kg/day

[a] 被験物質及び対照物質は、Day 1 から Day 91 まで肩甲骨領域及び背部中央部に 1 日 1 回皮下投与された。91 日間の投与期間中、7 ヵ所の投与部位でローテーションして投与した

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		0.25		1		2		10	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2
トキシコキネティクス：（平均値）										
Day 1										
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	2920	3010	10,200	12,000	20,700	22,000	89,700	94,300
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	NA	NA	55,700	60,100	168,000	187,000	344,000	335,000	1,530,000	1,590,000
Day 91										
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	6050	6250	15,100	16,400	37,600	30,500	167,000	167,000
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)[b]	NA	NA	117,000	126,000	273,000	295,000	659,000	488,000	3,330,000	3,210,000
抗薬物抗体 [c]	0 (0%)		1 (17%)		0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)	
特記すべき所見										
主試験の動物										
死亡及び安楽死動物数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
一般状態観察（ケージサイドでの連日観察／週 1 回の詳細観察）[d]										
投与部位の皮膚スコア	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
体重	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

※調整中

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		0.25		1		2		10	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2
獣医師による身体検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図検査（定性的）	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
凝固系検査 [e]	-	-	Day 56～91 の 1/3 例で 1.8 倍以上の増加	-	Day 91 の 1/3 例で 1.8 倍以上の増加	-	-	-	Day 28 の 1/3 例で 1.8 倍以上の増加	-
血液生化学的検査	脚注 f を参照									
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
補体活性	M2.6.2.2.2.1 項及び M2.6.3.2 項に概略記載									
糞便及び血液の培養評価	脚注 g を参照									
投与期間終了時（Day 92）剖検										
評価動物数	雄 3[h]	雌 3	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3	雄 3	雌 3
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査 [i]										
膵臓										
血管／血管周囲の単核細胞性炎症（血管炎）										
顕著	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
血管／血管周囲の単核細胞浸潤										
軽微	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0
軽度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
腺房変性										
軽微	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		0.25		1		2		10	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2
膵管の過形成										
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
腎臓										
血管／血管周囲の単核細胞浸潤										
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
舌										
粘膜、小水疱変性										
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
粘膜、好中球性炎症										
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
血管／血管周囲の単核細胞浸潤										
軽微	0	0	0	1	2	0	2	0	1	2
軽度	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
食道										
血管／血管周囲の単核細胞浸潤										
軽微	0	0	0	0	0	0	2	0	2	1
唾液腺										
管上皮変性										
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
血管／血管周囲の単核細胞浸潤										
軽微	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
単核細胞性炎症										
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		0.25		1		2		10	
動物数[a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2
胸腺										
髄質リンパ球数の増加										
軽微	0	0	1	0	2	0	1	0	1	1
軽度	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
中等度	0	0	0	0	0	2	1	1	1	1
髄質リンパ濾胞										
軽微	0	0	1	0	0	0	0	1	1	2
軽度	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1
中等度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
甲状腺										
血管／血管周囲の単核細胞浸潤										
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
直腸										
血管／血管周囲の単核細胞浸潤										
軽微	0	0	0	0	1	0	2	0	2	2
回腸										
血管／血管周囲の単核細胞浸潤										
軽微	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
胃										
血管／血管周囲の単核細胞浸潤										
軽微	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1
軽度	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
膀胱										
血管／血管周囲の単核細胞浸潤										
軽微	1	0	0	1	1	1	2	0	3	0
軽度	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		0.25		1		2		10	
動物数[a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2
回復性試験										
評価動物数	雄 2	雌 2	雄 0	雌 0	雄 0	雌 0	雄 2	雌 2	雄 2	雌 2
一般状態観察（ケージサイドでの連日観察／週1回の詳細観察）[j]	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-	顔の赤面／乾燥が Day 67～112 まで継続	-
凝固系検査[k]	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-	-	フィブリノーゲンの軽微増加（Day 119）
血液生化学的検査[l]	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-	1 例でいくつかの変化 (脚注 l 参照)	-
回復性試験終了時（Day 120）剖検										
病理組織学的検査[i]										
肝臓										
架橋門脈を有する胆管過形成、卵円形細胞過形成										
中等度	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1[m]	0
架橋門脈、線維化										
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1[m]	0
グリコーゲン増加										
中等度	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1[m]	0
単核細胞浸潤										
軽度	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1[m]	0
膵臓										
腺房委縮										
中等度	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1	0
膵管過形成										
軽微	1	0	NA	NA	NA	NA	0	0	0	0
中等度	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1	0

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		0.25		1		2		10	
動物数[a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2
単核細胞浸潤										
軽微	1	0	NA	NA	NA	NA	1	1	0	1
軽度	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1	0
血管／血管周囲の単核細胞浸潤										
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1	0
胸腺										
髄質リンパ球数増加										
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0	1	0
軽度	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0	0	0
中等度	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1	1
髄質リンパ濾胞										
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	0	1
軽度	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1	0
免疫組織化学検査	IgG、IgM 及び C3 の漏出の増加、並びに浸潤性／炎症性単核細胞の IgG、IgM 及び C3 の染色の増加が、高投与量群（10mg/kg/day）動物 6 例の舌、直腸及び膵臓組織において、血管／血管周囲の単核細胞浸潤を有する血管の主に固有粘膜下組織及び血管周囲領域に認められた									

- =特記すべき所見なし、AUC= 薬物濃度-時間曲線下面積、LLOQ=定量下限（100ng/mL）、C_{max}=最高血漿中濃度、NA=該当せず

a: 動物数は、Day 92 に安楽死させた主試験動物（1 群あたり雌雄各 3 例）、及び Day 120 に安楽死させた回復性試験動物（対照群、2 及び 10mg/kg/day 群、1 群あたり雌雄各 2 例）を含む

b: 2 及び 10mg/kg 群の場合、平均 $AUC_{0\text{-}t}$ 値は、投与後 24 時間でサンプルを採取した 1 群あたり雌雄各 3 例、及び投与後 336 時間でサンプルを採取した 1 群あたり雌雄各 2 例に基づく

c: 抗薬物抗体陽性の動物数（陽性パーセント）は、投与開始前、Day 92 及び Day 120 に採取した血液サンプルを用いて実施した結果に基づく。0.25mg/kg/day 群の雌 1 例は、Day 92 に採取したサンプルで陽性反応があることを示した（特異性アッセイで 40%阻害）。この時点で、曝露量は他の雌動物と同程度であった

d: ジルコプランに関連する一般状態は、10mg/kg/day 群の雄 3 例で発現しており、所見には、次の 1 つ又は複数が含まれた：顔の赤み及び乾燥、眼窩周囲の赤み及び乾燥を伴う両眼の分泌液、肝臓と膵臓の血液生化学的変化を伴うわずかな顔面黄疸と腹痛

e: 主試験でのジルコプランに関連する非有害な凝固パラメータの変化は、Day 56～91 での 0.25mg/kg/day 群の雄、Day 91 での 1mg/kg/day 群の雄 1 例及び Day 28 での 10mg/kg/day 群の雄 1 例でフィブリノーゲンの軽微な増加（投与前値の 1.8 倍以上）であった

f: 血液生化学的パラメータのジルコプランに関連する変化として、10mg/kg でアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニン・アミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、γ-グルタミルトランスフェラーゼ、総ビリルビン、コレステロール、リパーゼ、アミラーゼ、胆汁酸、クレアチンキナーゼの増加、並びにアルブミン及びアルブミン／グロブリン比の減少が認められ、2mg/kg/day の雄 1 例でリパーゼの増加、1mg/kg/day の雄 2 例で γ-グルタミルトランスフェラーゼ、同用量の雄 1 例でアルカリホスファターゼの増加、0.25mg/kg/day の雌雄各 1 例でリパーゼの増加、同用量の雄 1 例でアルカリホスファターゼの増加が認められた

g: 糞便中のポリメラーゼ連鎖反応（PCR）は、0.25mg/kg/day の雄 1 例及び 10mg/kg/day の雄 1 例について 13 週目に検討した。血液培養は、同じ 0.25mg/kg/day の雄と 10mg/kg/day のすべての動物に対して実施した。サルクリプトスポリジウム、エントアメーバ及びランブル鞭毛虫について PCR を介して分析されたすべての糞便サンプルは、対照群を含め、エントアメーバに対して陽性であった。好気性培養では、分析したすべての動物で陰性であったが、0.25mg/kg/day の雄は、13 週目のサンプルでアルファ溶血性連鎖球菌が陽性であった。臨床病理学的変化及び病理組織学的変化に対する関係を明確に示すことはできなかった

h: 胸腺については 2 例のみを検討した

i: 所見を示した動物数を示す。回復性試験終了時のジルコプランに関連した病理組織学的変化は、投与部位の変化が 2mg/kg/day 以上、膵臓の変化が 10mg/kg/day（単核細胞浸潤を含む）、肝臓の変化が 10mg/kg/day で観察された

j: 10mg/kg/day の雄 1 例は、主試験中の Day 67 から顔が乾燥を伴って赤くなり、回復性試験期間の Day 112 までこれらの所見が継続した

k: 10mg/kg/day の雌 1 例は、Day 119 にフィブリノーゲンの軽微な増加が認められた

l: 主試験実施中にアルカリホスファターゼ、グロブリン及び γ-グルタミルトランスフェラーゼが増加し、アルブミン及びアルブミン／グロブリン比が減少した 10mg/kg/day の雄 1 例は、回復性試験期間中にこれらの所見が継続した（Day 119 に試験実施）。この動物の胆汁酸は大きく変動し、投与前値を下回ることもあったが、Day 119 には投与前値の 8.52 倍であった

m: 投与期間中にアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニン・アミノトランスフェラーゼ、アルカリフォスファターゼ、γ-グルタミルトランスフェラーゼ、総ビリルビン及びコレステロールの上昇が認められたが、4 週間回復性試験の剖検時にはこれらの臨床病理検査値の上昇はなかった

表 7-4　サル 39 週間皮下投与毒性試験

被験物質：ジルコプラン

報告書の題名：　A 39-Week Toxicity Study of RA101495 by Subcutaneous Injection in Cynomolgus Monkeys with an 8-Week Recovery Period
動物種／系統：　カニクイザル　投与期間：39 週間 [a]　試験番号：　20086030
試験開始年齢：　2.6～3.9 年齢　休薬期間：8 週間　CTD における記載箇所：　4.2.3.2
初回投与年月日：　2016 年 2 月 11 日　投与方法：皮下投与　GLP 適用：　適
溶媒／投与形態：　50mM リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.0）
特記事項：　抗薬物抗体測定、補体活性解析、糞便病原体分析、眼分泌物培養評価及び選択した組織の免疫組織化学検査
無毒性量：　推定されていない

[a] 被験物質及び対照物質は、Day 1 から Day 274 まで肩甲骨領域及び背部中央部に 1 日 1 回皮下投与した。274 日間の投与期間中、7 ヵ所の投与部位にローテーションして投与した

投与量(mg/kg/day)	0（対照群）		0.25		1		2		4		6	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
トキシコキネティクス（平均値）ジルコプラン												
Day 1												
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	3100	3140	12,200	12,200	21,400	23,600	37,700	42,700	66,300	63,000
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	NA	NA	59,700	60,200	193,000	185,000	348,000	360,000	632,000	688,000	1,110,000	1,040,000
Day 182												
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	6130	6330	19,500	18,300	36,500	37,200	70,700 (n=4)	80,200	116,000	108,000
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	NA	NA	118,000	115,000	327,000	290,000	635,000	621,000	1,250,000 (n=4)	1,410,000	2,170,000	1,910,000

※調整中

投与量(mg/kg/day)	0（対照群）		0.25		1		2		4		6	
動物数[a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
Day 273												
C_{max}(ng/mL)	<LLOQ	<LLOQ	5650	5990 (n=2)	17,600	17,900	30,600	33,900	64,900 (n=4)	74,800	100,000	91,000 (n=3)
AUC_{0-t} (ng·h/mL)	NA	NA	109,000	108,000 (n=2)	306,000	289,000	534,000	548,000	1,170,000 (n=4)	1,290,000	1,890,000	1,610,000 (n=3)
抗薬物抗体[b]	0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)		0 (0%)	
特記すべき所見												
主試験動物												
死亡及び安楽死動物数[c]	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1
一般状態観察及び身体検査[d]												
腫脹（複数部位）[e]												
軽度	-	-	1(1)	-	-	-	-	1(1)	2(7)	-	1(2)	-
中等度	-	-	-	-	-	-	-	1(1)	1(3)	-	1(1)	-
重度	-	-	-	-	-	-	-	-	1(1)	-	-	-
硬腫脹（複数部位）[e]												
軽度	1(5)	-	1(1)	-	-	-	1(1)	-	1(1)	-	1(3)	-
中等度	-	-	1(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
重度	-	-	1(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
軟腫脹（複数部位）[e]												
軽度	-	-	-	-	-	-	-	-	1(1)	-	-	-
中等度	1(1)	-	1(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
重度	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1(1)	-
眼分泌物	-	-	-	-	-	-	1(1)	-	2(6)	-	-	1(17)[f]
赤色皮膚（複数部位）[g]	4(85)	4(29)	-	3(7)	2(2)	3(11)	3(8)	3(105)	3(17)	5(17)	1(2)	3(111)
投与部位反応[h]	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-

※調整中

投与量(mg/kg/day)	0（対照群）		0.25		1		2		4		6	
動物数[a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
体重	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
摂餌量（定性的）	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
心電図（定性的）	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血圧及び心拍数	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
眼科学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
涙液及び唾液検査[i]	脚注 i を参照											
血液学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
凝固系検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
血液生化学的検査[j]												
アルブミン（g/dL）												
投与前(Day -14)	4.86	4.38	4.53	3.83	4.60	4.43	4.46	4.62	4.44	4.50	4.72	4.34
Day 273	4.08	3.58	4.03	3.60	3.73	3.63	3.66	3.78	3.95	3.90	4.08	3.38
グロブリン（g/dL）												
投与前(Day -14)	-	2.92	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.04 (2.9)[k]
Day 273	-	2.90	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.58* (3.7)[k]
リパーゼ（U/L）[l]												
投与前 (Day -14)	-	27.40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8.60
Day 273	-	40.60	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13.25
アミラーゼ（U/L）												
投与前(Day -14)	-	417.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	239.2
Day 273	-	322.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	228.0
尿検査	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
バイオマーカーウィルスパネル[m]	脚注 m を参照											
補体依存性溶血[n]	M2.6.2.2.2.1 項及び M2.6.3.2 項に概略記載、脚注 n を参照											
血清電気泳動[o]	脚注 o を参照											

※調整中

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		0.25		1		2		4		6	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
投与終了時剖検												
投与終了時（Day 274）動物数	3	3	3	2	3	3	3	3	2	3	3	2
途中死亡動物	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1
剖検所見	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
病理組織学的検査 [p]												
上皮組織												
舌												
インターフェース単核細胞／混合細胞浸潤												
軽微	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	1	1
軽度	0	0	0	1	0	0	0	2	1	1	0	0
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2
顕著	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
小水疱変性												
軽微	0	0	0	1	0	1	2	0	0	0	1	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	0	0
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
顕著	0	NR	0	NR	0	NR	0	NR	0	NR	1	NR
食道												
インターフェース単核細胞／混合細胞浸潤												
軽微	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	1	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		0.25		1		2		4		6	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
小水疱変性												
軽微	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2
皮膚												
インターフェース単核細胞／混合細胞浸潤												
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
小水疱変性												
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
表皮：びらん／潰瘍												
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
顕著	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
胃												
インターフェース単核細胞／混合細胞浸潤												
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
子宮頚部												
インターフェース単核細胞／混合細胞浸潤												
軽微	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	1
軽度	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0
中等度	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA	1	NA	2
小水疱変性												
軽微	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	1
軽度	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	1	NA	0
中等度	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA	1
顕著	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
扁平上皮化生												
軽微	NA	1	NA	1	NA	1	NA	0	NA	1	NA	2
軽度	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	2	NA	0
中等度	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA	0	NA	1

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		0.25		1		2		4		6	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
膣												
インターフェース単核細胞／混合細胞浸潤												
軽度	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	1	NA	1
中等度	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0
小水疱変性												
中等度	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
炎症細胞浸潤												
食道												
粘膜下層／粘膜単核細胞浸潤												
軽微	1	0	0	2	2	1	0	1	1	2	1	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0
胆嚢												
粘膜下層単核細胞浸潤												
軽微	1	1	1	0	2	1	0	1	2	1	1	3
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
腎臓												
間質性／血管周囲単核細胞浸潤												
軽微	0	1	1	3	0	3	1	2	1	1	2	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3
肝臓												
単核細胞／混合細胞浸潤												
軽微	0	0	1	0	1	2	1	2	0	1	1	2
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
膵臓												
単核細胞浸潤												
軽微	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		0.25		1		2		4		6	
動物数[a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1
唾液腺												
単核細胞／混合細胞浸潤												
軽微	2	1	3	1	2	3	0	2	1	0	3	2
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
副甲状腺												
単核細胞浸潤												
軽微	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
甲状腺												
単核細胞浸潤												
軽微	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	2	3
軽度	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
肺												
単核細胞／好中球／混合細胞浸潤												
軽微	0	0	1	0	0	0	1	0	2	0	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
子宮												
単核細胞浸潤												
軽微	NA	1	NA	0	NA	1	NA	1	NA	2	NA	0
軽度	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	2
中等度	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
坐骨神経												
単核細胞浸潤												
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	3

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		0.25		1		2		4		6	
動物数[a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
皮膚（胸部）												
皮膚単核細胞／混合細胞浸潤												
軽微	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	0
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
変性／細胞数増加												
膵臓												
線維化／線維増殖を伴う腺房細胞変性												
軽微	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1[q]
膵管変性／再生												
中等度	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
腺房委縮												
中等度	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
脾臓												
リンパ濾胞及び胚中心がみられる細胞数の増加												
軽微	0	0	0	0	2	0	2	1	1	1	1	1
軽度	0	0	0	0	0	2	1	0	1	0	0	1
胸腺												
リンパ濾胞形成												
軽微	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0
軽度	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0	2	0
中等度	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
顕著	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
髄質の細胞数増加												
軽微	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2	1	0

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		0.25		1		2		4		6	
動物数 [a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
軽度	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2
中等度	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1
顕著	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
骨髄												
リンパ球凝集												
軽微	1	0	0	0	1	2	0	1	1	0	2	3
リンパ濾胞形成												
軽微	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
軽度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
肝臓												
胆管変性／再生を伴う線維化／線維増殖												
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
肺												
肺浮腫												
顕著	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
唾液腺												
管変性／再生												
中等度	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
子宮												
子宮内膜変性												
軽度	NA	0	NA	0	NA	1	NA	0	NA	0	NA	0
顕著	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	0	NA	1
免疫組織化学検査 [r]	脚注 r を参照											
回復性試験終了時（Day 330）剖検												
評価動物数	雄 2	雌 2	雄 0	雌 0	雄 0	雌 0	雄 2	雌 2	雄 2	雌 2	雄 2	雌 2
剖検所見	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-	-
器官重量	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-	-	-	-	-

投与量（mg/kg/day）	0（対照群）		0.25		1		2		4		6	
動物数[a]	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
主試験	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
回復性試験	2	2	0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
病理組織学的検査[p]												
子宮頚部												
扁平上皮化生												
軽微	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	1
軽度	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA	0	NA	0
顕著	NA	0	NA	NA	NA	NA	NA	0	NA	1	NA	0
食道												
粘膜下層／粘膜単核細胞浸潤												
軽微	0	1	NA	NA	NA	NA	1	0	2	1	1	1
軽度	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	0	0	0	1
胸腺												
リンパ濾胞形成												
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1	2	0	0
軽度	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0	0	0	1	0
髄質の細胞数増加												
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	1	0	0	1	1	1
骨髄												
リンパ球凝集												
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1	1	1	0	1
リンパ濾胞形成												
軽微	0	0	NA	NA	NA	NA	0	0	1	0	0	0

*Dunnett/Dunn 検定を用いた ANOVA 検定（$p \leq 0.05$）

-=特記すべき所見なし、AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、LLOQ=定量下限（100ng/mL）、NA=該当せず、NR=報告せず

a: 動物数は、Day274 に安楽死させた主試験動物（1 群あたり雌雄各 3 例）、及び Day 330 に安楽死させた回復性試験動物（対照群、2、4 及び 6mg/kg/day 群、1 群あたり雌雄各 2 例）を含む。Day 52（4mg/kg/day 群、雄）、Day203（6mg/kg/day 群、雌）及び Day245（0.25mg/kg/day 群、雌）に早期安楽死させた主試験動物 3 例を含む

b: 抗薬物抗体陽性の動物数（陽性パーセント）は投与開始前から回復期間を通じて採取された血液サンプルを用いて実施された結果に基づく。スクリーニング試験で陽性反応を示した 5 サンプルは、特異性の解析では反応性がなかった

c: ジルコプランに関連する死亡には早期に安楽死させた主試験動物 3 例が含まれていた。0.25mg/kg/day 群の雌 1 例は、試験前に罹患しておりストレスにより悪化したと考えられる慢性で重度の大腸炎が原因で Day 245 に安楽死させ、本被験物質との関連性は低いと考えられた。早期に安楽死させた 2 例（Day 52 に 4mg/kg/day 群雄 1 例及び Day 203 に 6mg/kg/day 群雌 1 例）は本被験物質と関連した重度の皮膚潰瘍及びびらんが原因で安楽死させた。これらの動物には被験物質に関連する肝線維化と肺浮腫（1 例）及び中等度の膵臓腺房細胞変性（全 3 例）が認められた。以下に示すいくつかの所見は早期及び投与終了時に安楽死させた動物間で共通であった：インターフェース単核細胞／混合細胞浸潤及び上皮小水疱変性（舌、子宮頚部、食道）、膵臓腺房細胞変性、並びに子宮内膜変性

d: 一般状態観察は連日ケージサイド観察、週 1 回の詳細観察、定期的な獣医師による身体検査及び不定期の観察を含めた。Day 1 から Day 274 までの主試験の動物数（発生数）を示す。1 日の中で最も高い重症度を動物 1 例につき 1 回カウントした

e: 腫脹、硬い腫脹及び軟らかい腫脹は以下に示す複数の部位で認められた：肢、腹部、尾、陰茎、眼瞼及び処置／投与部位

f: この 6mg/kg/day 群の雌は Day 47 に両眼とも眼分泌物が認められた。本個体に対して追加の獣医師による観察を行った。Day 54 に分泌物は黄色でその個体に 5 日間トブラマイシンを点眼しリマダイル®を投与した。Day 54 にブプレノルフィン®も単回投与した。少し改善した後、Day 59 に鎮静し細菌培養のため両眼より分泌物を採取した（結果はコアグラーゼ陰性ブドウ球菌、フラボバクテリウム及びエンテロコッカスであった）。鎮静状態下での口腔内の病変は特に歯肉上で認められた。眼の治療のために 2 日間トブラマイシンで処置した後に 10 日間オフロキサシン処置した（必要ないと考えられるまで 10 日間後も追加の処置を実施した）。Day 62 に、病理組織学的検査のため、歯茎の生検を実施した。Day 76 には眼分泌物は回復し治療を終了した。眼分泌物及び発赤は Day 147 に再発し、個体は追加の処置を実施せずに Day 152 まで休薬期間とした。Day 256 まで眼の所見の再発は認められなかった。獣医師による観察で皮膚の状態（臀部の擦り傷、あごと唇の痂疲）及び両眼の紅斑が確認されたため Day 252 から Day 256 までの休薬期間を追加した。休薬期間後、皮膚の状態は完全な回復に向かっている傾向が認められ、Day 257 に投薬を再開した。しかし、皮膚症状が Day 264 に再発した。その後その個体は投与群からは除外され、したがって、回復期間を早期の Day 265 から開始した。身体検査において Day 314 及び Day 386 にその個体に暗褐色の歯肉組織が観察された。投与期間中に認められた臀部の合併症（皮膚剥離、皮膚の褐色化, 皮膚の黒色化、痂疲）は剖検日まで継続した。その個体の背中と顔面の擦り傷は Day 277 まで認められた。この個体の所見は全てジルコプランに関連すると考えられた

g: 赤色皮膚は以下の部位を含む体の複数部位に認められた：四肢、顔／口、腹部、腋窩、鼠径部、背側又は腹側（頸部、胸部、全身）、陰茎／陰嚢、眼瞼／眼窩周囲、治療／投与部位及び全身

h: 投与部位反応を伴う動物数を示す。0.25mg/kg/day 群の雄 1 例は投与部位 4 に Day 87 から投与部位反応（血膿性の分泌物を伴う腫れと約 1～2cm の深さの壊死領域を含む）を有していた。その個体にクラバモックス®、バイトリル®及びリマダイル®を処置した。投与部位が完全に回復する（Day 103）まで、以降の投与時にはその部位は回避した。6mg/kg/day 群の雄 1 例は投与部位 4 に Day 157 から投与部位反応を示した。投与部位は黄色分泌物を有し、感染の可能性が考えられた。その個体にクラバモックス®を処置し、その部位が回復するまで観察を追加した。感染が明確に否定される（Day 170）まで投与部位 4 の使用は回避した

i: 本試験に割り当てた雌ザルの涙液及び唾液中のジルコプラン濃度を測定した。対照群の個体の涙液及び唾液中の濃度はいずれも定量限界未満であった。ジルコプランを投与した全動物の涙液中の濃度は用量反応的に検出された。唾液中でジルコプランが検出可能な動物は 0.25、1、2、4 及び 6mg/kg/day 群でそれぞれ 0/3、1/3、2/5、5/5 及び 5/5 例であっ

た。これら分泌物中のジルコプランは眼（結膜）及び口腔粘膜における補体を介した防御系に影響を及ぼす可能性がある。これらの結果により、4 及び 6mg/kg/day 群で認められた粘膜皮膚接合部での感染（例えば結膜炎）を説明できる可能性がある（一般状態観察及び早期安楽死させた動物のまとめ参照）

j: 対照群も含め、投与前及び投与終了時（Day 273）の群平均を示す。注目すべき各個体のデータを括弧内に示す。統計学的有意差は対照群の平均と投与群平均との比較で示す

k: グロブリンは 6mg/kg/day 群の雌 1 例で軽微から軽度に増加が認められ（投与前値と比べて 1.17 から 1.31 倍）、眼分泌物の観察結果と一致し（他でも考察済み）、ジルコプランの投与と関連すると考えられる。グロブリンは本個体で Day 301 に回復傾向が認められた（本個体は Day 252 から休薬したことに留意）

l: リパーゼは 4mg/kg/day 群の雄 1 例で一過性に Day 56 に増加した（投与前値と比べて 26.4 倍）が、ジルコプランの投与との関連は不明と考えられた

m: 全ての動物は検査の結果 B ウィルス、SRV 及び SIV に対して陰性であった

n: 対照群の個体は試験期間中に採血した血漿サンプルにおいて、高いレベル（>90%）の溶血活性を示し、補体活性に対して溶媒は作用を有さないことが示された。ジルコプランの作用機序から予想されたように、全ての被験物質投与群は 90~95%の高いレベルで溶血を抑制した。回復期の動物は回復期間終了時までには投与前値の補体活性に回復した

o: 0.25mg/kg/day 群の個体 2501 で観察されるアルブミン／グロブリン（A/G）比率の顕著な低下を詳細に検討するため、個体 2501 及び群内対照として 2502 の血液サンプルを用いて血清タンパク質電気泳動による評価を実施した。本解析で、個体 2501 は投与前に A/G 比率 0.53 及び総タンパク濃度 8.2g/dL と低値であった。時間と共に、A/G 比率及び総タンパク濃度は Day 245 までに 0.30 及び 4.0g/dL に低下した。A/G 比の低下は当初、ガンマ分画の増大によるものと考えられたが、その増大のエビデンスもモノクローナル又はポリクローナル免疫グロブリン血症のエビデンスも認められなかった

p: 所見の認められた動物数を示す。同じ皮膚所見が複数の部位で認められた動物は最も重度のグレードのみを示した

q: ジルコプランの 6mg/kg/day 群の動物では、Day 202 において顕微鏡的所見と関連するリパーゼ及びアミラーゼの軽微な増加が認められた

r: 選択した個体由来の舌、子宮頚部及び胸腺組織の免疫組織化学検査を実施した。2mg/kg/day 以上の投与群で子宮頚部の粘膜扁平上皮化生の発現率及び重症度の増加が認められた。舌及び子宮頚部のインターフェース細胞浸潤では $CD3^+$T 細胞が多くを占めており、$CD4^+$及び $CD8^+$T 細胞から構成されていた。更に、インターフェース炎症細胞浸潤には少数の $CD68^+$マクロファージ及び時折 $CD20^+$B 細胞のクラスターが存在していた。対照群と比較して、インターフェース炎症細胞浸潤に IgG の発現が増加していた。投与終了後剖検時において、1mg/kg/day 以上の投与群の胸腺では、増加した細胞数及びリンパ濾胞形成を伴った髄質部位の拡張が認められた。髄質細胞数の増加は $CD3^+$T 細胞（並びに $CD4^+$及び $CD8^+$T 細胞）から構成され、対照群と類似しているが、細胞数が増加していた。リンパ濾胞は、部分的又は完全に形成された外側の同心領域を伴う成熟した胚中心に $CD20^+$ B 細胞を含んでおり、二次濾胞と一致していた

8. *In Vitro* 遺伝毒性試験

表 8-1　細菌を用いる復帰突然変異試験

被験物質：ジルコプラン

報告書の題名：RA101495: Bacterial Reverse Mutation Assay

試験の種類：	細菌を用いる復帰突然変異試験	独立して実施した試験数：1	試験番号：8327570
菌株：	ネズミチフス菌及び大腸菌	プレート数：3	CTD における記載箇所：4.2.3.3.1
代謝活性化系：	アロクロル誘導ラット肝 S9	分析／培養細胞数：NA	GLP 適用：適
溶媒：	被験物質：0.9%リン酸緩衝生理食塩液（pH 7.4 ± 0.1）	陽性対照：脱イオン水（Sodium azide のみ）、DMSO（その他の陽性対照物質）	処理年月：2015 年 8 月 19 日
処理：	プレート法で 52±4 時間		
細胞毒性：	なし		
遺伝毒性：	なし		

DMSO=ジメチルスルホキシド、GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、NA=該当せず、S9=ラット肝代謝活性化系

被験物質	用量 (µg/plate)	復帰コロニー数（平均値±標準偏差）				
		使用菌株				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2uvrA
代謝活性化系なし						
リン酸緩衝生理食塩液	0	33±6 N	115±24 N	9±3 N	23±11 N	25±6 N
ジルコプラン	5	34.7±4 N	120±9 N	13±2 N	21±7 N	20±3 N
	16	29±4 N M	117±13 N	12±6 N M	18±7 N	20±8 N
	50	39±13 N M	108±12 N	15±4 N M	19±5 N	21±4 N
	160	34±2 N	101±16 N	12±5 N M	15±3 N	19±5 N

※調整中

被験物質	用量 (μg/plate)	復帰コロニー数（平均値±標準偏差）				
		使用菌株				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2uvrA
代謝活性化系なし						
ジルコプラン	500	44±6 N M	111±14 N	10±2 N M	14±1 N	17±4 N
	1600	34±6 N	111±6 N	8±2 N	21±13 N	21±10 N
	5000	32±3 N M	105±17 N	8±3 N M	18±3 N M	22±4 N
2-nitrofluorene[a]	1.0	177±13 N	-	-	-	-
Sodium azide[a]	2.0	-	1172±50 N	840±34 N	-	-
ICR-191[a]	2.0	-	-	-	227±23 N	-
4-nitroquinoline-N-oxide[a]	1.0	-	-	-	-	149±22 N
代謝活性化系あり						
リン酸緩衝生理食塩液	0	43±7 N	131±10 N	15±4 N	13±4 N	20±2 N
ジルコプラン	5	49±13 N	128±5 N	17±5 N	20±9 N	29±9 N
	16	34±7 N	128±5 N	14±6 N	17±6 N	27±8 N
	50	37±6 N	126±10 N	12±3 N	14±4 N	27±8 N
	160	36±5 N	138±29 N	12±7 N M	18±1 N	25±14 N
	500	43±11 N	131±16 N	15±2 N M	15±3 N	25±2 N M
	1600	45±16 N	113±14 N	11±4 N	16±4 N M	23±9 N
	5000	40±8 N	124±4 N	13±3 N M	15±4 N	24±3 N
Benzo[a]pyrene[a]	2.5	497±22 N	-	-	-	-

被験物質	用量 (µg/plate)	復帰コロニー数（平均値±標準偏差）				
		使用菌株				
		TA98	TA100	TA1535	TA1537	WP2uvrA
代謝活性化系あり						
2-aminoanthracene[a]	2.5	-	2753±183 N	291±16 N	299±45 N	-
	25.0	-	-	-	-	544±54 N

-=検討されず、GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、M=目視によりプレート内のコロニー数を計数した、N=正常な背景細菌叢

a: 陽性対照物質

※調整中

表 8-2　*In vitro* 染色体異常試験

被験物質：ジルコプラン

報告書の題名：RA101495: *In Vitro* Human Lymphocyte Chromosomal aberration assay

試験の種類：染色体異常試験　独立して実施した試験数：NA　試験番号：8327571

細胞株：初代培養ヒトリンパ球　再現性（プレート数）：NA　CTD における記載箇所：4.2.3.3.1

代謝活性化系：アロクロル誘導ラット肝 S9　分析／培養細胞数：NA　GLP 適用：適

溶媒：被験物質：リン酸緩衝生理食塩液　陽性対照：脱イオン水　処理年月日：2015 年 9 月 16 日

処理：S9 非存在下で 24 時間連続処理、並びに S9 存在下及び非存在下で 3 時間処理後、21 時間の回復時間

GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、NA=該当せず、S9=ラット肝代謝活性化系

被験物質	濃度（µg/mL）	アッセイした総細胞数	分裂抑制率（%）[a]	染色体異常を示した細胞平均%	統計学的有意差	倍数体及び核内倍加を有する細胞平均%
S9 非存在下で 3 時間処理後 21 時間培養						
リン酸緩衝生理食塩液	100µL/mL	300	-	0.33	-	0.00
ジルコプラン	245	300	11	0.67	NS	0.00
	350	300	0	1.33	NS	0.00
	500	300	0	1.00	NS	0.00
Mitomycin C	1.00	91	34	65.9	p≤0.001	0.00
S9 非存在下で 24 時間処理						
リン酸緩衝生理食塩液	100µL/mL	300	-	0.00	-	0.50
ジルコプラン	245	300	0	0.33	NS	0.00
	350	300	12	1.33	p≤0.05	0.00
	500	300	21	2.33	p≤0.01	0.00
Mitomycin C	0.300	76	73	78.9	p≤0.001	0.00

被験物質	濃度（μg/mL）	アッセイした総細胞数	分裂抑制率（%）[a]	染色体異常を示した細胞平均%	統計学的有意差	倍数体及び核内倍加を有する細胞平均%
S9 存在下で 3 時間処理後 21 時間培養						
リン酸緩衝生理食塩液	100μL/mL	300	-	0.33	-	0.00
ジルコプラン	245	300	6	0.00	NS	0.00
	350	300	0	0.67	NS	0.00
	500	300	1	1.33	NS	0.00
Cyclophosphamide	15.0	97	63	61.9	p≤0.001	0.50

-=特記すべき所見なし、GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、NS=統計学的有意差なし、S9=ラット肝代謝活性化系

a: 分裂抑制率（%）=［1−（投与量群の分裂指数／対照群の分裂指数）× 100%］、統計解析法=Fisher 直接確立検定

9. *In Vivo* 遺伝毒性試験

表 9-3　*In vivo* ラット小核試験

被験物質：ジルコプラン

報告書の題名：Zilucoplan [RA101495]: Micronucleus Test in Bone Marrow Cells of the Sprague-Dawley Rat

試験の種類：小核誘発試験　投与スケジュール：2 回（24 時間間隔）　試験番号：NCD3747

動物種／系統：ラット／Sprague Dawley　試料採取時間：初回投与 48 時間後　CTD における記載箇所：4.2.3.3.2

試験開始週齢：6～7 週齢　投与方法：皮下　GLP 適用：適

評価細胞：骨髄中多染性赤血球　溶媒／投与形態：塩化ナトリウムで 300mOsm/kg に調整した 50mM リン酸ナトリウム緩衝液 pH7.0

評価細胞数：少なくとも 4000 個（±5%）あたりの小核を有する多染性赤血球数を計数した。そのうち、最初の 500 個の赤血球を、正染性赤血球に対する多染性赤血球の比率の算出に用いた　投与年月日：用量設定試験：2021 年 10 月 20 日~本試験：2021 年 11 月 17, 18 日

細胞毒性：正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合の低下は認められず、赤血球産生に対する毒性はなかった

遺伝毒性：雄ラットに 500mg/kg/day まで投与したとき、骨髄中における小核発現頻度の増加は認められなかった

被験物質	投与量 (mg/kg)	投与経路	動物数	小核を有する多染性赤血球数 (mean±SD)[a]	正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合 (%, mean±SD)[b]
溶媒	0	皮下	5	2.4±2.7	0.80±0.23
ジルコプラン	125	皮下	5	3.4±2.5	0.79±0.11
	250		5	1.4±1.1	0.82±0.09
	500		5	3.2±2.9	0.79±0.19
シクロホスファミド	19	皮下	3	9.3±7.1[c]	0.40±0.12[c]
	19	経口	3	31.3±0.6[c]	0.36±0.03[c]

SD=標準偏差

a: 少なくとも 4000 個（±5%）あたりの小核を有する多染性赤血球数を評価した

b: 最初の 500 個の赤血球を用いて算出した

c: 溶媒群に対して有意差が認められた（t 検定、$p < 0.001$）

※調整中

10. がん原性試験

該当せず。

11. 生殖発生毒性試験（重要な試験以外の試験）

該当せず。

※調整中

12.　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（重要な試験）

表 12-1　生殖発生毒性試験：雄受胎能

被験物質：ジルコプラン

報告書の題名：RA101495: 13-week subcutaneous administration male fertility study in the cynomolgus monkey with an 8-week recovery phase
動物種／系統：カニクイザル（アジア起源）　投与期間：　13 週間　試験番号：8366459
試験開始年齢：4～9 年齢　休薬期間：8 週間　CTD における記載箇所：4.2.3.5.1
初回投与年月日： 2017 年 8 月 14 日　GLP 適用：適
特記事項：補体活性　投与方法：皮下
無毒性量：4.0mg/kg/day　溶媒／投与形態：50mM リン酸ナトリウム緩衝液 pH7.0

GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	1.0	2.0	4.0
動物数	6	6	6	6
トキシコキネティクス（平均値）				
Day 1				
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	12,100	25,300	46,200
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	NA	227,000	445,000	843,000
Day 91				
C_{max} (ng/mL)	<LLOQ	25,300	52,900	103,000
AUC_{0-24} (ng·h/mL)	NA	488,000	998,000	1,990,000
動物試験中の観察・検査				
死亡及び安楽死動物数	-	-	-	-
一般状態観察	-	-	-	-
体重	-	-	-	-
精巣サイズ	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-
凝固系検査	-	-	-	-
血液生化学的検査	-	-	-	-
イムノフェノタイピング	-	-	-	-
尿検査	-	-	-	-

※調整中

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	1.0	2.0	4.0
投与終了時評価動物数	4	4	4	4
投与終了時評価項目				
器官重量	-	-	-	-
病理組織学的検査	-	-	-	-
精巣検査	-	-	-	-
免疫組織化学検査				
胸腺 $CD3^+$陽性細胞	-	-	-	↓+
胸腺 $CD4^+$陽性細胞	-	-	-	↓+
胸腺 $CD8^+$陽性細胞	-	-	-	↓+
補体活性	-	-	-	-
回復性試験評価動物数	2	2	2	2
回復性試験評価項目				
免疫組織化学検査				
胸腺 $CD3^+$細胞	-	-	-	↓+
胸腺 $CD4^+$細胞	-	-	-	↓+
胸腺 $CD8^+$細胞	-	-	-	↓+

-=特記すべき所見なし、+=軽度、↓=減少、AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、C_{max}=最高血漿中濃度、<LLOQ=定量下限未満（定量下限= 100ng/mL）、NA=該当せず

13.　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験（重要な試験）

胚・胎児発生に関する試験は、拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験の中で実施した（14 項）。

14.　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（重要な試験）

表 14-1　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

被験物質：ジルコプラン

報告書の題名：Enhanced subcutaneous study for effects on embryo-fetal and pre- and postnatal development in cynomolgus monkeys with three months lactation/maturation phase

動物種／系統：カニクイザル（アジア起源）　投与期間：胚・胎児発生に関する試験フェイズで妊娠 20～100 日
ePPND 試験フェイズで妊娠 20 日から分娩まで　試験番号：8340294

試験開始年齢： 少なくとも 4 年齢　交尾成立日：妊娠 0 日　CTD における記載箇所：4.2.3.5.3

初回投与年月日： 2016 年 10 月 21 日　投与方法：皮下　GLP 適用：適

特記事項： 抗薬物抗体　溶媒／投与形態：50mM リン酸ナトリウム緩衝液 pH7.0

帝王切開：胚・胎児発生に関する試験フェイズ：1 群あたり雌 4 例

無毒性量：

母動物への影響： 4mg/kg/day

胚・胎児発生に関する試験フェイズの胎児への影響：4mg/kg/day

ePPND 試験フェイズの幼若児への影響：4mg/kg/day

ePPND=拡充型出生前及び出生後の発生、GLP=医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	1	2	4
母動物数（胚・胎児発生に関する試験及び ePPND 試験フェイズ）				
雌動物数	20	20	20	20
トキシコキネティクス（平均値±SD）　妊娠 20 日				
C_{max} (ng/mL)	BQL	12,800±1320	23,900±3010	44,900±5430
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	NA	230,000±23,900	411,000±50,000	776,000±103,000
トキシコキネティクス（平均値±SD）　妊娠 58 日				
C_{max} (ng/mL)	BQL	19,500±3020	36,000±5230 (n=17)	70,600±14,500 (n=17)
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	NA	335,000±60,800	604,000±97,100 (n=17)	1,200,000±272,000 (n=17)

※調整中

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	1	2	4
雌動物数	20	20	20	20
トキシコキネティクス（平均値±SD） 妊娠 90 日				
C_{max} (ng/mL)	BQL	17,800±3300 (n=19)	32,900±5150 (n=16)	62,000±12,700 (n=17)
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	NA	296,000±51,200 (n=19)	528,000±85,000 (n=16)	988,000±217,000 (n=17)
ePPND 試験フェイズのみ				
雌動物数	16	16	16	16
トキシコキネティクス（平均値±SD） 妊娠 142 日				
C_{max} (ng/mL)	BQL	18,800±2360 (n=13)	37,000±3940 (n=12)	72,900±8620 (n=10)
$AUC_{0\text{-}t}$ (ng·h/mL)	NA	308,000±37,000 (n=13)	588,000±55,500 (n=12)	1,190,000±186,000 (n=10)
抗薬物抗体（妊娠 20、90 及び 142 日）	-	-	-	-
特記すべき所見				
母動物（胚・胎児発生に関する試験フェイズ）				
雌動物数	4	4	4	4
死亡及び安楽死動物数	-	-	-	-
流産数	-	-	1	-
一般状態観察	-	-	-	-
妊娠中体重	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-
凝固系検査	-	-	-	-
血液生化学的検査	-	-	-	-
CH50 生物活性	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-
胎盤重量	-	-	-	-
剖検	-	-	-	-
胎児（胚・胎児発生に関する試験フェイズ）				
形態学的検査（胚・胎児検査）	-	-	-	-
胎児体重	-	-	-	-
胎児剖検	-	-	-	-
胎児身体測定	-	-	-	-
胎児器官重量	-	-	-	-

※調整中

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	1	2	4
胎児外表発達	-	-	-	-
胎児内臓発達	-	-	-	-
胎児骨格発達	-	-	-	-
母動物（ePPND 試験フェイズ）				
雌動物数	16	16	16	16
死亡及び安楽死動物数	-	-	-	-
流産数	1	5	4	5
自然分娩	15	11	12	11
死産	3	1	2	1
生存胎児数	12	10	10	10
一般状態観察	-	-	-	-
妊娠期間体重	-	-	-	-
妊娠期間 CH50 生物活性	-	-	-	-
授乳期体重	-	-	-	-
授乳期血液学的検査	-	-	-	-
授乳期凝固系検査	-	-	-	-
授乳期血液生化学的検査	-	-	-	-
授乳期 CH50 生物活性	-	-	-	-
平均妊娠期間（日）	160.9	161.2	158.5	160.4
異常出産	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-
剖検観察	-	-	-	-
ePPND 試験フェイズの新生児				
評価動物数	9	10	9	8
トキシコキネティクス（授乳 21 日）	BQL	BQL	BQL	BQL
抗薬物抗体（授乳 90 日）	-	-	-	-
授乳 90 日に生存した新生児数	9	9	9	8
成熟期中の死亡又は安楽死動物数	3	1	1	2
一般状態観察	-	-	-	-
体重	-	-	-	-
外表検査	-	-	-	-

投与量（mg/kg/day）	0（対照）	1	2	4
形態学的検査	-	-	-	-
神経行動学的評価	-	-	-	-
握力	-	-	-	-
骨格発達	-	-	-	-
血液学的検査	-	-	-	-
凝固系検査	-	-	-	-
血液生化学的検査	-	-	-	-
イムノフェノタイピング	-	-	-	-
CH50 生物活性	-	-	-	-
器官重量	-	-	-	-
剖検観察	-	-	-	-

-=特記すべき所見なし、AUC=薬物濃度-時間曲線下面積、BQL=定量限界未満、C_{max}=最高血漿中濃度、CH50=血清補体価、ePPND=拡充型出生前及び出生後の発生、NA=該当せず

15. 幼若動物試験

該当せず。

16. 局所刺激性試験

該当せず。

17. その他の毒性試験

該当せず。